

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**YÜKSEK FRUKTOZ İLE BESLENEN SIÇANLARDA KAN LİPİT PROFİLİ VE
KARACİĞER LİPİT AKÜMÜLASYONU ÜZERİNE RESVERATROLÜN
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ONUR GÖKHAN YILDIRIM

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Fatma AKAR

ANKARA
OCAK 2012

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**YÜKSEK FRUKTOZ İLE BESLENEN SIÇANLARDA KAN LİPİT PROFİLİ VE
KARACİĞER LİPİT AKÜMÜLASYONU ÜZERİNE RESVERATROLÜN
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ONUR GÖKHAN YILDIRIM

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Fatma AKAR

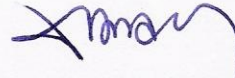
Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **02/2011-39** proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
OCAK 2012

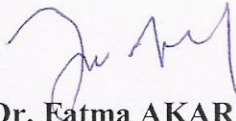
**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Farmakoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : 19/01/2012



**Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı**



**Prof. Dr. Fatma AKAR
Gazi Üniversitesi**



**Prof. Dr. Nuray ARI
Ankara Üniversitesi**

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Şekiller	IV
Resimler	VI
Tablolar	VIII
Semboller, Kısaltmalar	IV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Metabolik Sendrom	3
2.2. Yüksek Fruktoz İçeren Mısır Şurubu	5
2.2.1. Fruktozun Kimyasal Yapısı	7
2.2.2. Fruktozun Absorbsiyonu	8
2.2.3. Fruktozun Metabolizması	10
2.2.4. Fruktozun İnsülin Rezistansı ile İlişkisi	12
2.2.5. Fruktozun Karaciğer Yağ Akümülayonu ile İlişkisi	14
2.2.6 Diyetle Yüksek Fruktoz İçeren Mısır Şurubu ile Yapılan	22
Deneyse Çalışmalar	
2.3. Resveratrol	25
2.3.1. Resveratrolün Sentezi	25
2.3.2. Resveratrolün Etkinliği ve Farmakokinetiği	27
2.3.3. Metabolik Sendromda Resveratrolün Etkisi	28
2.3.4. Resveratrolün Lipit Profili Üzerine Etkisi	29
2.3.5. Resveratrolün Karaciğer Yağ Akümülayonu ile İlişkisi	30
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	33
3.1. Hayvanlar ve Diyet	33
3.2 Yem ve Sıvı Alımı Ölçümü	34
3.3. Ağırlık Değişimi	35
3.4 Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
3.5. Kan Glikoz Düzeyi Ölçümü	35

3.6. Plazma Lipit Düzeyi Ölçümü	36
3.7. İnsülin Düzeylerinin Ölçümü	36
3.8. Plazma ALT ve AST Ölçümü	37
3.9. Karaciğerin Çıkarılması ve Histolojik İnceleme İçin Hazırlanması	37
3.10. İstatistiksel Analiz	39
4. BULGULAR	40
4.1. Deney Gruplarının Beden Ağırlığı, Resveratol ile Günlük Su-Yem Tüketim Miktarları	40
4.2. Deney Gruplarının Glikoz ve İnsülin Düzeyleri	41
4.3. Deney Gruplarının Plazma Lipit Profili	44
4.4. Deney Gruplarının Karaciğer Ağırlıkları, ALT ve AST Düzeyleri ile Karaciğer Histolojisi	46
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇ	66
7. ÖZET	67
8. SUMMARY	69
9. KAYNAKLAR	70
10. EKLER	85
11. ÖZGEÇMİŞ	87

ŞEKİLLER

Şekil 1. Glikoz, fruktoz ve sükrozun kimyasal yapıları.	7
Şekil 2. İntestinal epitelyumda fruktoz taşınımı.	9
Şekil 3. Karaciğerde fruktoz metabolizması.	11
Şekil 4. Fruktozla oluşan insülin rezistansını açıklayan olası mekanizmalar.	12
Şekil 5. Non-alkoloik hepatik steatozisin karaciğer ve adipoz dokuda oluşumu.	17
Şekil 6. Resveratrolün <i>cis</i> (üst) ve <i>trans</i> (alt) izomerlerinin kimyasal yapısı.	26
Şekil 7. Resveratrolün sentezi.	27
Şekil 8A. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarından arter kan örneklerinde plazma glikoz (mg/dl) düzeyi.	42
Şekil 8B. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarının ven kan örneklerinde plazma glikoz (mg/dl) düzeyi.	42
Şekil 9. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarından plazma örneklerinin insülin (ng/ml) düzeyi.	43

Şekil 10. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, 45
YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarında plazma örneklerinin
trigliserit (mg/dl) düzeyi.

Şekil 11. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, 45
YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarından plazma örneklerinin
total kolesterol (mg/dl) düzeyi.

Şekil 12. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, 46
YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarından plazma örneklerinin
HDL (mg/dl) düzeyi.

Şekil 13. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, 47
YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarının karaciğer ağırlıkları
(gram).

Şekil 14A. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, 48
YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarının plazma AST düzeyleri
(IU/l).

Şekil 14B. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, 48
YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarının plazma ALT düzeyleri
(IU/l).

RESİMLER

Resim 1. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan Kontrol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü.	49
Resim 2. Oil red O (ORO) ile boyanan Kontrol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü.	50
Resim 3. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan Resveratol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü.	51
Resim 4. Oil red O (ORO) ile boyanan Resveratol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü.	52
Resim 5. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan YFMŞ 10 Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü.	53
Resim 6. Oil red O (ORO) ile boyanan YFMŞ 10 Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü.	54
Resim 7. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan YFMŞ 10 + Resveratol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü.	55
Resim 8. Oil red O (ORO) ile boyanan YFMŞ 10 + Resveratol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü.	56
Resim 9. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan YFMŞ 20 Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü.	57
Resim 10. Oil red O (ORO) ile boyanan YFMŞ 20 Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü.	58

Resim 11. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan YFMŞ 20 + Resveratol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü.	59
Resim 12. Oil red O (ORO) ile boyanan YFMŞ 20 + Resveratrol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü.	60

TABLÖLAR

Tablo 1. Deney gruplarındaki sıçanların vücut ağırlıkları değişimi 41
günlük tüketilen yem ve su miktarları gösteren tablo.

SEMBOLLER, KISALTMALAR

VKİ	: Vücut kitle indeksi
GLUT	: Glikoz taşıyıcısı
TNF	: Tümör nekroz faktör
iNOS	: İndüklenebilen nitrik oksit sentaz
NAYKH	: Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı
NASH	: Non-alkolik steatohepatit
SREBP-1c	: Sterol reseptör elemanlarını bağlayıcı protein-1c
YFMŞ	: Fruktozdan zengin mısır şurubu,
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
HE	: Hemotoksilen-eozin
ORO	: Oil Red O
ApoB	: Apolipoprotein B
MTP	: Mikrozomal trigliserit transfer protein
ER Stres	: Endoplazmik Retikulum Stres
ROS	: <i>Reaktif oksijen türleri</i>
FFA	: Serbest yağ asitleri
TG	: Trigliserit
PPARγ	: <i>Peroksizom proliferatör-aktif edici reseptör-γ</i>

1. GİRİŞ

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde giderek artan obeziteye, tüketimi gün geçtikçe artan fruktozun neden olabileceği ileri sürülmektedir. Fruktoz monosakkarit olarak pek çok sebze ve meyve içinde bulunduğu gibi, bir disakkarit olan sükroz içinde glikoz ile birlikte bulunmaktadır.

Günümüzde piyasada sıklıkla kullanılan yüksek fruktoz içeren mısır şurubu (high fructose corn syrup, HFCS) %55 fruktoz, %45 glikoz ve %3 glikoz polimerleri içermektedir (HFCS-55). Şekerli içecekler ve hazır gıdalar içinde yüksek fruktoz içeren mısır şurubu son 30 yılda sükrozun yerine ana tatlandırıcı olarak öne çıkmıştır. Halen Amerika Birleşik Devletleri'nde günlük toplam kalori alımının yaklaşık %10'unun yüksek fruktoz içeren mısır şurubu kaynaklı fruktoz oluşturmaktadır¹.

Deney hayvanlarında, yüksek fruktoz alımının insülin rezistansı, hipertrigliserdemia, hepatik steatozis ve hipertansiyona neden olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda fruktoz ile tatlandırılmış içecek tüketiminin postprandiyal trigliserit düzeyini artırdığı ve insülin duyarlılığını azalttığı fakat, bu etkilerin glikozlu içecek tüketenlerde oluşmadığı saptanmıştır².

Deney hayvanlarında metabolik sendrom oluşturmak üzere kullanılan şeker genellikle saf fruktoz şeklindedir. Fakat, insan diyetinde saf fruktoz tatlandırıcı olarak kullanılmamaktadır. Hazır gıdalar içinde en fazla kullanılan şekerlerden sükroz bir disakkarit olup bir molekül glikoz ve bir molekül fruktozdan oluşmaktadır. Son zamanlarda sükrozun yerini alan

mısır şurubu içinde ise monosakkarit olarak glikoz ve fruktoz yan yana bulunmaktadır. Mısır şurubunun deney hayvanları ve insanlar üzerinde biyolojik etkileri yeterince araştırılmamıştır. Biz bu çalışmada, içme suyunu %10 ve %20 oranında yüksek fruktoz içeren mısır şurubu ile tatlandırarak Wistar sıçanların 10 hafta boyunca tüketmesini sağladık. Araştırmanın birinci kısmında mısır şurubunun kan lipid profili, glikoz ve insülin düzeyi üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın ikinci kısmında ise, karaciğer fonksiyonlarının göstergesi olan enzimlerden ALT ve AST ile karaciğer histolojisi incelenmiştir. Aynı zamanda, kardiyovasküler ve metabolik fonksiyonlar üzerinde pek çok olumlu etkisi saptanmış olan resveratolün bu parametreler üzerindeki etkinliği incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Metabolik Sendrom

Bu sendromu 1988 yılında ilk kez tanımlayan (o zaman syndrom x olarak tanımlanmıştır)³ Dr. Reaven, bu açıklamasından 5 yıl geçtikten sonra bir araştırmasında şu açıklamayı yapmaktadır: “İnsüline bağımlı şeker emilimine karşı direnç geliştirmiş olan insanlarda oluşan değişimler bir sendrom altında toplanabilir görüşündeyim. Bu sendromun erişkin tipi şeker hastalığı, yüksek tansiyon ve koroner kalp hastalığı gelişiminde ve seyrinde önemli bir rol oynadığı düşünülebilir”⁴.

Metabolik sendromun yaygınlaşmasında gelişmiş toplum bireylerinin hareketsiz yaşamları, beslenme şekillerinde değişiklikler ve çevresel unsurların yanında genetik faktörler etkili olmaktadır⁵.

Metabolik sendrom tanısının konulması son derece önem teşkil etmektedir. Herşeyden önce çok basit ölçümlerle fark edilebilen metabolik sendrom, insanların kalp hastalığı, şeker hastalığı, kanser gibi kronik hastalık riskleri ile ilgili bilgi verir⁶. Metabolik sendromu olan 172.573 kişide yapılan bir araştırmanın sonuçlarına göre erkeklerde kalp-damar hastalığı gelişme riski metabolik sendromu olmayanlara göre 1,78 kat, kadınlarda ise 2,63 kat daha fazla olduğu saptanmıştır⁷. Tip II diyabet (erişkin tipi) şeker hastalığı olmaksızın metabolik sendromu olanlarda tip II diyabet gelişme olasılığı olmayanlara göre 5 kat fazla olarak saptanmıştır⁸.

Bel çevresi obezitesi, bozulmuş glikoz toleransı, dislipidemi ve hipertansiyonu içeren bir takım fizyolojik anormallikler olarak metabolik sendrom tanımlanmıştır³. İlk olarak 1988'deki Dr. Reaven'ın tanımından sonra, metabolik sendrom sıklığı gelişen ülkelerdeki yetişkinlerde %20'nin üzerinde bir artış göstermiştir^{9,10}. Metabolik sendrom sıklığının yaş ile artması diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde önemli bir risk faktörüdür^{9,11,12}.

Çevresel ve kalıtsal faktörler metabolik sendrom gelişimine katkı sağlar. Ancak bu bozukluğun sebepleri açık değildir. Asıl nedenin insülin rezistansı olduğu ve buna bağlı olarak da kardiyovasküler hastalıkların geliştiği en çok kabul gören hipotezdir^{3,13}. İnsülin rezistansı hiperinsülinemi ile birlikte insülin etkisinde bir duyarsızlaşma olarak tanımlanmaktadır¹⁴. Ayrıca, deney hayvanlarındaki metabolik sendrom modellerinde ve insan çalışmaları sonucunda hiperinsülineminin oluşturduğu vasküler insülin rezistansının hipertansiyona yol açabileceği görülmüştür^{15,16}.

Son yıllarda, endüstrüleşmiş toplumlarda görülen karbonhidrat tüketimindeki dramatik artışın metabolik sendromun yaygınlaşmasına neden olan en önemli faktör olduğu ileri sürülmüştür^{17,18}.

Deney hayvanları^{15,21} ve insan^{19,20} üzerinde yapılan araştırmalarda diyet içinde alınan fruktoz ve sükrozun metabolik sendrom belirtilerine yol açtığı gösterilmiştir. Metabolik sendromun ortaya çıkmasında diyet içindeki makrobesinlerin rolünün bilinmesiyle birlikte genetik faktörlerinde önemli olduğu bilinmektedir¹⁶.

Metabolik sendromun göstergelerinden biri olarak kabul edilen abdominal bölge yağlanması insülin direnci sonucunda ortaya çıkan vücuttaki anormal yağ dağılımı ile ilgili olduğu ileri sürülmektedir²². Yapılan çalışmada bir grup insana normal günlük beslenmeleri yanı sıra fruktozla tatlandırılmış ve diğer gruba ise glikozla tatlandırılmış meşrubat verildiği bir çalışmada 8 haftanın sonunda her iki gruptaki deneklerde ortalama 1,5 kg ağırlık artışı oluşmuştur. Karın yağ miktarı fruktozlu meşrubat içen grupta artarken, glikozlu meşrubat içenlerde karın yağlarında bir değişim saptanmamıştır²³. Diğer taraftan yüksek fruktozlu mısır şurubu (YFMS)'nin şişmanlığa yol açmadan da metabolik sendroma neden olabileceğini gösteren çalışmalarda bulunmaktadır.²⁴.

Birçok araştırmacı metabolik sendromda ortaya çıkan hipertansiyonun ana nedeninin insülin rezistansı olduğunu ileri sürmektedirler¹⁰. Deneysel çalışmalarda ve insanlarda insülin rezistansı, hipertansiyon ve hiperinsülineminin birlikte seyrettiği bildirilmiştir²⁵. Buna destek olarak çeşitli spontan hipertansif sıçanlarda ve hipertansif deney modellerinde insülin rezistansı bulunduğu gösterilmiştir⁹.

Fruktoz ile beslenerek hipertansiyon yapılmış hayvanlardaki insülin rezistansının düzeltilmesinden sonra hipertansiyonun ortadan kalktığı tespit edilmiştir^{3,26}. İlaveten insülin sensitivitesini geliştiren pek çok bileşik (metformin²⁷, vanadyum bileşikler²⁸, tiyazolidinedionlar²⁹) metabolik sendromlu sıçanlardaki kan basıncı artışını düzelttiği gösterilmiştir.

2.2. Yüksek Fruktoz İçeren Mısır Şurubu

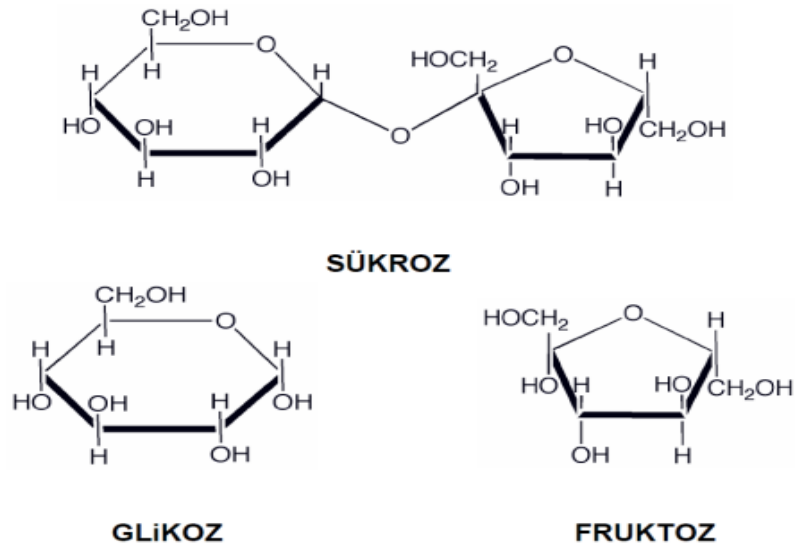
Yüksek fruktoz içeren mısır şurubu meşrubat, meyve suları, konserve meyveler, reçel, kahvaltılık mısır gevreği ve pastane ürünleri içinde alınan kaloringin en büyük kaynağını oluşturmaktadır. ABD’de 1970’li yıllarda bütün yiyecekler içinde alınan kaloringin yaklaşık %1’i yüksek fruktoz içeren mısır şurubundan gelmekteyken, 1980’li yıllarda bu tatlandırıcının kullanımındaki çok büyük artışlar yüzünden 2000’li yıllarda toplam kaloringin %42’sini karşılayacak düzeye ulaşmıştır³⁰. YFMŞ %55 ile %90 arasında fruktoz taşımaktadır ve böylece diyetdeki fruktozun asıl kaynağını oluşturmaktadır. YFMŞ tüketimindeki artışla birlikte ABD’de son 30 yılda obezite sıklığında çok belirgin bir artış kaydedilmiştir³¹. Günümüzde gıda sanayisinde 3 tip YFMŞ kullanılmaktadır. Bunlar YFMŞ-42 (HFCS-42), YFMŞ-55 (HFCS-55) ve YFMŞ-90 (HFCS-90)’dır. YFMŞ-42, %42 oranında fruktoz, %55 oranında glikoz ve %3 başka şekerler içeren YFMŞ’dir. YFMŞ-55 de fruktoz %55, glikoz %42, diğer şekerler %3 dolayındadır. F-90 ise %90 fruktoz içermektedir. Meşrubat sanayisinde genellikle YFMŞ-55 kullanılmaktadır³².

Birçok araştırmada fruktoz tüketiminin ağırlık artışı lipit profili ve glikoz metabolizması üzerine etkileri deney hayvanlarında ve insanlarda incelenmiştir. Bu araştırmaların çoğu fruktozdan zengin diyetin obezite, metabolik sendrom ve diyabet riskini artırdığını ileri sürmektedir^{33,34}. İnsanlar üzerinde yapılan bir araştırmada enerjinin %25’inin fruktozdan karşılanması durumunda visseral yağlanma, hiperlipidemi ve insülin rezistansı geliştiği gösterilmiştir³⁵. Bazı araştırmalarda fruktoz ile tatlandırılmış içeceklerin tüketilmesi ile insülin rezistansı geliştiği fakat glikozlu içeceklerin bu bozukluğa yol açmadığı gösterilmiştir^{2,36,37}.

Ülkemizde şişmanlık ve buna bağlı hastalıklarda son yıllarda belirgin bir artış görülmektedir. İlk olarak YFMŞ'nin bu duruma katkısı olup olmadığını ortaya koyabilmek için hangi kaynaktan olursa olsun fruktozun insan sağlığına etkisi irdelenmeli ve sonrasında YFMŞ'nin daha zararlı olup olmadığı diğer şekerlere göre incelenmelidir⁶.

2.2.1. Fruktozun Kimyasal Yapısı

Bir monosakkarit olan fruktoz birçok meyve ve sebze içeriğinde bulunur. Fruktoz ile glikozun kimyasal formülleri aynı olduğu halde kimyasal yapıları farklıdır. Yapısında 2. karbona bağlanmış bir keton grubu taşıyan fruktoz, beş karbonlu halkaya sahiptir. Ancak altı karbonlu glikoz 1. karbonda aldehit grubu taşıyan yapıdadır. Yiyeceklerde bulunan bir disakkarit olan sükrozun içerisinde glikoz ve fruktoz vardır. Fruktoz ve glikoz sükroz içinde 1–4 glikozit bağı ile bağlıdır (Şekil 1)⁵.



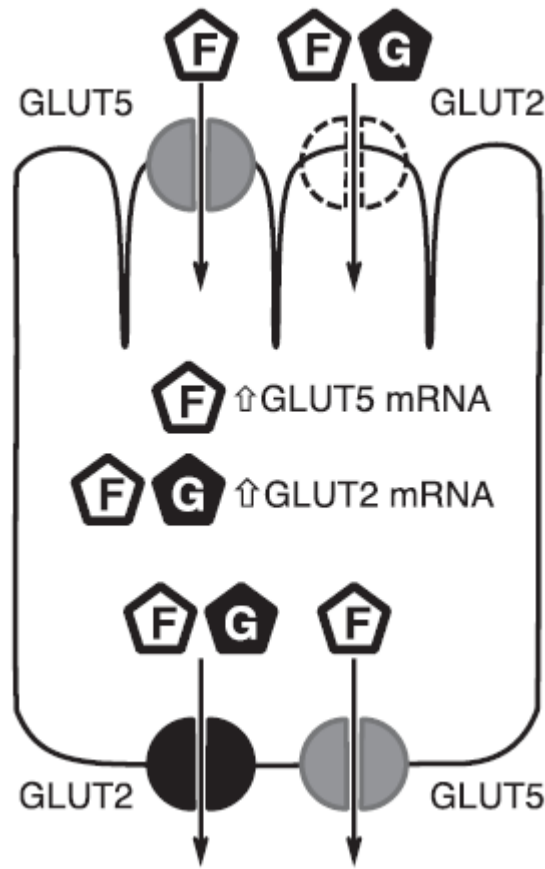
Şekil 1. Glikoz, fruktoz ve sükrozun kimyasal yapıları⁵.

2.2.2. Fruktozun Absorbsiyonu

Fruktoz batı diyeti içinde hem tatlandırıcı hem de meyveler içinde doğal olarak bulunan bir monosakkarittir. Diyet içindeki fruktozun tam emilememesi irritabil bağırsak sendromuna ve ince bağırsakta bakteri gelişimine neden olan bir faktör olarak bildirilmiştir. Fruktoz malabsorbsiyonlu hastalarda kronik diyare ve karın ağrısı gibi semptomlar ortaya çıkmaktadır. Fruktoz malabsorbsiyon durumunda ince bağırsaktan emilmeden kalın bağırsağa geçebilmekte ve bakteri gelişimine yol açabilmektedir. Aslında şeker malabsorbsiyonu disakkaritler için örneğin laktoz için söz konusu olan bir durumdur. Laktozu tolere edemeyen kişiler de ortaya çıkan bir durumdur. Bir monosakkarit olan fruktozun enzimatik parçalanması gerekmediği halde, absorpsiyon kapasitesinin üzerinde alınması sonucu, fruktoz malabsorbsiyonundan bahsedilebilmektedir³⁸. Glikoz taşıyıcısı (GLUT)-5 knock-out farelerde diyet içinde alınan fruktozun absorpsiyonunun bozulduğu saptanmıştır. Bu model fruktoz malabsorbsiyonu sonucu oluşan biyolojik değişikliklerin incelenmesinde bir araç olarak kullanılabilir³⁹.

