

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**FARKLI ÖĞÜN SIKLIĞININ SIÇANLARDA
METABOLİZMA VE ANTIOKSİDAN SİSTEM İLE
NÖRODAVRANIŞ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Hasan Basri SAVAŞ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN:

Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN

ISPARTA 2016

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**FARKLI ÖĞÜN SIKLIĞININ SIÇANLARDA
METABOLİZMA VE ANTIOKSİDAN SİSTEM İLE
NÖRODAVRANIŞ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Hasan Basri SAVAŞ
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN:

Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN

Bu Tez, Süleyman Demirel Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı (ÖYP) Koordinatörlüğü tarafından; ÖYP-DR-12 proje numarasıyla ve Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından; 4476-ÖYP-D2-15 proje numarasıyla desteklenmiştir.

Tez. No: 145

ISPARTA 2016

KABUL ve ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27/06/2016

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN**

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi
Biyokimya Anabilim Dalı.

Üye : **Doç. Dr. Duygu KUMBUL DOĞUÇ.** Süleyman Demirel
Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı.

Üye : **Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV.** Selçuk Üniversitesi, Tıp
Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı.

Üye : **Doç. Dr. Bahadır ÖZTÜRK.** Selçuk Üniversitesi, Tıp
Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı.

Üye : **Yrd. Doç. Dr. Betül MERMİ CEYHAN.** Süleyman Demirel
Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı.

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mustafa KAYAN

Enstitü Müdürü

BEYAN

“Farklı Öğün Sıklığının Sıçanlarda Metabolizma ve Antioksidan Sistem ile Nörodavranış Üzerine Etkileri” adlı Yüksek Lisans / Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Ad Soyad: Hasan Basri SAVAŞ

İmza


Tez Danışmanı:

Ad Soyad: Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN

İmza


ÖNSÖZ

Beslenme; büyüme, gelişme ve yaşamın sürdürülmesinde gerekli olan enerji ve besin öğelerinin dışarıdan alınmasıdır. Hücrelerin yaşamını sürdürebilmeleri için gerekli kimyasal süreçlerin tümüne metabolizma denir. Bu metabolik reaksiyonların büyük bir bölümü hücredeki fizyolojik sistemler için gerekli enerjinin besinlerden sağlanması ile ilgilidir.

Beslenme sağlığımızı belirleyen en temel etmenlerden birisidir. Gerek ülkemizde ve gerekse dünyada ciddi beslenme sorunları yaşanmaktadır. Ülkemizde obezite oranı %30,3 aşırı kilolu oranı ise %34,6'dır. Obezite multifaktöriyel olmakla birlikte en önemli sebep yanlış beslenmedir. Yani ülkemiz insanlarının yaklaşık üçte ikisi yanlış beslenmektedir. Sağlıklı beslenme üzerine eğitimler düzenlenmekte, programlar yapılmakta, kitaplar yazılmakta ancak arzu edilen sonuç bir türlü alınamamaktadır. Az yenmesi gerektiği sürekli olarak vurgulanmakta, ancak bireyler iradelerini yeteri kadar kontrol edemedikleri için çok acıkmayı engelleyecek çözüm yolları aranmaktadır. Bunlardan en yaygın olan ve kabul göreni öğün sayısının fazla olduğu metottur. Bu metotta sık yendiği için öğünler arasında fazla acıklanmamakta, böylelikle öğün vaktinde de aşırı yenmenin önüne geçilmektedir. Bu metodun bir avantajı da yemeklerin termik etkisinden faydalanarak enerjinin bir kısmının da bu yolla harcanmasıdır. Yine bu görüşe göre sürekli bir şeyler yendiği için metabolizma sürekli olarak çalışmakta ve aktif tutulmaktadır. İrade eğitimi yapılması yerine iştah azaltıcı yollara başvurulduğu bu metotta metabolizma açısından önemli bir hata yapılmaktadır. Bizim hipotezimize göre sık sık yemek metabolizmayı aktif tutmaz, köreltir. Çünkü insan vücudu öğünler şeklinde beslenmeye uygundur. Bir öğünde aldığı besinin ihtiyaçtan fazlasını depolar, daha sonra diğer öğüne kadar depodan kullanır. Besinlerin depolandığı ve depodan tekrar kullanıldığı yolaklar aktiftir. Şayet sürekli olarak sık aralıklarla besin tüketilirse, yani sürekli olarak hazır besin sağlanırsa besinlerin depolandığı ve depodan kullanıldığı yolaklar körelecektir. Günlük yaşamda olası bir fazla besin alımında körelmiş yolaklar alınan besin yükünü depolamak için yeterli olamayacak ve tolere edemeyecektir. Buna bağlı olarak

örneğin glikoz intoleransı, insülin direnci, diyabet, obezite, kalp-damar hastalıkları daha kolay gelişecektir.

Çalışmamızda Ad libitum beslenen, iki öğün beslenen ve iki öğün % 20 kalori kısıtlı miktarda beslenen şekilde üç grup oluşturduk. Önce bir aylık pilot bir çalışmayla sıçanlara verilecek normal miktar ve kısıtlı miktarlar ve öğün süreleri belirlendi. Daha sonra ana çalışmaya geçildi. Gruplar 20 hafta beslendikten sonra deney sonlandırıldı ve karaciğer, yağ, kas, beyin dokularında ve kanda metabolik enzimler ve bazı hormonların düzeylerine bakıldı.

Bizim hipotezimizi destekleyen metabolizmadaki bazı enzimlerin adaptif değişimlerinin ölçüldüğü çalışmalar mevcuttur. Ancak bu çalışmalarda sadece belirli enzimlerdeki değişiklikler araştırılmıştır. Bizim çalışmamızda karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmalarının kontrolünde yer alan anahtar enzimlerinin birçoğu çalışıldı ve bütünsel bir yaklaşım sunulmaya çalışıldı.

Sonuçlara göre hipotezimize bakıldığında; sık beslenmenin ana metabolik yolları körelttiğine, insülin direnci ve kilo alımı ile ilişkili olduğuna dair bazı bulgulara ulaşılmıştır. Sık beslenme yerine temel iki öğün beslenme şeklinin yaygınlaştırılmasına yönelik ileri çalışmalar yapılabilir. Yeni projelerin hazırlanacağı bu çalışmaların aslını ise irade eğitiminin öncelikli olarak ele alındığı uygulamalı multidisipliner eğitimler oluşturabilir.

Metabolizma, beslenme durumumuza göre düzenlenen birbirine zıt yönde çalışan anabolik ve katabolik reaksiyonların kontrolü altındadır. Besin içeriği ve öğün sıklığındaki farklılıkların metabolik enzimlerde bazı adaptif değişikliklere neden olabileceği bildirilmiştir.

Farklı besin içeriklerinin ve /veya farklı sıklıklarda beslenmenin obezite, hiperlipidemi, diabetes mellitus gibi çeşitli klinik durumlara etkilerini inceleyen farklı klinik çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda besin içeriğinin ve beslenme sıklığının metabolik işleyiş üzerine etkisi vurgulanmasına rağmen metabolik işleyiş nasıl etkilediğine yönelik altta yatan mekanizmaları açıklayacak kapsamlı deneysel çalışmalara rastlanmamıştır. Bugüne kadar yapılan çalışmaların sonucuna bakarak beslenme sıklığı ve metabolizmaya etkisi konusunda fikir birliği sağlamak pek mümkün gibi görünmemektedir.

Sonuçta bu çalışma ile beslenme sıklığı ve kalori kısıtlamasının, karbonhidrat, lipid, protein sentez ve yıkım yollarındaki anahtar enzimlere, insülin direnci, kilo alımı, öğrenme, organ histopatolojisi üzerine etkileri değerlendirildi ve bu parametreler açısından az öğün sıklığı ve kalori kısıtlamasının sonuçları ortaya konmaya çalışıldı. İki öğün ve iki öğün kalori kısıtlı beslenmenin faydalarına dair önemli bulgulara ulaşıldı. Bu alanda yapılabilecek, egzersizin, cinsiyetin, farklı öğün sıklığı ve kalori kısıtlamalarının dâhil edilebileceği birçok başka ilave çalışma bulunmaktadır. Araştırmamız bu çalışmalara sebep olabilirse daha mutlu olacağız.

Gıdaların içeriğiyle ilgili haklı endişelerimiz bulunmakla birlikte, hangi miktarda ve hangi sıklıkta yenmesi gerektiği de en az gıda içeriği kadar önemlidir. ***Sık ve fazla miktarda yemek yerine, tam acıkmadan yememek ve tam doymadan yemeyi bırakmak*** daha faydalı ve sağlıklı bir beslenme biçimi olarak karşımıza çıkmaktadır. Saygılarımla, doğru beslendiğimiz sağlıklı günler dileyerek, size araştırmamızı ve sonuçlarını sunuyorum.

Isparta, 2016



Hayatım boyunca tanıdığım ve istifade ettiğim, eğitime, bilime ve faydalı bilgiye ömürlerini adanmış değerli hocalarımla tümüne ithaf ediyorum...

Saygılarımla...

Isparta, 2016

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda; öncelikle, danışman öğretim üyem olan ve eğitimim hususunda, engin bilgisi, tecrübesi, örnek şahsiyeti, tevazuu ile daima desteğini gördüğüm **Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN'e**;

Doktora eğitimim boyunca istifade ettiğim, daima yanımda olan özverili öğretim üyelerimiz; Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanımız **Prof. Dr. Hüseyin VURAL**, **Prof. Dr. İrfan ALTUNTAŞ**, **Doç. Dr. Efkan UZ**, **Doç. Dr. Duygu KUMBUL DOĞUÇ** ve **Yrd. Doç. Dr. Betül MERMİ CEYHAN'a**, diğer bölümlerden doktora dersi aldığım değerli öğretim üyeleri; **Doç. Dr. Hikmet ORHAN**, **Doç. Dr. Said TAŞ**, **Doç. Dr. Hasan Hüseyin ÖZKAN**, **Doç. Dr. Nilgün GÜRBÜZ** ve **Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR'a**, Konya'dan tez jürimde yer alan; **Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV** ve **Doç. Dr. Bahadır ÖZTÜRK'e** laboratuvarında birçok pratik bilgiler öğrendiğim **Uzm. Dr. Özlem YÜKSEL'e**,

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesinde aldığım lisans eğitimim sırasında, beslenme biyokimyası ve metabolizma konusunda farkındalık ve bilgi birikimi edinmemde katkıları büyük olan çok değerli hocalarım; **Prof. Dr. Figen GÜRDÖL**, **Prof. Dr. Mübeccel DEMİRKOL**, **Doç. Dr. Ayşe Tülin ÖZDEN'e**,

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi **Tıbbi Biyokimya Araştırma ve Öğrenme Laboratuvarlarında**, eğitimim ve uzun süren tez araştırma sürecim boyunca bana destek olan **tüm asistan ve teknisyen arkadaşlarıma**,

Tez çalışmasında; hayvan deneyi aşamalarını gerçekleştirdiğimiz **Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı yönetimine ve çalışanlarına**, histopatolojik değerlendirmeyi birlikte yaptığımız, **Doç. Dr. İbrahim Metin ÇİRİŞ'e** ve Patoloji laboratuvarı çalışanlarına, projeye olan maddi destekleri sebebiyle; **SDÜ Rektörlüğü BAP (4476-ÖYP-D2-15)** ve **ÖYP (ÖYP-DR-12) birimlerine**,

Bugünlere gelmemde ödenmez emekleri olan; **babam Sait Bey** ve **Annem Hayriye Hanıma**, doktora eğitimim ve uzun süren tezim boyunca, bana gerçekten büyük destek olan ve ortak vakitlerimizden fedakârlık yapan, **canım eşim Hatice Hanım** ve **çocuklarımız M. Sait, N. Ziya'ya**,

Kalpten teşekkürlerimle.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
BEYAN	iv
ÖNSÖZ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
RESİMLER DİZİNİ	xv
GRAFİKLER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Beslenme ve metabolizma ile ilgili temel bilgiler.....	5
2.2. Organizmada oksidatif stres ve antioksidan yanıt.....	18
2.3. Nörodavranış.....	19
2.4. Ölçülen biyokimyasal parametrelere dair genel bilgiler.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. Çalışma dizaynı ve örneklem büyüklüğü.....	30
3.2. Deney hayvanlarının bakımı ve deney safhaları.....	30
3.3. Biyokimyasal analizlerde kullanılan malzeme ve aletler.....	35
3.4. Dokuların homojenizasyonu ve serum eldesi.....	36
3.5. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü.....	37
3.6. ELISA metodu.....	42
3.7. ELISA ile çalışılan parametreler.....	46
3.8. TAS ve TOS ölçümü ve OSI hesabı.....	53
3.9. Histopatolojik inceleme.....	55
3.10. Nörodavranış deneyi için Morris labirenti.....	61
3.11. İstatistiksel analiz.....	64
4. BULGULAR	65
4.1. Biyokimyasal parametrelere dair bulgular.....	66
4.2. Oksidatif stres ve antioksidan yanıtı dair bulgular.....	69
4.3. Deney hayvanlarına ait vücut ağırlığı bulguları.....	70
4.4. Histopatolojik inceleme bulguları.....	74
4.4.1. Karaciğere ait histopatolojik inceleme bulguları.....	74
4.4.2. Böbreğe ait histopatolojik inceleme bulguları.....	79

4.5. Morris su labirenti verileri.....	85
4.5.1. Eğitim dönemi verileri.....	85
4.5.2. Probe test verileri.....	88
4.5.3. Görünür platform test verileri.....	88
5. TARTIŞMA.....	93
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	110
7.ÖZET VE ABSTRACT.....	112
8. KAYNAKLAR.....	114
EKLER.....	131



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACC: Sıçan Asetil Ko A Karboksilaz Sentetaz

AL: Ad libitum, serbest beslenen grup.

FBP1: Sıçan Fruktoz-1,6 Bifosfat 1

G6PD: Sıçan Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz

GC: Sıçan Glukagon

GCK: Sıçan Glukokinaz

GSK: Sıçan Glikojen Sentaz Kinaz

HDL: Sıçan Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

HK: Sıçan Heksokinaz

HMGCR: Sıçan 3- hidroksi-3- metilglutaril- koenzim A redüktaz

HOMA-IR: (Homeostatic Model Assessment- Insulin Resistance) İnsülin Direnci İndeksi

HSL: Sıçan Hormon Sensitif Lipaz

INS: Sıçan İnsülin

İÖ: İki öğün beslenen grup.

İÖ-KK: İki öğün ve kalori kısıtlı beslenen grup.

LDL: Sıçan Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

Leptin: Sıçan Leptin

LPL: Sıçan Lipoprotein Lipaz

NES1: Sıçan Nesfatin-1

OSI: Oksidatif Stres İndeksi

PC: Sıçan Pirüvat Karboksilaz

PCK: Sıçan Fosfoenol Pirüvat Karboksikinaz

PFK-1: Sıçan Fosfofruktokinaz1

PK: Sıçan Pirüvat Kinaz

TAS: Total Antioksidan Kapasite

TC: Sıçan Total Kolesterol

TG: Sıçan Trigliserit

TOS: Total Oksidan Kapasite

TABLULAR DİZİNİ

Tablo-1: Sıçanlara verilen standart yemin içeriği	34
Tablo 2: ELISA çeşitleri, temel prensipleri ve kullanım alanları	44
Tablo 3. Karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri ile malnutrisyon açısından genel durum belirteçlerinin serum düzeyleri (ortalama \pm standart sapma)	66
Tablo 4. Serumdan çalışılan metabolik durum göstergesi parametrelerin bir kısmı (ortalama \pm standart sapma)	67
Tablo 5. Çeşitli dokulardan çalışılan temel metabolik yollara ait enzimler (ortalama \pm standart sapma).....	68
Tablo 6. Çeşitli dokulara ait total antioksidan-oksidan seviye ve oksidatif stres indeks değerleri (ortalama \pm standart sapma)	69
Tablo 7: Deney başında ve sonunda sıçanların ağırlıkları (g)	70
Tablo 8: Deney boyunca grupların ağırlık ortalaması: (g)	72
Tablo 9: Sıçan Karaciğer Histopatolojik İnceleme.....	74
Tablo 10: Karaciğer dokusunda gözlenen yapısal değişikliklerin özeti	78
Tablo 11: Sıçan böbrek histopatolojik inceleme.....	79
Tablo 12: Böbrek dokusunda gözlenen yapısal değişikliklerin özeti.....	84
Tablo 13. Morris su labirentinde, eğitim dönemi verilerinin karşılaştırılması (Gruplar arası değerlendirme.....	87
Tablo 15. Morris su labirenti probe test verileri.....	88
Tablo 16. Grupların görünür platform verilerinin karşılaştırılması.....	89
Tablo 17. Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri	100

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: İnsülin direnci oluşumu ve hastalıklarla ilişkisi	16
Şekil 2: İnsülin (ikili zincir yapısı)	23
Şekil 3: İnsülin (üç boyutlu heksamer yapı)	24
Şekil 4: İnsülin reseptörünün yapısı ve mekanizması.....	25



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Denev hayvanlarının barınma ortamları.....	33
Resim 2: Denev hayvanlarının tekli kafesleri	33
Resim 3: Biyokimyasal analizler için kullanılan cihaz ve araştırmacı.....	37
Resim 4: ELISA yıkayıcı (washer).....	51
Resim 5: ELISA okuyucu (plate reader)	51
Resim 6: 96 kuyucuklu mikrotitrasyon pleytleri	52
Resim 7: 96 kuyucuklu mikrotitrasyon pleytlerinin numaralandırma ve harflendirme sistemi.....	52
Resim 8: Laboratuvarımızda ELISA çalışılması ve araştırmacı	53
Resim 9: Histopatolojik incelemede kullanılan; Mikrotom cihazı.....	59
Resim 10: Histopatolojik incelemede kullanılan; Işık mikroskobu ve entegre fotoğraf makinesi sistemi	60
Resim 11: Water Mase (Morris Labirenti) materyal-metot resimleri	63
Resim 12: Sıçan karaciğeri. Normal dizilim. 40X görünüm.....	75
Resim 13: Sıçan karaciğeri. Değişmiş dizilim. 40X görünüm	75
Resim 14: Sıçan karaciğeri. Granülarite hafif dizilim. Normal. 100X görünüm	76
Resim 15: Sıçan karaciğeri. Granülarite belirgin dizilim. Normal. 100X görünüm .	76
Resim 16: Sıçan karaciğeri. Granülarite hafif dizilim. Normal. 200X görünüm	77
Resim 17: Sıçan karaciğeri. Granülarite belirgin dizilim. Bozuk. 200X görünüm ...	77
Resim 18: Sıçan böbrek. Normal. 100X görünüm	80
Resim 19: Sıçan böbrek. Normal. 200X görünüm	80
Resim 20 A ve B: Sıçan böbrek. Zayıf pigment birikimi. 200X görünüm	81
Resim 21 A, B ve C: Sıçan böbrek. Belirgin pigment birikimi. 200X görünüm	82
Resim 22: Sıçan böbrek. Belirgin pigment birikimi. Prusya mavisi negatif. 200X görünüm	83
Resim 23: Ad libitum grubundaki bir sıçana ait Water Mase, Probe test ve Visible test yüzme rotaları	90
Resim 24: İki Öğün grubundaki bir sıçana ait Water Mase, Probe test ve Visible test yüzme rotaları	91
Resim 25: İki Öğün ve Kalori Kısıtlı grubundaki bir sıçana ait Water Mase, Probe test ve Visible test yüzme rotaları.....	92

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1: Deney başında sıçanların ağırlıkları (g)	71
Grafik 2: Deney sonunda sıçanların ağırlıkları (g)	71
Grafik 3: Deney boyunca sıçanların ağırlık değişimleri	73
Grafik 4. Morris su labirentinde, eğitim döneminde, hedef platformu bulma sürelerinin (sn) grup içi günler arası değerlendirmesi.....	85
Grafik 5. Morris su labirentinde, eğitim döneminde, hedef platformu bulma sürelerinin gruplar arası karşılaştırılması	86



1. GİRİŞ

Beslenmenin metabolizma üzerine etkileri uzun yıllardır pek çok araştırmacı tarafından incelenen bir konudur. Obezite sıklığının sürekli artması ve beslenme ile birçok önemli kronik hastalık arasındaki ilişkinin giderek ön plana çıkması, beslenme ile metabolizma ilişkisinin detaylı olarak aydınlatılmasını gerektirmektedir. Yaptığımız literatür taramasında beslenme şekillerinin ve kalori kısıtlamasının metabolizmaya etkilerini birlikte inceleyen güncel araştırmalara rastlanmamıştır. Ayrıca deneysel ve klinik çalışmaların çoğu, öğün sıklığından ve kalori miktarından ziyade öğün içeriğinin metabolizmaya etkilerini araştırmaya yöneliktir (1 - 5).

