



**YÜKSEK FRUKTOZ DİYETİNİN SARS-CoV-2 İNTESTİNAL GİRİŞİNİ
BELİRLEYEN MOLEKÜLLERİN EKSPRESYONU VE İNFLAMASYON
ÜZERİNE ETKİLERİNİN DIŞI VE ERKEK SIÇANLARDA İNCELENMESİ**

Aslınur DOĞAN

**DOKTORA TEZİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2024

ETİK BEYAN

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

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Aslınur DOĞAN

12 / 01 / 2024

YÜKSEK FRUKTOZ DİYETİNİN SARS-CoV-2 İNTESTİNAL GİRİŞİNİ
BELİRLEYEN MOLEKÜLLERİN EKSPRESYONU VE İNFLAMASYON ÜZERİNE
ETKİLERİNİN DIŞI VE ERKEK SIÇANLARDA İNCELENMESİ
(Doktora Tezi)

Aslınur DOĞAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ocak 2024

ÖZET

Metabolik sendrom, obezite ve diyabet gibi çeşitli hastalık durumlarının varlığında ve erkek bireylerde daha ciddi enfeksiyon seyrine neden olan SARS-CoV-2 viral etkeninin intestinal sistemde hücre içine giriş proteinlerinin ekspresyonlarının incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında, *Wistar* erkek ve dişi sıçanlara 15 hafta boyunca %20 fruktoz içeren içme suyu verilerek metabolik sendrom modeli oluşturulmuştur. Plazma ve intestinal doku örneklerinde, metabolik ve inflamatuvar parametreler ile RAS komponentleri ve SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücre içerisine giriş proteinlerinin ekspresyonları incelenmiştir. Yüksek fruktoz diyetinin hem erkek hem de dişi sıçanların plazma glukoz, insulin, trigliserit, TNF α , IL-1 β ve NF κ B düzeyleri ile ileum ve jejunum dokularında TNF α , IL-1 β , NF κ B, NLRP3, caspase-1 ve CD68 protein ekspresyonlarını artırdığı saptanmıştır. Histopatolojik analizlerde fruktoz tüketiminin erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokularında epitel hücre kaybı, bez yapılarında dejenerasyon, villus füzyonu ve polimorfonükleer hücre infiltrasyonunu artırdığı tespit edilmiştir. Fruktoz tüketiminin erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunumunda ACE2 ve B0AT1 protein ekspresyonlarını azalttığı saptanırken; ACE, TMPRSS2, ADAM17 ve GLUT2 protein ekspresyonlarını artırdığı tespit edilmiştir. Fruktozla beslenen sıçanların metabolik, histopatolojik ve inflamatuvar parametrelerinde cinsiyetler arasında anlamlı bir farklılık oluşmadığı saptanmıştır. Fruktozla beslenen erkek sıçanların ileum ve jejunum dokularındaki ACE protein ekspresyonlarının dişi sıçanlara kıyasla daha yüksek olduğu gözlenirken; ACE2 ve TMPRSS2 protein ekspresyonlarının daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Fruktoz tüketiminin erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokularındaki ADAM17, B0AT1 ve GLUT2 protein ekspresyonları açısından cinsiyetler arasında anlamlı bir farklılık oluşturmadığı saptanmıştır. Çalışmamızın sonuçları, bu diyetin intestinal dokuda erkeklerde dişilere kıyasla ACE ekspresyonunu daha fazla artırdığını, ACE2 ekspresyonunu ise azalttığını ve böylece fizyolojik dengenin olumsuz yönde etkilenmesine yol açabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkeklerde dişilere kıyasla SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine giriş proteinlerinden ACE2 ve TMPRSS2 ekspresyonlarının daha düşük olması, fruktoz tüketiminin viral etkeninin yayılımı açısından önemli olabileceğini ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, çalışmamız yüksek fruktoz tüketiminin intestinal dokuda inflamatuvar bir durum oluşturduğunu; ACE/ACE2 oranı ve SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine giriş proteinlerinden ACE2 ve TMPRSS2 ekspresyonunu ise cinsiyete bağımlı olarak değiştirdiğini göstermektedir.

Bilim Kodu : 10103.03
Anahtar Kelimeler : Fruktoz diyeti, ACE, ACE2, TMPRSS2, ADAM17, B0AT1, İnflamasyon, İnce bağırsak
Sayfa Adedi : 178
Danışman : Prof. Dr. Fatma AKAR

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF DIETARY HIGH-FRUCTOSE ON THE
EXPRESSION OF KEY MOLECULES FOR INTESTINAL ENTRY OF SARS-CoV-2
AND INFLAMMATION IN FEMALE AND MALE RATS

(Ph. D. Thesis)

Aslınur DOĞAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

January 2024

ABSTRACT

There are limited studies demonstrating the intestinal expression levels of entry proteins of the viral agent SARS-CoV-2, which causes a more serious course of infection in men and certain disease such as metabolic syndrome, obesity and diabetes. In this thesis, a metabolic syndrome model was induced by giving 20% fructose solution in drinking water to male and female *Wistar* rats for 15 weeks. Metabolic, inflammatory parameters, the expression of RAS components and entry proteins of the SARS-CoV-2 viral agent into the host cell were measured in plasma and intestinal tissue samples. The high-fructose diet increased glucose, insulin, triglyceride, TNF α , IL-1 β , and NF κ B levels in plasma, as well as TNF α , IL-1 β , NF κ B, NLRP3, caspase-1 and CD68 protein expressions in the ileum and jejunum of male and female rats. Histopathological analysis showed that fructose consumption increased the epithelial cell loss, gland degeneration, villus fusion, and polymorphonuclear cell infiltration in the ileum and jejunum male and female rats. Fructose consumption was determined to reduce the expression of ACE2, and B0AT1 but increase the ACE, TMPRSS2, ADAM17, and GLUT2 expressions in ileum and jejunum of male and female rats. There were no significant gender-dependent changes in metabolic, histopathological, and inflammatory parameters of fructose-fed rats. However, fructose-fed male rats had high ACE expression but low ACE2, and TMPRSS2 protein expressions compared to the female in the ileum and jejunum tissues. Fructose consumption did not induce any gender-dependent changes in the expression of ADAM17, B0AT1 and GLUT2 proteins in the ileum and jejunum in male and female rats. Our results showed that high-fructose diet causes more increases in the expression of ACE, and decreases in ACE2 of males compared to females in the intestinal tissue, thus causing the severe deterioration of ACE/ACE2 balance in males and negatively affecting the physiological balance. However, the low expression of ACE2, and TMPRSS2 which are SARS-CoV-2 virus entry proteins ACE2 and TMPRSS2 in fructose-fed male compared to female, suggested a gender-dependent different in terms of the spreading of the viral agent. In conclusion, our study showed that high-fructose consumption causes inflammatory status, and gender-dependent changes in ACE/ACE2 ratio, as well as SARS-CoV-2 virus entry proteins ACE2 and TMPRSS2 in the intestinal tissue.

Science Code : 10103.03

Key Words : Dietary fructose, ACE, ACE2, TMPRSS2, ADAM17, B0AT1, Inflammation,
Small intestine

Page Number : 178

Supervisor : Prof. Dr. Fatma AKAR

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana ışık tutan, desteğini her zaman hissettiğim ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Fatma AKAR’a teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Bu tez çalışması Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDK-2022-7683 numaralı projeyle desteklenmiştir.

Değerli görüş ve katkıları için Tez İzleme Komitesi üyesi Sayın hocalarım Prof. Dr. Mustafa ARK ve Prof. Dr. Birsal Sönmez UYDEŞ DOĞAN’a en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen, değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Saygıdeğer hocam Prof. Dr. Kazım ŞAHİN ve ekibine sonsuz teşekkür ederim.

Histopatoloji analizleriyle tez çalışmalarına katkıları için Sayın hocam Doç. Dr. Ebru ANNAÇ’a teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarım boyunca destek ve yardımlarını eksik etmeyen Sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Nur Banu BAL’a; doktora eğitimime katkıları ve tez çalışmalarım boyunca gösterdikleri destek ve anlayış için anabilim dalımız öğretim üyesi hocalarıma; hayvan deneyleri sırasındaki katkıları için Sayın hocam Prof. Dr. Mürşide Ayşe DEMİREL ve Hacer ŞİRİN’e teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca her zaman varlıkları ve destekleri ile bana yol gösteren ve başta Prof. Dr. Murat KOCA, Doç. Dr. Nebih LOLAK ve Dr. Öğr. Üyesi Süleyman AKOÇAK olmak üzere tüm Adıyaman Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyelerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tüm yardım ve desteği için değerli çalışma arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Ceren GÜNEY’e ve anabilim dalımızda öğrenim gören tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca varlıklarıyla bana güç veren ve beni her zaman destekleyen kıymetli aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	9
2.1. Fruktoz	9
2.1.1. Fruktoz absorpsiyonu	9
2.1.2. Fruktoz metabolizması	10
2.1.3. Fruktozun intestinal sistem üzerine etkileri	12
2.1.4. Fruktoz tüketimi	15
2.2. Metabolik Sendrom.....	16
2.3. Yüksek Fruktoz Diyeti ve Metabolik Sendrom İlişkisi.....	18
2.4. Yüksek Fruktoz Diyeti ve İnflamasyon İlişkisi	21
2.5. Yüksek Fruktoz Diyeti ve Renin-Anjiyotensin Sistemi İlişkisi.....	23
2.6. Koronavirüsler.....	27
2.6.1. SARS-CoV-2.....	29
2.6.2. SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişi.....	30
2.7. SARS-CoV-2 ve Metabolik Sendrom İlişkisi	41
2.8. SARS-CoV-2 ve İnflamasyon İlişkisi	44
2.9. SARS-CoV-2 ve Cinsiyet İlişkisi.....	48
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	52

	Sayfa
3.1. Deney Hayvanları ve Diyet.....	52
3.1.1. Fruktöz solüsyonunun hazırlanması.....	53
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	53
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	54
3.4. Kullanılan Çözeltiler	54
3.4.1. Doku izolasyonunda kullanılan çözelti	54
3.4.2. Western Blot yönteminde kullanılan çözeltiler	55
3.5. Hayvanların Ağırlık, Günlük Yem ve Sıvı Tüketimi ile Total Kalori Alımının Hesaplanması	58
3.6. Plazma ve İntestinal Doku Örneklerinin Alınması	59
3.7. Histopatolojik İncelemeler	59
3.8. Biyokimyasal Analizler.....	60
3.8.1. Plazma glukoz ölçümü	60
3.8.2. Plazma lipit düzeylerinin ölçümü.....	60
3.8.3 Plazma insülin, TNF α , IL-1 β ve NF κ B düzeylerinin ölçümü.....	60
3.8.4. İleum ve jejunum doku örneklerinde TNF α , IL-1 β ve NF κ B düzeyleri ölçümü	60
3.9. Western Bot Analizleri.....	61
3.9.1. Doku homojenizasyonu ve toplam protein miktar tayini	61
3.9.2. Western Blot analizleri için doku örneklerinin hazırlanması.....	61
3.9.3. Western Blot yöntemiyle protein ekspresyonlarının belirlenmesi	62
3.10. İstatiksel Analiz.....	63
4. BULGULAR	64
4.1. Sıçanların Vücut Ağırlığı, Günlük Yem-Sıvı Tüketimi ve Kalori Alımı.....	64
4.2. Sıçanların Adipoz Doku Ağırlığı ve Vücut Ağırlığına Oranı	66
4.2.1. Sıçanların adipoz doku ağırlığı	66
4.2.2. Sıçanların abdominal adipoz doku ağırlığının vücut ağırlığına oranı	67

	Sayfa
4.2.3. Sıçanların epididimal adipoz doku ağırlığı	68
4.2.4. Sıçanların epididimal adipoz doku ağırlığının vücut ağırlığına oranı.....	69
4.3. Plazma Glukoz ve İnsülin Düzeyleri.....	70
4.3.1. Plazma glukoz düzeyi	70
4.3.2. Plazma insülin düzeyi	71
4.4. Plazma Lipid Düzeyleri.....	72
4.4.1. Plazma trigliserit düzeyi.....	72
4.4.2. Plazma total kolesterol düzeyi	73
4.5. Sıçanların İleum ve Jejunum Doku Örneklerinde Hematoksilen-Eosin Boyama	73
4.5.1. Sıçanların ileum doku örneklerinde Hematoksilen-Eosin boyama.....	73
4.5.2. Sıçanların jejunum doku örneklerinde Hematoksilen-Eosin boyama.....	76
4.6. Plazma, İleum ve Jejunum Dokularında İnflamasyonla İlişkili Proteinler	78
4.6.1. Plazma, ileum ve jejunum doku örneklerinde TNF α düzeyi ve protein ekspresyonu	78
4.6.2. Plazma, ileum ve jejunum doku örneklerinde IL-1 β düzeyi ve protein ekspresyonu	83
4.6.3. Plazma, ileum ve jejunum doku örneklerinde NF κ B düzeyi ve protein ekspresyonu	90
4.6.4. İleum ve jejunum doku örneklerinde NLRP3 protein ekspresyonu.....	95
4.6.5. İleum ve jejunum doku örneklerinde pro-caspase-1 ve aktif caspase-1 protein ekspresyonu	97
4.6.6. İleum ve jejunum doku örneklerinde CD68 protein ekspresyonu	101
4.7. İleum ve Jejunum Dokularında SARS-CoV-2 Virüsünün Konak Hücre İçine Girişi ile İlişkili Proteinler ve GLUT2 Proteini	103
4.7.1. İleum ve jejunum doku örneklerinde ACE protein ekspresyonu	103
4.7.2. İleum ve jejunum doku örneklerinde ACE2 protein ekspresyonu	105
4.7.3. İleum ve jejunum doku örneklerinde ACE/ACE2 oranı	107
4.7.4. İleum ve jejunum doku örneklerinde TMPRSS2 protein ekspresyonu....	109

	Sayfa
4.7.5. İleum ve jejunum doku örneklerinde ADAM17 protein ekspresyonu.....	111
4.7.6. İleum ve jejunum doku örneklerinde B0AT1 protein ekspresyonu	113
4.7.7. İleum ve jejunum doku örneklerinde GLUT2 protein ekspresyonu	115
5. TARTIŞMA	118
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	136
KAYNAKLAR	140
EKLER.....	174
EK-1. Etik kurul izin belgesi.....	175
EK-2. Deney hayvanları kullanım sertifikası.....	177
ÖZGEÇMİŞ	178

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Metabolik sendrom tanı kriterleri	17
Çizelge 4.1. Sıçanların vücut ağırlığı, günlük yem-sıvı tüketimi ve kalori alımı	65
Çizelge 4.2. Kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların ileum dokularında H&E boyama sonuçları	75
Çizelge 4.3. Kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların jejunum dokularında H&E boyama sonuçları	77



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. İnce bağırsakta düşük ve yüksek doz fruktozun absorpsiyonu [referans [77]'den uyarlanmıştır].....	10
Şekil 2.2. Fruktoz ve glukozun metabolizması [referans [84]'ten uyarlanmıştır]	12
Şekil 2.3. RAS komponentleri ve bu komponentlerin etkileri [referans [170]'ten uyarlanmıştır].....	24
Şekil 2.4. RAS komponentleri üzerinden ortaya çıkan etkilerin dengelenmesi [referans [18]'den uyarlanmıştır].....	25
Şekil 2.5. SARS-CoV-2 virüsünün yapısı [referans [208]'den uyarlanmıştır].....	31
Şekil 2.6. SARS-CoV-2 virüsünün ACE2 ve TMPRSS2 aracılığıyla konak hücre içine girişi	37
Şekil 2.7. İnce bağırsakta ADAM17 proteazının SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişi ve aktif TNF α oluşumu üzerine etkileri [referans [170]'ten uyarlanmıştır].....	39
Şekil 2.8. İnce bağırsakta SARS-CoV-2 virüsünün ACE2 ve B0AT1 üzerine etkileri.....	41
Şekil 2.9. SARS-CoV-2 virüsünün inflamatuvar yolları üzerine etkileri	46
Şekil 4.1. Sıçanların abdominal adipoz doku ağırlıkları.....	66
Şekil 4.2. Sıçanların abdominal adipoz doku ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı ...	67
Şekil 4.3. Sıçanların epididimal adipoz doku ağırlıkları.	68
Şekil 4.4. Sıçanların epididimal adipoz doku ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı ..	69
Şekil 4.5. Sıçanların plazma glukoz düzeyleri	70
Şekil 4.6. Sıçanların plazma insülin düzeyleri.....	71
Şekil 4.7. Sıçanların plazma trigliserit düzeyleri.....	72
Şekil 4.8. Sıçanların plazma trigliserit düzeyleri.....	73
Şekil 4.9. Sıçanların plazma TNF α düzeyleri	78
Şekil 4.10. Sıçanların ileum doku örneklerindeki TNF α düzeyleri	79
Şekil 4.11. Sıçanların ileum doku örneklerindeki TNF α temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	80

Şekil	Sayfa
Şekil 4.12. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki TNF α düzeyleri	81
Şekil 4.13. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki TNF α temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	82
Şekil 4.14. Sıçanların plazma IL-1 β düzeyleri	83
Şekil 4.15. Sıçanların ileum doku örneklerindeki IL-1 β düzeyleri	84
Şekil 4.16. Sıçanların ileum doku örneklerindeki a) pro-IL-1 β ve b) IL-1 β temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	85
Şekil 4.17. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki IL-1 β düzeyleri	87
Şekil 4.18. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki a) pro-IL-1 β ve b) IL-1 β temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	88
Şekil 4.19. Sıçanların plazma NF κ B düzeyleri	90
Şekil 4.20. Sıçanların ileum doku örneklerindeki NF κ B düzeyleri	91
Şekil 4.21. Sıçanların ileum doku örneklerindeki NF κ B temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	92
Şekil 4.22. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki NF κ B düzeyleri	93
Şekil 4.23. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki NF κ B temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	94
Şekil 4.24. Sıçanların ileum doku örneklerindeki NLRP3 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	95
Şekil 4.25. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki NLRP3 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	96
Şekil 4.26. Sıçanların ileum doku örneklerindeki a) pro-caspase-1 ve b) aktif caspase-1 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	97
Şekil 4.27. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki a) pro-caspase-1 ve b) aktif caspase-1 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	99
Şekil 4.28. Sıçanların ileum doku örneklerindeki CD68 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	101
Şekil 4.29. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki CD68 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	102
Şekil 4.30. Sıçanların ileum doku örneklerindeki ACE temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	103

Şekil		Sayfa
Şekil 4.31.	Sıçanların jejunum doku örneklerindeki ACE temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	104
Şekil 4.32.	Sıçanların ileum doku örneklerindeki ACE2 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	105
Şekil 4.33.	Sıçanların jejunum doku örneklerindeki ACE2 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	106
Şekil 4.34.	Sıçanların ileum doku örneklerindeki ACE/ACE2 oranı	107
Şekil 4.35.	Sıçanların jejunum doku örneklerindeki ACE/ACE2 oranı	108
Şekil 4.36.	Sıçanların ileum doku örneklerindeki TMPRSS2 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	109
Şekil 4.37.	Sıçanların jejunum doku örneklerindeki TMPRSS2 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	110
Şekil 4.38.	Sıçanların ileum doku örneklerindeki ADAM17 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	111
Şekil 4.39.	Sıçanların jejunum doku örneklerindeki ADAM17 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	112
Şekil 4.40.	Sıçanların ileum doku örneklerindeki B0AT1 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	113
Şekil 4.41.	Sıçanların jejunum doku örneklerindeki B0AT1 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	114
Şekil 4.42.	Sıçanların ileum doku örneklerindeki GLUT2 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	115
Şekil 4.43.	Sıçanların jejunum doku örneklerindeki GLUT2 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi	116

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Kontrol erkek ve fruktoz erkek grubu hayvanların ileum dokularında H&E boyama görüntüleri.	74
Resim 4.2. Kontrol dişi ve fruktoz erkek grubu hayvanların ileum dokularında H&E boyama görüntüleri.	75
Resim 4.3. Kontrol erkek ve fruktoz erkek grubu hayvanların jejunum dokularında H&E boyama görüntüleri.	76
Resim 4.4. Kontrol dişi ve fruktoz erkek grubu hayvanların jejunum dokularında H&E boyama görüntüleri.	77

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
a/h	Ağırlık/hacim
α	Alfa
A	Amper
β	Beta
δ	Delta
γ	Gamma
g	Gram
g/gün	Gram/Gün
g/kg	Gram/Kilogram
h/h	Hacim/Hacim
κ	Kappa
kcal	Kilokalori
μ	Mikro
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
μM	Mikromolar
mg	Miligram
mg/dl	Miligram/Desilitre
mg/kg	Miligram/Kilogram
mg/ml	Miligram/Mililitre
ml	Mililitre
mmHg	Milimetre cıva
mM	Milimolar
M	Molar
N	Normal
ng/mg	Nanogram/Miligram

ng/ml	Nanogram/Mililitre
nm	Nanometre
pg/mg	Pikogram/Miligram
pg/ml	Pikogram/Mililitre
°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
V	Volt
W	Watt
%	Yüzde

Kısaltmalar

Açıklamalar

ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ACE2	Angiotensin Converting Enzyme 2
ADAM17	A Disintegrin And Metalloprotease 17
AMP	Adenozin Monofosfat
ANG I	Angiotensin I
ANG II	Angiotensin II
ANG 1-7	Angiotensin 1-7
ANG 1-9	Angiotensin 1-9
ANGPTL8	Angiopoietin-Like Protein 8
AT1R	Angiotensin II Type 1 Receptor
AT2R	Angiotensin II Type 2 Receptor
ATP	Adenozin Trifosfat
ARB	Angiotensin Receptor Bloker
APS	Amonyum Persülfat
ASC	Apoptosis-Asociated Speck-Like Protein
BSA	Bovine Serum Albumin
B0AT1	Sodium-Dependent Neutral Amino Acid Transporter
CH	Central Domain
ChREBP	Carbohydrate Regulatory Element-Binding Protein;
CT	Cytoplasmic Tail

CTD	Carboxy Terminal Domain
COVID-19	Coronavirus Disease 2019
ECL	Enhanced Chemiluminescence
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EDTA	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
DHAP	Dihydroxyacetone Phosphate
FASN	Fatty Acid Synthase
FP	Fusion Peptide
F1P	Fructose-1 Phosphate
GLUT	Glucose Transporter
G6P	Glucose-6 Phosphate
HDL	High Density Lipoprotein
HR	Heptad Recurrence
HRP	Horseradish Peroxidase
IgG	Immunoglobulin G
IRF3	Interferon Regulated Factor 3;
IL-1β	Interleukin-1 Beta
IL-6	Interleukin-6
IL-10	Interleukin-10
IL-12	Interleukin-12
IL-23	Interleukin-23
IFN-γ	Interferon Gama
iNOS	Inducible Nitric Oxide Synthase
MERS-CoV	Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus
MasR	Mas Receptor
MCP-1	Monocyte Chemotactic Protein-1
Mpro	Main Protease
mRNA	Mesajcı RNA
MyD88	Myeloid Differentiation Factor 88
NTD	Amino Terminal Domain
NLRP3	NOD-Like Receptors Protein 3
NAFLD	Nonalcoholic Fatty Liver Disease
NOD	Nucleotide-Binding and Oligomerization Domain

NFκB	Nuclear Factor Kappa B
ORF	Open Reading Frame
PLpro	Papain Like Protease
PMSF	Phenyl Methyl Sulfonyl Fluoride
PBS	Phosphate Buffered Saline
PVDF	Polivinilidin Diflorür
RAS	Renin-Angiotensin System
RBD	Receptor Binding Domain
RNA	Ribonükleik Asit
SARS	Severe Acute Respiratory Syndrome
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SREBP	Sterol Regulatory Element-Binding Protein
TM	Transmembrane Domain
TEMED	Tetrametil Etilendiamin
TMPRSS2	Transmembrane Serine Protease 2
TLR-4	Toll-Like Receptor-4
TNFα	Tumor Necrosis Factor Alpha
ZO	Zonula Occludens

1. GİRİŞ

Günümüzde beslenme alışkanlıklarının değişmesiyle birlikte hazır gıda alımının yaygınlaşmasına bağlı olarak, şeker ve yağ tüketiminde ciddi artışların olduğu görülmektedir. Bu durum, hazır yiyecekler yoluyla alınan ilave şekerlerin insan diyeti için oldukça önemli bir bileşen haline gelmesine neden olmuştur [1]. Mısır nişastasından elde edilen yüksek fruktoz içeren mısır şurubunun kullanılmaya başlanmasıyla gıda endüstrisinde önemli bir dönüm noktası yaşanmıştır. Mısır şurubunun tatlandırıcı kapasitesinin ve çözünürlüğünün yüksek olması, gıdaların kıvamını artırması, ürünlerin raf ömrünü uzatabilmesi ve kristalleşmeyi engellemesi gibi avantajlarının olması sükroza göre daha fazla tercih edilmesine neden olmuştur. Yüksek fruktoz içeren mısır şurubunun hazır gıda teknolojisinde kullanımının yaygınlaşması, fruktozun çocuk ve genç yetişkinlerdeki ilave şeker tüketiminin ana kaynağı haline gelmesine yol açmıştır [2]. Yapılan çalışmalar, fruktoz tüketiminin artmasının metabolik sendrom, obezite ve diyabet gibi çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına zemin hazırladığını göstermektedir [1]. Özellikle, yüksek fruktoz tüketiminin abdominal obeziteye yol açtığı ve plazma trigliserit düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir [3,4]. Ayrıca, yüksek fruktoz alımıyla inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonlarının arttığı ve insülin direncinin tetiklendiği bildirilmektedir [5]. İnsanlar ve hayvanlarda yapılan çalışmalar, yüksek fruktoz diyetiyle beslenme sonucu hiperglisemi, hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi ve abdominal yağlanmayla karakterize metabolik sendrom tablosunun oluştuğunu göstermektedir [6,7]. Ayrıca, çalışmalar yüksek fruktoz diyetinin hem erkek hem de dişilerde plazma glukoz, insulin, trigliserit ve abdominal yağ doku ağırlığını artırmasına karşın, cinsiyetler arasında bu parametreler açısından belirgin farklılıklar oluşturmadığını göstermektedir [8,9].

Yüksek fruktoz diyetiyle beslenmeye bağlı olarak ortaya çıkan metabolik sendromda inflamatuvar faktörlerin aktivasyonlarının arttığı bilinmektedir [10]. Laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda, yüksek fruktoz diyetiyle oluşturulan metabolik sendromda ileum, karaciğer, böbrek, testis ve adipoz doku gibi farklı dokularda TNF α , IL-1 β , IL-6 veya NF κ B ekspresyonlarının arttığı ve dokulardaki makrofaj infiltrasyonunun yükseldiği gösterilmiştir [11-15]. Spruss ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen farelerin endotoksin düzeyinin arttığı ve duodenumdaki sıkı bağlantı proteinlerinden occludin ve ZO-1 düzeyinin azalmasına bağlı olarak bağırsak bariyer fonksiyonunun bozulduğu bildirilmiştir. Çalışmada, farelerin plazma endotoksin

düzeyi ile birlikte karaciğer dokularındaki TNF α , indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve miyeloid farklılaşma faktörü 88 (Myeloid Differentiation Factor 88; MyD88) gen ekspresyonlarında artış olduğu gösterilmiştir [16]. Laboratuvarımızda yapılan güncel bir çalışmada ise, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların ileum dokularında makrofaj ve lenfosit infiltrasyonunun arttığı, villus ve salgı hücrelerinde ise nekrotik değişikliklerin olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda, çalışmada fruktoz tüketiminin sıçanların ileum doku örneklerinde nükleer faktör kappa-B (NF κ B) ve iNOS ekspresyonlarını artırdığı immünohistokimyasal yöntemlerle belirlenmiştir [11]. Bununla birlikte, fruktozdan zengin diyetle beslenen sıçanların karaciğer dokularında TNF α , IL-1 β ve IL-6 gen ekspresyonları açısından cinsiyetler arasında anlamlı bir farklılık oluşmadığı gösterilmiştir [17]. Benzer şekilde, laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanlar arasında adipoz doku TNF α ve IL-1 β düzeyleri açısından anlamlı bir farklılığın bulunmadığı gösterilmiştir [13].

Renin-anjiyotensin sistemi (renin-angiotensin system: RAS) kan basıncı ve sıvı-elektrolit dengesinin sağlanması açısından kritik önem taşıyan bir sistemdir [18]. RAS içerisinde bulunan iki önemli enzimden biri olan anjiyotensin dönüştürücü enzim (angiotensin converting enzyme; ACE) anjiyotensin I (Ang I)'in anjiyotensin II (Ang II)'ye dönüşümünü katalizlemekle görevlidir. Bu sistemin diğer bir önemli komponenti olan ACE2 ise Ang I ve Ang II'nin sırasıyla anjiyotensin 1-9 (Ang 1-9) ve anjiyotensin 1-7 (Ang 1-7)'ye dönüştürülmesini sağlamak ve ACE enzimi aracılığıyla oluşan Ang II tarafından ortaya çıkan etkilerin dengelenmesine aracılık etmektedir. RAS komponentlerinden ACE ve ACE2 enzimleri arasındaki dengenin sağlanması normal fizyolojik durumun sürdürülmesi açısından kritik öneme sahiptir [18]. Araştırmalar, yüksek fruktoz tüketimine bağlı olarak RAS bileşenleri ekspresyonlarının değiştiğini göstermektedir [19-24]. Konuyla ilgili yapılan bir çalışmada, fruktozlu diyetle beslenen sıçanlarda plazma trigliserit düzeyi, insülin direnci, kan basıncı ve adipoz doku AT1R gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [19]. Yüksek fruktoz tüketiminin aort dokusundaki RAS bileşenleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, fruktoz tüketen sıçanların plazma insülin ve trigliserit düzeyi ile bu dokudaki AT1R gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [20]. Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanlarda, glukoz toleransının bozulduğu ve adipoz dokudaki Ang II düzeyinin arttığı gösterilmiştir [21]. Kim ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek fruktozlu diyetle beslenen sıçanların kan renin ve Ang II düzeyleri ile birlikte karaciğer dokusunda anjiyotensinojen ve AT1R

ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [22]. Benzer şekilde, fruktoz içeren yemle beslenen sıçanların adipoz dokularında anjiyotensinojen, ACE, AT1R ve AT2R gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [23]. Yüksek fruktoz tüketiminin hepatik dokudaki RAS bileşenleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların kan glukoz ve trigliserit düzeyleri ile birlikte hepatik Ang II ekspresyonlarında artış olduğu gösterilirken; ACE2, Ang 1-7 ve MasR ekspresyonlarının azaldığı tespit edilmiştir [24]. Bu bulgular, yüksek fruktoz tüketiminin RAS komponentlerinden ACE ve ACE2 enzimleri arasındaki dengenin ACE lehine bozulmasına ve fizyolojik dengenin olumsuz yönde etkilenmesine neden olabileceğini göstermektedir. Aynı zamanda, yüksek fruktoz tüketimiyle birlikte RAS komponentlerinden ACE ve Ang II ekspresyonlarının artmasıyla mevcut insülin direncinin şiddetlendiği de bildirilmektedir [25]. Bununla birlikte, yüksek fruktoz diyetinin RAS bileşenleri üzerine etkilerinin cinsiyete bağlı olarak incelendiği bir çalışmada ise, yüksek fruktozlu diyetle beslenen erkek sıçanların kardiyak ACE ekspresyonunun dişilere kıyasla belirgin ölçüde yüksek olduğu gösterilirken; ACE2 ekspresyonunun anlamlı ölçüde düşük olduğu saptanmıştır [26]. Ayrıca, fruktoz tüketiminin cinsiyete bağlı RAS etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada, fruktozla beslenen erkek sıçanların iskelet kasında dişi sıçanlara göre ACE ekspresyonunda artma, ACE2 ve MasR ekspresyonlarında ise azalma eğilimi olduğu tespit edilmiştir [27]. Erkek ve dişi sıçanlar arasında ACE ve ACE2 enzimleri açısından ortaya çıkan bu farklılığın ise, cinsiyet hormonlarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Araştırmalar, dişi hormonu östrojenin RAS komponentleri arasındaki ACE/ACE2 enzim dengesini ACE2 enzimi lehine; erkek hormonu testosteronun ise ACE enzimi lehine bozduğunu ve böylece fizyolojik dengenin cinsiyete bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir [28-30]. Yüksek fruktoz tüketiminin karaciğer, aort, kalp ve adipoz doku gibi çeşitli dokularda RAS komponentleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmalar mevcutken, intestinal dokudaki RAS komponentleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır.

Aralık 2019 tarihinde, Çin'in Wuhan şehrinde, hayvandan insana bulaşan yeni bir koronavirüs üyesi tanımlanmıştır. Bu yeni koronavirüs üyesi, kısa sürede hızla yayılarak tüm dünyada ciddi kayıplara neden olmuştur [31]. Bu viral etken, daha önceki dönemlerde ortaya çıkan ve Şiddetli Akut Solunum Sendromu (Severe Acute Respiratory Syndrome; SARS) olarak tanımlanan pandemi etkeniyle yüksek benzerliğinden dolayı Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüsü 2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2;

SARS-CoV-2) olarak isimlendirilmiştir. Bu virüsün neden olduğu hastalık ise Yeni Koronavirüs Hastalığı (Coronavirus disease 2019; COVID-19) olarak nitelendirilmiştir [32]. Hastalığın ilerlemesiyle şiddetli solunum yolu enfeksiyonları, pnömoni, çoklu organ yetmezlikleri ve ölümlerde artış görülmüştür [33]. Tek zincirli ve zarflı RNA virüsü olan SARS-CoV-2, Coronaviridae ailesinin betakoronavirüs cinsine ait bir koronavirüs türüdür [34]. Bu viral etkenin konak hücre içerisine girişine yapısal proteinlerinden biri olan S proteini aracılık etmektedir. Bu yapısal protein, konak hücre zarı üzerindeki anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (angiotensin converting enzyme 2; ACE2) reseptörlerine bağlanarak virüsün hücre içine girişini başlatmaktadır [35,36]. SARS-CoV-2 viral etkeni, konak hücre içerisine girebilmek için ACE2 enzimini işgal etmekte ve RAS sistemindeki dengenin ACE enzimi lehine değişmesine yol açmaktadır. SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücre içine girişine aracılık eden ACE2 enzimi, hücre yüzeyindeki proteazlardan biri olan transmembranal proteaz serin 2 (transmembrane serine protease 2; TMPRSS2) ile ortak lokalizasyon göstermektedir [37]. Bu proteaz, SARS-CoV-2 etkeninin S proteinlerinin ACE2 reseptörüne bağlanması için gerekli olan S1/S2 ve S2' proteolitik bölünmelerini gerçekleştirerek, viral girişi kolaylaştırıcı etkiler göstermektedir [38,39]. Ayrıca, ACE2 enzimi konakçının hücre membranına bağlı halde bulunabileceği gibi, dolaşımda çözünür formda da bulunabilmektedir [40,41]. SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücre içine girişinden, membrana bağlı olan ACE2 sorumlu iken, dolaşımda çözünür halde bulunan form, SARS-CoV-2 virüsünün S proteinlerine bağlanarak virüsün transmembranal ACE2'ye bağlanmasını engellemekte ve virüsün hücre içine girişini önlemektedir [42]. Konakçının hücre membranında bulunan proteazlardan bir diğeri olan bir disintegrin ve metaloproteaz 17 (a disintegrin and metalloprotease 17; ADAM17), transmembranal ACE2 enziminin dolaşımda bulunan çözünür forma dönüşmesini sağlamakta ve bu etkisiyle viral yayılımının engellenmesinde rol oynamaktadır [43]. Bununla birlikte, "TNF α dönüştürücü enzim" olarak da bilinen ADAM17, TNF α ve IL-6 gibi çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin aktif hale gelmesine ve bu durum neticesinde mevcut inflamasyonun şiddetlenmesine yol açmaktadır [44]. ADAM17'nin bu etkileriyle SARS-CoV-2 enfeksiyonunun seyrini olumsuz yönde etkileyebileceği düşünülmektedir [45]. ACE2 enziminin diğer bir önemli görevi ise bağırsak epitel hücrelerinin luminal yüzeyinde bulunan ve önemli bir amino asit taşıyıcısı olan sodyum bağımlı nötr amino asit taşıyıcısı 1 (sodium-dependent neutral amino acid transporter; B0AT1)'in ekspresyonu ve işlevlerinin düzenlenmesini sağlayarak aminoasit taşınmasına dolaylı olarak aracılık etmesidir [46]. COVID-19 enfeksiyonlarında, SARS-CoV-2 virüsünün ACE2 enzimine bağlanmasıyla birlikte B0AT1 ekspresyonu ve

işlevinin azaldığı ve intestinal sistemdeki amino asit emiliminin olumsuz yönde etkilendiği bilinmektedir [47]. Bu durum, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarına bağlı gelişen gastrointestinal komplikasyonların nedenini açıklayabilmektedir [48].

SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücreye asıl giriş yerinin akciğer dokusu olduğu bilinmektedir. Ancak, yapılan çalışmalar virüsün diğer dokular aracılığıyla da konak hücreye girebileceğini ve farklı dokularda komplikasyonlar oluşturabileceğini göstermektedir [49]. Bu amaçla yapılan bir atlas çalışmasında, ince bağırsak, akciğer, böbrek ve testis dokularında oldukça yüksek düzeyde ACE2 ekspresyonu olduğu gösterilirken; ince bağırsakta bu proteinin akciğerden daha yüksek düzeyde eksprese edildiği bildirilmiştir [50]. Livanos ve arkadaşları tarafından SARS-CoV-2 virüsüyle enfekte insanlarda yapılan bir çalışmada, COVID-19 hastalarının çoğunun ince bağırsak epitel hücrelerinde SARS-CoV-2 virüsünün tespit edildiği gösterilmiştir [51]. Ayrıca, literatürde SARS-CoV-2 enfeksiyonu bulunan hastaların feçes örneklerinde, bu viral etkenin varlığının gösterildiği çok sayıda çalışma da mevcuttur [52-57]. Bu bulgular, bağırsak hücrelerinin, SARS-CoV-2 virüsünün hücre içerisine giriş yerlerinden biri olabileceğini düşündürmektedir. Bu varsayılan giriş yolu, hastalığın Wuhan pazarındaki bir yiyeceğin oral yolla alınması neticesinde ortaya çıkması görüşüyle de örtüşmektedir.

Metabolik sendrom, obezite ve diyabet gibi çeşitli metabolik hastalık durumlarının SARS-CoV-2 enfeksiyonunun şiddetini ve mortalite oranını artırdığı bilinmektedir [58]. Fauste ve arkadaşları tarafından yapılan ve yüksek fruktoz diyetinin intestinal sistemde SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre giriş proteinleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada hem embriyonik hem de postnatal dönemden itibaren yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların ileum dokularında ACE2 gen ekspresyonları değişmezken, TMPRSS2 gen ekspresyonlarında artış eğilimi olduğu, ADAM17 gen ekspresyonlarının ise arttığı gösterilmiştir [59]. Ayrıca, 8885 Afrika kökenli Amerikalı COVID-19 hastasını içeren geniş ölçekli bir kohort çalışmasında, hastalarda daha önceden bulunan metabolik sendrom öyküsünün SARS-CoV-2 enfeksiyonu insidansındaki artışla pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir [60]. León-Pedroza ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise metabolik sendrom bileşenlerinden en az birinin bulunmasıyla SARS-CoV-2 enfeksiyon görülme olasılığını yaklaşık iki katına çıkıdığı belirlenmiştir [61]. Benzer şekilde, ABD’de yapılan 27 bin katılımcıyı içeren geniş ölçekli bir çalışmada, beden kitle indeksi 30’un üzerinde olan hastalarda SARS-CoV-2 enfeksiyonu riskinin daha yüksek olduğu tespit

edilmiştir. Ayrıca, çalışmada hastalarda mevcut metabolik sendrom varlığının SARS-CoV-2 enfeksiyonlarına bağlı olarak hastaneye yatış oranını (2,11 kat), yoğun bakım ünitesinde tedavi ihtiyacını (1,58 kat), mortaliteyi (1,29 kat) ve venöz tromboembolizmi (1,51 kat) de artırdığı bulunmuştur [62]. SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının ciddiyetindeki artışa, metabolik hastalıklar nedeniyle bireylerdeki inflamasyon parametrelerinin enfeksiyon öncesinde de yüksek seyretmesinin neden olabileceği düşünülmektedir [63,64]. Abdominal bölgede ciddi yağ kütlesine sahip olan obez bireylerde inflamatuvar sitokin konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu bildirilmektedir [65]. Bu bulgular, metabolik sendromda ortaya çıkan yüksek proinflamatuvar sitokin düzeylerinin SARS-CoV-2 enfeksiyonunun kötü prognozuyla ilişkili olabileceğini göstermektedir.

SARS-CoV-2 virüsünün neden olduğu enfeksiyonun şiddeti çeşitli hastalık durumlarının varlığının yanı sıra, cinsiyet kaynaklı farklılıklar da göstermektedir [66]. Yapılan çalışmalar, erkeklerin kadınlara kıyasla SARS-CoV-2 enfeksiyonunu daha şiddetli geçirdiğini göstermektedir [66,67]. Konuyla ilgili Çin'de yapılan bir vaka çalışmasından elde edilen veriler, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında erkeklerdeki mortalite oranının kadınlara göre 2,4 kat daha yüksek olduğunu göstermektedir [66]. İtalya'da yapılan bir çalışmada, toplam 1591 COVID-19 hastasının %82'sini erkeklerin oluşturduğu gösterilmiştir. Çalışmada yaşa göre bir karşılaştırma yapıldığında, tüm yaş aralıklarındaki hasta gruplarında, erkeklerdeki enfeksiyon oranlarının kadınlara kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [67]. Bu veriler, erkek cinsiyetini SARS-CoV-2 enfeksiyonları nedeniyle meydana gelen mortalite oranları açısından bir risk faktörü haline getirmektedir. Erkek bireylerde, kadınlara kıyasla daha şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının görülmesine ilişkin moleküler mekanizmalar çeşitli çalışmalarla aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla, erkek ve kadın bireyler arasında SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişinde önemli görevler üstlenen reseptör ve proteazların ekspresyonları açısından bir farklılığın bulunup bulunmadığı incelenmiştir. Çeşitli çalışmalarda, X kromozomu üzerindeki özel gen bölgeleri tarafından kodlandığı bilinen ACE2 enziminin, cinsiyete bağlı olarak ekspresyon düzeyinin erkeklerde daha yüksek düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir [68-70]. Aynı zamanda, yukarda bahsettiğimiz gibi dişi hormonu östrojenin RAS komponentleri arasındaki ACE/ACE2 enzim dengesini ACE2 enzimi lehine; erkek hormonu testosteronun ise ACE enzimi lehine bozduğunu ve böylece fizyolojik dengenin cinsiyete bağlı olarak değişebileceği ve böylece cinsiyetler arasında bu komponentler açısından farklılıklar oluşabileceği bildirilmektedir [28-30]. Diğer taraftan, virüsün S

proteinlerinin proteolitik bölünmelerini gerçekleştirerek viral girişı kolaylaştıran TMPRSS2 proteininin ekspresyonunun androjenik etkili hormonlar tarafından düzenlendiğı bildirilmektedir [71]. Ancak, literatürde hem androjen hem de östrojen hormonunun TMPRSS2 proteazını artırıcı etkilerinin olabileceğini ve seks hormonlarının bu proteaz üzerinde tek yönlü etkisinin olmadığını göstermektedir [30,71,72]. Tüm bu veriler, SARS-CoV-2 viral yayılımı ve enfeksiyon şiddetinin cinsiyete bağılı olarak değişebileceğini göstermektedir.

Bu tez çalışması, yüksek fruktoz diyetiyle beslenmenin neden olduğu metabolik sendromda, plazma ve/veya intestinal doku örneklerinde metabolik, histopatolojik ve inflamatuvar parametreler ile RAS komponentleri ve SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücre içerisine giriş proteinlerinin ekspresyonlarının cinsiyete bağımlı olarak incelenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçlar doğrultusunda, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişı sıçanların plazma, ileum ve jejunum örneklerinde inflamatuvar parametreler, RAS komponentleri ve SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişinde rol alan proteinlerin ekspresyonları metabolik parametreler eşliğinde incelenmiştir. Ayrıca, bulgularımızı desteklemek için ileum ve jejunum doku örneklerinde histopatoloji incelemeleri de yapılmıştır. Tez çalışmamızda, fruktozla oluşturulan metabolik sendromda RAS komponentleri ve SARS-CoV-2 girişıyla ilgili mekanizmaların cinsiyet bağımlı olarak aydınlatılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

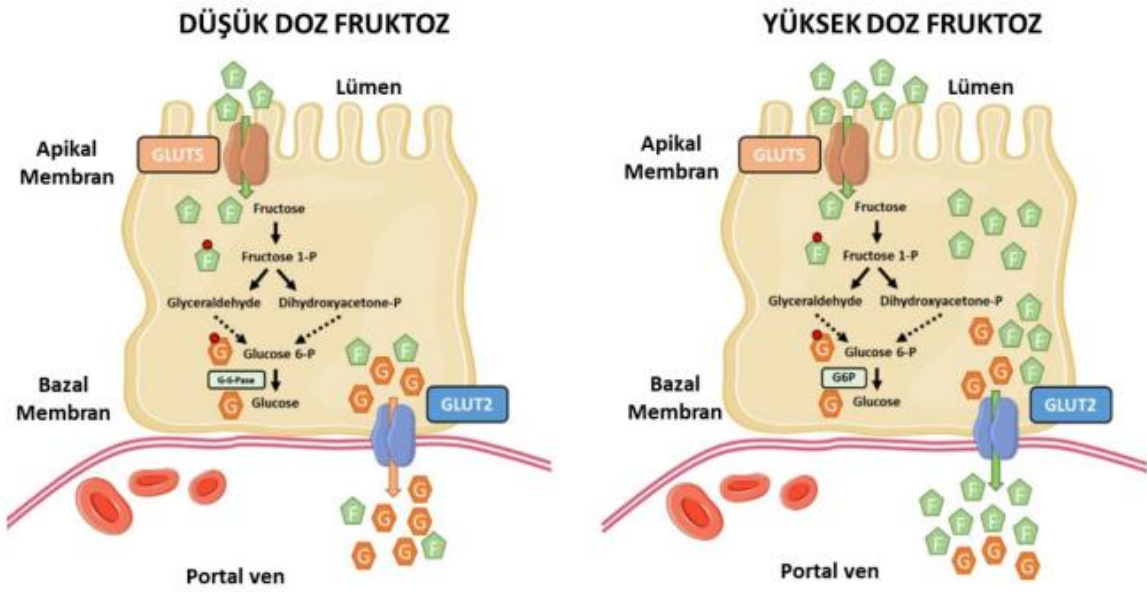
2.1. Fruktoz

Fruktoz, meyve, sebze ve balda doğal olarak bulunan altı karbonlu bir karbonhidrattır. Beyaz renkte ve katı toz görünümünde olan bu karbonhidrat, tek başına monosakkarit olarak bulunmasının yanı sıra, glukoz ile birlikte bir disakkarit olan sükrozun yapısında da yer almaktadır. Aynı zamanda, mısır nişastasından kimyasal ve enzimatik hidroliz işlemleriyle elde edilen ve endüstriyel bir şeker olarak kullanılan mısır şurubunun içerisinde %42 veya %55 oranında fruktoz bulunduğu bilinmektedir [73]. Yüksek fruktozlu mısır şurubunun gıdaların kıvamını artırması, tatlandırıcı kapasitesinin ve çözünürlüğünün yüksek olması, nem çekici özelliği sayesinde mikrobiyal üremeyi baskılayarak ürünlerin raf ömrünü uzatabilmesi ve kristalleşmeyi engellemesi gibi avantajlarının olması, hazır gıda sanayisinde sükroza göre tercih edilmesini sağlamaktadır. Bisküvi ve kahvaltılık gevrek gibi unlu mamullerin içerisinde %42 oranında fruktoz içeren mısır şurubu kullanılırken, meşrubatlar içerisinde %55 oranında fruktoz içeren mısır şurubu yaygın olarak kullanılmaktadır [74].

2.1.1. Fruktoz absorpsiyonu

Diyet içerisinde alınan fruktozun absorpsiyonu, enterosit membranında bulunan çeşitli glukoz taşıyıcıları (GLUT) aracılığıyla gerçekleştirilmektedir [75]. Fruktoz esas olarak ince bağırsak hücrelerinin apikal membranında bulunan GLUT5 aracılığıyla enterosit içine alınmaktadır. Enterosit içine alınan fruktozun bir kısmı, organik asitler ve glukoz gibi ürünlere metabolize edilirken; büyük kısmı, bazolateral membranda bulunan GLUT2 aracılığıyla portal vene ve ardından karaciğere taşınmaktadır [76]. GLUT5, çoğunlukla ince bağırsak, beyin, karaciğer, böbrek, adipoz doku ve iskelet kasında bulunmakta ve sadece fruktozun taşınmasında görev almaktadır. GLUT2 ise bağırsak, karaciğer, böbrek ve pankreasta bulunarak, fruktozun yanı sıra glukoz ve galaktozun da taşınmasında rol oynamaktadır [75]. Ayrıca, yüksek fruktoz alımına bağlı olarak, glukoz taşıyıcılarının ekspresyonunun ve bağırsaktaki fruktoz absorpsiyonunun arttığı bilinmektedir [76, 77]. Literatürde yüksek fruktoz tüketiminin farelerin ileum dokularındaki GLUT2 ve GLUT5 gen ekspresyonlarını artırdığı gösterilmiştir [78]. Laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda da yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların karaciğer dokularında GLUT2 ve GLUT5

gen ekspresyonlarının arttığı saptanmıştır [11,79]. Ayrıca, sağlıklı yetişkinlerde, fruktozun absorpsiyon kapasitesinin 5-50 g aralığında olduğu bilinmektedir. Ancak, diyet içinde alınan fruktozun portal vendeki konsantrasyonu 1,0 mmol/L'ye ulaşabilirken, periferik dolaşımda mikromolar düzeyde seyretmektedir [80]. Bu durum, fruktozun esas olarak karaciğerde biriktiğini göstermektedir. Düşük ve yüksek doz fruktozun ince bağırsaktan absorpsiyonu Şekil 2.1.'de şematize edilmiştir.



Şekil 2.1. İnce bağırsakta düşük ve yüksek doz fruktozun absorpsiyonu [referans [77]'den uyarlanmıştır]

2.1.2. Fruktoz metabolizması

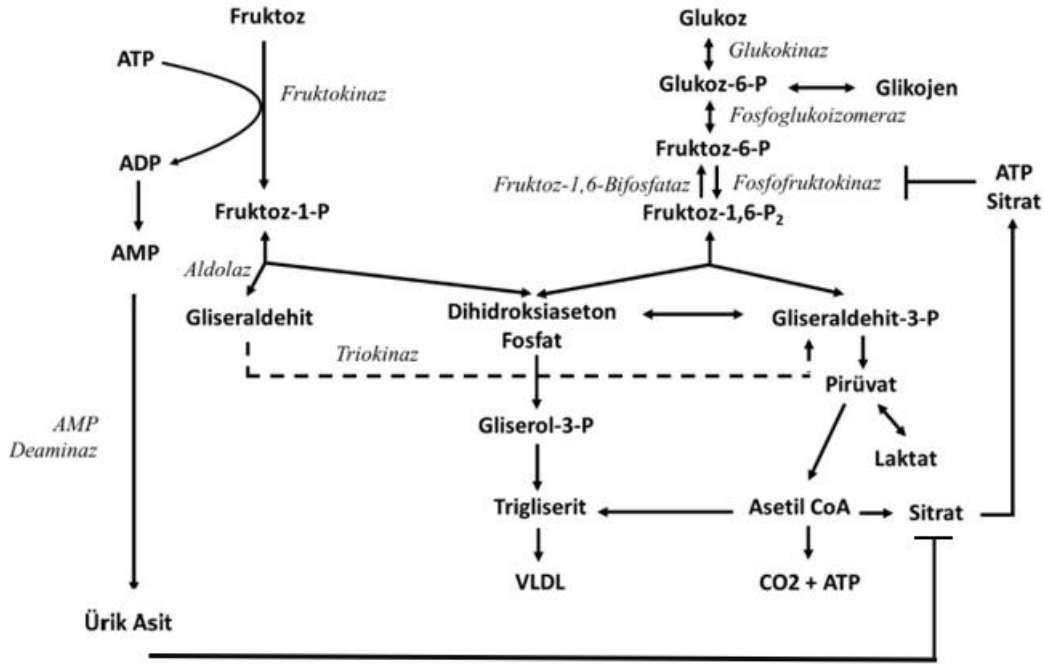
İnce bağırsaktan absorbe edilen fruktozun büyük bir kısmı karaciğere ulaştırılarak karbonhidrat metabolizması ve *de novo* lipogeneze katılmaktadır. İnce bağırsakta kalan fruktoz ise ilk olarak ketohekzokinaz enzimi aracılığıyla fruktoz-1-fosfata (F1P)'a metabolize edilmektedir. Sonrasında, oluşan F1P, aldolaz B ve triokinaz enzimleri tarafından glukoz, kısa zincirli yağ asitleri ve organik asitlere dönüştürülmektedir [81]. Fruktoz metabolizmasından sorumlu asıl organın karaciğer olduğu bilinirken, Jang ve arkadaşları tarafından yapılan güncel bir çalışmada, ^{13}C yöntemiyle radyoaktif olarak işaretlenmiş fruktozun düşük doz (<0,5 g/kg) tüketiminde, büyük ölçüde enterositlerde glukoz ve organik asitlere metabolize edildiği gösterilmiştir. Metabolize edilmeden kalan fruktozun sadece %14'lük bir bölümünün portal dolaşıma ulaştığı saptanmıştır. Yüksek

doz fruktoz (≥ 1 g/kg) tüketiminin ise fruktozun bağırsak hücrelerindeki metabolizasyon kapasitesini aştığı ve fazlasının karaciğere taşındığı gösterilmiştir [82]. Özetle çalışmanın sonuçları, diyet içinde alınan düşük doz fruktozun büyük bir kısmının, ince bağırsak enterositlerinde metabolize edilirken; yüksek doz fruktoz tüketiminde fruktozun yeterince metabolize edilemeyerek portal dolaşıma geçtiğini göstermiştir. Araştırmacılar bu modelin insanlarda doğrulanması için daha fazla çalışma yapılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Fruktoz, karaciğerde fruktokinaz olarak da bilinen ketoheksokinaz enzimi aracılığıyla F1P'a hızlı bir şekilde dönüştürülürken; glukoz, heksokinaz enzimi tarafından glukoz-6-fosfata (G6P) fosforile edilmektedir. G6P karaciğerde glikojen olarak depolanabileceği gibi fruktoz-6-fosfat ve ardından fruktoz-1,6-difosfata dönüştürülebilmektedir. Fruktoz-6-fosfatın, fruktoz-1,6-difosfata dönüşümünde görev alan fosfofruktokinaz enzimi sitrat ve ATP tarafından inhibe edilebilirken; fosfofruktokinaz-2 enzimi insülin, glukagon ve adrenalin gibi hormonlar tarafından kontrol edilebilmektedir [83]. Ancak, ketoheksokinaz enzimi aracılığıyla F1P'a dönüştürülen fruktozun metabolizmasında böyle bir enzim bulunmamaktadır. Bu durum, fruktoz metabolizmasının hormonal mekanizmalar tarafından kontrol edilememesine neden olmaktadır.

Fruktozun metabolizmasındaki ilk ürün olan F1P, aldolaz-B enzimi aracılığıyla gliseraldehit ve dihidroksiaseton fosfata (DHAP) dönüştürülmektedir. Daha sonra, bu metabolitler glukoz metabolizmasındaki ara ürünler olan gliseraldehit-3-fosfat ve gliserol-3-fosfata dönüştürülmektedir. Oluşan gliseraldehit, asetil-CoA'ya dönüştürülerek, serbest yağ asidi oluşumunda kullanılabildiği gibi, trikarboksilik asit döngüsüne katılarak sitrat ve ATP'ye de dönüştürülebilmektedir. Gliseraldehit-3-fosfat ise *de novo* lipogeneze katılarak serbest yağ asitleri ve trigliserit oluşumuna aracılık etmektedir [3].

Yüksek fruktoz konsantrasyonlarında, artan ketoheksokinaz aktivitesi hücre içi ATP düzeylerinin hızla azalmasına neden olmaktadır. Bu durum ise hücre içinde adenozin monofosfat (AMP) düzeyinin artışı, pürin degradasyonu ve ürik asit oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Hücre içinde artan ürik asit düzeyi, Krebs döngüsünde sitratı izositrate çeviren akotinaz enzim aktivitesini azaltmaktadır. Böylece, sitozolde sitrat molekülleri birikmektedir. Hücre içinde artan sitrat miktarı, yağ asidi sentaz gibi enzimleri aktive ederek *de novo* trigliserit sentezini artırıcı etkiler meydana getirmektedir [84]. Fruktozun metabolizması Şekil 2.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Fruktöz ve glukozun metabolizması [referans [84]’ten uyarlanmıştır]

2.1.3. Fruktözün intestinal sistem üzerine etkileri

Diyet içerisinde alınan fruktoz, GLUT5 aracılığıyla ince bağırsak lümeninden enterositlere taşınmaktadır [76,85]. Özellikle, düşük doz fruktoz tüketiminde, fruktozun büyük bir kısmı enterositlerde glukoz ve organik asitler gibi metabolitlere dönüştürülmektedir. Yüksek doz fruktoz tüketiminde ise enterositlerin metabolizasyon kapasitesinin dolduğu ve fazla fruktozun GLUT2 aracılığıyla portal ven ve ardından karaciğere taşınarak *de novo* lipogeneze katıldığı bilinmektedir [82]. İnce bağırsakta emilmeden kalan fruktoz ve metabolitleri, mikrobiyota bileşimini, bağırsak geçirgenliğini ve dolaşımdaki inflamasyon faktörlerinin düzeylerini değiştirerek intestinal sistemde çeşitli olumsuz etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır [10]. Tek hücreli bağırsak epiteli, mikroorganizmaların ve bazı mikrobiyal ürünlerin dolaşıma girişini engelleyen fiziksel bir bariyer olarak görev yapmaktadır. Seçici geçirgen özellikte olan bu bariyer sistemi, sıkı bağlantı noktaları, adezyon molekülü ve desmozomlardan oluşmaktadır. Occludin, claudinler ve zonula occludensleri (ZO-1, ZO-2 ve ZO-3) içeren sıkı bağlantı noktaları, küçük moleküllerin ince bağırsak hücrelerine geçişinin sağlanmasında kritik rol oynamaktadır [86]. Occludin ve claudinler bağırsak bariyer sisteminin temel transmembran proteinleri iken, zonula occludensler transmembran sıkı bağlantı proteinlerini hücre iskeletine bağlayan temel

proteinler olarak görev yapmaktadır. Adezyon molekülü ise bağırsak bariyer sisteminin seçici geçirgen özelliğinin düzenlenmesinden sorumludur [86]. Sıkı bağlantı proteinlerinin herhangi bir nedenle azalması, bağırsak geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır. Bağırsak geçirgenliğinin artmasıyla birlikte çeşitli mikroorganizma ve metabolitlerinin bağırsak lümenine geçişi artarken, intestinal sistemde oluşan inflamatuvar faktörler de tüm vücuda yayılabilmektedir [87]. Yüksek yağ veya fruktoz içeren diyetle beslenme gibi durumlarda, ince bağırsakta bulunan bariyer proteinlerinin ekspresyon düzeylerinin değiştiği ve intestinal sistemin daha korumasız hale geldiği bilinmektedir [11,87,88]. Yapılan çalışmalar, fruktoz tüketiminin ince bağırsakta bulunan bu bariyer proteinlerinin ekspresyon seviyelerini değiştirerek bağırsak bariyer geçirgenliğini artırdığını göstermektedir [11,16,89]. Sekiz hafta boyunca %30 fruktoz içeren diyetle beslenen deney hayvanlarının bağırsak dokularında ZO-1, occludin, claudin-1 ve claudin-4 protein ekspresyonlarının azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmada, obez insan deneklerin ileum dokularında da sağlıklı bireylere kıyasla ZO-1, occludin, claudin-1 ve claudin-4 protein ekspresyonlarının azaldığı saptanmıştır [89]. Spruss ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada, %30'luk fruktoz çözeltisiyle beslenen farelerin, gram-negatif bakterilerin hücre zarında oluşan endotoksin düzeyini artırdığı ve duodenumdaki sıkı bağlantı proteinlerinden occludin ve ZO-1 düzeyinin azalmasına bağlı olarak bağırsak bariyer fonksiyonunu bozduğu bildirilmiştir. Çalışmada, farelerin plazma endotoksin düzeyi ile birlikte karaciğer dokularındaki TNF α , iNOS ve miyeloid farklılaşma faktörü 88 (Myeloid Differentiation Factor 88; MyD88) gen ekspresyonlarında artış olduğu gösterilmiştir [16]. Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada ise 15 hafta boyunca %20 fruktozla beslenen sıçanların ileum dokularında occludin ve claudin-1 protein ekspresyonlarının azaldığı gösterilmiştir. Çalışmada, ileumda makrofaj/lökosit infiltrasyonu, indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve nükleer faktör kappa-B (NF κ B) ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir [11].

Fruktozun intestinal sistemden emilmeden kalan kısmının bağırsak mikrobiyotası için bir substrat olarak görev yaptığı bilinmektedir [90]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, bağırsak mikrobiyotasının oldukça karmaşık bir yapıya sahip olduğu ve birçok metabolik hastalığın patogeneğinde görev aldığı gösterilmiştir. Gastrointestinal sistemde, çoğunlukla *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* ve *Verrucomicrobia* gibi çeşitli bakteri ailelerinden oluşan heterojen ve dinamik bir mikrobiyal ekosistem bulunmaktadır [91]. Literatürde, çeşitli nedenlerle bağırsak mikrobiyotasında oluşan değişikliklerin

obezite, diyabet ve NAFLD gibi inflamatuvar durumla seyreden metabolik hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmektedir [92,93]. Obeziteyle mikrobiyota ilişkisini inceleyen çalışmalarda, obezite varlığında *Firmicutes* bolluğunun arttığı; *Bacteroidetes* bolluğunun ise azaldığı tespit edilmiştir [94,95]. Ayrıca, obez hayvanlara ait mikrobiyotanın zayıf farelere nakledilmesiyle hayvanların vücut ağırlığında artış olduğu belirlenmiştir [96]. Genetik olarak obez *ob/ob* farelerde, iki haftalık antibiyotik tedavisinin, çekal aerobik ve anaerobik bakteri sayısını azalttığı ve bu durumun glukoz toleransındaki artışının yanı sıra, karaciğer trigliserit ve plazma endotoksin seviyelerinde azalışa neden olduğu rapor edilmiştir [97]. Bu bulguların ardından birçok çalışma, obezite, tip 2 diyabet, ateroskleroz ve NAFLD gibi hastalıklarda *Firmicutes/Bacteroidetes* oranının arttığını göstermiştir [95]. Aynı zamanda, farelerde aşırı fruktoz tüketiminin vücut ağırlığını artırmadan bağırsak geçirgenliğinin artmasına, *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı ve gram negatif bakteri artışına bağlı olarak endotoksin seviyelerinde yükselmelere yol açtığı gösterilmiştir [98]. Yüksek fruktoz tüketiminin mikrobiyota disbiyozu ile birlikte bağırsak bütünlüğünün bozulmasına aracılık ettiği ve bu durum neticesinde endotoksin düzeylerinde artışa neden olarak bağırsak fonksiyon bozukluklarının gelişmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Literatür çalışmalarıyla tutarlı olarak, laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada %20 fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanların ileum dokularında makrofaj/lökosit infiltrasyonu, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve nükleer faktör kappa-B (NFκB) ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, çalışmada yüksek fruktoz tüketiminin occludin ve claudin-1'in ileal ekspresyonunu azalttığı ve bağırsak mikrobiyal bileşimini değiştirerek bağırsak geçirgenliğinin artmasına neden olduğu saptanmıştır. İntestinal sistemde oluşan bu değişiklikler artan plazma endotoksin seviyeleriyle ilişkilendirilmiştir [11].