Fruktozun intestinal epitelyum hücrelerinden kolaylaştırılmış taşıyıcılar aracılığıyla taşındığı bilinmektedir. Bu taşıyıcılar içinde GLUT-5 intestinal epitelyum hücrelerinin apikal membranı boyunca fruktozun taşınmasını sağlar. GLUT-5 düşük afiniteli fakat yüksek kapasiteli bir fruktoz taşıyıcısı olduğu bildirilmiştir^{38,40}. Diyet içinde alınan fruktoz miktarı arttıkça GLUT-5 mRNA ekspresyonunun yükseldiği gösterilmiştir⁴¹. Fruktozun gastrointestinal epitelyum hücrelerinin vazolateral membranı boyunca transportu bir heksoz transportu olan GLUT-2 ile de gerçekleşmektedir. GLUT-2 kolaylaştırılmış bir taşıyıcı olup heksoz şekerlerden glikoz ve fruktozu birlikte taşıma kapasitesine sahiptir⁴².

GLUT-2 mRNA ekspresyonu hem glikoz hem fruktoz ile ayarlanabilmektedir. Yüksek glikoz diyeti ile beslenen farelerde fruktoz absorpsiyonunun artması ortak taşıyıcı GLUT-2'nin up-regülasyon ile açıklanabilir³⁸. GLUT-5 knock-out farelerde fruktoz absorpsiyonunun jejunumdan %75 oranında azaldığı ve serum fruktoz konsantrasyonunun %90 oranında düştüğü gösterilmiştir³⁹.



Şekil 2. İntestinal epitelyumda fruktoz taşınımı³⁸

Yüksek fruktoz diyetiyle beslenen farelerde GLUT-5 taşıyıcısı silindiği zaman çekum ve proksimal kolonun genişlediği, çekal içeriğin arttığı, sıvı ve gaz oluşumunun ve gaz miktarının arttığı gösterilmiştir. Bu hayvanlarda GLUT-2 taşıyıcısının apikal ve vazolateral membranda

miktarının ya da ekspresyonun GLUT-2 protein miktarının arttığı saptanmıştır fakat bu GLUT-5 eksikliğinin giderilmesinde yeterli olmamıştır³⁹.

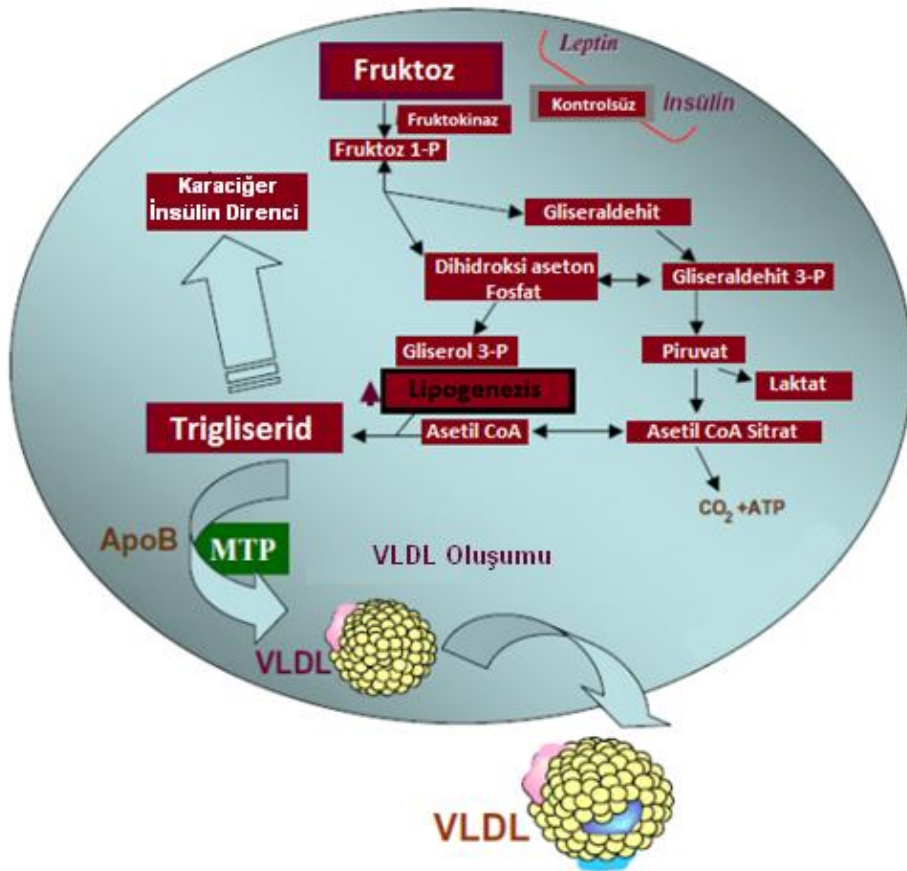
Alınan fruktozun sağlıklı kişilerde %80-90 oranında absorbe edilebildiği ve absorpsiyon derecesinin kişiler arasında değişebildiği bildirilmiştir⁴³. Açlık kan fruktoz konsantrasyonunun sağlıklı kişilerde 1 gr/dl'nin altında olduğu gösterilmiştir. Aşırı miktarda fruktoz alımı ile bu değerin 13 g/dl'ye kadar çıktığı belirlenmiştir. Kan fruktoz düzeyinin en üst noktaya çıktığı zaman ise fruktoz alımından 60 dakika sonra olduğu ölçülmüştür⁴⁴. Sükroz içinde alınan fruktozun serbest halde alınan fruktoza göre kan konsantrasyonunun %40 daha düşük olduğu gösterilmiştir. Ayrıca meyve ve sebzelerin içindeki fruktozun neredeyse tamamı bağırsak ve karaciğer enzimleri tarafından metabolize edildiği bildirilmiştir⁴⁵.

2.2.3. Fruktozun Metabolizması

Gıdalarla alınan fruktoz ATP oluşumuna katkıda bulunmasının yanı sıra vücutta trigliserite ve kısmen de glikoza dönüşür. Glikozdan farklı olarak doğrudan yağ asitlerine dönüştürülüyor olması fruktoz için önemli bir farklılıktır. Fruktoz metabolizması insüline bağımlı olmadığı için ilk zamanlarda diyabet hastalarına tavsiye edilmiştir fakat daha sonraları çok ciddi olumsuz etkileri ortaya çıkınca görüşler tersine dönmüştür⁴⁶.

Besinlerle alınan fruktoz tümüyle karaciğerde metabolize olur. Kan dolaşımındaki glikoz miktarı fruktoz miktarına göre 550 kat daha

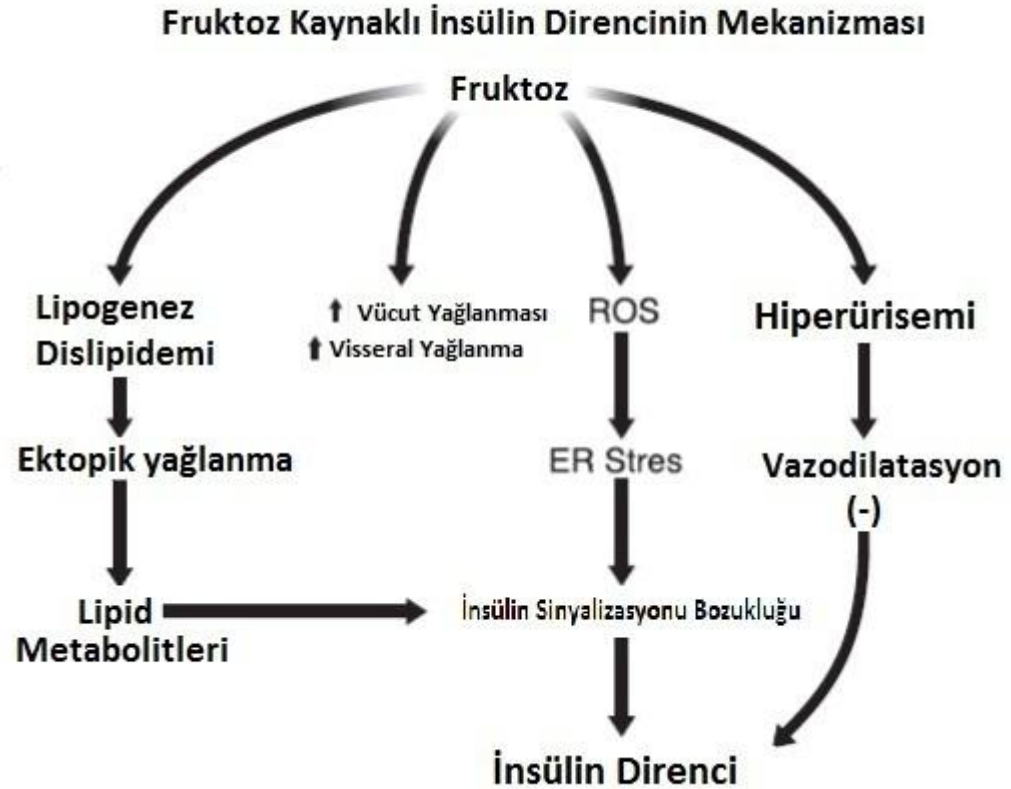
fazla olduğu bildirilmiştir⁴⁷. GLUT-5 aracılığı ile bağırsaklardan absorbe edilen fruktoz karaciğerde fruktozun spesifik enzimi olan fruktokinaz ile fosforile edilerek fruktoz-1-fosfata dönüşür. Akabinde bu ürün üç karbonlu gliseraldehite veya dihidroksiasetonfosfata dönüşür. Oluşan ara ürünlerin bir kısmı glikoza ya da laktat ve trigliserite metabolize olur⁴⁸.



Şekil 3. Karaciğerde fruktoz metabolizması⁴⁹. Diyet içindeki fruktoz kolayca absorbe edilir ve karaciğerde metabolize edilir. Fruktoz gliserol ve trigliseritin açıl kısmı için karbon atomları sağlar. Böylece fruktoz karaciğer içinde de novo lipit sentezi için etkin bir kaynaktır. Yüksek fruktoz alımı AÇIL-KoA için kontrolsüz bir kaynak oluşturur. Glikozun tersine diyet içinde alınan fruktoz, insülin ve leptin salgılanmasını uyarmaz. Uyarılan trigliserit sentezi karaciğerde trigliserit birikimine yol açar ve hepatik insülin duyarlılığını azaltmaktadır ayrıca VLDL partiküllerinin oluşumlarını hızlandırır.

2.2.4. Fruktozun İnsülin Rezistansı ile İlişkisi

İnsülin direnci oluşturmak için hayvan deneylerinde tercih edilen yollardan birisi de yüksek konsantrasyonda fruktoz verilmesidir^{50,51}. Fruktozun insülin direnci oluşturma mekanizmaları incelendiğinde etkili mekanizmalar olarak karaciğerde VLDL üretiminin artırması ve kanda trigliserit seviyesini yükseltmesi ileri sürülmektedir⁵². Fruktozdan zengin bir öğün yendikten sonra kan insülin ve leptin düzeyinde 24 saat süreyle düşme görülürken açlık trigliserit düzeyi yükselmektedir⁵³.



Şekil 4. Fruktozla oluşan insülin rezistansını açıklayan olası mekanizmalar⁵⁴.

İnsülinin hapatik glikoz oluşumunu baskılamadaki yetersizliği, insülin rezistansı olarak tanımlanabilir. Sıçanlarda fruktozla beslenme sonucu glikoz salınımı insülin ile baskılanamamaktadır. Yapılan çalışmalarla fruktoz ile beslenen sıçanların çoğunda insülin duyarlılığında azalma, bütün vücut hücrelerinde gözlemlendiği saptanmıştır⁵⁵. Deney hayvanlarında yapılan bazı çalışmalarda fruktoz ile beslenen sıçanlarda plazma glikoz düzeyinin yüksek olduğu bildirilmiştir⁵⁶.

Karbonhidrat ve yağdan zengin diyetin C57Bl/6 farelerde inceleyen bir çalışmada, hayvanların diyet içeriğinin total kalorisinin %58'inin doymuş yağdan oluşturulduğu ve içme suyu içinde YFMS'den %4,2 oranında verildiği bir çalışmada 16 hafta sonunda vücut yağ kitlesinde, vücut ağırlığında ciddi artışlar kaydedilmiştir. Aynı zamanda kan insülin ve glikoz düzeyinin de yükseldiği saptanmış, glikoz tolerans testinde insülin rezistansı geliştiği gösterilmiştir. Karaciğer histolojisi incelendiğinde ise hematoksilin-eozin (HE) boyaması, lobüler inflamasyon skorunda önemli artışlar olduğunu göstermiştir. Fibrozis alanının daha çok portal bölgede yoğunlaştığı ve 14. haftadan başlayarak portal ven alanında yoğunlaştığı saptanmıştır. Hayvanların %33'ünün 16. haftada 1. basamak,%16'sında 2.basamak portal ve periportal fibrozis geliştiği gösterilmiştir. Hepatik kollajen-1 mRNA ekspresyonunda bu beslenme grubundaki hayvanlarda yüksek olduğu gösterilmiştir. Plazma trigliseritinde bir farklılık olmadığı fakat serum kolesterol düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır⁵⁷.

Fruktozla yapılan bir çalışmada içme suyu içinde %30 fruktozun 4 hafta boyunca erkek Sprague–Dawley sıçanlara verilmesi sonucunda karaciğer zedelenmesi ve steatozis oluştuğu, karaciğer trigliserit düzeyinin, karaciğer ağırlığının, plazma glikoz düzeyinin ve

insülin düzeyinin arttığı saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada karaciğer, trigliserit ve kolesterolünün artığı gösterilmiştir⁵⁸.

Erkek fareler üzerinde yapılan bir çalışmada içme suyu içerisinde %20 fruktozun ve %72 lipit içeren yağlı diyetle beslenme sonucunda 8 hafta boyunca verildiğinde hayvanların vücut ağırlığı, karaciğer ağırlığı ve plazma insülin düzeyin arttığı glikoz düzeyinin değişmediği görülmüştür. Karaciğer dokusunda yapılan HE histolojik araştırma da ise mikroveziküler ve makroveziküler lipit damlacıklarının belirgin olarak artığı sağlanmıştır⁵⁹.

2.2.5. Fruktozun Karaciğer Yağ Akümüasyonu ile İlişkisi

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) vakalarının %70'i metabolik sendrom ile ilişkilidir. Beslenmede yapılan birçok hata bu hastalığın gelişmesinde etkindir. Özellikle tatlandırıcı olarak YFMS kullandığı meşrubat tüketimi karaciğer yağlanmasına yol açmaktadır⁶⁰.

Metabolik sendrom ve NAYKH birbirlerini tetikleyen patolojik unsurlardır^{61,62}. Non-alkolik karaciğer yağlanması olan hastaların bir bölümünde non-alkolik steatohepatit (NASH) gelişir. NASH gelişmesinde ön planda oksijen radikallerinin NAYKH ile hasara uğramış karaciğerde hücresel bozulmalara yol açması düşünülmektedir. NASH'de apoptotik hücre ölümü en belirgin unsurdur⁶⁰.

NAYKH özellikle ABD'de erişkin toplumun %20-30'unda görülmektedir⁶³. NAYKH zamanla non-alkolik yağlı hepatite dönüşebilir. Bu iltihabi hastalık %30 oranında siroza ve %5 oranında karaciğer kanserine dönüşebilmektedir^{64,65}. NAYKH etiyolojik açıdan incelendiğinde karşımıza çıkan teorilerden en dikkat çekenini iki darbe teorisidir. İki darbe teorisine göre NAYKH, karaciğerin ilk darbeyi “modern beslenme” nedeniyle alınan aşırı fruktozun yağa dönüşüp bu yağların karaciğer içinde depolanmasıyla oluşur. İkinci darbe ise ortaya çıkan inflamatuvar etkiyle yağlı karaciğer iltihabı (non-alkolik steatohepatit) gelişmesidir⁶⁶.

Ackerman ve ark. 2005 yılında fruktozdan zengin diyetle beslenmenin sıçanlarda karaciğerde non-alkolik karaciğer yağlanması (alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması) oluşturulabileceği tanımlanmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar yaklaşık 200 g ağırlığında olan Sprague-Dawley ırkı sıçanları 5 hafta boyunca %60 fruktoz içeren diyetle beslemişlerdir. Bu sürenin sonunda karaciğer histolojisi HE ve Oil Red O (ORO) boyamalarıyla incelendiğinde fruktozla beslenen grupta makroviziküler ve mikroveziküler steatoz, lobüler inflamasyon ve fibrozis geliştiği saptanmıştır. Fruktozla beslenen hayvanların plazma ölçümlerinde glikoz, kolesterol alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinde bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. Fakat insülin ve trigliserit düzeyleri yükseldiği görülmüştür. Aynı çalışmada fruktozlu grupta karaciğer trigliserit ve kolesterol miktarının arttığı bildirilmiştir⁶⁷.

Non-alkolik karaciğer yağlanması yetişkinlerin yaklaşık %20-30'unu etkileyen ve obezite ile birlikte seyreden en yaygın karaciğer bozukluğu olarak gösterilmiştir⁶⁸. Rodentler üzerinde yapılan araştırmada fruktoz tüketiminin karaciğer dokusunda çeşitli histolojik değişikliklere

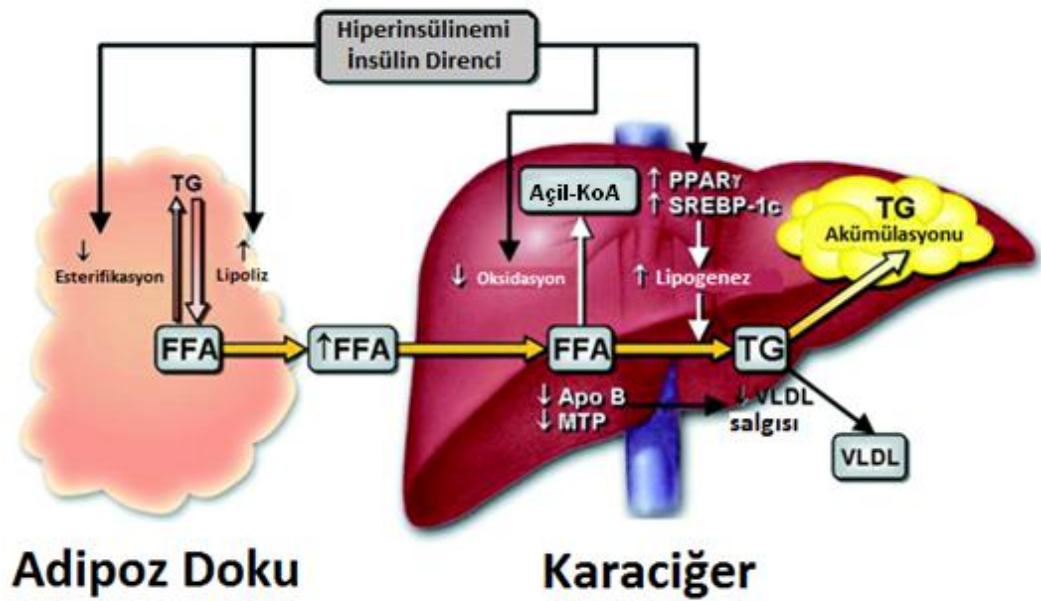
neden olduğu ve bu değişikliklerin periportal bölgede lokal inflamasyon, periportal alanda makroveziküler steatozis, makroveziküler ve mikroveziküler steatozis olarak bildirilmiştir^{69,70}. Yüksek fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanlarda 5 hafta sonra portal inflamasyon ve lobüler inflamasyonun belirgin olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir⁷¹.

Yüksek yağlı ve şekerli diyet ile beslenmenin insanlarda artan metabolik sendromun ana unsurlarından biri olduğunu ileri süren bir çalışmada 5-6 haftalık C57BL/6 erkek farelere kalorisinin %45'ini yemdeki doymuş yağlardan sağlayan bir diyet uygulaması yapılmış. Aynı zamanda hayvanlara içme suyu içinde %4,2 YFMS uygulaması yapılmıştır. Hayvanların kafeslerindeki bölmeler kaldırılarak da hareketsiz yaşam taklidi uygulaması yapılmıştır. İzlem periyodunun 16. haftası sonunda hayvanların vücut ağırlığı, karaciğer ağırlığı, karaciğer trigliserit konsantrasyonu, kan insülin düzeyi ile plazma kolesterol, trigliserit ve ALT düzeylerinde belirgin artışlar kaydedilmiştir. Beslenme periyodu 4 haftanın sonunda bile HE boyaması incelenen karaciğer histoloji çalışması, yağ damlacıkları ve steatozis oluştuğu saptanmıştır⁷².

C57BL/6J fareler %20 YFMS-55 içeren diyetle beslenmiş bir çalışmada erkek ve dişi farelerin 32 hafta sonunda ağırlık artışı fruktoz şurubu içeren diyetle beslenmenin belirgin bir fark oluşturmadığı, beslenmenin insülin plazma glikoz insülin, trigliserit ve total kolesterol düzeylerinde belirgin bir değişiklik oluşturmadığı rapor edilmiştir. Karaciğer trigliserit düzeyinde ise belirgin bir artış oluşturmuştur. Karaciğer histolojisinin HE ve ORO ile incelenmesi sonucu mısır şurubu ile beslenmenin karaciğer de mikroveziküler yağlanmayı artırdığı saptanmıştır. Karaciğer parankim dokusunda mikroveziküler yağlanmayı

arttırdığı saptanmıştır. Fakat nekroinflamatuvar değişiklikler izlenememiştir⁷³.

Fruktoz metabolizmasının sağlandığı ana organ olan karaciğerde fruktozun glikoliz sürecine fosfofruktokinaz enzimi by-pass ederek fruktoz-1-fosfat halinde girmesiyle ölçsüz miktarda asetil koenzim-A, gliserol-3-fosfat ve diğer lipojenik maddelerin oluşması hepatik lipogeneze neden olur. Bununla beraber fruktozun insülininden bağımsız olarak sterol reseptör elemanlarını bağlayıcı protein-1c (SREBP-1c)'yi aktive ederek de karaciğer içi yağ oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir⁷⁴.



Şekil 5. Non-alkolik hepatik steatozisin karaciğer ve adipoz dokuda oluşumu⁶⁶. İnsülin rezistansı adipoz dokuda trigliserit lipolizisini artırır ve serbest yağ asitlerinin esterifikasyonunu inhibe eder. Sonuçta serum ve karaciğerdeki serbest yağ asitlerinin miktarı artar. Karaciğer trigliserit sentezi serbest yağ asitlerinin karaciğere girişiyle kontrol edilir. İnsülin yağ asitlerinin oksidatif metabolizmasını inhibe eder.