Yapılan çalışmaların bazılarında öğün içeriği ve sıklığındaki farklılıkların metabolik enzimlerde adaptif değişikliklere, plazma hormon, glikoz ve insulin düzeylerinde, ayrıca kolesterol sentezi üzerinde değişikliklere neden olduğu, ancak termogenezin ve total enerji harcanmasının artırılmasında belirgin bir etkisinin olmadığı görülmüştür (6 - 13).

Farklı öğün sıklıklarında beslenmenin glikoz toleransı ve glisemik indekse etkilerini araştıran çalışmalarda, sıçanlarda bir öğün beslenmeyle ad-libitum beslenmeyi karşılaştırılmış, bir öğün beslenen grubun dolaşımdaki glikoz düzeyini daha çabuk düzenlediği, yağ dokusunun glikozu yağ asidine dönüştürmek için daha iyi kapasite gösterdiği belirlenmiştir (14, 15).

Drewnowski ve arkadaşları öğün içeriği ve miktarının obezite üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, sıçanları yüksek yağ ve şeker içeriği ile beslenen ve yağsız-şekersiz beslenen olarak iki gruba ayırmışlar bunları da öğün miktarı yönünden tıka basa yiyen ve azar azar atıştıran olarak sınıflandırmışlardır. Sonuçta yağsız-şekersiz beslenen gruplarda öğün miktarı farklı olanlarda kilo alımı yönünden farklılık gözlememişlerdir. Ancak yüksek yağ ve şeker içeriğiyle beslenen grupta tıka basa yiyenlerin azar azar atıştıranlara göre daha fazla kilo aldığı ve yağ depolarının daha fazla olduğunu gözlemişlerdir (16).

Jenkins ve arkadaşları insanlarda artmış öğün sıklığının serum lipit konsantrasyonu ve karbonhidrat toleransı üzerine etkisini araştırdıkları

çalışmalarında, atıştırılmalık diyetin, üç öğünlük diyete göre serum açlık total kolesterol, LDL kolesterol ve apolipoprotein B'nin daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Kan glikozu, serum yağ asidi ve trigliserit düzeylerinin öğün sıklığından etkilenmediğini ve atıştırılmalık diyetle beslenenlerde insülin düzeylerinin azalmış olduğunu rapor etmişlerdir (17).

Jones ve ark. altı öğün ve üç öğün şeklinde iki farklı gönüllü grubunu değerlendirdikleri çalışmalarında, her iki grupta da Total Kolesterol düzeylerinin azaldığını, altı öğünle beslenen grupta insülin ve glikoz bağımlı insülinotropik polipeptid (GIP) düzeylerinin düşük olduğunu bulmuşlardır (13).

Stote ve ark. sağlıklı, normal ağırlıkta, orta yaşlı yetişkinlerde kalori kısıtlaması yapılmaksızın, azalmış öğün sıklığını değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada iki-sekiz hafta süresince katılımcılara kilolarını sürdürmek için gereken kalori miktarının tümünü bir veya üç öğünde vermişler ve serumdaki rutin biyokimyasal parametreler, vücut ısısı ve kalp hızına öğün sıklığının anlamlı etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Bununla beraber bir öğünle beslenenlerde daha fazla açlık hissi, vücut yağ kitlesinde azalma, kan basıncı, Total, LDL ve HDL kolesterol düzeylerinde artış ile kortizol düzeyinde azalış saptamışlardır. Ayrıca normal kilolu bireylerin günde tek öğün diyete uyum sağlayabileceklerini ileri sürmüşlerdir (18).

Muiruri ve Leveille'nin yaptıkları çalışmada, önce günde bir öğün iki saat süreyle beslenmeye alıştırmış, daha sonra günde iki öğün birer saat olarak beslenme şekli değiştirilmiş sıçanlarda, baştan beri ad-libitum beslenenlere göre lipogenez ile glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, 6-fosfoglukonat dehidrogenaz ve malik enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca iki öğün beslenenlerde kilo alımının ve tahmini yağ oranının daha fazla olduğu gösterilmiştir (19).

Ohkawara ve arkadaşları, gönüllüler üzerinde üç öğün ile altı öğün tüketimini karşılaştırdıkları çalışmalarında artmış öğün sıklığının 24 saatlik yağ oksidasyonu üzerine belirgin bir etkisinin olmadığını fakat açlık ve yeme isteğini arttırdığını göstermişlerdir (20).

İnsanlarda fazladan enerji alımının diyabet, kanser ve kardiyovasküler hastalıkları arttırdığı bilinmektedir. Diğer yandan artmış öğün sıklığının insan sağlığı ve yaşam süresi üzerine olan etkileri net değildir (21).

Öğün sıklığının artmasının insanlarda, hepatik steatozis, trigliserid artışı ve obezite ile ilişkisi bulunmuştur (22).

Hayvanlarda kalori kısıtlanması; ad-libitum beslenen hayvanlara kıyasla % 20-40 arasında azaltılmış miktarda kalori alımıdır (23).

İnsanlar için kalori kısıtlanması da benzer oranlarda önerilmektedir. Kalori alımı % 20-40 azaltılmakla birlikte, oran arttıkça malnutrisyonun önüne geçebilmek için vitamin ve mineral takviyesi yapılmalıdır (24).

Kalori kısıtlanması ile trigliserid, LDL seviyelerini azaltırken ve HDL seviyelerini arttırmıştır (25). Kalori kısıtlanması, kan lipit profilindeki değişim sayesinde kan basıncını ve kalp atım sayısını da azaltmıştır (26).

Kalori kısıtlanması açlık insülin ve glikoz seviyelerini de azaltarak insülin direncinin gelişimini önlemektedir (27).

Besin kaynaklarının sürekli olmadığı dönemde, yaşamı sürdürebilmek için hemen kullanmak üzere ihtiyaçtan fazla enerji depolanması gerekmektedir. İnsan vücudundaki geniş yağ dokusu depolarında bulunan yağ hücreleri fazla enerjiyi trigliserid olarak depolamaya ve gerektiğinde depolanmış enerjiyi başka bölgelerde kullanılmak üzere serbest yağ asitleri olarak salmaya adapte olmuşlardır. Nöral ve endokrin sistem tarafından yönetilen yağ depolama ve kullanma sistemi uzun süreli açlığa dayanmayı sağlamaktadır. Ancak aşırı beslenme ve sedanter yaşam tarzı birlikteliğinde, bu sistem genetik faktörlerden de etkilenerek yağ enerji depolarını çok artırır ve olumsuz sağlık sonuçlarına yol açar. Obezite yağ doku kitlesinin aşırı olması halidir (28).

Beslenme sağlığımızı belirleyen en temel etmenlerden birisidir. Gerek ülkemizde ve gerekse dünyada ciddi beslenme sorunları yaşanmaktadır. Ülkemizde obezite oranı %30,3 aşırı kilolu oranı ise %34,6'dır. Obezite multifaktöriyel olmakla birlikte obezite için en önemli sebep yanlış beslenmedir. Yani ülkemiz insanların yaklaşık üçte ikisi yanlış beslenmektedir (29).

Farklı besin içeriklerinin ve /veya farklı sıklıklarda beslenmenin obezite, hiperlipidemi, diabetes mellitus gibi çeşitli klinik durumlara etkilerini inceleyen yukarıda bahsedilen farklı klinik çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda besin

içeriğinin ve beslenme sıklığının metabolik işleyiş üzerine etkisi vurgulanmasına rağmen metabolik işleyişi nasıl etkilediğine yönelik altta yatan mekanizmaları açıklayacak kapsamlı deneysel çalışmalara rastlanmamıştır. Bugüne kadar yapılan çalışmaların sonucuna bakarak beslenme sıklığı ve metabolizmaya etkisi konusunda fikir birliği sağlamak pek mümkün gibi görünmemektedir.

Öğün sıklığı ve kalori kısıtlanmasının metabolizmadaki kontrol enzimlerine ve hormonlara etkilerini birlikte değerlendiren kapsamlı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Beslenme sıklığının ve kalori kısıtlanmasının enzimlerde yol açtığı adaptif değişiklikleri araştırmaya yönelik çalışmalarda materyal ve metot farklılıklarından dolayı sonuçların bütün olarak yorumlanması da mümkün olamamaktadır.

Sonuçta bu çalışma ile öğün sıklığı ve kalori kısıtlanmasının, karbonhidrat, lipid, protein sentez ve yıkım yollarındaki anahtar enzimler ve temel düzenleyici hormonlar üzerine etkileri değerlendirildi ve bu parametreler açısından az öğün sıklığı ve kalori kısıtlanmasının sonuçları metabolizma verimliliği ve fonksiyonelliği açısından ortaya konmaya çalışıldı. Öğün sıklığı ve kalori kısıtlanmasının metabolizma, antioksidan sistem ve nörodavranışa etkileri bu projede incelendi. Bu proje, bahsedilen değişkenlerin bir bütün olarak değerlendirmesine imkân sağladı. Beslenme, öğün sıklığı ve kalori kısıtlanması ile metabolizma ilişkisine bütüncül bir bakış ortaya konuldu.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Beslenme ve metabolizma ile ilgili temel bilgiler

Beslenme

Canlılarda büyüme ve gelişme başta olmak üzere tüm canlılık fonksiyonlarının gerçekleştirilmesi ve sağlıklı bir yaşam sürdürülmesi amacıyla dışarıdan besin öğelerinin alınması ve etkin bir şekilde kullanılmasına **beslenme** adı verilir. **Maslow**'un 1943 yılında ortaya koyduğu '**İnsan Motivasyon Teorisi**'ne göre, bireyin yaşamı boyunca karşılamak için çabaladığı ihtiyaçları basitten komplekse doğru bir piramit şeklinde tanımlanmıştır. Bu piramidin tabanını oluşturan en basit ve temel ihtiyaçlar arasında beslenme başta gelmektedir. İnsanın daha karmaşık ve ileri seviyeli ihtiyaçları olan güvenlik, aidiyet, sevgi, saygı, kendini kanıtlama gibi kavramları elde edebilmesi için öncelikle yapması gerekenlerden biri iyi beslenmektir. **İyi beslenme**, doğru besinlerin doğru miktarda alınmasıdır. Doğru beslenmek için, dışarıdan alınması gereken besin maddelerini, günlük minimum besin maddesi gereksinimlerini, ilgili besin maddesinin eksikliği veya fazlalığı durumunda oluşabilecek patolojileri, besinlerin biyolojik işlevlerini bilmek ve bireysel değerlendirme ile kişiye özgü ihtiyaçların belirlenmesini sağlamak gerekir. Bireyler arasında besinlerin emilimi ve etkinliği yönünden genetik farklılıklar olabileceğini belirten ve bireye özgü en ideal beslenmeyi ortaya koymayı amaçlayan '**nutrigenetics**' veya '**nutrigenomics**' diye bilinen, biyokimya ve genetiğin ortak çalıştığı yeni bir bilim dalı olarak ortaya çıkmıştır (30).

Diyetle alınması gerekenler, özet olarak; **su**, başlıca **lipitler** ve **karbonhidratlar** olmak üzere metabolik yakıtlar, büyüme ve doku proteinlerinin dönüşümü için **proteinler**, intestinal lümende kitle oluşumu için **lifler**, özel metabolik fonksiyonu olan elementleri içeren **mineraller**, birçok metabolik ve fizyolojik fonksiyon için küçük miktarlarda gerekli olan **vitaminler ve esansiyel yağ asitleri** şeklinde sıralanabilir. Dünya genelinde oldukça yaygın olan ve özellikle geri kalmış ülkeleri etkileyen **yetersiz beslenme**, büyüme ve bağışıklık bozukluğu ve iş kapasitesinin azalmasına yol açmaktadır. Bu durumun aksine olarak, gelişmiş ülkelerde, özellikle yağ olmak üzere **aşırı gıda tüketimi**, başta obezite, kalp hastalıkları ve bazı kanser türleri ve diğer ilişkili birçok hastalığa yol açmaktadır. A

vitamini, demir ve iyot eksikliği birçok ülkede majör sağlık sorunlarına yol açmaktadır ve oldukça yaygın gözlenmektedir. Gelişmiş ülkelerde gıda alımında görülebilecek yetersizlikler nadir olmakla birlikte, nüfusun alt sosyoekonomik tabakaları büyük risk altındadır. Dolayısı ile yetersiz beslenme sadece geri kalmış ülkelerin sorunu değildir. Yetersizliği önlemek için **vitamin ve mineral replasmanları** sağlıklı bir yaşam için iyi beslenmenin yerini tutamaz (31).

Doğru bir beslenmede, alınan besinlerin içerdiği toplam kalori miktarının bireysel ihtiyaca uygun olmasının yanı sıra karbonhidratların **glisemik indeksi** de oldukça önemlidir. Glisemik indeks, beslenme ile alınan karbonhidratların kandaki glikoz düzeyini yükseltme sürelerine göre sınıflandırıldığı bir kavramdır. Monosakkarit ve disakkaritleri içeren basit karbonhidratlar, kısa sürede hidroliz edilip kan glikoz düzeyini hızlı bir şekilde yükseltirler. Tam tahıllı ekmekek, esmer pirinç, yulaf gibi lif içeren kompleks karbonhidratlar ise yavaş emilir ve kan glikoz düzeyinde hızlı yükselmelere yol açmaz. Bu sebeple kompleks karbonhidratlar düşük glisemik indeksli olarak kabul edilir. Düşük glisemik indeksli kompleks karbonhidratlar ile beslenmek hipertansiyon, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalık görülme riskini azaltır (32).

Besinlerin hangi miktarda ve öncelikte alınması gerektiğini ve gıda çeşitliliğinin önemini şematize etmek için çeşitli **besin piramitleri** yapılmıştır. Zaman içerisinde bilimsel gelişmeler ışığında bu piramidin katmanları değişmiştir. Günümüzde varılan son noktada ideal beslenme piramidinin tabanına besin öğelerini değil de ölçülü yemek (bireysel ihtiyaca göre kalori kısıtlaması), kilo takibi ve düzenli egzersiz yerleştirilmiştir. Daha sonra sırasıyla; birinci tabakada tam tahıl, zeytinyağı, sebze ve meyveler, ikinci tabakada balık, tavuk, yumurta, kuruyemiş ve baklagiller, üçüncü tabakada süt ve süt ürünleri, dördüncü tabakada ise daha az tüketilmesi gereken rafine buğday ve pirinç, et, patates ve tuz belirtilmiştir. Neticede sağlıklı beslenmenin temelini **kalori kısıtlaması, düzenli egzersiz ve kilo takibi** ile ideal vücut kitle indeksinde kalınmasını sağlayacak doğru besin tercihleri oluşturmaktır (33).

Beslenmenin Değerlendirilmesi ve Prensipleri

Beslenmede temel prensipler olarak; farklı gıdalar yenmeli, vücut kilosunu ideal düzeyde tutmak için gıda alımı düzenli fiziksel aktivite ile desteklenmeli, diyetin içeriğinde bol miktarda hububat, sebze ve meyve bulunmalı, şeker ve tuz alımı kısıtlanmalı ve ılımlı düzeyde tutulmalıdır. Sebze ve meyve tüketimi önerilenden az olarak gerçekleştirilmektedir. Beslenmenin değerlendirilmesinde, plazma proteinlerinin miktarı bir belirteç olarak kullanılmaktadır. Yetersiz besin alımı sonucunda plazma proteinlerinin sentezinde ve plazma düzeylerinde azalma beklenmektedir (34).

Beslenme ile İlgili Temel Sorunlar

Beslenmenin içeriği açısından, sanayileşme ile son yüzyılda ortaya çıkan ciddi sorunlar bulunmaktadır. Beslenme içeriği açısından en ciddi sorunlar olarak gıda hijyeni, gıda katkı maddeleri ve genetiği değiştirilmiş gıdalar sayılabilir:

Gıda hijyeni

Beslenmedeki temel prensiplerden biri de yiyecek ve içeceklerin işlenmesinden tüketimine kadar hijyen ve sanitasyonun korunmasıdır. Gıda kaynaklı hastalıkların büyük çoğunluğunda; Salmonella, Campylobacter, E.Coli ve Listeria olmak üzere dört grup bakteri sorumludur. Oda ısısı besinlerde bakteri üremesi için uygun şartları hazırlar. Bakteriler geometrik bir çoğalmayla çok hızlı bir şekilde sayılarını arttırıp tehlikeli bir boyuta ulaşabilirler. Daha seyrek olarak, Botulinum toksinleri ve Shigella grubu bakteriler de besinlerle bulaşarak hastalık oluşumuna yol açabilir. Çevresel etmen olarak; plastik esaslı ürünlerdeki yapıştırıcılar, boyalarda kullanılan kimyasal maddeler, poliklorine bifenil (PCB), civa gibi endüstriyel bulaşanlar gıdalara bulaşarak hastalığa yol açabilir. Tarımsal etmenler olarak; tarımsal kimyasallar, insektisitler, otobur etlik hayvan beslenmesinde kontrolsüz şekilde hayvan yemine eklenebilen antibiyotik, hormon ve et artıkları insanlarda hastalığa yol açabilmektedir. Bu hastalıkların önlenmesi için, kontamine yiyecek ve içeceklerin üretimine, dağıtılmasına izin verilmeyecek yasal düzenlemeler bulunmaktadır. Tüketicilerin de ürünleri uygun şartlarda saklama, kontaminasyondan koruma ve hijyene uygun pişirme, tüketme davranışlarını bilinçli şekilde göstermesi gerekmektedir. Yiyecek hazırlarken ve tüketirken ellerin temiz şekilde yıkanması ve

yiyeceklerin doğru ısıda pişirilmesi, gıda kaynaklı hastalıklar için alınabilecek tüketici önlemlerinin başında gelmektedir. Ayrıca buzdolabında farklı ısılar için her gıdanın farklı bir uygun saklama süresi vardır. Bu sürelerin bilinerek buzdolabında gereğinden uzun süre tutulmuş gıda tüketiminden kaçınılması gıda hijyeni ve sanitasyonu için önemlidir. Hazır gıdaların etiketlerine, son kullanma tarihlerine, saklama koşullarına dikkat edilmesi, şüpheli her türlü yiyeceğin tüketiminden kaçınılması, gıdaların tüketilmeden önce temiz yıkanması, gıda hazırlanması ve tüketiminde kullanılan alet ve kapların uygun sıcaklıkta yıkanması, çöplerin yiyeceklerden uzak tutulması, etlerin iyi pişirilmesi, dondurulup çözünmüş gıdaların tekrar dondurulmasından kaçınılması sağlıklı bir beslenme ve gıda hijyeni için alınabilecek basit ve temel tüketici davranışlarıdır. Mutfağın havalandırması, temizliği, sıcaklığı, nem oranı kontrol edilmeli ve sağlıklı besin hazırlanması için uygun şartların devamlılığı sağlanmalıdır (35).