Öte yandan, bağırsak ve karaciğer arasında hepatik portal sistem aracılığıyla anatomik bir bağlantı bulunduğu bilinmektedir. Bu durum, karaciğer dokusunun doğrudan bağırsakta oluşan değişikliklerden etkilenmesine neden olmaktadır [99]. Yapılan çalışmalar, yüksek fruktoz tüketiminin bağırsak dokusunda artan endotoksin düzeyine bağlı olarak hepatik inflamatuvar hasara neden olabileceğini göstermektedir [100]. Ayrıca, yüksek fruktoz tüketimiyle bağırsakta artan bakteriyel endotoksinler karaciğere ulaşarak Toll benzeri reseptör-4 (Toll-Like reseptör-4; TLR-4) bağımlı bir mekanizma aracılığıyla karaciğerdeki Kupffer hücrelerini aktive etmektedir [101]. Endotoksin tarafından TLR-4'ün indüklenmesiyle birlikte adaptör proteinleri MyD88 ve/veya interferon düzenleyici faktör 3

(Interferon regulated factor 3; IRF3) aracılığıyla NFκB aktive edilerek, çeşitli inflamatuvar sitokinler ve reaktif oksijen türlerinin düzeyleri artmaktadır [102]. İçme suyu içerisinde %30 fruktoz verilen farelerin bağırsak dokularında artan endotoksin miktarıyla ilişkili olarak karaciğer hasarı olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada fruktozun, sükroz, glikoz ve yapay tatlandırıcılara kıyasla portal endotoksin seviyeleri ve hepatik tümör nekroz faktörü-α (TNFα) ekspresyon seviyelerini daha fazla artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, çalışmada bağırsaktan absorbe edilmeyen antibiyotiklerin kullanımıyla fruktozun neden olduğu inflamatuvar durumun azaldığı ve bu duruma hepatik lipid birikimindeki azalmaların eşlik ettiği gösterilmiştir [100]. Ek olarak, yakın zamanda laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, fruktozla beslenen sıçanlarda artan plazma endotoksin, TNFα ve IL-1β seviyesinin, Kupffer hücrelerinin aktivasyonu ve hepatik TNFα, NFκB ve iNOS ekspresyonuyla ilişkili olduğu gösterilmiştir [11]. Tüm bu bulgular, yüksek fruktoz tüketiminin bağırsak mikrobiyotası ve endotoksin düzeyini değiştirerek inflamasyonu tetikleyebileceğini ve bu durumun hepatik dokuya yansiyabileceğini göstermektedir.

2.1.4. Fruktoz tüketimi

Günümüzde rafine şeker üretiminin artması ve yüksek fruktoz içeren mısır şurubu tüketiminin yaygınlaşmasıyla birlikte fruktoz tüketiminde ciddi artışların olduğu bildirilmiştir [103,104]. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ilave şeker içeren gıdalardan alınacak kalorinin, günlük alınan toplam kalorinin %10'unu aşmaması gerektiğini belirtmektedir [105]. Ancak, günümüzde bu şekerlerin kullanımlarında ciddi artışların görüldüğü Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde, bireylerin %15'inin günlük enerji gereksiniminin %25'ini karbonhidratlardan elde ettiği; ayrıca, genel popülasyonda tüketilen enerjinin %16'sının karbonhidratlardan karşılandığı hesaplanmıştır [106]. Bu veriler, DSÖ tarafından ifade edilen değerlerin oldukça üzerindedir.

Fruktoz meyvelerde bulunan ana karbonhidrat olması, bu şekerlerin uzun süre faydalı olarak kabul edilmesine neden olmuştur [107]. Ancak, yapılan çalışmalar yüksek fruktoz tüketiminin tip 2 diyabet, yağlı karaciğer hastalığı, hipertansiyon, karaciğer, pankreas ve kolon kanserleri gibi çok sayıda hastalığın ortaya çıkması ve ilerlemesinde önemli bir faktör olduğunu göstermektedir [105,108]. Ayrıca, tatlandırıcı olarak yüksek fruktozlu mısır şurubu kullanan ülkelerdeki diyabet prevalansının diğer ülkelere kıyasla %20 daha fazla olduğu gösterilmiştir [109]. Lübnan'da yapılan bir çalışmada, yetişkin (n=283)

bireylerin toplam fruktoz tüketiminin yaklaşık 51,4 g/gün olduğu belirlenmiştir. Çalışmada metabolik sendromlu katılımcılarda, fruktoz tüketiminin daha fazla olduğu da tespit edilmiştir [110]. Literatürde nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) olan bireylerde alkolsüz şekerli içecek ve meyve suyu tüketiminin sağlıklı bireylere kıyasla daha fazla olduğu gösterilmiştir [111,112]. Aynı zamanda, bireylerin çocukluk döneminden itibaren şekerle tatlandırılmış meşrubat tüketiminin yaygınlaşmasına bağlı olarak aldıkları fruktoz miktarının arttığı bildirilmektedir [113,114]. Hollanda’da 2007-2010 yılları arasında çocuk ve yetişkin bireyler üzerinde yapılan bir çalışmada, 9-13 yaşlarındaki kız çocuklarındaki fruktoz tüketiminin 56 g/gün, 14-18 yaş arasındaki erkek çocuklarındaki fruktoz tüketiminin ise 61 g/gün olduğu bildirilmiştir. Çalışmada çocuk ve yetişkin ayrımı yapılmaksızın tüm bireylerdeki ortalama günlük fruktoz tüketiminin ise 46 g olduğu tespit edilmiştir [113]. NAFLD hastalığı bulunan çocukların fruktoz tüketimlerinin incelendiği bir çalışmada, 5-9 yaş arasındaki NAFLD hastalığı bulunan çocukların, fazla kilolu ve normal kilolu çocuklara kıyasla toplam fruktoz tüketimlerinin (61 g/gün) daha yüksek olduğu belirlenmiştir [114]. Tüm bu veriler, fruktozun insan diyetinde önemli bir bileşen olduğunu ve yüksek fruktoz tüketiminin metabolik sendrom nedenlerinden biri olabileceğini göstermektedir.

2.2. Metabolik Sendrom

Hiperinsülinemi, insülin direnci, hiperglisemi, abdominal obezite ve hipertansiyonla karakterize olan metabolik sendrom, ilk kez 1988 yılında Reaven tarafından Sendrom X olarak tanımlanmıştır [115]. Metabolik sendromun tip 2 diyabet, yağlı karaciğer hastalığı, koroner kalp hastalıkları, hipertansiyon ve çeşitli kanser türlerinin ilerlemesine zemin hazırladığı bilinmektedir [116]. Günümüzde giderek yaygınlaşan yüksek kalorili beslenme ve hareketsiz yaşam tarzının ortaya çıkması bu sendromun prevalansının artmasına neden olmaktadır [2,117]. Metabolik sendrom prevalansının zaman içerisinde artmasıyla birlikte Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ; 1998), Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu (EGIR; 1999), Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Yetişkin Tedavi Paneli III (NCEP ATP III; 2001, 2005) ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (International Diabetes Federation; IDF; 2005) tarafından çeşitli tanı kriterleri belirlenmiştir [118]. Farklı sağlık otoriteleri tarafından belirlenen bu tanı kriterlerinde birliğin sağlanması amacıyla, 2009 yılında yapılan bir çalışmayla kan basıncı, bel çevresi, kan trigliserit ve glukoz değerlerindeki artma ile plazma yüksek dansiteli lipoprotein (high-density lipoprotein; HDL)-kolesterol

değerindeki azalmadan oluşan tanı kriterleri belirlenmiştir. Çizelge 2.1’de belirtilen beş tanı kriterinden en az üçünün bulunmasının kişide metabolik sendrom varlığını gösterdiği kararı alınmıştır [119].

Çizelge 2.1. Metabolik sendrom tanı kriterleri [119]

Tanı Kriteri	Değerler
Bel çevresi (Orta Doğu ve Akdeniz popülasyonu için)	≥94 cm (erkek) ≥80 cm (kadın)
Plazma trigliserit düzeyi	≥150 mg/dl
HDL-kolesterol düzeyi	<40 mg/dl (erkek) <50 mg/dl (kadın)
Kan basıncı değerleri	Sistolik ≥130 mmHg ve/veya Diastolik ≥85 mmHg
Açlık kan şekeri değeri	≥100 mg/dl

2012 yılında yapılan bir çalışmada, ABD’deki yetişkinlerde metabolik sendrom oranının %33 olduğu tespit edilmiştir [120]. Sonrasında, 2011 ve 2016 yılları arasında ABD’deki yetişkinler arasında metabolik sendromun yaygınlığının incelendiği bir çalışmada ise bu oranın %34,7’e yükseldiği kaydedilmiştir [121]. Metabolik sendrom komponentlerinden biri olan abdominal obezitenin dünya çapında prevalansının incelendiği 13,2 milyon katılımcı ve 288 çalışmayı içeren kapsamlı bir meta-analiz çalışmasında, dünya çapındaki abdominal obezite prevalansının %41,5 olduğu tespit edilmiştir. Yıllara göre yapılan karşılaştırmada ise 1985-2014 yılları arasında 15-40 yaşlarındaki katılımcılardaki abdominal obezite prevalansının %16,3’ten %33,9’a yükseldiği; 40 yaş üzeri katılımcılardaki ise %43,6’dan %57,9’a yükseldiği gösterilmiştir. Ayrıca, abdominal obezite prevalansının erkeklerde %25,3’ten %41,6’ya, kadınlarda ise %38,6’dan %49,7’ye yükseldiği bildirilmiştir [122]. Zaman içerisinde artan metabolik sendrom prevalansı, özellikle obezite ve tip 2 diyabet artışıyla paralellik göstermektedir. 2015 yılında yapılan bir çalışmada, 195 ülkede toplamda 604 milyon yetişkin ve 108 milyon çocuğun obez olduğu bildirilmiştir [123]. Bununla birlikte, nüfusun yaklaşık dörtte biri ise hastalığı farkında olmadan yaşamaktadır. Bu durum hastalığın prevalansının normalden daha yüksek olabileceğini düşündürmektedir [117]. IDF diyabet atlası verilerine göre, 2019 yılında %9,3 olarak kaydedilen küresel diyabet prevalansının, 2021 yılında %10,5 olarak kaydedildiği ve 2045 yılında bu oranın %12,2’ye ulaşacağı düşünülmektedir [124].

Ülkemizde 1998 yılında 20 yaş üzeri 24.788 katılımcıyla Türk Diyabet Vakfı koordinasyonu tarafından yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi (TURDEP-I) araştırmasında, diyabet prevalansının kadınlarda %8,0, erkeklerde %6,2 ve toplam popülasyonda ise %7,2 olduğu bildirilmiştir [125]. Sonrasında 26.499 katılımcıyla 540 merkezde yapılan TURDEP-II araştırmasında ise, toplam popülasyondaki diyabet prevalansının %13,7'ye ulaştığı gösterilmiştir [126]. Güncel bir araştırmada ülkemizde 2010-2021 yılları arasında prediyabeti bulunan kişi sayısında 3,3 milyon, diyabeti bulunan kişi sayısında ise 2,4 milyon artış olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, genel popülasyondaki prediyabet ve diyabet prevalansındaki artış oranı %24,3 ve %35,2 iken; yaşlılarda %46,5 ve %51,3 iken olarak kaydedilmiştir. Ayrıca, 2021 yılında prediyabet prevalansının kadınlarda (%32,6) erkeklere kıyasla (%25,2) daha yüksek olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde, diyabet prevalansının da kadınlarda (%17,1) erkeklere kıyasla (%14,2) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Öngörülere göre diyabet prevalansının 2030 yılında %17,5'e, 2045 yılında ise %19,2'ye ulaşacağı düşünülmektedir [127]. IDF raporuna göre, ülkemizde 20-79 yaşları arasındaki bireylerdeki tip 2 diyabet prevalansı 2011 yılında %8,1 iken, 2021 yılında %14,5'e ulaşmıştır. Aynı zamanda, ülkemizin Avrupa kıtası içerisinde en yüksek diyabet prevalansına sahip ülke olduğu belirtilmiştir [124]. Ayrıca, TURDEP I ve TURDEP II verilerine göre, 12 yıl içerisinde Türkiye'deki obezite prevalansının %22'den %36'ya ulaştığı tespit edilmiştir [128,129]. Obezite ve diyabet prevalansındaki artışa paralel olarak NAFLD prevalansının da arttığı bildirilmektedir. Yapılan tarama çalışmalarında, ülkemizdeki NAFLD prevalansının %30'un üzerinde olduğu gösterilmektedir [130].

2.3. Yüksek Fruktöz Diyeti ve Metabolik Sendrom İlişkisi

İlk kez 1980'li yıllarda Hwang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, sıçanlara %60 fruktoz içeren yem verilmesiyle hiperinsülinemi ve insülin direncine bağlı olarak hipertansiyon geliştiği gösterilmiştir [131]. Bu veriler doğrultusunda, sonraki yıllarda yüksek fruktoz tüketiminin metabolik etkilerinin incelenmesi amacıyla çok sayıda hayvan ve insan çalışması yapılmıştır [84]. Literatürde deney hayvanlarına 2-24 hafta boyunca yem içerisinde %60-66 ya da içme suyu içerisinde %10-30 oranında fruktoz verilmesiyle insülin direnci, hipertrigliseridemi, abdominal obezite, hipertansiyon ve karaciğer yağlanmasıyla karakterize olan metabolik sendrom modelinin oluştuğu tespit edilmiştir [84]. Rizkalla ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek fruktoz diyetiyle

beslenen sıçanların epididimal adipoz doku ağırlıkları ve plazma insülin düzeylerinin nişasta veya dekstroza beslenen sıçanlara kıyasla daha fazla yükseldiği tespit edilmiştir [132]. Literatürde üç hafta boyunca %10 fruktozla beslenen sıçanların vücut ağırlıklarında bir farklılık olmaksızın, kan glukoz, insülin ve trigliserit değerleri, visseral adipoz doku ağırlığı ve adiposit hücrelerinin hacminde artış olduğu gösterilmiştir [133,134]. Dokuz hafta boyunca %10'luk fruktoz çözeltisiyle beslenen sıçanların vücut ağırlıklarında bir değişiklik olmaksızın, plazma trigliserit düzeyleri ile visseral yağ dokularında artış olduğu tespit edilmiştir [135]. Sekiz hafta boyunca %20'lik fruktoz çözeltisi verilen sıçanların, vücut ağırlığında bir farklılık oluşmazken, metabolik parametreler ile birlikte epididimal ve mezenterik adipoz doku kütleleri ile adiposit hacimlerinin arttığı gösterilmiştir [136,137]. Benzer şekilde, %10 fruktoz içeren içme suyu verilen sıçanların plazma trigliserit düzeyleri ve visseral yağ dokularının (epididimal veya omental) arttığı, ancak vücut ağırlıklarının değişmediği saptanmıştır [7]. Başka bir çalışmada ise 8 hafta boyunca %10'luk fruktoz çözeltisiyle beslenen sıçanların kan glukoz, trigliserit ve HOMA-IR değerlerinin arttığı tespit edilmiştir [138]. Yüksek fruktoz diyetinin metabolik etkilerinin incelendiği güncel çalışmalardan birinde, 8 hafta boyunca %20'lik fruktoz çözeltisi verilen sıçanların kan glukoz ve trigliserit düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Aynı zamanda, bu çalışmada yüksek fruktoz tüketimiyle sıçanların hepatik trigliserit düzeylerinin de artırdığı belirlenmiştir [24]. Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, dişi ve erkek sıçanlara 24 hafta boyunca %10 fruktoz çözeltisi verilmesinin plazma insülin, trigliserit düzeyleri ve omental adipoz doku ağırlığını artırdığı gösterilmiştir [9]. Laboratuvarımızda yapılan güncel bir araştırmada ise 15 hafta boyunca %20'lik fruktozla beslenen erkek sıçanların vücut ağırlıklarının değişmediği ancak, plazma insülin ve trigliserit değerleri ile birlikte omental adipoz doku ağırlığının arttığı tespit edilmiştir [11]. Tüm bu veriler, yüksek fruktoz tüketiminin vücut ağırlığını değiştirmeksizin, büyük ölçüde hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi ve abdominal obeziteyle ilişkili olduğunu göstermektedir.

Yüksek fruktoz tüketimi ve adipozite arasındaki ilişki ilk kez Elliot ve arkadaşları tarafından yapılan bir insan çalışmasında ortaya konmuştur [139]. 10 hafta boyunca enerji gereksinimlerinin %25'inin glukoz veya fruktozla tatlandırılmış içeceklerden sağlandığı fazla kilolu ve obez bireylerden oluşan bir çalışmada, her iki gruptaki bireylerin kilo artışlarının benzer olduğu, ancak, fruktoz tüketen bireylerin abdominal ve visseral adipoz doku hacimleri ile plazma açlık glukoz, insülin ve trigliserit düzeylerinin glukoz tüketen bireylere kıyasla daha fazla arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, glukoz tüketen bireylerin

subkutan adipoz doku ağırlığının arttığı, ancak fruktoz tüketen bireylerin subkutan adipoz doku ağırlığında bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir. Mevcut çalışma, glukoz ve fruktoz tüketiminin bölgesel adipoz doku dağılımlarını farklı düzeyde etkilediğini ortaya koymaktadır [6]. Benzer şekilde, 14-18 yaş arası 559 katılımcıda yapılan bir çalışmada, fruktoz tüketimine bağlı olarak (fruktoz ve sükroz) bireylerdeki açlık kan glukozu, HOMA-IR, trigliserit, visseral yağlanma ve kan basıncında artış olduğu saptanmıştır [140]. Yüksek fruktoz içeren mısır şurubuyla tatlandırılmış içeceklerin genç yetişkinlerdeki etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada ise günde 500 ml'nin üzerinde fruktoz tüketen genç yetişkinlerin serum trigliserit düzeyleri ve bel çevresi çaplarında artış olduğu belirlenmiştir [141]. Abdominal obezitesi bulunan erkeklerde yapılan bir çalışmada, 12 hafta boyunca günlük 75 g fruktoz tüketiminin, vücut ağırlığı ve bel çevresinde nispeten düşük bir artışa neden olurken; visseral adipoz doku ağırlığı ve hepatik yağ içeriğini büyük ölçüde artırdığı tespit edilmiştir [142]. Obez çocuklarda yapılan başka bir çalışmada, 9 gün boyunca izokalorik fruktoz kısıtlaması uygulamasının plazma insülin ve trigliserit düzeyleri ile birlikte visseral ve hepatik yağ birikimini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir [143]. Sağlıklı genç katılımcılarda 16 gün boyunca fruktoz tüketiminin doza bağımlı (%10, %17,5 ve %25) etkilerinin incelendiği güncel bir çalışmada, günlük gereksiniminin %25'ini yüksek fruktozlu mısır şurubundan alan bireylerdeki hepatik lipid içeriğinin arttığı; insülin duyarlılığın ise azaldığı tespit edilmiştir [144]. Elde edilen bu veriler, yüksek fruktoz tüketiminin insanlarda belirgin düzeyde hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi ve abdominal adipoziteyle ilişkili olduğunu ve metabolik hastalıklara zemin hazırladığını göstermektedir.

Yüksek fruktoz tüketiminin, hepatik lipogenezin indüklenmesine ve ektopik yağ birikimine neden olduğu bilinmektedir [11,145,146]. Fruktoz, metabolizmasının insülinden bağımsız olarak gerçekleşmesi *de novo* lipogenezin düzenlenmesinde görev alan yağ asidi sentaz (fatty acid synthase; FASN), sterol düzenleyici element bağlayıcı protein (sterol regulatory element-binding protein; SREBP) ve karbonhidrata yanıt element bağlayıcı proteini (carbohydrate regulatory element-binding protein; ChREBP) doğrudan uyarabilmesi ve feedback mekanizmalarından etkilenmemesi nedeniyle lipogenezi güçlü bir şekilde uyarabilmektedir [7,11,147]. Çeşitli hayvan çalışmalarında, yüksek fruktoz tüketiminin adipoz dokuda FASN, SREBP1 ve ChREBP gen ekspresyonunu artırarak *de novo* lipogenezin indüklenmesine neden olduğu gösterilmiştir [11,148,149]. Yedi gün boyunca 3 g/kg fruktoz verilen sağlıklı yetişkinlerin incelendiği bir klinik çalışmada, fruktoz

tüketiminin bireylerde *de novo* lipogenez ve karaciğer trigliserit düzeyini artırdığı saptanmıştır [150]. Ayrıca, yüksek fruktoz tüketiminin adipoz dokuda trigliserit lipazı inhibe ederek adipositlerdeki lipid mobilizasyonunu engellediği bilinmektedir [7,151]. Konuyla ilgili laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, yüksek fruktozlu diyetle beslenen sıçanların adipoz dokularındaki lipoprotein lipazı inhibe eden anjiyopietin benzeri protein 8'in (angiopietin-like protein 8; ANGPTL8) gen ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir [152]. Tüm bu veriler, fruktoz tüketiminin lipojenik genleri uyarırken, lipolitik enzimleri inhibe ederek lipogeneze yol açtığını göstermektedir.

2.4. Yüksek Fruktoz Diyeti ve İnflamasyon İlişkisi

İnflamasyon, canlı vücudundaki mikrobiyal enfeksiyon, metabolik bozukluklar ve hücresel hasar gibi çeşitli durumlara karşı geliştirilen biyolojik yanıt olarak ifade edilmektedir [153]. İnflamatuvar durumun oluşmasına neden olan etmenler göz önünde bulundurulduğunda, inflamasyonun zararlı uyaranların ortadan kaldırılması ve hasarlı dokunun iyileşmesini sağlayan temel bir bağışıklık tepkisi olduğu görülmektedir [154]. Ancak, kronik hale gelen inflamatuvar durumun, birçok metabolik hastalığın patogenezinde yer aldığı bilinmektedir [155]. Aynı zamanda, kronik inflamatuvar durumun belirli bir bölgeyle sınırlı kalmayıp karaciğer, kalp, adipoz doku, böbrek, pankreas ve bağırsak gibi tüm organ sistemlerinde proinflamatuvar sitokin ve kemokin düzeylerinin artmasına ve böylece sistemik inflamasyona neden olduğu bilinmektedir [156]. Yüksek fruktoz diyetiyle beslenmeye bağlı ortaya çıkan metabolik sendromda inflamatuvar faktörlerin aktivasyonlarının arttığı bilinmektedir [10]. Yüksek fruktoz diyetinin epitelyal bariyer disfonksiyonu ve dekstran sülfat sodyum kaynaklı kolitin şiddeti üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen hayvanların kolon dokularında TNF α , IL-6 ve IL -1 β gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [157]. Deney hayvanlarına intragastrik olarak düşük (2.6 g/kg/gün), orta (5.3 g/kg/gün) ve yüksek doz (10.5 g/kg/gün) fruktoz verilmesinin pankreas ve kolon dokularındaki inflamatuvar durum üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, yüksek doz fruktoz tüketiminin pankreas ve kolon dokusunda inflamatuvar hücre infiltrasyonunu artırdığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda, çalışmada fruktozun tüm dozlarda kan IL-6 ve TNF α düzeylerini yükseltirken, antiinflamatuvar IL-10 düzeyini azalttığı gösterilmiştir [158]. Yüksek fruktoz diyetinin kolon dokusundaki inflamasyon parametreleri üzerine etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada, %60 fruktoz ve %10 yer fıstığı yağı içeren bir diyetle 30 hafta boyunca

beslenen sıçanların kolon dokularında TNF α ve IL-6 gen ekspresyonlarının arttığı belirlenmiştir [159]. Benzer şekilde, Jena ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek fruktoz ve sükröz diyetiyle 60 gün boyunca beslenen sıçanların distal ileum ve proksimal kolon dokularında NF κ B gen ekspresyonlarının arttığı belirlenmiştir [160]. Laboratuvarımızda yapılan güncel bir çalışmada, 15 hafta boyunca %20 fruktoz içeren içme suyu verilen sıçanların, ileum dokularında makrofaj/lökosit infiltrasyonu ve NF κ B ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir [11].

Diğer taraftan, bağırsak ve karaciğer arasında bulunan hepatik portal sistem aracılığıyla karaciğer dokusunun doğrudan bağırsakta oluşan değişikliklerden etkilendiği bilinmektedir [99]. Yapılan çalışmalar, yüksek fruktoz tüketimiyle bağırsak dokusunda ortaya çıkan inflamatuvar durumun, intestinal endotoksin düzeyi ve bariyer geçirgenliğini artırarak hepatik dokuya yansıyabileceğini göstermektedir [100]. Yüksek fruktoz, glukoz ve yağlı diyetle 12 hafta boyunca beslenen sıçanların kolon ve karaciğer dokularındaki inflamasyon parametrelerindeki değişiminin incelendiği bir çalışmada, her üç diyet uygulamasında da sıçanların kolon dokularındaki TNF α ve IL-1 β ekspresyonlarındaki artışa, karaciğerdeki MCP-1, TLR4, TNF α ve IL-1 β ekspresyonları artışının eşlik ettiği gösterilmiştir [88]. Benzer şekilde, içme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen farelerin kan endotoksin düzeyi ve hepatik TNF α , IL-6 ve IL-1 β düzeylerinin arttığı saptanmıştır [161]. Dokuz hafta boyunca içme suyu içerisinde %20 fruktoz verilen hayvanlarda yapılan başka bir çalışmada ise, hayvanların karaciğer dokularındaki NF κ B yolağının aktive olmasıyla birlikte TNF α ve IL-1 β düzeylerinin yükseldiği görülmüştür [162].

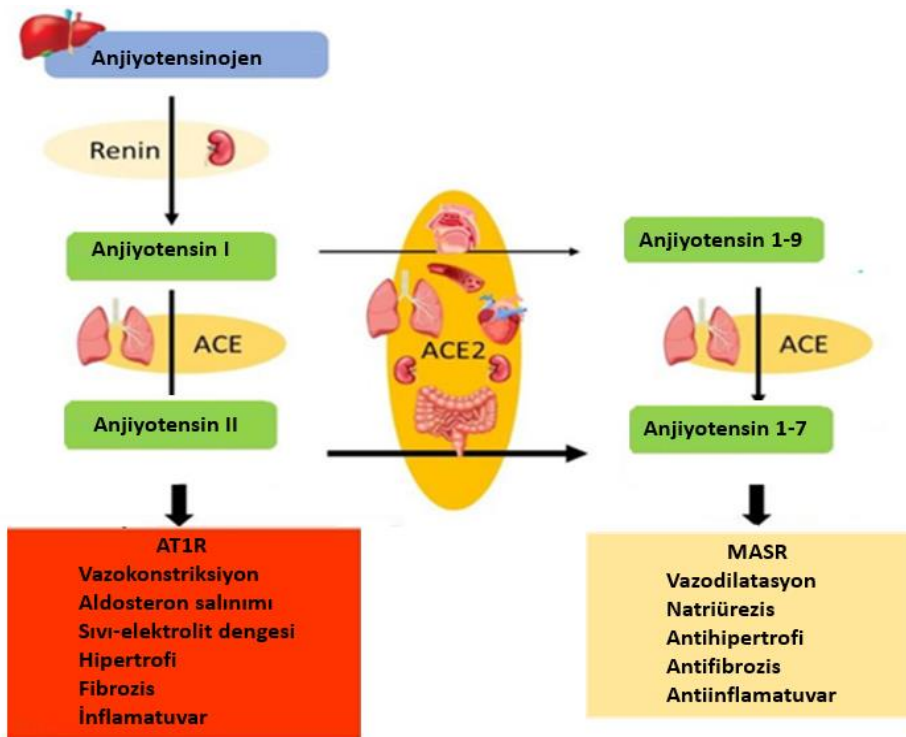
İnflamasyon oluşumunda, proinflamatuvar sitokinlerin yanı sıra, ‘inflamazom’ olarak adlandırılan multimerik protein komplekslerinin de görev aldığı bilinmektedir. Bu inflamazomlardan biri olan ve glukoz ya da serbest yağ asitleri tarafından aktive edilerek IL-1 β oluşumunu indükleyen NOD-like reseptör protein 3 (NLRP3) inflamazomu, herhangi bir uyarın bulunmaması durumunda sitoplazmada inaktif formda bulunmaktadır [163]. Ancak, ürik asit veya hücre dışı ATP moleküllerinin artması gibi durumlarda, sitoplazmada inaktif formda tutulan NLRP3 serbest bırakılarak aktive olmaktadır. Aktive olan bu inflamatuvar bileşen inflamasyon ve programlı hücre ölümünün sağlanmasında önemli görevleri bulunan caspase-1’in hücre içine alınmasını sağlamaktadır. Aktive edilmiş caspase-1 ise öncü formda bulunan IL-1 β ’nın aktif forma dönüşümünü katalizleyerek inflamasyonun ilerlemesine neden olmaktadır [164]. Yüksek fruktoz

diyetinin inflamatuvar parametrelerden biri olan NLRP3 inflamazomu aktivasyonunu artırdığı bilinmektedir [165]. Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin yavrularının ileum dokularındaki NLRP3 inflamazom parametrelerinin incelendiği bir çalışmada, obez annelerin yavrularının ileum dokularında NLRP3, caspase-1 ve IL-1 β protein ekspresyonlarının arttığı saptanmıştır. Aynı zamanda, çalışmada bu farelerin kan TNF α düzeyi ve ileum dokularındaki IL-18 ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir [166]. Yirmi hafta boyunca yem içerisinde %65 fruktoz verilen sıçanların karaciğer dokularında NLRP3, ASC ve caspase-1 ile birlikte TNF α , IL-1 β , IL-6 ve IL-33 gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [167]. Benzer şekilde, fruktozdan zengin diyetle 10 hafta boyunca beslenen sıçanların karaciğer dokularında NLRP3, ASC ve caspase-1 protein ekspresyonlarında artış olduğu tespit edilmiştir [168]. Sonuç olarak, yüksek fruktoz diyetiyle beslenmenin çeşitli inflamatuvar yolları aktive ettiği ve inflamatuvar duruma yol açtığı görülmektedir.

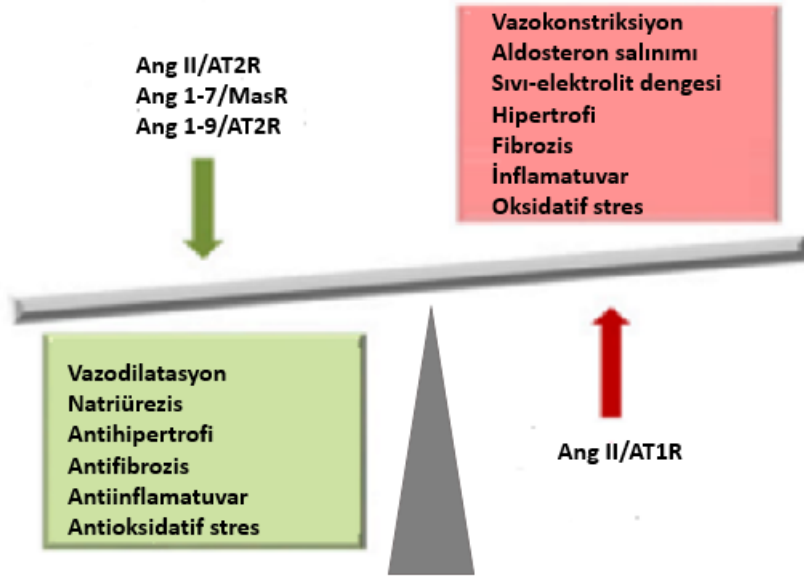
2.5. Yüksek Fruktoz Diyeti ve Renin-Anjiyotensin Sistemi İlişkisi

Renin-anjiyotensin sistemi (renin-angiotensin system: RAS) kan basıncı ve sıvı-elektrolit dengesinin sağlanması açısından kritik önem taşıyan bir sistemdir [18]. Bu sistemin öncü bileşeni olan anjiyotensinojen, karaciğerde üretildikten sonra, böbrekte bulunan jukstaglomerüler hücrelerden sentezlenen renin enzimi tarafından anjiyotensin I (Ang I)'e dönüştürülmektedir. Ang I ise anjiyotensin dönüştürücü enzim (angiotensin converting enzyme; ACE) aracılığıyla anjiyotensin II (Ang II)'ye dönüştürülmektedir. RAS sisteminde önemli görevleri bulunan Ang II, anjiyotensin II tip 1 reseptörleri (AT1R)'ne bağlanarak vazokonstriksiyon, aldosteron salınımı, sıvı-elektrolit dengesi, hücre proliferasyonu ve fibrozis gibi çeşitli etkilerin ortaya çıkmasına aracılık etmektedir. Ang II'nin bu etkilerinin yanı sıra, inflamatuvar yollar ve oksidatif stresin aktive edilmesi gibi pek çok biyolojik işlevi daha bulunmaktadır. Ang II'nin, diğer bir reseptörü olan anjiyotensin II tip 2 reseptörleri (AT2R) ise AT1R üzerinden ortaya çıkan vazokonstriksiyon, aldosteron salınımı, sıvı-elektrolit dengesi, hücre proliferasyonu ve fibrozis gibi etkileri tersine çevirerek bu etkilerin dengelenmesini sağlamaktadır. Diğer taraftan, Ang I ve Ang II, anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (angiotensin converting enzyme 2; ACE2) aracılığıyla sırasıyla anjiyotensin 1-9 (Ang 1-9) ve anjiyotensin 1-7 (Ang 1-7)'ye dönüştürülmektedir. Ang 1-9, natriürez ve nitrik oksit üretimini aktive ederek kan basıncını düşürücü etkiler oluşturmaktadır. Aynı zamanda, bu bileşenin

antiinflamatuvar ve antimitojenik etkileri de bulunmaktadır. Ang 1-7 ise Mas reseptörleri (MasR)'ne bağlanarak vazodilatör, antiinflamatuvar ve antifibrotik etkiler oluşturmaktadır [18,169]. RAS komponentleri ve bu komponentlerin etkileri Şekil 2.3'te gösterilmiştir. Tüm bu etkiler göz önünde bulundurulduğunda, RAS sistemi bileşenlerinden ACE/ACE2 enzim dengesinin sağlanmasının; kan basıncı, hücre büyümesi, fibrozis oluşumu, inflamasyon ve oksidatif stresin düzenlenmesi açısından kritik bir öneme sahip olduğu görülmektedir. RAS komponentleri üzerinden ortaya çıkan etkilerin dengelenmesi Şekil 2.4'te şematize edilmiştir.



Şekil 2.3. RAS komponentleri ve bu komponentlerin etkileri [referans [170]'ten uyarlanmıştır]



Şekil 2.4. RAS komponentleri üzerinden ortaya çıkan etkilerin dengelenmesi [referans [18]'den uyarlanmıştır]

Yapılan çalışmalar, yüksek fruktoz tüketimine bağlı olarak RAS bileşenleri ekspresyonlarının değiştiğini göstermektedir [171]. Konuyla ilgili yapılan bir çalışmada, %66 fruktoz içeren yemle beslenen sıçanlarda plazma trigliserit düzeyi, insülin direnci, kan basıncı ve adipoz doku AT1R gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [19]. Yüksek fruktoz tüketiminin aort dokusundaki RAS bileşenleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, içme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen sıçanların plazma insülin ve trigliserit düzeyi ile bu dokudaki AT1R gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [20]. Sekiz hafta boyunca %60 fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanlarda, glukoz toleransının bozulduğu ve adipoz dokudaki Ang II düzeyinin arttığı gösterilmiştir [21]. Kardiyak ve aortik RAS bileşenlerinin fruktoz tüketimine bağlı erkek ve dişi sıçanlardaki etkilerinin incelendiği bir çalışmada, 9 hafta boyunca %10 fruktoz çözeltisi verilen erkek sıçanların bu dokulardaki ACE ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Çalışmada erkek sıçanların kardiyak AT1R ekspresyonunun arttığı, ACE2 ve AT2R ekspresyonlarının ise azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, dişi sıçanların aort dokusundaki AT1R ekspresyonunun da arttığı tespit edilmiştir [26]. Benzer şekilde, yüksek fruktoz tüketiminin hepatik dokudaki RAS bileşenleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise 8 hafta boyunca %20 fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların kan glukoz ve trigliserit düzeyleri ile birlikte hepatik Ang II ekspresyonlarında artış olduğu gösterilirken; ACE2, Ang 1-7 ve MasR ekspresyonlarının azaldığı tespit edilmiştir [24]. Giani ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, %10 fruktoz içeren

içme suyuyla 6 hafta boyunca beslenen sıçanların plazma insülin ve Ang II düzeylerindeki artışa sol ventrikül fibrozisi gelişiminin eşlik ettiği gösterilmiştir. Çalışmada, sıçanlara deneyin son iki haftasında Ang 1-7 verilmesinin, plazma insülin ve Ang II düzeylerini azaltırken, kalp hipertrofisi ve fibrozisi iyileştirdiği tespit edilmiştir. Bu durum, Ang 1-7'nin yüksek fruktoz tüketimiyle ortaya çıkan insülin direncinde koruyucu etkilerinin olduğunu göstermektedir [172]. Benzer şekilde, Ang 1-7'nin metabolik parametreler üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise yüksek fruktoz ve düşük magnezyum içeren diyetle beslenen sıçanlara Ang 1-7 verilmesinin, kan trigliserit düzeyini azalttığı ve insülin duyarlılığını iyileştirdiği gösterilmiştir. Çalışmada, Ang 1-7 verilen sıçanların kan aldosteron düzeyleri ile epididimal adiposit hacminin de azaldığı saptanmıştır [173]. Bu veriler, yüksek fruktoz diyetiyle oluşturulan metabolik sendromda insülin direnci, kardiyovasküler bozukluk ve NAFLD şiddetindeki artışa paralel olarak RAS aktivitesinin arttığını ve artan RAS aktivasyonunun metabolik parametreleri etkilediğini göstermektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, fruktoz tüketimine bağlı ortaya çıkan metabolik sendromda, RAS bileşenlerinin bu etkilerinin, çeşitli RAS inhibitörleri kullanılarak araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır [174-182]. Bu amaçla, ilk kez Imura ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, %66 fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanlarda ACE inhibitörü delapril ve anjiyotensin reseptörü antagonisti TCV-116 uygulamasının sıçanlardaki insülin direncini azalttığı saptanmıştır [174]. Sonrasında, %60 fruktoz içeren yemle 6 hafta boyunca beslenen sıçanların insülin duyarlılığının azaldığı, kan basıncının ise arttığı gösterilmiştir. Çalışmada, sıçanlara ACE inhibitörü temokapril ve AT1R antagonisti CS-866 verilmesinin kan basıncını düşürürken, insülin duyarlılığını artırdığı gösterilmiştir [175]. Aort dokusundaki RAS bileşenlerinin fruktoz tüketimine bağlı etkilerinin incelendiği bir çalışmada, fruktozla beslenen sıçanların kan glukoz, insülin, kolesterol, trigliserit ve süperoksit anyonu düzeyleri ile birlikte Ang II aracılı kasılma yanıtlarının arttığı saptanmıştır. Bununla birlikte, sıçanlara losartan verilmesinin bu etkileri azalttığı gösterilmiştir [176]. Fruktozdan zengin bir diyetle 21 gün boyunca beslenen sıçanlarda, olmesartan tedavisinin yüksek fruktoz tüketimiyle artan sistolik ve diyastolik kan basıncını belirgin şekilde azaltırken, insülin duyarlılığını artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, çalışmada fruktoz tüketiminin trigliserit salgılanma oranının yaklaşık iki kat artırdığı gösterilirken, olmesartan tedavisinin bu oranı eski haline getirdiği bulunmuştur. Olmesartanın bu etkilerinin kontrol gruplarında gözlenmemesi, bu ilacın fruktoz tüketimiyle ortaya çıkan insülin direncini ve hipertrigliseridemi durumunu düzenlediğini ve bu etkilerinin hipotansif etkisinden bağımsız olduğunu göstermektedir [177]. Benzer

şekilde, 4 hafta boyunca fruktozdan zengin diyetle beslenen sıçanlara, AT1R antagonisti losartan ve AT2R antagonisti PD123319 uygulamasının metabolik parametreler üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, losartan verilen gruplarda fruktoz tüketimiyle artan kan basıncı ve glukoz düzeyinin azaldığı gözlenirken; PD123319 verilen sıçanlarda bu parametrelerin arttığı tespit edilmiştir. Her iki ilacın birlikte verilmesi ise kan basıncında belirgin bir değişiklik oluşturmamıştır. Bu durum, AT2R aktivasyonunun, fruktoz tüketiminin kan basıncı ve glukoz düzeyinde oluşturduğu bozuklukları dengeleyebileceğini göstermektedir [178]. Yüksek fruktoz tüketiminin aort ve kalp dokularındaki RAS bileşenleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, %60 fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanların kan basınçları ile bu dokulardaki AT1R gen ekspresyonunun arttığı saptanmıştır. Çalışmada, sıçanlara ACE inhibitörü kaptopril uygulamasıyla kan basıncı ve bu dokulardaki AT1R gen ekspresyonunun azaldığı tespit edilmiştir [179]. Fruktozdan zengin diyetle beslenen sıçanların plazma insülin ve trigliserit düzeyi ile kan basıncının arttığı, telmisartan tedavisinin ise bu parametreleri azalttığı gösterilmiştir [180]. Benzer şekilde, 8 hafta boyunca %60 fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanlara renin inhibitörü aliskiren verilmesinin kan glukoz ve insülin düzeylerini azalttığı gösterilmiştir [181]. Yüksek fruktoz diyetiyle oluşturulan metabolik sendromda, renin inhibitörü ve anjiyotensinojen reseptör blokörünün etkilerinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada ise, hem aliskiren hem de telmisartan uygulamasının sıçanların kan glukozu, plazma insülini, HOMA-IR düzeyi ve kan basıncı ile birlikte hepatik NFκB ve TNFα seviyelerini de azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, çalışmada her iki ilacın da fruktoz tüketimiyle azalan hepatik GLUT2 gen ekspresyonlarını artırdığı gösterilmiştir [182]. Bu bulgular, yüksek fruktoz tüketimine bağlı oluşan metabolik sendromda RAS yolağının herhangi bir bileşeninin inhibe edilmesinin, metabolik parametreler ve insülin direncini azalttığını göstermektedir.

2.6. Koronavirüsler

Koronavirüsler, ilk olarak 1937 yılında Beaudette ve Hudson tarafından tavuklardan izole edilen ve solunum yolları enfeksiyonuna neden olan bir virüs ailesi olarak tanımlanmıştır [183]. İlerleyen dönemlerde farklı hayvan koronavirüslerinin belirlenmesiyle birlikte 1965 yılında Tyrrell ve Bynoe tarafından soğuk algınlığı teşhisi bulunan bir çocuğun trakea kültürü incelenerek ilk insan koronavirüsü (B814) tespit edilmiştir [184]. Bu virüsler, *Nidovirales* takımı içinde yer alan *Coronaviridae* ailesinin *Coronavirinae* alt ailesine ait

üyelerdir [185]. Bu alt aile alfakoronavirüs, betakoronavirüs, gamakoronavirüs ve deltakoronavirüs olmak üzere 4 farklı cinsten oluşmaktadır. Alfakoronavirüs ve betakoronavirüs cinsine ait olan suşlar yarasalardan köken alarak çoğunlukla memelileri enfekte ederken, gamakoronavirüs ve deltakoronavirüs cinsine ait suşlar kuşlardan köken alırlar ve hem kuş hem de memeli türlerini enfekte edebilme özelliğine sahiptirler [186].

Bu virüsler, zarf yüzeyinde taç benzeri glikoprotein yapıları bulundurmaları nedeniyle “korona” olarak adlandırılmaktadırlar [187]. Koronavirüsler 100-160 nm çapında, 27-32 kilobaz büyüklüğünde, zarflı ve segmentsiz virüslerdir. Retrovirüslerin yaklaşık üç katı büyüklüğünde olan bu suşlar, bilinen en büyük RNA virüslerindendirler [188-190]. Bu virüslerin tek sarmallı RNA genomunun 5'-terminal bölgesinde viral transkripsiyon ve replikasyonda görev alan 16 yapısal olmayan protein kodlanmaktadır. Viral genomun 3'-terminal bölgesinde ise zar (M), zarf (E), nükleokapsid (N) ve spike (S) proteinlerini içeren yapısal proteinler kodlanmaktadır. Dört yapısal proteine ek olarak, koronavirüs genomları ayrıca bir dizi yardımcı proteinler de kodlamaktadır ve bu yardımcı proteinlerin pek çoğunun rolleri tam olarak aydınlatılmamıştır. Ancak, bazı yardımcı proteinlerin virülansı arttırdığı bilinmektedir [189,191].

Çin'in Guangdong eyaletinde 2002-2003 yıllarında ciddi pnömonilere neden olan ve Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüsü (Severe Acute Respiratory Syndrome; SARS-CoV) olarak adlandırılan yeni bir koronavirüs etkeni ortaya çıkmıştır. Bu viral etkenin çeşitli hayvan türlerinin ticaretinin yapıldığı Guangdong eyaletindeki bir hayvan pazarından köken aldığı bildirilmiştir. Bu virüsün neden olduğu hastalık kısa bir süre içinde geniş bir alana yayılarak ciddi kayıplara neden olmuştur. SARS-CoV salgını neticesinde 919'u (%11) ölümcül olmak üzere toplam 8422 vaka kaydedilmiştir [192]. Bu salgının ardından 2012 yılında Suudi Arabistan'da Orta Doğu Solunum Sendromu Koronavirüsü (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus; MERS-CoV) olarak adlandırılan başka bir koronavirüs etkeni tanımlanmıştır. Hala devam etmekte olan bu salgına ilişkin 2000'den fazla kayıtlı vakanın bulunduğu bilinmektedir. Bu salgınla ilgili yayınlanan raporlar, MERS-CoV viral etkenin insanlar tarafından bilinen en yıkıcı virüslerden biri olduğunu göstermektedir [193]. Aralık 2019 tarihinde ise günümüz dünyası yeni bir koronavirüs salgınıyla karşı karşıya gelmiştir. Çin'in Wuhan şehrinde ortaya çıkan bu yeni koronavirüs üyesi SARS-CoV ve MERS-CoV virüsleriyle yüksek benzerliğinden dolayı Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs 2 (Severe Acute

Respiratory Syndrome Coronavirus 2; SARS-CoV-2) olarak adlandırılmıştır [194]. 770 milyondan fazla kayıtlı vakasının bulunduğu bu viral etken, çok kısa sürede tüm dünyada hızla yayılarak oldukça tehlikeli bir koronavirüs salgınının meydana gelmesine neden olmuştur [195]. Geçmişten günümüze çeşitli koronavirüs salgınları yaşanmış ve bu salgınlar dünya üzerinde ciddi kayıplara neden olmuştur.

2.6.1. SARS-CoV-2

Çin'in Hubei eyaletinde bulunan Wuhan şehrinde Aralık 2019 tarihi itibarıyla nedeni bilinmeyen çeşitli pnömoni vakaları bildirilmeye başlanmıştır. DSÖ 7 Ocak 2020 tarihinde nedeni bilinmeyen bu pnömoni vakalarının yeni bir koronavirüs etkeniyle ilişkili olduğunu bildirmiştir. Bu yeni koronavirüs etkeni, DSÖ tarafından 2019-Yeni Koronavirüs (2019-nCoV) olarak adlandırılırken, Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi bu etkeni SARS-CoV-2 olarak isimlendirmiştir. Bu etkenin neden olduğu hastalık ise COVID-19 olarak adlandırılmıştır [196,197]. Ülkemizde 11 Mart 2020 tarihinde ilk COVID-19 vakası bildirilirken, 17 Mart 2020 tarihinde COVID-19 hastalığıyla ilişkili ilk ölüm meydana gelmiştir. DSÖ'nün 30 Kasım 2023 tarihli güncel verilerine göre dünyada 772.052.752 COVID-19 vakası ve 6.985.278 COVID-19 hastalığıyla ilişkili ölüm olduğu bildirilmiştir. Türkiye'de ise aynı tarihli verilere göre 17.004.677 COVID-19 vakası ve 101.419 COVID-19 hastalığıyla ilişkili ölüm meydana geldiği bildirilmiştir [195].

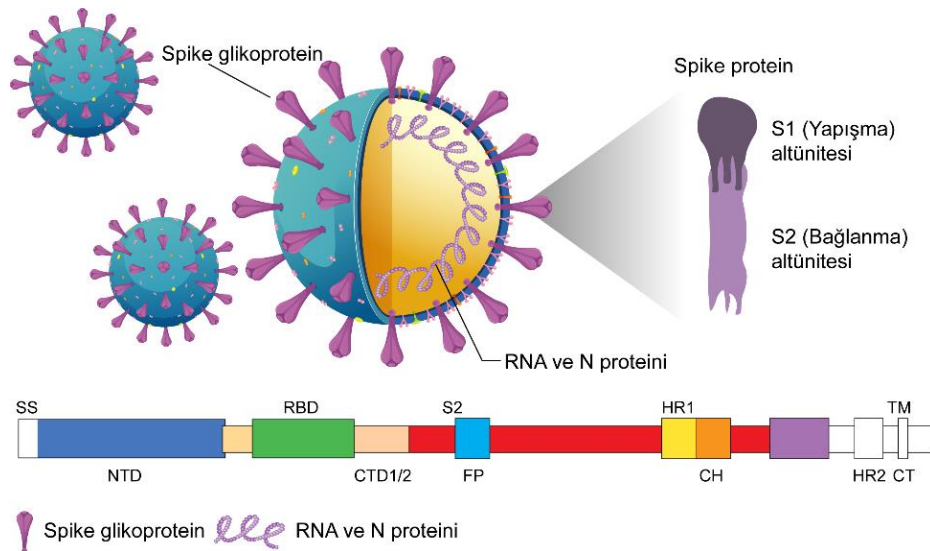
Zarflı, segmentli ve tek sarmallı RNA genomu içeren SARS-CoV-2, Coronaviridae ailesinin betakoronavirüs cinsine ait bir koronavirüs üyesidir [31]. Genetik analizler sonucunda, bu virüsün daha önceki yıllarda ciddi pandemilere neden olan SARS-CoV ve MERS-CoV viral etkenleriyle sırasıyla %79 ve %51,8 oranında yapısal benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir [198]. Bu koronavirüslerde olduğu gibi SARS-CoV-2 virüsü de konağın transkripsiyon ve translokasyon sistemini kullanarak viral yaşam döngüsünün sağlanması için gerekli yapısal ve yapısal olmayan proteinlerin sentezini gerçekleştirmektedir [31]. SARS-CoV-2 viral genomu toplamda 14 adet farklı okuma çerçevesi (open reading frame; ORF) bulundurmaktadır. Genomun 5' ucundan başlayarak üçte ikilik bölümünü oluşturan ORF1a ve ORF1ab alanları hücresel ribozomlar tarafından poliprotein-1a ve poliprotein-1ab olmak üzere iki önemli poliprotein kodlanmasını sağlamaktadır [31,199]. Oluşan bu iki poliprotein, papain benzeri proteaz (papain like protease; PLpro) ve ana proteaz (main protease; Mpro) gibi çeşitli proteazlar tarafından 16

farklı yapısal olmayan proteine (Nsp1-16) dönüştürülmektedir. Bu proteinler, replikasyon-transkripsiyon kompleksini meydana getirerek virüsün replikasyon döngüsünün tamamlanmasını sağlamaktadır [200]. Bununla birlikte, SARS-CoV-2 viral genomu çeşitli yardımcı proteinlerle birlikte virüsün konak içine girişi ve virülansının sağlanmasında önemli görevler üstlenen yapısal proteinleri de kodlamaktadır. Bu yapısal proteinlerden membran (M), zarf (E), nükleokapsid (N) ve spike (S) proteinleri viral yayılımın sağlanmasında etkin rol almaktadır [197, 201]. N proteini, sarmal yapıdaki nükleokapsidin oluşmasında görev almaktadır. Enfeksiyon sırasında yüksek düzeyde eksprese edilen bu protein, viral replikasyonu kolaylaştırmak için viral RNA ile birlikte konakçı hücreye girerek, immünojenik etkiler meydana getirmektedir [202]. Koronavirüs yapısındaki en yüksek ekspresyon düzeyine sahip protein olan M proteini, virionun şeklini ve boyutunu korumakla görevlidir [36]. Bu protein, birçok proteinin işlenmesi ve transkripsiyon sonrası modifikasyonlarının yapılması gibi yapısal etkilerinin yanı sıra, virüs partiküllerinin tomurcuklanması ve salınmasında da önemli görevler üstlenmektedir [203]. Bununla birlikte, M proteininin interferon 1 üretimini inhibe ederek bağışıklık sistemini baskılayıcı etkileri de bulunmaktadır. E proteini, virüsün M proteinine benzer şekilde viral tomurcuklanma ve virülansın sağlanmasıyla görevli başka bir yapısal proteindir [204]. Aynı zamanda, bu protein çeşitli inflamasyon kaskadlarını indükleyerek virüsün patojenitesini de artırmaktadır [36]. S proteini ise SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişinden sorumlu temel yapısal proteindir. Viral S proteinleri konak hücredeki kendi reseptörlerine bağlanarak viral girişi başlatmaktadırlar. Bu etkileriyle virüsün yayılımında önemli rol oynamaktadırlar [205].

2.6.2. SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişi

SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişi, virüsün hücre yüzeyinde bulunan S proteinleri aracılığıyla sağlanmaktadır. Bu proteinlerin her biri S1 ve S2 olmak üzere iki fonksiyonel alt birimden oluşmaktadır. Bu fonksiyonel birimlerden S1 alt birimi, reseptör bağlanmasından sorumlu iken, S2 alt birimi membran füzyonuna aracılık etmekle görevlidir [36]. Viral S proteininin S1 alt birimi; karboksi-terminal alan 1 (carboxy terminal domain 1; CTD1), karboksi-terminal alan 2 (carboxy terminal domain2; CTD2), amino-terminal alan (amino terminal domain; NTD) ve reseptör bağlayıcı alan (receptor binding domain; RBD) olmak üzere toplam 4 alandan oluşmaktadır. SARS-CoV-2 viral girişinin başlatılmasında RBD alanı etkin rol oynarken, NTD alanı viral S proteinlerinin

reseptöre bağlanmasını kolaylaştırıcı etkiler göstermektedir [36]. RBD ve NTD alanları arasındaki bağlantı şeridinin sağlanmasına katkıda bulunan CTD1 ve CTD2 alanları ise viral giriş için önemli etkileri bulunan S1/S2 yarıma bölgelerini içeren alanlardır. SARS-CoV-2 virüsünün membran füzyonundan sorumlu olan S2 alt birimi ise füzyon peptidi (fusion peptide; FP), heptad tekrarı 1 (heptad recurrence 1; HR1), merkezi alan (central domain; CH), heptad tekrarı 2 (heptad recurrence 2; HR2), transmembran alanı (transmembrane domain; TM) ve sitoplazmik kuyruk (cytoplasmic tail; CT) olmak üzere toplam 6 bölümden oluşmaktadır [36]. Viral S proteininin S2 alt biriminde bulunan bu 6 farklı bölüm, SARS-CoV-2 virüsüne ait S proteinlerinin konak hücre membranında bulunan reseptörlere bağlanmasıyla birlikte virüs yapısında çeşitli konformasyonel değişiklikler oluşturarak viral füzyonun gerçekleşmesini sağlamaktadır [36,206]. Bu fonksiyonel alanlara ek olarak, viral S proteininin yapısında S1/S2 ve S2' olmak üzere iki farklı bölünme bölgesi bulunmaktadır. Bu bölünme bölgelerinden S1/S2 bölünme bölgesi, S1 ve S2 alt birimleri arasında yer alırken, S2 bölünme bölgesi FP ve HR1 bölgeleri arasında lokalizedir. Konak hücreye ait çeşitli proteazlar tarafından S1/S2 ve S2' bölünmeleri gerçekleştirilerek, SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişi kolaylaştırılmaktadır [36,207]. SARS-CoV-2 virüsünün yapısı Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5. SARS-CoV-2 virüsünün yapısı [referans [208]'den uyarlanmıştır]

SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişi, viral S proteininin konak hücre membranında bulunan ve virüsün temel reseptörü olan ACE2'ye bağlanmasıyla başlamaktadır [206]. SARS-CoV-2 virüsüne ait S proteinlerinin ACE2 reseptörlerine bağlanmasının ardından, çeşitli konak hücre proteazları aracılığıyla S1/S2 ve S2' olmak üzere iki önemli proteolitik

bölünmeye uğraması gerekmektedir. Bu proteolitik bölünmelerin birçoğu konak hücre membranında ACE2 enzimiyle birlikte bulunan transmembranal proteaz serin 2 (transmembrane serine protease 2; TMPRSS2) tarafından gerçekleştirilmektedir. TMPRSS2 aracılığıyla gerçekleştirilen S1/S2 ve S2' proteolitik bölünmeleri sonucunda, S proteinin üzerinde birtakım konformasyonel değişiklikler oluşarak virüsün konak hücre içine girişi kolaylaştırılmaktadır [35]. Konak hücre membranında bulunan ve SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişinde önemli etkileri bulunan bir diğer proteaz ise bir disintegrin ve metaloproteaz 17 (a disintegrin and metalloprotease 17; ADAM17)'dir. Bu proteaz, virüsün konak hücre içine girişinin başlatılmasını sağlayan transmembranal ACE2 enziminin, dolaşımda çözünür forma dönüşümünü katalizlemektedir. Bu şekilde, transmembranal ACE2 düzeyini azaltarak viral yayılımı önleyici etkiler meydana getirmektedir [43]. Bununla birlikte; hücre membranında yer alan ve birçok proteolitik bölünmenin gerçekleşmesinde önemli görevleri bulunan ADAM17, TNF α dönüştürücü enzim (TACE) olarak da tanımlanmaktadır. Bu durum neticesinde, çeşitli proinflatuvar sitokin aktif hale geçmekte ve mevcut inflamatuvar durum şiddetlenmektedir [209]. SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücre içerisine asıl giriş yeri olan akciğer dokusunda ACE2, TMPRSS2 ve ADAM17 ekspresyonlarının oldukça yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir [41]. Yapılan çalışmalar, bu proteinlerin ekspresyonlarının akciğer dokusuyla sınırlı kalmayıp ince bağırsak, karaciğer, kalp, böbrek dokularında da bulunduğunu göstermektedir [36,210,211]. Özellikle, yapılan çalışmalarda bağırsak enterositlerinde ACE2, TMPRSS2 ve ADAM17 ekspresyon düzeylerinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir [50,211,212]. İntestinal sistemde bol miktarda eksprese edilen ACE2 enziminin önemli işlevlerinden biri de bağırsak epitel hücrelerinin luminal yüzeyinde bulunan sodyum bağımlı nötr amino asit taşıyıcısı 1 (sodium-dependent neutral amino acid transporter; B0AT1)'in ekspresyonunu sağlamasıdır. SARS-CoV-2 tarafından bu enzimin bloke edilmesi B0AT1 ekspresyonunu azaltarak, amino asit emilimini bozmakta ve gastrointestinal komplikasyonlara neden olabilmektedir [48].

SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişinde ACE2'nin rolü

SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücreye girişine virüsün hücre yüzeyinde bulunan S proteinleri aracılık etmektedir [206]. Bu virüs, S proteinlerinin S1 alt ünitelerinde yer alan RBD alanları aracılığıyla konak hücre membranındaki reseptörü olan ACE2 enzimine bağlanmaktadır. Bu bağlanma işlemiyle SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişi

başlatılmaktadır [213]. Literatürde, virüsün hücre içine girişinde reseptör görevi üstlenen ACE2 enziminin akciğer, ince bağırsak, karaciğer, kalp, böbrek, testis ve tiroid bezinde oldukça yüksek düzeyde eksprese edildiği gösterilmektedir [36]. SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücreye asıl giriş yerinin akciğer dokusu olduğu bilinmektedir. Ancak, yapılan çalışmalar virüsün diğer dokular aracılığıyla da konak hücreye girebileceğini ve farklı dokularda komplikasyonlar oluşturabileceğini göstermektedir [49]. Bu amaçla yapılan bir atlas çalışmasında, ince bağırsak, akciğer, böbrek ve testis dokularında oldukça yüksek düzeyde ACE2 ekspresyonu olduğu gösterilirken; ince bağırsakta bu proteinin akciğerden daha yüksek düzeyde eksprese edildiği bildirilmiştir [50]. Benzer şekilde, başka bir atlas çalışmasında ACE2 enziminin akciğer hücrelerinin yanı sıra, ileum ve kolon enterositlerinde yüksek düzeyde eksprese edildiği gösterilmektedir [214]. Ayrıca, SARS-CoV-2 enfeksiyonu geçiren hastalarla atlas çalışmalarının verilerinin incelendiği bir çalışmada ince bağırsak, böbrek, testis, adipoz doku, adrenal bez ve tiroid dokularında yüksek düzeyde ACE2 ekspresyonu olduğu gösterilirken, en yüksek ekspresyon seviyelerinin ince bağırsakta olduğu tespit edilmiştir [215]. Lee ve arkadaşları tarafından yapılan bir insan çalışmasında ise ACE2 enzimini eksprese eden hücrelerin gastrointestinal sistemin üst bölümlerinde %1,04 oranında; ileum, kolon ve rektum dokularında ise %14,06 oranında bulunduğu bildirilmiştir [216]. Benzer şekilde, yetişkin ve çocuklarda immünofloresans yöntemler kullanılarak ince bağırsağın farklı bölümlerindeki ACE2 ve TMPRSS2 ekspresyonlarının incelendiği bir çalışmada ileum, kolon ve rektum dokularında yüksek düzeyde ACE2 ekspresyonu bulunduğu gösterilmiştir. Çalışmada, inflamatuvar bağırsak hastalığı olan bireylerin ileum dokularındaki ACE2 ekspresyonunun azaldığı, rektum dokularında ise arttığı gösterilmiştir [217]. Livanos ve arkadaşları tarafından SARS-CoV-2 virüsüyle enfekte insanlarda yapılan başka bir çalışmada ise COVID-19 hastalarının çoğunun ince bağırsak epitel hücrelerinde SARS-CoV-2 virüsünün tespit edildiği gösterilmiştir [51]. Ayrıca, intestinal sistemde SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içerisine girişinin incelendiği bir çalışmada, insanlardan izole edilen ve *in vitro* kültürlenmiş bağırsak hücrelerinde SARS-CoV-2 viral etkeninin ACE2 enzimi aracılığıyla enfeksiyona yol açtığı gösterilmiştir [38]. Brevini ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise SARS-CoV-2 virüsünün deney hayvanlarının akciğer ve bağırsak dokularında ACE2 enzimi aracılığıyla enfeksiyonlara neden olduğu saptanmıştır [218]. Bu veriler, SARS-CoV-2 viral etkeninin intestinal sistemde yüksek düzeyde eksprese edilen ACE2 enzimleri aracılığıyla enfeksiyona yol açabileceğini göstermektedir [219]. SARS-CoV-2 virüsünün intestinal sistemdeki varlığının belirlenmesi amacıyla yapılan bir

çalışmada, hastanede tedavi gören COVID-19 hastalarının yarısından fazlasının dışkı örneklerinde SARS-CoV-2 virüsünün bulunduğu tespit edilmiştir [52]. Ayrıca, SARS-CoV-2 virüsüyle enfekte 153 hastanın %29'ununun dışkı örneğinde SARS-CoV-2 virüsünün bulunduğu saptanmıştır [220]. Benzer şekilde, COVID-19 hastalarının yaklaşık %41'inin dışkı örneğinde SARS-CoV-2 virüsünün bulunduğu gösterilmektedir [54]. Ayrıca, COVID-19 hastalarından alınan doku örneklerinin incelendiği çalışmalarda, SARS-CoV-2 virüsünün solunum hücrelerinde 16,7 gün canlılığını koruduğu görülürken, dışkı örneklerinde 27,9 ile 47 gün boyunca canlı kaldığı tespit edilmiştir [221,222]. Aynı zamanda, bazı hastaların nazofaringeal bölgelerinde SARS-CoV-2 virüsünün tamamen kaybolmasına rağmen, dışkı örneklerinin SARS-CoV-2 viral etkeninden tam olarak temizlenmediği gösterilmiştir [55-57]. Gastrointestinal sistemde ACE2 enziminin yüksek düzeyde eksprese edildiğini ve dışkıda yüksek düzeyde SARS-CoV-2 virüsünün bulunduğunu gösteren bu veriler, bu bölgenin SARS-CoV-2 giriş yollarından biri olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalar bağırsak ve akciğer dokuları arasında bir çapraz etkileşim bulunduğunu göstermektedir. Araştırmacılar, bağırsak-akciğer eksenini olarak ifade edilen bu etkileşimde, intestinal sistemde herhangi bir nedenle ortaya çıkan mikrobiyota disbiyozu, inflamasyon veya bariyer fonksiyon bozukluğu gibi durumların solunum yollarındaki bağışıklık tepkilerini değiştirebileceğini bildirmektedirler [223]. Ayrıca, bağırsak hücrelerinde SARS-CoV-2 etkeni tarafından ACE2 enziminin işgal edilmesiyle birlikte, mikrobiyota disbiyozunun ortaya çıkabileceği düşünülmektedir [224]. Bu durum, gram-negatif bakterilerin hücre duvarından salınan endotoksin düzeyinin yükselmesiyle birlikte inflamasyon ve intestinal bariyer geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır. İntestinal bariyer geçirgenliğindeki artışın ise bağırsak-akciğer eksenini aracılığıyla virüsün solunum yolu üzerinden yayılımını hızlandıracağı düşünülmektedir [225]. Ayrıca, çeşitli nedenlerle intestinal sistemde ortaya çıkan inflamatuvar durum ve epitelyal hasarın ACE2 ekspresyonunu indükleyerek SARS-CoV-2 etkeninin replikasyonunu ve diğer bölgelerdeki yayılımını artırabileceği de bildirilmektedir [226].

