

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

FRUKTOZ İLE OLUŞTURULAN İNSÜLİN DİRENCİNDE
KURKUMİNİN PI3K/Akt ve AMPK SİNYAL YOLAKLARINA
ETKİSİNİN İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. GÜLCE KİREN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. HATİCE PAŞAOĞLU

ANKARA

NİSAN 2022

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışma sürecimde derin bilgi ve deneyimiyle bana yol gösteren değerli hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Hatice Paşaoğlu'na,

Uzmanlık eğitimime katkılarından dolayı saygıdeğer hocalarım Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Neslihan Bukan başta olmak üzere; öğretim üyelerimiz Doç. Dr. Canan Yılmaz, Prof. Dr. Özlem Gülbahar ve diğer öğretim üyelerimize, birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma ve Merkez Biyokimya laboratuvarı teknisyen ve personeline,

Tezimin oluşturulmasında ve çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesi dahil her aşamasında destekleriyle yanımda olan Dr. Öğr. Üyesi Çınar Severcan ve Suzan Severcan'a, deneysel çalışmalardaki destekleri için Doç. Dr. Özge Paşaoğlu'na

Tezimin deneysel çalışmalarını yürütebilmek için bana destek olan Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi (GÜDAM) tüm çalışanlarına ve Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (TTU-2021-7153 proje koduyla),

Tez dönemim boyunca her konuda desteğiyle yanımda olan sevgili eşim Kutay Kiren başta olmak üzere hayatım boyunca sevgi ve hoşgörüsüyle yanımda olan canım annem babam ve kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

IR	: İnsülin reseptörü
MAPK	: Mitojenle aktive olan protein kinazlar
PI3K	: fosfatidilinositid-3-kinaz
PIP2	: fosfatidilinozitol 4,5-difosfat
PDK	: fosfoinozitol bağımlı protein kinaz
IRS1, 2	: İnsülin reseptör substrat-1 ve -2
Akt	: Protein kinaz B
Foxo1	: Forkhead kutusu O1
HDL-K	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol
LDL-K	: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol
VLDL-K	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol
HOMA-IR	: Homeostasis Model Assessment For Insulin Resistance
AMPK	: AMP ile aktive olan protein kinaz
GLUT 4	: Glukoz taşıyıcısı 4
GLUT 2	: Glukoz taşıyıcısı 2
MetS	: Metabolik sendrom
KAH	: Koroner arter hastalığı
ER	: Endoplazmik retikulum
QUICKI	: Kantitatif İnsülin Duyarlılık İndeksi
DM	: Diabetes mellitus
NCEP-ATP III	: National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
TG	: Trigliserid
AKŞ	: Açlık kan şekeri
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EGİR	: Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu
AACE	: Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
HFCS	: Yüksek fruktozlu mısır şurubu
SSB	: Şekerle tatlandırılmış içecekler
SACN	: Beslenme Bilimsel Danışma Komitesi

DGAC	: Diyet Yönergeleri Danışma Komitesi
GLUT 5	: Glukoz taşıyıcısı 5
Fruktoz 1-P	: Fruktoz 1-fosfat
Fruktoz 1,6-bisP	: Fruktoz 1,6-bifosfat
Fruktoz 6-P	: Fruktoz 6-fosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
Gliserol 3-P	: Gliserol 3-fosfat
Asetil-CoA	: Asetil koenzim A
ChREBP	: Karbonhidrat yanıtı elemanı bağlayıcı protein
SREBP1c	: Sterol düzenleyici element bağlayıcı protein 1c
PGC1β	: peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör-y koaktivatörü 1- β
AMP	: Adenozin monofosfat
UA	: Ürik asit
IMP	: İnozin monofosfat
TCA	: Trikarboksilik asit
DNL	: De novo lipogenez
NAFLD	: Alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı
ACC	: Asetil koa karboksilaz
FASN	: Yağ asidi sentaz
SCD1	: Stearoil koa desatüraz 1
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
VKİ	: Vücut kitle indeksi
FAO	: Yağ asidi oksidasyonu
ACLY	: Sitrat liyaz
FFA	: Serbest yağ asidi
PPARα	: Peroksizom çoğaltıcı aktive reseptör alfa
PTP1b	: Protein tirozin fosfataz tip 1b
THC	: Tetrahidrokurkumin
OHC	: Oktahidrokurkumin
HHC	: Heksahidrokurkumin

WAT	: Beyaz yağ doku
PEPCK	: Fosfoenolpiruvat karboksikinaz
G6Pase	: Glukoz-6 fosfataz
MTP	: Mikrozomal trigliserit transfer proteini
Apo B100	: Apolipoprotein B100
IDL	: Ara yoğunluklu lipoprotein
HSL	: Hormona duyarlı lipaz
LCACoA	: Uzun zincirli açıl-CoA
Cer	: Seramid
SAT	: Deri altı yağ dokusu
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitörü
IL-6	: İnterlökin-6
TNFα	: Tümör nekroz faktörü α
IL-1β	: İnterlökin-1 β
HIF1α	: Hipoksi ile indüklenabilir faktör 1 α
SIRT2	: Sirtuin 2
LKB1	: Yukarı akış kinaz serin-treonin karaciğer kinaz
CAMKK2	: Kalsiyum/kalmodulin bağımlı protein kinaz kinaz 2
TBC1D1	: TBC alan ailesi, üye 1
HMGCR	: 3-hidroksi-3-metil-glutaril-coA redüktaz
ATGL	: Adiposit-trigliserit lipaz
ULK1	: unc-51 benzeri otofajiyi aktive eden kinaz 1
mTORC 1	: Rapamisin kompleksi I
TSC2	: Tüberoskleroz kompleksi 2
ROS	: Reaktif oksijen türleri
Ser/Thr	: Serin/treonin
PTEN	: Fosfataz ve tensin homologu
Tsc	: Tüberoskleroz kompleksi
GSK3	: Glikojen sentaz kinaz 3
IGF	: İnsülin growth faktör

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İnsülin direnci nedir?	3
2.1.1. Ülkemizde ve dünyada insülin direnci prevalansı	5
2.2. Fruktoz.....	9
2.2.1. Fruktoz metabolizması.....	12
2.2.2. Fruktoz alımı ve gut- hiperürisemi riski	14
2.2.3. Fruktozun lipid homeostazı üzerindeki etkileri	16
2.2.4. Fruktoz ve insülin direnci	18
2.2.5. Fruktozun insülin sinyalizasyonu üzerindeki doğrudan etkisi	23
2.3. Kurkumin	24
2.4. Proksimal İnsülin Sinyali: İnsülin Reseptörü ve Doğrudan Substratları..	27
2.5. Hepatik İnsülin Sinyali: Etkileyenler ve Etkiler	30
2.5.1. Hepatik insülin direnci ve artan glukoz üretimi	30
2.5.2. Hepatik insülin direnci ve dislipidemi	31
2.5.3. Lipoprotein metabolizmasının insülin ile regülasyonu	31
2.5.4. İnsülin direncinde lipoprotein metabolizması	32
2.6. Yağ Dokuda İnsülin Sinyali: Etkileyenler ve Etkiler	33
2.7. AMPK	37
2.7.1. AMPK aktivasyonunun fizyolojik etkileri.....	39
2.8. İnsülin ve IGF-1 reseptörleri	44
2.9. IRS.....	44
2.10. PI3K/AKT yolu	47
2.10.1. İskelet kasında PI3K/AKT yolu.....	51
2.10.2. Yağ dokusunda PI3K/AKT yolu.....	52
2.11. Peroksizom Proliferatör Aktive Receptör Gamma Koaktivatör-1 alfa (PGC1-α).....	53
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	60
3.1. Deney Hayvanları ve Diyet.....	60
3.2. Kullanılan cihazlar	61
3.3. Kullanılan kimyasallar	61

3.4.	İnsulin direnci modelinin oluşturulması.....	61
3.4.1.	Deney gruplarının oluşturulması.....	61
3.4.2.	Rat serum ve doku örneklerinin alınması	62
3.5.	Serum Parametreleri	63
3.6.	Doku örneklerinin homojenizasyonu	64
3.7.	Metotların uygulanması	65
3.7.1.	Doku homojenizatlarında protein tayini	65
3.7.2.	Yağ ve Kas dokusu PI3K analizi	67
3.7.3.	Yağ ve Kas dokusu PDK-1 analizi.....	69
3.7.4.	Yağ ve Kas dokusu IRS-1 analizi	71
3.7.5.	Yağ ve Kas dokusu fosfo-IRS1 analizi	73
3.7.6.	Yağ ve Kas dokusu fosfo-AKT analizi	75
3.7.7.	Yağ ve Kas dokusu AS160 analizi	77
3.7.8.	Yağ ve Kas dokusu AMPK analizi	79
3.7.9.	Yağ ve Kas dokusu GLUT4 analizi	82
3.7.10.	Yağ ve Kas dokusu PIP3 analizi	84
3.7.11.	Yağ ve Kas dokusu PGC-1 α analizi	86
4.	BULGULAR.....	89
4.1.	Serum İnsülin, Glukoz, İnsülin Direnci Testi (HOMA-IR) bulguları.....	89
4.2.	Kas Dokusu İnsülin Sinyal (IRS/Akt/GLUT4) Yolu Parametreleri Bulguları.....	92
4.3.	Kas Dokusu AMP Aktive Edilmiş Protein Kinase (AMPK) ve Peroksizom Proliferatör Aktive edilmiş Reseptör Gama Koaktivatör Alfa (PGC-1 α) Bulguları 100	
4.4.	Kas Dokusu Korelasyon Analiz Sonuçları.....	102
4.5.	Yağ Dokusu İnsülin Sinyal (IRS/Akt/GLUT4) Yolu Parametreleri Bulguları.....	104
4.6.	Yağ Dokusu AMP Aktive Edilmiş Protein Kinase (AMPK) ve Peroksizom Proliferatör Aktive edilmiş Reseptör Gama Koaktivatör Alfa (PGC-1 α) Bulguları 112	
4.7.	Yağ Dokusu Korelasyon Analiz Sonuçları	114
5.	TARTIŞMA.....	116
6.	SONUÇ	128
7.	REFERANSLAR	130

8. ÖZET	148
9. ÖZGEÇMİŞ	152

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Şekerin metabolik riski arttırdığı iki yol.	11
Şekil 2. Fruktozun çeşitli organ sistemleri üzerindeki etkis	13
Şekil 3. Fruktoz metabolizması.....	15
Şekil 4. Fruktoz kaynaklı dislipidemide yer alan olası mekanizmalar:	17
Şekil 5. Fruktaza bağlı de novo lipogenez mekanizmaları:	20
Şekil 6. Fruktaza bağlı insülin direnci için potansiyel mekanizmaların özeti.	22
Şekil 7. Kurkumin doğal analogları ve metabolitleri	25
Şekil 8. İnsülin sinyal yolağı [100]	29
Şekil 9. İnsülin sinyali etkisinde Akt fosfatlanması ve etkileri [101]	29
Şekil 10. İnsülin direnci durumlarında VLDL aşırı üretiminin mekanizması[102].	33
Şekil 11. İnsan beyaz yağ dokusunda bozulmuş mitokondriyal fonksiyonun ve insülin direncinin sistemik sonuçları. [132]	37
Şekil 12. AMPK'nin yapısı ve düzenlenmesi.	38
Şekil 13. AMPK aktivasyonunun etkileri	40
Şekil 14. AMP ile aktive olan protein kinazın (AMPK) fizyolojik rollerinin bir özeti.	44
Şekil 15. PI3K/AKT yolu.....	48
Şekil 16. GLUT4 aktivasyonu.....	50
Şekil 17. PGC-1 Transkripsiyonel Koaktivatörlerin Çoklu Sistem Fonksiyonu. .	54
Şekil 18. İnsülin standart eğri grafiği	64
Şekil 19. BCA protein standart eğri grafiği	66
Şekil 20. PI3K standart eğri grafiği.....	68
Şekil 21. PDK-1'e ait standart eğri grafiği.....	70
Şekil 22. IRS-1'e ait standart eğri grafiği	73
Şekil 23. fosfo-IRS1'e ait standart eğri grafiği	75
Şekil 24. fosfo-AKT'ye ait standart eğri grafiği	77
Şekil 25. AS160'a ait standart eğri grafiği.....	79
Şekil 26. AMPK'ya ait standart eğri grafiği	81
Şekil 27. GLUT4'e ait standart eğri grafiği	83
Şekil 28. PIP3'e ait standart eğri grafiği	85
Şekil 29. PGC-1 α 'ya ait standart eğri grafiği.....	88
Şekil 30. Grupların serum glukoz seviyeleri.....	90
Şekil 31. Grupların serum insülin seviyeleri.....	91
Şekil 32. Grupların HOMA-IR değerleri	92
Şekil 33. Grupların kas p-IRS1 seviyeleri.....	93

Şekil 34. Grupların kas IRS1 seviyeleri.....	94
Şekil 35. Grupların kas PI3K seviyeleri.....	95
Şekil 36. Grupların kas PIP3 seviyeleri	96
Şekil 37. Grupların kas PDK1 seviyeleri	97
Şekil 38. Grupların kas p-AKT seviyeleri.....	98
Şekil 39. Grupların kas AS160 seviyeleri	98
Şekil 40. Grupların kas GLUT4 seviyeleri	99
Şekil 41. Grupların kas AMPK seviyeleri.....	101
Şekil 42. Grupların kas PGC-1 α seviyeleri.....	102
Şekil 43. Grupların yağ doku p-IRS1 seviyeleri	105
Şekil 44. Grupların yağ doku IRS1 seviyeleri	106
Şekil 45. Grupların yağ doku PI3K seviyeleri	107
Şekil 46. Grupların yağ doku PIP3 seviyeleri	108
Şekil 47. Grupların yağ doku PDK1 seviyeleri.....	109
Şekil 48. Grupların yağ doku p-AKT seviyeleri	110
Şekil 49. Grupların yağ doku AS160 seviyeleri.....	110
Şekil 50. Grupların yağ doku GLUT4 seviyeleri	111
Şekil 51. Grupların yağ doku AMPK seviyeleri	113
Şekil 52. Grupların yağ doku PGC-1 α seviyeleri	114

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1. NCEP-ATP III Metabolik sendrom tanı kriterleri.....	6
Tablo 2. MetS'in tarihsel ve güncel tanımları.....	7
Tablo 3. BCA Protein Kolorimetrik Kit içeriği	65
Tablo 4. Yağ ve kas dokusu PI3K analizi.....	67
Tablo 5. Yağ ve kas dokusu PDK-1 analizi.....	69
Tablo 6. Yağ ve kas dokusu IRS-1 analizi	72
Tablo 7. Yağ ve kas dokusu fosfo-IRS1 analizi	74
Tablo 8. Yağ ve kas dokusu fosfo-AKT analizi	76
Tablo 9. Yağ ve kas dokusu AS160 analizi	78
Tablo 10. Yağ ve kas dokusu AMPK analizi	80
Tablo 11. Yağ ve kas dokusu GLUT4 analizi	82
Tablo 12. Yağ ve kas dokusu PIP3 analizi	84
Tablo 13. Yağ ve kas dokusu PGC-1 α analizi.....	87
Tablo 14. Serum Glukoz, insülin ve HOMA-IR medyan ve çeyrekler aralığı değerleri	89
Tablo 15. Kas dokusu insülin sinyal yolu parametrelerinin medyan ve çeyrekler aralığı değerleri	92
Tablo 16. Kas Dokusu AMPK ve PGC-1 α medyan ve çeyrekler aralığı değerleri	100
Tablo 17. Kas doku korelasyon analiz sonuçları	103
Tablo 18. Yağ dokusu insülin sinyal yolu parametrelerinin medyan ve çeyrekler aralığı değerleri	104
Tablo 19. Yağ Dokusu AMPK ve PGC-1 α medyan ve çeyrekler aralığı değerleri	112
Tablo 20. Yağ doku korelasyon analiz sonuçları.....	115

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Kardiyak kan eldesi	63
---	----

1. GİRİŞ

İnsülin direnci, insülin direnci sendromu olarak da bilinen “metabolik sendrom” için temel bir mekanizmadır. Metabolik sendrom (MetS), obezite, hiperglisemi, hiperlipidemi ve hipertansiyon gibi birbiriyle ilişkili bir grup bozuklukla temsil edilir. Aynı zamanda kardiyovasküler hastalık ve artmış morbidite ve mortalite için önemli bir risk faktörüdür. Metabolik sendromun önemli bir özelliği olan hiperinsülinemi, pankreatik β -hücrelerinden aşırı insülin salgılanmasından kaynaklanarak tip 2 diyabet ve kardiyovasküler disfonksiyon gelişimine birincil katkıda bulunan bir etken olarak kabul edilir[1, 2]. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, insülinin ve onun sinyalleme kaskadının normal olarak hücre büyümesini, metabolizmasını ve hayatta kalmasını, mitojenle aktive olan protein kinazların (MAPK'ler) ve fosfotidilinositid-3-kinazın (PI3K) aktivasyonu yoluyla kontrol ettiğini ve bunların aktivasyonunun insülin reseptörü ile ilişkili PI-3K olduğunu göstermektedir. İnsülin reseptör substrat-1 ve -2 (IRS1, 2) ve ardından gelen protein kinaz B (Akt)→ Forkhead kutusu O1 (Foxo1) fosforilasyon kaskadı, besin homeostazının ve organ sağ kalımının kontrolünde merkezi bir role sahiptir. Hiperinsülinemi, metabolik inflamasyon ve aşırı beslenmenin ardından farklı organlarda IRS1 ve IRS2'nin baskılanması yoluyla Akt'nin inaktivasyonu ve Foxo1'in aktivasyonu, insanlarda metabolik sendromun altında yatan mekanizmaları açıklayabilmektedir. IRS→Akt→Foxo1 sinyal kaskadını hedeflemek, muhtemelen tip 2 diyabet ve komplikasyonlarının tedavisinde terapötik müdahale için bir strateji sağlayacaktır.

Curcuma longa L.'nin rizomu, birçok Asya ülkesinde uzun süredir beslenme ve bitkisel ilaçlarda kullanılmaktadır. Tıbbi özellikleri bir ana bileşen olan kurkumin'den gelir (9). Kurkuminin aktif bileşeni, karakteristik sarı renge sahip hidrofobik bir polifenol olan diferuloilmetandır. Kurkumin, % 77 ile en bol bulunan doğal analogdur, ardından bir metoksi grubunun olmadığı demetoksikurkumin (% 17), ardından metoksi grubunun her iki aril halkasında bulunmadığı bis-demetoksikurkumin (% 3) izler [3]. Kurkumin, güçlü bir kanser kemopreventif ajan

olarak kabul edilir ve ayrıca oksidatif hasara karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [4]. Kurkuminin metabolik sendrom [5], dislipidemi [6], ateroskleroz [7], alzheimer, parkinson [8] gibi hastalıklardaki düzeltici rolü ortaya konulmaya çalışılmıştır. Kurkuminin ayrıca plazma LDL-K (düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol) ve trigliserid (TG) düzeylerini düşürmesi, HDL-K (yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol) arttırması [9], insülin duyarlılığını geliştirmesi [10] gibi metabolik sendromun birçok parametresi üzerindeki etkileri hakkında çalışmalar mevcuttur. Bu özelliklerin yanısıra hem hayvan hem de insan çalışmaları, kurkuminin antiinflamatuvar, antioksidan, kardiyoprotektif, anti-enfeksiyöz, antiaging aktivitelere sahip olduğunu belirtmiştir [11-14].

Bu çalışmamızın amacı, insülin direnci oluşturduğumuz rat modellerinde farklı dozlardaki kurkumin tedavisinin insülin direnci üzerindeki etkilerini metabolik yollar üzerinden göstermek ve gruplar arasındaki farklılıkları karşılaştırmaktır. Bu çalışmanın kapsamını, kontrol (mısır yağı) (Grup 1), fruktoz + mısır yağı (Grup 2), fruktoz + mısır yağında çözünmüş kurkumin 100 mg/kg (Grup 3), fruktoz + mısır yağında çözünmüş kurkumin 200 mg/kg (Grup 4) uyguladığımız 4 ayrı wistar albino türü rat grupları oluşturmaktadır. İnsülin direncini; glukozu, insülin ve insulin direncinin değerlendirildiği homeostatik model (HOMA-IR) değerlerini göz önünde bulundurarak ortaya koyacağız. Ayrıca farklı dozlarda uyguladığımız kurkumin tedavisinin, kas ve yağ dokudaki Akt/PI3K, AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK) yollarındaki Glukoz taşıyıcısı 4 (GLUT4) translokasyonu üzerindeki olası etkilerini ve Peroksizom Proliferatör Aktive Receptör Gamma Koaktivatör-1 alfa (PGC1- α) düzeylerini değerlendireceğiz, Akt yolağındaki IRS serin/tirozin fosforilasyonu dengesine bakacağız. Böylelikle kurkumin tedavisinin insülin sinyal yolağıının iyileşmesindeki etkisini ortaya çıkarmış olacağız. Bu çalışma sonuçları, literatüre özgün katkı sağlayarak, metabolik sendrom tedavisinde kurkuminin olası rolünü ortaya çıkarmış olarak, toplum sağlığı korunması açısından önemli veri sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnsülin direnci nedir?

İnsülin, besin mevcudiyetine entegre bir anabolik yanıtı düzenlemek için hedef hücrelerdeki plazma zarına bağlı reseptörlere bağlanan; uygun doku gelişimi, büyümesi ve glukoz homeostazının korunması için gerekli olan 51 amino asit uzunluğunda bir endokrin peptit hormonudur. Preproinsülin biyosentezi sitozolde başlatılır. Preproinsülin, sinyal peptidi, insülin B zinciri, C-peptidi ve insülin A zincirinden oluşan tek zincirli bir moleküldür. N-terminal sinyal peptidi, yeni sentezlenmiş preproinsülini endoplazmik retikulum (ER) membranından geçirir; burada sinyal peptidi, sinyal peptidaz tarafından çıkarılarak proinsülin oluşturur [15]. ER lümeninin oksitleyici ortamında, proinsülin hızla katlanır, iki zincirler arası disülfid bağı B7-A7 ve B19-A20 ve bir zincir içi disülfid bağı A6-A11 dahil olmak üzere üç disülfid bağı oluşturur [16]. Uygun şekilde katlanmış proinsülin dimerleşir ve golgi aparatına iletilmek üzere ER'den çıkar. Trans-golgi ağında Zn^{2+} konsantrasyonu yükselmeye başladığında, proinsülinin merkezi koordinatör Zn^{2+} iyonları etrafında heksamerler oluşturduğu düşünülmektedir [17]. Proinsülin, Golgi aygıtı içinde insülin, C-peptid ve iki çift bazik amino asit oluşturmak üzere prohormon dönüştürücüler tarafından parçalanır. Çeviriden sonra, preproinsülinin olgun insüline tam dönüşümü 30 ila 150 dakika sürer. İnsülin daha sonra uygun uyaranlara yanıt olarak salınmayı bekleyen pankreas adacıkları içindeki salgı granüllerinde depolanır [18].

İnsülin, çeşitli bölgelerde glukoz homeostazını düzenler, hepatik glukoz üretimini azaltır (azalmış glukoneogenez ve glikojenoliz yoluyla) ve iskelet kası ve yağ dokusuna glukoz alımını artırır. İnsülin ayrıca lipid metabolizmasını etkiler, karaciğer ve yağ hücrelerinde lipid sentezini artırır ve yağ dokusundan yağ asidi salınımını azaltır.

İnsülin direnci klasik olarak, hedef dokuların normal dolaşımdaki insülin seviyelerine karşı duyarlılığının azalması durumu olarak tanımlanır; tip 2 diabetes mellitus gelişiminde önemli bir rol oynar.

İnsülin direnci aynı zamanda obezite, glukoz intoleransı, dislipidemi ve metabolik sendrom olarak adlandırılan (genellikle X sendromu olarak da anılır) hipertansiyon kümelenmesi gibi bir dizi başka sağlık bozukluğunun bir özelliğidir.

İnsülin direncinin ölçümü için altın standart, hiperinsülinemik-öglisemik glukoz klemp tekniğidir. Bu, aç, diyabetik olmayan bir hastanın, hepatik glukoz üretimini baskılamak için yüksek hızda sabit bir insülin infüzyonuna yerleştirildiği bir araştırma tekniğidir; kan şekeri sıklıkla izlenirken, kan şekerini öglisemik aralıkta tutmak için değişen oranlarda bir %20 dekstrozu solüsyonu verilir. Kararlı bir duruma ulaşmak için gereken glukoz miktarı, hiperinsülinemiye telafi etmek için gereken eksojen glukoz atılımını yansıtır. Glukoz kelepçe yönteminin karmaşıklığı, klinik yararlılığını sınırlar. Sonuç olarak, insülin direnci için çoklu belirteçler geliştirilmiş ve test edilmiştir. Açlık glukozu ve açlık insülin seviyelerine dayanan HOMA-IR ve HOMA2, klinik araştırmalarda yaygın olarak kullanılan insülin direnci ölçümleridir. Açlık insülinine dayalı diğer önlemler arasında Glukoz-İnsülin Oranı ve Kantitatif İnsülin Duyarlılık İndeksi (QUICKI) bulunur. Ek olarak, çeşitli ölçümler, serum glukozu ve/veya bir glukoz yüklemesine verilen insülin yanıtına dayalı olarak insülin direncini değerlendirir.

İnsülin direncinin baskın sonucu tip 2 diabetes mellitustur (tip 2 DM). İnsülin direncinin tip 2 DM gelişiminden 10 ila 15 yıl önce olduğu düşünülmektedir. İnsülin direncinin gelişmesi tipik olarak endojen insülin üretiminde telafi edici bir artışla sonuçlanır. Bir anabolik hormon olan yüksek endojen insülin seviyeleri, insülin direnci ile ilişkilidir ve kilo alımı ile sonuçlanır

ve bu da insülin direncini şiddetlendirir. Bu kısır döngü, pankreas beta-hücresi aktivitesi, insülin direncinin yarattığı insülin talebini artık yeterince karşılayamaz hale gelene ve hiperglisemiye neden olana kadar devam eder. İnsülin talebi ve insülin üretimi arasındaki uyumsuzluk devam ederken, glisemik seviyeler tip 2 DM ile uyumlu seviyelere yükselir.

Tip 2 DM'ye ek olarak, insülin direnci ile ilişkili hastalık spektrumu obezite, kardiyovasküler hastalık, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı, metabolik sendrom ve polikistik over sendromunu içerir. Ayrıca diyabetin mikrovasküler komplikasyonları (nöropati, retinopati ve nefropati) ve ilişkili makrovasküler komplikasyonları (koroner arter hastalığı, serebral-vasküler hastalık ve periferik arter hastalığı) bulunmaktadır. Bunların hepsi, tüm dünyada, insülin direnciyle ilişkili doğrudan ve dolaylı durumları tedavi etmek için sağlık sistemine muazzam yük bindirerek büyük sonuçlar doğurmaktadır.

2.1.1. Ülkemizde ve dünyada insülin direnci prevalansı

Diabetes mellitus prevalansı, büyük ölçüde modern insan yaşam tarzındaki önemli değişiklikler nedeniyle dünya çapında hızla artmaktadır [19]. DM, insanlarda en yaygın metabolik bozukluktur ve iki ana hücrel substrat olan karbonhidratların ve lipidlerin metabolizmasını etkiler, metabolik yolların bozulmasına neden olur ve zararlı metabolitlerin oluşmasına neden olur [20]. Kontrolsüz diyabette doku ve organlarda diyabetik komplikasyonlar gelişir, fonksiyona müdahale eder ve muhtemelen total organ yetmezliği ile sonuçlanır [21]. DM'nin altında yatan moleküler mekanizmaları aydınlatmayı amaçlayan birçok in vitro ve in vivo çalışmaya rağmen, kesin patofizyoloji tam olarak anlaşılmamıştır. Bununla birlikte, insülin direnci, beta hücre işlev bozukluğu, oksidatif stres, mitokondriyal işlev bozukluğu ve iltihaplanma dahil olmak üzere bir dizi mekanizmanın tümü suçlanmıştır.

İnsülin direncinin epidemiyolojik değerlendirmesi tipik olarak metabolik sendrom veya insülin direnci sendromu prevalansı ile ilişkili olarak ölçülür. Metabolik sendrom, insülin direnciyle başlayan abdominal obezite, glukoz intoleransı veya diabetes mellitus, dislipidemi, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı (KAH) gibi sistemik bozuklukların birbirine eklendiği ölümcül bir endokrinopatidir. MetS diyabet ve kardiyovasküler hastalık gelişim riskini arttıran, birden fazla risk faktörünün bir arada bulunduğu metabolik bir disfonksiyondur [22]. Tanımlama için en sık Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Üçüncü Erişkin Tedavi Paneli (NCEP-ATP III, National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III) uzlaş kriterleri kullanılır (Tablo 1). Buna göre tanı kriterleri içinde bel çevresi ölçüsünde artış, kan basıncı yüksekliği ya da hipertansiyon tedavisi almak, açlık kan şekeri (AKŞ) ve TG yüksekliği ve HDL-K düşüklüğü düzeyi bulunur. Bir olguda MetS var demek için, sayılan bu kriterlerden en az üç tanesinin varlığı şarttır. Başka çalışma gruplarında farklı MetS kriterleri vardır (Tablo 2) [23]. Var olan Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) ve NCEP-ATP III kriterlerinin kardiyovasküler riski ve prognozu belirleme açısından benzer oldukları belirlenmiştir.

Tablo 1. NCEP-ATP III Metabolik sendrom tanı kriterleri.

Parametre	Kriterler
Abdominal obezite	Bel çevresinin erkeklerde ≥ 102 cm, kadınlarda ≥ 88 cm olması*
TG	≥ 150 mg/dl ya da TG yüksekliği için farmakolojik tedavi alıyor olması
HDL kolesterol	Kadında < 50 mg/dl, erkekte < 40 mg/dl ya da düşük HDL-K nedeniyle farmakolojik tedavi alıyor olması
Kan basıncı	$\geq 130/85$ mmHg olması ya da anti-hipertansif tedavi alıyor olması
Açlık kan şekeri	≥ 100 mg/dl ya da kan şekeri yüksekliği için tedavi alıyor olması

Tablo 2. MetS'in tarihsel ve güncel tanımları

Değerlendirme İçeriği	DSÖ 1998	EGİR 19 99	NCEPATPIII 2001	AACE 2003	NCEP ATPIII 2005	AHA/NHLBI 2005	IDF 2005	IDF/NHLBI 2009
Kriterler	IGT, IFG, T2D veya azaltılmış insülin duyarlılığı artı aşağıdakilerden herhangi ikisi	Plazma insülin > yüzde 75 artı aşağıdakilerden herhangi ikisi	Aşağıdakilerden herhangi üçü	IGT veya IFG artı aşağıdakilerden herhangi biri	Aşağıdakilerden herhangi üçü	Aşağıdakilerden herhangi üçü	Artan WC artı aşağıdakilerden herhangi ikisi	Aşağıdakilerden beşte üçü
obezite	Erkekler: WHR > 0.9; Kadınlar: WHR > 0.85 ve/veya BMI > 30 kg/m ²	Erkeklerde WC ≥ 94 cm veya kadınlarda ≥ 80 cm	Erkeklerde WC ≥ 102 cm veya kadınlarda ≥ 88 cm	BMI > 25 kg / m ²	Erkeklerde WC ≥ 102 cm veya kadınlarda ≥ 88 cm	Erkeklerde WC ≥ 102 cm veya kadınlarda ≥ 88 cm	nüfusa özgü artan WC kesintileri	nüfusa ve ükkeye özgü tuvalet kesintileri
glikoz	IGT, IFG veya T2D	IGT veya IFG	≥110 mg/dL (T2D dahil)	IGT veya IFG	≥100 mg/dL (T2D dahil)	≥100 mg/dL veya yüksek glikoz için ilaç tedavisi görüyor	≥100 mg/dL (T2D dahil)	≥100 mg/dL
Trigliseritler (TG)	TG ≥ 150 mg/dL	TG ≥ 150 mg/dL	TG ≥ 150 mg/dL	TG ≥ 150 mg/dL	TG ≥ 150 mg/dL veya TG'yi düşüren tedavide	TG ≥ 150 mg/dL veya yüksek trigliseritler için ilaç tedavisi görüyor	TG ≥ 150 mg/dL veya TG'yi düşüren tedavide	TG ≥ 150 mg/dL
Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)-kolesterol (HDL-C)	HDL-C < 40 mg/dL erkeklerde veya HDL-C < 50 mg/dL kadınlarda	Erkeklerde veya kadınlarda HDL-K < 39 mg/dL	Erkeklerde HDL-K < 40 mg/dL veya kadınlarda HDL-K < 50 mg/dL	Erkeklerde HDL-K < 40 mg/dL veya kadınlarda HDL-K < 50 mg/dL	HDL-C'yi artıran tedavide erkeklerde HDL-C < 40 mg/dL veya HDL-C < 50 mg/dL kadınlarda	Erkeklerde HDL-K < 40 mg/dL veya kadınlarda HDL-K < 50 mg/dL veya düşük HDL-K için ilaç tedavisi görüyor	HDL-C'yi artıran tedavide erkeklerde HDL-C < 40 mg/dL veya HDL-C < 50 mg/dL kadınlarda	Erkeklerde HDL-C < 40 mg/dL veya kadınlarda HDL-C < 50 mg/dL
Tansiyon	≥140/90 mmHg	≥140/90 mmHg veya antihipertansif tedavide	≥130/85 mmHg	≥130/85 mmHg	≥130/85 mmHg veya antihipertansif tedavide	≥130/85 mmHg veya antihipertansif tedavide	≥130/85 mmHg veya antihipertansif tedavide	≥130/85 mmHg veya antihipertansif tedavide

IGT, bozulmuş glukoz toleransı; IFG, bozulmuş açlık glukozu; TG, trigliseritler; T2D, tip 2 diyabet; WC, bel çevresi; WHR, bel/bel oranı; DSÖ, Dünya Sağlık Örgütü; EGİR, İnsülin Direnci çalışması için Avrupa Grubu "insülin direnci sendromunu" yeniden adlandırdı; NCEP ATPIII, Ulusal Kolesterol Eğitim Programı, Yetişkin Tedavi Paneli III, "Metabolik Sendrom" yeniden atandı; AACE, Amerikan Klinik Endokrinologlar Derneği, "İnsülin Direnci Sendromu"; IDF, Uluslararası Diyabet Federasyonu; AHA/NHLBI, Amerikan Kalp Derneği;Ulusal Kalp, Akciğer ve Kan Enstitüsü.

MetS, insülin direncinin sendromda oynadığı nedensel rol nedeniyle yaygın olarak insülin direnci sendromu [24] olarak da bilinir. MetS, 1999 yılında Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu (EGIR) ve 2003 yılında Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği (AACE) tarafından “İnsülin Direnci Sendromu” olarak yeniden adlandırılmıştır. Hem kalıtsal hem de çevresel faktörler metabolik sendromun gelişimine katkıda bulunur. En çok kabul gören ve birleştirici hipotez, insülin direncinin, metabolik sendromu tanımlayan ve onu kardiyovasküler hastalık gelişimiyle ilişkilendiren, altta yatan en yaygın anormallik olduğunu öne sürer. 'İnsülin direnci' terimi, bir hedef hücrenin insüline karşı metabolik tepkisindeki bir azalmayı veya tüm organizma düzeyinde, dolaşımdaki veya enjekte edilen insülinin kan şekeri üzerinde bozulmuş bir düşürücü etkisi anlamına gelir [25].

2003'ten 2012'ye kadar, Amerika Birleşik Devletleri'nde metabolik sendromun genel prevalansı %33 iken, kadınlarda (%35,6) metabolik sendrom prevalansı erkeklere (%30,3) kıyasla anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur [26]. Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Yetişkin Tedavi Paneli III tarafından

önerilen kriterler ulusal anket verileri, insülin direnci sendromunun çok yaygın olduğunu ve 20 yaşından büyük Amerika Birleşik Devletleri (ABD) yetişkinlerinin yaklaşık %24'ünü etkilediğini göstermektedir [27].

Avrupa MetS prevalansı, Uluslararası Diyabet Federasyonu tanı kriterleri kullanılarak erkeklerde %41 ve kadınlarda %38 olarak tahmin edilmiştir [23].

İnsülin direnci, metabolik sendrom olarak adlandırılan tip 2 diyabet / glukoz intoleransı, obezite, dislipidemi ve hipertansiyon kümelenmesi dahil olmak üzere bir dizi klinik bozukluğun bir özelliğidir[28]. İnsülin direnci ile karakterize tip 2 diyabet, prevalansı son yıllarda belirgin şekilde artan karmaşık bir kronik hastalıktır. 2015 yılında dünya çapında 415 milyon kişinin diyabetli olduğu tahmin edilmekle birlikte, bunların %90'ından fazlası tip 2 diyabetli olduğu belirtilmiştir [29]. Ulusal Diyabet İstatistikleri Raporu, 2020'de ABD nüfusunun %10,5'i olan 34,2 milyon kişi diyabet hastası olduğunu belirlemiştir. Ayrıca aynı raporda yetişkin ABD nüfusunun %34,5'i olarak 18 yaş ve üzeri 88 milyon kişinin prediyabet hastası olduğu gösterilmiştir [30]. Diabetes Mellitus Derneği, 2030'da dünya çapında 578 milyon kişinin diyabetli olacağını ve 2045'te bu sayının %51 (700 milyon) olacağını öngörmüştür [31]. Kozan ve arkadaşları [32] yaptıkları çalışmada, Erişkin Tedavi Paneli III kriterleri kullanılarak ülkemizdeki metabolik sendrom prevalansını %33.9 bulmuştur. Ayrıca yazarlar, metabolik sendrom sıklığının ülkemizde yaşla birlikte arttığını, erkeklerde (%28) ve kadınlarda (%39.6) prevalansın önemli ölçüde farklılıklar gösterdiğini belirtmiştir.

2.2. Fruktoz

Diyet karbonhidratları monosakkaritler, disakkaritler, oligosakkaritler (zincir uzunluğu 3-9 molekül), polisakkaritler ve lifi içerir. Monosakkaritler glukoz, fruktoz ve galaktozdur ve başlıca disakkaritler sakkaroz (glukoz artı fruktoz), laktoz (glukoz ve galaktoz) ve maltozdur (2 glukoz molekülü). Polisakkarit kategorisi, farklı nişasta alt kategorileri üreten moleküller arasındaki çapraz bağların yeri ve sayısı bakımından çeşitlilik gösteren glukoz polimerlerinden oluşan nişastaları temsil eder. Karbonhidrat metabolizmasının kontrolü, uygun seviyelerde insülin sekresyonuna ve insülin etkisine bağlıdır.

Fruktoz, birçok meyve ve sebzede bulunan bir monosakkarittir. Fruktoz, glukoz ile aynı kimyasal formüle ($C_6H_{12}O_6$) sahip olmasına rağmen, kimyasal yapısı farklıdır. Fruktoz, ikinci karbona bağlı bir keton fonksiyonel grubu olan beş üyeli bir halka iken, glukoz, birinci karbondan bir aldehit grubu bulunan altı üyeli bir halkadır. Fruktoz ayrıca gıdalarda, 1-4 glukozit bağıyla bir fruktoz molekülüne bağlanan bir glukoz molekülünden oluşan sakkaroz formunda bir disakkarit olarak bulunur.

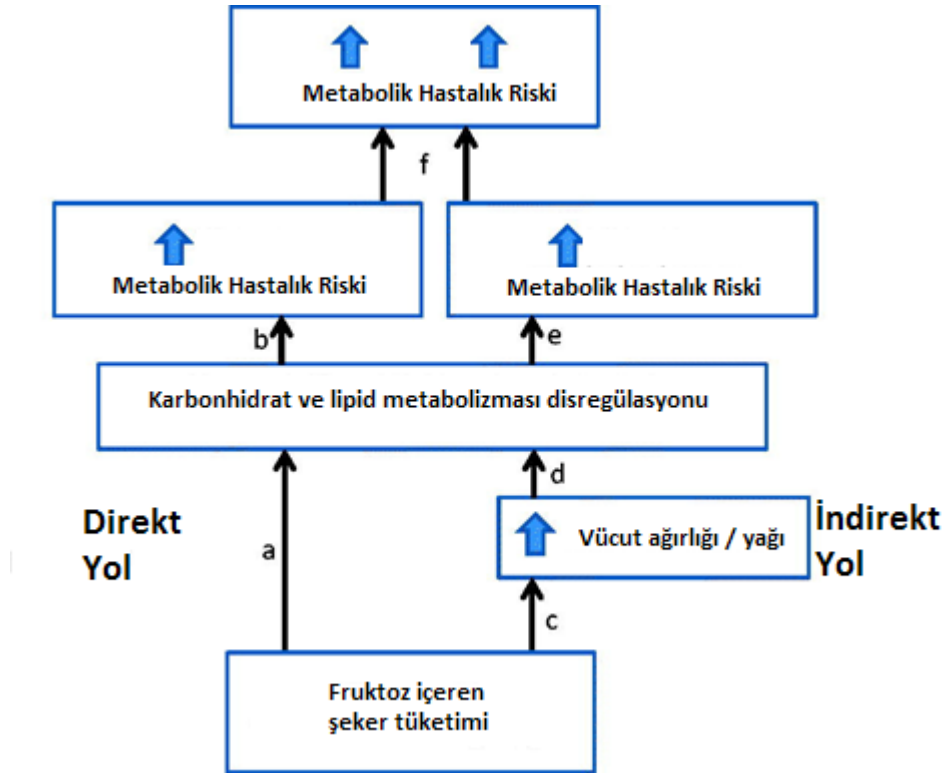
Serbest şekerler ve özellikle fruktoz açısından zengin diyetlerin sağlık üzerindeki potansiyel etkisi büyük endişe kaynağıdır. Endişelerin çoğu, karaciğerde ve iskelet kasında artan yağ birikimine, ardından insülin direncine ve artan diyabet riskine yol açtığı iddia edilen fruktozun spesifik metabolik etkilerine odaklanmaktadır.

İnsan diyetindeki başlıca ilave şeker kaynakları sakkaroz (%50 fruktoz ve %50 glukoz), yüksek fruktozlu mısır şurubudur (HFCS; ya %55 fruktoz ve %45 olan HFCS-55'tir). Son yıllarda gıda sektöründe HFSC kullanımı dramatik bir artış

göstermektedir. Yüksek fruktozlu mısır şurupları alkolsüz içeceklerde ve meyve suyu içeceklerinde oldukça yaygın olarak bulunmaktadır. Ayrıca HFCS, kahvaltılık gevrekler ve unlu mamuller gibi önceden paketlenmiş birçok gıdaya dahil edilir. Fruktoz tüketimi, %55-90 arasında fruktoz içeren HFCS'nin artan kullanımının bir sonucu olarak son birkaç on yılda büyük ölçüde artmıştır. HFCS, şeker kamışından daha ucuzdur ve üreticilerin gıda fiyatlarındaki artışı tamponlamak için üretimden tasarruf elde etmelerine olanak tanır. Son yıllarda, şekerle tatlandırılmış içeceklerin (sugar sweetened beverages) (SSB) (alkolsüz içecekler, meyve suları ve enerji içecekleri) tüketimi dünya genelinde çeşitli derecelerde istikrarlı bir şekilde artmaktadır. SSB'ler, visceral yağlanmaya neden olarak, kardiyometabolik riski arttırabilir. Yakın tarihli bir ileriye dönük çalışma, günlük SSB tüketenlerin, tüketmeyenlere kıyasla 6 yıl içinde visceral yağ dokusu hacminde %29 daha fazla artış olduğunu göstermiştir [33]. Artmış visceral yağlanma önemli bir kardiyometabolik risk faktörü iken, SSB'ler riski yağlanmadan bağımsız olarak da arttırabilir. Örneğin, günlük artmış SSB tüketiminin, sağlıklı bir metabolik profil oluşumu ve obeziteden bağımsız olarak tip 2 diyabet riskinin artmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir [34]. Eklenen şekerler ve çeşitli hastalıklar arasındaki potansiyel bağlantıların yalnızca halk sağlığı açısından sonuçları değil, aynı zamanda kamu politikası üzerinde de etkisi vardır. Dünya Sağlık Örgütü, ilave şekerlerin toplam kalori tüketiminin %5'inden fazlasını oluşturmamasını tavsiye eden kılavuzlar yayınlamıştır [35]. İngiltere'de Beslenme Bilimsel Danışma Komitesi (SACN) [36] ayrıca üst sınırın %5'i geçmemesini tavsiye ederken, ABD'deki 2015 Diyet Yönergeleri Danışma Komitesi (2015 DGAC) üst sınırın %10'u geçmemesini tavsiye etmiştir [37].

Eklenen şeker oranı yüksek diyetlerin hem doğrudan hem de dolaylı olarak metabolik hastalık gelişimini desteklediğini gösteren kanıtlar vardır (Şekil 1). Şekerdeki fruktoz bileşeni doğrudan lipid ve karbohidrat metabolizmasının düzensizliğine neden olur. Dolaylı olarak fruktoz, pozitif enerji dengesini, dolayısıyla vücut ağırlığını ve yağ kazanımını teşvik eder, bu da lipid ve karbohidrat

metabolizmasının düzensizliğine neden olur. Doğrudan ve dolaylı yollar ile, vücut ağırlığı ve yağ doku artışına neden olan, artmış fruktoz içeren diyetlerle metabolik hastalık riskinin arttığını öne sürülmüştür.



Şekil 1. Şekerin metabolik riski arttırdığı iki yol.

Doğrudan yol: Şeker tüketimi, lipid ve karbonhidrat metabolizmasının (a) düzensizliğine yol açar ve bu da metabolik hastalık riskini arttırır (b). Dolaylı yol: Şeker tüketimi vücut ağırlığını ve yağ kazanımını arttırır (c) bu da lipid ve karbonhidrat metabolizmasının düzensizliğine yol açar (d) ve metabolik hastalık riski artar (e). Bu nedenle, vücut ağırlığı ve yağ doku artışına neden olan artmış fruktoz içeren diyetler, metabolik hastalık riskini arttırmaktadır[38].

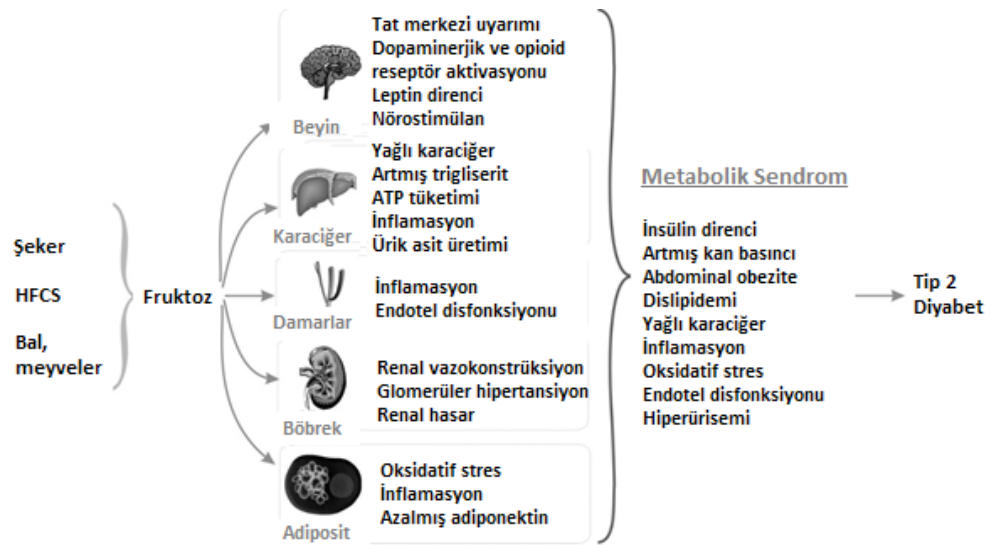
2.2.1. Fruktoz metabolizması

Fruktoz metabolizması glukoz metabolizmasından farklıdır ve insülininden bağımsız bir mekanizma ile gerçekleşir. Yutmayı takiben, fruktoz, fruktoza özgü glukoz taşıyıcısı GLUT 5 yoluyla bağırsaktan hızla emilir. GLUT 5, ince bağırsağın epitel hücrelerinde, renal proksimal tübülde ve ayrıca testiste önemli ölçüde eksprese edilir. GLUT 5'in silinmesi, bağırsak fruktoz emilimini engeller ve serum fruktoz konsantrasyonunu azaltır [39]. Fruktozun enterositten kana bazolateral taşınmasına GLUT 2 aracılık eder. Karaciğerde fruktoz, yüksek oranda eksprese edilen fruktoza özgü bir enzim olan fruktokinaz tarafından fosforile edilerek fruktoz 1-fosfat (fruktoz 1-P) oluşturulur, bu da ayrıca üç karbonlu fosfat ara ürünleri gliseraldehit, dihidroksiaseton fosfat ve gliseraldehit 3-fosfata dönüştürülür. Bu ara ürünlerin bir kısmı, glukozla dönüştürülmek, laktat veya trigliserit oluşturmak üzere metabolize olmak için glukoneojenik yola girebilir. Glukoz metabolizmasının hız sınırlayıcı aşaması, fosfofruktokinaz tarafından katalize edilen fruktoz 1,6-bifosfat (fruktoz 1,6-bisP) oluşturmak için fruktoz 6-fosfatın (fruktoz 6-P) fosforilasyonunu içerir. Bu reaksiyon, fosfofruktokinazı allosterik olarak inhibe eden sitrat ve adenzin trifosfat (ATP) tarafından negatif olarak düzenlenir ve böylece karaciğere daha fazla glukoz alımını önler. Glukoz ve fruktoza ait hepatik metabolizma, üç karbonlu fosfat ara ürünlerinin olduğu yerde kesişir. Fruktoz, fosfofruktokinazın hız sınırlayıcı reaksiyonunu atlayabildiğinden, fruktozdan türetilen ara ürünler, bu enzimin akış aşağısındaki glikolitik yola girebilir. Bu ara maddeler biriktikçe, trigliseritlerin gliserol parçasına, gliserol 3-fosfata (gliserol 3-P) dönüştürülebilirler. Piruvat metabolizmasının ardından piruvat dehidrojenaz yoluyla asetil koenzim A'ya (asetil KoA) dönüşüm, de novo lipogenez ve trigliseritler oluşturmak üzere esterleştirilebilen uzun zincirli yağ asitlerinin oluşumuna izin verir. Bu nedenle, yüksek düzeyde fruktoz tüketimi, trigliserit üretimi için düzensiz bir kaynak olarak işlev görür. Splanknik perfüzyon çalışmaları, trigliseritlerin hepatik üretiminin, eşmolar glukoz konsantrasyonlarına kıyasla fruktoz ile çok daha fazla olduğunu göstermiştir. Fruktoz uygulaması, izokalorik glukoz ile gözlemlenenden daha fazla tokluk hipertrigliseridemi ve

ayrıca daha yüksek apolipoprotein B seviyeleri ile sonuçlanabilir [40, 41]. Diyetle yüksek miktarlarda rafine karbonhidrat tüketimi, duyarlı kişilerde dislipidemi [42], obezite, insülin direnci ve kalp hastalığı riskini artırır [43] (Şekil 2)

Fruktoz metabolizması, fruktoliz, glikoliz, lipogenez ve glukoz üretimine katkıda bulunan metabolik enzimlerin gen ekspresyonunu koordineli olarak düzenlemek için Karbonhidrat yanıtı elemanı bağlayıcı protein (ChREBP) ve Sterol düzenleyici element bağlayıcı protein 1c (SREBP1c) ve bunların koaktivatörü peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör-y koaktivatörü 1- β (PGC1 β) dahil olmak üzere transkripsiyon faktörlerini aktive eder. Bu metabolik yollar, steatoz, çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (VLDL-K) paketleme ve salgılanmasının yanı sıra glukoz üretimine ve hepatik insülin duyarlılığını ve diğer biyolojik süreçleri etkileyebilecek lipid ara ürünlerinin oluşumuna katkıda bulunur.