Kawasaki ve arkadaşları 5 haftalık Wistar sıçanları steatohepatitin derecesini değerlendirmek için 5 hafta farklı diyet ile %70 (a/a) mısır nişastası (kontrol), %70 yüksek fruktoz, %70 yüksek sükroz, %15 yüksek yağ ve %15 yüksek yağ ve %50 yüksek fruktoz oranında beslemişlerdir. Son vücut ağırlıkları kıyaslandığında, yüksek fruktozlu grubun vücut ağırlıkları sırasıyla yağlı diyetle beslenen gruptan ve yağlı-fruktozlu beslenen gruptan küçüktür. Buna ek olarak yağlı diyetle beslenen deney gruplarındaki vücut ağırlıklarındaki artış kontrol, yüksek fruktoz ve yüksek sükroz ile beslenmiş gruplara göre belirgin bir artış sağlamıştır. Yüksek yağlı beslenen gruplarda makroveziküler steatozis gözlenmemiştir. Yüksek fruktoz grubunun hepatik trigliserit konsantrasyonu diğer 4 gruptan belirgin ölçüde yüksektir. Yüksek yağlı ve yüksek fruktozlu beslenen grubun trigliserit düzeyi yüksek fruktozla beslenen gruba göre anlamlı olarak düşüktür. Bunlara ek olarak yüksek fruktoz grubunun karaciğer/vücut ağırlığı oranı diğer gruplara göre anlamlı olarak daha fazladır⁷¹.

İçme suyu içinde %30 fruktozun 8 hafta boyunca verilmesi farelerde hepatik trigliserit içeriğini belirgin bir şekilde artırdığı, HE ve ORO boyamalarda karaciğer histolojisinde yağlanmayı gösteren önemli değişiklikler olduğu saptanmıştır. Tümör nekrozis faktör alfa reseptör 1 (TNFR1) geni çıkartılmış farelerde ise fruktozun oluşturduğu bu değişikliklerin belirgin ölçüde azaldığı saptanmıştır. Karaciğerde indüklenebilen nitrik oksit sentaz (iNOS) protein ekspresyonun fruktozla arttığı fakat TNF- α reseptör geni çıkartılmış hayvanlarda bu artışın değişmediği bildirilmiştir. Fruktoz içeren hayvanlarda yağ asitlerini sağlayan enzim (fatty acid synthase; FAS) mRNA ekspresyonunun kontrol hayvanlara göre belirgin olarak yüksek olduğu gösterilmiştir⁷⁵.

Bir grup Fransız araştırmacının fareler üzerinde yaptığı çalışmada, P-Glikoprotein'in disfonksiyona uğramasının karaciğer yağlanması ve obeziteye neden olduğu gösterilmiş. Bu çalışmada dişi ve erkek fareler kontrol diyeti ve yüksek yağlı diyet ile 35 hafta beslenmesi süresinde her hafta yem ve su takibi yapılmış, daha sonra plazma insülin seviyeleri ve ALT düzeyleri ölçülmüştür. Her gruba ait deneklerden 3'er adedi 15. ve 25. haftalarda doku ve kan parametreleri için kullanılmıştır. Bu çalışmaya göre yüksek yağlı diyetle beslenen erkek ve dişi farelerin günlük yem tüketiminde belirli bir farklılık gözlenmeden belirgin bir şekilde kilo artışına uğradığı gösterilmiş, karaciğer ağırlıklarında ise herhangi bir farklılık oluşmamıştır. Fare ELISA-İnsülin kitleriyle plazma insülin seviyeleri ölçüldüğünde ise belirgin farklılık olduğu gözlemlenmiştir. Buna göre normal diyetle beslenen farelerde plazma insülin düzeyi $0,58 \pm 0,39$ ng/ml iken, yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde plazma insülin seviyesi $6,62 \pm 2,11$ ng/ml olmuştur. Karaciğer enzimlerinden ALT aktivitesinin yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde arttığı gözlemlenmiştir. Karaciğerin ORO ile boyanmasıyla elde edilen sonuçlara göre ise 35. hafta sonunda yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerin karaciğerleri morfolojik açıdan yağlı ve tüm lob yüzeylerinde soluk renkler gösterilmiştir. Sıvı kromatografisi ile 25. hafta sonunda ölçülen karaciğer trigliserit düzeylerine göre yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde belirgin bir artış meydana gelmiştir⁷⁶.

Yağ damlacıkları (lipit droplet) intraselüler organeller olup nötral yağlar olarak hücre içinde depolanır. Son 20 yıl içinde lipit damlacıklarının biyolojisi ve hastalıkta oynadığı rollerle ilgili önemli bilgiler ortaya çıkmıştır. Yağ damlacıkları triaçilgliserol ve kolesterol esterleride dahil birçok nötral lipitlerin depolanması ve hidrolizini düzenler. Adipositler vücutta trigliseritlerin asıl deposu olup yağ damlacıkları içinde depolanır ve adipositler içinde depolanan trigliseritlerin miktarı obez hayvan ve

insanalarda yüksektir. Birçok obez kişi adipositlerinin lipoliz hızı yüksek olup kanda sirküle eden yağ asitlerinin miktarını arttırmaktadır. Hem lokal hem sirküle eden yağ asitleri insülin rezistansı, hiperlipidemi, inflamasyon ve hepatik steatozis gelişiminde önemli etiyolojik ajanlar olarak düşünülmektedir^{77,78}.

Hücreler çeşitli nedenlerden dolayı yağ damlacıkları içinde yağ asitlerini nötral lipitler olarak depolama kapasitesi geliştirmişlerdir. Adipositlerde yağ damlacıklarının trigliserit olarak yağ asitlerini depoladıkları ve bir enerji kaynağı olarak açlık ve kıtlık durumunda trigliseriti salgıladıkları bildirilmiştir. Yağ asitlerinin hücre içine aşırı miktarda girişi zararlı etkiler oluşturmakta ve bu olaya lipotoksisite denmektedir. Hücreler bu toksik etkiden kendilerini yağ asitlerini oksitleyerek kurtulmaya çalışırlar ya da onları lipit damlacıkları içinde trigliserit olarak depolayarak korunmaya çalışırlar. Yağ asitleri, hücrelerin oksidatif kapasitesinin üzerinde bulununca yalnızca lipit damlacığı oluşumunu arttırmazlar ayrıca apoptozisi tetiklerler⁷⁹. Diaçilgliserol asetiltransferaz-1 enziminin ekspresyonu, trigliserit sentezinin son basamak enzimi, fibroblastlarda trigliseritler içine yağ asitleri yerleştirerek yağ damlacığı oluşumunu sağlayarak hücreyi ölümden korur. Lipit damlacıkları içinde trigliserit depolama yeteneğinin evrimsel olarak birçok canlıda örneği saptanmıştır. Örneğin; mantar, bitkiler, vertebralı ve vertebrasız organizmalarda olduğu gösterilmiştir. Yağ damlacıklarının biyogenezi ve regülasyonu halen günümüzde yoğun bir araştırma konusudur. Trigliserit oluşumunu sağlayan enzimler esas olarak endoplazmik retikulum, mitokindri ve benzeri organelerde yoğunlaşmıştır. Örneğin endoplazmik retikulumun her iki hidrofobik yüzeyinde bir lens şeklinde görülmektedir. Günümüzde yağ damlacıklarının oluşumuyla ilgili pek çok çelişen teori bulunmaktadır. Trigliserit damlacıklarının bir fosfolipt tabakası ile kaplanması sonucu hücrenin sitoplazması içinde stabil bir

şekilde kalabileceği düşünülmektedir. Birçok hücrenin içinde oluşan yağ damlacıklarının tek tek büyümesiyle çok merkezli görünümlü büyük kitlelere dönüştüğü fakat beyaz adipositlerde geniş tek merkezli damlacık olarak kaldığı saptanmıştır⁷⁹.

Hücre tahribatının belirteci olarak kanda ölçülen ALT ve AST enzimlerinin düzeyleri karaciğer hastalıklarında, kardiyovasküler hastalıklarında ve bazı kas hastalıklarında yükselmektedir. Transaminaz enzim ailesinin birer üyesi olan ALT ve AST'e glutamat purivat transaminaz (GPT) ve glutamat okzalasetat transaminaz (GOT) da denmektedir. ALT esas olarak bir karaciğer enzimi olup L-alanin ve glutamat arasında amino gruplarının transferini katalize eder. AST ise amino ve keto gruplarının transferini katalize eder. AST kalp kas dokusu böbrek ve akciğerde esas olarak bulunmakla birlikte karaciğerde de bulunur.

Fruktozdan zengin diyet ile (%60 fruktoz içeren diyet) beslenen Wistar sıçanlarda egzersizin metabolik sendrom üzerine etkisi incelenen bir çalışmada günde 1 saat haftada 5 gün 28. ile 120. gün arasında yüzme egzersizi uygulanan sıçanlarda, serum ALT düzeyi gruplar arasında farklılık göstermemiştir fakat serum AST ve karaciğer lipidlerinin anlamlı ölçüde düştüğü saptanmıştır. İlginç olarak serum trigliserit konsantrasyonunun fruktozla beslenen ve yüzme egzersine tabi tutulan sıçanlarda yüksek olduğu bildirilmiştir⁸⁰.

Tatlandırılmış içeceklerin haftada 3 gün 10 hafta boyunca sıçanlara verilmesinin karşılaştırıldığı bir çalışmada içme suyu içerisinde %15 mısır şurubu ve fruktoz uygulamasının hayvanlar serum kolesterol ve

trigliserit düzeyinin artırdığı fakat karaciğer histolojisinde belirgin bir değişiklik yapmadığı sadece serum ALT düzeyini yükselttiği bildirilmiştir⁸¹.

2.2.6 Diyetle Yüksek Fruktoz İçeren Mısır Şurubu ile Yapılan Deneysel Çalışmalar

Mide-bağırsak kanalından hızlı emilimin gösteren şekerli içeceklerin, tokluk hissi oluşturmada ve yeniden besin tüketme isteği yaratmasından dolayı yüksek enerji alımına yol açtığı belirtilmiştir. İlaveten sıvı içecek içindeki şekerin katı besinlerdekine göre bağırsaklardan daha fazla emildiği belirtilmiştir. Aşırı kalori alımının en büyük sorumlusu olarak günümüzde şekerli içecekler gösterilmektedir⁴⁶.

Diyet suyu içinde %60 süktroz, %30 glikoz ve %30 fruktoz kombinasyonunun karşılaştırıldığı bir çalışmada 8 haftalık beslenme periyodu sonunda karaciğer trigliserit ve ürik asit düzeyi ile karaciğer yağlanmasının düzeyinin, fruktoz-glikoz kombinasyonu ile beslenen grupta süktroz grubundan daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın bulguları serbest fruktoz ve glikoz kombinasyonunun bağlı süktroz içindeki bağlı fruktoz-glikoz'a göre karaciğer üzerinde daha zararlı olabileceği gösterilmiştir⁸².

Serbest ya da bağlı fruktoz içeren diyetlerin metabolik etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada 56 gün boyunca bir grup Wistar erkek sıçan içme suyu içinde %10 süktroz alırken, diğer grup hayvanlar içme suyu içinde %50 oranında fruktoz-glikoz içeren şekerli içme suyunda %10 oranında almışlardır. Şekerli içecek alan hayvanların total enerji

alımının %25 fazla olmasına karşın vücut ağırlığında bir değişiklik saptanmamıştır. Buna karşılık şekerli içecek alan hayvanlarda karın bölgesi yağlanması, plazma trigliserit düzeyinde artış ve glikoz toleransında azalma olduğu saptanmıştır. Fakat serbest fruktoz içeren grupta, bağlı fruktoz içeren gruptan glikoz toleransının daha kötü olduğu gösterilmiştir⁸³.

Farklı şeker içeriklerinin metabolik ve endokrin fonksiyon üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada dişi Sprague–Dawley sıçanlara içme suyu içinde %13 glikoz, fruktoz, sükroz ve yüksek fruktoz içeren mısır şurubu (HFCS-55) 8 hafta boyunca verilmiştir. Tatlandırılmış içecek alan hayvanların katı yem tüketiminde belirgin bir azalma olduğu fakat total enerji kalori alımının yükseldiği saptanmıştır. Bu şekerlerden yalnız YFMŞ'da ağırlık artışı ve yağ kitlesinde artış olduğu saptanmıştır. Şekerli içeceklerle beslenmenin serum glikoz ve insülin düzeyleri ile lipid profilleri üzerinde belirgin bir değişiklik oluşturmadığı gözlemlenmiştir⁸⁴.

Batı tarzı beslenmenin taklit edildiği bir çalışmada 25 günlük erkek Sprague–Dawley sıçanlara içme suyu içinde %12,5 YFMŞ-55 (%55 fruktoz ve %45 glikoz) verilmiş aynı zamanda total kalorinin %45'inin soya yağı ve domuz yağından oluşan bir diyet uygulaması yapılmıştır. 10 haftalık süre sonunda hepatik steatozis ve lobüler enflamasyonun düşük yağlı diyetle beslenen hayvanlardan farklı olmadığı bildirilmiştir. Fakat yüksek yağlı diyet ve mısır şurubu ile beslenen hayvanlarda D vitamini eksikliği yapıldığında bu parametrelerde ciddi bir kötüleşme izlenmiştir⁸⁵.

Glikoz, sükroz, fruktoz ve yüksek fruktozlu mısır şurubunu 8 hafta boyunca içme suyu içinde verilmesinin kemik mineral dansitesi,

kemik morfometresi ve kemik turn-overinin üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada glikoz ile tatlandırılmış içecek alan hayvanlarda kemik gelişiminin diğer gruplardan daha zayıf olduğu idararda Ca^{+2} ekspresyonunun daha fazla olduğu saptanmıştır⁸⁶.

Mısır şurubu ve sükrozun sıçanlarda damak tadı üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada mısır şurubunun sükroza ve fruktoz-glikoz karışımına göre hayvanlar tarafından daha çok tercih edildiği saptanmıştır. Mısır şurubu ile oluşan bu farklılığın içerdiği çok küçük %3'lük glikoz polimerlerinin tad üzerine olumlu etkilerinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür⁸⁷.

Metiyonin-kolin eksikliğinin fruktoz ile oluşturulan karaciğer yağlanması üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada farelere 21 gün boyunca fruktozdan zengin diyet uygulanması sonucunda metiyonin-kolin eksikliği olan grupta karaciğer ağırlığının ve trigliserit içeriğinin arttığı fakat vucüt ağırlığı ve gonadal yağ kitlesinde azalma, serum trigliserit ve serum kolesterol ve glikoz düzeyinde belirgin bir azalma olduğu saptanmıştır. Karaciğer de inflamatuvar faktörlerden TNF'nin ekspresyonunun arttığı da bildirilmiştir. Metiyon-kolin eksik olan grupta yağ asidi oksidasyonunu arttığı fakat lipogenezin azaldığı gösterilmiştir. Karaciğer kesitlerinde yapılan HE boyanması sonucunda ise fruktozla beslenen ve metiyonin-kolin eksikliği olan hayvanlarda hepatik steatozis ve inflamasyonun daha ciddi olduğu saptanmıştır⁸⁸.

2.3. Resveratrol

Steroid olmayan bir bitki metaboliti olan resveratrol (3, 5, 4'-trihidroksitilben) polifenolik kimyasal yapıya sahiptir. Bu bileşiğin travmatik zedelenme ve fungal saldırılara karşı bitkiler tarafından sentezlendiği anlaşılmıştır. Esas olarak üzümde olan resveratrol, fıstık, ananas, ökaliptus ve *Polygonum cuspidatum* adlı bitkinin köklerinde de bulunmaktadır⁸⁹.

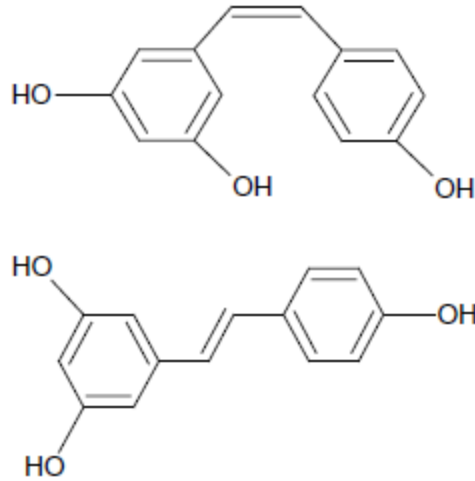
Resveratrolün bitkilerdeki içeriği mevsim koşulları, toplanma zamanı, işlenme ve fermentasyon süreciyle ilişkili olarak değişmektedir⁸⁹. Resveratrol yoğun olarak kırmızı üzümlerin kabuk ve çekirdekleri ile asma yapraklarında bulunmaktadır. Resveratrol miktarının kırmızı şarapta artmasının sebebi olarak üzümün kabuklu kullanılması ve maserasyon süresinin uzun olması olduğu ileri sürülmektedir⁹⁰.

2.3.1. Resveratrolün Sentezi

Resveratrol cis ve trans izomeri şeklinde bitkilerde bulunmaktadır ve bu iki izomer de yağda çözünbilme özelliğine sahiptirler fakat cis izomerlerinin biyolojik aktivitelerinin trans izomere göre daha düşük olduğu saptanmıştır^{91,92}.

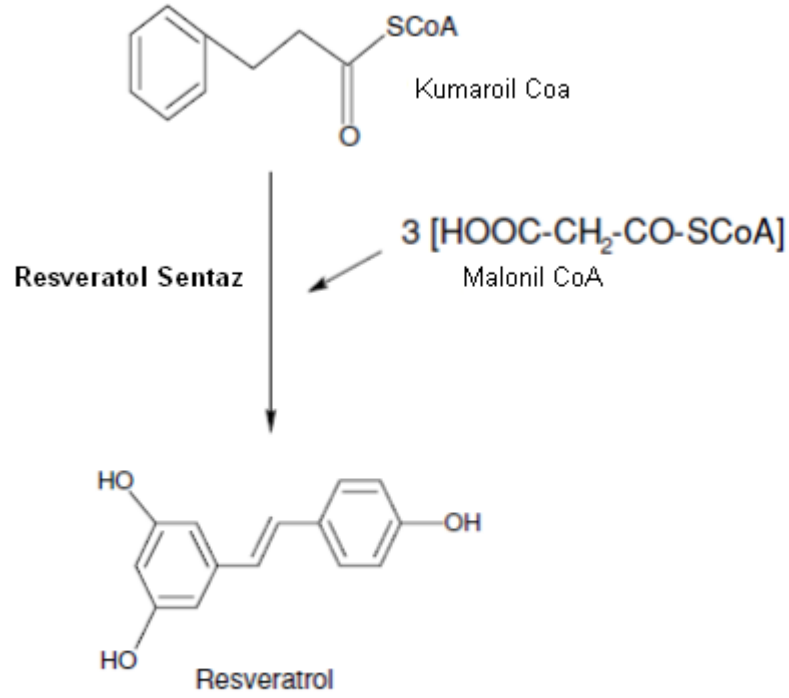
Ultraviyole varlığında cis izomerlere dönüşen trans izomerler hem biyolojik etkinlik açısından hem de kimyasal olarak dietilstilbesterol ve 17 β -estradiol benzer özellikler taşımaktadır⁹¹.

Bitkilerde glukozit halinde *cis*- ve *trans*-resveratrolün her ikisi bulunabilirler. Resveratrol-3-O-beta-glukozit "piceid" olarak da adlandırılır¹⁶.



Şekil 6. Resveratrolün *cis* (üst) ve *trans* (alt) izomerlerinin kimyasal yapısı⁸⁹.

Fenilalanin ile başlayan resveratrolün biyosentezi deamilasyon ile sinamik asit oluşur ve sinamik asit 4-kumarik asit ile yükseltgenir. Yükseltgenen sinamik asit 4-kumaril KO-A ile estere döner ve biyosentezi stilben sentaz enzimi aracılığı ile tamamlanır⁹³ (Şekil 6)⁸⁹.



Şekil 7. Resveratrolün sentezi⁸⁹.

2.3.2. Resveratrolün Etkinliği ve Farmakokinetiği

Resveratrol oral olarak verildiğinde plazmada 10 dakika içinde en yüksek düzeye ulaştığı ve konsantrasyonun 1/10 oranına 60 dakika içinde düştüğü saptanmıştır. Deneysel çalışmalarda etkin bulunan resveratrol miktarın 1/10-1/100'i kadarı besinler içinde alınan miktardır. Bu bulgular, besinler içinde alınan resveratrolün etkili olmayacağı endişesini ortaya çıkarmıştır. Fakat araştırmalarda, resveratrolün karaciğer, böbrek ve midede biriktiği, bunun metabolitlerinin de etkili olduğu ve diğer aktif polifenolik bileşikler ile sinerjik etki gösterdiği bulunmuştur^{91,94}.

2.3.3. Metabolik Sendromda Resveratrolün Etkisi

Resveratrol tedavisinin fruktoz ile beslenen hayvanlardaki etkisinin incelendiği bir çalışmada erkek Sprague-Dawley sıçanlar 4 gruba ayrılmıştır. Standart yem ile beslenen kontrol grubu, standart yem ve resveratrol ile beslenen resveratrol kontrol grubu, standart yem ve fruktoz ile beslenen grup ve bu grubun tedavisi amaçlanan standart yem tüketip ilaveten fruktoz ve resveratrol alan grup olarak 45 gün beslenmişlerdir. Fruktoz içme suyunda %10 konsantrasyonunda, resveratrol ise oral gavaj ile günde 10 mg/kg oranında verilmiştir. Kontrole göre diğer gruplar karşılaştırıldığında total kolesterol ve HDL kolesterolde anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Fruktoz ile beslenmiş gruplardaki açlık plazma glikoz düzeylerindeki artış istatistiki olarak anlam teşkil etmemesine karşın bu gruplardaki plazma trigliserit düzeylerindeki artış anlamlı olarak görülmüştür. İlaveten vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir değişim gözlenmemiştir⁹⁵.

Hipergliseminin neden olduğu mitokondri kaynaklı süperoksit ve yüksek glikoz ile indüklenen reaktif oksijen türlerinin oluşumunu inceleyen hücre kültürü çalışmasında, resveratrolün endojen antioksidanlardan glutatyon ve glutatyon-S-transferazı artırarak önlediği gösterilmiştir⁹⁶.

Yağ oranı yüksek diyetle beslenen sıçanlarda meydana gelen metabolik sendrom sonucu ortaya çıkan endotel fonksiyon bozukluğu ve hipertansiyonun, aynı anda resveratrolün (20 mg/gün) 8 hafta verilmesi ile büyük ölçüde düzeldiği saptanmıştır⁹⁷. Yüksek kalorili diyet uygulanan bir çalışmada, yem içinde, günde 22 mg/kg resveratrol

verilmesinin, farelerin karaciğerlerinde yağ akümüülasyonunu azalttığı, insülin duyarlılığını ve mitokondri sayısını artırdığı ve organ histolojisinde belirgin bir düzelme sağladığı gösterilmiş, ayrıca bu farelerin yaşam sürelerinin uzadığı belirtilmiştir⁹⁴.

Yağ oranı yüksek diyetle oluşturulmuş metabolik sendromda, resveratrol verilmesinin aerobik kapasiteyi mitokondri fonksiyonunu ve kas liflerinin oksijen kullanımını artırarak yükselttiği gösterilmiştir. Ayrıca resveratrolün vücut kitle indeksi (VKİ), insülin rezistansı ve obeziteyi azalttığı ve soğuğa toleransı artırdığı bildirilmiştir⁹⁸.