Gıda katkı maddeleri

Gıda katkı maddeleri, gıda ürünlerinin tadını, rengini, kıvamını ayarlamak, raf ömrünü uzatmak, biyolojik ve besleyici değerini korumak ve gıdada meydana gelebilecek biyolojik bozulmaları önlemek amaçlarıyla kullanılan doğal veya yapay özellikli maddelerdir (36).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 1956 yılında 40 ülkedeki 114 yapay renk maddesi ile 50 doğal renk maddesini içeren listeyi onaylamasıyla gıda katkı maddelerinin kullanımı yaygın hale gelmiştir. WHO'nun resmi iznine paralel olarak teknolojinin gelişmesi, kolay ve hızlı üretim imkânları sunması nedeniyle gıda katkı maddelerinin kullanımı büyük oranda artmıştır (37).

Gıda katkı maddelerinin yaygın ve yüksek miktarda kullanılmaları sebebiyle ömür boyu toplam maruz kalım miktarı ve maruz kalınan gıda katkı maddesi çeşidi artmaktadır. Bununla beraber gıda katkı maddelerinin alerjiden kansere kadar değişen birçok hastalığa ve istenmeyen etkilere yol açabildiği bilinmektedir. Gıda katkı maddelerinin çocuklarda nöropsikolojik bozukluk ve hiperaktiviteyi arttırabileceği, duyarlı bireylerde anafaksi, ürtiker, anjiyoödem, vaskülit, kontakt dermatite, hatta bazı gıda katkı maddelerinin DNA hasarı oluşturarak fetal değişimlere yol açabildiği gösterilmiştir (38, 39, 40). Yapılan bir hayvan

çalışmasında, gıda boyası olarak kullanılan 11 farklı gıda katkı maddesinin, karaciğer ve böbrekte hücresel düzeyde mitokondriyal solunumu % 16 ile % 100 arasında azalttığı gösterilmiştir (41).

GD gıda

Gen teknolojisi son yıllarda hızlı bir ilerleme göstermiş ve çeşitli bilimsel alanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Genetik açıdan bakıldığında rekombinant DNA teknikleri gibi teknikler kullanılarak genler üzerinde birçok değişiklik yapmak, genleri izole etmek, farklı bir canlıya aktarmak mümkün hale gelmiştir. Bu değiştirilebilen ve aktarılabilen genlerin mevcut olduğu canlıya genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) veya transgenik organizma adı verilmiştir (42 - 46).

Hızla gelişmekte olan bu teknoloji sayesinde, son yıllarda enzim ve fermantasyon teknolojilerindeki gelişmeler GDO'ların gıda sanayisinde kullanılmasını sağlamıştır. Bu yöntemle üretilen ürünler başlıca: Mısır, patates, domates, pirinç, soya, buğday, kabak, bal kabağı, ayçiçeği, yer fıstığı, bazı balık türleri olmuştur. Ayrıca muz, ahududu, kiraz, çilek, ananas, biber, karpuz, kavun ve kanola gibi ürünler üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Bu şekilde genetiği değiştirilmiş gıda sanayisi ürünlerine de GD gıda adı verilmiştir (47 - 50).

Bu biyoteknolojik ilerleme, GD gıdalarla ilgili risk ve zarar kavramlarını beraberinde getirmiştir. Günümüzde saptanan bu zararlı etkilerden biri biyoteknolojik yöntemlerle üretilmiş besindeki alerjik proteini kodlayan genin transferiyle GD besinin alerjen özelliğinin artmış olmasıdır (51, 52). Saptanan diğer bir zararlı etkisi de gen aktarımında kullanılan işaretleyici genlerin asıl genle birlikte kullanılmasıyla genlerin patojen mikroorganizmalara geçmesi sonucu antibiyotiğe dirençli enfeksiyonların ortaya çıkmasıdır. Ayrıca besin olarak alınan yabancı DNA'ların hücrelere taşınabileceği ve böylelikle insan DNA'sında genetik defektlere yol açabileceği de gösterilmiştir (53). Bunlara ek olarak GD gıdaların önümüzdeki yıllarda biyolojik çeşitliliği azaltacağını gösteren çalışmalar da mevcuttur (54 - 56).

Bu açıdan bakıldığında yapılan bazı çalışmalar ile GD gıdaların faydaları, riskleri, zararları, kabul edilebilirliği yeniden gözden geçirilmeli ve GD gıda

tüketiminde ihtiyatlılık prensibi esas alınmalıdır. Zararsız olduğu kanıtlanana kadar tüm GD gıdalara ihtiyatlı davranılmalıdır (57).

Beslenme Bozuklukları ve Topluma Etkileri

İnsanlar üzerinde yapılan araştırmalarda, yetersiz beslenen toplumlarda çocuk ölüm hızının on kata kadar artabildiği görülmüştür. Japonya'da savaş yıllarında çocukların beslenmesi bozulunca, önce 138 cm olan 12 yaş boy ortalaması, 136 cm'ye inmiştir. 1950 yılından sonra çocuklara okulda iyi kalite ek besin verilmesi ile 12 yaş boy ortalaması 142 cm'ye çıkmıştır. Gelişmiş ülkelerde, beslenme biliminin verilerinden yararlanılmış ve raşitizm, pallegra, skorbüt, demir eksikliği anemisi, iyot eksikliğine bağlı tiroit bozuklukları gibi birçok önemli ve yaygın hastalığın önüne geçilebilmiştir. Fakat gelişmiş ülkelerde yanlış ve dengesiz beslenme sonucunda, obezite, insülin direnci, tip 2 diyabetes mellitus, kalp-damar hastalıkları ve bazı kanser türleri ortaya çıkmıştır. En sık ölüm sebepleri olan kalp-damar hastalıkları ve kanser türlerinin önemli bir kısmı için en önemli önlenebilir sebep, yanlış ve dengesiz beslenmedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2006 yılındaki raporuna göre; 'gelişmekte olan ülkelerde her üç kişiden biri vitamin ve mineral eksikliklerinden etkilenmekte ve bu sebeple gelişme geriliği, enfeksiyon ve doğumsal bozuklukların sıklığı artmaktadır. A vitamini yetersizliği anne ölümlerinin % 18'inden, demir yetersizliği gebelikte anne ölümlerinin % 18'inden, çinko eksikliği çocuk ölümlerinin % 5,5'inden sorumludur'. Yetersiz ve dengesiz beslenme immün sistemi baskılamakta ve hastalığa yakalanma oranını arttırmakta, hastalıkların daha ağır geçirilmesine yol açmaktadır. İşçilerin yetersiz beslenmesi, iş gücü kaybına ve iş kazalarının artmasına yol açmaktadır. Ülkemizde hayvancılık yaygın olmasına rağmen, et ve süt verimi yetersiz olduğundan, hayvansal gıdalara ulaşmak zorlaşmaktadır. Gelir dağılımındaki dengesizlikler, ekonomik sorunlar sonucunda nüfusun önemli bir bölümü, yeterli ve dengeli beslenme yerine en ucuz besinleri tercih etmektedirler. Bütün bu faktörlerin üzerine bir de beslenme konusunda bilgisizlik ve eğitimsizlik, önyargılar ve yanlış bilgiler, hijyen eksikliği de eklenince beslenme bozuklukları daha da artmaktadır. Özellikle gebelikte anne ve doğum sonrası ilk yıllarda bebek-çocuk beslenmesinde yetersizlikler sonucunda, telafisi imkânsız, zihinsel ve fiziksel gelişim gerilikleri ortaya çıkmaktadır. Bu sebeplerle,

normal büyüme ve gelişme düzeyinin yakalanması, sağlıklı ve zihinsel yönden yeterli bireylerden oluşan bir topluma ulaşılması için tüm bireylerin yeterli ve dengeli beslenmesi şarttır (58).

Beslenme Metabolizması

Metabolizmaya giriş:

Beslenme ile günlük enerjinin sağlanması için yaklaşık olarak; % 55-60 oranında karbonhidrat, % 25-30 oranında yağ, % 10-15 oranında protein alınır. Karbonhidrat alımı % 20'nin altına indiği zaman metabolik asidoz gelişir. Yağların 1 gramının oksidasyonu 9 kcal, protein ve karbonhidratların 1 gramı ise 4 kcal enerji sağlar. Vücutta sentezlenen enerji, yaşamın devamı için gerekli olan; biyosentezler, mekanik işler, iyon pompaları ve vücut ısısının sağlanmasında kullanılır. Metabolizma reaksiyonlarının tek amacı enerji sağlamak değildir. Enerji sağlamanın (ATP) yanı sıra indirgeyici güç (NADPH+H⁺) ve biyomoleküllerin sentezi için yapıtaşları oluşumu da metabolizma reaksiyonları sonucunda mümkün olur. Alınan besinlerin sindirimi sonucunda, temel besin maddelerinin serbestleşip absorbe edilen yapıtaşları; glikoz, fruktoz, galaktoz, amino asit ve gliserollerdir. Glikoz, yağ asidi ve bazı aminoasitlerin metabolizması sonucunda oluşan asetil koenzim A, sitrik asit (TCA) siklusuna girer. Bu reaksiyonlar sırasında NADH ve FADH₂ oluşur. Glikoz, yağ asidi ve bazı aminoasitlerin metabolizmasının ara basamaklarının bazılarında ve NADH ile FADH₂'nin elektron transport zincirine ulaşması sonucunda enerji oluşumu (ATP sentezi) gerçekleşir. Besinsel karbonhidratların son ürünü glikozdur. Az miktarda oluşan fruktoz ve galaktoz da karaciğerde glikoza dönüştürülür. Enerji metabolizmasının işleyişini glikoz temelinde özetleyecek olursak:

“Glikojen ↔ **Glikoz** ↔ A) Glikuronik asit sentezi B) Pentoz-fosfat yolu C) Glikoliz → Laktik asit – (Pirüvik asit) → A)Glikoneogenez. B)Asetil KoA → A) TCA siklusu B)Yağ asiti sentezi.”

Tüm bu reaksiyonların ve döngülerin düzenini daha iyi ve detaylı anlamak için açlık-tokluk biyokimyasını incelemek faydalı olacaktır (59).

Açlık-tokluk biyokimyası

Sağlıklı, dengeli ve yeterli beslenmek, temel yaşamsal fonksiyonların devamı için çok önemlidir. Diyetle yiyecek alımı fizyolojik ve psikolojik mekanizmaların etkisi altındadır. Beyinde açlık, tokluk ve yemek alımı düzenlenmesi için uyarı merkezleri bulunmaktadır. Hipotalamik nöronlar, iştah değiştirme etkisi bulunan maddeler olan endokanabinoidler sentezleyerek açlığı düzenler. Kandaki leptin düzeyi bu mekanizma ile santral sinir sistemi üzerinden etkili olur. Açlık merkezi hipotalamusun lateral bölgesinde, tokluk merkezi ise ventromedial hipotalamustadır. Hipotalamik açlık ve tokluk merkezi, yiyecek alımını, doyma ve açlık döngüsü ile ideal düzeyde belirler. Açlık-tokluk döngüsü fizyolojik bir cevap olarak ortaya çıkar. Bu döngü için, normal şartlarda özel bir gayret veya şuurlu bir dikkat gerekmemektedir. Psikolojik şartlar olarak, yemek yeme zevki, tat, lezzet, sosyal çevre gibi etmenler de yiyecek alımında etkili olur. Fizyolojik şartlarda kan glikoz düzeyindeki değişikliklere göre hormonal düzenleme olur. Açlık ve toklukta salınan hormonlara göre hipotalamustaki açlık-tokluk merkezleri uyarılır ve bu mükemmel döngü ile ideal gıda alımı sağlanmış olur. Açlıkta kan glikoz düzeyindeki düşme sonucunda, pankreastan glukagon, adrenal bezden epinefrin kana salınır. Bu hormonlar karaciğere gelince, depo glikojeni glikoza çevrilir ve kana salınır. Bu şekilde kısa süreli açlıkta kan glikoz düzeyinin yükselmesi sağlanmış olur. Kan glikozu yükseldiği zaman ise pankreastan insülin salınır. Karaciğer ve kaslarda glikozun glikojene çevrilmesi sağlanmış olur. **Tokluk durumunda;** Karaciğerde; glikokinaz ve glikojen sentetaz aktive olur, glikoliz ve glikojen sentezi aktif şekilde devam eder. Glikoz 6 fosfat artışı, Heksoz Mono Fosfat (HMP) yolunu aktifler. İnsülin/Glukagon oranının artışı ile glikoliz uyarılır. Fosfofruktokinaz -1 ve pirüvat kinaz aktiflenmesi ile glikoliz devam eder. Bu yolakta oluşan Asetil KoA, enerji sentezinde ve lipit sentezinde kullanılır. Artmış insülin/glukagon oranı glikoneogenezi de inaktive eder. Besinlerin sindirilmesi sonrasında emilen yağ asitleri şilomikron olarak lenfatik sisteme geçer. Karaciğerden önce, periferel dokulara ve trigliserit olarak depolanmak üzere adipoz dokuya gider. Karaciğerde sentezlenen trigliseritler, VLDL ve LDL içinde kan yolu ile periferel dokulara taşınır (60, 61).

Beslenme metabolizmasındaki önemli bazı bozukluklar

İnsülin Direnci ve Diyabetes Mellitus: İnsülin direnci; dolaşımdaki normal konsantrasyondaki insüline karşı azalmış cevap olarak tanımlanır. Obez, diyabetik olmayan bireyler ve tip 2 diyabetik bireylerde insülin direnci görülebilir (62).

İnsülin direncinin altında yatan patofizyolojik sebepler yeterince aydınlatılmamıştır. Genellikle insülin direncinin altında insülinin aktivite kusuru görülmektedir. İnsülin direncinin rutin klinik değerlendirmede ölçümü, öglisemik insülin klemp metodu ile yapılabilir ve böylelikle insülin fonksiyonları indirekt olarak değerlendirilmiş olur. İnsülin direncinin geniş bir spektrumu vardır. Klinik tabloda, normal glisemik değerler ve artmış insülin düzeyinden, insülin artmış olmasına rağmen hiperglisemiye farklı tablolar görülebilir (63). İnsülin direnci sendromu veya değişik isimlendirmeleri ile sendrom X, metabolik sendrom, sayılabacak bazı klinik ve laboratuvar bulguların bir arada görülmesi tablosudur. İnsülin direnci, hiperinsülinemi, obezite, dislipidemi, hipertansiyon durumları hastada bir arada görülebilir. İnsülin direnci tespit edilen hastalar metabolik sendrom açısından değerlendirilmelidir. Metabolik sendrom daha sonra daha detaylı olarak incelenecektir (64). İnsülin reseptörü ile ilişkili genlerin çeşitli mutasyonları tanımlanmıştır. İnsülin reseptör gen mutasyonu nadir görülür fakat mutasyon görülen hastalarda insülin direnci sıklığı artmıştır. Glut 4, glikojen sentaz gibi genlerde meydana gelen mutasyonlar da insülin direnci ve tip 2 diyabet gelişimi ile ilgili bulunmuştur (65).

İnsülin direnci; puberte, gebelik gibi süreçlerde adaptasyon ve homeostazisi sürdürmek amacıyla geçici olarak fizyolojik bir şekilde de ortaya çıkabilir (66 - 68). İnsülin direnci, obezite, hipertansiyon gibi ek hastalıklar olmaksızın görülebilir. Obez olmayan ve glikoz toleransı normal bireylerde de insülin direnci görülebileceği gösterilmiştir (69).

İnsülin direncinde; insülin reseptörünün konsantrasyonunda, affinitesinde veya her ikisinde meydana gelen anormallikler insülinin etkinliğini bozar. '*Down Regulasyon*'; dolaşımda sürekli yüksek insülinin ortaya çıkardığı insülin reseptör sayısındaki azalmayı tanımlar. Muhtemelen insülinin hücre içinde artmış yıkılımı da bu tabloya eşlik etmektedir. Ancak insülin reseptörü çoğunlukla insülin duyarlılığının tek belirleyicisi değildir. Mekanizmaları henüz tam netleşmemiş olsa

da insülin direnci çoğunlukla hücre içi postreseptör sinyal yollarının aktivasyonundan kaynaklanmaktadır. Genetik yatkınlık, obezite, sedanter yaşam, yaşlanma ile insülin direncinin gelişimi artmaktadır. İnsülin direnci kilo alımı ile artarken, kilo verilmesi ile azalır. Böylelikle insülin direnci gelişiminde yağ birikiminin önemi anlaşılmaktadır. Yağ dokusunun depolama özelliği dışında sekretuar bir organ özelliği de bulunmaktadır. Adipozitede leptin, adiponektin, rezistin yapılır ve bu düzenleyici maddelerin insülin direnci gelişiminde rolü bulunmaktadır. Obezitede görülen serbest yağ asitlerinin artışının insülin direnci gelişiminde etkisi bulunmaktadır. İnsülin direnci gelişimi periferik dokularda; karaciğerde artmış glikoz yapımı ve kasta azalmış glikoz alımı ile karakterizedir (70).

İnsülin direnci ve tip 2 diyabet patofizyolojisinde hücrel sinyal proteinlerinin rolünü ve muhtemel klinik önemini test etmenin en iyi yollarından biri transgenik sıçan modelleri olabilir (71).

İnsülinin metabolizmada çok önemli bir görev üstlendiği ve aynı zamanda insülinin mutlak eksikliğinin ketoasidoza yol açtığı transgenik farelerde kanıtlanmıştır. Transgenik insülin üretim kusurlu doğan fareler doğumdan kısa bir süre sonra ketoasidoza girerek ölmüşlerdir. Heterozigot hayvanların çoğu ise klinik olarak normal bulunmuştur. Şiddetli insülin direnci ile seyreden genetik sendromlu hastalarda yapılan klinik gözlemler de sayılan hayvan deneyleri ile paralellik göstermektedir. (72, 73).

