



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK
LİSANS
TEZİ

YÜKSEK DOZ FRUKTOZ İLE BESLENEN
HAYVANLARIN KARACİĞER DOKUSUNDA
İNSÜLÜN SİNYAL YOLAĞI GEN EKSPRESYONLARININ
İNCELENMESİ

Aylin KILIÇ

FARMAKOLOJİ (ECZ.) ANABİLİM DALI

TEMMUZ, 2019



**YÜKSEK DOZ FRUKTOZ İLE BESLENEN HAYVANLARIN KARACİĞER
DOKUSUNDA İNSÜLİN SİNYAL YOLAĞI GEN EKSPRESYONLARININ
İNCELENMESİ**

AYLİN KILIÇ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMAKOLOJİ (ECZ.) ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2019

Aylin KILIÇ tarafından hazırlanan “YÜKSEK DOZ FRUKTOZ İLE BESLENEN HAYVANLARIN KARACİĞER DOKUSUNDA İNSÜLİN SİNYAL YOLAĞI GEN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Fatma AKAR
Farmakoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Başkan: Prof. Dr. Mecit Orhan ULUDAĞ
Farmakoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Prof. Dr. Nuray ARI
Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi: 12/07/2019

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

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

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

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

Aylin KILIÇ

12/07/2019

YÜKSEK DOZ FRUKTOZ İLE BESLENEN HAYVANLARIN KARACİĞER
DOKUSUNDA İNSÜLİN SİNYAL YOLAĞI GEN EKSPRESYONLARININ
İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans)

Aylin KILIÇ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Temmuz 2019

ÖZET

Dünyada ve ülkemizde görülme sıklığı gittikçe artan metabolik sendrom, insülin direnciyle başlayan abdominal obezite, hipertansiyon, dislipidemi, karaciğer yağlanması ve koroner arter hastalığı gibi sistemik bozukluklar ile karakterize hastalıklar bileşenidir. Yapılan araştırmalar, fazla fruktoz tüketiminin metabolik sendroma yol açan faktörlerden biri olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada, fruktozun karaciğer insülin sinyal yolağı ve ilişkili genler üzerine etkilerini aydınlatmak üzere, sıçanlara 30 hafta boyunca içme suyu içerisinde % 15 fruktoz verilerek metabolik sendrom modeli oluşturulmuştur. Yüksek fruktoz diyeti uygulamasının, plazma glukoz, insülin, trigliserid, LDL, VLDL ve total kolesterol düzeylerinde istatistiksel açıdan önemli bir artışa yol açtığı, fakat HDL düzeyini değiştirmediği saptanmıştır. Ayrıca, karaciğer ağırlığının yüksek fruktoz verilen grupta önemli ölçüde arttığı bulunmuştur. Sıçanların karaciğer insülin sinyal yolağı ve ilişkili genler üzerine fruktoz diyetinin etkisini incelemek amacıyla: IRS-1, IRS-2, Akt, mTOR, FoxO3a, NRF2, PI3K, eNOS, iNOS ve NFκB gen ekspresyon düzeyleri Reel time PCR yöntemiyle ölçülmüştür. Elde ettiğimiz veriler, IR, IRS-1 IRS-2 ve FoxO3a mRNA düzeylerinin fruktoz diyeti alan karaciğer örneklerinde baskılandığını, fakat Akt, mTOR ve NFκB düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığını göstermektedir. Bu sonuçlar, yüksek fruktoz tüketiminin karaciğer insülin sinyal yolağının çalışmasını bozarak metabolik sendroma yol açabileceğini göstermektedir.

Bilim Kodu : 1062.1

Anahtar Kelimeler : Metabolik sendrom, Fruktoz, Karaciğer, İnsülin sinyal yolağı

Sayfa Adedi : 76

Danışman : Prof. Dr. Fatma AKAR

INVESTIGATION OF THE GENE EXPRESSIONS ON INSULIN SIGNAL PATHWAY IN LIVER TISSUE FROM HIGH-FRUCTOSE FED RATS

(M. Sc. Thesis)

Aylin KILIC

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES
July 2019

ABSTRACT

Metabolic syndrome, which has an increased prevalence in the world as well as our country, is a systemic disorders characterized by insulin resistance, abdominal obesity, hypertension, dyslipidemia, liver steatosis and coronary artery disease. Studies showed that excessive fructose consumption may be one of the factors leading to metabolic syndrome. In this study, a model of metabolic syndrome was produced by giving 15% fructose in drinking water for 30 weeks to investigate the effects of fructose on liver insulin signaling pathway and related genes. It was determined that high fructose diet resulted in a significant increase in plasma glucose, insulin, triglyceride, LDL, VLDL and total cholesterol levels but did not change HDL levels. In addition, liver weight was found to be significantly increased in the high fructose-treated group. In order to investigate the effect of fructose diet on liver insulin signaling pathway and related genes in rats: IRS-1, IRS-2, Akt, mTOR, FoxO3a, NRF2, PI3K, eNOS, iNOS, NfκB gene expression levels were measured by Real time PCR. Our data show that IR, IRS-1 IRS-2 and FoxO3a mRNA levels are suppressed in liver samples receiving fructose diet, but there is no significant change in Akt, mTOR and NFκB levels. These results suggest that high fructose consumption can impair the functioning of the liver insulin signaling pathway, thereby leading to metabolic syndrome.

Science Code : 1062.1

Key Words : Metabolic syndrome, Fructose, Liver, insulin signaling pathway

Page Number : 76

Advisor : Prof. Dr. Fatma AKAR

TEŞEKKÜR

Lisans ve lisansüstü eğitimim boyunca engin bilgi ve tecrübesiyle bana destek olan, hayata bakış tarzını her daim örnek aldığım sevgili hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Fatma AKAR'a, tezime olan katkılarından dolayı Doç. Dr. Mehmet Bilgehan PEKTAŞ'a, değerli katkılarından dolayı teşekkürü bir borç bildiğim Doç. Dr. Gökhan SADİ ve değerli öğrencilerine, tez dönemim boyunca bilgi alış verişinde bulunduğumuz sevgili arkadaşlarım Ecz. Sümeyra USLU, Ecz. Arash CHEHREHEI ve Arş. Dr. Gör. Nur banu UZUN BAL'a, eczacı olmamın en büyük sebebi, her daim arkamda olan canım babam Okay ÇETİN'e, annem Yasemin ÇETİN, kardeşim Cihan ÇETİN'e ve sonuna kadar destek olan sevgili eşim Enes Kaan KILIÇ'a, biricik kızım Gökçe Ece Kılıç'a ve emeği olan tüm aileme sonsuz teşekkür ederim.

Aylin KILIÇ

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Metabolik Sendrom	3
2.2. Diyabet ve Tanı Kriterleri	3
2.3. İnsülin Hormonu ve Aktivasyonu	8
2.3.1. İnsülin Reseptörü ve İnsülin Reseptör Substratları	11
2.3.2. İnsülin Sinyal İleti Yolağı	12
2.3.3. İnsülin Direnci.....	15
2.4. Fruktoz	16
2.4.1. Fruktozun kimyasal yapısı	17
2.4.2. Fruktoz absorpsiyonu	18
2.4.3. Fruktozun metabolizması.....	19
2.4.4. Fruktozun Metabolik Sendrom İle İlişkisi	20
2.4.5. Fruktozun Diyabet ve İnsülin Direnci ile İlişkisi	23
2.4.6. Yüksek Fruktozun Diğer Etkileri	27
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	28
3.1. Hayvanlar ve Diyet:	29
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
3.3. Sıçanların Ağırlık, Günlük Yem, Sıvı Tüketimi ve Kalori Alımı Hesaplanması	30
3.4. Plazmada Glukoz, İnsülin ve Lipit Profilinin Düzeylerinin Belirlenmesi	30
3.5. Real Time-PCR Yöntemiyle mRNA Miktar Tayini	30

3.6. Kuantitatif Gerçek Zamanlı PZR (Real time-PCR)	31
3.7. İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR	33
4.1. Sıçanların Ağırlıkları ile Günlük Yem, Sıvı ve Kalori Tüketimi	33
4.2. Sıçanların Plazma Glukoz ve İnsülin Düzeyleri	35
4.3. Sıçanların Plazma Lipit Profili	37
4.4. Sıçanların Karaciğer Ağırlığı	40
4.5. Real Time-PCR Yöntemiyle mRNA Ölçümü	41
4.5.1. Sıçanların karaciğer dokularında IR mRNA miktarları	41
4.5.2. Sıçanların karaciğer dokularında IRS-1 mRNA miktarları	42
4.5.3. Sıçanların karaciğer dokularında IRS-2 mRNA miktarları	43
4.5.4. Sıçanların karaciğer dokularında Akt mRNA miktarları	44
4.5.5. Sıçanların karaciğer dokularında FoxO3a mRNA miktarları	45
4.5.6. Sıçanların karaciğer dokularında PI3K mRNA miktarları	46
4.5.7. Sıçanların karaciğer dokularında eNOS mRNA miktarları	47
4.5.8. Sıçanların karaciğer dokularında iNOS mRNA miktarları	48
4.5.9. Sıçanların karaciğer dokularında NfκB mRNA miktarları	49
4.5.10. Sıçanların karaciğer dokularında Nrf2 mRNA miktarları	50
4.5.11. Sıçanların karaciğer dokularında mTOR mRNA miktarları	51
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
KAYNAKLAR	61
EKLER	73
EK-1. Etik Kurul İzni	74
ÖZGEÇMİŞ	76

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Diyabet Tanı Kriterleri	4
Çizelge 3.1. Real Time-PCR Deneylerinde Kullanılan Primer Çiftler (IRS-1, IRS-2, Akt, mTOR, FoxO3a, Nrf2, PI3K, eNOS, iNOS, NfκB ve internal standart GAPDH)	32
Çizelge 4.1. Sıçanların günlük yem, sıvı tüketimi ve kalori alımı ile vücut ağırlıkları	33

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Tip 2 Diyabette Hiperglisemi ve Artmış Serbest Yağ Asitlerinin Patogenezi.....	7
Şekil 2.2. Proinsülin yapısı	9
Şekil 2.3. İnsülin tarafından metabolizmanın düzenlenmesi	10
Şekil 2.4. İnsülin sinyal yolağı.....	13
Şekil 2.5. Glukoz, Fruktoz ve sükrozun molekül yapıları	18
Şekil 2.6. Fruktozun absorpsiyonu	19
Şekil 2.7. Fruktozun metabolizması	20
Şekil 4.1. Sıçanların haftalara göre ağırlık değişimi. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.	34
Şekil 4.2. Sıçanların 30 haftalık periyot boyunca haftada bir ölçülen günlük yem tüketimi. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.	34
Şekil 4.3. Sıçanların 30 haftalık periyot boyunca haftada bir ölçülen günlük sıvı alımı. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.	35
Şekil 4.4. Sıçanların kan glukoz düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.....	36
Şekil 4.5. Sıçanların plazma insülin düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir	36
Şekil 4.6. Sıçanların plazma trigliserit düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir	37
Şekil 4.7. Sıçanların plazma LDL düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir	38

Şekil	Sayfa
Şekil 4.8. Sıçanların plazma VLDL düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. n=6-9, * p<0.05 kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir	38
Şekil 4.9. Sıçanların plazma total kolesterol düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. n=6-9, * p<0.05 kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir	39
Şekil 4.10. Sıçanların plazma HDL düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. n=6-9	39
Şekil 4.11. Uzun dönem fruktoz tüketiminin karaciğer ağırlığına etkisi. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. n=6-9, * p<0.05 kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir	40
Şekil 4.12. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen IR mRNA ekspresyonu. IR mRNA yoğunluğu GAPDH'e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.	41
Şekil 4.13. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen IRS-1 mRNA ekspresyonu. IRS-1 mRNA yoğunluğu GAPDH'e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. * p<0.05 kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.	42
Şekil 4.14. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen IRS-2 mRNA ekspresyonu. IRS-2 mRNA yoğunluğu GAPDH'e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. * p<0.05 kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.	43
Şekil 4.15. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen Akt mRNA ekspresyonu. Akt mRNA yoğunluğu GAPDH'e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.....	44
Şekil 4.16. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen FoxO3a mRNA ekspresyonu. FoxO3a mRNA yoğunluğu GAPDH'e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. * p<0.05 kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.	45

Şekil	Sayfa
Şekil 4.17. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen PI3K mRNA ekspresyonu. PI3K mRNA yoğunluğu GAPDH'e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.	46
Şekil 4.18. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen eNOS mRNA ekspresyonu. eNOS mRNA yoğunluğu GAPDH'e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.....	47
Şekil 4.19. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen iNOS mRNA ekspresyonu. iNOS mRNA yoğunluğu GAPDH'e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.....	48
Şekil 4.20. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen NfκB mRNA ekspresyonu. NfκB mRNA yoğunluğu GAPDH'e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.....	49
Şekil 4.21. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen Nrf2 mRNA ekspresyonu. Nrf2 mRNA yoğunluğu GAPDH'e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.....	50
Şekil 4.22. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen mTOR mRNA ekspresyonu. mTOR mRNA yoğunluğu GAPDH'e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.....	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

β

κ

α

dl

g

kcal

kg

L

mg

mmol

μ M

Açıklamalar

Beta

Kappa

Alfa

Desilitre

Gram

Kilokalori

Kilogram

Litre

Miligram

Milimol

Mikromolar

Kısaltmalar

YFMŞ

DSÖ

GLUT5

IR

IRS-1

IRS-2

NFkB

MAP

TURDEP

Açıklamalar

Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu

Dünya Sağlık Örgütü

Glucose Transporter 5

İnsülin Reseptörü

İnsülin Reseptör Substratı-1

İnsülin Reseptör Substratı-2

Nükleer Faktör Kabba B

Mitojen Aktivite Protein

Türkiye Diyabet Endokrinolojik Hastalıklar

Prevalans Çalışması

apoB

Apolipoprotein B

TNF α

Tümör Nekroz Faktör Alfa

PI3K

Fosfoinozid 3-kinaz

mTOR

The Mammalian Target of Rapamycin

PKB

Protein Kinase B

PIP

Phosphatidylinositol Phosphate

IL-1 β

İnterlökin 1 beta

CDC

Centers for Disease Control and Prevention

1. GİRİŞ

Günümüzde hazır gıdaların kullanımının çoğalması, özellikle karbonhidrat ağırlıklı beslenme ve hareketsiz yaşam metabolik sendromun görülme sıklığını artırmaktadır. Orta doğu ülkelerini kapsayan bir meta analiz çalışmada, metabolik sendrom prevalansının ülkeye ve çalışma zamanına göre değişkenlik gösterdiği öne sürülmüştür. Metaanaliz çalışmalarında, kardiyovasküler hastalıklar, koroner kalp hastalıkları ve inme için popülasyona bağlı risk hesaplaması yapıldığında; kardiyovasküler hastalıkların %15.87'sinin, koroner kalp hastalıklarının %11.7'sinin ve inmenin %16.23'ünün metabolik sendromdan kaynaklandığı ileri sürülmüştür [1]. Ayrıca metabolik sendrom görülme sıklığı yetişkinlerde ve şehirde yaşayanlarda daha yüksek olması, yaşam tarzı ve beslenme alışkanlığı ile ilişkili olduğuna işaret etmektedir [2,3].

Fruktoz özellikle meyveler olmak üzere bir çok yiyecekte doğal olarak bulunan bir monosakkarittir. Fruktoz, eşit miktarda fruktoz ve glukozdan oluşan bir disakkarit olan sakkaroz (sofra şekeri) veya yüksek fruktozlu mısır şurubu (YFMS)'nin bir bileşeni olarak tüketilir. Yüksek fruktozlu mısır şurubu ve sakkaroz tatlandırıcı olarak, işlenmiş yiyecek ve içeceklere eklenir. Yüksek fruktozlu mısır şurubu sakkaroz ile karşılaştırıldığında nispeten daha ucuz olması, tatlılık, raf ömrü, lezzet artırma, gelişmiş nem kontrolü gibi bazı yararlı etkilerinden dolayı daha çok kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, Amerika'da çocuklarda günlük fruktoz tüketimi 54.7 g ve adölesanlarda 72.8 g olarak belirtilmiştir. Bu da günlük fruktoz tüketiminin insanlarda oldukça arttığını göstermektedir [4].

Ekolojik çalışmalar, fruktoz kullanımındaki artışı dünya çapındaki obezite ve diyabet artışlarıyla ilişkilendirmiştir. Bu bağlantı büyük ölçüde hayvan modelleriyle ve bazı seçili yüksek doz fruktozla beslenmiş insan çalışmalarıyla desteklenmiştir [5].

Günümüzde hemen hemen bütün hazır gıdaların bileşimine giren yüksek fruktozlu mısır şurubunun bir çok sağlık sorununa neden olduğu düşünülmektedir. Bunun nedenini aydınlatmak üzere yapılan çalışmalara son zamanlarda daha çok ağırlık verilmiştir [6].

Yapılan çalışmalar, diyetle fruktoz tüketimindeki artışın, hem kemirgenlerde hem de insanlarda plazma trigliserit konsantrasyonunda artış, hepatik steatoz, bozulmuş glukoz

toleransı, insülin direnci ve hatta hipertansiyon gibi ciddi olumsuz metabolik etkilere neden olduğunu göstermektedir [7].

İnsülin direnci; kas, adipoz ve karaciğer gibi dokularda insüline karşı yeterli yanıt alınamaması durumudur. Hazır gıda ve meşrubatlar içine katılan yüksek fruktozlu mısır şurubu metabolik sendrom artışının en önemli nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Laboratuvarımızda yapılan bir çok çalışmada, yüksek fruktoz tüketiminin sıçanlarda metabolik ve vasküler parametreleri nasıl etkilediği incelenmiş ve kan lipid profilinde olumsuz değişiklikler yaparak metabolik sendrom bulguları gösterdiği görülmüştür. Ayrıca, fruktoz tüketiminin insülin direncini artırdığı, glukoz toleransını bozduğu, hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi ve hipertansiyona neden olduğu; insülin reseptör substratlarını (IRS-1 ve IRS-2) ve insülin sinyal yolağını etkilediği saptanmıştır [8, 9, 10, 11, 12].

Bu tez çalışmasında, sıçan karaciğerindeki insülin sinyal yolağı ve ilişkili genlerin (IRS-1, IRS-2, Akt, mTOR, FoxO3a, NRF2, PI3K, eNOS, iNOS, NfκB) ekspresyonları üzerine içme suyu içerisinde verilen fruktozun, etkisi incelenerek metabolik sendrom ile ilişkisinin aydınlatılması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Metabolik Sendrom

Metabolik sendrom, diyabet ve kardiyovasküler ölüm riskini doğrudan arttıran fizyolojik, biyokimyasal, klinik ve metabolik değişiklikler olarak tanımlanmaktadır [13]. Stres, aşırı çalışma, sigara ile birlikte yüksek kalorili ve besin değeri düşük diyet intestinal dengeyi bozmakta ve vücudun doğal savunma mekanizmalarını zayıflatmaktadır. Uzun dönemde bu durum metabolik sendroma yol açmaktadır. Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Yetişkin Tedavi Paneli III (The National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III; NCEP/ATP III) kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili metabolik sendromun, tanımlı, altı bileşenini raporlamıştır. Bu bileşenler; abdominal obezite, aterojenik dislipidemi, hipertansiyon, insülin rezistansı, proinflamatuvar durum ve protrombik durumdur [14].

Metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıkların gelişimini etkileyen glukoz intoleransı, insülin direnci, obezite, dislipidemi ve hipertansiyon gibi çeşitli metabolik faktörler içerir [1]. Sedanter yaşam stili ile yüksek vücut kitle indeksi de metabolik sendromun artışı ciddi ölçüde etkilemektedir. Ayrıca, diyet metabolik disfonksiyonları önlemede ve temel sağlığın korunmasında en önemli rolü oynamaktadır. Fruktöz, doymuş yağ ve çoklu doymamış yağ asitlerince zengin diyet, insan ve hayvan modellerindeki metabolik sendrom gelişimine neden olduğu gösterilmiştir [13].

2.2. Diyabet ve Tanı Kriterleri

Diyabet 21. yüzyılın bulaşıcı olmayan en yaygın hastalıklarından biridir. Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (International Diabetes Federation; IDF) verilerine göre dünyada 20-79 yaş grubundaki diyabet nüfusunun 2011 yılı sonu itibarıyla 366 milyona ulaştığı ve bu sayının 2030 yılına kadar %51 artış ile 552 milyona varacağı tahmin edilmektedir [15]. Ülkemizde de bu durumun aynı seyirde ilerlediği görülmektedir. Türkiye'de 1998 yılında yapılmış TURDEP-I çalışmasında 20 yaş ve üzerinde olan bireylerde %7.2 olan diyabet prevalansı, 2010 yılında yapılan TURDEP-II çalışmasına göre %90 artış ile %13.7 düzeyine ulaşmıştır. Bu verilere göre, diyabet nüfusumuzun 6.5 milyonu aştığı tahmin edilmektedir [16].

Diabetes mellitus insülin sekresyonunda, insülin etkisinde ya da her ikisindeki bozukluğun hiperglisemi ile sonuçlandığı metabolik bir hastalıktır. Hipergliseminin semptomları arasında poliüri, polidipsi, kilo kaybı bazen polifaji ve görmede bulanıklık bulunmaktadır [17]. Diyabetin komplikasyonlarından koroner arter ve periferik vasküler hastalıklar, inme, diyabetik nöropati, körlük, amputasyon ve böbrek yetmezliği gibi durumlar hastaların yaşam kalitesini bozmakta, hayattan beklentisini azaltmakta ve ciddi sağlık harcamalarına neden olmaktadır [18]. Hipertansiyon ve lipid metabolizmasındaki bozukluklar da diyabetli insanlarda sıklıkla görülmektedir [17].

1997 yılında American Diyabet Birliği'nin (ADA) yayınladığı kriterleri Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) 1999 yılında bir iki değişiklikle kabul etmiştir. ADA 2003 yılında diyabet tanımına 'bozulmuş açlık glisemisi' tanımı ekleyerek revize etmiştir. 2006 yılında ise Uluslararası Diyabet Federasyonu ve WHO 1999 yılında yayımlanan tanı ve sınıflandırma kriterlerinde herhangi bir değişiklik yapılmadığını bildirmişlerdir [16] (Çizelge 2.1.)

Çizelge 2.1. Diyabet Tanı Kriterleri

Açlık Plazma Glukozu (APG)¹	≥ 126 mg/dl
Rastlantısal Plazma Glukozu² + Diyabet Semptomları	≥ 200 mg/dl
Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) 'nde 2 saat plazma glukozu³	≥ 200 mg/dl
HbA1c⁴	≥ %6.5

1. Açlık plazma glukozu için en az 8 saat açlık gereklidir.
2. Rastlantısal plazma glukozu, gıda alımına bağlı olmaksızın günün herhangi bir saatinde ölçülebilir.
3. OGTT 75 g oral glukoz alımı ile yapılmalıdır.
4. HbA1c, ancak uluslararası standardize edilmiş yöntemlerle ölçüm yapıldığında tanı testi olarak kullanılabilir. Ülkemizde henüz HbA1c ölçüm testleri standardize edilemediği için tek başına tanı testi olarak kullanımı önerilmez [19].

Diyabetin gelişiminde birçok patolojik süreç rol oynamaktadır. Bunlar, pankreas beta hücrelerinin otoimmün yıkımının neden olduğu insülin eksikliği ve bunun sonucunda insülin etkisine direnç gösteren anormalliklere kadar uzanır. Diyabetteki karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki anormalliklerin temeli, insülinin hedef dokular üzerindeki

yetersiz etkisidir. Yetersiz insülin etkisi, yetersiz insülin sekresyonu ve / veya hormon etkisinin karmaşık yollarındaki bir veya daha fazla noktada insüline verilen doku yanıtlarından kaynaklanır [17].

2.2.1.Diyabet Tipleri

Diabetes mellitus etiyoloji ve hastalığın klinik seyrine göre Tip 1 diabetes mellitus, Tip 2 diabetes mellitus, gestasyonel diabetes mellitus ve diğer spesifik tipler olmak üzere 4 başlık altında sınıflandırılır [20].

Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 diyabet, pankreasın beta hücrelerinin otoimmün yıkımından dolayı insülin üretiminin eksikliğiyle karakterizedir. Gelişmiş ülkelerde en sık görülen kronik çocukluk çağı hastalığıdır ancak her yaşta ortaya çıkabilmekte ve klinik tablo yaşa bağlı değişebilmektedir [18]. Hastaların tamamı ömür boyu insülin tedavisine ihtiyaç duymaktadır. Tip 1 diyabet tüm diyabet vakalarının %10 unu oluşturmaktadır [17].