2.3.4. Resveratrolün Lipit Profili Üzerine Etkisi

Diyet içinde deney hayvanlarına verilen resveratrolün, HDL, LDL, trigliserit ve total kolesterol üzerindeki etkileri tutarsızdır⁹⁴. Buna rağmen yapılan resveratrol ile ilgili diğer bir çalışmada, resveratrolün yüksek kolesterolü diyetle beslenen tavşanlarda kan akışını artırdığını ve aterom plak oluşumunu azalttığını bildirilmiştir⁹⁹.

Resveratrolün kalp damar sistemi üzerine faydalı etkileri vardır, bunlardan birisi de LDL oksidasyonunu inhibe etmesidir¹⁰⁰. İntravenöz streptozosin enjeksiyonu (Tek doz; 60 mg/kg) ile diyabet oluşturulmuş sıçanlar üzerinde yapılmış bir çalışmada, resveratrolün plazma lipit konsantrasyonlarını, doza bağımlı olarak düşürücü etkisi olduğu gösterilmiştir¹⁰¹. Yapılan bir çalışmada sıçanların günlük diyetine eklenen resveratrolün serum LDL, VLDL ve trigliserit düzeylerini düşürdüğünü ve safra asitleriyle atılımının arttığı saptanmıştır¹⁰².

Resveratrolün yararlı etkisinin ortaya çıktığı olası mekanizmalardan biride antioksidan aktiviteye sahip olmasıdır. Miyokart enfarktüsü, kalp hastalığı riski ve LDL partiküllerinin oksidasyonu arasında bir bağlantı bulunmuştur. Resveratrol, şelatör bakır ve reaktif oksijen türlerinin süpürülmesiyle LDL oksidasyonunu önler. İnsanların kırmızı şarap tüketiminden sonra LDL partiküllerinde resveratrolün bulunması gerçeği, resveratrolün lipidlerin ve diğer makromoleküllerin peroksidasyonunun önleyici kabiliyetiyle uyumlu olduğunu göstermiştir¹⁰³.

2.3.5. Resveratrolün Karaciğer Yağ Akümülasyonu ile İlişkisi

Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu, steatoz gelişimi ve karaciger hasarının ileri evrelerine progresyonunda anahtar faktörlerdir^{104,105}. Resveratrolün antioksidan etkinliği ve lipid regülasyonu sağlaması, NAYKH ve NASH tanılı hastalarda fayda sağlayabileceği ileri sürülmüştür.

Resveratrolün karaciğer yağ akümülasyonundaki etkisinin yanı sıra, lipogenez ve yağ asidi oksidasyonu ile ilişkili enzimlerdeki etkisinin incelendiği bir çalışmada 6 haftalık erkek Zucker (fa/fa) sıçanlar 6 hafta süre ile beslenmişlerdir. Kontrol grubu standart yem ile 2. grup standart beslenmenin yanında günde 15 mg/kg resveratrol (orogastrik katater yardımıyla) ve 3. grup standart beslenmenin yanında günde 45 mg/kg resveratrol (orogastrik katater yardımı) ile beslenmişlerdir. Resveratrol ile beslenen sıçanlarda diyetteki gıda alımında anlamlı bir değişiklik olmaksızın, vücut ağırlıklarındaki değişim kontrole göre belirgin bir şekilde azalma gösterdiği saptanmıştır. İlaveten resveratrol ile

beslenmenin karaciğer ağırlığında belirgin olarak bir azalma gösterdiği saptanmıştır. Histolojik değerlendirme sonucu resveratrolün, makroveziküler yağlanmayı kısmen azalttığı bildirilmiştir. Resveratrol total kolesterol düzeyini azalttığı saptanmıştır. Günde 15 mg/kg resveratrol alan grupta HDL ve HDL olmayan kolesterol düzeylerinde belirgin ölçüde azalma olurken, günde 45 mg/kg resveratrol alan grupta ise sadece HDL düzeyinde anlamlı bir azalma olduğu saptanmıştır. Serum glikoz düzeylerinde ise bir değişiklik gözlenmemiştir. Günde 15 mg/kg resveratrol alan grupta serum ALT ve AST düzeyi kontrole göre anlamlı olarak azaldığı görülmüştür¹⁰⁶.

İnsülin dirençli koşullar altında kemirgenlerdeki in vitro ve in vivo deneylerinde resveratrolün, dokulardaki insülin sinyali üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışma da 5 haftalık erkek C57BL/6N fareler kullanılmıştır. Çalışma kontrol, yüksek yağlı diyetle beslenen ve yüksek yağlı diyetle ek resveratrol ile beslenen 3 grup halinde tasarlanmıştır. Bu 3 grup 20 hafta boyunca beslenmişlerdir ve resveratrol ile tedavisi amaçlanan gruba son iki hafta oral gavaj ile günde 30 mg/kg resveratrol verilmiştir. Yüksek yağlı diyetle beslenmiş obez farelere resveratrol verilmesi, karaciğerde glikojen içeriğini anlamlı olarak artırmasına karşılık iskelet kasındaki glikojen miktarını anlamlı bir şekilde artırmamıştır. Yüksek yağlı diyet ile beslenmiş obez farelerin karaciğerinde yağlanma değişikliklerinde resveratrolün etkilerini gözlemek için histolojik incelemeler yapılmıştır. Kontrole göre karşılaştırıldığında yüksek yağlı gruptan izole edilen karaciğerde yağlanmadaki artış belirgindir. Resveratrol tedavisinden 2 hafta sonra yağlanma değişiklikleri, resveratrol verilmiş yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde sadece yüksek yağlı diyetle beslenen gruba göre karaciğerdeki yağlanma belirgin ölçüde azalmıştır. Kontrole göre kıyasla diğer 2 grupta da vücut ağırlığında anlamlı olarak artış gözlemlenmesine karşın birbirleri arasında bir farklılık bulunmamıştır. Kan

glikoz ve serum insülin düzeyleri kontrole göre kıyaslandığında yüksek yağlı diyetle beslenen gruplarda anlamlı bir artış gözlenirken, resveratrol ile beslenme sonucu bu artışlarda anlamlı olarak düşüş saptanmıştır¹⁰⁷.

Resveratrolün hepatik steatozun şiddetinde bir azalma oluşturup oluşturmadığını inceleyen bir çalışmada erkek Wistar CRL: Wi (Han) sıçanlar 3 gruba ayrılmış ve 28 gün boyunca beslenmişlerdir. Kontrol grubu standart yem ile beslenilmiş ve çeşme suyu tüketmeleri sağlanmıştır. Diğer 2 grup yüksek karbonhidratlı yağsız diyet ile 4 gün beslenip 3 gün süreyle aç bırakılmışlardır. Bu sikluslar boyunca bu iki grup da çeşme suyu tüketmeleri sağlanmıştır. Resveratrol grubu için bu 2 gruptan birine günde 10 mg/kg resveratrol orogastrik katater ile verilmiştir. Sıçan vücut ağırlıklarının değişimleri grup içinde kıyaslandığında kontrol grubunda önemli derecede artış gözlenirken, yağlı karaciğer hastalığı olan grupta vücut ağırlığı benzer kaldı fakat resveratrollü grupta bu değerlerde azalma gözlemlenmiştir. Karaciğerin histolojik incelenmesinde HE boyama ile kontrol grubunda yağlanma oluşmadığı ve resveratrol grubunda daha az olarak diğer 2 grupta da yağlanma gözlemlenmiştir. Ayrıca yağlı karaciğer hastalığı olan grupta lipid birikiminin makroveziküler düzeyde olduğu bildirilmiştir. Plazma glikoz düzeyleri kontrole göre resveratrollü ve yağlı karaciğer hastalığı görülen grupta anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Kandaki ALT düzeyleri kontrole göre kıyaslandığında diğer 2 grupta da anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. İlaveten resveratrol ve yağlı karaciğer hastalığı oluşan gruptaki ALT düzeylerinde anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir¹⁰⁸.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Hayvanlar ve Diyet

Bu çalışmanın deneysel protokolü Gazi Üniversitesi Hayvan Etik Komitesinin, G.Ü.ET-11.068 kararı ile onaylanmıştır.

Deneye 8 haftalık 235-285 g Wistar erkek sıçanlar alınmıştır. Hayvanlar, 12/12 saat aydınlık-karanlık periyoduna ayarlanmış, sıcaklık (22 °C) ve nem kontrollü odalarda yem ve suya serbestçe ulaşabilecek şekilde yerleştirildiler. Bir grup sıçan içme suyu içinde, 10 hafta boyunca, %10 ve %20'lik yüksek fruktoz içeren mısır şurubu (HFSC-55) tüketmişlerdir. Diğer bir grup hayvan ise 10 hafta boyunca 500mg/kg resveratrollü yem ile beslenmiştir. Yüksek fruktoz içeren mısır şurubu verilmesi sonucu ortaya çıkan bozukluklarda, resveratrolün koruyucu etkisi olup olmadığını incelemek için, bir grup hayvan resveratrollü yem (500mg/kg) ile birlikte içme suyu içinde yüksek fruktoz içeren mısır şurubu (%10 ve %20) verilerek 10 hafta boyunca beslenmişlerdir.

Deney grupları aşağıdaki şekilde belirlenmiştir:

Grup 1: Kontrol (10 hafta boyunca standart yem ve çeşme suyu tüketildi. n=6)

Grup 2: Resveratrollü yem tüketen kontrol grubu (500 mg/kg resveratrol yem içinde, 10 hafta, n=6): Resveratrol (RES)

Grup 3: İçme suyu içinde %10 yüksek fruktozlu mısır şurubu içen grup (10 hafta, n=6): YFMŞ 10

Grup 4: İçme suyu içinde %20 yüksek fruktozlu mısır şurubu içen grup (10 hafta, n=6): YFMŞ 20

Grup 5: Resveratrollü yem tüketen ve içme suyu içinde %10 yüksek fruktozlu mısır şurubu içen grup (10 hafta, n=6): Resveratrol+YFMŞ 10

Grup 6: Resveratrollü yem tüketen ve içme suyu içinde %20 yüksek fruktozlu mısır şurubu içen grup (10 hafta, n=6): Resveratrol+YFMŞ 20

3.2 Yem ve Sıvı Alımı Ölçümü

Deney süresi boyunca hayvanların sağlık durumunu takip için her hafta yem ve sıvı tüketimi ölçülmüştür. Sıçanların 24 saat boyunca yedikleri günlük yem miktarı, kafeslerin yem haznelerine bir gün önceden belirli miktar yem konarak ertesi gün kalan miktar arasındaki farkın kafesteki hayvan sayısına bölünmesiyle bulunmuştur. Deney hayvanlarının sıvı alımlarının ölçümü, bir gün önceden suluklara konan belirli miktar sıvının 24 saat sonunda tüketilen miktar 100 g hayvan ağırlığı için başına hesaplanmıştır.

3.3. Ağırlık Değişimi

Deney gruplarında, hayvanların başlangıç ve 10 haftalık süre içindeki vücut ağırlıkları hayvanların sağlık durumunu takip etmek için her hafta kaydedilmiştir. Deney hayvanlarının son ağırlıklarıyla ilk ağırlıklarının farkı yüzde değişim olarak hesaplanmıştır.

3.4 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler yüksek fruktozlu mısır şurubu Cargill Gıda San. A.Ş.'den tedarik edilmiştir. Trans-resveratrol Sigma ve Herb-Tech (China)'den sağlanmıştır. Oil Red O (25 g, Oil Red O (C₂₆H₂₄N₄O), Lot. Number: 455567/1) Fluka firması tarafından sağlanmıştır. Diğer kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Merck ve Tocris firmalarından sağlanmıştır.

3.5. Kan Glikoz Düzeyi Ölçümü

Deney süresi sonunda hayvanlar ketamin (80-130mg/kg) ve ksilazin (7-15mg/kg) kombinasyonu ile anesteziye edilmişlerdir.

Venöz kan glikoz ölçümü için kuyruk kanatılarak, arter kan glikoz ölçümü için ise sakrifikasyonundan hemen sonra alınan intrakardiyak kan örneklerinde şeker ölçüm cihazı (Contour TS, Bayer)

striplerine damlatılarak kan glikoz düzeyi ölçülmüştür. En az iki ölçümün ortalamaları kaydedilmiştir.

3.6. Plazma Lipit Düzeyi Ölçümü

Toraks ve abdomen açıldıktan sonra intrakardiyak olarak alınan 4 cc kan örneği, EDTA içeren vakumlu tüplere (BD Vacutainer®) alınmıştır. Kan örnekleri 2200 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrılmıştır. Ayrılan plazma pipet ile alınarak ependorf tüperine koyulmuş ve -85 oC'de dondurularak saklanmıştır. Plazma örneklerinde trigliserit (kolorimetrik enzimatik metod), total kolesterol (enzimatik kolorimetrik metod) ve HDL kolesterol (homojenize kolorimetrik enzimatik metod) düzeyleri uygun metodlar ile Cobas Integra 800 otoanalizöründe "Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim" tarafından üretilmiş olan enzimatik analiz kitleri kullanılarak ölçülmüştür.

3.7. İnsülin Düzeylerinin Ölçümü

Deney gruplarını oluşturan sıçanların plazma insülin düzeyleri, Mercodia firmasının (Rat Elisa 10-1124-01) kitleri kullanılarak üretici firmanın bildirdiği talimata uygun ölçülmüştür.

3.8. Plazma ALT ve AST Ölçümü

Plazma lipit düzeyi ölçümü için ayrılan plazma örneklerinde ALT ve AST düzeyleri IFCC'ye (Uluslararası Klinik Kimya ve Tıbbi Laboratuvar Federasyonu) göre pridoksal fosfat olmadan Cobas Integra 800 otoanalizöründe "Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim" tarafından üretilmiş olan enzimatik analiz kitleri kullanılarak ölçülmüştür.

3.9. Karaciğerin Çıkarılması ve Histolojik İnceleme İçin Hazırlanması

Karaciğer, abdomen açıldıktan sonra karaciğer lobları bütün olarak çıkarılmış, kurutma kağıdı ile ıslaklığı hafifçe alındıktan sonra tartılmış ve histopatolojik incelemeler için %10'luk formol ve serum fizyolojik solüsyonu içerisine alınmıştır.

Hematoksilen-Eozin (HE) boyama yapılabilmesi için karaciğer sağ lobundan 2 mm kalınlığında yaklaşık 1.5x1 cm'lik doku örneği alınarak doku kasetine koyulmuş ve %10'luk formol içerisinde fiksasyon (tesbit) işlemine devam edilmiştir. Her hayvandan benzer şekilde alınan ve kasetlenen doku örnekleri otomatik doku tesbit cihazındaki kaset sepetlerine yerleştirilmiştir. Doku örnekleri, cihaz içerisinde dehidratasyon amacıyla etanol ile artan konsantrasyonlarda (%70'den %99'a kadar) olacak şekilde belirli periyotlarda muamele edilmiştir. Daha sonra, dokuların daha temiz ve şeffaf olması için ksilol ile muamele edilmiştir. Çıkan suyun yerine boşlukları doldurmak amacıyla dokular sıvı parafin ile muamele edilmiştir. Doku kasetinden çıkarılan doku örnekleri bloklama

cihazında kalıplar içerisine alınarak üzerlerine sıvı parafin döküldükten sonra, buzlukta sertleştirilmiştir. Elde edilen parafin bloklardan mikrotom ile 4 mikronluk kesitler alınmış ve kesitler 56°C'deki su banyosuna yavaşça bırakılmıştır. Kesitler lam ile temas edince lamın üstüne yapışmış ve doku örneğinden alınan kesit lam üstüne alınmıştır. Tüm kesitler lam sepetine sıralanmış ve boyama işleminden önce 80 derece santigratta 30 dakika bekletilerek kesitlerin deparafinizasyonu sağlanmıştır. Daha sonra 15 dakika Ksilende, 5 dakika alkolde tutularak dokular temizlenmiştir. Çeşme suyunda 2 dakika yıkandıktan sonra, boyama işlemi için otomatik boyama cihazına alınan lam sepeti, 7 dakika Hematoksilen boyasında bekletilmiş ve ardından yine cihaz içerisindeki çeşme suyunda 2 dakika süreyle yıkanmıştır. Asit alkol ile (%80'lik alkol) 10 saniye muamele edilen kesitler, çeşme suyunda 2 dakika yıkandıktan sonra amonyaklı suya 10 saniye daldırılmıştır. %80'lik alkolde 1 dakika tutulduktan sonra, 2 dakika Eozin boyasında bekletilmiştir. Bunu takiben %95'lik alkolden her biri 2 dakika olmak üzere 2 kez geçirilmiştir. Asetonda ile 10 saniye bekletilen kesitler ksilende 7 dakika tutularak artıklardan arındırılarak şeffaflandırılmıştır. Boyama işleminin tamamlanmasından sonra cihazın ayrı bir bölümünde entellan ve lamel yardımıyla otomatik kapatma işlemi gerçekleştirilmiştir. Mikroskopik inceleme için hazır hale gelmiş kesitler, Olympus BX51 marka ışık mikroskobunda 100x ve 400x büyütmelemlerde incelenmiştir.

Taze dokuda yağ boyaması amacıyla Oil Red O (Fluka, 25 g, Oil Red O (C₂₆H₂₄N₄O), Lot. Number: 455567/1) boyaması için serum fizyolojik solüsyonu içine alınarak hemen patoloji laboratuvarındaki donuk (frozen) kesit odasına ulaştırılan karaciğer sağ loblarından alınan bir parçadan, yaklaşık olarak 2 mm kalınlığında 1x1 cm boyutlarında doku örneği hazırlanmıştır. Donuk kesit alma cihazının doku tutucu objesine damlatılan kriyojel üzerine doku yerleştirilen doku örneği, donuk kesit

cihazının haznesinde -20 derece santigratta, jel donana kadar yaklaşık 1 dakika bekletilmiştir. Obje, donuk kesit alma yuvasına yerleştirildikten sonra, hareket etmemesi için mevcut vidası yardımıyla sıkıştırılmış ve cihazın kesme kolu yardımıyla lam üzerine 5-6 mikronluk kesitler alınmıştır. Hazırlanan donuk kesitler, tüm hayvanların sakrifikasyonu tamamlanana kadar -20 derece santigratta lam kutularında saklanmıştır. Daha sonra Oil-Red-O boyaması için lamlar, patoloji laboratuvarındaki histokimya odasına alınarak elde boyama yapılmıştır. Bunun için üzerlerinde donuk kesitleri içeren lamlar %70 alkolde 1 saniyede daldırılıp çıkarılmıştır. Kesitler Oil-Red-O solüsyonu ile ağzı kapalı bir şalede 1 saat bekletilmiştir. %70'lik alkole hızla daldırılıp çıkartılarak yıkanmıştır. Hemen, çeşme suyunda 2 dakika yıkanmıştır. Herris Hematoksilen boyası ile 1-2 dakika arası zıt boyama yapılmıştır. Sonrasında yine çeşme suyunda 2 dakika yıkanmıştır. Dilüe (%1) amonyaklı suda rengi maviye dönüşünceye kadar (yaklaşık 10 saniye) bekletilmiştir. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp, havada kurutulmuştur. Su bazlı kapatıcı bir medium ve lamel yardımıyla ile kapatma yapılmıştır. Mikroskobik inceleme için hazır olan kesitler Olympus BX51 marka ışık mikroskobunda 100x ve 400x büyütme ile incelenmiştir.

3.10. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. Deney gruplarında verilerin karşılaştırılması için eşlenmemiş (un-paired) Student t testi kullanılmıştır. P değeri 0.05'den küçük ise, bulgu anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Deney Gruplarının Beden Ağırlığı, Resveratol ile Günlük Su-Yem Tüketim Miktarları

Deney gruplarının ağırlık artışlarını karşılaştırdığımızda gruplar arasında anlamlı bir farkın oluşmadığını saptadık. En fazla ağırlık artışı olan gruplar kontrol ve resveratrol deney gruplarıdır. Buna karşın en az ağırlık değişimi gösteren grup %10 yüksek fruktozlu mısır şurubu ile birlikte resveratol tüketen grupta olmuştur. Fakat bu veriler istatistiki olarak anlamlılık taşımamaktadır.

Hayvanların yem içinde bir günde aldıkları resveratrol miktarları hesaplandığında; resveratrol grubunda 13,5 mg; %10 yüksek fruktoz mısır şurubu + resveratrol ile beslenen grupta 9,94 mg ve %20 yüksek fruktoz mısır şurubu + resveratrol ile beslenen grupta ise 9,24 mg olduğu saptanmıştır.

Hayvanların günlük sıvı tüketimi karşılaştırıldığında, kontrole göre %10 yüksek fruktoz mısır şurubu ile beslenen grupta ve %10 yüksek fruktoz mısır şurubu + resveratrol gruplarında değerlerin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır.

Deney gruplarındaki günlük yem alımı karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre resveratrol ile beslenen grupta anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Deney gruplarının ağırlık ve günlük sıvı-yem tüketim ile ilgili veriler, Tablo 1 de gösterilmiştir.

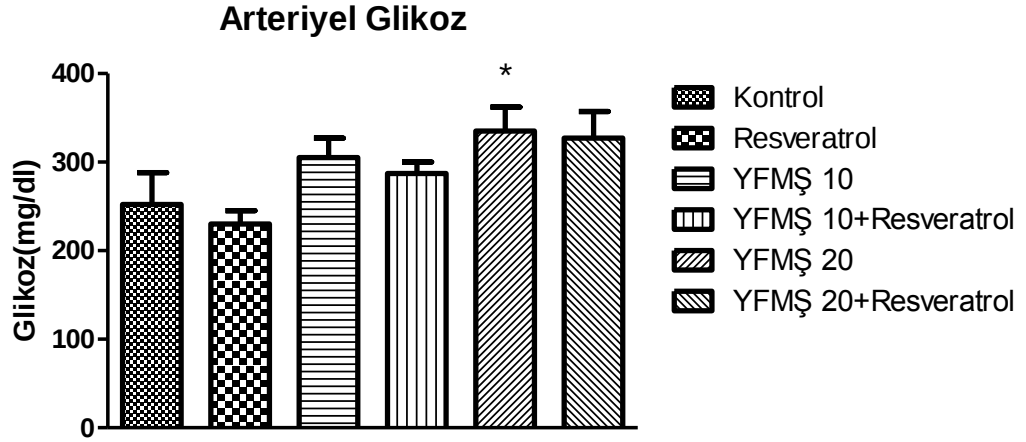
Tablo 1. Deney gruplarındaki sıçanların vücut ağırlıkları değişimi, günlük tüketilen yem ve su miktarları gösteren tablo.