Fruktozun, insülin sekresyonunu uyaran gastrik inhibitör peptit salınımını uyarmaması ve pankreasın fruktoz taşıyıcısı GLUT 5'ten yoksun olması nedeniyle fruktoz alımını takiben insülin seviyelerinde bir artış olmaz.



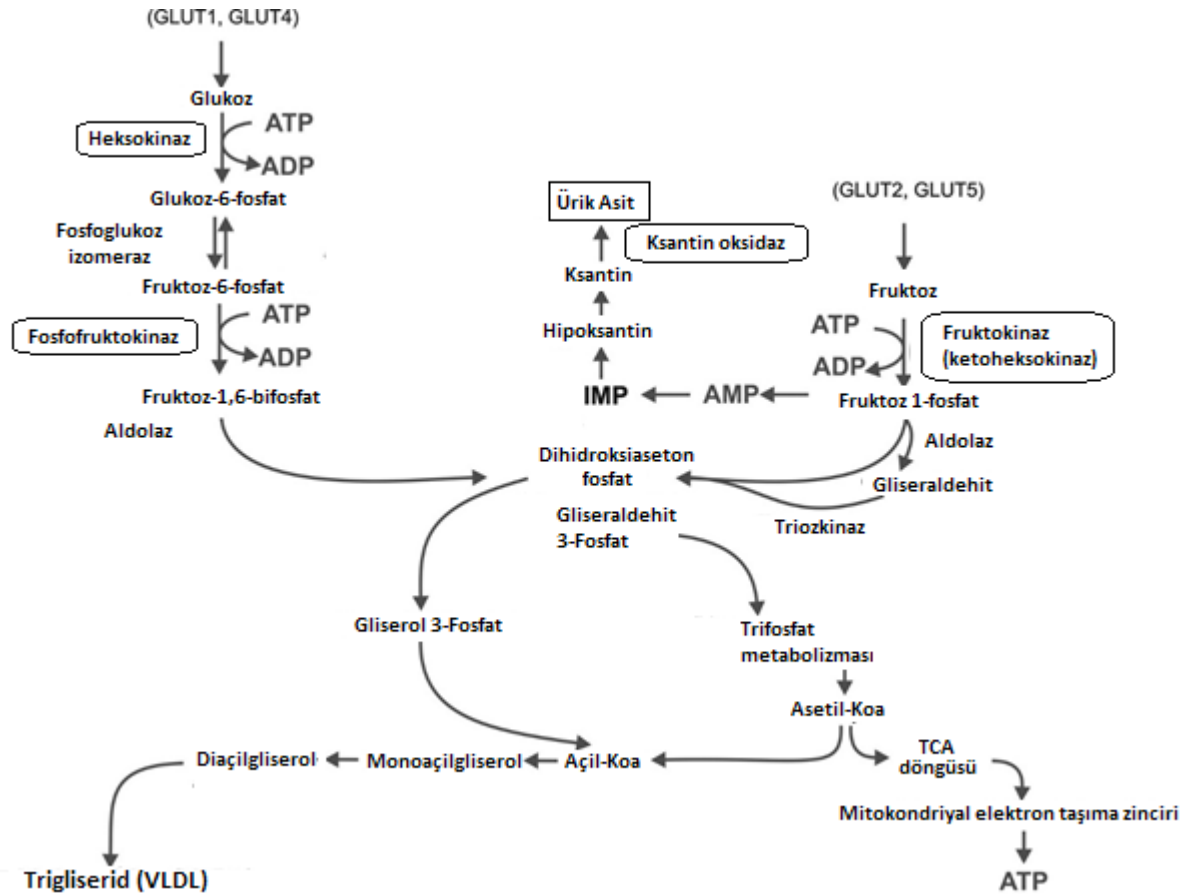
Şekil 2. Fruktozun çeşitli organ sistemleri üzerindeki etkisi

2.2.2. Fruktoz alımı ve gut- hiperürisemi riski

Ürik asit (UA) veya ürat, pürin veya pürin içeren bileşiklerin bir metabolitidir ve başlıca endojen antioksidanlardan biri olarak kabul edilir. İnsanlarda ürat son ürün olarak atılırken diğer türlerde allantoina metabolize olur. Fruktoz metabolizmasının benzersiz bir özelliği, yan ürün olarak ürik asidin sentezidir. Bu metabolik yol, fruktozun ilk olarak fruktokinaz tarafından fruktoz 1-fosfata fosforile edilmesiyle başlar. Bu enzim, hücre içi negatif geri besleme mekanizmaları tarafından düzenlenmediğinden, büyük miktarda fruktoz alındığında, bu reaksiyonu gerçekleştirmek için gerekli ATP hızla tükenir. Hızlı hepatik fruktoz fosforilasyonu nedeniyle hücre içi serbest fosfattaki azalmalar, adenosin monofosfat (AMP) deaminazın aktivasyonu yoluyla ürik asit üretimini arttırabilir, bu da AMP'nin ürik aside katabolizmasına yol açar (Şekil 3). Fruktozla beslenme aynı zamanda pürin sentezini uyararak ürik asit üretimine katkıda bulunabilir. Artan dolaşımdaki ürik asit seviyeleri, eklemlerde ürik asit kristallerinin birikmesi, ağrılı iltihaplanma ile karakterize bir durum olan gut riskini arttırır. Artmış şeker tüketimini gut için bir risk faktörü olarak gösteren artan sayıda kanıt vardır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, yüksek serum ürik asit konsantrasyonunun, diyabet, hipertansiyon, metabolik sendrom ve kalp hastalığı için etyolojik bir faktör olabileceğini göstermiştir [40-42]. Örneğin, bir ksantin oksidaz inhibitörü (febuxostat veya allopurinol) veya bir ürikosürik ilaç (benzodiaron) ile ürik asit seviyelerinin düşürülmesi, sıçanlarda metabolik sendromun farklı özelliklerini iyileştirebildiği farklı çalışmalarda gösterilmiştir [44, 45].

Ürik asidin neden olduğu doku hasarında yer alan olası bir zararlı mekanizma, artan oksidatif strestir. UA'nın yalnızca hidrofilik ortamlarda bir antioksidan olarak hareket ettiği, oysa hücrelerin içinde UA'nın kendisinin ve/veya aşağı akış radikallerinin oksidan üretimine ve aşırı oksidatif strese neden olabileceği öne sürülmüştür. Artan oksidatif stres, diğer etkilerin yanı sıra

proinflatuar mediatörlerin indüksiyonu, renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonu [46], endotelinin aşırı ekspresyonu [47] ve nükleer faktör-kB kaskadının aktivasyonu dahil olmak üzere çeşitli sonuçlar doğurur [48]. Sonuç olarak, sükröz veya HFCS gibi ilave şekerlerden aşırı fruktoz alımı metabolik sendrom, karaciğer yağlanması ve böbrek hasarının özelliklerini indükleyebilir. Fruktozun bu değişiklikleri indükleme konusundaki benzersiz yeteneği, geçici ATP tükenmesi ve hücre içi UA oluşumu ile sonuçlanan metabolizmasına özgü gibi görünmektedir.



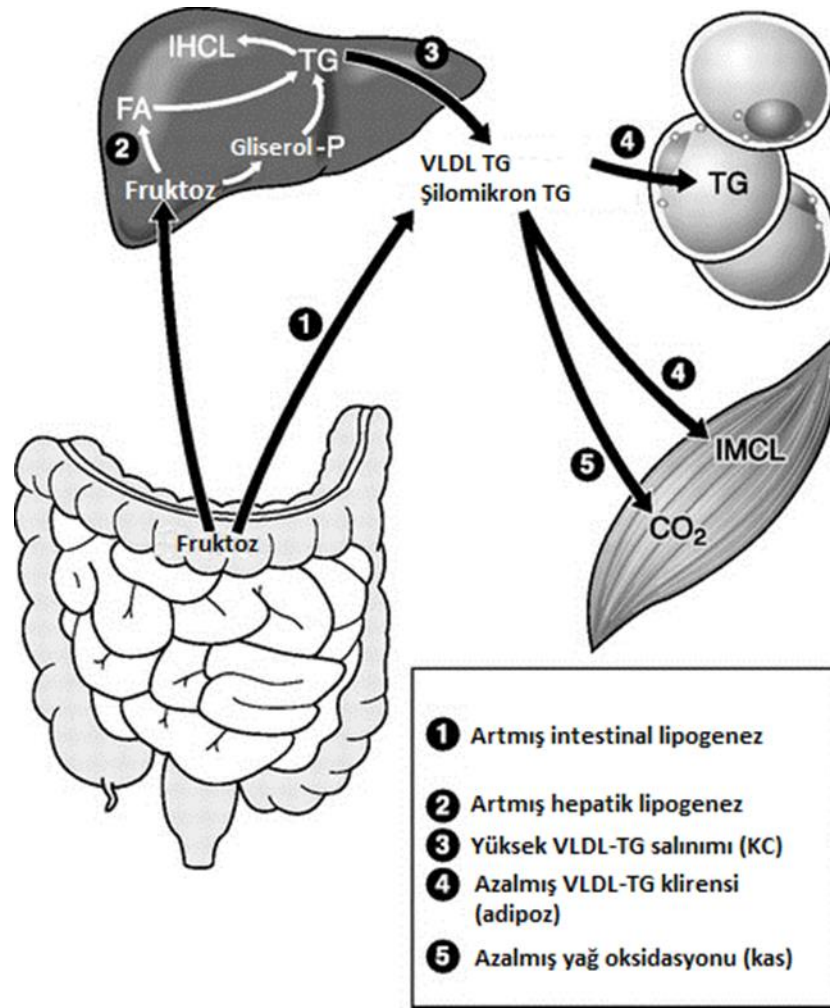
Şekil 3. Fruktoz metabolizması

2.2.3. Fruktozun lipid homeostazı üzerindeki etkileri

Hepatik lipid birikimi, artan hepatik de novo lipogenez (DNL), diyet veya yağ depolarından türetilen önceden oluşturulmuş yağ asitlerinin esterifikasyonu, azalmış VLDL-K sekresyonu ve azalmış hepatik yağ asidi oksidasyonunun bir kombinasyonundan kaynaklanır.

10 haftalık fruktoz tüketiminin yaşlı erişkinlerde dolaşımdaki tokluk trigliserit konsantrasyonlarını belirgin şekilde arttırdığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir [49]. Daha genç yetişkinlerde yapılan kısa süreli çalışmalarda, fruktoz tüketiminin 24 saat içinde tokluk trigliserit konsantrasyonlarını arttırdığını belirtilmiştir [50].

Tokluk hipertrigliseridemisinin fruktoz tüketimi ile ilişkili en erken metabolik bozulma olduğu öne sürülmüştür. Aşırı fruktoz tüketimi, hem hepatik lipid birikimine hem de VLDL formunda dolaşımdaki trigliserit düzeylerinin artmasına katkıda bulunur (Şekil 4). Fruktoz ayrıca hepatik yağ asidi oksidasyonunu da akut olarak baskılar [51]. Bu nedenle fruktoz, hem yağ asidi ve trigliserit sentezi için substrat sağlayarak hem de lipid üretimini arttırmak için sinyal sistemlerini aktive ederek hepatik trigliserit üretimine katkıda bulunur. Postprandiyal hipertrigliseridemi için en olası mekanizma, artan hepatik de-novo lipogenezdır, bu da VLDL üretimini ve sekresyonunu yukarı regüle eder. Fruktoz tüketimi hepatik lipogenezi teşvik edebilir [52]. Fruktozun fruktoz-1-fosfat yoluyla glikolize girişi, fosfofruktokinaz tarafından katalize edilen glikolizin ana hız kontrol basamağını atlar, böylece düzensiz miktarlarda lipojenik substratlar asetil-CoA ve gliserol-3-fosfat sağlar.



Şekil 4. Fruktoz kaynaklı dislipidemide yer alan olası mekanizmalar:

Oral olarak alınan fruktozun bir kısmı yağ asitlerine dönüştürülür, kantitatif olarak küçük olmasına rağmen, bu yol fruktoza bağlı hepatik steatoz ve dislipideminin gelişmesinde önemli rol oynamaktadır[53].

SREBP1c, DNL yolundaki genler için başka bir anahtar transkripsiyon faktörüdür ve alkolsüz yağlı karaciğer hastalığının (NAFLD) gelişiminde rol oynar. Yüksek fruktozlu diyetler genellikle sistemik insülin direncini ve açlık hiperinsülinemisini indükler, böylece insülin aracılı SREBP1c aktivasyonunu ve hepatik lipid sentezini teşvik eder. Ayrıca fruktoz, insülininden bağımsız olarak SREBP-1c'yi aktive edebilir ve bu daha sonra DNL'de yer alan genleri aktive edebilir [54].

ChREBP, fruktoliz, glikoliz, glukoneogenez ve DNL yollarındaki enzimler için anahtar bir transkripsiyon faktörüdür. ChREBP α/β mekanizması hücre içi karbonhidrat sinyallerini algılar ve artan karbonhidrat mevcudiyetine yanıt olarak metabolik gen programlarının ekspresyonunu düzenler [55]. ChREBP'nin fruktoz metabolizması ve metabolik hastalıkta önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Sıçanlarda, glukozla karşılaştırıldığında yüksek fruktozla beslenme, artan ChREBP aktivitesi ve hedef genlerinin ekspresyonu ile ilişkilendirildi. Buna göre, farelere yüksek fruktozla beslenme, hepatoselüler karbonhidrat metabolitlerini, ChREBP hedef genlerinin ekspresyonunu ve hepatik steatozu arttırdı ve yüksek fruktozlu diyetin bu olumsuz metabolik etkileri, hepatik ChREBP aktivasyonuna bağlı olduğu gösterildi [56].

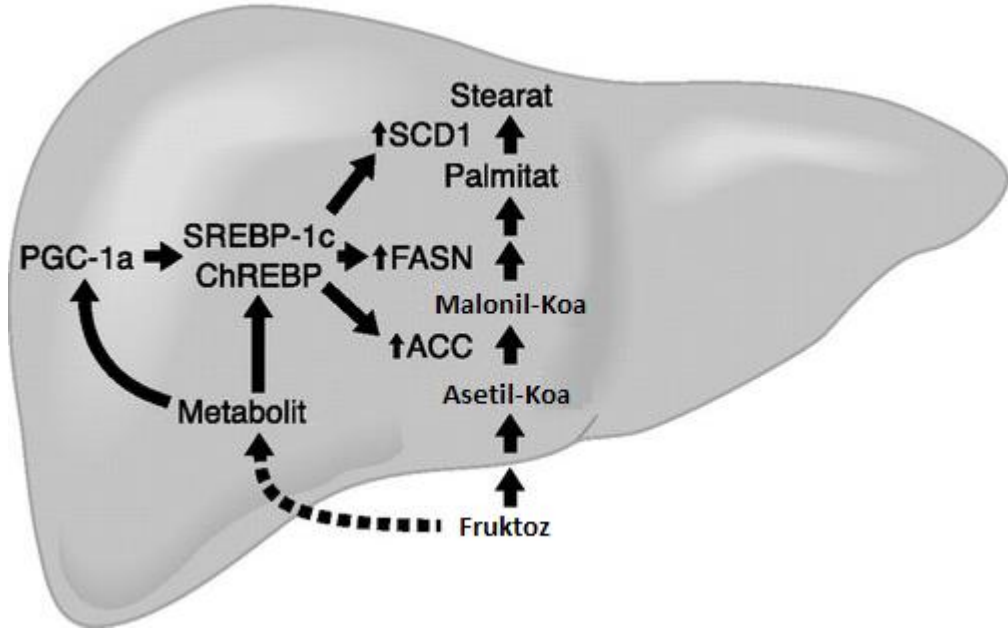
2.2.4. Fruktoz ve insülin direnci

Fruktoz, pankreatik β hücre insülin sekresyonunu doğrudan uyarmaz. Bununla birlikte, yüksek fruktozlu beslenme, hayvan modellerinde birçok organ sistemini etkileyerek kolaylıkla hiperinsülinemiye ve insülin direncine neden olur.

İnsan çalışmaları, artmış fruktoz tüketiminin zamanla hepatik insülin duyarlılığının azalmasına yol açabileceğini göstermektedir. Stanhope ve arkadaşları [57] on hafta boyunca fruktozla tatlandırılmış içeceklerden günlük enerji ihtiyacının %25'inin tüketilmesinin, oral glukoz tolerans testini (OGTT) takiben kan glukozunu, açlık insülinini arttırdığını bildirmiştir. Bir başka çalışmada, on iki hafta boyunca içeceklere eklenen çok daha düşük miktarda hiperkalorik fruktoz (75 g/gün) bile, obez erkeklerde insülin seviyelerini ve HOMA-IR'yi arttırdığı bulunmuştur [58]. Bununla birlikte, bazı çalışmalar, kısa süreli hiperkalorik fruktoz beslenmesi ile artan insülin direnci arasında bir ilişki bulamamışlardır. Johnston ve arkadaşları [59], otuz iki kilolu erkekte on dört gün boyunca, hiperkalorik fruktoz takviyesini takiben, glukoz takviyesine kıyasla, HOMA-IR ve insülin seviyelerinde

hiçbir değişiklik bulamamışlardır. Buna karşılık, epidemiyolojik kanıtlar, geniş denek popölasyonları hakkında bilgi sağlar. 18 yıl boyunca takip edilen 70.000 kadın üzerinde yapılan bir çalışmada, günde 2-3 SSB tükettiğini bildirenlerin, vücut kitle indeksi (VKİ) ve fiziksel aktiviteyi kontrol ettikten sonra bile ayda bir içecekten daha az tüketen kişilere kıyasla tip 2 DM geliştirme riskinin %31 daha yüksek olduğu görölmüştür [60]. Benzer şekilde, yaklaşık 2.000 sağlıklı kadınla yapılan bir kesitsel çalışmada, kendi bildirdiğı enerjiye göre ayarlanmış fruktoz alımının en yüksek beşte birlik diliminde yer alanların, en düşük beşte birlik dilimdeki kadınlara kıyasla, insülin sekresyonunun bir göstergesi olan plazma C-peptid konsantrasyonlarının %13.9 daha yüksek olduğu görölmüştür [61]. 1005 katılımcının bir başka meta-analizi, hem hiperkalorik hem de izokalorik fruktoz alımının, periferik veya kas insülin duyarlılığını etkilemeden diyabetik olmayan erişkinlerde hepatik insülin direncinin gelişimini desteklediğini gözlemlemiştir [62]. Bu çalışmalar, SSB'nin ve özellikle fruktoz tüketiminin artan insülin direnci riski ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Fruktozun hepatik insülin direnci üzerindeki bu etkilerinin genellikle hepatik DNL'deki artışa, yağ asidi oksidasyonundaki (FAO) azalmaya, ER stresinin artmasına ve inflamasyonun güçlenmesine ikincil olduğu düşünülmektedir. Fruktoz, hepatik DNL'yi, yaygın olarak karşılaştırılan muadili glukozdan daha büyük ölçüde uyaran oldukça lipojenik bir makro besindir [63]. 10 hafta boyunca %30 (W/V) fruktoz takviyesi alan farelerde eşit miktarda glukoz alan farelere kıyasla, adenosin trifosfat, sitrat liyaz (ACLY), asetil-CoA karboksilaz 1 (ACC1), yağ asidi sentaz (FASN) ve stearoil-CoA desatüraz 1 (SCD1) gibi yağ asidi sentezini düzenleyen enzimler büyük bir artış göstermiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Fruktoza bağlı de novo lipogenez mekanizmaları:

Fruktoz akut ve kronik olarak intrahepatik de novo lipogenezi artırır. Yağ asidi sentezinin uyarılması sekonder trioz-P ve asetil-CoA'nın düzensiz sağlanması ve kronik olarak yüksek fruktoz alımları tarafından indüklenen anahtar lipojenik genlerin indüksiyonu tarafından açıklanabilir. ACC: asetil koa karboksilaz, FASN: yağ asidi sentaz SCD1: stearoil koa desatüراز 1

Moleküler seviyede, fruktozun DNL i artırma etkisi 2 major transkripsiyon faktörüne bağlıdır: SREBP1c ve ChREBP. İnsülin , DNL'yi güçlü bir şekilde artırır [64] ve SREBP1c ekspresyonunu, translasyon sonrası işlemeyi ve nükleer lokalizasyonu uyarır. Fruktoz insülin direncini artırır ve bu nedenle serum insülin seviyelerini kronik olarak arttırarak SREBP1c i uyarır. Fruktozun SREBP1c üzerindeki etkileri, tamamen insüline bağlı değildir. Fruktoz, hepatik insülin sinyali olmayan insülin reseptörü nakavt farelerin karaciğerlerinde SREBP1c'yi yukarı regüle edebilir [65]. Ayrıca fruktozun SREBP1c'ye benzer şekilde ACLY, ACC1, FASN ve SCD1 dahil olmak üzere DNL'yi düzenleyen enzimlerin ekspresyonunu arttıran ChREBP in hepatik ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir.

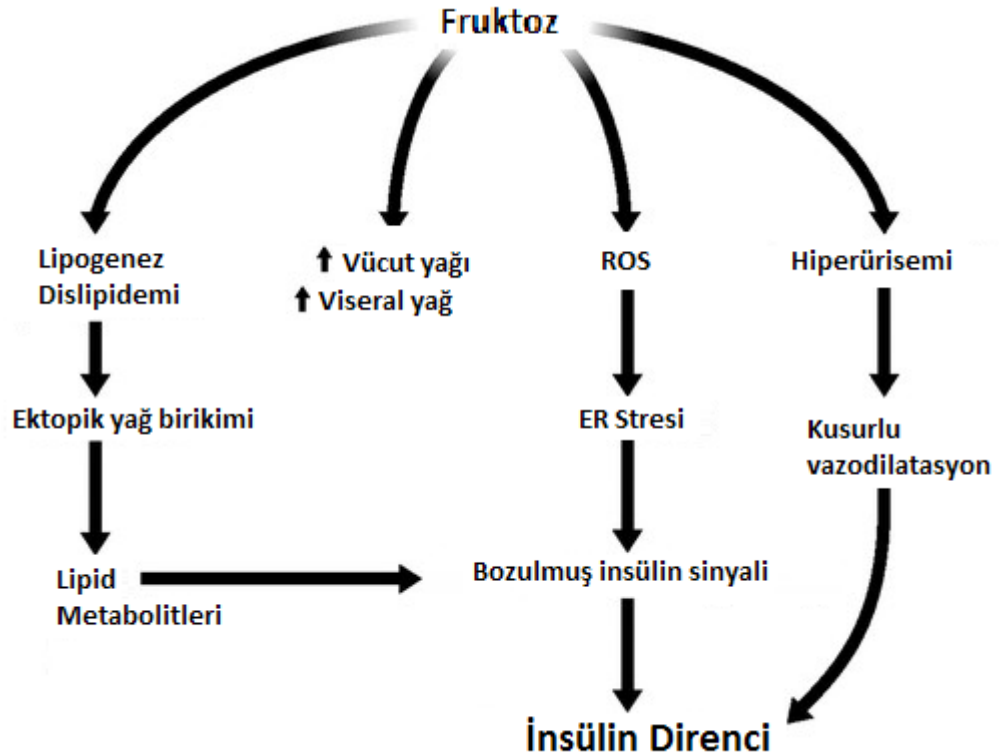
Fruktoz, insülin direncinin bilinen araçları olan serbest yağ asidi (FFA), diaçilgliserol (DAG), seramidler ve açıl-karnitinlerin hepatik sentezinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir. Sağlıklı deneklerde fruktoz, hepatik yağ asidi sentezini glukozun en az iki katı kadar uyarır [66] ve birçok çalışma, artan hepatik FFA sentezinin hepatik insülin direncinin gelişimine güçlü bir şekilde katkıda bulunduğunu göstermeye çalışmıştır.

DNL'yi desteklemeye ek olarak, fruktoz FAO'yu azaltır [58, 67] ve bu, hepatik steatoz ve insülin direncinin gelişimine katkıda bulunabilir. Azalmış FAO'nun artan DNL'ye ikincil olduğu düşünülmüştür. Bunun nedeni, lipogenezde bir ara ürün olan malonil-KoA'nın, FAO'nun hız sınırlayıcı enzimi olan karnitin palmitoil transferaz 1 'i inhibe etmesidir. Bu, ATP'de daha fazla azalmaya, mitokondri boyutunun azalmasına ve zayıflatılmış mitokondriyal proteomun artmasına neden olurken, mitokondriyal füzyon, protein asetilasyonu ve reaktif oksijen türleri artar. Azalan FAO, ChREBP'nin yukarı regülasyonu ve peroksizom çoğaltıcı aktive reseptör alfada (PPARα) bir azalma ile bildirilir. Mitokondriyal disfonksiyon ve azalmış FAO, hepatik insülin direncinin gelişimi ile güçlü bir şekilde bağlantılıdır. Ayrıca, kronik fruktoz alımı, FAO'yu da azaltan hiperinsülinemiye yol açar (Şekil 6).

Fruktoz metabolizması hepatik ATP seviyelerini tüketir. Akut fruktoz metabolizması glukozunkinden 10 kat daha hızlıdır [68] ve ATP düzeylerinin azalmasına yol açarken, eş zamanlı olarak inorganik fosfat ve ADP'yi arttırır. Bu durumun da ürik asit artışına yol açtığı düşünülmektedir. Ürik asit üretiminde fruktoza bağlı artış, fruktozun artan reaktif oksijen türleri seviyelerine yol açtığı mekanizmalardan biridir.

Protein katlanması ve lipid sentezinin önemli bir bölgesi olan ER'de artan metabolik talep, ER stresine ve katlanmamış protein yanıtına yol açar, bu da insülin direncinin gelişimi ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. ER stres, karaciğer enflamasyonunu hızlandırır, azalmış FAO ile mitokondriyal işlev bozukluğunu indükler ve bu durum fruktoz-ilişkili metabolik etkileri önemli parçasıdır.

Yüksek fruktozlu mısır şurubu ile tatlandırılmış içeceklerin diyetle alınmasının karaciğer iltihabının artmasına neden olduğu bildirilmiştir [69]. Düzensiz immün yanıt, büyük ölçüde insülin reseptörü ve insülin reseptörü substratlarının (IRS) artan serin fosforilasyonunun aracılık ettiği düşünülen hepatik insülin direncinin patogenezinde önemlidir [70].



Şekil 6. Fruktoza bağlı insülin direnci için potansiyel mekanizmaların özeti.

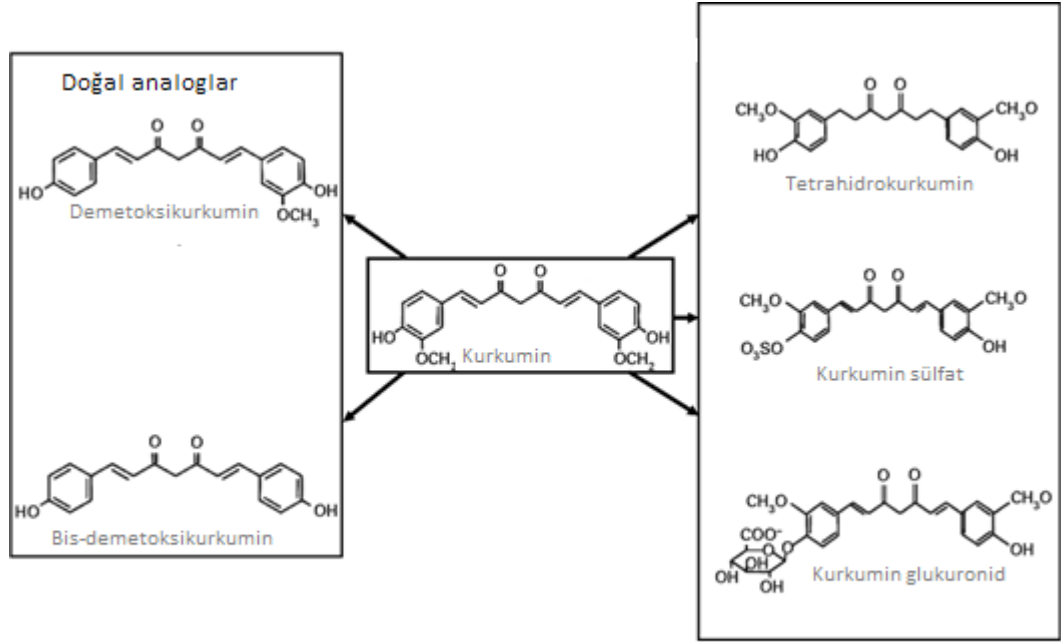
2.2.5. Fruktozun insülin sinyalizasyonu üzerindeki doğrudan etkisi

Fruktoz metabolitleri veya fruktoz metabolizmasında yer alan enzimler insülin direncine doğrudan katkıda bulunabilir. Bazı raporlar, fruktozla beslenmenin proksimal insülin sinyalleşmesinde bir azalma ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Fruktozla beslenen sıçanların karaciğer ve kaslarında daha düşük insülin reseptör seviyelerine sahip olduğu gösterilmiştir [71].

Protein tirozin fosfataz tip 1b (PTP1b), insülin reseptörü ve insülin reseptörü substratları üzerindeki tirozin fosforilasyonunu kaldırarak insülin sinyal iletimini negatif olarak düzenler. Bu nedenle, PTP1b'deki bir azalma, diyabetik farelerde insülin duyarlılığını artırır [72]. Yapılan bir çalışmada, fruktozla beslenen hemstırlardan izole edilmiş hepatositlerde artan PTP1b proteini ve enzimatik aktivite bildirilmiştir [73]. Bu durum, insülin reseptörünün ve IRS1/IRS2'nin azalmış tirozin fosforilasyonu ve azalmış proksimal insülin sinyalinin göstergesi kabul edilmiştir. Ayrıca, Ser473 ve Thr308 üzerinde Akt'nin fosfatidilinositol 3-kinaz aktivitesinin azaldığı ve insülin ile uyarılan fosforilasyonunun azaldığı bildirilmiştir. Hemstırdaki bulgulara benzer şekilde, sıçanlarda fruktozla beslenmenin, insülin reseptörünün hepatik tirozin-fosforilasyonunu azalttığı ve insülin stimülasyonundan sonra IRS1'in seviyelerinin yaklaşık %70'ine düştüğü bulunmuştur [74]. Fruktozla beslenen sıçanlarda artan hepatik PTP1b seviyelerinin, kurkumin ile tersine çevrilebildiği, aynı zamanda kurkumin uygulamasının artan insülin reseptörü, IRS1/IRS2 ve Akt fosforilasyonu ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir [75].

2.3. Kurkumin

Curcuma longa Zingiberaceae (zencefil) familyasından olup Asya ülkelerinde yaygın olarak yetiştirilen bir bitkidir. Kurutularak toz haline getirilen zerdeçal köklerinin özü, kurkumin bileşenlerinden oluşan kurkuminoidleri de içerir. Zerdeçalın Asya ülkelerinde en az 2500 yıldır çeşitli hastalıkların tıbbi tedavilerinde yaygın olarak kullanıldığı [76] ve geleneksel Çin tıbbında birçok hastalığın önlenmesinde ve tedavisinde pek çok faydası olduğu belirtilmektedir [77]. Zerdeçalın tıbbi tedavideki önemi öncelikle en aktif bileşen olan turuncu-sarı renkli kurkuminden [1,7-bis (4-hidroksi-3-methoksifenil) -1,6-heptadien-3,5-dion] gelir. Kurkuminin aktif bileşeni, karakteristik sarı renge sahip hidrofobik bir polifenol olan diferuloilmetandır. Kurkumin %77 ile en bol bulunan doğal analogdur, ardından bir metoksi grubunun bulunmadığı demetoksikurkumin (%17), ardından da her iki aril halkasında da metoksi grubunun bulunmadığı bis-demetoksikurkumin (%3) gelir [78]. Kurkuminin dihidrokurkumin, tetrahidrokurkumin (THC), oktahidrokurkumin (OHC), heksahidrokurkumin (HHC), kurkumin glukuronid ve kurkumin sülfat gibi birçok metaboliti vardır [79] (Şekil 7). Demetoksikurkumin ve bidemetoksikurkumin gibi kurkuminin doğal analoglarının, kurkumin ile benzer biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir [80]. Kurkumin asidik ve nötr pH'da suda çözünmez. Ancak aseton, metanol ve etanolde çözünür. Kurkuminin ışığa duyarlı olduğu belirtilmekte ve bu nedenle kurkumin içeren biyolojik numunelerin ışıktan korunması önerilmektedir.



Şekil 7. Kurkumin doğal analogları ve metabolitleri

Kurkuminin, polifenol yapısı ile birçok hastalığın patogenezinde rol oynayan moleküler hedefleri etkin bir şekilde modüle edebildiği gösterilmiştir. Kurkuminin antioksidan, anti-inflamatuar, anti-proliferatif, pro-apoptotik, anti-bakteriyel ve anti-kanser aktiviteleri dahil olmak üzere çok çeşitli hücresel özellikleri gösterilmiştir. Kurkumin'in birçok hastalığın gelişiminin neredeyse tüm aşamalarında sitokinleri, kinazları, enzimleri, transkripsiyon faktörlerini, büyüme faktörlerini, reseptörleri, metastatik ve apoptotik molekülleri düzenleyerek önemli roller oynadığı belirlenmiştir.

Kurkumin, birçok farklı hayvan (büyük ölçüde kemirgen) karsinogenez modelinde hem kemoterapötik hem de kemopreventif ajan olarak araştırılmıştır. Kolon kanseri için kemopreventif etkinliği özellikle iyi bilinmektedir. Kurkuminin, serviks, kolon, baş boyun, pankreas ve birçok kanser türünde etkinliği yapılan çalışmalarla gösterilmeye çalışılmıştır [81-85]. Ayrıca kurkuminin radyoterapinin

etkinliğini arttırdığı ve böylece tedavi sürecini hızlandırabileceği belirtilmektedir [86].

Enflamasyon ve oksidatif hasar ile karakterize edilen Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda, kurkuminin antioksidan, antiinflamatuvar özellikleri ile bilişsel fonksiyonları iyileştirebildiği, β -amiloid plakları ve mikrogliya oluşumunu azaltarak çeşitli terapötik faydalar sağladığı belirtilmiştir [87].

Sahebkar ve arkadaşları [88], kurkuminoidlerin, kardiyovasküler hastalığın habercisi ve bağımsız risk faktörü olan dolaşımdaki C-reaktif protein düzeylerini azaltabileceğini bildirmiştir. Kurkuminin ayrıca miyokard enfarktüsü ve ateroskleroza karşı da etkili olduğu, trigliserit düzeylerini, LDL-K'yi ve total kolesterolü azalttığı gösterilmiştir [79, 89, 90] Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, tuz duyarlılığı ve hipertansif kalp hastalığı olan sıçanlara 50 mg/kg kurkumin uygulanmasının sistolik fonksiyonu geliştirdiği ve koroner yetmezliği önlediği yönünde veriler elde edilmiştir [91].

Suskind ve arkadaşları [92] tarafından Crohn ve ülseratif kolitli hastalarla yapılan bir çalışmada kurkuminin üç hafta boyunca günde iki kez 500 mg kapsül olarak kullanılması sonucunda hastalık semptomlarında iyileşme sağlandığı belirtilmiştir.

Diabetes mellitus, karaciğer, kalp, beyin ve böbrekleri etkileyen bir sağlık sorunudur. Tip II diyabet gelişiminin birincil nedeninin inflamasyon olduğu ve diyabetin başlangıcında ve ilerlemesinde çeşitli inflamatuvar sitokinlerin, transkripsiyon faktörlerinin ve enzimlerin önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Ghorbani ve arkadaşları [93], kurkuminin, hepatik glukoz üretimini azaltma,

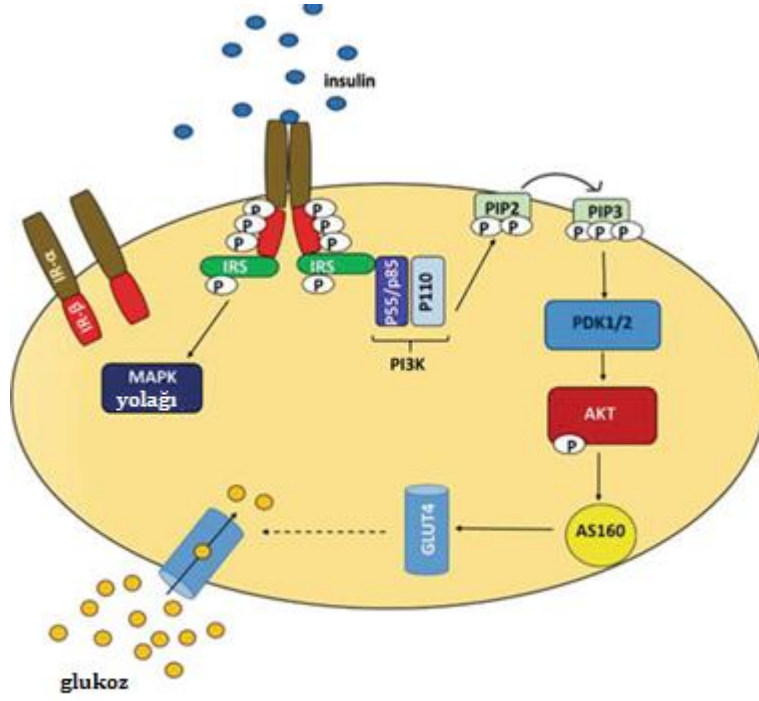
hiperglisemiden kaynaklanan inflamatuvar yanıtı baskılama, GLUT 2, GLUT 3 ve GLUT 4 gen ekspresyonunu arttırma, hücrelerin glukoz alımını arttırma ve AMPK'yi aktive etme gibi özelliklere sahip olduğuna dikkat çekmiş; ve böylece insülin direncini azaltarak kan şekerini düşürebileceğini ortaya koymuştur . Ayrıca bu nedenlerle kurkuminin antihiperglisemik ve insülin duyarlılığı üzerinde arttırıcı bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Ancak çalışmamızda belirlediğimiz PI3K/Akt ve AMPK yollarına ait enzim ve proteinlerin detaylı olarak bir arada incelendiği bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Biz bu nedenle fruktoz ile indüklediğimiz insülin direncinde rat modellerinde belirtilen yollara ait IRSser, IRStotal, PI3K, fosfatidilinozitol 3,4,5- trifosfat (PIP3), Akt ve AMPK gibi parametreleri detaylı incelemeyi planladık.

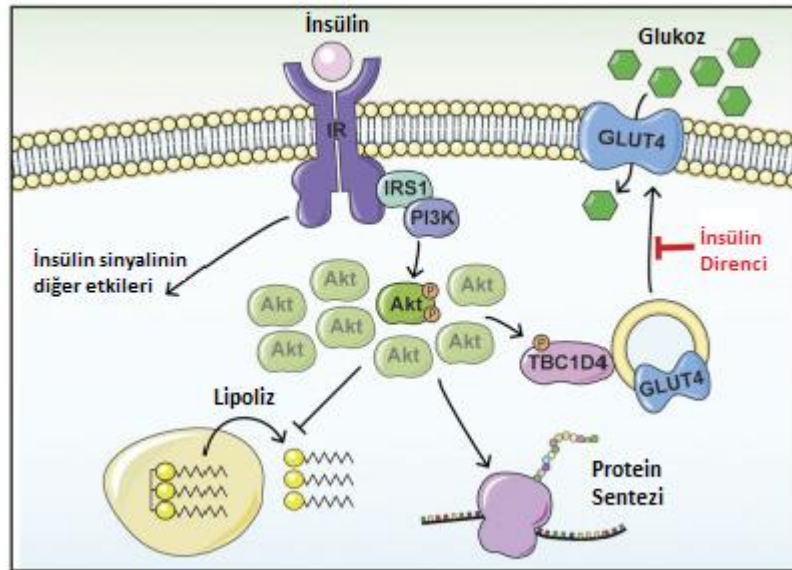
2.4. Proksimal İnsülin Sinyali: İnsülin Reseptörü ve Doğrudan Substratları

İnsülin, pankreasın ekzokrin kısmında bulunan Langerhans adacıklarının beta hücreleri tarafından üretilen bir hormondur. İnsülin, bilinen tüm fizyolojik etkilerini, hedef hücrelerin plazma membranı üzerindeki insülin reseptörüne (IR) bağlanarak gösterir [94]. İnsülin reseptörü, hücre dışı bir α -alt birimi (135 kDa) ve bir transmembran β -alt biriminden (95 kDa) oluşan bir glikoproteindir, α -alt biriminin β -alt birimlerinin tirozin kinaz aktivitesini inhibe ettiği bir allosterik enzimdir [95]. A ve B olmak üzere iki IR izoformu vardır, ancak B izoformu insülin için çok daha spesifiktir; farklılaşmış karaciğer, kas ve beyaz yağ dokuda (WAT) ifade edilen birincil izoformdur; ve bu nedenle insülinin çoğu metabolik etkisine aracılık ettiği düşünülmektedir. İnsülin hücre zarındaki insülin reseptörüne bağlandığında insülin reseptör tirozin kinazı aktive eder. İnsülin reseptör substrat proteinleri IRS1 ve IRS2, insülin reseptör tirozin kinazın anahtar hedefleridir ve metabolizmanın hormonal kontrolü için gereklidir [96]. Sonrasında, insülin

reseptör substrat-1 ve insülin reseptör substrat-2 tirozinin fosfatlanmasıyla aktif hale gelir. Fosfatidilinozitol-3 kinaz (PI3K) ve guanintrifosfataz insülin aracılığıyla aktive olan iki ana yolak enzimleridir. Aktif IRS1 ve IRS2 ile bu enzimler de fosfatlanarak uyarılır. Fosforile PI3K, fosfatidilininozitol 4,5-difosfatın (PIP2) ve fosfatidilininozitol 3,4,5- trifosfatın (PIP3) dönüşümünü katalizler. Sonrasında ise fosfoinozit bağımlı protein kinazı (PDK1/PDK2) aktifler ve böylelikle Akt de fosfatlanmış olur. Aktive edilmiş AKT, çeşitli fonksiyonel yollarda birçok aşağı akış substratını fosforile eder, bu da onu insülin sinyallemeinde kilit bir düğüm haline getirir (Şekil 8). Akt'nin fosfatlanması GLUT4 translokasyonunun yükselmesi, glikojen sentezi, protein sentezi, yağ asitlerinin sentezi ve bunun yanı sıra apoptozis ve hepatik glukoneogenezisin inhibe olmasına aracılık eder (Şekil 9). Bu metabolik etkilerin bazıları, Foxo1'in Akt fosforilasyonu yoluyla çalışır. Foxo1, bazı glukoneojenik ve lipojenik genlerin transkripsiyonu için çekirdekte gereklidir. Akt tarafından fosforilasyon üzerine, Foxo1 çekirdekten sitozole yer değiştirir, karaciğerde glukoz üretimini baskılar ve kalpte hücre sağkalımını destekler [97]. Bu fosforilasyon olaylarının çoğu, insülin duyarlılığının göstergeleri olarak kullanılır [98]. Pankreasta, Foxo1, beta hücre farklılaşmasını ve insülin salgılanmasını teşvik eder [99]. Ayrıca Ras→MAP kinazlarının aktivasyonu, insülinin mitogenez ve hücresel büyüme üzerindeki etkisine aracılık eder.



Şekil 8. İnsülin sinyal yolağı [100]



Şekil 9. İnsülin sinyali etkisinde Akt fosfatlanması ve etkileri [101]

2.5. Hepatik İnsülin Sinyali: Etkileyenler ve Etkiler

Karaciğer; karbonhidrat, lipid ve protein metabolizması, ksenobiyotik metabolizması ve detoksifikasyon dahil olmak üzere tüm vücut metabolizmasının koordinasyonunda merkezi bir rol oynayan bir organdır. Glukoneogenez, glikojenoliz, glikojenez, lipogenez, kolesterol sentezi, fibrinojen gibi pıhtılaştırıcı faktör sentezi, amonyağın üreye dönüştürülmesi, safra üretimi ve atılımı, plazma protein sentezi ve C-reaktif protein gibi inflamatuvar proteinlerin üretimi karaciğerin temel işlevlerinden bazılarıdır [102]. Bu karaciğer fonksiyonlarının çoğu, insülin gibi hormonlar tarafından sıkı metabolik kontrol altındadır.

2.5.1. Hepatik insülin direnci ve artan glukoz üretimi

Tip 2 DM ve MetS hastalarında yaygın olarak gözlenen açlık hiperglisemisi, periferik dokular tarafından azalan glukoz alımından ve insülin etkisine dirençli hepatositler tarafından artan glukoz üretiminden kaynaklanır. Açlık durumunda ve insüline duyarlı koşullar altında karaciğer, beyin için gerekli olan glukozu glikojenoliz veya glukoneogenez yoluyla sağlar. Tersine, tok haldeyken, pankreas β hücrelerinden salgılanan insülin, glikojenoliz ve glukoneogenezin inhibisyonu yoluyla karaciğer hücrelerinde glukoz üretimini baskılayabilir. Hepatik insülin direnci, hepatositlerde insülin tarafından glukoz üretiminin bozulmuş baskılanması anlamına gelir. İnsülin, iki anahtar glukoneojenik enzimi, fosfoenolpiruvat karboksikinazı (PEPCK) ve glukoz-6 fosfatazı (G6Pase) inhibe ederek glukoz üretimini azaltır. Genel olarak, normal kişilerde glukagon seviyeleri glukoz ve gıda alımı ile aşağı regüle edilirken, diyabetik hastalar glukoz veya gıda alımına yanıt olarak glukagonu uygun şekilde azaltamazlar. Hiperglisemi ile glukagon sekresyonunun baskılanmaması, hem glukoneogenez hem de glikojenolizi uyatarak hepatik glukoz çıkışını etkiler.

2.5.2. Hepatik insülin direnci ve dislipidemi

İnsülin direncinin, diyabetik olmayan insüline dirençli kişilerde bile, dislipidemi gelişiminde merkezi bir rol oynadığını gösterilmiştir [103]. Bu dislipidemi, artmış plazma trigliserit ve LDL-K seviyeleri ve düşük HDL-K seviyeleri ile karakterizedir [104]. Hepatik insülin direncinin önemli ve erken bir komplikasyonu hepatik VLDL-K üretiminin indüklenmesidir. VLDL'nin metabolizması, çoğunlukla insülin tarafından düzenlenen çeşitli proteinlerin koordineli işlevleri ile düzenlenir. VLDL'nin oluşumu, hepatositlerin kaba endoplazmik retikulumunda mikrozomal trigliserit transfer proteini (MTP) tarafından apolipoprotein B100'ün (apoB100) lipidasyonu ile başlatılır ve bu da trigliseritten fakir VLDL partiküllerinin (VLDL2) oluşumuna yol açar [105]. Trigliseritten fakir VLDL, olgun ve trigliseritten zengin VLDL1 oluşturmak için ayrıca lipide edilebilir [106]. Karaciğerden salgılanan VLDL, periferik dokularda lipoprotein lipaz tarafından ara yoğunluklu lipoproteine (IDL) dönüştürülür. IDL, LDL reseptör aracılı alımla uzaklaştırılabilen kolesterolden zengin LDL'yi oluşturmak için hepatik lipaz tarafından daha da hidrolize edilebilir.

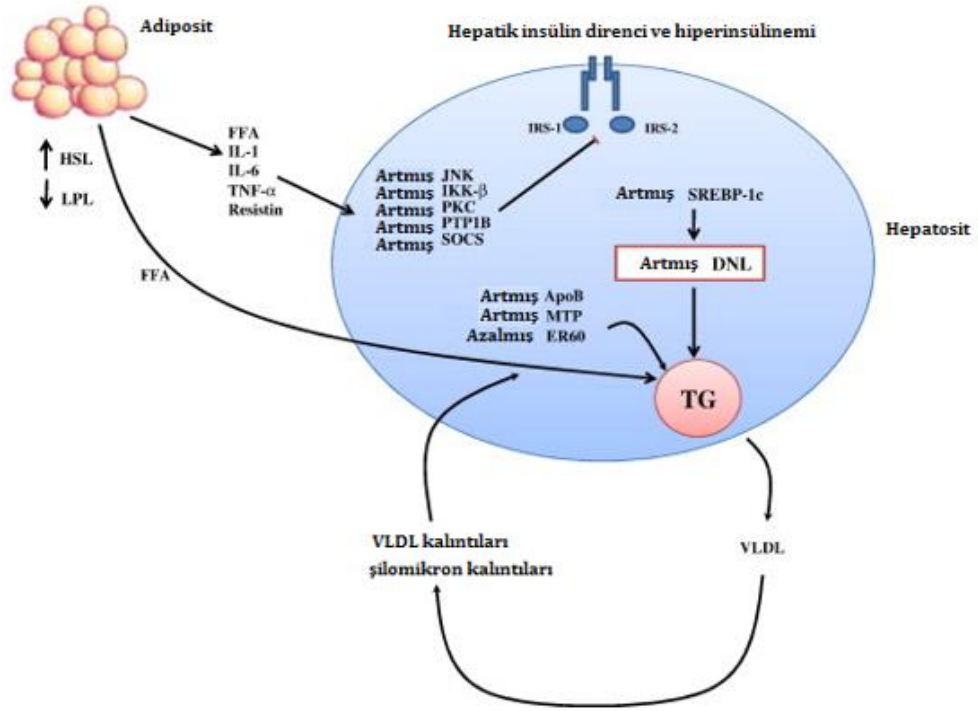
2.5.3. Lipoprotein metabolizmasının insülin ile regülasyonu

İnsülin, lipid metabolizmasının düzenlenmesinde merkezi rol oynayan anabolik bir hormondur. Lipid sentezini uyarır ve lipolizi inhibe eder. Yağ dokusunda insülin, hormona duyarlı lipoprotein lipaz aktivitesini azaltır, bu da yağ asidinin dolaşıma salgılanmasının azalmasına neden olur. İnsülinin ayrıca yağ dokusundan karaciğere FFA akışını azaltarak dolaylı olarak ve hepatositlerde apoB'nin translasyon sonrası bozunmasını artırarak ve karaciğerde MTP ekspresyonunu azaltarak VLDL'nin üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir. [107]. Bununla birlikte, insülin, başlıca lipojenik transkripsiyon faktörü olan sterol yanıt elemanı bağlayıcı proteinlerin artan transkripsiyon, olgunlaşma ve aktivitesi yoluyla de novo lipogenezi uyarır.

SREBP1-c, yağ asitleri, trigliseritler, kolesterol ve fosfolipidlerin sentezi ve alımında yer alan birkaç genin ekspresyonunu aktive eder [108].