Diğer taraftan, SARS-CoV-2 viral etkeni tarafından ACE2'nin işgal edilmesiyle birlikte kan basıncı, sıvı-elektrolit dengesi, hücre proliferasyonu, inflamasyon ve oksidatif stresin düzenlenmesinde kritik rol alan RAS sistemi komponentlerinden ACE ve ACE2 enzimleri arasındaki dengenin bozulacağını ve bu durumun hastalığın seyrini olumsuz yönde

etkileyebileceği de ifade edilmektedir [227]. Bu bilgiler doğrultusunda; RAS inhibisyonunun, ACE2 ekspresyonunda artışa yol açarak SARS-CoV-2 viral etkeninin hücre içine girişini artırabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla çeşitli anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü ve anjiyotensin reseptör blokörü ilaçlar kullanılarak, bu ilaçların hastalığın seyri üzerine etkileri incelenmiştir [228]. İngiltere’de 1200 COVID-19 hastasından oluşan bir kohort çalışmasında, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü ve anjiyotensin reseptör blokörü ilaç kullanan hastaların mortalite oranları (%26.6) ile bu ilaçları kullanmayan hastalardaki mortalite oranları (%22.7) arasında ciddi bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir [229]. Mehta ve arkadaşları tarafından yapılan geniş ölçekli bir çalışmada ise anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü ve anjiyotensin reseptör blokörü ilaç kullanan bireylerde, bu ilaçları kullanmayanlara kıyasla COVID-19 test pozitifliğinin benzer olduğu gösterilmiştir [230]. İtalya’da yapılan başka bir çalışmada ise COVID-19 hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü ve anjiyotensin reseptör blokörü ilaç kullanımının olduğu, ancak, bu ilaçların kullanımının COVID-19 hastalık riskiyle ilişkili olmadığı tespit edilmiştir [231]. Tüm bu veriler, RAS inhibisyonunun hastalığın yayılımını ve mortalite oranını artırmadığını göstermektedir.

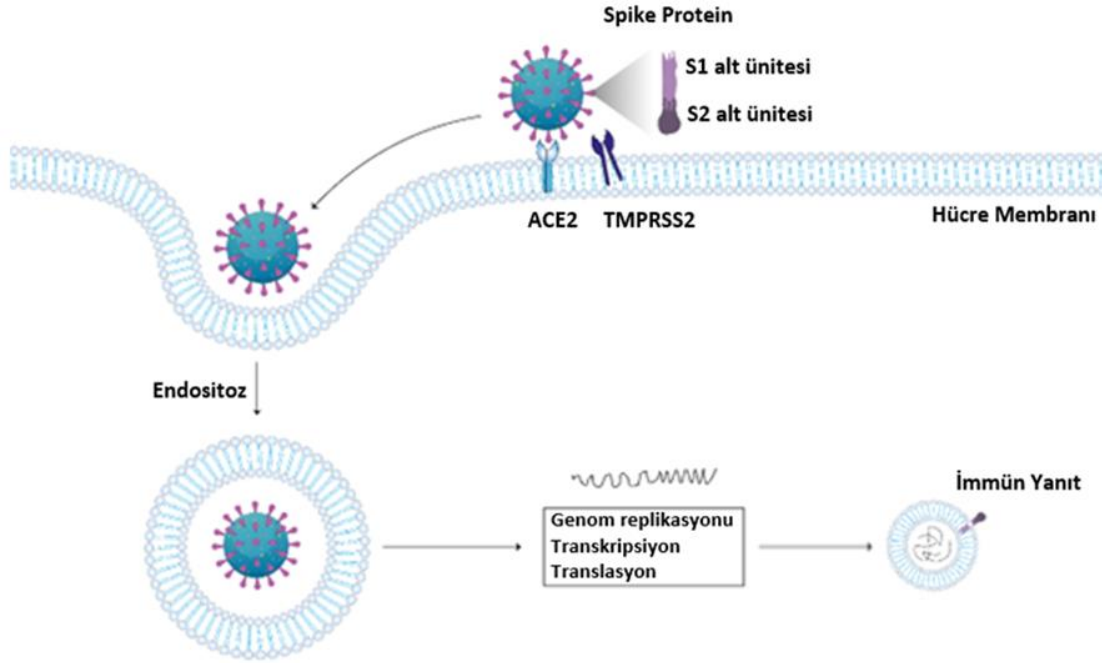
SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişinde TMPRSS2’nin rolü

SARS-CoV-2 viral etkeninin, S proteinleri aracılığıyla konak hücre membranındaki ACE2 reseptörlerine bağlanması virüsün hücre içine girişi açısından ilk adımı oluşturmaktadır. Bununla birlikte, virüs hücre içine girişini tamamlayabilmek için konak hücreye ait çeşitli proteazlara ihtiyaç duymaktadır. Bu proteazlardan biri, konağın hücre membranında bulunan TMPRSS2’dir [213]. Bu proteazın akciğer, ince bağırsak, kalp, karaciğer ve prostat gibi çok sayıda dokuda eksprese edildiği bildirilmektedir [210]. Literatürde, intestinal sistemde ACE2 enzimiyle birlikte oldukça yüksek düzeyde TMPRSS2 ekspresyonunun olduğu gösterilmektedir [217,232,233]. Literatürde ilk kez Paoloni-Giacobino ve arkadaşları tarafından ince bağırsak hücrelerinde TMPRSS2 proteazının eksprese edildiği gösterilmiştir [232]. Ayrıca, gastrointestinal sistemin farklı bölümlerindeki TMPRSS2 ekspresyon düzeylerinin incelendiği bir çalışmada yemek borusu, ileum ve kolon hücrelerinde bu proteinin ekspresyonunun diğer bölümlere kıyasla daha yüksek olduğu bulunmuştur [233]. Yetişkin ve çocuklarda immüno Floresans yöntemlerle ACE2 ve TMPRSS2 ekspresyonlarının incelendiği başka bir çalışmada ise

ileum, kolon ve rektum dokularında TMPRSS2'nin ACE2 enzimiyle birlikte lokalize halde bulunduğu ve bu dokularda her iki protein ekspresyonunun da oldukça yüksek düzeyde olduğu bulunmuştur. Çalışmada, inflamatuvar bağırsak hastalığı olan bireylerin ileum ve kolon dokularında TMPRSS2 ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [217].

Bilindiği üzere, SARS-CoV-2 viral etkeninin S proteinleri S1 ve S2 olmak üzere iki farklı alt birimden oluşmaktadır. Bu alt birimler üzerinde bulunan belirli alanlarda, membran proteazları tarafından çeşitli proteolitik bölünmelerin gerçekleşmesiyle virüsün konak hücre içine girişi tamamlanmaktadır. SARS-CoV-2 viral etkeninin hücre içine girişinin sağlanması için enerji açısından stabil bir duruma gelmesi ve hücre membranları arasındaki geçişin sağlanabilmesi için bir takım proteolitik bölünmeler geçirerek, gerekli enerjiyi sağlayacak konformasyonel geçişe tabi tutulması gerekmektedir [36]. SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişinin sağlanması amacıyla TMPRSS2 tarafından gerçekleştirilen bu proteolitik bölünmelerden ilki S1/S2 bölünmesi olup, bu bölünme viral etkenin konak hücre tarafından tanınabilmesi için gerekli konformasyonel değişikliklerin oluşmasını sağlamaktadır. İkinci önemli proteolitik bölünme olan S2 bölünmesi ise S proteininin membran füzyonu için oldukça önemli olan asıl bölünmedir. Bu bölünme sonrasında, virüsün konak hücre içine girişi tamamlanmaktadır [36]. TMPRSS2'nin SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücre içine girişi üzerine etkilerinin incelendiği çeşitli çalışmalar bulunmaktadır [234-236]. Bu amaçla yapılan bir çalışmada, insan bağırsak hücre hattında (C2BBel) yüksek düzeyde ACE2 ve TMPRSS2 ekspresyonlarının olduğu ve SARS-CoV-2 viral etkeninin bu proteinler aracılığıyla hücre içerisine girerek, bu bölgede yüksek düzeyde yayılım gösterdiği bulunmuştur [234]. Ayrıca, insanlardan izole edilen ve *in vitro* kültürlenmiş bağırsak hücrelerinde, SARS-CoV-2 viral etkeninin ACE2 enzimi aracılığıyla enfeksiyona neden olduğu ve TMPRSS2 ve TMPRSS4 proteazlarının bu etkenin hücre içine girişini kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Aynı zamanda, araştırmacılar TMPRSS2 ve ACE2 enziminin birlikte ekspresyonunun bu hücrelerdeki SARS-CoV-2 enfeksiyonunu artırdığını göstermişlerdir [235]. Proteomik analizlerle çeşitli TMPRSS2 inhibitörlerinin tespit edildiği ve bu inhibitör moleküllerin SARS-CoV-2 enfeksiyonlarına karşı etkilerinin *in vitro* ve *in vivo* olarak incelendiği bir çalışmada ise bu inhibitör moleküllerin akciğer epitel ve kolon hücrelerinde SARS-CoV-2 enfeksiyonlarına karşı profilaktik ve terapötik etki gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca, çalışmada enfekte K18-hACE2 farelere hem tek doz hem de çoklu dozlarda inhibitör moleküller uygulanmasının SARS-CoV-2 enfeksiyonlarına karşı benzer şekilde etki sağladığı gösterilmiştir [236]. Bu

çalışmalar, TMPRSS2'nin SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine intestinal girişinin sağlanması açısından oldukça önemli bir proteaz olduğunu göstermektedir. SARS-CoV-2 virüsünün ACE2 ve TMPRSS2 aracılığıyla konak hücre içine girişi Şekil 2.6'da şematize edilmiştir.



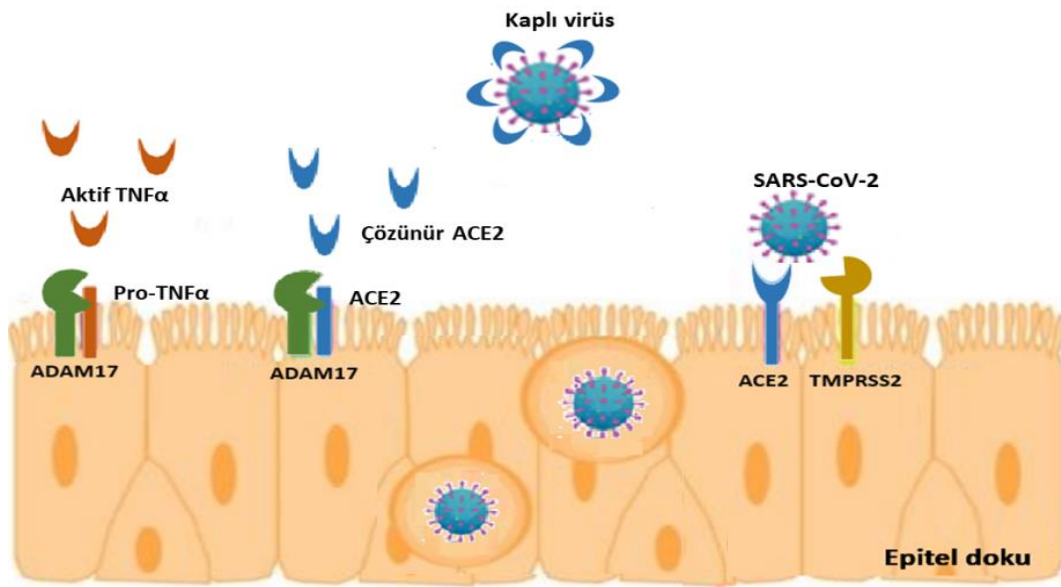
Şekil 2.6. SARS-CoV-2 virüsünün ACE2 ve TMPRSS2 aracılığıyla konak hücre içine girişi

SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişinde ADAM17'nin rolü

ADAM17, hücre membranında bulunan ve önemli proteolitik bölünmeleri düzenleyen bir metaloproteinaz olarak görev yapmaktadır. Kalp, böbrek, beyin, akciğer, dalak, testis ve ince bağırsak gibi pek çok dokuda büyük ölçüde eksprese edilen bu proteinaz, hücre membranında bulunan ACE2 enziminin belirli bölgelerindeki proteolitik bölünmelerin gerçekleşmesinden sorumludur [211]. ADAM17 tarafından gerçekleştirilen bu proteolitik bölünmeler, membranal ACE2 enziminin dolaşımda çözünür halde bulunan ACE2 enzimine dönüşümünü sağlamaktadır [40,41]. SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişinden sorumlu olan asıl reseptör membranal ACE2 enzimidir [206]. ACE2 enziminin diğer formu olan çözünür ACE2 enzimi de membranal ACE2 enziminde olduğu gibi viral S proteinlerine bağlanabilmektedir. Ancak, bu bağlanma viral S proteinlerini kapatarak, virüsün asıl hücre içine giriş reseptörü olan membranal ACE2 enzimine bağlanmasını

engellemektedir. Membranal ACE2 enziminin dolaşımında çözünür halde bulunan ACE2 enzimine dönüşümünün artmasıyla birlikte viral yayılımını azalacağı düşünülmektedir. Bu duruma bağlı olarak, çözünür ACE2 düzeyinin artmasına olanak sağlayan ADAM17'nin, SARS-CoV-2 enfeksiyonunu engelleyici bir proteinaz olarak görev yaptığı ileri sürülmektedir [170,237]. Bununla birlikte; hücre membranında yer alan ve birçok proteolitik bölünmenin gerçekleşmesinde önemli görevleri bulunan ADAM17, TNF α dönüştürücü enzim (TACE) olarak da tanımlanmaktadır [211]. Bu proteinaz, membranal ACE2 enzim bölünmelerinin yanı sıra, TNF α ve IL-1 β gibi çeşitli proinflamatuvar sitokinin proteolitik bölünmesinin gerçekleşmesinde de önemli roller üstlenmektedir. Bu durum neticesinde, çeşitli proinflamatuvar sitokinler aktif hale geçmekte ve mevcut inflamatuvar durum şiddetlenmektedir [44]. SARS-CoV-2 virüsünün S proteinleri tarafından endotel hücrelerinde oluşturduğu inflamasyona aracılık eden mekanizmaların aydınlatılması amacıyla yapılan bir *in vitro* çalışmada, ADAM17, ACE2 ve TMPRSS2 inhibitörleri kullanılmış ve sadece ADAM17 inhibitörlerinin insan endotel hücrelerindeki viral S proteinlerinin inflamasyonla ilişkili etkilerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu durum, SARS-CoV-2 virüsünün endotel hücrelerde oluşturduğu inflamasyona ADAM17'nin aracılık ettiğini göstermektedir [238]. SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında hem olumlu hem de olumsuz etkileri bulunan bu proteinazın aktivitesinin çok yönlü etkilerinin incelendiği bir *in vivo* çalışmada ise SARS-CoV-2 etkeniyle enfekte olan hayvanlara spesifik ADAM17 antikoru uygulanarak, inflamasyon parametrelerinin değişimi ve mortalite oranları incelenmiştir. Bu çalışma, ADAM17 blokajının hayvanların akciğer dokularındaki SARS-CoV-2 viral yükü önemli ölçüde artırdığını gösterirken, mevcut inflamasyonu azalttığını göstermektedir. Bununla birlikte, ADAM17 antikoruyla tedavi edilen hayvanlarda viral yükün artmasına rağmen, inflamatuvar durumun azalmasına bağlı olarak daha düşük akciğer patolojileri gözlenmiş ve bu hayvanların daha sağlıklı oldukları belirlenmiştir [239]. Bu durum, SARS-CoV-2 virüsünün yayılımı azaltıcı etkileriyle bilinen ADAM17'nin farklı mekanizmalarla enfeksiyonun seyrini olumsuz yönde etkileyebileceğini göstermektedir. Ayrıca, Jocher ve arkadaşları tarafından insan akciğer hücre hatları kullanılarak yapılan başka bir çalışmada, ADAM17 ve ADAM10'un SARS-CoV-2 viral etkeninin S proteinleri üzerinde bir takım proteolitik bölünmeye aracılık ettiği gösterilmiştir. Araştırmacılar, viral yayılımı azaltıcı etkileriyle bilinen bu proteazın aslında TMPRSS2 benzeri etki gösterebileceğine dikkat çekmişlerdir. Aynı zamanda, çalışmada ADAM17 ve ADAM10 inhibitörlerinin kullanımının viral yayılımı azaltıcı etkiler gösterildiği tespit edilmiştir. Araştırmacılar, bu inhibitörlerin SARS-CoV-2

enfeksiyonlarının tedavisinde potansiyel ilaç hedefleri olabileceğini ifade etmektedirler [240]. Tüm bu bilgiler, SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişinden asıl sorumlu olan membran ACE2 enziminin çözünür forma dönüştürülmesine aracılık ederek, viral yayılımı azaltıcı etkileri bulunan ADAM17'nin mevcut inflamatuvar durumun artmasına yol açabileceğini ve viral S proteinlerde birtakım bölünmelerde görev alarak enfeksiyonun seyrini olumsuz yönde etkileyebileceğini göstermektedir. ADAM17 proteazının SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişi ve aktif TNF α oluşumu üzerine etkileri Şekil 2.7'de gösterilmiştir.



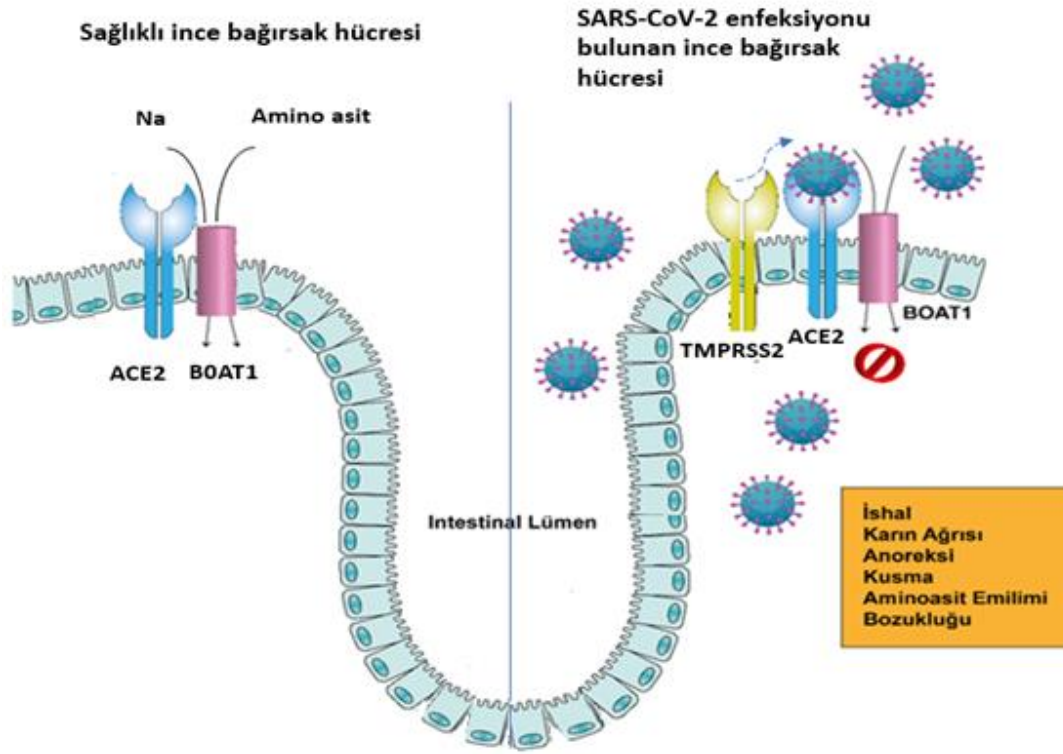
Şekil 2.7. İnce bağırsakta ADAM17 proteazının SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişi ve aktif TNF α oluşumu üzerine etkileri [referans [170]'ten uyarlanmıştır]

SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişinde B0AT1'nin rolü

İnce bağırsağın apikal membranı ve böbrek proksimal tübülünde amino asit emiliminin sağlanmasıyla görevli çeşitli taşıyıcılar bulunmaktadır. Bu amino asit taşıyıcılarından biri olan B0AT1, ince bağırsak epitel hücrelerinde yüksek düzeyde eksprese edilen iki önemli taşıyıcıdan biridir [241]. Bu amino asit taşıyıcısı, ince bağırsakta protein sindiriminin tamamlanmasıyla oluşan nötr yapıdaki amino asitlerin, sodyum (Na⁺) iyonuna bağımlı bir şekilde emiliminin sağlanmasından sorumludur [242]. Bu amino asitlerden biri olan triptofanın, glukoz metabolizmasının düzenlenmesi ve bağışıklık yanıtın oluşturulması gibi çeşitli fizyolojik olaylarda rol aldığı bilinmektedir. Bu duruma bağlı olarak, değişen B0AT1 ekspresyonunun biyolojik sistemi dolaylı olarak etkileyebileceği düşünülmektedir

[243]. Yapılan çalışmalar, B0AT1 ekspresyonunun SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre membranındaki temel reseptörü olan ACE2 enzimiyle yakından ilişkili olduğunu göstermektedir [48,244]. Bu bilgiler doğrultusunda, B0AT1'in ACE2 enzimiyle etkileşimi çeşitli *in silico* çalışmalarda incelenmiştir. Bu çalışmalarda, B0AT1 ile ACE2 enziminin hücre membranında [B0AT1;ACE2] heterodimer yapılar halinde bulunduğu belirlenmiştir [48,244]. Ayrıca, intestinal sistemdeki B0AT1 ekspresyonlarının ACE2 enzimi tarafından düzenlendiği bildirilmektedir [245]. Chen ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, ACE2 enzimi knockout edilen farelerdeki B0AT1 ekspresyonu ve triptofan emiliminin oldukça azaldığı gösterilmiştir. Çalışmada, eksojen olarak triptofan verilmesinin, ACE2 knockout hayvanlardaki kan triptofan düzeyini artırmadığı tespit edilmiştir. Bu durum, B0AT1 ekspresyonunun ACE2 enzimi aracılığıyla gerçekleştiğini göstermektedir [246]. SARS-CoV-2 enfeksiyonunda ACE2 enziminin virüs tarafından işgal edilmesiyle birlikte B0AT1 ekspresyonunun azalacağı düşünülmektedir. Azalan B0AT1 ekspresyonuna bağlı olarak, ince bağırsaktaki amino asit emilimini olumsuz yönde etkilenmektedir. Bu durum, SARS-CoV-2 enfeksiyonunda ortaya çıkan diyare, karın ağrısı ve kusma gibi çeşitli gastrointestinal semptomların kısmen açıklanabilmesine olanak sağlamaktadır [48,247].

Diğer taraftan, bir *in silico* çalışmada, bağırsak epitel hücrelerinin luminal yüzeyinde bulunan B0AT1'in ACE2 enziminin N terminal bölgesine bağlanarak, bu enzimin membrandaki stabilitesini azalttığı gösterilmiştir. Bu durum, SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişi için gerekli olan ACE2 reseptörünün membrandaki stabilitesinin, B0AT1 tarafından bozulmasına yol açmaktadır. Bu etkileriyle B0AT1'in SARS-CoV-2 viral yayılımının azalmasına neden olabileceği düşünülmektedir [248]. Tüm bu veriler, intestinal sistemde SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre membranında bulunan ACE2 enzimini işgal etmesi sonucu B0AT1 ekspresyonunun ve bu duruma bağlı olarak aminoasit absorpsiyonunun azalmasına neden olabileceğini düşündürmektedir. İnce bağırsakta SARS-CoV-2 virüsünün ACE2 ve B0AT1 üzerine etkileri Şekil 2.8'de şematize edilmiştir.



Şekil 2.8. İnce bağırsakta SARS-CoV-2 virüsünün ACE2 ve B0AT1 üzerine etkileri

2.7. SARS-CoV-2 ve Metabolik Sendrom İlişkisi

SARS-CoV-2 viral etkeni, kısa sürede tüm dünyada ciddi bir yayılım göstererek, oldukça fazla sayıda COVID-19 vakalarının oluşmasına neden olmuştur. Bu virüsün her bireyde farklı düzeyde enfeksiyona yol açtığı bilinmektedir. Bu enfeksiyonu hafif semptomlarla atlatan hastalar bulunduğu gibi, hastalığı şiddetli geçiren hastaların sayısı da oldukça fazladır [219]. Virüsün bireyler üzerinde oluşturduğu enfeksiyonun şiddeti çeşitli etkenlere bağlı olarak değişmektedir. Özellikle, kişide kronik bir hastalığın bulunması, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun şiddetini artıran etkenlerden biri olarak gösterilmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda, bireylerde metabolik sendrom, obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi çeşitli hastalıkların bulunmasıyla birlikte bu enfeksiyonun daha şiddetli seyrettiği saptanmıştır [249,250]. Bu amaçla İran'da SARS-CoV-2 enfeksiyonu bulunan 157 hastanın incelendiği bir çalışmada, hastalarda metabolik sendrom varlığının SARS-CoV-2 enfeksiyonunun ciddiyetini ve bu enfeksiyona bağlı olarak gelişen yoğun bakıma yatırılma oranlarını artırdığı tespit edilmiştir [251]. Ghoneim ve arkadaşları tarafından yapılan 8885 Afrika kökenli Amerikalı COVID-19 hastasını içeren geniş ölçekli bir kohort çalışmasında, hastalarda daha önceden bulunan metabolik sendrom öyküsünün

SARS-CoV-2 enfeksiyonu insidansındaki artışla pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir [252]. Metabolik sendrom bileşenlerinin SARS-CoV-2 enfeksiyon riski üzerine etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada ise metabolik sendrom bileşenlerinden en az birinin bulunmasıyla SARS-CoV-2 enfeksiyon görülme olasılığını yaklaşık iki katına çıkıdığı belirlenmiştir [61]. ABD’de yapılan 27 bin katılımcıyı içeren geniş ölçekli bir çalışmada, beden kitle indeksi 30’un üzerinde olan hastalarda SARS-CoV-2 enfeksiyonu riskinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, çalışmada hastalarda mevcut metabolik sendrom varlığının SARS-CoV-2 enfeksiyonlarına bağlı olarak hastaneye yatış oranını (2,11 kat), yoğun bakım ünitesinde tedavi ihtiyacını (1,58 kat), mortaliteyi (1,29 kat) ve venöz tromboembolizmi (1,51 kat) de artırdığı bulunmuştur [62]. Benzer şekilde, 303 katılımcıdan oluşan bir kohort çalışmasında, obezite ve metabolik sendromu bulanan COVID-19 hastaların pnömoni ve solunum yetmezliği şikayetlerinin daha sık ortaya çıktığı ve metabolik sendromu bulanan hastalardaki mortalite oranlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [253]. Metabolik sendrom obezite, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklarla yakından ilişkili bir sağlık sorunudur. Metabolik sendromla SARS-CoV-2 enfeksiyonun şiddeti ve ilerleyişi arasındaki ilişkinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma olmasına rağmen; fazla kilo, obezite, tip 2 diyabet ve hipertansiyonla SARS-CoV-2 enfeksiyonu insidansı arasındaki ilişkinin incelendiği çok sayıda çalışma bulunmaktadır [254-260]. Bu amaçla Meksika’da yapılan bir çalışmada, SARS-CoV-2 enfeksiyonu bulunan çok sayıdaki bireyde, daha önceden obezite (%17.4), diyabet (%14.5) ve hipertansiyon (%18.9) gibi hastalıklarının bulunduğu gösterilmektedir. Bu hastalar kronik bir hastalığı bulunmayan enfekte hastalarla karşılaştırıldığında obezite, diyabet ve hipertansiyonu bulunan hastaların daha şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonu geçirdiği bildirilmiştir [254]. Obez bireyler ile normal kilolu bireylerdeki SARS-CoV-2 enfeksiyonu oranının incelendiği bir çalışmada, obez bireylerde %20,9 oranında SARS-CoV-2 enfeksiyonu bildirilirken; normal kilolu bireylerde enfeksiyon oranı %13.2 olarak kaydedilmiştir [255]. Simonnet ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise beden kitle indeksinin artmasıyla SARS-CoV-2 enfeksiyon şiddetinde de artış olduğu gözlenmiştir. Aynı çalışmada, obez bireylerde normal kilolu bireylere kıyasla SARS-CoV-2 enfeksiyonlarına bağlı olarak yoğun bakımda tedavi görme oranının daha yüksek olduğunu göstermiştir [256]. Mevcut diyabet varlığının SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının görülme sıklığı üzerine etkilerinin incelendiği 643 katılımcıyı içeren başka bir çalışmada ise hem tip 1 (%55,7) hem de tip 2 (%56,9) diyabeti bulunan hastalarda kontrol (%44.9) gruplarına kıyasla SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının görülme olasılığının daha yüksek

olduğu saptanmıştır [257]. Yapılan başka bir çalışmada, tip 2 diyabeti bulunan bireylerin (%7,8) diyabetik olmayan bireylere (%2,7) kıyasla SARS-CoV-2 enfeksiyonlarındaki mortalite oranlarının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda, çalışmada bu hastalarda kan şekeri kontrolünün iyi bir şekilde düzenlenmesinin mortalite oranını düşürdüğü gösterilmiştir [258]. Yapılan başka bir çalışmada ise SARS-CoV-2 enfeksiyonlarını hafif semptomlarla atlatan hastaların %43,7'sinde yağlı karaciğer hastalığı bulunduğu gösterilirken, enfeksiyonu şiddetli bir şekilde geçiren hastaların %73,9'unda bu hastalığın bulunduğu saptanmıştır [259]. Yang ve arkadaşları tarafından yapılan 164 bin deneğin incelendiği bir geniş ölçekli bir başka çalışmada ise bireylerdeki mevcut obezite durumunun, SARS-CoV-2 enfeksiyonları nedeniyle hastaneye yatışı, yoğun bakım ünitesine kabulü, invaziv mekanik ventilasyon gerekliliğini ve mortalite insidansını artırdığı bulunmuştur. Ayrıca, çalışmada, obezite derecesindeki artışın bu parametrelerdeki artışla paralellik gösterdiği tespit edilmiştir [260]. Ülkemizde yapılan ve 18 426 hastanın incelendiği bir kohort çalışmasında ise tip 2 diyabeti bulunan hastalardaki SARS-CoV-2 enfeksiyonunun neden olduğu mortalite oranının (%13,6) tip 2 diyabeti bulunmayan enfekte hastalara (%8,7) kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [261]. Tüm bu veriler, metabolik hastalıkları bulunan kişilerdeki SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının şiddetinin ve mortalite oranlarının diğer hastalara kıyasla daha yüksek olabileceğini göstermektedir.

Obezite ve diyabeti bulunan hastalarda daha şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının görülmesi, bu bireylerdeki metabolik hastalıklar nedeniyle proinflamatuvar sitokin düzeylerinin diğer hastalara kıyasla daha yüksek seyretmesiyle açıklanabilmektedir. Proinflamatuvar sitokinlerin mevcut metabolik hastalıklar nedeniyle yükselmesi, bu kişilerdeki SARS-CoV-2 enfeksiyonuna bağlı gelişen inflamasyonun daha ağır seyretmesine yol açmaktadır [262,263]. Bilindiği üzere, metabolik hastalıklarda abdominal bölgede ciddi yağ kütlesi artışı oluşmaktadır. Abdominal obezite varlığında, yağ dokusu hücrelerinden TNF α , IL-6 ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasının arttığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalar, abdominal bölgede ciddi yağ kütlesine sahip olan bireylerde, zayıf bireylerle kıyasla inflamatuvar sitokin konsantrasyonlarının daha yüksek olduğunu göstermektedir [65]. Ayrıca, SARS-CoV-2 enfeksiyonu geçiren bireylerde daha önceden var olan obezite ve diyabet gibi metabolik hastalıkların, T lenfosit tükenmesine yol açabileceği öne sürülmektedir [264]. Ayrıca, obezite varlığında visseral yağ dokusundaki B lenfositlerinin düzeyleri değişerek bağışıklık fonksiyonunun bozulduğu

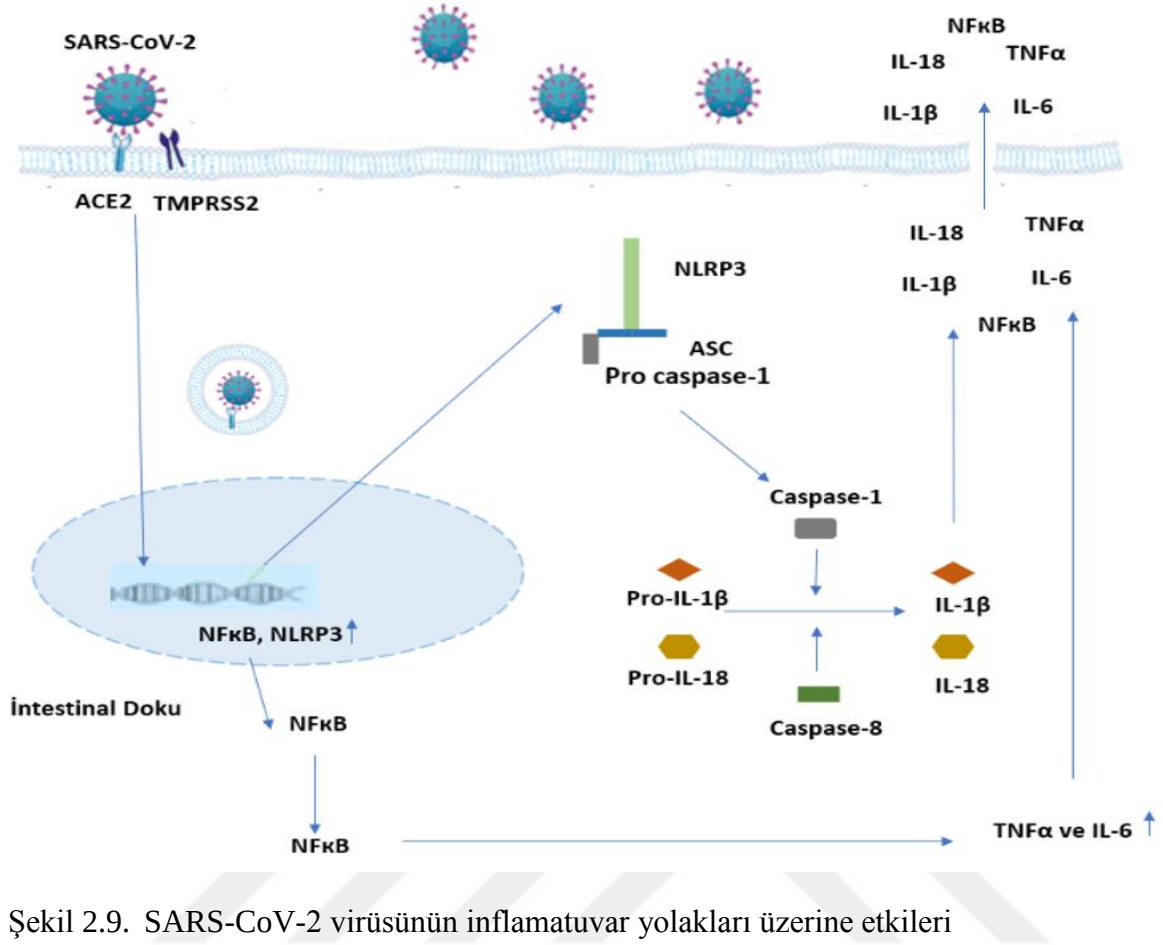
bilinmektedir [265]. SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının, abdominal yağlanmayla karakterize olan metabolik sendrom varlığında daha şiddetli ilerlemesinin, visseral yağlanmaya bağlı olarak mevcut inflamatuvar durumun artması ve bağışıklık tepkilerinin azalmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir [266]. Pizzolla ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek yağlı diyetle oluşturulan obezite modelinde, bağışıklık hücrelerinin ekspresyon düzeylerinde meydana gelen değişiklikler incelenmiştir. Çalışmanın sonuçları, obez sıçanlarda T hücre yanıtının azaldığını göstermektedir [267]. Tüm bu bulgular, daha önceden mevcut bir metabolik hastalığı bulunan bireylerin bağışıklık sisteminin baskılanması nedeniyle SARS-CoV-2 enfeksiyonlarını diğer hastalara kıyasla daha şiddeti geçirebileceğini düşündürmektedir.

2.8. SARS-CoV-2 ve İnflamasyon İlişkisi

SARS-CoV-2 viral etkeninin neden olduğu enfeksiyonların konak hücrede hiperinflamatuvar bir yanıt oluşturduğu bilinmektedir. Ancak, bu enfeksiyonda oluşan inflamatuvar durumun mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Daha önceki yıllarda ortaya çıkan pandemi etkenlerinden biri olan SARS-CoV enfeksiyonlarına dayanarak, SARS-CoV-2'nin de birincil ve ikincil inflamatuvar yanıtı neden olduğu öne sürülmektedir. Birincil inflamatuvar yanıtlar, viral enfeksiyonla birlikte ortaya çıkan ilk tepkilerdir. İkincil yanıtlar ise virüse karşı antikor yanıtlarının oluşmasıyla başlamaktadır [268]. Bu virüsün konak hücredeki replikasyonunun tamamlanmasının ardından, çok yüksek düzeyde inflamatuvar sitokin üretimi gerçekleşmektedir. Sitokin fırtınası olarak bilinen bu durum, SARS-CoV-2 enfeksiyonundaki sistemik inflamatuvar yanıtın ve çoklu organ yetmezliğinin ortaya çıkmasındaki en önemli nedenlerden biridir [269]. Özellikle, bu virüsün enfekte hücrelerdeki ilk tepkilerin oluşumunda görev alan makrofajları aktive ederek sitokin ve kemokin salınmasını indükleyebildiği ve böylece inflamatuvar yanıtın şiddetini giderek artırdığı bilinmektedir [270]. Literatürde SARS-CoV-2 virüsünün makrofaj hücrelerini aktive ettiği ve TNF α , IL-6 ve IL-1 β sitokinlerinin gen ekspresyonlarını artırdığı gösterilmiştir [271]. Bu inflamatuvar sitokinlerden IL-6, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında ortaya çıkan sitokin fırtınasında önemli görevleri olan bir faktör olarak bilinmektedir. Virüsle enfeksiyon durumunda bu sitokin, TNF α , IL-1 β ve NF κ B üretimini indüklediği bildirilmektedir [269,272]. Yoğun bakım ünitesinde tedavi edilen 41 hastada yapılan retrospektif bir çalışmada, hayatını kaybeden hastaların IL-6 düzeylerinin hayatta kalan hastalara kıyasla oldukça yüksek olduğu gösterilmiştir [273]. Benzer

şekilde, SARS-CoV-2 enfeksiyonu bulunan hastalardaki IL-6 düzeylerinin, bu hastalığa ilişkin mortalite oranlarıyla paralellik gösterdiği bulunmuştur [274]. Huang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarını şiddetli geçiren hastalarda IL-6 düzeylerinin daha yüksek olduğu ve bu durumun akciğer hasarının artmasına katkıda bulunabileceği gösterilmiştir [275].

Ayrıca, SARS-CoV-2 virüsünün piroptoz oluşumunda görev alan NLRP3 inflamazomunu aktive ederek, caspase-1 aracılığıyla IL-1 β düzeyindeki artışa yol açtığı bildirilmektedir [276]. Yapılan çalışmalarda bu enfeksiyonda piroptoz oluşumunda rol alan NLRP3 inflamazomunun aktive olduğu ve akciğer makrofaj hücrelerinde caspase-1 ve IL-1 β seviyelerini artırdığı gösterilmiştir [277]. Diğer taraftan, apoptoz, piroptoz ve nekroptoz olmak üzere üç önemli yolağın temel düzenleyici olarak bilinen caspase-8'in caspase-1 ile benzer şekilde pro-IL-1 β ve IL-18'i aktive ederek biyoaktif sitokinlerin salınmasına aracılık ettiği bildirilmiştir [278,279]. SARS-CoV-2 enfeksiyonunun akciğerde oluşturduğu inflamatuvar durumun mekanizmalarının incelendiği bir çalışmada, bu virüsün caspase-8 aracılığıyla pro-IL-1 β ekspresyonunu artırdığı saptanmıştır. Aynı zamanda, çalışmada NF κ B inhibitörü MLN120B uygulamasının da bu hücrelerdeki SARS-CoV-2 viral replikasyonu etkilemeden pro-IL-1 β ve TNF α ekspresyonlarını azalttığı gösterilmiştir. Bu durum, SARS-CoV-2'nin neden olduğu inflamatuvar yanıtı caspase-8 ile birlikte NF κ B aktivasyonunun da aracılık edebileceğini göstermektedir. Ayrıca, çalışmada insan ACE2 reseptörünü eksprese eden HFH4-hACE2 transgenik farelerin SARS-CoV-2 ile enfekte edilmesiyle birlikte farelerin akciğer dokularındaki IL-1 β ekspresyonunun arttığı da gösterilmiştir [280]. SARS-CoV-2 virüsünün inflamatuvar yollar üzerine etkileri Şekil 2.9'da şematize edilmiştir.



Şekil 2.9. SARS-CoV-2 virüsünün inflamatuvar yolları üzerine etkileri

Diğer taraftan, SARS-CoV enfeksiyonunda viral S proteine karşı oluşturulan antikorların, inflamatuvar yanıtları değiştirerek ciddi akciğer hasarına neden olabileceğini göstermiştir [281]. Konuyla ilgili yapılan bir *in vitro* çalışmada, SARS-CoV-2 viral etkeninin S proteinlerinin, IL-6, IL-1 β ve TNF α gibi çok sayıda inflamatuvar sitokini aktive ettiği gösterilmiştir. Çalışmada, virüsün diğer yapısal proteinleri olan membran (M), zarf (E) ve nükleokapsid (N) proteinlerine karşı böyle bir inflamatuvar yanıt oluşmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, çalışmada insan ve fare akciğer epitel hücrelerine viral S proteini verildiğinde, MyD88 ve TLR2 aracılığıyla NF κ B yolağının aktive edildiği ve inflamasyonun tetiklendiği tespit edilmiştir [282]. SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının ciddi bir inflamatuvar durum ile seyrettiğini gösteren bu veriler, antiinflamatuvar ilaç kullanımının hastalığın tedavisinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu amaçla, antiinflamatuvar (ibuprofen ve meloksikam) ilaçların SARS-CoV-2 enfeksiyonları üzerine etkileri *in vitro* ve *in vivo* olarak incelenmiştir. Ancak, bu ilaçların hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda ACE2 ekspresyonunu ve bu duruma bağlı olarak SARS-CoV-2'nin hücre içine girişini etkilemediği saptanmıştır. Çalışmada, enfekte farelere meloksikam uygulanmasının,

akciğer dokusundaki IL-6, IL-2 ve TNF α düzeylerini ve mevcut inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir [283]. Wyler ve arkadaşları tarafından yapılan bir *in vivo* çalışmada, SARS-CoV-2 virüsüyle enfeksiyon oluşturulan deney hayvanlarına deksametazon verilmesinin hayvanlardaki viral yükü etkilemeden mevcut inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir [284]. Benzer şekilde, SARS-CoV-2 enfeksiyonu bulunan deney hayvanlarına deksametazon uygulamasının, akciğer dokularındaki TNF α , IL-4, IL-6, IL-10 ve IL-13 gen ekspresyonlarını azalttığı, ancak bu dokulardaki SARS-CoV-2 viral yükü artırdığı tespit edilmiştir [285]. Ek olarak, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında inflamatuvar sitokinlerin salınmasının ardından, konak hücrede bağışıklık hücreleri elemanları aktive edilerek, viral etkene karşı bir savunma hattı oluşturulduğu bildirilmektedir [286]. İnsan ACE2 reseptörünü eksprese eden transgenik K18-hACE2 farelere intranazal olarak SARS-CoV-2 etkeni verilerek enfeksiyon modeli oluşturulan çalışmada, virüs enjeksiyonunun 4. gününden itibaren farelerin akciğer hücrelerinde çok sayıda monosit, nötrofil ve T hücresi infiltrasyonları görülmeye başlanmıştır [287]. Aynı zamanda, SARS-CoV-2 kaynaklı solunum yetmezliği olan 88 hastanın bronkoalveolar lavaj sıvılarının incelendiği bir çalışmada, bu virüsün akciğer dokusunda çok sayıda T hücresi ve monosit aktivasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmanın sonuçları, SARS-CoV-2 viral etkeninin alveolar makrofajları uyardığı ve T hücrelerini aktivite ettiğini göstermektedir [288].

SARS-CoV-2 virüsüyle enfekte olan kişilerde anormal düzeyde sitokin salınımı olduğu çok sayıda klinik çalışmayla da kanıtlanmıştır [289-292]. Çin’de yapılan ve şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonu geçiren 41 hastanın incelendiği bir çalışmada, hastaların %63’ünde lenfopeni bulunduğu ve bu hastalardaki IL-2, IL-7 ve TNF α düzeylerinin ciddi düzeyde arttığı tespit edilmiştir [289]. Benzer şekilde, 286’sı ciddi olmak üzere toplam 452 COVID-19 hastasının proinflamatuvar sitokin düzeylerinin incelendiği bir çalışmada, bu hastaların IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF α düzeylerinde artışların olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda, çalışmada enfeksiyonu şiddetli geçiren hastalardaki lenfosit ve monosit sayılarının daha düşük olduğu da belirtilmiştir [290]. Brezilya’da yapılan ve 783 COVID-19 hastasının incelendiği bir çalışmada, bu virüsün bireylerde inflamatuvar faktörlerden IFN, TNF α , TLR2, TLR8 ve TLR9 düzeylerini artırdığı gösterilmiştir. Aynı zamanda, çalışmada SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında NF κ B yolağının aktive olduğu ve bu duruma bağlı olarak sitokin ve kemokin tepkilerinin arttığı sonucuna varılmıştır [291]. Lin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, SARS-CoV-2 virüsüne ait ORF8 okuma bölgelerinin, IL-17 sinyal yolağını aktive ederek proinflamatuvar sitokin salınımını

artırabileceğini göstermiştir. Bu çalışmada IL-17 antikorlarının kullanımının, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarına bağlı ortaya çıkan sitokin fırtınasını engelleyebilecek etkiler gösterdiği belirlenmiştir [292]. Tomazini ve arkadaşları tarafından yapılan ve 299 COVID-19 hastasının incelendiği bir çalışmada, hastaların deksametazonla tedavi edilmesinin mortalite oranlarını (%61,5'e karşı %56,3) azalttığı gösterilmiştir [293]. SARS-CoV-2 enfeksiyonu nedeniyle hastaneye yatırılan 200 hastada düşük ve yüksek doz deksametazon tedavisinin etkilerinin incelendiği bir klinik çalışmada, yüksek doz (10 mg) deksametazon kullanımının düşük doz (6 mg) kullanımına kıyasla klinik kötüleşmeyi daha çok azalttığı gösterilmiştir [294]. COVID-19 hastalarında deksametazon kullanımının sitokin fırtınası üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise, bu ilacı kullanan COVID-19 hastalarında kan TNF α , IL-6, IL-10 ve IFN γ düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, çalışmada SARS-CoV-2 virüsüyle enfekte edilen insan periferik kan hücrelerine deksametazon uygulamasının, bu hücrelerdeki IL-1 β ve IL-6 düzeylerini azalttığı saptanmıştır. Çalışmanın sonuçları, deksametazon tedavisinin şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonları geçiren hastalarda sitokin fırtınasını azaltarak yararlı etkiler ortaya çıkardığını göstermektedir [295]. Tüm bu veriler, SARS-CoV-2 viral etkeniyle enfekte bireylerde ortaya çıkan inflamatuvar durumun hastalığın seyrini olumsuz yönde etkilediğini ve antiinflamatuvar ilaç kullanımının inflamasyon şiddeti azaltarak, hastalığın tedavisinde etkili olabileceğini göstermektedir.

2.9. SARS-CoV-2 ve Cinsiyet İlişkisi

SARS-CoV-2 enfeksiyonunun şiddeti ve ilerleyişi bireylerde bulunan çeşitli metabolik hastalıkların yanı sıra, cinsiyete bağlı olarak da farklılık göstermektedir [66]. Farklı ülkelerde yapılan çok sayıda çalışma, erkek hastalarda kadınlara kıyasla daha şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonları ve yüksek mortalite oranları bulunduğunu göstermektedir [296]. Bu amaçla İtalya'da yapılan bir çalışmada, toplam 1591 COVID-19 hastasının %82'sini erkeklerin oluşturduğu gösterilmiştir. Çalışmada yaşa göre bir karşılaştırma yapıldığında, tüm yaş aralıklarındaki hasta gruplarında, erkeklerdeki enfeksiyon oranlarının kadınlara kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [67]. New York'ta yapılan ve 5700 hastayı içeren geniş ölçekli bir çalışmada ise hastaneye yatırılan COVID-19 hastalarının %60,3'ünü erkeklerin oluşturduğu saptanmıştır. Aynı zamanda, çalışmada 20-29 yaş aralığında erkek hastaların mortalite oranının %7,1 olduğu, bu oranın kadınlarda %1,8 olduğu kaydedilmiştir [297]. Çin'de yapılan bir çalışmada, COVID-19 hastalığına

bağlı gelişen mortalite oranlarının erkek hastalarda kadınlara kıyasla 2,4 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir [66]. Benzer şekilde, Çin'in Wuhan şehrinde COVID-19 tanısı alan 191 hastayla ilgili yapılan retrospektif bir çalışmada ise hastaların %62'sinin erkek olduğu gözlenirken, ölen hastaların %70'ini erkeklerin oluşturduğu tespit edilmiştir [298]. ABD'de yapılan bir çalışmada, erkek hastaların SARS-CoV-2 enfeksiyonu nedeniyle hastaneye yatış oranları %15,6 iken, kadınlar bu oran %12,4 olarak kaydedilmiştir. Aynı çalışmada erkek hastaların %2,8'i yoğun bakım ünitesinde tedavi görmekte iken, kadın hastaların %1,7'si yoğun bakım ünitesinde tedavi görmektedir. Bu çalışmada, ayrıca erkeklerde bu hastalığa bağlı görülen mortalite oranının %6 olduğu tespit edilirken, kadınlarda %4,8 olduğu saptanmıştır [299]. Fransa'da yapılan bir çalışmada ise tüm yaş gruplarındaki erkek bireylerin SARS-CoV-2 enfeksiyonuna bağlı olarak hastanede tedavi görme oranlarının kadınlara kıyasla yaklaşık 1,25 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır [300]. Ayrıca, bireylerde mevcut diyabet hastalığı varlığının SARS-CoV-2 enfeksiyonu üzerine etkilerinin cinsiyete bağlı olarak incelendiği bir çalışmada, Birleşik Krallık'ta bulunan 20 binin üzerindeki COVID-19 hastasının %59,1'ini erkeklerin oluşturduğu gösterilmiştir. Çalışmada, komplikasyonlu diyabet hastalığı bulunan erkek bireylerdeki SARS-CoV-2 enfeksiyonu görülme oranı %8,2 olarak belirlenirken, kadınlarda bu oranın %6,2 olduğu tespit edilmiştir [301]. Benzer şekilde, İngiltere'de 13 bin katılımcıyla yapılan bir çalışmada ise tip 2 diyabeti bulunan SARS-CoV-2 hastalarının %56,1'ini erkeklerin oluşturduğu gösterilmiştir [302]. Toplam 4380 hastayı içeren 22 çalışmanın dahil edildiği bir meta-analiz çalışmasında, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun erkeklerde kadınlara kıyasla daha şiddetli ilerlediği gösterilmektedir [303]. Bununla birlikte, Notarte ve arkadaşları tarafından yapılan güncel bir meta-analiz çalışmasında, COVID-19 hastalığının başlangıcından itibaren 3 aylık süre içerisinde semptom görülme olasılığı olarak nitelendirilen post-COVID-19 semptomlarının, kadınlarda erkeklere kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir [304]. Yirmi çalışmanın dahil edildiği bir meta-analiz çalışmasında, kadınlarda post-COVID-19 semptomları görülme olasılığının daha yüksek olduğu gösterilmiştir [305]. Benzer şekilde, SARS-CoV-2 enfeksiyonları sonrası uzun süreli semptomların incelendiği 958 hastadan oluşan başka bir retrospektif çalışmada ise post-COVID-19 semptomlarının görülme olasılığının kadınlarda %68,3 olduğu gösterilirken, erkeklerde bu oran %31,7 olarak kaydedilmiştir [306]. Bu veriler, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun şiddetinin ve mortalite oranlarının erkek hastalarda, enfeksiyonun post-COVID-19 semptomlarının görülme olasılığının ise kadın hastalarda daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Erkek bireylerde, kadınlara kıyasla daha şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının görülmesine ilişkin moleküler mekanizmalar çeşitli çalışmalarla aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu durum, erkek ve kadın bireyler arasında SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine girişinde önemli görevler üstlenen reseptörler ve çeşitli proteazların ekspresyon düzeyleri açısından bir farklılığın bulunup bulunmadığını inceleme konusu haline getirmiştir. Araştırmacılar, ACE2 enziminin X kromozomu üzerindeki özel gen bölgeleri tarafından kodlandığını bildirmektedir [68]. Bu amaçla, çeşitli çalışmalarda ACE2 enziminin ekspresyon seviyesinin cinsiyete göre değişimi incelenmiştir [69,70,217,307]. Yetişkin ve çocukların intestinal doku örneklerindeki ACE2 ekspresyonlarının incelendiği bir çalışmada, erkek bireylerin ileum dokularındaki ACE2 ekspresyonlarının, kadınlara kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [217]. Böbrek dokusundaki ACE2 ekspresyonlarının incelendiği bir çalışmada, erkek böbrek dokusunda kadınlara kıyasla daha yüksek ACE2 ekspresyon seviyelerinin olduğu gösterilmiştir [69]. Ayrıca, kalp yetmezliği olan hastalarda yapılan bir çalışmada plazmadaki ACE2 enzim düzeylerinin erkek bireylerde kadınlara kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [307]. Astım hastalarının balgam örneklerindeki ACE2 enzim düzeylerinin her iki cinsiyetteki ekspresyon oranlarının incelendiği başka bir çalışmada ise astımlı ve sağlıklı bireylerdeki ACE2 gen ekspresyonları benzer olmasına rağmen, erkeklerin balgam örneklerindeki ACE2 gen ekspresyonlarının kadınlara kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir [70]. Tüm bu veriler, ACE2 enzim ekspresyonlarının cinsiyetler arasında farklılık gösterdiğini ortaya koymakta ve bu durum, COVID-19 hastalığının erkeklerde daha şiddetli seyretmesini kısmen açıklayabilmektedir.

Diğer taraftan, SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücre içine girişinin gerçekleşmesi için önemli görevler üstlenen TMPRSS2 aktivitesinin erkek bireylerden elde edilen akciğer hücre hatlarında daha yüksek olduğu gösterilmektedir [308]. Aynı zamanda, viral giriş için oldukça önemli etkileri bulunan bu membran proteazının ekspresyon seviyelerinin androjenler tarafından düzenlendiği bilinmektedir [71]. Prostat kanseri nedeniyle androjen hormon üretimini azaltmaya yönelik tedavi alan hastaların incelendiği çalışmada, bu hastaların SARS-CoV-2 viral enfeksiyonundan kısmen korunduğu gösterilmiştir [309]. Androjen hormonları tarafından ekspresyonunun düzenlendiği bilinen TMPRSS2'nin organ spesifik etkilerinin *in vitro* ve *in vivo* yöntemlerle incelendiği bir çalışmada, bu proteazın knockout edilmesinin SARS-CoV-2 enfeksiyonlarını belirgin ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Çalışmada, prostat hücre hattında androjen reseptör blokörü enzalutamid

uygulamasının TMPRSS2 protein ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Ancak, enzalutamidin akciğer hücre hattı ve fare akciğer dokusunda böyle bir etki meydana getirmediği saptanmış ve bu duruma akciğerde androjen hormonlardan bağımsız TMPRSS2 ekspresyonunun gerçekleşmesinin neden olabileceği belirtilmiştir [310]. Bu bilgiler, viral girişi kolaylaştıran TMPRSS2 ekspresyonunun androjenler tarafından uyarıldığını ve böylece erkek bireylerde SARS-CoV-2 enfeksiyon riskinin kadınlara kıyasla daha yüksek olabileceğini göstermektedir.

Literatürde yüksek fruktoz diyetiyle beslenmenin neden olduğu metabolik sendromun ve cinsiyet farkının, intestinal dokuda SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişinde rol alan proteinlerin ekspresyonları ve inflamasyon üzerine etkilerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasının amacı, *Wistar* erkek ve dişi sıçanlara 15 hafta boyunca içme suyu içerisinde verilen %20 fruktozun, metabolik parametrelerle birlikte ileum ve jejunum dokularındaki histopatolojik değişiklikler, inflamatuvar faktörler (TNF , IL-  NFB, NLRP3, Caspase-1 ve CD68), RAS komponentleri (ACE ve ACE2) ve SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içerisine girişinde rol alan proteinler (ACE2, TMPRSS2, ADAM17 ve B0AT1)  zerine etkilerini cinsiyete bağımlı olarak belirlemektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Diyet

Bu tez çalışmasının hayvan deneyleri protokolü, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından G.Ü.ET-22.007 no'lu karar ile onaylanmıştır. Yüksek fruktoz diyetinin SARS-CoV-2 virüsünün intestinal hücreye girişini belirleyen moleküllerin ekspresyonu ve inflamasyon üzerine etkilerinin dişi ve erkek sıçanlarda incelenmesi amacıyla, 3 haftalık erkek ve dişi *Wistar* albino sıçanlar Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilmiştir. Hayvanların beslenmesi ve takip işlemleri Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanı Bakım ve Araştırma Ünitesinde yapılmıştır. Hayvanlar, yem ve suya serbestçe erişebilecek şekilde, 12/ 12 saat aydınlık/karanlık periyoduna ayarlanmış, sıcaklık (20-22 °C) ve nem (%40-60) kontrollü odalara yerleştirilmiştir. Tüm deney hayvanları %62 nişasta, %23 protein, %4 yağ, %7 selüloz ile mineral ve vitamin karışımından oluşan standart sıçan yemiyle beslenmiştir. Hayvanlar bir haftalık uyum periyodu sonrasında kontrol erkek, fruktoz erkek, kontrol dişi ve fruktoz dişi grubu olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır.

Deney grupları:

1. Kontrol erkek grubu (n=6): Erkek sıçanlara, deneyin 1. haftasından itibaren 15 hafta boyunca standart yem ve içme suyu verilmiştir
2. Fruktoz erkek grubu (n=9): Erkek sıçanlara, deneyin 1. haftasından itibaren 15 hafta boyunca standart yem ve %20 fruktoz içeren içme suyu verilmiştir.
3. Kontrol dişi grubu (n=6): Dişi sıçanlara, deneyin 1. haftasından itibaren 15 hafta boyunca standart yem ve içme suyu verilmiştir.
4. Fruktoz dişi grubu (n=9): Dişi sıçanlara, deneyin 1. haftasından itibaren 15 hafta boyunca standart yem ve %20 fruktoz içeren içme suyu verilmiştir.

İçme suyu içerisinde %20 (ağırlık/hacim) fruktozla beslenen deney hayvanları, 15 haftalık deney süresi sonunda ketamin 100 mg/kg ve ksilazin 10 mg/kg karışımı kullanılarak sakrifiye edilmiştir. Sakrifiye edilen hayvanların intrakardiyak kan örnekleri ile ileum ve jejunum dokuları hızlı bir şekilde alınmıştır.

3.1.1. Fruktoz solüsyonunun hazırlanması

Deney hayvanlarına 15 hafta boyunca %20 (ağırlık/hacim) fruktoz içeren içme suyu verilerek metabolik sendrom modeli oluşturulmuştur. Fruktoz solüsyonu, haftada iki kere taze olarak hazırlanmış ve bu süre içerisinde +4 °C’de muhafaza edilmiştir. Bu solüsyon, oda ısısına getirilip çalkalandıktan sonra ölçekli ve temiz suluklara eklenerek hayvanlara verilmiştir. Sulukların içerisinde mikroorganizma üremesine elverişli bir ortam oluşma ihtimaline karşın, suluklar her hafta düzenli olarak dezenfekte edilmiştir. Deney hayvanlarında metabolik sendrom modeli oluşturmak amacıyla kullanılan fruktoz solüsyonunun doz ve süresi, laboratuvarımızda yapılan yayınlanmış çalışmalara dayanılarak belirlenmiştir [11,15,79,311].

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Buzdolabı (+4 °C, Vestel),
 Derin dondurucu (-20 °C, Sanyo, MDF-U537D),
 Derin dondurucu (-85 °C, Sanyo, MDF-U5186S),
 Buz makinesi (Scotsman, AF100),
 Soğutmalı santrifüj (High speed brusless centrifuge MPW 350R, Hettich, universal 320 R, Germany),
 Hassas terazi (Precisa),
 pH metre (Ohaus),
 Doku homojenizatörü (MICCRa D1),
 Vorteks (Velp scientifica),
 Manyetik karıştırıcı (Ika),
 Orbital çalkalayıcı (Benchmark),
 Saf su cihazı (Şimşek Labortechnik, SS200),
 Spektrofotometrik mikroparka okuyucu (SpectraMax i3x, SpectraMax ABS Plus, Elx-800; Bio-Tek Instruments Inc, Winooski, VT, USA),
 Western Blot jel dökme modülü (Bio-Rad),
 Otomatik pipetler (Eppendorf Plus),
 Mini dikey elektroforez sistemleri (Bio-Rad),
 Güç kaynağı (Thermo Scientific),
 Western Blot transfer cihazı (Bio-Rad Trans-Blot Turbo),

Kemilüminesans görüntüleme cihazı (Azure c300).

Otomatik doku takip cihazı (Leica TP1020, Nussloch, Germany)

Mikrotom cihazı (Thermo Fisher Scientific, Cheshire, UK)

Mikroskop (Carl Zeiss Microscopy GmbH 07745 Jena, Almanya)

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Metabolik sendrom modelini oluşturmak için kullanılan fruktoz, Danisco Sweeteners OY (Finlandiya)'dan temin edilmiştir. Biyokimyasal analizler, Western Blot ve histopatoloji çalışmalarında kullanılan kimyasal maddeler ilgili bölümlerde belirtilmiştir. Deneylerde kullanılan diğer kimyasal maddeler Sigma-Aldrich Corporation (St. Louis, MO)'den temin edilmiştir.

3.4. Kullanılan Çözeltiler

3.4.1. Doku izolasyonunda kullanılan çözelti

Krebs-Henseleit çözeltisi

Sodyum klorür (NaCl)	119	mM
Sodyum bikarbonat (NaHCO ₃)	25	mM
Potasyum klorür (KCl)	4,73	mM
Magnezyum klorür dihidrat (MgCl ₂ .2H ₂ O)	1,2	mM
Potasyum dihidrojen fosfat (KH ₂ .PO ₄)	1,2	mM
Kalsiyum klorür dihidrat (CaCl ₂ .2H ₂ O)	2,5	mM
Glukoz monohidrat	11	mM
Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)	0,026	mM

Distile su

Sodyum klorür, sodyum bikarbonat, potasyum klorür, potasyum dihidrojen fosfat ve glukoz monohidrat uygun miktarda tartılarak distile suda çözülmüştür. Sonrasında magnezyum klorür dihidrat ve kalsiyum klorür dihidrat ayrı ayrı kaplarda çözülerek hazırlanan çözeltilere sırasıyla eklenmiştir. Elde edilen çözelti distile suyla istenilen hacme tamamlanmıştır.

3.4.2. Western Blot yönteminde kullanılan çözeltiler

Doku homojenizasyon çözeltisi

Tris baz	50	mM
NaCl	150	mM
Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA)	5	mM
Triton x-100	%1	h/h
Sodyum deoksikolat	%0,26	a/h
Sodyum florür (NaF)	50	mM
Sodyum ortovanadat	0,1	mM
Fenilmetilsülfonil florür (PMSF)	0,2	mM

PMSF dışındaki tüm maddeler uygun miktarda tartılarak distile suda çözülmüştür. PMSF, az miktar metanol içerisinde çözüldükten sonra elde edilen çözeltiliye eklenmiştir. Sonrasında çözelti distile suyla istenilen hacme tamamlanmıştır.

Lowry yönteminde kullanılan çözeltiler

Reaktif I çözeltisi: %2 (a/h) bakır sülfat pentahidratın distile su içerisinde çözünmesiyle hazırlanmıştır.