Heterozigot olarak insülin reseptör geni kusuru bulunanlar, klinik olarak semptomsuzdurlar veya sadece hafif bir glikoz intoleransı gösterirler. Bu şekildeki deney hayvanlarında heterozigot insülin reseptörüne IRS-1'in hatalı bir aleli eklendiğinde bir post reseptör defekti eklenmesi yoluyla insülin direnci artar ve sonuçta diyabetin klinik bulguları ortaya çıkar. Bu durum transgenik poligenik hastalık modeline bir örnektir. (74).

Obezite, sedanter yaşam tarzı, sigara içimi, düşük doğum ağırlığı ve perinatal malnutrisyonun insülin direnci gelişimi ile ilgisi gösterilmiştir. Adipoz doku ve bu dokudan salınan hormonlar, hipotalamus-hipofiz-adrenal aks bozuklukları, ilerleyen yaş, genetik ve çevresel nedenler de insülin direnci gelişiminde etkilidir. Yakın

zamanda elde edilen verilerde insülin direnci gelişiminde düşük dereceli inflamasyon gözlemlendiği de bildirilmiştir. İnsülin Direnci İle Yağ Doku Arasındaki İlişki; adipoz doku ile ilgili şaşırtıcı bir keşif, sadece trigliseridler için basit bir depo işlevi görmediği, aynı zamanda birçok peptid ve sitokin salgılayan aktif bir endokrin organ olmasıdır. Salgılanan peptidler arasında; leptin, adiponektin, rezistin sayılabilir. Sitokin olarak ise TNF alfa salgılandığı bilinmektedir. Leptin, rezistin ve adiponektin yağ dokudan salınarak, enerji metabolizmasını ve insülin duyarlılığını düzenler. Yağ dokunun yerleştiği lokalizasyona göre endokrin aktivitesindeki değişiklikler halen incelenmektedir (75).

Lipotoksiste hipotezi McGary ve arkadaşları tarafından ortaya atılmıştır. Artan hücre içi lipit birikiminin belirli bazı hücrel sinyal yollarını ve fonksiyonlarını bozduğunu, böylelikle insülin direnci gelişiminde lipit birikiminin önemli rolü olduğunu iddia etmişlerdir. Yapılan hayvan deneylerinde lipit birikimi ile insülin direnci arasındaki ilişki gösterilmiştir (76).

Kim ve arkadaşları transgenik lipoatrofik farelerde sinyal aktivasyonun azaldığını ve insülin direncinin görülmediğini, yağ doku transplantasyonu ile aynı hayvanlarda insülin direnci ortaya çıkabildiğini göstermişlerdir (77). Pankreas beta hücrelerindeki intraselüler lipit metabolizması, insülin sekresyonun düzenlenmesinde rol almaktadır. Hücre içi lipit homeostazisinde meydana gelen değişiklikler insülin direnci ve tip 2 diyabet gibi insülin direnci ile ilgili durumların nedeni olabilir (78). Yağ dokudan salınan leptin, rezistin ve adiponektin ile insülin direnci arasında bir ilişki olduğu açıktır.

Leptin; toklukta sorumlu olan adiposit salgısı bir proteindir. Leptin seviyeleri obezitede artar ve beyinde IL-1 salgısını artırır, IL-6 ve TNF alfa üretiminin artmasını sağlayarak insülin direnci oluşumunda rol alır.

Adiponektin; yağ dokusundan salınan ve anti-aterosklerotik özellikleri bulunan bir plazma proteindir. Obezite ve tip 2 diyabette adiponektin düzeyleri azalır. İnsülin direnci gelişiminde ve insülin direnci sendromu komplikasyonlarının ortaya çıkmasında adiponektin düzeylerinin azalması etkilidir.

Resistin; Yakın zamanda tanımlanan ve adipositlerce sentez edilen bu madde PPAR (Peroxisome Proliferator Activated Reseptors; karbonhidrat ve yağ

metabolizmasını düzenleyen hücre içi reseptör sistemi) sisteminin bir parçasıdır ve insülin direnci oluşumunda etkilidir. (79).

Şekil 1'de insülin direnci ile hastalıkların oluşumu arasındaki ilişki gösterilmiştir.

Şekil 1: İnsülin direnci oluşumu ve hastalıklarla ilişkisi:



Leptin direnci: Vücut yağ kitlesinin artması kandaki leptin seviyesinin artmasına yol açar. Bu durumda leptinin beyinde etkili olarak, yeme isteğini ortadan kaldırması ve iştahı baskılaması gerekir. Oysa obez bireylerde, yağ dokusu ve kan leptin seviyesi artışına paralel bir iştah azalışı ve vücut kitle indeksinin normal sınırlara gelmesi görülmemektedir. Kandaki yüksek leptin seviyelerine rağmen, iştah ve kalori alımı yüksek düzeyde seyretmektedir. Leptinin kandaki yüksek konsantrasyonunun beyinde etkili olamaması durumu leptin direnci olarak

adlandırılır. Leptin direncine yol açabilecek muhtemel sebeplerin birincisi, leptinin kan-beyin bariyerini aşmak için kolaylaştırılmış transportta kullandığı transport proteinin doygunluğa ulaşması ve beyine leptin girişinin durması olarak açıklanabilir. Leptinin beyine ulaşmasındaki ikinci yol olan ventriküler boşluk ve koroid pleksus ile hipotalamus birbirinden ependimal bariyer ile ayrılır. Ependimal bariyerdeki leptin reseptörleri doygunluğa ulaştığında daha fazla leptinin beyine ulaşması mümkün olmaz. Leptin direncine yol açan üçüncü mekanizma olarak, beyne geçen leptinin, Nükleer faktör-kappa B etkisiyle, etkinlik göstermesinin önlenmesi gösterilebilir. Obez bireylerdeki yüksek Nükleer faktör-kappa B düzeyleri leptinin sinyal yollarını bozarak, leptin direnci oluşmasına yol açmaktadır. Leptin direnci oluşumu sonrasında insülin direncine yol açmaktadır (80).

Obezite: Obezite, vücut yağ doku kitlesinin aşırı artışı ile karakterize olan vücut ağırlığını düzenleyen sistemlerin bozukluğudur. İnsanların sürekli yiyecek bulma imkânının olmadığı ve günlük yaşam için şimdikinden daha fazla enerji harcamaları gereken dönemlerde, alınan fazla kalorilerin yağ olarak depolanmasına yönelik genetik yatkınlığın yaşamsal bir önemi bulunmaktaydı. Günümüzde ise sanayileşmiş ve gelişmiş toplumlarda, sedanter yaşam tarzı, yiyecek bolluğu, yiyeceklerdeki çok geniş lezzet çeşitliliği, ucuz fiyatlı işlenmiş ürünlerin fazlalığı hiç kuşkusuz obezite epidemisine yol açan önemli sebeplerdir. Obezite insidansının giderek artan bir hızda büyümesi ve epidemi şeklinde ortaya çıkması, insülin direnci ve diyabet başta olmak üzere birçok hastalık ile sıkı ilişki içerisinde ve günümüzün en önemli halk sağlığı sorunlarının başında gelmektedir (81).

Obezite, latince ‘obesiteus’ sözcüğünden türemiştir. Kelime anlamı ‘yemekten dolayı’ olarak ifade edilebilir. İngilizce’de ise ‘obesity’ kelimesi ile ifade edilir ve şişmanlık, fazla yüklenme gibi anlamları bulunmaktadır (82).

Kilo alımı, fiziksel, kimyasal, hormonal ve nöronal mekanizmalarla kontrol altında tutulur. Bu düzenleyici mekanizmaların bir kısmındaki bozukluk obezite ile sonlanır. Obezite, multifaktöriyel, kronik ve tedavisi zor bir hastalıktır. Temelde harcanandan yüksek kalori alınmasına dayanan, işlenmiş besinlerin tüketimi ve fiziksel aktivitenin azlığı, kadınlarda ve ileri yaş ile birlikte sıklığı artan obezite için

en önemli etyolojik faktör beslenme alışkanlığı olarak ifade edilebilir (83).

Obezite sıklığının artışı, erişkinleri tehdit eden bir sağlık sorunu iken, giderek çocuklarda da problem haline gelmeye başlamıştır (84).

Obezite, birçok kronik ve hayatı tehdi edebilen hastalığa sebep olur. Metabolik sendrom, insülin direnci, tip 2 diyabet, uyku bozukluğu, hormonal bozukluklar, kardiyovasküler sistem hastalıkları, inme, derin ven trombozu, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, gastrointestinal problemler, obstrüktif uyku apne sendromu, azalmış hücrel immünite, psödotümör serebri, kolon, rektum, prostat, böbrek, meme, serviks, endometrium, safra kesesi, over başta olmak üzere ilişkili maligniteler, artmış karın içi basıncı, depresyon, bipolar bozukluk, agorafobi, düşük benlik saygısı, düşük hayat kalitesi gibi biyolojik, psikolojik ve sosyal birçok bozukluk obezite ile ilişkili bulunmuştur (85, 86).

2.2. Organizmada oksidatif stres ve antioksidan yanıt

Oksijenin metabolik yollardaki etkisi, radyasyon, ilaçlar ve zararlı kimyasal maddelere maruziyet sonucu organizmada sürekli olarak serbest radikal oluşumu mevcuttur. Oluşan bu serbest radikaller oksidatif stresi meydana getirirler. Antioksidan sistem enzimleri bu serbest radikalleri etkisiz hale getirerek organizmada dengenin korunmasını ve yaşamın devamını sağlarlar. Oksidatif stres artışı ve antioksidan sistemin bu durum karşısında yetersiz kalışı ile oluşan oksidatif hasar 100'den fazla hastalık oluşumunda yer almaktadır (87).

Aerobik organizmalarda dışarıdan alınan oksijen bir dizi reaksiyondan geçerek suya dönüşür ve bu arada organizma için gerekli olan enerji sentezlenir. Oksijenin toplam miktarının % 2-3 kadarı suya dönüşmeyip oksijen kaynaklı radikalleri oluşturur. Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali, iki elektron alarak indirgenmesi sonucu hidrojen peroksit oluşur. Üçüncü elektronun eklenmesi ile hidroksil radikali, dördüncü elektronun eklenmesi ile su oluşur. Süperoksit ve hidrojen peroksit radikalleri çok toksik olmamalarına rağmen, demirin katalitik etkisi ile kolaylıkla aşırı reaktif hidroksil radikaline dönüşebilirler. Bu sebeplerle süperoksit ve hidrojen peroksit daha zararlı hale dönmeden, hemen enzimlerle metabolize edilmelidir. Serbest radikaller reaktif yapıları nedeniyle lipid, protein ve nükleik asitlere zarar vererek hücre yapısını bozarlar. Organizmada

antioksidan sistem bileşeni olarak görev alan; Superoksit dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon Transferaz (GST), Katalaz (CAT), Glutasyon Redüktaz gibi enzimler, vitaminler ve metal iyonlarını bağlayan çok sayıda proteinler de bulunur (88, 89).

2.3. Nörodavranış

Davranış bilimi, sinir biliminin alt dallarındandır. Davranış bilimi, hayvanların hayatlarını korumak, türünü devam ettirmek için çevreye gösterdiği uyumu (adaptasyonu) ve davranış biçimlerini incelemektedir. Davranış bilimi ile ‘ne, nasıl, niçin’ sorularına cevap aranır. Davranışlar çok basitten, çok karmaşığa kadar değişen bir spektrumda gözlenebilir. Davranış türlerinin bir kısmı özellikle bazı omurgasız türlerde kodlanmış olarak bulunur ve öğrenilmeden ortaya çıkar. İnsanda ve diğer omurgalı hayvanların çoğunda, birçok davranış ise kişisel deneyimler ile doğum sonrası öğrenme sonucu oluşabilir ve gelişebilir. Davranışlar istemli veya istemsiz olabilir. Araçsal davranışlar istenmeyen davranıştan kaçma, kaçınma veya istenen duruma yaklaşma şeklinde gözlenebilen istemli kontrol altındaki davranışlardır. Davranış biliminde ‘nasıl’ sorusuna cevap aranırken, temel tıp bilimlerinin tüm dallarıyla ilişki kurulmaktadır. Hayvanlar üzerinde yapılan davranış testlerine dair iki farklı ekol bulunmaktadır. Etolog olarak adlandırılan ve hayvan davranışlarını doğal ortamda incelemekten yana olan birinci grupta Konrad Lorenz ve Karl von Frisch gibi bilim adamları bulunmaktadır. Ivan Pavlov ve Edward L. Thorndike gibi bilim adamlarının aralarında bulunduğu deneysel psikolog ve nörofizyologlar ise laboratuvar ortamında hayvan davranış deneyleri yaparak davranışı etkileyen birçok diğer çevresel faktörü ekarte etmekten yanadırlar. Hayvan davranışlarının süreci ve mekanizması araştırılarak hayvan ve insan beyninin nasıl çalıştığı ortaya konulabilir ve bu sayede insandaki davranış bozukluklarına çözüm getirebilecek bilgilere ulaşılabilir. Daha önce yapılan çalışmalarda farklı memeli gruplarında beyin yapısı, işlevleri ve davranış seviyesindeki yakınlık sebebiyle hayvan çalışmalarından elde edilecek bilgilerin insan için de geçerli olacağı gösterilmiştir (90, 91).

Nörodavranışsal testler:

Hayvanlarla nörodavranışsal testler yapabilmek için öncelikle etik komitelerden onay almak gerekmektedir. Deney yapılacak laboratuvarın da hayvan barındırma ile ilgili mevzuata uygun olduğunu belgelemesi gerekmektedir. Laboratuvar ortamındaki davranışsal deneylerde en sık kullanılan deney hayvanları sıçan ve maymundur. Aslında maymun yapısal olarak insana daha yakındır fakat maymunun yüksek maliyeti ve bakım zorluğu sebebiyle sıçanlar daha yaygın olarak davranışsal deneylerde kullanılmaktadır. Yirminci yüzyılda bilimsel araştırmalar için bazı sıçan türleri evcilleştirilmiş ve bunların farklı özellikteki genetik hatları (genetic lines) geliştirilmiştir. En sık kullanılan sıçan türleri; Wistar, Sprague-Dawley, Long-Evans, Brown Norway ve bunların farklı genetik hatları olarak sayılabilir. Davranışsal bozukluklarla ilgili modeller oluşturulmakta ve bu bozuklukların tedavisi için deneyler yapılmaktadır. Davranış deneylerinde sonuçlar değerlendirilirken, yapılacak karşılaştırmalarda, çevresel uyaranlar, cinsiyet, soy/genetik hat, yaş ve fizyolojik durumun benzerliği veya aynılığı hedeflenmelidir. Davranışı etkileyebilecek tüm bu faktörlerdeki farklılıklar nörodavranışsal karşılaştırmanın anlamını azaltmaktadır. Davranış deneylerinin genelde erkek sıçanlar üzerinde yapılmasının sebebi dişi sıçanlardaki periyodik 4 günlük estrus periyodunda duygusal ve bilişsel durumları da etkileyen östrojenin kanda ve beyinde meydana gelen seviye değişiklikleridir.

Öğrenme-Davranış Düzeyi Ölçümünde Kullanılan Bazı Nörodavranış Testleri:

Açık Alan Testi: Kaygı, keşif aktivitesi ve lokomotor aktivite testi olarak kullanılmaktadır. 1934 yılında Hall tarafından tasarlanmıştır (92).

Artı Labirent Testi: Kaygı ölçümlerinde en çok kullanılan testtir. 1985 yılında Pellow ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (93).

Yükseltilmiş Radyal Labirent: Olton ve arkadaşları tarafından 1979 yılında bellek araştırmaları için tasarlanmıştır (94).

Morris Su Labirenti: (Water Maze) 1982 yılında Morris tarafından tasarlanan Morris Su Labirenti hippocampusu bağlı mekânsal öğrenme ve bellek araştırmaları için kullanılmaktadır (95).

2.4. Ölçülen biyokimyasal parametrelere dair genel bilgiler

Glikoz:

Normal sağlıklı bir bireyde kan glikoz düzeyi % 70-100 mg'dır. Yemeği izleyen ilk 1-2 saat içinde kan glikoz düzeyi % 160-170 mg'ı aşmadan belirli bir seviyede artarak 2 saat içinde normal sınırlara iner. Öğünler arasında ve uzun süreli açlıkta da kan glikoz seviyesi normal sınırlar içinde tutulur. Glikozun bu düzenlenmesi beyin, eritrosit, retina gibi enerji kaynağı olarak glikoz kullanan organlar için çok önemlidir. Dinlenme koşullarında organizmada kullanılan glikozun % 60 kadarını beyin kullanır. Organizmaya gerekli olan glikoz; karbohidratlı besinler, glikoneojenez ve glikojenoliz olmak üzere üç kaynaktan sağlanır. Glikoz; enerji, NADPH ve metabolik bazı ara maddeleri oluşturmak üzere oksitlenir, karaciğer ve kasta glikojen halinde depolanır, glikojen depolama kapasitesi sınırlı olduğundan glikozun fazlası yağa dönüşür ve bazı sentezler için kullanılır. Kan glikoz düzeyinin normal sınırlar içinde tutulmasını insülin ve insülin karşıtı sisteme ait hormonlar arasındaki denge sağlamaktadır. İnsülin; toklukta pankreas hücrelerinden salgılanan bir hormon olup glikoz oksidasyonunu, glikojenez ve lipojenez yollarını aktifleyerek kan glikoz düzeyinin aşırı artmasını önler. İnsülin karşıtı sistem; pankreastan salınan glukagon, adrenal medulladan norepinefrin, adrenal korteksten glikokortikoidler ve hipofiz ön lobundan salınan büyüme hormonunu kapsamaktadır. Açlıkta insülin karşıtı sistem devreye girip, glikojenoliz ve glikoneojenezi aktifleyerek, glikoz kullanımını baskılayarak kan glikoz düzeyinin azalmasını önler. (96).