Tip 1 diyabet genellikle çocuklarda ve gençlerde görülmekle birlikte son yıllarda yetişkin yaşlarda saptanan tip 1 diyabet olguları da artmaktadır. Erişkin yaşta (genellikle 30 yaşından sonra) görülen tip 1 diyabet formu, ‘erişkinde latent otoimmün diyabet’ (latent autoimmune diabetes in adult, LADA) olarak adlandırılmaktadır. Bunlar olguların yaklaşık %95 ini teşkil etmektedir ve hastaların adacık otoantikorları pozitifdir [19]. İmmün aracılı Tip 1 diyabette; beta hücrelerinin otoimmün yıkımı çoklu genetik yatkınlıklara sahiptir ve hala iyi tanımlanmamış çevresel faktörlerle de ilgilidir. Her ne kadar hastalarda bu diyabet tipi ortaya çıktığında nadiren obez olsalar da obezitenin varlığı tanı ile uyumlu değildir. Bu hastalar ayrıca Graves hastalığı, Hashimoto tiroiditi, Addison hastalığı, vitiligo, çölyak hastalığı, otoimmün hepatit, miyastenia gravis ve pernisiyöz anemi gibi diğer otoimmün hastalıklara da eğilimlidirler [17]. Kalan %5 lik kısım ise idiyopatik olarak adlandırılır ve bu hastalarda otoantikorlar negatiftir [19]. Bu hastaların çoğu Afrika ya da Asya kökenlidir. Bu diyabet şekli olan kişiler, epizodik ketoasidozdan muzdariptir ve ataklar arasında değişken derecelerde insülin eksikliği sergilerler. Bu diyabet şekli güçlü bir

şekilde kalıtsaldır, beta hücreli otoimmünitesi için immünolojik kanıt yoktur ve insan lökosit antijeni (Human Leucocyte Antigen, HLA) ile ilişkili değildir [17].

Tip 2 Diabetes Mellitus

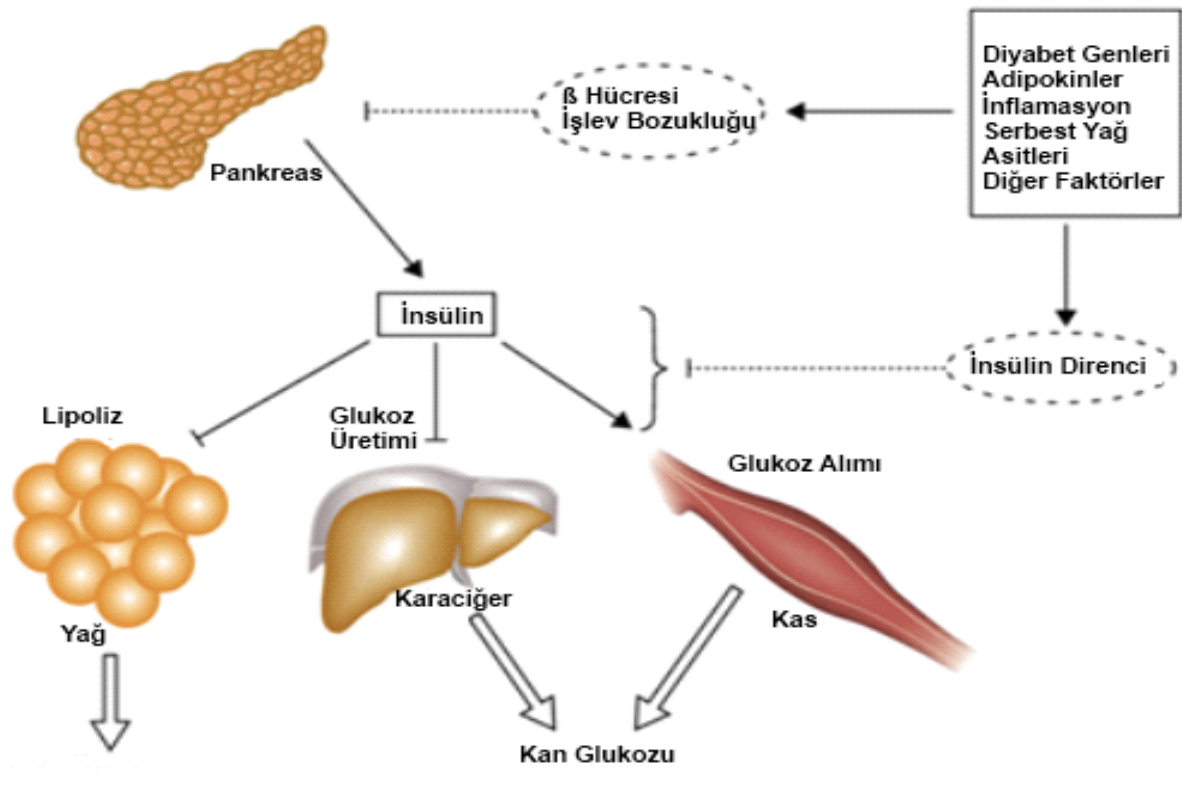
Tip 2 diyabetin görülme sıklığı, beslenme alışkanlıkları ve yaşam tarzının değişmesi nedeniyle gittikçe artmaktadır [21]. İnsülin bağımsız diyabet olarak da adlandırılan Tip 2 diyabet, hastalığın %90-95 ini oluşturmaktadır [22].

Tip 2 diyabete beta hücre fonksiyonunu ve hedef doku insülin duyarlılığını etkileyen genetik ve çevresel faktörler neden olmaktadır. Pankreas β hücrelerinin işlevlerinin azalmasıyla insülin sekresyonundaki bozulmanın yanı sıra, başlıca hedef dokular olan karaciğer, yağ ve kas dokusunun insüline duyarlılığı da azalmıştır. Tüm bunlar diyabetin patogenezinde önemli rol oynamaktadır [23]. Yeni çalışmalarda, Tip 2 diyabet fizyopatolojisinde inkretin hormonların eksikliğinin yol açtığı glukagon yüksekliğinin de rol oynadığı gösterilmiştir [16].

Tip 2 diyabette başlıca 2 temel defektten söz edilebilir. Bunlardan birincisi insülin sekresyonu defekti iken ikincisi insülin direncidir. Bu iki mekanizma birbirini kompanse ettiği sürece hastalık ortaya çıkmamaktadır. Ancak stres, beslenme bozukluğu, fiziksel inaktivite ya da ilaç gibi çevresel faktörler nedeniyle kompensasyon bozulur ve diyabet belirtileri ortaya çıkmaya başlar [16]. Pankreastan insülin sekresyonu normal olarak karaciğerden glikoz çıkışını azaltmakta, iskelet kası tarafından glikoz alımını artırmakta ve yağ dokusundan yağ asidi salınımını baskılamaktadır. Tip 2 diyabetin patogenezinde katkıda bulunan çeşitli faktörler hem insülin sekresyonunu hem de insülin etkisini etkilemektedir. Azalan insülin sekresyonu, hedef dokularda insülin sinyalleşmesini azaltmaktadır. İnsülin direnci yolları, ana hedef dokuların her birinde insülin etkisini etkilemekte, dolaşımdaki yağ asitlerinin artmasına ve hiperglisemiye yol açmaktadır. Buna karşılık, kan dolaşımındaki yüksek glikoz ve yağ asitleri konsantrasyonları, hem insülin sekresyonunu hem de insülin direncini kötüleştirmek için geri beslenmektedir [17] (Şekil 2.1).

Spesifik etiyolojiler bilinmemekle birlikte, beta hücrelerinin otoimmün yıkımı meydana gelmez ve hastalar bilinen diğer diyabet nedenlerine sahip değildirler. Tip 2 diyabetli hastaların çoğunun, fazla kilolu veya obez olduğu görülmektedir. Aşırı kilo, bir dereceye kadar insülin direncine neden olmaktadır [22].

Diyabet tanısı konulmadan yıllar önce, kas, karaciğer ve yağ dokusu olmak üzere başlıca hedef dokularda insülin cevabındaki azalmayla oluşan insülin direnci nedeniyle yeterince kullanılamayan glukoz, pankreas beta-hücrelerini aşırı çalışmaya zorlar; artan hiperinsülinemi kan şekerinin normal seviyelerde seyretmesine neden olur. Bu aşamada insülin kan düzeyine bakılırsa hiperinsülinemi olduğu saptanabilir. Ancak bu durum devam ettikçe insülin sekresyonu azalmaya ve öncelikle tokluk olmak üzere halsizlik, yemek sonrası uyku hali gibi klinik belirtileri olan glisemi artmaya başlar [16].



Şekil 2.1. Tip 2 Diyabette Hiperglisemi ve Artmış Serbest Yağ Asitlerinin Patogenezi [17]

Gestasyonel Diabetes Mellitus

Gebelik döneminde ortaya çıkan ve gebeliğin bitmesiyle sona eren asemptomatik diyabet türüdür. Genellikle gizli kalmış insülin direncini gebelikte hormonların tetiklemesiyle ortaya çıkan gestasyonel diyabetin ileri yaş gebelik, obezite ve ailede diyabet öyküsü risk faktörleri arasındadır [16]. Amerika Birleşik Devletleri'nin de gebelerin %2.1'lik bir

kısmında görülmekte olup hamileliğin genellikle üçüncü ayından sonraya ortaya çıkmaktadır [24].

Diğer Spesifik Türler

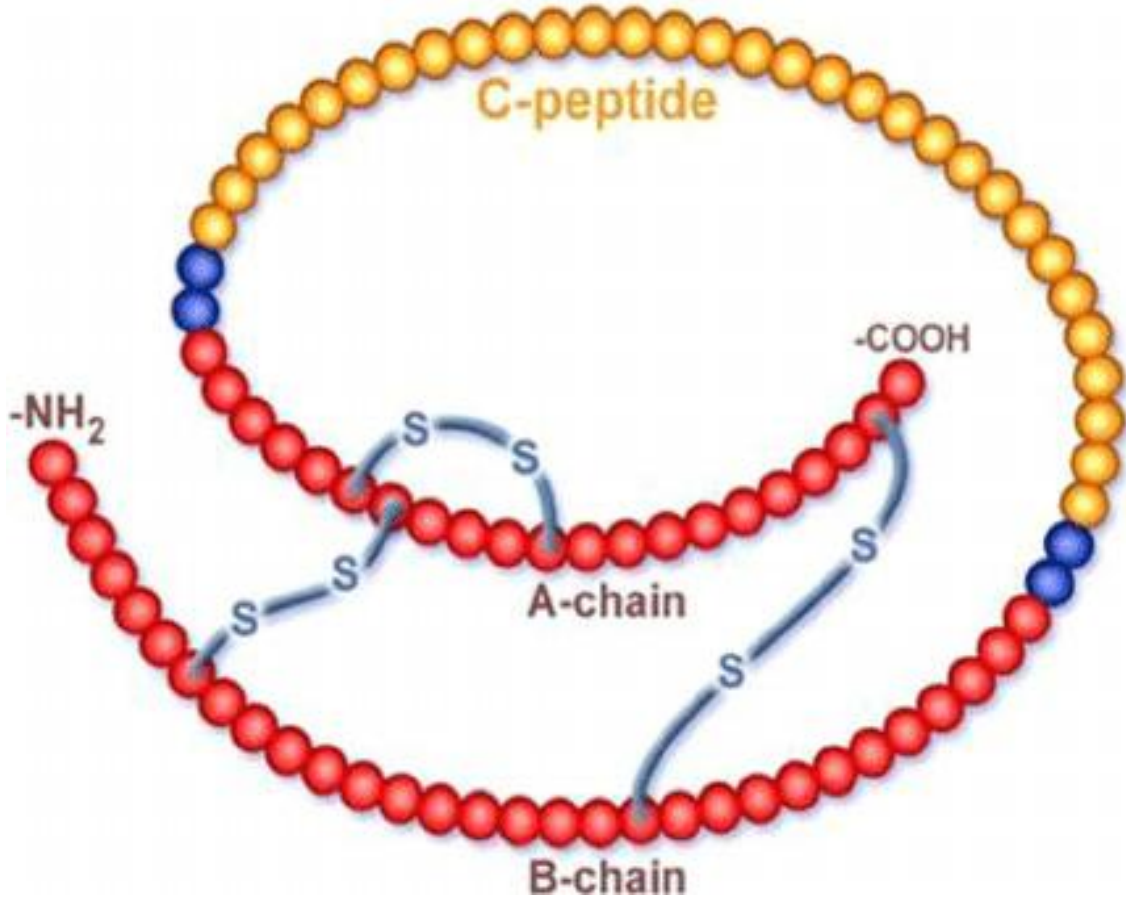
Günümüzde insan DNA yapısı aydınlatıldıkça Tip1 ve Tip2 diyabette bazı gen polimorfizmlerinin olduğu keşfedilmiştir [24]. Çocukluk çağında ve adolesanlarda genellikle doğuştan Tip1 diyabet görülürken son zamanlarda sonradan Tip 2 diyabet tanısı alan hastalar olmaktadır. Gençlerin Erişkin Tipi Diyabeti (Maturity Onset of Diabetes of Young; MODY) olarak adlandırılan bu grup hasta diyabet tablosu sergilemekte ancak insülin tedavisine ihtiyaç duymamaktadır [25].

Ayrıca bu spesifik türler arasında pankreasın ekzokrin doku hastalıkları, ilaç ve kimyasal kaynaklı diyabet ve immün aracılı nadir diyabet türleri de bulunmaktadır [16].

2.3.İnsülin Hormonu ve Aktivasyonu

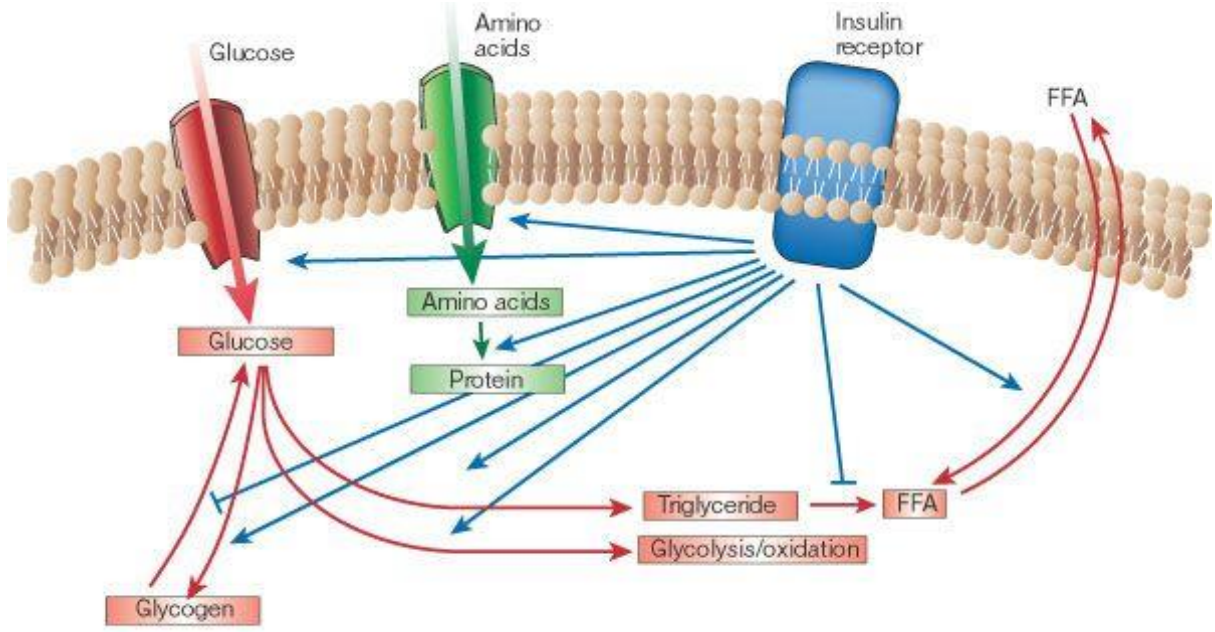
İnsülin, kan glukozunun düzenlenmesi için kilit bir hormondur ve genellikle normoglisemi, insülin hareketi ile insülin sekresyonu arasındaki dengeli etkileşim ile sağlanır [26].

İnsülin, moleküler ağırlığı 5800 dalton olan, disülfid köprüleri ile birbirine bağlanmış 21 aminoasitli A ve 30 aminoasitli B zincirlerinden oluşan, dipeptid yapısında bir moleküldür [27]. C peptid ile birbirine bağlanan A ve B zincirlerinin oluşturduğu yapı proinsülin olarak adlandırılır [27] (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Proinsülin yapısı [27]

İnsülin bilinen en güçlü anabolik hormondur ve karbonhidratların, lipidlerin ve proteinlerin sentezlenmesini ve depolanmasını teşvik ederken, bunların parçalanmasını ve dolaşımda serbest kalmasını önler. İnsülin, glikoz, amino asitler ve yağ asitlerinin hücrelere alımını uyarır ve bozunma katalizörlerinin aktivitesini veya ekspresyonunu inhibe ederken glikojen, lipid ve protein sentezini katalize eden enzimlerin ekspresyonunu veya aktivitesini artırır [28] (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. İnsülin tarafından metabolizmanın düzenlenmesi [28]

İnsülin, glikoz taşıyıcı GLUT4'ün hücre içi bölgelerden hücre yüzeyine translokasyonunu uyarak hücrelerde glikoz alımını artırır [28]. İnsüline bağımlı glikoz alımının %75'i kadarı iskelet kasında olurken, sadece küçük bir kısmı yağ dokusunda gerçekleşir [29]. Buna rağmen, kasta insülin reseptörü çıkarılmış farelerde yapılan bir çalışmada, fareler normal glukoz toleransı gösterirken [30], yağ dokusunda insüline duyarlı glukoz taşıyıcısı çıkarılmış olanların, kas ve karaciğerde indüklenen insülin direnci nedeniyle bozulmuş glukoz toleransı gösterdiği tespit edilmiştir [31].

İnsülin, direkt ve indirekt olmak üzere 2 şekilde etki gösterir. İnsülin karaciğer insülin reseptörlerine bağlanıp, sinyal yolağını aktive ederek direkt etkilerini gösterir [32]. Yağ asidi, kolesterol ve protein sentezi, aminoasit ve yağ asidi absorpsiyonu direk etkiler ile düzenlenir [33]. İnsülinin indirekt etkileri ise; kaslarda protein yıkımının azaltılması [34], pankreasta glukagon sekresyonunun azaltılması [35] ve yağ dokusunda lipolizin baskılanmasıdır [36].

2.3.1. İnsülin Reseptörü ve İnsülin Reseptör Substratları

İnsülin reseptörü, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) -I reseptörü ve insülin reseptörü ile ilgili reseptörü (IRR) içeren tirozin kinaz reseptör alt ailesine ait bir reseptördür. Bu reseptörler, α -alt ünitesinin β -alt ünitesinin tirozin kinaz aktivitesini inhibe ettiği allosterik enzimler olarak işlev gören iki α ve iki β alt ünitesinden oluşan tetramerik proteinlerdir [28]. α alt ünitesinin N-terminal bölgesinde insülin bağlanma bölgesi bulunmaktadır. β alt ünitesi tirozin-spesifik protein kinaz aktivitesi içerir ve sitozolik bölgede yer alır [37]. α -alt ünitesine insülin bağlanması β -alt ünitelerinin transfosforilasyonuna ve kinaz aktivitesini daha da artıran ATP bağlanması gibi [37] konformasyonel değişikliklere yol açar [28].

İnsülin / IGF-I reseptörünün homologları *Drosophila*, *Caenorhabditis elegans* ve metazoan deniz süngerlerinde tanımlanmıştır [38]. Bu organizmalar, fosfatidilinositol 3 kinaz (PI3K), PKB (Protein Kinaz B) veya Akt ve forkhead transkripsiyon faktörlerini (FoxO) içeren memeli hücrelerinin düzenlenmesi için kritik olan bazı aşağı ileti sinyal yollarının aynılarını kullanırlar [28]. İnsülin / IGF-I reseptör kinazlarının en az dokuz hücre içi substratı tanımlanmıştır. Bunlardan dördü insülin reseptörü substrat protein ailesine aittir. Diğer substratlar arasında Gab-1, p60dok, Cbl, APS ve Shc izoformları bulunur [28].

IRS (İnsülin Reseptör Substratı) protein ailesinin IRS-1, IRS-2, IRS-3 ve IRS-4 olmak üzere dört alt türü tanımlanmıştır [39]. IRS-1, 21 potansiyel tirozin fosforilasyon bölgesini ve 30'dan fazla potansiyel serin / treonin fosforilasyon bölgesini içerir [40]. Mevcut veriler, IRS-1 ve IRS-2'nin, karaciğerde glikoz üretiminden, iskelet kası ve yağ dokusunda glikoz alımından ve insülin üretiminden sorumlu olan dokularda fonksiyonel olarak değiştirilemez olduğunu göstermektedir. IRS-1 iskelet kasında ana rol alırken, IRS-2 hepatik insülin etkisini düzenlemektedir [41]. IRS-3 adipoz dokuda, IRS-4 ise beyin, timüs ve böbrekte yer almaktadır [39]. Kas IRS-1 ekspresyonu ve fonksiyonundaki bozukluklar, obezite ve tip 2 diyabet gibi insüline dirençli durumlarda bildirilmiştir. IRS genlerinde birçok polimorfizm tanımlanmıştır, ancak sadece çevresel faktörlerle etkileşime giren IRS-1'in Gly $\rightarrow$ Arg972 ikamesinin, tip 2 diyabetin gelişiminde patolojik bir rol oynadığı saptanmıştır. Buna karşılık, diğer IRS genlerinin polimorfizmlerinin tip 2 diyabete katkıda bulunmadığı görünmektedir [41].

Yakın zamanda hem IRS1 hem de IRS2 için kritik fizyolojik fonksiyonlar tanımlanmıştır. IRS-1 'in kas glukoz taşınımı, kahverengi adiposit farklılaşması ve insülinin neden olduğu β hücresi insülin sekresyonunun düzenlenmesi ve kemik dönüşümünde rol aldığı gösterilmiştir. IRS-2'nin, pankreas hücrelerinin gelişimi ve farklılaşması, yağ lipolizi, hepatik glukoz üretimi ve hipofiz-over eksen fonksiyonunun düzenlenmesinde etkili olduğu saptanmıştır [41].

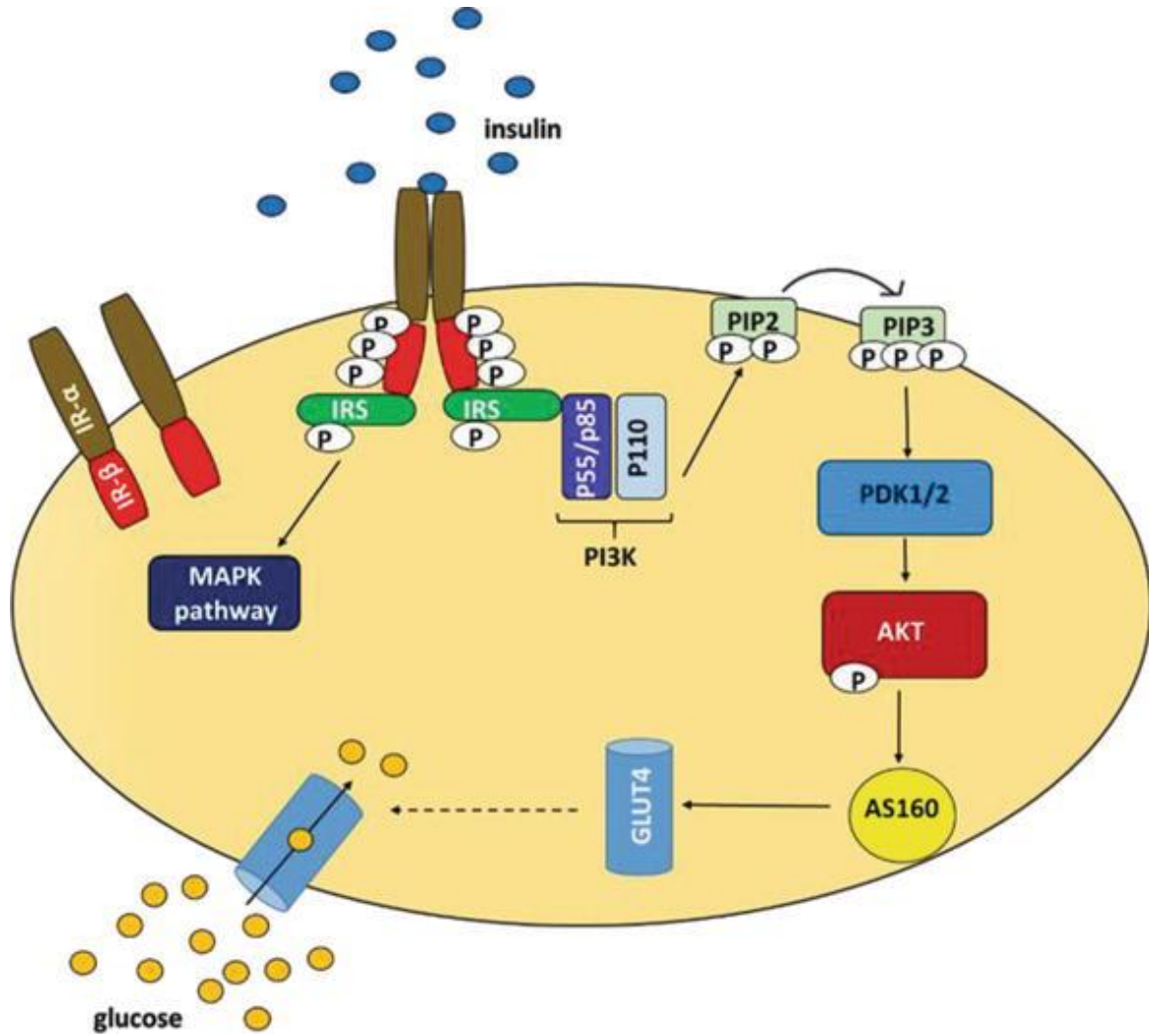
Yapılan bir çalışmada, IRS-1 geni çıkarılmış farelerin periferik dokularda insülin direnci ve bozulmuş glukoz toleransı ile doğum öncesi ve sonrası gelişim geriliği gösterdiği, ancak muhtemelen β -hücre kompensasyonu nedeniyle diyabetik hale gelmedikleri gösterilmiştir [42]. Öte yandan, IRS-2 geninin homozigot bozulması, periferik insülin direnci ve diyabetin yanı sıra bozulmuş insülin sekresyonu ile sonuçlanmıştır [43]. IRS-2 geni çıkarılmış fareler ayrıca, hem periferik dokularda hem de karaciğerde insülin direnci sergilemiş, ancak beynin belirli bölgeleri, pankreas adacıkları ve retina dahil olmak üzere sadece bazı dokularda büyümeye geriliğine neden olmuştur [39]. Buna karşılık IRS-3 ve IRS-4 geni çıkarılmış fareler normal gelişim ve metabolizma sergilemiştir [44].