GRUPLAR	AĞIRLIK % DEĞİŞİM	SIVI ALIMI (ml/100g)	YEM ALIMI (g/gün)
KONTROL	44±4,7	8,05±0,2	21±1,69
RES	44±2,4	8,8±0,35	27±0,44 *
YFMŞ 10	39,22±5,31	14,60±1,07 *	22,32±0,99
YFMŞ 10 + RES	36,23±7,09	13,11±1,40 *	19,89±2,00
YFMŞ 20	43,51±7,2	8,5±0,83	17,64±1,60
YFMŞ 20 + RES	42,72±7,38	7,98±0,69	18,48±0,89

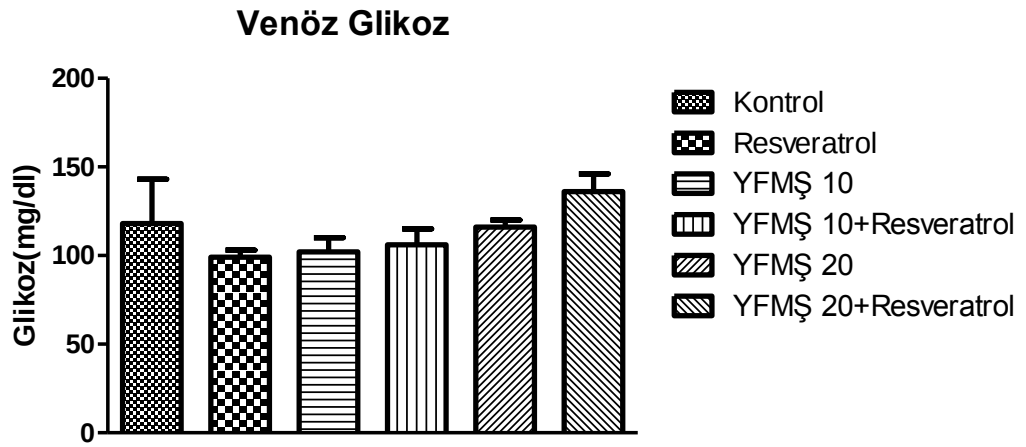
Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. n=5-6, * p<0.05 Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. Resveratrol (RES), yüksek fruktozlu mısır şurubu (YFMŞ).

4.2. Deney Gruplarının Glikoz ve İnsülin Düzeyleri

Deney gruplarında açlık olmayan glikoz düzeyleri hem arter hem ven kan örneklerinde ölçülmüştür. Arter kan örneklerinde plazma glikoz düzeyleri karşılaştırıldığında YFMŞ 20 grubunda değerlerin kontrole göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 8A). Diğer gruplarda ise anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Ven kan örneklerinde plazma glikoz düzeyinin karşılaştırılmasında ise gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır (Şekil 8B).

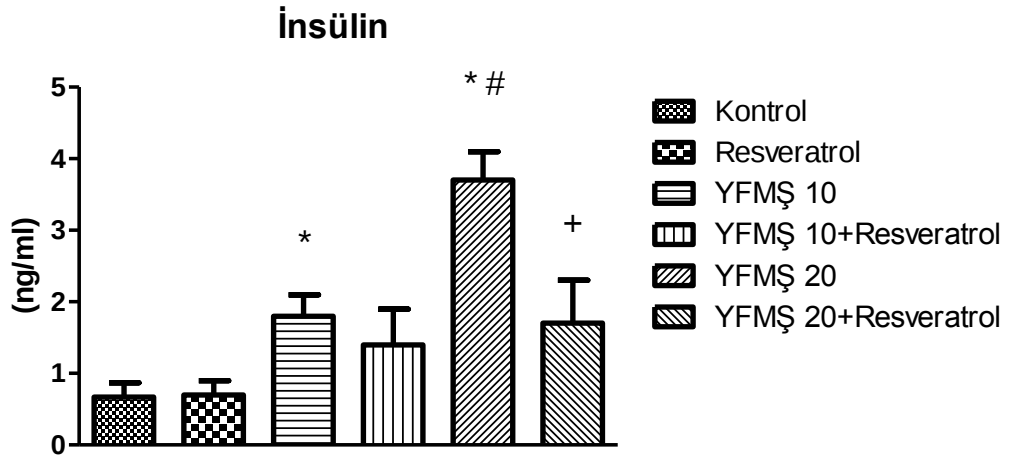


Şekil 8A. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarından arter kan örneklerinde plazma glikoz (mg/dl) düzeyi. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. $n=5-6$, * $p<0.05$ Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.



Şekil 8B. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarının ven kan örneklerinde plazma glikoz (mg/dl) düzeyi. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir.

Plazma örneklerinde insülin düzeyleri karşılaştırıldığında YFMŞ 10 ve YFMŞ 20 gruplarında kontrole göre anlamlı bir artış olduğu saptanmıştır. İçme suyu içinde YFMŞ tüketen gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında YFMŞ 20 grubunda insülin düzeyinin YFMŞ 10 grubundan istatistiki olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur. YFMŞ ile birlikte resveratrol tüketen gruplardan YFMŞ 20 + resveratrol grubunda insülin düzeyinin YFMŞ 20 grubuna göre anlamlı olarak düşüş gösterdiği saptanmıştır (Şekil 9).



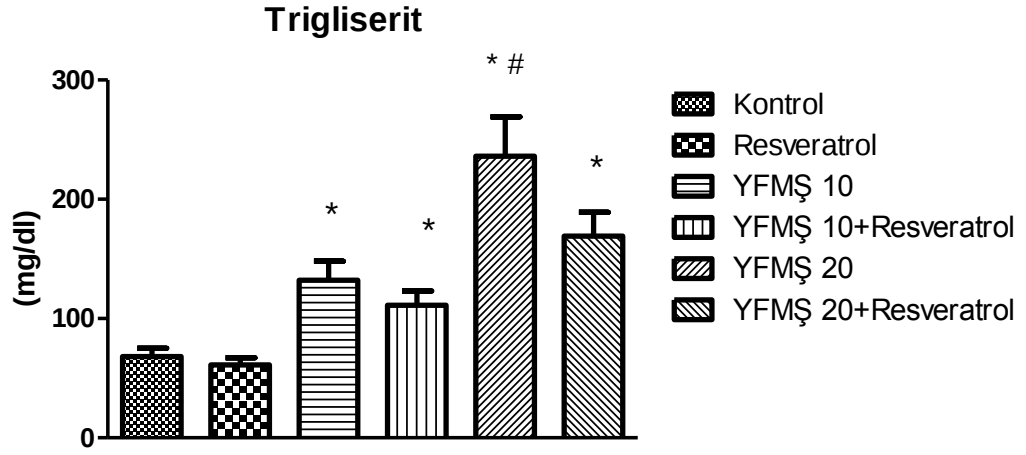
Şekil 9. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarından plazma örneklerinin insülin (ng/ml) düzeyi. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. $n=5-6$, * $p<0.05$ Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ YFMŞ 10 grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. + $p<0.05$ YFMŞ 20 grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.3. Deney Gruplarının Plazma Lipit Profili

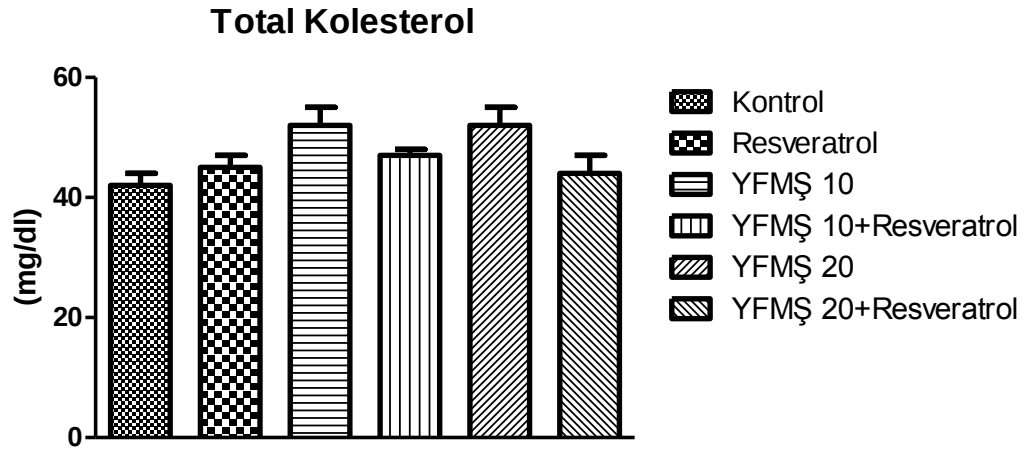
Plazma trigliserit düzeyi yüksek fruktoz tüketen gruplarda kontrole göre anlamlı bir artış göstermiştir. Yüksek konsantrasyonda (%20) fruktoz tüketen hayvanların trigliserit düzeyi daha düşük (%10) fruktoz tüketen hayvanlardan belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur. Yüksek fruktoz ile birlikte resveratol tüketen gruplarda bu artış kısmen azalsada istatistiki olarak anlamlı bir değere ulaşmamıştır (Şekil 10).

Deney gruplarının plazma kolesterol düzeyleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı görülmüştür (Şekil 11).

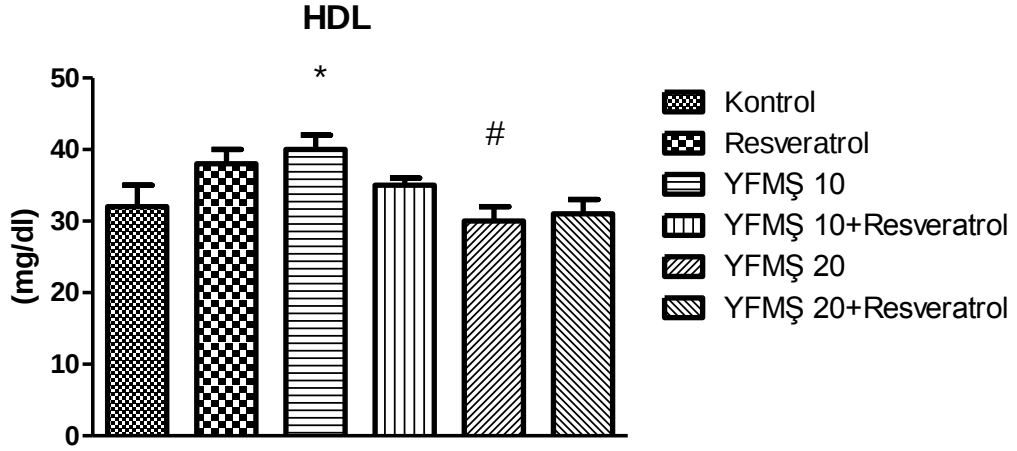
Deney gruplarında plazma HDL (High Density Lipoprotein dansite; yüksek dansiteli lipoprotein) düzeyleri karşılaştırıldığında YFMŞ 10 grubunda değerlerin kontrole göre istatistiki olarak daha yüksek olduğu görülmüştür. YFMŞ 10 ve 20 grupları kendi içinde karşılaştırıldığında YFMŞ 20 grubunun HDL'si YFMŞ 10 grubundan istatistiki olarak daha düşük bulunmuştur. Resveratrol tedavisinin plazma HDL düzeylerinin anlamlı olarak değiştirmedeği görülmektedir (Şekil 12).



Şekil 10. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarında plazma örneklerinin trigliserit (mg/dl) düzeyi. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. $n=5-6$, * $p<0.05$ Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ YFMŞ 10 grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.



Şekil 11. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarından plazma örneklerinin total kolesterol (mg/dl) düzeyi. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir.



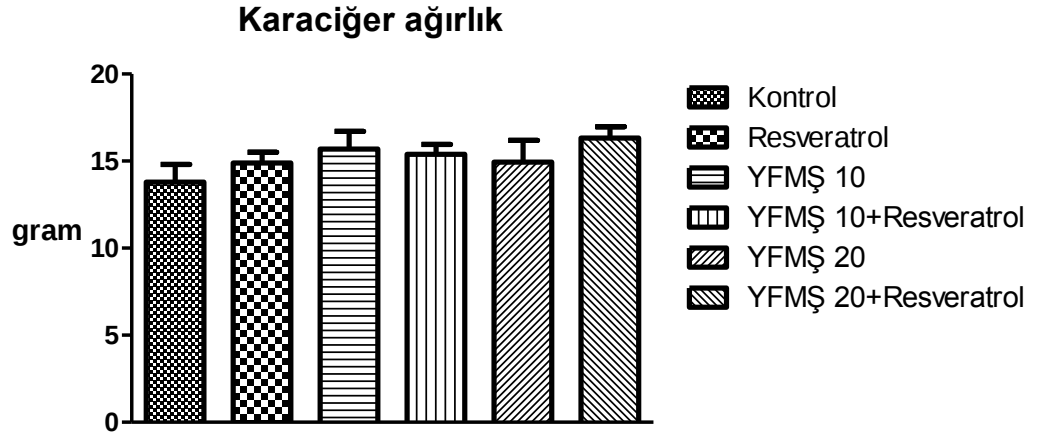
Şekil 12. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarından plazma örneklerinin HDL (mg/dl) düzeyi. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. $n=5-6$, * $p<0.05$ Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ YFMŞ 10 grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4. Deney Gruplarının Karaciğer Ağırlıkları, ALT ve AST Düzeyleri ile Karaciğer Histolojisi

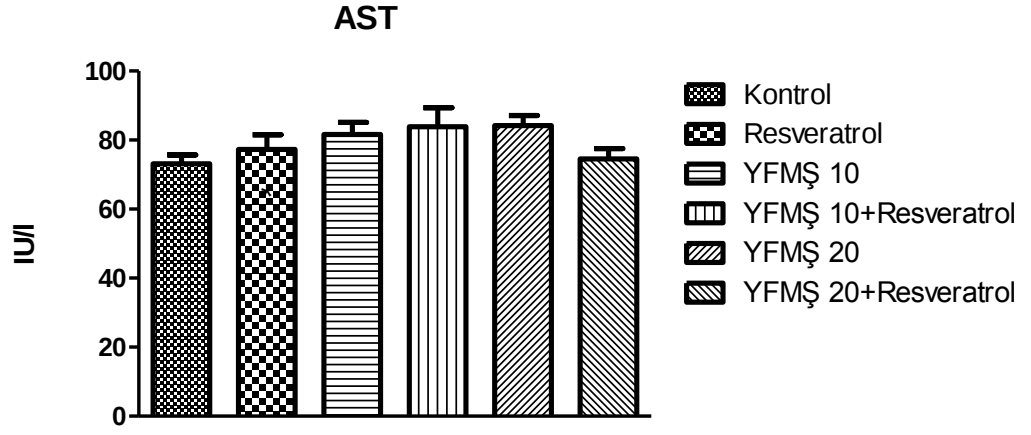
Deney hayvanlarının karaciğer ağırlıkları incelendiğinde, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür. Karaciğer ağırlığının en düşük olduğu grup kontrol, karaciğer ağırlığının en yüksek olduğu ise YFMŞ + resveratol ile beslenen grup olduğu bulunmuştur, fakat bu değerler istatistik olarak anlamlılık taşımamaktadır (Şekil 13).

Karaciğer fonksiyon bozukluğunun en büyük göstergeleri olarak kabul edilen AST ve ALT düzeyleri plazmada ölçüldüğünde gruplar arasında anlamlı bir farklılığın oluşmadığı saptanmıştır (Şekil 14A ve 14B).

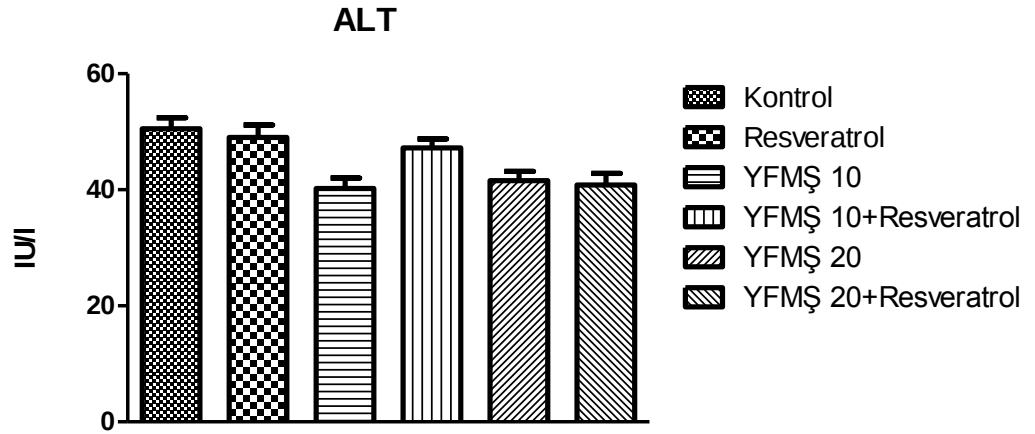
Histolojik incelemeler sonucunda Hematoksilen-eozin ve Oil Red O boyamalarının YFMŞ içen gruplarda karaciğerde yağ damlacıkları oluştuğunu gösteren görüntüler elde edilmiştir. Yağ damlacıklarının skorlaması bir patolog tarafından daha sonra yapılacağından bu çalışmaya dahil edilmemiştir (Resim 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ve 12.).



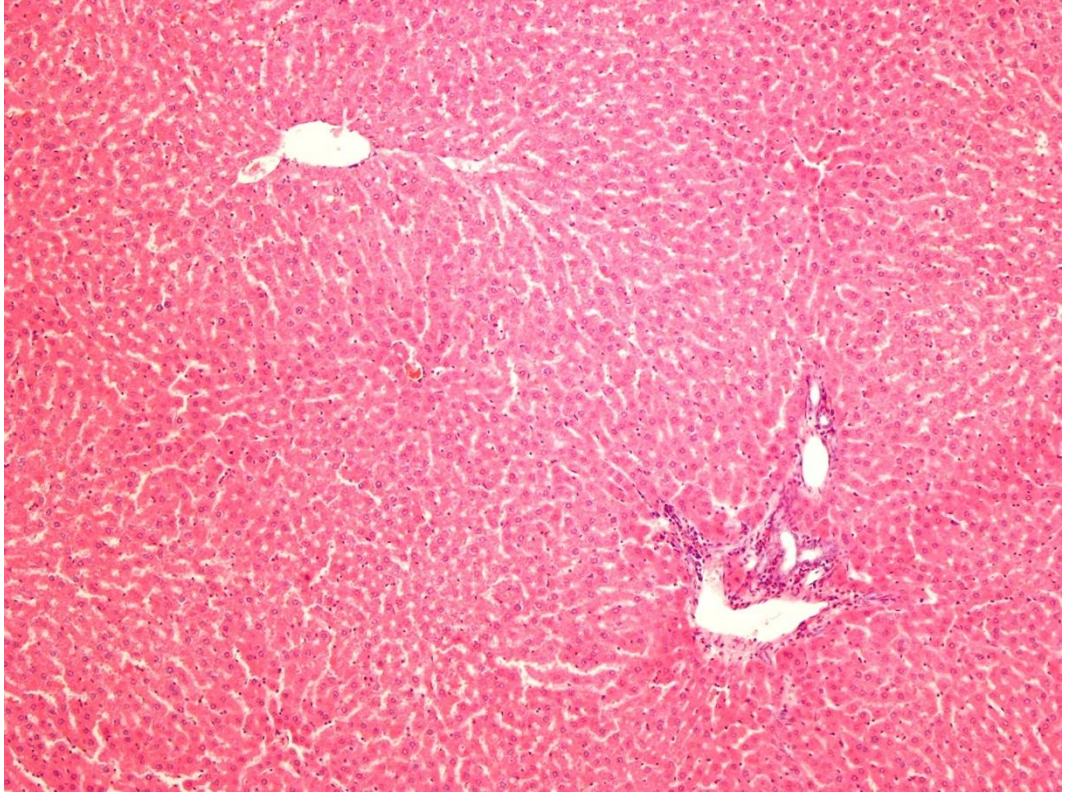
Şekil 13. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarının karaciğer ağırlıkları (gram). Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir.



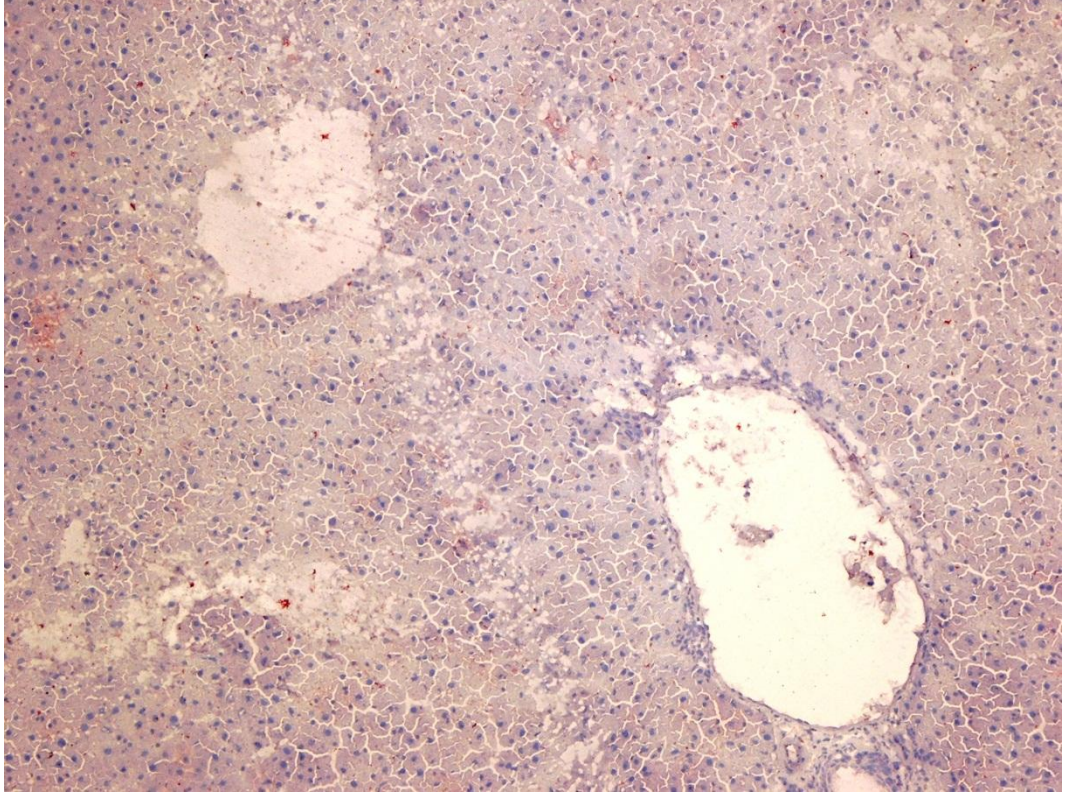
Şekil 14A. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarının plazma AST düzeyleri (IU/l). Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir.