Reaktif II çözeltisi: %2 (a/h) sodyum potasyum tartaratın distile su içerisinde çözünmesiyle hazırlanmıştır.

Reaktif A çözeltisi: %2 (a/h) NaHCO_3 çözeltisinin 0,1N sodyum hidroksit (NaOH) içerisinde çözünmesiyle hazırlanmıştır.

Reaktif ACR çözeltisi: 200 µl reaktif I, 200 µl reaktif II ve 20 ml reaktif A çözeltilerinin uygun sırasıyla karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Taze olarak hazırlanan reaktif ACR çözeltisi ışıktan korunarak muhafaza edilmiştir.

Laemmlı örnek hazırlama tamponu

Tris-HCl (0,5 mM, pH 6,8)	1,25	ml
Gliserol	2,5	ml
%10 (a/h) Sodyum dodesil sülfat (SDS)	2	ml
%0,5 (a/h) Bromofenol mavisi	0,2	ml
Distile su	3,55	ml

Tüm maddelerden uygun miktarda kullanılarak hazırlanan çözeltinin 950 μ l'si üzerine 50 μ l β -merkaptoetanol eklenmiştir. Hazırlanan yükleme çözeltisi doku homojenatlarıyla 1:1 oranında karıştırılarak 95 °C kuru ısıda 5 dakika boyunca bekletilmiştir.

Poliakrilamid jel hazırlamada kullanılan çözeltiler*Üst (sıkıştırıcı) jel tamponu*

Tris baz	0,5 M
SDS	%0,4

Tris baz ve SDS çözeltisi karıştırıldıktan sonra çözeltinin pH'ı 8.8'e ayarlanmıştır. Daha sonra çözelti distile suyla 50 ml'ye tamamlanmıştır.

Alt (ayırıcı) jel tamponu

Tris baz	1,5 M
SDS	%0,4

Tris baz ve SDS çözeltisi karıştırıldıktan sonra çözeltinin pH'ı 6.8'e ayarlanmıştır. Daha sonra çözelti distile suyla 50 ml'ye tamamlanmıştır.

Akrilamid (%30) solüsyonu

Akrilamid	%29 (a/h)
N,N'-metilen-bisakrilamid	%1 (a/h)

Yeterli miktarda akrilamid ve N,N'-metilen-bisakrilamid tartılarak distile suyla 50 ml'ye tamamlanmıştır.

Üst (sıkıştırıcı, yükleme, %4'lük) jel çözeltisi

Distile su	6,1	ml
Akrilamid/ Bisakrilamid (%30)	1,3	ml
Üst jel tampon çözeltisi (0,5 M Tris-HCl, pH:6,8)	2,5	ml
%10 SDS çözeltisi	100	µl
%10 APS çözeltisi	50	µl
Tetrametiletildiamin (TEMED)	10	µl

Tüm maddelerden uygun miktarda alınıp karıştırılarak %4'lük üst jel çözeltisi hazırlanmıştır.

Alt (ayırıcı, %12'lik) jel çözeltisi

Distile su	3,5	ml
Akrilamid/ Bisakrilamid (%30)	4	ml
Alt jel tampon çözeltisi (1,5 M Tris-HCl, pH:8,8)	2,5	ml
%10 SDS çözeltisi	100	µl
%10 Amonyum persülfat (APS) çözeltisi	50	µl
TEMED	5	µl

Tüm maddelerden uygun miktarda alınıp karıştırılarak %12'lik alt jel çözeltisi hazırlanmıştır.

Elektroforezde kullanılan çözeltiler

Yürütme çözeltisi

Tris baz	3,028 g
Glisin	14,41 g
SDS	1 g

Tris baz ve glisin uygun miktarlarda tartıldıktan sonra bir miktar distile su içerisinde çözülerek mezürde 1 litreye tamamlanmıştır. Elde edilen çözeltiye 1 g SDS eklenerek yürütme çözeltisi hazırlanmıştır.

Transfer çözeltisi

Tris baz	3,028 g
Glisin	14,41 g
Metanol	200 ml

Tris baz ve glisin uygun miktarlarda tartıldıktan sonra distile su içerisinde çözülmüştür. Elde edilen çözelti distile suyla 800 ml'ye tamamlanmıştır. Sonrasında çözeltinin üzerine 200 ml metanol eklenerek transfer çözeltisi hazırlanmıştır.

Yıkama çözeltisi (Tris-buffered saline with tween-20; TBST)

Tris baz	2,4245 g
NaCl	29,02 g
Tween-20	0,5 ml

Tris baz ve NaCl uygun miktarlarda tartıldıktan sonra distile su içerisinde çözülmüştür. Elde edilen çözeltinin pH değeri 7,4'e ayarlanmıştır. Sonrasında çözelti distile suyla 1 litreye tamamlanmıştır. Çözeltiye Tween-20 eklenerek membran yıkama çözeltisi hazırlanmıştır.

3.5. Hayvanların Ağırlık, Günlük Yem ve Sıvı Tüketimi ile Total Kalori Alımının Hesaplanması

Deney başlangıcından itibaren, haftalık olarak hayvanların vücut ağırlıklarındaki değişimler takip edilmiştir. Hayvanların tükettikleri yem ve sıvı miktarları ise haftada iki kez ölçülerek kaydedilmiştir. Hayvanların günlük tükettikleri yem miktarları, belirli bir saatte kafes yemliğine eklenen yem miktarından 24 saat sonunda kafes yemliğinde kalan yem miktarı (g) çıkarılarak hesaplanmıştır. Hesaplanan bu değer kafeste bulunan hayvan sayısına bölünerek günlük tüketilen yem miktarı bulunmuştur. Hayvanların tükettikleri sıvı miktarı ise belirli bir saatte hayvanların sızdırmaz suluklarına eklenen sıvı miktarından 24

saat sonunda suluklarda kalan sıvı miktarı (ml) çıkarılarak hesaplanmıştır. Bu değer kafeste bulunan hayvan sayısına bölünerek günlük tüketilen sıvı miktarı bulunmuştur. Hayvanların fruktoz tüketimi (g), fruktozla beslenen hayvanların sıvı (%20 ağırlık/hacim fruktoz) tüketiminden hareketle hesaplanmıştır. Ayrıca, günlük yem tüketimlerinden aldıkları kalori (3,5 kcal/g yem) ve fruktoz tüketimlerinden alınan kalori (3,8 kcal/g) miktarları hesaplanarak toplam kalori miktarları bulunmuştur.

3.6. Plazma ve İntestinal Doku Örneklerinin Alınması

Anestezi altındaki hayvanlardan alınan intrakardiyak kan örnekleri, mor kapaklı EDTA'lı tüplerde 2200 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek plazmalarına ayrılmıştır. Plazma örnekleri, ependorf tüplere alınıp sıvı azotla dondurulduktan sonra -85 °C'de muhafaza edilmiştir. Toraks açıldıktan sonra ileum ve jejunum dokuları hızlıca çıkarılmıştır. Alınan ileum ve jejunum dokularının bir kısmı, Krebs çözeltisi içerisinde kan ve diğer dokulardan temizlenip, kurulandıktan sonra biyokimyasal ve moleküler analizlerde kullanıma uygun şekilde ependorf tüplere alınarak, sıvı azotla dondurulup deney gününe kadar -85 °C'de saklanmıştır. Sıçanların ileum ve jejunum dokularının bir kısmı ise histolojik incelemelerde kullanılmak üzere %10 formaldehit içeren çözelti içerisinde alınmıştır.

3.7. Histopatolojik İncelemeler

Kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum doku örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda 1 hafta boyunca fikse edilmiştir. Doku örnekleri otomatik doku takip cihazı (Leica TP1020, Nussloch, Germany) kullanılarak farklı derecelerdeki etanol (%70, %80, %96 ve %100) serileri ve ksilenden geçirildikten sonra rutin doku takibine alınmış ve parafin bloklara gömülmüştür. Elde edilen parafin bloklardan Thermo Shandon Finesse ME mikrotom cihazı (Thermo Fisher Scientific, Cheshire, UK) kullanılarak 5µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Alınan doku kesitlerinde histopatolojik analiz için rutin Hematoksilen-Eozin (H&E, Atom Scientific) boyama yapılmıştır. Sonuçlar Carl Zeiss AxioCam marka ERc5 model (Carl Zeiss Microscopy GmbH 07745 Jena, Almanya) dijital kamera ataçmanlı mikroskop kullanılarak değerlendirilmiş ve fotoğraflanmıştır. Histopatolojik incelemelerde 10'luk ve 40'luk objektiflerle intestinal doku örneklerindeki epitel tabakası, inflamasyon, vasküler değişiklikler, fibrozis ve ödem bulguları incelenmiştir.

3.8. Biyokimyasal Analizler

Plazma, ileum ve jejunum doku örneklerindeki biyokimyasal analizler uygun kolorimetrik ve enzimatik kitler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.8.1. Plazma glukoz ölçümü

Hayvanların plazma örneklerinde glukoz ölçümü rutin biyokimya analizleri kapsamında üretici firmanın talimatlarına göre Otto Scientific marka kit (OttoBC142) kullanılarak Mindray-BS400 otoanalizöründe yapılmıştır. Sonuçlar mg/dl olarak ifade edilmiştir.

3.8.2. Plazma lipit düzeylerinin ölçümü

Deney süresi boyunca belirli haftalarda hayvanların kuyruk veninden alınan kan örneklerindeki trigliserit düzeyleri Roche marka Accutrend Plus cihazıyla ölçülerek metabolik sendrom modeli oluşumunun takibi yapılmıştır. Sakrifikasyon sonrasında hayvanlardan intrakardiyak olarak alınan kan örneklerinden elde edilen plazma örneklerindeki trigliserit ve total kolesterol düzeyleri rutin biyokimya analizleri kapsamında, Otto Scientific marka uygun kitler (OttoBC155 ve OttoBC135) kullanılarak Mindray-BS400 otoanalizöründe üretici firmanın kullanım talimatına göre ölçülmüştür. Sonuçlar mg/dl olarak ifade edilmiştir.

3.8.3 Plazma insülin, TNF α , IL-1 β ve NF κ B düzeylerinin ölçümü

Hayvanların plazma örneklerindeki insulin (NE010070703, Nepenthe), TNF α (NE010076403, Nepenthe), IL-1 β (NE010011903, Nepenthe) ve NF κ B (NE010028703, Nepenthe) düzeylerinin ölçümü spesifik sıçan enzimatik analiz kitleri (enzyme-linked immunoassay; ELISA) kullanılarak üretici firmanın kullanıma uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Absorbans okuması Elx-800 (Bio-Tek) cihazında yapılmıştır. Sonuçlar pg/ml veya ng/ml olarak ifade edilmiştir.

3.8.4. İleum ve jejunum doku örneklerinde TNF α , IL-1 β ve NF κ B düzeyleri ölçümü

İntestinal doku analizleri için, 100 mg ileum ve jejunum doku örnekleri 900 μ l fosfat tamponlu salin (PBS, pH:7,4) ile homojenize edilmiştir. Homojenatlar 10 000 g'de 5

dakika santrifüj edilerek süpernatantlar elde edilmiştir. Hayvanların ileum ve jejunum doku örneklerindeki TNF α (NE010076403, Nepenthe), IL-1 β (NE010011903, Nepenthe) ve NF κ B (NE010028703, Nepenthe) düzeylerinin ölçümü spesifik sıçan ELISA kitleri kullanılarak üretici firmanın kullanım talimatına uygun uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Absorbans okuması Elx-800 (Bio-Tek) cihazında gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar pg/mg protein veya ng/mg protein olarak ifade edilmiştir.

3.9. Western Bot Analizleri

3.9.1. Doku homojenizasyonu ve toplam protein miktar tayini

Sıvı azotta dondurulan ve Western Blot analizleri için -85 °C’de muhafaza edilen ileum ve jejunum dokuları soğuk zincire uygun olarak eşit miktarda (125 $\pm$ 5 mg) tartılmıştır. Tartımı yapılan doku örnekleri üzerine yaklaşık 4 katı kadar homojenizasyon tamponu eklenerek buza gömülü şekilde homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenatlar 1500 g ve +4 °C’de 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısımları ayrılmıştır. Süpernatantların içerdiği protein miktarları Lowry yöntemiyle saptanmıştır [312]. Standart olarak 0,05-1 mg/ml arasında artan derişimde hazırlanan 7 farklı sığır serum albümin (bovine serum albumin; BSA) çözeltileri kullanılmıştır. Hazırlanan standart çözeltileri ve 100 kat seyreltilen ileum ve jejunum örneklerinden 40 μ l alınarak mikropılaka kuyucuklarına yüklenmiştir. Tüm kuyucuklara 200 μ l Lowry çözeltisi eklendikten sonra oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 10 dakika inkübe edilmiştir. Sonrasında kuyucuklara 20 μ l 1 N Folin reaktifi eklenerek 30 dakika boyunca karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Ardından hızlı bir şekilde spektrofotometre cihazında 660 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek konsantrasyon/absorbans grafiğı ve bir regresyon denklemi elde edilmiştir. Bu denklemden hareketle hayvanların ileum ve jejunum doku örneklerinin içerdiği toplam protein miktarları hesaplanmıştır.

3.9.2. Western Blot analizleri için doku örneklerinin hazırlanması

Lowry yöntemiyle toplam protein miktarları belirlenen ileum ve jejunum örnekleri uygun miktarda homojenizasyon çözeltisiyle karıştırılarak örneklerin protein konsantrasyonları eşitlenmiştir. Eşit miktarda protein içeren homojenatlar Laemmli tamponuyla 1:1 oranında

kariştirildikten sonra 95 °C kuru ısıda 5 dakika boyunca kaynatılarak Western Blot çalışmalarıda kullanılacak doku örnekleri elde edilmiştir.

3.9.3. Western Blot yöntemiyle protein ekspresyonlarının belirlenmesi

Western Blot analizinin ilk aşaması olan jel elektroforez işlemi sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işlemin yapılması amacıyla 1 mm kalınlığında %12'lik ayırma jeli hazırlanmıştır. Hazırlanan bu jel kaset halindeki iki cam levha arasına aktarılmış ve yaklaşık 25 dakika boyunca bekletilerek akrilamid monomerlerinin polimerleşmesi sağlanmış ve jelleşme işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında %4'lük yükleme jeli hazırlanmış ve 2 cam levha arasında aktarılmıştır. Jelleşme işlemlerinin gerçekleşmesinden sonra iki cam levhanın üst kısmına 10 adet dişe sahip olan tarak yerleştirilmiştir. Yaklaşık 25 dakika bekleme süresi sonunda yükleme jelinin de polimerleşme işlemi tamamlanmıştır. Elde edilen kasetler, soğuk zincirin sağlanması amacıyla etrafı buzla kaplanmış elektroforez tankına yerleştirilmiş ve yürütme çözeltisi ilave edilmiştir. Tarakların çıkarılmasıyla elde edilen kuyucuklara 50 µg ileum ve jejunum doku örnekleri transfer edilmiştir. Transfer işleminin ardından sabit 200 V altında elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 1 saatlik elektroforez işlemi sonrasında yarı-kuru transfer cihazında, transfer çözeltisiyle ıslatılmış patchler arasına, metanolde aktif hale getirilen PVDF membranlar ve elektroforezden çıkarılan jeller üst üste konularak cihazın kasetleri kapatılmıştır. Ardından, jelde ayrılan proteinler membrandan transfer cihazında sabit 1 A akım altında 30 dakika boyunca bekletilerek polivinilidendiflorür (PVDF) membranlara aktarılmıştır. Elde edilen membranlar kısa süreli olarak TBST yıkama çözeltisiyle yıkanmıştır. İstenmeyen bağlanmaların önlenmesi amacıyla membranlar TBST içerisinde hazırlanmış %3'lük BSA çözeltisiyle 1 saat bloklama işlemine tabi tutulmuştur. Bloklama işleminden sonra TBST yıkama çözeltisiyle 3 kere 5 dakika boyunca yıkanan membranlar birincil (primer) antikorlar olan TNFα (anti- TNFα rabbit IgG 1:500 ab6671, Abcam, Fransa), IL-1β (anti-IL-1β rabbit IgG, 1:1000, ab8722, Abcam, Fransa), NFκB (anti-NFκB rabbit IgG, 1:500, 622602, BioLegend, ABD), NLRP3 (anti-NLRP3 rabbit IgG, 1:500, PA1665, Boster, ABD), Caspase-1 (anti-caspase-1 mouse IgG 1:500, sc-56036, Santa Cruz, ABD), CD68 (anti-CD68 rabbit IgG 1:500, St Jonns Laboratory, İngiltere), ACE (anti-ACE rabbit IgG, 1:1000, sc-23908, Santa Cruz, ABD), ACE2 (anti-ACE2 rabbit IgG, 1:1000, sc-390851, Santa Cruz, ABD), TMPRSS2 (anti- TMPRSS2 rabbit IgG, 1:1000, sc-515727, Santa

Cruz, ABD), ADAM17 (anti- ADAM17 rabbit IgG, 1:1000, sc-390859, Santa Cruz, ABD), B0AT1 (anti- B0AT1 rabbit IgG, 1:1000, sc-293399, Santa Cruz, ABD), GLUT2 (anti- GLUT2 rabbit IgG, 1:1000, sc-518022, Santa Cruz, ABD) ve Actin antikoru (anti-beta-actin rabbit IgG, 1:2000, ab179467, Abcam, Fransa) ile +4 °C’de gece boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işleminden sonra TBST yıkama çözeltisiyle 3 kere 5 dakika boyunca yıkanan membranlar horseradish peroxidase (HRP) ile konjuge ikincil (sekonder) antikor (Goat anti-rabbit IgG-HRP, 1:10000, Advansta, ABD veya Goat antimouse IgG-HRP, 1:10000, SantaCruz, ABD) ile 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Sonrasında TBST yıkama çözeltisiyle yıkama işleminden sonra membranlar Enhanced Chemiluminescence (ECL) görüntüleme çözeltisiyle 3-4 dk inkübe edilerek kemilüminesans görüntüleme cihazında (c300, Azure, ABD) bant görüntüleri belirlenmiştir. Görüntüleme sonrasında membranların bant yoğunlukları Image Lab 6.1 Programı (Biorad, ABD) ile belirlenmiştir. Belirlenen bant yoğunlukları internal standart olarak kullanılan Actin yoğunluklarına oranlanarak normalize edilmiştir.

3.10. İstatiksel Analiz

Elde edilen sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Sonuçların istatistik analizleri, ikili grupların karşılaştırılması için Student’s t-testi ve çoklu karşılaştırmalar için ise ANOVA (one way analysis of variance) ve Bonferroni post hoc testi kullanılarak yapılmıştır. P değeri 0,05’ten küçük ise, sonuçlar anlamlı olarak nitelendirilmiştir. Western Blot analiz sonuçlarında kontrol erkek grubunun ortalama değeri 1 olarak kabul edilmiş ve diğer gruplardaki değerler kontrol erkek grubu ortalamasına oranlanarak ifade edilmiştir. Histopatolojik analizlerdeki değerlendirmeler 0 (normal), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (şiddetli) şeklinde skorlanmıştır. Bu rakamsal değerler aracılığıyla istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir. Grafiklerin çizimi ve istatistik analizleri GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, Boston, ABD) programı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Sıçanların Vücut Ağırlığı, Günlük Yem-Sıvı Tüketimi ve Kalori Alımı

Sıçanların başlangıç ve terminal vücut ağırlıkları, günlük yem-sıvı tüketimleri ve toplam alınan kalori değerleri Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Deney süresi sonunda, yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların terminal vücut ağırlıklarında kontrol sıçanlara göre anlamlı bir farklılık oluşturmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek sıçanların terminal vücut ağırlıklarının dişi sıçanlara göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Beslenme süresi boyunca belirli aralıklarla sıçanların günlük yem ve sıvı tüketimleri ölçülmüştür. Elde edilen ölçüm sonuçlarından yararlanılarak, sıçanların yem ve fruktozdan aldıkları kalori miktarları hesaplanmıştır. Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanların yem tüketimlerinin kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek sıçanların günlük yem tüketimlerinin dişi sıçanlara göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanların sıvı tüketimlerinde kontrol sıçanlara göre bir azalma eğilimi olduğu halde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmazken; kontrol ve fruktoz grubu erkek sıçanların günlük sıvı tüketimlerinin dişi sıçanlara göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sıçanların yemden ve fruktozdan aldıkları günlük kalori değerleri hesaplandığında, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanların toplam kalori alımlarının kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda, kontrol ve fruktoz grubu erkek sıçanların total kalori alımlarının dişi sıçanlara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Sıçanların vücut ağırlığı, günlük yem-sıvı tüketimi ve kalori alımı

Parametreler	Gruplar	Kontrol	Fruktoz
Başlangıç vücut ağırlığı (g)	Erkek	91,5± 6,24	91,88±4,67
	Dişi	83,83±1,36	83,88±3,22
Terminal vücut ağırlığı (g)	Erkek	349,8±18,74	359,9±16,57
	Dişi	243,8±8,95 [#]	253,25±11,35 [#]
Yem tüketimi (g/gün)	Erkek	17,75 ± 0,56	13,0±0,57*
	Dişi	12,75±0,34 [#]	9,5±0,3* [#]
Sıvı tüketimi (ml/gün)	Erkek	40,5±1,83	37,31±1,66
	Dişi	31,93± 0,63 [#]	29,43±1,80 [#]
Fruktoz tüketimi (g/gün)	Erkek	-	7,46±0,33
	Dişi	-	5,89±0,36 [#]
Yemden alınan kalori (kcal)	Erkek	62,13 ± 1,96	45,5±1,98*
	Dişi	44,63± 1,17 [#]	33,25±1,15* [#]
Fruktozdan alınan kalori (kcal)	Erkek	-	28,36±1,26
	Dişi	-	22,36±1,37 [#]
Toplam kalori alımı (kcal)	Erkek	62,13 ± 1,96	73,86±3,02*
	Dişi	44,63 ±1,17 [#]	55,61±2,47* [#]

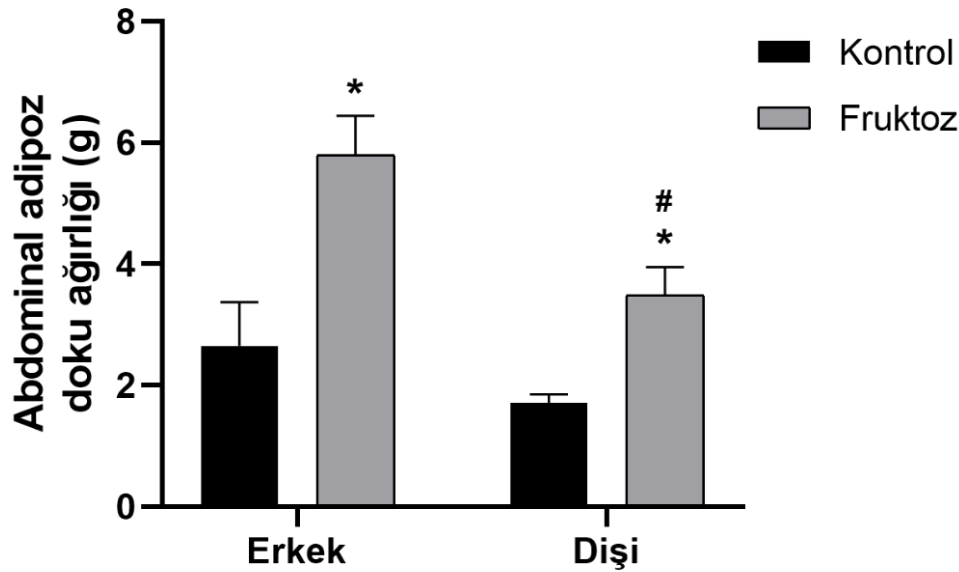
Değerler ortalama ±standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; [#]p<0.05 erkek grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.2. Sıçanların Adipoz Doku Ağırlığı ve Vücut Ağırlığına Oranı

Sakrifikasyon sırasında sıçanlardan alınan abdominal ve epididimal adipoz doku örneklerinin ağırlıkları ölçülmüştür. Aynı zamanda, doku ağırlıklarının terminal vücut ağırlığına oranları hesaplanmış ve yüzde olarak ifade edilmiştir.

4.2.1. Sıçanların adipoz doku ağırlığı

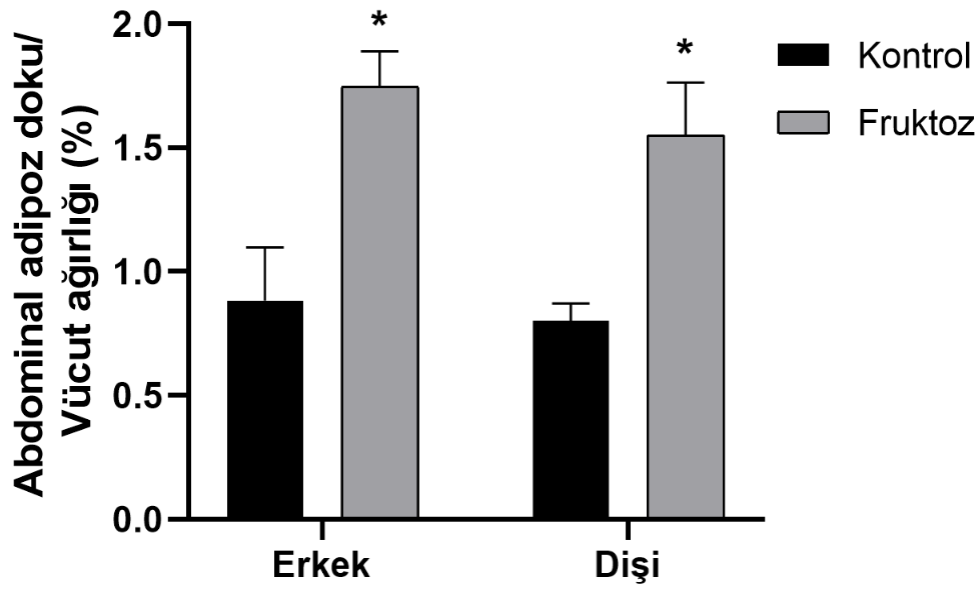
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların abdominal adipoz doku ağırlıklarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında abdominal adipoz doku ağırlıkları açısından anlamlı bir farklılık saptanmazken, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların abdominal adipoz doku ağırlıklarının dişi sıçanlara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Sonuçlar gram cinsinde verilmiştir.



Şekil 4.1. Sıçanların abdominal adipoz doku ağırlıkları. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p<0.05$ erkek grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.2.2. Sıçanların abdominal adipoz doku ağırlığının vücut ağırlığına oranı

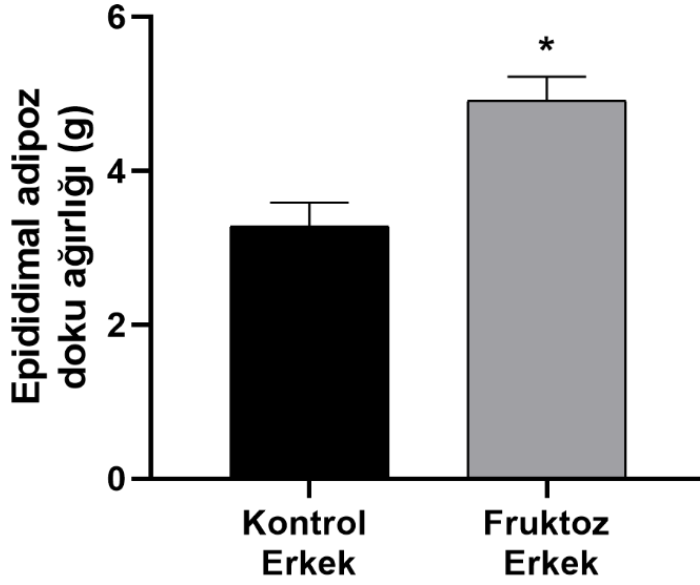
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların abdominal adipoz doku ağırlıklarının vücut ağırlığına oranını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında abdominal adipoz doku ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı açısından anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Sıçanların abdominal adipoz doku ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.2.3. Sıçanların epididimal adipoz doku ağırlığı

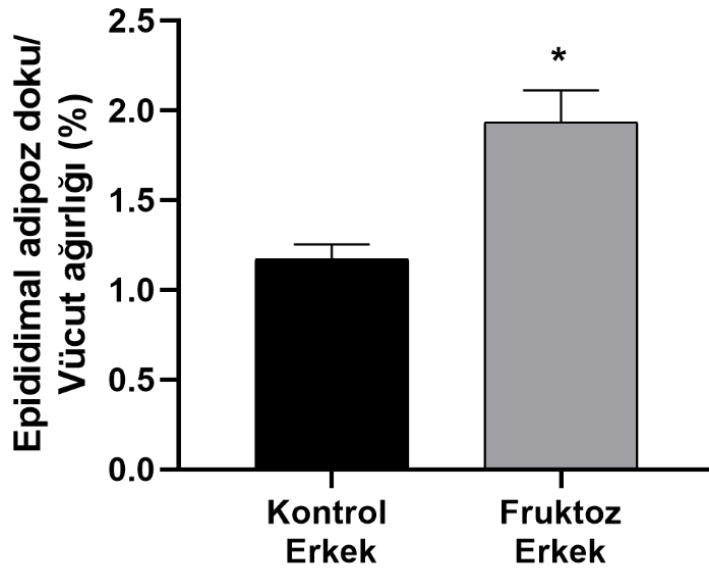
Yüksek fruktoz diyetinin erkek sıçanların epididimal adipoz doku ağırlıklarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.3). Sonuçlar gram cinsinde verilmiştir.



Şekil 4.3. Sıçanların epididimal adipoz doku ağırlıkları. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; $*p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.2.4. Sıçanların epididimal adipoz doku ağırlığının vücut ağırlığına oranı

Yüksek fruktoz diyetinin erkek sıçanların epididimal adipoz doku ağırlıklarının vücut ağırlığına oranını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.4).



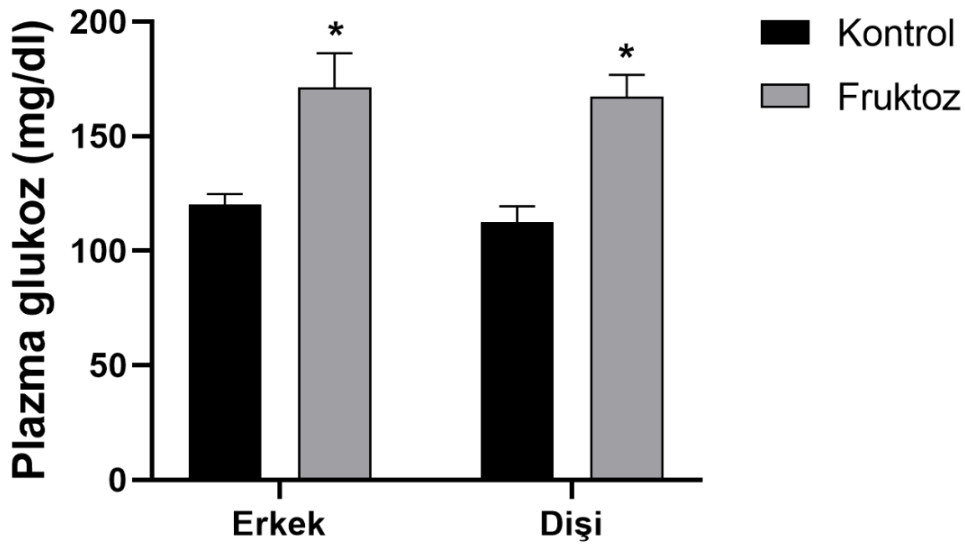
Şekil 4.4. Sıçanların epididimal adipoz doku ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.3. Plazma Glukoz ve İnsülin Düzeyleri

Sıçanların plazma glukoz rutin biyokimyasal analizlerle ölçülürken, plazma insülin düzeyleri spesifik enzimatik kit kullanılarak ölçülmüştür.

4.3.1. Plazma glukoz düzeyi

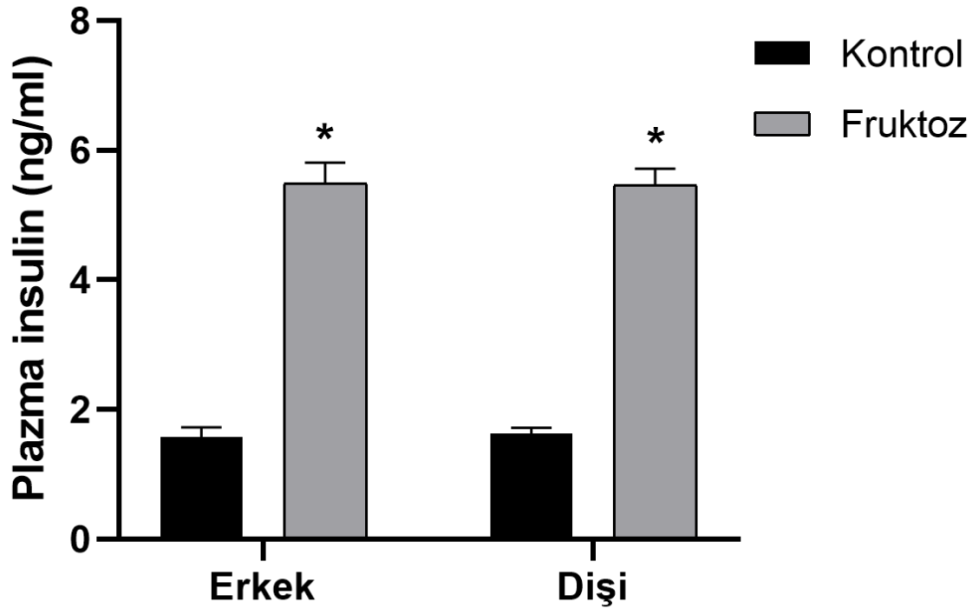
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların plazma glukoz düzeylerini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında glukoz düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Sıçanların plazma glukoz düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; $*p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.3.2. Plazma insülin düzeyi

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların plazma insülin düzeylerini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında insülin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.6).



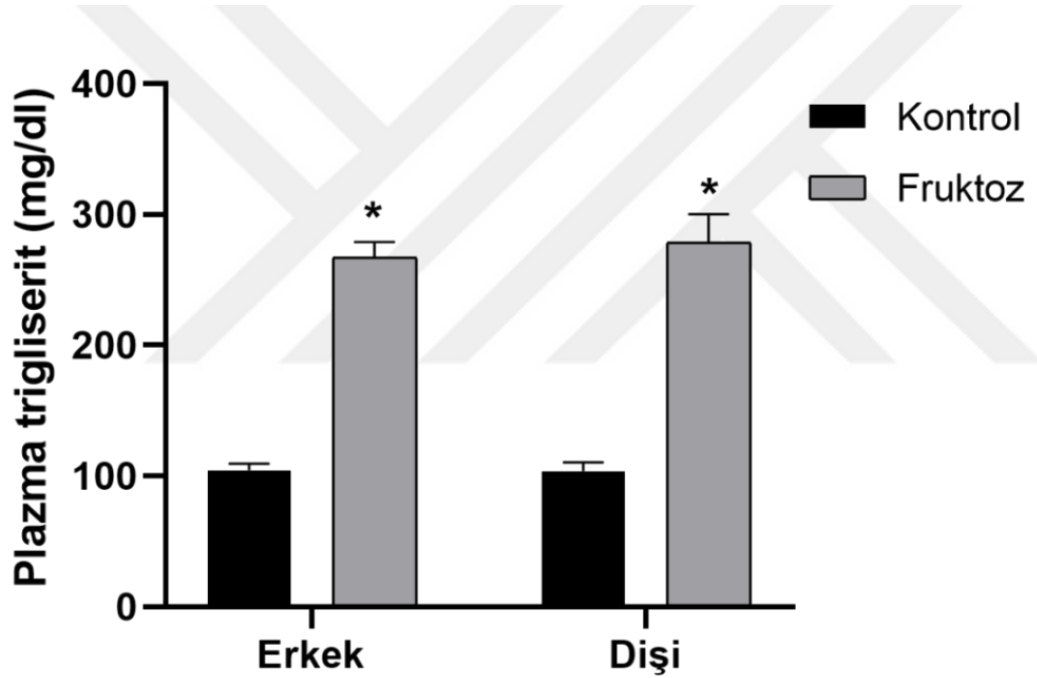
Şekil 4.6. Sıçanların plazma insülin düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; $*p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.4. Plazma Lipid Düzeyleri

Sıçanların plazma trigliserit ve total kolesterol düzeyleri rutin biyokimyasal analizlerle ölçülmüştür.

4.4.1. Plazma trigliserit düzeyi

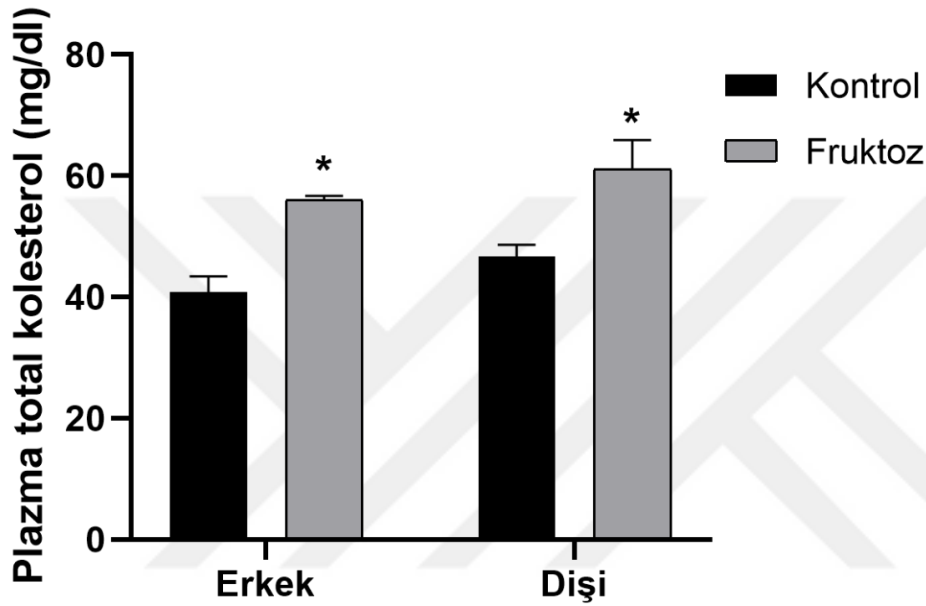
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların plazma trigliserit düzeylerini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında trigliserit düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Sıçanların plazma trigliserit düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.4.2. Plazma total kolesterol düzeyi

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların plazma total kolesterol düzeylerini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında total kolesterol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Sıçanların plazma trigliserit düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

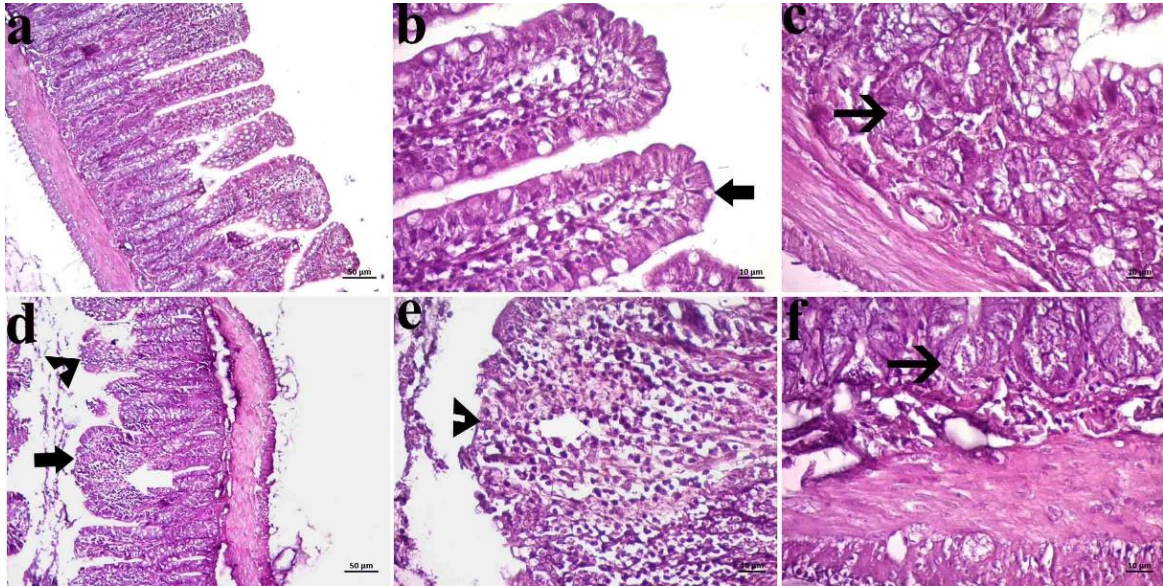
4.5. Sıçanların İleum ve Jejunum Doku Örneklerinde Hematoksilen-Eosin Boyama

Sıçanların ileum ve jejunum dokularında Hematoksilen-Eosin (H&E) boyamayla yapılan histopatolojik incelemede, ışık mikroskopunda x10 ve x40 büyütme altındaki epitelyal hücre kaybı, bez yapılarında dejenerasyon, villus füzyonu, polinükleer hücre infiltrasyonu, ödem ve hemoraji tespit edilen hücreler sayılarak semi-kantitatif olarak değerlendirme yapılmıştır.

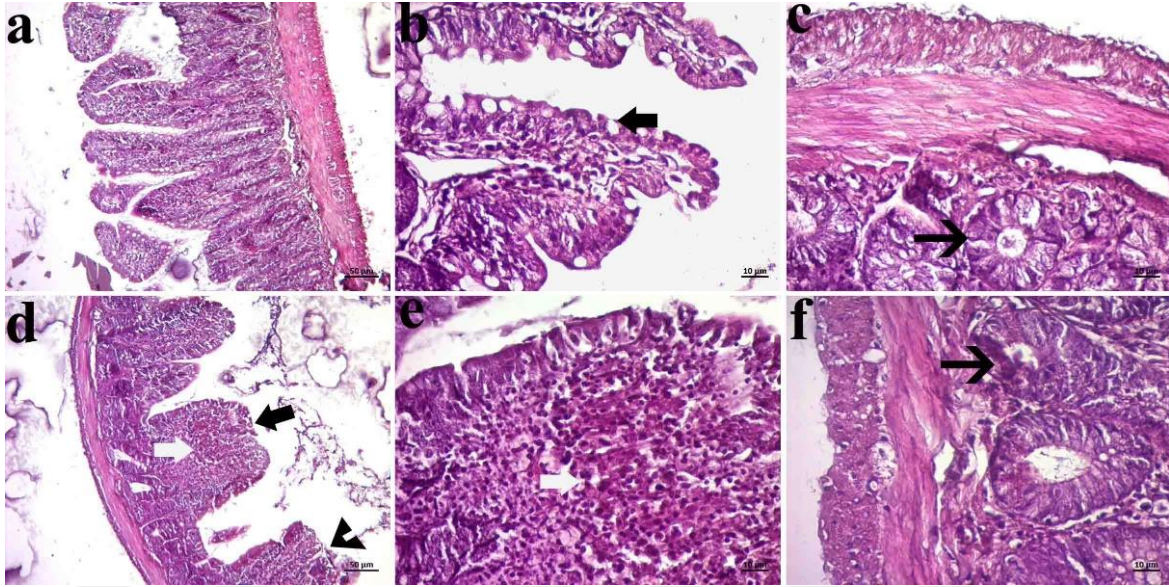
4.5.1. Sıçanların ileum doku örneklerinde Hematoksilen-Eosin boyama

Kontrol grubu erkek ve dişi sıçanların ileum dokularında villus ve kriptalardan oluşan sağlıklı bir doku görünümü tespit edilmiştir. Villusların tek katlı prizmatik hücreler ve

goblet hücrelerinin daha yoğun olduğu bir epitel tabakasından oluştuğu görülmektedir. Epitel doku ve bu dokunun altında bulunan lamina propria üzerinde herhangi bir patolojik bulgu görülmemektedir. Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde epitelyal hücre kaybı, villus füzyonu, yüksek düzeyde polimorfonükleer hücre infiltrasyonu ve bez yapılarında dejenerasyona neden olduğu tespit edilmiştir. Ancak, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlarda hemoraji ve ödem bulgularına rastlanmamıştır. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında bu parametreler açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Resim 4.1; Resim 4.2; Çizelge 4.2).



Resim 4.1. Kontrol erkek (a, b ve c; sırasıyla x10, x40 ve x40'luk objektif büyütmesi ve 50 μ m, 10 μ m ve 10 μ m ölçek; kalın ok: goblet hücresi içeren tek katlı prizmatik epitel: ince ok: bez yapıları) ve fruktoz erkek (d, e ve f; sırasıyla x10, x40 ve x40'luk objektif büyütmesi ve 50 μ m, 10 μ m ve 10 μ m ölçek; beyaz ok: polimorfonükleer hücre infiltrasyonu, kalın ok: villus füzyonu, ok başı: epitel hücre kaybı, ince ok: dejenerasyona uğramış bezler) grubu hayvanların ileum dokularında H&E boyama görüntüleri



Resim 4.2. Kontrol dişi (a, b ve c; sırasıyla x10, x40 ve x40'luk objektif büyütmesi ve 50 μ m, 10 μ m ve 10 μ m ölçek; kalın ok: goblet hücresi içeren tek katlı prizmatik epitel: ince ok: bez yapıları) ve fruktoz erkek (d, e ve f; sırasıyla x10, x40 ve x40'luk objektif büyütmesi ve 50 μ m, 10 μ m ve 10 μ m ölçek; beyaz ok: polimorfonükleer hücre infiltrasyonu, kalın ok: villus füzyonu, ok başı: epitel hücre kaybı, ince ok: dejenerasyona uğramış bezler) grubu hayvanların ileum dokularında H&E boyama görüntüleri

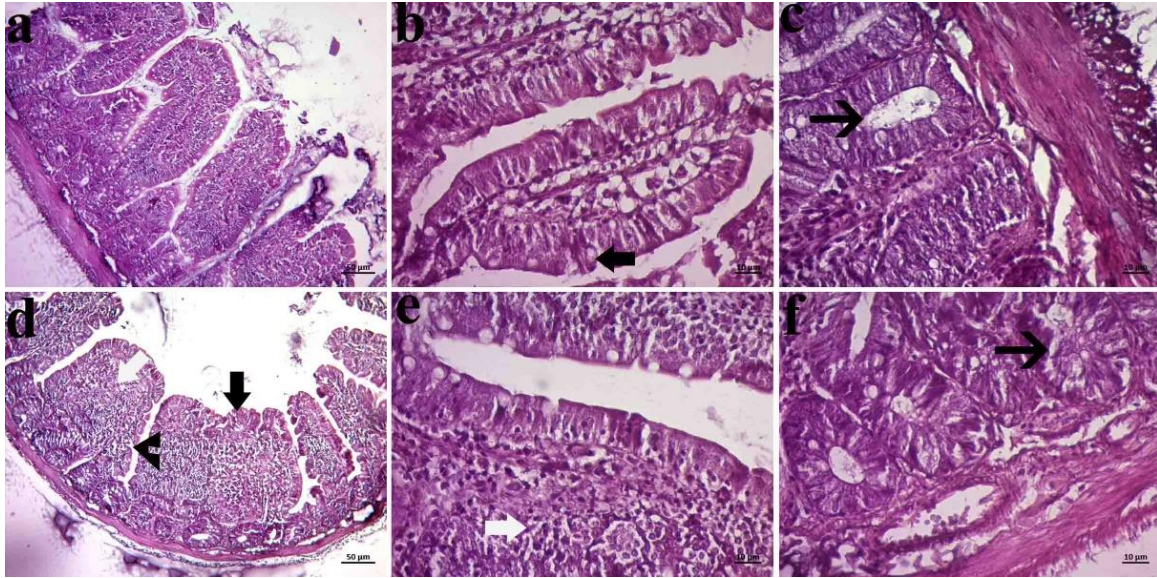
Çizelge 4.2. Kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların ileum dokularında H&E boyama sonuçları

Parametreler	Gruplar	Kontrol	Fruktoz
Epitelyal hücre kaybı	Erkek	0,33±0,21	2,67±0,21*
	Dişi	0,17±0,17	2,33±0,33*
Bez yapılarında dejenerasyon	Erkek	0,50±0,22	2,50±0,22*
	Dişi	0,67±0,21	2,00±0,37*
Villus füzyonu	Erkek	0,33±0,21	2,33±0,42*
	Dişi	0,50±0,22	2,17±0,40*
Polimorfonükleer hücre infiltrasyonu	Erkek	0,67±0,21	2,67±0,21*
	Dişi	0,17±0,17	2,67±0,21*
Ödem	Erkek	0,50±0,22	0,283±0,17
	Dişi	0,50±0,22	0,33±0,21
Hemoraji	Erkek	0,67±0,21	0,83±0,17
	Dişi	0,50±0,22	0,83±0,31

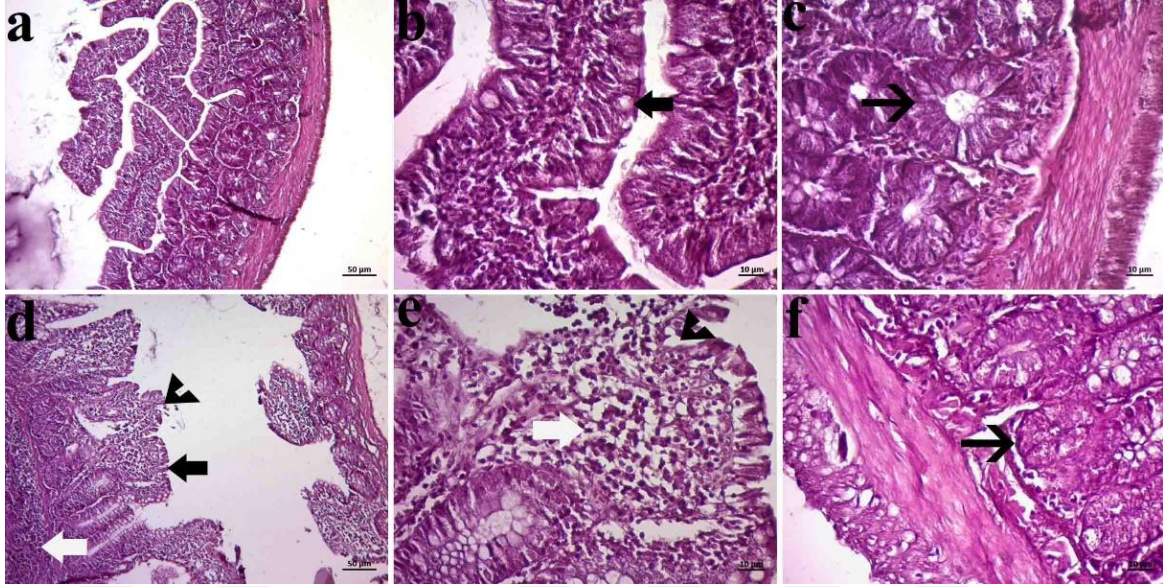
Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.5.2. Sıçanların jejunum doku örneklerinde Hematoksilen-Eosin boyama

Kontrol grubu erkek ve dişi sıçanların jejunum dokularında villus ve kriptalardan oluşan sağlıklı bir doku görünümü tespit edilmiştir. Villusların tek katlı prizmatik hücreler ve goblet hücrelerinin daha yoğun olduğu bir epitel tabakasından oluştuğu görülmektedir. Epitel doku ve bu dokunun altında bulunan lamina propriya üzerinde herhangi bir patolojik bulgu görülmemektedir. Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde epitelyal hücre kaybı, villus füzyonu, yüksek düzeyde polimorfonükleer hücre infiltrasyonu ve bez yapılarında dejenerasyona neden olduğu tespit edilmiştir. Ancak, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlarda hemoraji ve ödem bulgularına rastlanmamıştır. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında bu parametreler açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Resim 4.3; Resim 4.4; Çizelge 4.3).



Resim 4.3. Kontrol erkek (a, b ve c; sırasıyla x10, x40 ve x40'lık objektif büyütmesi ve 50 µm, 10 µm ve 10 µm ölçek; kalın ok: goblet hücresi içeren tek katlı prizmatik epitel: ince ok: bez yapıları) ve fruktoz erkek (d, e ve f; sırasıyla x10, x40 ve x40'lık objektif büyütmesi ve 50 µm, 10 µm ve 10 µm ölçek; beyaz ok: polimorfonükleer hücre infiltrasyonu, kalın ok: villus füzyonu, ok başı: epitel hücre kaybı, ince ok: dejenerasyona uğramış bezler) grubu hayvanların jejunum dokularında H&E boyama görüntüleri



Resim 4.4. Kontrol dişi (a, b ve c; sırasıyla x10, x40 ve x40'luk objektif büyütmesi ve 50 µm, 10 µm ve 10 µm ölçek; kalın ok: goblet hücresi içeren tek katlı prizmatik epitel: ince ok: bez yapıları) ve fruktoz erkek (d, e ve f; sırasıyla x10, x40 ve x40'luk objektif büyütmesi ve 50 µm, 10 µm ve 10 µm ölçek; beyaz ok: polimorfonükleer hücre infiltrasyonu, kalın ok: villus füzyonu, ok başı: epitel hücre kaybı, ince ok: dejenerasyona uğramış bezler) grubu hayvanların jejunum dokularında H&E boyama görüntüleri

Çizelge 4.3. Kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların jejunum dokularında H&E boyama sonuçları

Parametreler	Gruplar	Kontrol	Fruktoz
Epitelyal hücre kaybı	Erkek	0,17±0,17	2,50±0,22*
	Dişi	0,33±0,21	1,83±0,48*
Bez yapılarında dejenerasyon	Erkek	0,33±0,21	2,50±0,34*
	Dişi	0,50±0,22	1,83±0,31*
Villus füzyonu	Erkek	0,50±0,22	2,67±0,21*
	Dişi	0,50±0,22	2,50±0,34*
Polimorfonükleer hücre infiltrasyonu	Erkek	0,50±0,22	2,17±0,48*
	Dişi	0,33±0,21	2,33±0,33*
Ödem	Erkek	0,17±0,17	0,33±0,21
	Dişi	0,33±0,21	0,50±0,22
Hemoraji	Erkek	0,50±0,22	0,67±0,21
	Dişi	0,17±0,17	0,33±0,21

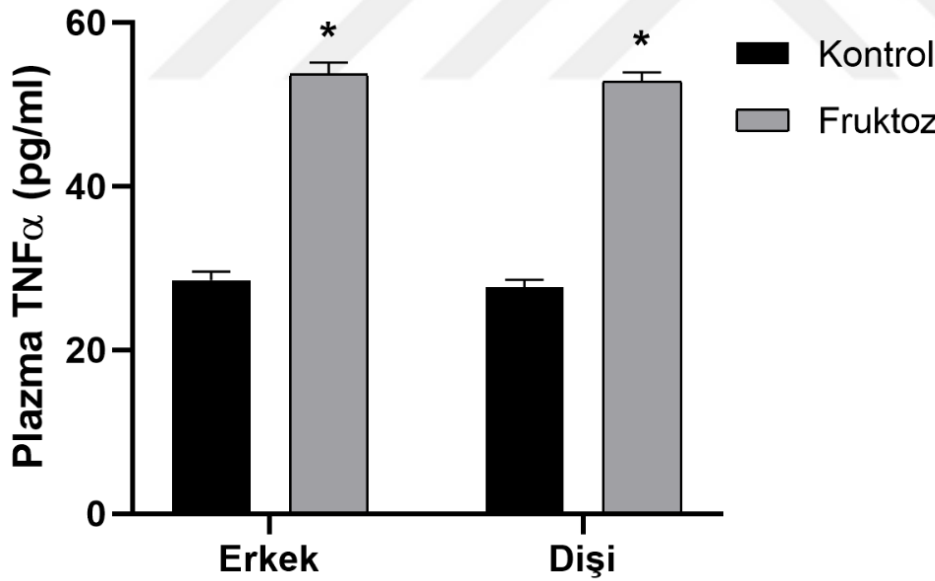
Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.6. Plazma, İleum ve Jejunum Dokularında İnflamasyonla İlişkili Proteinler

Sıçanların plazma, ileum ve jejunum doku örneklerinde inflamasyonla ilişkili parametrelerden $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ ve $\text{NF}\kappa\text{B}$ düzeyleri sıçan spesifik ELISA kitleri kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca, ileum ve jejunum doku örneklerindeki $\text{TNF}\alpha$, pro- $\text{IL-1}\beta$, $\text{IL-1}\beta$, $\text{NF}\kappa\text{B}$, NLRP3, pro-caspase-1, caspase-1 ve CD68 ekspresyon düzeyleri Western Blot yöntemiyle ölçülmüştür.