2.5.4. İnsülin direncinde lipoprotein metabolizması

Kısmen yağ dokusundan karaciğere artan serbest yağ asidi akışına bağlı olarak insülin direncinde hepatik lipid içeriği artar. Şilomikron kalıntılarının karaciğer tarafından alımının artması ve şilomikronlar yoluyla taşınan diyet serbest yağ asitleri, hepatik lipid içeriğinin artmasına neden olur. İnsüline dirençli durumlarda, insülinin, adipoz doku trigliserit mobilizasyonu için hız sınırlayıcı enzim olan hormona duyarlı lipazı baskılayamaması, lipolizin artmasına ve karaciğer dahil diğer dokulara serbest yağ asidi akışının artmasına neden olur. İnsülin direnci ve tip 2 DM hastalarında gözlemlendiği gibi artan dolaşımdaki serbest yağ asidi düzeylerinin ve karaciğere artan serbest yağ asidi akışının bu kişilerde VLDL aşırı üretimine yol açtığı bilinmektedir. İnsülin direnci durumlarında VLDL aşırı üretiminin mekanizması Şekil 10'da gösterilmektedir. Ayrıca, FFA seviyelerindeki artış, insülin sinyalini azaltabilir ve insülin direncini şiddetlendirebilir. Seramidler ve diasilgliserol gibi FFA'ların birkaç hücre içi metabolitinin, insülin sinyal yolunu zayıflatabildiği de gösterilmiştir [109].



Şekil 10. İnsülin direnci durumlarında VLDL aşırı üretiminin mekanizması[102].

2.6. Yağ Dokuda İnsülin Sinyali: Etkileyenler ve Etkiler

Yağ dokusu, obezite ile ilişkili insülin direncinin patogeneğinde merkezi bir rol oynar. Yağ dokusunun ana rolü, enerjiyi triaçilgliseroller şeklinde depolamaktır. Aynı zamanda enerji ve glukoz homeostazını sürdürmek için anahtar öneme sahip metabolik, parakrin ve endokrin aracılığı salgılar [110]. Yağ dokusu, açlık sırasında lipoliz yoluyla dolaşımdaki FFA'nın birincil kaynağıdır, böylece β -oksidasyon yoluyla enerji metabolizması için substratlar üretir. Ayrıca, subkutan depo ile karşılaştırıldığında, WAT metabolik olarak çok aktif bir dokudur ve dolaşımdaki yağ asitlerinin kaynağı olarak önemli bir rol üstlenir. Serbest yağ asitleri, subkutan yağdan çok visceral yağdan çok daha kolay serbest bırakılır [37]. Fizyolojik koşullar altında, insülin hormona duyarlı lipazın (HSL) aktivitesini inhibe eder, bu nedenle yüksek glukoz konsantrasyonunun varlığında FA'lerin salınımı sınırlıdır. Yağ dokusunda insülin direnci, esas olarak, yüksek glukoz seviyelerine rağmen plazma

FFA konsantrasyonunun artmasıyla sonuçlanan, insülinin HSL'yi inhibe etme yeteneğinin bozulması ile kendini gösterir. FA'ler serbest bırakıldıktan sonra, β -oksidasyon sürecinde bir enerji kaynağı olarak veya diğer lipidlerin de novo sentezi için bir substrat olarak kullanıldıkları diğer periferik dokular (örneğin iskelet kası) tarafından alınır.

Obeziteye, artan plazma FFA konsantrasyonları eşlik eder, bu da glukoz homeostazının düzenlenmesinde yer alan dokular (iskelet kasları, karaciğer ve pankreas) tarafından yoğun bir şekilde alınmasına yol açar. FFA'nın kaynağı hem subkutan hem de viseral yağ dokusu olabilir [111]. Viseral adipositlerin daha yüksek lipolitik aktivitesi nedeniyle, hem obez hem de zayıf hastalarda gözlenen subkutan yağla kıyasla WAT'tan FFA salınımı daha hızlıdır. Artan yağ asidi alımı, hücrenin onları mitokondride okside etme yeteneğini aşan, hücre içi lipid birikimine yol açar. Bu, insülin duyarlılığının azalmasını ve pankreastaki β hücrelerinin kademeli atrofisini destekleyen lipotoksisite adı verilen bir fenomenin gelişmesine neden olabilir. Geçmişte, insülin direncinin triaçilgliseroller tarafından indüklendiği varsayıldı. Bununla birlikte, şu anda dikkatler, esas olarak, insülin yolunu doğrudan etkileyen enzimleri inhibe edebilen veya aktive edebilen biyolojik olarak aktif lipitlere odaklanmıştır. Bu lipidler arasında uzun zincirli açıl-CoA (LCACoA) [112] seramidler (Cer) [113, 114] ve DAG [115] bulunur. Bununla birlikte, daha yakın zamanlarda, dikkatler yağ dokusunun endokrin işlevine odaklanmıştır. Yağ dokusu tarafından salgılanan adipositokinlerin , iskelet kasları ve karaciğer gibi diğer periferik dokuların insülin duyarlılığını etkilediği gösterilmiştir [116, 117]. Bu faktörler arasında leptin, adiponektin, tümör nekroz faktörü (TNF)- α , IL-6 ve plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI)-1 bulunur [118]. Hem deri altı yağ dokusu (SAT) hem de viseral yağ (WAT), benzersiz bir adipositokin profilinin üretimi ve salgılanması ile karakterize edilir [119]. WAT'da daha yüksek interlökin 6 (IL-6) ve PAI-1 konsantrasyonları gözlenirken, SAT'de daha yüksek leptin ve adiponektin seviyesi gözlenmiştir [120].

Leptin esas olarak adiposit hormonu olarak bilinen adipositlerden salgılanan adipokindir ve enerji homeostazını düzenlemede önemli bir rol oynar [121]. Obezite geni tarafından kodlanan 16-kilodalton (kDa) peptid bir tokluk hormonu olan leptin, açlığı engelleyerek enerji dengesini düzenler. Leptinin tokluk etkisi, kan-beyin bariyerini geçip, birincil açlık merkezi olan hipotalamusu hedefleyerek elde edilir [122]. Leptin ayrıca mide, kas ve bağırsak gibi yağ olmayan diğer organlarda da üretilir veya bulunur [123]. Leptin iştahı engellediği ve kilo kaybını desteklediği için, obezite ve buna bağlı bozuklukların tedavisi için yaygın olarak terapötik bir hedef olarak kabul edilmiştir. Rekombinant leptin, klinik tedavide geliştirilmiş ve uygulanmıştır. Ancak obez hastaların çoğu leptin direnci gösterir. Bu nedenle, klasik leptin ile tedavi, genel popülasyonda terapötik potansiyele sahip olmayabilir [124].

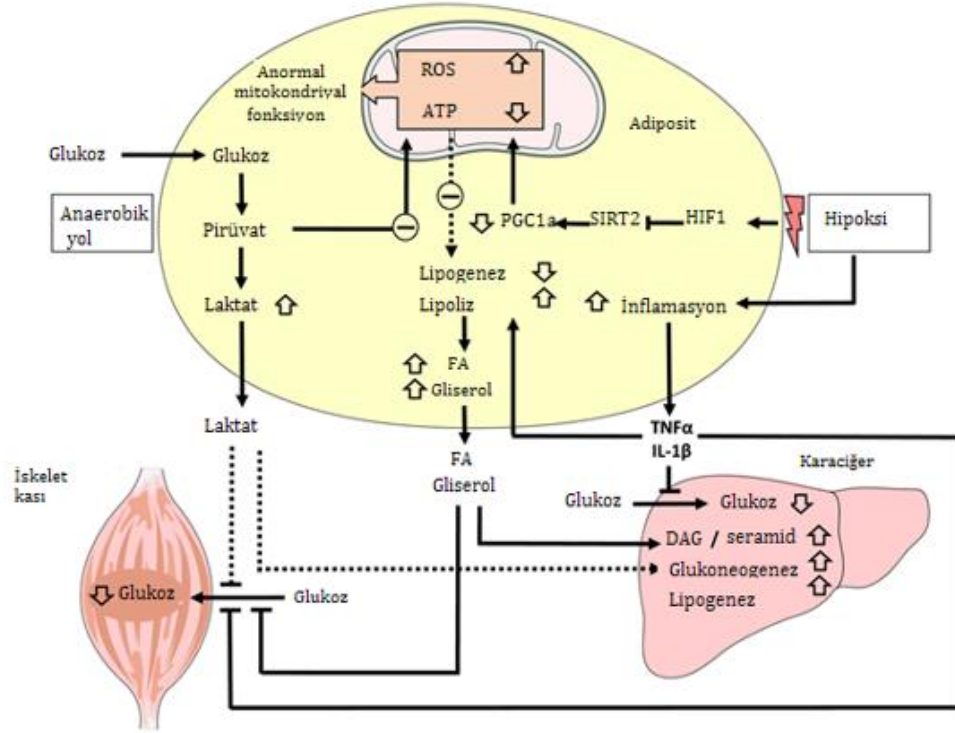
Adiponektin, 30 kDa'lık bir adipokindir ve insülin duyarlılaştırıcı etki, kardiyovasküler koruma ve anti-inflamasyon dahil olmak üzere birçok faydalı etki gösterir [125]. Adiponektin başlıca üç türde bulunur: yaklaşık 67 kDa'lık düşük moleküler ağırlıklı bir trimer, ~120 kDa'lık bir heksamer ve >300 kDa'lık yüksek moleküler ağırlıklı bir multimer. Yüksek moleküler ağırlıklı adiponektinin en güçlü insülin duyarlılaştırıcı aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir [126]. Dolaşımdaki adiponektin, birden fazla dokuyu hedefleyebilir ve enerji homeostazının yanı sıra insülin duyarlılığını düzenleyebilir. Karaciğer, adiponektinin birincil hedef dokusudur ve adiponektinin karaciğerdeki etkisi, ağırlıklı olarak insülin duyarlılaştırıcı etkisine katkıda bulunur. Adiponektinin AMPK'yı aktive ettiği ve fosfoenolpiruvat karboksilaz ve glukoz-6-fosfataz gibi glukoneojenik enzimlerin ekspresyonunu azaltarak glukoneogenezin baskılanmasına yol açtığı gösterilmiştir. Ek olarak, adiponektin, AMPK'den bağımsız olarak hepatik ve tüm vücut insülin duyarlılığını geliştirerek seramidaz aktivitesini arttırabilir ve hepatik seramid içeriğini baskılayabilir [127]. Adiponektinin insülin duyarlılaştırmasının yanı sıra, termojenezi ve enerji homeostazını düzenlemekteki diğer bir işlevsel rolü de vardır [128]. Adiponektinin, AMPK, Ca^{2+} , PPARa ve seramid gibi adiponektin

reseptörlerinin akış aşağısındaki çoklu sinyal yolları aracılığıyla insülin duyarlılaştırıcı etki gösterdiğini belirten çalışmalar vardır [129].

Obez insanların yağ dokusu, progresif immün hücre infiltrasyonu ile düşük dereceli inflamasyon ile karakterizedir. Bağışıklık hücreleri, tümör nekroz faktörü α (TNF α) ve interlökin-1 β (IL-1 β) gibi proinflamatuvar sitokinleri serbest bırakmak için FA tarafından uyarılır ve bu da adipositlerde lipolizi aktive eder [130]. Yağ dokusunda artan lipoliz, uzak dokularda insülin direncine neden olan lipidlerin sistemik kullanılabilirliğini artırır [131]. İnsüline dirençli insanlarda, yağ dokusundaki aşırı lipoliz, sadece gliserol ve FA salınımını uyarmakla kalmaz, aynı zamanda sitokin sekresyonunu da değiştirir. Bu sinyaller, ektopik lipid birikimini ve karaciğer ve iskelet kasında insülin direnci ile sonuçlanan düşük dereceli inflamasyonu teşvik eder.

İnsan beyaz yağ dokusundaki anormal mitokondriyal fonksiyon, iskelet kası ve karaciğerde insülin duyarlılığını etkileyen otokrin, parakrin ve endokrin araçlarının salgılanmasını bozar. Bozulmuş mitokondriyal fonksiyon, mitokondride azalmış piruvat dönüşümünü telafi etmek için beyaz yağ dokusunda anaerobik enerji metabolizmasını artırır. Plazmada artan açlık laktat seviyesi hepatik glukoneogenezi indükleyebilir ve iskelet kasında glukoz alımını bozabilir. İnsüline dirençli obez insanlar, beyaz yağ dokusunda iltihaplanma gösterir, bu da ayrıca beyaz yağ dokusunda artan lipoliz ile artan sitokin salınımına yol açar. Enflamasyon ve adiposit hipertrofisi ayrıca beyaz yağ dokusunda hipoksiye yol açabilir, hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 a'nın (HIF1a) aktivasyonuna ve ardından sirtuin 2'nin (SIRT2) inhibisyonuna yol açar, ardından peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör-y koaktivatörü 1-a'nın azalmış deasetilasyonu, bozulmuş mitokondriyal fonksiyona yol açar. Anormal mitokondriyal fonksiyon, azalmış lipogenez ve beyaz yağ dokusunda artan lipoliz, lipid metabolitlerinin (gliserol ve yağ asitleri) ve sitokinlerin (TNF α ve IL-1 β) salınımını artırır, bu da ektopik lipid

birikimini teşvik eder ve karaciğer ve iskelet kasında glukoz alımını azaltır. (Şekil 11)

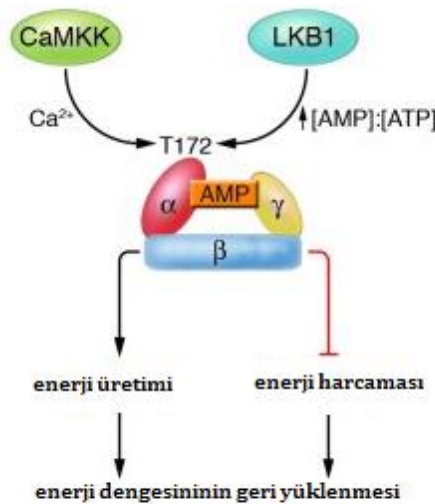


Şekil 11. İnsan beyaz yağ dokusunda bozulmuş mitokondriyal fonksiyonun ve insülin direncinin sistemik sonuçları. [132]

2.7. AMPK

AMP ile aktive olan protein kinaz, hem hücresel hem de tüm vücut seviyelerinde enerji dengesinin düzenlenmesinde merkezi rolü olan bir serin/treonin protein kinazdır [133]. AMPK, katalitik bir α alt birimi ve düzenleyici β ve γ alt birimlerinden oluşan heterotrimerler olarak bulunur [134]. İnsanlarda bunların her biri, farklı genler tarafından kodlanır ve en az on iki olası heterotrimerik kombinasyon olacak şekilde çoklu izoformlar olarak bulunur [135]. AMPK'nin aktivitesi, hücresel adenin nükleotidlerindeki değişikliklere yanıt olarak

artar. Spesifik olarak, γ izoformu içindeki spesifik kalıntılara bağlanmak için rekabet eden ATP'de bir azalma ve AMP ve ADP'de yükselmeler, yukarı akış kinaz serin-treonin karaciğer kinazı (LKB1) tarafından α katalitik alt birimi içindeki Thr172'de AMPK'nin arttırılmış aktifleştirici fosforilasyonuna yol açar [136]. Hücre içi AMP/ATP oranında (örn. hipoksi , glukoz yoksunluğu) ve kalsiyum konsantrasyonunda değişikliklere yol açan koşullar ve ayrıca çeşitli hormonların, sitokinlerin ve adipokinlerin etkisi de dahil olmak üzere bir dizi fizyolojik sürecin AMPK'yi uyardığı gösterilmiştir [137]. Adenin nükleotidlerindeki değişikliklere ek olarak, bazı dokularda kalsiyum/kalmodulin bağımlı protein kinaz kinaz 2'nin (CAMKK2) aktivasyonu yoluyla kalsiyum da AMPK Thr172 fosforilasyonunu arttırabilir (Şekil 12). AMPK ayrıca karbonhidrat mevcudiyetindeki değişikliklere de yanıt verir. Glikojen, β -izoformunu bağlayarak AMPK aktivitesini bastırır. Düşük glukoz, aldolaz ve fruktoz-1,6 bifosfat yoluyla AMPK'yi arttırır [138-140]. AMPK aktive olduğunda, ATP'nin üretilmesinde yer alan katabolik enzimlerin aktivitesini arttırırken, ATP tüketen makromoleküllerin sentez ve depolama süreçlerinde yer alan anabolik enzimlerin aktivitesini azaltır. Böylece, hücre büyümesini yavaşlatırken aynı zamanda AMPK, enerji durumunun tehlikeye girdiği hücrelerde enerji dengesinin yeniden sağlanmasına yardımcı olur.

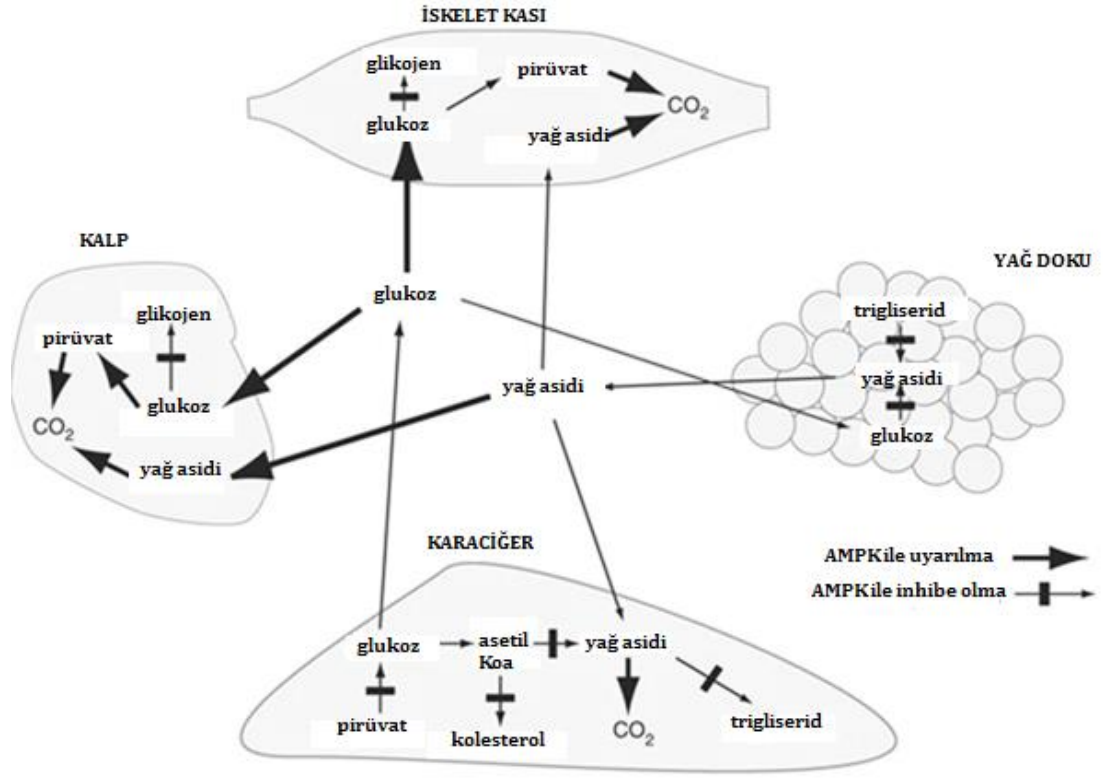


Şekil 12. AMPK'nin yapısı ve düzenlenmesi.

2.7.1. AMPK aktivasyonunun fizyolojik etkileri

AMPK, makromoleküllerin parçalanması yoluyla ATP'yi yeniden üreten yolları eşzamanlı olarak aktive ederken, ATP tüketen biyosentetik yolları akut olarak inhibe ederek metabolik stres sırasında ATP seviyelerini eski haline getirir.

AMPK aktivasyonunun çok sayıda doku üzerinde etkileri vardır (Şekil 13). İskelet kaslarında AMPK aktivasyonu, protein ve glikojen sentezini inhibe ederken, glukoz alımını, yağ asidi oksidasyonunu, GLUT4 translokasyonunu ve mitokondriyal biyogenezi uyarır [141]. Benzer şekilde kalp kasında AMPK aktivasyonu glukoz alımını, FA oksidasyonunu ve glikolizi uyarır [142]. AMPK, karaciğerde glukoz alımını ve FA oksidasyonunu uyarır, aynı zamanda glukoneogenezi, ayrıca kolesterol, FA ve protein sentezini inhibe eder [143]. Yağ dokusunda FA oksidasyonunu uyarır ve FA sentezini ve lipolizi azaltır. AMPK, pankreas β -hücrelerinden insülin salgılanmasını engeller, ve hipotalamusta besin alımını artırma sinyali verir [144]. Periferik AMPK aktivasyonunun neredeyse tüm fizyolojik etkileri, tip 2 DM 'li bir hasta için faydalı olacaktır. Bu nedenle, AMPK'nin farmakolojik aktivasyonu, son 20 yılda ilaç keşfi ve geliştirme için görünüşte umut verici bir hedef olmuştur.



Şekil 13. AMPK aktivasyonunun etkileri

Karaciğer, kalp, iskelet kası ve yağ dokusunda AMPK aktivasyonunun neden olduğu karbonhidrat ve lipid metabolizmasındaki akut ve uzun vadeli değişikliklerin özeti. AMPK aktivasyonu tarafından uyarılan işlemler kalın oklarla gösterilmiştir, AMPK aktivasyonu tarafından inhibe edilenler ise çubuklu ince oklarla gösterilmiştir[145].

Glukoz ve lipidler, hücrelerde enerjinin sağlanması ve depolanması için ana kaynaklardır. AMPK, parçalanmalarını teşvik ederek ve sentezlerini, depolanmalarını engelleyerek ATP seviyelerini arttırır. AMPK, sırasıyla GLUT4 ve GLUT1 glukoz taşıyıcılarının translokasyonunu ve hücre yüzeyi seviyelerini kontrol eden TBC1D1'i (TBC alan ailesi, üye 1) ve TXNIP'yi (tioeredoksin etkileşimli protein) fosforile ederek glukoz alımını destekler [135]. AMPK ayrıca 6-fosfofrukto-2-kinaz/fruktoz-2,6-bifosfat 3'ü fosforile ederek bazı doku tiplerinde glikolizi akut olarak düzenlerken, glikojen sentaz'ı inhibe ederek bazı

dokularda glukoz depolanmasını engeller [135]. AMPK ayrıca, ACC1 ve ACC2 üzerindeki etkileriyle birlikte hücrede lipid ve sterol sentezinin önceden programlanmasına yol açan HMGCR'yi (3-hidroksi-3-metil-glutaril-coA redüktaz) fosforile eder ve inhibe eder. AMPK ayrıca HSL ve ATGL (adiposit-trigliserit lipaz) gibi lipazları fosforile ederek lipid Emilimini ve salınımını destekler [56]. AMPK, ACC'yi Ser79'da (inhibitör bölge) fosforile ederek, asetil-KoA'nın malonil-KoA'ya dönüşümünü önler, bu da uzun zincirli FA'lerin oksidasyon için mitokondriye girmesine izin verir (Şekil 14).

Sirtuinler, hücrel redoks durumundaki değişiklikler (NAD + /NADH oranı) ve NAD sentezi için hız sınırlayıcı enzim olan nikotinamid fosforibosiltransferazdaki artışlarla düzenlenen bir histon/protein deasetilaz grubudur [146]. Bu ailenin en çok çalışılan üyesi olan Sirtuin 1 (SIRT1), aşırı beslenmeye, açlığa, enerji harcamasındaki değişikliklere ve egzersize yanıt verir [147]. SIRT1, LKB1'in çekirdekten sitozole translokasyonunu teşvik eden yukarı akış kinaz LKB1'i deasetilleyerek AMPK'yi aktive edebilir. Benzer şekilde, AMPK, NAD/NADH oranını arttırarak SIRT1'i aktive edebilir. Bu bulgular hücrenin enerji ve redoks durumlarını birbirine bağlayan bir AMPK-SIRT1 döngüsünün varlığını ortaya koymaktadır [148]. SIRT1 ve AMPK, hücre içine glukoz girişinde insülinin bağımsız rol oynayabilmektedirler [149].

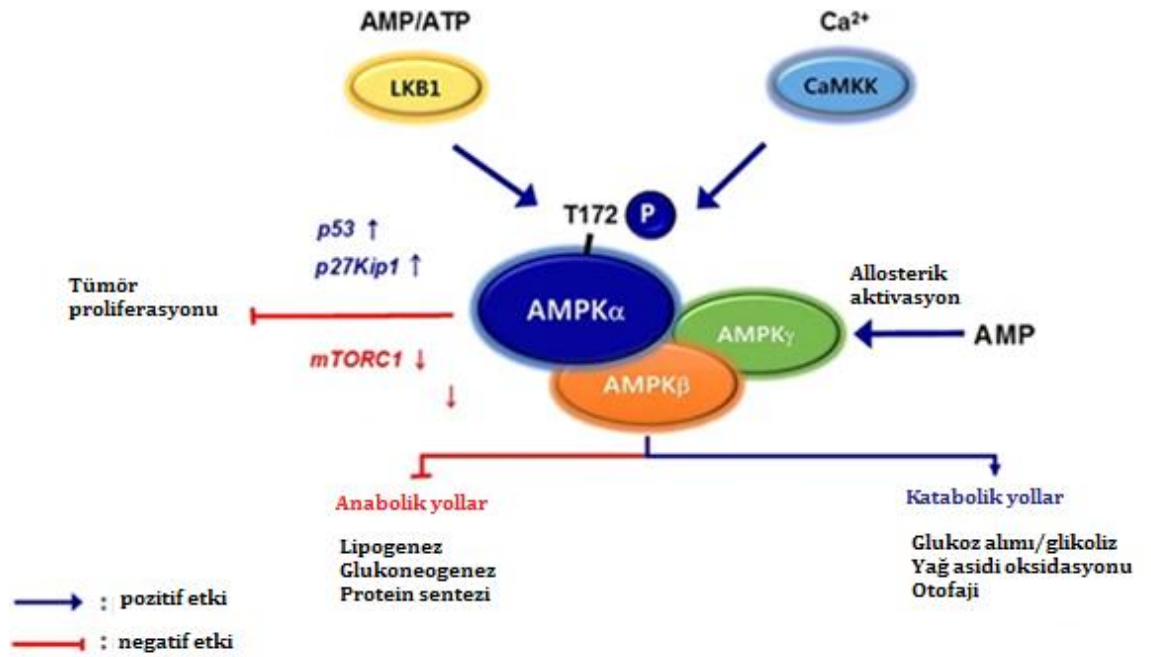
Otofaji, proteinlerin, organellerin ve diğer makromoleküllerin parçalanmak üzere lizozomlara iletiildiği hücrel bir süreçtir. Hücreler tarafından hem normal devir için hem de enerji kıtlığına tepki olarak besin üretimi için kullanılan bir süreçtir. AMPK, unc-51 benzeri otofajiyi aktive eden kinaz 1 (ULK1)'in doğrudan aktivasyonu yolu ile, aynı zamanda Rapamisin kompleksi I (mTORC1)'i negatif olarak düzenleyerek ve ULK1 üzerindeki inhibitör etkisini bloke ederek otofajiyi teşvik eder [150, 151].

Hücre büyümesi ve protein translasyonu, hücrelerde ATP'nin ana tüketicileridir. mTOR, birçok biyosentetik yolu, özellikle protein translasyonunu aktive eden ve hücreyel büyümeu uyaran besin ve büyüme faktörü sinyallerinin merkezi bir entegratörüdür [152]. Birçok düzeyde, AMPK ve mTORC1, hücreyel metabolizmanın düzenlenmesinde antitetik olarak işlev görür [153]. AMPK, mTORC1'in bir negatif düzenleyicisi olan TSC2'nin (tüberoskleroz kompleksi 2) aktivasyonu ve mTORC1 kompleksinin bir alt birimi olan Raptor'un (mTOR'un düzenleyici ile ilişkili proteini) inhibisyonu yoluyla olmak üzere iki yönlü bir mekanizma ile mTORC1 aktivitesini inhibe eder [154].

AMPK aktivasyonu ile ilişkili terapötik olarak faydalı etkiler göz önüne alındığında, birçok AMPK aktive edici bileşik tanımlanmıştır [135]. Bu bileşiklerin AMPK'yi aktive ettiğı mekanizmalar genel olarak üç sınıfa ayrılabilir: (1) hücre içi AMP ve ADP'yi arttırarak, dolaylı olarak AMPK'yi aktive eden ajanlar; (2) AMP'yi taklit eden ve böylece y alt biriminde AMPK'yi bağlayabilen bileşikler; ve (3) karbonhidrat bağlama modülü ve KD arasındaki arayüzü seçici olarak bağlayarak AMPK'yi aktive eden bileşikler.

Metformin, ortaçağ Avrupa'da bitkisel ilaçlarda kullanılan *Galega officinalis* bitkisinden elde edilen doğal bir ürün olan galeginden türetilmiştir [155]. Moleküler düzeyde, metformin karaciğerdeki mitokondriyal solunum zincirini inhibe ederek AMPK'nin aktivasyonuna yol açar, insülin duyarlılığını arttırır (yağ metabolizması üzerindeki etkiler yoluyla) ve cAMP'yi düşürür, böylece glukoneojenik enzimlerin ekspresyonunu azaltır. Metformin ayrıca karaciğer üzerinde, AMP tarafından fruktoz-1,6-bisfosfatazın inhibisyonunu içerebilen AMPK'den bağımsız etkilere sahiptir [156, 157].

AMPK aktivatörleri arasında pek çok bileşik de bulunmaktadır. Doğal bir fitokimyasal olan resveratrol, pAkt fosforilasyonunu ve aşağı akış AMPK aktivasyonunu arttırarak insüline dirençli adipositlerinde glukoz alımını arttırır [158]. Berberin, AMPK'yi dolaylı olarak aktive edebilen, doğal olarak oluşan bitki türevli bir bileşiktir. Berberin, yağ asidi oksidasyonunu uyarak ve lipojenik genleri inhibe ederek obez farelerde enerji tüketimini arttırabilir ve karaciğer fonksiyonunu iyileştirebilir [159]. Ayrıca berberinin artan reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi yoluyla AMPK fosforilasyonunu uyarak inflamatuvar siklo-oksijenaz 2 yolunu azalttığı ve kanser üzerinde olumlu etkilere sahip olabileceği gösterilmiştir [160]. Kurkumin, doğal olarak oluşan bir polifenoldür ve zerdeçalın aktif bileşenidir. Shehzad ve meslektaşları [161], 10 yıllık bir süre boyunca kurkumin çalışmalarını detaylandırdıkları bir incelemede, bu polifenolün, anti-inflamatuvar transkripsiyon faktörlerinin baskılanmasını, adiponektinin yukarı regülasyonunu ve glukoz ile etkileşimleri içeren çoklu anti-inflamatuvar ve insülin duyarlılaştırıcı etkilere sahip olduğu bulmuştur.



Şekil 14. AMP ile aktive olan protein kinazın (AMPK) fizyolojik rollerinin bir özeti.

2.8. İnsülin ve IGF-1 reseptörleri

İnsülin ve insülin growth faktör (IGF-1) biyolojik etkilerine insülin ve IGF-1 reseptörleri (IR ve IGF-1R) aracılığıyla aracılık eder.

2.9. IRS

α alt birimlerine ligand bağlanması sırasında, IR ve IGF-1R, β alt birimlerinde kinaz aktivitesinin konformasyonel değişiklik ile aktivasyonuna uğrar. Bu, β alt birimleri arasında transfosforilasyon ile sonuçlanır, kinazı daha da aktive eder ve insülin reseptör substratlarının alınmasına izin verir. IRS ailesi, IRS1, IRS2, IRS3, IRS4, IRS5/DOK4 ve IRS6/DOK5 olarak adlandırılan altı üyeden oluşur. Aile üyeleri doku dağılımları, biyolojik işlevleri ve dizi homolojileri bakımından farklılık gösterir [145]. IRS proteinleri, amino terminallerinde hem plekstrin homoloji (PH) hem de fosfotirozin bağlanma (PTB) alanları yoluyla membrana ve aktive edilmiş reseptörlere alınır. Daha sonra, Src-homoloji 2 (SH2) alanları içeren

hücre içi moleküller için bağlanma bölgeleri oluşturan çoklu tirozin kalıntıları üzerindeki aktive edilmiş reseptörler tarafından fosforile edilirler. IRS1 ve IRS2, yaşamdaki temel süreçleri düzenleyen farklı sinyalleşme ağlarında önemli bileşenlerdir. Bu süreçler, anabolik ve katabolik yolların düzenlenmesinin yanı sıra mitojenezi kontrol eden büyüme faktörüne bağlı yolları içerir. Ayrıca, IRS1 / 2, anti-apoptotik hayatta kalma yollarının bir parçasıdır. Tirozin fosforilasyonu, IR ve IRS aktivasyonu için gereklidir. IRS1/2'nin insülin reseptörü (IR) tarafından tirozin fosforilasyonu, fosfatidilinositol 3-kinazın (PI 3K) bağlanmasına ve aktivasyonuna ve ardından PKB'nin, atipik protein kinaz C'lerin (PKC) ve rapamisininin memeli hedefinin (mTOR) aktivasyonuna izin verir. Tirozin kalıntılarının yanı sıra IRS1 ve IRS2, post-translasyonel modifikasyonlarla, özellikle fosforilasyonla değiştirilebilen >200'den fazla serin/treonin kalıntısı içerir. IRS proteinlerinin serin ve treonin (Ser/Thr) fosforilasyonu, birincil olarak insülin sinyalinin azaltılmasında rol oynar. Ser/Thr kinazların aktivasyonu, insülin sinyal molekülleri üzerinde inhibitör fosforilasyona neden olur. Lipotoksisite, inflamasyon, hiperglisemi ve ardından oksidatif stresin yanı sıra mitokondriyal disfonksiyon ve ER stresi, hepsi Ser/Thr kinazların aktivasyonunda birleşir, IR, IRS proteinleri ve Akt'nin birden fazla kalıntı üzerinde inhibitör Ser/Thr fosforilasyonunu indükler ve insülin direncine neden olur. İnhibitör IRS-1 serin fosforilasyonu birçok farklı bölgede meydana gelmesine rağmen [162], bu modifikasyonlar üzerinde en iyi çalışılanı Ser-307'de meydana gelir [163]. Obez ve diyabetik farelerde IRS-1 Ser-307 fosforilasyonu artmıştır [70]. IRS proteinlerinin serin/treonin fosforilasyonu, tirozin fosforilasyonlarının derecesini düzenler ve bu da insülin/IGF1 reseptörü ile etkileşimi düzenleyebilir. Önceki çalışmaların çoğu, IRS serin/treonin fosforilasyonunun sinyalleme üzerinde olumsuz bir etkisi olduğunu bildirmiştir [164, 165].

IRS1 ve IRS2 benzer tirozin fosforilasyon motiflerine sahip olsalar da in vivo olarak açıkça farklı fonksiyonlara sahiptirler. IRS1 ve IRS2'nin normal glukoz ve insülin metabolizması için önemi, Kido ve arkadaşları tarafından [166], IR, IRS1

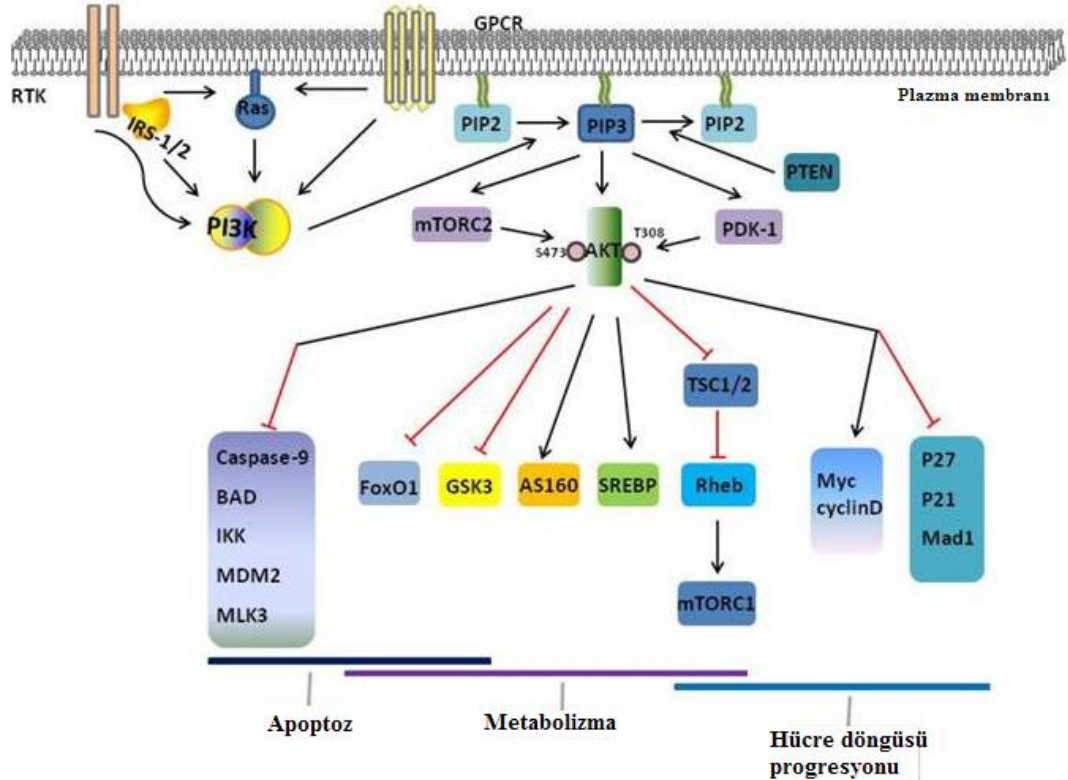
ve/veya IRS2 için heterozigot fareler ile gösterilmeye çalışılmıştır. IR/IRS1+/- farelerde kompensatuar β -hücre hiperplazisi ile birlikte iskelet kası ve karaciğerde şiddetli insülin direnci gözlemlenmiştir. IR/IRS2+/- fareler ayrıca yoğun karaciğer insülin direnci geliştirmiş, ancak yalnızca hafif iskelet kası insülin direnci ve orta düzeyde β -hücre hiperplazisi geliştirmiştir. Previs ve arkadaşları [167], 5-6 haftalık IRS1-/- ve IRS2-/- farelerinde spesifik olarak bazal ve insülin ile uyarılan karbonhidrat ve lipid metabolizmasını araştırmıştır. Her iki fare modeli de insülin direnci ve bozulmuş glukoz kullanımı gösterilmiş, ancak dokular gözlemlenen komplikasyonlara farklı şekilde katkıda bulunduğu gözlenmiştir. IRS1-/- fareler, esas olarak, iskelet kasına atfedilebilecek periferik insülin direncine sahipti ve IRS2-/- veya vahşi tip farelere kıyasla hiperinsülinemik-öglisemik bir kelepçe sırasında iskelet kasında önemli ölçüde daha az glikojen sentezlediği ortaya konulmuştur [165]. İskelet kası hücrelerinde, IRS-1'in, miyoblast farklılaşması ve glukoz metabolizması için gerekli olduğu, oysa IRS-2'nin, lipid metabolizması ve ERK aktivasyonu için önemli olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmeye çalışılmıştır [168]. Yazarlar, IRS1'in iskelet kasında önemli bir rol oynadığı sonucuna varmışlardır.

IRS-3 ve IRS-4, daha kısıtlı bir doku dağılım paterni gösterir. Kemirgenlerde, IRS-3 en çok adipositlerde, karaciğerde ve akciğerde bulunur [169], oysa insanlarda IRS-3 geni bir psödojendir, bu nedenle hiç protein üretilmez [170]. Farelerde, tek başına IRS-3 geninin bozulması anormalliklerle sonuçlanmaz, ancak IRS-1'in silinmesiyle birleştiğinde adipogenezde ciddi bir kusura yol açar [169]. IRS-4 mRNA, iskelet kası, karaciğer, kalp, beyin ve böbrekte bulunur [171] ve IRS-4 -/- fareleri sadece çok minimal büyüme geriliği ve glukoz intoleransı gösterir [172]. IRS-5 (DOK4 olarak da adlandırılır) ve IRS-6 (DOK5) sınırlı doku ekspresyonuna sahiptir [173] ve nispeten zayıf IR substratlarıdır [174].

2.10. PI3K/AKT yolu

IRS proteinlerini insülinin metabolik etkilerine bağlayan kritik yol, PI3-kinaz (PI3K) ve Akt yoludur. PI3K / Akt sinyal yolağı, glukoz homeostazı, lipid metabolizması, protein sentezi ve hücre proliferasyonu gibi kritik hücresel süreçleri sırasında büyüme faktörü sinyallerine aracılık ederek hücre fizyolojisinde önemli bir rol oynar [175]. PI3K'ler, üç sınıfa ayrılır (sınıf I, II ve III). Bu sınıflar arasında PI3K sınıf I, çeşitli etkinlikleri nedeniyle en kapsamlı şekilde araştırılan sınıftır [175]. Sınıf I PI3K bir heterodimerdir, sınıf IA ve sınıf IB olarak gruplandırılmıştır [176]. PI3K, serin/treonin (Ser/Thr) kinaz aktivitesine sahip bir hücre içi fosfatidil inositol kinazdır. PI3K, katalitik alt birim p110 ve düzenleyici alt birim p85'ten oluşur [177]. Sınıf I fosfoinositid 3-kinazlar (PI3K'ler), bir dizi hücresel sinyali ileten ve büyüme, çoğalma ve göç dahil olmak üzere çok çeşitli temel işlevleri düzenleyen lipid kinazlardır. Bu nedenle, PI3K'ler kanser, diyabet, birincil bağışıklık bozuklukları ve iltihaplanma gibi hastalıklarda çok önemli rollere sahiptir. PI3K; reseptör tirozin kinazlar, G protein-bağlı reseptörler ve küçük G proteinlerinin Ras süper ailesi dahil olmak üzere çok sayıda uyarıcı tarafından aktive edilir [178, 179]. PI3K'nın aktivasyonu, düzenleyici alt birimlerdeki iki SH2 alanının tirozin-fosforile edilmiş IRS proteinlerine bağlanmasına bağlıdır [145]. PI3K, fosfoinositidlerin inositol halkasının üç pozisyonuna bir fosfat molekülünün eklenmesini katalize ederek membran fosfatidilinositolünü PIP, PIP2 ve fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfata (PIP3) dönüştürür. PI3K'nın ana negatif düzenleyicisi olan fosfataz ve tensin homologu (PTEN), PIP2'yi oluşturmak için PIP3'ü defosforile eder. PIP3 daha sonra Akt'ı PDK1'e bağlı bir şekilde fosforile eder ve aktive eder [180]. PI3K, sinyal ağının birincil hedeflerinden biri, aynı zamanda bir serin/treonin kinaz olan PKB (protein kinaz B) olarak da kabul edilen Akt'dir [101]. Akt/PKB'nin üç izoformu bulunur. Her biri farklı ana fonksiyonlara sahiptir (Akt1/PKB α , Akt2/PKB β ve Akt3/PKB γ). Protein ve lipid kinazlar, transkripsiyon faktörleri, küçük G proteinlerinin düzenleyicileri, metabolik enzimler, E3 ubiquitin ligazları, hücre döngüsü düzenleyicileri ve diğer birçok efektör dahil olmak üzere aşağı akış efektörleri, AKT tarafından serin ve/veya

treonin fosforilasyonu yoluyla düzenlenir (Şekil 15) [181]. Akt sinyalleşmesinin en önemli aşağı akış efektörü, 289 kDa'lık bir serin/treonin kinaz olan mTOR'dur. Memeli hücrelerinde mTORC1 ve mTORC2 olmak üzere iki multiprotein kompleksi halinde bulunur. mTORC1, birçok kanserin karsinogenezinde kritik bir rol oynar [182]. Akt, Tsc1/Tsc2 heterodimerlerinin inhibisyonuna yol açan bir tümör baskılayıcı olan tuberoskleroz kompleksi (Tsc) 2'yi fosforile ederek mTORC1 aktivitesinde bir artışa neden olur. Aktive edilmiş mTORC1, protein translasyonuna ve hücre döngüsü ilerlemesine yol açar. Ek olarak, mTORC2, Akt'nin bir aktivatörü olarak görev yapar, böylece hücre proliferasyonunu ve hayatta kalmasını daha da kolaylaştırmak için Akt ve mTOR arasında pozitif bir geri besleme döngüsü sağlar [183, 184].



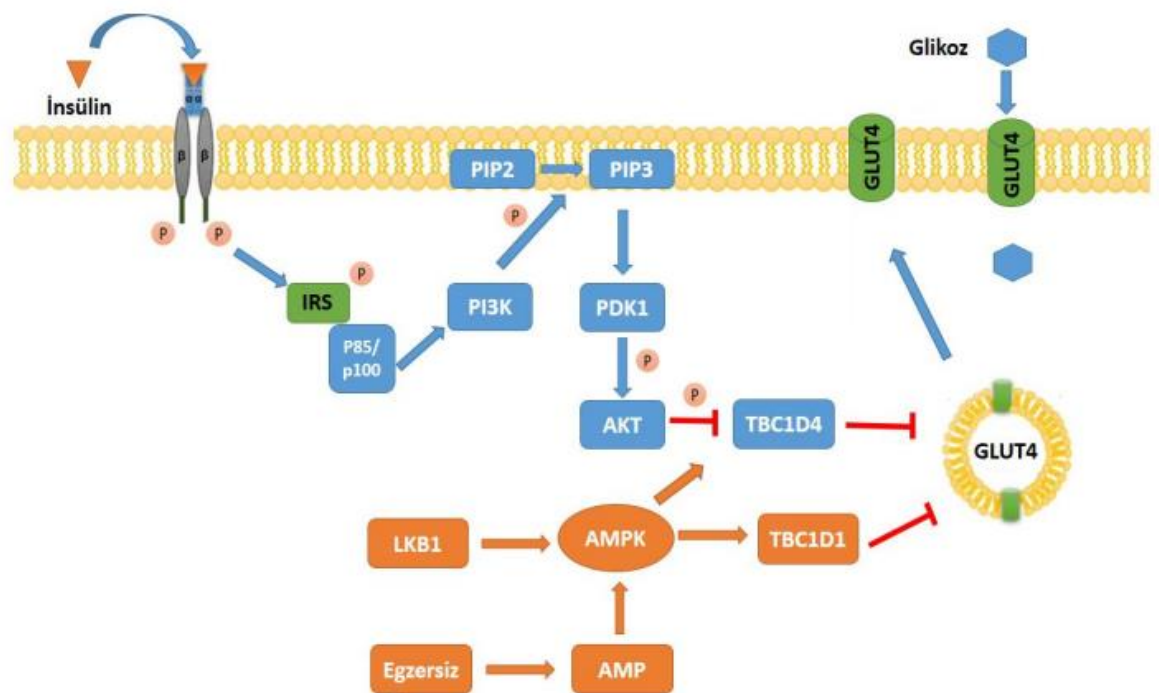
Şekil 15. PI3K/AKT yolu.

PI3K, AKT'yi aktive eder ve AKT, apoptotik, metabolizma ve hücre döngüsü ilerlemesi dahil olmak üzere çeşitli hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde yer alan alt tabakaları fosforile eder.[181]

AKT, glukoz ve lipid metabolizmasını düzenler. Öncelikle insüline duyarlı dokularda eksprese edilen aktive AKT2, GLUT4'ün translokasyonunu destekler. Genetiği değiştirilmiş farelerin kullanıldığı bir dizi çalışma, Akt2'nin insüline bağımlı glukoz alımında çok önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Düşük konsantrasyonda insülin tarafından indüklenen glukoz alımının, vahşi tip farelere kıyasla Akt2 eksikliği olan farelerde soleus ve ekstansör digitorum longus kaslarında azaldığı gösterilmiştir [185]. Ayrıca, Akt2 eksikliği olan fareler hiperglisemi, hiperinsülinemi ve glukoz intoleransı sergilemiştir [185]. AKT'nin doğrudan hedefi, TBC1D4 olarak da bilinen 160 kDa'lık bir substrattır (AS160). Aktif formlarında, TBC1D1 ve TBC1D4, Rab proteinleri üzerinde gaunozin-5'trifosfatın (GTP) gaunozin difosfata (GDP) hidrolizini destekler ve böylece GLUT4 translokasyonunu sınırlar. İnsülin ile uyarılan Akt kinaz aktivasyonu, hem TBC1D4 hem de TBC1D1'in fosforilasyonuna ve inaktivasyonuna ve ardından GLUT4'ün plazma membranına translokasyonunun artmasına yol açar [186]. GLUT4, her biri belirli heksozlar için ayrı bir afiniteye ve özgüllüğe sahip olan GLUT transmembran heksoz taşıyıcı ailesinin 14 üyesinden biridir [187]. GLUT4, kas ve yağ dokularında eksprese edilen ve ATP'den bağımsız, kolaylaştırıcı bir difüzyon mekanizması yoluyla glukoz un plazma zarı (PM) boyunca taşınmasını katalize eden bir proteindir. Dinlenme koşulları altında, GLUT4 esas olarak hücre içi bir dağılıma sahiptir, ancak insülin ve diğer uyaranlara yanıt olarak PM'ye alınır. Uyarılmamış hücrelerde, GLUT4, GLUT4 saklama vezikülleri (GSV'ler) olarak adlandırılan özel bir hücre içi bölmeye sekestre edilir [188]. Uyarılmamış hücrelerde AS160, GLUT4 vezikülleri ile ilişkilidir ve insülin, AS160'ın GLUT4 veziküllerinden ayrılmasına neden olur [189].

GLUT4, iskelet kasında en bol bulunan glukoz taşıyıcısıdır [190] ve kasın dinlenme durumundayken, glukoz alımı ve metabolizması için hız sınırlayıcı olarak

kabul edilmiştir [191]. İnsüline yanıt olarak, plazma zarına GLUT4 translokasyonu, AKT aktivasyonunu içeren insülin reseptörünün aşağı akışındaki bir fosforilasyon şelalesi yoluyla hızlandırılır. Benzer şekilde, GLUT4 translokasyonu, kalsiyum aracılı süreçler, nitrik oksit, reaktif oksijen türleri ve kas kasılması gibi çoklu uyarıların/meکانizmaların bir sonucu olarak artar, ikincisi AMP ile aktive olan kinazın aktivasyonu ile ilişkilidir (Şekil 16) [192].



Şekil 16. GLUT4 aktivasyonu

AKT, heksokinazı uyararak glukozu glukoz 6-fosfata dönüştürür. AKT, glikojen sentaz kinaz 3 (GSK3)'ü inhibe ederek glikojen üretimini destekler. FoxO proteinleri, özellikle FoxO1, AKT'nin ana hedefidir ve vücuttaki enerji homeostazını etkiler [193]. FoxO1 ve peroksizom proliferatör ile aktive olan reseptör-koaktivatör 1 α , glukoneogenezi ve yağ asidi oksidasyonunu arttırmak için gen ekspresyonunu koordineli olarak düzenler. Öte yandan, FoxO1, fosfoenolpiruvat karboksikinaz (PEPCK) ve glukoz-6-fosfataz geninin ekspresyonunu indükler, glukoneogenezi artırır [194]. AKT doğrudan FoxO1'i

inhibe eder, glukoz seviyelerini azaltır, FoxO1 aynı anda AKT'yi aktive ederek enerji üretimini artırır ve lipid ve protein üretimini azaltmak için mTOR kompleksi 1'i (mTORC1) inhibe eder. AKT, SREBP-1c, SREBP-1a ve SREBP-2 18, dahil olmak üzere kolesterol ve yağ asidi birikimini arttıran sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinler aracılığıyla lipid metabolizmasını düzenler. Bu nedenle, PI3K/AKT, FoxO1 ve GSK-3 aracılığıyla glukoz metabolizmasını ve mTORC1 ve SREBP aracılığıyla lipid metabolizmasını düzenler.