2.3.2. İnsülin Sinyal İleti Yolağı

İnsülinin mitojenik ve metabolik olmak üzere iki çeşit etkisi vardır [28]. Mitojenik etkilerine Ras/MAP yolağı aracılık ederken, metabolik etkilerine PI3K/Akt yolağı aracılık etmektedir [45]. MAP kinaz yolları, hücre çoğalması, apoptoz, hücre farklılaşması ve doku gelişimi dahil olmak üzere çok çeşitli fizyolojik tepkileri düzenlemektedir. MAP kinaz proteinlerinin deneysel modellerde aktivasyonunun, hücre dönüşümüne neden olduğu ve tümörjenezde rol aldığı gösterilmiştir [46].

İnsülin reseptörünün de bir üyesi olduğu tirozin kinaz reseptörleri ligand ile birleştikten sonra otofosforilasyona neden olarak efektör molekülle birleşirken, insülin reseptörü öncelikle IRS proteinini fosforile edip bir dizi aşağı ileti yolları üzerinden insülin sinyal iletimini [47] başlatır [48]. Fosforile olan IRS-1, MAPK yolağını ve PI3K ı aktive eder. PI3K bir membran lipidi olan PIP2 ye bir grup fosfatın eklenmesini katalize eder ve böylece PIP3 e dönüşümünü sağlar. PIP3 bir protein kinaz olan Akt ye bağlanır ve Akt diğer protein kinazları aktive eder. Akt, anahtar proteinlerin fosforilasyonunu katalize

ederek, glikojen sentaz aktivitesinin artmasına ve glukoz taşıyıcı GLUT4'ün membrana tekrar bağlanmasına neden olur [49] (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. İnsülin sinyal yolağı [49]

PI3K'nin aktivasyonu, birden fazla sinyal iletebilir. PI3K, fosfatidilinositol-3-fosfatları üretmek için fosfoinosititlerin 3-konumunda fosforilasyonunu katalize eder [50]. PI3K ayrıca serin kinaz aktivitesine sahiptir ve enzimin hem düzenleyici hem de katalitik alt birimleri diğer sinyal proteinleriyle etkileşime girebilir [51]. Akt'ın insülin sinyalinin iletilmesinde, Glukojen Sentez Kinaz -3 (GSK-3) enziminin fosforilasyonu, forkhead transkripsiyon faktörleri ve cAMP tepki elemanı-bağlayıcı protein ile önemli olduğu öne sürülmüştür [52].

İnsülin sinyal yolağı üzerine diğer fonksiyonel yapılar

Son yıllarda; PI3K/Akt/mTOR yolağının anormal aktivitesinin kanser veya metabolik bozukluklar gibi pek çok hastalığa neden olduğu düşünülmektedir. PI3K/Akt/mTOR yolağının; hücre iskeleti değişiminin düzenlenmesi ve hücre büyümesi, proliferasyon, sağkalım gibi birçok fonksiyonu olduğu ileri sürülmektedir. Son yıllarda; PI3K/Akt/mTOR yolağının anormal aktivitesinin kanser veya metabolik bozukluklar gibi pek çok hastalığa neden olduğu düşünülmektedir. PI3K/Akt/mTOR yolağının; hücre iskeleti değişiminin düzenlenmesi ve hücre büyümesi, proliferasyon, sağkalım gibi birçok fonksiyonu olduğu ileri sürülmektedir [53].

Anabolik ve katabolik metabolizmalar arasında önemli bir rolü bulunan mTOR hücre içi sinyal yolaklarında anahtar işlevi olan hücre içi bir serin/teonin protein kinazdır. Bu kinaz, PI3K/Akt sinyal transdüksiyon yolağının bir bileşeni olup [54], PI3K aktivasyonunun sinyal iletiminde etkilidir [55]. mTOR proteini mTOR kompleks 1 (mTORC1) ve mTOR kompleks 2 (mTORC2) olmak üzere iki bileşenden oluşur. Hücre siklusunun ilerlemesinde yer alan proteinlerin mRNA translasyonlarını düzenlemesinde görev alan mTOR, apoptotik hücre ölümünün düzenlenmesinde de rol oynamaktadır [56]. mTOR ailesi ayrıca protein yıkımı ve aminoasit gibi moleküllere yanıt olarak mRNA transkripsiyon ve protein translasyonunun başlatılmasına katılmaktadırlar [57].

İnsülinin kazın hepatoselüler büyümesini PI3K Akt-mTOR sinyal yolu ile etkilediğinin savunulduğu bir çalışmada, izole edilen kaz hepatositleri kontrol, insülin ile inkübe, PI3K-Akt-mTOR yolağı inhibitörleri ile inkübe ve PI3K-Akt-mTOR yolağı inhibitörleri ve glukoz ile inkübe olarak gruplandırılmıştır. İnsülinin hücre DNA sentezini, kaz primer hepatositlerinin hücre proliferasyonunda rol oynayan faktörlerin mRNA düzeyi ve protein içeriğini artırdığı bulunmuştur. İnsülin, PI3K-Akt-mTOR yolunda yer alan faktörlerin mRNA seviyesini ve protein içeriğini belirgin şekilde artırmıştır. Bununla birlikte hücre proliferasyonunda insülinin up regülasyonunun PI3K-Akt-mTOR yolağı inhibitörleri tarafından anlamlı derecede azaldığı bulunmuştur [58].

FoxO, hücresel metabolizmanın, hücre döngüsünün, hücre ölümünün ve oksidatif stres tepkilerinin inhibisyonunda rol oynayan çeşitli akış aşağı genlerin indüklenmesinde kilit rol oynar. Karaciğerde IL-1 β gibi enflamatuar sitokinlerin oluşumunda önemli bir aracı olan FoxO'nun insülin direnci ve inflamasyonun artmasında önemli bir rol oynadığı öngörülmektedir. FoxO ailesi üyelerinin insülin direnci ile ilişkisi PI3K / Akt sinyalleme sisteminin aşağı akış yollarını baskılamasıyla [59] ilişkili olduğu bildirilmiştir [60].

2.3.3. İnsülin Direnci

Açlık durumunda glikoz homeostazı, karaciğer tarafından glikoz üretimi ile kas ve yağ tarafından glikoz kullanımı arasındaki dengedir. Glikoz metabolizmasının zayıflaması birçok hormondan ve metabolik ara üründen etkilenebilse de, normal glukoz atılması temel olarak 4 faktöre bağlıdır: vücudun insülini akut olarak ve sürekli bir şekilde salgılaması, insülinin hepatik glukoz çıkışını inhibe etme kabiliyeti, glukozun insülin duyarlılığını artırma kabiliyeti ve glukozun hücrelere insülin yokluğunda girme kabiliyeti. Tip 2 diyabetin patogenezi, bu sistemde en az 2 kusuru içeriyor gibi görünmektedir. Tespit edilebilen en erken lezyon hiperinsülinemi ve hiperglisemiye ilerleyen periferik dokulardaki insülin direncidir [61].

İnsülin direnci, tip 2 diyabetin temel bir özelliğidir ve hastalığın klinik gelişmesinden 10 ila 20 yıl önce başlar. İnsülin direnci, kas ve karaciğer gibi periferik hedef dokuların normal dolaşımdaki insülin konsantrasyonlarına doğru tepki verebilme yeteneğinin azalmasından kaynaklanır. Kas glikojen sentezindeki kusurlar insülin direncinde önemli bir rol oynar ve kas glukoz metabolizmasının potansiyel hız kontrol basamakları olan glikojen sentaz, heksokinaz ve GLUT4 (ana insülinle uyarılan glukoz taşıyıcı) insülin direnci patogenezinde yer almaktadır [62].

Son zamanlarda Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) spektroskopisi kullanılarak yapılan çalışmaların sonuçları, kastaki insülin aracılı glikoz alımı için hız kontrol basamağı olarak glukoz taşınımındaki hücre içi kusurları içermektedir. Glikoz taşıma aktivitesindeki bu değişiklikler muhtemelen, intramiyoküler hücreli yağ asidi metabolizmasının düzensizleşmesinin bir sonucudur, bu şekilde yağ asitleri, bir serin kinaz kaskadı

aktivasyonu ile insülin direncine neden olur, bu da insülinin uyardığı glukozun kas içine taşınmasında gerekli bir adım olan insülin uyarılmış IRS-1 tirozin fosforilasyonunun ve IRS-1 ile ilişkili PI3K aktivitesinin azalmasına neden olmaktadır [62].

İnsülin direnci etiyolojisinde glukoz taşınması bozuklukları [63] ve lipotoksisite [64] gibi insülin sinyal yolağı defektleri rol alırken, pankreas beta hücre bozukluklarında oksidatif stres [65], aşırı yağ asidi birikimi [66] ve amiloid birikimi [67] gibi etkenlerin rol oynadığı düşünülmektedir.

Son on yılda yapılan araştırmalarda diyabet ve metabolik sendromda ortaya çıkan insülin rezistansı ile düşük ölçekli inflamasyonun birlikte seyrettiği gösterilmiştir [68]. Diyet ile oluşturulan obezitenin adipoz dokuda sitokinlerden IL-1 ve IL-6 ve TNF- α ' yı artırdığı ve böylece insülin reseptor substrat-1 serin fosforilasyonuna neden olarak insülin rezistansına yol açtığı kabul görmüştür [69]. Her ne kadar insülin karaciğerde glikoz alımını uyarmasa da, glikojenoliz ve glukoneogenezi bloke eder ve glikojen sentezini uyarır, böylece açlık glikoz seviyelerini düzenler. Beyin ve pankreas β -hücresi de dahil olmak üzere normal olarak insüline duyarlı sayılmayan dokulardaki insülin etkisi, glukoz homeostazında da önemli olabilir [28]. Gelişmiş ülkelerde yada endüstrileşmiş toplumlarda çağımızın hastalığı olarak kabul edilen obezitede artan adipoz doku kitlesinin inflamasyon faktörlerinden pro-inflamatuvar sitokinlerin tumor necrosis factor- α (TNF- α), interlökin-6 (IL-6) salınımını tetiklediği bildirilmektedir. Bu inflamasyon faktörlerinin ayrıca Tip 2 diyabet, non-alkolik karaciğer yağlanması ile doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir [70].

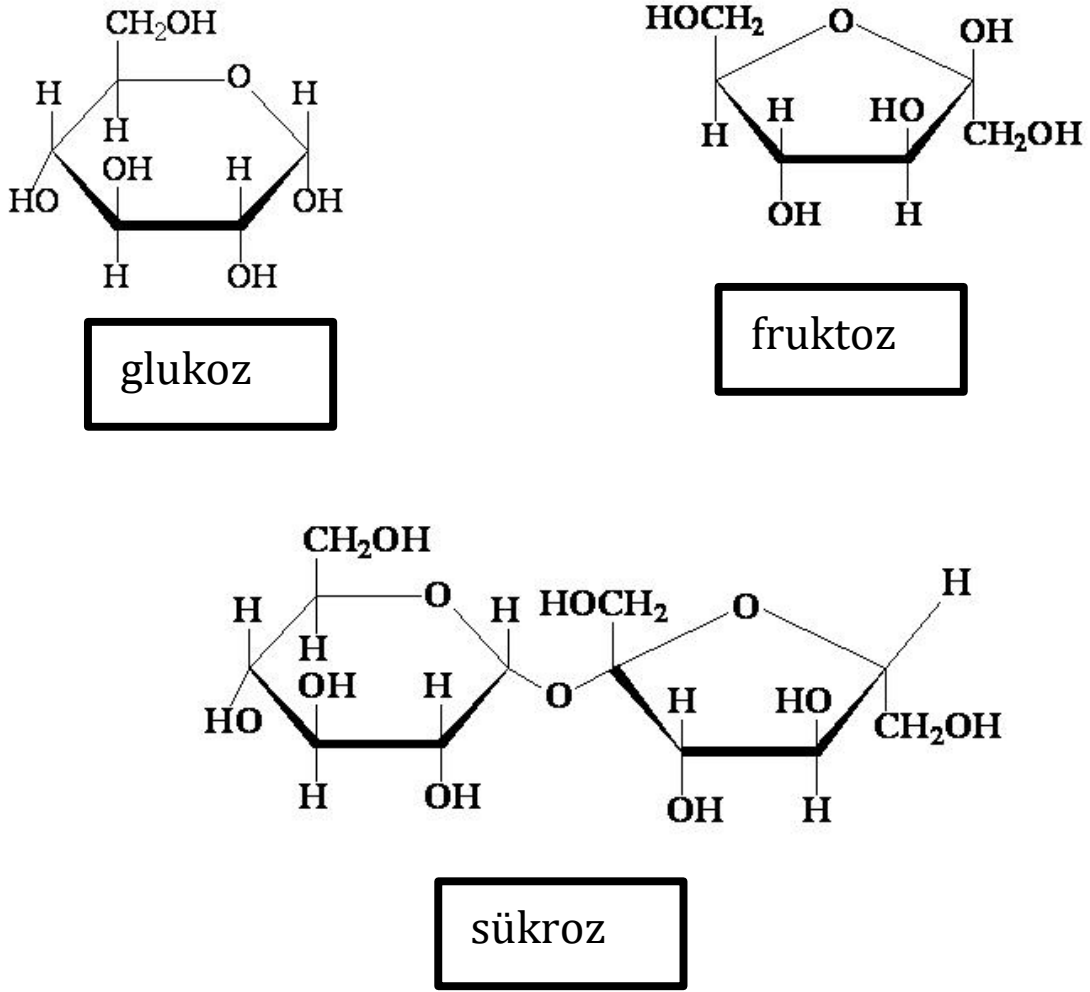
2.4. Fruktoz

Paleolitik çağda atalarımız yiyeceklerini avcılık ve toplayıcılıkla elde ederken, diyetlerinin ana bileşenini et oluşturmaktaydı. Besinlerini sırasıyla protein, yağ ve karbonhidrat oluştururken nişasta tüketimi çok az olduğu gibi meyve ve yemişler de ana karbonhidrat kaynağını temsil etmekteydi. İnsanlar bugüne dek, bizim kullandığımız kadar yüksek şekerli ürünler tüketmemiştir.

Batı Avrupalılar şeker ile tanışana kadar bal ana tatlandırıcı olmuştur. Şeker çay, kahve ve diğer içeceklerde tüketilen lüks olmayan çok popüler bir tatlandırıcı olmuştur. Şeker ilk etapta Avrupa ve Kuzey Amerikada kamıştan ekstre edilirken daha sonra pancardan üretilmiştir. 18 ve 19.yy arası İngiltere’de şeker tüketimi %1500 artmış ve 20.yy’a geçildiğinde şeker diyetimizin temel bileşeni olmuştur. 1960’lara kadar meyvelerle çok az alınan glukoz ve fruktoz, yiyecek endüstrisinin gelişmesi ve mısırdan nişasta eldesine izin veren teknolojinin kullanılmasıyla glukoz hidroliz edilmiş ve enzimatik hidrolizasyon ile glukoz fruktoza dönüştürülmüştür. Bu yüksek fruktozlu mısır şurubu denilen mısır türevi tatlandırıcıların üretimiyle sonuçlanmıştır [8]. Yüksek fruktozlu mısır şurubu, endüstriyel enzimatik izomerizasyon ile glukozun fruktoza dönüştürülmesiyle elde edilir. Son ürün glukoz ve fruktozdur. Yüksek fruktozlu mısır şurubu sıklıkla kullanılan, ucuz bir tatlandırıcı ve koruyucudur [71]. En sık kullanılan %55 fruktoz %45 glukoz bileşimi olan YFMS-55 tir. Diyetle fruktoz, yüksek fruktozlu mısır şurubu ve sukroz ile tatlandırılmış yiyecek ve içecekler ile meyve ve bal gibi besinlerden alınır [7].

2.4.1. Fruktozun kimyasal yapısı

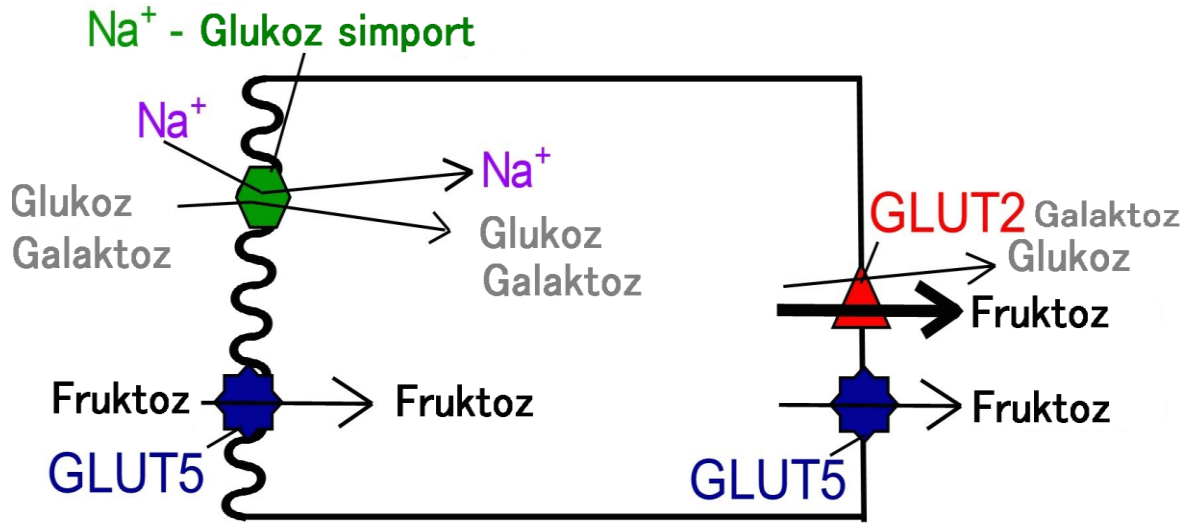
Fruktoz, kimyasal formülü $C_6H_{12}O_6$ olan, glukozu benzeyen bir monosakkarittir ancak glukozdaki aldehit grubu yerine ikinci karbonunda keton grubu bulundurur [71] (Şekil 2.5.). Beyaz katı bir görünüme sahip olan fruktoz, suda çok kolay çözünür [72]. Glukoz ve fruktoz birbirlerine glikozit bağı ile bağlanarak sukrozu oluştururlar [73].



Şekil 2.5. Glukoz, Fruktoz ve sükrozun molekül yapıları [71]

2.4.2. Fruktoz absorpsiyonu

Glukoz ile karşılaştırıldığında fruktoz absorpsiyonunun daha sınırlı olduğu görülmektedir. Fruktozun barsak enterositlerindenden absorpsiyonu ve transportu spesifik bir fruktoz taşıyıcısı olan, ince barsaklarda eksprese edilen GLUT5 yolu ile olmaktadır. Glukozun tersine bu işlem sodyum bağımlı değildir ve enerji gerektirmez. Barsak hücresine alınan fruktoz daha sonra GLUT2 taşıyıcıları üzerinden kana verilir [7] (Şekil 2.6). Kana geçen fruktozun temel hedef organı karaciğer olup, vücuda alınarak emilen ve kana geçirilen fruktozun yoğun biçimde tutulduğu organ yine karaciğerdir [74].

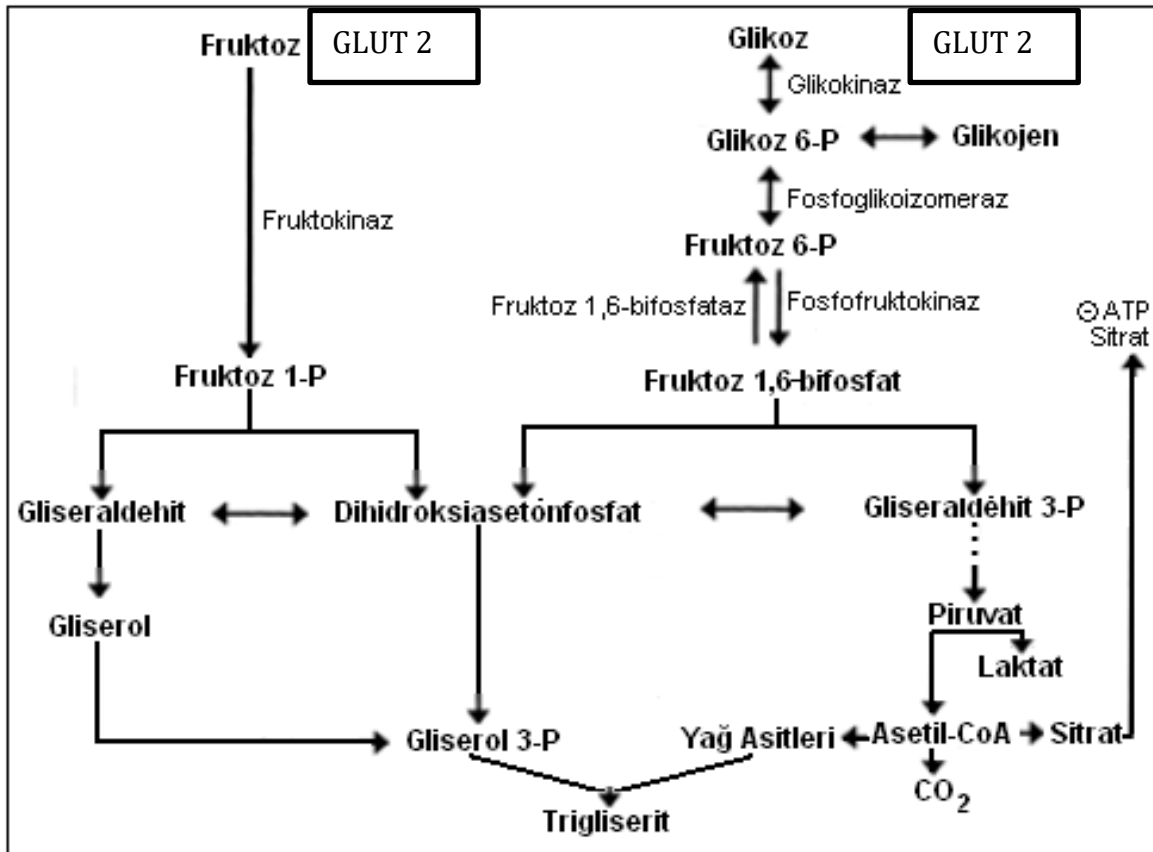


Şekil 2.6. Fruktozun absorpsiyonu [7]

2.4.3. Fruktozun metabolizması

Fruktoz metabolizması glukozdan farklılık gösterir ve insülin bağımsız bir mekanizmayla meydana gelir [73]. Karaciğerde fruktoz fruktokinaz enzimi ile fruktoz-1-fosfata fosforillenir. Fruktoz-1-fosfat, trioz fosfat, gliseraldehit ve dihidroksiaseton fosfata metabolize olur. Trioz fosfattan tüketilen karbonun bir kısmı glukoneogenik yolağa girer ve sonradan glukoz olarak ortaya çıkar. Glikolize giren fruktoz karbonunun önemli bir kısmı laktata metabolize olur ve daha küçük miktarlarda salınan piruvat ve alfa ketoglutarat ile birlikte dolaşıma salınır. Diyetle 45 g fruktoz alımından sonra plazma laktat konsantrasyonu yaklaşık 2 mmol/L olurken, aynı miktarda glukoz alımından sonra plazma laktat konsantrasyonu sadece 0.5mmol/L artmıştır. Muhtemelen bu laktatın bir kısmı daha sonra karaciğer tarafından alınır ve glukoz veya glukojene dönüşmek üzere glukoneogenezise girer veya asetil-coA oluşmak üzere metabolize edilir [74].

Fruktozdan arta kalan karbon yapı temelde yağ asitlerine dönüştürülmektedir. Fruktozun yağ asidi reesterifikasyonu ile VLDL-trigliserit sentezini destekleyerek hepatik lipid oksidasyonunu inhibe ettiği düşünülmektedir. Bu nedenle, fruktozun yüksek miktarlarda tüketimi trigliserid üretimi için kontrolsüz bir kaynak teşkil etmektedir [73] (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Fruktozun metabolizması [73]

2.4.4. Fruktozun Metabolik Sendrom İle İlişkisi

Fruktozun neden olduğu metabolik, hemodinamik ve otonomik değişikliklerin incelendiği bir çalışmada, yetişkin erkek wistar sıçanlara 10 hafta boyunca yüksek fruktozlu (100g/L) içme suyu verilmiş ve 10 hafta sonunda hayvanların metabolik sendrom bulgularını gösterdiği görülmüştür [13]. Yem içinde (%60-66) ya da içme suyu içinde (%10-30) yüksek fruktoz diyeti uygulanması ile 3. haftadan başlayarak, insulin rezistansı, hipertrigliseritemi, hipertansiyon ve karaciğer yağlanması ile karakterize metabolik sendrom tablosu oluştuğu saptanmıştır [75,76]. Fruktoz konsantrasyonu ve beslenme süresi, oluşan metabolik sendromun şiddetini değiştirmektedir [77,73]. Fakat, özellikle yem içinde yüksek fruktoz uygulaması, gerçek insan diyetine göre oldukça fazladır [4]. Fruktozdan zengin diyetle beslenen Sprague-dawley cinsi sıçanların kullanıldığı bir çalışmada, 3 haftanın sonunda sistolik kan basıncı ile insülin ve trigliserid seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir [78].