4.6.1. Plazma, ileum ve jejunum doku örneklerinde $\text{TNF}\alpha$ düzeyi ve protein ekspresyonu

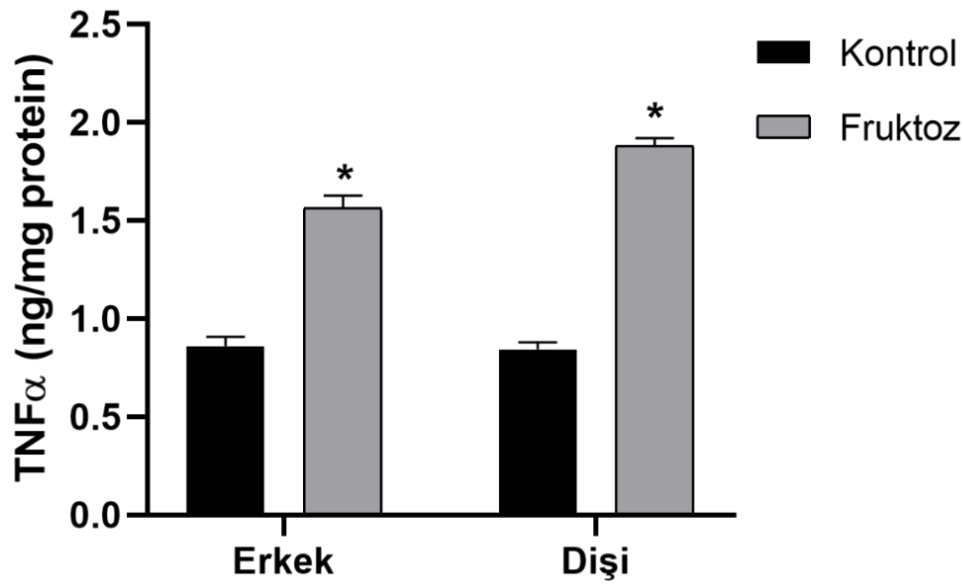
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların plazma $\text{TNF}\alpha$ düzeylerini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında $\text{TNF}\alpha$ düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Sıçanların plazma $\text{TNF}\alpha$ düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

İleum doku örneklerinde TNF α düzeyi

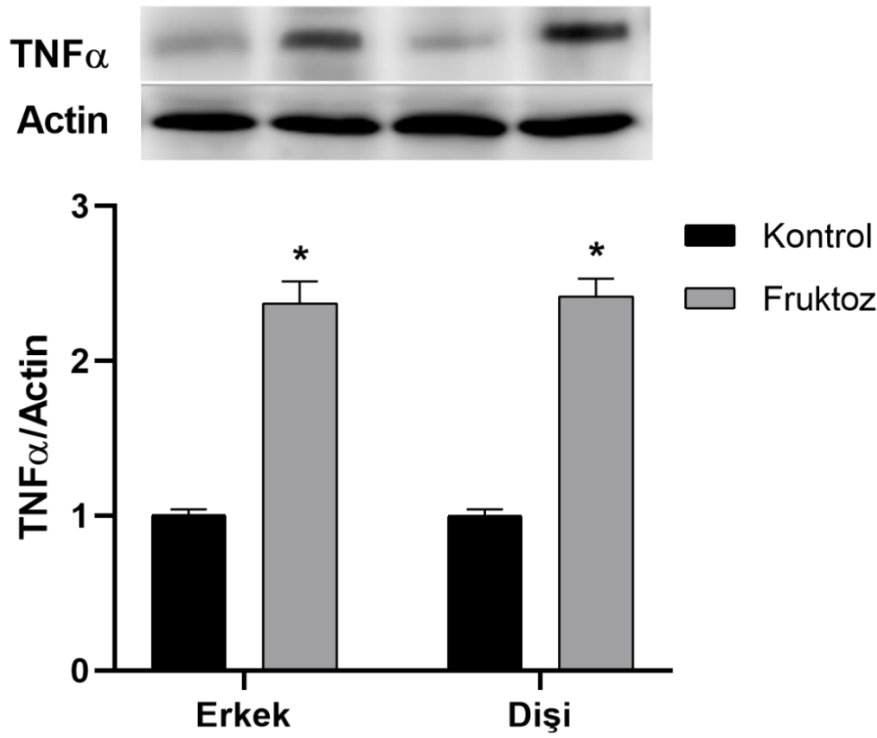
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde inflamasyon parametrelerinden TNF α düzeyini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında TNF α düzeyi açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Sıçanların ileum doku örneklerindeki TNF α düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

İleum doku örneklerinde TNF α protein ekspresyonu

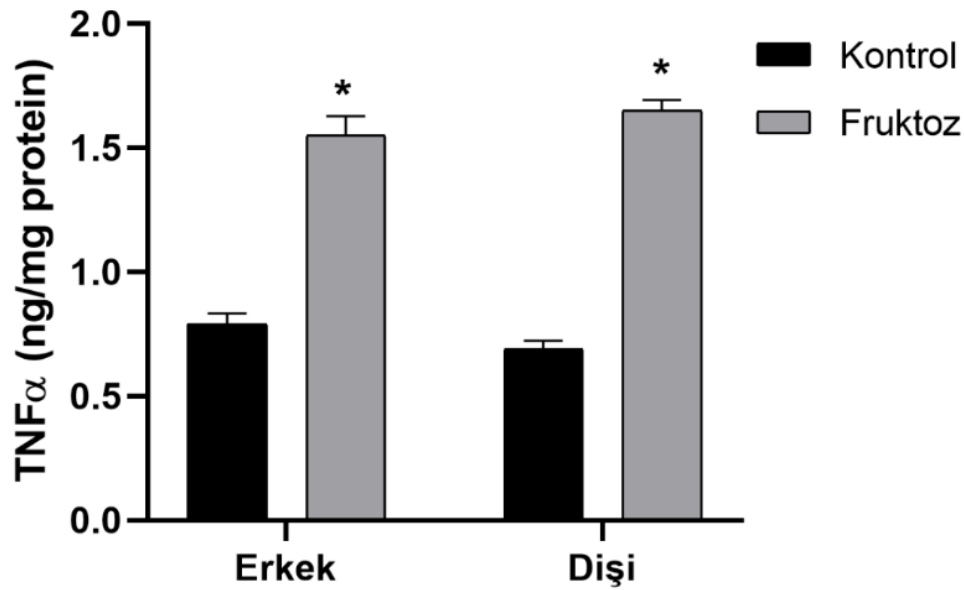
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde inflamatuvar faktörlerden TNF α protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında TNF α protein ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Sıçanların ileum doku örneklerindeki TNF α temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde TNF α düzeyi

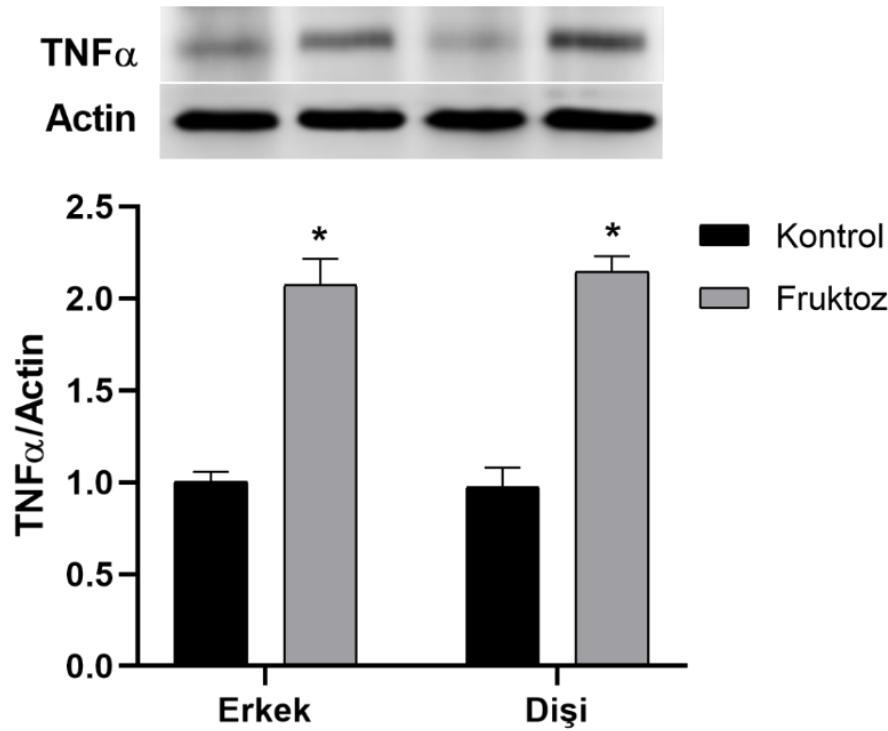
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde inflamasyon parametrelerinden TNF α düzeyini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında TNF α düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki TNF α düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde TNF α protein ekspresyonu

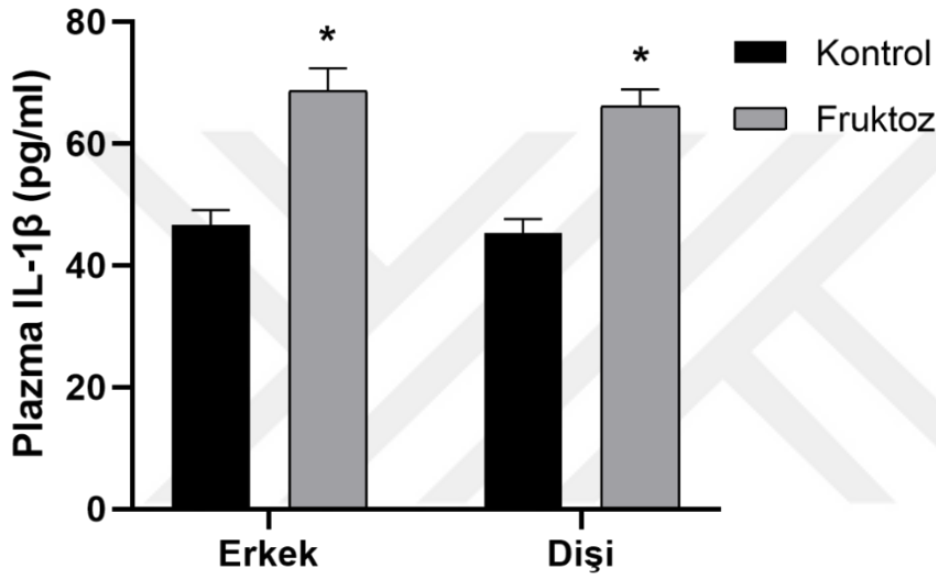
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde inflamatuvar faktörlerden TNF α protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında TNF α protein ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki TNF α temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.6.2. Plazma, ileum ve jejunum doku örneklerinde IL-1 β düzeyi ve protein ekspresyonu

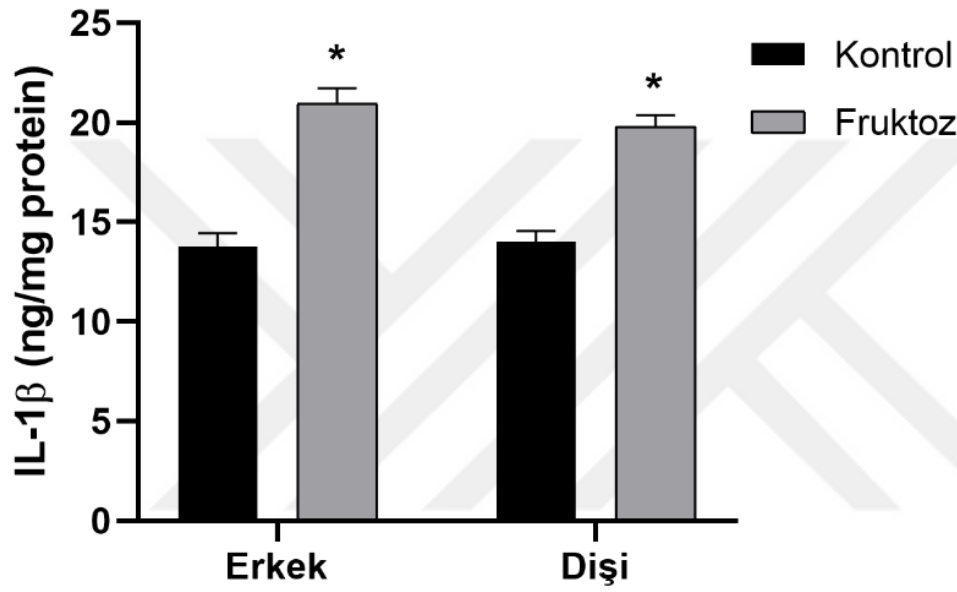
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların plazma IL-1 β düzeylerini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında IL-1 β düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Sıçanların plazma IL-1 β düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

İleum doku örneklerinde IL-1 β düzeyi

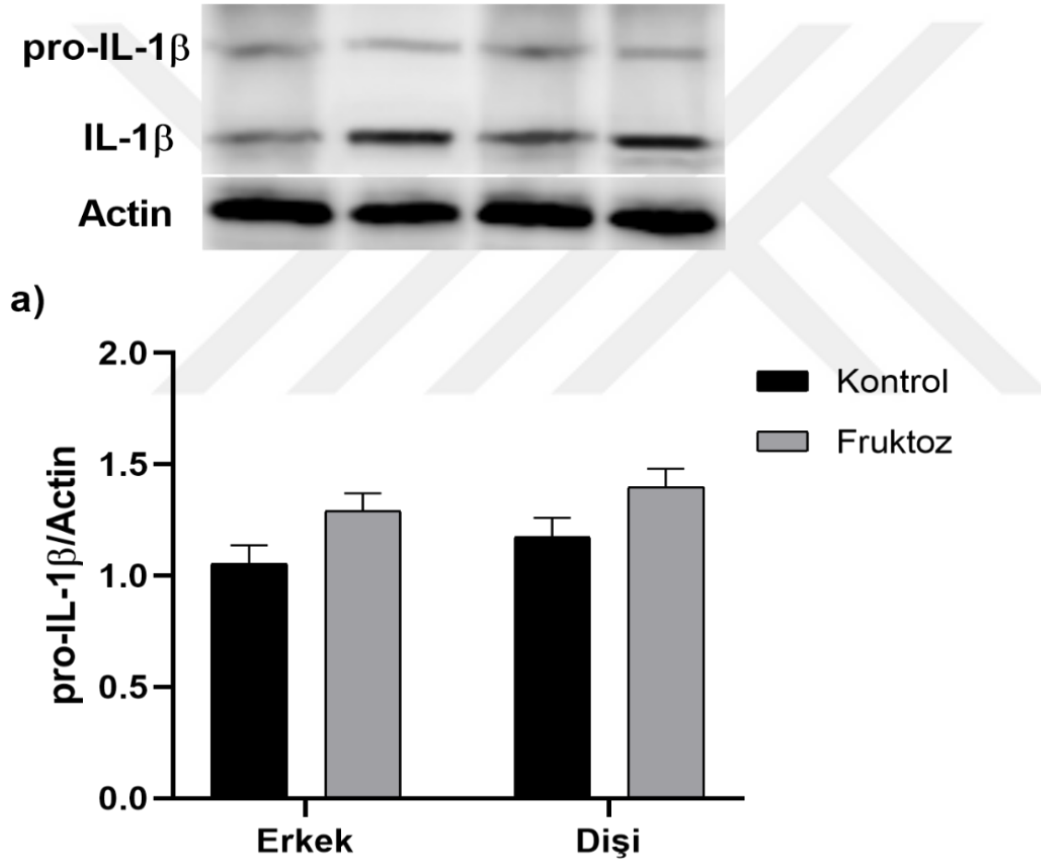
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde inflamasyon parametrelerinden IL-1 β düzeyini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında IL-1 β düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Sıçanların ileum doku örneklerindeki IL-1 β düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

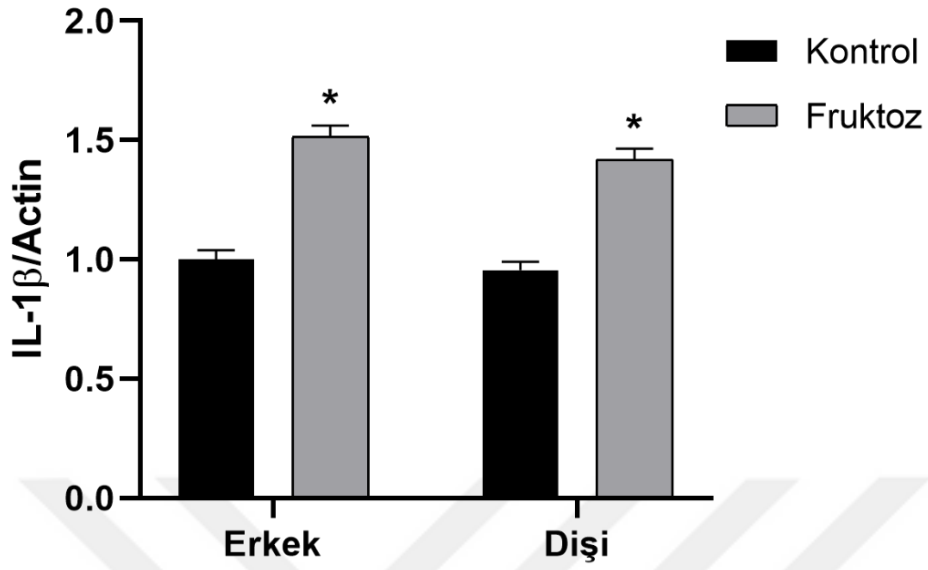
İleum doku örneklerinde pro-IL-1 β ve IL-1 β protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde inflamatuvar faktörlerden pro-IL-1 β protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara kıyasla artırma eğilimi göstermesine rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanırken, IL-1 β protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında pro-IL-1 β ve IL-1 β protein ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Sıçanların ileum doku örneklerindeki a) pro-IL-1 β ve b) IL-1 β temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

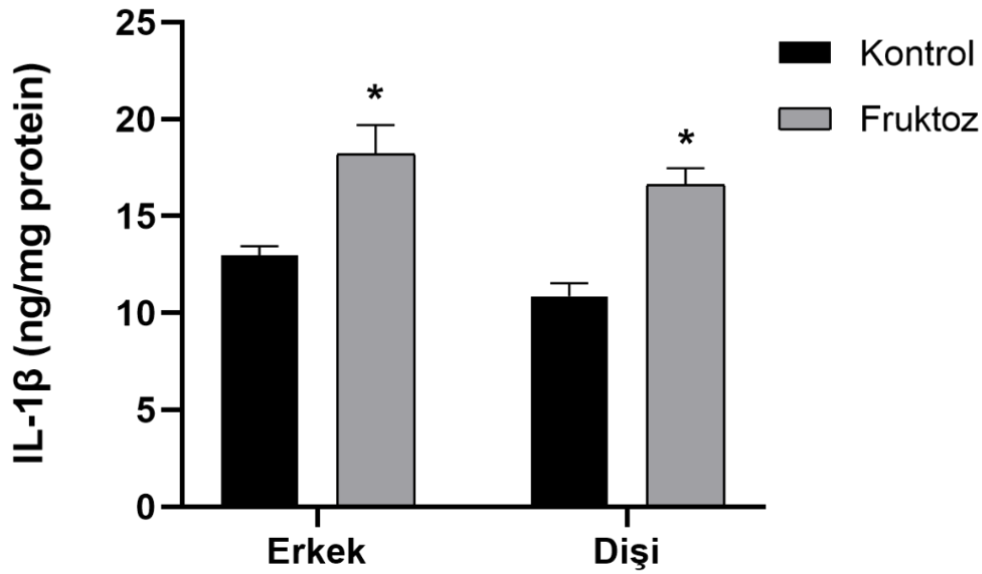
b)



Şekil 4.16. (devamı) Sıçanların ileum doku örneklerindeki a) pro-IL-1 β ve b) IL-1 β temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde IL-1 β düzeyi

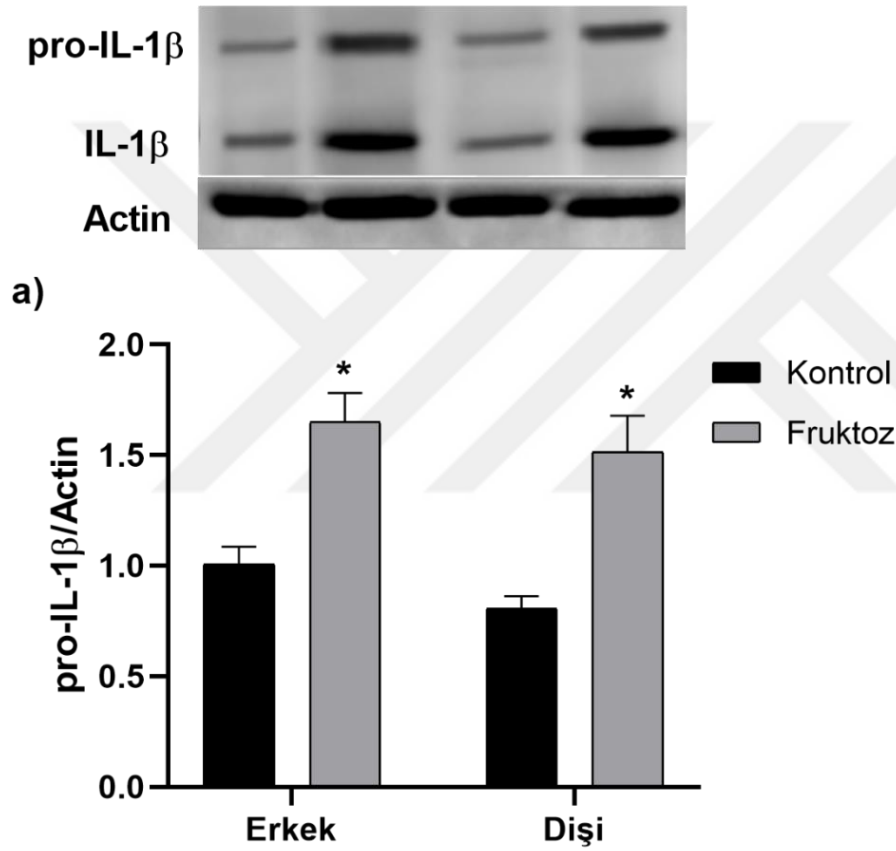
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde inflamasyon parametrelerinden IL-1 β düzeyini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında IL-1 β düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki IL-1 β düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

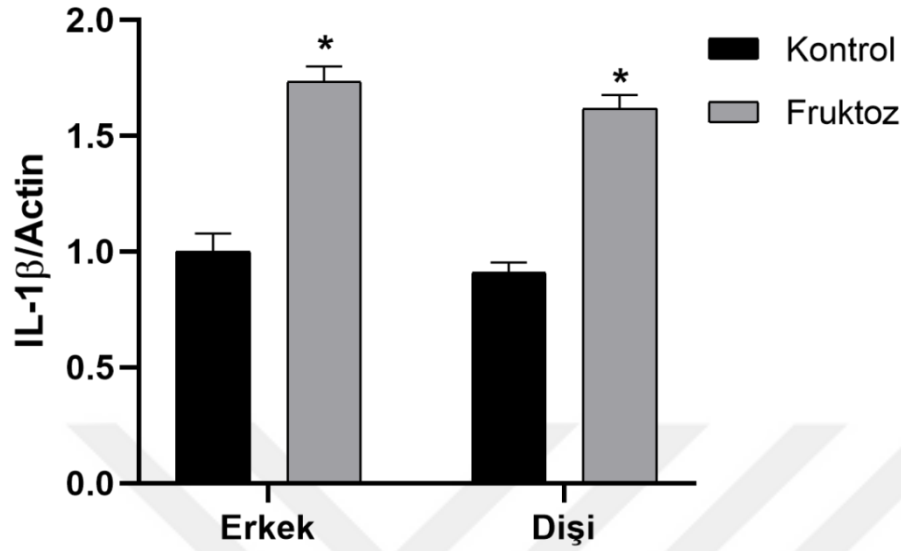
Jejunum doku örneklerinde pro-IL-1 β ve IL-1 β protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde inflamatuvar faktörlerden pro-IL-1 β ve IL-1 β protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında pro-IL-1 β ve IL-1 β protein ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki a) pro-IL-1 β ve b) IL-1 β temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

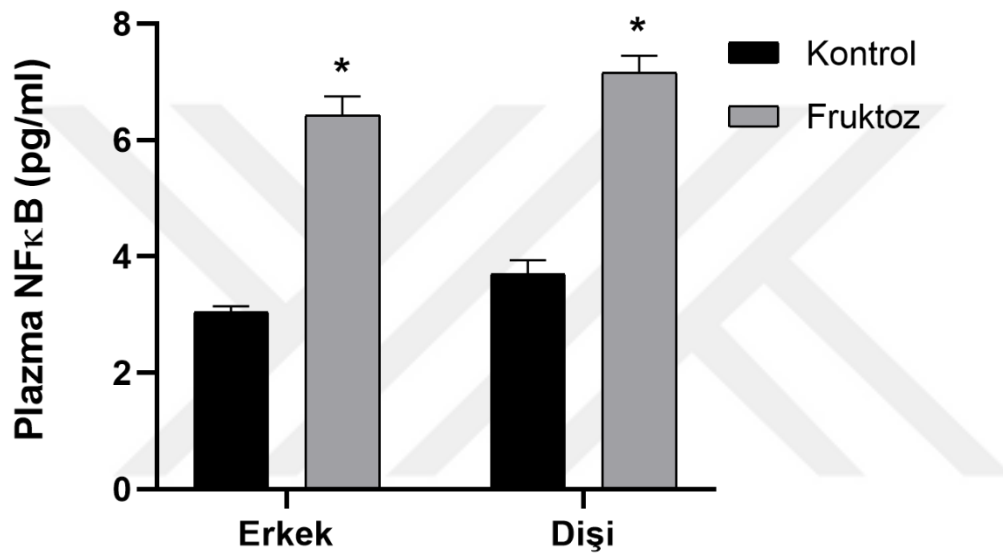
b)



Şekil 4.18. (devamı) Sıçanların jejunum doku örneklerindeki a) pro-IL-1 β ve b) IL-1 β temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.6.3. Plazma, ileum ve jejunum doku örneklerinde NFκB düzeyi ve protein ekspresyonu

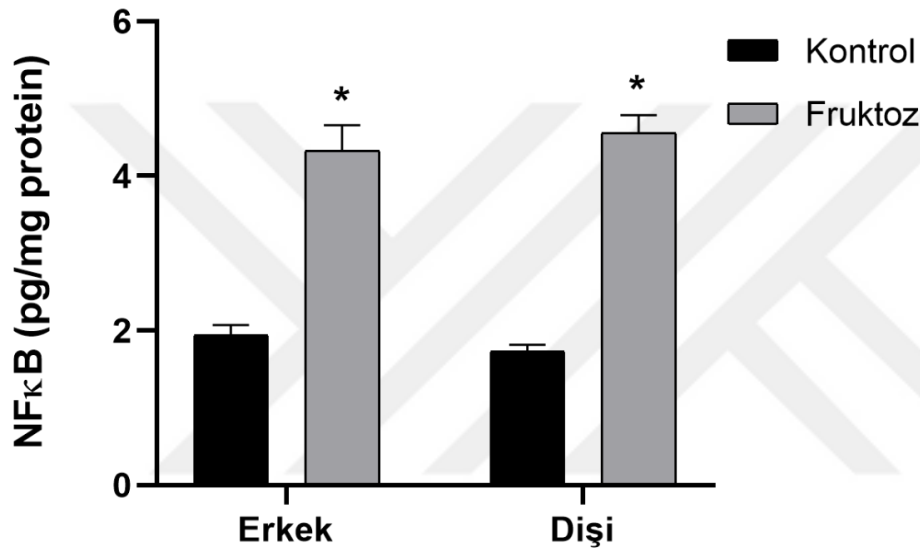
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların plazma NFκB düzeylerini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında NFκB düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Sıçanların plazma NFκB düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

İleum doku örneklerinde NFκB düzeyi

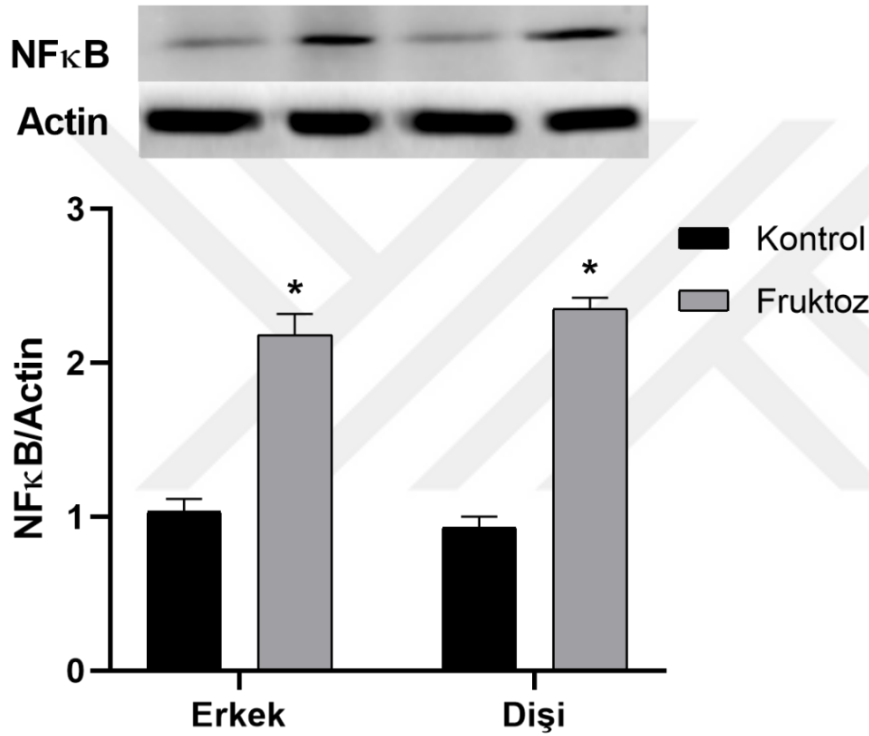
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde inflamasyon parametrelerinden NFκB düzeyini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında NFκB düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. Sıçanların ileum doku örneklerindeki NFκB düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

İleum doku örneklerinde NFκB protein ekspresyonu

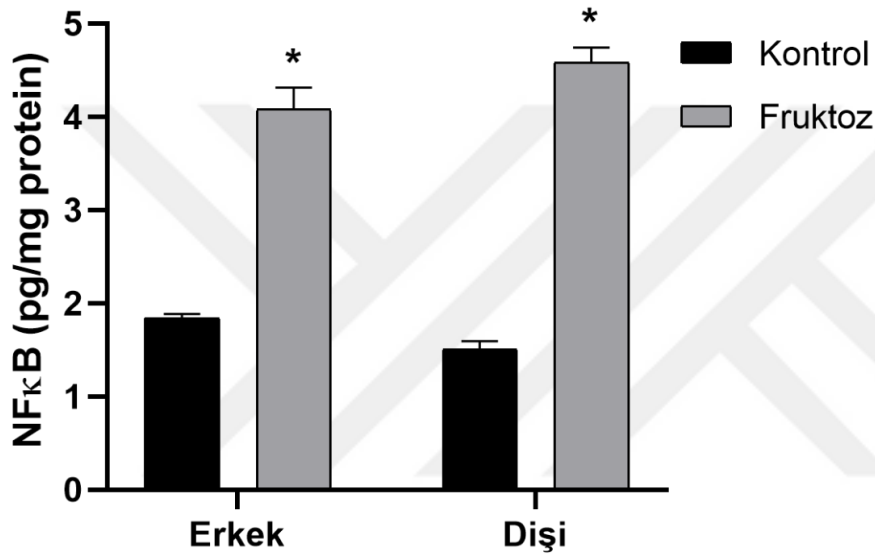
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde inflamatuvar faktörlerden NFκB protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında NFκB protein ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. Sıçanların ileum doku örneklerindeki NFκB temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama ±standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde NFκB düzeyi

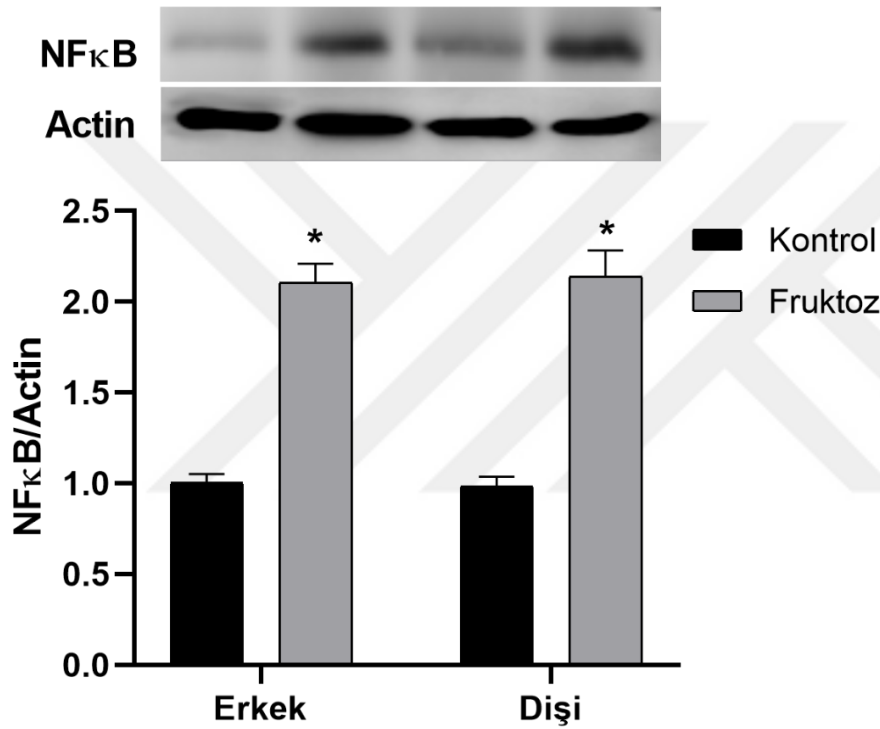
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde inflamasyon parametrelerinden NFκB düzeyini kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında NFκB düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki NFκB düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde NFκB protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde inflamatuvar faktörlerden NFκB protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında NFκB protein ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.23).

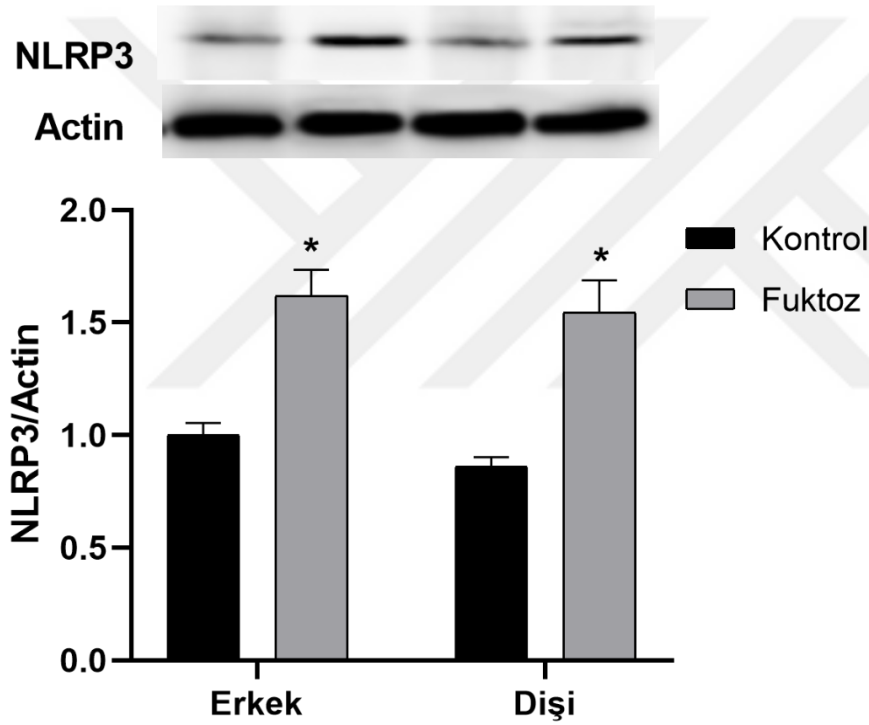


Şekil 4.23. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki NFκB temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.6.4. İleum ve jejunum doku örneklerinde NLRP3 protein ekspresyonu

İleum doku örneklerinde NLRP3 protein ekspresyonu

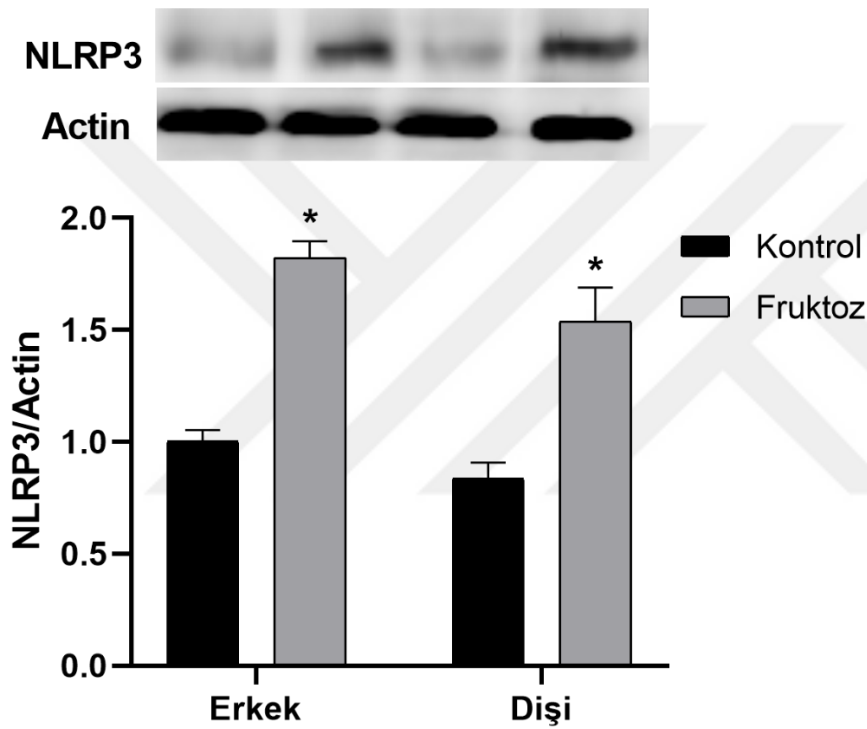
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde inflamasyon parametrelerinden NLRP3 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında NLRP3 protein ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Sıçanların ileum doku örneklerindeki NLRP3 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde NLRP3 protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde inflamatuvar faktörlerden NLRP3 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında NLRP3 protein ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.25).

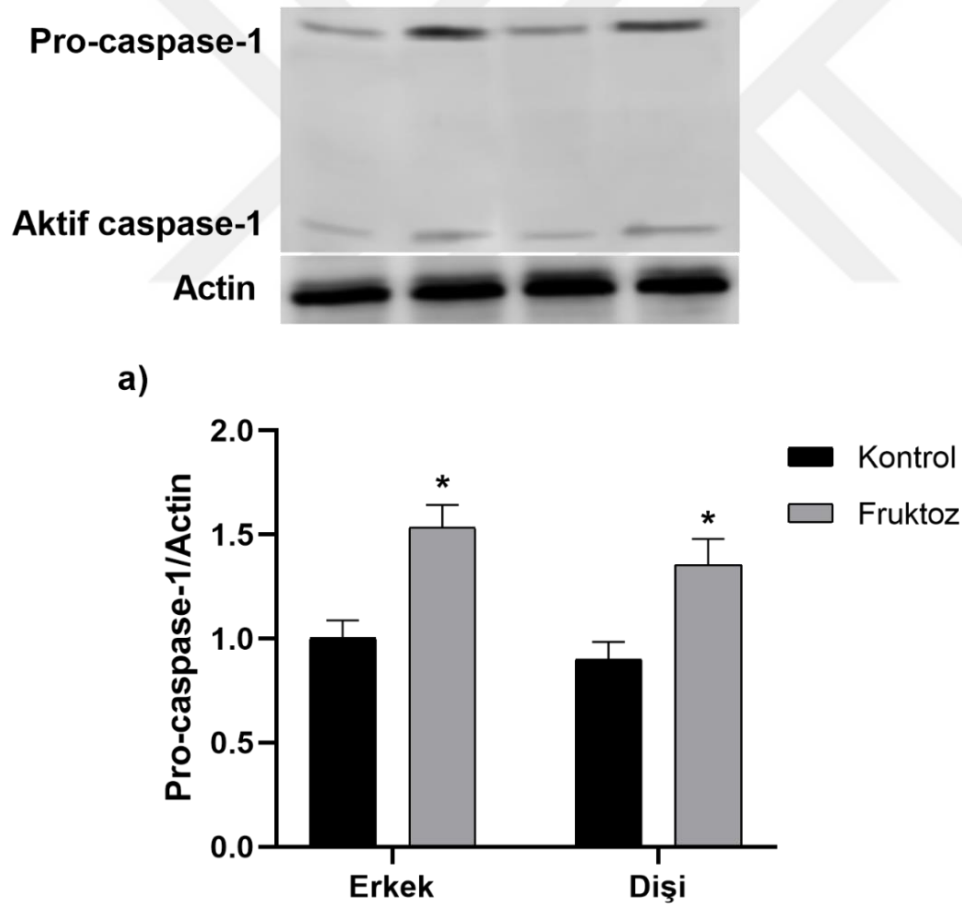


Şekil 4.25. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki NLRP3 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.6.5. İleum ve jejunum doku örneklerinde pro-caspase-1 ve aktif caspase-1 protein ekspresyonu

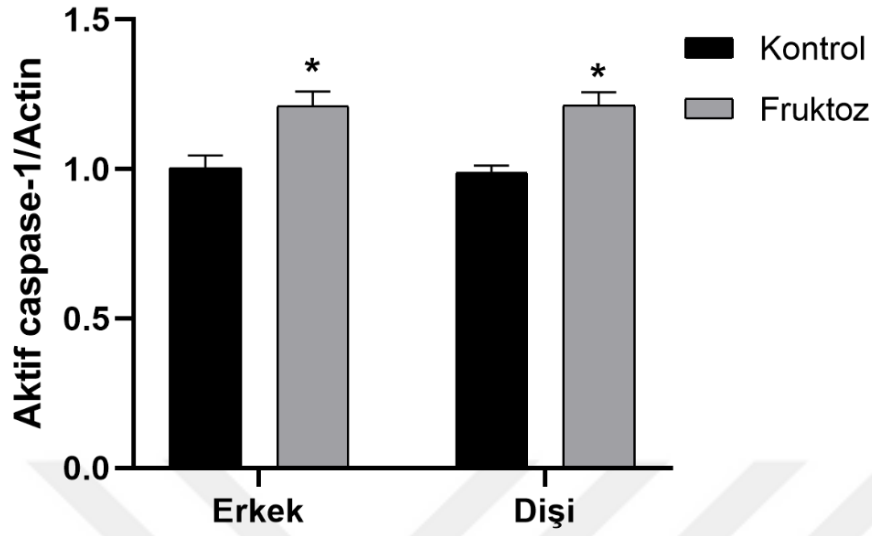
İleum doku örneklerinde pro-caspase-1 ve aktif caspase-1 protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde inflamasyon parametrelerinden pro-caspase-1 ve aktif caspase-1 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında pro-caspase-1 ve aktif caspase-1 protein ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. Sıçanların ileum doku örneklerindeki a) pro-caspase-1 ve b) aktif caspase-1 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

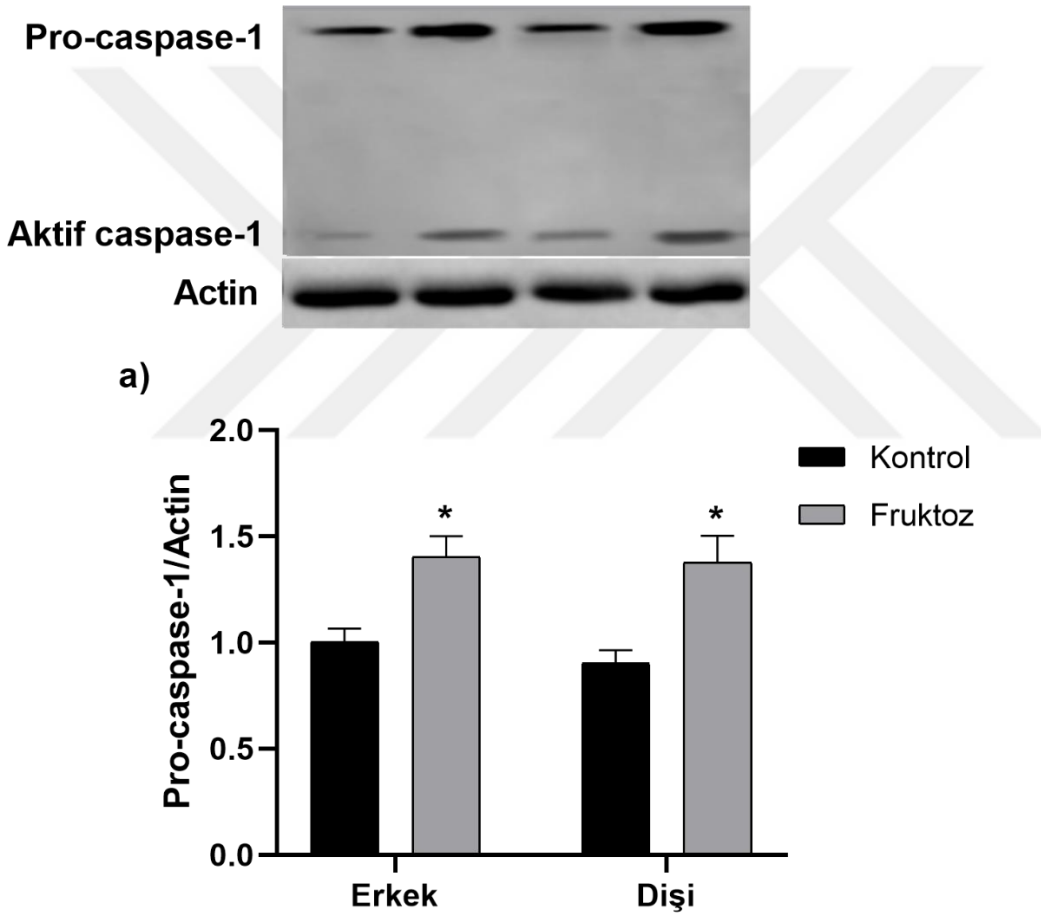
b)



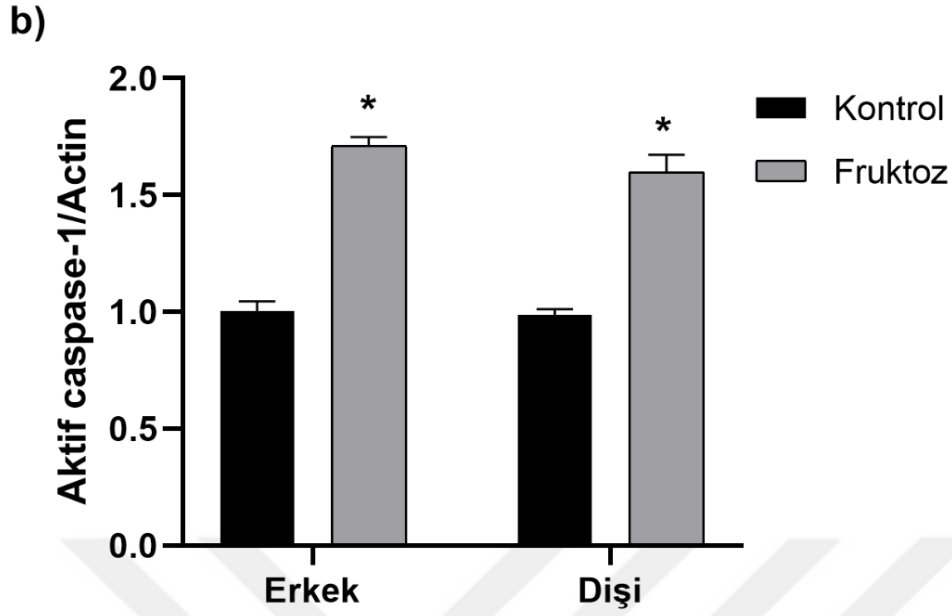
Şekil 4.26. (devamı) Sıçanların ileum doku örneklerindeki a) pro-caspase-1 ve b) aktif caspase-1 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; $*p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde pro-caspase-1 ve aktif caspase-1 protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde inflamatuvar faktörlerden pro-caspase-1 ve aktif caspase-1 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında pro-caspase-1 ve aktif caspase-1 protein ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki a) pro-caspase-1 ve b) aktif caspase-1 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; $*p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

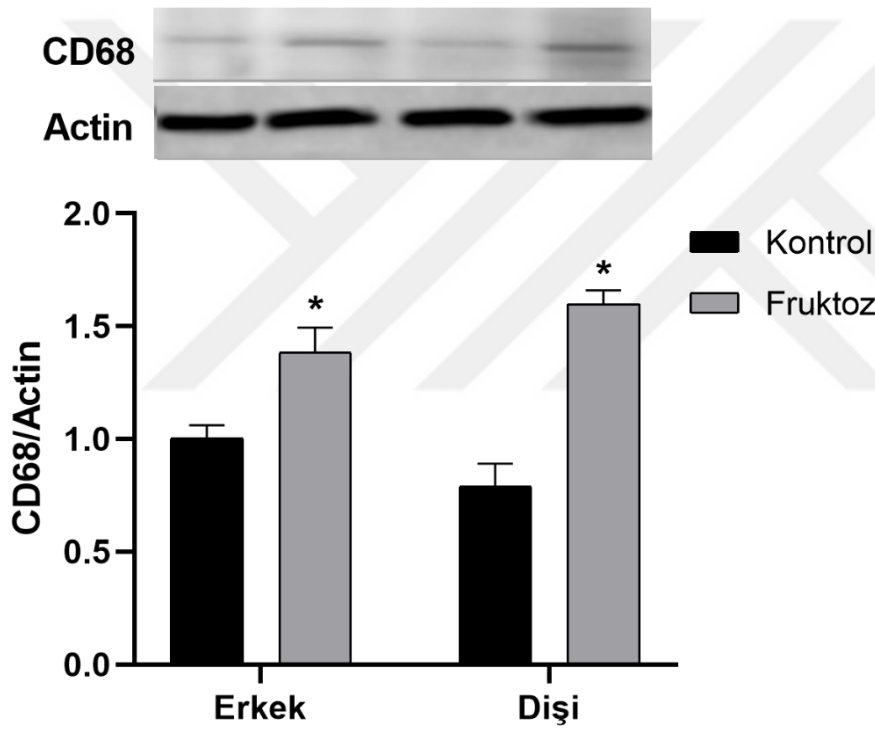


Şekil 4.27. (devamı) Sıçanların jejunum doku örneklerindeki a) pro-caspase-1 ve b) aktif caspase-1 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.6.6. İleum ve jejunum doku örneklerinde CD68 protein ekspresyonu

İleum doku örneklerinde CD68 protein ekspresyonu

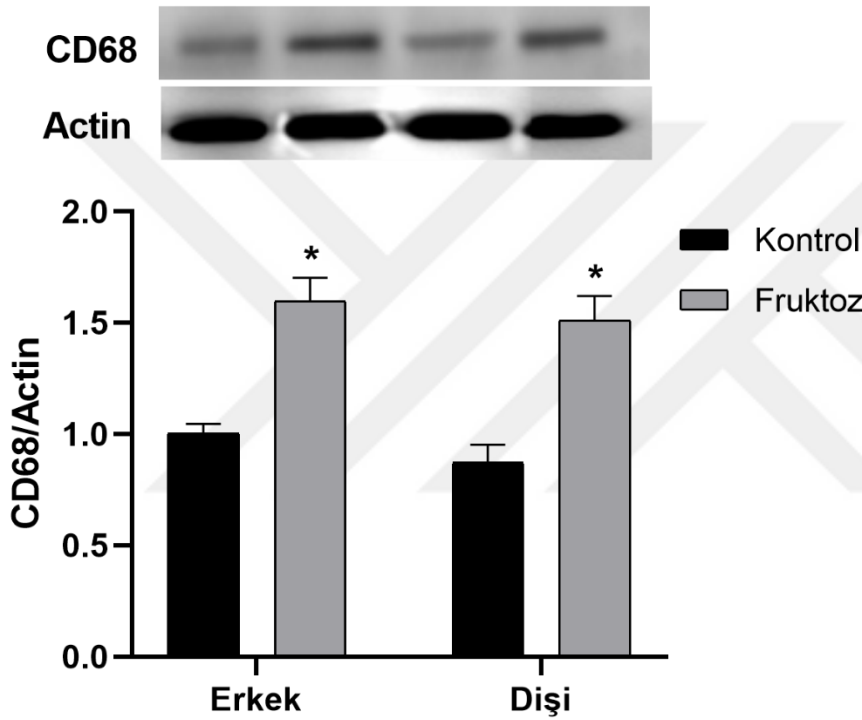
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde inflamasyon parametrelerinden CD68 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında CD68 protein ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.28).



Şekil 4.28. Sıçanların ileum doku örneklerindeki CD68 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde CD68 protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde inflamatuvar faktörlerden CD68 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında CD68 protein ekspresyonlarını açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (Şekil 4.29).



Şekil 4.29. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki CD68 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

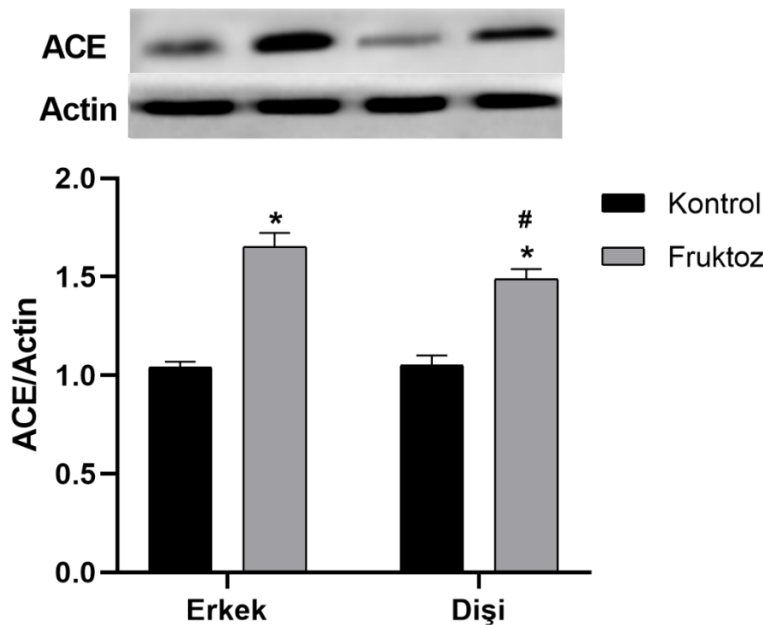
4.7. İleum ve Jejunum Dokularında SARS-CoV-2 Virüsünün Konak Hücre İçine Girişi ile İlişkili Proteinler ve GLUT2 Proteinini

Sıçanların ileum ve jejunum doku örneklerinde SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişiyle ilişkili proteinlerinden ACE, ACE2, TMPRSS2, ADAM17, B0AT1 ve glukoz taşıyıcısı GLUT2 protein ekspresyon düzeyleri Western Blot yöntemiyle ölçülmüştür.

4.7.1. İleum ve jejunum doku örneklerinde ACE protein ekspresyonu

İleum doku örneklerinde ACE protein ekspresyonu

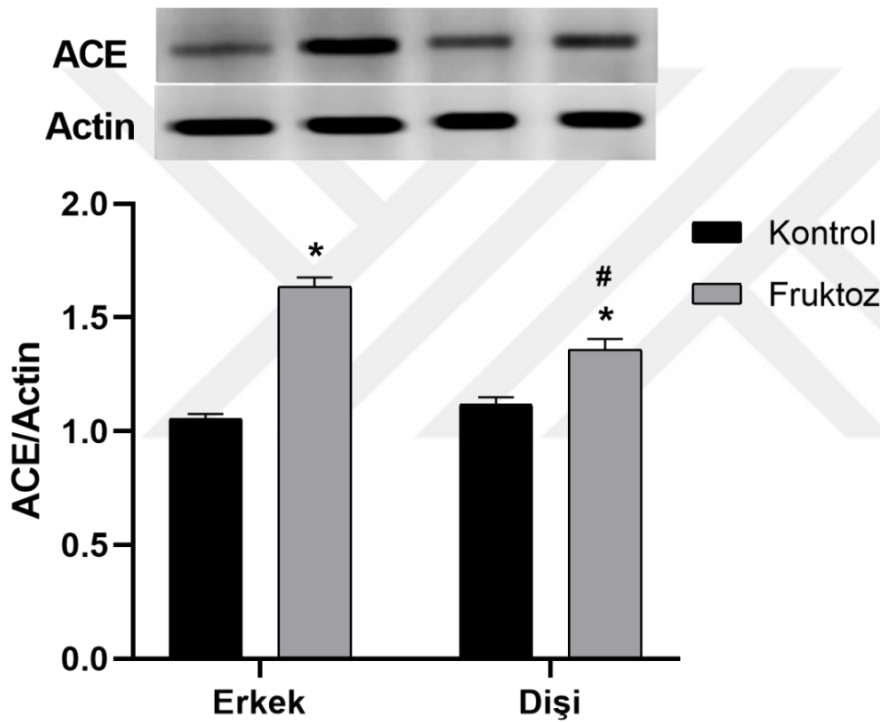
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde ACE protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında ACE protein ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık saptanmazken, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların ACE protein ekspresyonlarının dişi sıçanlara göre anlamlı ölçüde daha yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.30).



Şekil 4.30. Sıçanların ileum doku örneklerindeki ACE temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; #p<0.05 erkek grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde ACE protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde ACE protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında ACE protein ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık saptanmazken, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların ACE protein ekspresyonlarının dişi sıçanlara göre anlamlı ölçüde daha yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.31).

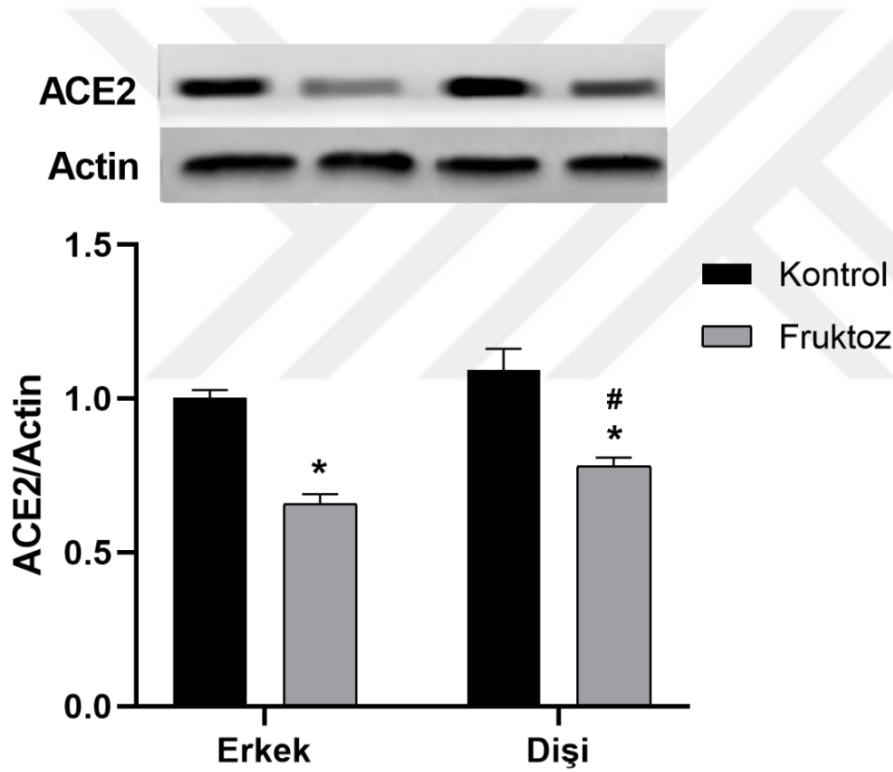


Şekil 4.31. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki ACE temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p<0.05$ erkek grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.7.2. İleum ve jejunum doku örneklerinde ACE2 protein ekspresyonu

İleum doku örneklerinde ACE2 protein ekspresyonu

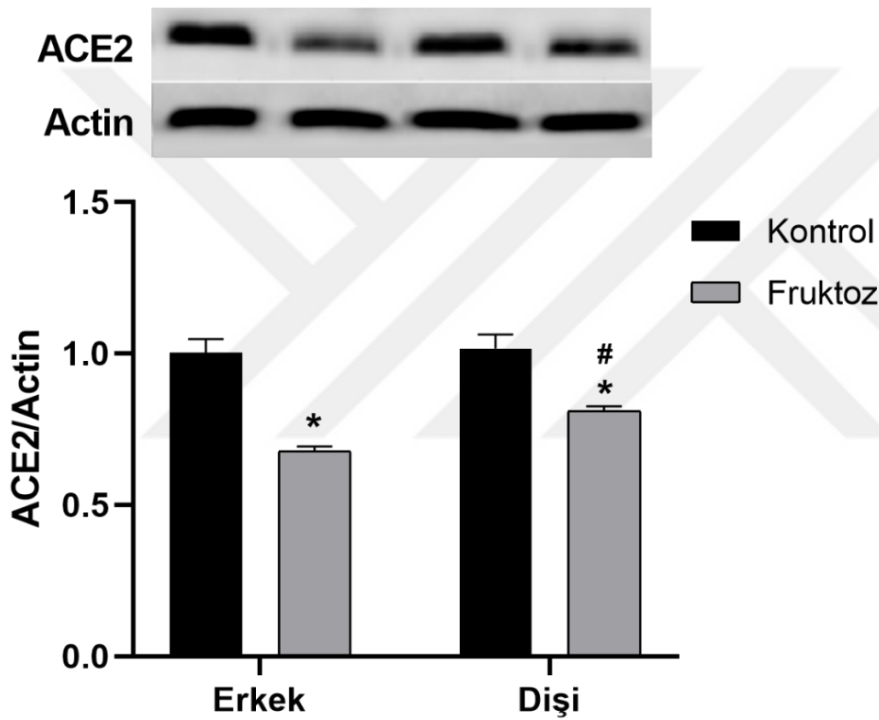
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde ACE2 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında ACE2 protein ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık saptanmazken, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların ACE2 protein ekspresyonlarının dişi sıçanlara göre anlamlı ölçüde daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.32).



Şekil 4.32. Sıçanların ileum doku örneklerindeki ACE2 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; #p<0.05 erkek grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde ACE2 protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde ACE2 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında ACE2 protein ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık saptanmazken, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların ACE2 protein ekspresyonlarının dişi sıçanlara göre anlamlı ölçüde daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.33).

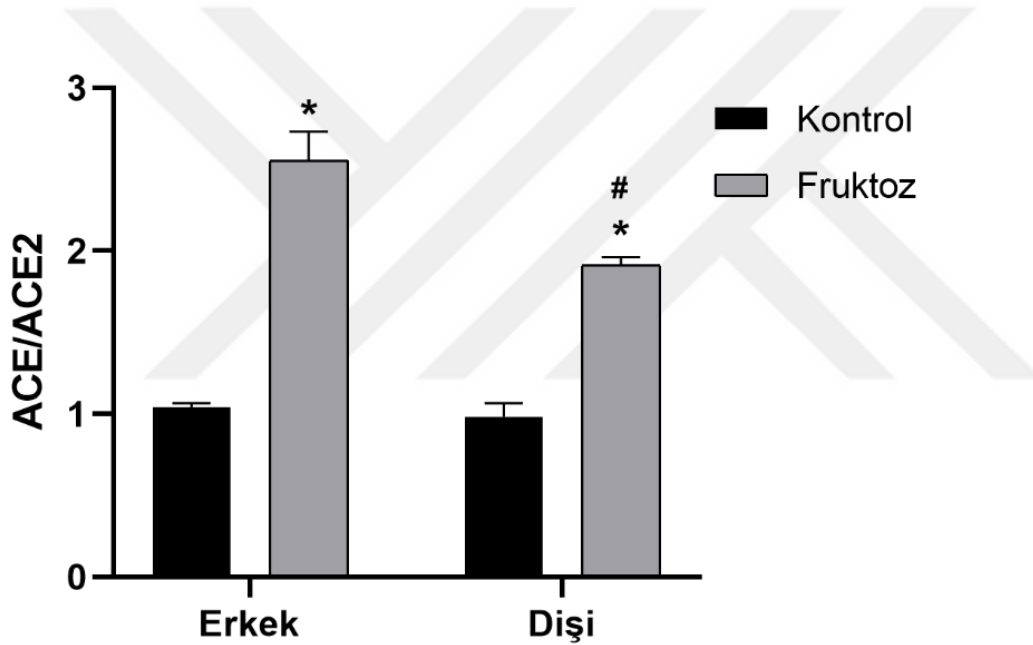


Şekil 4.33. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki ACE2 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p<0.05$ erkek grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.7.3. İleum ve jejunum doku örneklerinde ACE/ACE2 oranı

İleum doku örneklerinde ACE/ACE2 oranı

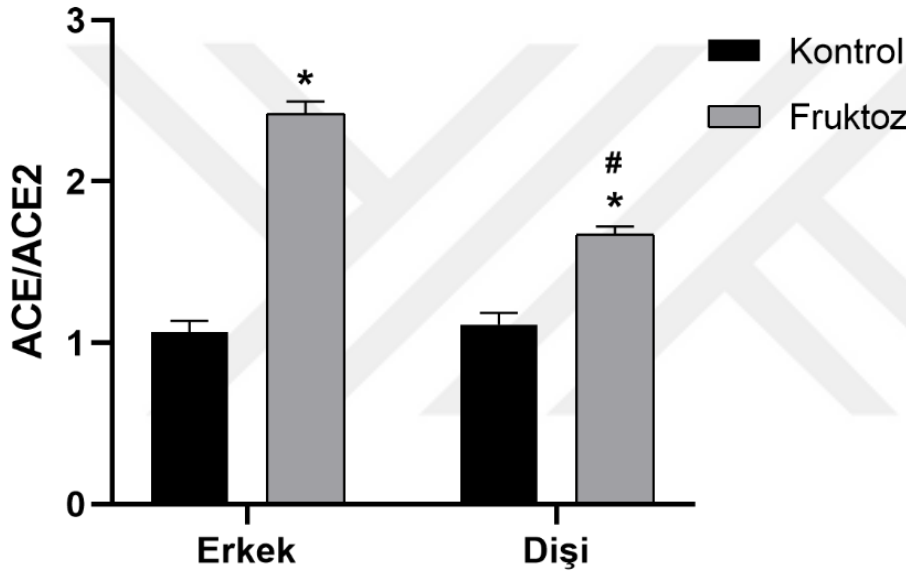
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde ACE/ACE2 oranını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında ACE/ACE2 oranı açısından anlamlı bir farklılık saptanmazken, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların ACE/ACE2 oranının dişi sıçanlara göre anlamlı ölçüde daha yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.34).



Şekil 4.34. Sıçanların ileum doku örneklerindeki ACE/ACE2 oranı. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; #p<0.05 erkek grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde ACE/ACE2 oranı

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde ACE/ACE2 oranını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında ACE/ACE2 oranı açısından anlamlı bir farklılık saptanmazken, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların ACE/ACE2 oranının dişi sıçanlara göre anlamlı ölçüde daha yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.35).

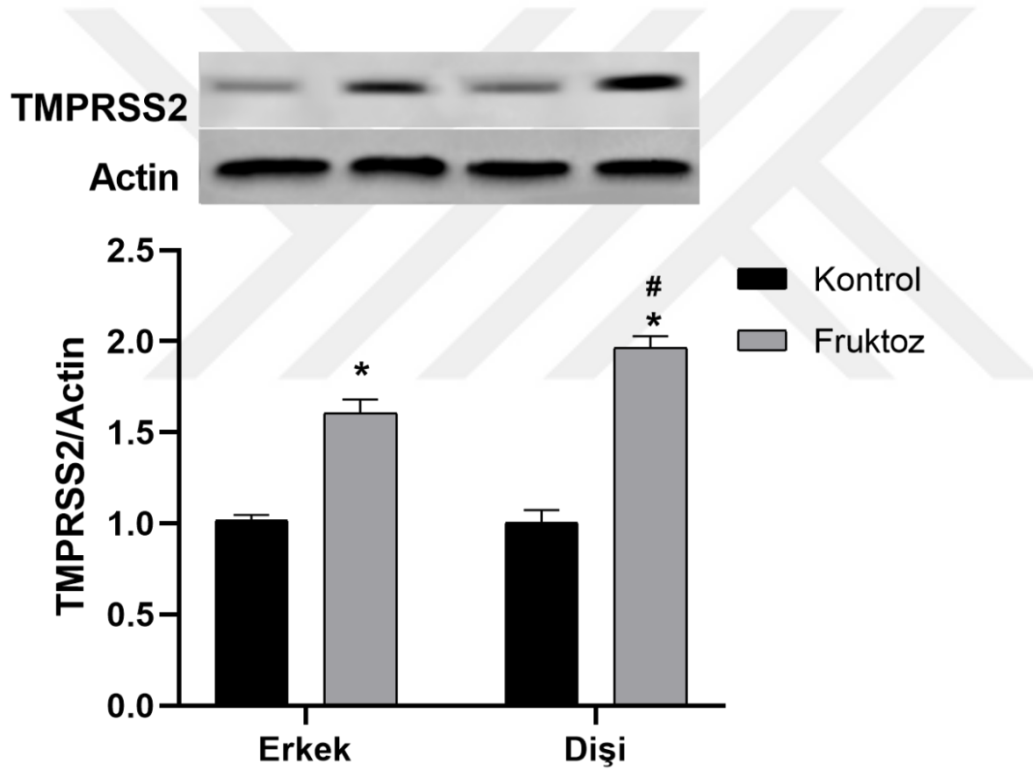


Şekil 4.35. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki ACE/ACE2 oranı. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; #p<0.05 erkek grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.7.4. İleum ve jejunum doku örneklerinde TMPRSS2 protein ekspresyonu

İleum doku örneklerinde TMPRSS2 protein ekspresyonu

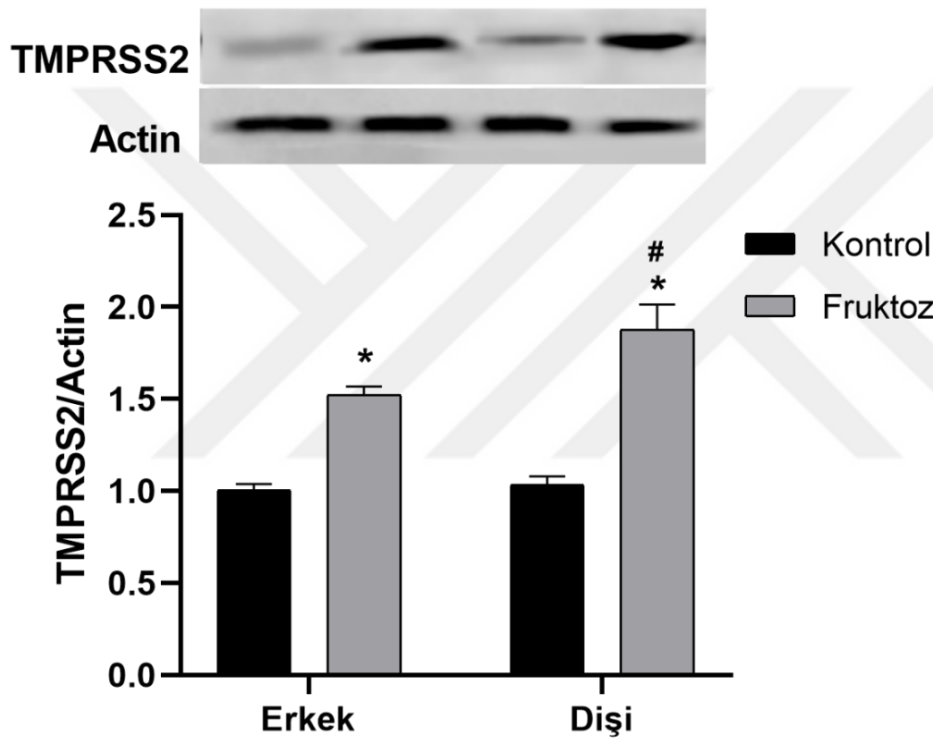
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde TMPRSS2 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında TMPRSS2 protein ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık saptanmazken, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların TMPRSS2 protein ekspresyonlarının dişi sıçanlara göre anlamlı ölçüde daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.36).