2.10.1. İskelet kasında PI3K/AKT yolu

İnsülinle uyarılan glukoz kullanımının yaklaşık %90'ı iskelet kasında meydana gelir, iskelet kası glukoz metabolizmasının ve enerji homeostazının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. İnsülin, PI3K/AKT sinyal yolu aracılığıyla glukoz taşınmasını, glikojen sentezini ve protein sentezini teşvik ederek iskelet kası metabolizmasını düzenler. Fiziksel egzersiz, kas insülin duyarlılığını artırır ve hem insülin hem de egzersiz, iskelet kasında glukoz atılımını arttırmak için sinerjik olarak hareket eder. Hem aerobik hem de direnç egzersizinin, artan glukoz taşıma aktivitesi ve iskelet kasındaki glukoz metabolizması nedeniyle kan glukoz seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir [195].

Normal koşullar altında, FFA'lar iskelet kasına yağ asidi translokaz/CD36 ve yağ asidi bağlayıcı protein yoluyla girer. Daha sonra uzun zincirli yağ asidi CoA'ları oluşturur. Bunlar daha sonra lipidlerin sentezine (TAG) veya oksidasyon için mitokondriye yönlendirilir. Aşırı lipid üretimi ve bozulmuş atılım, iskelet kasında insülin direnci ve diyabetin gelişmesine neden olabilir. İnsülin direncinin varlığında vücutta serbest yağ asitlerinin seviyesi artar ve bu da DAG ve seramidler gibi intramiyoselüler lipidlerin birikmesine neden olur. DAG, serin kinaz fosforillerini aktive eder ve IRS-1 sinyal iletim kapasitesini inhibe eder [196]. Seramidler, AKT'nin insülin sinyalini bozarak glukoz kullanımının azalmasına neden olur [197].

Mitokondriye bağımlı mekanizmalar da insülin direncine neden olur. Trikarboksilik asit (TCA) döngüsü ve elektron taşıma zinciri yoluyla mitokondride aşırı yağ asidi oksidasyonu, yağ asidi metabolitlerinin ve reaktif oksijen türlerinin üretimini arttırır. Bu durum, insülin-AKT yolunu bozarak iskelet kasında insülin direncine yol açar ve sonuçta obezite ve tip 2 DM gelişimini etkiler [183].

2.10.2. Yağ dokusunda PI3K/AKT yolu

Yağ dokusu, değişen beslenme koşullarının taleplerini karşılamak için yeniden şekillenme kapasitesi yüksek, oldukça dinamik bir organdır. Ayrıca yağ dokusu, temel hormonları ve tüm vücut metabolizmasını, sistemik insülin duyarlılığını ve enerji homeostazını kontrol eden faktörleri sağlayan önemli bir endokrin organı temsil eder. Yağ dokusunun hem yokluğu hem de fazlalığı, glukoz homeostazında ve diyabette ciddi bozulmalara yol açabilir. Adipoz hücrelerinin glukoz atılmasına katkısı, iskelet kasına kıyasla çok daha küçüktür.

İnsülin-Akt sinyali, glukoz kullanımını, protein sentezini ve lipogenezi teşvik ederek yağ dokularının metabolizmasını düzenler [198]. İnsülin, yağ dokusunda glukozun yaklaşık %10'unun kullanımını uyarır, yağ dokusundaki glukoz metabolizması, diğer dokuları etkiler [199]. İnsülin, glukozun adipositlere alımını uyarır ve burada daha verimli bir enerji depolama biçimi (adipogenez) olarak lipitlere dönüştür. Yağ dokusu, triaçilgliserol depolanması için birincil bölgedir, buna karşın glukoz alımının artması, yağ dokularında triaçilgliserol ve FA sentezini arttırır ve obeziteye yol açabilir [198].

Yağ dokularında depolanan lipidin çoğu diyetten türetilmiş olsa da, adipositler, de novo lipogenez (DNL) yoluyla aşırı substratlardan yeni yağ asitlerini tamamen sentezleme yeteneğine sahiptir. DNL'nin iki ana enzimi, yağ asidi sentaz ve asetil CoA karboksilaz, SREBP-1c'nin kontrolü altında yağ dokularında bol miktarda eksprese edilir. Normal fizyolojide beslenme, insüline bağımlı yol

(mTORC1) veya insülin bağımsız yol (karbonhidrat yanıt elemanı bağlayıcı protein (ChREBP) yoluyla SREBP-1c sentezini aktive edebilir [200].

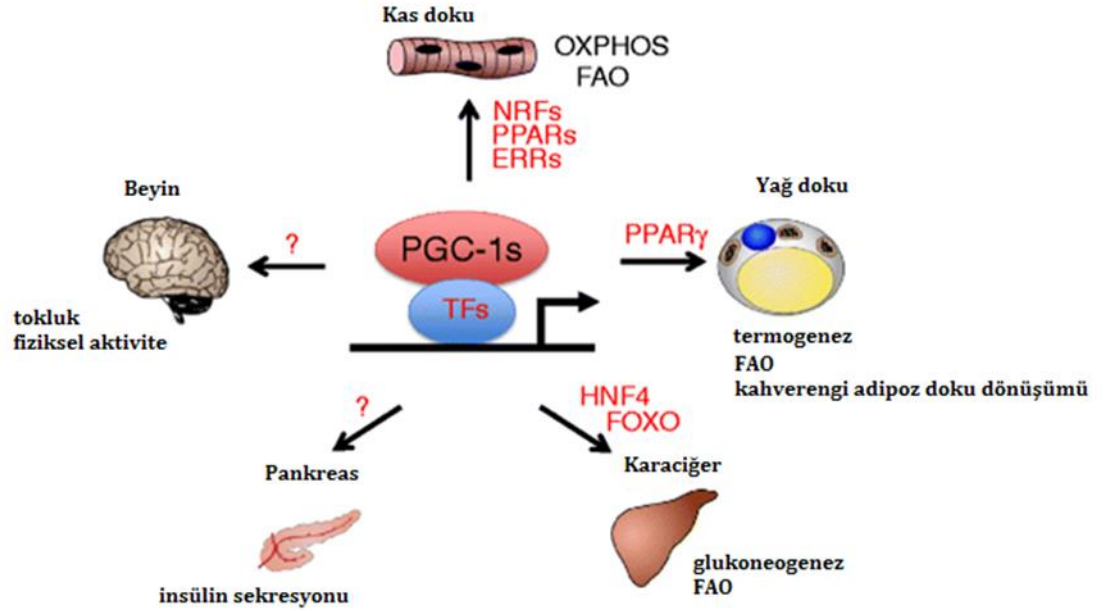
IRS1'in tirozin fosforilasyonu ve PI3K'nın aktivasyonu gibi insülin sinyal yolundaki kilit adımlar, tip 2 diyabetik hastalarda kas dokusuna göre yağ dokusunda büyük ölçüde azalır [201].

2.11. Peroksizom Proliferatör Aktive Receptör Gamma Koaktivatör-1 alfa (PGC1- α)

Metabolik yollar, çevresel veya hormonal uyaranlara yanıt olarak farklı seviyelerde kontrol edilir. Bu kontrol, gen ekspresyonunun transkripsiyonel seviyesinde sağlanır. Gen ekspresyonunun düzenlenmesi, spesifik transkripsiyon faktörleri tarafından yürütülür, ancak bu faktörleri modüle eden bir dizi transkripsiyonel koaktivatörler olarak adlandırılan başka bir düzenleme seviyesi vardır. Memelilerde, transkripsiyonel koaktivatörler tarafından metabolik yolların düzenlenmesinin en belirgin örneklerinden biri, peroksizom proliferatörle aktive olan reseptörler gamma (PPAR γ) koaktivatör-1 alfa (PGC-1 α)'dir.

PGC-1 α , bir dizi transkripsiyon faktörüne bağlanan ve bunların hedef gen ekspresyonunu indüklemeye yeteneklerini arttıran bir koaktivatör proteindir. PGC-1 α , transkripsiyon faktörleri (TF) ve nükleer reseptörlere bağlanma ve bunları aktive etme yoluyla bir pleiotropik transkripsiyonel yanıtı harekete geçirerek gelişmiş lipid, glukoz ve enerji homeostazına yol açar. Başlangıçta, ayrılmayan protein 1'in (UCP1) ekspresyonunu ve kahverengi yağ dokuda termojenezi modüle eden bir PPAR- γ ortak aktivatörü olarak tanımlanan bu maddenin, birçok hücre tipinde mitokondriyal biyogenezi ve oksidatif metabolizmayı kontrol ettiği de gösterilmiştir [202]. Bir koaktivatör olarak, PGC-1 α proteini DNA'ya doğrudan

bağlanmaz, ancak hücrel enerji metabolizmasında yer alan çok çeşitli transkripsiyon faktörleri ile etkileşimler yoluyla şablona alınır. Bu transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerini düzenleyerek, PGC-1 α mitokondriyal biyogenez ve solunum, glukoneogenez ve glukoz taşınması, glikojenoliz, yağ asidi oksidasyonu, peroksizomal yeniden şekillenme, kas lifi tipi geçiş dahil olmak üzere çoklu hücrel süreçler için moleküler bir anahtar görevi görür (Şekil 17) [203].



Şekil 17. PGC-1 Transkripsiyonel Koaktivatörlerin Çoklu Sistem Fonksiyonu.

Mitokondriyal disfonksiyon, sistemik inflamasyon, anormal adipokin sinyali, intramiyoselüler lipid birikimi ve ektopik lipid birikimi, obezite ve tip 2 DM dahil olmak üzere metabolik bozuklukların gelişimine ve ilerlemesine ve bunların komplikasyonlarına katkıda bulunabilecek altta yatan mekanizmalardan bazılarıdır [204, 205]. Örneğin, yağ asidi oksidasyonu, karnitin palmitoiltransferaz 1 ve sitrat sentaz gibi mitokondriyal yağ asidi taşınması ve oksidasyonunda yer

alan enzimlerin aktivitesi, obezite sırasında iskelet kasında daha düşüktür ve insüline dirençli kişilerde daha yüksek intramiyoselüler lipid (IMCL) içeriği gözlenir [206]. Nükleer kodlanmış mitokondriyal genler (NEMG'ler) hem mitokondriyal biyogenezi hem de işlevi düzenler ve obezite ve tip 2 DM sırasında insülin direncinin gelişmesinde rol oynayabilmektedirler [207].

Çalışmalar, HFD ile beslenmenin, azalmış NEMG ekspresyonu, bozulmuş mitokondriyal fonksiyon ve iskelet kası dahil olmak üzere çeşitli dokularda gözlenen azalmış mitokondriyal sayı ile obezite ve insülin direncine yol açtığı sonucunu desteklemektedir. Örneğin, C57BL/6J farelerinde üç haftalık HFD (%45 kcal) beslemesinin, oksidatif fosforilasyon gen ekspresyonunun yanı sıra PGC-1 α 'nın ekspresyonunu da aşağı regüle ettiği gösterilmiştir [208]. Bir başka çalışmada ise 10 hafta boyunca HFD (%65 kcal) beslemesi, C57BL/6J farelerinin iskelet kasında peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör γ (Ppar- γ) ve PGC-1 α ekspresyonu dahil olmak üzere birçok NEMG'nin aşağı regülasyonu ile sonuçlanmıştır [209]. Benzer şekilde, C57BL/6J farelerinde sekiz haftalık HFD (%45 kcal) beslemesi, iskelet kasındaki yağ asitlerinin eksik beta oksidasyonuna yol açmış olup, araştırmacılar mitokondriyal işlev bozukluğunu gözlemlediklerini raporlamıştır [210].

Bir NEMG olan PGC-1 α , çevresel uyaranlara yanıt veren ve diğer NEMG'leri aktive eden transkripsiyonel bir ortak aktivatördür [211]. Egzersiz, kalori kısıtlaması ve soğuğa maruz kalma ile düzenlenirken, yüksek yağlı diyetle beslenme ile azaltılır [209].

PGC-1 α aktivasyonu, çeşitli dokularda mitokondriyal sayıda artış ve mitokondriyal işlevin gelişimi ile sonuçlanır. Örneğin, insüline dirençli obez sıçanlarda PGC-1 α 'nın aşırı ekspresyonu, mtDNA içeriğini, sitrat sentaz

aktivitesini ve palmitat oksidasyonunu arttırdığı ve intramiyoselüler lipid içeriğini azalttığı gösterilmiştir [212].

PGC-1 α tarafından aktif hale getirilen Ppar-a , Ppar-y ve östrojenle ilişkili reseptör- α (Err- α) obezite ve insülin direnci açısından en dikkat çeken nükleer kodlanmış mitokondriyal genlerdendir. Nükleer reseptör PPAR- α , prostaglandin türevleri, eikosanoidler ve uzun zincirli yağ asitleri tarafından aktive edilir ve lipid metabolizması ile ilgili genlerin transkripsiyonel düzenlenmesinden sorumludur ve hücrel lipid kullanımını düzenler [213]. PPAR- γ 'nin periferik dokularda insülin duyarlılığını arttırdığı bilinmektedir ve pioglitazon ve rosiglitazon gibi sentetik PPAR- γ agonistleri, tip 2 DM tedavisi için FDA tarafından onaylanmıştır [214]. Farelerde kas spesifik Ppar-y delesyonunun insülin direncine yol açtığı, Ppar-y'nin aşırı ekspresyonunun ise iskelet kası sitokrom c ve sitokrom oksidazı yukarı regüle ederek ve diyetle bağlı insülin direncini önlediği gösterilmeye çalışılmıştır [215]. PGC-1 α ile uyum içindeki Err- α ifadesi iskelet kasında glukoz oksidasyonu yerine FAO'yu teşvik etmek için substrat kullanımını düzenler [216], bunun da ektopik lipid birikimini önleme ve obezite sırasında insülin direncini azaltma veya önleme işlevi görebileceği öngörülmektedir.

Ek olarak, PGC-1 α , oksidatif kas lifleri ile ilişkili artmış miyofibriler gen ekspresyonu gibi in vivo belirli dokuya özgü gen programlarını düzenler. PGC-1 α , PGC-1 β ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyonda (OXPHOS) yer alan proteinleri kodlayan genlerin mRNA seviyeleri, tip 2 diyabetli insan iskelet kasında azaldığı gösterilmiştir [217]. Tip 2 diyabetik hastalarda düzensiz olan OXPHOS genleri, PGC-1 α 'nın transkripsiyonel kontrolü altındadır ve PGC-1 α 'nın iskelet kasındaki OXPHOS gen ekspresyonunu kontrol ettiği sinyal yolları aydınlatılmaya çalışılmıştır. Özellikle, diyabet öncesi bireylerde PGC-1 α düzensizliği de gözlenir, bu da PGC-1 α düzeylerinin azalmasının hastalığın gelişiminde erken bir olay olduğunu düşündürmektedir [218]. Mitokondriyal disfonksiyon, çeşitli

çalışmalarda iskelet kası insülin direnci ile yakından ilişkilendirilmiştir [219]. Azalan PGC-1 α seviyeleri, azalmış OXPHOS gen ekspresyonu, azalan yağ asidi oksidasyonu ve ardından iskelet kasında lipid birikimi ile başlayan ve insülin direnci ve tip 2 diyabet ile sonuçlanan patolojik bir yolu tetikleyebilir [220]. PGC1 α , substrat oksidasyonu, elektron taşınması ve ATP sentezi için gerekli enzimlerin transkripsiyonunu arttırır. Morfolojik ve fonksiyonel çalışmalar son mikrodizi verileriyle birlikte PGC1'in tip 2 diyabet gelişiminde önemli olduğunu göstermektedir [221].

PGC-1 α 'nın ekspresyonu, kemirgenlerde ve insanlarda egzersiz eğitimi ile indüklenebilir. Miyotplerde PGC-1 α 'nın ektopik ekspresyonu, GLUT4 ekspresyonunu ve mitokondriyal oksidatif metabolizmayı uyarır [222].

Ayrıca PGC-1 α gen polimorfizmleri, birçok popülasyonda değişmiş lipid oksidasyonu ve tip 2 DM gelişimi ile ilişkilendirilmiştir [223, 224]. Örneğin, PGC-1 α genindeki en yaygın polimorfizm olan Gly482Ser, Çinliler de dahil olmak üzere farklı popülasyonlarda tip 2 DM ile pozitif olarak ilişkilidir [225]. Bu alışmalar, PGC-1 α 'nın obezite ve tip 2 DM gelişiminde rol oynadığına işaret etmektedir.

İnsüline dirençli deneklerin yağ dokusunda, PGC-1 α mRNA ve protein ekspresyonu belirgin şekilde aşağı regüle edilmiştir [226]. Ayrıca, adipoz PGC-1 α 'nın obezite ile ilişkili azalması, obezite ile ilişkili inflamasyon ile ilişkilendirilmiştir [227]. Bu nedenle, obezite ile ilişkili inflamasyon ve sistemik insülin direncinin gelişimi, adipoz PGC-1 α 'nın aşağı regülasyonu ile bağlantılı olabileceği dşnlmştir. Ayrıca morbid obez deneklerin beyaz yağ dokusunda ve insüline dirençli bireylerin subkutan yağ dokusunda PGC-1 α ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir [227]. Obez farelerde rosiglitazon tedavisinin, mitokondriyal fonksiyonu arttırdığı, insülin duyarlılığının geliştirdiği

ve beyaz yağ dokusunda PGC-1 α transkripsiyonunu arttırdığı gözlenmiştir [228]. Bu nedenle iskelet kası ve WAT'taki PGC-1 α seviyelerinin arttırılmasının, tip 2 diyabet tedavisinde potansiyel olarak faydalı olacağı görüşü hakimdir.

PGC-1 α 'nın FAO üzerindeki etkileri, SIRT-1'e bağlı bir mekanizma yoluyla meydana gelir [229]. SIRT-1 aktivasyonunun, HFD'nin neden olduğu insülin direncinin gelişmesini önlediği ve PGC-1 α 'nın deasetilasyonu yoluyla mitokondriyal fonksiyonu arttırarak tip 2 DM hayvan modellerinde insülin duyarlılığını geliştirdiği gösterilmiştir [230]. SIRT-1, deasetilasyon yoluyla PGC-1 α 'yı post-translasyonel olarak modifiye eder, bu aktivasyon mitokondriyal FAO ile ilgili hedef genlerin ekspresyonu ile sonuçlanır. Benzer şekilde, AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK) veya p38 mitojen ile aktive olan protein kinazlar (p38-MAPK) tarafından PGC-1 α protein fosforilasyonunun, PGC-1 α stabilitesini ve aktivitesini arttırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [231]. AMPK ayrıca artan NAD⁺ seviyelerine ve egzersiz veya oruç sırasında oluşturulan düşük enerji durumuna yanıt olarak SIRT-1 yoluyla PGC-1 α aktivitesini arttırarak dolaylı olarak da hareket eder [232]. Öte yandan, PGC-1 α , transkripsiyon faktörü MEF2C ile işbirliği içinde, GLUT4'ün ekspresyonunu düzenler [233, 234]. Fiziksel egzersiz sırasında kastaki insülin duyarlılığı artarken, PGC-1 α ve GLUT4 ekspresyon seviyeleri de artar [233]. Ayrıca PGC-1 α ile ilişkili koaktivatörün (PRC) aşırı ekspresyonun da GLUT4 üzerinde benzer bir etkisi olduğu da gösterilmiştir [235, 236]. Wenz ve arkadaşları [224], PGC-1 α 'nın artan kas ekspresyonunun, yaşlı farelerde insülin duyarlılığı ve insülin sinyalini geliştirdiğini, metabolik tepkilerde iyileşmelere sebep olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, kasta GLUT4 ekspresyonunun ve translokasyonunun düzenlenmesinde PGC-1 α 'nın önemini vurgulamaktadır.

PGC-1 α , kalp, iskelet kası ve kahverengi yağ dokusu gibi yüksek enerji gereksinimi olan dokularda bol miktarda eksprese edilir [237]. Ayrıca, subkutan ve

viseral yağ dokusundaki ekspresyonunun, iskelet kasındakinden önemli ölçüde daha düşük olduğu gösterilmiştir [238]. PGC-1 α , kahverengi yağda mitokondriyal yağ asidi oksidasyonunun aktivasyonunu, yakıt alımını ve UCP1 ekspresyonunu uyararak ısı üretimini içeren temel adaptif termojenik program bileşenlerini indükleyen moleküler bir anahtardır [239]. Dikkat çekici bir şekilde, PGC-1 α -/- olan fareler, muhtemelen azalmış UCP1 indüksiyonunun eşlik ettiği bozulmuş yağ asidi β -oksidasyonu ve elektron taşınmasının neden olduğu verimsiz termojenez nedeniyle soğuğa duyarlıdır [240]. Adipoz mitokondri, PGC-1 α tarafından düzenlenen yağ asidi oksidasyonu ve adaptif termojenezde önemli bir önemli bir rol oynar. Bu yollar, lipidleri oksitler ve UCP1 tarafından ATP üretiminden mitokondriyal elektron taşıma zincirinin ayrılması nedeniyle enerjiyi ısı şeklinde dağıtır. Termojenez, mitokondri açısından zengin klasik kahverengi yağ dokusunda büyük ölçüde yükselir, ancak sıklıkla kahverengi benzeri hücreler içeren deri altı yağ dokusunda da gözlenir.

Çalışmamızın amacı, insülin direnci oluşturduğumuz rat modellerinde farklı dozlardaki kurkumin tedavisinin insülin direnci üzerindeki etkilerini metabolik yollar üzerinden göstermek ve gruplar arasındaki farklılıkları karşılaştırmaktır. Biz fruktoz ile oluşturduğumuz insülin direncinde rat modellerine uyguladığımız 8 haftalık 100 mg/kg ve 200 mg/kg doz kurkumin tedavisinin; kan glukozu, insülin ve HOMA-IR değerlerini göz önünde bulundurarak hem Akt/PI3K hem de AMPK yolağındaki GLUT4 translokasyonu üzerindeki olası etkilerini değerlendirmeyi, bununla birlikte kurkumin tedavisinin PGC1 α üzerindeki etkilerine bakarak olası insülin direncini iyileştirmesinde olası rolünü ortaya çıkarmayı hedefledik. Alt grup analizlerinde özellikle fruktoz alıp kurkumin tedavisi uygulamadığımız grubun parametrelerindeki değişimi kurkumini farklı dozlarda uyguladığımız gruplarla karşılaştırmak istiyoruz. Literatür taraması yaptığımızda, kurkumin uygulamasının, yüksek fruktozla beslenen ratların kas dokusunda IRS-1 serin fosforilasyonunu azaltıp, tirozin fosforilasyonunu arttırarak insülin direncini azalttığına yönelik araştırmalara rastlanmasına rağmen, insülin sinyal yolağını ayrıntılı araştıran bir

araştırmaya rastlanmamıştır. Elde edilen bulguların, yaygın olarak gözlenen insulin direnci mekanizmalarındaki birçok yolak ve proteine kurkuminin olası iyileştirici etkilerini ortaya koyarak daha kapsamlı çalışmalar için ışık tutabileceğini düşünüyoruz.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu proje, 26.02.2021 tarihinde Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından G.Ü.ET-21.012 kod numarası ile kabul edilmiş olup, TTU-2021-7153 proje koduyla Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir.

Çalışmalar, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM) ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Deney Hayvanları ve Diyet

Çalışma için kullanılacak olan ratlar, GÜDAM 'dan toplam 24 adet yetişkin erkek Wistar türü olarak temin edilmiştir. Deney süresince ratlara 12 saat aydınlık-12 saat karanlık periyoduna uyularak, sıcaklığı 22-24 °C'ye ayarlanmış bir ortamda bakılmıştır. Deney hayvanları rastgele her grupta 6 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır. Her gruba, 8 hafta boyunca %88 kuru madde, %23 protein, %7 selüloz, %8 ham kül, %2 HCl'de çözünmeyen kül, %1,5 kalsiyum, %0,9 fosfor, %0,7 sodyum, %1 tuz, %0,3 metiyonin ve %1 lizin içeren standart rat yemi ve çeşme suyu ad libitum olarak verilmiştir. Su ve yem tüketimine kısıtlama getirilmemiştir.

3.2. Kullanılan cihazlar

- 1- Elisa Analizatör (BioTek)
- 2- Elisa Yıkayıcı (BioTek)
- 3- Santrifüj cihazı (Medifriger-BI)
- 4- Otomatik pipetler (Micropipette, HT Lab, Microlit)
- 5- Hassas terazi (Adam AFA-210LC, Precisa BJ 2100D)
- 6- Vorteks (Velp Scientifica-ZX3)
- 7- Homojenizatör (Schütt, Homgen plus)

3.3. Kullanılan kimyasallar

Çalışmada D-fruktoz ($\leq 99\%$) Merck (Darmstadt, Germany) marka olarak kullanılmış ve kurkumin Sigma'dan temin edilmiştir.

3.4. İnsulin direnci modelinin oluşturulması

3.4.1. Deney gruplarının oluşturulması

Deney hayvanları her grupta 6 rat olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır. Çalışmamızda, kontrol (mısır yağı) (Grup 1), fruktoz + mısır yağı (Grup 2), fruktoz + mısır yağında çözünmüş kurkumin 100 mg/kg (Grup 3), fruktoz + mısır yağında çözünmüş kurkumin 200 mg/kg (Grup 4) uyguladığımız 4 ayrı wistar albino türü rat grupları bulunmaktadır.

1.Grup: Kontrol Grubu (n=6)

Vücut ağırlıklarına uygun hacimde gavağa mısır yağı ve içmeleri için normal çeşme suyu verilmiştir.

2.Grup: Fruktoz Grubu (n=6)

Vücut ağırlığına uygun hacimde gavajla mısır yağı ve D-fruktozun çeşme suyu içerisinde çözülmesiyle elde edilen %20'lik fruktoz çözeltisi verilmiştir.

3.Grup: Kurkumin 100 mg/kg (n=6)

100 mg/kg Kurkumin mısır yağı içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiş olup, içmeleri için çeşme suyu ile hazırlanmış %20'lik D-fruktoz çözeltisi verilmiştir.

4.Grup: Kurkumin 200 mg/kg (n=6)

200 mg/kg Kurkumin mısır yağı içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiş olup, içmeleri için çeşme suyu ile hazırlanmış %20'lik D-fruktoz çözeltisi verilmiştir.

3.4.2. Rat serum ve doku örneklerinin alınması

Hayvanlar 8. hafta sonunda ketamin-ksilazin anestezisi altında feda edilerek kan ve kas, yağ dokuları alınmıştır. İntrakardiyak kanları separatörlü jelli tüplere alınarak kan örnekleri 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş, elde edilen serumlar eppendorflara ayrılarak analizi yapılana kadar – 80 °C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Kas ve abdominal yağ doku da alınarak fizyolojik çözeltide yıkandıktan sonra sıvı azotta dondurulmuş ve çalışmaya kadar -80°C'de saklanmıştır.



Resim 1. Kardiyak kan eldesi

3.5. Serum Parametreleri

Serum glukoz düzeyleri Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Biyokimya Laboratuvarı'nda otoanalizör (Beckmann AU480) kullanılarak enzimatik olarak ölçülmüştür.

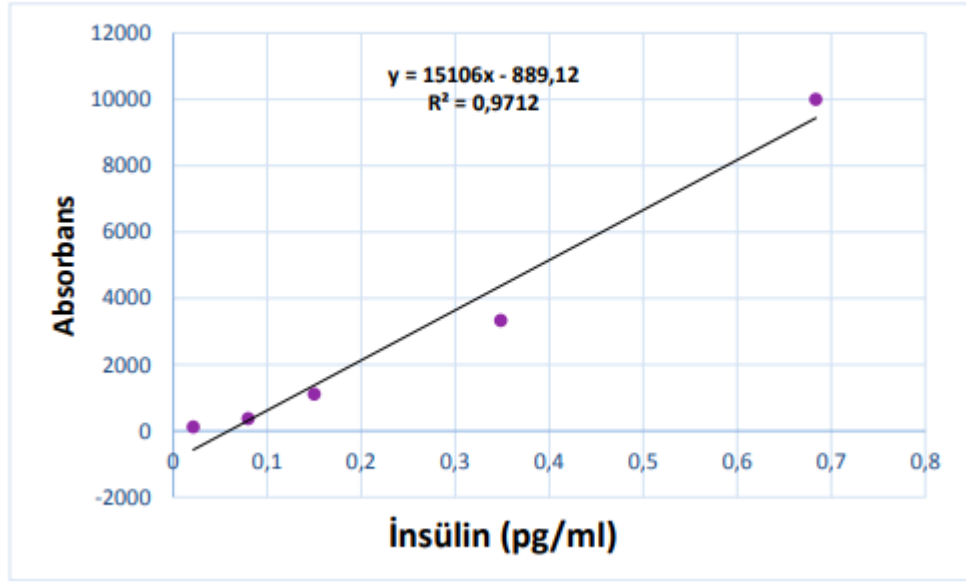
Serum insülin düzeyleri USCN marka (Katalog No: CEA448Ra) ELISA kit kullanılarak G.Ü.T.F. Tıbbi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda tayin edilmiştir.

İnsülin direncini ölçmek için “homeostatic model assessment” (HOMA-IR) formülü kullanılmıştır.

HOMA –İR= Açlık insülin ($\mu\text{IU/mL}$) x açlık glukoz (mg/dl)/405 formülü kullanılmıştır [241]. Bu değer;

Normal bireylerde < 2,7

İnsülin direncinde > 2,7



Şekil 18. İnsülin standart eğri grafiği

3.6. Doku örneklerinin homojenizasyonu

-80°C derin dondurucuda saklanan kas ve yağ dokuları çözünmesine izin verilmeden hızla hassas terazide 150 mg tartılmıştır. 150 mg doku, 1/10 oranında (150mg kas doku + 1350 μl) PBS (pH=7.4) tamponunda, buz içinde homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenatlar vortekslendikten sonra eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Homojenatların 30 dakika süreyle 3500 rpm’de 4°C’de soğutmalı santrifüjde santrifüj edilmesi ile süpernatantlar elde edilmiştir.

3.7. Metotların uygulanması

3.7.1. Doku homojenatlarında protein tayini

Kas ve yağ dokuda protein tayini, kolorimetrik yöntem ile hazır kit (BCA Protein Kolorimetrik Assay Kit) (katalog no: E-BC-K318-M) kullanılarak analiz edilmiştir (Tablo 3). Bu yöntemde Cu^{2+} , alkali durumda protein tarafından Cu^+ 'ya indirgenir. Cu^+ BCA reaktifi ile birleşir ve 562 nm'de maksimum absorpsiyon zirvesine sahip olan mor kompleks oluşturur. Absorbans değeri protein konsantrasyonu ile orantılıdır. Bu nedenle protein konsantrasyonu OD değerine göre hesaplanır.

Tablo 3. BCA Protein Kolorimetrik Kit içeriği

İçerik		
Reaktif 1	BCA reagent	25 ml x 1 şişe
Reaktif 2	Bakır tuzu çözeltisi	0,5 ml x 1 şişe
Reaktif 3	Protein BSA standart	1 mg x1 şişe
Reaktif 4	Standart Diluent	15 ml x 1 şişe
	Mikroplate	96 kuyucuk

Kullanılan reaktiflerin hazırlanması

1. BCA çalışma solüsyonunun hazırlanması: Reaktif 1 ve reaktif 2 50:1 oranında tamamen karıştırıldı.
2. 1 mg/mL standart solüsyonun hazırlanması: Bir şişe reaktif 3, 1 mL reaktif 4 ile kullanmadan önce çözüldü ve tamamen karıştırıldı.

Deneyin yapılışı:

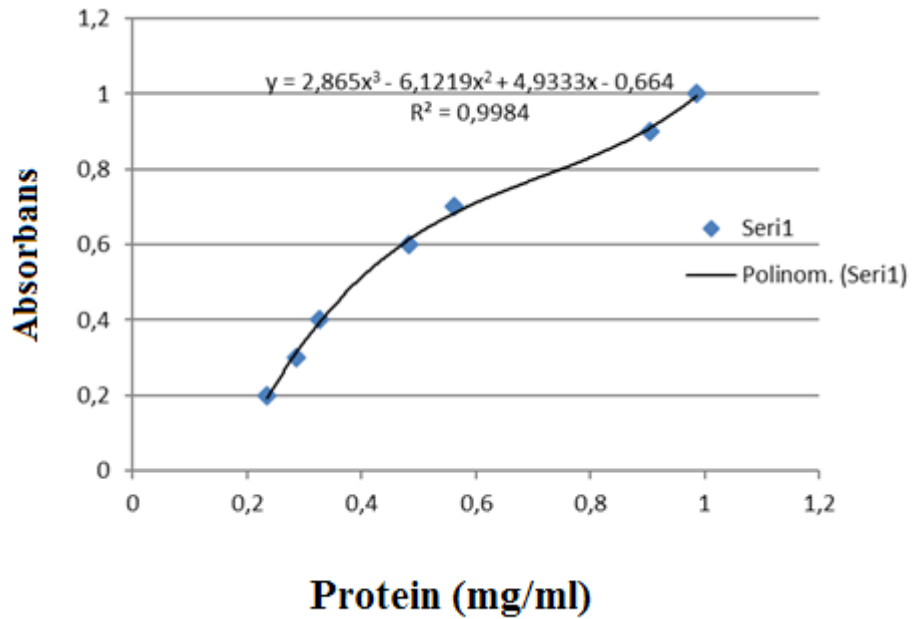
Kas doku homojenatları PBS (pH: 7.4) ile 1/10 oranında, yağ doku homojenatları PBS (pH: 7.4) ile 1/2 oranında dilüe edildi.

Standart eğrisinin hazırlanması:

1 mg/ml BSA standart salinle seyreltilerek 0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.7, 0.9, 1 mg/ml konsantrasyonlarda 8 ayrı standart elde edildi.

Uygulama basamakları:

1. Standartlar için ayrılan kuyucuklara 20 µL olacak şekilde farklı konsantrasyonlardaki 8 standart eklendi.
2. Örnekler için ayrılan kuyucuklara 20 µL numune eklendi.
3. Tüm kuyucuklara 200 µL BCA çalışma solüsyonu eklendi.
4. 20 saniye salınım hareketiyle karışması sağlandıktan sonra, 30 dakika 37 °C de inkübe edildi.
5. Absorbanslar 562 nm’de okundu.
6. Protein miktarları oluşturulan standart kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak hesaplandı (Şekil 19).



Şekil 19. BCA protein standart eğri grafiği

3.7.2. Yağ ve Kas dokusu PI3K analizi

Yağ ve kas doku süpernatant PI3K düzeyi ölçümü BT Lab marka E0438Ra katalog numaralı rat kantitatif ELİSA kiti kullanılarak yapılmıştır (Tablo 4). Kit rat serumu, plazması, idrarı, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarında PI3K'nın in vitro kantitatif ölçümü için biotinle işaretli 2. monoklonal antikor içeren sandviç ELISA metodu ile ölçüm yapmaktadır. Rat PI3K epitoplarına karşı yüksek özgüllük gösteren antikorlarla kaplı kuyucuklara standartlar ve serum numuneleri eklendiğinde PI3K'nın antikorla bağlanması sonucu antikor-antijen kompleksi oluşmaktadır. Ardından biotinle işaretli monoklonal PI3K antikorları eklenerek antikor-antijen-antikor kompleksi oluşmaktadır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş PI3K antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı sırasında yıkanarak uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonları eklenir ve Rat PI3K miktarıyla orantılı olarak mavi renk gelişir. Reaksiyon, asidik durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır. Çözeltinin renginin sarıya döndüğü görülür. Oluşan rengin absorbansı PI3K düzeyi ile doğru orantılıdır. Microplate okuyucuda 450 nm'de absorbans ölçülür. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak PI3K konsantrasyonları ng/ml olarak hesaplanmıştır (Şekil 20). Kitin analiz için ölçüm aralığı 0,2-60 ng/mL, sensitivitesi 0,09 ng/mL, çalışma içi CV değeri %8 ve çalışmalar arası CV değeri %10' un altı olarak verilmiştir.

Deneyin yapılışı

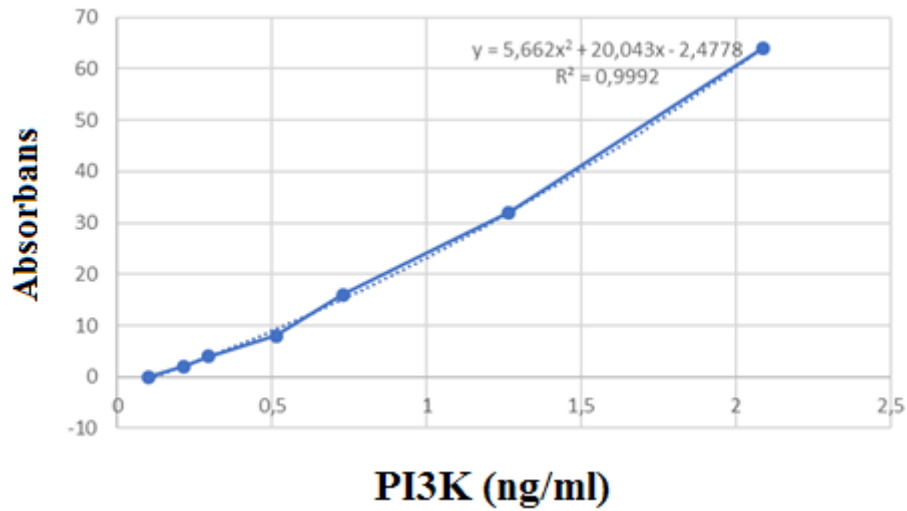
Tablo 4. Yağ ve kas dokusu PI3K analizi

	Numune	Standart	Kör
Standart	-	50 µl	-
Numune	40 µl	-	-
PI3K antikor	10 µl	-	-

Streptavidin-HRP	50 µl	50 µl	-
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karıştırıldı. 60 dakika 37°C’de inkübe edildi. Membran kağıdı çıkarıldı ve her bir kuyucuk yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.			
Substrat solüsyonu A	50 µl	50 µl	50 µl
Substrat solüsyonu B	50 µl	50 µl	50 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karanlıkta 10 dakika 37°C’de inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl
Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi renk hızlıca sarıya dönüşmüştür. Solüsyon eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda microplate okuyucuda absorbanslar ölçülmüştür.			

Hesaplama

Deney şekildeki gibi gerçekleştirildi. Standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden Blank’te okunan absorbans değeri çıkarıldı. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak PI3K konsantrasyonları ng/mL olarak hesaplanmıştır.



Şekil 20. PI3K standart eğri grafiği

Sonuçlar total protein miktarına oranlanarak ng/mg protein cinsinden verilmiştir.

3.7.3. Yağ ve Kas dokusu PDK-1 analizi

Yağ ve kas doku süpernatant PDK-1 düzeyi ölçümü BT Lab marka E2888Ra katalog numaralı rat kantitatif ELISA kiti kullanılarak yapılmıştır (Tablo 5). Kit rat serumu, plazması, idrarı, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarında PDK-1'in in vitro kantitatif ölçümü için biotinle işaretli 2. monoklonal antikor içeren sandviç ELISA metodu ile ölçüm yapmaktadır. Rat PDK-1 epitoplarına karşı yüksek özgüllük gösteren antikorlarla kaplı kuyucuklara standartlar ve serum numuneleri eklendiğinde PDK-1'in antikorla bağlanması sonucu antikor-antijen kompleksi oluşmaktadır. Ardından biotinle işaretli monoklonal PDK-1 antikorları eklenerek antikor-antijen-antikor kompleksi oluşmaktadır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş PDK-1 antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı sırasında yıkanarak uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonları eklenir ve Rat PDK-1 miktarıyla orantılı olarak mavi renk gelişir. Reaksiyon, asidik durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır. Çözeltinin renginin sarıya döndüğü görülür. Oluşan rengin absorbansı PDK-1 düzeyi ile doğru orantılıdır. Microplate okuyucuda 450 nm'de absorbans ölçülür. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak PDK-1 konsantrasyonları ng/ml olarak hesaplanmıştır. (Şekil 21). Kitin analiz için ölçüm aralığı 0,5-150 ng/mL, sensitivitesi 0,29 ng/mL, çalışma içi CV değeri %8 ve çalışmalar arası CV değeri %10' un altı olarak verilmiştir.

Deneyin yapılışı

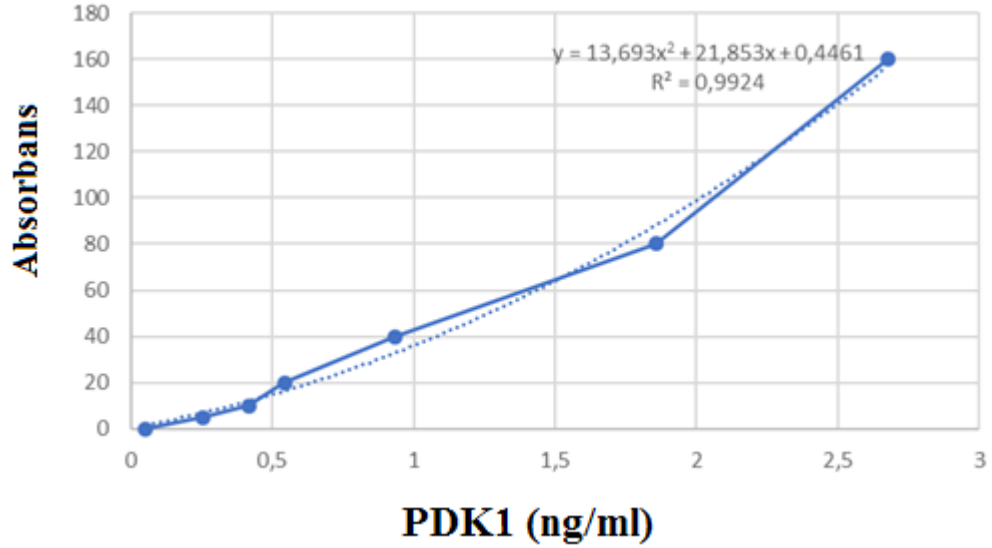
Tablo 5. Yağ ve kas dokusu PDK-1 analizi

	Numune	Standart	Blank
Standart	-	50 µl	-
Numune	40 µl	-	-
PDK-1 antikor	10 µl	-	-
Streptavidin-HRP	50 µl	50 µl	-

Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karıştırıldı. 60 dakika 37°C’de inkübe edildi. Membran kağıdı çıkarıldı ve her bir kuyucuk yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.			
Substrat solüsyonu A	50 µl	50 µl	50 µl
Substrat solüsyonu B	50 µl	50 µl	50 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karanlıkta 10 dakika 37°C’de inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl
Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi renk hızlıca sarıya dönüşmüştür. Solüsyon eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda microplate okuyucuda absorbanslar ölçülmüştür.			

Hesaplama

Deney şekildeki gibi gerçekleştirildi. Standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden Blank’te okunan absorbans değeri çıkarıldı. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak PDK-1 konsantrasyonları ng/mL olarak hesaplanmıştır.



Şekil 21. PDK-1’e ait standart eğri grafiği

Sonuçlar total protein miktarına oranlanarak ng/mg protein cinsinden verilmiştir.

3.7.4. Yağ ve Kas dokusu IRS-1 analizi

Yağ ve kas doku süpernatant IRS-1 düzeyi ölçümü BT Lab marka E0919Ra katalog numaralı rat kantitatif ELİSA kiti kullanılarak yapılmıştır (Tablo 6). Kit rat serumu, plazması, idrarı, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarında IRS-1'in in vitro kantitatif ölçümü için biotinle işaretli 2. monoklonal antikor içeren sandviç ELISA metodu ile ölçüm yapmaktadır. Rat IRS-1 epitoplarına karşı yüksek özgüllük gösteren antikorlarla kaplı kuyucuklara standartlar ve serum numuneleri eklendiğinde IRS-1'in antikorla bağlanması sonucu antikor-antijen kompleksi oluşmaktadır. Ardından biotinle işaretli monoklonal IRS-1 antikorları eklenerek antikor-antijen-antikor kompleksi oluşmaktadır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş IRS-1 antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı sırasında yıkanarak uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonları eklenir ve Rat IRS-1 miktarıyla orantılı olarak mavi renk gelişir. Reaksiyon, asidik durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır. Çözeltilerin renginin sarıya döndüğü görülür. Oluşan rengin absorbansı IRS-1 düzeyi ile doğru orantılıdır. Microplate okuyucuda 450 nm'de absorbans ölçülür. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak IRS-1 konsantrasyonları ng/ml olarak hesaplanmıştır. (Şekil 22). Kitin analiz için ölçüm aralığı 3-60 ng/mL, sensitivitesi 2,13 ng/mL, çalışma içi CV değeri %8 ve çalışmalar arası CV değeri %10' un altı olarak verilmiştir.

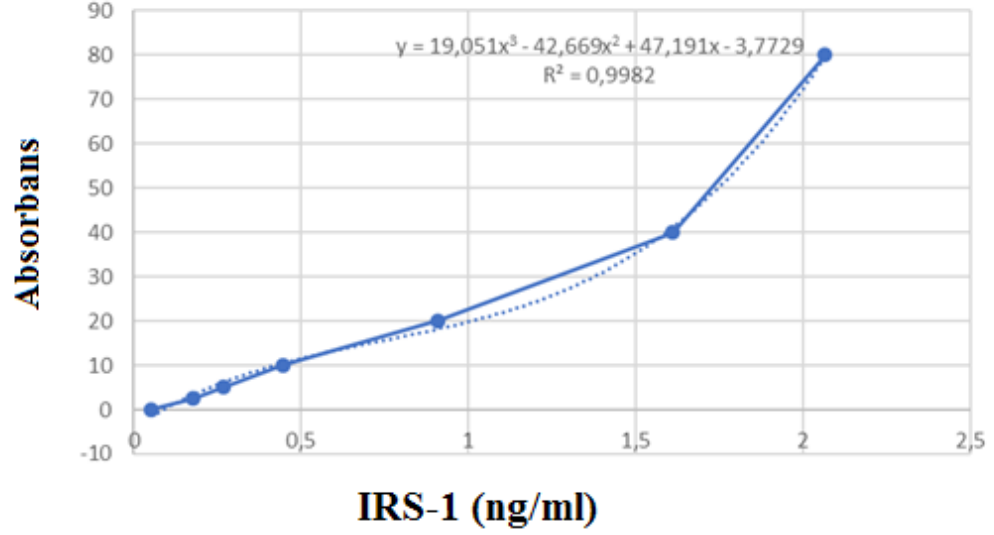
Deneyin yapılışı

Tablo 6. Yağ ve kas dokusu IRS-1 analizi

	Numune	Standart	Blank
Standart	-	50 µl	-
Numune	40 µl	-	-
IRS-1 antikor	10 µl	-	-
Streptavidin-HRP	50 µl	50 µl	-
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karıştırıldı. 60 dakika 37°C’de inkübe edildi. Membran kağıdı çıkarıldı ve her bir kuyucuk yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.			
Substrat solüsyonu A	50 µl	50 µl	50 µl
Substrat solüsyonu B	50 µl	50 µl	50 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karanlıkta 10 dakika 37°C’de inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl
Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi renk hızlıca sarıya dönüşmüştür. Solüsyon eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda microplate okuyucuda absorbanslar ölçülmüştür.			

Hesaplama

Deney çizelgedeki gibi gerçekleştirildi. Standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden Blank’te okunan absorbans değeri çıkarıldı. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak IRS-1 konsantrasyonları ng/mL olarak hesaplanmıştır.



Şekil 22. IRS-1'e ait standart eğri grafiği

Sonuçlar total protein miktarına oranlanarak ng/mg protein cinsinden verilmiştir.

3.7.5. Yağ ve Kas dokusu fosfo-IRS1 analizi

Yağ ve kas doku süpernatant fosfo-IRS1 düzeyi ölçümü BT Lab E2466Ra katalog numaralı rat kantitatif ELİSA kiti kullanılarak yapılmıştır (Tablo 7). Kit rat serumu, plazması, idrarı, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarında fosfo-IRS1'in in vitro kantitatif ölçümü için biotinle işaretli 2. monoklonal antikor içeren sandviç ELISA metodu ile ölçüm yapmaktadır. Rat fosfo-IRS1 epitoplarına karşı yüksek özgüllük gösteren antikorlarla kaplı kuyucuklara standartlar ve serum numuneleri eklendiğinde fosfo-IRS1'in antikorla bağlanması sonucu antikor-antijen kompleksi oluşmaktadır. Ardından biotinle işaretli monoklonal fosfo-IRS1 antikorları eklenerek antikor-antijen-antikor kompleksi oluşmaktadır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş fosfo-IRS1 antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı sırasında yıkanarak uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonları eklenir ve Rat fosfo-IRS1

miktarıyla orantılı olarak mavi renk gelişir. Reaksiyon, asidik durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır. Çözeltinin renginin sarıya döndüğü görülür. Oluşan rengin absorbansı fosfo-IRS1 düzeyi ile doğru orantılıdır. Microplate okuyucuda 450 nm'de absorbans ölçülür. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak fosfo-IRS1 konsantrasyonları ng/ml olarak hesaplanmıştır. (Şekil 23). Kitin analiz için ölçüm aralığı 0,19-12 ng/mL, sensitivitesi 0,09 ng/mL, çalışma içi CV değeri %8 ve çalışmalar arası CV değeri %10' un altı olarak verilmiştir.

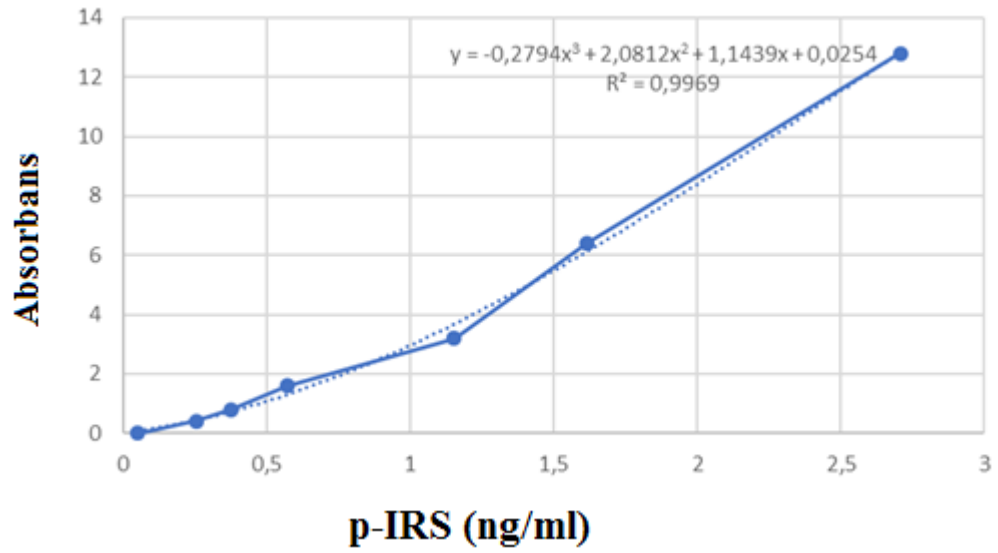
Deneyin yapılışı

Tablo 7. Yağ ve kas dokusu fosfo-IRS1 analizi

	Numune	Standart	Blank
Standart	-	50 µl	-
Numune	40 µl	-	-
Fosfo-IRS-1 antikoru	10 µl	-	-
Streptavidin-HRP	50 µl	50 µl	-
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karıştırıldı. 60 dakika 37°C'de inkübe edildi. Membran kağıdı çıkarıldı ve her bir kuyucuk yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.			
Substrat solüsyonu A	50 µl	50 µl	50 µl
Substrat solüsyonu B	50 µl	50 µl	50 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karanlıkta 10 dakika 37°C'de inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl
Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi renk hızlıca sarıya dönüşmüştür. Solüsyon eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda microplate okuyucuda absorbanslar ölçülmüştür.			