Enerji ihtiyacının %25'ini karşılayan glukoz veya fruktozla tatlandırılmış içecekleri 10 hafta boyunca tüketen aşırı kilolu ve obez bireylerde bu şekerlerin daimi kullanımının bağıl etkileri incelenmiştir. Hem glukoz hem fruktoz kilo alımına neden olurken, yüzeyel yağ hacmini (viseral adipoz volüme) fruktoz tüketiminin önemli ölçüde artırdığı görülmüştür. Açlık plazma trigliserid konsantrasyonlarında değişkenlik saptanmıştır. Fruktoz tüketimi hepatik de novo lipogenezisi (DNL) ve 23 saatlik tokluk trigliseridini eğri altında kalan alanını artırmıştır. Açlığı takiben apoB, LDL, düşük dansiteli LDL, oksidize LDL ile kalıntı benzeri parçacık trigliserid ve kolesterol tokluk konsantrasyonları önemli ölçüde artmıştır. Açlık plazma glukoz ve insülin seviyeleri artarken insülin duyarlılığının azaldığı görülmüştür [79].

Deney hayvanlarına yem içinde yüksek fruktoz verilmesinin karaciğer yağlanmasına neden olduğu ilk kez Ackerman ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir [80]. Daha sonraki çalışmalarda içme suyu içinde %10-30 oranında fruktoz uygulamasının sıçan ve farelerde hepatik steatosis oluşturduğu gösterilmiştir [81,82,9]. Fruktozun oluşturduğu hepatik trigliserit akümülyasyonun, yağ asitlerinin sentezinde anahtar enzimlerden olan sterol düzenleyici element bağlayıcı protein (sterol regulatory element binding protein; SREB1c) ve yağ asidi sentaz (fatty acid synthase; FASN) ekspresyonunun artışına bağlı olduğu bulunmuştur [83]. Fruktozun oluşturduğu hepatik steatosisin inflamatuvar mediyatörlerin artışı ile birlikte seyrettiğini gösteren araştırmalar bulunmaktadır [84,83,9]. TNF- α geni silinmiş farelerde içme suyu içinde %30 fruktoz verilerek oluşturulan hepatik yağlanmadaki azalmanın SREBP-1 ve FAS mRNA ekspresyonundaki düşüşle birlikte seyrettiği saptanmıştır [84].

Enerji gereksiniminin %25'inin fruktoz ya da glukozdan karşılandığı gönüllüler üzerinde yapılan bir araştırmada, fruktoz tüketen grupta iç organ yağlanması, postprandiyal trigliserit, oksidize olmuş LDL ve total kolesterol ile açlık plazma glukoz ve insülin düzeylerinin glukoz tüketen gruptan daha yüksek olduğu saptanmıştır [79]. Uzun süreli ve çok sayıda kişinin dahil edildiği çalışmalarda, şekerli içecek tüketenlerde kilo artışı, metabolik sendrom, tip 2 diyabet, karaciğer yağlanması ve hipertansiyon görülme sıklığının arttığı bulunmuştur. Karaciğer yağlanması saptanan kişilerde, günlük şekerli içecek tüketiminin sağlam kişilerden iki kat daha fazla olduğu bildirilmiştir [85,86].

Patojen free farelere içme suyu içinde %30 glukoz, fruktoz, sükroz (8 hafta) uygulandığında karaciğer trigliserit düzeyindeki artışın en fazla fruktoz tüketen grupta olduğu saptanmıştır. Ayrıca fruktoz grubunda, portal kan içinde endotoksin düzeyinin yükseldiği, hepatik TNF- α mRNA artışına eşlik eden hepatik lipid akümülayonuna neden olduğu bildirilmiştir [81]. Yakınlarda ileri sürülen bir görüşe göre, fruktoz tüketimi sonucu bir taraftan de novo lipogenezis aracılı karaciğer trigliserit oluşumunun ve akümülayonunun arttığı, diğer taraftan barsak içindeki metaboliti pirüvat sayesinde barsakta bakteri büyümesini hızlandırdığı ve ortaya çıkan endotoksinler nedeniyle karaciğer kupffer hücrelerinde TRL-4 aracılı ROS, NF- κ B, TNF- α ' yı artırarak insülin rezistansı oluşturduğu bildirilmiştir [82]. Bakteri endotoksinlerinden lipopolisakkaritlerin plazmada bağlandığı protein düzeylerinin karaciğer yağlanması olan kişilerde yükseldiği ve karaciğer TNF- α mRNA ekspresyonunun arttığı bulunmuştur[87].

Kemirgenlerde sürekli yüksek miktarda fruktoz tüketimi, hepatik ve ekstrahepatik insülin rezistansına, obeziteye, tip 2 diabetes mellitusa ve hipertansiyona yol açmaktadır. İnsanlarda daha az kanıt olmasına rağmen yapılan çalışmalar yüksek fruktoz alımının dislipidemiye neden olduğunu ve karaciğer insülin duyaylılığına zarar verdiğini göstermiştir. Epidemiyolojik çalışmalar tatlandırıcı ürünlerin (sukroz veya glukoz-fruktoz karışımı) tüketiminin yüksek enerji alımı, artan vücut ağırlığı, metabolik ve kardiyovasküler bozukların oluşumuyla bağlantılı olabileceğine dair kanıtların arttığını göstermektedir [8].

Fruktoz ve Obezite

Son 40 yılda diyetle alınan yüksek fruktoz tüketiminin dünyada obezite görülme oranının artmasından sorumlu olabileceğine dair endişeler vardır [88]. Deneysel ve klinik kanıtlar, yüksek fruktozlu mısır şurubu tüketiminin obezite ve diğer hastalıklar ile ilişkisi olduğunu desteklemektedir. Ayrıca deneysel yüksek fruktozlu mısır şurubu tüketimi vücut ağırlığı artışı gözlenmeyen metabolik sendromla bağlantılı birtakım değişiklikler olduğunu göstermiştir. Obezite ve bununla ilişkili hastalıklar Amerika ve tüm dünyada önemli ve büyüyen bir sağlık sorunudur. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (The Centers for Disease Control and Prevention; CDC), 20-74 yaşındaki Amerikanların %33'nün obez olduğunu tahmin etmektedir. Son 10 yıl içinde, günlük kalori alımı 150-300 kkal artmıştır ve bunun %50 si kalorili tatlandırılmış içecek tüketiminden kaynaklanmaktadır [71].

Son birkaç yıldır yapılan çalışmalarda fruktoz tüketimindeki artışın obezite oranlarındaki artışla paralellik gösterdiği görülmüştür [13]. Fruktozun obeziteye yol açmasındaki nedenlerden biri, pankreasın beta hücrelerinden insülin salınımını stimüle edememesidir ki bu beta hücrelerinde GLUT5'in yokluğundan kaynaklanır. Bir diğer neden ise, glukoz-6-fosfatın fosfofruktokinaz enzimi ile fruktoz-1 6-bifosfata dönüşümü olan glikolizin ana yolağını atlamasıdır [89]. ABD Tarım Bakanlığı'nın 1967-2000 yılları arasındaki yiyecek tüketim tablolarını kullanarak yapılan bir çalışmada, yüksek fruktozlu mısır şurubu kullanımıyla obezite gelişimi arasındaki ilişki analiz edilmiştir. Yüksek fruktozlu mısır şurubunun tüketiminin artmasının obezitenin yaygınlığıyla zamansal bir ilişkisi olduğu ve yüksek fruktozlu mısır şurubu ile tatlandırılmış içeceklerin aşırı miktarda tüketiminin obezitenin yaygın oluşunda rol oynadığı düşünülmektedir [90].

Yapılan bir çalışmada kemirgenlerde, %60 fruktoz içeren bir diyetin hepatik DNL'yi uyardığı ve hepatoselüler lipidleri arttırdığı gösterilmiştir. Yüksek früktoza uzun süreli maruziyetin ise hepatikstenoz ve insülin direncini indüklediği öngörülmektedir [91].

2.4.5. Fruktozun Diyabet ve İnsülin Direnci ile İlişkisi

Obezite, diyabet ve karaciğer yağlanması altında yatan ana nedenin insülin rezistansı olduğu öne sürülmüştür [3]. İnsülin rezistansı, insülinin kas ve karaciğer dokusuna glukoz taşıma kapasitesindeki bir yetmezlik olarak tanımlanabilir [92]. İnsülin rezistansının, dislipidemi, karaciğer yağlanması ve hiperinsülinemi ile birlikte seyrettiği gösterilmiştir [93]. Deney hayvanlarının diyetine ya da içme suyuna eklenen saf fruktoz hiperinsülinemi ve dislipidemiye neden olmaktadır [73].

Hiperinsülinemi ve hiperglisemi modeli elde etmek üzere yapılan bir çalışmada, erkek hamsterlar 3 ana ve 3 alt gruba ayrılmıştır. Hayvanlara 2,4 ve 6 aylık periyodlar olmak üzere standart diyetlerinin yanı sıra içme sularına %10 ve %20 lik fruktoz solüsyonu eklenmiştir. İki haftada bir ağırlık ölçümü yapılmış ve periyodların son günlerinde 12 saatlik açlık sonrası hayvanlar anestezi edilip plazma glukoz ve insulin ölçümü için kan toplanmıştır. Fruktoz grupları kendi arasında farklılık göstermezken kontrole göre vücut ağırlığı artışı daha fazla gözlenmiş ve açlık plazma glukoz ve insulin seviyeleri önemli ölçüde artış göstermiştir [61].

Karaciğer, iskelet kası ve damarlar üzerindeki insülin reseptör substratları insülin etkisine aracılık etmektedir. IRS, aktive olmuş insülin reseptörlerine bağlanıp fosforile olduktan sonra ileti yolağını tetikleyerek hepatik glukoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde belirleyici rol oynamaktadır. İnsülin sinyal yolağındaki insülin reseptör substratlarının düzeyi, diyabet, metabolik sendrom, obezite, hipertansiyon gibi pek çok patolojik durumda değiştiği rapor edilmiştir [94]. Karaciğerde IRS reseptör protein düzeyindeki azalma ve IRS'nin serin/treonin rezidüleri üzerinden hiperfosforilasyon insülin rezistansı gelişiminde önemli bulunmuştur [95,96]. IRS geni çıkarılmış deney hayvanlarında, karaciğerde insülin rezistansı ve glukoz intoleransı olduğu görülmüştür [94]. Hiperinsülinemi ve hiperlipidemi IRS proteininin parçalanmasını hızlandırır, bu insülin rezistansı gelişiminde tartışılan mekanizmalardan birisidir [95]. Kronik insülin maruziyeti, karaciğerde IRS-1 serin fosforilasyonu ve parçalanmasına neden olarak insülin ileti yolağının zayıflamasına neden olmaktadır [97]. Fruktöz diyeti ile insülin rezistansı oluşturulmuş Wistar sıçanlara eNOS gen transferi yapıldığında, karaciğer ve aortada eNOS ve IRS-1 proteinlerinin arttığı bulunmuştur [98]. Gen ekspresyonu ile eNOS indüksiyonun, yüksek fruktoz diyeti ile insülin rezistansı oluşturulmuş sıçanların karaciğer, aorta ve iskelet kasında insülin duyarlılığı azalttığı ve IRS-1 fosforilasyonunu artırdığı saptanmıştır [99]. IRS proteinleri insülin rezistansının düzeltilmesinde hedef molekül olarak önem taşımaktadır.

Yüksek fruktozlu diyet (%35 fruktoz,%35 nişasta,%20 yağ, %20 protein) ile beslenen 12 haftalık erkek farelerde fosforile IRS-1 ve fosforile Akt ye özel antikorlar kullanılarak fruktozun karaciğerde insülin sinyal yolağı üzerine etkisi incelenmiştir. Farelerde fruktoz alımını takip eden 3. günde daha fazla kalori alımı başlamış ve 7. günde glukoz intoleransı görülmüştür. Akt'nin insülinle uyarılmış fosforilasyonu (p-Akt), bir günlük yüksek fruktoz diyetinin ardından karaciğerde % 30 oranında belirgin bir şekilde azalmıştır. Tutarlı bir şekilde, Akt'ın akış aşağı hedefleri olan mTOR fosforilasyonu, fruktoz ile beslenen farelerde insülin uyarımı üzerine önemli ölçüde azalmıştır [100].

Yapılan bir çalışmada yüksek fruktozun, tek başına ve kronik stres ile birlikte rat karaciğerinde glukoz homeostazı, lipid metabolizması, hepatik inflamasyon ve enerji algılama proteinleri (AMPK, SIRT1 ve peroksizom proliferatör ile aktive olmuş reseptör gama koaktivatörü-1 alfa (PGC-1 α) ekspresyonuna etkisi incelenmiştir. Yüksek fruktoz diyeti, glukoz intoleransı, NF κ B ve JNK yolaklarının aktivasyonunu ile intrahepatik IL1 β

ve insülin reseptör substrat 1 fosforilasyonunun inhibisyonuna neden olmuştur. Ayrıca AMPK aktivitesini düşürürken SIRT1 ekspresyonunu artırmıştır [101].

İnsülin etkilerini insülin reseptörüne (IR) bağlanarak ve aşağı akış yollarını tetikleyerek gerçekleştirir. Metabolik yolağa, sinyali PI3K / Akt yolu üzerinden ileten IRS-1 ve IR nin tirozin fosforilasyonu aracılık eder. Yüksek fruktozla beslenen hayvanlarda endotelial nitrik oksit (eNOS) fonksiyonunun ve egzersizin bozulan kardiyak insülin sinyal mekanizmasına olan etkisinin incelendiği bir çalışmada ratlar kontrol, fruktoz (içme suyu içerisinde %10 fruktoz) ve egzersiz + fruktoz olmak üzere üç ayrı gruba ayrılmıştır. Fruktozun aşırı yüklenmesi toplam vücut ağırlığını değiştirmezken visceral adipoz dokuyu, insülin konsantrasyonunu ve homeostazını artırmıştır. Egzersiz visceral yağlanmayı ve insülin seviyesini düşürmeyi başarırken insülin duyarlılığını artırmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında rat kalbinde fruktoz diyetinden sonra IR içeriği anlamlı derecede azalmıştır. IRS-1 in toplam içeriği gruplar arasında değişmezken insülin uyarılmış durumlarda fruktoz kalpteki Ser307 fosforilasyonunun artışı tetiklemiş ve egzersiz bu inhibitör fosforilasyonu kontrol seviyelerine döndürmüştür. Fruktoz Akt ekspresyonunu değiştirmemiştir ancak insülinle uyarıldıktan sonra fruktoz grubunda fosforile Akt düzeyleri düşmüştür. Fruktoz diyeti kardiyak tirozin-spesifik protein fosfotaz 1B (PTP1B) ile fosforile IRS-1 (Ser307) seviyelerini artırırken IR ve ERK1/2 nin yanı sıra, pIRS-1 (Tyr 632), pAkt (Ser473, Thr308) ile pERK1/2 seviyelerini düşürmüştür. Bu bozukluklara Ser1177'de eNOS'un fosforilasyonunun azaltılması eşlik etmiştir. Egzersiz fruktoz diyetinin neden olduğu insülin sinyal yolağı bozukluklarının bir çoğunu önlemeyi başarmış ve eNOS fonksiyonunu düzeltmiştir[102]. Yapılan bir çalışmada, 10 hafta boyunca içme suyu içerisinde %20 yüksek fruktozlu mısır şurubunun verildiği wistar sıçanlarda vücut ağırlığı değişmezken hipertrigliseridemi, plazma insülin seviyesinde ve kan basıncında yükselme meydana geldiği tespit edilmiştir. Ayrıca yüksek fruktozlu mısır şurubu tüketimi, sıçan aortasında SIRT1 ve eNOS protein seviyelerindeki azalmayla birlikte endotel gevşemesinde bozulma ve vasküler kasılmada artış meydana getirmiştir [103].

İçme suyu içerisinde verilen glukoz (%20) ve fruktozun (%20) dişi Sprague Dawley sıçanlarda neden olduğu vasküler ve metabolik değişikliklerin incelendiği bir çalışmada, glukoz kalori artışına daha çok neden olurken fruktoz vasküler ve metabolik bozukluklara neden olmuştur. Lipid metabolizması, insülin sinyali ve vasküler yanıtla ilişkili

moleküllerin ekspresyonu hepatik ve aortik dokularda ölçülmüştür. Hepatik lipogenesis her iki grupta da uyarılırken, plazma trigliserit sadece fruktoz grubunda artmıştır. Karaciğer ve aortada insülin sinyal mekanizması her iki grupta da bozulurken bu etki fruktoz grubunda daha belirgin olmuştur. Karaciğer ağırlığı sadece fruktoz takviyesinde artarken, adipoz doku ağırlığı her iki şeker takviyesinde de artış göstermiştir. Ayrıca yağ asidi sentazın (FAS) mRNA ekspresyonu iki grupta da anlamlı derecede artmazken, FAS protein seviyeleri fruktoz grubunda daha fazla olmakla birlikte glukoz grubunda da anlamlı derecede artmıştır. Plazma insülin konsantrasyonu fruktoz grubunda artmış ve insülin duyarlılık indeksi (ISI) her iki grupta da anlamlı derecede azalmıştır. Karaciğer ve aortadaki temel insülin sinyal araçlarından IRS-1 protein ekspresyonu karaciğerde fruktoz takviyesiyle uyarılmazken, IRS-2 protein ekspresyonu her iki grupta da anlamlı derecede azalmıştır. Her iki dokuda da IRS nin alt yolağındaki insülin sinyalizasyonunun temel aracısı olan Akt ekspresyonu ölçülmüş ve total Akt her iki grupta da değişmezken karaciğer dokusunda fosforile Akt fruktoz grubunda kontrole kıyasla anlamlı derece azalmıştır [104].

Yüksek fruktoz diyeti kaynaklı hepatik endoplazmik retikulum stresinde otofajinin rolünün araştırıldığı bir çalışmada, kronik olarak diyetle yüksek fruktoz alımının karaciğerde endoplazmik retikulum stres ve yağ birikimiyle bağlantılı olarak glukoz intoleransını uyarırken insülin sinyal yolağını bozduğu ortaya konmuştur. Farelerde 2 haftalık yüksek fruktoz diyeti kontrole karşılaştırıldığında vücut ağırlığını ve karaciğer trigliserid seviyesini anlamlı derecede artırmıştır. Plazma insülin seviyelerinde farklılık görünmemesine karşılık açlık kan glukozu yüksek fruktoz grubunda anlamlı derecede yüksek ölçülmüştür. Bununla birlikte, karaciğerde bazal Akt / GSK3 β (glikojen sentaz kinaz 3 β) fosforilasyonu, mTOR'un aşırı aktivasyonuna rağmen, 2 haftalık yüksek fruktoz beslemesinden sonra değişmemiştir. Karaciğerde insülin uyarılmış Akt fosforilasyonu kontrol grubunda yükselirken, yüksek fruktozun bu değeri %40-50 oranında azalttığı bulunmuştur. Fruktozun mTOR üzerindeki doğrudan etkisini doğrulamak için karaciğer eksplantları amino asit ve insülin yokluğunda fruktoz ile inkübe edilmiştir ve in vivo çalışmalara benzer olarak mTOR fosforilasyonu karaciğer eksplantlarında artış ile sonuçlanmıştır. Yüksek fruktoz diyeti karaciğerde kontrole karşılaştırıldığında fosforilasyonunda %70lik bir artış sağlayarak mTOR aktivasyonu gerçekleştirmiştir. Ayrıca IRS-1 geninin serin fosforilasyon seviyeleri anlamlı derecede yükselmiş ve bu insülinle uyarılmış Akt fosforilasyonunun inhibisyonuyla bağlantılıdır [105].

İçme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen erkek sprague dawley cinsi sıçanlarda früktozun plazma glukoz, insülin konsantrasyonlarını, trigliserid ve total kolesterol seviyelerini artırdığı gösterilmiştir. Adipoz dokuda IR, IRS-1, IRS-2, PI3K, Akt, TNF- α , PPAR- γ , adinopektin, SREBP-1c, FAS ve asetil-CoA karboksilaz mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik yapmamış ancak fosforile IRS-1 seviyelerini yükseltmiştir [106].

2.4.6. Yüksek Fruktozun Diğer Etkileri

Günümüzde şekerli gıda tüketimindeki artış (meşrubatlar, pastane ürünleri, dondurma) fazla miktarda sükroz ve serbest fruktoz içeren mısır şurubu alımına yol açmıştır. Fruktoz tüketimindeki artışın günümüzdeki obezitedeki artış ile paralel seyretmesi dikkat çekici bulunmuştur. Emilmeden kalan fazla fruktoz gut mikrobiyotası için iyi bir besi ortamı oluşturarak, mikroflorada evrimsel bir değişime yol açabilir. Batı tarzı diyetle bozulan Bacterioidetes: Firmicutes oranı, yararlı prebiyotik ve probiyotik içeren besinlerin alınması ile yeniden oluşturulabilir [107].

Erkek, 16 haftalık Wistar sıçan nükleus tractus solitariusunda (NTS) fruktozun süperoksit oluşumunu artırıp, insülin sinyal yolağını bozmasının ve kan basıncını yükseltmesinin araştırıldığı bir çalışmada 4 haftalık içme suyu içerisinde %10 fruktoz uygulamasının kan basıncı, serum açlık insülin, glukoz ve trigliserid seviyeleri ile NTS'de süperoksit oluşumunu artırdığı, serum HDL düzeylerini azalttığı bulunmuştur. Fruktoz IRS-1 in fosforilasyonunu arttırdığı ve Akt ile nöronal nitrik oksit sentaz fosforilasyonunu baskıladığı gösterilmiştir [108].

Dişi ve erkek wistar sıçanlarda içme suyu içerisinde %10 fruktoz verilerek yaptığımız bir çalışmada, erkek ve dişi sıçanlarda omental lipid artışı meydana geldiği, vücut ağırlığının ise erkek sıçanlarda ciddi anlamda artmış olduğu gözlenmiştir. Plazma trigliserit ve insülin seviyeleri ile adipoz dokuda insülin, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 ve IL-18 seviyelerinde artış saptanmıştır. Ayrıca sıçanların adipoz dokularında NFkB düzeyi değişmezken, IR β , IRS-1, IRS-2, Akt, mTOR, PPAR γ , Nrf2 ve iNOS ekspresyonlarının artmıştır. Elde edilen bulgular, fruktozun inflamasyon parametrelerini değiştirerek ve insülin sinyal yolağını bozarak metabolik sendromun bir bileşeni olan abdominal obeziteye neden olabileceğini göstermiştir [33].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Hayvanlar ve Diyet

Bu çalışmanın protokolü, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (G.U.ET-14.054). 8 haftalık erkek Sprague Dawley ırkı sıçanlar, 12/12 saat aydınlık-karanlık periyoduna ayarlanmış, sıcaklık (22 °C) ve nem kontrollü odalarda standart yem ve suya serbestçe ulaşabilecek şekilde yerleştirildiler. Hayvanlar standart sıçan yemi (Kuru madde: %88, protein: %23, selüloz: %7, ham kül: %8, HCl' de çözülmeyen kül: %2, kalsiyum: %1.5, fosfor: %0.9, sodyum: 0.7, tuz (NaCl): %1, metiyonin: 0.3, lizin:1) ile beslenmişlerdir. Bir grup sıçana bir haftalık adaptasyon sürecini izleyen 30 hafta boyunca, içme suyu içinde, %15 fruktoz, diğer gruba ise sade içme suyu verilmiştir.

Hayvanların başlangıç ve belirli zamanlardaki vücut ağırlıkları, tükettikleri yem ile su miktarları haftalık ölçümlerle kaydedilmiştir. Belirli aralıklarla kuyruk venininden kan örnekleri alınıp glukoz (Contour TS, Bayer) ve trigliserit (Accutrend Plus, Roche) düzeyleri ölçülmüştür. 30 haftalık süre sonunda hayvanlar ketamin (100 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) ile ötenazi edilmiştir. Deney günü sıçanların sakrifikasyonundan hemen sonra intrakardiyak alınan kan örneklerinden insülin ve plazma lipid düzeyleri ölçülmüştür. Sıçanların azot gazında dondurulup ve -85 C⁰'de saklanan karaciğer dokusunun (100-300 mg) homojenizasyonu yapıp Reel Time PCR yöntemi ile IR, IRS-1, IRS-2, Akt, FoxO3a, PI3K, eNOS, iNOS, NfκB, Nrf2 ve mTOR gen ekspresyonu tayini yapılmıştır.

Deney grupları aşağıdaki şekilde belirlenmiştir:

GRUP 1: Kontrol (Standart yem ve çeşme suyu)

GRUP 2: Fruktoz (Standart yem ve %15 fruktoz içeren çeşme suyu)

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneyleerde kullanılan kimyasal maddeler Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)'dan temin edilmiştir. Fruktoz, Danisco Sweeteners OY (Finland)' den sağlanmıştır.