Şekil 4.36. Sıçanların ileum doku örneklerindeki TMPRSS2 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p<0.05$ erkek grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde TMPRSS2 protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde TMPRSS2 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında TMPRSS2 protein ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık saptanmazken, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların TMPRSS2 protein ekspresyonlarının dişi sıçanlara göre anlamlı ölçüde daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.37).

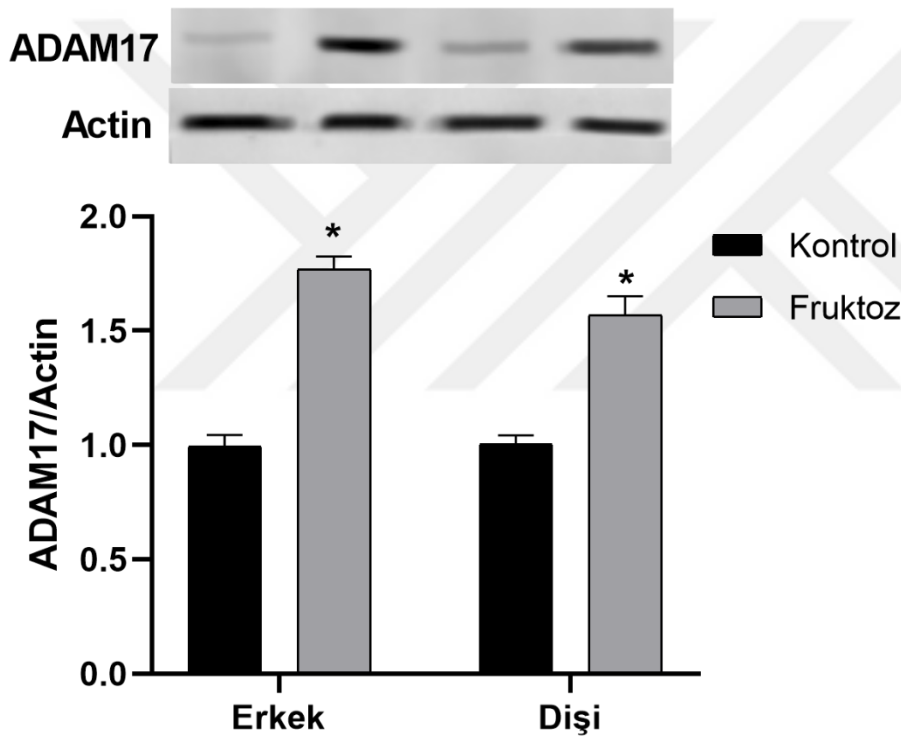


Şekil 4.37. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki TMPRSS2 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; #p<0.05 erkek grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.7.5. İleum ve jejunum doku örneklerinde ADAM17 protein ekspresyonu

İleum doku örneklerinde ADAM17 protein ekspresyonu

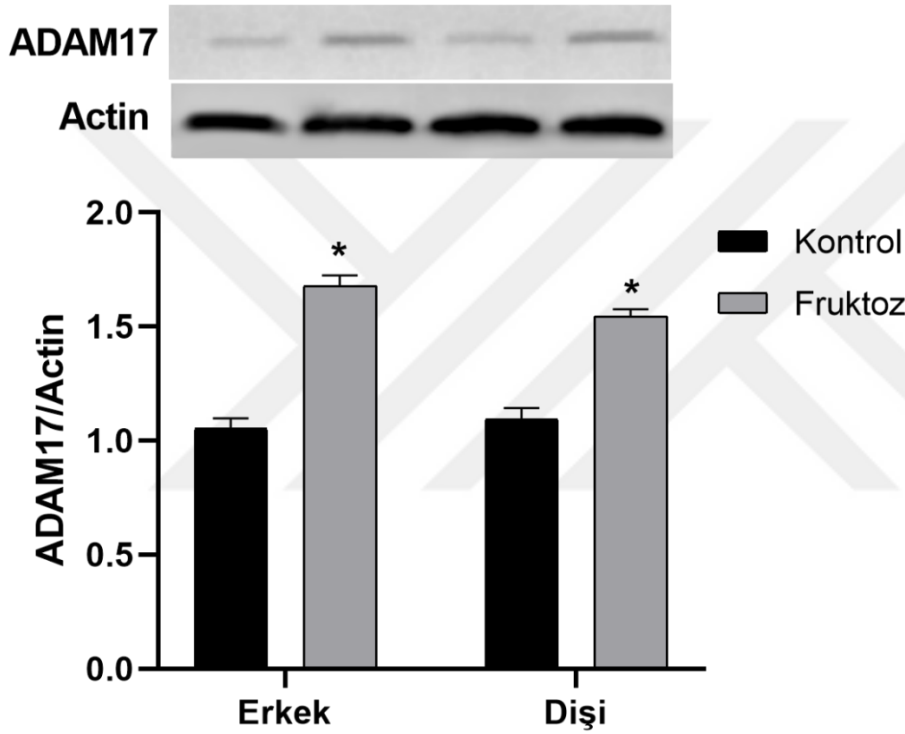
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde ADAM17 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında ADAM17 protein ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.38).



Şekil 4.38. Sıçanların ileum doku örneklerindeki ADAM17 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde ADAM17 protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde ADAM17 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında ADAM17 protein ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.39).

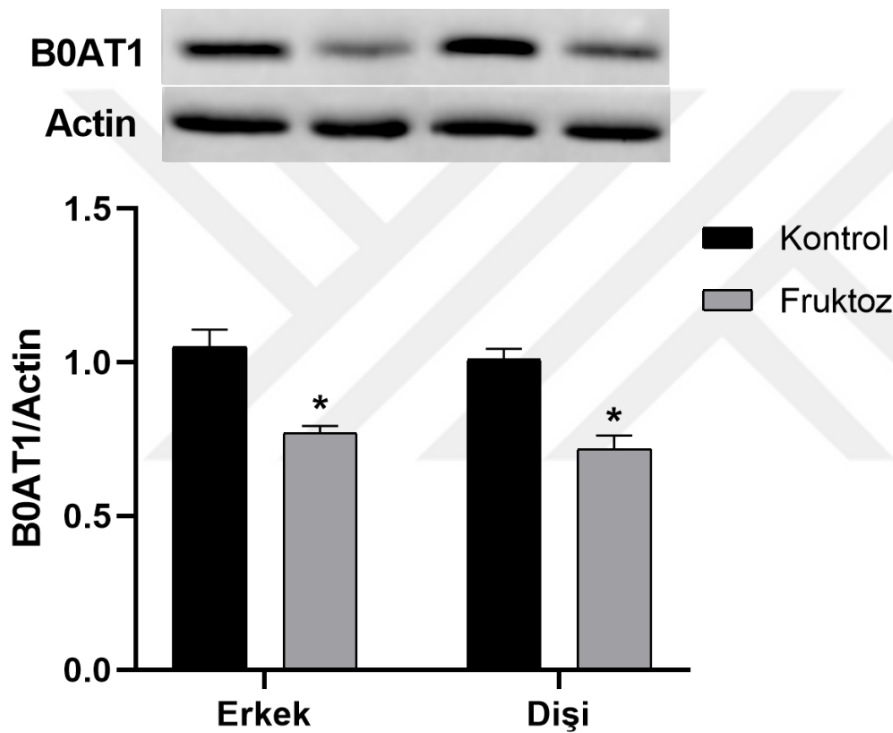


Şekil 4.39. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki ADAM17 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.7.6. İleum ve jejunum doku örneklerinde B0AT1 protein ekspresyonu

İleum doku örneklerinde B0AT1 protein ekspresyonu

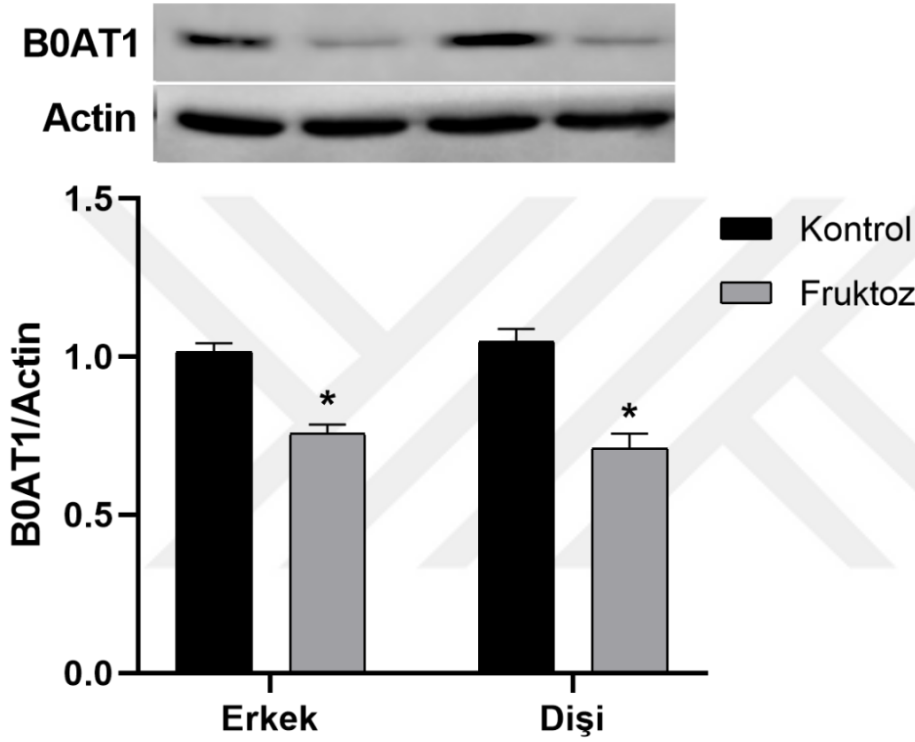
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde B0AT1 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında B0AT1 protein ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.40).



Şekil 4.40. Sıçanların ileum doku örneklerindeki B0AT1 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde B0AT1 protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde B0AT1 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında B0AT1 protein ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.41).

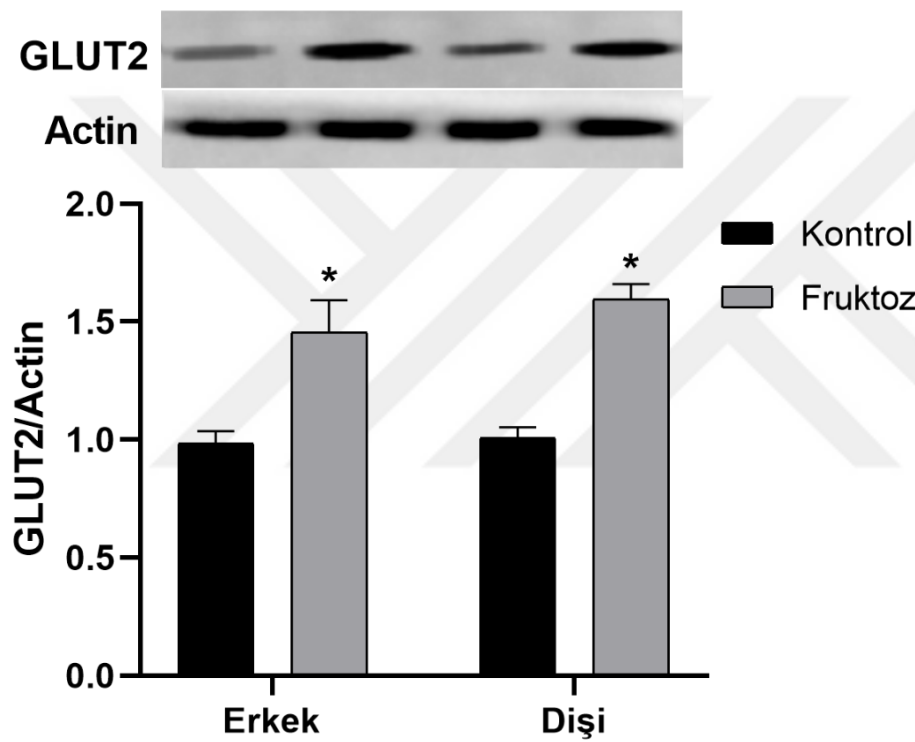


Şekil 4.41. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki B0AT1 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; n=6-8; *p<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.7.7. İleum ve jejunum doku örneklerinde GLUT2 protein ekspresyonu

İleum doku örneklerinde GLUT2 protein ekspresyonu

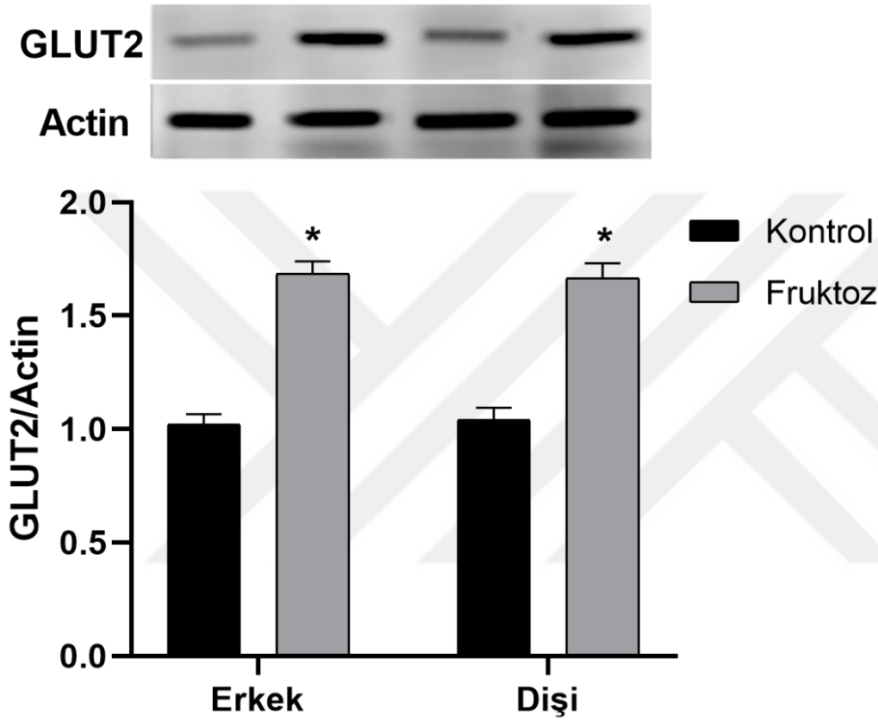
Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum doku örneklerinde GLUT2 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında GLUT2 protein ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.42).



Şekil 4.42. Sıçanların ileum doku örneklerindeki GLUT2 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

Jejunum doku örneklerinde GLUT2 protein ekspresyonu

Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların jejunum doku örneklerinde GLUT2 protein ekspresyonlarını kontrol sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlar arasında GLUT2 protein ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.43).



Şekil 4.43. Sıçanların jejunum doku örneklerindeki GLUT2 temsili bant görüntüsü ve protein ekspresyon düzeyi. Dansitometrik olarak hesaplanan bant yoğunlukları actin proteinine oranlanmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir; $n=6-8$; * $p<0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir



5. TARTIŞMA

Hiperinsülinemi, hiperlipidemi, abdominal obezite ve hipertansiyonla karakterize olan metabolik sendrom, zamanla dünya çapında ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Yüksek kalorili beslenme ve hareketsiz yaşam tarzı gibi faktörler metabolik sendrom gelişiminde etkin rol oynamaktadır [1]. Özellikle, mısır nişastasından elde edilen yüksek fruktozlu mısır şurubunun kullanımının yaygınlaşması, fruktozun çocuk ve genç yetişkinlerdeki ilave şeker tüketimlerinin ana kaynağı haline gelmesine neden olmuştur [2,104]. Mısır şurubu tüketimiyle birlikte metabolik hastalıkların da paralel bir artış göstermesi, yüksek fruktoz tüketiminin metabolik etkilerini inceleme konusu haline getirmiştir. Yapılan çok sayıdaki araştırmada, yüksek fruktoz tüketiminin hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi, abdominal obezite, karaciğer yağlanması ve hipertansiyonla karakterize olan metabolik sendroma neden olduğu gösterilmiştir [10,313]. Konuyla ilgili yapılan klinik bir çalışmada, abdominal obezitesi bulunan erkek bireylerde fruktoz tüketiminin, vücut ağırlığı ve bel çevresinde nispeten düşük bir artışa neden olduğu, fakat, visseral adipoz doku ağırlığı ve hepatik yağ içeriğini büyük ölçüde artırdığı tespit edilmiştir [142]. Benzer şekilde, günlük enerji gereksiniminin %25'ini yüksek fruktozlu mısır şurubundan alan genç katılımcıların hepatik lipid içeriğinin arttığı, insülin duyarlılığının ise azaldığı tespit edilmiştir [144]. Yüksek fruktoz tüketiminin metabolik etkilerinin incelendiği çok sayıda hayvan çalışması da bulunmaktadır [84]. Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların vücut ağırlığında belirgin bir farklılık gözlenmezken, plazma trigliserit düzeyleri ve visseral yağ dokularının (epididimal veya omental) arttığı saptanmıştır [7]. Yüksek fruktoz tüketen sıçanların kan glukoz, trigliserit, total kolesterol ve HOMA-IR değerlerinin arttığı tespit edilmiştir [138]. Benzer şekilde, önceki yıllarda laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda da yüksek fruktoz diyetiyle beslenmenin, sıçanlarda hiperglisemi, hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi, abdominal obezite ve hepatik yağlanmaya neden olduğu tespit edilmiştir [9,11-15].

Aralık 2019 tarihinde Çin'in Wuhan şehrinde insanlarda enfeksiyonlara neden olan SARS-CoV-2 virüsünün ortaya çıkmasıyla birlikte tüm dünyada çok sayıda can kaybı yaşanmıştır [31]. Yapılan çalışmalar, bireylerde daha önceden var olan metabolik sendrom, obezite ve diyabet gibi kronik hastalıkların SARS-CoV-2 enfeksiyonlarındaki mortalite oranlarını artırdığını göstermektedir [58,250]. Bu durum, metabolik sendromun SARS-CoV-2 enfeksiyonlarını olumsuz yönde etkileyen bir faktör olarak gösterilmesine neden

olmaktadır. Fauste ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek fruktoz diyetiyle metabolik sendrom modeli oluşturulan anne sıçanların yavrularının karaciğer ve ileum dokularında SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücre içine girişini belirleyen moleküllerin gen ekspresyon düzeylerinin değiştiği gösterilmiştir [59]. Bundalo ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların kalp ve aort dokularındaki RAS bileşenleri ekspresyonlarının cinsiyete bağlı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir [26]. Benzer şekilde başka bir çalışmada ise, yüksek fruktoz tüketiminin iskelet kas dokusundaki RAS komponentleri üzerine etkileri cinsiyet bağımlı olarak incelenmiştir [27]. Bununla birlikte, yüksek fruktoz tüketiminin, intestinal dokuda RAS komponentleri ve SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içerisine giriş proteinlerinin ekspresyonu üzerine etkilerinin cinsiyete bağımlı olarak incelendiği bir literatür çalışması bulunmamaktadır.

SARS-CoV-2 viral etkeninin, konak hücredeki replikasyonunun tamamlanmasının ardından, çok yüksek düzeyde sitokin üretimiyle karakterize sitokin fırtınası durumunun ortaya çıktığı ve böylece mevcut inflamasyon giderek şiddetlendiği bilinmektedir [269]. Yapılan çalışmalarda, bireylerde metabolik sendrom, obezite ve diyabet gibi inflamasyonla ilişkili metabolik hastalıkların bulunmasıyla birlikte bu enfeksiyonun daha ciddi seyrettiği bildirilmiştir [58,250]. Proinflamatuvar sitokinlerin mevcut metabolik hastalıklar nedeniyle yükselmesinin, bu kişilerdeki SARS-CoV-2 enfeksiyonuna bağlı gelişen inflamasyonun daha ağır seyretmesine yol açabileceği ve enfeksiyonun şiddetini artırabileceği öne sürülmektedir [262,263].

Literatürde, yüksek fruktoz tüketiminin SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücre içine olası giriş yerlerinden olan ileum ve jejunum dokularında inflamasyon faktörleri, RAS komponentleri ve SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içerisine giriş proteinlerinin ekspresyonlarının cinsiyet bağımlı olarak incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bilgiler doğrultusunda, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların intestinal dokularında inflamasyon faktörleri, RAS komponentleri ve SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişinde rol alan proteinlerin ekspresyonlarının değişiminin, metabolik parametreler eşliğinde ve cinsiyete bağlı olarak incelenmesi, metabolik sendromun SARS-CoV-2 viral yayılımı üzerine etkilerini aydınlatılabilmek açısından önemli bulgular sağlayacaktır. Bu amaçla tez çalışmamızda, 15 hafta boyunca %20 fruktoz içeren içme suyu verilen erkek ve dişi Wistar sıçanların metabolik parametreleriyle birlikte ileum ve jejunum dokularındaki

inflamasyon faktörleri, RAS komponentleri ve SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişinde rol alan proteinlerin ekspresyonlarının değişimi cinsiyete bağlı olarak uygun yöntemler kullanılarak incelenmiştir.

Tez çalışmamızda, sıçanların vücut ağırlıklarıyla günlük yem ve sıvı tüketimleri haftalık olarak ölçülmüş ve bu değerlerden toplam kalori alımları hesaplanmıştır. Çalışmamızın sonuçları, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanların sıvı tüketimlerinde kontrol sıçanlara kıyasla azalma eğilimi olmasına rağmen, anlamlı bir farklılık oluşmadığını, ancak, yem tüketimlerinde anlamlı bir azalma olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanların total kalori alımlarının kontrol sıçanlara göre anlamlı ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Bu durum, sıvı içerisinde alınan fruktozun sağladığı kaloriden kaynaklanmaktadır. Laboratuvarımızda yapılan ve fruktoz tüketiminin metabolik etkilerinin cinsiyete bağlı olarak incelendiği bir çalışmada, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların dişi sıçanlara kıyasla daha fazla yem ve sıvı tükettikleri ve böylece daha fazla total kalori alımları olduğu gösterilmiştir [13]. Benzer şekilde, tez çalışmamızda yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların dişi sıçanlara göre yem ve sıvı tüketimiyle total kalori alımının anlamlı ölçüde daha yüksek olduğu saptanmıştır. Literatürde yüksek fruktoz tüketiminin vücut ağırlığından ziyade abdominal ve epididimal yağ dokusu artışına neden olduğu bildirilmektedir [7,132-136,314]. Önceki yıllarda laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda da yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların vücut ağırlığında artış olmaksızın abdominal adipoz doku ağırlığının arttığı bulunmuştur [11-13]. Ayrıca, fruktoz tüketiminin cinsiyete bağlı etkilerinin incelendiği bir çalışmada, içme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen erkek sıçanların dişi sıçanlara göre daha yüksek visseral yağ dokusu ağırlığına sahip olduğu tespit edilmiştir [27]. Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, yüksek fruktoz tüketiminin hem erkek hem de dişi sıçanların omental yağ doku ağırlığının vücut ağırlığına oranını artırdığı gözlenirken; erkek ve dişi sıçanlar arasında bu parametre açısından anlamlı ölçüde bir farklılık oluşturmadığı saptanmıştır [13]. Benzer şekilde, çalışmamızın sonuçları yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların terminal vücut ağırlığında kontrol sıçanlara kıyasla anlamlı ölçüde bir farklılık oluşturmadığını, ancak, abdominal ve epididimal adipoz doku ağırlıklarını belirgin düzeyde artırdığını göstermektedir. Çalışmamızda, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların dişi sıçanlara göre adipoz doku ağırlığının anlamlı ölçüde daha yüksek olduğu belirlenirken; yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanların adipoz doku ağırlığının vücut

ağırlığına oranı arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Verilerimiz, literatür bulgularıyla uyumlu olarak, yüksek fruktoz diyetiyle beslenmenin vücut ağırlığını artırmaksızın, metabolik sendrom tanı kriterlerinden abdominal ve epididimal adipoz doku ağırlığını artırdığını göstermektedir. Bu durum neticesinde, diyet içerisinde alınan fruktozun, vücut ağırlığını etkilemeden olumsuz metabolik etkilerin ortaya çıkmasında rol alan abdominal adipoz doku artışına yol açtığı görülmektedir.

Metabolik sendromun karakteristik özelliklerinden bir diğeri ise trigliserit ve toplam kolesterol yüksekliğini içeren dislipidemi durumudur. Literatürde, yüksek fruktoz tüketiminin, hipertrigliseridemi ve total kolesterol artışına neden olduğu gösterilmektedir [315-317]. Benzer şekilde, laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların plazma trigliserit düzeyinin belirgin ölçüde yükseldiği saptanmıştır [11,12,311]. Ayrıca, laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, yüksek fruktozlu diyetle beslenen erkek sıçanların dişi sıçanlara kıyasla trigliserit düzeylerinin daha yüksek olduğu tespit edilirken, kolesterol düzeyleri açısından cinsiyetler arasında bir farklılık saptanmamıştır [9]. Tez çalışmamızda, yüksek fruktozlu diyetle beslenen erkek ve dişi sıçanların plazma trigliserit ve total kolesterol düzeylerinin önemli ölçüde yükseldiği bulunmuştur, ancak, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanlar arasında plazma trigliserit ve total kolesterol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farklılık saptanmamıştır. Laboratuvarımızda yapılan önceki çalışmada, bu çalışmadan farklı olarak, sıçanlara 24 hafta boyunca %10 fruktozlu içme suyu verilmiştir. Plazma trigliserit düzeyi açısından cinsiyetler arasında ortaya çıkan bu farklılığın, deneysel protokolün aynı olmamasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Metabolik sendrom varlığında dokular insülini etkin bir şekilde kullanamamakta ve insülin direnci oluşmaktadır. Bu sendromda ortaya çıkan hiperinsülinemi durumuna rağmen, kan glukoz seviyeleri yüksek seyretmeye devam etmektedir. Yapılan çok sayıdaki insan ve hayvan çalışmasında, yüksek fruktoz tüketiminin hiperinsülinemi ve insülin direncine yol açtığı gösterilmiştir [146,318-321]. Benzer şekilde, laboratuvarımızda yapılan önceki çalışmalarda, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların plazma glukoz ve insülin düzeylerinin belirgin ölçüde arttığı gösterilmiştir [9,11-13,15,311]. Ayrıca, literatürde fruktoz tüketiminin erkek ve dişi sıçanlar arasında plazma glukoz ve insülin düzeyleri üzerinde anlamlı bir farklılık oluşturmadığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır [8,9]. Çalışmamızda, yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların kontrol gruplarına kıyasla

plazma glukoz ve insulin düzeylerini belirgin ölçüde artırdığı ve hiperinsülinemi durumu oluşturduğu tespit edilmiştir. Tez çalışmamız kapsamında, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanlar arasında plazma glukoz ve insülin düzeyleri açısından belirgin bir farklılık oluşmadığı saptanmıştır. Tez çalışmamızın metabolik parametrelerle ilişkili sonuçları, Wistar erkek ve dişi sıçanlara 4. haftadan itibaren 15 hafta boyunca %20 fruktoz içeren içme suyu verilmesiyle hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi ve abdominal obeziteyle karakterize metabolik sendromu tablosu oluştuğunu göstermektedir.

Yüksek fruktoz tüketiminin ince bağırsak enterositlerinde çeşitli dejenerasyonlara neden olduğu bildirilmektedir [11,322,323]. Bu amaçla yapılan bir çalışmada, fruktoz tüketiminin bağırsak kriptaları ve bez yapılarında dejenerasyon ve polimorfonükleer hücre infiltrasyona yol açtığı gösterilmiştir [322]. Benzer şekilde, 4 hafta boyunca %30 fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanların terminal ileum ve kolon dokularında mukoza hasarı ve lökosit infiltrasyonunun arttığı tespit edilmiştir [323]. Laboratuvarımızda yapılan güncel bir çalışmada ise, 15 hafta boyunca %20 fruktoz içeren içme suyuyla beslenen sıçanların ileum dokularında makrofaj ve lenfosit infiltrasyonunun arttığı, villus ve salgı hücrelerinde ise nekrotik değişikliklerin oluştuğu gösterilmiştir. Aynı zamanda, çalışmada fruktoz tüketiminin sıçanların ileum doku örneklerinde NFκB ve iNOS ekspresyonlarını artırdığı immünohistokimyasal yöntemlerle belirlenmiştir [11]. Tez çalışmamızda, yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum doku örneklerinde epitel hücre kaybı, villus füzyonu, yüksek düzeyde polimorfonükleer hücre infiltrasyonu ve bez yapılarında dejenerasyona neden olduğu tespit edilmiş. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanlarda hemoraji ve ödem bulgularına rastlanmamıştır. Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanlar ve ileum ve jejunum dokuları arasında ise, bu parametreler açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Tüm bu bulgular, yüksek fruktoz tüketiminin intestinal dokuda dejenerasyona neden olabileceğini ve bu duruma bağlı olarak bağırsak fonksiyon bozukluklarına yol açabileceğini göstermektedir.

Metabolik sendromun düşük dereceli kronik bir inflamatuvar durum olduğu bilinmektedir. Laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda, yüksek fruktoz diyetiyle oluşturulan metabolik sendromda ileum, karaciğer, böbrek, testis ve adipoz doku gibi farklı dokularda TNFα, IL-1β, IL-6 veya NFκB ekspresyonlarının arttığı ve dokularda makrofaj infiltrasyonunun tetiklendiği gösterilmiştir [11-15,324]. Spruss ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada, %30'luk fruktoz çözeltisiyle beslenen farelerin, gram-negatif bakterilerin

hücre zarında oluşan endotoksin düzeyini artırdığı ve duodenumdaki sıkı bağlantı proteinlerinden occludin ve ZO-1 düzeyinin azalmasına bağlı olarak bağırsak bariyer fonksiyonunu bozduğu bildirilmiştir. Çalışmada, farelerin plazma endotoksin düzeyi ile birlikte karaciğer dokularındaki TNF α , indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve miyeloid farklılaşma faktörü 88 (Myeloid Differentiation Factor 88; MyD88) gen ekspresyonlarında artış olduğu gösterilmiştir [16]. Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada ise, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların ileum dokularında makrofaj ve lenfosit infiltrasyonu ve iNOS ekspresyonunun arttığı belirlenmiştir [11]. Sıçanlara artan dozlarda (0;2,6;5,3;10,5 g/kg/gün) fruktoz verilmesiyle pankreas ve kolon mukozasında inflamatuvar hücre infiltrasyonunun arttığı tespit edilmiştir. Çalışmada, fruktoz verilen sıçanların kan TNF α , IL-6 ve “makrofaj inflamatuvar protein-2 (macrophage inflammatory protein, MIP2) düzeylerinin arttığı; antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 düzeyinin ise azaldığı gösterilmiştir [158]. Yüksek fruktoz diyetiyle beslenmenin dekstran sülfat sodyum ile kolit oluşturulan deney hayvanlarının kolon dokularındaki IL-1 β , IL-6, IL-10 ve “dönüştürücü büyüme faktörü (transforming growth factor, TGF β) gen ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir [157]. Yüksek fruktoz veya yağlı diyetle beslenmenin farelerin ince bağırsak, kolon ve çekum gibi intestinal sistemin farklı segmentlerinde inflamatuvar hücre infiltrasyonunda artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda, bu diyet uygulamalarının farelerin kan IL-1 β düzeyi ile birlikte IL-2 ve IL-6 düzeylerini arttığı saptanmıştır [325]. Benzer şekilde, %60 fruktoz ve %10 yer fıstığı yağı içeren bir diyetle 30 hafta boyunca beslenen sıçanların kolon dokularında TNF α ve IL-6 gen ekspresyonlarının arttığı belirlenmiştir [159]. Bununla birlikte, yüksek fruktoz tüketiminin cinsiyet bağımlı etkilerinin incelendiği bir çalışmada, fruktozdan zengin diyetle beslenen sıçanların karaciğer dokularında TNF α , IL-1 β ve IL-6 gen ekspresyonları açısından cinsiyetler arasında anlamlı bir farklılık oluşmadığı gösterilmiştir [17]. Benzer şekilde, laboratuvarımızda yapılan ve fruktoz tüketiminin adipoz dokudaki inflamatuvar faktörler üzerine etkilerinin cinsiyet bağımlı olarak incelendiği bir çalışmada, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanlar arasında adipoz doku TNF α ve IL-1 β düzeyleri açısından anlamlı bir farklılığın bulunmadığı gösterilmiştir [13]. Tez çalışmamız kapsamında da yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanların plazma, ileum ve jejunum doku örneklerindeki TNF α ve IL-1 β düzeyleri ile bu dokulardaki TNF α ve IL-1 β ekspresyonlarının anlamlı ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, yüksek fruktoz tüketiminin erkek ve dişi sıçanlar arasında plazma, ileum ve jejunum doku örneklerindeki TNF α ve IL-1 β düzeyleri ile bu dokulardaki TNF α ve IL-1 β ekspresyonları açısından

belirgin bir farklılık oluşturmadığı saptanmıştır. Aynı zamanda, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokuları arasında da TNF α ve IL-1 β düzeyleri ve protein ekspresyonları açısından anlamlı ölçüde bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir.

NF κ B, çeşitli sitokinler ve serbest radikaller gibi uyaranlara karşı hücrel yanıt oluşumunda görev alan nükleer transkripsiyon faktörlerinden biridir. Yapılan çalışmalar, inflamasyonla ilişkili hastalıkların ilerlemesinde NF κ B aktivasyonunun etkili olduğunu göstermektedir [160,326]. Literatürde yüksek fruktoz veya sükröz diyetiyle beslenen sıçanların distal ileum ve proksimal kolon dokularında NF κ B gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, çalışmada yüksek fruktoz ve sükröz tüketiminin sıçanların kan TNF α , IL-6, INF- γ , MCP-1, IL-12 ve IL-10 düzeylerini de belirgin ölçüde artırdığı tespit edilmiştir [160]. Benzer şekilde, laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, 15 hafta boyunca %20 fruktozla beslenen sıçanların ileum dokularındaki NF κ B ile hepatik CD68 ekspresyonlarının arttığı immünohistokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir [11]. Fruktoz tüketiminin erkek ve dişi sıçanların adipoz dokularındaki inflamasyon faktörleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise, yüksek fruktoz tüketiminin dişi sıçanların adipoz dokularındaki NF κ B ekspresyonu ile birlikte TNF α , IL-1 β ve IL-6 gen ekspresyonlarını artırdığı gösterilirken, erkek sıçanlardaki NF κ B ekspresyonlarını değiştirmedeği saptanmıştır [327]. Tez çalışmamız kapsamında, yüksek fruktoz diyetinin her iki cinsiyetten sıçanların plazma, ileum ve jejunum NF κ B düzeyleri ile bu doku örneklerindeki NF κ B ve makrofaj infiltrasyonunu gösteren CD68 ekspresyonlarını anlamlı ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda, yüksek fruktoz tüketiminin erkek ve dişi sıçanlar arasında plazma, ileum ve jejunum NF κ B düzeyleri ile bu doku örneklerindeki NF κ B ve CD68 ekspresyonları açısından belirgin bir farklılık oluşturmadığı saptanmıştır. Aynı zamanda, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokuları arasında da NF κ B düzeyi ile NF κ B ve CD68 protein ekspresyonları açısından anlamlı ölçüde bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir. Kovacevic ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, çalışmamızdan farklı olarak, sıçanlara 9 hafta boyunca %10 fruktoz içeren içme suyu verilmiştir. Erkek sıçanların NF κ B ekspresyonları üzerindeki bu farklılığın, deneysel protokoller arasındaki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Hücrel inflamatuvar yanıtın oluşmasında önemli görevleri bulunan komponentlerden bir diğeri ise NLRP3 inflamazomudur. Apoptozis ilişkili benek benzeri protein (apoptosis-

asociated speck-like protein; ASC) ve caspase-1 proteinlerinden oluşan bu inflamazom, IL-1 β ve IL-18 proinflamatuvar sitokinlerini aktive etmekle görevlidir [328]. Yüksek fruktoz diyetiyle oluşturulan metabolik sendromda, böbrek ve karaciğer gibi farklı dokulardaki NLRP3, ASC ve caspase-1 ekspresyonlarının arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır [167,168,329]. Yem içerisinde %65 fruktozla 20 hafta boyunca beslenen sıçanların karaciğer dokularında NLRP3, ASC ve caspase-1 ile birlikte TNF α , IL-1 β , IL-6 ve IL-33 gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [167]. Benzer şekilde, fruktozdan zengin diyetle 10 hafta boyunca beslenen sıçanların karaciğer dokularında NLRP3, ASC ve caspase-1 protein ekspresyonlarında artış olduğu tespit edilmiştir [168]. İçme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen farelerin böbrek dokularında, NLRP3, ASC, caspase-1 ve MCP-1 protein ekspresyonlarının arttığı saptanmıştır [329]. Xue ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise, yüksek yağlı diyetle beslenen anne farelerin yavrularının ileum dokularında NLRP3, caspase-1, IL-1 β ve IL-18 protein ekspresyonlarının arttığı saptanmıştır [166]. Tez çalışmamız kapsamında, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum doku örneklerindeki NLRP3 ve caspase-1 ekspresyonlarının arttığı, ancak, erkek ve dişi sıçanlar arasında bu doku örneklerindeki NLRP3 ve caspase-1 ekspresyonları açısından bir farklılık oluşmadığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokuları arasında da NLRP3 ve caspase-1 protein ekspresyonları açısından anlamlı ölçüde bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz bu bulgular, yüksek fruktoz diyetiyle oluşturulan metabolik sendromun plazma, ileum ve jejunum dokularında TNF α , IL-1 β ve NF κ B düzeyleri ile intestinal TNF α , IL-1 β , NF κ B, NLRP3, caspase-1 ve CD68 ekspresyonlarını artırarak inflamatuvar bir durum oluşturduğunu, ancak, inflamatuvar faktörler açısından cinsiyete bağlı bir farklılık ortaya çıkarmadığını göstermektedir.

RAS, kan basıncı, elektrolit dengesi ve hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde etkin rol alan bir sistem olarak görev yapmaktadır. ACE ve ACE2 enzimleri, bu sistemin önemli iki bileşeni olup, sırasıyla Ang II ile Ang 1-7 ve Ang 1-9 oluşumunu katalizleyerek, fizyolojik dengenin sağlanmasında kritik rol almaktadır. Ang II ile Ang 1-7 ve Ang 1-9, kan basıncı, sıvı-elektrolit dengesi, hücre proliferasyonu, fibrozis ve inflamasyonun düzenlenmesinde birbirlerini dengeleyici etkiler gösteren komponentler olarak görev yapmaktadır. Çeşitli nedenlerle ACE/ACE2 dengesinin bozulması fizyolojik dengenin olumsuz yönde etkilenmesine neden olmaktadır [18]. Yüksek fruktoz tüketiminin RAS bileşenlerinin ekspresyonlarını değiştirdiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir [19-24,26]. Kim ve

arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek fruktozlu diyetle beslenen sıçanların kan renin ve Ang II düzeyleri ile birlikte hepatik anjiyotensinojen, renin ve AT1R ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [22]. Sekiz hafta boyunca içme suyu içerisinde %20 fruktoz verilerek oluşturulan bir NAFLD modelinde, fruktoz tüketiminin sıçanların karaciğer dokularında Ang II ekspresyonunu artırırken; ACE2, Ang 1-7 ve MasR ekspresyonlarını azalttığı tespit edilmiştir [24]. Yüksek fruktoz tüketiminin adipoz doku RAS bileşenleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, yem içerisinde %66 fruktozla beslenen sıçanların adipoz dokusunda anjiyotensinojen gen ekspresyonunda bir farklılık gözlenmezken, AT1R gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [19]. Başka bir çalışmada, 8 hafta boyunca %60 fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanların retroperitoneal, mezenterik ve epididimal adipoz dokularında Ang II düzeyinin arttığı gösterilmiştir [21]. Benzer şekilde, yem içerisinde %60 fruktozla beslenen sıçanların adipoz dokularında anjiyotensinojen, ACE ve AT2R gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [23]. İçme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen sıçanların aort dokularındaki AT1R gen ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir [20]. Kardiyak ve aortik RAS bileşenlerinin yüksek fruktoz tüketimine bağlı olarak erkek ve dişi sıçanlardaki etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise, 9 hafta boyunca %10 fruktoz çözeltisi verilen erkek sıçanların kardiyak ACE ve AT1R ekspresyonunun arttığı, ACE2 ve AT2R ekspresyonlarının ise azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmada, fruktoz tüketiminin aort dokusundaki AT1R ekspresyonunu erkekler sıçanlarda değiştirmezken, dişi sıçanlarda artırdığı bulunmuştur. Ayrıca, çalışmada yüksek fruktozlu diyetle beslenen erkek sıçanların kardiyak ACE ekspresyonunun dişilere kıyasla belirgin ölçüde yüksek olduğu gösterilirken; ACE2 ekspresyonunun ise anlamlı ölçüde düşük olduğu saptanmıştır [26]. Ayrıca, fruktoz tüketiminin cinsiyete bağlı RAS etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada ise, fruktozla beslenen erkek sıçanların iskelet kasında dişi sıçanlara göre ACE ekspresyonunda artma, ACE2 ve MasR ekspresyonlarında ise azalma eğilimi olduğu tespit edilmiştir [27]. Yüksek fruktoz tüketiminin intestinal dokuda RAS komponentleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışması kapsamında, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokularında, ACE ekspresyonunun anlamlı ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Buna karşın, fruktoz tüketiminin erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokularında RAS'ın diğer bir önemli bileşeni olan ve SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişinde reseptör görevi üstlenen ACE2 ekspresyonunu ise anlamlı ölçüde azalttığı saptanmıştır. Ayrıca, çalışmamızda yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların ileum ve jejunum dokularındaki ACE ekspresyonunun dişi

sıçanlara kıyasla belirgin düzeyde daha yüksek olduğu, ACE2 ekspresyonunun ise anlamı ölçüde daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokuları arasında ACE ve ACE2 protein ekspresyonları açısından anlamlı ölçüde bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, yüksek fruktoz tüketiminin intestinal dokuda RAS'ın önemli komponentleri olan ACE ve ACE2 enzimleri arasındaki dengenin ACE enzimi lehine bozulmasına ve fizyolojik dengenin olumsuz yönde etkilenmesine neden olabileceğini göstermektedir. Erkek ve dişi sıçanlar arasında RAS komponentlerinden ACE ve ACE2 enzimleri açısından ortaya çıkan bu farklılığın ise, cinsiyet hormonlarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Literatürde, ovaryumu alınan dişi sıçanların böbrek, akciğer, abdominal aort ve beyin dokularında ACE ve AT1R bağlanma yoğunluklarının arttığı otoradyografi yöntemiyle gösterilmiştir. Aynı zamanda, bu çalışmada hayvanlara 5 hafta boyunca 25 µg/gün veya 250 µg/gün dozunda 17β-estradiol verilmesinin, bu artışları önlediği tespit edilmiştir [330]. Başka bir çalışmada ise, dişi sıçanlarına overektomi yapılmasıyla azalan östrojen düzeylerine bağlı olarak kalp dokusunda kimaz gen ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, çalışmada overektomi sonrasında bu dokuda ACE, anjiyotensinojen ve AT1R gen ekspresyonunda artış, ACE2 enziminde ise azalma eğilimi olduğu gösterilmiştir [29]. Östrojen türevlerinden 17β-estradiolün, SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişinde rol alan proteinler üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, Wistar erkek sıçanlara 7 gün boyunca 17β-estradiol verilmesinin, akciğer ve kolon dokularında ACE2 gen ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir [30]. Cinsiyet hormonlarının, aortik AT2R ekspresyonu üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, erkek sıçanların aort dokusunda AT2R ekspresyonunun dişilere kıyasla göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Çalışmada, erkek sıçanlarda kastrasyon yoluyla testosteron üretiminin engellenmesiyle birlikte AT2R ekspresyonunun belirgin ölçüde arttığı ve testosteron replasmanı tedavisinin ise bu durumu eski haline getirdiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda, dişi sıçanlara dihidrotestosteron verilmesiyle birlikte AT2R ekspresyonunun azaldığı ve bu durumun androjen reseptör blokörü flutamid tarafından tersine çevrildiği saptanmıştır [28]. Bukowska ve arkadaşlarının yaptığı klinik bir çalışmada, yaşlı erkek bireylerden alınan atrial doku kültürüne östrojen verilmesinin, ACE2, AT2R ve MasR gen ekspresyonunu artırırken, ACE gen ekspresyonunu ve ACE/ACE2 oranını azalttığı gösterilmiştir [331]. Benzer şekilde, 34 kalp hastasından alınan sağ atrium doku örneklerinin incelendiği bir çalışmada, östrojen reseptörüyle ACE2 mRNA seviyelerinin paralellik gösterdiği saptanmıştır [332]. Bu veriler, östrojenin RAS

komponentlerinden ACE ve AT1R aktivitelerini azaltırken, ACE2, AT2R ve MasR aktivitelerini artırdığını göstermektedir. Buna karşın, testosteronun ise ACE enziminin AT1R reseptörü üzerinden ortaya çıkan etkileri dengeleyen AT2R aktivitesini azalttığı görülmektedir. Tez çalışmamız kapsamında, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanlar arasında ACE ve ACE2 ekspresyonları açısından ortaya çıkan farklılıkların, dişi hormonu östrojen ve erkek hormonu testosteronun RAS komponentleri üzerinde oluşturdukları farklı etkilerden kaynaklanabileceğini göstermektedir. Ayrıca, yüksek fruktoz diyetinin erkeklerde dişilere kıyasla ACE ekspresyonunu daha fazla artırırken, ACE2 ekspresyonunu azaltması, SARS-CoV-2 viral etkeninin intestinal sistemden yayılımını azaltabileceğini düşündürmesine karşın, mevcut RAS komponentlerinden ACE ekspresyonunu artırıp, bu enzim üzerinden ortaya çıkan etkileri dengeleyen ACE2 ekspresyonunu azaltarak, ACE/ACE2 enzim dengesinin bozulmasına bağlı olarak fizyolojik dengenin olumsuz yönde etkilenmesine neden olabileceği dikkate alınmalıdır.

SARS-CoV-2 viral etkeni, konakçının hücre membranında bulunan ACE2 reseptörüne bağlandıktan sonra konakçı proteazlarından olan TMPRSS2 tarafından çeşitli proteolitik bölünmeler gerçekleştirerek hücre içine girişini tamamlamaktadır [35]. Araştırmalar, intestinal sistemde ACE2 enzimiyle birlikte oldukça yüksek düzeyde TMPRSS2 ekspresyonu olduğunu göstermektedir [232,235] Lee ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, insan bağırsak hücre hattında (C2BBel) yüksek düzeyde ACE2 ve TMPRSS2 ekspresyonlarının olduğu ve SARS-CoV-2 viral etkeninin bu proteinler aracılığıyla hücre içerisine girerek, bağırsaklarda yüksek düzeyde yayılım gösterebileceği ileri sürülmektedir [234]. Ayrıca, insanlardan izole edilerek kültürlenmiş bağırsak hücrelerinde, ACE2 enzimiyle birlikte TMPRSS2 ve TMPRSS4 proteazlarının varlığının enterosit içindeki SARS-CoV-2 viral mRNA bolluğunu artırdığı gösterilmiştir [235]. Yetişkin ve çocuklarda immünofloresans yöntemlerle ACE2 ve TMPRSS2 ekspresyonlarının incelendiği bir arşiv doku çalışmasında, ileum, kolon ve rektum dokularında TMPRSS2'nin ACE2 enzimiyle birlikte lokalize halde bulunduğu ve bu dokularda her iki protein ekspresyonunun da oldukça yüksek düzeyde olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda, çalışmada "inflamatuvar bağırsak hastalığı (inflammatory bowel diseases, IBD) olan bireylerin ileum ve kolon dokularındaki TMPRSS2 ekspresyonlarında artış olduğu gösterilmiştir [217]. Fauste ve arkadaşları tarafından yapılan ve yüksek fruktoz diyetinin intestinal sistemde SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre giriş proteinleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada hem embriyonik hem de postnatal dönemden itibaren yüksek fruktoz diyetiyle beslenen

sıçanların ileum dokularında ACE2 gen ekspresyonlarının değişmediği, ancak, TMPRSS2 gen ekspresyonlarında artış eğilimi olduğu gösterilmiştir [59]. Tez çalışmamız kapsamında, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen her iki cinsiyetten sıçanların ileum ve jejunum dokularında TMPRSS2 protein ekspresyonlarının anlamlı ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların ileum ve jejunum dokularındaki TMPRSS2 protein ekspresyonlarının dişi sıçanlara kıyasla anlamlı ölçüde daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokuları arasında TMPRSS2 protein ekspresyonları açısından anlamlı ölçüde bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuçlar, fruktoz tüketiminin, SARS-CoV-2 virüsünün S proteinlerinin S1/S2 ve S2' yarılmalarının gerçekleşmesine olanak sağlayan ve böylece virüsün hücre içine girişini kolaylaştırıcı etkileri bulunan TMPRSS2 protein ekspresyonunu artırarak viral girişi kolaylaştırabileceğini göstermektedir. Aynı zamanda, erkek ve dişi sıçanlar arasında SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücre içine girişini kolaylaştırıcı etkileri bulunun TMPRSS2 açısından belirgin bir farklılığın oluşmasına, cinsiyet hormonlarından kaynaklanan farklılıkların neden olabileceği düşünülmektedir. Viral giriş için oldukça önemli etkileri bulunan TMPRSS2'nin ekspresyon seviyelerinin androjenler tarafından düzenlendiği bildirilmektedir [71]. TMPRSS2'nin organ spesifik etkilerinin in vitro ve in vivo yöntemlerle incelendiği bir çalışmada, prostat hücre hattında androjen reseptör blokörü enzalutamid uygulamasının TMPRSS2 protein ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiş, ancak, enzalutamidin akciğer hücre hattı ve fare akciğer dokusunda böyle bir etki meydana getirmediği saptanmış ve bu duruma akciğerde androjen hormonlardan bağımsız TMPRSS2 ekspresyonunun gerçekleşmesinin neden olabileceği belirtilmiştir [310]. Aynı zamanda, prostat kanseri nedeniyle androjen hormon üretimini azaltmaya yönelik tedavi alan hastaların SARS-CoV-2 viral enfeksiyonundan kısmen korunduğu gösterilmiştir [309]. Bu bilgiler, viral girişi kolaylaştıran TMPRSS2 ekspresyonunun androjenler tarafından uyarıldığını ve böylece erkek bireylerde SARS-CoV-2 enfeksiyon riskinin kadınlara kıyasla daha yüksek olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, östrojen hormonunun TMPRSS2 proteazı üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise, Wistar erkek sıçanlara 7 gün boyunca 17 β -estradiol verilmesinin akciğer ve kolon dokularında TMPRSS2 gen ekspresyonunu artırdığı tespit edilmiştir [30]. Benzer şekilde, 34 kalp hastasından alınan sağ atrium doku örneklerinde yapılan bir çalışmada, östrojen reseptör ekspresyonuyla TMPRSS2 mRNA seviyelerinin paralellik gösterdiği saptanmıştır [332]. Bu bulgular hem androjen hem de östrojen hormonunun TMPRSS2 proteazını

artırıcı etkilerinin olabileceğini ve seks hormonlarının bu proteaz üzerinde tek yönlü etkisi olmaması nedeniyle bu durumun yorumlanmasının bu aşamada zor olabileceğini göstermektedir.

SARS-CoV-2 viral girişinde önemli görevleri bulunan bir diğer membran proteazının ADAM17 olduğu bildirilmektedir. SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücre içine girişinden, membrana bağlı olan ACE2 sorumlu iken, dolaşımda çözünür halde bulunan form, SARS-CoV-2 virüsünün S proteinlerine bağlanarak virüsün membranal ACE2'ye bağlanmasını engellemekte ve virüsün hücre içine girişini önlemektedir [42]. ADAM17 proteazı, virüsün hücre içine girişine aracılık eden membranal ACE2 enziminin çözünür ACE2 enzimi formuna dönüşmesini sağlayarak, viral yayılımı azaltıcı etkiler gösterdiği ileri sürülmüştür [237]. Ancak, bu proteazın TNF α ve IL-1 β gibi çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin aktif hale gelmesine neden olarak, mevcut inflamasyonu artırıcı etkilerinin olduğu da bilinmektedir [44]. Bu etkileriyle ADAM17, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının seyrini olumsuz yönde etkileyebilmektedir [239]. SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında hem olumlu hem de olumsuz etkileri bulunan bu proteazın aktivitesinin çok yönlü etkilerinin incelendiği bir in vivo çalışmada, SARS-CoV-2 etkeniyle enfekte olan hayvanlara spesifik ADAM17 antikorları uygulanarak, inflamasyon parametrelerinin değişimi ve mortalite oranları incelenmiştir. Bu çalışma, ADAM17 blokajının hayvanların akciğer dokularındaki SARS-CoV-2 viral yükü önemli ölçüde artırdığını gösterirken, mevcut inflamasyonu azalttığını göstermektedir. Bununla birlikte, ADAM17 antikoruyla tedavi edilen hayvanlarda viral yükün artmasına rağmen, inflamatuvar durumun azalmasına bağlı olarak daha düşük akciğer patolojileri gözlenmiş ve bu hayvanların daha sağlıklı oldukları belirlenmiştir [239]. Bu durum, SARS-CoV-2 virüsünün yayılımı azaltıcı etkileriyle bilinen ADAM17'nin farklı mekanizmalarla enfeksiyonun seyrini olumsuz yönde etkileyebileceğini göstermektedir. Ayrıca, Jocher ve arkadaşları tarafından yapılan bir in vitro çalışmada, ADAM17 ve ADAM10'un SARS-CoV-2 viral etkeninin S proteinleri üzerinde bir takım proteolitik bölünmeye aracılık edebileceği gösterilmiştir. Araştırmacılar, viral yayılımı azaltıcı etkileriyle bilinen bu proteazın aslında TMPRSS2 benzeri etki gösterebileceğini bildirmişlerdir [240]. Yüksek fruktoz tüketiminin SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre giriş proteinleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada hem embriyonik hem de postnatal dönemden itibaren yüksek fruktoz diyetiyle beslenen sıçanların ileum dokularında ADAM17 gen ekspresyonlarının anlamlı ölçüde arttığı tespit edilmiştir [59]. Benzer şekilde, tez çalışmamızda da yüksek fruktoz tüketiminin erkek ve

dişi sıçanların kontrol sıçanlara kıyasla ileum ve jejunum dokularındaki ADAM17 protein ekspresyonlarını artırdığı saptanmıştır. Çalışmamızda, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanlar arasında ileum ve jejunum dokularındaki ADAM17 ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Aynı zamanda, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokuları arasında da ADAM17 protein ekspresyonları açısından anlamlı ölçüde bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu durum, yüksek fruktoz diyetinin SARS-CoV-2 viral etkeninin konak hücre içine girişini azaltabileceğini, fakat, artan ADAM17 ekspresyonlarına bağlı olarak aktif TNF α oluşumunu tetikleyerek SARS-CoV-2 enfeksiyonlarına bağlı gelişen mevcut inflamatuvar durumu ve hastalığın seyrini daha da kötüleştirebileceğini göstermektedir. Herichová ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, Wistar erkek sıçanlara 7 gün boyunca 17 β -estradiol verilmesinin, akciğer ve kolon dokularında ADAM17 gen ekspresyonunu değiştirmede gösterilmiştir [30]. Hiperandrojenemi durumunun SARS-CoV-2 viral giriş proteinleri üzerine etkilerinin incelendiği bir araştırmada ise, dişi farelere dihidrotestosterol verilmesinin akciğer, ince bağırsak, kolon ve sol ventrikül dokularında ADAM17 gen ekspresyonunu değiştirmede tespit edilmiştir [333]. Bu durum, çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu olarak, ince bağırsakta ADAM17 proteazının cinsiyet hormonlarından bağımsız bir şekilde eksprese edildiğini düşündürmektedir.

İnce bağırsak epitel hücrelerinde bulunan ve bir nötr amino asit taşıyıcısı olan B0AT1, triptofan gibi çeşitli aminoasitlerin absorpsiyonunun gerçekleşmesini sağlayarak fizyolojik olayların düzenlenmesine aracılık etmektedir. Yapılan çalışmalar, B0AT1 ekspresyonunun SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre membranındaki temel reseptörü olan ACE2 enzimiyle yakından ilişkili olduğunu göstermektedir [48,244]. Bu bilgiler doğrultusunda, B0AT1'in ACE2 enzimiyle etkileşiminin in silico yöntemlerle incelendiği çalışmalarda, bu moleküllerin hücre membranında [B0AT1;ACE2] heterodimer yapılar halinde bulunduğu belirlenmiştir [48,244]. Çalışmalarda, intestinal sistemdeki B0AT1 ekspresyonlarının ACE2 enzimi tarafından düzenlendiği gösterilmektedir [245]. Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin ince bağırsak dokularında, ACE2 ve B0AT1 ekspresyonlarının azaldığı ve bu duruma bağlı olarak kan triptofan düzeylerinin de belirgin bir şekilde düştüğü gösterilmiştir. Aynı çalışmada, farelerdeki ACE2 enziminin knockout edilmesiyle birlikte B0AT1 ekspresyonu ve triptofan Emilimini daha da azaldığı gösterilmiştir. Farelere, eksojen olarak triptofan verilmesinin, yüksek yağlı diyetle beslenen hayvanların kan triptofan düzeyini artırdığı, ancak, ACE knockout hayvanlarda

böyle bir etki oluşturmadağı saptanmıştır. Bu bulgular, B0AT1 ekspresyonunun ACE2 enzimi aracılığıyla gerçekleştiğini ve yüksek yağlı diyetle beslenmeyle birlikte intestinal ACE2 enzimidaki azalmalara bağılı olarak, B0AT1 ekspresyonunun da azaldığını göstermektedir [246]. Benzer şekilde, tez çalışmamızda yüksek fruktoz diyetiyle beslenen her iki cinsiyetten sıçanların ileum ve jejunum dokularında ACE2 enzimiyle birlikte B0AT1 ekspresyonlarının anlamlı ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanlar arasında ileum ve jejunum dokularındaki B0AT1 ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık oluşmadığı saptanmıştır. Aynı zamanda, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokuları arasında da B0AT1 protein ekspresyonları açısından anlamlı ölçüde bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu durum, fruktoz tüketimiyle değişen ACE2 ekspresyonlarına bağılı olarak B0AT1 ekspresyonlarının azaldığını düşündürmektedir. Azalan B0AT1 ekspresyonlarının ise triptofan gibi nötr yapıdaki amino asitlerin istenilen düzeyde absorbe edilememesine neden olarak, SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında sıklıkla görülen gastrointestinal semptomların ortaya çıkmasına aracılık edebileceği düşünülmektedir.

Fruktozun intestinal dokuda enterositler içine GLUT5, enterositlerden portal dolaşıma ise GLUT2 aracılığıyla taşındığı bilinmektedir [76]. GLUT5 yalnızca fruktoz taşınmasında görevli iken ince bağırsak, karaciğer ve böbrek dokusunda bulunan GLUT2 hem glukoz hem de fruktoz taşınmasında işlev görmektedir [75]. Literatürde yüksek fruktoz tüketiminin farelerin ileum dokularında GLUT2 ve GLUT5 gen ekspresyonlarını artırdığı gösterilmiştir [78]. Laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda da yüksek fruktozlu diyetle beslenmenin sıçanların karaciğer dokularında GLUT2 ve GLUT5 gen ekspresyonlarını artırdığı ve bu duruma hepatik fruktoz düzeyi artışının eşlik ettiği gösterilmiştir [11,79]. Ayrıca, yüksek yağlı diyetle beslenmenin hepatik GLUT2 ekspresyonları üzerine etkilerinin cinsiyete bağılı olarak incelendiğı bir çalışmada, %42 yağ içeren diyetle beslenen erkek ve dişi sıçanların karaciğer dokularındaki GLUT2 protein ekspresyonlarının anlamlı ölçüde arttığı gösterilirken, cinsiyetler arasında GLUT2 protein ekspresyonları açısından önemli ölçüde bir farklılık oluşmadığı saptanmıştır [334]. Tez çalışmamızda, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokularındaki GLUT2 protein ekspresyonlarının anlamlı ölçüde arttığı saptanmıştır. Bununla birlikte, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanlar arasında ileum ve jejunum dokularındaki GLUT2 ekspresyonları açısından anlamlı bir farklılık oluşmadığı

tespit edilmiştir. Aynı zamanda, kontrol ve fruktoz grubu erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokuları arasında da GLUT2 protein ekspresyonları açısından anlamlı ölçüde bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu bulgular, yüksek fruktoz diyetiyle beslenme sonucunda, intestinal sistemden fruktoz emiliminin arttığını göstermektedir.

Tez çalışmamızın sonuçları, yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanlarda metabolik sendromun karakteristik özelliklerinden olan hiperglisemi, hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi ve abdominal yağlanmaya neden olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda, yüksek fruktoz tüketiminin erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokularında fruktoz taşıyıcılarından biri olan GLUT2 ekspresyonunu artırdığı ve böylece intestinal sistemden fruktoz emilimini artırabileceği tespit edilmiştir. Çalışmamızda, yüksek fruktoz diyetinin intestinal dokuda epitel hücre kaybı, villus füzyonu, yüksek düzeyde polimorfonükleer hücre infiltrasyonu ve bez yapılarında dejenerasyona neden olduğu ve böylece ince bağırsakta patolojik bir duruma yol açabileceği histolojik incelemelerle gösterilmiştir. Ayrıca, yüksek fruktoz tüketiminin, intestinal dokuda TNF α , IL-1 β , NF κ B, NLRP3, caspase-1 ve CD68 ekspresyonlarını artırdığı ve inflamatuvar bir durum oluşturduğu tespit edilmiştir. Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların intestinal dokularında RAS komponentlerinden ACE ekspresyonunu artırırken, ACE2 ekspresyonunu azalttığı saptanmıştır. Bu durum, fruktoz tüketiminin RAS'ın önemli komponentlerinden ACE ve ACE2 enzimleri arasındaki dengenin ACE lehine bozulduğunu ve böylece fizyolojik dengeyi olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir. Ayrıca, yüksek fruktoz diyetinin intestinal dokuda SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişiyle ilişkili proteinlerden ACE2 ve B0AT1 ekspresyonlarını azaltırken, TMPRSS2 ve ADAM17 ekspresyonlarını artırdığı tespit edilmiştir. Bu bulgular, yüksek fruktoz tüketiminin SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişinde reseptör görevi üstlenen ACE2 enziminin azalmasına ve membranal ACE2'nin çözünür forma dönüşmesine aracılık eden ADAM17 proteazının artmasına bağlı olarak viral yayılımı azaltabileceğine işaret etse de artan ADAM17 ekspresyonlarının mevcut inflamatuvar durumu artırabileceğini ve böylece enfeksiyonların daha ciddi seyretmesine yol açabileceğini ortaya koymaktadır. Aynı zamanda, yüksek fruktoz diyetinin virüsün çeşitli proteolitik yarılmalarına aracılık ederek konak hücre içerisine girişini kolaylaştıran TMPRSS2 ekspresyonunu artırması viral yayılımı artırıcı etkiler ortaya çıkarabileceğini göstermektedir. Ayrıca, yüksek fruktoz tüketiminin, nötr yapıdaki amino asitlerin emilimini sağlayan B0AT1 ekspresyonunun azalmasına neden olduğu ve bu durum

sonucunda SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının gastrointestinal semptomlarının şiddetlenmesine yol açabileceği gösterilmiştir.