Hesaplama

Deney çizelgedeki gibi gerçekleştirildi. Standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden Blank'te okunan absorbans değeri çıkarıldı. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak fosfo-IRS1 konsantrasyonları ng/mL olarak hesaplanmıştır.



Şekil 23. fosfo-IRS1'e ait standart eğri grafiği

Sonuçlar total protein miktarına oranlanarak ng/mg protein cinsinden verilmiştir.

3.7.6. Yağ ve Kas dokusu fosfo-AKT analizi

Yağ ve kas doku süpernatant fosfo-AKT düzeyi ölçümü BT Lab marka E2452Ra katalog numaralı rat kantitatif ELİSA kiti kullanılarak yapılmıştır (Tablo 8). Kit rat serumu, plazması, idrarı, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarında fosfo- AKT 'nin in vitro kantitatif ölçümü için biotinle işaretli 2. monoklonal antikor içeren sandviç ELISA metodu ile ölçüm yapmaktadır. Rat fosfo- AKT epitoplarına karşı yüksek özgüllük gösteren antikorlarla kaplı

kuyucuklara standartlar ve serum numuneleri eklendiğinde fosfo-AKT'nin antikorla bağlanması sonucu antikor-antijen kompleksi oluşmaktadır. Ardından biotinle işaretli monoklonal fosfo- AKT antikorları eklenerek antikor-antijen-antikor kompleksi oluşmaktadır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş fosfo-AKT antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı sırasında yıkanarak uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonları eklenir ve Rat fosfo- AKT miktarıyla orantılı olarak mavi renk gelişir. Reaksiyon, asidik durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır. Çözeltinin renginin sarıya döndüğü görülür. Oluşan rengin absorbansı fosfo-AKT düzeyi ile doğru orantılıdır. Microplate okuyucuda 450 nm'de absorbans ölçülür. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak fosfo- AKT konsantrasyonları ng/L olarak hesaplanmıştır. (Şekil 24). Kitin analiz için ölçüm aralığı 7-1500 ng/L, sensitivitesi 6,06 ng/L, çalışma içi CV değeri %8 ve çalışmalar arası CV değeri %10' un altı olarak verilmiştir.

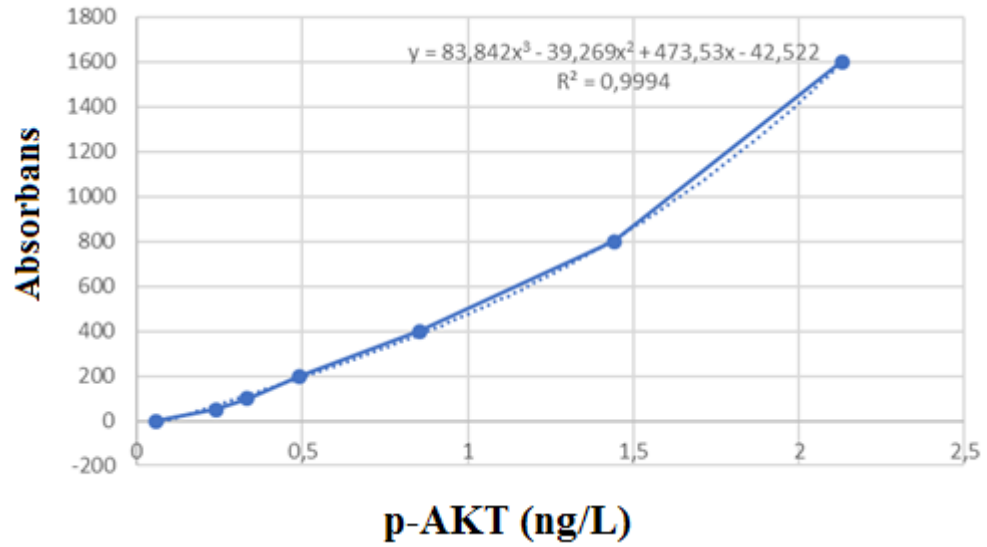
Deneyin yapılışı

Tablo 8. Yağ ve kas dokusu fosfo-AKT analizi

	Numune	Standart	Blank
Standart	-	50 µl	-
Numune	40 µl	-	-
Fosfo-AKT antikoru	10 µl	-	-
Streptavidin-HRP	50 µl	50 µl	-
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karıştırıldı. 60 dakika 37°C'de inkübe edildi. Membran kağıdı çıkarıldı ve her bir kuyucuk yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.			
Substrat solüsyonu A	50 µl	50 µl	50 µl
Substrat solüsyonu B	50 µl	50 µl	50 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karanlıkta 10 dakika 37°C'de inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl
Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi renk hızlıca sarıya dönüşmüştür. Solüsyon eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda microplate okuyucuda absorbanslar ölçülmüştür.			

Hesaplama

Deney çizelgedeki gibi gerçekleştirildi. Standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden Blank'te okunan absorbans değeri çıkarıldı. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak fosfo-AKT konsantrasyonları ng/L olarak hesaplanmıştır.



Şekil 24. fosfo-AKT'ye ait standart eğri grafiği

Sonuçlar total protein miktarına oranlanarak ng/g protein cinsinden verilmiştir.

3.7.7. Yağ ve Kas dokusu AS160 analizi

Yağ ve kas doku süpernatant AS160 düzeyi ölçümü BT Lab marka E2887Ra katalog numaralı rat kantitatif ELİSA kiti kullanılarak yapılmıştır (Tablo 9). Kit rat serumu, plazması, idrarı, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarında AS160'ın in vitro kantitatif ölçümü için biotinle işaretli 2. monoklonal antikor

içeren sandviç ELISA metodu ile ölçüm yapmaktadır. Rat AS160 epitoplarına karşı yüksek özgüllük gösteren antikorlarla kaplı kuyucuklara standartlar ve serum numuneleri eklendiğinde AS160'ın antikorla bağlanması sonucu antikor-antijen kompleksi oluşmaktadır. Ardından biotinle işaretli monoklonal AS160 antikorları eklenerek antikor-antijen-antikor kompleksi oluşmaktadır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş AS160 antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı sırasında yıkanarak uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonları eklenir ve Rat AS160 miktarıyla orantılı olarak mavi renk gelişir. Reaksiyon, asidik durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır. Çözeltinin renginin sarıya döndüğü görülür. Oluşan rengin absorbansı AS160 düzeyi ile doğru orantılıdır. Microplate okuyucuda 450 nm'de absorbans ölçülür. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak AS160 konsantrasyonları ng/L olarak hesaplanmıştır. (Şekil 25). Kitin analiz için ölçüm aralığı 5-1000 ng/L, sensitivitesi 2,41 ng/L, çalışma içi CV değeri %8 ve çalışmalar arası CV değeri %10' un altı olarak verilmiştir.

Deneyin yapılışı

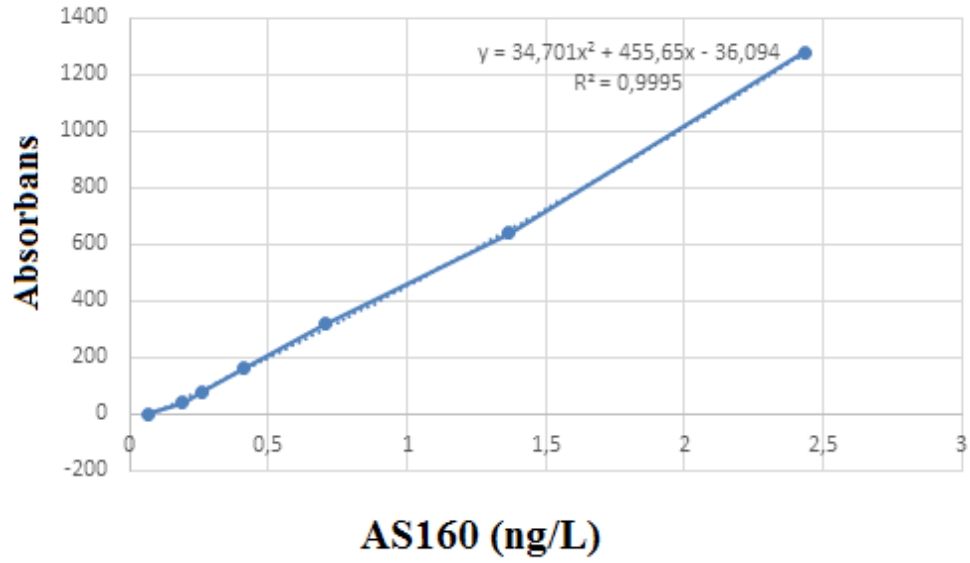
Tablo 9. Yağ ve kas dokusu AS160 analizi

	Numune	Standart	Blank
Standart	-	50 µl	-
Numune	40 µl	-	-
AS160 antikoru	10 µl	-	-
Streptavidin-HRP	50 µl	50 µl	-
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karıştırıldı. 60 dakika 37°C'de inkübe edildi. Membran kağıdı çıkarıldı ve her bir kuyucuk yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.			
Substrat solüsyonu A	50 µl	50 µl	50 µl
Substrat solüsyonu B	50 µl	50 µl	50 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karanlıkta 10 dakika 37°C'de inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl

Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi renk hızlıca sarıya dönüşmüştür. Solüsyon eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda microplate okuyucuda absorbanslar ölçülmüştür.

Hesaplama

Deney çizelgedeki gibi gerçekleştirildi. Standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden Blank'te okunan absorbans değeri çıkarıldı. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak AS160 konsantrasyonları ng/L olarak hesaplanmıştır.



Şekil 25. AS160'a ait standart eğri grafiği

Sonuçlar total protein miktarına oranlanarak ng/g protein cinsinden verilmiştir.

3.7.8. Yağ ve Kas dokusu AMPK analizi

Yağ ve kas doku süpernatant AMPK düzeyi ölçümü BT Lab marka E0436Ra katalog numaralı rat kantitatif ELİSA kiti kullanılarak yapılmıştır (Tablo 10). Kit rat serumu, plazması, idrarı, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarında

AMPK'nın in vitro kantitatif ölçümü için biotinle işaretli 2. monoklonal antikor içeren sandviç ELISA metodu ile ölçüm yapılmaktadır. Rat AMPK epitoplarına karşı yüksek özgüllük gösteren antikorlarla kaplı kuyucuklara standartlar ve serum numuneleri eklendiğinde AMPK'nın antikorla bağlanması sonucu antikor-antijen kompleksi oluşmaktadır. Ardından biotinle işaretli monoklonal AMPK antikorları eklenerek antikor-antijen-antikor kompleksi oluşmaktadır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş AMPK antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı sırasında yıkanarak uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonları eklenir ve Rat AMPK miktarıyla orantılı olarak mavi renk gelişir. Reaksiyon, asidik durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır. Çözeltinin renginin sarıya döndüğü görülür. Oluşan rengin absorbansı AMPK düzeyi ile doğru orantılıdır. Microplate okuyucuda 450 nm'de absorbans ölçülür. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak AMPK konsantrasyonları U/L olarak hesaplanmıştır. (Şekil 26). Kitin analiz için ölçüm aralığı 0,5-200 U/L, sensitivitesi 0,25 U/L, çalışma içi CV değeri %8 ve çalışmalar arası CV değeri %10' un altı olarak verilmiştir.

Deneyin yapılışı

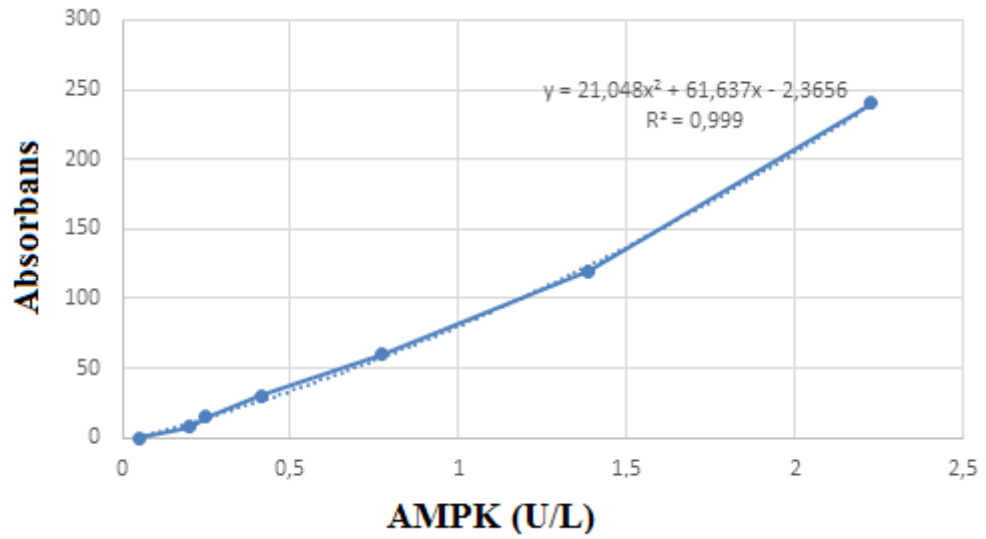
Tablo 10. Yağ ve kas dokusu AMPK analizi

	Numune	Standart	Blank
Standart	-	50 µl	-
Numune	40 µl	-	-
AMPK antikoru	10 µl	-	-
Streptavidin-HRP	50 µl	50 µl	-
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karıştırıldı. 60 dakika 37°C'de inkübe edildi. Membran kağıdı çıkarıldı ve her bir kuyucuk yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.			
Substrat solüsyonu A	50 µl	50 µl	50 µl
Substrat solüsyonu B	50 µl	50 µl	50 µl

Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karanlıkta 10 dakika 37°C’de inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl
Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi renk hızlıca sarıya dönüşmüştür. Solüsyon eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda microplate okuyucuda absorbanlar ölçülmüştür.			

Hesaplama

Deney çizelgedeki gibi gerçekleştirildi. Standart ve numunelerde okunan absorban değerinden Blank’te okunan absorban değeri çıkarıldı. Standartların konsantrasyonu ve absorban değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak AMPK konsantrasyonları U/L olarak hesaplanmıştır.



Şekil 26. AMPK’ya ait standart eğri grafiği

Sonuçlar total protein miktarına oranlanarak U/g protein cinsinden verilmiştir.

3.7.9. Yağ ve Kas dokusu GLUT4 analizi

Yağ ve kas doku süpernatant GLUT4 düzeyi ölçümü BT Lab marka E0499Ra katalog numaralı rat kantitatif ELİSA kiti kullanılarak yapılmıştır (Tablo 11). Kit rat serumu, plazması, idrarı, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarında GLUT4'ün in vitro kantitatif ölçümü için biotinle işaretli 2. monoklonal antikor içeren sandviç ELISA metodu ile ölçüm yapmaktadır. Rat GLUT4 epitoplarına karşı yüksek özgüllük gösteren antikorlarla kaplı kuyucuklara standartlar ve serum numuneleri eklendiğinde GLUT4'ün antikorla bağlanması sonucu antikor-antijen kompleksi oluşmaktadır. Ardından biotinle işaretli monoklonal GLUT4 antikorları eklenerek antikor-antijen-antikor kompleksi oluşmaktadır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş GLUT4 antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı sırasında yıkanarak uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonları eklenir ve Rat GLUT4 miktarıyla orantılı olarak mavi renk gelişir. Reaksiyon, asidik durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır. Çözeltinin renginin sarıya döndüğü görülür. Oluşan rengin absorbansı GLUT4 düzeyi ile doğru orantılıdır. Microplate okuyucuda 450 nm'de absorbans ölçülür. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak GLUT4 konsantrasyonları ng/ml olarak hesaplanmıştır. (Şekil 27). Kitin analiz için ölçüm aralığı 0,2-60 ng/ml, sensitivitesi 0,11 ng/ml, çalışma içi CV değeri %8 ve çalışmalar arası CV değeri %10' un altı olarak verilmiştir.

Deneyin yapılışı

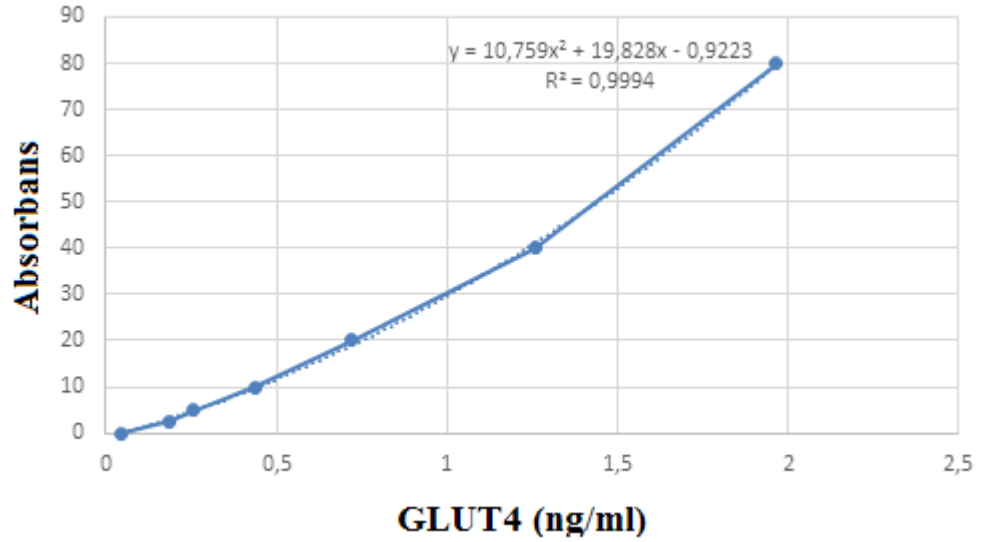
Tablo 11. Yağ ve kas dokusu GLUT4 analizi

	Numune	Standart	Kör
Standart	-	50 µl	-
Numune	40 µl	-	-
GLUT4 antikor	10 µl	-	-
Streptavidin-HRP	50 µl	50 µl	-

Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karıştırıldı. 60 dakika 37°C’de inkübe edildi. Membran kağıdı çıkarıldı ve her bir kuyucuk yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.			
Substrat solüsyonu A	50 µl	50 µl	50 µl
Substrat solüsyonu B	50 µl	50 µl	50 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karanlıkta 10 dakika 37°C’de inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl
Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi renk hızlıca sarıya dönüşmüştür. Solüsyon eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda microplate okuyucuda absorbanslar ölçülmüştür.			

Hesaplama

Deney çizelgedeki gibi gerçekleştirildi. Standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden Blank’te okunan absorbans değeri çıkarıldı. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak GLUT4 konsantrasyonları ng/ml olarak hesaplanmıştır.



Şekil 27. GLUT4’e ait standart eğri grafiği

Sonuçlar total protein miktarına oranlanarak ng/mg protein cinsinden verilmiştir.

3.7.10. Yağ ve Kas dokusu PIP3 analizi

Yağ ve kas doku süpernatant PIP3 düzeyi ölçümü USCN marka CEG856Ge katalog numaralı rat kantitatif ELİSA kiti kullanılarak yapılmıştır (Tablo 12). Kit rat serumu, plazması, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarında PIP3'ün in vitro kantitatif ölçümünü yarışmalı ELİSA metodu ile yapmaktadır. PIP3'e özgü bir monoklonal antikor, mikrolaka üzerine önceden kaplanmıştır. Biotin etiketli PIP3 ve etiketlenmemiş PIP3 (Standartlar veya numuneler) arasında, PIP3'e özel önceden kaplanmış antikor ile rekabetçi bir inhibisyon reaksiyonu başlatılır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış konjugat yıkanır. Daha sonra HRP her mikrolaka kuyusuna eklenir ve inkübe edilir. Bağlı HRP konjugatının miktarı, numunedeki PIP3 konsantrasyonuyla ters orantılıdır. Substrat solüsyonunun eklenmesinden sonra gelişen rengin yoğunluğu numunedeki PIP3 konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Standartların log. konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak PIP3 konsantrasyonları ng/mL olarak hesaplanmıştır (Şekil 28). Kitin alt ölçüm limiti 2,94 ng/mL; ölçüm aralığı ise 6,17-500 ng/mL; kite ait çalışma içi CV değeri %10 çalışmalar arası CV değeri ise %12'nin altında verilmiştir.

Deneyin yapılışı

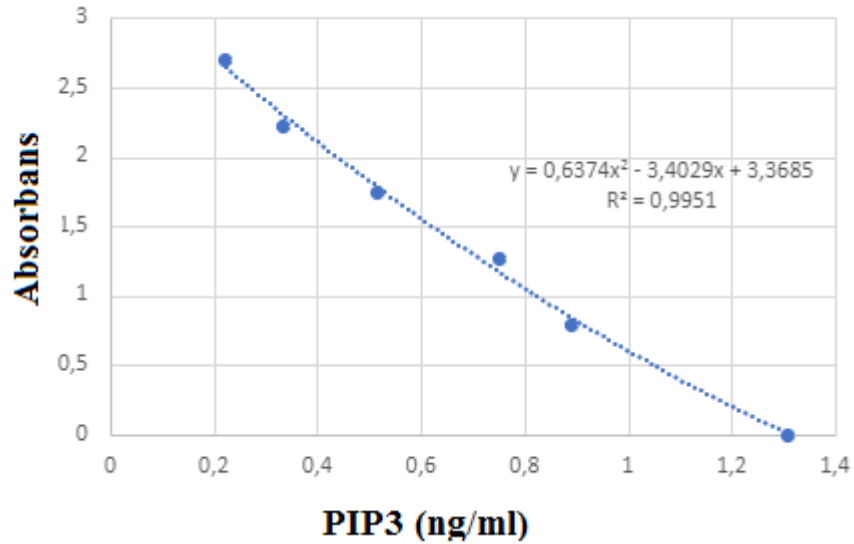
Tablo 12. Yağ ve kas dokusu PIP3 analizi

	Numune	Standart	Kör
Standart	-	50 µl	-
Numune	50 µl	-	-
Reaktif A	50 µl	50 µl	50 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karıştırıldı. 60 dakika 37°C'de inkübe edildi. Membran kağıdı çıkarıldı ve her bir kuyucuk yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı.			
Reaktif B	50 µl	50 µl	50 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karanlıkta 30 dakika 37°C'de inkübe edildi. Membran kağıdı çıkarıldı ve her bir kuyucuk yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.			

Substrat solüsyonu A	90 µl	90 µl	90 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karanlıkta 10 dakika 37°C’de inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl
Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi renk hızlıca sarıya dönüşmüştür. Solüsyon eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda microplate okuyucuda absorbanslar ölçülmüştür.			

Hesaplama

Deney çizelgedeki gibi gerçekleştirildi. Standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden Blank’te okunan absorbans değeri çıkarıldı. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak PIP3 konsantrasyonları ng/ml olarak hesaplanmıştır.



Şekil 28. PIP3’e ait standart eğri grafiği

Sonuçlar total protein miktarına oranlanarak ng/mg protein cinsinden verilmiştir.

3.7.11. Yağ ve Kas dokusu PGC-1 α analizi

Yağ ve kas doku süpernatant PGC-1 α düzeyi ölçümü BT Lab marka E0499Ra katalog numaralı rat kantitatif ELİSA kiti kullanılarak yapılmıştır (Tablo 13). Kit rat serumu, plazması, idrarı, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarında GLUT4'ün in vitro kantitatif ölçümü için biotinle işaretli 2. monoklonal antikor içeren sandviç ELISA metodu ile ölçüm yapmaktadır. Rat PGC-1 α epitoplarına karşı yüksek özgüllük gösteren antikorlarla kaplı kuyucuklara standartlar ve serum numuneleri eklendiğinde PGC-1 α 'nın antikorla bağlanması sonucu antikor-antijen kompleksi oluşmaktadır. Ardından biotinle işaretli monoklonal PGC-1 α antikorları eklenerek antikor-antijen-antikor kompleksi oluşmaktadır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş PGC-1 α antikoru bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı sırasında yıkanarak uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonları eklenir ve Rat PGC-1 α miktarıyla orantılı olarak mavi renk gelişir. Reaksiyon, asidik durdurma solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır. Çözeltinin renginin sarıya döndüğü görülür. Oluşan rengin absorbansı PGC-1 α düzeyi ile doğru orantılıdır. Microplate okuyucuda 450 nm'de absorbans ölçülür. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak PGC-1 α konsantrasyonları ng/ml olarak hesaplanmıştır. (Şekil 29). Kitin analiz için ölçüm aralığı 0,2-60 ng/ml, sensitivitesi 0,11 ng/ml, çalışma içi CV değeri %8 ve çalışmalar arası CV değeri %10' un altı olarak verilmiştir.

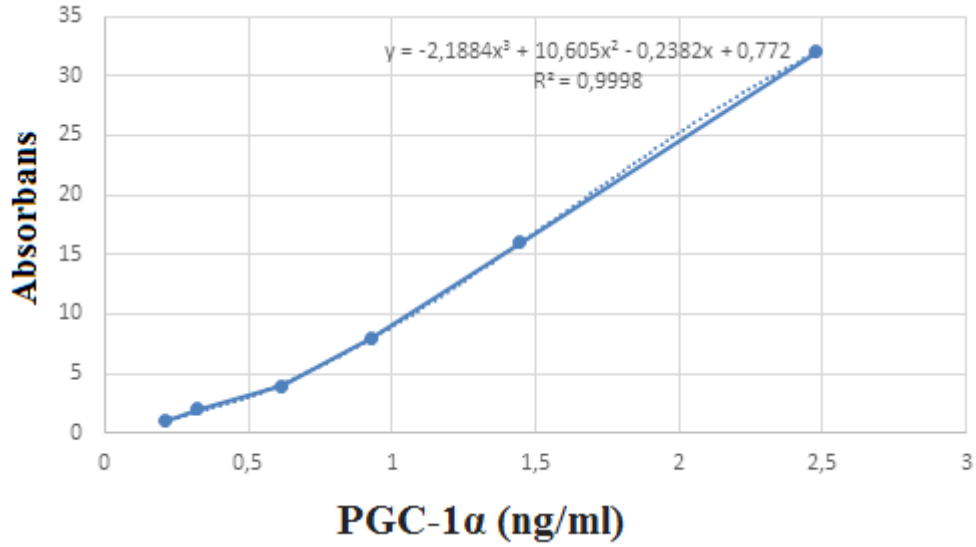
Deneyin yapılışı

Tablo 13. Yağ ve kas dokusu PGC-1 α analizi

	Numune	Standart	Blank
Standart	-	50 μ l	-
Numune	40 μ l	-	-
PGC-1α antikor	10 μ l	-	-
Streptavidin-HRP	50 μ l	50 μ l	-
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karıştırıldı. 60 dakika 37°C’de inkübe edildi. Membran kağıdı çıkarıldı ve her bir kuyucuk yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.			
Substrat solüsyonu A	50 μ l	50 μ l	50 μ l
Substrat solüsyonu B	50 μ l	50 μ l	50 μ l
Solüsyonlar eklendikten sonra plate üzerine membran kağıdı kapatılarak karanlıkta 10 dakika 37°C’de inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 μ l	50 μ l	50 μ l
Stop solüsyonu eklendikten sonra mavi renk hızlıca sarıya dönüşmüştür. Solüsyon eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda microplate okuyucuda absorbanslar ölçülmüştür.			

Hesaplama

Deney çizelgedeki gibi gerçekleştirildi. Standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden Blank’te okunan absorbans değeri çıkarıldı. Standartların konsantrasyonu ve absorbans değerleri ile çizilen standart eğrisinden elde edilen formül kullanılarak PGC-1 α konsantrasyonları ng/ml olarak hesaplanmıştır.



Şekil 29. PGC-1α'ya ait standart eğri grafiği

Sonuçlar total protein miktarına oranlanarak ng/mg protein cinsinden verilmiştir.

Verilerin Analizi

Gruplar arasında anlamlı farklılıkların belirlenmesi için IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) sürüm 25 kullanılmıştır. Elde edilen verilerin gösteriminde medyan ve çeyreklik aralık değerleri kullanılmıştır. Parametrik olmayan test koşulları altında gruplar arasındaki farkın anlamlılık düzeyini belirlemek için Kruskal Wallis Testi seçilmiştir. Anlamlı farklılıkları belirlemek için Mann-Whitney U testi ve Bonferroni Düzeltmesi kullanılmıştır. Bu amaçla 4 grup için 6 karşılaştırma yapılmış, p değeri ($p \leq 0.05$) Bonferroni düzeltmesine ($0.05/6=0.0083$) göre 6'ya bölünmüştür. İki grup arasındaki anlamlılık düzeyi için 0,008'e eşit ve altındaki p değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Parametreler arasındaki korelasyonu incelemek için gruplar arasında Spearman Korelasyon Analizi yapılmıştır. Korelasyon analizinde p-değerine eşit ve 0,05'in altındaki değerler anlamlı, 0,01'e eşit ve altındaki değerler güçlü anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmada bulgular değerlendirilirken çalışma grubu 4'e ayrılmıştır.

Grup 1: Kontrol Grubu

Grup 2: %20'lik Fruktöz

Grup 3: %20'lik Fruktöz + 100 mg/kg Kurkumin

Grup 4: %20'lik Fruktöz + 200 mg/kg Kurkumin

4.1. Serum İnsülin, Glukoz, İnsülin Direnci Testi (HOMA-IR) bulguları

Tüm grupların serum insülin, glukoz, HOMA-IR parametrelerinin medyan ve çeyrekler aralığı Tablo 14'te gösterilmiştir.

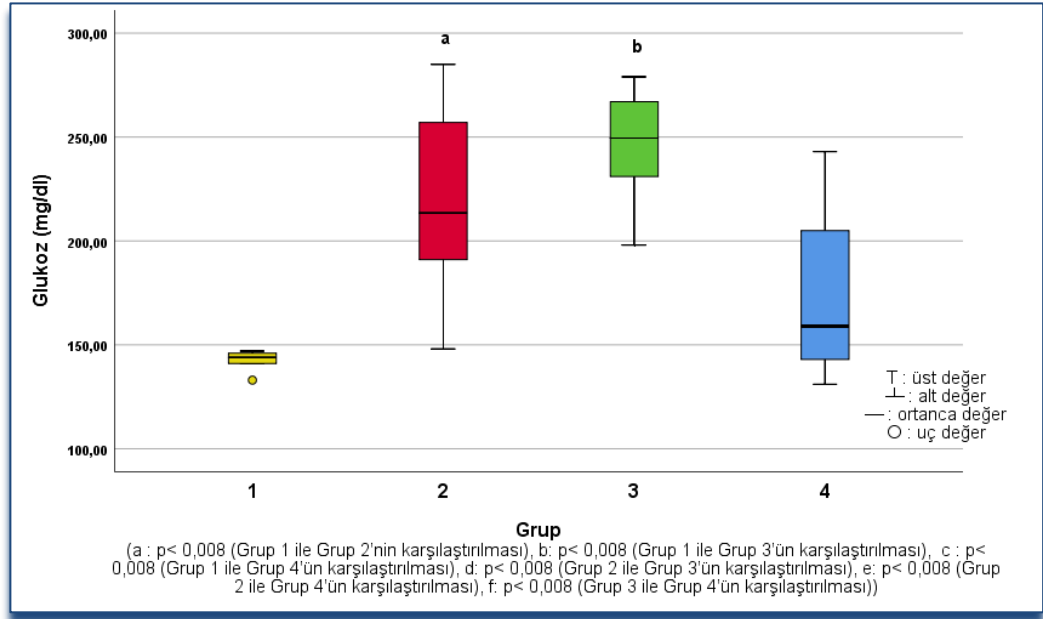
Tablo 14. Serum Glukoz, insülin ve HOMA-IR medyan ve çeyrekler aralığı değerleri

Parametreler	Grup 1 n=6	Grup 2 n=6	Grup 3 n=6	Grup 4 n=6
Glukoz (mg/dl)	144 (139-146,3)	213,5 (180,3-264) ^a	249,5 (222,8-270) ^b	159 (140-214,5)
İnsülin (μU/ml)	6,48 (5,89-6,74)	8,26 (7,9-8,79) ^a	5,28 (5,01-5,54) ^d	4,48 (3,47-5,06) ^{c,e}
HOMA-IR	2,25 (2,09-2,36)	4,16 (3,77-5,38) ^a	3,13 (2,89-3,54) ^{b,d}	1,83 (1,37-1,98) ^{c,e,f}

a : $p \leq 0,008$ (Grup 1 ile Grup 2'nin karşılaştırılması), b: $p \leq 0,008$ (Grup 1 ile Grup 3'ün karşılaştırılması), c : $p \leq 0,008$ (Grup 1 ile Grup 4'ün karşılaştırılması), d: $p \leq 0,008$ (Grup 2 ile Grup 3'ün karşılaştırılması), e: $p \leq 0,008$ (Grup 2 ile Grup 4'ün karşılaştırılması), f: $p \leq 0,008$ (Grup 3 ile Grup 4'ün karşılaştırılması).

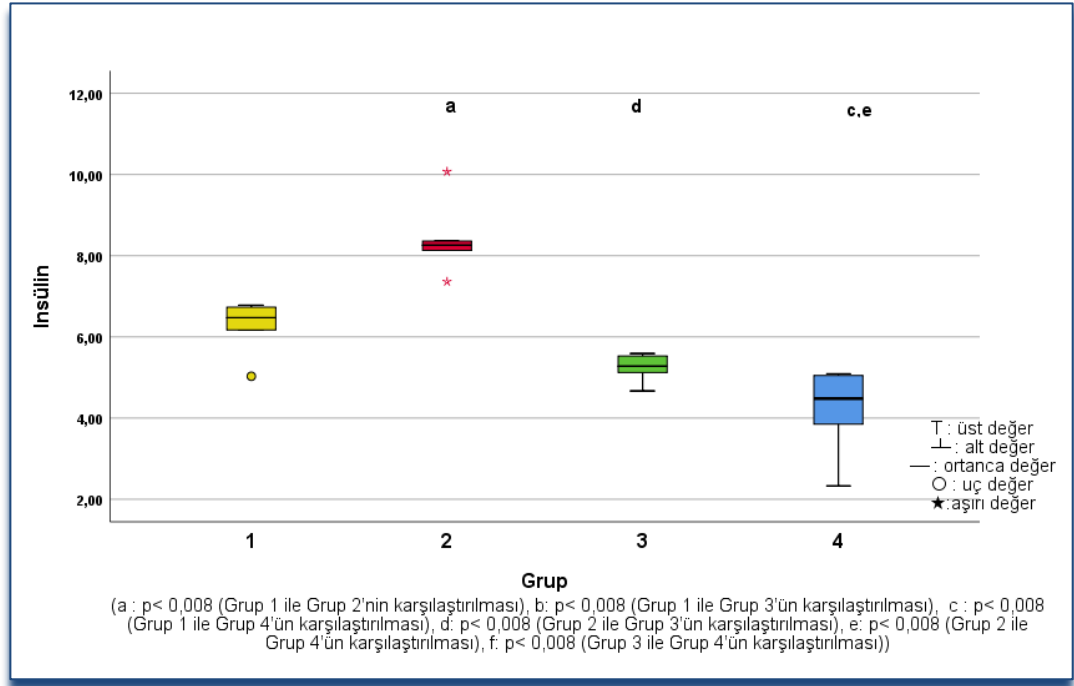
Serum glukoz, insülin ve HOMA-IR seviyeleri gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldığı farkın anlamlılığı bulunmuştur (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,001$, $p=0,001$).

Grup 1'e göre Grup 2 ve Grup 3'ün glukoz seviyelerinin anlamlı olarak yükseldiği gözlenmiştir (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,004$). Grup 2'ye göre Grup 4'ün glukoz seviyesi bir azalma görülmesine karşın istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p=0,180$) (Şekil 30).



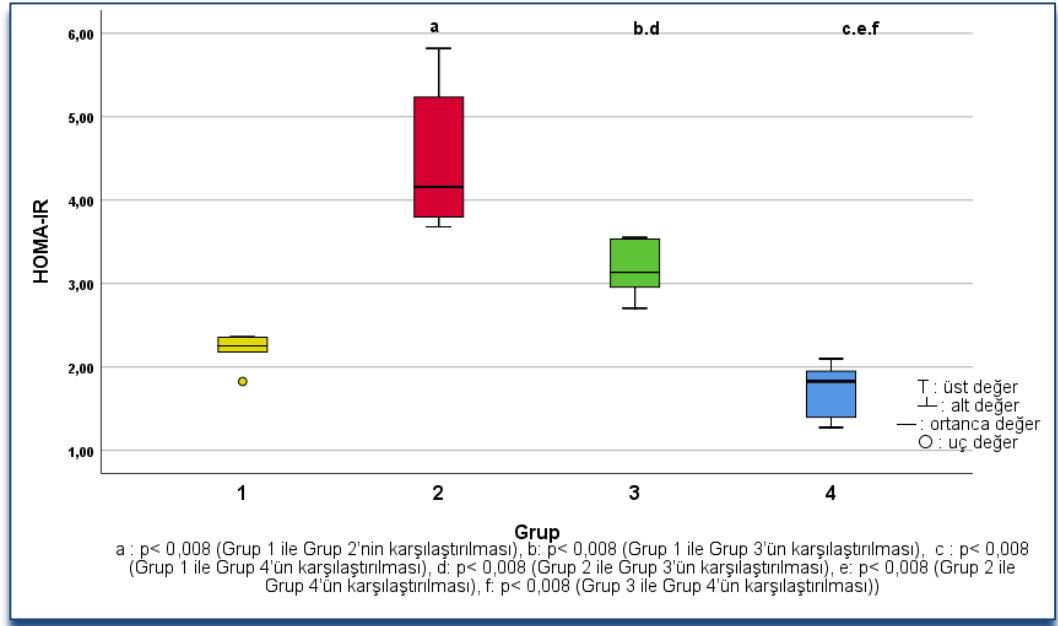
Şekil 30. Grupların serum glukoz seviyeleri

Grupların insülin düzeylerine bakıldığında, Grup 2'nin insülin seviyesi Grup 1'e göre anlamlı olarak artarken, Grup 4'ün Grup 1'e göre insülin seviyesinin anlamlı olarak azalmıştır (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,008$). Grup 3 ve Grup 4'ün insülin seviyesinin Grup 2'ye göre anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir (Sırasıyla $p=0,004$, $p=0,004$). Grup 3 ve Grup 4'ün insülin seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p=0,016$) (Şekil 31).



Şekil 31. Grupların serum insülin seviyeleri

Grupların HOMA-IR değeri arasındaki farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,001$). Grup 1'e kıyasla Grup 2 ve Grup 3'ün HOMA-IR değeri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,004$), buna karşın Grup 1'e göre Grup 4'ün HOMA-IR değerinin anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir ($p=0,008$). Bununla birlikte Grup 2'ye karşılaştırıldığında Grup 3 ve Grup 4'ün HOMA-IR değerlerinin Grup 2'ye göre anlamlı olarak azalmıştır (Sırasıyla $p=0,004$, $p=0,004$). Aynı zamanda, Grup 3'e göre Grup 4'ün HOMA-IR değerinin de anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir ($p=0,004$) (Şekil 32).



Şekil 32. Grupların HOMA-IR değerleri

4.2. Kas Dokusu İnsülin Sinyal (IRS/Akt/GLUT4) Yolu Parametreleri Bulguları

Tüm grupların kas dokusu insülin yolu parametrelerinin medyan ve çeyrekler aralığı Tablo 15'te gösterilmiştir.

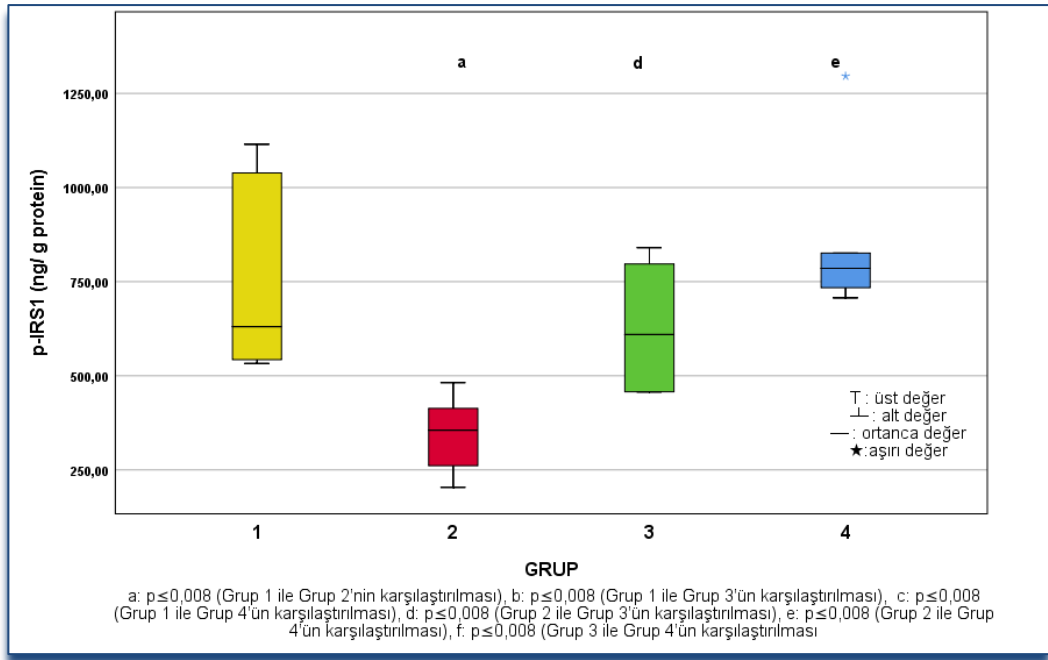
Tablo 15. Kas dokusu insülin sinyal yolu parametrelerinin medyan ve çeyrekler aralığı değerleri

Parametreler	Grup 1 n=6	Grup 2 n=6	Grup 3 n=6	Grup 4 n=6
p-IRS1 (ng/g pro.)	630,3 (540,2-1057,8)	355,5 (246,7-430,3) ^a	609,8 (457,3-807,7) ^d	785,4 (727,3-943,4) ^e
IRS1 (ng/mg pro.)	4,39 (4,05-6,19)	2,73 (2,31-3,44) ^a	4,18 (3,99-4,45) ^d	5,54 (5,14-8,36) ^{e,f}
PI3K (ng/mg pro.)	4,12 (2,91-6,95)	1,22 (0,74-2,29) ^a	2,99 (1,36-4,04)	4,42 (3,93-6,83) ^e
PIP3 (ng/mg pro.)	1,61 (1,22-4,64)	0,7 (0,56-0,87) ^a	1,65 (1,62-1,85) ^d	2,53 (1,5-3,37) ^e
PDK1 (ng/mg pro.)	4 (3,54-8,98)	1,91 (0,86-3,08) ^a	4,33 (3,12-5,8) ^d	7,05 (6,35-10,7) ^{e,f}
p-AKT (U/mg pro.)	24,2 (49-70,4)	7,4 (3,1-14) ^a	31,3 (23,7-50) ^d	49,1(29,8-86,1) ^e

AS160 (ng/g pro.)	34,5 (27,5-73,9)	32,3 (19,9-55)	40,2 (33,1-47,3)	53,2 (34-74,2)
GLUT4 (ng/mg pro.)	4,36 (3,72-8,35)	2,31 (1,6-2,77) ^a	2,59 (2,32-3,43)	4,61 (3,46-6,89) ^e

a: $p \leq 0,008$ (Grup 1 ile Grup 2'nin karşılaştırılması), b: $p \leq 0,008$ (Grup 1 ile Grup 3'ün karşılaştırılması), c: $p \leq 0,008$ (Grup 1 ile Grup 4'ün karşılaştırılması), d: $p \leq 0,008$ (Grup 2 ile Grup 3'ün karşılaştırılması), e: $p \leq 0,008$ (Grup 2 ile Grup 4'ün karşılaştırılması), f: $p \leq 0,008$ (Grup 3 ile Grup 4'ün karşılaştırılması).

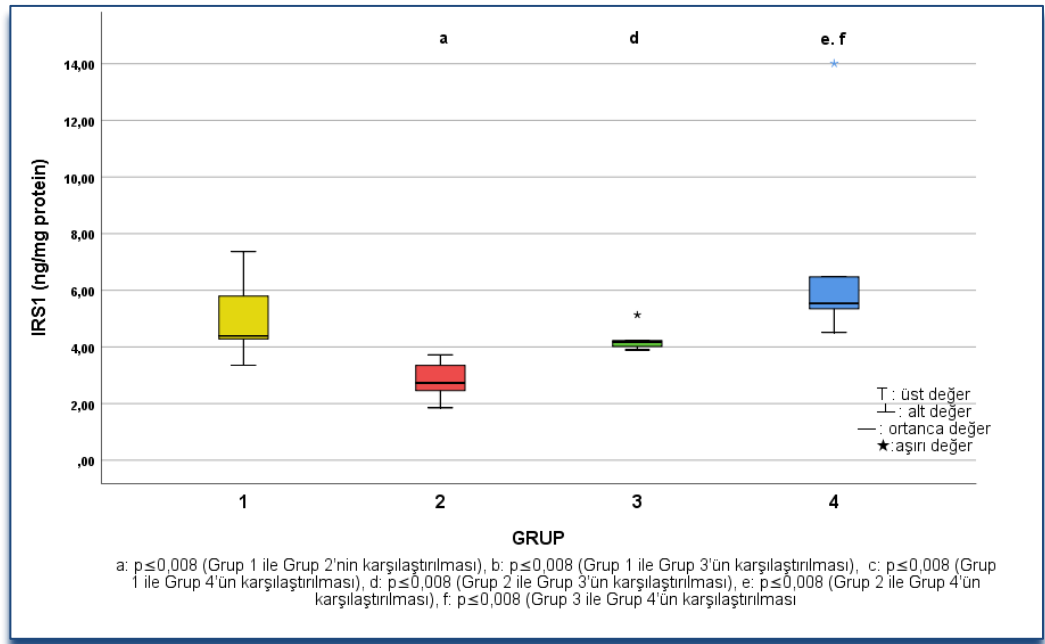
Dört grubun kas dokusu p-IRS1 seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,004$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla p-IRS1 seviyesi Grup 2'de anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,002$). Buna karşın, Grup 2'e kıyasla Grup 3 ve Grup 4'ün p-IRS1 seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,008$, $p=0,004$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 33).



Şekil 33. Grupların kas p-IRS1 seviyeleri

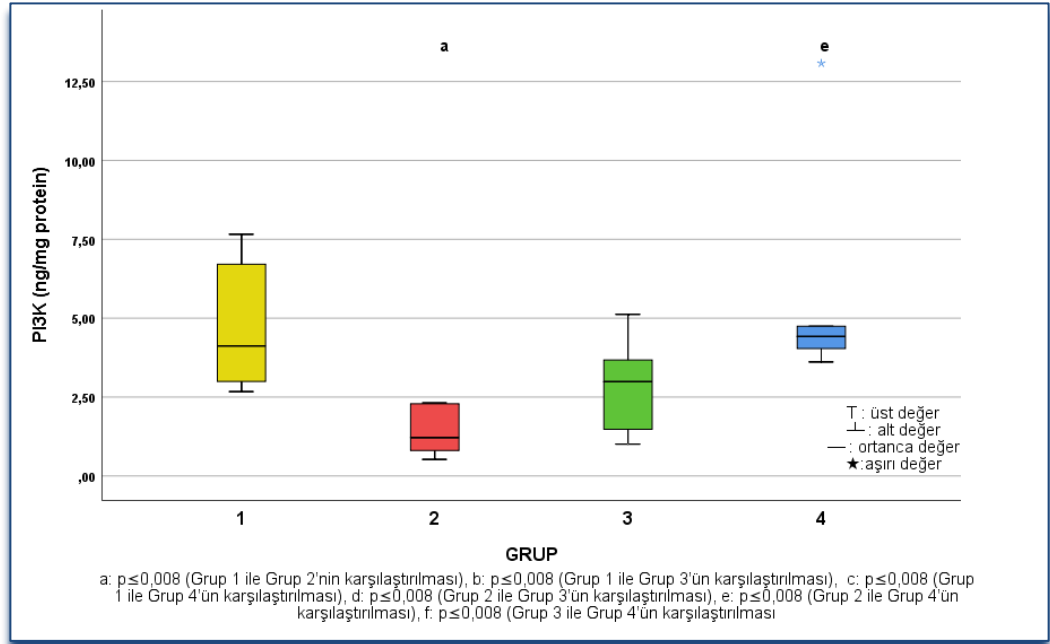
Dört grubun kas dokusu IRS1 seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,001$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla IRS1 seviyesi

Grup 2’de anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,006$). Buna karşın, Grup 2’e kıyasla Grup 3 ve Grup 4’ün p-IRS1 seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,004$). Bununla birlikte, Grup 3’e kıyasla Grup 4’ün IRS1 seviyesi anlamlı olarak artmıştır ($p=0,006$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 34).



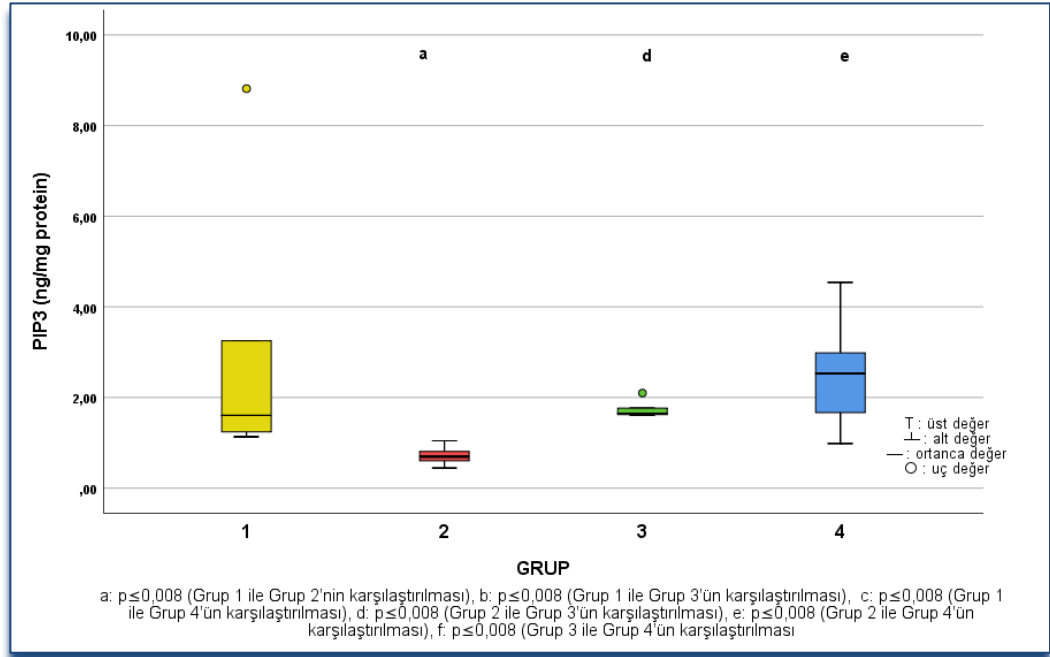
Şekil 34. Grupların kas IRS1 seviyeleri

Dört grubun kas dokusu PI3K seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,004$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1’e kıyasla PI3K seviyesi Grup 2’de anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,004$). Buna karşın, Grup 2’e kıyasla Grup 4’ün PI3K seviyesi anlamlı olarak artmıştır ($p=0,004$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 35).