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

Sıçanların ağırlıkları haftada bir kez olmak üzere hassas terazi kullanılarak tespit edilmiştir. Yem tüketimleri haftada bir kez olmak üzere hassas terazi kullanılarak, başlangıç saatinde kafes yemliğindeki yem ile 24 saatin sonunda kalan yem arasındaki fark hesaplanarak bulunmuştur. Denek sayısı başına günlük yem tüketimi olarak hesaplanmıştır. Sıvı tüketimleri damla akıtmaz şişelere, başlangıç saatinde koyulan sıvı hacmi ile 24 saat sonunda kalan sıvı miktarı arasındaki fark hesaplanarak bulunmuştur. Denek sayısı başına günlük sıvı tüketimi olarak hesaplanmıştır. Kalori alımı günlük yem tüketiminden (3.5 kkal/g) ve fruktoz (3.7 kkal/g) içeren sıvı tüketiminden toplanarak hesaplanmıştır.

3.4. Plazmada Glukoz, İnsülin ve Lipit Profilinin Düzeylerinin Belirlenmesi

Anestezi sonrası sıçanların toraks ve abdomeni açıldıktan sonra intrakardiyak olarak alınan kan örneklerinde şeker ölçüm cihazı kullanılarak (Contour TS, Bayer) kan glukoz düzeyi ölçülmüştür. Ölçümler en az 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alınmıştır. İntrakardiyak alınan 2 cc kan örneği 2200 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrılmış, ependorf tüplerine koyularak ve -85°C' de saklanmıştır. Plazma örneklerinde trigliserit, HDL, LDL, VLDL ve total kolesterol düzeyleri uygun enzimatik analiz kitleri kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler, standart laboratuvar kitleri kullanılarak yapılmıştır. Plazma insülin düzeyleri ise rat spesifik insülin ELISA kitleri (Mercodia) ile üretici firmanın kullanım talimatına uygun olarak ölçülmüştür.

3.5. Real Time-PCR Yöntemiyle mRNA Miktar Tayini

Karaciğer doku örneklerine ait toplam RNA'lar, Fermentas GeneJet total RNA saflaştırma kiti kullanılarak üreticinin kılavuzuna göre izole edildi. Toplam RNA izolasyonundan sonra, RNA'ların bütünlükleri agaroz jel elektroforezi, RNA konsantrasyonu ve protein

kontaminasyonu ise MultiscanGO spektrofotometre ile 260 ve 280 nm de spektrofotometrik ölçümler ile kontrol edildi. cDNA sentezi yöntemine göre 1 µg toplam RNA'ya 1 µl oligo (dT)15 primer (100mM) eklendi. Sonra, hacim DEPC-distile su ile 12 µl'ye tamamlandı. Daha sonra, örnek solüsyonu yavaşça karıştırılıp 70°C'de 5 dakika inkübe edildi ve buz üzerinde soğutuldu. Sonra 4 µl 5xM-MuLV reaksiyon tamponu ve 1 µl RiboLock™ (20 u/ µl) (MBI Fermentas, USA) eklendi. 2 µl 10mM dNTP karışımı eklendikten sonra tüpler 37°C'de 5 dakika inkübe edildi. Son olarak, 1 µl M-MuLV Revers Transkriptaz (200 u/µl) eklendi ve cDNA sentez reaksiyonu 1 saat süre ile 42°C'de gerçekleştirildi. Ters transkriptaz denatürasyonu için 70°C'de 5 dakika bekletilen cDNA örnekleri buz üzerinde soğutulduktan sonra qPCR reaksiyon çalışmalarına kadar -85°C'de saklandı.

3.6. Kuantitatif Gerçek Zamanlı PZR (Real time-PCR)

Karaciğer dokusunda IRS-1, IRS-2, Akt, mTOR, FoxO3a, NRF2, PI3K, eNOS, iNOS, ve NfκB genlerine ait mRNA miktarları SYBR Green I reaksiyon kimyası ve gerçek zamanlı PCR (Roche LightCycler480 II) ile Tablo 1'de belirtilen primer çiftleri kullanılarak gerçekleştirildi. cDNA içerisindeki istenilen mRNA karşılığının yükseltgenebilmesi için 5 µl SYBR Green Mastermix (Roche FastStart Universal SYBR Green Master Mix with Rox) 2 µl ileri, 2 µl geri primerler (her birinden 2mM) ile karıştırıldıktan sonra karışım üzerine 1 µl cDNA (1:10 oranında seyreltilmiş) eklendi. 95°C'de 10 dakika başlangıç denatürasyonunun ardından, 94°C'de 15 saniye denatürasyon, 58°C'de 30 saniye bağlanma ve 72°C'de 30 saniye uzatma aşaması 45 kez tekrarlanırken her döngünün bağlanma aşamasından sonra floresan ışıma cihaz yardımı ile belirlendi. Her bir yükseltme eğrisi için eşik döngü sayısı (CT) değerleri hesaplanarak kullanılan standartlar ile kalibrasyon eğrileri oluşturuldu ve örneklerdeki mRNA ifadenmesi belirlendi. Normalizasyon için internal standart olarak GAPDH primerleri kullanıldı (Tablo 2). Standart eğri yöntemine göre dokular içerisinde aranan gen ekspresyon düzeyleri GAPDH genine oranlanarak birbirleri ile karşılaştırıldı. Aynı zamanda PCR ürünlerinin ve kontaminasyonun kontrol edilmesi için ürünler üzerine melt analizi gerçekleştirildi ve ürünlerin saflıkları kontrol edildi. Herhangi bir cDNA ya da DNA içermeyen kör reaksiyon tüpleri kullanılarak genomik DNA kontaminasyonu olup olmadığı kontrol edildi.

Çizelge 3.1. Real Time-PCR Deneylerinde Kullanılan Primer Çiftler (IRS-1, IRS-2, Akt, mTOR, FoxO3a, Nrf2, PI3K, eNOS, iNOS, NfκB ve internal standart GAPDH)

Gen	İleri Primer dizi (5'→3')	Ters Primer dizi (5'→3')	Ürün (bp)
IRS-1	GCCAATCTTCATCCAGTTGC	CATCGTGAAGAAGGCATAGG	337
IRS-2	CTACCCACTGAGCCCAAGAG	CCAGGGATGAAGCAGGACTA	151
Akt	GAAGAAGAGCTCGCCTCCAT	GAAGGAGAAGGCCACAGGTC	211
mTOR	GCAATGGGCACGAGTTTGTT	AGTGTGTTTACCAGGCCAAA	94
FoxO3a	ATAACTTTGTGCTGCTGCCG	CAGCTACCTCGGCTCCTTC	207
Nrf2	GATTCGTGCACAGCAGCA	GCCAGCTGAACTCCTTAGAC	466
PI3K	ATGCAACTGCCTTGACATT	CGCCTGAAGCTGAGCAACAT	320
eNOS	TGCACCCTTCCGGGGATTCT	GGATCCCTGGAAAAGGCGGT	189
iNOS	CTTCAGGTATGCGGTATTGG	CATGGTGAACACGTTCTTGG	352
NfκB	GGGTCAGAGGCCAATAGAGA	CCTAGCTTTCTCTGAACTGCAAA	71
GAPDH	TGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAG	TCCTTGGAGGCCATGTGGGCCAT	240

3.7. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Deney verilerinin istatistik analizi, un-paired Student's t-testi kullanılarak yapılmıştır. P değeri 0,05'den küçük ise, bulgu anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

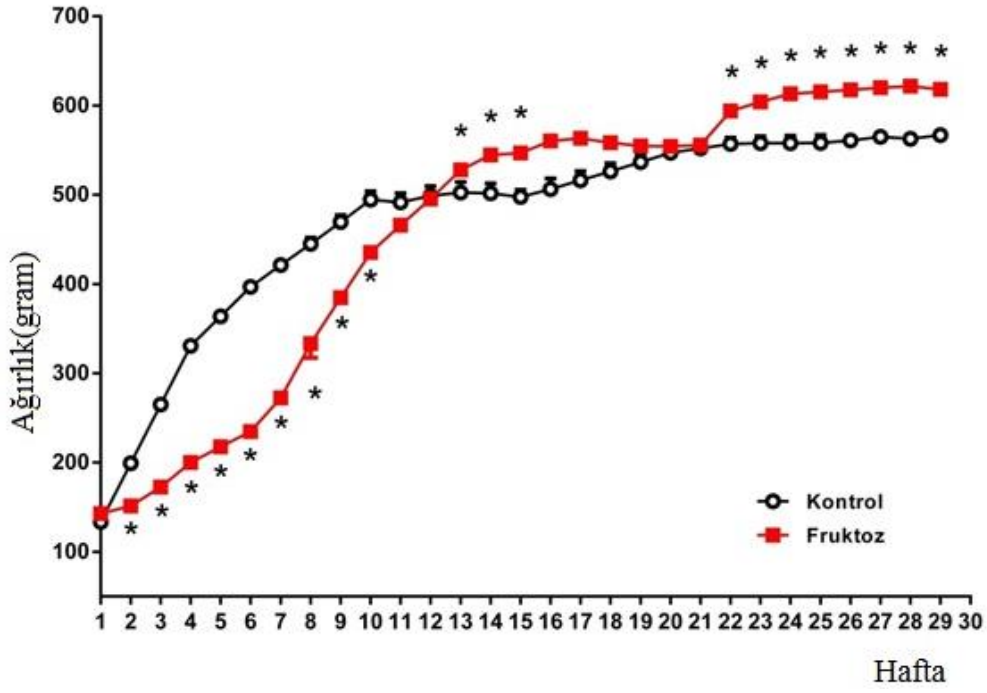
4.1. Sıçanların Ağırlıkları ile Günlük Yem, Sıvı ve Kalori Tüketimi

Sıçanların son ağırlıkları karşılaştırıldığında, fruktoz grubundaki hayvanların kontrol grubuna göre vücut ağırlıklarının değişmediği saptanmıştır. Günlük yem tüketim miktarları karşılaştırıldığında ise, kontrol grubundaki hayvanların daha fazla yem tükettiği saptanmıştır. Günlük sıvı alımları açısından yapılan değerlendirmelerde ise fruktoz grubunun kontrole göre daha fazla sıvı tükettiği saptanmıştır. Hayvanların günlük kalori alımı karşılaştırıldığında deney grupları arasında herhangi anlamlı bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Ayrıca, Çizelge 4.1’de, hayvanların ağırlık artışı ile günlük yem, sıvı ve kalori tüketimi 30 hafta boyunca her hafta kaydedilmiştir. Bu kayıtlara ilişkin veriler Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4’te görülebilir.

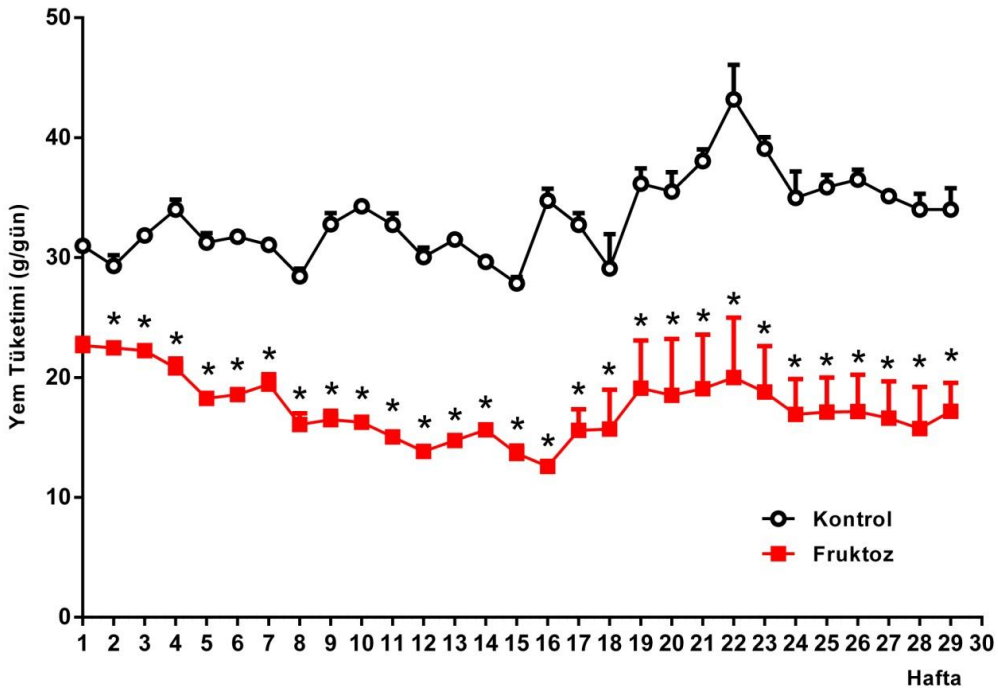
Çizelge 4.1. Sıçanların günlük yem, sıvı tüketimi ve kalori alımı ile vücut ağırlıkları

	KONTROL	FRUKTOZ
Tüketilen Yem Miktarı (g/gün)	33.4± 0.7	22.9 ± 1.1 *
Tüketilen Sıvı Miktarı (ml/gün)	49.2 ± 0.7	79.8 ± 2.4 *
Kalori Alımı (kkal)	117.3± 2.5	124.4 ± 4.5
İlk Ağırlık (g)	133.5 ± 1.8	141.6 ± 0.6
Son Ağırlık (g)	570.4 ± 3.2	591.4± 1.4
Ağırlık Farkı	436.7 ± 5	450.8 ± 13.4

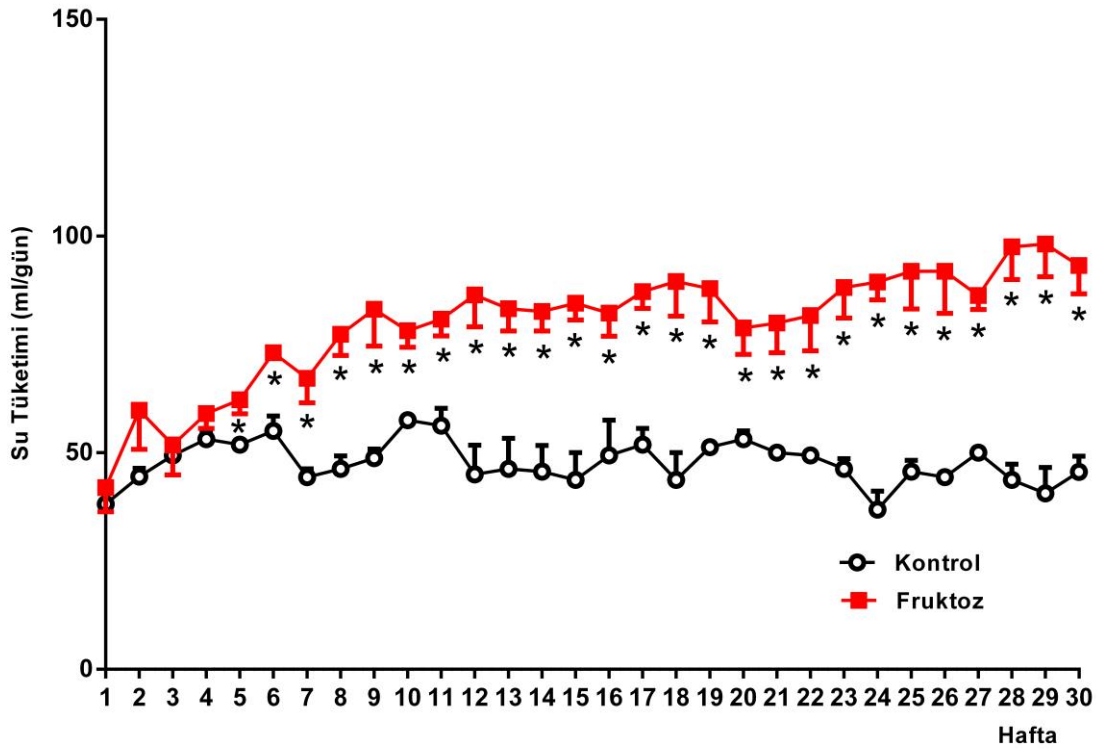
Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=6-9, * p<0.05 kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.1. Sıçanların haftalara göre ağırlık değişimi. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.



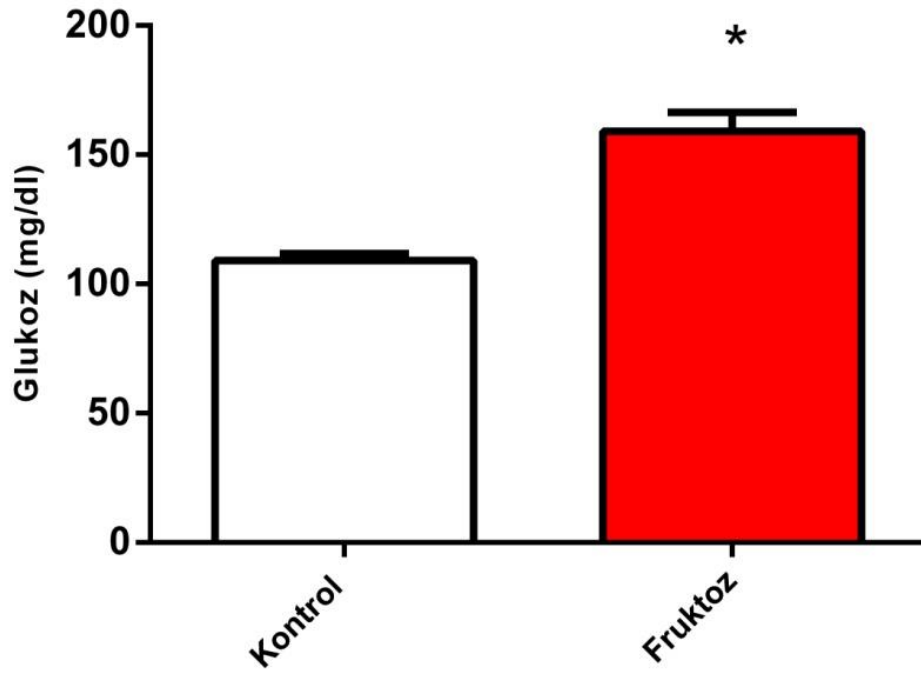
Şekil 4.2. Sıçanların 30 haftalık periyot boyunca haftada bir ölçülen günlük yem tüketimi. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.



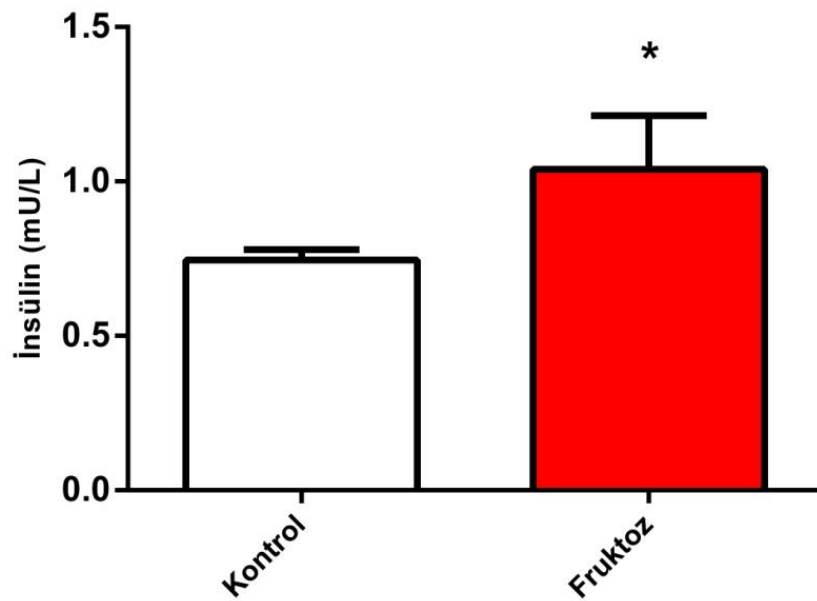
Şekil 4.3. Sıçanların 30 haftalık periyot boyunca haftada bir ölçülen günlük sıvı alımı. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.2. Sıçanların Plazma Glukoz ve İnsülin Düzeyleri

Deney gruplarında açlık olmayan glukoz düzeyleri intakardiyak alınan kan örneklerinden ölçülmüştür. Fruktoz tüketimi plazma glukoz düzeyini kontrole göre anlamlı olarak artırmıştır. Grupların toplu karşılaştırılması Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Şekil 4.5'da fruktoz tüketiminin plazma insülin düzeyini kontrole göre belirgin şekilde artırdığı görülmektedir.



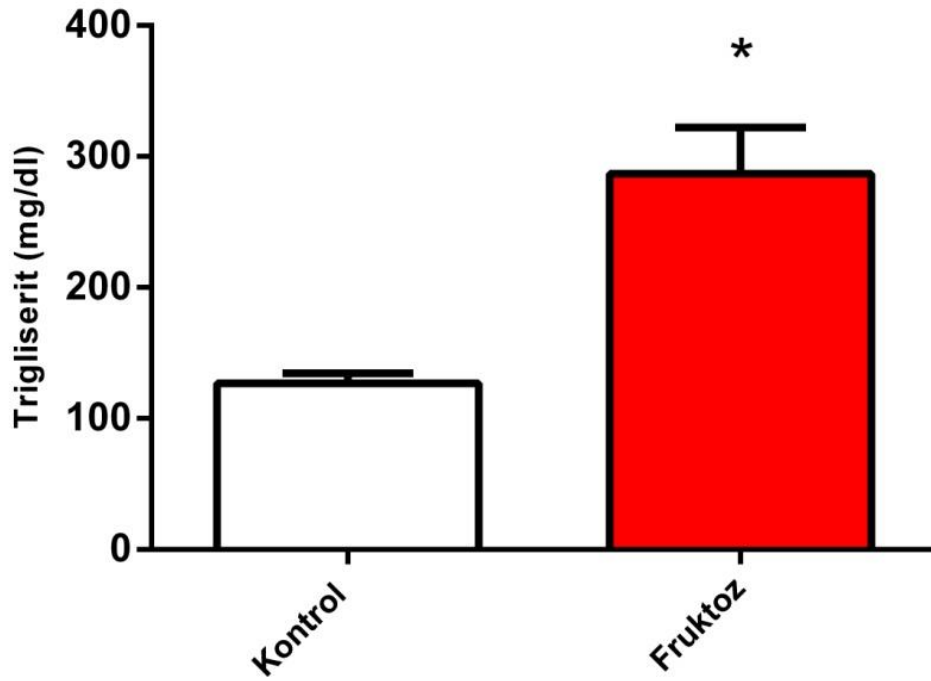
Şekil 4.4. Sıçanların kan glukoz düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir



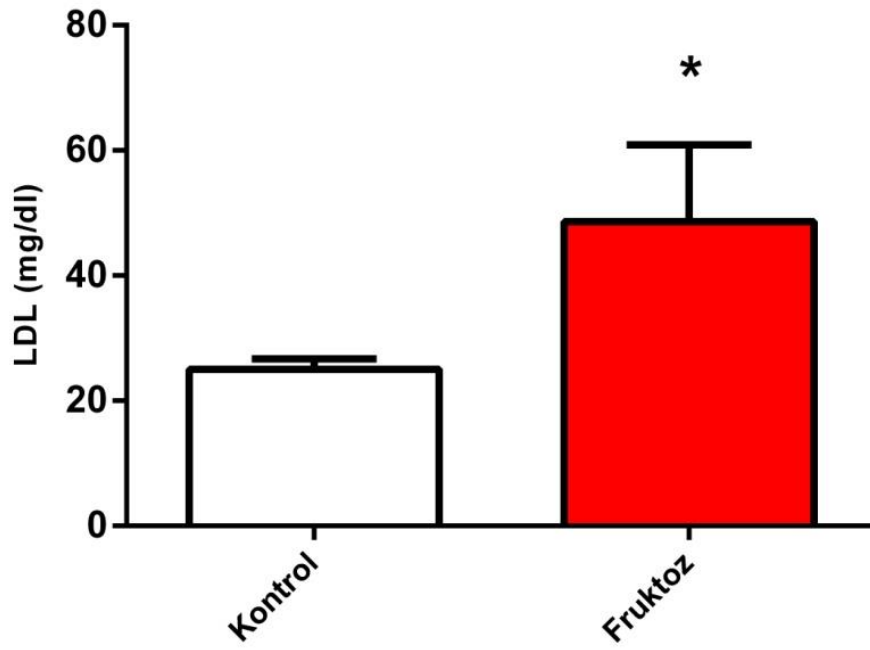
Şekil 4.5. Sıçanların plazma insülin düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.3. Sıçanların Plazma Lipit Profili

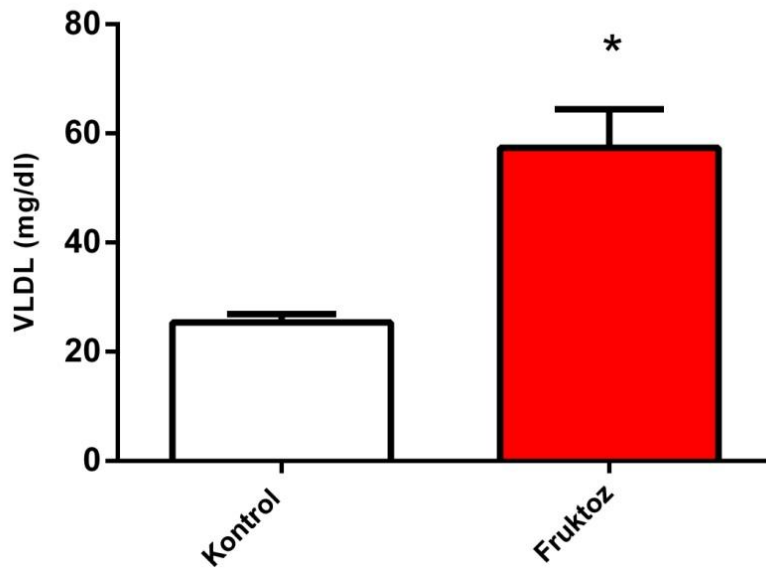
Sıçanların plazma trigliserit, HDL, LDL, VLDL ve total kolesterol düzeyleri ölçülmüştür. 30 hafta boyunca içme suyu içerisinde fruktoz tüketimi sıçanların plazma trigliserit düzeylerini kontrole göre anlamlı olarak artırmıştır (Şekil 4.6). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sıçanların plazma LDL ve VLDL düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır (Şekil 4.7, 4.8). Total kolesterol düzeyleri fruktoz tüketen deney grubunda artış göstermiştir (Şekil 4.9). Plazma HDL düzeylerinde ise deney grupları arasında fruktoz tüketimine bağlı herhangi bir değişiklik saptanmamıştır (Şekil 4.10).