Tez çalışmamızda, yüksek fruktoz diyetinin oluşturduğu metabolik sendromda metabolik, histolojik ve inflamatuvar parametreler ile birlikte SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine giriş proteinleri üzerine cinsiyetler arasında bir farklılık oluşturup oluşturmadığının tespit edilmesi de amaçlanmıştır. Çalışmamızın sonuçları, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanlar arasında biyokimyasal, histopatolojik ve inflamatuvar parametreler açısından anlamlı bir farklılık oluşmadığını göstermektedir. Bununla birlikte, fruktozla beslenen erkek sıçanların intestinal dokularındaki ACE ekspresyonlarının dişi sıçanlara kıyasla belirgin ölçüde daha yüksek olduğu, fakat ACE2 ekspresyonlarının daha düşük olduğu saptanmıştır. Erkek ve dişi sıçanlar arasında ACE ve ACE2 enzimleri açısından ortaya çıkan bu farklılığın, cinsiyet hormonlarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu bulgulara paralel olarak, daha önce yapılan araştırmalar östrojenin RAS komponentleri arasındaki ACE/ACE2 enzim dengesini ACE2 lehine; testosteronun ise ACE enzimi lehine değiştirdiğini göstermektedir. Ayrıca, yüksek fruktoz diyetinin erkeklerde dişilere kıyasla ACE ekspresyonunu daha fazla artırırken, ACE2 ekspresyonunu azaltması, SARS-CoV-2 viral etkeninin intestinal sistemden yayılımını azaltabileceğine işaret etmesine karşın, ACE/ACE2 dengesinin bozulması ve böylece fizyolojik dengenin olumsuz yönde etkilenmesine neden olabileceği dikkate alınmalıdır. Çalışmamızda, fruktozla beslenen erkek sıçanların intestinal dokularındaki TMPRSS2 ekspresyonlarının dişi sıçanlara kıyasla belirgin ölçüde daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Literatürde hem androjen hem de östrojen hormonunun TMPRSS2 proteazını artırıcı etkilerinin bildirilmesi, seks hormonlarının ve cinsiyetin bu proteaz üzerinde tek yönlü etkisinin olmadığını göstermektedir. Tez çalışmamızda, fruktozla beslenen erkek ve dişi sıçanların intestinal dokularında ADAM17, B0AT1 ve GLUT2 ekspresyonları açısından anlamlı ölçüde bir farklılık tespit edilmemiştir. Çalışmamızın cinsiyet karşılaştırmalı sonuçları, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların dişilere kıyasla ACE2 ve TMPRSS2 ekspresyonlarının daha düşük olması nedeniyle fruktoz tüketen erkeklerde SARS-CoV-2 viral yayılımının daha düşük olabileceğine işaret etmesine karşın, bu sıçanlarda ACE/ACE2 enzim dengesinin ACE lehine bozulmasına bağlı olarak fizyolojik dengenin olumsuz yönde etkilenebileceği düşünülmektedir. Tez çalışmamızın sonuçları, fruktozla oluşturulan metabolik sendromda SARS-CoV-2 virüsünün yayılımıyla ilgili mekanizmaların cinsiyet bağımlı olarak aydınlatılmasına önemli katkılar sağlayabilecektir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünya çapında giderek yaygınlaşan metabolik sendromun, tip 2 diyabet, yağlı karaciğer hastalığı ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli patolojik bozukluklara yol açmasının yanı sıra, DSÖ tarafından 2020 yılının Mart ayında pandemi olarak nitelendirilen SARS-CoV-2 viral etkeninin neden olduğu enfeksiyonlarda mortalite oranlarını da artırdığı tespit edilmiştir. Günümüz diyetlerinde sıklıkla tercih edilen yüksek fruktoz içeren mısır şurubunun kullanımının yaygınlaşmasıyla birlikte bireylerin fruktoz maruziyetinin arttığı ve hiperglisemi, hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi, abdominal obezite ve hipertansiyonla karakterize edilen metabolik sendrom prevalansının yükseldiği bildirilmiştir. Bu durum, yüksek fruktoz diyetine bağlı olarak ortaya çıkan metabolik sendromun altında yatan patolojik durumların mekanizmaların incelemesinin önemli olduğunu göstermektedir.

Bulgularımız, yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanlarda metabolik sendromun karakteristik özelliklerinden olan hiperglisemi, hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi ve abdominal yağlanmaya neden olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda, yüksek fruktoz tüketiminin erkek ve dişi sıçanların ileum ve jejunum dokularında fruktoz taşıyıcılarından biri olan GLUT2 ekspresyonunu artırdığı ve böylece intestinal sistemden fruktoz Emilimini artırabileceği tespit edilmiştir. Çalışmamızda, yüksek fruktoz diyetinin intestinal dokuda epitel hücre kaybı, villus füzyonu, yüksek düzeyde polimorfonükleer hücre infiltrasyonu ve bez yapılarında dejenerasyona neden olduğu ve böylece ince bağırsakta patolojik bir duruma yol açabileceği histolojik incelemelerle gösterilmiştir. Ayrıca, yüksek fruktoz tüketiminin, intestinal dokuda TNF α , IL-1 β , NF κ B, NLRP3, caspase-1 ve CD68 ekspresyonlarını artırdığı ve inflamatuvar bir durum oluşturduğu saptanmıştır. Yüksek fruktoz diyetinin erkek ve dişi sıçanların intestinal dokularında RAS komponentlerinden ACE ekspresyonunu artırırken, ACE2 ekspresyonunu azalttığı tespit edilmiştir. Bu durum, fruktoz tüketiminin RAS'ın önemli komponentlerinden ACE ve ACE2 enzimleri arasındaki dengenin ACE lehine bozulduğunu ve böylece fizyolojik dengeyi olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir. Ayrıca, yüksek fruktoz diyetinin intestinal dokuda SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişiyle ilişkili proteinlerden ACE2 ve B0AT1 ekspresyonlarını azaltırken, TMPRSS2 ve ADAM17 ekspresyonlarını artırdığı saptanmıştır. Bu bulgular, yüksek fruktoz tüketiminin SARS-CoV-2 virüsünün konak hücre içine girişinde reseptör görevi üstlenen ACE2 enziminin azalmasına ve membranal ACE2'nin çözünür forma dönüşmesine aracılık eden ADAM17 proteazının artmasına bağlı

olarak viral yayılımı azaltabileceğine işaret etse de artan ADAM17 ekspresyonlarının mevcut inflamatuvar durumu artırabileceğini ve böylece enfeksiyonların daha ciddi seyretmesine yol açabileceğini ortaya koymaktadır. Aynı zamanda, yüksek fruktoz diyetinin virüsün çeşitli proteolitik yarılmalarına aracılık ederek konak hücre içerisine girişini kolaylaştıran TMPRSS2 ekspresyonunu artırması viral yayılımı artırıcı etkiler ortaya çıkarabileceğini göstermektedir. Aynı zamanda, yüksek fruktoz diyetinin virüsün çeşitli proteolitik yarılmalarına aracılık ederek, konak hücre içerisine girişini kolaylaştıran TMPRSS2 ekspresyonunu artırması viral yayılımı artırıcı etkiler ortaya çıkarabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, yüksek fruktoz tüketiminin, nötr yapıdaki amino asitlerin emilimini sağlayan B0AT1 ekspresyonunun azalmasına neden olduğu ve bu durum sonucunda SARS-CoV-2 enfeksiyonlarının gastrointestinal semptomlarının şiddetlenmesine yol açabileceği gösterilmiştir.

Tez çalışmamız kapsamında, yüksek fruktoz diyetinin oluşturduğu metabolik sendromda metabolik, histolojik ve inflamatuvar parametreler ile birlikte SARS-CoV-2 virüsünün hücre içine giriş proteinleri üzerinde cinsiyetler arasında bir farklılık oluşturup oluşturmadığının tespit edilmesi de amaçlanmıştır. Çalışmamızın sonuçları, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek ve dişi sıçanlar arasında biyokimyasal, histopatolojik ve inflamatuvar parametreler açısından anlamlı bir farklılık oluşmadığını göstermektedir. Bununla birlikte, fruktozla beslenen erkek sıçanların intestinal dokularındaki ACE ekspresyonlarının dişi sıçanlara kıyasla belirgin ölçüde daha yüksek olduğu, fakat ACE2 ekspresyonlarının daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Erkek ve dişi sıçanlar arasında ACE ve ACE2 enzimleri açısından ortaya çıkan bu farklılığın, cinsiyet hormonlarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu bulgulara paralel olarak, daha önce yapılan araştırmalar östrojenin RAS komponentleri arasındaki ACE/ACE2 enzim dengesini ACE2 lehine; testosteronun ise ACE enzimi lehine değiştirdiğini göstermektedir. Ayrıca, yüksek fruktoz diyetinin erkeklerde dişilere kıyasla ACE ekspresyonunu daha fazla artırırken, ACE2 ekspresyonunu azaltması, SARS-CoV-2 viral etkeninin intestinal sistemden yayılımını azaltabileceğine işaret etmesine karşın, ACE/ACE2 dengesinin bozulması ve böylece fizyolojik dengenin olumsuz yönde etkilenmesine neden olabileceği dikkate alınmalıdır. Çalışmamızda, fruktozla beslenen erkek sıçanların intestinal dokularındaki TMPRSS2 ekspresyonlarının dişi sıçanlara kıyasla belirgin ölçüde daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Literatürde hem androjen hem de östrojen hormonunun TMPRSS2 proteazını artırıcı etkilerinin bildirilmesi, seks hormonlarının ve cinsiyetin bu proteaz

üzerinde tek yönlü etkisinin olmadığını göstermektedir. Tez çalışmamızda, fruktozla beslenen erkek ve dişi sıçanların intestinal dokularında ADAM17, B0AT1 ve GLUT2 ekspresyonları açısından anlamlı ölçüde bir farklılık saptanmamıştır. Çalışmamızın cinsiyet karşılaştırmalı sonuçları, yüksek fruktoz diyetiyle beslenen erkek sıçanların dişilere kıyasla ACE2 ve TMPRSS2 ekspresyonlarının daha düşük olması nedeniyle fruktoz tüketen erkeklerde SARS-CoV-2 viral yayılımının daha düşük olabileceğine işaret etmesine karşın, bu sıçanlarda ACE/ACE2 enzim dengesinin ACE lehine bozulmasına bağlı olarak fizyolojik dengenin olumsuz yönde etkilenebileceği düşünülmektedir. Tez çalışmamızın sonuçları, fruktozla oluşturulan metabolik sendromda SARS-CoV-2 virüsünün yayılımıyla ilgili mekanizmaların cinsiyet bağımlı olarak aydınlatılmasına ve viral etkeninin kendisi kullanılarak yapılacak çalışmalara önemli katkılar sağlayabilecektir.





KAYNAKLAR

1. Malik, V.S. and Hu, F.B. (2022). The role of sugar-sweetened beverages in the global epidemics of obesity and chronic diseases. *Nature Reviews Endocrinology*, 18(4), 205-218.
2. Taskinen, M.R., Packard, C.J., and Boren, J. (2019). Dietary Fructose and the Metabolic Syndrome. *Nutrients*, 11(9), 1987.
3. Hannou, S.A., Haslam, D.E., McKeown, N.M., and Herman, M.A. (2018). Fructose metabolism and metabolic disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 128(2), 545- 555.
4. Jensen, T., Abdelmalek, M.F., Sullivan, S., Nadeau, K.J., Green, M., Roncal, C., Nakagawa, T., Kuwabara, M., Sato, Y., Kang, D.H., Tolan, D.R., Sanchez-Lozada, L.G., Rosen, H.R., Lanaspa, M.A., Diehl, A.M., and Johnson, R.J. (2018). Fructose and sugar: A major mediator of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*, 68(5), 1063-1075.
5. Czech, M.P., Tencerova, M., Pedersen, D.J., and Aouadi, M. (2013). Insulin signalling mechanisms for triacylglycerol storage. *Diabetologia*, 56(5), 949-964.
6. Stanhope, K.L., Schwarz, J.M., Keim, N.L., Griffen, S.C., Bremer, A.A., Graham, J.L., Hatcher, B., Cox, C.L., Dyachenko, A., Zhang, W., McGahan, J.P., Seibert, A., Krauss, R.M., Chiu, S., Schaefer, E.J., Ai, M., Otokozawa, S., Nakajima, K., Nakano, T., Beysen, C., Hellerstein, M.K., Berglund, L., and Havel, P.J. (2009). Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(5), 1322-1334.
7. Li, J.X., Ke, D.Z., Yao, L., Wang, S., Ma, P., Liu, L., Zuo, G.W., Jiang, L.R., and Wang, J.W. (2017). Response of genes involved in lipid metabolism in rat epididymal white adipose tissue to different fasting conditions after long-term fructose consumption. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 484(2), 336-341.
8. De Souza, L., Barros, W. M., De Souza, R. M., Delanogare, E., Machado, A. E., Braga, S. P., Rosa, G. K., Nardi, G. M., Rafacho, A., Speretta, G. F. F., and Moreira, E. L. G. (2021). Impact of different fructose concentrations on metabolic and behavioral parameters of male and female mice. *Physiology and Behavior*, 228, 113187.
9. Pektas, M.B., Sadi, G., and Akar, F. (2015). Long-Term Dietary Fructose Causes Gender-Different Metabolic and Vascular Dysfunction in Rats: Modulatory Effects of Resveratrol. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 37(4), 1407-1420.
10. Guney, C., Bal, N. B., and Akar, F. (2023). The impact of dietary fructose on gut permeability, microbiota, abdominal adiposity, insulin signaling and reproductive function. *Heliyon*, 9(8), e18896.

11. Akar, F., Sumlu, E., Alcigir, M.E., Bostanci, A., and Sadi, G. (2021). Potential mechanistic pathways underlying intestinal and hepatic effects of kefir in high-fructosefed rats. *Food Research International*, 143, 110287.
12. Korkmaz, O.A., Sumlu, E., Koca, H.B., Pektas, M.B., Kocabas, A., Sadi, G., and Akar, F. (2019). Effects of *Lactobacillus Plantarum* and *Lactobacillus Helveticus* on Renal Insulin Signaling, Inflammatory Markers, and Glucose Transporters in High-FructoseFed Rats. *Medicina (Kaunas)*, 55(5).
13. Pektas, M.B., Koca, H.B., Sadi, G., and Akar, F. (2016). Dietary Fructose Activates Insulin Signaling and Inflammation in Adipose Tissue: Modulatory Role of Resveratrol. *BioMed Research International*, 2016, 8014252.
14. Pektas, M.B., Yucel, G., Koca, H.B., Sadi, G., Yildirim, O.G., Ozturk, G., and Akar, F. (2017). Dietary Fructose-Induced Hepatic Injury in Male and Female Rats: Influence of Resveratrol. *Drug Research*, 67(2), 103-110.
15. Yildirim, O.G., Sumlu, E., Aslan, E., Koca, H.B., Pektas, M.B., Sadi, G., and Akar, F. (2019). High-fructose in drinking water initiates activation of inflammatory cytokines and testicular degeneration in rat. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29(3), 224-232.
16. Spruss, A., Kanuri, G., Stahl, C., Bischoff, S.C., and Bergheim, I. (2012). Metformin protects against the development of fructose-induced steatosis in mice: role of the intestinal barrier function. *Laboratory Investigation*, 92(7), 1020-1032.
17. Hyer, M. M., Dyer, S. K., Kloster, A., Adrees, A., Taetzsch, T., Feaster, J., Valdez, G., and Neigh, G. N. (2019). Sex modifies the consequences of extended fructose consumption on liver health, motor function, and physiological damage in rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 317(6), R903–R911.
18. Arendse, L. B., Danser, A. H. J., Poglitsch, M., Touyz, R. M., Burnett, J. C., Jr, Llorens-Cortes, C., Ehlers, M. R., and Sturrock, E. D. (2019). Novel Therapeutic Approaches Targeting the Renin-Angiotensin System and Associated Peptides in Hypertension and Heart Failure. *Pharmacological Reviews*, 71(4), 539–570.
19. Giacchetti, G., Sechi, L. A., Griffin, C. A., Don, B. R., Mantero, F., and Schambelan, M. (2000). The tissue renin-angiotensin system in rats with fructose-induced hypertension: overexpression of type 1 angiotensin II receptor in adipose tissue. *Journal of Hypertension*, 18(6), 695–702.
20. Zhao, C., Wang, P., Xiao, X., Chao, J., Chao, L., Wang, D. W., and Zeldin, D. C. (2003). Gene therapy with human tissue kallikrein reduces hypertension and hyperinsulinemia in fructose-induced hypertensive rats. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 42(5), 1026–1033.
21. Chou CL, Pang CY, Lee TJ, and Fang TC. (2015). Beneficial effects of calcitriol on hypertension, glucose intolerance, impairment of endothelium-dependent vascular relaxation, and visceral adiposity in fructose-fed hypertensive rats. *PLoS One*, 10(3), e0119843.

22. Kim M, Do GY, and Kim I. (2020). Activation of the renin-angiotensin system in high fructose-induced metabolic syndrome. *The Korean Journal of Physiology and Pharmacology*. 24(4), 319-328.
23. Zhang JX, Lin X, Xu J, and Tang F. (2021). Hyperuricemia Inhibition Protects SD Rats Against Fructose-Induced Obesity Hypertension Via Modulation of Inflammation and Renin-Angiotensin System in Adipose Tissue. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 129, 314–321.
24. Attia, H., Albekairi, N., Albdeirat, L., Soliman, A., Rajab, R., Alotaibi, H., Ali, R., and Badr, A. (2022). Chrysin Attenuates Fructose-Induced Nonalcoholic Fatty Liver in Rats via Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects: The Role of Angiotensin-Converting Enzyme 2/Angiotensin (1-7)/Mas Receptor Axis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 9479456.
25. Olivares-Reyes, J. A., Arellano-Plancarte, A., and Castillo-Hernandez, J. R. (2009). Angiotensin II and the development of insulin resistance: implications for diabetes. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 302(2), 128–139.
26. Bundalo, M. M., Zivkovic, M. D., Romic, S. D.j, Tepavcevic, S. N., Koricanac, G. B., Djuric, T. M., and Stankovic, A. D. (2016).Fructose-rich diet induces gender-specific changes in expression of the renin-angiotensin system in rat heart and up-regulates the ACE/AT1R axis in the male rat aorta. *Journal of The Renin-Angiotensin-Aldosterone Ysystem: JRAAS*, 17(2), 1470320316642915.
27. Rattanavichit, Y., Chukijrungroat, N., and Saengsirisuwan, V. (2016). Sex differences in the metabolic dysfunction and insulin resistance of skeletal muscle glucose transport following high fructose ingestion. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 311(6), R1200–R1212.
28. Mishra, J. S., Hankins, G. D., and Kumar, S. (2016). Testosterone downregulates angiotensin II type-2 receptor via androgen receptor-mediated ERK1/2 MAP kinase pathway in rat aorta. *Journal of The Renin-Angiotensin-Aldosterone Ysystem: JRAAS*, 17(4), 1470320316674875.
29. Da Silva, J. S., Gabriel-Costa, D., Wang, H., Ahmad, S., Sun, X., Varagic, J., Sudo, R. T., Ferrario, C. M., Dell Italia, L. J., Sudo, G. Z., and Groban, L. (2017). Blunting of cardioprotective actions of estrogen in female rodent heart linked to altered expression of cardiac tissue chymase and ACE2. *Journal of The Renin-Angiotensin-Aldosterone Ysystem: JRAAS*, 18(3), 1470320317722270.
30. Herichová, I., Jendrisková, S., Pidíková, P., Kršková, L., Olexová, L., Morová, M., Stebelová, K., and Štefánik, P. (2022). Effect of 17 β -estradiol on the daily pattern of ACE2, ADAM17, TMPRSS2 and estradiol receptor transcription in the lungs and colon of male rats. *PloS one*, 17(6), e0270609.
31. Yan, W., Zheng, Y., Zeng, X., He, B., and Cheng, W. (2022). Structural biology of SARS-CoV-2: open the door for novel therapies. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 26.

32. Wu, A., Peng, Y., Huang, B., Ding, X., Wang, X., Niu, P., Meng, J., Zhu, Z., Zhang, Z., Wang, J., Sheng, J., Quan, L., Xia, Z., Tan, W., Cheng, G., and Jiang, T. (2020). Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell Host and Microbe*, 27(3), 325–328.
33. Kirtipal, N., Kumar, S., Dubey, S. K., Dwivedi, V. D., Gireesh Babu, K., Malý, P., and Bharadwaj, S. (2022). Understanding on the possible routes for SARS CoV-2 invasion via ACE2 in the host linked with multiple organs damage. *Infection, Genetics and Evolution : Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 99, 105254.
34. Chu, D. K. W., Pan, Y., Cheng, S. M. S., Hui, K. P. Y., Krishnan, P., Liu, Y., Ng, D. Y. M., Wan, C. K. C., Yang, P., Wang, Q., Peiris, M., and Poon, L. L. M. (2020). Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clinical chemistry*, 66(4), 549–555.
35. Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., and Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280.e8.
36. Jackson, C. B., Farzan, M., Chen, B., and Choe, H. (2022). Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(1), 3–20.
37. Senapati, S., Banerjee, P., Bhagavatula, S., Kushwaha, P. P., and Kumar, S. (2021). Contributions of human ACE2 and TMPRSS2 in determining host-pathogen interaction of COVID-19. *Journal of Genetics*, 100(1), 12.
38. Zang, R., Gomez Castro, M. F., McCune, B. T., Zeng, Q., Rothlauf, P. W., Sonnek, N. M., Liu, Z., Brulois, K. F., Wang, X., Greenberg, H. B., Diamond, M. S., Ciorba, M. A., Whelan, S. P. J., and Ding, S. (2020). TMPRSS2 and TMPRSS4 promote SARS-CoV-2 infection of human small intestinal enterocytes. *Science Immunology*, 5(47), eabc3582.
39. Ziegler, C. G. K., Allon, S. J., Nyquist, S. K., Mbano, I. M., Miao, V. N., Tzouanas, C. N., Cao, Y., Yousif, A. S., Bals, J., Hauser, B. M., Feldman, J., Muus, C., Wadsworth, M. H., 2nd, Kazer, S. W., Hughes, T. K., Doran, B., Gatter, G. J., Vukovic, M., Taliaferro, F., Mead, B. E., Guo, Z., Wang, J. P., Gras, D., Plaisant, M., Ansari, M., Angelidis, I., Adler, H., Sucre, J. M. S., Taylor, C. J., Lin, B., Waghray, A., Mitsialis, V., Dwyer, D. F., Buchheit, K. M., Boyce, J. A., Barrett, N. A., Laidlaw, T. M., Carroll, S. L., Colonna, L., Tkachev, V., Peterson, C. W., Yu, A., Zheng, H. B., Gideon, H. P., Winchell, C. G., Lin, P. L., Bingle, C. D., Snapper, S. B., Kropski, J. A., Theis, F. J., Schiller, H. B., Zaragosi, L., E, Barbry, P., Leslie, A., Kiem, H. P., Flynn, J. L., Fortune, S. M., Berger, B., Finberg, R. W., Kean, L. S., Garber, M., Schmidt, A. G., Lingwood, D., Shalek, A. K., and Ordoas-Montanes J; HCA Lung Biological Network (2020). SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues. *Cell*, 181(5), 1016–1035.e19.

40. Li, W., Moore, M. J., Vasilieva, N., Sui, J., Wong, S. K., Berne, M. A., Somasundaran, M., Sullivan, J. L., Luzuriaga, K., Greenough, T. C., Choe, H., and Farzan, M. (2003). Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*, 426(6965), 450–454.
41. Zipeto, D., Palmeira, J. D. F., Argañaraz, G. A., and Argañaraz, E. R. (2020). ACE2/ADAM17/TMPRSS2 Interplay May Be the Main Risk Factor for COVID-19. *Frontiers Immunology*, 11, 576745.
42. Batlle, D., Wysocki, J., and Satchell, K. (2020). Soluble angiotensin-converting enzyme 2: a potential approach for coronavirus infection therapy?. *Clinical Science (London, England : 1979)*, 134(5), 543–545.
43. Niehues, R. V., Wozniak, J., Wiersch, F., Lilienthal, E., Tacke, N., Schumertl, T., Garbers, C., Ludwig, A., and Dösterhöft, S. (2022). The collectrin-like part of the SARS-CoV-1 and -2 receptor ACE2 is shed by the metalloproteinases ADAM10 and ADAM17. *FASEB Journal : Official Publication of The Federation of American Societies for Experimental Biology*, 36(3), e22234.
44. Matsui, Y., Tomaru, U., Miyoshi, A., Ito, T., Fukaya, S., Miyoshi, H., Atsumi, T., and Ishizu, A. (2014). Overexpression of TNF- α converting enzyme promotes adipose tissue inflammation and fibrosis induced by high fat diet. *Experimental and molecular pathology*, 97(3), 354–358.
45. Wang, K., Gheblawi, M., Nikhanj, A., Munan, M., MacIntyre, E., O'Neil, C., Poglitsch, M., Colombo, D., Del Nonno, F., Kassiri, Z., Sligl, W., and Oudit, G. Y. (2022). Dysregulation of ACE (Angiotensin-Converting Enzyme)-2 and Renin-Angiotensin Peptides in SARS-CoV-2 Mediated Mortality and End-Organ Injuries. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 79(2), 365–378.
46. Hashimoto, T., Perlot, T., Rehman, A., Trichereau, J., Ishiguro, H., Paolino, M., Sigl, V., Hanada, T., Hanada, R., Lipinski, S., Wild, B., Camargo, S. M., Singer, D., Richter, A., Kuba, K., Fukamizu, A., Schreiber, S., Clevers, H., Verrey, F., Rosenstiel, P., and Penninger, J. M. (2012). ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. *Nature*, 487(7408), 477–481.
47. Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., Xia, L., Guo, Y., and Zhou, Q. (2020). Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science (New York, N.Y.)*, 367(6485), 1444–1448.
48. Stevens, B. R., Ellory, J. C., and Preston, R. L. (2021). B0AT1 Amino Acid Transporter Complexed With SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Forms a Heterodimer Functional Unit: In Situ Conformation Using Radiation Inactivation Analysis. *Function (Oxford, England)*, 2(4), zqab027.
49. Rabaan, A. A., Smajlović, S., Tombuloglu, H., Ćordić, S., Hajdarević, A., Kudić, N., Al Mutai, A., Turkistani, S. A., Al-Ahmed, S. H., Al-Zaki, N. A., Al Marshood, M. J., Alfaraj, A. H., Alhumaid, S., and Al-Suhaimi, E. (2023). SARS-CoV-2 infection and multi-organ system damage: A review. *Biomolecules and Biomedicine*, 23(1), 37–52.

50. Chen, S., Zhou, J., Ou, X., Cheng, W., Qin, Y., Guo, Y., and Jiang, Y. (2021). Alimentary system is directly attacked by SARS-COV-2 and further prevents immune dysregulation caused by COVID-19. *International Journal of Clinical Practice*, 75(4), e13893.
51. Livanos, A. E., Jha, D., Cossarini, F., Gonzalez-Reiche, A. S., Tokuyama, M., Aydillo, T., Parigi, T. L., Ladinsky, M. S., Ramos, I., Dunleavy, K., Lee, B., Dixon, R. E., Chen, S. T., Martinez-Delgado, G., Nagula, S., Bruce, E. A., Ko, H. M., Glicksberg, B. S., Nadkarni, G., Pujadas, E., Reidy, J., Naymagon, S., Grinspan, A., Ahmad, J., Tankelevich, M., Bram, Y., Gordon, R., Sharma, K., Houldsworth, J., Britton, G. J., Chen-Liaw, A., Spindler, M. P., Plitt, T., Wang, P., Cerutti, A., Faith, J. J., Colombel, J. F., Kenigsberg, E., Argmann, C., Merad, M., Gnjjatic, S., Harpaz, N., Danese, S., Cordon-Cardo, C., Rahman, A., Schwartz, R. E., Kumta, N. A., Aghemo, A., Bjorkman, P. J., Petralia, F., van Bakel, H., Garcia-Sastre, A., and Mehandru, S. (2021). Intestinal Host Response to SARS-CoV-2 Infection and COVID-19 Outcomes in Patients with Gastrointestinal Symptoms. *Gastroenterology*, 160(7), 2435–2450.e34.
52. Guo, M., Tao, W., Flavell, R. A., and Zhu, S. (2021). Potential intestinal infection and faecal-oral transmission of SARS-CoV-2. *Nature reviews Gastroenterology and hepatology*, 18(4), 269–283.
53. Lo, I. L., Lio, C. F., Cheong, H. H., Lei, C. I., Cheong, T. H., Zhong, X., Tian, Y., and Sin, N. N. (2020). Evaluation of SARS-CoV-2 RNA shedding in clinical specimens and clinical characteristics of 10 patients with COVID-19 in Macau. *International Journal of Biological Sciences*, 16(10), 1698–1707.
54. Parasa, S., Desai, M., Thoguluva Chandrasekar, V., Patel, H. K., Kennedy, K. F., Roesch, T., Spadaccini, M., Colombo, M., Gabbiadini, R., Artifon, E. L. A., Repici, A., and Sharma, P. (2020). Prevalence of Gastrointestinal Symptoms and Fecal Viral Shedding in Patients with Coronavirus Disease 2019: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Network Open*, 3(6), e2011335.
55. Kipkorir, V., Cheruiyot, I., Ngure, B., Misiani, M., and Munguti, J. (2020). Prolonged SARS-CoV-2 RNA detection in anal/rectal swabs and stool specimens in COVID-19 patients after negative conversion in nasopharyngeal RT-PCR test. *Journal of Medical Virology*, 92(11), 2328–2331.
56. Xu, Y., Li, X., Zhu, B., Liang, H., Fang, C., Gong, Y., Guo, Q., Sun, X., Zhao, D., Shen, J., Zhang, H., Liu, H., Xia, H., Tang, J., Zhang, K., and Gong, S. (2020). Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. *Nature Medicine*, 26(4), 502–505.
57. Chen, L., Lou, J., Bai, Y., and Wang, M. (2020). COVID-19 Disease with Positive Fecal and Negative Pharyngeal and Sputum Viral Tests. *The American Journal of Gastroenterology*, 115(5), 790.
58. Drucker D. J. (2021). Diabetes, obesity, metabolism, and SARS-CoV-2 infection: the end of the beginning. *Cell Metabolism*, 33(3), 479–498.

59. Fauste, E., Donis, C., Pérez-Armas, M., Rodríguez, L., Rodrigo, S., Álvarez-Millán, J. J., Otero, P., Panadero, M. I., and Bocos, C. (2023). Maternal fructose boosts the effects of a Western-type diet increasing SARS-COV-2 cell entry factors in male offspring. *Journal of Functional Foods*, 100, 105366.
60. Ghoneim, S., Butt, M. U., Hamid, O., Shah, A., and Asaad, I. (2020). The incidence of COVID-19 in patients with metabolic syndrome and non-alcoholic steatohepatitis: A population-based study. *Metabolism Open*, 8, 100057.
61. León-Pedroza, J. I., Rodríguez-Cortés, O., Flores-Mejía, R., Gaona-Aguas, C. V., and González-Chávez, A. (2021). Impact of Metabolic Syndrome in the Clinical Outcome of Disease by SARS-COV-2. *Archives of Medical Research*, 52(7), 738–745.
62. Thoppil, J. J., Stewart, L. K., Pung, L., Nordenholz, K. E., Camargo, C. A., Courtney, D. M., Kline, J. A., and RECOVER Network (2022). Increased Body Mass Index and Metabolic Syndrome Are Associated with Poor Outcomes in SARS-CoV-2-Positive Emergency Department Patients. *Journal of Obesity and Metabolic Syndrome*, 31(3), 245–253.
63. Kumar, A., Faiq, M.A., Pareek, V., Raza, K., Narayan, R. K., Prasoon, P., Kumar, P., Kulandhasamy, M., Kumari, C., Kant, K., Singh, H.N., Qadri, R., Pandey, S.N. and Kumar, S. (2020). Relevance of SARS-CoV-2 related factors ACE2 and TMPRSS2 expressions in gastrointestinal tissue with pathogenesis of digestive symptoms, diabetes-associated mortality, and disease recurrence in COVID-19 patients. *Medical Hypotheses*, 144.
64. Akácsos-Szász, O. Z., Pál, S., Nyulas, K. I., Nemes-Nagy, E., Fárr, A. M., Dénes, L., Szilveszter, M., Bán, E. G., Tilinca, M. C., and Simon-Szabó, Z. (2023). Pathways of Coagulopathy and Inflammatory Response in SARS-CoV-2 Infection among Type 2 Diabetic Patients. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4319.
65. Després J. P. (2012). Abdominal obesity and cardiovascular disease: is inflammation the missing link?. *The Canadian Journal of Cardiology*, 28(6), 642–652.
66. Jin, J. M., Bai, P., He, W., Wu, F., Liu, X. F., Han, D. M., Liu, S., and Yang, J. K. (2020). Gender Differences in Patients With COVID-19: Focus on Severity and Mortality. *Frontiers in Public Health*, 8, 152.
67. Grasselli, G., Zangrillo, A., Zanella, A., Antonelli, M., Cabrini, L., Castelli, A., Cereda, D., Coluccello, A., Foti, G., Fumagalli, R., Iotti, G., Latronico, N., Lorini, L., Merler, S., Natalini, G., Piatti, A., Ranieri, M. V., Scandroglio, A. M., Storti, E., Cecconi, M., and Presenti, A.; COVID-19 Lombardy ICU Network (2020). Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA*, 323(16), 1574–1581.

68. Tukiainen, T., Villani, A. C., Yen, A., Rivas, M. A., Marshall, J. L., Satija, R., Aguirre, M., Gauthier, L., Fleharty, M., Kirby, A., Cummings, B. B., Castel, S. E., Karczewski, K. J., Aguet, F., Byrnes, A., GTEx Consortium, Laboratory, Data Analysis and Coordinating Center (LDACC)—Analysis Working Group, Statistical Methods groups—Analysis Working Group, Enhancing GTEx (eGTEx) groups, NIH Common Fund; NIH/NCI; NIH/NHGRI; NIH/NIMH; NIH/NIDA; Biospecimen Collection Source Site—NDRI; Biospecimen Collection Source Site—RPCI; Biospecimen Core Resource—VARI; Brain Bank Repository—University of Miami Brain Endowment Bank; Leidos Biomedical—Project Management; ELSI Study; Genome Browser Data Integration and Visualization—EBI; Genome Browser Data Integration and Visualization—UCSC Genomics Institute, University of California Santa Cruz; Lappalainen, T., Regev, A., Ardlie, K. G., Hacohen, N., MacArthur, D. G. (2017). Landscape of X chromosome inactivation across human tissues. *Nature*, 550(7675), 244–248.
69. Liu, J., Ji, H., Zheng, W., Wu, X., Zhu, J. J., Arnold, A. P., and Sandberg, K. (2010). Sex differences in renal angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) activity are 17 β -oestradiol-dependent and sex chromosome-independent. *Biology of Sex Differences*, 1(1), 6.
70. Peters, M. C., Sajuthi, S., Deford, P., Christenson, S., Rios, C. L., Montgomery, M. T., Woodruff, P. G., Mauger, D. T., Erzurum, S. C., Johansson, M. W., Denlinger, L. C., Jarjour, N. N., Castro, M., Hastie, A. T., Moore, W., Ortega, V. E., Bleecker, E. R., Wenzel, S. E., Israel, E., Levy, B. D., Seibold, M. A., and Fahy, J. V. (2020). COVID-19-related Genes in Sputum Cells in Asthma. Relationship to Demographic Features and Corticosteroids. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 202(1), 83–90.
71. Clinckemalie, L., Spans, L., Dubois, V., Laurent, M., Helsen, C., Joniau, S., and Claessens, F. (2013). Androgen regulation of the TMPRSS2 gene and the effect of a SNP in an androgen response element. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, 27(12), 2028–2040.
72. Wang, H., Sun, X., L VonCannon, J., Kon, N. D., Ferrario, C. M., and Groban, L. (2021). Estrogen receptors are linked to angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), ADAM metallopeptidase domain 17 (ADAM-17), and transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2) expression in the human atrium: insights into COVID-19. *Hypertension Research : Official Journal of The Japanese Society of Hypertension*, 44(7), 882–884.
73. Parker, K., Salas, M., and Nwosu, V.C. (2010). High fructose corn syrup: Production, uses and public health concerns. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 5(5), 71-78.
74. White, J.S., Hobbs, L.J., and Fernandez, S. (2015). Fructose content and composition of commercial HFCS-sweetened carbonated beverages. *International Journal of Obesity*, 39(1), 176-182.
75. Holman, G.D. (2020). Structure, function and regulation of mammalian glucose transporters of the SLC2 family. *Pflügers Archiv : European Journal of Physiology*, 472(9), 1155-1175.

76. Ferraris, R.P., Choe, J.Y., and Patel, C.R. (2018). Intestinal Absorption of Fructose. *Annual Review of Nutrition*, 38, 41-67.
77. Merino, B., Fernandez-Diaz, C.M., Cozar-Castellano, I., and Perdomo, G. (2019). Intestinal Fructose and Glucose Metabolism in Health and Disease. *Nutrients*, 12(1).
78. Ritze, Y., Bárdos, G., D'Haese, J. G., Ernst, B., Thurnheer, M., Schultes, B., and Bischoff, S. C. (2014). Effect of high sugar intake on glucose transporter and weight regulating hormones in mice and humans. *PloS one*, 9(7), e101702.
79. Sumlu, E., Bostanci, A., Sadi, G., Alcigir, M.E., and Akar, F. (2020). *Lactobacillus plantarum* improves lipogenesis and IRS-1/AKT/eNOS signalling pathway in the liver of high-fructose-fed rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 1-9.
80. Mayes, P.A. (1993). Intermediary metabolism of fructose. *The American journal of clinical nutrition*, 58(5 Suppl), 754S-765S.
81. Diggle, C.P., Shires, M., Leitch, D., Brooke, D., Carr, I.M., Markham, A.F., Hayward, B.E., Asipu, A., and Bonthron, D.T. (2009). Ketohexokinase: expression and localization of the principal fructose-metabolizing enzyme. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 57(8), 763-774.
82. Jang, C., Hui, S., Lu, W., Cowan, A.J., Morscher, R.J., Lee, G., Liu, W., Tesz, G.J., Birnbaum, M.J., and Rabinowitz, J.D. (2018). The Small Intestine Converts Dietary Fructose into Glucose and Organic Acids. *Cell Metabolism*, 27(2), 351-361 e353.
83. Heinz, F., Lamprecht, W., and Kirsch, J. (1968). Enzymes of fructose metabolism in human liver. *The Journal of Clinical Investigation*, 47(8), 1826-1832.
84. Tran, L.T., Yuen, V.G., and McNeill, J.H. (2009). The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 332(1-2), 145-159.
85. Douard, V., and Ferraris, R. P. (2008). Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 295(2), E227–E237.
86. Barbara, G., Barbaro, M. R., Fuschi, D., Palombo, M., Falangone, F., Cremon, C., Marasco, G., and Stanghellini, V. (2021). Inflammatory and Microbiota-Related Regulation of the Intestinal Epithelial Barrier. *Frontiers in Nutrition*, 8, 718356.
87. Usuda, H., Okamoto, T., and Wada, K. (2021). Leaky Gut: Effect of Dietary Fiber and Fats on Microbiome and Intestinal Barrier. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(14), 7613.
88. Do, M. H., Lee, E., Oh, M. J., Kim, Y., and Park, H. Y. (2018). High-Glucose or -Fructose Diet Cause Changes of the Gut Microbiota and Metabolic Disorders in Mice without Body Weight Change. *Nutrients*, 10(6), 761.

89. Cho, Y. E., Kim, D. K., Seo, W., Gao, B., Yoo, S. H., and Song, B. J. (2021). Fructose Promotes Leaky Gut, Endotoxemia, and Liver Fibrosis Through Ethanol-Inducible Cytochrome P450-2E1-Mediated Oxidative and Nitritative Stress. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 73(6), 2180–2195.
90. Lambertz, J., Weiskirchen, S., Landert, S., and Weiskirchen, R. (2017). Fructose: A Dietary Sugar in Crosstalk with Microbiota Contributing to the Development and Progression of Non-Alcoholic Liver Disease. *Frontiers in Immunology*, 8, 1159.
91. Flint, H. J., Scott, K. P., Louis, P., and Duncan, S. H. (2012). The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nature reviews Gastroenterology and Hepatology*, 9(10), 577–589.
92. Carding, S., Verbeke, K., Vipond, D. T., Corfe, B. M., and Owen, L. J. (2015). Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26, 26191.
93. D'Addio, F., and Fiorina, P. (2016). Type 1 Diabetes and Dysfunctional Intestinal Homeostasis. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 27(7), 493–503.
94. Ley, R. E., Turnbaugh, P. J., Klein, S., and Gordon, J. I. (2006). Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444(7122), 1022–1023.
95. Saad, M. J., Santos, A., and Prada, P. O. (2016). Linking Gut Microbiota and Inflammation to Obesity and Insulin Resistance. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 31(4), 283–293.
96. Turnbaugh, P. J., Hamady, M., Yatsunenkov, T., Cantarel, B. L., Duncan, A., Ley, R. E., Sogin, M. L., Jones, W. J., Roe, B. A., Affourtit, J. P., Egholm, M., Henrissat, B., Heath, A. C., Knight, R., and Gordon, J. I. (2009). A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, 457(7228), 480–484.
97. Membrez, M., Blancher, F., Jaquet, M., Bibiloni, R., Cani, P. D., Burcelin, R. G., Corthesy, I., Macé, K., and Chou, C. J. (2008). Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB Journal : Official Publication of The Federation of American Societies for Experimental Biology*, 22(7), 2416–2426.
98. Volynets, V., Louis, S., Pretz, D., Lang, L., Ostaff, M. J., Wehkamp, J., and Bischoff, S. C. (2017). Intestinal Barrier Function and the Gut Microbiome Are Differentially Affected in Mice Fed a Western-Style Diet or Drinking Water Supplemented with Fructose. *The Journal of Nutrition*, 147(5), 770–780.
99. Zheng, Z., and Wang, B. (2021). The Gut-Liver Axis in Health and Disease: The Role of Gut Microbiota-Derived Signals in Liver Injury and Regeneration. *Frontiers in Immunology*, 12, 775526.
100. Bergheim, I., Weber, S., Vos, M., Krämer, S., Volynets, V., Kaserouni, S., McClain, C. J., and Bischoff, S. C. (2008). Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. *Journal of Hepatology*, 48(6), 983–992.

101. Spruss, A., Kanuri, G., Wagnerberger, S., Haub, S., Bischoff, S. C., and Bergheim, I. (2009). Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 50(4), 1094–1104.
102. Todoric, J., Di Caro, G., Reibe, S., Henstridge, D. C., Green, C. R., Vrbanc, A., Ceteci, F., Conche, C., McNulty, R., Shalapour, S., Taniguchi, K., Meikle, P. J., Watrous, J. D., Moranchel, R., Najhawan, M., Jain, M., Liu, X., Kisseleva, T., Diaz-Meco, M. T., Moscat, J., Knight, R., Greten, F. R., Lau, L. F., Metallo, C. M., Febbraio, M. A., Karin, M. (2020). Fructose stimulated *de novo* lipogenesis is promoted by inflammation. *Nature metabolism*, 2(10), 1034–1045.
103. Stanhope, K.L. (2016). Sugar consumption, metabolic disease and obesity: The state of the controversy. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 53 (1), 52–67.
104. Rosinger, A., Herrick, K., Gahche, J., and Park, S. (2017). Sugar-sweetened Beverage Consumption Among U.S. Adults, 2011-2014. *NCHS Data Brief*, (270), 1–8.
105. Malik, V.S., and Hu, F.B. (2019). Sugar-sweetened beverages and cardiometabolic health: An update of the evidence. *Nutrients*, 11 (8), 1840.
106. Powell, E.S., Smith-Taillie, L.P., and Popkin, B.M. (2016). Added Sugars Intake Across the Distribution of US Children and Adult Consumers: 1977-2012. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 116 (10), 1543–155.
107. Bantle, J. P., Laine, D. C., and Thomas, J. W. (1986). Metabolic effects of dietary fructose and sucrose in types I and II diabetic subjects. *JAMA*, 256(23), 3241–3246.
108. Febbraio, M. A., and Karin, M. (2021). "Sweet death": Fructose as a metabolic toxin that targets the gut-liver axis. *Cell metabolism*, 33(12), 2316–2328.
109. Goran, M. I., Uliaszek, S. J., and Ventura, E. E. (2013). High fructose corn syrup and diabetes prevalence: a global perspective. *Global Public Health*, 8(1), 55-64.
110. Aoun, R., Chokor, F.A.Z., Taktouk, M., Nasrallah, M., Ismaeel, H., Tamim, H., and Nasreddine, L. (2022). Dietary fructose and its association with the metabolic syndrome in Lebanese healthy adults: a cross-sectional study. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 14(1), 29.
111. Abdelmalek, M.F., Suzuki, A., Guy, C., Unalp-Arida, A., Colvin, R., Johnson, R.J., and Diehl, A.M. (2010). Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 51 (6), 1961–1971.
112. Thuy, S., Ladurner, R., Volynets, V., Wagner, S., Strahl, S., Konigsrainer, A., Maier, K.P., Bischoff, S.C., and Bergheim, I. (2008). Nonalcoholic fatty liver disease in humans is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake. *The Journal of Nutrition*, 138(8), 1452-1455.

113. Sluik, D., Engelen, A.I., and Feskens, E.J. (2015). Fructose consumption in the Netherlands: The Dutch National Food Consumption Survey 2007-2010. *European Journal of Clinical Nutrition*, 69(4), 475-481.
114. Nier, A., Brandt, A., Conzelmann, I.B., Ozel, Y., and Bergheim, I. (2018). NonAlcoholic Fatty Liver Disease in Overweight Children: Role of Fructose Intake and Dietary Pattern. *Nutrients*, 10(9).
115. Reaven, G.M. (1988). Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37(12), 1595-1607.
116. Bovolini, A., Garcia, J., Andrade, M. A., and Duarte, J. A. (2021). Metabolic Syndrome Pathophysiology and Predisposing Factors. *International Journal of Sports Medicine*, 42(3), 199-214.
117. Saklayen M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current Hypertension Reports*, 20(2), 12.
118. Huang, P.L. (2009). A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Disease Models and Mechanisms*, 2(5-6), 231-237.
119. Alberti, K.G., Eckel, R.H., Grundy, S.M., Zimmet, P.Z., Cleeman, J.I., Donato, K.A., Fruchart, J.C., James, W.P., Loria, C.M., Smith, S.C., Jr., International Diabetes Federation Task Force on, E., Prevention, Hational Heart, L., Blood, I., American Heart, A., World Heart, F., International Atherosclerosis, S., and International Association for the Study of, O. (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, 120(16), 1640-1645.
120. Aguilar, M., Bhuket, T., Torres, S., Liu, B., and Wong, R. J. (2015). Prevalence of the metabolic syndrome in the United States, 2003-2012. *The Journal of the American Medical Association*, 313(19), 1973-1974.
121. Hirode, G., and Wong, R. J. (2020). Trends in the Prevalence of Metabolic Syndrome in the United States, 2011-2016. *The Journal of the American Medical Association*, 323(24), 2526-2528.
122. Wong, M.C.S., Huang, J., Wang, J., Chan, P.S.F., Lok, V., Chen, X., Leung, C., Wang, H.H.X., Lao, X.Q., and Zheng, Z.J. (2020). Global, regional and time-trend prevalence of central obesity: a systematic review and meta-analysis of 13.2 million subjects. *European Journal of Epidemiology*, 35(7), 673-683.
123. Afshin, A., Forouzanfar, M.H., Reitsma, M.B., Sur, P., Estep, K., Lee, A., Marczak, L., Mokdad, A.H., Moradi-Lakeh, M., Naghavi, M., Salama, J.S., Vos, T., Abate, K.H., Abbafati, C., Ahmed, M.B., Al-Aly, Z., Alkerwi, A., Al-Raddadi, R., Amare, A.T., Amberbir, A., Amegah, A.K., Amini, E., Amrock, S.M., Anjana, R.M., Ärnlöv, J., Asayesh, H., Banerjee, A., Barac, A., Baye, E., Bennett, D.A., Beyene, A.S., Biadgilign, S., Biryukov, S., Bjertness, E., Boneya, D.J., Campos-Nonato, I., Carrero, J.J., Cecilio, P., Cercy, K., Ciobanu, L.G., Cornaby, L., Damtew, S.A.,

- Dandona, L., Dandona, R., Dharmaratne, S.D., Duncan, B.B., Eshrati, B., Esteghamati, A., Feigin, V.L., Fernandes, J.C., Fürst, T., Gebrehiwot, T.T., Gold, A., Gona, P.N., Goto, A., Habtewold, T.D., Hadush, K.T., Hafezi-Nejad, N., Hay, S.I., Horino, M., Islami, F., Kamal, R., Kasaeian, A., Katikireddi, S. V., Kengne, A.P., Kesavachandran, C.N., Khader, Y.S., Khang, Y.H., Khubchandani, J., Kim, D., Kim, Y.J., Kinfu, Y., Kosen, S., Ku, T., Defo, B.K., Kumar, G.A., Larson, H.J., Leinsalu, M., Liang, X., Lim, S.S., Liu, P., Lopez, A.D., Lozano, R., Majeed, A., Malekzadeh, R., Malta, D.C., Mazidi, M., McAlinden, C., McGarvey, S.T., Mengistu, D.T., Mensah, G.A., Mensink, G.B.M., Mezgebe, H.B., Mirrakhimov, E.M., Mueller, U.O., Noubiap, J.J., Obermeyer, C.M., Ogbo, F.A., Owolabi, M.O., Patton, G.C., Pourmalek, F., Qorbani, M., Rafay, A., Rai, R.K., Ranabhat, C.L., Reinig, N., Safiri, S., Salomon, J.A., Sanabria, J.R., Santos, I.S., Sartorius, B., Sawhney, M., Schmidhuber, J., Schutte, A.E., Schmidt, M.I., Sepanlou, S.G., Shamsizadeh, M., Sheikhabaei, S., Shin, M.J., Shiri, R., Shiue, I., Roba, H.S., Silva, D.A.S., Silverberg, J.I., Singh, J.A., Stranges, S., Swaminathan, S., Tabarés-Seisdedos, R., Tadese, F., Tedla, B.A., Tegegne, B.S., Terkawi, A.S., Thakur, J.S., Tonelli, M., Topor-Madry, R., Tyrovolas, S., Ukwaja, K.N., Uthman, O.A., Vaezghasemi, M., Vasankari, T., Vlassov, V. V., Vollset, S.E., Weiderpass, E., Werdecker, A., Wesana, J., Westerman, R., Yano, Y., Yonemoto, N., Yonga, G., Zaidi, Z., Zenebe, Z.M., Zipkin, B., and Murray, C.J.L. (2017). Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *New England Journal of Medicine*, 377 (1), 13–27.
124. International Diabetes Federation. (2021). *IDF Diabetes Atlas* (Tenth Edition ed.). International Diabetes Federation.
 125. Satman, I., Yilmaz, T., Sengul, A., Salman, S., Salman, F., Uygur, S., Bastar, I., Tutuncu, Y., Sargin, M., Dinccag, N., Karsidag, K., Kalaca, S., Ozcan, C., and King, H. (2002). Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*, 25(9), 1551-1556.
 126. Satman, I., Omer, B., Tutuncu, Y., Kalaca, S., Gedik, S., Dinccag, N., Karsidag, K., Genc, S., Telci, A., Canbaz, B., Turker, F., Yilmaz, T., Cakir, B., Tuomilehto, J., and TURDEP-II Study Group. (2013). Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *European Journal of Epidemiology*, 28(2), 169-180.
 127. Satman, I., Bayirlioglu, S., Okumus, F., Erturk, N., Yemenici, M., Cinemre, S., Gulfidan, G., Arga, K.Y., Y, D.M., Issever, H., and TURDEP-II Study Group. (2023). Estimates and Forecasts on the Burden of Prediabetes and Diabetes in Adult and Elderly Population in Turkiye. *European Journal of Epidemiology*, 38(3), 313-323.
 128. Satman I KS, Salman S, Sengul A, Sargin M, Karsidag K, and Dinccag N. (2007, 2-5 June). *Defining a population-specific waist circumference in Turkish population*. Paper presented at The Endocrine Society's 89th Annual Meeting, Toronto, Canada.
 129. Dinccag, N., Satman. I., Kalaca, S., Omer, B., Karsidag, K., Yilmaz, T., Tutuncu, Y., Genc, S., Turker, F., Cambaz, B., and Toumilehto, J. (2011, 12-16 September). *The prevalence of the metabolic syndrome is comparable using the nation-specific IDF*,

WHO and NECPATP III criteria in Turkey. Paper presented at the 47th European Association for the Study of Diabetes, Lisbon, Portugal.

130. Yilmaz, Y., Zeybel, M., Adali, G., Cosar, A. M., Serteser, E., Gokcan, H., Bahcecioglu, H. I., Sahin, M., Tulunay, C., Ergun, I., Turan, I., Idilman, I. S., Celikel, C., Kirimlioglu, H., Akyol, G., Yilmaz, F., Sokmensuer, C., Guveli, H., Akarca, U. S., Akyuz, U., Genc, V., Akyildiz, M., Yazihan, N., Tutar, E., Ates, F., Dincer, D., Balaban, Y., Kiyici, M., Akdogan, M., Sonsuz, A., Idilman, R.; Members of Fatty Liver Special Interest Group; Yapali, S., Dursun, H., Aladag, M., Satman, I., Karcaaltincaba, M., Arikan, C., Gulerman, F., Selimoglu, A., Ozen, H., Basaranoglu, M., Karakan, T., Yurci, A., Demir, K., Koruk, M., Uygun, A., Sezgin, O., Gulec, S., Besisik, F., Simsek, H., Hulagu, S., Tozun, N., Mardinoglu, A., Demir, M., Doganay, L., Akarsu, M., Karasu, Z., Kaymakoglu, S., and Gunsar, F. (2023). TASL Practice Guidance on the Clinical Assessment and Management of Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology Forum*, 4(Suppl 1), 1–32.
131. Hwang, I.S., Ho, H., Hoffman, B.B., and Reaven, G.M. (1987). Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension*, 10(5), 512-516.
132. Rizkalla, S.W., Boillot, J., Tricottet, V., Fontvieille, A.M., Luo, J., Salzman, J.L., Camilleri, J.P., and Slama, G. (1993). Effects of chronic dietary fructose with and without copper supplementation on glycaemic control, adiposity, insulin binding to adipocytes and glomerular basement membrane thickness in normal rats. *The British Journal of Nutrition*, 70(1), 199-209.
133. Alzamendi, A., Giovambattista, A., Raschia, A., Madrid, V., Gaillard, R.C., Rebolledo, O., Gagliardino, J.J., and Spinedi, E. (2009). Fructose-rich diet-induced abdominal adipose tissue endocrine dysfunction in normal male rats. *Endocrine*, 35(2), 227-232.
134. Zubiria, M.G., Farina, J.P., Moreno, G., Gagliardino, J.J., Spinedi, E., and Giovambattista, A. (2013). Excess fructose intake-induced hypertrophic visceral adipose tissue results from unbalanced precursor cell adipogenic signals. *The FEBS Journal*, 280(22), 5864-5874.
135. Kovacevic, S., Nestorov, J., Matic, G., and Elakovic, I. (2014). Dietary fructose-related adiposity and glucocorticoid receptor function in visceral adipose tissue of female rats. *European Journal of Nutrition*, 53(6), 1409-1420.
136. Crescenzo, R., Bianco, F., Falcone, I., Coppola, P., Liverini, G., and Iossa, S. (2013). Increased hepatic *de novo* lipogenesis and mitochondrial efficiency in a model of obesity induced by diets rich in fructose. *European Journal of Nutrition*, 52(2), 537-545.
137. Di Luccia, B., Crescenzo, R., Mazzoli, A., Cigliano, L., Venditti, P., Walser, J.C., Widmer, A., Baccigalupi, L., Ricca, E., and Iossa, S. (2015). Rescue of Fructose Induced Metabolic Syndrome by Antibiotics or Faecal Transplantation in a Rat Model of Obesity. *PLoS One*, 10(8), e0134893.
138. Alqarni I, Bassiouni YA, Badr AM, and Ali RA. (2019). Telmisartan and/or chlorogenic acid attenuates fructose-induced non-alcoholic fatty liver disease in rats:

- Implications of cross-talk between angiotensin, the sphingosine kinase/sphingosine-1-phosphate pathway, and TLR4 receptors. *Biochemical pharmacology*, 164: 252-262.
139. Elliott, S.S., Keim, N.L., Stern, J.S., Teff, K., and Havel, P.J. (2002). Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76, 911–933.
 140. Pollock, N.K., Bundy, V., Kanto, W., Davis, C.L., Bernard, P.J., Zhu, H., Gutin, B., and Dong, Y. (2012). Greater fructose consumption is associated with cardiometabolic risk markers and visceral adiposity in adolescents. *The Journal of Nutrition*, 142(2), 251-257.
 141. Chan, T. F., Lin, W. T., Chen, Y. L., Huang, H. L., Yang, W. Z., Lee, C. Y., Chen, M. H., Wang, T. N., Huang, M. C., Chiu, Y. W., Huang, C. C., Tsai, S., Lin, C. L., and Lee, C. H. (2014). Elevated serum triglyceride and retinol binding protein 4 levels associated with fructose-sweetened beverages in adolescents. *PloS One*, 9(1), e82004.
 142. Taskinen, M.R., Söderlund, S., Bogl, L.H., Hakkarainen, A., Matikainen, N., Pietiläinen, K.H., Räsänen, S., Lundbom, N., Björnson, E., Eliasson, B., Mancina, R.M., Romeo, S., Alméras, N., Pepa, G.D., Vetrani, C., Prinster, A., Annuzzi, G., Rivellese, A., Després, J.P., and Borén, J. (2017). Adverse effects of fructose on cardiometabolic risk factors and hepatic lipid metabolism in subjects with abdominal obesity. *Journal of Internal Medicine*, 282(2):187-201.
 143. Schwarz, J.M., Noworolski, S.M., Erkin-Cakmak, A., Korn, N.J., Wen, M.J., Tai, V.W., Jones, G.M., Palii, S.P., Velasco-Alin, M., Pan, K., Patterson, B.W., Gugliucci, A., Lustig, R.H., and Mulligan, K. (2017). Effects of Dietary Fructose Restriction on Liver Fat, *De novo* Lipogenesis, and Insulin Kinetics in Children with Obesity. *Gastroenterology*, 153(3), 743-752.
 144. Sigala, D. M., Hieronimus, B., Medici, V., Lee, V., Nunez, M. V., Bremer, A. A., Cox, C. L., Price, C. A., Benyam, Y., Abdelhafez, Y., McGahan, J. P., Keim, N. L., Goran, M. I., Pacini, G., Tura, A., Sirlin, C. B., Chaudhari, A. J., Havel, P. J., and Stanhope, K. L. (2022). The Dose-Response Effects of Consuming High Fructose Corn Syrup-Sweetened Beverages on Hepatic Lipid Content and Insulin Sensitivity in Young Adults. *Nutrients*, 14(8), 1648.
 145. Sadi, G., Ergin, V., Yilmaz, G., Pektas, M.B., Yildirim, O.G., Menevse, A., and Akar, F. (2015). High-fructose corn syrup-induced hepatic dysfunction in rats: improving effect of resveratrol. *European Journal of Nutrition*, 54(6), 895-904.
 146. Dekker, M.J., Su, Q., Baker, C., Rutledge, A.C., and Adeli, K. (2010). Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 299(5), E685-694.
 147. Herman, M.A., and Birnbaum, M.J. (2021). Molecular aspects of fructose metabolism and metabolic disease. *Cell Metabolism*, 33(12), 2329-2354.
 148. Bursac, B.N., Vasiljevic, A.D., Nestorovic, N.M., Velickovic, N.A., Vojnovic Milutinovic, D.D., Matic, G.M., and Djordjevic, A.D. (2014). High-fructose diet

- leads to visceral adiposity and hypothalamic leptin resistance in male rats--do glucocorticoids play a role? *Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(4), 446-455.
149. Khitan, Z., Harsh, M., Sodhi, K., Shapiro, J.I., and Abraham, N.G. (2014). HO-1 Upregulation Attenuates Adipocyte Dysfunction, Obesity, and Isoprostane Levels in Mice Fed High Fructose Diets. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2014, 980547.
 150. Faeh, D., Minehira, K., Schwarz, J.M., Periasami, R., Seongsu, P., and Tappy, L. (2005). Effect of fructose overfeeding and fish oil administration on hepatic *de novo* lipogenesis and insulin sensitivity in healthy men. *Diabetes*, 54 (7), 1907–1913.
 151. Huang, D.W., Chang, W.C., Yang, H.J., Wu, J.S., and Shen, S.C. (2018). Gallic Acid Alleviates Hypertriglyceridemia and Fat Accumulation via Modulating Glycolysis and Lipolysis Pathways in Perirenal Adipose Tissues of Rats Fed a High-Fructose Diet. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1).
 152. Akar, F., Guney, C., Ozer, H.B., Pektas, M.B., Koca, H.B., Kocabas, A., and Sadi, G. (2021). The inverse association between ANGPTL8 and PI3K-mTOR-PPAR γ 146 expressions in adipose tissue of high-fructose-fed rats: The modulatory effect of kefir. *Istanbul Journal of Pharmacy*, 51(3), 753-761.
 153. Zmora, N., Levy, M., Pevsner-Fishcer, M., and Elinav, E. (2017). Inflammasomes and intestinal inflammation. *Mucosal immunology*, 10(4), 865–883.
 154. Ahmed, A. U. (2011). An overview of inflammation: mechanism and consequences. *Frontiers in Biology*, 6(4), 274.
 155. Hotamisligil, G.S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121), 860-867.
 156. Donath, M.Y., Dalmas, E., Sauter, N.S., and Boni-Schnetzler, M. (2013). Inflammation in obesity and diabetes: islet dysfunction and therapeutic opportunity. *Cell Metabolism*, 17(6), 860-872.
 157. Kawabata, K., Kanmura, S., Morinaga, Y., Tanaka, A., Makino, T., Fujita, T., Arima, S., Sasaki, F., Nasu, Y., Tanoue, S., Hashimoto, S., and Ido, A. (2019). A highfructose diet induces epithelial barrier dysfunction and exacerbates the severity of dextran sulfate sodium-induced colitis. *International Journal of Molecular Medicine*, 43 (3), 1487–1496.
 158. Wang, Y., Qi, W., Song, G., Pang, S., Peng, Z., Li, Y., and Wang, P. (2020). High Fructose Diet Increases Inflammatory Cytokines and Alters Gut Microbiota Composition in Rats. *Mediators of Inflammation*, 2020, 6672636.
 159. Narayanankutty, A., Kuzhivelil, B. T., and Raghavamenon, A. C. (2022). A High-Fructose Diet Formulated with Thermally Oxidized Monounsaturated Fat Aggravates Metabolic Dysregulation in Colon Epithelial Tissues of Rats. *Journal of the American Nutrition Association*, 41(1), 38–49.
 160. Jena, P.K., Prajapati, B., Mishra, P.K., and Seshadri, S. (2016). Influence of Gut Microbiota on Inflammation and Pathogenesis of Sugar Rich Diet Induced Diabetes. *Immunome Research*, 12, 1-10.

161. Zhou, G.Y., Yi, Y.X., Jin, L.X., Lin, W., Fang, P.P., Lin, X.Z., Zheng, Y., and Pan, C.W. (2016). The protective effect of juglanin on fructose-induced hepatitis by inhibiting inflammation and apoptosis through TLR4 and JAK2/STAT3 signaling pathways in fructose-fed rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 81, 318–328.
162. Veličković, N., Teofilović, A., Ilić, D., Djordjevic, A., Vojnović Milutinović, D., Petrović, S., Preitner, F., Tappy, L., and Matić, G. (2019). Modulation of hepatic inflammation and energy-sensing pathways in the rat liver by high-fructose diet and chronic stress. *European Journal of Nutrition*, 58 (5), 1829–1845.
163. Lu, A., and Wu, H. (2015). Structural mechanisms of inflammasome assembly. *The FEBS journal*, 282(3).
164. Huang, Y., Xu, W., and Zhou, R. (2021). NLRP3 inflammasome activation and cell death. *Cellular and Molecular Immunology*, 18(9), 2114–2127.
165. Zhang, D. M., Jiao, R. Q., and Kong, L. D. (2017). High Dietary Fructose: Direct or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Functions. *Nutrients*, 9(4), 335.
166. Xue, Y., Wang, H., Du, M., and Zhu, M. J. (2014). Maternal obesity induces gut inflammation and impairs gut epithelial barrier function in nonobese diabetic mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(7), 758–764.
167. Rai, R.C., Bagul, P.K., and Banerjee, S.K. (2020). NLRP3 inflammasome drives inflammation in high fructose fed diabetic rat liver: Effect of resveratrol and metformin. *Life Sciences*, 253, 117727.
168. Singh, S., Sharma, A., Ahmad, S., Guru, B., Gulzar, F., Kumar, P., Ahmad, I., and Tamrakar, A. K. (2023). Convergence of Fructose-Induced NLRP3 Activation with Oxidative Stress and ER Stress Leading to Hepatic Steatosis. *Inflammation*, 46(1), 217–233.
169. Nguyen Dinh Cat, A., and Touyz, R. M. (2011). A new look at the renin-angiotensin system--focusing on the vascular system. *Peptides*, 32(10), 2141–2150.
170. Guney, C., and Akar, F. (2021). Epithelial and Endothelial Expressions of ACE2: SARS-CoV-2 Entry Routes. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences : A Publication of The Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe Canadienne des Sciences Pharmaceutiques*, 24, 84–93..
171. Xu, C., and Yu, J. (2022). Pathophysiological mechanisms of hypertension development induced by fructose consumption. *Food and Function*, 13(4), 1702–1717.
172. Giani, J. F., Muñoz, M. C., Mayer, M. A., Veiras, L. C., Arranz, C., Taira, C. A., Turyn, D., Toblli, J. E., and Dominici, F. P. (2010). Angiotensin-(1-7) improves cardiac remodeling and inhibits growth-promoting pathways in the heart of fructose-fed rats. *American journal of physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 298(3), H1003–H1013.