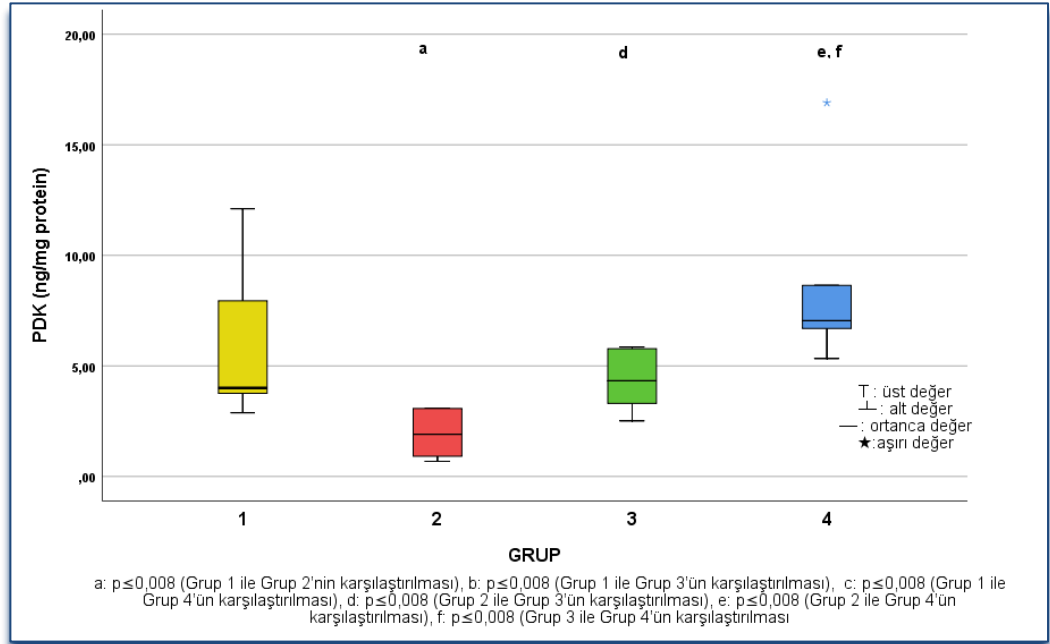
Şekil 35. Grupların kas PI3K seviyeleri

Dört grubun kas dokusu PIP3 seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,004$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla PIP3 seviyesi Grup 2'de anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,004$). Buna karşın, Grup 2'e kıyasla Grup 3 ve Grup 4'ün PIP3 seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,006$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 36).



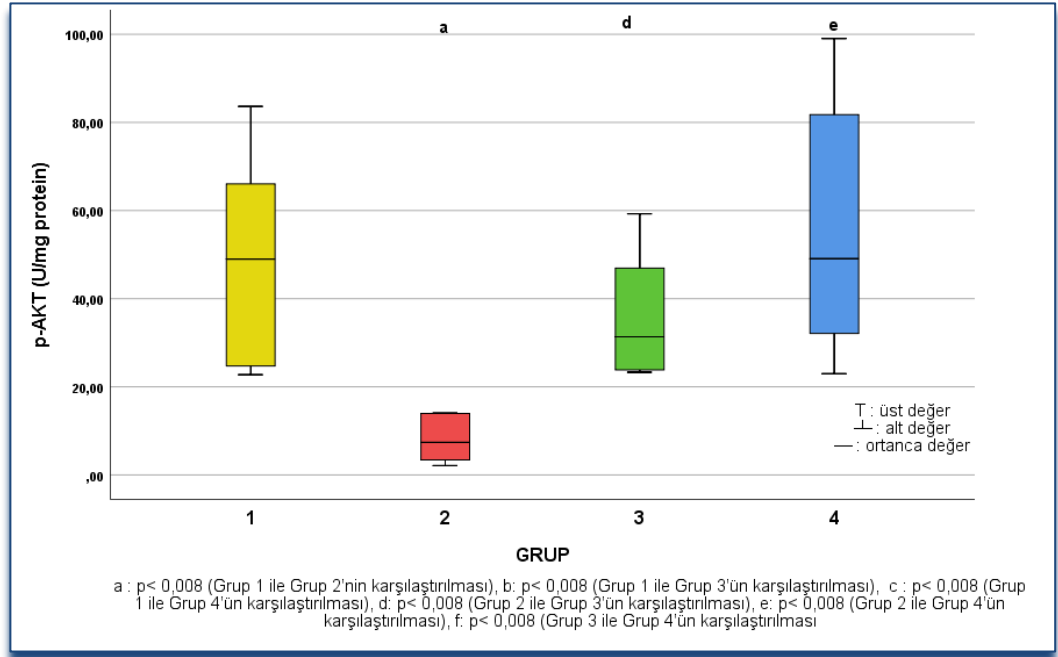
Şekil 36. Grupların kas PIP3 seviyeleri

Dört grubun kas dokusu PDK1 seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,002$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla PDK1 seviyesi Grup 2'de anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,008$). Buna karşın, Grup 2'e kıyasla Grup 3 ve Grup 4'ün PDK1 seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,008$, $p=0,004$). Bununla birlikte, Grup 3'e kıyasla Grup 4'ün PDK1 seviyesi anlamlı olarak artmıştır ($p=0,008$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 37).



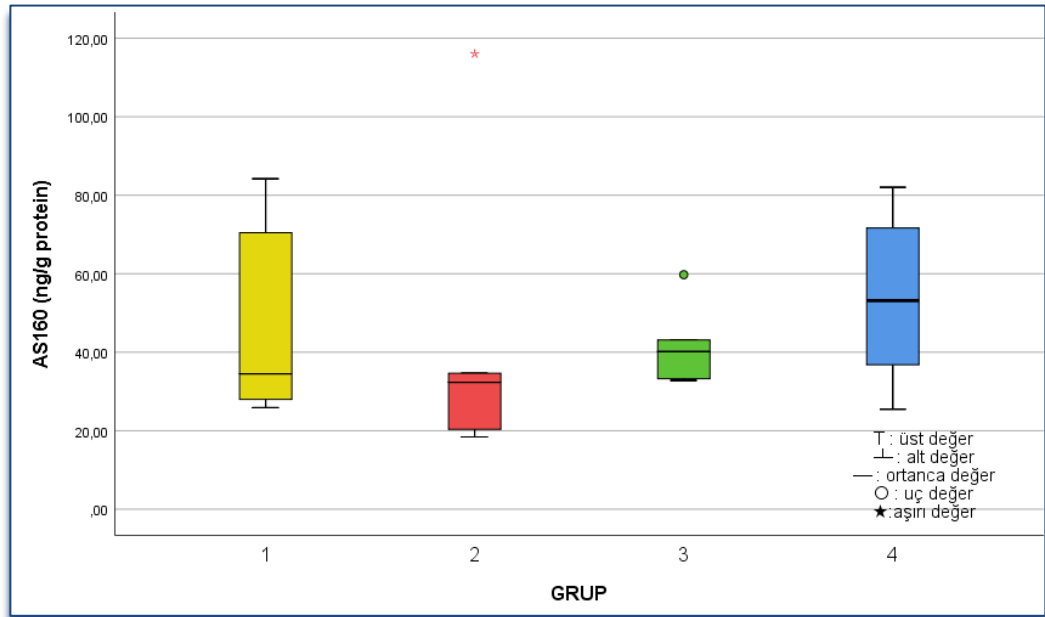
Şekil 37. Grupların kas PDK1 seviyeleri

Dört grubun kas dokusu p-AKT seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,003$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla p-AKT seviyesi Grup 2'de anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,004$). Buna karşın, Grup 2'e kıyasla Grup 3 ve Grup 4'ün p-AKT seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,004$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 38).



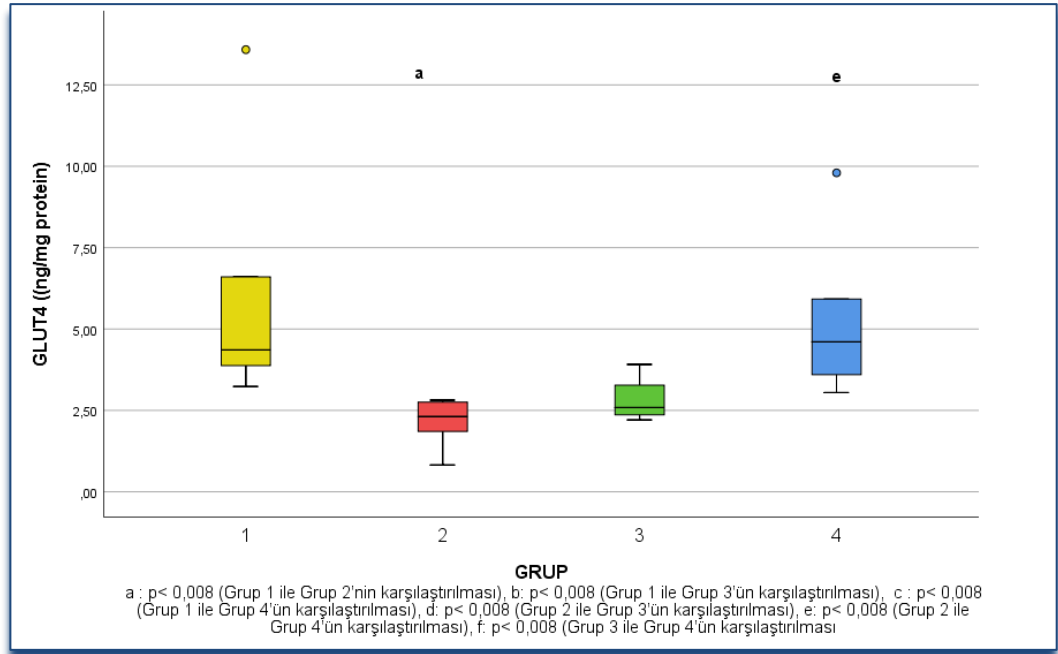
Şekil 38. Grupların kas p-AKT seviyeleri

Dört grubun kas dokusu AS160 seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p=0,453$) (Şekil 39).



Şekil 39. Grupların kas AS160 seviyeleri

Dört grubun kas dokusu GLUT4 seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,002$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla GLUT4 seviyesi Grup 2'de anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,004$). Buna karşın, Grup 2'e kıyasla Grup 4'ün GLUT4 seviyesi anlamlı olarak artmıştır ($p=0,004$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 40).



Şekil 40. Grupların kas GLUT4 seviyeleri

4.3. Kas Dokusu AMPK Aktive Edilmiş Protein Kinase (AMPK) ve Peroksizom Proliferatör Aktive edilmiş Reseptör Gama Koaktivatör Alfa (PGC-1 α) Bulguları

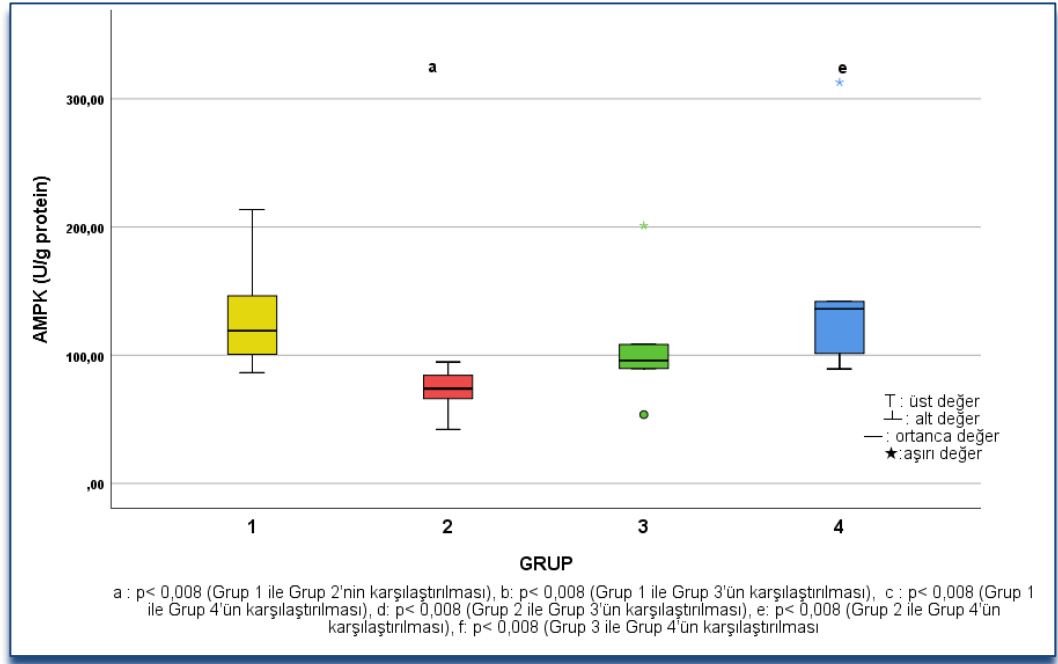
Tüm grupların kas dokusu AMPK ve PGC-1 α medyan ve çeyrekler aralığı Tablo 16’da gösterilmiştir.

Tablo 16. Kas Dokusu AMPK ve PGC-1 α medyan ve çeyrekler aralığı değerleri

Parametreler	Grup 1 n=6	Grup 2 n=6	Grup 3 n=6	Grup 4 n=6
AMPK (U/g pro.)	119,1 (97,2-163,2)	73,9 (60,1-86,9) ^a	95,9 (80,7-131,5)	136,1 (98,4-184,6) ^e
PGC-1 α (U/mg pro.)	1,98 (1,26-2,55)	0,82 (0,71-1) ^a	1,81 (1,39-2,93) ^d	2,31 (1,59-3,34) ^e

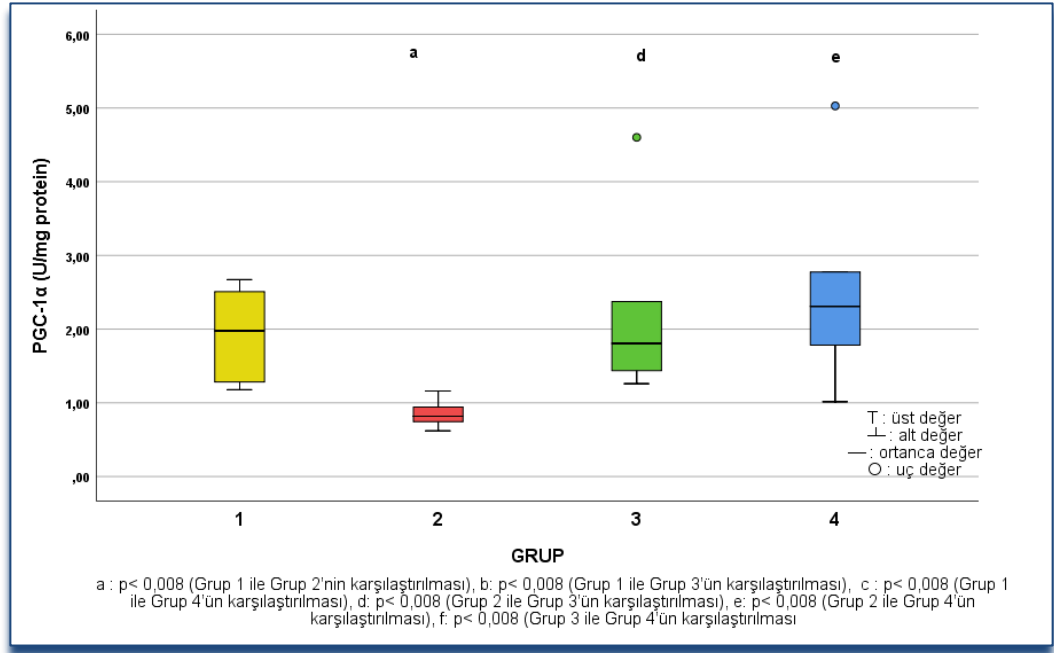
a : $p \leq 0,008$ (Grup 1 ile Grup 2’nin karşılaştırılması), b: $p \leq 0,008$ (Grup 1 ile Grup 3’ün karşılaştırılması), c : $p \leq 0,008$ (Grup 1 ile Grup 4’ün karşılaştırılması), d: $p \leq 0,008$ (Grup 2 ile Grup 3’ün karşılaştırılması), e: $p \leq 0,008$ (Grup 2 ile Grup 4’ün karşılaştırılması), f: $p \leq 0,008$ (Grup 3 ile Grup 4’ün karşılaştırılması).

Dört grubun kas dokusu AMPK seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,008$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1’e kıyasla AMPK seviyesi Grup 2’de anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,006$). Buna karşın, Grup 2’e kıyasla Grup 4’ün AMPK seviyesi anlamlı olarak artmıştır ($p=0,006$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 41).



Şekil 41. Grupların kas AMPK seviyeleri

Dört grubun kas dokusu PGC-1 α seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur (p=0,003). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla PGC-1 α seviyesi Grup 2'de anlamlı olarak azalmıştır (p=0,004). Buna karşın, Grup 2'e kıyasla Grup 3 ve Grup 4'ün PGC-1 α seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; p=0,004, p=0,004). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır (p>0,008) (Şekil 42).



Şekil 42. Grupların kas PGC-1α seviyeleri

4.4. Kas Dokusu Korelasyon Analiz Sonuçları

Korelasyon analiz sonuçlarına göre HOMA-IR değeri ve kas doku parametreleri (AS160 hariç) ikişerli olarak ilişkilendirildiğinde güçlü anlamlı negatif korelasyon göstermiştir ($p \leq 0,01$). Bununla birlikte kas doku parametreleri her iki parametre kendi arasında ilişkilendirildiğinde güçlü anlamlı pozitif korelasyon göstermiştir ($p \leq 0,01$) (Tablo 17).

Tablo 17. Kas doku korelasyon analiz sonuçları

Kas doku parametreler		HOMA-IR	p-IRS1	IRS1	PI3K	PIP3	PDK1	p-AKT	GLUT4	AMPK	PGC-1 α
HOMA-IR	r	1,000	-,621**	-,834**	-,662**	-,655**	-,763**	-,666**	-,775**	-,695**	-,633**
	p	.	,001	,000	,000	,001	,000	,000	,000	,000	,001
p-IRS1	r	-,621**	1,000	,762**	,695**	,781**	,807**	,790**	,643**	,611**	,718**
	p	,001	.	,000	,000	,000	,000	,000	,001	,002	,000
IRS1	r	-,834**	,762**	1,000	,760**	,827**	,920**	,810**	,863**	,846**	,737**
	p	,000	,000	.	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
PI3K	r	-,662**	,695**	,760**	1,000	,729**	,662**	,840**	,750**	,573**	,578**
	p	,000	,000	,000	.	,000	,000	,000	,000	,003	,003
PIP3	r	-,655**	,781**	,827**	,729**	1,000	,790**	,835**	,699**	,687**	,781**
	p	,001	,000	,000	,000	.	,000	,000	,000	,000	,000
PDK1	r	-,763**	,807**	,920**	,662**	,790**	1,000	,718**	,728**	,799**	,710**
	p	,000	,000	,000	,000	,000	.	,000	,000	,000	,000
p-AKT	r	-,666**	,790**	,810**	,840**	,835**	,718**	1,000	,785**	,605**	,772**
	p	,000	,000	,000	,000	,000	,000	.	,000	,002	,000
GLUT4	r	-,775**	,643**	,863**	,750**	,699**	,728**	,785**	1,000	,723**	,566**
	p	,000	,001	,000	,000	,000	,000	,000	.	,000	,004
AMPK	r	-,695**	,611**	,846**	,573**	,687**	,799**	,605**	,723**	1,000	,731**
	p	,000	,002	,000	,003	,000	,000	,002	,000	.	,000
PGC-1 α	r	-,633**	,718**	,737**	,578**	,781**	,710**	,772**	,566**	,731**	1,000
	p	,001	,000	,000	,003	,000	,000	,000	,004	,000	.

r: korelasyon katsayısı, p: anlamlılık değeri, * Çift yönlü zayıf anlamlı korelasyon ($p \leq 0,05$) , ** Çift yönlü güçlü anlamlı korelasyonun ($p \leq 0,01$).

4.5. Yağ Dokusu İnsülin Sinyal (IRS/Akt/GLUT4) Yolu Parametreleri Bulguları

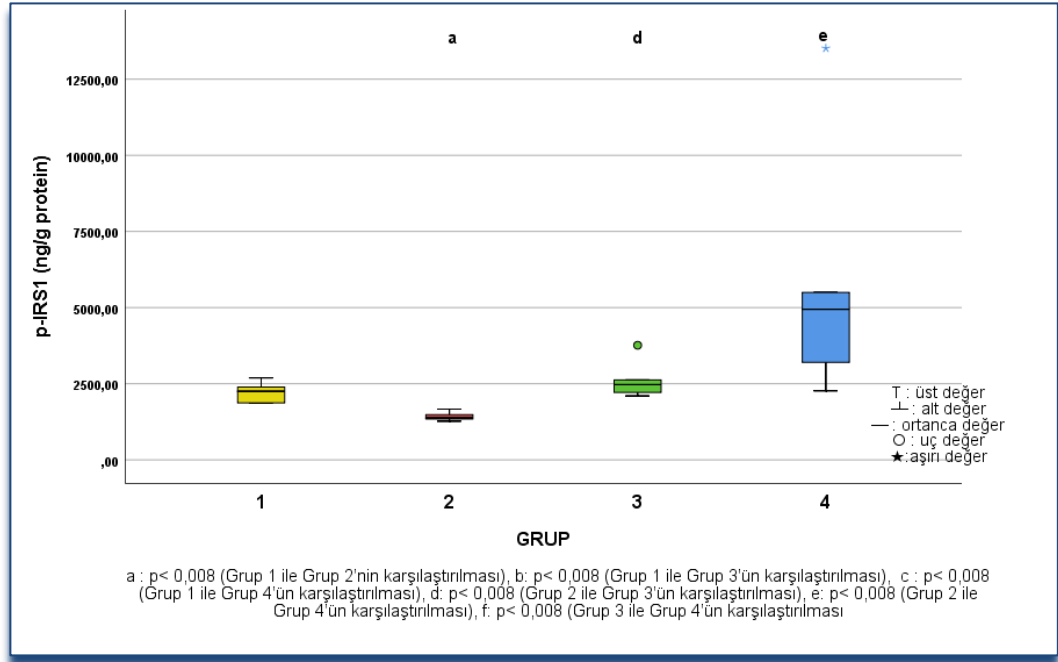
Tüm grupların yağ dokusu insülin yolu parametrelerinin medyan ve çeyrekler aralığı Tablo 18’de gösterilmiştir.

Tablo 18. Yağ dokusu insülin sinyal yolu parametrelerinin medyan ve çeyrekler aralığı değerleri

Parametreler	Grup 1 n=6	Grup 2 n=6	Grup 3 n=6	Grup 4 n=6
p-IRS1 (ng/g pro.)	2254 (1871-2468)	1377 (1323-1530) ^a	2473 (2185-2910) ^d	4945 (2967-7501) ^e
IRS1 (ng/mg pro.)	13,1 (11,98-15,47)	10,27 (8,78-10,9) ^a	14,81 (12,64-18,51) ^d	24,4 (15,96-35,33) ^e
PI3K (ng/mg pro.)	17,67 (13,58-20,77)	11,78 (10,52-12,76) ^a	19,98 (17,15-22,44) ^d	33,02 (24,27-64,8) ^{e,f}
PIP3 (ng/mg pro.)	4,53 (3,8-5,33)	2,35 (1,75-2,56) ^a	4 (3,67-4,66) ^d	5,08 (4,28-7,4) ^e
PDK1 (ng/mg pro.)	16,57 (12,56-19,41)	9,8 (2,34-11,55) a	19,39 (16,11-33,62) ^d	50,68 (26,76-79,73) ^e
p-AKT (U/mg pro.)	134,9 (118,3-189,2)	101,6 (88,4-106,7) ^a	233,3 (143-363) ^d	219,2 (136,1-493,1) ^e
AS160 (ng/ g pro.)	130,7 (110,6-148,5)	107,4 (96,7-130,9)	159,4 (131,3-165,8)	234 (155-292,6)
GLUT4 (ng/mg pro.)	14,1 (12,4-16,8)	11,3 (9,8-12,03) ^a	18,7 (18,6-23,3) ^{b,d}	36,8 (21,7-50,7) ^e

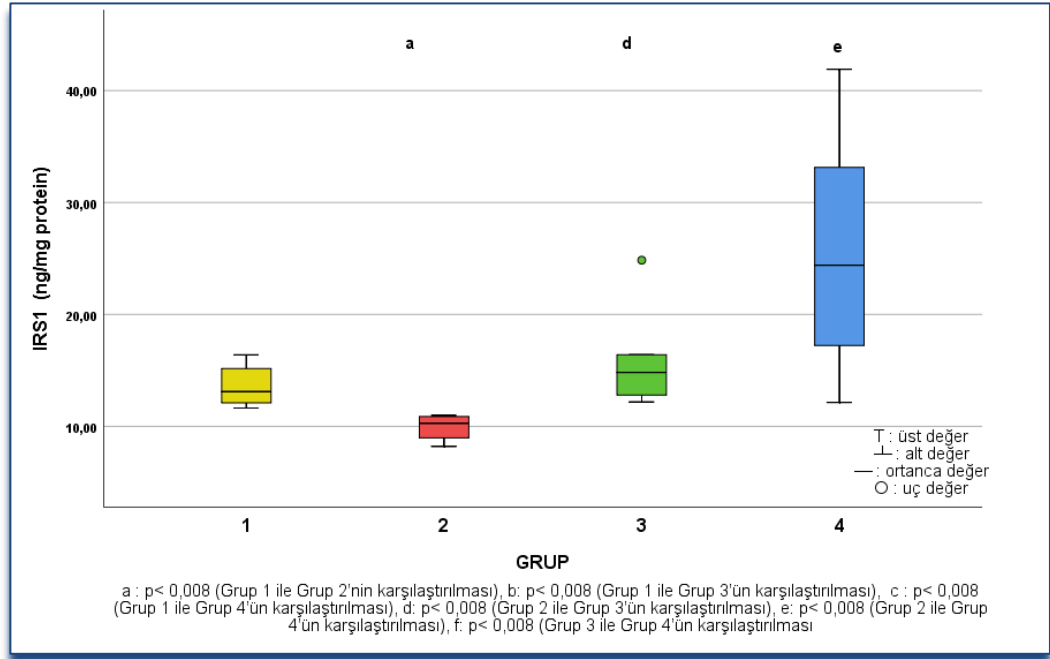
a : p≤0,008 (Grup 1 ile Grup 2’nin karşılaştırılması), b: p≤0,008 (Grup 1 ile Grup 3’ün karşılaştırılması), c : p≤0,008 (Grup 1 ile Grup 4’ün karşılaştırılması), d: p≤0,008 (Grup 2 ile Grup 3’ün karşılaştırılması), e: p≤0,008 (Grup 2 ile Grup 4’ün karşılaştırılması), f: p≤0,008 (Grup 3 ile Grup 4’ün karşılaştırılması).

Dört grubun yağ dokusu p-IRS1 seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur (p=0,001). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1’e kıyasla p-IRS1 seviyesi Grup 2’de anlamlı olarak azalmıştır (p=0,004). Buna karşın, Grup 2’e kıyasla Grup 3 ve Grup 4’ün p-IRS1 seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; p=0,004, p=0,004). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır (p>0,008) (Şekil 43).



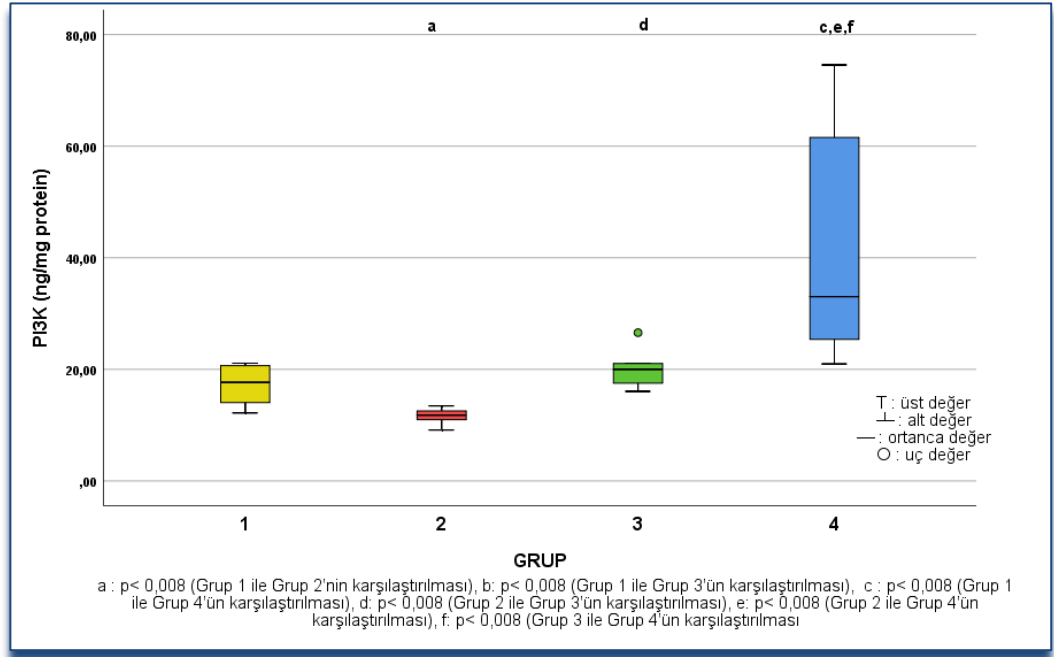
Şekil 43. Grupların yağ doku p-IRS1 seviyeleri

Dört grubun yağ dokusu IRS1 seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,001$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla IRS1 seviyesi Grup 2'de anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,004$). Buna karşın, Grup 2'e kıyasla Grup 3 ve Grup 4'ün IRS1 seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,004$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 44).



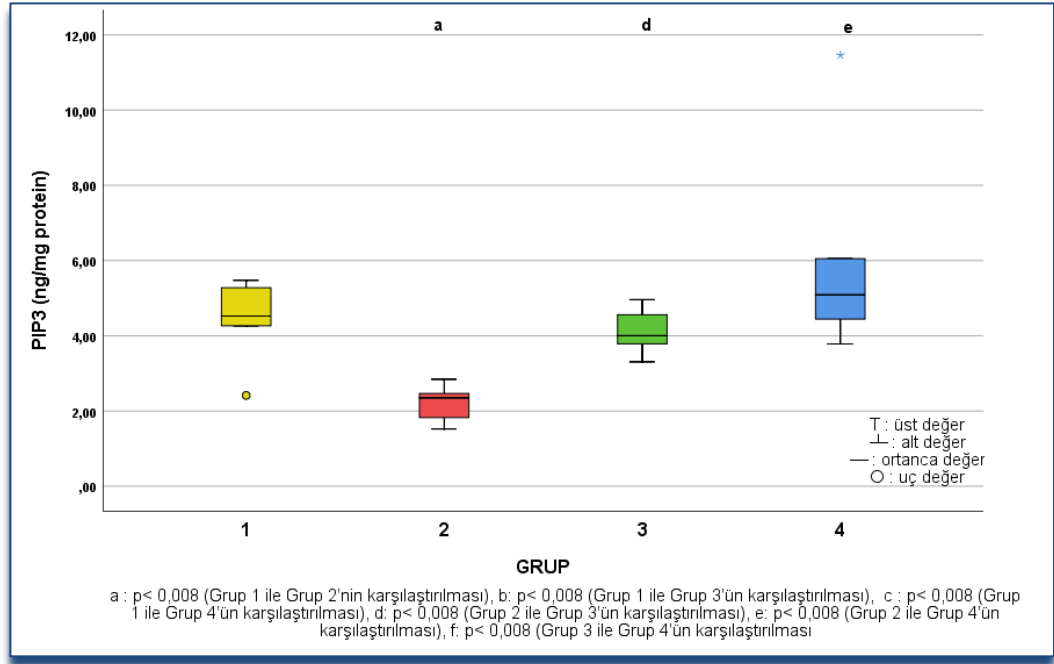
Şekil 44. Grupların yağ doku IRS1 seviyeleri

Dört grubun yağ dokusu PI3K seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,001$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla Grup 2'nin PI3K seviyesi anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,008$). Grup 1'e kıyasla Grup 4'ün PI3K seviyesi ise anlamlı olarak artmıştır ($p=0,006$). Grup 2'e kıyasla Grup 3 ve Grup 4'ün PI3K seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,004$). Bununla birlikte, Grup 3'e kıyasla Grup 4'ün PI3K seviyesi anlamlı olarak artmıştır ($p=0,008$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 45).



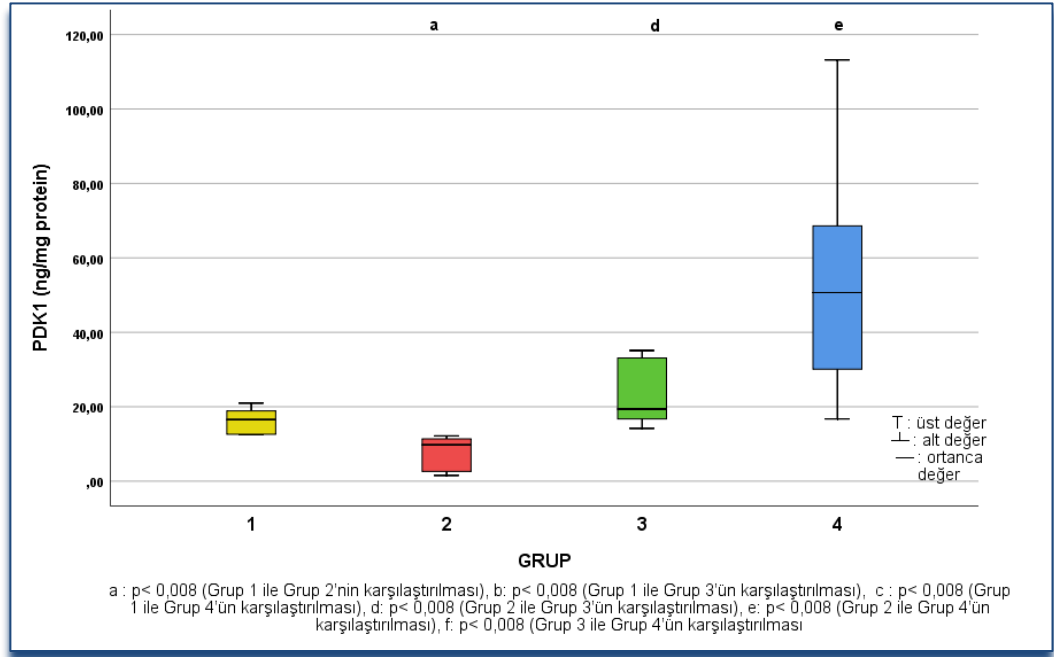
Şekil 45. Grupların yağ doku PI3K seviyeleri

Dört grubun yağ dokusu PIP3 seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,003$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla Grup 2'nin PIP3 seviyesi anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,008$). Buna karşın, Grup 2'e kıyasla Grup 3 ve Grup 4'ün PIP3 seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,004$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 46).



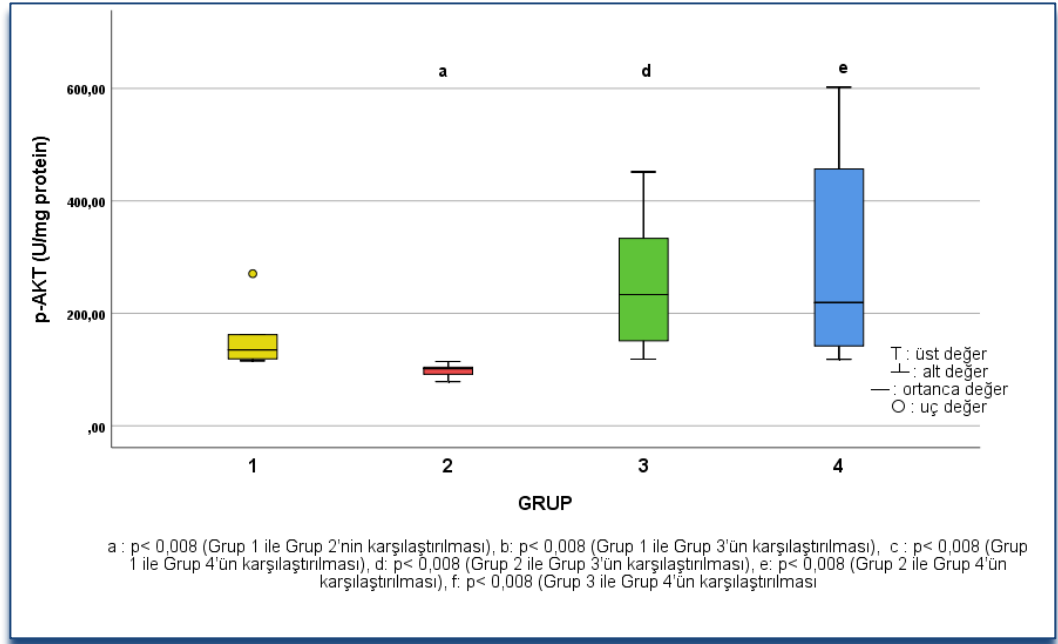
Şekil 46. Grupların yağ doku PIP3 seviyeleri

Dört grubun yağ dokusu PDK1 seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,001$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla Grup 2'nin PDK1 seviyesi anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,004$). Buna karşın, Grup 2'e kıyasla Grup 3 ve Grup 4'ün PDK1 seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,004$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 47).



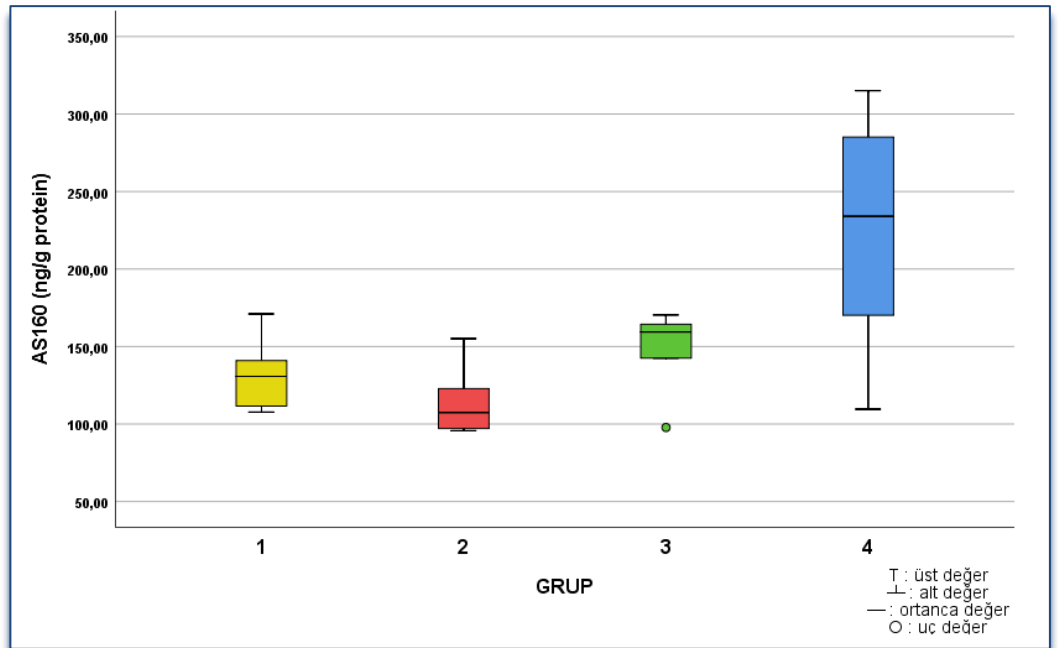
Şekil 47. Grupların yağ doku PDK1 seviyeleri

Dört grubun yağ dokusu p-AKT seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,002$). Gruplar ikili olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla Grup 2'nin p-AKT seviyesi anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,004$). Buna karşın, Grup 2'e kıyasla Grup 3 ve Grup 4'ün p-AKT seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,004$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 48).



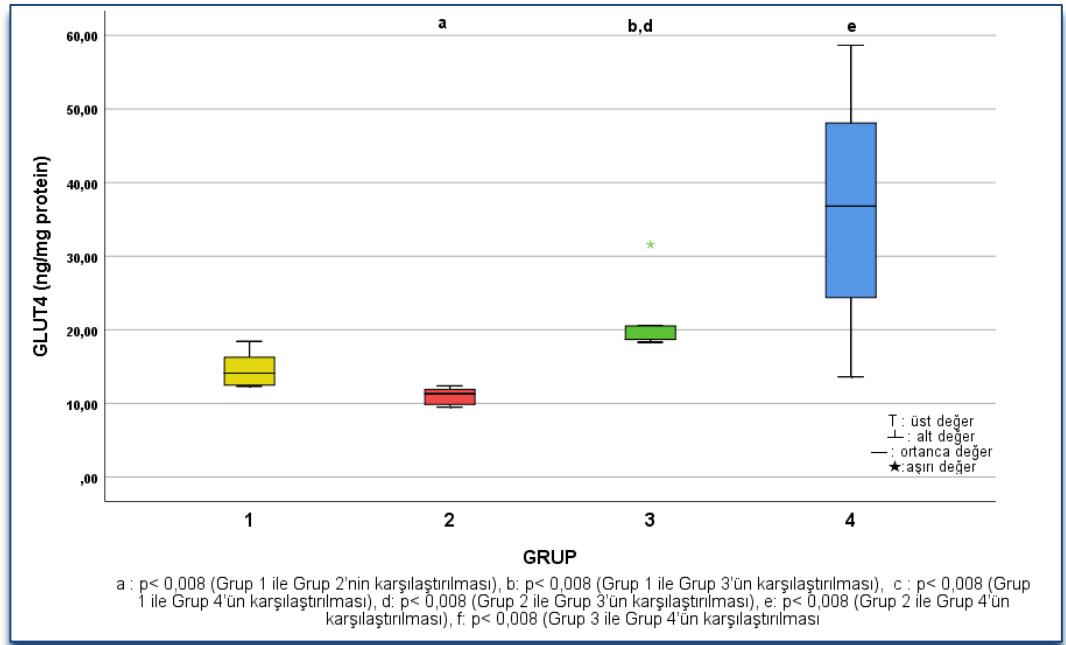
Şekil 48. Grupların yağ doku p-AKT seviyeleri

Dört grubun yağ dokusu AS160 seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmamıştır ($p=0,059$) (Şekil 49).



Şekil 49. Grupların yağ doku AS160 seviyeleri

Dört grubun yağ dokusu GLUT4 seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,001$). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 1'e kıyasla Grup 2'nin GLUT4 seviyeleri anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,006$). Grup 1'e kıyasla Grup 3'ün GLUT4 seviyesi ise anlamlı olarak artmıştır ($p=0,006$). Grup 2'e kıyasla Grup 3 ve Grup 4'ün GLUT4 seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,004$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 50).



Şekil 50. Grupların yağ doku GLUT4 seviyeleri

4.6. Yağ Dokusu AMPK Aktive Edilmiş Protein Kinase (AMPK) ve Peroksizom Proliferatör Aktive edilmiş Reseptör Gama Koaktivatör Alfa (PGC-1 α) Bulguları

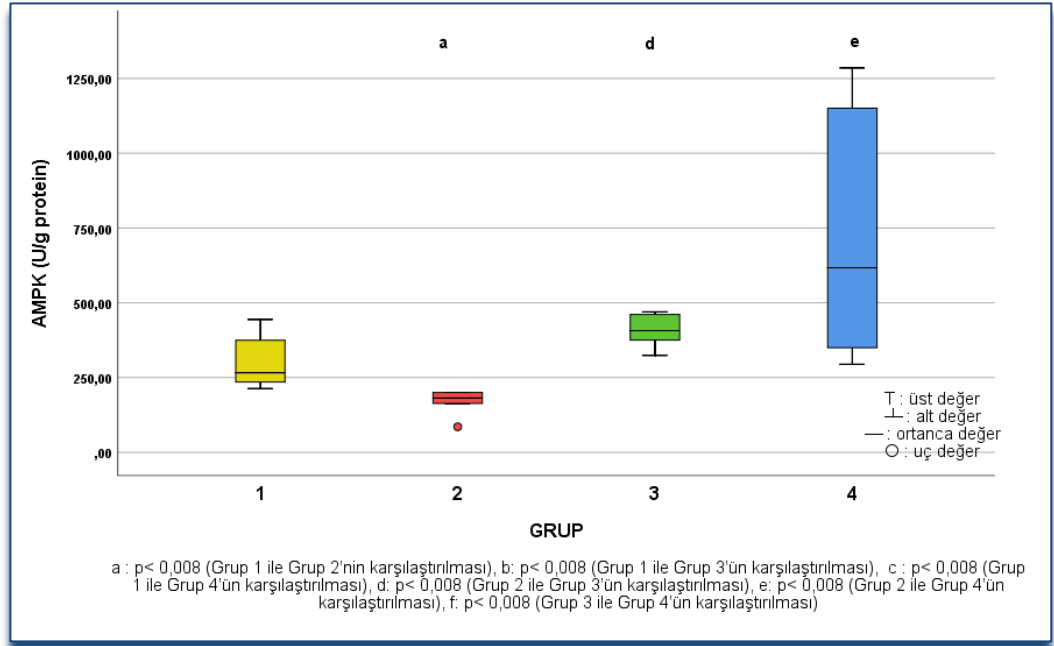
Tüm grupların yağ doku AMPK ve PGC-1 α medyan ve çeyrekler aralığı Tablo 19’da gösterilmiştir.

Tablo 19. Yağ Dokusu AMPK ve PGC-1 α medyan ve çeyrekler aralığı değerleri

Parametreler	Grup 1 n=6	Grup 2 n=6	Grup 3 n=6	Grup 4 n=6
AMPK (U/g pro.)	266 (230-392)	181 (144-200) ^a	407 (362-463) ^d	617 (336-1184) ^e
PGC-1 α (U/mg pro.)	5,9 (3,61-7,1)	4,62 (0,66-5,65)	6,64 (5,82-8,46)	13,17 (10,18-14,95) ^e

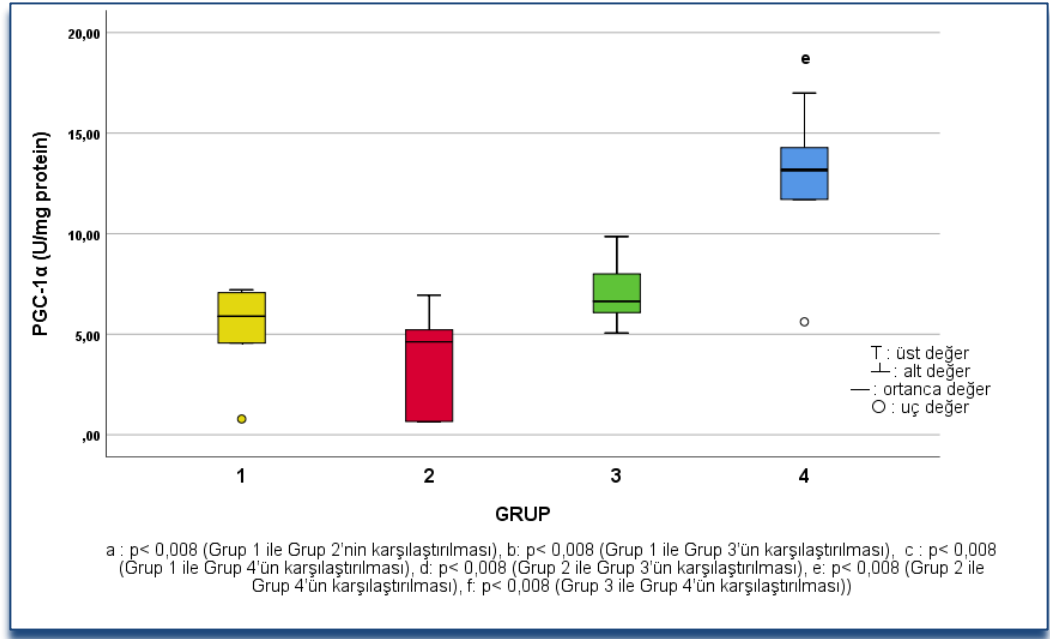
a : $p \leq 0,008$ (Grup 1 ile Grup 2’nin karşılaştırılması), b: $p \leq 0,008$ (Grup 1 ile Grup 3’ün karşılaştırılması), c : $p \leq 0,008$ (Grup 1 ile Grup 4’ün karşılaştırılması), d: $p \leq 0,008$ (Grup 2 ile Grup 3’ün karşılaştırılması), e: $p \leq 0,008$ (Grup 2 ile Grup 4’ün karşılaştırılması), f: $p \leq 0,008$ (Grup 3 ile Grup 4’ün karşılaştırılması).

Dört grubun yağ dokusu AMPK seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur ($p=0,001$). Gruplar ikiyeşerli olarak kıyaslandığında, Grup 1’e kıyasla Grup 2’in AMPK seviyesi anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,004$). Buna karşın, Grup 2’e kıyasla Grup 3 ve Grup 4’ün AMPK seviyeleri anlamlı olarak artmıştır (Sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,004$). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır ($p>0,008$) (Şekil 51).



Şekil 51. Grupların yağ doku AMPK seviyeleri

Dört grubun yağ dokusu PGC-1 α seviyeleri farkın anlamlılığı belirlemek için istatistiksel olarak analiz edildiğinde grupların farkın anlamlılığı bulunmuştur (p=0,007). Gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında, Grup 2'e kıyasla Grup 4'ün PGC-1 α seviyesi anlamlı olarak artmıştır (p=0,006). Diğer gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farkın anlamlılığı bulunamamıştır (p>0,008) (Şekil 52).



Şekil 52. Grupların yağ doku PGC-1α seviyeleri

4.7. Yağ Dokusu Korelasyon Analiz Sonuçları

Korelasyon analiz sonuçlarına göre HOMA-IR değeri ve yağ doku parametreleri (AS160 hariç) ikişerli olarak ilişkilendirildiğinde güçlü anlamlı negatif korelasyon göstermiştir ($p \leq 0,01$). Bununla birlikte yağ doku parametreleri her iki parametre kendi arasında ilişkilendirildiğinde güçlü anlamlı pozitif korelasyon göstermiştir ($p \leq 0,01$) (Tablo 20).