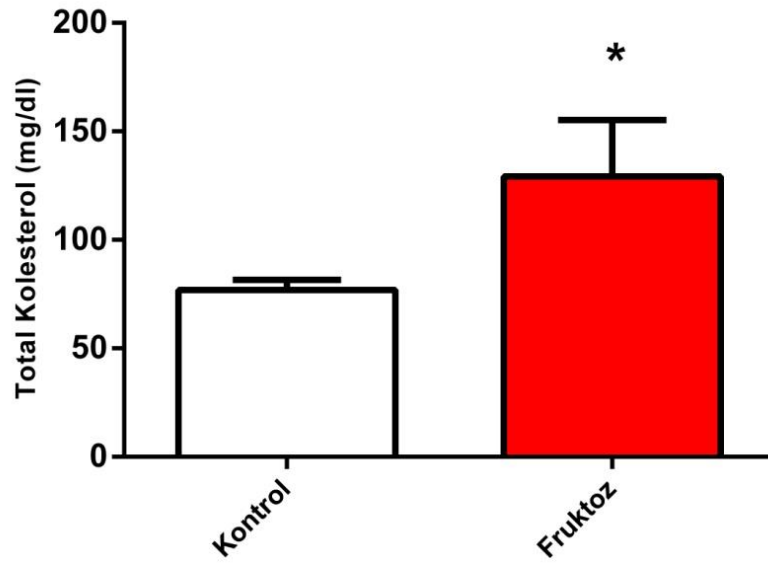
Şekil 4.6. Sıçanların plazma trigliserit düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir



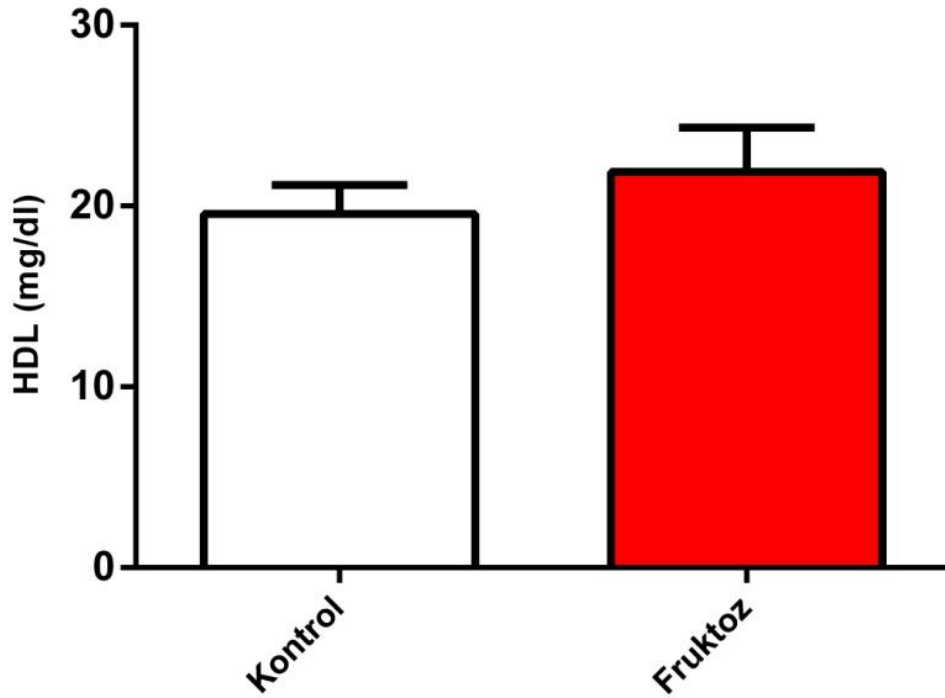
Şekil 4.7. Sıçanların plazma LDL düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir



Şekil 4.8. Sıçanların plazma VLDL düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir



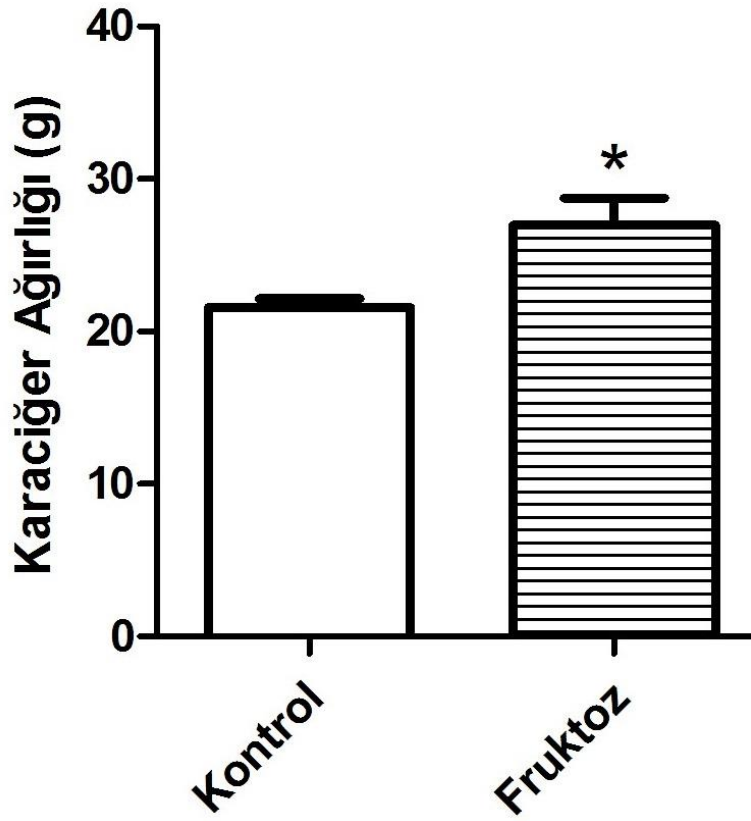
Şekil 4.9. Sıçanların plazma total kolesterol düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. n=6-9, * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir



Şekil 4.10. Sıçanların plazma HDL düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. n=6-9

4.4. Sıçanların Karaciğer Ağırlığı

Yüksek fruktoz tüketimi 30 haftanın sonunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sıçanların karaciğer mutlak ağırlığında anlamlı düzeyde artışa neden olmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırılması Şekil 4.11’de gösterilmiştir.



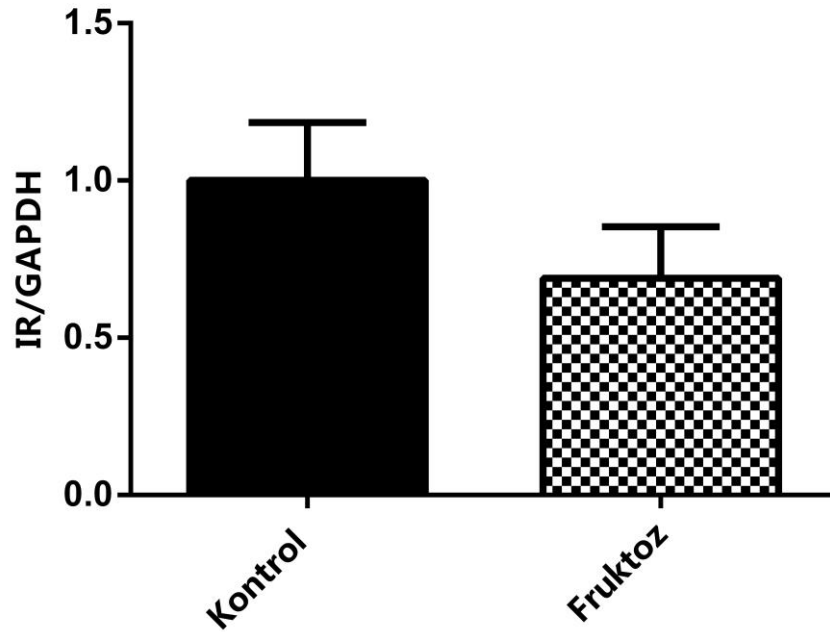
Şekil 4.11. Uzun dönem fruktoz tüketiminin karaciğer ağırlığına etkisi. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. $n=6-9$, * $p<0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.5. Real Time-PCR Yöntemiyle mRNA Ölçümü

30 hafta boyunca içme suyu içerisinde %15 fruktoz tüketen sıçanların karaciğer doku homojenatlarında Real Time-PCR yöntemiyle, insülin sinyal yolağı elemanlarından IR, IRS-1, IRS-2, Akt, FoxO3a, PI3K ve eNOS mRNA ekspresyonları ölçülmüştür. Ayrıca inflamasyon belirteçlerinden iNOS ve NFκB ile antiinflamatuvar faktörlerden Nrf2 ve mTOR mRNA gen ekspresyonları tayini yapılmıştır.

4.5.1. Sıçanların karaciğer dokularında IR mRNA miktarları

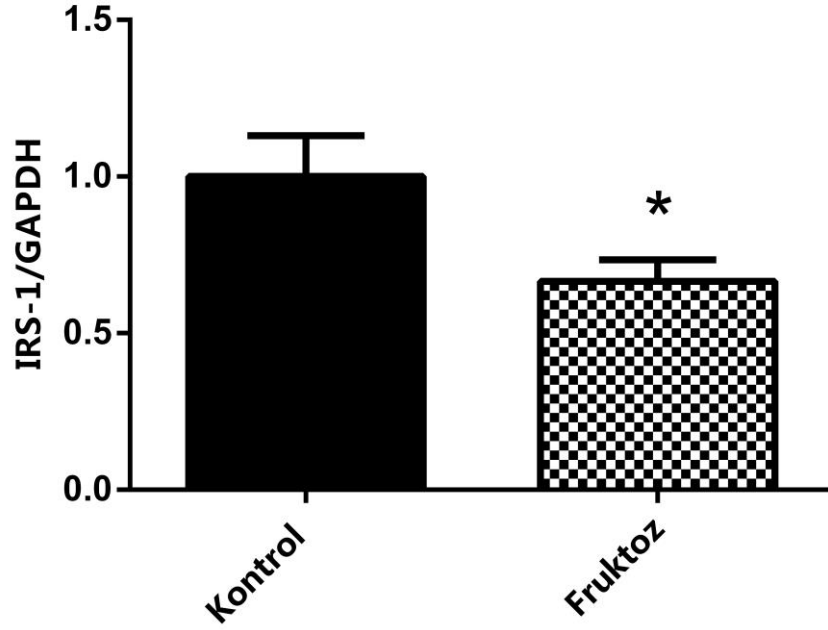
Fruktoz tüketimi karaciğer dokusunda IR mRNA miktarlarını kontrole göre anlamlı ölçüde değiştirmemiştir. Gruplara ait veriler Şekil 4.12’de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen IR mRNA ekspresyonu. IR mRNA yoğunluğu GAPDH’e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.

4.5.2. Sıçanların karaciğer dokularında IRS-1 mRNA miktarları

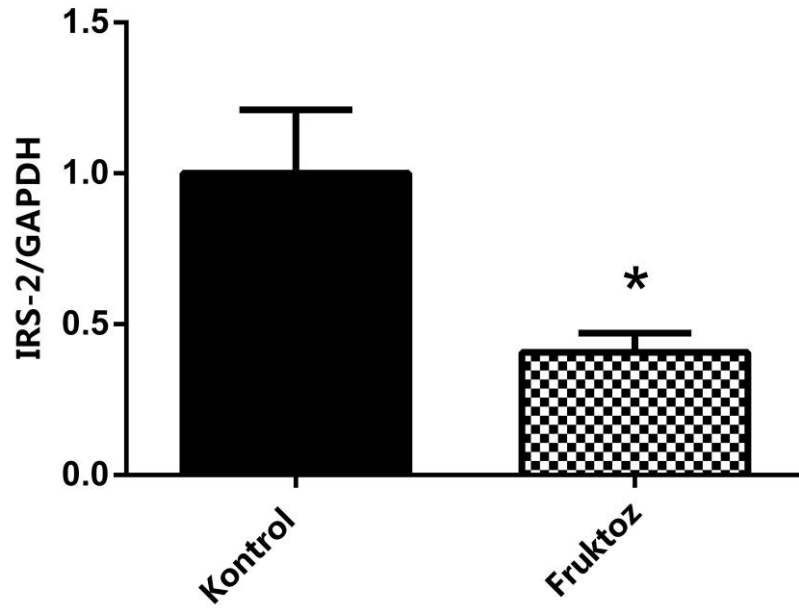
Fruktoz tüketimi karaciğer dokusunda IRS-1 mRNA miktarlarını anlamlı düzeyde azaltmıştır. Gruplara ait veriler Şekil 4.13’de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen IRS-1 mRNA ekspresyonu. IRS-1 mRNA yoğunluğu GAPDH’e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.5.3. Sıçanların karaciğer dokularında IRS-2 mRNA miktarları

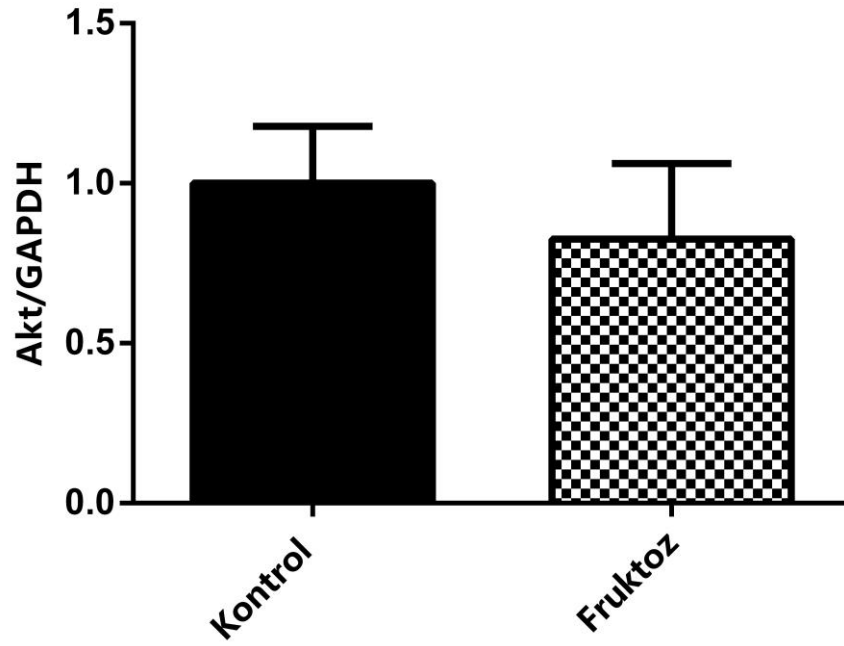
Fruktoz tüketimi karaciğer dokusunda IRS-2 mRNA miktarlarını anlamlı düzeyde azaltmıştır. Gruplara ait veriler Şekil 4.14’de gösterilmiştir.



Şekil 4.14. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen IRS-2 mRNA ekspresyonu. IRS-2 mRNA yoğunluğu GAPDH’e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.5.4. Sıçanların karaciğer dokularında Akt mRNA miktarları

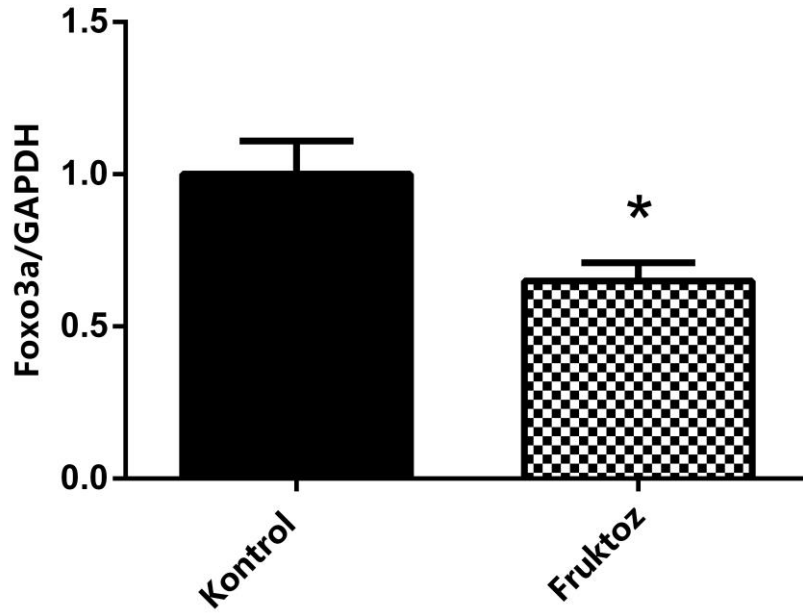
Fruktoz tüketimi karaciğer dokusunda Akt mRNA miktarlarını kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde değiştirmemiştir. Gruplara ait veriler Şekil 4.15’de gösterilmiştir.



Şekil 4.15. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen Akt mRNA ekspresyonu. Akt mRNA yoğunluğu GAPDH’e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.

4.5.5. Sıçanların karaciğer dokularında FoxO3a mRNA miktarları

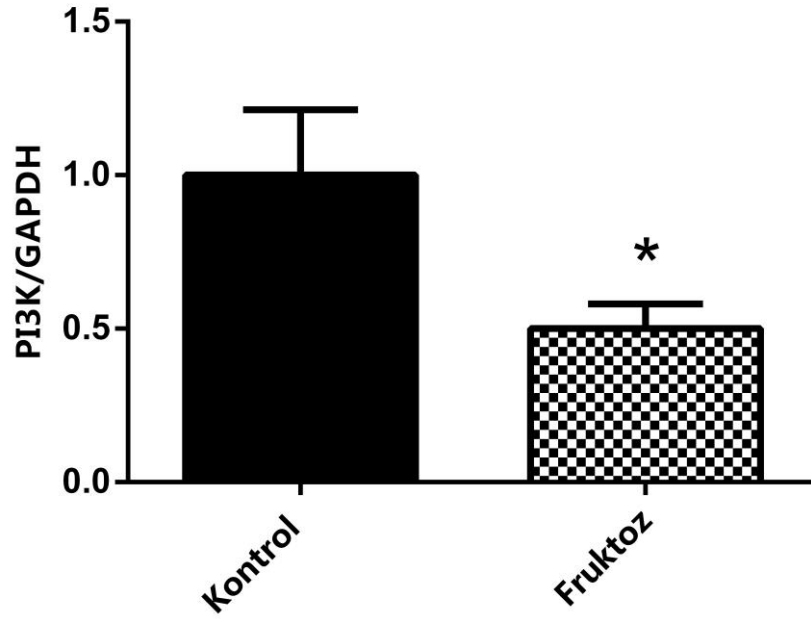
Fruktoz tüketimi karaciğer dokusunda FoxO3a mRNA miktarlarını anlamlı düzeyde azaltmıştır. Gruplara ait veriler Şekil 4.17’de gösterilmiştir.



Şekil 4.16. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen FoxO3a mRNA ekspresyonu. FoxO3a mRNA yoğunluğu GAPDH’e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.5.6. Sıçanların karaciğer dokularında PI3K mRNA miktarları

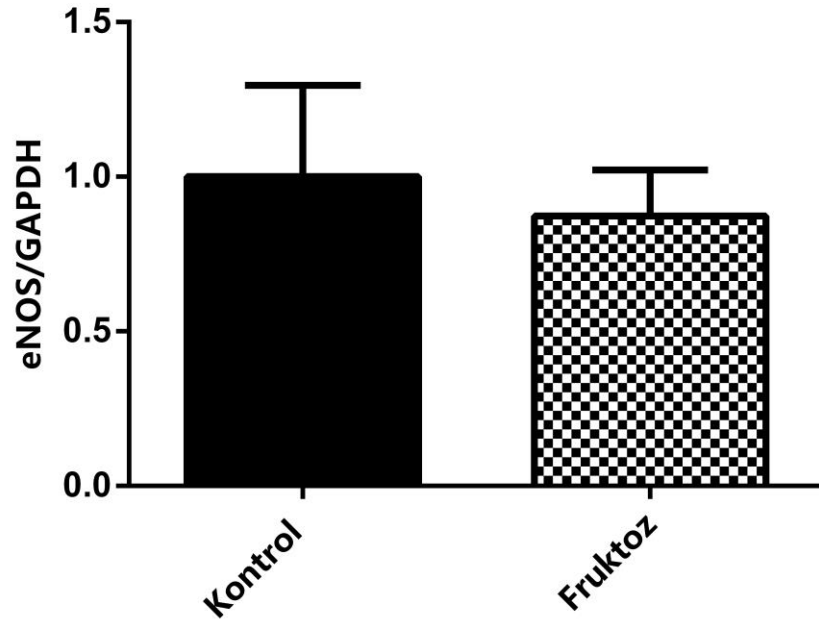
Fruktoz tüketimi karaciğer dokusunda PI3K mRNA miktarlarını anlamlı düzeyde azaltmıştır. Gruplara ait veriler Şekil 4.17’de gösterilmiştir.



Şekil 4.17. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen PI3K mRNA ekspresyonu. PI3K mRNA yoğunluğu GAPDH’e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir. * $p < 0.05$ kontrole göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.5.7. Sıçanların karaciğer dokularında eNOS mRNA miktarları

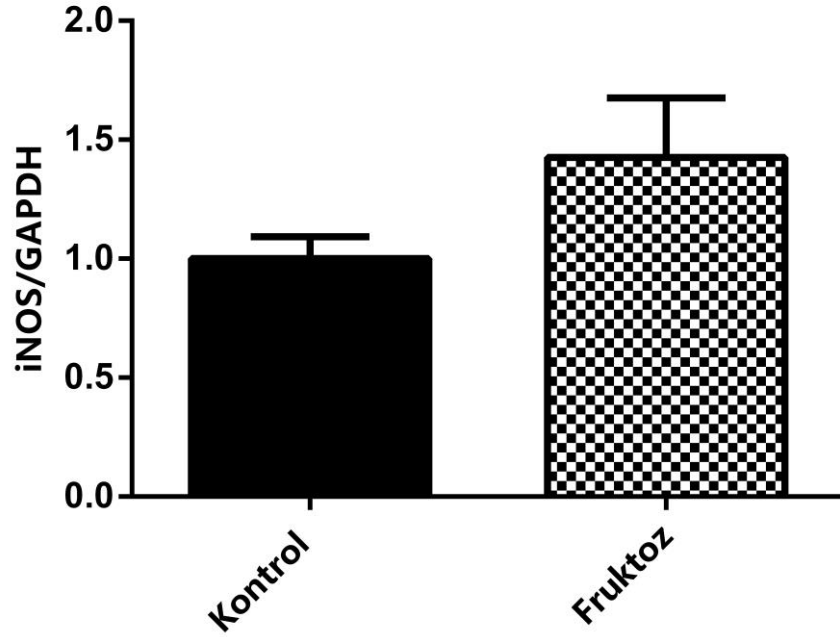
Fruktoz tüketimi karaciğer dokusunda eNOS mRNA miktarlarını anlamlı ölçüde değiştirmemiştir. Gruplara ait veriler Şekil 4.18’de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. Real Time-PCR yönmi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen eNOS mRNA ekspresyonu. eNOS mRNA yoğunluğu GAPDH’e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.

4.5.8. Sıçanların karaciğer dokularında iNOS mRNA miktarları

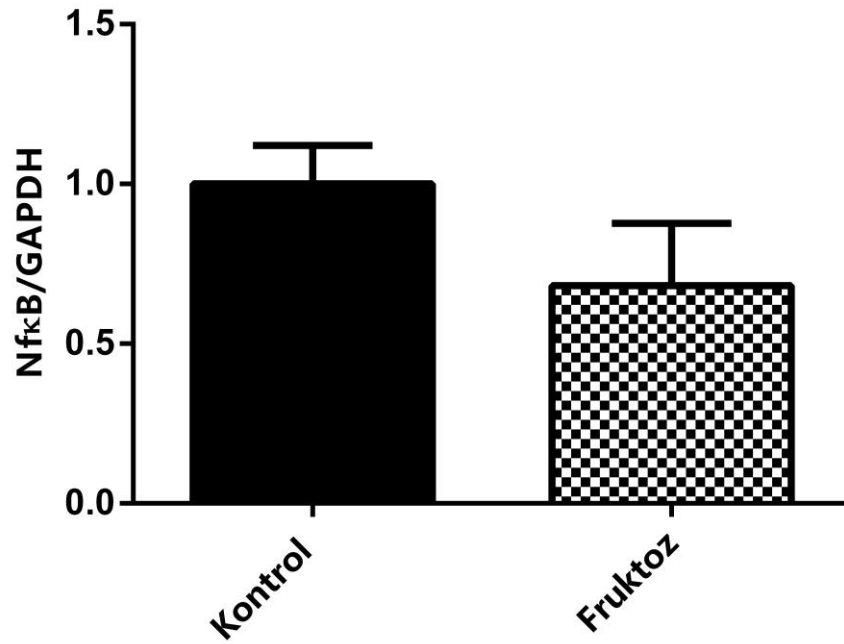
Fruktoz tüketimi karaciğer dokusunda iNOS mRNA miktarlarını anlamlı ölçüde değiştirmemiştir. Gruplara ait veriler Şekil 4.19’de gösterilmiştir.