İnsülin:

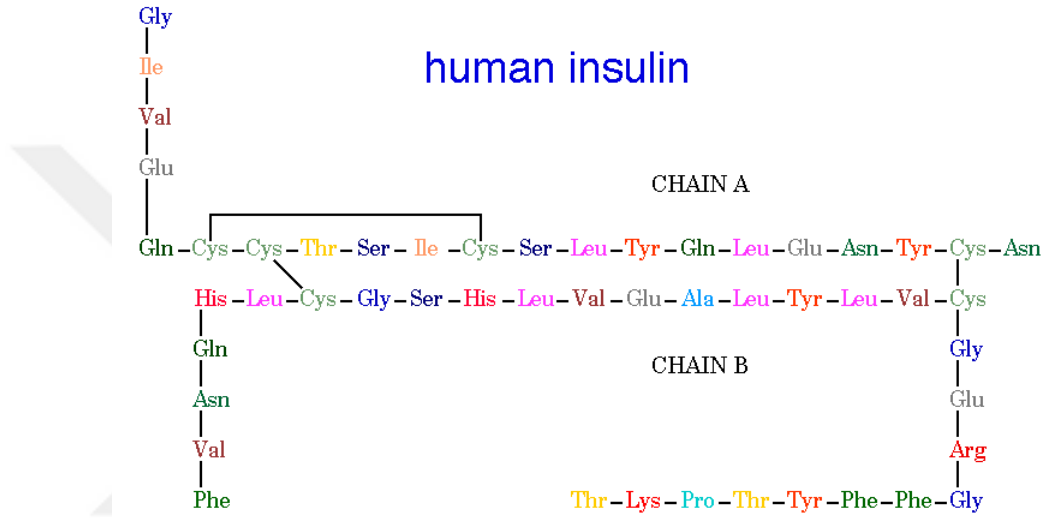
İnsülin geni, insülinin sentezlendiği ve salınmadan önce granüllerde depolandığı pankreatik adacıkların beta hücrelerinde eksprese edilir. Beta hücrelerinden insülin salınımı kan glikoz düzeyindeki artış ile başlar. Eğer sekretuar uyarı devam ederse gecikmiş ve uzamış bir cevap olarak aktif insülin sentezi başlar. İnsülin sentezini ve insülin salınımını başlatan en önemli uyaran glikozdur. Glikoz hücre içi metabolizmadaki etkileri otonomik sinir sisteminin normal kolinerjik etkileri ile birleşerek beta hücrelerinden insülin sekresyonunu sağlar. İntestinal hormonlar, lösin, arjinin gibi bazı aminoasitler ve sulfonilüreler gibi bazı ajanlar

insülin sekresyonunu başlatır ama insülin sentezi üzerine etkileri yoktur. İnsülinin anabolik bir hormon olarak başlıca fonksiyonları; glikoz ve amino asitlerin transmembran ulaşımı, karaciğer ve iskelet kaslarında glikojen oluşumu, glikozun trigliseridlere dönüşümü, nükleik asit sentezi ve protein sentezidir. İnsülinin metabolizmadaki başlıca fonksiyonu; vücut ağırlığının üçte ikisini teşkil eden, kalp kası, fibroblast, yağ hücreleri ve çizgili kas hücreleri içerisine glikoz transport hızını arttırmaktır. (97).

İnsan insülin geni 11. Kromozom kısa kolunda yerleşmiştir. Prekürsör bir molekül olan preproinsülin, 11500 molekül ağırlığında bir peptiddir. Pankreasın beta hücresinin granüler endoplazmik retikulumu içerisinde; preproinsülin mRNA'sı ile kodlanır. Mikrozomal enzimler preproinsülini sentezledikten hemen sonra proinsüline parçalarlar. Proinsülin clathrin ile kaplanmış salgı granüllerinin bulunduğu golgi aparatında depolanır. Salgılanan molekülün olgunlaşması, clathrin kılıfının kaybı ve proinsülinin; insülin ve her iki peptid zincirini bağlayan bir peptid olan C peptide proteolitik parçalanması ile oluşur. Normal olgunlaşmış, kılıfsız salgı granülü, eşit molar miktarda insülin, C peptid ile az miktarlarda proinsülin ve parçalanmış ara ürünleri içerir. İnsülin, A zincirinde 21, B zincirinde 30 aminoasit içeren, toplam 51 amino asitten oluşan iki peptid zincirli bir proteindir. Zincirler birbirlerine iki disülfid bağı ile bağlıdır. Ayrıca A zinciri içinde 6. ve 11. Aminoasitler arasında zincir içi bir disülfid köprüsü vardır. İnsan insülinin moleküler ağırlığı 5808'dir. Endojen insülinin 3-5 dakikalık yarı ömrü vardır. İnsülinazlar tarafından karaciğer, böbrek ve plasentada katabolize edilir. İnsülinin yaklaşık % 50'si karaciğerden ilk geçiş sırasında uzaklaştırılır. Normal erişkinlerde pankreastan günlük insülin salınımı 30 ünedir. İnsülin konsantrasyonu sindirimin başlamasından 8-10 dakika sonra artar ve 30-35 dakika sonra pik düzeyine ulaşır. Bunu postprandiyal glikoz konsantrasyonunda azalma izler. 90-120 dakika sonra normal düzeyine gelir. Plazma glikoz düzeyi 80-100 mg/dL arasında iken insülin salınımını uyaramaz. İnvitro deneylerde diğer insülin salgılatıcıların etkili olması için ortamda insülin olmasının gerekliliği gösterilmiştir. Bazal insülin salınımı uyarı olmaksızın açlıkta salınan insülin miktarıdır. Uyarılmış insülin salınımı, beta hücresinin sindirilmiş gıdaya cevaben, gıda alımı sonrası insülin salınımıdır (98). Aşağıdaki şekil 1'de ve 2'de insülin molekülünün ikili zincir ve üç boyutlu heksamer yapısı

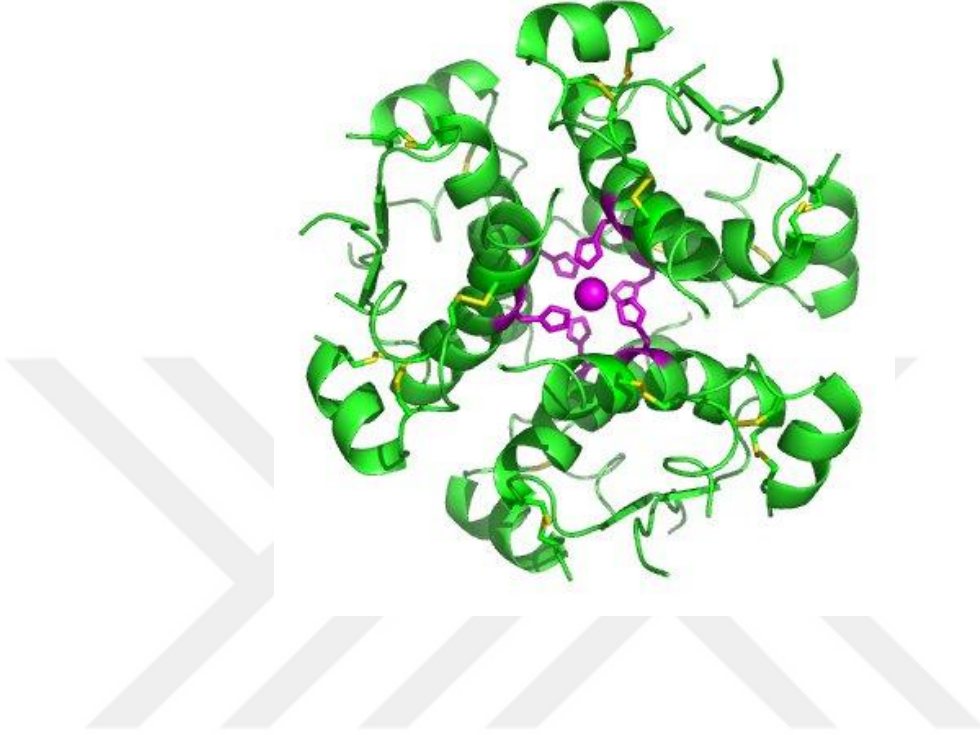
yapısı gösterilmiştir.

Şekil 2: İnsülin (ikili zincir yapısı): <https://en.wikipedia.org/wiki/Insulin>
Erişim tarihi: 13.06.2016. Web kaynağından modifiye edilmiştir (99).



Şekil 3: İnsülin (üç boyutlu heksamer yapı)

<https://en.wikipedia.org/wiki/Insulin> Erişim tarihi: 13.06.2016. Web kaynağından modifiye edilmiştir (99).

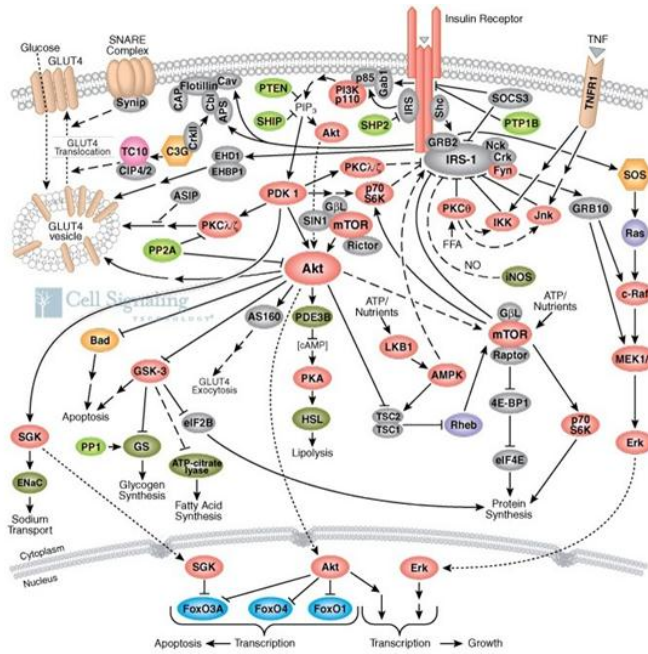


İnsülin reseptörü:

İnsülinin etkisi, insülinin hedef hücre membranının yüzeyindeki reseptörüne bağlanması ile başlar. İnsan vücudundaki farklı birçok hücrede insülin reseptörü mevcuttur. Özellikle yağ, karaciğer ve kas hücrelerinin insüline biyolojik yanıt oluşturması, insülinin bu dokulardaki reseptörüne bağlanması ile oluşur. İnsülin reseptörleri insülini hızlı, yüksek özgüllükle ve pikomolar düzeyinde bile tanıyabilecek affinitede bağlarlar. İnsülin reseptörü, tek bir gen tarafından kodlanan, iki protein subunit içeren membran glikoproteini olup, ‘Büyüme Faktörü Reseptör Ailesi’ üyesidir. İnsülin molekülünü bağlayan 135000 kda büyüklüğündeki alfa subuniti daha büyüktür ve tamamıyla hücre dışı yerleşimlidir. Daha küçük olan 95000 kda büyüklüğündeki beta subunit ile alfa subunit disülfit bağı ile bağlıdır. Beta subunit hücre membranını boydan boya geçerek sitoplazmaya kadar ulaşır ve hücre içindeki kısmında özelleşmiş sinyal yollarını başlatan tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. İnsülin alfa subunitine bağlandığında, betasubunit kendisinin

otofosforilasyonunu başlatır. Betasubunit aktive olduğunda insülin reseptör substrat-1 (IRS-1), insülin reseptör substrat-2 (IRS-2) ve diğer bazı substratları içeren protein komplekslerinin bir araya gelmesi sağlanarak, metabolik yolların fosforile olmasına yol açar. Aktive olan bu substratlar genelde iki yolağı aktive ederler: 1. yolak; insülinin büyüme etkilerini gösteren *mitojenik yolak*, 2. yolak; insülinin besin metabolizması ile ilgili etkilerini gösteren *metabolik yolaktır*. Metabolik yolak aktive olduğunda, fosfatidil inositol-3 kinaz (PI3 kinaz)'ın aktivasyonu glikoz transporter (GLUT) 4 taşıyan veziküllerin hücre membranına hareketini başlatır. Böylelikle hücre içine glikoz girişi artar. Glikojen ve lipit sentezi artar. İnsülin reseptör kompleksi rat sarkom proteini (Ras) kinaz üzerinden, mitojen aktive edici protein (MAP) kinaz yolları ile hücre çekirdeğine etki ederek temelde insülinin büyüme etkilerinin görülmesini sağlar. (98). Aşağıdaki şekil 2’de insülin reseptörünün yapısı ve mekanizması gösterilmiştir

Şekil 4: İnsülin reseptörünün yapısı ve mekanizması. Kaynak: <http://drrosedale.com/blog/2011/11/08/avandia-under-fire-with-dr-ron-rosedale-and-shelley-schlender/#axzz4BRaIeNwK>. Erişim tarihi: 13.06.2016. Web kaynağından modifiye edilmiştir (100).



Total protein

Total protein, dolaşımdaki proteinin tamamıdır ve kanın en önemli bileşenidir. Total protein miktarı değerlendirilirken, albümin ve globulin gibi protein fraksiyonlarının miktarı hakkında bilgi sahibi olmak gereklidir. Total protein ölçümü sonucunda, karaciğer, böbrek, kemik iliği hastalıkları, metabolik ve beslenme bozukluklarının tanı ve tedavisi mümkün olmaktadır.

Albümin

Albümin, total proteinin % 55-65'ini oluşturur ve insan plazmasında en çok bulunan proteindir. En önemli biyolojik fonksiyonları, bilirubin, uzun zincirli yağ asitleri ve farmasötik bileşikler gibi çok sayıda ligandı taşımak ve bağlayarak saklamak, plazmanın ozmotik basıncını korumak ve endojen aminoasit kaynağı olmaktır. Albümin düşüklüğü ile beslenme bozuklukları arasında sıkı bir ilişki vardır. Nefropatiler, yanık, enteropatiler ve malabsorpsiyon bozuklukları gibi durumlar da albümin düşüklüğüne yol açabilir. Hiperalbuminemi ise daha nadir görülür ve şiddetli dehidratasyon ve venöz staz gibi durumlarda ortaya çıkabilir. Şiddetli hipoalbuminemi intravasküler onkotik basınçta dengesizlik oluşturarak ödem oluşmasına yol açar. Albümin ölçümü, serum kalsiyum ve magnezyum düzeylerinin doğru belirlenmesi için önemlidir. Bu iki iyon albümine bağlanır ve albümin düşüşü iyonların seviyesini de düşürür (101).

Organizmada anorganik makroelementler ve eserelementler

İnsan vücudunda yer alan elementler, organizmadaki miktarına göre makroelement ve eser element olarak ikiye ayrılırlar. Günde 100 mg'ın üstünde alınması gereken ve vücuttaki miktarı gramla ifade edilen elementler, **makroelement** olarak adlandırılırlar. **Kalsiyum, magnezyum, fosfor, sodyum, potasyum ve klor** insan vücudunda diğer minerallere göre daha fazla bulunurlar. Esansiyel olarak adlandırılan elementler, canlılık ile ilgili işlevlere katkıda bulunan, eksikliğinde bir bozukluk ortaya çıkaran ve biyoelement olarak adlandırılan makro ve eser elementlerden oluşur. Biyokimyasal reaksiyonlarda enzim aktivitesini düzenleyen veya enzimlerin prostetik gruplarında bulunan diğer biyoelementler çok az miktarda bulduklarından eser (iz=trace) element adını alırlar. Demir, bakır, çinko başta olmak üzere bu eser elementler vücutta toplam miktar olarak mg düzeyinde

bulunurlar ve günde 100 mg'dan daha az alınmaları gerekir. Organizmada temel olarak; kalsiyum, magnezyum ve fosfor yapısal, sodyum ve potasyum membran fonksiyonları ile ilgili, kobalt, bakır, demir, molibden, selenyum ve çinko enzimlerde prostetik grup olarak işlev görmektedir.

Demir

Demir vücutta çok sayıda önemli hayati fonksiyonu bulunan bir eser elementtir. İnsan vücudunda 4-5 g demir bulunur. Vücuttaki demirin en büyük kısmı, hemoglobin ve myoglobin yapısındaki hem grubunda bulunur. Geriye kalanı demir taşınmasında ve depolanmasında görevli olan proteinler ile birlikte. Ferritin, transferin ve hemosiderin ve transferin ile demir iyonları birleşmektedir. Demir, et, karaciğer, sakatat, yumurta gibi hayvansal gıdaların yanı sıra ıspanak, fasulye, ceviz, pekmez gibi bitkisel gıdalarla alınır. Demir eksikliği dünyada en yaygın besinsel eksikliklerdendir. Demir ve total demir bağlama kapasitesindeki değişiklikler, demir alımı, emilimi, depolanması ve serbest bırakılmasıyla ilgili mekanizmalardaki değişikliklerin sonucudur. Demir miktarındaki değişimler, anemiler, nefrotik sendrom, siroz, hepatit ve beslenme bozuklukları ile ilgili hastalıklar için gösterge olmaktadır. Demir ve total demir bağlama kapasitesindeki değişiklikler hastalık tanısı için mutlaka birlikte değerlendirilmelidir (102).

Kalsiyum

Oksijen, karbon, hidrojen ve azottan sonra kalsiyum vücutta en çok bulunan 5. elementtir. Sütte, kaynak sularında, hayvansal proteinlerde, çeşitli sebze ve meyvelerde bulunur. Kalsiyum emiliminde, 1,25-dihidroksikolekalsiferol (D₃ vitamini) görev almaktadır. Erişkin bir insanda 1,2 kg kalsiyum bulunur. Kalsiyum, kas kasılmasında, kapiller damar ve membran geçirgenliğinde, kan pıhtılaşmasında (Faktör IV) görev almaktadır. Çeşitli enzimlerin aktivatörü olarak görev alan kalsiyum ayrıca kas ve sinir sisteminin uyarılma mekanizmasında rol oynar. Kemik ve dişlerin yapısında kalsiyum fosfat ve kalsiyum karbonat tuzları şeklinde bulunur (103).

Magnezyum

Magnezyum bütün hücrelerde hücre içi sıvının temel katyonlarından biri olarak bulunur. Klorofilin yapısında bulunur ve yeşil yapraklı bitkilerle vücuda

alınır. Sinir isteminin aşırı uyarılmasını önleyerek normal sinir-kas iletiminin devamını sağlar. Magnezyum, hücre içinde fosfat grubu transferi yapan, **glikokinaz, heksokinaz, fosfofrüktokinaz, kreatin kinaz, fosfataz, fosforilaz, enolaz, fosfoglikomutaz** enzimlerinin aktivatörüdür. Ayrıca DNA replikasyonu, transkripsiyon ve translasyon içinde magnezyum gereklidir (104).

Fosfor

Fosfor, hayvansal ve bitkisel gıdalarla alınır. Yetişkin bir insanın vücudunda yaklaşık 620 g fosfor bulunur. Fosfat şeklinde hücre içinde ve hücre dışında eşit miktarda fosfor bulunmaktadır. Kalsiyum ile birleşerek kemikteki hidroksiapatit kristallerini oluştururlar. **Organizma için Ca/P oranı oranı önemlidir.** Fosfolipid, fosfoprotein, nükleotid ve nükleik asit yapısında fosfor bulunur. Plazmada tampon sistemi oluşumunda katkısı bulunan fosfor, çeşitli enzimlerin modifikasyonunu sağlayarak metabolik yollara katkıda bulunur (105).

Üre ve BUN

Üre, karaciğerde, protein ve aminoasit metabolizmasının son ürünü olarak sentezlenir. Bu nedenle üre sentezi, beslenme ile günlük protein alımı ve endojen protein metabolizmasına bağlıdır. Metabolik süreçte üretilen ürenin % 40-60 civarında bir kısmı yeniden kana geçmek üzere, böbreklerde proksimal tübüldeki akış hızında bağımsız olarak glomerüler filtrasyon ile yeniden emilir. Distal tübüldeki emilim ise üriner akış hızına bağlıdır ve antidiüretik hormon ile düzenlenir. Prerenal, Renal ve Postrenal üre yüksekliği sebepleri görülebilir. **BUN hesabı:** 1 mol ürede 28 g azot bulunmaktadır. 1 mol ürenin ağırlığı ise 60 g'dır. $60/28=2,14$ oranından yola çıkarak kan üre değeri 2,14'e bölüldüğünde kan üre azotu (BUN; Blood Urea Nitrojen) hesaplanmış olur (106).