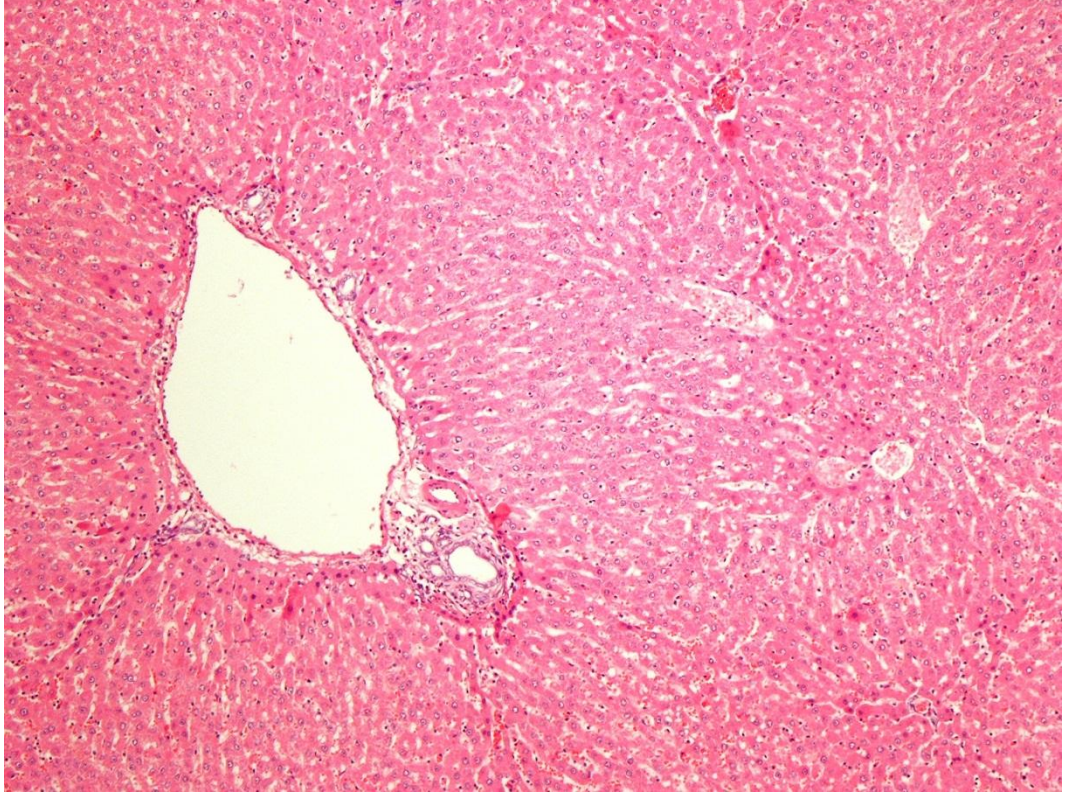
Şekil 14B. Kontrol, resveratrol, YFMŞ 10, YFMŞ 10 + resveratrol, YFMŞ 20 ve YFMŞ 20 + resveratrol gruplarının plazma ALT düzeyleri (IU/l). Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir.



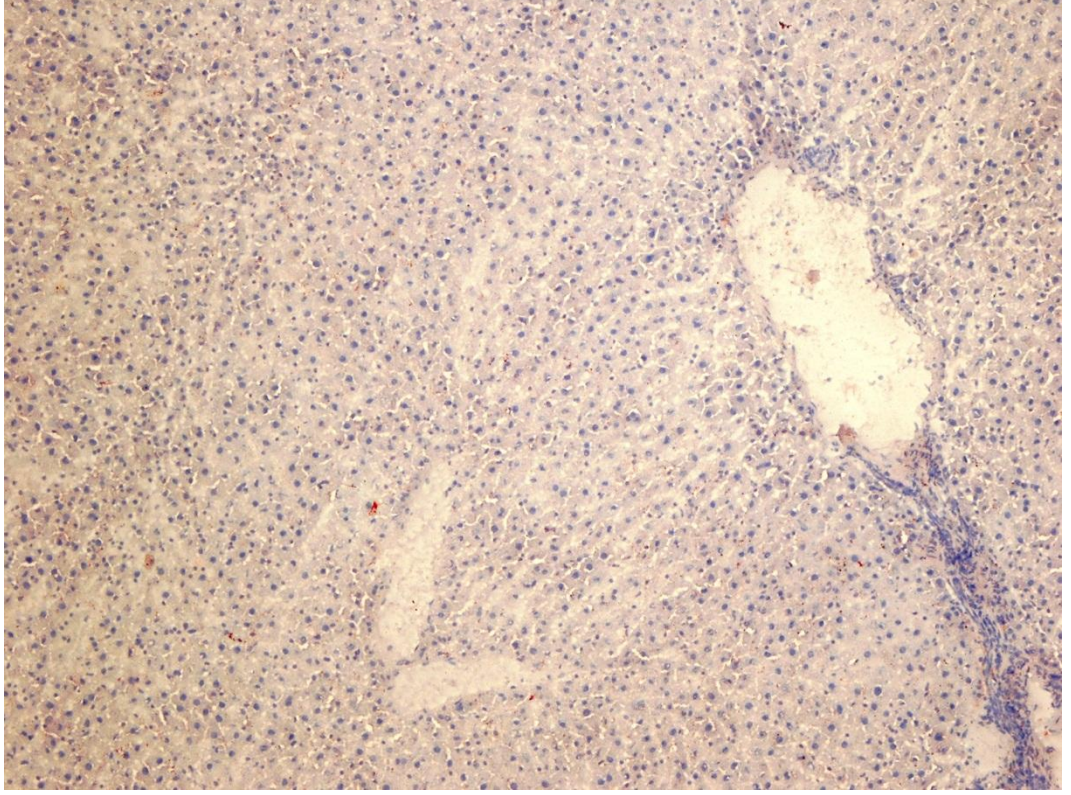
Resim 1. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan Kontrol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü. 100x ışık mikroskobu altındaki görüntüdür.



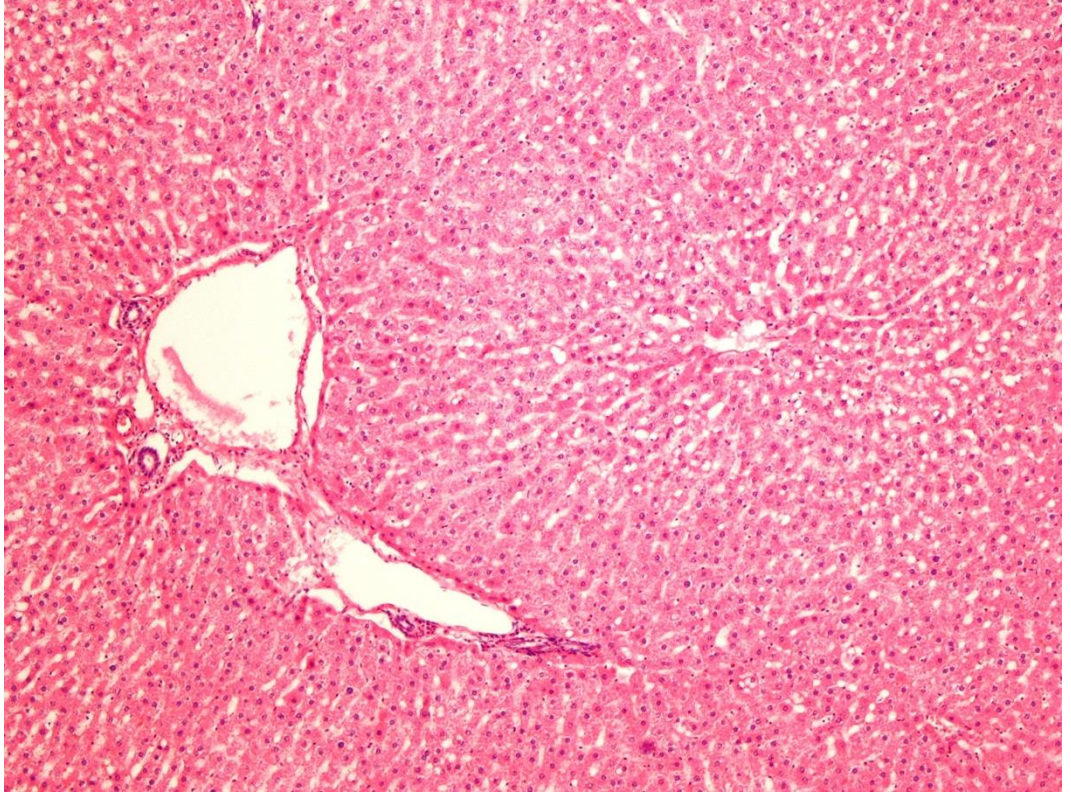
Resim 2. Oil red O (ORO) ile boyanan Kontrol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü. 100x ışık mikroskobu altındaki görüntüdür.



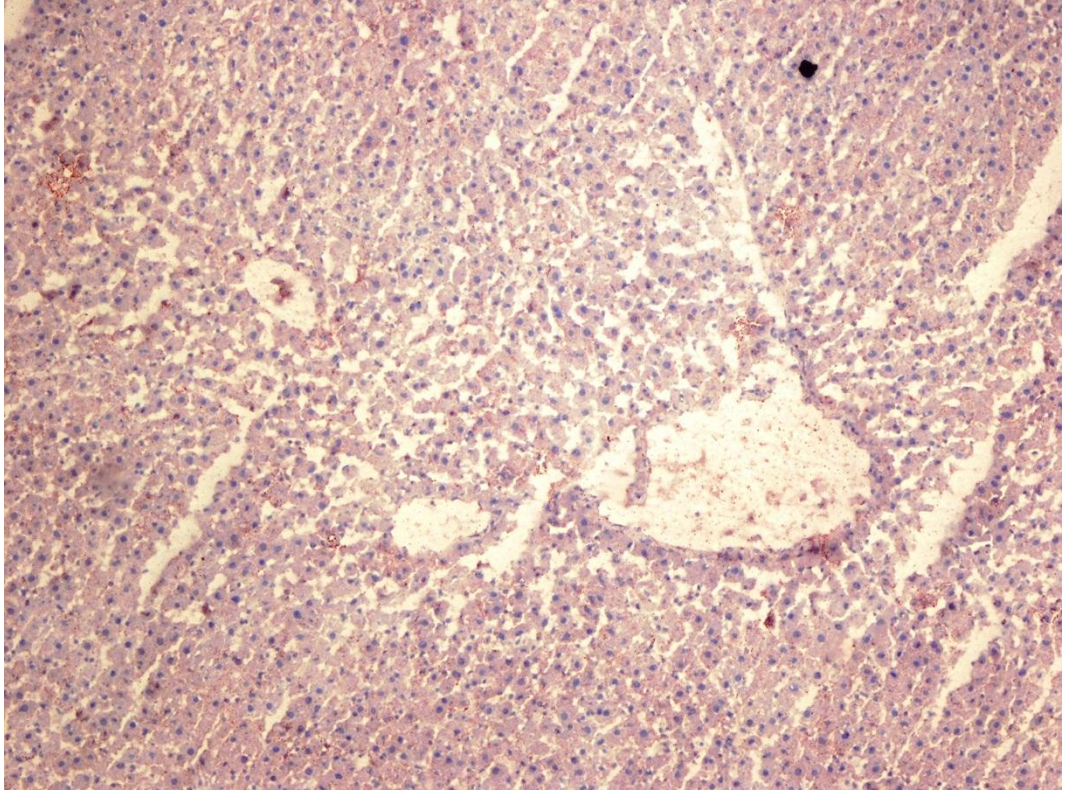
Resim 3. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan Resveratol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü. 100x ışık mikroskobu altındaki görüntüdür.



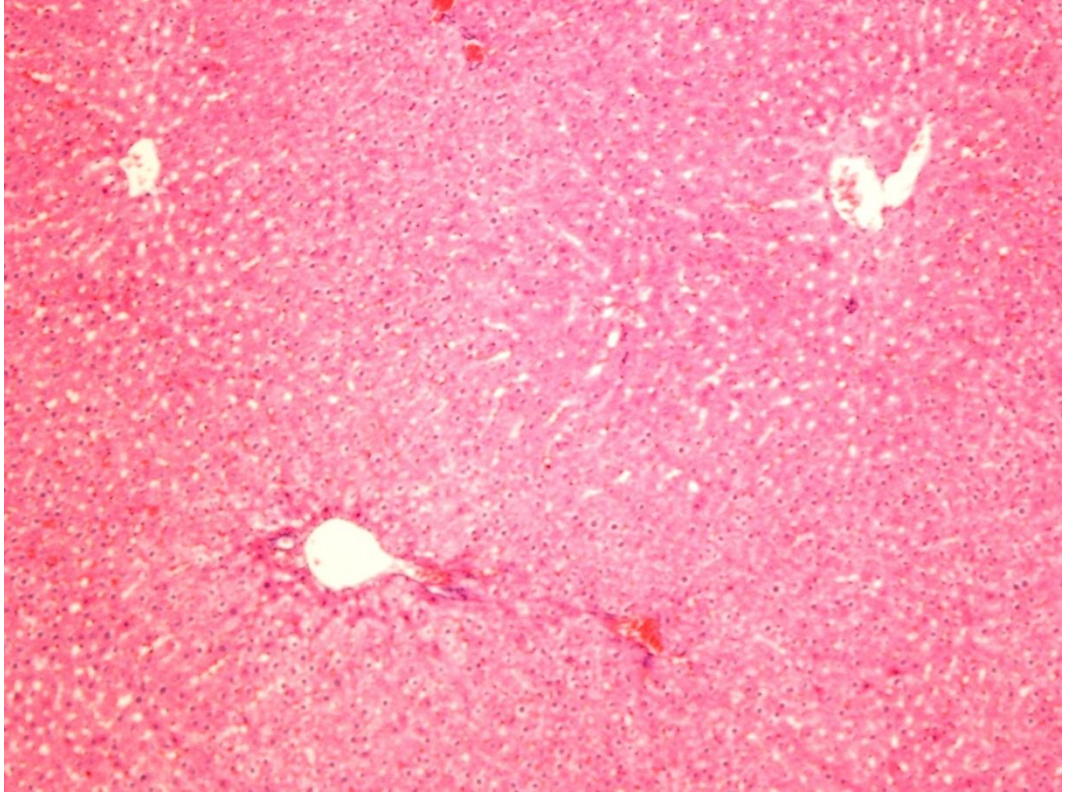
Resim 4. Oil red O (ORO) ile boyanan Resveratol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü. 100x ışık mikroskobu altındaki görüntüdür.



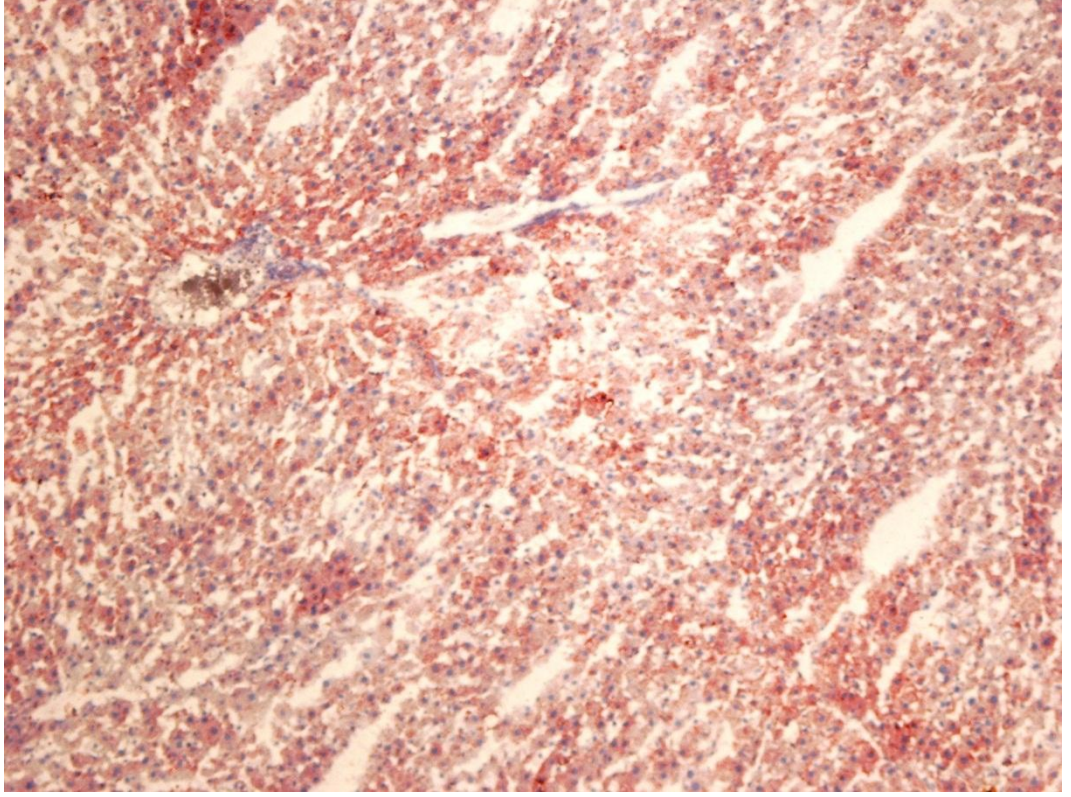
Resim 5. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan YFMŞ 10 Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü. 100x ışık mikroskobu altındaki görüntüdür.



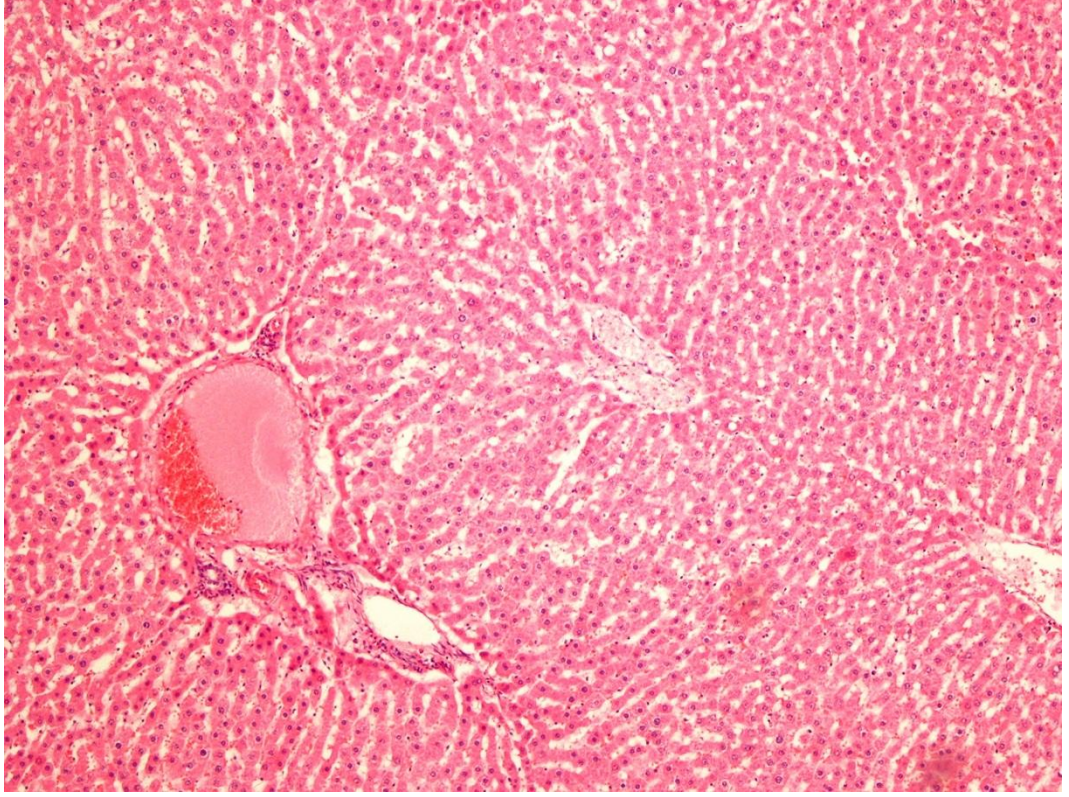
Resim 6. Oil red O (ORO) ile boyanan YFMŞ 10 Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü. 100x ışık mikroskobu altındaki görüntüdür.



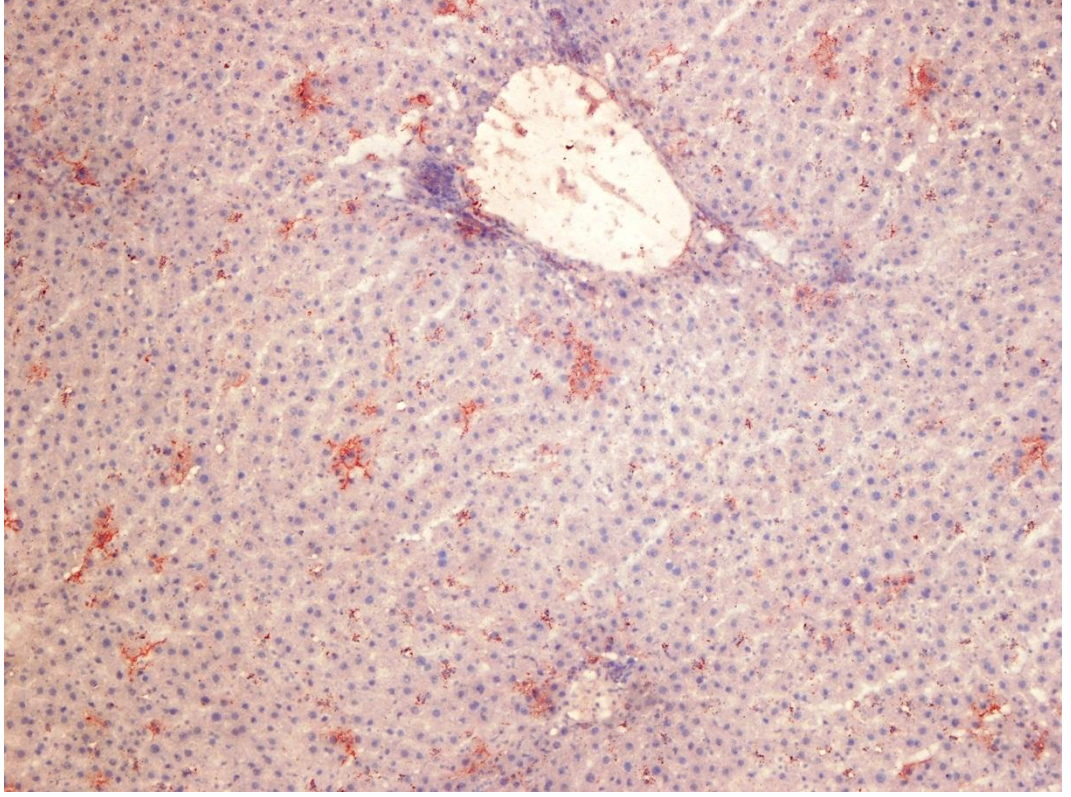
Resim 7. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan YFMŞ 10 + Resveratol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü. 100x ışık mikroskobu altındaki görüntüdür.