Şekil 4.19. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen iNOS mRNA ekspresyonu. iNOS mRNA yoğunluğu GAPDH’e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.

4.5.9. Sıçanların karaciğer dokularında NfκB mRNA miktarları

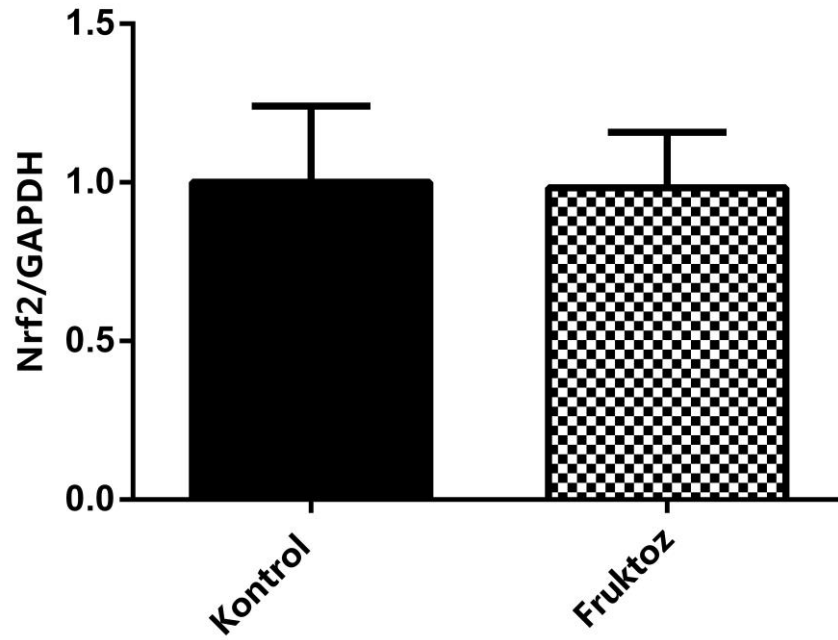
Fruktoz tüketimi karaciğer dokusunda NfκB mRNA miktarlarını anlamlı ölçüde değiştirmemiştir. Gruplara ait veriler Şekil 4.20’de gösterilmiştir.



Şekil 4.20. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen NfκB mRNA ekspresyonu. NfκB mRNA yoğunluğu GAPDH’e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama ± ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.

4.5.10. Sıçanların karaciğer dokularında Nrf2 mRNA miktarları

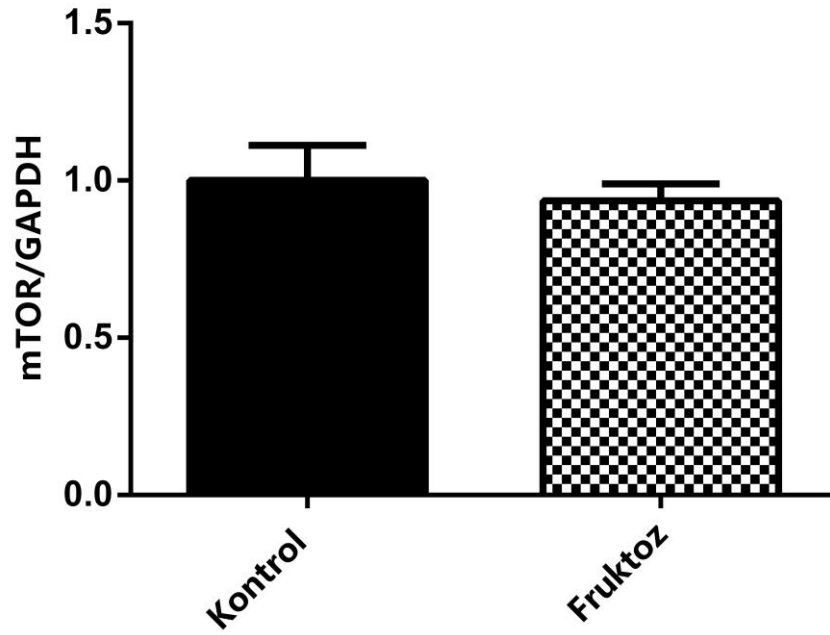
Fruktoz tüketimi karaciğer dokusunda Nrf2 mRNA miktarlarını anlamlı ölçüde değiştirmemiştir. Gruplara ait veriler Şekil 4.21’de gösterilmiştir.



Şekil 4.21. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen Nrf2 mRNA ekspresyonu. Nrf2 mRNA yoğunluğu GAPDH’e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.

4.5.11. Sıçanların karaciğer dokularında mTOR mRNA miktarları

Fruktoz tüketimi karaciğer dokusunda mTOR mRNA miktarlarını anlamlı ölçüde değiştirmemiştir. Gruplara ait veriler Şekil 4.22’de gösterilmiştir.



Şekil 4.22. Real Time-PCR yöntemi ile sıçanların karaciğer doku örneklerinde ölçülen mTOR mRNA ekspresyonu. mTOR mRNA yoğunluğu GAPDH’e göre oranlandı. Her bar en az 5 sıçandan alınan karaciğer doku örneklerini göstermektedir. Değerler ortalama ± ortalamaların standart hatası olarak ifade edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Metabolik sendrom, abdominal obezite, dislipidemi, hipertansiyon ve hiperglisemi gibi kardiyovasküler hastalıkların birer bileşen olduğu komplike bir durumdur. Metabolik sendrom insidansı küresel olarak artmakta, bu durum metabolik sendromun prevalansında artışa yol açmaktadır [89]. Metabolik sendrom insidansı sıklıkla obezite ve tip 2 diyabet insidansı ile paralellik göstermektedir. 2017'de yayınlanan CDC verilerine göre, 18 yaş ve üstü yaklaşık 30.2 milyon yetişkin veya ABD yetişkinlerinin % 12.2'sinin tip 2 diyabete sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu kişilerin dörtte birinin (% 23,8) diyabet hastası olduğunun farkında olmadığı görülmüştür. Prediyabet veya metabolik sendrom prevalansının yaklaşık üç kat daha fazla olduğu bilinmektedir. Sonuç olarak, ABD yetişkinlerinin yaklaşık üçte birinde metabolik sendrom görüldüğü tahmin edilmektedir [109].

Metabolik sendrom gelişimine katkıda bulunan faktörler arasında yüksek karbonhidrat ve yüksek yağ diyetinin yanı sıra hareketsiz yaşam tarzı bulunmaktadır [89]. Yapılan araştırmaların çoğu fruktozdan zengin diyetin, metabolik sendrom, obezite ve diyabet riskini artırdığını ileri sürmektedir [8,110]. Amerikan diyetinde uygun düşük maliyetli bir tatlandırıcı olarak kullanılan yüksek fruktozlu mısır şurubu kullanımı da giderek artmaktadır. 1970'den 1990'a kadar, tüketimi % 1000'den fazla artmış ve şu anda eklenen tüm kalorili tatlandırıcıların % 40'ını oluşturduğu bilinmektedir [111]. Laboratuvarımızda yapılan bir çok çalışmada fruktoz tüketiminin metabolik sendrom faktörlerinden olan insülin direncini artırdığı, glukoz toleransını bozduğu, hiperinsülinemi, hipertrigliseridemi ve hipertansiyona neden olduğu gösterilmiştir [8, 9, 10, 11, 12]. Fruktoz tüketimindeki artışın, obezite insidansı ile yakından ilgili olduğu da öne sürülmektedir [89]. Yüksek fruktoz diyetinin, kemirgenlerde karaciğer, kas ve damar sistemi gibi insüline duyarlı organlarda insülin sinyallerinin baskılanması yoluyla insülin direncine yol açtığı bilinmektedir [94-96]. Biz çalışmamızda, hazır gıdaların içeriğinde yaklaşık oranlarda bulunabilecek %15'lik derişimde fruktozu içme suyu içerisinde ratlara verilerek früktozun biyokimyasal parametreler ile karaciğer insülin sinyal yolağı üzerine uzun dönem etkisini araştırmayı hedefledik. Bu amaçla, karaciğer homojenatlarında, Reel-Time PCR yöntemiyle IR, IRS-1, IRS-2, Akt, FoxO3a, PI3K, ve mTOR mRNA gen ekspresyonlarını inceledik.

Daha önce yapılan çalışmalarda, uzun süreli fruktoz uygulamasının vücut ağırlığına etkisi deneysel olarak incelenmiştir. %10 ve %20'lik fruktoz çözeltileri kontrol ile karşılaştırıldığında vücut ağırlıklarında, kalori alımında, kan glukoz ve insülin seviyelerinde artışa neden olmuştur [61]. Erkek Wistar ratlarda düşük doz (%7) fruktoz tüketiminin 3 ay süreyle etkilerinin incelendiği bir çalışmada, fruktoz grubunun su tüketimi ve kalori alımının anlamlı düzeyde arttığı, yem tüketiminin ise düştüğü gösterilmiştir [112]. Sprague dawley cinsi sıçanlara içme suyu içerisinde %10 fruktozun verildiği bir çalışmada 2. ayın sonunda fruktoz grubunun yem tüketimi azalmış, sıvı tüketimi ve kalori alımı artmıştır [113]. Baena ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 8 hafta boyunca içme suyu içerisinde %10 fruktoz tüketen sıçanların sıvı tüketiminin kontrole göre daha fazla olduğu, yem tüketiminin ise daha az olduğu gösterilmiştir. Sıçanların kalori alımları karşılaştırıldığında fruktoz grubunun yem tüketimindeki azalmanın, su ile daha fazla kalori olarak ağırlık artışının önüne geçemediği tespit edilmiştir [114]. 3 hafta boyunca içme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen bir çalışmada, fruktoz alan hayvanların sıvı tüketiminin daha fazla olduğu, yem tüketiminin ise kontrole göre daha az olduğu gösterilmiştir [115]. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak uzun dönem fruktoz alımının sıvı tüketimini artırdığı, yem tüketimini ise azalttığı görülmüştür. Ancak hayvanların kalori alımının ve ağırlıklarının değişmediği tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda 8 hafta boyunca %10 ve %20 fruktoz tüketiminin vücut ve karaciğer ağırlıklarını anlamlı düzeyde artırdığı bulunmuştur [114,116].

28 hafta gibi uzun sürede fruktoz alımının karaciğer üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada gün boyu fruktoza ulaşabilen sıçanların karaciğer ağırlıklarının ve karaciğer lipid akümülyasyonunun anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir. Uzun dönem fruktoz tüketiminin etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada vücut ağırlıklarının arttığı gösterilmiştir [117]. Bizim çalışmamız ile paralel olarak dişi Sprague-dawley cinsi sıçanların vücut ağırlıklarının fruktoz tüketimi sonucu değişiklik göstermediği tespit edilmiştir [118]. Elde ettiğimiz verilere göre sıçan karaciğer ağırlıklarının şekil 4.11'de gösterildiği üzere fruktoz grubunda anlamlı düzeyde arttığını tespit ettik. Bu sonuçlar, karaciğerde trigliserid sentezinin artmasıyla, glikolizin uyarılmasıyla [116] ve fruktozun metabolizmasıyla ortaya çıkan yağ asitlerinin apoprotein B aracılığı ile VLDL'ye dönüşmesi [119] ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Baena ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Sprague dawley cinsi sıçanların biyokimyasal parametrelerine bakılmış ve 2 aylık fruktoz tüketimiyle total kolesterol düzeyinin değişmediği ancak plazma trigliserid düzeyleri ile plazma insülin düzeylerinin arttığı görülmüştür [113]. Yapılan bir çalışmada yüksek fruktoz tüketimi serum glukoz ve insülin düzeylerini arttırarak, fruktozun insülin duyarlılığında azalmaya neden olduğunu düşündürmüştür. Fruktozun lipid profili üzerindeki etkisine bakıldığında, total kolesterol, trigliserid ve LDL düzeylerini anlamlı derecede arttırdığı ve HDL düzeylerini düşürdüğü görülmüştür [116]. Erkek wistar sıçanlar ile yapılan başka bir çalışmada 6 hafta boyunca içme suyu içerisinde % 25 fruktoz tüketiminin plazma trigliserid düzeylerini anlamlı derecede artırdığı, total kolesterol ve plazma glukoz düzeylerini değiştirmedığı görülmüştür [120]. Baena ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, %10 fruktoz tüketiminin 8 hafta sonunda sıçanların total kolesterol düzeylerinin değişmediği ancak hipertrigliseridemi tablosu sergiledikleri görülmüştür [114]. Castro ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, fruktoz tüketen grubun serum trigliserid seviyeleri ile serum insülin ve glukoz düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı gösterilmiştir. Deney sonunda, yüksek HOMA-IR ve IGR ile düşük HIS değerleri kaydedilmiştir [115]. Laboratuvarımızda yapılan çalışmaların bazılarında früktozun plazma insülin seviyelerini artırdığı tespit edilmiştir [11,8,10]. Daha önce yapılan bazı çalışmalarla uyumlu olarak bizim çalışmamızda plazma glukoz ve insülin seviyeleri fruktoz tüketimiyle artış göstermiştir. Bu durum hem periferik dokuların hem de karaciğerin düşük insülin duyarlılığı (insülin direnci) sergilediğini göstermektedir. Laboratuvarımızda yapılan diğer çalışmalarda da yüksek früktozun plazma trigliserid, VLDL ve total kolesterol düzeylerini artırdığı HDL değerini değiştirmedığı gösterilmiştir [11]. Çalışmamızda sıçanların fruktoz tüketimiyle plazma trigliserid, LDL, VLDL ve total kolesterol düzeylerinin anlamlı derecede artırdığını, HDL düzeyinin ise değiştirmedığını tespit ettik. Elde ettiğimiz sonuçlar yüksek fruktoz tüketiminin plazma lipid profilini olumsuz yönde etkileyerek metabolik sendroma zemin hazırladığını göstermektedir.

Dokuların çoğunun, artan kan glukoz seviyesini azaltmak için PI3K / Akt aracılı sinyal yolağını içerdiği bilinmektedir. Bu sinyalleme yolunda, Akt, PI3K'nın aşağı akış yönünde yer almakta, karaciğerde glikoz alımını ve glikojen sentezini kolaylaştırmakta ve doğrudan insülin sinyallesininin metabolik etkileri için anahtar moleküler aracı olan glikojen sentaz aktivitesine katkıda bulunmaktadır. Hu ve arkadaşlarının yaptığı çalışma, yüksek fruktoz

konsantrasyonlarına maruziyetin Akt/PI3K yolağını inhibe ederek insülin direnci oluşturduğunu göstermiştir. Aynı çalışmada IR ekspresyonu değişmezken IRS-1 ve GLUT-4 protein ekspresyonlarının düştüğü gösterilmiştir [116]. Başka bir çalışmada ise karaciğer insülin direncine neden olduğunu düşündüğümüz IRS-2 seviyeleri fruktoz tüketimiyle azalmıştır [113]. Castro ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, IRS-1 ve IRS-2 protein seviyelerinin fruktoz tüketimiyle düştüğü gösterilmiştir [115]. Fruktoz beslemesinin (5 hafta boyunca), sıçan karaciğerinde azalmış IRS-1, IRS-2 ve endotelial NOS (eNOS) protein ekspresyonları yoluyla insülin sinyalini inhibe ettiği gösterilmiştir [97-98]. FoxO3a gibi transkripsiyon faktörlerini düzenleyerek glukoz ve yağ homeostazının endokrin sinyalini modüle eden sirtuin 1 (SIRT 1) in ve FoxO3a nın fruktoz ile değişiminin araştırıldığı bir çalışmada SIRT 1 düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmazken, FoxO3a düzeylerinde anlamlı düşüş tespit edilmiştir [121]. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar, daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak IRS-1 ve IRS-2 ile FoxO3a mRNA ekspresyonlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığını ve fruktoz tüketiminin Akt/PI3K yolağını inhibe ettiği yönündedir. 8 haftalık %10 fruktoz tüketiminin karaciğerde mTOR fosforilasyonunu anlamlı derecede artırdığının gösterildiği bir çalışmaya [114] kıyasla bizim çalışmamızda mTOR gen ekspresyonlarının değişmediği görülmektedir. eNOS düzeylerinin yaptığımız çalışmada anlamlı olmamak kaydıyla azalması, fruktoz konsantrasyonu ve verilme süresindeki farklılıklara bağlı olabilir.

Nrf2'yi içeren antioksidan sistem canlı organizmalarda oksidatif stres için çok önemlidir. Nrf2 antioksidan savunma sisteminin modülasyonunda yakından rol oynamakta ve sayısız antioksidan / detoksifiye edici enzimin ekspresyonunda merkezi görev almaktadır. Yapılan bir çalışmada hücre çekirdeğindeki Nrf2'nin 8 hafta boyunca diyetle %20 fruktoz alan grupta anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir [116]. Bizim çalışmamız, Nrf2 gen ekspresyonlarının değişmediğini göstermiştir.

Yüksek fruktoz içeren diyetin sıçanlarda hepatik trigliserit birikiminin eşlik ettiği hiperinsülinemiye neden olduğu gösterilmiştir [80]. Hepatik trigliserit birikiminin, fruktoz beslenmesinde kemirgenlerin karaciğerinde indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve NF- κ B indüksiyonu ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir [91]. Yaptığımız çalışmada fruktoz tüketimine bağlı iNOS mRNA artışlarının Spruss ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumlu olduğu gözükmemektedir [122].

Yüksek fruktozun metabolik sendroma neden olduğunu bir kez daha ortaya koymak ve metabolik sendromun bileşenlerinden insülin direncini nasıl tetiklediğini aydınlatmak üzere yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz verilerin bir çoğu literatür ile uyumlu görünmektedir. Ortaya çıkan farklılıklar bize bu durumun hayvan cinsleriyle, beslenme süreleriyle veya fruktoz konsantrasyonlarıyla ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hızla yayılmakta olan metabolik sendroma fruktozun karaciğer üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmamızda, yüksek fruktoz tüketiminin, biyokimyasal parametreleri olumsuz yönde etkileyerek ve karaciğer insülin sinyal yolağını bozarak insülin direncini tetiklediğini ve böylece metabolik sendroma zemin hazırladığını tespit ettik.

Yaptığımız mRNA düzeyindeki incelemeler ile fruktozun insülin sinyal yolağı üzerine etkisini kısmen aydınlatmaya çalışmış olsak da, metabolik sendromun karaciğerde en önemli basamaklarından biri olan bu yolağın daha çok araştırılması, metabolik sendroma neden olan mekanizmaların belirlenmesi, karaciğerdeki bozuklukların önlenmesi ve tedavi protokollerinin belirlenmesi açısından önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ansarimoghaddam, A., Adineh, H.A., Iraj, Z., Sohrab, I., Ali, H. (2017). Prevalence of metabolic syndrome in Middle-East countries: Meta-analysis of cross-sectional studies. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 12 (2), 195-201.
2. Huang, Y. and Liu, X. (2014). Leisure-time physical activity and the risk of metabolic syndrome: meta-analysis. *European Journal of Medical Research*, 19 (1), 22.
3. Lakka, T.A., Laaksonen, D.E., Lakka, H-M, Männikkö, N., Niskanen, L.K., Rauramaa, R., Salonen, J.T. (2003). Sedentary lifestyle, poor cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35 (8):1279–86.
4. Vos, M.B., Kimmons, J.E., Gillespie, C., Welsh, J., Michels Blanck, H. (2008). Dietary fructose consumption among US children and adults; The Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Medscape Journal of Medicine*, 10, 160.
5. Cozma, A.I. and Sievenpiper, J.L. (2014). The Role of Fructose, Sucrose and High-fructose Corn Syrup in. *Diabetes and Nutrition*, 10 (1):51-60.
6. Nithya, S., Deepika, A., Rehman, A., Abineeshwar G. (2019). Potential metabolic effects with use of high-fructose corn syrup in foodstuffs: A review. *Drug Invention Today*, Vol.11, Issue 1, 156-159.
7. Tappy, L. and Le, K.A. (2010). Metabolic Effects of Fructose and the Worldwide Increase in Obesity. *Physiological Reviews*, 90, 23–46.
8. Pektaş, M.B., Yücel, G., Koca, H.B., Sadi, G., Yıldırım, O.G., Öztürk, G. and Akar, F. (2017). Dietary fructose induced hepatic injury in male and female rats: influence of resveratrol. *Drug Research*, 67 (02),103-110.
9. Sadi, G., Ergin, V., Yilmaz, G., Pektaş, M. B., Yıldırım, O. G., Menevse, A. and Akar, F. (2014). High-fructose corn syrup-induced hepatic dysfunction in rats: improving effect of resveratrol. *European Journal of Nutrition*, 54 (6), 895–904.
10. Pektaş, M.B., Koca, H.B., Sadi, G. and Akar, F. (2016). Dietary Fructose Activates Insulin Signaling and Inflammation in Adipose Tissue: Modulatory Role of Resveratrol. *BioMed Research International*, 1-10.
11. Pektaş, M.B., Sadi, G. And Akar, F. (2015). Long-term dietary fructose causes gender different metabolic and vascular dysfunction in rats: modulatory effects of resveratrol. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 37: 1407–1420.

12. Babacanoglu, C., Yildirim, N., Sadi, G., Pektas, M. B., Akar, F. (2013). Resveratrol prevents high fructose corn syrup-induced vascular insulin resistance and dysfunction in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 60: 160–167.
13. Castro, E.F.S., Mostarda, C.T., Rodrigues, B., Moraes-Silva, I.C., Feriani, D.J., De Angelis, K. and Irigoyen, M.C. (2015). Exercise training prevents increased intraocular pressure and sympathetic vascular modulation in an experimental model of metabolic syndrome. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 48 (4), 332-338.
14. Ebel, B., Lemetais, G., Beney, L., Cachon, R., Sokol, H., Langella, P., and Gervais, P. (2014). Impact of Probiotics on Risk Factors for Cardiovascular Diseases. A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54,175–189.
15. International Diabetes Federation (IDF). (2011). Diabetes Atlas (5th edition), Online version of IDF Diabetes Atlas: www.idf.org/diabetesatlas, ISBN: 2-930229-80-2, 11-13.
16. Dinççağ N. (2011). Diabetes mellitus tanı ve tedavisinde güncel durum. *İç Hastalıkları Dergisi*, 18: 181-223.
17. American Diabetes Association (ADA), (2014). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 37 (1), 581-90.
18. International Diabetes Federation (IDF). (2003). Diabetes Atlas (2nd edition). Online version of IDF Diabetes Atlas: www.idf.org/diabetesatlas, ISBN 2-930229-27-6, 11-111.
19. Türkiye Diyabet Vakfı, (2018). Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi (8. Baskı), www.turkdiab.org.tr, ISBN 978-975-98038-2-7
20. American Diabetes Association (ADA), (2015). *Diabetes Care*, 38 (1), S8– S16.
21. Pozzilli, P., Guglielmi, C., Caprio, S., and Buzzetti, R. (2011). Obesity, Autoimmunity and Double Diabetes in Youth. *Diabetes Care*, 34 (Supplement_2), S166–S170.
22. American Diabetes Association (ADA), (2017). *Diabetes Care*, 40 (1), S11– S25.
23. Scheen A.J. (2003). Pathophysiology of type 2 diabetes. *Acta Clinica Belgica*, 58 (6),335-41.
24. Uygur, M.M., Gogaş Yavuz, D. (2017). Diyabet Tanısı ve Sınıflandırılması. *Türkiye Klinikleri Nutrition and Dietetics-Special Topics*, 3 (3):120-9
25. Fajans, S.S., Cohn, J.W. (1960). Tolbutamide-induced improvement in carbohydrate tolerance of young people with mild diabetes mellitus. *Diabetes*, 9: 83.

26. Stumvoll, M., Goldstein, B. J., and van Haeften, T. W. (2005). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet*, 365 (9467), 1333–1346.
27. Dodson G., Steiner D. (1998). The role of assembly in insulin's biosynthesis. *Current Opinion in Structural Biology*, 8, 189-94.
28. Saltiel, A.R., Kahn, C.R. (2001). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* volume, 414, 799-805.
29. Klip, A., Paquet, M. R. (1990). Glucose transport and glucose transporters in muscle and their metabolic regulation. *Diabetes Care*, 13, 228–243
30. Brüning, J. C., Michael, M. D., Winnay, J. N., Hayashi, T., Hörsch, D., Accili, D., Goodyear, L.J., Kahn, C. R. (1998). A Muscle-Specific Insulin Receptor Knockout Exhibits Features of the Metabolic Syndrome of NIDDM without Altering Glucose Tolerance. *Molecular Cell*, 2 (5), 559–569.
31. Abel, E. D., Peroni, O., Kim, J.K., Kim, Y.B., Boss, O., Hadro, E., Minnemann, T., Shulman, G.I., Kahn, B.B. (2001). Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. *Nature*, 409, 729–733.
32. Marks, J.S. and Botelho, L.H.P. (1986). Synergistic Inhibition of Glucagon-induced Effects on Hepatic Glucose Metabolism in the Presence of Insulin and a cAMP Antagonist. *The Journal of Biological Chemistry*, 261 (34), 15895-99.
33. Matthews, D.R., Hosker, J.P., and Rudenski, A.S. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28 (7), 412– 19.
34. Elia, M., Folmer, P., Schlatmann, A., Goren, A., and Austin, S., (1988). Carbohydrate, fat, and protein metabolism in muscle and in the whole body after mixed meal ingestion. *Metabolism*, 37 (69), 542-51.
35. Fisher, S.J. and Kahn, C.R. (2003). Insulin signaling is required for insulin's direct and indirect action on hepatic glucose production. *The Journal of Clinical Investigation*, 111 (4) 463-68.
36. Mittelman, S.D. and Bergman, R.N. (2000). Inhibition of lipolysis causes suppression of endogenous glucose production independent of changes in insulin. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 279, 630– 37.
37. Kido, Y., Nakae, J., Accili, D., (2001). The insulin receptor and its cellular targets. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86 (3), 972-9.