ALT

Alanin amino transferaz (ALT), amino gruplarının aktarılması ile alfa keto asitlerin geri çevrilebilir şekilde amino asitlere dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Karaciğerdeki ALT aktivitesi, kalp ve iskelet kasındaki aktiviteden 10 kat fazladır. Bu sebeple yüksek serum ALT düzeyleri öncelikle parankimal karaciğer hasarını düşündürür. Alt hepatositlerin sitozolünde bulunduğu için, yüksek serum ALT düzeyleri için, hepatosit membran bütünlüğünün bozulmuş olması gerekir.

ALT, AST'ye göre karaciğer hastalıklarının tanısı açısından daha yüksek bir hassasiyete sahiptir. Alkol alımı, penisilin, salisilat, opiat ile hafif veya orta düzeyde artış görülür. Viral, toksik veya kanlanma bozukluğuna bağlı akut karaciğer nekrozu, siroz, ekstrahepatik kolestazda, orta veya ileri düzeyde ALT yüksekliği görülebilir (107).

AST

Aspartat aminotransferaz (AST), en yüksek aktiviteyi karaciğer ve iskelet kasında sergilemekle birlikte, kalp kası, iskelet kası, beyin, böbrek, akciğer, pankreas, eritrosit, lökositler dâhil olmak üzere çeşitli dokularda bulunur. AST ölçümü, karaciğer, safra hastalıkları, miyokard infarktüsü ve iskelet kaslarının hasarında gösterge olarak kullanılmaktadır. AST/ALT oranının artması, karaciğer hasarının artışı yönünde yorumlanabilir. Alkol alımı, penisilin, salisilat, opiat ile hafif veya orta düzeyde artış görülür. Viral, toksik veya kanlanma bozukluğuna bağlı akut karaciğer nekrozu, siroz, ekstrahepatik kolestazda, orta veya ileri düzeyde AST yüksekliği görülebilir (108).

Kreatinin

Kreatinin kaslarda bulunan kreatin ve fosfokreatinin metabolik bir ürünüdür. Bu sebeple kreatinin üretimi kas kütlesi ile doğru orantılıdır ve kısa süreli olarak değişimi beklenmez. Böbrek hastalıklarının tanı ve tedavisinde kullanılan kreatinin, glomerül fonksiyonlarını değerlendirir. BUN ile birlikte değerlendirilir ve böbrek hasarında, fonksiyon bozukluğunda miktarlarında artış görülür (109).

ELISA metodu ile ölçülen veya formülle hesaplanan diğer parametrelere dair bilgiler materyal-metot bölümünde, ilgili başlıklarda verilmiştir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma dizaynı ve örneklem büyüklüğü

Araştırma; prospektif, randomize, kontrollü hayvan deneyi olarak yapıldı. Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın (HADYEK), 21.05.2015 tarih ve 21438139-172 sayılı Etik Kurul İzni ile (EK: 1) Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı (HÜDAL) ve Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında, SDÜ HADYEK ve HÜDAL tarafından uygun görülen ve sağlanan standart şartlarda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı tarafından temin edilen Wistar albino cinsi toplam 33 adet erkek sıçan kullanıldı. 12 haftalık sıçanlar Ad libitum kontrol (AL), İki öğün beslenen deney grubu (İÖ), iki öğün beslenen ve kalori kısıtlama yapılan grup (İÖ-KK) şeklinde 3 gruba ayrıldı. Deney hayvanları gruplara rastgele dağıtıldı. Aynı gruplandırma üsülü ile önce her grupta 3 sıçanın olduğu bir aylık bir pilot çalışma yapıldı. Pilot çalışma ile yem miktarı ve öğün süreleri belirlendi. Daha sonra her grupta 8 sıçanın olduğu 20 haftalık ana çalışmaya geçildi.

3.2. Deney hayvanlarının bakımı ve deney safhaları

Pilot Çalışma:

Pilot çalışmanın amacı sıçanların ne kadar sürede ne kadar yem tüketeceğini belirlemektir. Bu amaçla toplam 9 adet Wistar albino cinsi erişkin (8 haftalık), erkek sıçan kullanıldı. Farklı sıklıklarda beslenen 3 öğün grubu oluşturuldu. Sıçanlar Ad libitum kontrol (AL) (n=3), İki öğün beslenen deney grubu (İÖ), (n=3), iki öğün beslenen ve kalori kısıtlama yapılan grup (İÖ-KK) (n=3) olmak üzere toplam üç gruba ayrıldı. Her bir sıçan, Eurotype 2 tipi ve 2 sıçan barındırabilecek kapasitede standart tek kafeste barındırıldı.

Pilot çalışma öncesinde, tüm sıçanlar, 1 haftalık uyum döngüsü ile gündüz aktif olmaları için 12 saat karanlık, gece uyumaları için 12 saat aydınlık olacak şekilde ışık döngüsüne maruz bırakıldılar. Sıçanlar, tüm deneyler boyunca, standart ışık (12 saat gün ışığı / 12 saat karanlık), ısı (19-21 ° C), nem (% 45-60) koşullarında

tutuldu. Kontrol grubundaki sıçanlar, tartılıp verilen yeteri kadar (Ad libitum) yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) ve (Ad libitum) su ile beslendiler. Standart yemin enerji içeriği: 2,55 kcal/g idi. Sıçanlar 1 ay süre ile bu ön çalışmaya tabi tutuldular.

İlk hafta, her grubun belirlenen öğün saatlerinde 20'şer dakika yeme ulaşması sağlandı. Bu süre ikinci haftada 30 dakika, üçüncü haftada 45 dk. 4.haftada ise bir saat olacak şekilde tedricen artırıldı. Bu sırada, öğün sürelerinin başında ve sonundaki yem miktarları tartılarak aradaki farktan yola çıkıp, sıçanların her öğünde belli sürelerde tükettikleri yem miktarı hesaplandı. Sonuçta, 1 aylık ön çalışmanın ardından, bir sıçanın bir günde yiyeceği ortalama yem miktarı belirlendi ve bu miktarın tüketilmesi için her öğünde hayvanlara tanınacak süreler karar verildi. AL grubunun tüketiminden yola çıkılarak sıçanların vücut ağırlığına göre gram başına yiyebileceği yem miktarı hesaplandı. Bu miktar üzerinden ana çalışmada, İÖ ve İÖ-KK gruplarına verilecek yem miktarları da hesaplanmış oldu. İÖ grubu için, AL grubunun yediği miktardaki yem ikiye bölünerek, birer saatlik iki öğünde verildi. İÖ-KK grubu için, AL grubunun yediği miktardaki yem % 20 eksiltiip, kalori kısıtlaması yapıldıktan sonra kalan miktar ikiye bölünerek, birer saatlik iki öğünde verildi.

Belirlenen yem miktarlarını sıçanların yiyebileceği ideal süre bir saat olarak belirlendi. Sonuçta; İÖ ve İÖ-KK grupların da aynı standart yem ile (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) beslenmesine ve günlük yemlerin her gün sabah saat 09:00-10:00 ve akşam 16:00-17:00 arasında hayvanların kafeslerine konulmasına karar verildi. Pilot çalışmada, AL grubundaki sıçanların vücut ağırlığına göre hesaplandığında, gr başına 0,06153 gr yem tükettikleri görüldü. Bu sonuçtan yola çıkarak ana çalışmadaki hayvanların vücut ağırlığına göre gerekli hesaplamalar yapıldığında, İÖ grubu için günlük 20 gr, İÖ-KK grubu için 16 gr yem tüketmeleri gerektiği hesaplandı.

Tüm sıçanlar 1 aylık deney boyunca sağlıklı bir şekilde beslenme düzenlerine devam ettiler ve deneyi tamamladılar. Hiçbir grupta su kısıtlaması yapılmadı.

Ana Çalışma:

Sıçanlar Ad libitum kontrol (AL) (n=8), İki öğün beslenen deney grubu (İÖ), (n=8), iki öğün beslenen ve kalori kısıtlama yapılan grup (İÖ-KK) (n=8) olmak üzere toplam üç gruba ayrıldı. Her bir sıçan, pilot çalışmada ve ana çalışmada, Eurotype 2 tipi, 2 sıçan barındırabilecek standart tek kafeste barındırıldı.

Sıçanlar, tüm deneyler boyunca, standart ışık (12 saat gün ışığı / 12 saat karanlık), ısı (19-21 ° C), nem (% 45-60) koşullarında tutuldu. Tüm sıçanlar, hem pilot çalışma hem de ana çalışma öncesinde, 1 haftalık adaptasyon döngüsü ile gündüz aktif olmaları için karanlık, gece uyumaları için aydınlık ortama alıştırıldılar. AL grubu yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) ile beslendiler. Standart yemin enerji içeriği: 2,55 kcal/g idi. İÖ grubu pilot çalışma sonucuna göre belirlenmiş olan günlük yiyebileceği miktar iki öğüne bölerek beslendi. İÖ-KK grubuna yeteri kadar (ad libitum) su verildi ve pilot çalışma sonucuna göre günlük alması gereken yemin % 20 kadarı kısıtlanarak beslendi. İÖ ve İÖ-KK grupları da aynı standart yem ile (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) beslendiler. Günlük yemleri her gün sabah saat 09:00-10:00 ve akşam 16:00-17:00 arasında verildi. Kontrol grubuna Ad libitum, İki Öğün grubuna pilot çalışma sonuçlarına göre 20 g/gün (sabah ve akşam öğünleri için 10'ar g), kalori kısıtlaması yapılan gruba ise 16 g/gün (sabah ve akşam öğünleri için 8'er g) olacak şekilde yemleri verildi.

Tüm sıçanlar 20 haftalık deney boyunca sağlıklı bir şekilde beslenme düzenlerine devam ettiler ve deneyi tamamladılar. Hiçbir grupta su kısıtlaması yapılmadı.

Tüm gruplar 12 haftalık 8'er sıçandan oluşturuldu ve başlangıç ağırlıkları şöyleydi: Ad libitum kontrol grubu: 320,00±18,58 g. İki öğün beslenen deney grubu 326,37±11,21 g. İki öğün beslenen ve kalori kısıtlama yapılan grup: 325,50±23,19 g.

Resim 1: Deney hayvanlarının barınma ortamları



Resim 2: Deney hayvanlarının tekli kafesleri



Tablo-1: Sıçanlara verilen standart yemin içeriği

İçerik	Miktar (%)
Protein	23.0
Karbonhidrat	65.0
Mineral mix	4.0
Vitamin mix	2.0
Lif	1.0
Su	3.0
Kalori (kcal/g diet)	3.8
% alımlar	% 100

İÖ ve İÖ-KK gruplarına yemleri günlük tartılıp her sabah 09.00'da ve akşam saat 16.00'da verilmiştir. Öğün süresi olarak bir saat yeme ulaşma izni verilmiştir. Sıçanların ağırlıkları haftalık olarak 0,1 gr hassasiyetindeki dijital terazi ile ölçüldü (GF-6000; A&D Company Limited, Japan).

Sıçanlar 20 hafta süreyle devam eden beslenme düzenlenmesini takiben 20 haftanın sonunda, sıçanlar öğrenme laboratuvarına transfer edildi. 3 gün adaptasyon için bekletildikten sonra, 5 günlük öğrenme deneyleri uygulandı. Deney sonunda i.p. olarak uygulanan % 10'luk ketamin (Alfamin, Alfasan IBV.)-% 2'lik ksilazin (Alfazin, Alfasan IBV.) anestezisi altında dekapite edilerek deney sonlandırıldı.

Sıçanlar dekapite edildikten sonra kan örnekleri ve karaciğer, böbrek, yağ, kas, beyin dokuları alındı. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında, elde edilen serumlarda ve karaciğer, böbrek, yağ, kas, beyin doku homojenatlarında biyokimyasal analizler yapıldı. Böbrek ve karaciğer dokuları formaldehit içine alınarak histopatolojik inceleme yapıldı.

3.3. Biyokimyasal analizlerde kullanılan malzeme ve aletler

- 1- Soğutmalı santrifüj: Eppendorf MR5415 (Almanya)
- 2- Santrifüj: Jouan B4İ (Fransa)
- 3- Derin dondurucu: Uğur (Türkiye), Wise Cryo -80°C derin dondurucu.
- 4- Hassas terazi: Scaltec SPB 33 (İsviçre)
- 5- Vorteks: Nüve NM 100 (Türkiye)
- 6- Otomatik pipetler: Eppendorf (Almanya), Gilson (Fransa)
- 7- Homojenizatör: Janke & Kunkel Ultra-Turrax T25, (Almanya)
- 8- pH metre: Hanna Instruments (Portekiz)
- 9- Manyetik karıştırıcı: Nüve (Türkiye)
- 10- Sonikatör: UW-2070 Bandeun Electronic, (Almanya).
- 11- Biyokimya analizörü: Beckman Coulter AU 5800 (USA)
- 12- ELISA yıkayıcı: Biotek Instruments ELX50. (USA)
- 13- ELISA okuyucu: Oganon Teknika Microwell system Reader 530. (Austria)
- 14- Shaker (Çalkalayıcı): Jenway 1000 model manyetik karıştırıcı. (UK).
- 15- Hassas terazi: GF-6000; A&D Company Limited, Japan

Kullanılan Kimyasal Maddeler:

pH 7.00, 50 mM Fosfat tamponu (PBS) İçin Kullanılanlar:

- KH_2PO_4
- Na_2HPO_4

PBS hazırlanışı: pH 7.0, 50 mM Fosfat tamponu için; Primer olarak; 2,722 g KH_2PO_4 , sekonder olarak; 4,258 g Na_2HPO_4 kullanıldı. Primer/ Sekonder oranı, 4/6 olacak şekilde 1 l distile su için hesaplanıp, hassas terazide (Scaltec SPB 33. İsviçre) tartıldı ve volumetrik kap içinde, bir miktar distile suda çözünerek hassas bir biçimde 1 l'ye tamamlandı. Tampon pH'sı, pH metre (Hanna Instruments. Portekiz) ile kontrol edilerek tam 7.0 olduğu görüldükten sonra kullanıldı.

3.4. Dokuların homojenizasyonu ve serum eldesi

Serum eldesi:

Serum eldesi için, jelli, düz tüpe alınan kan örneklerinden, 4000 g'de 4 dakika soğutmalı santrifüj sonrası elde edilen serumları ependorf tüplerine ayrıldı ve porsiyonlandı. Serumlar analizin yapıldığı tarihe kadar $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edildi (Wise Cryo. Germany).

Doku homojenizasyonu:

Karaciğer, yağ, kas, beyin dokuları, hassas terazide tartılıp (Scaltec SPB33. Germany) 1/10 oranında, pH 7.0 50mM fosfat tamponu (PBS) ile 10 kat seyreltilerek, homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işlemi iki adımda tamamlanmıştır:

İlk adımda doku mekanik parçalayıcı (Janke & Kunkel Ultra-Turrax T25, Almanya) ile yaklaşık olarak 1 dk parçalanmış ve ikinci adımda 30 sn sonikatöre (UW-2070 Bandeun Electronic, Almanya) maruz bırakılmıştır.

Elde edilen homojenatlar 10000 g'de $+4\text{ }^\circ\text{C}$ 'de 10 dakika süreyle, soğutmalı cihazda santrifüj edilmiştir. (Rotanta 460. Germany) Daha sonra doku homojenatlarının süpernatantlarında otoanalizörde mikroprotein tayini yapıldı. Dokuların süpernatantları alınıp ependorf tüplerine porsiyonlanarak, analizin yapıldığı tarihe kadar $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edildi (Wise Cryo. Germany).

ELISA ve spektrofotometrik yöntem ile metabolik enzim, hormon ve oksidatif stres parametreleri çalışıldı.

3.5. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü

Serumda; AST, ALT, total protein, albümin, Ca, Mg, Fe, kreatinin, üre ve glikoz düzeyleri, Beckman Coulter AU 5800 (USA) otoanalizörde, Beckman Coulter marka ticari kit ile ölçüldü. Cihaz Resim 3’de gösterilmiştir.

Resim 3: Biyokimyasal analizler için kullanılan cihaz ve araştırmacı:



Glikoz ölçüm prensibi:

Glikoz, adenzin trifosfat (ATP) ve magnezyum iyonlarının varlığında heksokinaz (HK) enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon ile glikoz 6-fosfat ve adenzin difosfat (ADP) açığa çıkarır. Glikoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6P-DH), glikoz-6 fosfatı spesifik olarak glikonat-6 fosfata okside eder ve NAD^+ eş zamanlı olarak $NADH$ 'ye indirgenir. Enzimatik UV testi (heksokinaz yöntemi) ile ölçülür. Reaksiyonlar sonucunda absorbansta 340 nm’de meydana gelen artış numunedeki glikoz konsantrasyonu ile orantılıdır (110).

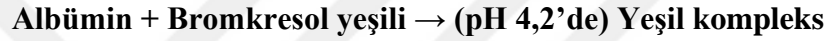




Glikoz ölçümü, Beckman Coulter marka (USA) ticari kit kullanılarak, Beckman Coulter AU 5800 model (USA) otoanalizörde çalışıldı. Kolorimetrik kinetik UV ölçüm yapıldı. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

Albümin ölçüm prensibi:

Bromkresol yeşili albüminle reaksiyona girdiğinde renkli bir kompleks oluşturur. Albümin-BCG kompleksinin absorbanı biyokromatik olarak 600/800 nm'de ölçülür ve absorban ile numunedeki albümin konsantrasyonu orantılıdır. Albümin ölçümü serum ikter, hemoliz ve lipemi durumlarından etkilenir (111).

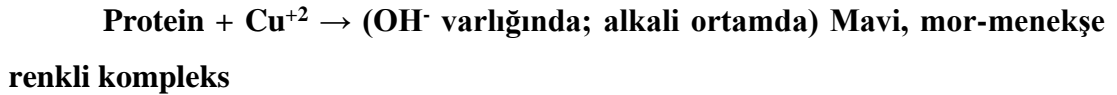


Albümin ölçümü, Beckman Coulter marka (USA) ticari kit kullanılarak, Beckman Coulter AU 5800 model (USA) otoanalizörde kolorimetrik olarak çalışıldı. Sonuçlar g/dL olarak verildi.

Total protein ölçüm prensibi

Weichselbaum metodunun modifikasyonuna dayanan bir prosedür ile total protein ölçümü yapılmıştır. Bakır iyonları alkali ortamda en az iki peptid bağı içeren polipeptidler ve proteinler ile reaksiyona girerek mor, menekşe renkli bir kompleks oluşturur. Bakır-Protein kompleksinin absorbanı bikromatik olarak 540/660 nm'de ölçülür ve absorban ile numunedeki total protein konsantrasyonu doğru orantılıdır.

(112).



Total protein ölçümü, Beckman Coulter marka (USA) ticari kit kullanılarak, Beckman Coulter AU 5800 model (USA) otoanalizörde kolorimetrik olarak çalışıldı. Sonuçlar g/dL olarak verildi.