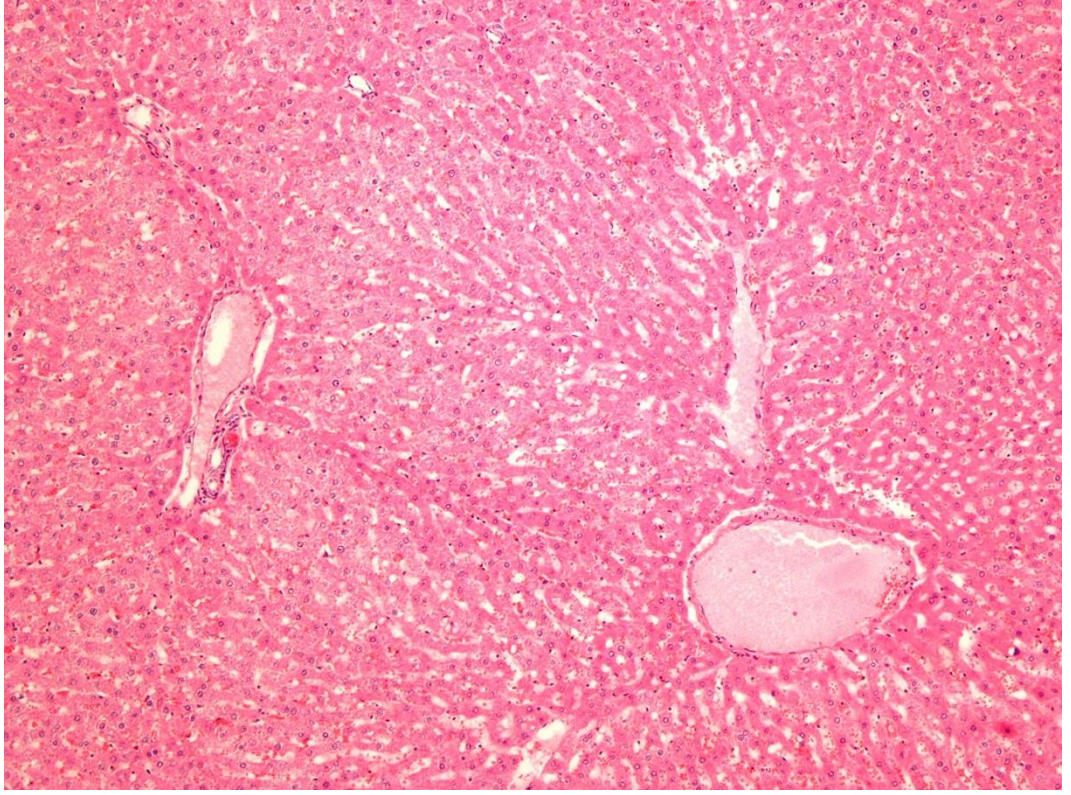
Resim 8. Oil red O (ORO) ile boyanan YFMŞ 10 + Resveratrol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü. 100x ışık mikroskobu altındaki görüntüdür.



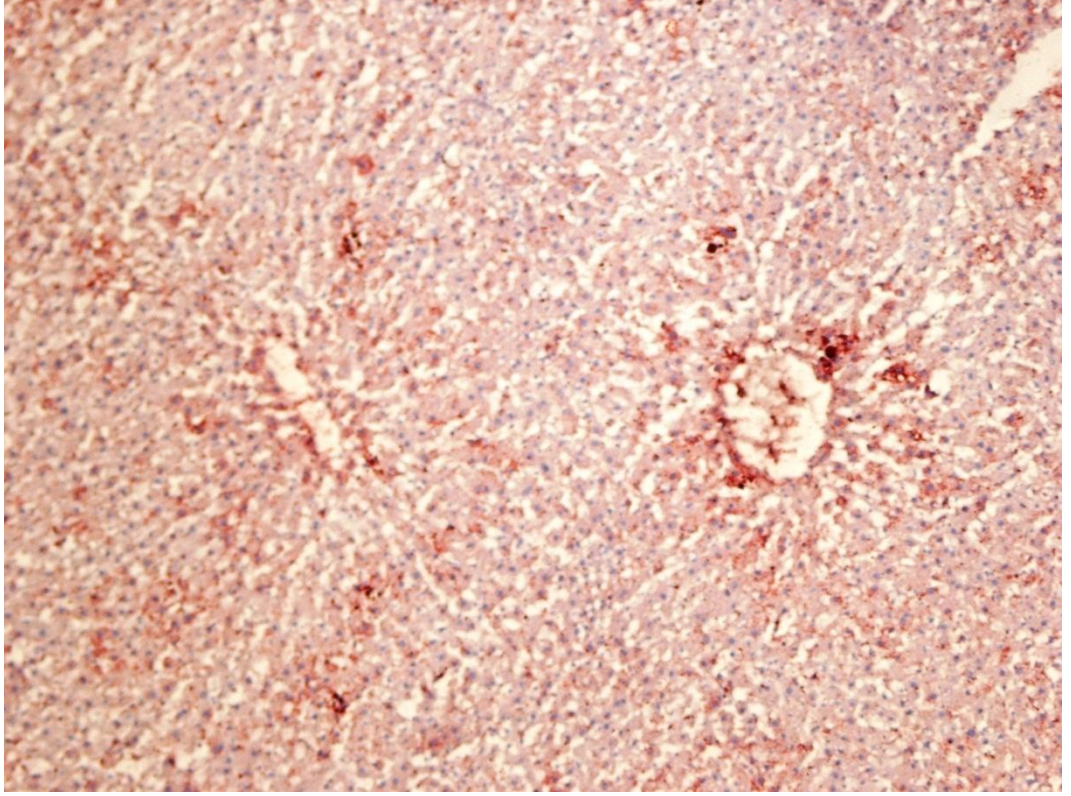
Resim 9. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan YFMŞ 20 Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü. 100x ışık mikroskobu altındaki görüntüdür.



Resim 10. Oil red O (ORO) ile boyanan YFMŞ 20 Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü. 100x ışık mikroskobu altındaki görüntüdür.



Resim 11. Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanan YFMŞ 20 + Resveratol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü. 100x ışık mikroskobu altındaki görüntüdür.



Resim 12. Oil red O (ORO) ile boyanan YFMŞ 20 + Resveratrol Grubu Karaciğeri histolojik görüntüsü. 100x ışık mikroskobu altındaki görüntüdür.

5. TARTIŞMA

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde giderek artan obeziteye, tüketimi gün geçtikçe artan fruktozun neden olabileceği ileri sürülmektedir. Deney hayvanlarında, yüksek fruktoz alımının insülin rezistansı, hipertrigliseridemia, hepatik steatozis ve hipertansiyona neden olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda fruktoz ile tatlandırılmış içecek tüketiminin postprandiyal trigliserit düzeyini artırdığı ve insülin duyarlılığını azalttığı fakat bu etkilerin glikozlu içecek tüketenlerde oluşmadığı saptanmıştır². Bu çalışmada, yüksek fruktozlu mısır şurubu %10 ve %20'lik derişimlerde içme suyu içinde 10 hafta boyunca sıçanlara verilerek kan lipit parametreleri ve karaciğer ile ilgili parametreler incelenmiştir.

Farklı şeker içeriklerinin metabolik fonksiyon üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 8 hafta boyunca dişi Sprague–Dawley sıçanlara içme suyu içinde %13 glikoz, fruktoz, sükroz ve yüksek fruktoz içeren mısır şurubu verilmiştir. Tatlandırılmış içecek alan hayvanların katı yem tüketiminde belirgin bir azalma olduğu bildirilmiştir. Bu şekerlerden yalnız yüksek fruktoz içeren mısır şurubunda ağırlık artışı ve yağ kitlesinde artış olduğu saptanmıştır. Şekerli içeceklerle beslenmenin serum glikoz ve insülin düzeyleri ile lipit profilleri üzerinde belirgin bir değişiklik oluşturmadığı gözlemlenmiştir⁸⁴. Serbest ya da bağlı fruktoz içeren diyetlerin metabolik etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada bir grup Wistar erkek sıçan içme suyu içinde %10 sükroz alırken, diğer grup sıçanlar içme suyu içinde fruktoz-glikoz (1:1) içeren şekerli içme suyunda %10 oranında 56 gün boyunca almışlardır. Şekerli içecek alan hayvanların total enerji alımının %25 fazla olmasına karşın vücut ağırlığında bir değişiklik oluşmadığı saptanmıştır. Buna karşılık şekerli içecek alan hayvanlarda karın bölgesi yağlanması, plazma trigliserit düzeyinde artış ve glikoz

toleransında azalma olduğu saptanmıştır⁸³. C57BL/6J fareler %20 yüksek fruktozlu mısır şurubu içeren diyetle beslenmiş bir çalışmada erkek ve dişi farelerin 32 hafta sonunda ağırlık artışı fruktoz şurubu içeren diyet ile beslenmenin belirgin bir fark oluşturmadığı, beslenmenin insülin plazma glikoz insülin, trigliserit ve total kolesterol düzeylerinde belirgin bir değişiklik oluşturmadığı rapor edilmiştir. Karaciğer trigliserit düzeyinde ise belirgin bir artış oluşturmuştur. Karaciğer histolojisinin HE ve ORO ile incelenmesi sonucu mısır şurubu ile beslenmenin karaciğer de mikroveziküler yağlanmayı artırdığı saptanmıştır⁷³. Bizim çalışmamızda ise deney gruplarının ağırlık artışlarını karşılaştırdığımızda gruplar arası anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir ve bu sonuçlar bazı çalışmalarla⁷³ paralellik göstermektedir. Tatlandırılmış içecek alan hayvanlarda yem tüketimi belirgin ölçüde azaldığını gösteren çalışmalar vardır⁸⁴; ancak, bizim çalışmamızda yem tüketiminde istatistiki olarak azalma olmadığı gösterilmiştir. Fakat resveratol ile beslenen grupta kontrole göre yem tüketiminde bir artış meydana gelmiştir. Ek olarak çalışmamızda %10 yüksek fruktoz mısır şurubu ile beslenen grup ve %10 yüksek fruktoz mısır şurubunun yanında diyetinde resveratrol içeren gruplarda kontrole göre sıvı alımı değerlerinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır.

Yüksek yağlı ve şekerli diyet ile beslenmenin insanlarda artan metabolik sendromun ana unsurlarından biri olduğunu ileri süren bir çalışmada 5-6 haftalık C57BL/6 erkek farelere kalorisinin %45'ini yemdeki doymuş yağlardan sağlayan 16 haftalık bir diyet uygulaması yapılmış. Aynı zamanda hayvanlara içme suyu içinde %4,2 yüksek fruktozlu mısır şurubu tüketilmesi sağlanmıştır. İzlem periyodu sonunda hayvanların vücut ağırlığı, karaciğer ağırlığı, karaciğer trigliserit konsantrasyonu, kan insülin düzeyi ile plazma kolesterol, trigliserit ve ALT düzeylerinde belirgin artışlar kaydedilmiştir. Beslenme periyodu olan 4 haftanın sonunda bile HE boyaması incelenen karaciğer histoloji çalışması, yağ damlacıkları ve

steatozis olduğu saptanmıştır⁷². Tatlandırılmış içeceklerin haftada 3 gün 10 hafta boyunca sıçanlara verilmesinin karşılaştırıldığı bir çalışmada içme suyu içerisinde %15 mısır şurubu ve fruktoz uygulamasının hayvanlar serum kolesterol ve trigliserit düzeyinin artırdığı fakat karaciğer histolojisinde belirgin bir değişiklik yapmadığı sadece serum ALT düzeyini yükselttiği bildirilmiştir⁸¹. Diyet suyu içinde %60 sükroz, %60 fruktoz- glikoz (1:1) kombinasyonun karşılaştırıldığı bir çalışmada 8 haftalık beslenme periyodu sonunda karaciğer trigliserit düzeyi ile karaciğer yağlanma düzeyinin sükroz grubuna göre fruktoz-glikoz grubunda arttığı bildirilmiştir. Serbest fruktoz ve glikoz kombinasyonunun bağlı sükroz içindeki bağlı fruktoz-sükroz'a göre karaciğer üzerinde daha zararlı olabileceği bu çalışmanın bulguları ile gösterilmiştir⁸². Çalışmamızda plazma trigliserit düzeyi yüksek fruktoz tüketen gruplarda kontrole göre anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Diğer çalışmalarda da bizim trigliserit sonuçlarımıza paralel sonuçlar olduğunu görmekteyiz. Fruktoz tüketim oranı arttıkça plazma trigliserit düzeyinin belirgin olarak yükseldiği bulunmuştur. Deney gruplarımız karşılaştırıldığında total kolesterol düzeylerinin anlamlı bir fark oluşturmadığı bulunmuştur. Yüksek fruktozlu mısır şurubu %10 ve %20 grupları karşılaştırıldığında, yüksek fruktozlu mısır şurubu %20 grubunun HDL'si yüksek fruktozlu mısır şurubu %10 grubundan istatistiki olarak daha düşük bulunmuştur.

Diyet içeriğinin total kalorisinin %58'inin doymuş yağdan oluştuğu ve içme suyu içinde %4,2 oranında yüksek fruktozlu mısır şurubunu 16 hafta süresince tüketen C57Bl/6 farelerde yapılan bir çalışma sonucunda, vücut yağ kitlesinde ve ağırlığında ciddi artışlar kaydedilmiştir. Aynı zamanda kan insülin ve glikoz düzeyinin de yükseldiği saptanmış, glikoz tolerans testinde insülin rezistansı geliştiği gösterilmiştir. Plazma trigliseritinde bir farklılık olmadığı fakat serum kolesterol düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır⁵⁷. Dişi ve erkek fareler üzerinde yapılan bir

çalışmada 35 hafta yüksek yağlı diyet ile beslenmenin hayvanların yem-su tüketimi ile kan parametrelerindeki değişiklikler incelenmiştir. Bu çalışmaya göre yüksek yağlı diyetle beslenen erkek ve dişi farelerin günlük yem tüketiminde belirli bir farklılık gözlenmeden belirgin bir şekilde kilo artışına uğradığı gösterilmiş, karaciğer ağırlıklarında ise herhangi bir farklılık oluşmadığı gözlenmiştir. Yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde karaciğer trigliserit ve kan insülin düzeylerinde kontrole göre belirgin bir artış meydana geldiği bulunmuştur. Karaciğer enzimlerinden ALT aktivitesinin yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde arttığı gözlemlenmiştir⁷⁶. Erkek fareler üzerinde yapılan 8 haftalık bir çalışmada içme suyu içerisinde %20 fruktozun ve %72 lipit içeren yağlı diyetle beslenme sonucunda hayvanların vücut ağırlığı, karaciğer ağırlığı ve plazma insülin düzeyin arttığı fakat, glikoz düzeyinin değişmediği görülmüştür⁵⁹. Bizim çalışmamız da ise yüksek fruktoz tüketen gruplarda insülin düzeyleri kontrole göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. İçme suyu içinde Yüksek fruktozlu mısır şurubu tüketen gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında, Yüksek fruktozlu mısır şurubu 20 grubunda insülin düzeyinin Yüksek fruktozlu mısır şurubu 10 grubundan istatistiki olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur. Resveratrolün yüksek fruktozlu mısır şurubu 20 grubundaki insülin düzeyini anlamlı olarak düşürdüğü bulunmuştur. Ek olarak ven kan plazma glikoz düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir. Ancak arter plazma kan glikoz düzeyinde yüksek fruktozlu mısır şurubu 20 grubunda kontrole göre anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur.

Ackerman ve ark. 2005 yılında 5 hafta boyunca %60 fruktoz içeren diyetle beslenmenin Sprague-Dawley sıçanlarda karaciğerde non-alkolik karaciğer yağlanması (Alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması) oluşturulabileceği tanımlanmıştır. Bu sürenin sonunda karaciğer histolojisi HE ve ORO boyamalarıyla incelendiğinde fruktozla beslenen grupta

makroveziküler ve mikroveziküler steatoz, lobüler inflamasyon ve fibrozis geliştiği saptanmıştır. Yüksek fruktozla beslenen hayvanların plazma glikoz, kolesterol, ALT ve AST düzeylerinde bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. Fakat insülin ve trigliserit düzeyleri yükseldiği görülmüştür. Aynı çalışmada fruktozlu grupta karaciğer trigliserit ve kolesterol miktarının arttığı bildirilmiştir⁶⁷. Fruktozla yapılan bir çalışmada içme suyu içinde %30 fruktozun 4 hafta boyunca erkek Sprague–Dawley sıçanlara verilmesi sonucunda karaciğer zedelenmesi, steatozis olduğu ve karaciğer ağırlığının arttığı bildirilmiştir. Ayrıca karaciğer trigliserit düzeyi, plazma glikoz düzeyi ve insülin düzeylerinin arttığı saptanmıştır⁵⁸. Fruktozdan zengin diyet ile (%60 fruktoz) beslenen Wistar sıçanlarda egzersizin metabolik sendrom üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada günde 1 saat haftada 5 gün; 28. ile 120. gün arasında yüzme egzersizi uygulanan sıçanlarda, serum ALT düzeyi gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Fakat serum AST ve karaciğer lipitlerinin anlamlı ölçüde düştüğü saptanmıştır. İlginç olarak serum trigliserit konsantrasyonunun fruktozla beslenen ve yüzme egzersizine tabi tutulan sıçanlarda yüksek olduğu bildirilmiştir⁸⁰. Kemirgenler üzerinde yapılan araştırmada fruktoz tüketiminin karaciğer dokusunda çeşitli histolojik değişikliklere neden olduğu ve bu değişikliklerin periportal bölgede lokal inflamasyon, periportal alanda makroveziküler steatozis, makroveziküler ve mikroveziküler steatozis olarak bildirilmiştir^{69,70}. Yüksek fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanlarda 5 hafta sonra portal inflamasyon ve lobüler inflamasyonun belirgin olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir⁷¹. Bizim hematoksilen-eozin ve Oil Red O boyamasında yüksek fruktozlu mısır şurubu tüketen gruplarda yağ damlacıkları olduğu gösteren görüntüler vardır. Karaciğer ağırlığında ise bizim deney gruplarımız arasında anlamlı bir fark oluşmadığı saptanmıştır. Çalışmamızdaki ALT ve AST düzeylerinde ise gruplar arası anlamlı bir fark oluşmadığı tespit edilmiştir.

6. SONUÇ

Çağımızın hastalığı olan metabolik sendrom, yüksek fruktozlu mısır şurubunun yiyecek ve içeceklere yüksek oranda girmeye başlamasıyla aynı doğrultuda toplumda görülme sıklığı da giderek artmaktadır. Deneysel çalışmalarda fruktozdan zengin diyetle beslenen hayvanlarda metabolik sendrom oluştuğu gösterilmiştir. Yaptığımız çalışmada içme suyu içerisine yüksek fruktozlu mısır şurubu ilave ederek beslediğimiz sıçanlarda metabolik sendromun önemli iki parametresinden yüksek insülin düzeyi ve yüksek trigliserit düzeyinin ortaya çıktığını saptadık. Fruktoz konsantrasyonundaki artış ile bu parametrelerdeki değişikliğin daha belirgin hale geldiği görülmüştür. Ayrıca karaciğerde hafif dereceli bir yağlanmanın başladığı ve yağ damlacıklarının oluştuğu gözlemlenmiştir. Resveratrol tedavisinin fruktoz ile beslenen hayvanlarda izlediğimiz yüksek insülin düzeyi ve yüksek trigliserit düzeyini düzelttiğini göstermiş bulunmaktayız. Günümüzde metabolik sendrom tedavisiyle ilgili öneriler, eşlik eden risk faktörlerinin düzeltilmesi esasına dayanmaktadır. Bu risk faktörlerini düzeltilmesinde önemli rolü olduğunu düşündüğümüz resveratrolün, metabolik sendromla birlikte oluşan istenmeyen durumların önlenmesinde önemli bir yer teşkil edeceğini düşünmekteyiz.

7. ÖZET

Yüksek Fruktoz ile Beslenen Sıçanlarda Kan Lipit Profili ve Karaciğer Lipit Akümülayonu Üzerine Resveratrolün Etkisinin İncelenmesi

Gelişmiş toplumlarda metabolik sendrom aşırı fruktoz tüketimi ile ilişkilendirilmektedir. Fruktozun esas kaynağı günümüzde yüksek fruktoz içeren mısır şurubudur ve sükrozun yerini almıştır. Meyve ve bitkiler içinde bulunan resveratrol, diyabet, obezite ve karaciğer yağlanması yararlı etkileri saptanmış polifenolik bir bileşiktir. Bu çalışmada, yüksek fruktoz içeren mısır şurubu Wistar erkek sıçanlara (12 haftalık) %10 ve %20 oranında içme suyu içinde ve resveratrol (500 mg/kg) yem içinde 12 hafta boyunca verilmiştir. Yüksek fruktoz tüketimi sonucu kan lipit profili, insülin, glikoz düzeyleri ile karaciğer yağlanması histolojik (hematoksilen-eosin ve ORO boyaması ile) olarak incelenmiştir. Fruktoz ile beslenmenin oluşturabileceği değişiklikler üzerinde resveratrolün koruyucu etkisi olup olmadığı da araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları yüksek fruktoz içeren diyetle beslenmenin sıçanlarda plazma insülin, glikoz ve trigliserit düzeyini artırdığını göstermektedir. Fruktoz konsantrasyonundaki artış ile bu parametrelerdeki değişiklik arasında bir korelasyon görülmüştür. Histolojik inceleme, fruktozla beslenme sonucunda karaciğerde orta dereceli bir yağlanma olduğunu göstermektedir. Resveratrol tedavisinin hiperinsülinemi ve hipertrigliseritemiyi kısmen düzelttiği görülmektedir. Yüksek fruktoz diyetinin hayvanlarda vücut ağırlığında ve karaciğer ağırlığında belirgin bir artış oluşturmadığı gösterilmiştir. Ayrıca karaciğer fonksiyonlarının göstergesi olan ALT ve AST'nin fruktoz tüketimi sonunda değişmediği görülmüştür. Sonuç olarak, bu araştırmanın bulguları yüksek fruktoz içeren diyetin sıçanlarda metabolik sendromun önemli iki parametresi olan

trigliserit ve insülini artırdığı, orta dereceli karaciğer yağlanmasına neden olduğu görülmektedir. Fruktoz ile birlikte resveratrol tüketiminin bu bozuklukları kısmen düzelttiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Metabolik sendrom, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, resveratrol, yüksek fruktozlu mısır şurubu.

8. SUMMARY

The Investigation of Effect of Resveratrol on Lipid Profile and Fatty Liver in High-Fructose-Fed Rats

The increased prevalence of metabolic syndrome may be due to the increased fructose intake in industrialized populations. High-fructose corn syrup (HFCS), usually containing 55% fructose and 42% glucose (HFCS-55), is extensively used in prepared foods and soft drinks. However, limited data is available related to the effects of HFCS on metabolic functions in animals as well as in humans. Resveratrol, a polyphenolic compound mainly abundant in plants, has beneficial metabolic and cardiovascular effects. This study was, therefore, designed to assess whether HFCS and resveratrol intakes influence some metabolic parameters and accumulation of lipid in the liver. We investigated the effects of HFCS (10% and 20% in drinking water for 12 weeks) and resveratrol (500 mg/kg in chow) on blood lipid profile, glucose and insulin levels as well as liver histology (hematoxylin- eosin and ORO staining) in male Wistar rats (12 weeks old). HFCS consumption led to increases in serum triglyceride, and insulin levels, but not body weight, in rats. Moreover HFCS consumption causes modest fatty liver of rats but this did not change plasma ALT and AST levels. Resveratrol treatment partly normalized HFCS-induced metabolic perturbations and lipid accumulation. The presented results propose that HFCS-induced some metabolic abnormalities could be prevented by a diet with resveratrol.

Keywords: Metabolic syndrome, non-alcoholic fatty liver disease, resveratrol, high-fructose corn syrup.