Tablo 20. Yağ doku korelasyon analiz sonuçları

Yağ doku parametreler		HOMA-IR	p-IRS1	IRS1	PI3K	PIP3	PDK1	p-AKT	GLUT4	AMPK	PGC-1 α
HOMA-IR	r	1,000	-,725**	-,681**	-,664**	-,755**	-,712**	-,541**	-,618**	-,630**	-,548**
	p	.	,000	,000	,000	,000	,000	,006	,001	,001	,006
p-IRS1	r	-,725**	1,000	,871**	,872**	,816**	,892**	,817**	,881**	,878**	,750**
	p	,000	.	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
IRS1	r	-,681**	,871**	1,000	,857**	,757**	,883**	,903**	,930**	,867**	,778**
	p	,000	,000	.	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
PI3K	r	-,664**	,872**	,857**	1,000	,763**	,861**	,794**	,834**	,871**	,723**
	p	,000	,000	,000	.	,000	,000	,000	,000	,000	,000
PIP3	r	-,755**	,816**	,757**	,763**	1,000	,856**	,753**	,700**	,697**	,585**
	p	,000	,000	,000	,000	.	,000	,000	,000	,000	,003
PDK1	r	-,712**	,892**	,883**	,861**	,856**	1,000	,822**	,889**	,843**	,809**
	p	,000	,000	,000	,000	,000	.	,000	,000	,000	,000
p-AKT	r	-,541**	,817**	,903**	,794**	,753**	,822**	1,000	,825**	,794**	,640**
	p	,006	,000	,000	,000	,000	,000	.	,000	,000	,001
GLUT4	r	-,618**	,881**	,930**	,834**	,700**	,889**	,825**	1,000	,920**	,783**
	p	,001	,000	,000	,000	,000	,000	,000	.	,000	,000
AMPK	r	-,630**	,878**	,867**	,871**	,697**	,843**	,794**	,920**	1,000	,807**
	p	,001	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	.	,000
PGC-1 α	r	-,548**	,750**	,778**	,723**	,585**	,809**	,640**	,783**	,807**	1,000
	p	,006	,000	,000	,000	,003	,000	,001	,000	,000	.

r: korelasyon katsayısı, p: anlamlılık değeri, * Çift yönlü zayıf anlamlı korelasyon ($p \leq 0,05$) , ** Çift yönlü güçlü anlamlı korelasyonun ($p \leq 0,0$)

5. TARTIŞMA

İnsülin direnci, başta karaciğer, kas ve yağ dokusu olmak üzere hedef dokuların insülin stimülasyonuna karşı bozulmuş biyolojik yanıt olarak tanımlanır. İnsülin direnci, glukoz atılımını bozar, bu da beta hücrelerinde insülin üretiminde artış ve hiperinsülinemiye neden olur. İnsülin direnci; hiperglisemi, hipertansiyon, dislipidemi, visceral yağlanma, hiperürisemi, yüksek inflamatuvar belirteçler, endotel disfonksiyonu ve protrombik durum gibi birçok metabolik sonuç doğurabilir. Klinik olarak, insülin direnci, insülin direnci ile ilişkili metabolik sonuçlar aracılığıyla tanınır [226]. İnsülin direnci, genetik nedenler de tanımlanmış olsa da, öncelikle aşırı vücut yağıyla ilgili edinilmiş bir durumdur [27].

İnsülin direncinin ölçümünde altın standart yöntem, hiperinsülinemik-öglisemik glukoz klemp tekniğidir. Bu, sınırlı klinik uygulanabilirliği olan bir araştırma tekniğidir; bununla birlikte, HOMA-IR, HOMA2, QUICKI, serum trigliserit ve trigliserit/HDL oranı dahil olmak üzere, insülin direncinin klinik olarak yararlı ölçüm metodları vardır [242]. Ek olarak, çeşitli ölçümler, serum glukozu ve/veya bir glukoz yüklemesine verilen insülin yanıtına dayalı olarak insülin direncini değerlendirir.

İnsülin direncinin baskın sonucu tip 2 diyabet olup, insülin direncinin tip 2 DM gelişiminden 10 ila 15 yıl önce başladığı düşünülmektedir. İnsülin direncinin gelişmesi tipik olarak endojen insülin üretiminde telafi edici bir artış ve hiperinsülinemi ile sonuçlanır. Bir anabolik hormon olan yüksek endojen insülin seviyeleri, kilo alımına sebep olur ve bu da insülin direncini daha da şiddetlendirir [243]. Bu kısır döngü, pankreatik beta-hücre aktivitesi insülin direncinin yarattığı insülin talebini artık yeterince karşılayamaz hale gelene ve hiperglisemiye neden olana kadar devam eder [244]. İnsülin talebi ve insülin üretimi arasındaki uyumsuzluk devam ederken, glisemik seviyeler tip 2 DM ile uyumlu seviyelere yükselir. Dünya çapında 18 yaş üstü yaklaşık 451 milyon yetişkinin diyabetli olduğu tahmin edilmektedir ve bunların %90'ı Tip 2 diyabetlidir [245].

Metabolik sendrom ve diyabet prevalansı, modern yaşam tarzı ve yüksek şekerli diyetlerin özellikle fruktoz tüketiminin artması nedeniyle dünya çapında çarpıcı bir şekilde artmıştır. Fruktoz oranı yüksek diyetler, insülin direnci, bozulmuş glukoz toleransı, hiperinsülinemi, hipertansiyon ve hipertrigliseridemi gibi çoklu metabolik sendrom semptomlarına neden olur. Bu nedenle, esas olarak sakkaroz ve yüksek fruktozlu mısır şurubundan elde edilen yüksek diyet fruktoz tüketimi, obezitenin gelişimine ve insülin direnci ve hipertrigliseridemi gibi metabolik anormalliklere eşlik eden bir faktör olarak gösterilmiştir [246]. Taskinen ve arkadaşları [58], on iki hafta boyunca içeceklere eklenen hiperkalorik fruktozun (75 g/gün), müdahaleden önceki başlangıç değerlerine kıyasla obez erkeklerde insülin düzeylerini ve HOMA-IR'yi arttırdığını göstermişlerdir. Benzer şekilde, üç hafta boyunca tatlandırılmış içeceklerde 80 g/gün fruktoz sağlayan bir çalışmada, fruktozun, eşit miktarda glukozla kıyasla, başlangıçtaki endojen glukoz üretimini arttırdığı ve öglisemik-hiperinsülinemik klempt çalışması sırasında hepatik glukoz üretiminin baskılanmasını azalttığı ortaya konmuştur [247]. Toplu olarak ele alındığında, bu çalışmalar, alışılmış SSB tüketimini yansıtan fruktoz tüketiminin zamanla insülin duyarlılığının azalmasına yol açabileceğini göstermektedir.

Diyetle indüklenen metabolik sendrom modellerinin çoğu kemirgenlerde geliştirilmiştir, çünkü kemirgenler bu anormallikleri birkaç hafta içinde gösterirler, insanlarla karşılaştırıldığında bu süre yıllarca sürebilir. Ayrıca MS'in gelişimi kemirgenlerde erken dönemde izlenebilir ve farklı organlar tek tek incelenebilir, farklı MS belirteçlerinin serum konsantrasyonları kolayca belirlenebilir [248]. Yapılan çalışmalar, 8 haftalık fruktoz takviyesinin rat modellerinde hiperinsülinemi, insülin direnci ve metabolik sendrom modellerinin oluşturulmasındaki etkisini ortaya koymaktadır [249, 250].

Kurkuminin LD50 dozu 2000 mg/kg olarak belirtilmiştir [251]. Birçok çalışmada, deney hayvan modellerinde 100 mg/kg ve 200 mg/kg kurkuminin antiinflamatuvar ve antioksidan cevaba katkı sağlayarak karbonhidrat ve lipid metabolizmasında iyileştirici etki gösterdiği belirtilmiştir [252-256]. Kelany ve

arkadaşları [257], 8 hafta yüksek fruktoz ile beslenen rat modellerinde 200 mg/kg kurkumin uygulamasıyla kan insülin, glukoz ve HOMA IR düzeylerini değerlendirmiş olup, sonuçta insülin sinyalinin geliştiğini ve kan glukozunun düştüğünü göstermiştir. Yazarlar bu çalışmalarıyla, kurkuminin insülin direnci ve metabolik sendrom tedavisinde faydalı olabileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmamız, daha önce rat modelleriyle yapılan çalışmalara uygun olacak şekilde tasarlanmıştır. Gruplar, kontrol grubu (fruktoz ve kurkumin tedavisi almayan) (Grup 1), insülin direnci grubu (8 hafta %20'lik fruktoz) (Grup 2), 100 mg/kg kurkumin ile tedavi grubu (8 hafta %20'lik fruktoz+ 100 mg/kg kurkumin) (Grup 3), 200 mg/kg kurkumin tedavi grubu (8 hafta %20'lik fruktoz+ 200 mg/kg kurkumin) (Grup 4) olacak şekilde belirlendi.

Serum açlık glukoz seviyesi Grup 1 ile kıyaslandığında Grup 2'de ve Grup 3'te anlamlı olarak artmıştır ($p \leq 0,008$). Grup 4'te ise Grup 2 ve Grup 3'e göre anlamlı olmayan düşüş gözlenmiştir ($p > 0,008$). Plazma insülin seviyesi ve HOMA-IR değeri Grup 1'e kıyasla Grup 2'de anlamlı olarak artmıştır ($p \leq 0,008$). Grup 3 ve Grup 4'te Grup 2'ye göre anlamlı olarak azalmıştır ($p \leq 0,008$). Bununla birlikte, insülin seviyesi ve HOMA-IR değeri Grup 4'te Grup 1'e göre azalmıştır ($p \leq 0,008$). Çalışmamızda yüksek fruktoz diyeti ile beslenen ratlarda insülin direnci geliştiğini ve kurkumin tedavisi ile insülin direncinin azaldığı gösterilmiştir.

İnsülin, başta yağ ve kas olmak üzere periferik dokulara glukoz alımını uyarır. İnsülin ile uyarılan glukoz kullanımının yaklaşık %90'ı iskelet kasında meydana gelir ve glukoz metabolizmasının ve enerji homeostazının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar [181]. İnsülin, yağ dokusunda glukozun yaklaşık %10'unun kullanımını uyarır, yağ dokusundaki glukoz metabolizması, ekstra yağ etkileri yoluyla diğer dokuları etkiler. Bu nedenle, adipositlerde insülin ile uyarılan glukoz taşınmasındaki azalma, ikincil olarak diğer insülin hedef dokularında insülin direncini indükler [258]. İnsülin, PI3K/AKT sinyal yolu aracılığıyla glukoz taşınmasını, glikojen sentezini ve protein sentezini teşvik ederek

iskelet kası ve adipoz doku metabolizmasını düzenler [259]. İnsülin hücre zarındaki insülin reseptörüne (IR) bağlandığında insülin reseptör tirozin kinazı aktive eder. İnsülin reseptör substrat proteinleri IRS1 ve IRS2, insülin reseptör tirozin kinazın anahtar hedefleridir ve metabolizmanın hormonal kontrolü için gereklidir. Sonrasında, insülin reseptör substrat-1 (IRS1) ve insülin reseptör substrat-2 (IRS2) tirozinin fosfatlanmasıyla aktif hale gelir. Fosfatidilinozitol-3 kinaz (PI3K) ve guanintrifosfaz (RAS) insülin aracılığıyla aktive olan iki ana yolak enzimleridir. Aktif IRS1 ve IRS2 ile bu enzimler de fosfatlanarak uyarılır. Fosforile PI3K, fosfatidilinozitol 4,5-difosfatın (PIP2) ve fosfatidilinozitol 3,4,5-trifosfatın (PIP3) dönüşümünü katalizler. Sonrasında ise fosfoinozit bağımlı protein kinazı (PDK1/PDK2) aktifler ve böylelikle Akt de fosfatlanmış olur. Fosfatidilinositol 3-kinaz ve serine threonin protein kinaz Akt'nin aktivasyonu, insülin etkisindeki önemli adımlardır [260]. İnsülin ile uyarılan kas ve yağ hücrelerinde aktive olan Akt, AS160'ın fosforilasyonuna ve inaktivasyonuna, ardından GLUT4'ün plazma membranına translokasyonunun artmasına yol açar. Adipositlerde ve kas hücrelerinde, insülin ile uyarılan glukoz kullanımı büyük ölçüde kolaylaştırıcı glukoz taşıyıcısı GLUT4'e bağlıdır. İnsülin ile uyarılan glukoz alımında, GLUT4 yüklü veziküllerin hücre içi bölmelerden PM'ye yer değiştirmesi hız sınırlayıcı basamaktır. GLUT4 proteinleri PM'ye entegre edildiğinde, kas veya adiposit içine glukoz akışı gerçekleşir [261].

AMPK, yağ asidi sentezi, glukoz alımı ve yağ asidi oksidasyonu gibi çoklu metabolik yolları etkilemek için bir bağlantı noktası görevi gören bir hücresel enerji sensörüdür. Ayrıca insülin direncine karşı koruma sağlayan ve düşük hücresel enerji durumu ve glukoz açlığı ile aktive olan bir protein kinazdır. AMPK, AMPK- α , - β ve - γ alt birimlerinden oluşan bir heterotrimerdir, α katalitik bir alt birimdir ve β ve γ düzenleyici alt birimlerdir. Hücrede ADP:ATP oranındaki bir artış (yani düşük enerji durumu) AMPK'nin aktivasyonuna yol açar. AMPK etkinleştirildiğinde, ATP üreten katabolik yolları tetikler ve ATP tüketen anabolik yolları inhibe eder. AMPK, glukoz ve yağ asidi katabolizmasının ana düzenleyicisidir. AMPK'nin aktivasyonu, yağ asidi oksidasyonunu artırır, lipid

sentezini inhibe eder ve insülin etkisini iyileştirir [262]. İskelet kasında, AMPK aktivasyonunun, GLUT4'ün translokasyonunu insülinden bağımsız bir şekilde arttırarak glukoz alımında bir artışı teşvik ettiği gösterilmiştir [263]. Yakın tarihli bir çalışma, insülin ile uyarılan glukoz alımının düzenlenmesinde AMPK'nin bir rolü olduğunu öne sürmüştür[264]. Çalışmalar, yüksek dozda fruktoz tüketiminin iskelet kası, adipoz doku ve karaciğer başta olmak üzere bir çok dokuda insülin direncini indükleyerek AMPK sinyalinin zayıflatıldığını göstermiştir [265, 266]. Glukoz homeostazı ve lipid metabolizmasının temel düzenleyicisi olarak AMPK, tip 2 diyabet ve obezitede önemli bir terapötik hedef haline gelmiştir. Bu, metformin ve tiazolidindion türevleri (TZD'ler) ile örneklendirilir; bu ilaçlar tip 2 diyabette terapötik müdahale için kullanılır ve AMPK'nin aktivasyonuna yol açar.

PGC-1 α , kahverengi yağ dokusu , karaciğer, pankreas, böbrek, iskelet ve kalp kasları ve beyinde eksprese edilen bir transkripsiyonel koaktivatördür [267]. Egzersiz, kalori kısıtlaması ve soğuğa maruz kalma ile düzenlenirken, yüksek yağlı diyetle beslenme ile azaltılır [208]. Kas lifi tipi geçiş, hepatik glukoneogenez, mitokondriyal biyogenez ve insülin salgılanması dahil olmak üzere çoklu hücrelerel süreçleri modüle etmek için çok çeşitli transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girer. PGC-1 α 'nın indüksiyonu, peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör α 'nın (Ppar- α) artan ekspresyonu ile ilişkilidir ve bu da beta oksidasyon yolu enzimlerinin ekspresyonunu indükler [268]. İskelet kasında, mitokondriyal biyogenezi ve işlevi arttırarak lipid metabolizmasını düzenler. PGC-1 α , lipid ve glukoz metabolizmasındaki rolü nedeniyle diyabetik tedaviler için çekici bir hedef olarak popülerlik kazanmıştır. Araştırmacılar, iskelet kasındaki PGC-1 α düzensizliği ile anormal enerji homeostazının yanı sıra IR ve tip 2 DM arasında nedensel bir ilişki kurmuşlardır [269, 270]. PGC-1 α 'nın düzensizliği, insülin direnci ve tip 2 DM'nin patogenezinde yer almıştır.

Vücuttaki büyük kütlesi nedeniyle, iskelet kası insülin kaynaklı kan şekeri alımının ana hedefidir, fonksiyonel bozukluğu ise tip 2 diyabette insülin direncinin gelişimine önemli ölçüde katkıda bulunur. Herhangi bir aşamada FAO'nun

bozulması, yağ asitlerinin eksik oksidasyonuna ve bu yağ asitlerinin belirli zincir uzunluklarının hücre içinde olası birikmesine yol açar, bu da ektopik lipid birikimine ve insülin direncine katkıda bulunur. Obezite ve insülin direnci sırasında iskelet kasında orta ve uzun zincirli yağ asitlerinin birikimi kaydedilmiştir. Obezite ve insülin direnci ile sonuçlanan HFD beslemesi, kısmen yağ asitlerinin eksik beta oksidasyonu ve ektopik lipid birikimi ile kanıtlanan mitokondriyal disfonksiyona yol açar [209, 271]. Spesifik olarak iskelet kasında, HFD'nin neden olduğu obezite, eksik beta oksidasyonunun bir sonucu olarak ortaya çıkan, iskelet kasında uzun ve orta zincirli açilkarnitinler şeklinde FAO ara ürünlerinin birikmesiyle ilişkilidir [208, 250]. Yapılan çalışmalarda, diyabetik hastaların iskelet kasında ve diyabetli hayvan modellerinde PGC-1 α ekspresyonunun büyük ölçüde azaldığı ve plazmada yüksek konsantrasyonda bulunan serbest yağ asitlerinin kaslarda insülin direncine yol açtığı gösterilmiştir [272, 273]. Bu nedenle insanlarda, iskelet kasında PGC-1 α ekspresyonunun azaltılması, β -oksidasyon genlerinin ekspresyonunu azaltır ve dolayısıyla FAO'yu azaltır. Bu azalmış metabolizma, kas hücrelerinde yağ asidi birikimine neden olarak insülin direncine yol açar. Kısaca, PGC-1 α seviyesi, hücrelerin FA'yı tamamen oksitleme yeteneği ile pozitif olarak ilişkilidir, bu, intramüsküler lipid birikimini azaltabilen ve doku insülin duyarlılığını iyileştirebilen bir etkidir. Yapılan bir çalışmada %15 fruktoz verilen hayvanların iskelet kasındaki PGC-1 α yanıtı değerlendirilmiştir. Fruktoz alımının sıçan iskelet kasındaki PGC-1 α düzeylerini düşürdüğü gözlenmiştir [274]. Obez ve tip 2 DM hastalarında yaygın olarak görülen düşük PGC-1 α seviyeleri, muhtemelen bozulmuş mitokondriyal metabolizmanın bir sonucu olarak insülin direncinin ilerlemesine yol açabileceği düşünülmektedir.

Deri altı beyaz yağ dokusundaki kahverengi benzeri hücrelerin miktarındaki artış ile gelişmiş glukoz metabolizması arasında güçlü bir ilişki vardır [275, 276]. Birkaç obez fare modelinde yağ dokuda, mitokondriyal fonksiyonun azaldığı gösterilmiştir [277, 278]. İnsan beyaz adipoz dokusunda genellikle düşük ekspresyona rağmen, PGC-1 α mRNA ekspresyonunun, insüline dirençli ve morbid obez deneklerin beyaz adipoz dokusunda aşağı regüle edildiği gösterilmiştir [279].

Çok sayıda çalışma, kasta PGC-1 α kaybı ve/veya azalmış mitokondriyal fonksiyon ile insülin direnci gelişimi arasındaki olası bir nedensel ilişkiyi incelemiş olsa da adipoz PGC-1 α kaybının insülin direnci gelişimi üzerindeki etkileri hakkındaki çalışmalar çok daha azdır.

Li ve arkadaşları [75], 8 hafta boyunca %10 fruktozla beslenen sıçanlarda, 15, 30 ve 60 mg/kg dozlarında uygulanan kurkuminin, insülin duyarlılığını geliştirdiğini serum glukoz tolerans testi ve insülin tolerans testi ile göstermiştir. Ayrıca aynı çalışmada kurkuminin, hepatik p-Akt ve p-IRS1 protein seviyelerinde fruktoz kaynaklı azalmayı tersine çevirdiği görülmüştür. Shen ve arkadaşları [280], kronik hafif strese 12 haftalık maruz kalma ile insülin direnci oluşturulan bir sıçan depresyon modelinde, kurkuminin terapötik etkilerini araştırmıştır. Bu çalışma, insülin direnci gösteren rat modellerinde, 15, 30 ve 60 mg/kg dozlarında kurkumin tedavisiyle karaciğer IRS-1 ve protein kinaz B'nin düzenlendiğini ve insülin duyarlılığının gelişerek kurkuminin metabolik anormallikleri tersine çevirdiğini bildirmiştir. Başka bir çalışmada Niu ve arkadaşları [281], kurkuminin intrauterin büyüme kısıtlamasında insülin direnci ve hepatik lipid birikimi üzerindeki etkisini araştırmıştır. Yapılan çalışmada insülin direnci gösteren ratlarda, diyet kurkumin takviyesine yanıt olarak, karaciğerdeki serum insülin, glukoz ve HOMA-IR, piruvat, TAG ve toplam kolesterol konsantrasyonlarının azaldığı ve insülin duyarlılığının geliştiği gösterilmiştir. Zaheri ve arkadaşları [282], yüksek yağlı diyet ve streptozotosin ile oluşturdukları tip 2 diyabetli rat modellerine, 4 hafta boyunca 100 mg/kg kurkumin ile tedavi vererek kurkuminin insülin direnci üzerindeki anti-diyabetik etkisini incelemiştir. 4 hafta boyunca kurkumin ile tedavi edilen grupta, kurkumin almayan grupla karşılaştırıldığında serum glukoz ve HOMA-IR değerlerinde önemli bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca kurkumin alan grupta IRS-1 protein miktarının arttığı gösterilmiştir. Bu çalışma ile kurkuminin normal glukoz toleransını ve insülin duyarlılığını koruduğu gösterilmeye çalışılmıştır. Chauhan ve arkadaşları [283], palmitat ile uyarılan insüline dirençli L6myc miyotüplerinin, kurkumin yüklü kitosan nanoparçacıkları ile 16 saat boyunca tedavisinin, plazma zarına artan GLUT4 translokasyonu ve artmış p-Akt

protein seviyeleri ile sonuçlandığını bulmuştur. Maithilikarpagaselvi ve arkadaşları [284], %60 fruktoz ile insülin direnci oluşturduğu diyabetik rat modellerinde 200 mg/kg kurkumin tedavisi ile hiperinsülinemi, glukoz intoleransı ve HOMA-IR değerlerinin azaldığını gözlemlemiştir. Bununla birlikte araştırmacılar, kurkuminin IRS-1 proteininin serin ve tirozin fosforilasyonunun modülasyonu yoluyla insülin sinyalleşmesi üzerinde olumlu etkiler ortaya çıkardığını göstermişlerdir. Al-Saud ve arkadaşları [285], yüksek yağlı diyet ve streptozotosin ile diyabet oluşturdukları rat modellerinde 80 mg/kg kurkumin tedavisiyle kas dokusu GLUT-4 gen ekspresyonunun artarak insülin direncinin iyileştiğini gözlemlemiştir. Song ve arkadaşları [285], yüksek glikozun neden olduğu insülin direncine sahip INS-1 hücrelerinde kurkuminin etkilerini araştırmıştır. Bu çalışma, kurkuminin INS1 rat insulinoma hücre hattında IRS-1/PI3K/Akt/GLUT2 yolağını geliştirdiği göstermiştir. Genel olarak, bu çalışmalar, iskelet kası hücrelerinin kurkumin ile tedavisinin, gelişmiş insülin duyarlılığı ve artan glikoz alımı, GLUT4 translokasyonu ile sonuçlandığını göstermektedir. Buna karşın literatürde kas dokusu IRS-1/PI3K/Akt/GLUT4 sinyal yolağını inceleyen bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda kas insülin sinyal yolağı detaylı olarak araştırılmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre kas p-IRS1, PI3K, IRS1, PIP3, PDK1, p-AKT ve GLUT4 seviyeleri Grup 1'e kıyasla Grup 2'de anlamlı olarak azalmıştır ($p \leq 0,008$). Buna karşın; p-IRS1, IRS1, PIP3, PDK1, p-AKT seviyeleri Grup 2'ye kıyasla Grup 3'te anlamlı olarak artmıştır. Bununla birlikte; p-IRS1, PI3K, IRS1, PIP3, PDK1, p-AKT ve GLUT4 seviyeleri Grup 2'ye kıyasla Grup 4'de anlamlı olarak artmıştır. Korelasyon analiz sonuçlarına göre, kas doku parametreleri her iki parametre kendi arasında ilişkilendirildiğinde güçlü anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur ($p \leq 0,01$). HOMA-IR değeri ve kas doku parametreleri arasında güçlü anlamlı negatif korelasyon görülmüştür. ($p \leq 0,01$). Çalışmamızın sonuçlarına göre, yüksek fruktoz diyeti ile beslenen rat gruplarında, kas insülin sinyal yolağı parametreleri ve membran GLUT4 protein miktarı azalarak insülin direncine katkı sağlamıştır. 100 mg/kg kurkumin uygulanan grupta GLUT4 proteinindeki anlamlı olmayan

artışın, kan glukozunun düşürülmesinde etkin olmadığı durumuyla açıklanabilir. Buna karşın çalışmamızda, kurkuminin 100 ve 200 mg/kg doz uygulamasının kas insülin sinyalini geliştirdiği, 200 mg/kg doz grubunda ise belirgin olarak membran GLUT 4 protein miktarını arttırarak insülin direncinin azalmasına katkı sağladığı görülmüştür.

Na ve arkadaşları [286], yüksek yağlı diyet ve streptozotosin ile diyabet oluşturdıkları rat modellerine, 7 hafta boyunca 150 mg/kg kurkumin tedavisi vermiştir. Araştırmacılar, ratların iskelet kasında, kurkuminin AMPK fosforilasyonunu uyararak AMPK'yı aktive ettiğini ve GLUT4 protein miktarını stimüle ettiğini bulmuştur. Bu çalışma, LKB1-AMPK yolu aracılığıyla, kurkuminin lipid ve glukoz oksidasyonu üzerindeki düzenleyici etkisine ve iskelet kasında insülin duyarlılığının ve glukoz kontrolünün iyileştirilmesine yönelik etkilerine dikkat çekmiştir. Zhang ve arkadaşları [287], kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan ratlarda kurkuminin kas PGC-1 α regülasyonunu arttırdığını belirtmiştir. Ray Hamidie ve arkadaşları [288] Wistar sıçanlarıyla yapmış oldukları çalışmada dayanıklılık antremanı ve kurkumin tedavisinin kombinasyonunun etkilerini incelemiştir. Yapılan çalışma, 50 ve 100 mg/kg kurkumin alan gruplarda, her iki kurkumin dozunun da iskelet kasında AMPK fosforilasyonunu arttırdığını ortaya koymuştur. Araştırmacılar, kurkuminin AMPK fosforilasyonu ve PGC-1 α deasetilasyonu arttırdığını ve kurkumin tedavisinin, dayanıklılık antrenmanı ile kombinasyon tedavisine benzer şekilde iskelet kasındaki mitokondriyal biyogenez belirteçlerinin düzeylerini arttırdığı sonucuna varmışlardır. Kim ve arkadaşları [289], fetal sıçan miyositlerinden türetilen bir hücre dizisi olan L6 miyotüplerinde kurkumin uygulamasının, iskelet kası hücrelerinde AMPK fosforilasyonunda doza ve zamana bağlı bir artışa neden olduğunu ve glukoz alımını arttırdığını göstermişlerdir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre kas AMPK ve PGC-1 α seviyeleri Grup 1'e kıyasla Grup 2'de anlamlı olarak azalmıştır ($p \leq 0,008$). Buna karşın, kas PGC-1 α seviyesi Grup 2'ye kıyasla Grup 3'de anlamlı olarak artarken, AMPK seviyesinde

anlamli olmayan bir artiş gözlenmiştir. Kas AMPK ve PGC-1 α seviyeleri, Grup 2'ye kıyasla Grup 4'te anlamli olarak artmıştır. Korelasyon analiz sonuçlarına göre, kas AMPK ve PGC-1 α parametreleri aralarında güçlü anlamli pozitif korelasyon göstermiştir ($p \leq 0,01$). Aynı zamanda AMPK ve GLUT4 parametreleri güçlü anlamli pozitif korelasyon göstermiştir ($p \leq 0,01$). Buna karşın, HOMA-IR değeri ve kas AMPK, PGC-1 α parametreleri güçlü anlamli negatif korelasyon göstermiştir ($p \leq 0,01$). Çalışmamızın sonuçları, 100 ve 200 mg/kg kurkumin uygulamasının PGC-1 α seviyelerinde artış sağladığı, 200 mg/kg kurkumin uygulamasının ise AMPK seviyesini arttırdığını göstermektedir. AMPK'nin membran GLUT4 miktarının artırılmasında IRS-1/PI3K/Akt yolu kadar katkı sağladığı düşünebilir.

Ding ve arkadaşları [290], yüksek fruktoz diyeti ile indüklenen obez farelere 12 gün boyunca 40 ve 80 mg/kg kurkumin tedavisi uygulamıştır. Araştırmacılar, kurkuminin sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinlerin düzenlemesi yoluyla fare karaciğer ve yağ dokularında lipit birikiminin azalttığını ve insülin duyarlılığını geliştirdiğini göstermiştir. Shao ve arkadaşları [291], 28 hafta boyunca yüksek yağlı diyetle beslenen ratlara, haftada 2 gün 4g/kg kurkumin tedavisi uygulamıştır. Rat yağ dokusunda, kurkumin tedavisiyle fosforile protein kinaz B/Akt Ser473 protein miktarının arttığı gösterilmiştir. Araştırmacılar, bulguları doğrultusunda kurkuminin insülin sinyalini, glikoz atılımını iyileştirdiğini ve HFD tüketimi sırasında obeziteyi engellediğini belirtmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, hipoksi altında indüklenen insülin direncinde, 3T3-L1 adipositlerin kurkumin (20 μ M) ile 24 saat tedavisinin, IRS-1'in serin fosforilasyonunu azalttığı ve GLUT4 mRNA ve protein seviyelerini arttırdığı gözlenmiştir [292]. Böylece kurkuminin anti-inflamatuar potansiyeli ve insülin sensitizör özelliği gösterilmiştir. Buna karşın literatürde yağ dokusu IRS-1/PI3K/Akt/GLUT4 sinyal yolağının inceleyen bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda yağ doku insülin sinyal yolağı detaylı olarak araştırılmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre yağ doku p-IRS1, PI3K, IRS1, PIP3, PDK1, p-AKT ve GLUT4 seviyeleri Grup 1'e kıyasla Grup 2'de anlamli olarak azalmıştır

($p \leq 0,008$). Buna karşın, p-IRS1, PI3K, IRS1, PIP3, PDK1, p-AKT ve GLUT4 seviyelerinde Grup 2'ye kıyasla Grup 3 ve Grup 4'te anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p \leq 0,008$). Korelasyon analiz sonuçlarına göre, yağ doku parametreleri her iki parametre kendi arasında ilişkilendirildiğinde güçlü anlamlı pozitif korelasyon göstermiştir ($p \leq 0,01$). HOMA-IR değeri ve yağ doku parametreleri güçlü anlamlı negatif korelasyon göstermiştir ($p \leq 0,01$). Çalışmamızın sonuçlarına göre, yüksek fruktoz diyeti ile beslenen rat gruplarında yağ doku insülin sinyal yolağı parametreleri ve membran GLUT4 protein miktarı azalarak insülin direncine katkı sağlamıştır. Bununla birlikte çalışmamız; kurkuminin 100 ve 200 mg/kg doz uygulamasının yağ doku insülin sinyalini geliştirdiğini, membran GLUT4 protein belirgin olarak arttırarak insülin direncininin azalmasına katkı sağladığını göstermiştir.

Whang ve arkadaşları [293], 10 gün boyunca yüksek yağlı diyet ile insülin direnci oluşturdıkları farelerde, kurkumin tedavisiyle AMPK aktivasyonunun arttığını göstermiş ve bu yolla yağ dokusundan FFA salınımının baskılandığını ve karaciğerde lipid alımının azalması sonucunda PKC/Akt yolu aracılığıyla hepatik insülin direnci önlendiğini göstermiştir. Benzer çalışmalar Kim ve arkadaşları [294] tarafından yapılmış olup, yüksek yağlı diyet ile indüklenen obez ratlarda kurkumin tedavisiyle yağ doku adipogenesis ve lipoliz düzenlemesi ile AMPK aktivasyonun arttığı belirtilmiştir. Lone ve arkadaşları [295], kahverengi yağ doku hücre hattında kurkumin uygulamasının AMPK, PGC-1 α ve PPAR γ aktivasyonunu arttırdığını göstermiştir. Araştırmacılar, kurkuminin, lipogenezin inhibisyonunda ve beyaz adipositlerde kahverengi yağ fenotipinin indüklemesinde ikili modülatör bir rol oynadığını ve böylece obezite ve insülin tedavisi için potansiyel terapötik etkiler gösterdiğini belirtmiştir. Yapılan başka bir çalışmada Ejaz ve arkadaşları [296], yüksek yağlı diyet ile besledikleri farelerin yağ dokusunda, kurkuminin AMPK aktivasyonunu arttırdığını ve fosforilasyon yoluyla asetil CoA karboksilaz ekspresyonunu bastırdığını, adipositlerde lipid birikimini azalttığını ve böylece insülin direncini iyileştirdiğini ortaya koymuştur.

Çalışmamızın sonuçlarına göre yağ doku AMPK seviyesi Grup 1'e kıyasla Grup 2'de anlamlı olarak azalmıştır ($p \leq 0,008$). Buna karşın, yağ doku AMPK seviyesi Grup 2'ye kıyasla Grup 3 ve Grup 4'te anlamlı olarak artmıştır ($p \leq 0,008$). PGC-1 α seviyesinde Grup 2'de Grup 1'e kıyasla anlamlı olmayan kısmı bir azalma olmuştur ($p > 0,008$). PGC-1 α seviyesi Grup 4'te Grup 2'ye göre anlamlı olarak artmıştır ($p \leq 0,008$). Korelasyon analiz sonuçlarına göre, her iki parametre kendi arasında ilişkilendirildiğinde güçlü anlamlı pozitif korelasyon göstermiştir ($p \leq 0,01$). Aynı zamanda AMPK ve GLUT4 parametreleri arasında güçlü anlamlı pozitif korelasyon gözlenmiştir ($p \leq 0,01$). HOMA-IR değeri ve yağ doku AMPK, PGC-1 α parametreleri güçlü anlamlı negatif korelasyon göstermiştir ($p \leq 0,01$). Çalışmamızın sonuçları, 100 ve 200 mg/kg kurkumin uygulamasının yağ doku AMPK seviyesini arttırdığını göstermektedir. Yağ doku PGC-1 α 'da ise kısmı bir düzenleme gözükmemektedir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre; fruktoz uygulaması ile insülin direnci oluşturulan rat modellerinin kas ve yağ dokularında kurkumin 100 mg/kg ve 200 mg/kg uygulaması ile, IRS-1/PI3K/Akt/GLUT4 insülin sinyal yolunun geliştiği, AMPK aktivasyonu artışı ile birlikte membran GLUT4 miktarının arttığı ve bununla birlikte PGC-1 α miktarının da artarak insülin direncinin azalmasının sağlandığı belirgin olarak gösterilmiştir. Çalışmamızın bu sonuçları hem literatüre hem de toplumun insülin direncine karşı önlem alınmasında önemli ve yeni veriler sağlayacaktır.

6. SONUÇ

Çalışmamızda %20'lik fruktoz uygulamasıyla (Grup 2) plazma glukozu ve insülini yükselerek insülin direnci oluşturulmuştur. 100 mg/kg kurkumin uygulanan grupta (Grup 3) plazma insülin seviyesi azalmasına rağmen kan glukozu düşmediği için insülin direnci giderilmesi sağlanamamıştır. Ancak, Grup 2'ye göre insülin direnci anlamlı düşüş göstermiştir. 200 mg/kg kurkumin uygulanan grupta (Grup 4) kan glukozu ve insülin seviyesi azalarak insülin direnci düşürülmüştür.

Kas doku parametrelerine bakıldığında, %20'lik fruktoz uygulamasıyla (Grup 2) ile insülin direnci oluşturulan grupta kas doku IRS-1/PI3K/Akt insülin sinyali yolağındaki parametreler ve AMPK aktivasyonu anlamlı olarak azalarak GLUT4 miktarı azalmış, bununla birlikte PGC-1 α da azalarak insülin direncinin gelişmesine katkı sağlamıştır. 100 mg/kg kurkumin uygulanan grupta (Grup 3) kas doku IRS-1/PI3K/Akt insülin sinyali parametreleri ve PGC-1 α belirgin olarak artmıştır. Buna rağmen AMPK aktivasyonu ve GLUT4 miktarı artışı kısmi olduğu için insülin direncinin giderilmesi sağlanamamıştır. 200 mg kurkumin uygulanan grupta (Grup 4) kas doku IRS-1/PI3K/Akt insülin sinyali yolağındaki parametreler ve AMPK aktivasyonu anlamlı olarak artarak GLUT4 miktarı artmış olup, bununla birlikte PGC-1 α seviyesi de artarak insülin direncinin düşürülmesine katkı sağlamıştır.

Yağ doku parametrelerine bakıldığında, %20'lik fruktoz uygulamasıyla (Grup 2) ile insülin direnci oluşturulan grupta yağ doku IRS-1/PI3K/Akt insülin sinyali yolağındaki parametreler ve AMPK aktivasyonu anlamlı olarak azalarak GLUT4 miktarı azalmış ve insülin direncinin gelişmesine katkı sağlamıştır. Ancak yağ doku PGC-1 α seviyesinde kısmi bir düşme görülmüştür. 100 mg/kg kurkumin uygulanan grupta (Grup 3) yağ doku IRS-1/PI3K/Akt/GLUT4 insülin sinyali parametreleri ve AMPK aktivasyonu belirgin olarak artmıştır. Buna rağmen PGC-1 α seviyesi kısmi olarak artmıştır. 200 mg kurkumin uygulanan grupta (Grup 4) yağ

doku IRS-1/PI3K/Akt insülin sinyali yolağındaki parametreler ve AMPK aktivasyonu anlamlı olarak artarak GLUT4 miktarı artmış olup, bununla birlikte PGC-1 α seviyesi de artarak insülin direncinin düşürülmesine katkı sağlamıştır.

Çalışmamızın sonucunda %20'lik fruktoz uygulamasıyla insülin direnci oluşturulan ratlarda, kurkumin uygulamasının insülin sinyali, AMPK aktivasyonu ve PGC-1 α seviyesini arttırarak insülin direnci üzerine iyileştirici etkiler gösterdiğini bulduk. Ayrıca çalışmamızda, 200 mg/kg kurkumin uygulamasının 100 mg/kg uygulamasına kıyasla insülin direncinin giderilmesinde daha etkili olduğunu gösteren bulgular elde edilmiştir. Çalışmamız, toplum sağlığının insülin direncine karşı korunması konusundaki çalışmalara ve bilimsel literatüre önemli katkı sağlayacaktır.

7. REFERANSLAR

1. Qi, Y., et al., *Myocardial loss of IRS1 and IRS2 causes heart failure and is controlled by p38 α MAPK during insulin resistance*. Diabetes, 2013. **62**(11): p. 3887-3900.
2. Cao, W., et al., *Excess exposure to insulin may be the primary cause of insulin resistance*. American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism, 2010. **298**(2): p. E372-E372.
3. Epstein, J., I.R. Sanderson, and T.T. MacDonald, *Curcumin as a therapeutic agent: the evidence from in vitro, animal and human studies*. British journal of nutrition, 2010. **103**(11): p. 1545-1557.
4. Trošelj, K.G., et al., *Implementing Curcumin in Translational Oncology Research*. Molecules, 2020. **25**(22): p. 5240.
5. Akbari, M., et al., *The effects of curcumin on weight loss among patients with metabolic syndrome and related disorders: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials*. Frontiers in pharmacology, 2019. **10**: p. 649.
6. Mohammadi, A., et al., *Effects of supplementation with curcuminoids on dyslipidemia in obese patients: a randomized crossover trial*. Phytotherapy Research, 2013. **27**(3): p. 374-379.
7. Sahebkar, A., *Dual effect of curcumin in preventing atherosclerosis: the potential role of pro-oxidant-antioxidant mechanisms*. Natural product research, 2014. **29**(6): p. 491-492.
8. Gagliardi, S., et al., *Curcumin formulations and trials: what's new in neurological diseases*. Molecules, 2020. **25**(22): p. 5389.
9. Shamsi-Goushki, A., et al., *Comparative effects of curcumin versus nano-curcumin on insulin resistance, serum levels of apelin and lipid profile in type 2 diabetic rats*. Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy, 2020. **13**: p. 2337.
10. Panahi, Y., et al., *A randomized controlled trial on the anti-inflammatory effects of curcumin in patients with chronic sulphur mustard-induced cutaneous complications*. Annals of clinical biochemistry, 2012. **49**(6): p. 580-588.
11. Farhood, B., et al., *Curcumin as an anti-inflammatory agent: Implications to radiotherapy and chemotherapy*. Journal of cellular physiology, 2019. **234**(5): p. 5728-5740.
12. Banez, M.J., et al., *A systemic review on the antioxidant and anti-inflammatory effects of resveratrol, curcumin, and dietary nitric oxide supplementation on human cardiovascular health*. Nutrition Research, 2020. **78**: p. 11-26.
13. Richart, S.M., et al., *Synergic effect of curcumin and its structural analogue (Monoacetylcurcumin) on anti-influenza virus infection*. Journal of food and drug analysis, 2018. **26**(3): p. 1015-1023.
14. Yang, L., et al., *Curcumin-functionalized silk biomaterials for anti-aging utility*. Journal of colloid and interface science, 2017. **496**: p. 66-77.
15. Liu, M., et al., *Impaired cleavage of preproinsulin signal peptide linked to autosomal-dominant diabetes*. Diabetes, 2012. **61**(4): p. 828-837.

16. Liu, M., et al., *Proinsulin disulfide maturation and misfolding in the endoplasmic reticulum*. Journal of Biological Chemistry, 2005. **280**(14): p. 13209-13212.
17. Dunn, M.F., *Zinc–ligand interactions modulate assembly and stability of the insulin hexamer—a review*. Biometals, 2005. **18**(4): p. 295-303.
18. Liu, M., et al., *Proinsulin entry and transit through the endoplasmic reticulum in pancreatic beta cells*. Vitamins & Hormones, 2014. **95**: p. 35-62.
19. Ogurtsova, K., et al., *IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040*. Diabetes research and clinical practice, 2017. **128**: p. 40-50.
20. Zaccardi, F., et al., *Cardiorespiratory fitness and risk of type 2 diabetes mellitus: A 23-year cohort study and a meta-analysis of prospective studies*. Atherosclerosis, 2015. **243**(1): p. 131-137.
21. Yarbeygi, H., et al., *Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms*. Journal of cellular physiology, 2019. **234**(6): p. 8152-8161.
22. Grundy, S.M., *Metabolic syndrome update*. Trends in cardiovascular medicine, 2016. **26**(4): p. 364-373.
23. McCracken, E., M. Monaghan, and S. Sreenivasan, *Pathophysiology of the metabolic syndrome*. Clinics in dermatology, 2018. **36**(1): p. 14-20.
24. Alberti, K.G.M., P. Zimmet, and J. Shaw, *The metabolic syndrome—a new worldwide definition*. The Lancet, 2005. **366**(9491): p. 1059-1062.
25. Czech, M.P., *Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes*. Nature medicine, 2017. **23**(7): p. 804-814.
26. Aguilar, M., et al., *Prevalence of the metabolic syndrome in the United States, 2003-2012*. Jama, 2015. **313**(19): p. 1973-1974.
27. Freeman, A.M. and N. Pennings, *Insulin resistance*. StatPearls [Internet], 2021.
28. Sesti, G., *Pathophysiology of insulin resistance*. Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism, 2006. **20**(4): p. 665-679.
29. Vos, T., et al., *Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015*. The lancet, 2016. **388**(10053): p. 1545-1602.
30. Control, C.f.D. and Prevention, *National diabetes statistics report, 2020*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services, 2020: p. 12-15.
31. Saeedi, P., et al., *Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas*. Diabetes research and clinical practice, 2019. **157**: p. 107843.
32. Kozan, O., et al., *Prevalence of the metabolic syndrome among Turkish adults*. European journal of clinical nutrition, 2007. **61**(4): p. 548-553.
33. Ma, J., et al., *Sugar-sweetened beverage consumption is associated with change of visceral adipose tissue over 6 years of follow-up*. Circulation, 2016. **133**(4): p. 370-377.
34. Green, A.K., et al., *Sugar-sweetened beverages and prevalence of the metabolically abnormal phenotype in the Framingham Heart Study*. Obesity, 2014. **22**(5): p. E157-E163.

35. Organization, W.H., *Guideline: sugars intake for adults and children*. 2015: World Health Organization.
36. Pyne, V. and I.A. Macdonald, *Update on carbohydrates and health: the relevance of the Scientific Advisory Committee on Nutrition report for children*. Archives of disease in childhood, 2016. **101**(10): p. 876-880.
37. McGuire, S., *Scientific report of the 2015 dietary guidelines advisory committee. Washington, dc: Us departments of agriculture and health and human services, 2015*. Advances in nutrition, 2016. **7**(1): p. 202-204.
38. Stanhope, K.L., *Sugar consumption, metabolic disease and obesity: The state of the controversy*. Critical reviews in clinical laboratory sciences, 2016. **53**(1): p. 52-67.
39. Barone, S., et al., *Slc2a5 (Glut5) is essential for the absorption of fructose in the intestine and generation of fructose-induced hypertension*. Journal of Biological Chemistry, 2009. **284**(8): p. 5056-5066.
40. Stanhope, K.L. and P.J. Havel, *Fructose consumption: potential mechanisms for its effects to increase visceral adiposity and induce dyslipidemia and insulin resistance*. Current opinion in lipidology, 2008. **19**(1): p. 16.
41. Swarbrick, M.M., et al., *Consumption of fructose-sweetened beverages for 10 weeks increases postprandial triacylglycerol and apolipoprotein-B concentrations in overweight and obese women*. British Journal of Nutrition, 2008. **100**(5): p. 947-952.
42. Miller, M., et al., *Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association*. Circulation, 2011. **123**(20): p. 2292-2333.
43. Fung, T.T., et al., *Sweetened beverage consumption and risk of coronary heart disease in women*. The American journal of clinical nutrition, 2009. **89**(4): p. 1037-1042.
44. Nakagawa, T., et al., *A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome*. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 2006. **290**(3): p. F625-F631.
45. Sánchez-Lozada, L.G., et al., *Effects of febuxostat on metabolic and renal alterations in rats with fructose-induced metabolic syndrome*. American journal of physiology-renal physiology, 2008. **294**(4): p. F710-F718.
46. Cheng, T.-H., et al., *Uric acid activates extracellular signal-regulated kinases and thereafter endothelin-1 expression in rat cardiac fibroblasts*. International journal of cardiology, 2010. **139**(1): p. 42-49.
47. CHAO, H.h., et al., *Uric acid stimulates endothelin-1 gene expression associated with NADPH oxidase in human aortic smooth muscle cells*. Acta pharmacologica Sinica, 2008. **29**(11): p. 1301-1312.
48. Yu, M.-A., et al., *Oxidative stress with an activation of the renin-angiotensin system in human vascular endothelial cells as a novel mechanism of uric acid-induced endothelial dysfunction*. Journal of hypertension, 2010. **28**(6): p. 1234-1242.
49. Stanhope, K., et al., *Consumption of fructose-, but not glucose-sweetened beverages produces an atherogenic lipid profile in overweight/obese men and women*. Diabetes, 2007. **56**.

50. Teff, K.L., et al., *Fructose-sweetened beverages decrease circulating leptin levels and increase postprandial triglycerides in obese men and women*. Diabetes, 2005. **54**: p. A385.
51. Crescenzo, R., et al., *Increased hepatic de novo lipogenesis and mitochondrial efficiency in a model of obesity induced by diets rich in fructose*. European journal of nutrition, 2013. **52**(2): p. 537-545.
52. Herman, M.A. and V.T. Samuel, *The sweet path to metabolic demise: fructose and lipid synthesis*. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2016. **27**(10): p. 719-730.
53. Tappy, L. and K.-A. Lê, *Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity*. Physiological reviews, 2010.
54. Hannou, S.A., et al., *Fructose metabolism and metabolic disease*. The Journal of clinical investigation, 2018. **128**(2): p. 545-555.
55. Iizuka, K., *The transcription factor carbohydrate-response element-binding protein (ChREBP): A possible link between metabolic disease and cancer*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 2017. **1863**(2): p. 474-485.
56. Kim, S.-J., et al., *AMPK phosphorylates desnutrin/ATGL and hormone-sensitive lipase to regulate lipolysis and fatty acid oxidation within adipose tissue*. Molecular and cellular biology, 2016. **36**(14): p. 1961-1976.
57. Stanhope, K.L., et al., *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, 2009. **119**(5): p. 1322-1334.
58. Taskinen, M.R., et al., *Adverse effects of fructose on cardiometabolic risk factors and hepatic lipid metabolism in subjects with abdominal obesity*. Journal of internal medicine, 2017. **282**(2): p. 187-201.
59. Johnston, R.D., et al., *No difference between high-fructose and high-glucose diets on liver triacylglycerol or biochemistry in healthy overweight men*. Gastroenterology, 2013. **145**(5): p. 1016-1025. e2.
60. Bazzano, L.A., et al., *Intake of fruit, vegetables, and fruit juices and risk of diabetes in women*. Diabetes care, 2008. **31**(7): p. 1311-1317.
61. Wu, T., et al., *Fructose, glycemic load, and quantity and quality of carbohydrate in relation to plasma C-peptide concentrations in US women*. The American journal of clinical nutrition, 2004. **80**(4): p. 1043-1049.
62. Ter Horst, K.W., et al., *Effect of fructose consumption on insulin sensitivity in nondiabetic subjects: a systematic review and meta-analysis of diet-intervention trials*. The American journal of clinical nutrition, 2016. **104**(6): p. 1562-1576.
63. Softic, S., D.E. Cohen, and C.R. Kahn, *Role of dietary fructose and hepatic de novo lipogenesis in fatty liver disease*. Digestive diseases and sciences, 2016. **61**(5): p. 1282-1293.
64. Softic, S., et al., *Insulin concentration modulates hepatic lipid accumulation in mice in part via transcriptional regulation of fatty acid transport proteins*. PLoS One, 2012. **7**(6): p. e38952.
65. Haas, J.T., et al., *Hepatic insulin signaling is required for obesity-dependent expression of SREBP-1c mRNA but not for feeding-dependent expression*. Cell metabolism, 2012. **15**(6): p. 873-884.