38. Skorokhod, A., Gamulin, V., Gundacker, D., Kavsan, V., Muller, I.M. and Muller, W. E. G. (1999). Origin of insulin receptor-like tyrosine kinases in marine sponges. *The Biological Bulletin*, 197,198–206.
39. Kido, Y., Burks, D. J., Withers, D., Bruning, J. C., Kahn, C. R., White, M. F. and Accili, D. (2000). Tissue-specific insulin resistance in mice with mutations in the insulin receptor, IRS-1, and IRS-2. *The Journal of Clinical Investigation*, 105, 199–205.
40. Kaburagi, Y., Yamauchi, T., Yamamoto-Honda, R., Ueki, K., Tobe, K., Akanuma, Y., Yazaki, Y., Kadowaki, T. (1999). The Mechanism of Insulin-induced Signal Transduction Mediated by the Insulin Receptor Substrate Family. *Endocrine Journal*, 46 (Supplement), S25–S34.
41. Sesti, G., Federici, M., Hribal, M. L., Lauro, D., Sbraccia, P., and Lauro, R. (2001). Defects of the insulin receptor substrate (IRS) system in human metabolic disorders. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 15 (12), 2099–2111.
42. Tamemoto, H., Dale, A.E., Peroni, O., Kim, J. K., Kim, Y. B., Boss, O., Hadro, E., Minnemann, T., Shulman, G. I., Kahn, B. B. (1994). Insulin resistance and growth retardation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *Nature*, 372:182-186.
43. Withers, D. J., Gutierrez, J. S., Towery, H., Burks, D. J., Ren, J.-M., Previs, S., White, M. F. (1998). Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature*, 391:900-904.
44. Fantin, V. R., Wang, Q., Lienhard, G. E. and Keller, S. R. (2000). Mice lacking insulin receptor substrate 4 exhibit mild defects in growth, reproduction, and glucose homeostasis. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism*, 278, E127–E133.
45. Rojek, A., Niedziela, M. (2010). Insulin receptor and its relationship with different forms of insulin resistance. *Advances In Cell Biology*, 2 (2), 59 –90.
46. Shapiro, P. (2002). Ras-MAP kinase signaling pathways and control of cell proliferation: relevance to cancer therapy. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 39 (4-5):285-330.
47. Myers, Jr.M.G., Wang, L.M., Sun, X.J., Zhang,Y., Yenush, L., Schlessinger, J., Pierce, J.H. and White, M.F. (1994). Role of IRS-1-GRB-2 complexes in insulin signaling. *Molecular and Cellular Biology*, 14 (6), 3577– 87.
48. Koch, C.A., Anderson, D., Moran, M.F., Ellis, C., and Pawson, T. (1991). SH2 and SH3 domains: elements that control interactions of cytoplasmic signaling proteins. *Science Wash.* 252, 668-74.

49. Swiderska, E., Strycharz, J., Wróblewski, A., Szemraj, J., Drzewoski J. and Śliwińska, A. (2018). Role of PI3K/AKT Pathway in Insulin-Mediated Glucose Uptake. *Glucose Transport*, Intechopen, s. 3.
50. Lietzke, S. E., Bose, S., Cronin, T., Klarlund, J., Chawla, A., Czech, M. P., and Lambright, D. G. (2000). Structural basis of 3-phosphoinositide recognition by pleckstrin homology domains. *Molecular Cell*, 6 (2), 385–394.
51. Kessler, A., Uphues, I., Ouwers, D. M., Till, M. and Eckel, J. (2001). Diversification of cardiac insulin signaling involves the p85 alpha/beta subunits of phosphatidylinositol 3-kinase. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism*, 280, E65–E74.
52. Cross, D. A. E., Alessi, D. R., Vandenheede, J. R., McDowell, H. E., Hundal, H. S., and Cohen, P. (1994). The inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin or insulin-like growth factor 1 in the rat skeletal muscle cell line L6 is blocked by wortmannin, but not by rapamycin: evidence that wortmannin blocks activation of the mitogen-activated protein kinase pathway in L6 cells between Ras and Raf, *Biochemical Journal*, 303, 21–26.
53. Berber, B. (2017). Safran'ın parsiyel hepatektomi sonrası karaciğer rejenerasyonuna etkisinin PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağı üzerinden belirlenmesi. *Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*.
54. Faivre, S., Kroemer, G., Raymond, E. (2006). Current development of mTOR inhibitors as anticancer agents. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5:671-8.
55. Hay, N. (2005). The Akt-mTOR tango and its relevance to cancer. *Cancer Cell*, 8:179-3.
56. Figlin, R. A., Brown, E., Armstrong, A. J., Akerley, W., Benson, A. B., Burstein, H. J., Ettinger, D. S., Febbo, P. G., Fury, M. G., Hudes, G. R., Kies, M. S., Kwak, E. L., Morgan, R. J., Mortimer, J., Reckamp, K., Venook, A. P., Worden, F., Yen, Y. (2008). NCCN task force report: mTOR inhibition in solid tumors. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 6:1-20.
57. Thomas, G., Hall, M. N. (1997). TOR signaling and control of control of cell growth. *Current Opininn Cell Biology*, 9: 782-7.
58. Han, C., Wei, S., Song, Q., He, F., Xiong, X., Wan, H., Liu, D., Ye, F., Liu, H., Li, L., Xu, H., Du, X., Kang, B., Zeng, X. (2016) Insulin Stimulates Goose Liver Cell Growth by Activating PI3K-AKT mTOR Signal Pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 38:558-570.
59. Karger, S., Weidinger, C., Krause, K., Sheu, S.Y., Aigner, T., Gimm, O., Schmid, K.W., Dralle, H., Fuhrer, D. (2009). FoxO3a: a novel player in thyroid carcinogenesis?. *Endocrine Related Cancer*, 16: 189–199.

60. Kim, D.H., Lee, B., Lee, J., Kim, M.E., Lee, J.S., Chung, J.H., Yu, B.P., Dong, H.H., Chung, H.Y. (2019). FoxO6-mediated IL-1 β induces hepatic insulin resistance and age-related inflammation via the TF/PAR2 pathway in aging and diabetic mice. *Redox Biology*, 24:101184.
61. Barros, C.M.M.R., Lessa, R.Q., Grechi, M.P., Mouço, T.L.M., Souza, M.G.C., Wiernsperger, N. and Bouskela, E. (2007). Substitution Of Drinking Water By Fructose Solution Induces Hyperinsulinemia And Hyperglycemia In Hamsters. *Clinics*, 62 (3), 327-34.
62. Petersen, K.F., Shulman, G.I. (2002). Pathogenesis of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Cardiology*, 90 (5A), 11G-18G.
63. Suzuki, K. and Kono, T. (1980). Evidence that insulin causes translocation of glucose transport activity to the plasma membrane from an intracellular storage site. *Biochemistry*, 77 (5), 2542-45.
64. Lelliott, C., Vidal-Puig, A.J. (2004). Lipotoxicity, an imbalance between lipogenesis de novo and fatty acid oxidation. *International Journal of Obesity*, 28 (4), 22-8.
65. Roma, L.P., Pascal, S.M., Duprez, J., Jonas, J.C. (2012). Mitochondrial oxidative stress contributes differently to rat pancreatic islet cell apoptosis and insulin secretory defects after prolonged culture in a low non-stimulating glucose concentration. *Diabetologia*, 55 (8), 2226-37.
66. Cnop, M. (2008). Fatty acids and glucolipotoxicity in the pathogenesis of Type 2 diabetes. *Biochemical Society Transactions*, 36 (Pt 3), 348-52.
67. Hull R.L., Westermarck G.T., Westermarck P., Kahn S.E. (2004). Islet amyloid: a critical entity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89 (8), 3629-43.
68. Wellen, K. E. and Hotamisligil, G. S. (2003). Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*, 112 (12), 1785–1788.
69. Hotamisligil, G.S., Peraldi, P., Budavari, A., Ellis, R., White, M.F., Spiegelman, B.M. (1996). IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. *Science*, 271, 665– 8.
70. Chiu, S., Williams, P. T., Dawson, T., Bergman, R. N., Stefanovski, D., Watkins, S. M. and Krauss, R. M. (2014). Diets High in Protein or Saturated Fat Do Not Affect Insulin Sensitivity or Plasma Concentrations of Lipids and Lipoproteins in Overweight and Obese Adults. *The Journal of Nutrition*, 144 (11), 1753–1759.
71. Ferder, L., Ferder, M.D. and Inserra, F. (2010). The Role of High-Fructose Corn Syrup in Metabolic Syndrome and Hypertension. *Current Hypertension Reports*, 12, 105–112.

72. Rebollo, A., Roglans, N., Alegret, M., and Laguna, J. C. (2012). Way back for fructose and liver metabolism: bench side to molecular insights. *World Journal of Gastroenterology*, 18 (45), 6552.
73. Tran, L.T., Yuen, V.G. and McNeill, J.H. (2009). The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 332,145–159.
74. Havel, P.J. (2005). Dietary Fructose: Implications for Dysregulation of Energy Homeostasis and Lipid/Carbohydrate Metabolism. *Nutrition Reviews*, 63,133–157.
75. Reaven GM, (1988). Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37, 1595–607.
76. Verma, S., Bhanot, S. and McNeill, J.H. (1994). Antihypertensive effects of metformin in fructose-fed hyperinsulinemic, hypertensive rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 271 (3) 1334-1337.
77. Dai, S., McNeill, J.H. (1995). Fructose-induced hypertension in rats is concentration- and duration-dependent. *Journal of Pharmacology and Toxicology Methods*, 33:101–107
78. Sharabi, Y., Oron-Herman, M., Kamari, Y., Avni, I., Peleg, E., Shabtay, Z., Grossman, E. and Shamiss, A. (2007). Effect of PPAR- γ Agonist on Adiponectin Levels in the Metabolic Syndrome: Lessons From the High Fructose Fed Rat Model. *American Journal of Hypertension*, 20,206–210.
79. Stanhope, K.L., Schwarz, J.M., Keim, N.L., Griffen, S.C., Bremer, A.A., Graham, J.L., Hatcher, B., Cox, C.L., Dyachenko, A., Zhang, W., McGahan, J.P., Seibert, A., Krauss, R.M., Chiu, S., Schaefer, E.J., Ai, M., Otokozawa, S., Nakajima, K., Nakano, T., Beysen, C., Hellerstein, M.K., Berglund, L. and Havel, P.J. (2009). Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 119:1322–1334.
80. Ackerman, Z., Oron-Herman, M., Grozovski, M., Rosenthal, T., Pappo, O., Link, G. And Sela, B.-A. (2005). Fructose-induced fatty liver disease: hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction. *Hypertension*, 45: 1012–1018.
81. Bergheim, I., Weber, S., Vos, M., Kramer, S., Volynets, V., Kaserouni, S., McClain, C.J. and Bischoff, S.C. (2008). Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. *Journal of Hepatology*, 48: 983–992.
82. Spruss, A., Kanuri, G., Wagnerberger, S., Haub, S., Bischoff, S.C. and Bergheim, I. (2009). Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology*, 50: 1094–1104.

83. Nomura, K., Yamanouchi, T. (2012). The role of fructose-enriched diets in mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 23: 203–208.
84. Kanuri, G., Spruss, A., Wagnerberger, S., Bischoff, S. C., & Bergheim, I. (2011). Role of tumor necrosis factor α (TNF α) in the onset of fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 22 (6), 527–534.
85. Libuda, L., Alexy, U., Buyken, A. E., Sichert-Hellert, W., Stehle, P., & Kersting, M. (2008). Consumption of sugar-sweetened beverages and its association with nutrient intakes and diet quality in German children and adolescents. *British Journal of Nutrition*, 101 (10), 1549.
86. Dhingra, R., Sullivan, L., Jacques, P. F., Wang, T. J., Fox, C. S., Meigs, J. B., MD, MPH; Ralph B. D'Agostino, PhD; J. Michael Gaziano, MD, MPH; Ramachandran S. Vasan, R. S. (2007). Soft Drink Consumption and Risk of Developing Cardiometabolic Risk Factors and the Metabolic Syndrome in Middle-Aged Adults in the Community. *Circulation*, 116 (5), 480–488.
87. Guerra Ruiz, A., Casafont, F., Crespo, J., Cayón, A., Mayorga, M., Estebanez, A., Fernandez-Escalante, J.C. and Pons-Romero, F. (2007). Lipopolysaccharide-Binding Protein Plasma Levels and Liver TNF-Alpha Gene Expression in Obese Patients: Evidence for the Potential Role of Endotoxin in the Pathogenesis of Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Obesity Surgery*, 17 (10), 1374–1380.
88. Dekker, M.J., Su, Q., Baker, C., Rutledge, A.C. and Adeli, K. (2010). Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 299, E685–E694.
89. Mamikutty, N., Thent, Z.C., Sapri, S.R., Sahrudin, N.N., Yusof, M.R.M. and Suhaimi F.H. (2014). The Establishment of Metabolic Syndrome Model by Induction of Fructose Drinking Water in Male Wistar Rats. *BioMed Research International*, 1-8.
90. Bray, G.A., Nielsen, S.J. and Popkin, B.M. (2014). Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 537–43.
91. Bidwell, A.J. (2017). Chronic fructose ingestion as a major health concern: Is a sedentary life style making it worse? A review. *Nutrients*, 9, 549.
92. Ginsberg, H. N. (2000). Insulin resistance and cardiovascular disease. *Journal of Clinical Investigation*, 106 (4), 453–458.
93. Verma, S., Yao, L., Dumont, A. and McNeill, J. (2000). Metformin treatment corrects vascular insulin resistance in hypertension. *Journal of Hypertension*. 18 (10):1445–1450.

94. Fritsche, L., Weigert, C., Häring, H. U., Lehmann, R. (2008). How insulin receptor substrate proteins regulate the metabolic capacity of the liver – implications for health and disease, *Current Medicinal Chemistry*, 15, 1316-1329.
95. Bakker, W., Eringa, E. C., Sipkema, P., van Hinsbergh, V. W. (2009). Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity", *Cell and Tissue Research*, 335, 165–189.
96. Carvalho-Filho, M. A., Ueno, M., Hirabara, S. M., Seabra, A. B., Carvalheira, J. B., de Oliveira, M. G. (2005). S-nitrosation of the insulin receptor, insulin receptor substrate 1, and protein kinase B/Akt: a novel mechanism of insulin resistance, *Diabetes*, 54, 959–967.
97. Ueno, M., Carvalheira, J. B., Tambascia, R. C., Bezerra, R. M., Amaral, M. E., Carneiro, E. M. (2005). Regulation of insulin signalling by hyperinsulinaemia: role of IRS-1/2 serine phosphorylation and the mTOR/p70 S6K pathway, *Diabetologia*, 48, 506–518.
98. Zhao, C. X., Xu, X., Cui, Y., Wang, P., Wei, X., Yang, S., Edin, M. L., Zeldin, D. C., Wang, D. W. (2009). Increased endothelial nitric-oxide synthase expression reduces hypertension and hyperinsulinemia in fructose-treated rats, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 328, 610–620.
99. Xu, X., Zhao, C. X., Wang, L., Tu, L., Fang, X., Zheng, C., Edin, M.L., Zeldin, D.C., Wang, D. W. (2010). Increased CYP2J3 expression reduces insulin resistance in fructose-treated rats and db/db mice. *Diabetes*, 59: 997–1005.
100. Sun, R-Q., Wang, H., Zeng, X-Y., Chan, S.M.H., Li, S-P., Jo, E., Leung, S-L., Molero, J.C., Ye, J-M. (2014). IRE1 impairs insulin signaling transduction of fructose-fed mice via JNK independent of excess lipid. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1852 (1), 156–165.
101. Veličković, N., Teofilović, A., Ilić, D., Djordjevic, A., Milutinović, D.V., Petrović, S., Preitner, F., Tappy, L., Matic, G (2018). Modulation of hepatic inflammation and energy-sensing pathways in the rat liver by high-fructose diet and chronic stress. *European Journal of Nutrition*.
102. Stanisic, L., Koricanac, G., Culafic, T., Romic, S., Stojiljkovic, M., Kostic, M., Pantelic, M., Tepavcevic, S. (2015). Low intensity exercise prevents disturbances in rat cardiac insulin signaling and endothelial nitric oxide synthase induced by high fructose diet. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 420, 97–104.
103. Akar, F., Uludag, O., Aydın, A., Aytakin, Y.A., Elbeg, S., Tuzcu, M., Sahin, K. (2012). High-fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: Protective effect of resveratrol. *Food and Chemical Toxicology*, 50 (6), 2135–2141.

104. Sangüesa, G., Shaligram, S., Akther, F., Roglans, N., Laguna, J.C., Rahimian, R., and Alegret, M. (2016). Type of supplemented simple sugar, not merely calorie intake, determines adverse effects on metabolism and aortic function in female rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 312 (2), H289–H304.
105. Wang, H., Sun, R-Q., Zeng, X-Y., Zhou, X., Li, S., Jo, E., Molero, J.C. and Ye, J-M. (2014). Restoration of Autophagy Alleviates Hepatic ER Stress and Impaired Insulin Signalling Transduction in High Fructose-Fed Male Mice. *Endocrinology*, 156 (1), 169–181.
106. Li, Y., Wang, J., Gu, T., Yamahara, J., Li, Y. (2014). Oleanolic acid supplement attenuates liquid fructose-induced adipose tissue insulin resistance through the insulin receptor substrate-1/phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 277, 155–163
107. Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., Gordon, J. I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest, *Nature*, 444, 1027–1031.
108. Cheng, P.-W., Lin, Y.-T., Ho, W.-Y., Lu, P.-J., Chen, H.-H., Lai, C.-C., Sun, G.-C., Yeh, T.-C., Hsiao, M., Tseng, C.-J., Liu, C.-P. (2017). Fructose induced neurogenic hypertension mediated by overactivation of p38 MAPK to impair insulin signaling transduction caused central insulin resistance. *Free Radical Biology and Medicine*, 112, 298–307.
109. Saklayen, M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current Hypertension Reports*, 20 (2).
110. Lim, J.S., Mietus-Snyder, M., Valente, A., Schwarz, J.M., Lustig, R.H. (2010) The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 7, 251–64.
111. Bocarsly, M.E., Powell, E.S., Avena, N.M., Hoebel, B.G. (2010). High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: Increased body weight, body fat and triglyceride levels. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 97, 101–106.
112. Miranda, C. A., Schönholzer, T. E., Klöppel, E., Sinzato, Y. K., Volpato, G. T., Damasceno, D. C., & Campos, K. E. (2019). Repercussions of low fructose-drinking water in male rats. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 91 (1).
113. Baena, M., Sangüesa, G., Dávalos, A., Latasa, Mj., Sala-Vila, A., Sánchez, Rm., Roglans, N., Laguna, Jc. and Alegret, M. (2016). Fructose, but not glucose, impairs insulin signaling in the three major insulin-sensitive tissues. *Scientific Reports*, 6: 26149.
114. Baena, M., Sangüesa, G., Hutter, N., Sánchez, R. M., Roglans, N., Laguna, J. C. and Alegret, M. (2015). Fructose supplementation impairs rat liver autophagy through

- mTORC activation without inducing endoplasmic reticulum stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1851 (2), 107–116.
115. Castro, M.C., Massa, M.L., Arbel'aez, L.G., Schinella, G., Gagliardino, J.J., Francini, F. (2015). Fructose-induced inflammation, insulin resistance and oxidative stress: A liver pathological triad effectively disrupted by lipoic acid. *Life Sciences*, 137, 1-6.
 116. Hu, Y., Hou, Z., Yi, R., Wang, Z., Sun, P., Li, G., Zhao, X. And Wang, Q. (2017). Tartary buckwheat flavonoids ameliorate high fructose-induced insulin resistance and oxidative stress associated with the insulin signaling and Nrf2/HO-1 pathways in mice. *Food & Function*, 8 (8), 2803–2816.
 117. Merino-Aguilar, H., Arrieta-Baez, D., Jiménez-Estrada, M., Magos-Guerrero, G., Hernández-Bautista, R.J., Susunaga-Notario, Adel C., Almanza-Pérez, J.C., Blancas-Flores, G., Román-Ramos, R., Alarcón-Aguilar, F.J. (2014) Effect of fructooligosaccharides fraction from *Psacalium decompositum* on inflammation and dyslipidemia in rats with fructose-induced obesity. *Nutrients*, 6 (2):591-604.
 118. Ko, E.A., Kim, H.R., Kim, Y.B., Kim, H.S. and Lee, S.H. (2017). Effect of High Fructose Corn Syrup (HFCS) Intake on the Female Reproductive Organs and Lipid Accumulation in Adult Rats, *Journal of the Korean Society of Developmental Biology*, Vol. 21, No. 2, 151-156.
 119. Douard, V. and Ferraris, R.P. (2008). Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 295 (2), 227-237.
 120. García-Berumen, C. I., Ortiz-Avila, O., Vargas-Vargas, M. A., del Rosario-Tamayo, B. A., Guajardo-López, C., Saavedra-Molina, A., Rodríguez-Orozco, A.R. and Cortés-Rojo, C. (2019). The severity of rat liver injury by fructose and high fat depends on the degree of respiratory dysfunction and oxidative stress induced in mitochondria. *Lipids in Health and Disease*, 18:78.
 121. Chen, Y.-R., Lai, Y.-L., Lin, S.-D., Li, X.-T., Fu, Y.-C. and Xu, W.-C. (2013). SIRT1 interacts with metabolic transcriptional factors in the pancreas of insulin-resistant and calorie-restricted rats. *Molecular Biology Reports*, 40:3373–3380.
 122. Spruss, A., Kanuri, G., Uebel, K., Bischoff, S. C. and Bergheim, I. (2011). Role of the inducible nitric oxide synthase (iNOS) in the onset of fructose-induced steatosis in mice. *Antioxidants and Redox Signaling*, 14: 2121–2135.

EKLER

EK-1. Etik Kurul İzni

Evrak Tarih ve Sayısı: 11/08/2014-81349



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

Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Fatma AKAR

Araştırmacı grubu Fatma AKAR, Barbaros ÖZER, Gökhan SADİ, Birce TABAN, Sümeysa USLU, Onur Gökhan YILDIRIM, Aylin ÇETİN ve Arash Chehrehei'den oluşan, G.Ü.ET-14.054 kod numaralı ve "*Fruktozun oluşturduğu metabolik sendromda bazı Lactobacillus türleri (Lactobacillus kefiranofaciens, helveticus, buchneri, rhamnosus, plantarum ve casei) ve kefirin insülin rezistansı, metabolik, vasküler ve karaciğer parametreleri üzerine etkilerinin incelenmesi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-14.054 and entitled "*The investigation of effects of some Lactobacillus species (Lactobacillus kefiranofaciens, helveticus, buchneri, rhamnosus, plantarum and casei) and kefir on the insulin resistance, metabolic, vascular and hepatic parameters in fructose-induced metabolic syndrome*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

Prof. Dr. Leyla AÇIK
Kurul Başkanı

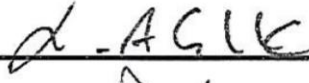
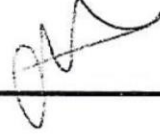
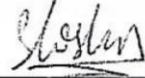
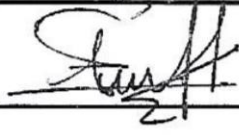
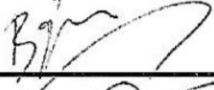
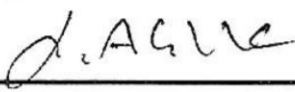
EK :
1 Liste

Ankara
Tel:0 (312) 202 20 57 Faks:0 (312) 202 20 63
E-Posta :hadyek@gazi.edu.tr Web Adresi :http://dhek.gazi.edu.tr

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

EK 1. (Devam) Etik Kurul İzni

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ :23.07.2014		TOPLANTI SAYISI : 08	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Leyla AÇIK (Başkan)			
Uzman Dr.Şeyda DİKER (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU		KATILAMADI	
Prof.Dr.Tuncay PEKER		KATILAMADI	
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER			
Prof.Dr.Esra AKKOL			
Doç.Dr.Turgay TEKİNAY		KATILAMADI	
Yrd.Doç.Dr.İhsan YIKILGAN			
Yrd.Doç.Dr.Süleyman YEŞİL			
Uzm.Dr.Burcu EKİM			
Dr.Kadir BAŞAR			
Sevim ÖNCÜ ERSANLI			

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Kılıç, Aylin
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 21/06/1988 Ankara
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0505 716 28 60
 Faks : 0312 365 78 78
 Email : aylncetn@gmail.com



Eğitim Derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi Farmakoloji ABD	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2011
Lise	Hacı Ömer Tarman Anadolu Lisesi	2006

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2015-devam ediyor	Aylin Kılıç Eczanesi (Ankara)	Eczacı (Mesul Müdür)
2011-2015	Özel Güven Hastanesi (Ankara)	Eczacı

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Resim yapmak, kitap okumak, yüzmek



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..



Gazili olmanlı yazarı