Demir ölçüm prensibi

Demir iyonu miktarını ölçmek için endpoint bir metot kullanıldı. Demir iyonları bağlı buldukları transferinden asetik asit ile girdikleri reaksiyon

sonucunda ayrılır. Hidroksilamin ve thioglycolate ile serbest kalan Fe^{+3} iyonları reaksiyona girerek Fe^{+2} iyonlarına dönüşür. Oluşan ferröz iyonlar, Ferrozine ile reaksiyona girerek hemen bir demir-ferrozine kompleksi oluşturur. 560 nm’de absorbans değişimi ile numunedeki demir konsantrasyonu doğru orantılıdır.

Transferrin-(Fe^{+3})₂ → (Asetik asit varlığında, pH 4,3 ortamında)

Transferrin + 2 Fe^{+3}

Fe^{+3} + Hidroksilamin + thioglycolate → Fe^{+2}

Fe^{+2} + 3 Ferrozine → Fe^{+2} (Ferozine)₃

Demir ölçümü, Beckman Coulter marka (USA) ticari kit kullanılarak, Beckman Coulter AU 5800 model (USA) otoanalizörde kolorimetrik olarak çalışıldı. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

Kalsiyum ölçümü

Kalsiyum iyonları Arsenazo III ile yoğun bir mor renkli kompleks oluşturacak şekilde reaksiyona girerler. Ca-Arsenazo III kompleksinin absorbansı 660/700 nm’de bikromatik olarak ölçülmektedir ve absorbans ile numunedeki kalsiyum konsantrasyonu doğru orantılıdır.

Ca^{+2} + Arsenazo III → (pH 6,9’da) Ca-Arsenazo III kompleksi (mor renkli)

Serum kalsiyum konsantrasyonu ölçümü, Beckman Coulter marka (USA) ticari kit kullanılarak, Beckman Coulter AU 5800 model (USA) otoanalizörde kolorimetrik olarak çalışıldı. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

Magnezyum ölçüm prensibi

Magnezyum iyonları güçlü bir bazik çözelti içinde ksilidil mavisi ile renkli bir kompleks oluşturur. Oluşan renk absorbansı bikromatik olarak 520/800 nm’de ölçülür ve absorbans ile numunedeki magnezyum konsantrasyonu doğru orantılıdır. Kalsiyum girişimi GEDTA (Glikoleterdiamin tetraasetik asit) ile elimine edilir.

Mg^{+2} + Ksilidil mavisi → (pH 11,4) Mor Kompleks

Magnezyum ölçümü, Beckman Coulter marka (USA) ticari kit kullanılarak, Beckman Coulter AU 5800 model (USA) otoanalizörde kolorimetrik olarak çalışıldı. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

İnorganik fosfor ölçüm prensibi

İnorganik fosfor, molibdatla reaksiyona girerek, bir heteropoliasit kompleksi oluşturur. Kompleks oluşumu sonrası, 340/380 nm’de ölçülen absorbans numunedeki fosfor konsantrasyonu doğru orantılıdır (113).

İnorganik fosfor + molibdat → (H⁺ varlığında) heteropoliasit kompleksi

İnorganik fosfor ölçümü, Beckman Coulter marka (USA) ticari kit kullanılarak, Beckman Coulter AU 5800 model (USA) otoanalizörde kolorimetrik olarak çalışıldı. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

Üre ve BUN ölçüm prensibi

Üre, su ve üreaz mevcudiyetinde hidroliz olur ve amonyak ile karbondioksit açığa çıkar. İlk reaksiyonda açığa çıkan amonyak, glutamat dehidrogenaz (GLDH) varlığında 2-oksoglutarat ve NADH ile birleşir ve glutamat ile NAD⁺ oluşur. Birim zaman başına NADH absorbansındaki düşüş üre konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. 340 nm’de absorbans değişimi ile numunedeki üre konsantrasyonu doğru orantılıdır. (114).



Üre ölçümü, Beckman Coulter marka (USA) ticari kit kullanılarak, Beckman Coulter AU 5800 model (USA) otoanalizörde kolorimetrik olarak çalışıldı. Üre değeri 2,14’e bölünerek BUN değeri hesaplandı. Sonuçlar mg/dL olarak verildi

Doku protein konsantrasyonu ölçüm metodu

Dokudaki protein konsantrasyonu ölçümü için pirogallol kırmızı molibdatla birleşir ve 470 nm’de maksimum absorbansa sahip bir kompleks oluşturur. Protein moleküllerinin amino grupları ile pirogallol kırmızı molibdat kompleksi bağlandığında absorbans sapmaya uğrar. Maksimum 600 nm absorbansa sahip mavi-

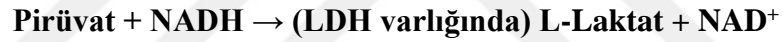
mor bir kompleks oluşur. Bu kompleksin absorbanansı numunedeki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Doku protein konsantrasyonu ölçümü, Beckman Coulter marka (USA) ticari kit kullanılarak, Beckman Coulter AU 5800 model (USA) otoanalizörde kolorimetrik olarak çalışıldı. Sonuçlar mg/dL olarak verildi

ELISA metodu ile dokuda çalışılan parametreler için doku protein konsantrasyonu ölçümleri yapılarak sonuçlar mg proteine bölünerek verildi.

ALT ölçümü

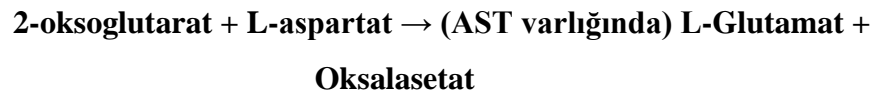
Alanin amino transferaz (ALT), alanindeki amino grubunu pirüvat ve glutamat oluşturacak şekilde 2-oksoglutarata aktarır. Pirüvat, NADH ile LDH tarafından katalizlenen bir reaksiyona girer. Laktat ile NAD⁺ açığa çıkar. NADH tüketimi nedeniyle absorbanstaki düşüş 340 nm dalga boyunda ölçülür. Absorbans değişimi ALT konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (115).



ALT ölçümü, Beckman Coulter marka (USA) ticari kit kullanılarak, Beckman Coulter AU 5800 model (USA) otoanalizörde kolorimetrik olarak çalışıldı. Sonuçlar U/l olarak verildi.

AST ölçümü

Uluslararası Klinik Kimya Derneğinin (IFCC) tavsiyesine dayanan yöntemde, aspartat aminotransferaz (AST), aspartat ve 2-oksoglutaratın transaminasyonunu katalizler. L-Glutamat ve oksalasetat oluşur. Oksalasetat, malat dehidrogenaz (MDH) tarafından L-malata indirgenirken, NADH ise NAD⁺ 'ya dönüşür. NADH tüketimi nedeniyle absorbanstaki düşüş 340 nm dalga boyunda ölçülür. Absorbans değişimi AST konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (115).



AST ölçümü, Beckman Coulter marka (USA) ticari kit kullanılarak, Beckman Coulter AU 5800 model (USA) otoanalizörde kolorimetrik olarak çalışıldı. Sonuçlar U/l olarak verildi.

Kreatinin ölçümü

Kreatinin alkali ortamda pikrik asitle sarı-turuncu bir renk oluşturur. 520/800 nm dalga boyunda ölçülen absorbansın değişim hızı numunedeki kreatinin konsntrasyonu ile orantılıdır. Ölçüm modifiye Jaffe metoduna göre yapıldı (116).

Kreatinin + pikrik asit → (alkali ortamda) Kreatinin-pikrat kompleksi

Kreatinin ölçümü, Beckman Coulter marka (USA) ticari kit kullanılarak, Beckman Coulter AU 5800 model (USA) otoanalizörde kolorimetrik olarak çalışıldı. Sonuçlar mg/dl olarak verildi.

HOMA-IR hesaplanması

$HOMA-IR = (Açlık \text{ insülin konsantrasyonu}) * (Açlık \text{ glikoz konsantrasyonu}) / 405$ formülüne göre hesaplandı (117).

LDL hesaplanması

Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), Friedewald Formülü ile hesaplanır:

$$LDL = TC - HDL - TG/5. (118).$$

3.6. ELISA metodu

İmmünoassay (IA) teknikler: Antijen-antikor ilişkisi kullanılarak moleküllerin varlığını ve miktarını belirleyen yöntemlerdir. Spektrofotometrik tekniklerle ölçülemeyecek kadar küçük konsantrasyonlarda olan moleküllerin ölçümü için geliştirilmiş hassas bir tekniktir. Ortama eklenen antikor mutlaka kendine özgü antijene bağlanacağından, az miktardaki maddelerin tayini ve interferans riskinin en aza indirilmesi mümkün olur. IA tekniklerle hormon, ilaç, protein, vitamin ve diğer düşük konsantrasyonlu metabolitlerin ölçümü yapılabilir. IA çalışmalarında tavşan, domuz veya fareden elde edilen antikorlar reaktif olarak kullanılır. Ölçmek istediğimiz madde antikor ise bu kez de antikora özel antijen kullanılarak ölçüm yapılır. IA tekniklerle pikogram (10^{-12} g) düzeyine kadar ölçüm yapılabilir. ELISA sistemleri 1960'larda radyoimmünoassay yöntemlere alternatif

arayan birbirinden bağımsız iki bilim araştırma grubu tarafından bulunmuş ve bu buluş 1976 Almanya Bilim Ödülünü almıştır (119).

Oluşan antikor-antijen kompleksinin ölçülebilmesi için işaretleyicilere ihtiyaç duyulmaktadır. İşaretleyici olarak; radyoaktif madde kullanılırsa Radyo İmmünoassay (**RIA**), enzim kullanılırsa Enzim İmmünoassay (**EIA**), floresan madde kullanılıyorsa Floresan İmmünoassay (**FIA**), lüminesan madde kullanılıyorsa Kemilimünoassay (**CIA**) olarak yöntem isimlendirmesi yapılır (120).

Enzim İmmünoassay (EIA): Antijen-antikor reaksiyonlarını gösterebilmek için işaretleyici olarak enzim kullanan tekniklerdir. **EIA** teknikleri, kullanılan reaktiflerin uzun ömürlü olması, radyasyon tehlikesinin bulunmaması, basit sistemler olması, otomatize edilebilmesi ile diğer metotlara üstünlük gösterir. Bu yöntemde işaretlemede kullanılacak enzimin insan serumunda bulunmaması ve serumda bulunan maddelerle interferans vermemesi önemlidir. Sonuçta enzimle işaretli antikor ile antijen-antikor birleşmesi gösterilir (121).

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA): EIA yöntemler temelde ikiye ayrılır. Antijen-antikor etkileşimi sonrasında bağlı antijenin serbest antijenden fiziksel olarak ayrıldığı immünoassay yöntemi heterojen enzimatik immünoassay olarak adlandırılır. Bu ayrılma işlemi için mutlaka yıkama aşaması yer alır. ELISA heterojen enzimatik immünoassay bir yöntemdir. Homojen enzimatik immünoassay yöntemde serbest antijenin ortamdan ayrıldığı bir basamak bulunmaz. Heterojen enzimatik immünoassay yöntem bu sebeple daha hassastır (122).

ELISA metodunda temelde antikor-antijen kompleksi oluştuktan sonra, interferans oluşturabilecek diğer maddeleri ortamdan uzaklaştırmak için yıkama işlemi yapılır. İç çepere sıkıca yapışmış olan antijen antikor kompleksi ölçülür. Daha sonra ortama kromojenik substratlar (renk değiştirici maddeler) eklenerek substrat bağlanmış enzim konjugatı ile kromojenik substratın reaksiyonundan renkli ürünler ortaya çıkar. Ortaya çıkan renk değişimi, spektrofotometrik bir teknik kullanan mikroplyt okuyucu cihazı yardımıyla belirlenir. Antijen-antikor bağlanmasında ortaya çıkan değişik problemler sebebiyle farklı ELISA çeşitleri geliştirilmiştir. (123). Tablo 2'de ELISA çeşitleri, temel prensipleri ve kullanım alanları gösterilmiştir.

Tablo 2: ELISA çeşitleri, temel prensipleri ve kullanım alanları

	ELISA Çeşitleri	Temel Prensibi ve kullanımı
-	Direkt ELISA	Hücre yüzey antijenlerinin belirlenmesi için kullanılır. Yüzey antijenleri ve reseptörler kendilerine özgü antikor ve ligandla belirlenir. Enzim bağlı antikor-antijen kompleksinin inkübasyonundan sonra konjugat yıkanır ve ortama enzimin substratı eklenir.
-	İndirekt ELISA	Hücre yüzey antijenine özgü antikorların belirlenmesi için kullanılır. Mikropleyt kuyucukları antijen kaplanır ve antikorla ve enzimle inkübe edilir. Substrat eklenir ve renk değişimi izlenir.
-	Yarışmalı ELISA	Antijen ve çözünebilir antijen belirlenmesi için kullanılır. Mikropleyt kuyucukları antijen kaplanır ve antijen inhibitörlü, antijen inhibitörsüz antikor enzim konjugatı ile inkübe edilir. Substrat eklenmesi ile oluşan renk değişimi ölçülür.
-	Sandwich ELISA	Çözünebilir antijenlerin belirlenmesi için (antikor-sandwich ELISA), spesifik antikorların belirlenmesi için (çift antikor sandwich ELISA) kullanılır. Diğer ELISA çeşitlerinden 2-5 kat daha hassas ve özgüldür.
-	Direkt Hüresel ELISA	Hücre yüzey antijenlerinin belirlenmesi için kullanılır. Antikor enzim konjugatı ile hücre inkübe edilir. Yıkama ve santrifüj sonrası substrat eklenerek renk değişimi ölçülür.
-	İndirekt Hüresel ELISA	Hücre yüzey antijenlerine özgü antikorların belirlenmesi için kullanılır. Antikor ile hücre inkübe edilir. Yıkama ve santrifüj sonrası antikor-enzim konjugatı ile inkübe edilir. Tekrar yıkama ve santrifüj sonrası substrat eklenerek renk değişimi ölçülür.

ELISA Çalışması:

Numunelerin hazırlanması:

ELISA çalışılacağında, daha önceden porsiyonlanarak derin dondurucuda saklanan serum ve dokular oda ısısına getirilerek çözdürüldü. Çözdürülmüş homojenize doku örnekleri 10000 g'de +4 °C'de soğutmalı santrifüjde 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Daha sonra doku homojenatlarının süpernatantlarında otoanalizör cihazda mikroprotein tayini yapıldı. ELISA analizleri de santrifüj sonrası elde edilen süpernatandan çalışıldı. Serumlarda ise çözülmüş ve oda ısısına getirilmiş örnekler önce vortekslendi ve yeterince karıştıktan sonra çalışıldı.

Reaktif ve standartların hazırlanması:

Ticari kit içeriğindeki tüm reaktifler oda ısısına getirildi ve çalkalayıcıda yeterli süre çalkalanarak homojen hale gelmeleri sağlandı. Standartlar, stok solüsyondan 5 aşamalı seri dilüsyon ile hazırlandı. Stok solüsyondan 120 µl alındı ve 120 µl standart dilüenti ile ependorf tüp içinde karıştırıldı ve vortekslendi. Böylelikle standart 5 elde edilmiş oldu. Bu karışımdan 120 µl alındı ve yeni bir ependorf tüpünde 120 µl standart dilüenti ile karıştırılarak standart 4 elde edildi. Benzer şekilde standartlar %50 dilüe edilerek standart 3, 2 ve 1 elde edildi

Çalışma Protokolü:

- Standart ve numuneler çift çalışılarak ortalamaları alındı.
- ELISA tabakasında, blank (kör) kuyucuğuna; numune, antikorla etiketlenmiş biotin, Streptavidin-HRP eklenmedi. Sadece, işlem sırası geldiğinde, Chromogen solüsyonu A-B ve stop solüsyonu eklendi.
- İlk aşamada: standart kuyucuklarına, 50 µl standart ve 50 µl Streptavidin-HRP eklendi. Standart solüsyonu antikor ile kombine edilmiş olduğundan, standart kuyucuklarına antikor eklenmedi.
- İlk aşamada: numune kuyucuklarına, 40 µl numune ve 50 µl Streptavidin-HRP, 10 µl çalışılan parametreye spesifik antikor eklendi.
- ELISA tabakasının üzeri şeffaf ve yapışkan bir koruyucu ile kapatıldı, hassas bir şekilde çalkalandıktan sonra, Etüvde 37 °C'de, 60 dakika inkübasyona bırakıldı.

- Yıkama solüsyonu distile su ile 30 kat dilüe edilerek hazırlandı. İnkübasyondan sonra yapışkan koruyucu tabaka ayrılarak, otomatik yıkayıcı cihazda, 5 defa yıkama işlemi uygulandı. Son olarak manuel biçimde kuruluğu kontrol edilen ELISA tabakasında sonraki aşamaya geçildi.
- İkinci aşamada: ELISA tabakasındaki tüm kuyucuklara; 50 µl Chromogen solüsyonu A ve 50 µl Chromogen solüsyonu B eklendi.
- ELISA tabakasının üzeri şeffaf ve yapışkan yeni bir koruyucu ile kapatıldı, hassas bir şekilde çalkalandıktan sonra kilitli bir alüminyum folyo kılıf içerisinde ışıktan korunması sağlandı. Etüvde 37 °C'de, 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Üçüncü aşamada: ELISA tabakasındaki tüm kuyucuklara; 50 µl Stop solüsyonu eklendi. Kuyucuklardaki mavi renk, sarıya dönüştü.
- Stop solüsyonu eklenmesinden sonra bekletilmeden, ELISA tabakası, en geç 15 dakika içinde, ELISA okuyucu cihazda, 450 nm dalga boyunda, optik dansite (OD) okutuldu.
- Tüm ticari ELISA kitleri aynı prosedürle çalışıldı.

Sonuçların hesaplanması:

5 seviyeli standartların optik dansiteleri ve konsantrasyonları kullanılarak, standart eğrisi grafiği çizildi. Daha sonra numunelerin eğri üzerindeki yerlerinden yola çıkarak, her bir numune için grafikte optik dansiteye karşılık gelen konsantrasyonlar hesaplandı. Dokularda, sonuçlar protein miktarına bölünerek hesap edildi. Ayrıca doku sonuçlarının hesaplanmasında dilüsyon faktörü olan 10 dikkate alındı.

3.7. ELISA ile çalışılan parametreler

KULLANILAN TİCARİ ELISA KİTLERİNİN ÖZELLİKLERİ:

Bütün kitler için ortak özellikler: Tüm kitlerin markaları: Sunred. Menşeleri: Shangai. PRC. Tipi: Çift Antikor Sandwich ELISA kiti. Tüm kitler, soğuk zincirde teslim alınıp muhafaza edilerek kullanıldı. Tüm ticari kitler, sıçan spesifik olarak temin edildi.