173. Marcus, Y., Shefer, G., Sasson, K., Kohen, F., Limor, R., Pappo, O., Nevo, N., Biton, I., Bach, M., Berkutzki, T., Fridkin, M., Benayahu, D., Shechter, Y., and Stern, N. (2013). Angiotensin 1-7 as means to prevent the metabolic syndrome: lessons from the fructose-fed rat model. *Diabetes*, 62(4), 1121–1130.
174. Iimura, O., Shimamoto, K., Matsuda, K., Masuda, A., Takizawa, H., Higashiura, K., Miyazaki, Y., Hirata, A., Ura, N., and Nakagawa, M. (1995). Effects of angiotensin receptor antagonist and angiotensin converting enzyme inhibitor on insulin sensitivity in fructose-fed hypertensive rats and essential hypertensives. *American Journal of Hypertension*, 8(4 Pt 1), 353–357.
175. Higashiura, K., Ura, N., Takada, T., Li, Y., Torii, T., Togashi, N., Takada, M., Takizawa, H., and Shimamoto, K. (2000). The effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor and an angiotensin II receptor antagonist on insulin resistance in fructose-fed rats. *American Journal of Hypertension*, 13(3), 290–297.
176. Shinozaki, K., Ayajiki, K., Nishio, Y., Sugaya, T., Kashiwagi, A., and Okamura, T. (2004). Evidence for a causal role of the renin-angiotensin system in vascular dysfunction associated with insulin resistance. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 43(2), 255–262.
177. Okada, K., Hirano, T., Ran, J., and Adachi, M. (2004). Olmesartan medoxomil, an angiotensin II receptor blocker ameliorates insulin resistance and decreases triglyceride production in fructose-fed rats. *Hypertension Research : Official Journal of The Japanese Society of Hypertension*, 27(4), 293–299.
178. Hsieh, P. S., Tai, Y. H., Loh, C. H., Shih, K. C., Cheng, W. T., and Chu, C. H. (2005). Functional interaction of AT1 and AT2 receptors in fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 54(2), 157–164.
179. Nyby, M. D., Abedi, K., Smutko, V., Eslami, P., and Tuck, M. L. (2007). Vascular Angiotensin type 1 receptor expression is associated with vascular dysfunction, oxidative stress and inflammation in fructose-fed rats. *Hypertension Research : Official Journal of The Japanese Society of Hypertension*, 30(5), 451–457.
180. Kamari, Y., Harari, A., Shaish, A., Peleg, E., Sharabi, Y., Harats, D., and Grossman, E. (2008). Effect of telmisartan, angiotensin II receptor antagonist, on metabolic profile in fructose-induced hypertensive, hyperinsulinemic, hyperlipidemic rats. *Hypertension Research : Official Journal of The Japanese Society of Hypertension*, 31(1), 135–140.
181. Chou, C. L., Lai, Y. H., Lin, T. Y., Lee, T. J., and Fang, T. C. (2011). Aliskiren prevents and ameliorates metabolic syndrome in fructose-fed rats. *Archives of Medical Science : AMS*, 7(5), 882–888.
182. Rabie, E. M., Heeba, G. H., Abouzied, M. M., and Khalifa, M. M. (2015). Comparative effects of Aliskiren and Telmisartan in high fructose diet-induced metabolic syndrome in rats. *European Journal of Pharmacology*, 760, 145–153.
183. Fabricant J. (1998). The Early History of Infectious Bronchitis. *Avian Diseases*, 42,(4), 648-650.

184. Tyrrell, D. A., and Bynoe, M. L. (1965). Cultivation of a novel type of common cold virus in organ culture. *British Medical Journal*, 1,1467-1470.
185. Kirtipal, N., Bharadwaj, S., and Kang, S. G. (2020). From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. *Infection, Genetics and Evolution : Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 85, 104502.
186. Woo, P. C., Lau, S. K., Lam, C. S., Lau, C. C., Tsang, A. K., Lau, J. H., Bai, R., Teng, J. L., Tsang, C. C., Wang, M., Zheng, B. J., Chan, K. H., and Yuen, K. Y. (2012). Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *Journal of Virology*, 86(7), 3995–4008.
187. Haake, C., Cook, S., Pusterla, N., and Murphy, B. (2020). Coronavirus Infections in Companion Animals: Virology, Epidemiology, Clinical and Pathologic Features. *Viruses*, 12(9), 1023.
188. Fehr, A. R., and Perlman, S. (2015). Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1282, 1–23.
189. Cui, J., Li, F., and Shi, Z. L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 17(3), 181–192.
190. Malik Y. A. (2020). Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. *The Malaysian Journal of Pathology*, 42(1), 3–11.
191. Chen, Y., Liu, Q., and Guo, D. (2020). Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*, 92(4), 418–423.
192. İnternet: World Health Organization. (December, 2003). Summary table of SARS cases by country. *Dashboard*, Web: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news> adresinden 30 Kasım 2023’de alınmıştır.
193. İnternet: World Health Organization. (August, 2022). Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). *Dashboard*, Web: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov)) adresinden 30 Kasım 2023’de alınmıştır.
194. Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H. R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C. L., Chen, H. D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R. D., Liu, M. Q., Chen, Y., Shen, X. R., Wang, X., Zheng, X. S., Zhao, K., Chen, Q. J., Deng, F., Liu, L. L., Yan, B., Zhan, F. X., Wang, Y. Y., Xiao, G. F., and Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273.
195. İnternet: World Health Organization. (November, 2023) Coronavirus (COVID-19) *Dashboard*, Web: <https://covid19.who.int/> adresinden 30 Kasım 2023’de alınmıştır.
196. Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., Qiu, Y., Wang, J., Liu, Y., Wei, Y., Xia, J., Yu, T., Zhang, X., and Zhang, L. (2020). Epidemiological and

- clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet (London, England)*, 395(10223), 507–513.
197. Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., Hu, Y., Tao, Z. W., Tian, J. H., Pei, Y. Y., Yuan, M. L., Zhang, Y. L., Dai, F. H., Liu, Y., Wang, Q. M., Zheng, J. J., Xu, L., Holmes, E. C., and Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265–269.
 198. Ren, L. L., Wang, Y. M., Wu, Z. Q., Xiang, Z. C., Guo, L., Xu, T., Jiang, Y. Z., Xiong, Y., Li, Y. J., Li, X. W., Li, H., Fan, G. H., Gu, X. Y., Xiao, Y., Gao, H., Xu, J. Y., Yang, F., Wang, X. M., Wu, C., Chen, L., Liu, Y. W., Liu, B., Yang, J., Wang, X. R., Dong, J., Li, L., Huang, C. L., Zhao, J. P., Hu, Y., Cheng, Z. S., Liu, L. L., Qian, Z. H., Qin, C., Jin, Q., Cao, B., and Wang, J. W. (2020). Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. *Chinese Medical Journal*, 133(9), 1015–1024.
 199. Wu, Y., Guo, C., Tang, L., Hong, Z., Zhou, J., Dong, X., Yin, H., Xiao, Q., Tang, Y., Qu, X., Kuang, L., Fang, X., Mishra, N., Lu, J., Shan, H., Jiang, G., and Huang, X. (2020). Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 5(5), 434–435.
 200. Chan, J. F., Kok, K. H., Zhu, Z., Chu, H., To, K. K., Yuan, S., and Yuen, K. Y. (2020). Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerging Microbes and Infections*, 9(1), 221–236.
 201. Ceraolo, C., and Giorgi, F. M. (2020). Genomic variance of the 2019-nCoV coronavirus. *Journal of Medical Virology*, 92(5), 522–528.
 202. Kang, S., Yang, M., He, S., Wang, Y., Chen, X., Chen, Y. Q., Hong, Z., Liu, J., Jiang, G., Chen, Q., Zhou, Z., Zhou, Z., Huang, Z., Huang, X., He, H., Zheng, W., Liao, H. X., Xiao, F., Shan, H., and Chen, S. (2021). A SARS-CoV-2 antibody curbs viral nucleocapsid protein-induced complement hyperactivation. *Nature Communications*, 12(1), 2697.
 203. Zhang, Z., Nomura, N., Muramoto, Y., Ekimoto, T., Uemura, T., Liu, K., Yui, M., Kono, N., Aoki, J., Ikeguchi, M., Noda, T., Iwata, S., Ohto, U., and Shimizu, T. (2022). Structure of SARS-CoV-2 membrane protein essential for virus assembly. *Nature Communications*, 13(1), 4399.
 204. Sui, L., Zhao, Y., Wang, W., Wu, P., Wang, Z., Yu, Y., Hou, Z., Tan, G., and Liu, Q. (2021). SARS-CoV-2 Membrane Protein Inhibits Type I Interferon Production Through Ubiquitin-Mediated Degradation of TBK1. *Frontiers in Immunology*, 12, 662989.
 205. Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., and Velesler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281–292.e6.
 206. Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K. S., Goldsmith, J. A., Hsieh, C. L., Abiona, O., Graham, B. S., and McLellan, J. S. (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV

- spike in the prefusion conformation. *Science (New York, N.Y.)*, 367(6483), 1260–1263.
207. Peng, R., Wu, L. A., Wang, Q., Qi, J., and Gao, G. F. (2021). Cell entry by SARS-CoV-2. *Trends in Biochemical Sciences*, 46(10), 848–860.
 208. Szunerits, S., Saada, H., Pagneux, Q., and Boukherroub, R. (2022). Plasmonic Approaches for the Detection of SARS-CoV-2 Viral Particles. *Biosensors*, 12(7), 548.
 209. Menghini, R., Fiorentino, L., Casagrande, V., Lauro, R., and Federici, M. (2013). The role of ADAM17 in metabolic inflammation. *Atherosclerosis*, 228(1), 12–17.
 210. Szabo, R., and Bugge, T. H. (2008). Type II transmembrane serine proteases in development and disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 40(6-7), 1297–1316.
 211. Xu, J., Mukerjee, S., Silva-Alves, C. R., Carvalho-Galvão, A., Cruz, J. C., Balarini, C. M., Braga, V. A., Lazartigues, E., and França-Silva, M. S. (2016). A Disintegrin and Metalloprotease 17 in the Cardiovascular and Central Nervous Systems. *Frontiers in Physiology*, 7, 469.
 212. Han, T., Kang, J., Li, G., Ge, J., and Gu, J. (2020). Analysis of 2019-nCoV receptor ACE2 expression in different tissues and its significance study. *Annals of Translational Medicine*, 8(17), 1077.
 213. Letko, M., Marzi, A., and Munster, V. (2020). Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nature Microbiology*, 5(4), 562–569.
 214. Zhang, H., Kang, Z., Gong, H., Xu, D., Wang, J., Li, Z., Cui, Xingang, Xiao, J., Xiao, J., Meng, T., Zhou, W., Liu, J., and Xu, Huji T. (2020). Digestive system is a potential route of COVID-19: an analysis of single-cell coexpression pattern of key proteins in viral entry process. *Gut*.69(6):1010-8.
 215. Zhang, H., Li, H. B., Lyu, J. R., Lei, X. M., Li, W., Wu, G., Lyu, J., and Dai, Z. M. (2020). Specific ACE2 expression in small intestinal enterocytes may cause gastrointestinal symptoms and injury after 2019-nCoV infection. *International Journal of Infectious Diseases : IJID : Official Publication of The International Society for Infectious Diseases*, 96, 19–24.
 216. Lee, J. J., Kopetz, S., Vilar, E., Shen, J. P., Chen, K., and Maitra, A. (2020). Relative Abundance of SARS-CoV-2 Entry Genes in the Enterocytes of the Lower Gastrointestinal Tract. *Genes*, 11(6), 645.
 217. Suárez-Fariñas, M., Tokuyama, M., Wei, G., Huang, R., Livanos, A., Jha, D., Levescot, A., Irizar, H., Kosoy, R., Cording, S., Wang, W., Losic, B., Ungaro, R. C., Di'Narzo, A., Martinez-Delgado, G., Suprun, M., Corley, M. J., Stojmirovic, A., Houten, S. M., Peters, L., Curran, M., Brodmerkel, C., Perrigoue, J., Friedman, J. R., Hao, K., Schadt, E. E., Zhu, J., Ko, H. M., Cho, J., Dubinsky, M. C., Sands, B. E., Ndhlovu, L., Cerf-Bensusan, N., Kasarskis, A., Colombel, J. F., Harpaz, N., Argmann, C., and Mehandru, S. (2021). Intestinal Inflammation Modulates the

Expression of ACE2 and TMPRSS2 and Potentially Overlaps with the Pathogenesis of SARS-CoV-2-related Disease. *Gastroenterology*, 160(1), 287–301.e20.

218. Brevini, T., Maes, M., Webb, G. J., John, B. V., Fuchs, C. D., Buescher, G., Wang, L., Griffiths, C., Brown, M. L., Scott, W. E., 3rd, Pereyra-Gerber, P., Gelson, W. T. H., Brown, S., Dillon, S., Muraro, D., Sharp, J., Neary, M., Box, H., Tatham, L., Stewart, J., Curley, P., Pertinez, H., Forrest, S., Mlcochova, P., Varankar, S. S., Darvish-Damavandi, M., Mulcahy, V. L., Kuc, R. E., Williams, T. L., Heslop, J. A., Rossetti, D., Tysoe, O. C., Galanakis, V., Vila-Gonzalez, M., Crozier, T. W. M., Bargehr, J., Sinha, S., Upponi, S. S., Fear, C., Swift, L., Saeb-Parsy, K., Davies, S. E., Wester, A., Hagström, H., Melum, E., Clements, D., Humphreys, P., Herriott, J., Kijak, E., Cox, H., Bramwell, C., Valentijn, A., Illingworth, C. J. R.; UK-PBC Consortium; Dahman, B., Bastaich, D. R., Ferreira, R. D., Marjot, T., Barnes, E., Moon, A. M., Barritt, A. S. 4th, Gupta, R. K., Baker, S., Davenport, A. P., Corbett, G., Gorgoulis, V. G., Buczacki, S. J. A., Lee, J. H., Matheson, N. J., Trauner, M., Fisher, A. J., Gibbs, P., Butler, A. J., Watson, C. J. E., Mells, G. F., Dougan, G., Owen, A., Lohse, A. W., Vallier, L., and Sampaziotis, F. (2023). FXR inhibition may protect from SARS-CoV-2 infection by reducing ACE2. *Nature*, 615(7950), 134–142.
219. Chen, T. H., Hsu, M. T., Lee, M. Y., and Chou, C. K. (2022). Gastrointestinal Involvement in SARS-CoV-2 Infection. *Viruses*, 14(6), 1188.
220. Wang, W., Xu, Y., Gao, R., Lu, R., Han, K., Wu, G., and Tan, W. (2020). Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*, 323(18), 1843–1844.
221. Mao, R., Qiu, Y., He, J. S., Tan, J. Y., Li, X. H., Liang, J., Shen, J., Zhu, L. R., Chen, Y., Iacucci, M., Ng, S. C., Ghosh, S., and Chen, M. H. (2020). Manifestations and prognosis of gastrointestinal and liver involvement in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 5(7), 667–678.
222. Wu, Y., Guo, C., Tang, L., Hong, Z., Zhou, J., Dong, X., Yin, H., Xiao, Q., Tang, Y., Qu, X., Kuang, L., Fang, X., Mishra, N., Lu, J., Shan, H., Jiang, G., and Huang, X. (2020). Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. *The Lancet. Gastroenterology and Hepatology*, 5(5), 434–435.
223. He, Y., Wen, Q., Yao, F., Xu, D., Huang, Y., and Wang, J. (2017). Gut-lung axis: The microbial contributions and clinical implications. *Critical Reviews in Microbiology*, 43(1), 81–95.
224. De Oliveira, G. L. V., Oliveira, C. N. S., Pinzan, C. F., de Salis, L. V. V., and Cardoso, C. R. B. (2021). Microbiota Modulation of the Gut-Lung Axis in COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 12, 635471.
225. Liu, Y., Kuang, D., Li, D., Yang, J., Yan, J., Xia, Y., Zhang, F., and Cao, H. (2022). Roles of the gut microbiota in severe SARS-CoV-2 infection. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 63, 98–107.

226. Viana, S. D., Nunes, S., and Reis, F. (2020). ACE2 imbalance as a key player for the poor outcomes in COVID-19 patients with age-related comorbidities - Role of gut microbiota dysbiosis. *Ageing Research Reviews*, 62, 101123.
227. Touyz, R. M., Boyd, M. O. E., Guzik, T., Padmanabhan, S., McCallum, L., Delles, C., Mark, P. B., Petrie, J. R., Rios, F., Montezano, A. C., Sykes, R., and Berry, C. (2021). Cardiovascular and Renal Risk Factors and Complications Associated With COVID-19. *CJC Open*, 3(10), 1257–1272.
228. Chung, M. K., Karnik, S., Saef, J., Bergmann, C., Barnard, J., Lederman, M. M., Tilton, J., Cheng, F., Harding, C. V., Young, J. B., Mehta, N., Cameron, S. J., McCrae, K. R., Schmaier, A. H., Smith, J. D., Kalra, A., Gebreselassie, S. K., Thomas, G., Hawkins, E. S., and Svensson, L. G. (2020). SARS-CoV-2 and ACE2: The biology and clinical data settling the ARB and ACEI controversy. *EBioMedicine*, 58, 102907.
229. Bean, D. M., Kraljevic, Z., Searle, T., Bendayan, R., Kevin, O., Pickles, A., Folarin, A., Roguski, L., Noor, K., Shek, A., Zakeri, R., Shah, A. M., Teo, J. T. H., and Dobson, R. J. B. (2020). Angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers are not associated with severe COVID-19 infection in a multi-site UK acute hospital trust. *European Journal of Heart Failure*, 22(6), 967–974.
230. Mehta, N., Kalra, A., Nowacki, A. S., Anjewierden, S., Han, Z., Bhat, P., Carmona-Rubio, A. E., Jacob, M., Procop, G. W., Harrington, S., Milinovich, A., Svensson, L. G., Jehi, L., Young, J. B., and Chung, M. K. (2020). Association of Use of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin II Receptor Blockers with Testing Positive for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiology*, 5(9), 1020–1026.
231. Mancia, G., Rea, F., Luderghani, M., Apolone, G., and Corrao, G. (2020). Renin-Angiotensin-Aldosterone System Blockers and the Risk of Covid-19. *The New England Journal of Medicine*, 382(25), 2431–2440.
232. Paoloni-Giacobino, A., Chen, H., Peitsch, M. C., Rossier, C., and Antonarakis, S. E. (1997). Cloning of the TMPRSS2 gene, which encodes a novel serine protease with transmembrane, LDLRA, and SRCR domains and maps to 21q22.3. *Genomics*, 44(3), 309–320.
233. Zhang, H., Kang, Z., Gong, H., Xu, D., Wang, J., Li, Z., Cui, Xingang, Xiao, J., Xiao, J., Meng, T., Zhou, W., Liu, J., and Xu, Huji T. (2020). Digestive system is a potential route of COVID-19: an analysis of single-cell coexpression pattern of key proteins in viral entry process. *Gut*, 69(6):1010-8.
234. Lee, S., Yoon, G. Y., Myoung, J., Kim, S. J., and Ahn, D. G. (2020). Robust and persistent SARS-CoV-2 infection in the human intestinal brush border expressing cells. *Emerging Microbes and Infections*, 9(1), 2169–2179.
235. Zang, R., Gomez Castro, M. F., McCune, B. T., Zeng, Q., Rothlauf, P. W., Sonnek, N. M., Liu, Z., Brulois, K. F., Wang, X., Greenberg, H. B., Diamond, M. S., Ciorba, M. A., Whelan, S. P. J., and Ding, S. (2020). TMPRSS2 and TMPRSS4 promote

- SARS-CoV-2 infection of human small intestinal enterocytes. *Science Immunology*, 5(47), eabc3582.
236. Shapira, T., Monreal, I. A., Dion, S. P., Buchholz, D. W., Imbiakha, B., Olmstead, A. D., Jager, M., Désilets, A., Gao, G., Martins, M., Vandal, T., Thompson, C. A. H., Chin, A., Rees, W. D., Steiner, T., Nabi, I. R., Marsault, E., Sahler, J., Diel, D. G., Van de Walle, G. R., August, A., Whittaker, G. R., Boudreault, P. L., Leduc, R., Aguilar, H. C., and Jean, F. A. (2022). A TMPRSS2 inhibitor acts as a pan-SARS-CoV-2 prophylactic and therapeutic. *Nature*, 605(7909), 340–348.
 237. Healy, E. F., and Lilic, M. (2021). A model for COVID-19-induced dysregulation of ACE2 shedding by ADAM17. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 573, 158–163.
 238. Rios, F. J., Montezano, A. C., Camargo, L. L., Lopes, R. A., Redondo, Garcia, A. B., Cortes, E. A., Briones, A. M., John, M., and Touyz, R. M. (2023). Endothelial inflammation and dysfunction induced by SARS-CoV-2 spike protein 1 involve ADAM17 and interferon activation pathways. *Journal of Hypertension*, 41(Suppl 1), e88.
 239. Hedges, J. F., Snyder, D. T., Robison, A., Grifka-Walk, H. M., Blackwell, K., Shepardson, K., Kominsky, D., Rynda-Apple, A., Walcheck, B., and Jutila, M. A. (2022). An ADAM17-Neutralizing Antibody Reduces Inflammation and Mortality While Increasing Viral Burden in a COVID-19 Mouse Model. *Frontiers in Immunology*, 13, 918881.
 240. Jocher, G., Grass, V., Tschirner, S. K., Riepler, L., Breimann, S., Kaya, T., Oelsner, M., Hamad, M. S., Hofmann, L. I., Blobel, C. P., Schmidt-Weber, C. B., Gokce, O., Jakwerth, C. A., Trimpert, J., Kimpel, J., Pichlmair, A., and Lichtenthaler, S. F. (2022). ADAM10 and ADAM17 promote SARS-CoV-2 cell entry and spike protein-mediated lung cell fusion. *EMBO Reports*, 23(6), e54305.
 241. Romeo, E., Dave, M. H., Bacic, D., Ristic, Z., Camargo, S. M., Loffing, J., Wagner, C. A., and Verrey, F. (2006). Luminal kidney and intestine SLC6 amino acid transporters of B0AT-cluster and their tissue distribution in *Mus musculus*. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 290(2), F376–F383.
 242. Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., Xia, L., Guo, Y., and Zhou, Q. (2020). Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science (New York, N.Y.)*, 367(6485), 1444–1448.
 243. Ferreira-Duarte, M., Estevinho, M. M., Duarte-Araújo, M., Magro, F., and Morato, M. (2020). Unraveling the Role of ACE2, the Binding Receptor for SARS-CoV-2, in Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 26(12), 1787–1795.
 244. Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., Xia, L., and Zhou, Q. (2020). Structure of dimeric full-length human ACE2 in complex with B0AT1. *BioRxiv*, 2020-02.
 245. Camargo, S. M. R., Vuille-Dit-Bille, R. N., Meier, C. F., and Verrey, F. (2020). ACE2 and gut amino acid transport. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 134(21), 2823–2833.

246. Chen, Q., Gao, F., Gao, Y., Yang, S., Cao, J., Deng, H., Yang, F., Wang, Y., and Yuan, L. (2023). Intestinal ACE2 regulates glucose metabolism in diet-induced obese mice through a novel gut-islet axis mediated by tryptophan. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 31(5), 1311–1325.
247. Gupta, A., Madhavan, M. V., Sehgal, K., Nair, N., Mahajan, S., Sehrawat, T. S., Bikdeli, B., Ahluwalia, N., Ausiello, J. C., Wan, E. Y., Freedberg, D. E., Kirtane, A. J., Parikh, S. A., Maurer, M. S., Nordvig, A. S., Accili, D., Bathon, J. M., Mohan, S., Bauer, K. A., Leon, M. B., Krumholz, H. M., Uriel, N., Mehra, M. R., Elkind, M. S. V., Stone, G. W., Schwartz, A., Ho, D. D., Bilezikian, J. P., and Landry, D. W. (2020). Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nature Medicine*, 26(7), 1017–1032.
248. Ma, B., Zhang, Z., Li, Y., Lin, X., and Gu, N. (2022). Evaluation of Interactions between SARS-CoV-2 RBD and Full-Length ACE2 with Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulations. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 62(4), 936–944.
249. Drucker D. J. (2021). Diabetes, obesity, metabolism, and SARS-CoV-2 infection: the end of the beginning. *Cell Metabolism*, 33(3), 479–498.
250. Steenblock, C., Schwarz, P. E. H., Ludwig, B., Linkermann, A., Zimmet, P., Kulebyakin, K., Tkachuk, V. A., Markov, A. G., Lehnert, H., de Angelis, M. H., Rietzsch, H., Rodionov, R. N., Khunti, K., Hopkins, D., Birkenfeld, A. L., Boehm, B., Holt, R. I. G., Skyler, J. S., DeVries, J. H., Renard, E., Eckel, R. H., Alberti, K. G. M. M., Geloneze, B., Chan, J. C., Mbanya, J. C., Onyegbutulem, H. C., Ramachandran, A., Basit, A., Hassanein, M., Bewick, G., Spinass, G. A., Beuschlein, F., Landgraf, R., Rubino, F., Mingrone, G., and Bornstein, S. R. (2021). COVID-19 and metabolic disease: mechanisms and clinical management. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 9(11), 786–798.
251. Alamdari, N. M., Rahimi, F. S., Afaghi, S., Zarghi, A., Qaderi, S., Tarki, F. E., Ghafouri, S. R., and Besharat, S. (2020). The impact of metabolic syndrome on morbidity and mortality among intensive care unit admitted COVID-19 patients. *Diabetes and Metabolic Syndrome*, 14(6), 1979–1986.
252. Ghoneim, S., Butt, M. U., Hamid, O., Shah, A., and Asaad, I. (2020). The incidence of COVID-19 in patients with metabolic syndrome and non-alcoholic steatohepatitis: A population-based study. *Metabolism Open*, 8, 100057.
253. Perpiñan, C., Bertran, L., Terra, X., Aguilar, C., Lopez-Dupla, M., Alibalic, A., Riesco, D., Camaron, J., Perrone, F., Rull, A., Reverté, L., Yeregui, E., Marti, A., Vidal, F., and Auguet, T. (2021). Predictive Biomarkers of COVID-19 Severity in SARS-CoV-2 Infected Patients with Obesity and Metabolic Syndrome. *Journal of Personalized Medicine*, 11(3), 227.
254. Denova-Gutiérrez, E., Lopez-Gatell, H., Alomia-Zegarra, J. L., López-Ridaura, R., Zaragoza-Jimenez, C. A., Dyer-Leal, D. D., Cortés-Alcala, R., Villa-Reyes, T., Gutiérrez-Vargas, R., Rodríguez-González, K., Escondrillas-Maya, C., Barrientos-Gutiérrez, T., Rivera, J. A., and Barquera, S. (2020). The Association of Obesity, Type 2 Diabetes, and Hypertension with Severe Coronavirus Disease 2019 on

- Admission Among Mexican Patients. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 28(10), 1826–1832.
255. De Lusignan, S., Dorward, J., Correa, A., Jones, N., Akinyemi, O., Amirthalingam, G., Andrews, N., Byford, R., Dabrera, G., Elliot, A., Ellis, J., Ferreira, F., Lopez Bernal, J., Okusi, C., Ramsay, M., Sherlock, J., Smith, G., Williams, J., Howsam, G., Zambon, M., Joy, M., and Hobbs, F. D. R. (2020). Risk factors for SARS-CoV-2 among patients in the Oxford Royal College of General Practitioners Research and Surveillance Centre primary care network: a cross-sectional study. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(9), 1034–1042.
 256. Simonnet, A., Chetboun, M., Poissy, J., Raverdy, V., Noulette, J., Duhamel, A., Labreuche, J., Mathieu, D., Pattou, F., Jourdain, M., and LICORN and the Lille COVID-19 and Obesity study group (2020). High Prevalence of Obesity in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) Requiring Invasive Mechanical Ventilation. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 28(7), 1195–1199.
 257. Goyal, A., Gupta, Y., Kalaivani, M., Praveen, P. A., Ambekar, S., and Tandon, N. (2022). SARS-CoV-2 Seroprevalence in Individuals with Type 1 and Type 2 Diabetes Compared with Controls. *Endocrine Practice: Official Journal of The American College of Endocrinology and The American Association of Clinical Endocrinologists*, 28(2), 191–198.
 258. Zhu, L., She, Z. G., Cheng, X., Qin, J. J., Zhang, X. J., Cai, J., Lei, F., Wang, H., Xie, J., Wang, W., Li, H., Zhang, P., Song, X., Chen, X., Xiang, M., Zhang, C., Bai, L., Xiang, D., Chen, M. M., Liu, Y., Yan, Y., Liu, M., Mao, W., Zou, J., Liu, L., Chen, G., Luo, P., Xiao, B., Zhang, C., Zhang, Z., Lu, Z., Wang, J., Lu, H., Xia, X., Wang, D., Liao, X., Peng, G., Ye, P., Yang, J., Yuan, Y., Huang, X., Guo, J., Zhang, B. H., and Li, H. (2020). Association of Blood Glucose Control and Outcomes in Patients with COVID-19 and Pre-existing Type 2 Diabetes. *Cell Metabolism*, 31(6), 1068–1077.e3.
 259. Zhou, Y. J., Zheng, K. I., Wang, X. B., Sun, Q. F., Pan, K. H., Wang, T. Y., Ma, H. L., Chen, Y. P., George, J., and Zheng, M. H. (2020). Metabolic-associated fatty liver disease is associated with severity of COVID-19. *Liver International: Official Journal of The International Association for The Study of The Liver*, 40(9), 2160–2163.
 260. Yang, J., Tian, C., Chen, Y., Zhu, C., Chi, H., and Li, J. (2021). Obesity aggravates COVID-19: An updated systematic review and meta-analysis. *Journal of Medical Virology*, 93(5), 2662–2674.
 261. Sonmez, A., Demirci, I., Haymana, C., Tasci, I., Dagdelen, S., Salman, S., Ata, N., Sahin, I., Emral, R., Cakal, E., Atmaca, A., Sahin, M., Celik, O., Demir, T., Ertugrul, D., Unluturk, U., Caglayan, M., and Satman, I. (2021). *Journal of Diabetes*, 13(7), 585–595.
 262. Maddaloni, E., and Buzzetti, R. (2020). Covid-19 and diabetes mellitus: unveiling the interaction of two pandemics. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 36(7), e33213321.

263. Cummings, M. J., Baldwin, M. R., Abrams, D., Jacobson, S. D., Meyer, B. J., Balough, E. M., Aaron, J. G., Claassen, J., Rabbani, L. E., Hastie, J., Hochman, B. R., Salazar-Schicchi, J., Yip, N. H., Brodie, D., and O'Donnell, M. R. (2020). Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: a prospective cohort study. *Lancet (London, England)*, 395(10239), 1763–1770.
264. Guan, W. J., Ni, Z. Y., Hu, Y., Liang, W. H., Ou, C. Q., He, J. X., Liu, L., Shan, H., Lei, C. L., Hui, D. S. C., Du, B., Li, L. J., Zeng, G., Yuen, K. Y., Chen, R. C., Tang, C. L., Wang, T., Chen, P. Y., Xiang, J., Li, S. Y., Wang, J. L., Liang, Z. J., Peng, Y. X., Wei, L., Liu, Y., Hu, Y. H., Peng, P., Wang, J. M., Liu, J. Y., Chen, Z., Li, G., Zheng, Z. J., Qiu, S. Q., Luo, J., Ye, C. J., Zhu, S. Y., and Zhong, N. S.; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19 (2020). Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *The New England Journal of Medicine*, 382(18), 1708–1720.
265. Liu, R., and Nikolajczyk, B. S. (2019). Tissue Immune Cells Fuel Obesity-Associated Inflammation in Adipose Tissue and Beyond. *Frontiers in Immunology*, 10, 1587.
266. Dietz, W., and Santos-Burgoa, C. (2020). Obesity and its Implications for COVID-19 Mortality. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 28(6), 1005.
267. Pizzolla, A., Oh, D. Y., Luong, S., Prickett, S. R., Henstridge, D. C., Febbraio, M. A., O'Hehir, R. E., Rolland, J. M., and Hardy, C. L. (2016). High Fat Diet Inhibits Dendritic Cell and T Cell Response to Allergens but Does Not Impair Inhalational Respiratory Tolerance. *PloS one*, 11(8), e0160407.
268. Fu, Y., Cheng, Y., and Wu, Y. (2020). Understanding SARS-CoV-2-Mediated Inflammatory Responses: From Mechanisms to Potential Therapeutic Tools. *Virologica Sinica*, 35(3), 266–271.
269. Song, P., Li, W., Xie, J., Hou, Y., and You, C. (2020). Cytokine storm induced by SARS-CoV-2. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 509, 280–287.
270. Wang, Z., Li, S., and Huang, B. (2022). Alveolar macrophages: Achilles' heel of SARS-CoV-2 infection. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 242.
271. Jalloh, S., Olejnik, J., Berrigan, J., Nisa, A., Suder, E. L., Akiyama, H., Lei, M., Ramaswamy, S., Tyagi, S., Bushkin, Y., Mühlberger, E., and Gummuluru, S. (2022). CD169-mediated restrictive SARS-CoV-2 infection of macrophages induces pro-inflammatory responses. *PLoS Pathogens*, 18(10), e1010479.
272. Majidpoor, J., and Mortezaee, K. (2022). Interleukin-6 in SARS-CoV-2 induced disease: Interactions and therapeutic applications. *Biomedicine and Pharmacotherapy = Biomedecine and Pharmacotherapie*, 145, 112419.
273. Gorham, J., Moreau, A., Corazza, F., Peluso, L., Ponthieux, F., Talamonti, M., Izzi, A., Nagant, C., Ndieugnou Djangang, N., Garufi, A., Creteur, J., and Taccone, F. S. (2020). Interleukine-6 in critically ill COVID-19 patients: A retrospective analysis. *PloS One*, 15(12), e0244628.

274. Varchetta, S., Mele, D., Oliviero, B., Mantovani, S., Ludovisi, S., Cerino, A., Bruno, R., Castelli, A., Mosconi, M., Vecchia, M., Roda, S., Sachs, M., Klersy, C., and Mondelli, M. U. (2021). Unique immunological profile in patients with COVID-19. *Cellular and Molecular Immunology*, 18(3), 604–612.
275. Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., Xiao, Y., and Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet (London, England)*, 395(10223), 497–506.
276. Kaivola, J., Nyman, T. A., and Matikainen, S. (2021). Inflammasomes and SARS-CoV-2 Infection. *Viruses*, 13(12), 2513.
277. Del Re, A., Corpetti, C., Pesce, M., Seguela, L., Steardo, L., Palenca, I., Rurgo, S., De Conno, B., Sarnelli, G., and Esposito, G. (2021). Ultramicronized Palmitoylethanolamide Inhibits NLRP3 Inflammasome Expression and Pro-Inflammatory Response Activated by SARS-CoV-2 Spike Protein in Cultured Murine Alveolar Macrophages. *Metabolites*, 11(9), 592.
278. Amaral, M. P., and Bortoluci, K. R. (2020). Caspase-8 and FADD: Where Cell Death and Inflammation Collide. *Immunity*, 52(6), 890–892.
279. Tummers, B., and Green, D. R. (2017). Caspase-8: regulating life and death. *Immunological Reviews*, 277(1), 76–89.
280. Li, S., Zhang, Y., Guan, Z., Li, H., Ye, M., Chen, X., Shen, J., Zhou, Y., Shi, Z. L., Zhou, P., and Peng, K. (2020). SARS-CoV-2 triggers inflammatory responses and cell death through caspase-8 activation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1), 235.
281. Liu, L., Wei, Q., Lin, Q., Fang, J., Wang, H., Kwok, H., Tang, H., Nishiura, K., Peng, J., Tan, Z., Wu, T., Cheung, K. W., Chan, K. H., Alvarez, X., Qin, C., Lackner, A., Perlman, S., Yuen, K. Y., and Chen, Z. (2019). Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. *JCI Insight*, 4(4), e123158.
282. Khan, S., Shafiei, M. S., Longoria, C., Schoggins, J. W., Savani, R. C., and Zaki, H. (2021). SARS-CoV-2 spike protein induces inflammation via TLR2-dependent activation of the NF- κ B pathway. *eLife*, 10, e68563.
283. Chen, J. S., Alfajaro, M. M., Chow, R. D., Wei, J., Filler, R. B., Eisenbarth, S. C., and Wilen, C. B. (2021). Non-steroidal anti-inflammatory drugs dampen the cytokine and antibody response to SARS-CoV-2 infection. *Journal of Virology*, 95(7), e00014-21.
284. Wyler, E., Adler, J. M., Eschke, K., Teixeira Alves, G., Peidli, S., Pott, F., Kazmierski, J., Michalick, L., Kershaw, O., Bushe, J., Andreotti, S., Pennitz, P., Abdelgawad, A., Postmus, D., Goffinet, C., Kreye, J., Reincke, S. M., Prüss, H., Blüthgen, N., Gruber, A. D., Kuebler, W. M., Witzernath, M., Landthaler, M., Nouailles, G., and Trimpert, J. (2022). Key benefits of dexamethasone and antibody treatment in COVID-19 hamster models revealed by single-cell

- transcriptomics. *Molecular Therapy : The Journal of The American Society of Gene Therapy*, 30(5), 1952–1965.
285. Yuan, L., Zhou, M., Ma, J., Liu, X., Chen, P., Zhu, H., Tang, Q., Cheng, T., Guan, Y., and Xia, N. (2022). Dexamethasone ameliorates severe pneumonia but slightly enhances viral replication in the lungs of SARS-CoV-2-infected Syrian hamsters. *Cellular and molecular immunology*, 19(2), 290–292.
 286. Diamond, M. S., and Kanneganti, T. D. (2022). Innate immunity: the first line of defense against SARS-CoV-2. *Nature Immunology*, 23(2), 165–176.
 287. Winkler, E. S., Bailey, A. L., Kafai, N. M., Nair, S., McCune, B. T., Yu, J., Fox, J. M., Chen, R. E., Earnest, J. T., Keeler, S. P., Ritter, J. H., Kang, L. I., Dort, S., Robichaud, A., Head, R., Holtzman, M. J., and Diamond, M. S. (2020). SARS-CoV-2 infection of human ACE2-transgenic mice causes severe lung inflammation and impaired function. *Nature Immunology*, 21(11), 1327–1335.
 288. Grant, R. A., Morales-Nebreda, L., Markov, N. S., Swaminathan, S., Querrey, M., Guzman, E. R., Abbott, D. A., Donnelly, H. K., Donayre, A., Goldberg, I. A., Klug, Z. M., Borkowski, N., Lu, Z., Kihshen, H., Politanska, Y., Sichizya, L., Kang, M., Shilatifard, A., Qi, C., Lomasney, J. W., Argento, A. C., Kruser, J. M., Malsin, E. S., Pickens, C. O., Smith, S. B., Walter, J. M., Pawlowski, A. E., Schneider, D., Nannapaneni, P., Abdala-Valencia, H., Bharat, A., Gottardi, C. J., Budinger, G. R. S., Misharin, A. V., Singer, B. D., and Wunderink, R. G.; NU SCRIPT Study Investigators (2021). Circuits between infected macrophages and T cells in SARS-CoV-2 pneumonia. *Nature*, 590(7847), 635–641.
 289. Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., Xiao, Y., Gao, H., Guo, L., Xie, J., Wang, G., Jiang, R., Gao, Z., Jin, Q., Wang, J., and Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet (London, England)*, 395(10223), 497–506.
 290. Qin, C., Zhou, L., Hu, Z., Zhang, S., Yang, S., Tao, Y., Xie, C., Ma, K., Shang, K., Wang, W., and Tian, D. S. (2020). Dysregulation of Immune Response in Patients with Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of The Infectious Diseases Society of America*, 71(15), 762–768.
 291. Dantas, A. C. S., Oliveira, H. B. M., Gomes, C. P., Alves, D. L., Infante, P. D. B., Caitité, R. J. A., Fritsch, H. M., Cucco, M. S., Silva, L. S. C., Oliveira, C. N. T., Bittencourt, R. S., Amorim, A. T., Nascimento, A. L. P., Marinho, F. A. G. C., de Medeiros, D. S., de Oliveira, M. G. G., Mistro, S., de Melo, F. F., Pereira, T. T. S., Guimarães, A. M. S., Timenetsky, J., Moreira, P. M. B., de Oliveira, S. H. P., Alcantara, L. C. J., Giovanetti, M., Santos, L. A., Fonseca, V., Barreto, F. K., Campos, G. B., and Marques, L. M. (2022). Retrospective Analysis of the SARS-CoV-2 Infection Profile in COVID-19 Positive Patients in Vitoria da Conquista, Northeast Brazil. *Viruses*, 14(11), 2424.
 292. Lin, X., Fu, B., Yin, S., Li, Z., Liu, H., Zhang, H., Xing, N., Wang, Y., Xue, W., Xiong, Y., Zhang, S., Zhao, Q., Xu, S., Zhang, J., Wang, P., Nian, W., Wang, X., and

- Wu, H. (2021). ORF8 contributes to cytokine storm during SARS-CoV-2 infection by activating IL-17 pathway. *iScience*, 24(4), 102293.
293. Tomazini, B. M., Maia, I. S., Cavalcanti, A. B., Berwanger, O., Rosa, R. G., Veiga, V. C., Avezum, A., Lopes, R. D., Bueno, F. R., Silva, M. V. A. O., Baldassare, F. P., Costa, E. L. V., Moura, R. A. B., Honorato, M. O., Costa, A. N., Damiani, L. P., Lisboa, T., Kawano-Dourado, L., Zampieri, F. G., Olivato, G. B., Righy, C., Amendola, C. P., Roepke, R. M. L., Freitas, D. H. M., Forte, D. N., Freitas, F. G. R., Fernandes, C. C. F., Melro, L. M. G., Junior, G. F. S., Morais, D. C., Zung, S., Machado, F. R., and Azevedo, L. C. P.; COALITION COVID-19 Brazil III Investigators (2020). Effect of Dexamethasone on Days Alive and Ventilator-Free in Patients with Moderate or Severe Acute Respiratory Distress Syndrome and COVID-19: The CoDEX Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 324(13), 1307–1316.
 294. Taboada, M., Rodríguez, N., Varela, P. M., Rodríguez, M. T., Abelleira, R., González, A., Casal, A., Díaz Peromingo, J. A., Lama, A., Domínguez, M. J., Rábade, C., Páez, E. M., Riveiro, V., Pernas, H., Beceiro, M. D. C., Caruezo, V., Naveira, A., Cariñena, A., Cabaleiro, T., Estany-Gestal, A., Zarra, I., Pose, A., Valdés, L., and Álvarez-Escudero, J. (2022). Effect of high versus low dose of dexamethasone on clinical worsening in patients hospitalised with moderate or severe COVID-19 pneumonia: an open-label, randomised clinical trial. *The European Respiratory Journal*, 60(2), 2102518.
 295. Engel, J. J., van der Made, C. I., Keur, N., Setiabudiawan, T., Röring, R. J., Damoraki, G., Dijkstra, H., Lemmers, H., Ioannou, S., Poulakou, G., van der Meer, J. W. M., Giamarellos-Bourboulis, E. J., Kumar, V., van de Veerdonk, F. L., Netea, M. G., and Ziogas, A. (2023). Dexamethasone attenuates interferon-related cytokine hyperresponsiveness in COVID-19 patients. *Frontiers in Immunology*, 14, 1233318.
 296. Sylvester, S. V., Rusu, R., Chan, B., Bellows, M., O'Keefe, C., and Nicholson, S. (2022). Sex differences in sequelae from COVID-19 infection and in long COVID syndrome: a review. *Current Medical Research and Opinion*, 38(8), 1391–1399.
 297. Richardson, S., Hirsch, J. S., Narasimhan, M., Crawford, J. M., McGinn, T., Davidson, K. W., the Northwell COVID-19 Research Consortium, Barnaby, D. P., Becker, L. B., Chelico, J. D., Cohen, S. L., Cookingham, J., Coppa, K., Diefenbach, M. A., Dominello, A. J., Duer-Hefele, J., Falzon, L., Gitlin, J., Hajizadeh, N., Harvin, T. G., Hirschwerk, D. A., Kim, E. J., Kozel, Z. M., Marrast, L. M., Mogavero, J. N., Osorio, G. A., Qiu, M., and Zanos, T. P. (2020). Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA*, 323(20), 2052–2059.
 298. Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., Xiang, J., Wang, Y., Song, B., Gu, X., Guan, L., Wei, Y., Li, H., Wu, X., Xu, J., Tu, S., Zhang, Y., Chen, H., and Cao, B. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet (London, England)*, 395(10229), 1054–1062.
 299. Stokes, E. K., Zambrano, L. D., Anderson, K. N., Marder, E. P., Raz, K. M., El Burai Felix, S., Tie, Y., and Fullerton, K. E. (2020). Coronavirus Disease 2019 Case

- Surveillance - United States, January 22-May 30, 2020. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 69(24), 759–765.
300. Salje, H., Tran Kiem, C., Lefrancq, N., Courtejoie, N., Bosetti, P., Paireau, J., Andronico, A., Hozé, N., Richet, J., Dubost, C. L., Le Strat, Y., Lessler, J., Levy-Bruhl, D., Fontanet, A., Opatowski, L., Boelle, P. Y., and Cauchemez, S. (2020). Estimating the burden of SARS-CoV-2 in France. *Science (New York, N.Y.)*, 369(6500), 208–211.
 301. Docherty, A. B., Harrison, E. M., Green, C. A., Hardwick, H. E., Pius, R., Norman, L., Holden, K. A., Read, J. M., Dondelinger, F., Carson, G., Merson, L., Lee, J., Plotkin, D., Sigfrid, L., Halpin, S., Jackson, C., Gamble, C., Horby, P. W., Nguyen-Van-Tam, J. S., Ho, A., Russell, C. D., Dunning, J., Openshaw, P. J., Baillie, J. K., and Semple, M. G.; ISARIC4C investigators (2020). Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: prospective observational cohort study. *BMJ (Clinical research ed.)*, 369, m1985.
 302. Heald, A. H., Jenkins, D. A., Williams, R., Sperrin, M., Mudaliar, R. N., Syed, A., Naseem, A., Bowden Davies, K. A., Peng, Y., Peek, N., Ollier, W., Anderson, S. G., Delanerolle, G., and Gibson, J. M. (2022). Mortality in People with Type 2 Diabetes Following SARS-CoV-2 Infection: A Population Level Analysis of Potential Risk Factors. *Diabetes Therapy : Research, Treatment and Education of Diabetes and Related Disorders*, 13(5), 1037–1051.
 303. Sahu, A. K., Mathew, R., Aggarwal, P., Nayer, J., Bhoi, S., Satapathy, S., and Ekka, M. (2021). Clinical Determinants of Severe COVID-19 Disease - A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Global Infectious Diseases*, 13(1), 13–19.
 304. Notarte, K. I., de Oliveira, M. H. S., Peligro, P. J., Velasco, J. V., Macaranas, I., Ver, A. T., Pangilinan, F. C., Pastrana, A., Goldrich, N., Kavteladze, D., Gellaco, M. M. L., Liu, J., Lippi, G., Henry, B. M., and Fernández-de-Las-Peñas, C. (2022). Age, Sex and Previous Comorbidities as Risk Factors Not Associated with SARS-CoV-2 Infection for Long COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Medicine*, 11(24), 7314.
 305. Maglietta, G., Diodati, F., Puntoni, M., Lazzarelli, S., Marcomini, B., Patrizi, L., and Caminiti, C. (2022). Prognostic Factors for Post-COVID-19 Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Medicine*, 11(6), 1541.
 306. Augustin, M., Schommers, P., Stecher, M., Dewald, F., Gieselmann, L., Gruell, H., Horn, C., Vanshylla, K., Cristanziano, V. D., Osebold, L., Roventa, M., Riaz, T., Tschernoster, N., Altmueller, J., Rose, L., Salomon, S., Priesner, V., Luers, J. C., Albus, C., Rosenkranz, S., Gathof, B., Fätkenheuer, G., Hallek, M., Klein, F., Suárez, I., and Lehmann, C. (2021). Post-COVID syndrome in non-hospitalised patients with COVID-19: a longitudinal prospective cohort study. *The Lancet Regional Health Europe*, 6, 100122.
 307. Sama, I. E., Ravera, A., Santema, B. T., van Goor, H., Ter Maaten, J. M., Cleland, J. G. F., Rienstra, M., Friedrich, A. W., Samani, N. J., Ng, L. L., Dickstein, K., Lang, C. C., Filippatos, G., Anker, S. D., Ponikowski, P., Metra, M., van Veldhuisen, D. J., and Voors, A. A. (2020). Circulating plasma concentrations of angiotensin-

- converting enzyme 2 in men and women with heart failure and effects of renin-angiotensin-aldosterone inhibitors. *European Heart Journal*, 41(19), 1810–1817.
308. Okwan-Duodu, D., Lim, E. C., You, S., and Engman, D. M. (2021). TMPRSS2 activity may mediate sex differences in COVID-19 severity. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), 100.
 309. Montopoli, M., Zumerle, S., Vettor, R., Rugge, M., Zorzi, M., Catapano, C. V., Carbone, G. M., Cavalli, A., Pagano, F., Ragazzi, E., Prayer-Galetti, T., and Alimonti, A. (2020). Androgen-deprivation therapies for prostate cancer and risk of infection by SARS-CoV-2: a population-based study (N = 4532). *Annals of Oncology: Official Journal of The European Society for Medical Oncology*, 31(8), 1040–1045.
 310. Li, F., Han, M., Dai, P., Xu, W., He, J., Tao, X., Wu, Y., Tong, X., Xia, X., Guo, W., Zhou, Y., Li, Y., Zhu, Y., Zhang, X., Liu, Z., Aji, R., Cai, X., Li, Y., Qu, D., Chen, Y., Jiang, S., Wang, Q., Ji, H., Xie, Y., Sun, Y., Lu, L., and Gao, D. (2021). Distinct mechanisms for TMPRSS2 expression explain organ-specific inhibition of SARS-CoV-2 infection by enzalutamide. *Nature communications*, 12(1), 866.
 311. Akar, F., Yildirim, O. G., Yucel Tenekeci, G., Tunc, A. S., Demirel, M. A., and Sadi, G. (2022). Dietary high-fructose reduces barrier proteins and activates mitogenic signalling in the testis of a rat model: Regulatory effects of kefir supplementation. *Andrologia*, 54(3), e14342.
 312. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275.
 313. Coronati, M., Baratta, F., Pastori, D., Ferro, D., Angelico, F., and Del Ben, M. (2022). Added Fructose in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and in Metabolic Syndrome: A Narrative Review. *Nutrients*, 14(6), 1127.
 314. Prince, P.D., Santander, Y.A., Gerez, E.M., Hocht, C., Polizio, A.H., Mayer, M.A., Taira, C.A., Fraga, C.G., Galleano, M., and Carranza, A. (2017). Fructose increases corticosterone production in association with NADPH metabolism alterations in rat epididymal white adipose tissue. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 46, 109-116.
 315. Doridot, L., Hannou, S.A., Krawczyk, S.A., Tong, W., Kim, M.S., McElroy, G.S., Fowler, A.J., Astapova, II, and Herman, M.A. (2021). A Systems Approach Dissociates Fructose-Induced Liver Triglyceride from Hypertriglyceridemia and Hyperinsulinemia in Male Mice. *Nutrients*, 13(10).
 316. Ichigo, Y., Takeshita, A., Hibino, M., Nakagawa, T., Hayakawa, T., Patel, D., Field, C.J., and Shimada, M. (2019). High-Fructose Diet-Induced Hypertriglyceridemia Is Associated with Enhanced Hepatic Expression of ACAT2 in Rats. *Physiological Research*, 68(6), 1021-1026.
 317. Xiao, G., Zhang, T., Yu, S., Lee, S., Calabuig-Navarro, V., Yamauchi, J., Ringquist, S., and Dong, H.H. (2013). ATF4 protein deficiency protects against high

- fructose-induced hypertriglyceridemia in mice. *Journal of Biological Chemistry*, 288(35), 25350- 25361.
318. Catena, C., Giacchetti, G., Novello, M., Colussi, G., Cavarape, A., and Sechi, L.A. (2003). Cellular mechanisms of insulin resistance in rats with fructose-induced hypertension. *American journal of Hypertension*, 16(11 Pt 1), 973-978.
 319. Su, C.F., Chang, Y.Y., Pai, H.H., Liu, I.M., Lo, C.Y., and Cheng, J.T. (2004). Infusion of beta-endorphin improves insulin resistance in fructose-fed rats. *Hormone and Metabolic Research*, 36(8), 571-577.
 320. Castro, M.C., Massa, M.L., Arbelaez, L.G., Schinella, G., Gagliardino, J.J., and Francini, F. (2015). Fructose-induced inflammation, insulin resistance and oxidative stress: A liver pathological triad effectively disrupted by lipoic acid. *Life Sciences*, 137, 1-6.
 321. Softic, S., Stanhope, K.L., Boucher, J., Divanovic, S., Lanasa, M.A., Johnson, R.J., and Kahn, C.R. (2020). Fructose and hepatic insulin resistance. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 57(5), 308-322.
 322. Li, J. M., Yu, R., Zhang, L. P., Wen, S. Y., Wang, S. J., Zhang, X. Y., Xu, Q., and Kong, L. D. (2019). Dietary fructose-induced gut dysbiosis promotes mouse hippocampal neuroinflammation: a benefit of short-chain fatty acids. *Microbiome*, 7(1), 98.
 323. Kaden-Volynets, V., Günther, C., Zimmermann, J., Beisner, J., Becker, C., and Bischoff, S. C. (2019). Deletion of the Casp8 gene in mice results in ileocolitis, gut barrier dysfunction, and malassimilation, which can be partially attenuated by inulin or sodium butyrate. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 317(4), G493–G507.
 324. Yildirim, O. G., Guney, C., Alcigir, M. E., and Akar, F. (2023). High-fructose consumption suppresses insulin signaling pathway accompanied by activation of macrophage and apoptotic markers in rat testis. *Reproductive Biology*, 23(4), 100815.
 325. Tan, R., Dong, H., Chen, Z., Jin, M., Yin, J., Li, H., Shi, D., Shao, Y., Wang, H., Chen, T., Yang, D., and Li, J. (2021). Intestinal Microbiota Mediates High-Fructose and High-Fat Diets to Induce Chronic Intestinal Inflammation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 654074.
 326. Patel, S. and Santani, D. (2009). Role of NF-kappa B in the pathogenesis of diabetes and its associated complications. *Pharmacological Reports*, 61(4), 595-603.
 327. Kovacevic, S., Brkljacic, J., Vojnovic Milutinovic, D., Gligorovska, L., Bursac, B., Elakovic, I., and Djordjevic, A. (2021). Fructose Induces Visceral Adipose Tissue Inflammation and Insulin Resistance Even Without Development of Obesity in Adult Female but Not in Male Rats. *Frontiers in Nutrition*, 8, 749328.
 328. Man, S.M. and Kanneganti, T.D. (2015). Regulation of inflammasome activation. *Immunological Reviews*, 265(1), 6-21.

329. Tan, J., Wan, L., Chen, X., Li, X., Hao, X., Li, X., Li, J., and Ding, H. (2019). Conjugated Linoleic Acid Ameliorates High Fructose-Induced Hyperuricemia and Renal Inflammation in Rats via NLRP3 Inflammasome and TLR4 Signaling Pathway. *Molecular Nutrition and Food Research*, 63(12), e1801402.
330. Dean, S. A., Tan, J., O'Brien, E. R., and Leenen, F. H. (2005). 17beta-estradiol downregulates tissue angiotensin-converting enzyme and ANG II type 1 receptor in female rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 288(3), R759–R766.
331. Bukowska, A., Spiller, L., Wolke, C., Lendeckel, U., Weinert, S., Hoffmann, J., Bornfleth, P., Kutschka, I., Gardemann, A., Isermann, B., and Goette, A. (2017). Protective regulation of the ACE2/ACE gene expression by estrogen in human atrial tissue from elderly men. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 242(14), 1412–1423.
332. Wang, H., Sun, X., L VonCannon, J., Kon, N. D., Ferrario, C. M., and Groban, L. (2021). Estrogen receptors are linked to angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), ADAM metallopeptidase domain 17 (ADAM-17), and transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2) expression in the human atrium: insights into COVID-19. *Hypertension Research : Official Journal of The Japanese Society of Hypertension*, 44(7), 882–884.
333. Huffman, A. M., Rezq, S., Basnet, J., Yanes Cardozo, L. L., and Romero, D. G. (2021). SARS-CoV-2 Viral Entry Proteins in Hyperandrogenemic Female Mice: Implications for Women with PCOS and COVID-19. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4472.
334. Stanimirovic, J., Obradovic, M., Jovanovic, A., Sudar-Milovanovic, E., Zafirovic, S., Pitt, S. J., Stewart, A. J., and Isenovic, E. R. (2016). A high fat diet induces sex-specific differences in hepatic lipid metabolism and nitrite/nitrate in rats. *Nitric Oxide : Biology and Chemistry*, 54, 51–59.



EKLER

EK-1. Etik kurul izin belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 18.01.2022-E.265894



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

Sayı : E-66332047-604.01.02-265894
 Konu : Değerlendirme ve Onay

18.01.2022

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

Araştırmacı grubu Fatma AKAR ve Aslınur DOĞAN'dan oluşan, G.Ü.ET-22.007 kod numaralı ve "*Yüksek Fruktoz Diyetinin Sars-Cov-2 İntestinal Girişini Belirleyen Moleküllerin Ekspresyonu ve İnflamasyon Üzerine Etkilerinin Dişi ve Erkek Sıçanlarda İncelenmesi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-22.007 and entitled "*Investigation of The Effects of Dietary High-Fructose on The Expression of Key Molecules for İntestinal Entry of Sars-Cov-2 and İnflammation in Female and Male Rats* " is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü : Rat Wistar Albino
 Hayvan Sayısı : 30

Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

Belge Doğrulama Kodu :BSNCPZ7BA2

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Takip Adresi : <https://belgedogrulama.gazi.edu.tr/belgedogrulama.aspx>

EK-1. (devamı) Etik kurul izin belgesi

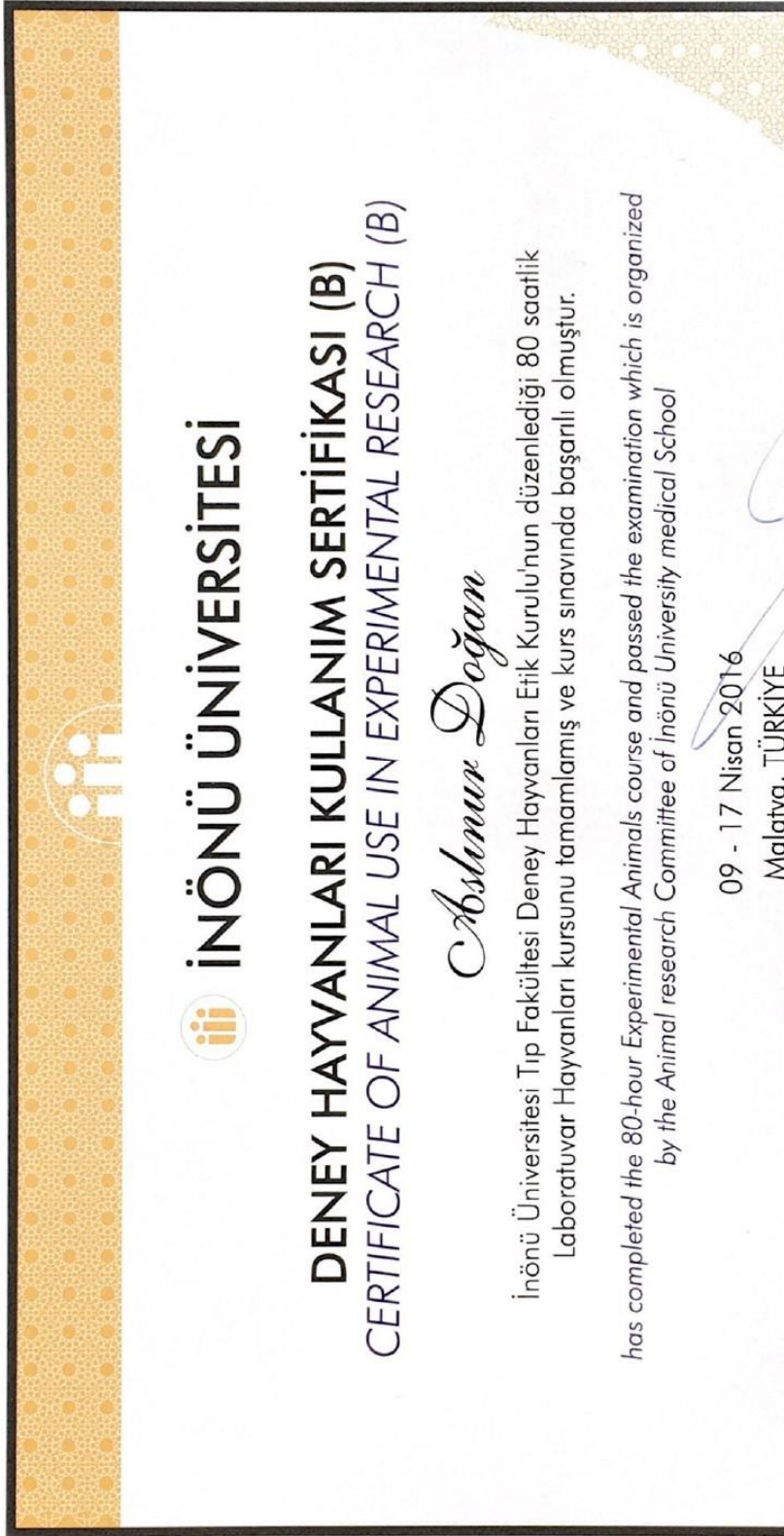
Evrak Tarih ve Sayısı: 18.01.2022-E.265894

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 14/01/2022		TOPLANTI SAYISI : 01	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)			
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU			
Prof.Dr.Tuncay PEKER			
Prof.Dr.Fatma AKAR			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIACIK			
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ			
Prof.Dr.İpek SÜNTAR			
Prof.Dr.Neşet Volkan ASAR			
Doç.Dr.Emre BARIŞ			
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER			
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ			

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-2. Deney hayvanları kullanım sertifikası



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DOĞAN, Aslınur
Uyruğu : T.C.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü / Farmakoloji (Ecz) Anabilim Dalı	Devam ediyor
Lisans	İnönü Üniversitesi / Eczacılık Fakültesi / Eczacılık Bölümü	2016
Lise	Malatya Anadolu Lisesi	2010

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
Devam ediyor	Adıyaman Üniversitesi/Eczacılık Fakültesi/ Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü/ Farmasötik Kimya Anabilim Dalı	Öğretim Görevlisi
2016–2019	Malatya Özel EGM Hayat Hastanesi	Mesul Müdür Eczacı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. **Doğan A.**, Akar F. (2023). The renin-angiotensin system in fructose-induced metabolic syndrome. *Turkish Journal of Clinics and Laboratory*, 14(1), 184-192., doi:10.18663/tjcl.1242947 (Kontrol No: 8285847)

2. Lolak N., Boğa M., Deniz S. G., Tuneg M., **Doğan A.**, Akocak S. (2022). In silico studies and DNA cleavage, antioxidant, acetylcholinesterase, and butyrylcholinesterase activity evaluation of bis-histamine Schiff bases and bis-Spinaceamine substituted derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, doi: 10.1007/s11094-022-02581-7 (Yayın No: 7600989)
3. **Doğan A.**, Şengül F., Lolak N., Akocak S. (2022). In silico molecular docking study on selective cyclooxygenase-2 inhibitor drugs for sars-cov-2 active main protease. *Novel Approaches in Drug Designing & Development*, 6(3), 1-5., doi:10.19080/NAPDD.2022.06.555686 (Yayın No: 7627914)
4. Lolak N., Tuneg M., **Doğan A.**, Boğa M., Akocak S. (2020). Synthesis and biological evaluation of 1,3,5-triazine-substituted ureido benzenesulfonamides as antioxidant, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Reports*, 3(2), 22-31. (Kontrol No: 6683562)

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

1. **Doğan A.**, Erten F., Şahin K., Akar F. The effect of a high-fructose diet on ileal expression of angiotensin converting enzymes (ACE, ACE2), metabolic and inflammatory factors in female and male rats. *6th International Aegean Conferences on Natural and Medical Sciences*, İzmir, Türkiye, 20-22 Aralık 2022, ss.248-250 (sözlü sunum bildirisi).

Hobiler

Farklı kültürleri keşfetmek, bilgisayar teknolojileri ile ilgilenmek



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..