66. Parks, E.J., et al., *Dietary sugars stimulate fatty acid synthesis in adults*. The Journal of nutrition, 2008. **138**(6): p. 1039-1046.
67. Softic, S., et al., *Dietary sugars alter hepatic fatty acid oxidation via transcriptional and post-translational modifications of mitochondrial proteins*. Cell metabolism, 2019. **30**(4): p. 735-753. e4.
68. Asipu, A., et al., *Properties of normal and mutant recombinant human ketohexokinases and implications for the pathogenesis of essential fructosuria*. Diabetes, 2003. **52**(9): p. 2426-2432.
69. Kohli, R., et al., *High-fructose, medium chain trans fat diet induces liver fibrosis and elevates plasma coenzyme Q9 in a novel murine model of obesity and nonalcoholic steatohepatitis*. Hepatology, 2010. **52**(3): p. 934-944.
70. Boucher, J., A. Kleinriders, and C.R. Kahn, *Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states*. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 2014. **6**(1): p. a009191.
71. Catena, C., et al., *Cellular mechanisms of insulin resistance in rats with fructose-induced hypertension*. American journal of hypertension, 2003. **16**(11): p. 973-978.
72. Zinker, B.A., et al., *PTP1B antisense oligonucleotide lowers PTP1B protein, normalizes blood glucose, and improves insulin sensitivity in diabetic mice*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2002. **99**(17): p. 11357-11362.
73. Taghibiglou, C., et al., *Hepatic very low density lipoprotein-ApoB overproduction is associated with attenuated hepatic insulin signaling and overexpression of protein-tyrosine phosphatase 1B in a fructose-fed hamster model of insulin resistance*. Journal of Biological Chemistry, 2002. **277**(1): p. 793-803.
74. Ueno, M., et al., *A high-fructose diet induces changes in pp185 phosphorylation in muscle and liver of rats*. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2000. **33**: p. 1421-1427.
75. Li, J.M., et al., *Curcumin inhibits hepatic protein-tyrosine phosphatase 1B and prevents hypertriglyceridemia and hepatic steatosis in fructose-fed rats*. Hepatology, 2010. **51**(5): p. 1555-1566.
76. Prasad, S., et al., *Curcumin, a component of golden spice: from bedside to bench and back*. Biotechnology advances, 2014. **32**(6): p. 1053-1064.
77. Deogade, S.C. and S. Ghate, *Curcumin: therapeutic applications in systemic and oral health*. Int J Biol Pharm Res, 2015. **6**(4): p. 281-90.
78. Goel, A., A.B. Kunnumakkara, and B.B. Aggarwal, *Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic*. Biochemical pharmacology, 2008. **75**(4): p. 787-809.
79. Kunnumakkara, A.B., et al., *Curcumin, the golden nutraceutical: multitargeting for multiple chronic diseases*. British journal of pharmacology, 2017. **174**(11): p. 1325-1348.
80. Kocaadam, B. and N. Şanlıer, *Curcumin, an active component of turmeric (Curcuma longa), and its effects on health*. Critical reviews in food science and nutrition, 2017. **57**(13): p. 2889-2895.
81. Basu, P., et al., *Clearance of cervical human papillomavirus infection by topical application of curcumin and curcumin containing polyherbal cream: a phase II randomized controlled study*. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2013. **14**(10): p. 5753-5759.

82. Irving, G.R., et al., *Prolonged biologically active colonic tissue levels of curcumin achieved after oral administration—a clinical pilot study including assessment of patient acceptability*. Cancer prevention research, 2013. **6**(2): p. 119-128.
83. Kim, S.G., et al., *Curcumin treatment suppresses IKK β kinase activity of salivary cells of patients with head and neck cancer: a pilot study*. Clinical Cancer Research, 2011. **17**(18): p. 5953-5961.
84. Kanai, M., et al., *A phase I study investigating the safety and pharmacokinetics of highly bioavailable curcumin (Theracurmin®) in cancer patients*. Cancer chemotherapy and pharmacology, 2013. **71**(6): p. 1521-1530.
85. Panahi, Y., et al., *Adjuvant therapy with bioavailability-boosted curcuminoids suppresses systemic inflammation and improves quality of life in patients with solid tumors: a randomized double-blind placebo-controlled trial*. Phytotherapy Research, 2014. **28**(10): p. 1461-1467.
86. AKPOLAT FERAH, M., et al., *Kanser tedavisinde curcuminin yeri*. Yeni Tıp Dergisi, 2010. **27**(3): p. 142-147.
87. Mishra, S. and K. Palanivelu, *The effect of curcumin (turmeric) on Alzheimer's disease: An overview*. Annals of Indian Academy of Neurology, 2008. **11**(1): p. 13.
88. Sahebkar, A., *Are curcuminoids effective C-reactive protein-lowering agents in clinical practice? Evidence from a meta-analysis*. Phytotherapy research, 2014. **28**(5): p. 633-642.
89. Nezhad, M.H., A. Khoshki, and M. Rad, *The effect of curcumin supplementation on lipid profiles in hemodialysis patients*. National Academy of Managerial Staff of Culture and Arts Herald, 2018(1).
90. Qin, S., et al., *Efficacy and safety of turmeric and curcumin in lowering blood lipid levels in patients with cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomized controlled trials*. Nutrition journal, 2017. **16**(1): p. 1-10.
91. Morimoto, T., et al., *The dietary compound curcumin inhibits p300 histone acetyltransferase activity and prevents heart failure in rats*. The Journal of clinical investigation, 2008. **118**(3): p. 868-878.
92. Suskind, D.L., et al., *Tolerability of Curcumin in Pediatric Inflammatory Bowel Disease: A forced dose titration study*. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition, 2013. **56**(3): p. 277.
93. Ghorbani, Z., A. Hekmatdoost, and P. Mirmiran, *Anti-hyperglycemic and insulin sensitizer effects of turmeric and its principle constituent curcumin*. International journal of endocrinology and metabolism, 2014. **12**(4).
94. Haeusler, R.A., T.E. McGraw, and D. Accili, *Biochemical and cellular properties of insulin receptor signalling*. Nature reviews Molecular cell biology, 2018. **19**(1): p. 31-44.
95. Hubbard, S.R., *The insulin receptor: both a prototypical and atypical receptor tyrosine kinase*. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 2013. **5**(3): p. a008946.
96. Simón, I., et al., *Adipocyte fatty acid-binding protein as a determinant of insulin sensitivity in morbid-obese women*. Obesity, 2009. **17**(6): p. 1124-1128.
97. Guo, C.A. and S. Guo, *Insulin receptor substrate signaling controls cardiac energy metabolism and heart failure*. The Journal of endocrinology, 2017. **233**(3): p. R131-R143.

98. Guo, S., *Insulin signaling, resistance, and the metabolic syndrome: insights from mouse models to disease mechanisms*. The Journal of endocrinology, 2014. **220**(2): p. T1.
99. Talchai, C., et al., *Pancreatic β cell dedifferentiation as a mechanism of diabetic β cell failure*. Cell, 2012. **150**(6): p. 1223-1234.
100. Świderska, E., et al., *Role of PI3K/AKT pathway in insulin-mediated glucose uptake*. Blood Glucose Levels, 2018. **1**: p. 1-18.
101. Fazakerley, D.J., et al., *Muscle and adipose tissue insulin resistance: malady without mechanism?* Journal of lipid research, 2019. **60**(10): p. 1720-1732.
102. Meshkani, R. and K. Adeli, *Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease*. Clinical biochemistry, 2009. **42**(13-14): p. 1331-1346.
103. Ginsberg, H.N., Y.-L. Zhang, and A. Hernandez-Ono, *Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes*. Archives of medical research, 2005. **36**(3): p. 232-240.
104. Taskinen, M.-R., C.J. Packard, and J. Borén, *Dietary fructose and the metabolic syndrome*. Nutrients, 2019. **11**(9): p. 1987.
105. Olofsson, S.O. and J. Boren, *Apolipoprotein B: a clinically important apolipoprotein which assembles atherogenic lipoproteins and promotes the development of atherosclerosis*. Journal of internal medicine, 2005. **258**(5): p. 395-410.
106. Stillemark-Billton, P., et al., *Relation of the size and intracellular sorting of apoB to the formation of VLDL 1 and VLDL 2*. Journal of lipid research, 2005. **46**(1): p. 104-114.
107. Avramoglu, R.K., W. Qiu, and K. Adeli, *Mechanisms of metabolic dyslipidemia in insulin resistant states: deregulation of hepatic and intestinal lipoprotein secretion*. Front Biosci, 2003. **8**(3): p. 464-476.
108. Horton, J.D., et al., *Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2003. **100**(21): p. 12027-12032.
109. Holland, W.L., et al., *Lipid mediators of insulin resistance*. Nutrition reviews, 2007. **65**(suppl_1): p. S39-S46.
110. Luo, L. and M. Liu, *Adipose tissue in control of metabolism*. Journal of endocrinology, 2016. **231**(3): p. R77-R99.
111. Belfort, R., et al., *Dose-response effect of elevated plasma free fatty acid on insulin signaling*. Diabetes, 2005. **54**(6): p. 1640-1648.
112. Zabielski, P., et al., *Effect of metformin on bioactive lipid metabolism in insulin-resistant muscle*. The Journal of endocrinology, 2017. **233**(3): p. 329-340.
113. Blachnio-Zabielska, A., et al., *Effect of high fat diet enriched with unsaturated and diet rich in saturated fatty acids on sphingolipid metabolism in rat skeletal muscle*. Journal of cellular physiology, 2010. **225**(3): p. 786-791.
114. Zabielski, P., et al., *The effect of high-fat diet and inhibition of ceramide production on insulin action in liver*. Journal of cellular physiology, 2019. **234**(2): p. 1851-1861.
115. Zabielski, P., et al., *The effect of high fat diet and metformin treatment on liver lipids accumulation and their impact on insulin action*. Scientific reports, 2018. **8**(1): p. 1-11.

116. Yamauchi, T., et al., *The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity*. Nature medicine, 2001. **7**(8): p. 941-946.
117. Fernández-Real, J.M. and W. Ricart, *Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome*. Endocrine reviews, 2003. **24**(3): p. 278-301.
118. Frühbeck, G., et al., *Adiponectin-leptin ratio: a promising index to estimate adipose tissue dysfunction. Relation with obesity-associated cardiometabolic risk*. Adipocyte, 2018. **7**(1): p. 57-62.
119. Fasshauer, M. and M. Blüher, *Adipokines in health and disease*. Trends in pharmacological sciences, 2015. **36**(7): p. 461-470.
120. Khan, M. and F. Joseph, *Adipose tissue and adipokines: the association with and application of adipokines in obesity*. Scientifica, 2014. **2014**.
121. Blüher, M. and C.S. Mantzoros, *From leptin to other adipokines in health and disease: facts and expectations at the beginning of the 21st century*. Metabolism, 2015. **64**(1): p. 131-145.
122. Morton, G.J. and M.W. Schwartz, *Leptin and the central nervous system control of glucose metabolism*. Physiological reviews, 2011. **91**(2): p. 389-411.
123. Hansen, G.H., L.-L. Niels-Christiansen, and E.M. Danielsen, *Leptin and the obesity receptor (OB-R) in the small intestine and colon: a colocalization study*. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 2008. **56**(7): p. 677-685.
124. Chou, K. and C.M. Perry, *Metreleptin: first global approval*. Drugs, 2013. **73**(9): p. 989-997.
125. Hui, X., et al., *Adiponectin and cardiovascular health: an update*. British journal of pharmacology, 2012. **165**(3): p. 574-590.
126. Pajvani, U.B., et al., *Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity*. Journal of Biological Chemistry, 2004. **279**(13): p. 12152-12162.
127. Nawrocki, A.R., et al., *Mice lacking adiponectin show decreased hepatic insulin sensitivity and reduced responsiveness to peroxisome proliferator-activated receptor γ agonists*. Journal of Biological Chemistry, 2006. **281**(5): p. 2654-2660.
128. Hui, X., et al., *Adiponectin enhances cold-induced browning of subcutaneous adipose tissue via promoting M2 macrophage proliferation*. Cell metabolism, 2015. **22**(2): p. 279-290.
129. Holland, W.L., et al., *Receptor-mediated activation of ceramidase activity initiates the pleiotropic actions of adiponectin*. Nature medicine, 2011. **17**(1): p. 55-63.
130. Glass, C.K. and J.M. Olefsky, *Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance*. Cell metabolism, 2012. **15**(5): p. 635-645.
131. Gancheva, S., et al., *Interorgan metabolic crosstalk in human insulin resistance*. Physiological reviews, 2018. **98**(3): p. 1371-1415.
132. Bódis, K. and M. Roden, *Energy metabolism of white adipose tissue and insulin resistance in humans*. European journal of clinical investigation, 2018. **48**(11): p. e13017.
133. Kim, J., et al., *AMPK activators: mechanisms of action and physiological activities*. Experimental & molecular medicine, 2016. **48**(4): p. e224-e224.
134. Hardie, D.G., *AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy*. Nature reviews Molecular cell biology, 2007. **8**(10): p. 774-785.

135. Hardie, D.G., *AMPK: a target for drugs and natural products with effects on both diabetes and cancer*. Diabetes, 2013. **62**(7): p. 2164-2172.
136. Oakhill, J.S., J.W. Scott, and B.E. Kemp, *AMPK functions as an adenylate charge-regulated protein kinase*. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2012. **23**(3): p. 125-132.
137. Zhang, B.B., G. Zhou, and C. Li, *AMPK: an emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome*. Cell metabolism, 2009. **9**(5): p. 407-416.
138. Zhang, C.-S., et al., *Fructose-1, 6-bisphosphate and aldolase mediate glucose sensing by AMPK*. Nature, 2017. **548**(7665): p. 112-116.
139. Zhang, C.-S., et al., *The lysosomal v-ATPase-Ragulator complex is a common activator for AMPK and mTORC1, acting as a switch between catabolism and anabolism*. Cell metabolism, 2014. **20**(3): p. 526-540.
140. Zhang, Y.-L., et al., *AMP as a low-energy charge signal autonomously initiates assembly of AXIN-AMPK-LKB1 complex for AMPK activation*. Cell metabolism, 2013. **18**(4): p. 546-555.
141. Steinberg, G.R. and B.E. Kemp, *AMPK in health and disease*. Physiological reviews, 2009. **89**(3): p. 1025-1078.
142. Srivastava, R.A.K., et al., *AMP-activated protein kinase: an emerging drug target to regulate imbalances in lipid and carbohydrate metabolism to treat cardio-metabolic diseases: thematic review series: new lipid and lipoprotein targets for the treatment of cardiometabolic diseases*. Journal of lipid research, 2012. **53**(12): p. 2490-2514.
143. Ruderman, N.B., et al., *AMPK, insulin resistance, and the metabolic syndrome*. The Journal of clinical investigation, 2013. **123**(7): p. 2764-2772.
144. Minokoshi, Y., et al., *AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus*. Nature, 2004. **428**(6982): p. 569-574.
145. Shaw, L.M., *The insulin receptor substrate (IRS) proteins: at the intersection of metabolism and cancer*. Cell cycle, 2011. **10**(11): p. 1750-1756.
146. Hall, J.A., et al., *The sirtuin family's role in aging and age-associated pathologies*. The Journal of clinical investigation, 2013. **123**(3): p. 973-979.
147. Price, N.L., et al., *SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function*. Cell metabolism, 2012. **15**(5): p. 675-690.
148. Yap, K.H., et al., *Catalpol ameliorates insulin sensitivity and mitochondrial respiration in skeletal muscle of type-2 diabetic mice through insulin signaling pathway and AMPK/SIRT1/PGC-1 α /PPAR- γ activation*. Biomolecules, 2020. **10**(10): p. 1360.
149. Fulco, M., et al., *Glucose restriction inhibits skeletal myoblast differentiation by activating SIRT1 through AMPK-mediated regulation of Nampt*. Developmental cell, 2008. **14**(5): p. 661-673.
150. Zhou, C., et al., *Regulation of mATG9 trafficking by Src-and ULK1-mediated phosphorylation in basal and starvation-induced autophagy*. Cell research, 2017. **27**(2): p. 184-201.
151. Weerasekara, V.K., et al., *Metabolic-stress-induced rearrangement of the 14-3-3 ζ interactome promotes autophagy via a ULK1-and AMPK-regulated 14-3-3 ζ*

- interaction with phosphorylated Atg9*. Molecular and cellular biology, 2014. **34**(24): p. 4379-4388.
152. Garcia, D. and R.J. Shaw, *AMPK: mechanisms of cellular energy sensing and restoration of metabolic balance*. Molecular cell, 2017. **66**(6): p. 789-800.
 153. Zhan, J.K., et al., *AMPK/TSC2/mTOR pathway regulates replicative senescence of human vascular smooth muscle cells*. Experimental and therapeutic medicine, 2018. **16**(6): p. 4853-4858.
 154. Gwinn, D.M., et al., *AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint*. Molecular cell, 2008. **30**(2): p. 214-226.
 155. Bailey, C.J., *Metformin: historical overview*. Diabetologia, 2017. **60**(9): p. 1566-1576.
 156. Rena, G., D.G. Hardie, and E.R. Pearson, *The mechanisms of action of metformin*. Diabetologia, 2017. **60**(9): p. 1577-1585.
 157. Gormsen, L.C., et al., *In vivo imaging of human 11C-metformin in peripheral organs: dosimetry, biodistribution, and kinetic analyses*. Journal of Nuclear Medicine, 2016. **57**(12): p. 1920-1926.
 158. Chen, S., et al., *Resveratrol improves glucose uptake in insulin-resistant adipocytes via Sirt1*. The Journal of nutritional biochemistry, 2018. **55**: p. 209-218.
 159. Kim, W.S., et al., *Berberine improves lipid dysregulation in obesity by controlling central and peripheral AMPK activity*. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2009. **296**(4): p. E812-E819.
 160. Kim, H.-S., et al., *Berberine-induced AMPK activation inhibits the metastatic potential of melanoma cells via reduction of ERK activity and COX-2 protein expression*. Biochemical pharmacology, 2012. **83**(3): p. 385-394.
 161. Shehzad, A., et al., *New mechanisms and the anti-inflammatory role of curcumin in obesity and obesity-related metabolic diseases*. European journal of nutrition, 2011. **50**(3): p. 151-161.
 162. Boura-Halfon, S. and Y. Zick, *Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance*. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2009. **296**(4): p. E581-E591.
 163. Aguirre, V., et al., *Phosphorylation of Ser307 in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptor and inhibits insulin action*. Journal of Biological Chemistry, 2002. **277**(2): p. 1531-1537.
 164. Smadja-Lamère, N., et al., *Insulin activates RSK (p90 ribosomal S6 kinase) to trigger a new negative feedback loop that regulates insulin signaling for glucose metabolism*. Journal of Biological Chemistry, 2013. **288**(43): p. 31165-31176.
 165. Zhang, J., et al., *S6K directly phosphorylates IRS-1 on Ser-270 to promote insulin resistance in response to TNF- α signaling through IKK2*. Journal of Biological Chemistry, 2008. **283**(51): p. 35375-35382.
 166. Kido, Y., et al., *Tissue-specific insulin resistance in mice with mutations in the insulin receptor, IRS-1, and IRS-2*. The Journal of clinical investigation, 2000. **105**(2): p. 199-205.
 167. Previs, S.F., et al., *Contrasting effects of IRS-1 versus IRS-2 gene disruption on carbohydrate and lipid metabolism in vivo*. Journal of Biological Chemistry, 2000. **275**(50): p. 38990-38994.

168. Bouzakri, K., et al., *siRNA-based gene silencing reveals specialized roles of IRS-1/Akt2 and IRS-2/Akt1 in glucose and lipid metabolism in human skeletal muscle*. Cell metabolism, 2006. **4**(1): p. 89-96.
169. Laustsen, P.G., et al., *Lipoatrophic diabetes in Irs1-/-/Irs3-/- double knockout mice*. Genes & development, 2002. **16**(24): p. 3213-3222.
170. Björnholm, M., et al., *Absence of functional insulin receptor substrate-3 (IRS-3) gene in humans*. Diabetologia, 2002. **45**(12): p. 1697-1702.
171. Fantin, V.R., et al., *Cloning, tissue expression, and chromosomal location of the mouse insulin receptor substrate 4 gene*. Endocrinology, 1999. **140**(3): p. 1329-1337.
172. Fantin, V.R., et al., *Mice lacking insulin receptor substrate 4 exhibit mild defects in growth, reproduction, and glucose homeostasis*. American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism, 2000. **278**(1): p. E127-E133.
173. Cai, D., et al., *Two new substrates in insulin signaling, IRS5/DOK4 and IRS6/DOK5*. Journal of Biological Chemistry, 2003. **278**(28): p. 25323-25330.
174. Versteyhe, S., et al., *Insulin receptor substrates-5 and-6 are poor substrates for the insulin receptor*. Molecular medicine reports, 2010. **3**(1): p. 189-193.
175. Abeyrathna, P. and Y. Su, *The critical role of Akt in cardiovascular function*. Vascular pharmacology, 2015. **74**: p. 38-48.
176. Graupera, M. and M. Potente, *Regulation of angiogenesis by PI3K signaling networks*. Experimental cell research, 2013. **319**(9): p. 1348-1355.
177. Wang, L.-P. and S.A. Summers, *Measuring insulin-stimulated phosphatidylinositol 3-kinase activity, in Diabetes Mellitus*. 2003, Springer. p. 127-136.
178. Burke, J.E. and R.L. Williams, *Synergy in activating class I PI3Ks*. Trends in biochemical sciences, 2015. **40**(2): p. 88-100.
179. Hawkins, P.T. and L.R. Stephens, *Emerging evidence of signalling roles for PI (3, 4) P 2 in class I and II PI3K-regulated pathways*. Biochemical Society Transactions, 2016. **44**(1): p. 307-314.
180. Bayascas, J.R., *PDK1: the major transducer of PI 3-kinase actions*. Phosphoinositide 3-kinase in Health and Disease, 2010: p. 9-29.
181. Huang, X., et al., *The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes*. International journal of biological sciences, 2018. **14**(11): p. 1483.
182. Zhang, J., et al., *PI3K/Akt signaling in osteosarcoma*. Clinica Chimica Acta, 2015. **444**: p. 182-192.
183. Manning, B.D. and A. Toker, *AKT/PKB signaling: navigating the network*. Cell, 2017. **169**(3): p. 381-405.
184. Prasatthong, P., et al., *Hesperidin ameliorates signs of the metabolic syndrome and cardiac dysfunction via IRS/Akt/GLUT4 signaling pathway in a rat model of diet-induced metabolic syndrome*. European Journal of Nutrition, 2021. **60**: p. 833-848.
185. Garofalo, R.S., et al., *Severe diabetes, age-dependent loss of adipose tissue, and mild growth deficiency in mice lacking Akt2/PKB β* . The Journal of clinical investigation, 2003. **112**(2): p. 197-208.
186. Satoh, T., *Molecular mechanisms for the regulation of insulin-stimulated glucose uptake by small guanosine triphosphatases in skeletal muscle and adipocytes*. International journal of molecular sciences, 2014. **15**(10): p. 18677-18692.

187. Thorens, B. and M. Mueckler, *Glucose transporters in the 21st Century*. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2010. **298**(2): p. E141-E145.
188. Bogan, J.S., *Regulation of glucose transporter translocation in health and diabetes*. Annual review of biochemistry, 2012. **81**: p. 507-532.
189. Larance, M., et al., *Characterization of the role of the Rab GTPase-activating protein AS160 in insulin-regulated GLUT4 trafficking*. Journal of Biological Chemistry, 2005. **280**(45): p. 37803-37813.
190. Deshmukh, A.S., et al., *Deep Proteomics of Mouse Skeletal Muscle Enables Quantitation of Protein Isoforms, Metabolic Pathways, and Transcription Factors*[S]*. Molecular & Cellular Proteomics, 2015. **14**(4): p. 841-853.
191. Longatti, A., et al., *TBC1D14 regulates autophagosome formation via Rab11-and ULK1-positive recycling endosomes* Recycling endosomes contribute to autophagosomes. The Journal of cell biology, 2012. **197**(5): p. 659-675.
192. KİSMİROĞLU, C., S. Cengiz, and M. Yaman, *AMPK'nin Biyokimyası: Etki mekanizmaları ve diyabetin tedavisindeki önemi*. Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, 2020(18): p. 162-170.
193. Tzivion, G., M. Dobson, and G. Ramakrishnan, *FoxO transcription factors; Regulation by AKT and 14-3-3 proteins*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 2011. **1813**(11): p. 1938-1945.
194. Lu, M., et al., *Insulin regulates liver metabolism in vivo in the absence of hepatic Akt and Foxo1*. Nature medicine, 2012. **18**(3): p. 388-395.
195. Kumar, A.S., et al., *Exercise and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis*. Annals of physical and rehabilitation medicine, 2019. **62**(2): p. 98-103.
196. Finck, B.N. and A.M. Hall, *Does diacylglycerol accumulation in fatty liver disease cause hepatic insulin resistance?* BioMed Research International, 2015. **2015**.
197. Holland, W.L., et al., *Inhibition of ceramide synthesis ameliorates glucocorticoid-, saturated-fat-, and obesity-induced insulin resistance*. Cell metabolism, 2007. **5**(3): p. 167-179.
198. Zhang, J. and F. Liu, *Tissue-specific insulin signaling in the regulation of metabolism and aging*. IUBMB life, 2014. **66**(7): p. 485-495.
199. Rosen, E.D. and B.M. Spiegelman, *What we talk about when we talk about fat*. Cell, 2014. **156**(1-2): p. 20-44.
200. Minamino, T., et al., *A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance*. Nature medicine, 2009. **15**(9): p. 1082-1087.
201. Smith, U., *Impaired ('diabetic') insulin signaling and action occur in fat cells long before glucose intolerance—is insulin resistance initiated in the adipose tissue?* International journal of obesity, 2002. **26**(7): p. 897-904.
202. Handschin, C. and B.M. Spiegelman, *The role of exercise and PGC1α in inflammation and chronic disease*. Nature, 2008. **454**(7203): p. 463-469.
203. Corona, J.C. and M.R. Duchen, *PPARγ and PGC-1α as therapeutic targets in Parkinson's*. Neurochemical research, 2015. **40**(2): p. 308-316.
204. Sivitz, W.I. and M.A. Yorek, *Mitochondrial dysfunction in diabetes: from molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities*. Antioxidants & redox signaling, 2010. **12**(4): p. 537-577.

205. Bosma, M., et al., *Re-evaluating lipotoxic triggers in skeletal muscle: relating intramyocellular lipid metabolism to insulin sensitivity*. Progress in lipid research, 2012. **51**(1): p. 36-49.
206. Supruniuk, E., A. Mikłosz, and A. Chabowski, *The implication of PGC-1 α on fatty acid transport across plasma and mitochondrial membranes in the insulin sensitive tissues*. Frontiers in physiology, 2017. **8**: p. 923.
207. Montgomery, M.K. and N. Turner, *Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: an update*. Endocrine connections, 2015. **4**(1): p. R1-R15.
208. Sparks, L.M., et al., *A high-fat diet coordinately downregulates genes required for mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle*. Diabetes, 2005. **54**(7): p. 1926-1933.
209. Henagan, T., et al., *In vivo effects of dietary quercetin and quercetin-rich red onion extract on skeletal muscle mitochondria, metabolism, and insulin sensitivity*. Genes & nutrition, 2015. **10**(1): p. 2.
210. Koves, T.R., et al., *Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance*. Cell metabolism, 2008. **7**(1): p. 45-56.
211. Mathai, A.S., et al., *Rapid exercise-induced changes in PGC-1 α mRNA and protein in human skeletal muscle*. Journal of applied physiology, 2008. **105**(4): p. 1098-1105.
212. Benton, C., et al., *Increased levels of peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 alpha (PGC-1 α) improve lipid utilisation, insulin signalling and glucose transport in skeletal muscle of lean and insulin-resistant obese Zucker rats*. Diabetologia, 2010. **53**(9): p. 2008-2019.
213. Contreras, A.V., N. Torres, and A.R. Tovar, *PPAR- α as a key nutritional and environmental sensor for metabolic adaptation*. Advances in nutrition, 2013. **4**(4): p. 439-452.
214. Yki-Järvinen, H., *Thiazolidinediones*. New England Journal of Medicine, 2004. **351**(11): p. 1106-1118.
215. Amin, R.H., et al., *Selective activation of PPAR γ in skeletal muscle induces endogenous production of adiponectin and protects mice from diet-induced insulin resistance*. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2010. **298**(1): p. E28-E37.
216. Wende, A.R., et al., *PGC-1 α coactivates PDK4 gene expression via the orphan nuclear receptor ERR α : a mechanism for transcriptional control of muscle glucose metabolism*. Molecular and cellular biology, 2005. **25**(24): p. 10684-10694.
217. Patti, M.E., et al., *Coordinated reduction of genes of oxidative metabolism in humans with insulin resistance and diabetes: Potential role of PGC1 and NRF1*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2003. **100**(14): p. 8466-8471.
218. Mootha, V.K., et al., *PGC-1 α -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes*. Nature genetics, 2003. **34**(3): p. 267-273.
219. Petersen, K.F., S. Dufour, and G.I. Shulman, *Decreased insulin-stimulated ATP synthesis and phosphate transport in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents*. PLoS medicine, 2005. **2**(9): p. e233.

220. Mormeneo, E., et al., *PGC-1 α induces mitochondrial and myokine transcriptional programs and lipid droplet and glycogen accumulation in cultured human skeletal muscle cells*. PloS one, 2012. **7**(1): p. e29985.
221. Handschin, C., et al., *Abnormal glucose homeostasis in skeletal muscle-specific PGC-1 α knockout mice reveals skeletal muscle-pancreatic β cell crosstalk*. The Journal of clinical investigation, 2007. **117**(11): p. 3463-3474.
222. Saleh, N., H. Elayan, and M. Zihlif, *The effect of salbutamol on PGC-1 α and GLUT4 mRNA expression in the liver and muscle of elderly diabetic mice*. Acta Endocrinologica (Bucharest), 2018. **14**(2): p. 184.
223. Fang, P., et al., *Treatment with celastrol protects against obesity through suppression of galanin-induced fat intake and activation of PGC-1 α /GLUT4 axis-mediated glucose consumption*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 2019. **1865**(6): p. 1341-1350.
224. Wenz, T., et al., *Increased muscle PGC-1 α expression protects from sarcopenia and metabolic disease during aging*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2009. **106**(48): p. 20405-20410.
225. Andrulionyte, L., et al., *Common polymorphisms of the PPAR- γ 2 (Pro12Ala) and PGC-1 α (Gly482Ser) genes are associated with the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes in the STOP-NIDDM trial*. Diabetologia, 2004. **47**(12): p. 2176-2184.
226. Besseiche, A., et al., *Metabolic roles of PGC-1 α and its implications for type 2 diabetes*. Diabetes & metabolism, 2015. **41**(5): p. 347-357.
227. Devarshi, P.P., S.M. McNabney, and T.M. Henagan, *Skeletal muscle nucleo-mitochondrial crosstalk in obesity and type 2 diabetes*. International journal of molecular sciences, 2017. **18**(4): p. 831.
228. Cheng, C.-F., H.-C. Ku, and H. Lin, *PGC-1 α as a pivotal factor in lipid and metabolic regulation*. International journal of molecular sciences, 2018. **19**(11): p. 3447.
229. Gerhart-Hines, Z., et al., *Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1 α* . The EMBO journal, 2007. **26**(7): p. 1913-1923.
230. Banks, A.S., et al., *Sirt1 gain of function increases energy efficiency and prevents diabetes in mice*. Cell metabolism, 2008. **8**(4): p. 333-341.
231. Jäger, S., et al., *AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 α* . Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007. **104**(29): p. 12017-12022.
232. Cantó, C., et al., *AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity*. Nature, 2009. **458**(7241): p. 1056-1060.
233. Baar, K., et al., *Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1*. The FASEB journal, 2002. **16**(14): p. 1879-1886.
234. Ramachandran, B., G. Yu, and T. Gulick, *Nuclear respiratory factor 1 controls myocyte enhancer factor 2A transcription to provide a mechanism for coordinate expression of respiratory chain subunits*. Journal of Biological Chemistry, 2008. **283**(18): p. 11935-11946.
235. Philp, A., et al., *The PGC-1 α -related coactivator promotes mitochondrial and myogenic adaptations in C2C12 myotubes*. American Journal of Physiology-

- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2011. **301**(4): p. R864-R872.
236. Leto, D. and A.R. Saltiel, *Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4*. Nature reviews Molecular cell biology, 2012. **13**(6): p. 383-396.
 237. Vega, R.B., J.L. Horton, and D.P. Kelly, *Maintaining ancient organelles: mitochondrial biogenesis and maturation*. Circulation research, 2015. **116**(11): p. 1820-1834.
 238. Chen, M., et al., *Obesity alone or with type 2 diabetes is associated with tissue specific alterations in DNA methylation and gene expression of PPARGC1A and IGF2*. 2012.
 239. Kim, J., et al., *Regulation of brown and white adipocyte transcriptome by the transcriptional coactivator NT-PGC-1 α* . PLoS One, 2016. **11**(7): p. e0159990.
 240. Rius-Pérez, S., et al., *PGC-1 α , inflammation, and oxidative stress: an integrative view in metabolism*. Oxidative medicine and cellular longevity, 2020. **2020**.
 241. Antunes, L.C., et al., *Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats*. Archives of endocrinology and metabolism, 2016. **60**: p. 138-142.
 242. Sharma, V.R., et al., *Measuring Insulin Resistance in Humans*. Hormone research in paediatrics, 2020. **93**(11-12): p. 577-588.
 243. Henstridge, D.C., et al., *Metabolic control and sex: A focus on inflammatory-linked mediators*. British journal of pharmacology, 2019. **176**(21): p. 4193-4207.
 244. Deacon, C.F., *Physiology and pharmacology of DPP-4 in glucose homeostasis and the treatment of type 2 diabetes*. Frontiers in endocrinology, 2019. **10**: p. 80.
 245. Federation, I.D., *IDF diabetes atlas 8th edition*. International Diabetes Federation, 2017: p. 905-911.
 246. Toop, C.R. and S. Gentili, *Fructose beverage consumption induces a metabolic syndrome phenotype in the rat: a systematic review and meta-analysis*. Nutrients, 2016. **8**(9): p. 577.
 247. Aeberli, I., et al., *Moderate amounts of fructose consumption impair insulin sensitivity in healthy young men: a randomized controlled trial*. Diabetes care, 2013. **36**(1): p. 150-156.
 248. Baena, M., et al., *Fructose, but not glucose, impairs insulin signaling in the three major insulin-sensitive tissues*. Scientific reports, 2016. **6**(1): p. 1-15.
 249. Ramos, V.W., L.O. Batista, and K.T. Albuquerque, *Effects of fructose consumption on food intake and biochemical and body parameters in Wistar rats*. Revista Portuguesa de Cardiologia (English Edition), 2017. **36**(12): p. 937-941.
 250. Khanal, P. and B. Patil, *Reversal of insulin resistance by Ficus benghalensis bark in fructose-induced insulin-resistant rats*. Journal of Ethnopharmacology, 2022. **284**: p. 114761.
 251. Kohli, K., et al., *Curcumin: a natural antiinflammatory agent*. Indian Journal of Pharmacology, 2005. **37**(3): p. 141.
 252. Farhangkhoei, H., et al., *Differential effects of curcumin on vasoactive factors in the diabetic rat heart*. Nutrition & metabolism, 2006. **3**(1): p. 1-8.
 253. Maiti, K., et al., *Curcumin-phospholipid complex: preparation, therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats*. International journal of pharmaceutics, 2007. **330**(1-2): p. 155-163.

254. MAITHILI KARPAGA SELVI, N., et al., *Curcumin attenuates oxidative stress and activation of redox-sensitive kinases in high fructose-and high-fat-fed male Wistar rats*. Scientia pharmaceutica, 2015. **83**(1): p. 159-175.
255. Naik, S.R., V.N. Thakare, and S.R. Patil, *Protective effect of curcumin on experimentally induced inflammation, hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats: evidence of its antioxidant property*. Experimental and Toxicologic Pathology, 2011. **63**(5): p. 419-431.
256. Hismiogullari, A.A., et al., *The protective effect of curcumin administration on carbon tetrachloride (CCl₄)-induced nephrotoxicity in rats*. Pharmacological Reports, 2015. **67**(3): p. 410-416.
257. Kelany, M.E., T.M. Hakami, and A.H. Omar, *Curcumin improves the metabolic syndrome in high-fructose-diet-fed rats: role of TNF- α , NF- κ B, and oxidative stress*. Canadian journal of physiology and pharmacology, 2017. **95**(2): p. 140-150.
258. da Silva Rosa, S.C., et al., *Mechanisms of muscle insulin resistance and the cross-talk with liver and adipose tissue*. Physiological Reports, 2020. **8**(19): p. e14607.
259. Zhang, Z., H. Liu, and J. Liu, *Akt activation: A potential strategy to ameliorate insulin resistance*. Diabetes research and clinical practice, 2019. **156**: p. 107092.
260. Guo, X., et al., *Panax notoginseng saponins alleviate skeletal muscle insulin resistance by regulating the IRS 1–PI 3K–AKT signaling pathway and GLUT 4 expression*. FEBS open bio, 2019. **9**(5): p. 1008-1019.
261. Petersen, M.C. and G.I. Shulman, *Mechanisms of insulin action and insulin resistance*. Physiological reviews, 2018. **98**(4): p. 2133-2223.
262. Hardie, D.G., *The AMP-activated protein kinase pathway—new players upstream and downstream*. Journal of cell science, 2004. **117**(23): p. 5479-5487.
263. Takaguri, A., et al., *AMPK activation by prolonged stimulation with interleukin-1 β contributes to the promotion of GLUT4 translocation in skeletal muscle cells*. Cell biology international, 2016. **40**(11): p. 1204-1211.
264. Jaiswal, N., et al., *The role of skeletal muscle Akt in the regulation of muscle mass and glucose homeostasis*. Molecular metabolism, 2019. **28**: p. 1-13.
265. Li, Y., et al., *Berberine attenuates fructose-induced insulin resistance by stimulating the hepatic LKB1/AMPK/PGC1 α pathway in mice*. Pharmaceutical biology, 2020. **58**(1): p. 385-392.
266. Yagasaki, K., *Anti-diabetic phytochemicals that promote GLUT4 translocation via AMPK signaling in muscle cells*. Nutrition and Aging, 2014. **2**(1): p. 35-44.
267. Zhang, Z., et al., *Pioglitazone inhibits diabetes-induced atrial mitochondrial oxidative stress and improves mitochondrial biogenesis, dynamics, and function through the PPAR- γ /PGC-1 α signaling pathway*. Frontiers in Pharmacology, 2021. **12**.
268. Villena, J.A., *New insights into PGC-1 coactivators: redefining their role in the regulation of mitochondrial function and beyond*. The FEBS journal, 2015. **282**(4): p. 647-672.
269. Wang, L., et al., *Erythropoietin contributes to slow oxidative muscle fiber specification via PGC-1 α and AMPK activation*. The international journal of biochemistry & cell biology, 2013. **45**(7): p. 1155-1164.

270. Yu, X. and Y.C. Long, *Autophagy modulates amino acid signaling network in myotubes: differential effects on mTORC1 pathway and the integrated stress response*. The FASEB journal, 2015. **29**(2): p. 394-407.
271. Adams, S.H., et al., *Plasma acylcarnitine profiles suggest incomplete long-chain fatty acid β -oxidation and altered tricarboxylic acid cycle activity in type 2 diabetic African-American women*. The Journal of nutrition, 2009. **139**(6): p. 1073-1081.
272. Jové, M., et al., *Impaired expression of NADH dehydrogenase subunit 1 and PPAR γ coactivator-1 in skeletal muscle of ZDF rats: restoration by troglitazone*. Journal of Lipid Research, 2004. **45**(1): p. 113-123.
273. Mensink, M., et al., *Improved skeletal muscle oxidative enzyme activity and restoration of PGC-1 α and PPAR β/δ gene expression upon rosiglitazone treatment in obese patients with type 2 diabetes mellitus*. International journal of obesity, 2007. **31**(8): p. 1302-1310.
274. Gonçalves, N.G., et al., *Fructose ingestion impairs expression of genes involved in skeletal muscle's adaptive response to aerobic exercise*. Genes & nutrition, 2017. **12**(1): p. 1-12.
275. Romanatto, T., et al., *Deletion of tumor necrosis factor- α receptor 1 (TNFR1) protects against diet-induced obesity by means of increased thermogenesis*. Journal of Biological Chemistry, 2009. **284**(52): p. 36213-36222.
276. Seale, P., et al., *Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice*. The Journal of clinical investigation, 2011. **121**(1): p. 96-105.
277. Maassen, J., *Mitochondria, body fat and type 2 diabetes: what is the connection?* Minerva medica, 2008. **99**(3): p. 241-251.
278. Valerio, A., et al., *TNF- α downregulates eNOS expression and mitochondrial biogenesis in fat and muscle of obese rodents*. The Journal of clinical investigation, 2006. **116**(10): p. 2791-2798.
279. Ruschke, K., et al., *Gene expression of PPAR γ and PGC-1 α in human omental and subcutaneous adipose tissue is related to insulin resistance markers and mediates beneficial effects of physical training*. European journal of endocrinology/European Federation of Endocrine Societies, 2010. **162**(3): p. 515.
280. Shen, J.-D., et al., *Curcumin reverses the depressive-like behavior and insulin resistance induced by chronic mild stress*. Metabolic brain disease, 2017. **32**(4): p. 1163-1172.
281. Niu, Y., et al., *Curcumin attenuates insulin resistance and hepatic lipid accumulation in a rat model of intra-uterine growth restriction through insulin signalling pathway and sterol regulatory element binding proteins*. British Journal of Nutrition, 2019. **122**(6): p. 616-624.
282. Zaheri, Z., et al., *Curcumin exerts beneficial role on insulin resistance through modulation of SOCS3 and Rac-1 pathways in type 2 diabetic rats*. Journal of Functional Foods, 2019. **60**: p. 103430.
283. Chauhan, P., et al., *Chitosan encapsulated nanocurcumin induces GLUT-4 translocation and exhibits enhanced anti-hyperglycemic function*. Life sciences, 2018. **213**: p. 226-235.

284. Maithilikarpagaselvi, N., et al., *Curcumin prevents inflammatory response, oxidative stress and insulin resistance in high fructose fed male Wistar rats: Potential role of serine kinases*. Chemico-biological interactions, 2016. **244**: p. 187-194.
285. Al-Saud, N.B.S., *Impact of curcumin treatment on diabetic albino rats*. Saudi journal of biological sciences, 2020. **27**(2): p. 689-694.
286. Na, L.-X., et al., *Curcumin improves insulin resistance in skeletal muscle of rats*. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 2011. **21**(7): p. 526-533.
287. Zhang, M., et al., *Curcumin attenuates skeletal muscle mitochondrial impairment in COPD rats: PGC-1 α /SIRT3 pathway involved*. Chemico-biological interactions, 2017. **277**: p. 168-175.
288. Hamidie, R.D.R., et al., *Curcumin treatment enhances the effect of exercise on mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by increasing cAMP levels*. Metabolism, 2015. **64**(10): p. 1334-1347.
289. Kim, J.H., et al., *Curcumin stimulates glucose uptake through AMPK-p38 MAPK pathways in L6 myotube cells*. Journal of Cellular Physiology, 2010. **223**(3): p. 771-778.
290. Ding, L., et al., *Curcumin rescues high fat diet-induced obesity and insulin sensitivity in mice through regulating SREBP pathway*. Toxicology and applied pharmacology, 2016. **304**: p. 99-109.
291. Shao, W., et al., *Curcumin prevents high fat diet induced insulin resistance and obesity via attenuating lipogenesis in liver and inflammatory pathway in adipocytes*. PloS one, 2012. **7**(1): p. e28784.
292. Priyanka, A., et al., *Development of insulin resistance through sprouting of inflammatory markers during hypoxia in 3T3-L1 adipocytes and amelioration with curcumin*. European journal of pharmacology, 2017. **812**: p. 73-81.
293. Wang, L., et al., *Curcumin inhibits lipolysis via suppression of ER stress in adipose tissue and prevents hepatic insulin resistance [S]*. Journal of lipid research, 2016. **57**(7): p. 1243-1255.
294. Kim, J.H., et al., *Anti-obesity effect of extract from fermented Curcuma longa L. through regulation of adipogenesis and lipolysis pathway in high-fat diet-induced obese rats*. Food & nutrition research, 2016. **60**(1): p. 30428.
295. Lone, J., et al., *Curcumin induces brown fat-like phenotype in 3T3-L1 and primary white adipocytes*. The journal of nutritional biochemistry, 2016. **27**: p. 193-202.
296. Ejaz, A., et al., *Curcumin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice*. The Journal of nutrition, 2009. **139**(5): p. 919-925.

8. ÖZET

FRUKTOZ İLE OLUŞTURULAN İNSÜLİN DİRENCİNDE KURKUMİNİN PI3K/Akt VE AMPK SİNYAL YOLAKLARINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ

İnsülin direnci, metabolik sendrom olarak adlandırılan tip 2 diyabet / glukoz intoleransı, obezite, dislipidemi ve hipertansiyon kümelenmesi dahil olmak üzere bir dizi klinik bozukluğun bir özelliğidir. Kronik aşırı fruktoz tüketiminin hayvanlarda ve insanlarda artan insülin direnci, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı, dislipidemi ve obezite riski ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Kurkuminin plazma LDL ve trigliserid düzeylerini düşürmesi, HDL kolesterolü arttırması, insülin duyarlılığını geliştirmesi gibi metabolik sendromun birçok parametresi üzerindeki etkileri hakkında çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızın amacı, fruktoz ile oluşturduğumuz insülin direncinde rat modellerine uyguladığımız 8 haftalık 100 mg/kg ve 200 mg/kg doz kurkumin tedavisinin; kan glukozu, insülin ve HOMA-IR değerlerini göz önünde bulundurarak hem Akt/PI3K hem de AMPK yolağındaki GLUT4 translokasyonu üzerindeki olası etkilerini değerlendirmek, bununla birlikte kurkumin tedavisinin Akt yolağındaki IRS serin/tirozin fosforilasyonu dengesine bakarak olası insülin direncini iyileştirmesinde olası rolünü ortaya çıkarmaktır.

Bu çalışmada, kontrol (mısır yağı) (Grup 1), fruktoz + mısır yağı (Grup 2), fruktoz + mısır yağında çözünmüş kurkumin 100 mg/kg (Grup 3), fruktoz + mısır yağında çözünmüş kurkumin 200 mg/kg (Grup 4) uyguladığımız 4 ayrı Wistar albino türü rat grupları bulunmaktadır. 8 haftanın sonunda, kan kas ve yağ dokusu örnekleri alınmıştır. Elde edilen serumlarda, insülin, glukoz parametreleri ölçülüp HOMA-IR değerleri hesaplanmıştır. Çalışmamızda Grup 2’de Grup 1’e göre artan serum glukoz ve insülin seviyeleri gözlenmiş olup, insülin direnci modeli başarılı bir şekilde oluşturulmuştur.

Çalışmamızın sonucunda %20'lik fruktoz uygulamasıyla insülin direnci oluşturulan ratlarda, kurkumin uygulamasının, yağ ve kas dokularında insülin sinyalinin geliştirilmesi, Akt/PI3K yolağı parametrelerinin düzenlenmesi, AMPK aktivasyonu, PGC-1 α ve GLUT 4 seviyelerinin arttırılması yollarıyla insülin direnci üzerine iyileştirici etkiler gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda, 200 mg/kg kurkumin uygulamasının 100 mg/kg uygulamasına kıyasla insülin direncinin giderilmesinde daha etkili olduğunu gösteren bulgular elde edilmiştir. Bu çalışma, kurkumin uygulamasının insülin direnci tedavisi üzerinde umut vaat edici sonuçlarını ortaya koymaktadır. Elde edilen bulgular; kurkuminin, insülin direnci mekanizmalarındaki birçok yolak ve protein üzerinde olası iyileştirici etkilerini ortaya koyarak daha kapsamlı çalışmalara ışık tutabilir.

Anahtar Kelimeler: insülin direnci, kurkumin, AMPK, IRS1, IRS1Ser, PIP3, PI3K, P-Akt, AS160, GLUT-4, PGC-1 α

THE EFFECT OF CURCUMIN ON PI3K/Akt and AMPK PATHWAYS IN INSULIN RESISTANCE INDUCED BY FRUCTOSE

Insulin resistance is a feature of numerous clinical disorders, including the so-called metabolic syndrome, type 2 diabetes/glucose intolerance, obesity, dyslipidemia, and hypertension. It is known that chronic excessive fructose consumption is associated with an increased risk of insulin resistance, non-alcoholic fatty liver disease, dyslipidemia and obesity in animals and humans. There are studies on the effects of curcumin on many parameters of the metabolic syndrome, such as lowering plasma LDL and triglyceride levels, increasing HDL cholesterol, and improving insulin sensitivity.

In our study we aimed to evaluate the possible effects of curcumin on GLUT4 translocation in both the Akt/PI3K and AMPK pathways. We also intended to reveal the possible role of curcumin treatment in improving insulin resistance by looking at the balance of IRS serine/tyrosine phosphorylation in the Akt pathway.

In this study, 4 different Wistar albino type rat groups were designed: Control group/Group 1, Group 2, Group 3 and Group 4. These groups were treated everyday for 8 weeks with corn oil, 20% fructose + corn oil, 20% fructose + curcumin dissolved in corn oil 100 mg/kg and 20% fructose + curcumin dissolved in corn oil 200 mg/kg, respectively. At the end of this period, blood, muscle and adipose tissue samples were taken. In the obtained sera, insulin and glucose parameters were measured and HOMA-IR values were calculated. In our study, increased serum glucose and insulin levels were observed in Group 2 compared to Group 1, and the insulin resistance model was successfully created.

As a result of our study, it has been shown that curcumin administration has ameliorative effects on insulin resistance by improving insulin signal in fat and muscle tissues, regulation of Akt/PI3K pathway parameters, AMPK activation and increasing PGC-1 α and GLUT 4 levels in insulin resistant rats. In addition, the findings of our study demonstrated that 200 mg/kg curcumin administration is more effective in relieving insulin resistance compared to 100 mg/kg administration.

This study reveals promising results of curcumin administration on the treatment of insulin resistance. The findings may pave the way for more comprehensive studies by revealing the possible ameliorative effects of curcumin on many pathways and proteins in the mechanisms of insulin resistance.

Keywords: insulin resistance, curcumin, AMPK, IRS1, IRS1Ser, PIP3, PI3K, P-Akt, AS160, GLUT-4, PGC-1 α

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Gülce

Soyadı: Kiren

Doğum Yeri ve Tarihi: Eskişehir 05.09.1992

Eğitimi:

2018-2022: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D.

2010-2016: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Türk Klinik Biyokimya Derneği

Türk Biyokimya Derneği

Bilimsel Etkinlikler:

Katıldığı Bilimsel Toplantılar ve Kurslar:

1. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi(GÜDAM), 16 - 24.12.2019, ANKARA
2. Türk Klinik Biyokimya Derneği Laboratuvarında Klinik Yetkinlik-1, TKBD Okulu, 8-10 Şubat 2019, İSTANBUL

EKLER

EK -1. Yerel Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 26.02.2021-E.33836



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

Sayı : E-66332047-604.01.02-33836
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Hatice PAŞAOĞLU, Gülce KOCA Suzan MURATOĞLU SEVERCAN ve Çınar SEVERCAN'dan oluşan, G.Ü.ET-21.012 kod numaralı ve "*Fruktoz ile Oluşturulan İnsulin Direncinde Kurkuminin P13K/Akt ve AMPK Yolaklarındaki Proteinlere Etkisinin İncelenmesi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-21.012 and entitled "*The Effect of Curcumin on P13K/Akt and AMPK Pathways in Insulin Resistance Induced by Fructose*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü : Rat Wistar Albino
Hayvan Sayısı : 24

Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

Belge Doğrulama Kodu: BECDAFKC1

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

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



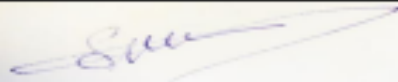
İmarıyet Mahallesi İhsanîye Caddesi No: 6/1 06560 Yenimahalle/ANKARA
Tel 0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks 0 (312) 202 38 76
e-Posta : badyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi : <http://badyek.gazi.edu.tr/>
Kuş Adresi : gaziuniversitesi@bdi.kap.tr

İlgi için : Nurel Güner
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No: 202 20 57



Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 26/01/2021		TOPLANTI SAYISI : 01	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)			
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU			
Prof.Dr.Tuncay PEKER			
Prof.Dr.Fatma AKAR		KATILAMADI	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIACIK			
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ			
Doç.Dr.Emre BARIŞ			
Doç.Dr.İpek SÜNTAR			
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR			
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER		KATILAMADI	
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ		KATILAMADI	