9. KAYNAKLAR

1. Vos M, Kimmons J, Gillespie C et al. Dietary fructose consumption among US children and adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Medscape J Med* 2008; 10(7): 160.
2. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest* 2009; 119(5): 1322-1334.
3. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595–1607.
4. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease (syndrome X): an expanded definition. *Annu Rev Med*. 1993; 44: 121-31.
5. Aydın A. Uzun süre fruktoz içen sıçanlarda resveratrol verilmesinin vazodilatör cevap üzerine etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2009.
6. Demirkol K. Früktozdan zengin mısır şurubu ve sağlık sakıncaları [internette]. 2011 [05.01.2012 okundu]. Elektronik adresi: http://www.tuba.gov.tr/images/stories/userfiles/file/files_tr/guncelbilgiler/fruktoz/ProfKenanDemirkol.pdf
7. Gami AS, Witt BJ, Howard DE, Erwin PJ, Gami LA, Somers VK, Montori VM. Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 49: 403-414.

8. Grundy SM. Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008; 28(4): 629-36.
9. Hanson RL, Imperatore G, Bennett PH, Knowler WC. Components of the "metabolic syndrome" and incidence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 3120-3127.
10. Laaksonen DE, Lakka HM, Niskanen LK, Kaplan GA, Salonen JT, Lakka TA. Metabolic syndrome and development of diabetes mellitus: application and validation of recently suggested definitions of the metabolic syndrome in a prospective cohort study. *Am J Epidemiol* 2002; 156: 1070-1077.
11. Lorenzo C, Okoloise M, Williams K, Stern MP, Haffner SM. The metabolic syndrome as predictor of type 2 diabetes: the San Antonio heart study. *Diabetes Care* 2003; 26: 3153-3159.
12. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001; 24: 683-689.
13. Ginsberg HN. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2000; 106: 453-458.
14. DeFronzo RA. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and coronary artery disease: a complex metabolic web. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20 Suppl 11: S1-16.
15. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia,

and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991; 14: 173-194.

16. Verma S. Insulin resistance and hypertension: pharmacological and mechanistic studies. *Can J Diabetes Care* 2000; 23: 23-42.

17. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002; 288: 2709-2716.

18. Malik S, Wong ND, Franklin SS, Kamath TV, L'Italien GJ, Pio JR et al. Impact of the metabolic syndrome on mortality from coronary heart disease, cardiovascular disease, and all-cause causes in United States adults. *Circulation* 2004; 110: 1245-1250.

19. Hunt KJ, Resendez RG, Williams K, Haffner SM, Stern MP. National Cholesterol Education Program versus World Health Organization metabolic syndrome in relation to all-cause and cardiovascular mortality in the San Antonio Heart Study. *Circulation* 2004; 110: 1251-1257.

20. Bhanot S, McNeill JH. Insulin and hypertension: a causal relationship? *Cardiovasc Res* 1996; 31: 212-221.

21. Reaven GM. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and hypertriglyceridemia in the etiology and clinical course of hypertension. *Am J Med* 1991; 90: 7S-12S.

22. Dekker MJ, Su Q, Baker C, Rutledge AC, Adeli K. Fructose: A highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis and metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010; 299(5): E685-94.

23. Stanhope KL, Havel PJ. Fructose consumption: potential mechanisms for its effects to increase visceral adiposity and induce dyslipidemia and insulin resistance. *Current Opinion in Lipidology* 2008; 19: 16-24.
24. Ferder L, Ferder MD, Inserra F. The role of high-fructose corn syrup in metabolic syndrome and hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 2010; 12(2): 105-12.
25. Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 1987; 10: 512-516.
26. Reaven GM, Ho H, Hoffmann BB. Somatostatin inhibition of fructose-induced hypertension. *Hypertension* 1989; 14: 117-120.
27. Verma S, Yao L, Dumont AS, McNeill JH. Metformin treatment corrects vascular insulin resistance in hypertension. *J Hypertens* 2000; 18: 1445-1450.
28. Bhanot S, Michoulas A, McNeill JH. Antihypertensive effects of vanadium compounds in hyperinsulinemic, hypertensive rats. *Mol Cell Biochem* 1995; 153: 205-209.
29. Kotchen TA, Reddy S, Zhang HY. Increasing insulin sensitivity lowers blood pressure in the fructose-fed rat. *Am J Hypertens* 1997; 10: 1020-1026.
30. Putnam JJ, Allshouse JE. Food consumption, prices and expenditures, 1970–97. In: US Department of Agriculture Economic Research Service statistical bulletin no. 965. Washington, DC: US Government Printing Office; 1999.

31. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, et al. Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA* 2004;292:927–34.
32. White JS. Straight talk about high-fructose corn syrup: what it is and what it ain't. *Am J Clin Nutr* 88, 2008:1716S–21S.
33. Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, Schwarz JM, Lustig RH. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat* 2010; 7: 251–64.
34. Tappy L, Le KA. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol* 90: 23-46.
35. Stanhope KL, Havel PJ. Fructose consumption: recent results and their potential implications. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1190: 15–24.
36. Bantle JP, Raatz SK, Thomas W, Georgopoulos A. Effects of dietary fructose on plasma lipids in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 1128–34.
37. K Nomura, T Yamanouchi. The role of fructose-enriched diets in mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2011; doi: 10.1016/j.jnutbio.2011.09.006.
38. Jones HF, Butler RN, Brooks DA. Intestinal fructose transport and malabsorption in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: G202–G206.

39. Barone S, Fussell SL, Singh AK, Lucas F, Xu J, Kim C, Wu X, Yu Y, Amlal H, Seidler U, Zuo J, Soleimani M. Slc2a5 (Glut5) is essential for the absorption of fructose in the intestine and generation of fructoseinduced hypertension. *J Biol Chem* 2009; 284: 5056–5066.
40. Douard V, Ferraris RP. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295: E227–E237.
41. Corpe CP, Boveland FJ, Munoz CM, Hoekstra JH, Simpson IA, Kwon O, Levine M, Burant CF. Cloning and functional characterization of the mouse fructose transporter, GLUT5. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1576: 191–197.
42. Kellett GL, Brot-Laroche E, Mace OJ, Leturque A. Sugar absorption in the intestine: the role of GLUT2. *Annu Rev Nutr* 2008;28: 35–54.
43. Cook GC. Absorption products of D(-) fructose in man. *Clin Sci* 1969; 37: 675-687.
44. Macdonald I, Keyser A, Pacy D. Some effects, in man, of varying the load of glucose, sucrose, fructose, or sorbitol on various metabolites in blood. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: 1305-1311.
45. Alan R, Gaby MD. Adverse Effects of Dietary Fructose. *Alternative Medicine Review* 2005; 10(4): 294-306.
46. Akar F. Şeker ve hazır gıdalara eklenen früktozun toplum sağlığı üzerine etkileri [internette]. 2011 [04.05.2012 okundu]. Elektronik adresi: http://www.tuba.gov.tr/images/stories/userfiles/file/files_tr/guncelbilgiler/fruktoz/FatmaAkar.pdf

47. Bray GA. How bad is fructose? *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 895– 6.
48. Tran LT, Yuen VG, McNeill JH. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Mol Cell Biochem*. 2009 Dec; 332(1-2): 145-59.
49. Basciano H, Federico L and Adeli K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutrition & Metabolism*. 2005 Feb; 21; 2(1): 5.
50. Xing SS, Bi XP, Tan HW, Zhang Y, Xing QC, Zhang W. Overexpression of interleukin-18 aggravates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction in fructose-fed rats. *Mol Med*. 2010 Nov-Dec; 16(11-12): 465-70.
51. Ackerman Z, Oron-Herman M, Grozovski M, Rosenthal T, Pappo O, Link G, Sela BA. Fructose-induced fatty liver disease: hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction. *Hypertension* 2005 May; 45(5): 1012-8.
52. Cordain L, Eades MR, Eades MD. Hyperinsulinemic diseases of civilization: more than just Syndrome X. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2003; 136(1): 95-112.
53. Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev* 2005; 63: 133-57.
54. Tappy L, LE Ka. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev* 2010; 90: 23–46.

55. Navarro-Cid J, Maeso R, Perez-Vizcaino F, Cachofeiro V, Ruilope LM, Tamargo J et al. Effects of losartan on blood pressure, metabolic alterations, and vascular reactivity in the fructose-induced hypertensive rat. *Hypertension* 1995; 26: 1074-1078.
56. Chen S, Noguchi Y, Izumida T, Tatebe J, Katayama S. A comparison of the hypotensive and hypoglycaemic actions of an angiotensin converting enzyme inhibitor, an AT1a antagonist and troglitazone. *J Hypertens* 1996; 14: 1325-1330.
57. Kohli R, Kirby M, Xanthakos SA, Softic S, Feldstein AE, Saxena V, Tang PH, Miles L, Miles MV, Balistreri WF, Woods SC and Seeley RJ. High-fructose medium chain trans fat diet induces liver fibrosis and elevates plasma coenzyme Q9 in a novel murine model of obesity and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2010 September; 52(3): 934–44.
58. Song M, Schuschke DA, Zhou Z, Chen T, Pierce Jr. WM, Wang R, Johnson WT, McClain CJ. High fructose feeding induces copper deficiency in Sprague–Dawley rats: A novel mechanism for obesity related fatty liver. *J Hepatol*. 2012 Feb; 56(2): 433-40.
59. Sohet FM, Neyrinck AM, Pachikian BD, Backer FC, Bindels LB, Niklowitz P, Menke T, Cani PD, Delzenne NM. Coenzyme Q10 supplementation lowers hepatic oxidative stress and inflammation associated with diet-induced obesity in mice. *Biochem Pharmacol*. 2009 Dec 1; 78(11): 1391-400.
60. Wree A, Kahraman A, Gerken G, Canbay A. Obesity affects the liver - the link between adipocytes and hepatocytes. *Digestion* 2011; 83(1-2): 124-33.

61. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004; 40: 1387-1395.
62. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, Musso A, De Paolis P, Capussotti L, Salizzoni M, Rizzetto M. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002; 123: 134-140.
63. Nseir W, Nassar F, Assy N. Soft drinks consumption and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16(21): 2579-2588.
64. Perseghin G. The role of non-alcoholic fatty liver disease in cardiovascular disease. *Dig Dis* 2010; 28(1): 210-3.
65. Yki-Järvinen H. Liver fat in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Dig Dis*. 2010; 28(1): 203-9.
66. Adams LA, Angulo P, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. *CMAJ*. 2005 Mar 29; 172(7): 899-905.
67. Ackerman Z, Herman MO, Rosenthal MGT, Pappo O, Link G, Sela BA. Fructose-induced fatty liver disease hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction. *Hypertension*. 2005 May; 45(5): 1012-8.
68. Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome. *Am J Med Sci* 2005;330:326–35.

69. Sanchez-Lozada LG, Mu W, Roncal C, Sautin YY, Abdelmalek M, Reungjui S, et al. Comparison of free fructose and glucose to sucrose in the ability to cause fatty liver. *Eur J Nutr* 2010; 49: 1–9.
70. Armutcu F, Coskun O, Gurel A, Kanter M, Can M, Ucar F, et al. Thymosin α 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats. *Clin Biochem*. 2005 Jun; 38(6): 540-7.
71. Kawasaki T, Igarashi K, Koeda T, Sugimoto K, Nakagawa K, Hayashi S, et al. Rats fed fructose-enriched diets have characteristics of nonalcoholic hepatic steatosis. *J Nutr*. 2009 Nov; 139(11): 2067-71.
72. Tetri LH, Basaranoglu M, Brunt EM, Yerian LM, and Tetri BAN. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-fructose corn syrup equivalent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008 Nov; 295(5): G987-95.
73. Collison KS, Saleh SM, Bakheet RH, Al-Rabiah RK, Inglis AL, Makhoul NJ, Maqbool ZM, Zaidi MZ, Al-Johi MA and Al-Mohanna FA. Diabetes of the liver: The link between nonalcoholic fatty liver disease and HFCS-55. *Obesity (Silver Spring)*. 2009 Nov; 17(11): 2003-13.
74. Matsuzaka T, Shimano H, Yahagi N, Amemiya-Kudo M, Okazaki H, Tamura Y, Lizuka Y, Ohashi K, Tomita S, Sekiya M, Hasty A, Nakagawa Y, Sone H, Toyoshima H, Ishibashi S, Osuga J, Yamada N. Insulin-independent induction of sterol regulatory element-binding protein-1c expression in the livers of streptozotocin-treated mice. *Diabetes* 2004 Mar; 53(3): 560-9.
75. Kanuri G, Spruss A, Wagnerberger S, Bischoff SC, Bergheim I. et al. Role of tumor necrosis factor α (TNF α) in the onset of fructose-induced

nonalcoholic fatty liver disease in mice. *Journal of Nutritional Biochemistry* 22, 2011; 527–534.

76. Vignault MF, Soayfane Z, Me´nez C, Michel JB, Pierre Martin PG, Guillou H, Collet X, Lespine A. P-glycoprotein dysfunction contributes to hepatic steatosis and obesity in mice. *PLoS One*. 2011; 6(9): e23614.

77. Dresner A, et al. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1 associated phosphatidylinositol 3-kinase activit. *J Clin Invest*. 1999; 103(2): 253–259.

78. Koutsari C, Jensen MD. Thematic review series: patient-oriented research. Free fatty acid metabolism in human obesity. *J Lipid Res*. 2006; 47(8): 1643–1650.

79. Greenberg AS, Coleman RA, Kraemer FB, McManaman JL, Obin MS, Puri V, Yan QW, Miyoshi H and Mashek DG. The role of lipid droplets in metabolic disease in rodents and humans. *J Clin Invest*. 2011 Jun; 121(6): 2102-10.

80. Botezelli JD, Mora RF, Dalia RA, Moura LP, Cambri LT, Ghezzi AC, Voltarelli FA, Mello MAR. Exercise counteracts fatty liver disease in rats fed on fructose-rich diet. *Lipids Health Dis*. 2010 Oct 14; 9: 116.

81. Figlewicz DP, Ioannou G, Jay JB, Kittleson S, Savard C, Roth CL. Effect of moderate intake of sweeteners on metabolic health in the rat. *Physiology & Behavior*. 2009 Dec 7; 98(5): 618-24.

82. Sánchez-Lozada LG, Mu W, Roncal C, Sautin YY, Abdelmalek M, Reungjui S, Le M, Nakagawa T, Lan HY, Yu X, and Johnson RJ.

Comparison of free fructose and glucose to sucrose in the ability to cause fatty liver. *Eur J Nutr*. 2010 February; 49(1): 1–9.

83. Sheludiakova A, Rooney K, Boakes RA. Metabolic and behavioural effects of sucrose and fructose/glucose drinks in the rat. *Eur J Nutr* 2011; DOI 10.1007/s00394-011-0228-x.

84. Light HR, Tsanzi E, Gigliotti J, Morgan K, And Tou JC. The type of caloric sweetener added to water influences weight gain, fat mass, and reproduction in growing Sprague-Dawley female rats. *The Society for Experimental Biology and Medicine* (Maywood). 2009 Jun; 234(6): 651-61.

85. Roth CL, Elfers CT, Figlewicz DP, Melhorn SJ, Morton GJ, Hoofnagle A, Yeh MM, Nelson JE, Kowdley KV. Vitamin D deficiency in obese rats exacerbates NAFLD and increases hepatic resistin and toll-like receptor activation. *Hepatology* 2011; 11-1240.

86. Tsanzi E, Light HR, Tou JC. The effect of feeding different sugar-sweetened beverages to growing female Sprague–Dawley rats on bone mass and strength. *Bone*. 2008 May; 42(5): 960-8.

87. Ackroff K, Sclafani A. Rats' preferences for high fructose corn syrup vs. sucrose and sugar mixtures. *Physiology & Behavior*. 2011 Mar 28; 102(5): 548-52.

88. Pickens MK, Ogata H, Soon RK, Grenert JP and Maher JJ. Dietary fructose exacerbates hepatocellular injury when incorporated into amethionine-choline-deficient diet. *Liver International*. 2010 Sep; 30(8): 1229-39.

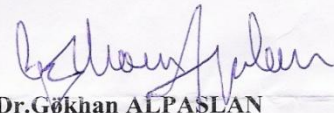
89. King RE, Bomser JA, Min DB. Bioactivity of resveratrol. *Comprehensive Reviews In Food Science and Food Safety* 2006; 5: 65-70.
90. Soleas GJ, Goldberg DM. Influences of viticultural and oenological factors on changes in cis- and trans-resveratrol in commercial wines. *J Wine Res* 1995; 6(2): 107–121.
91. Bradamante S, Barenghi L, Villa A. Cardiovascular protective effects of resveratrol. *Cardiovasc Drug Reviews* 2004; 22: 169-188.
92. Basly JP, Marre-Fournier F, Le Bail JC, Habrioux G, Chulia AJ. Estrogenic/antiestrogenic and scavenging properties of (E)- and (Z)-resveratrol. *Life Sci.* 2000; 66(9): 769-77.
93. Frémont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci.* 2000 Jan 14; 66(8): 663-73.
94. Baur JA, Sinclair DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5(6): 493-506.
95. Miatello R, Vázquez M, Renna N, Cruzado M, Zumino AP, Risler N. Chronic administration of resveratrol prevents biochemical cardiovascular changes in fructose-fed rats. *Am J Hypertens.* 2005 Jun; 18(6): 864-70.
96. Lu C, Bambang IF, Armstrong, JS, Whiteman M. Resveratrol blocks high glucose–induced mitochondrial reactive oxygen species production in bovine aortic endothelial cells: role of phase 2 enzyme induction. *Diabetes Obes Metab* 2008; 10: 347–9.

97. Aubin M-C, Lajoie C, Clement R, Gosselin H, Calderone A, Perrault LP. Female rats fed a high-fat diet were associated with vascular dysfunction and cardiac fibrosis in the absence of overt obesity and hyperlipidemia: therapeutic potential of resveratrol. *J Pharmacol Exp Therap* 2008; 325: 961–8.
98. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell* 2006; 127: 1109–22.
99. Zou JG, Wang ZR, Huang YZ, Cao KJ, Wu JM. Effect of red wine and wine polyphenol resveratrol on endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Int J Mol Med* 2003; 11: 317–320.
100. Fremont L, Belguendouz L, Delpal S. Antioxidant Activity Of Resveratrol And Alcohol-Free Wine Polyphenols Related To LDL Oxidation and Polyunsaturated Fatty Acids. *Life Sciences* 1999; 64(26): 2511-2521.
101. Su HC, Hung LM, Chen JK. Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290: E1339–E1346.
102. Miura D, Miura Y, Yagasaki K. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatomabearing rats. *Life Sci.* 2003; 73(11): 1393-400.
103. Markus MA and Morris BJ. Resveratrol in prevention and treatment of common clinical conditions of ageing. *Clinical Interventions in Aging* 2008; 3(2): 331-9.

104. Browning JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest* 2004; 114: 147-152.
105. Russo MW, Jacobson IM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Hospital Physician*, 2002 November, pp. 36-41, 67.
106. Zorita SG, Quintela AF, Macarulla MT, Aguirre L, Hijona E, Bujanda L, Milagro F, Martínez JA and Portillo MP. Resveratrol attenuates steatosis in obese Zucker rats by decreasing fatty acid availability and reducing oxidative stress. *British Journal of Nutrition* 2012; 107, 202–210.
107. Kang W, Hong HJ, Guan J, Kim DG, Yang EJ, Koh G, Park D, Han CH, Lee YJ and Lee DH. Resveratrol improves insulin signaling in a tissue-specific manner under insulin-resistant conditions only: in vitro and in vivo experiments in rodents. *Metabolism*. 2012 Mar; 61(3): 424-33.
108. Bujanda L, Hijona E, Larzabal M, Beraza M, Aldazabal P, García-Urkia N, Sarasqueta C, Cosme A, Irastorza B, González A and Arenas Jr JI. Resveratrol inhibits nonalcoholic fatty liver disease in rats. *BMC Gastroenterology*. 2008 Sep 9; 8: 40.

10. EKLER

EK 1. Kurul Onayı

	T.C. GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı
SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ 166 - 12287	30.06/2011
KONU :	
Sayın	Prof.Dr.Fatma AKAR Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi
Araştırmacı grubu Fatma AKAR, Nejla YILDIRIM, Can BABACANOĞLU, Volkan ERGİN, Adnan MENEVŞE, Güldal YILMAZ ve Onur Gökhan YILDIRIM'dan oluşan, G.Ü.ET-11.068 kod numaralı ve <i>“Yüksek Fruktoz İçeren Mısır Şurubu ile Resveratrolün Sıçanlarda Metabolik ve Vasküler Parametreler Üzerine Etkilerinin İncelenmesi”</i> başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.	
Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.	
It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-11.068 and entitled <i>“The Investigation of Effects of High Fructose Corn Syrup and Resveratrol on Metabolic and Vascular Parameters in Rats”</i> is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.	
With my best regards.	
EK : 1 Liste	 Prof.Dr.Gökhan ALPAŞLAN Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans dönemim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle ışık tutan, destek ve yardımlarını esirgemeyen bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU'a,

Uzmanlık eğitimimde bilgisi, tecrübesi ve hoşgörüsüyle bana her zaman destek olan, tez çalışmam boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen, bilgi birikimleriyle çalışmamın sonuçlanmasını sağlayan ve tez yazım aşamasında bana yol gösteren değerli hocam Prof. Dr. Fatma AKAR'a,

Bilgi ve tecrübeleriyle tezin tamamlanmasında büyük katkıları olan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Nuray ARI'a,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Uzm Ecz. Mehmet Bilgehan PEKTAŞ, Ecz. Nejla YILDIRIM ve Ecz. Can BABACANOĞLU'na,

Yüksek lisans eğitim dönemimde her zaman yanımda olan arkadaşlarım Uzm Ecz. Khatereh FATTAHPOUR MAVANEH, Ecz. Merve AYDIN, Uzm. Ecz. Duygu Aslı ALKAN ve Ecz. Nur Banu UZUN'a,

Laboratuvar deneylerime çok büyük katkısı bulunan, çalışmalarım sırasında verdiği emek ve yardımı için sevgili Hacer ŞİRİN'e,

Bana bu imkanları sağlayan ve her zaman bana inanıp güvenen aileme,

Teşekkürü bir borç bilirim.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Onur Gökhan
Soyadı : YILDIRIM
Doğum Yeri ve Tarihi : Artvin, 21.01.1988

Eğitim:

Yüksek Lisans: Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD
2012

Lisans : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara, 2010

Lise : Yomra Fen Lisesi, Trabzon, 2005

Yabancı Dili: İngilizce

Bilimsel Etkinlikleri:

The III. International Anti-Aging Congress – A3MST TURKEY (Anti Aging & Aesthetic Medicine Society), Ankara, 2010

Türk Farmakoloji Derneği Farmakoloji Eğitiminde Kuşaklararası Bilimsel Etkileşme Seminerleri Programı – Prof. Dr. Gültekin Sunam Toplantısı, Sarıkamış, Kars, 2011

International Symposium on New Approaches in Cardiovascular Disorders From Genes & Molecules to Clinical Applications, Ankara 2011

21. Ulusal Farmakoloji Kongresi - Türk Farmakoloji Derneği, Eskişehir, 2011