Açıklama: Kitler için; duyarlılık (sensitivite): sıfırdan farklı olarak ayırt edilebilen en düşük protein konsantrasyonu olarak ölçülmüştür. Ölçüm içi (Intra-Assay) CV için; düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlu üç örnek, 20 defa 1 tabaka üstünde ölçülmüştür. Ölçümler arası (Inter-Assay) CV için; düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlu üç örnek, 8 defa, 3 farklı tabaka üstünde tekrar ölçülmüştür. CV: (Standart Sapma/Ortalama)*100 formülü ile hesaplanmıştır.

ELISA ile ölçülen parametreler; kullanılan Sunred marka (PRC) sıçan spesifik ticari kitlelere dair özellikler ve ölçülen biyokimyasal parametrelere dair kısa bilgiler:

Sıçan Hepatik Lipaz (HL): Duyarlılık: 0,712 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,8 ng/ml – 200 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **HL**; hepatik trigliserit lipaz veya hepatik triasilgliserol lipaz adlarıyla da bilinir. Trigliserit yıkılımı ve reseptör aracılıklı lipoprotein alımını sağlar.

Sıçan Fruktoz-1,6 Bifosfataz 1 (FBP1): Duyarlılık: 0,206 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,25 ng/ml – 70 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **FBP1**; glukoneogenezde görev alır ve 'Fruktoz 1,6 fosfat → Fruktoz 6-fosfat' reaksiyonunu katalizler.

Sıçan Fosfofruktokinaz1 (PFK-1): Duyarlılık: 0,258 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,3 ng/ml – 70 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%8. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **PFK-1**; Glikolizde Fruktoz 6 fosfat'tan Fruktoz 1,6 bifosfat oluşumunu katalizleyen enzimdir. Bu basamak geri dönüşümsüz ve hız kısıtlayıcı basamaktır. İnsülin, glukagon ve epinefrin hormonlarının kontrolünde düzenlenir.

Sıçan Asetil Ko A Karboksilaz Sentetaz (ACC): Duyarlılık: 0,147 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,15 ng/ml – 40 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **ACC**; lipid sentezinin ilk basamağını katalizleyen enzimdir.

Sıçan 3- hidroksi-3- metilglutaril- koenzim A redüktaz (HMGCR): Duyarlılık: 0,266 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,3 ng/ml – 90 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **HMGCR**; HMG-KoA redüktaz veya 3- hidroksi-3-metil-glutaril-KoA redüktaz olarak ifade edilir. Kolesterol sentezinin reaksiyon zincirinin ilk adımının enzimidir. Statin grubu ilaçlar; HMG-KoA redüktaz

inhibitörleridir ve kan kolesterol seviyelerini düşürerek kardiyovasküler olay riskini azaltmak için kullanılırlar.

Sıçan Pirüvat Kinaz (PK): Duyarlılık: 0,216 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,25 ng/ml – 70 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **PK;** glikolizde hız kısıtlayıcı ve geri dönüşümsüz son basamak olan, ‘Fosfoenol piruvat(PEP) → Piruvat’ reaksiyonunu katalizler.

Sıçan Glikojen Fosforilaz (GP): Duyarlılık: 0,136 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,2 ng/ml – 30 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%8. Ölçümler arası CV: <%10. Birim: ng/ml. **GP;** Glikojenoliz’in düzenleyici enzimlerinden biridir ve glikojen molekülünün alfa-1-4-glikozidik bağlarını hidrolize ederek ve glikoz-1-fosfat oluşturur.

Sıçan Glikojen Sentaz Kinaz (GSK): Duyarlılık: 0,117 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,15 ng/ml – 32 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **GSK;** Glikojen sentezinin hız kısıtlayıcı enzimidir.

Sıçan Total Kolesterol (TC): Duyarlılık: 0,107 mmol/L. Ölçüm aralığı: 0,5 mmol/L – 30 mmol/L. Ölçüm içi CV: <%8. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: mmol/L. **TC;** kanda bulunan toplam kolesterol miktarını ifade eder ve yüksekliğinde ateroskleroz için risk faktörüdür.

Sıçan Lipoprotein Lipaz (LPL): Duyarlılık: 0,135 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,15 ng/ml – 40 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **LPL;** Lipoprotein lipaz, şilomikron ve VLDL lipoproteinlerindeki trigliseritleri bir monoasilgliserol molekülü ve serbest yağ asitlerine hidrolizleyen bir enzimidir. LPL, kılcal damarların çeperlerindeki endotel hücrelerde bulunur. LPL aktivite düşüklüğü veya enzim eksikliğinde koroner kalp hastalığı, ateroskleroz ve obezite riski ortaya çıkar.

Sıçan Nesfatin-1: (NES1): Duyarlılık: 28,951 ng/L. Ölçüm aralığı: 30 ng/L – 9000 ng/L. Ölçüm içi CV: <%8. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/L. **NES1;** Nesfatin-1, memelilerin hipotalamusunda üretilen bir nöropeptiddir. NES1 açlık ve yağ doku düzenlenmesinde görev almaktadır. NES1 artışı, acıkmayı azaltır, tokluk hissi verir, kilo kaybını sağlar. NES1 artışı sayesinde depo yağlar daha fazla kullanılır.

Sıçan Trigliserit (TG): Duyarlılık: 0,05 mmol/L. Ölçüm aralığı: 0,05 mmol/L – 15 mmol/L. Ölçüm içi CV: <%8. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: mmol/L. **TG;** triasilgliserol veya triasilgliserit olarak da bilinir. TG, gliserol ve üç yağ asidinin birleşmesinden oluşan bir esterdir. Trigliseritler enerji kaynağı olarak metabolizmada önemli rol oynarlar. Karbohidratlardan ve proteinlerden fazla enerji taşırlar (9 kalori/g). Kandaki yüksek trigliserit seviyesi ile ateroskleroz, koroner kalp hastalıkları ve inme arasında ilişki bulunmaktadır.

Sıçan Glukagon (GC): Duyarlılık: 4,023 ng/L. Ölçüm aralığı: 5 ng/L – 1000 ng/L. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/L. **GC;** pankreastaki Langerhans adacıklarından salgılanan bir hormondur kan glikoz düzeyinin düşmesiyle salınımı uyarılır. Kan glikoz düzeyini hızla yükseltir. İnsülin karşıtı bir hormondur.

Sıçan Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL): Duyarlılık: 0,048 mmol/L. Ölçüm aralığı: 0,1 mmol/L – 15 mmol/L. Ölçüm içi CV: <%8. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: mmol/L. **HDL;** dokulardan karaciğere kolesterol taşıyan ve karaciğerde üretilen bir lipoproteindir. HDL, diğer dokulardan olduğu gibi arterlerden de, ateromlardaki kolesterolü alıp vücuttan atılmak üzere karaciğere taşır. Yüksek HDL düzeyleri kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucudur. Düşük HDL düzeyleri ise ateroskleroz için risk faktörü olarak kabul edilir.

Sıçan Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD): Duyarlılık: 0,433 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,5 ng/ml – 100 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **G6PD;** Pentoz-Fosfat yolunun ilk enzimidir.

Sıçan Leptin (Leptin): Duyarlılık: 7,054 pg/ml. Ölçüm aralığı: 7,5 pg/ml – 2000 pg/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: pg/ml. **Leptin;** "tokluk hormonu" diye de adlandırılan, polipeptid yapılı, tokluk duygusu veren, yağ depolarını ve açlık durumunu düzenleyen bir hormondur. Yağ dokudan salınır. Tokluk hissi verir.

Sıçan İnsülin (INS): Duyarlılık: 0,102 mIU/L. Ölçüm aralığı: 0,2 mIU/L – 40 mIU/L. Ölçüm içi CV: <%10. Ölçümler arası CV: <%12. Birim: mIU/L. **INS;** pankreastan salgılanan, glikoz dengesinde önemli rol oynayan ve glikozun hücre

içine girmesini sağlayarak kan glikoz düzeyini dengede tutan çok önemli bir hormondur. Tokluk hormonudur.

Sıçan Pirüvat Karboksilaz (PC): Duyarlılık: 0,227 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,25 ng/ml – 60 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **PC**; Glukoneogenez için, ‘Piruvat → Oksaloasetat’ reaksiyonunu katalizleyen bir enzimdir. Açlıkta daha aktiftir. İnsülin ile inhibe olurken glukagon ile aktiflenir.

Sıçan Glukokinaz (GCK): Duyarlılık: 0,403 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,5 ng/ml – 100 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **GCK**; karaciğerde glikolizin ilk basamağında, ‘Glikoz → Glikoz 6-fosfat’ irreversibl reaksiyonunu katalizler. Glikolizin düzenleyici basamaklarından birinde görev alır.

Sıçan Fosfoenol Pirüvat Karboksikinaz (PCK): Duyarlılık: 0,204 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,25 ng/ml – 70 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **PCK**; Glukoneogenez yolağında; Piruvat Karboksilaz ile katalizlenen; Piruvat → Oksaloasetat reaksiyonu bir basamak daha devam eder ve PEP Karboksikinaz ile Oksaloasetat → Fosfoenolpiruvat reaksiyonu oluşur. Glukoneogenezin düzenleyici basamaklarından biridir.

Sıçan Heksokinaz (HK): Duyarlılık: 0,064 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,08 ng/ml – 20 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%10. Ölçümler arası CV: <%12. Birim: ng/ml. **HK**; karaciğer dışı dokularda glikolizin ilk basamağında, ‘Glikoz → Glikoz 6-fosfat’ irreversibl reaksiyonunu katalizler. Glikolizin düzenleyici basamaklarından birinde görev alır.

Sıçan Hormon Sensitif Lipaz (HSL): Duyarlılık: 0,282 ng/ml. Ölçüm aralığı: 0,3 ng/ml – 90 ng/ml. Ölçüm içi CV: <%9. Ölçümler arası CV: <%11. Birim: ng/ml. **HSL**; Vücut, enerji kaynağı olarak yağ asitlerine ihtiyaç duyarsa, glukagon hormonunun etkisiyle, hormon sensitif lipaz enzimi trigliseritleri yağ asitlerine parçalar.

Aşağıda, Resim 4’te; ELISA yıkayıcı (washer), Resim 5’te; ELISA okuyucu (plate reader), Resim 6’da; 96 kuyucuklu mikrotitrasyon pleytleri, Resim 7’de, 96 kuyucuklu mikrotitrasyon pleytlerinin numaralandırma ve harflendirme sistemi ve Resim 8’de; Laboratuvarımızda ELISA çalışılması ve araştırmacı gösterilmiştir.

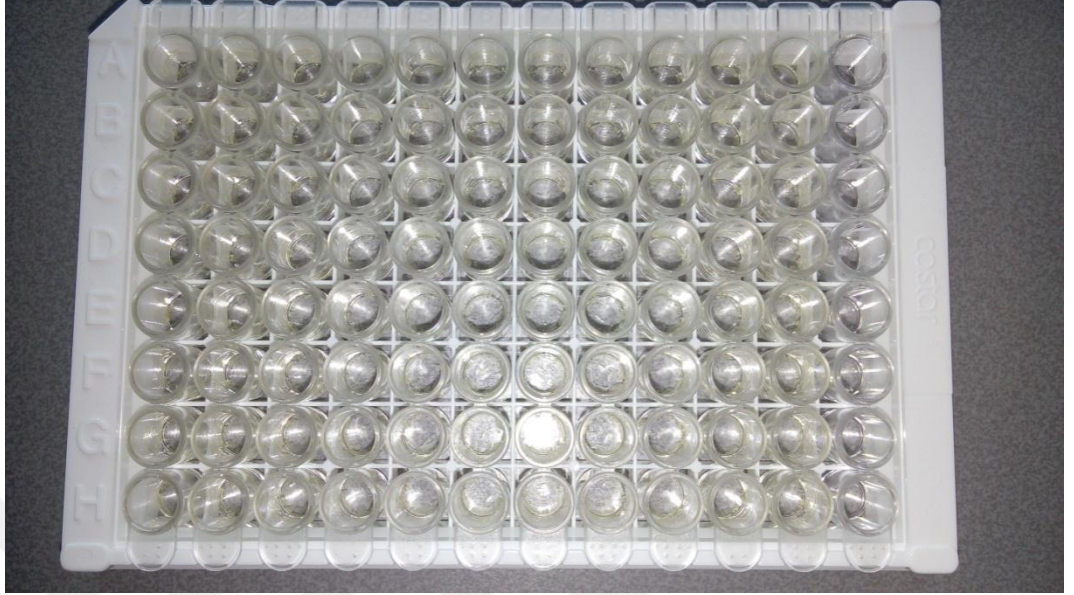
Resim 4: ELISA yıkayıcı (washer):



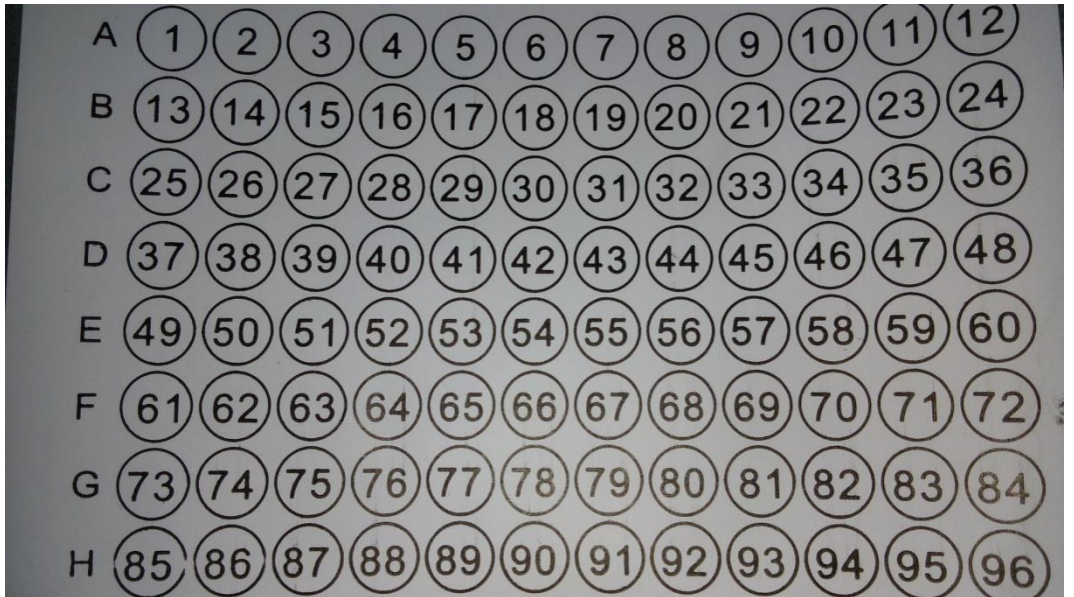
Resim 5: ELISA okuyucu (plate reader):



Resim 6: 96 kuyucuklu mikrotitrasyon pleytleri:



Resim 7: 96 kuyucuklu mikrotitrasyon pleytlerinin numaralandırma ve harflendirme sistemi:



Resim 8: Laboratuvarımızda ELISA çalışması ve araştırmacı:



3.8. TAS ve TOS ölçümü ve OSI hesabı

TAS, TOS ve OSI ölçümü için daha önceden porsiyonlanarak derin dondurucuda saklanan serum ve dokular oda ısısına getirilerek çözündürüldü. Çözündürülmüş homojenize doku örnekleri 10000 g'de +4 °C'de soğutmalı santrifüjde 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Daha sonra doku homojenatlarının süpernatanlarında otoanalizör cihazda mikroprotein tayini yapıldı. TAS ve TOS ölçümleri de santrifüj sonrası elde edilen süpernatandan çalışıldı. Serumlarda ise çözünmüş ve oda ısısına getirilmiş örnekler önce vortekslendi ve yeterince karıştıktan sonra çalışıldı.

Total Antioksidan Kapasite (TAS) ve Total Oksidan Kapasite (TOS) düzeyleri Reel Assay (Gaziantep, Türkiye) marka ticari kit kullanılarak modifiye Erel metodu ile otoanalizör cihazda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. (Beckman Coulter AU 5800,USA).

TAS ve TOS değerleri; TAS için mmol Trolox Eq / L biriminde, TOS için $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{Eq} / \text{L}$ biriminde sonuçlar verilmiştir.

“OSI (Oksidatif Stres İndeksi) = TOS/TAS” formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

Total Antioksidan Kapasite (Total Antioxidant Status (TAS)) ölçülmesi:

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik metot sayesinde güçlü ve zararlı serbest radikallere karşı organizmanın güçlü serbest radikaller karşısındaki total antioksidan kapasitesi (Total Antioxidant Status: TAS) ölçülebilir. TAS ifadesine eşdeğer olarak; total antioxidant capacity (TAC), total antioxidant activity (TAA), total antioxidant power (TAOP), total antioxidant response (TAR) isimlendirilmeleri de kullanılmaktadır. Ölçüm yapılan numunede bulunan antioksidan moleküller, koyu mavi-yeşil renkli ABTS (2-2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) çözeltisini, renksiz ABTS formuna doğru değiştirir. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğundaki değişim, numunede mevcut bulunan toplam antioksidan molekül miktarı ile ilişkilidir. Değişen renk yoğunluğuna göre absorbans değişimi 660 nm'de ölçülür. TAS ölçümü; geleneksel olarak Trolox Equivalent şeklinde isimlendirilen, E vitamini analogu olan, stabil bir antioksidan standart solusyonu tarafından kalibre edilir. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent / Litre olarak verilir (124).

Total Oksidan Kapasite (Total Oxidant Status (TOS)) ölçülmesi:

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntem ile organizmanın total oksidan kapasitesi (Total Oxidant Status: TOS) ölçülebilmektedir. TOS ifadesine eşdeğer olarak; total peroxide (TP), serum oxidation activity (SOA), reactive oxygen metabolites (ROM) isimlendirilmeleri de kullanılabilir. Oksidatif kapasitesi ölçülen numunede mevcut bulunan oksidanlar, ferröz iyon şelatör kompleksini ferrik iyonla oksitler. Asidik ortamda ferrik iyonlar, kromojen ile renkli bir kompleks meydana getirirler. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede mevcut bulunan toplam oksidan molekül miktarı ile ilişkilidir. Değişen renk durumuna göre absorbans değişimi 530 nm'de ölçülür. TOS ölçümü hidrojen peroksit ile kalibre edilir. Sonuçlar mikromolar hidrojen peroksit equivalent / Litre olarak verilir (125).

Oksidatif Stres İndeksi (Oxidative Stress Index (OSI)) hesaplanması:

Total Oksidan Seviye (TOS), Total Antioksidan Seviye (TAS)'ye bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSI) hesaplanabilir (126). Oksidatif molekül artışına yanıt olarak antioksidan moleküllerin artışının gerçekleşmesi, oksidatif hasar yönünden sadece TOS ölçümü değerlendirmesini yanıltıcı hale getirebilmektedir. Oysa TOS/TAS oranındaki değişimin karşılaştırılması sonucunda, oksidatif hasar için yanıltıcı olabilecek antioksidan cevabi yanıt devreden çıkarılarak, doğru bir kıyas mümkün olmaktadır.

TAS, TOS ve OSI değerleri sayesinde organizmada birçok hastalığın etiolojisinde rolü olduğu bilinen oksidan-antioksidan kapasite durumu hakkında bilgi sahibi olunabilmekte ve yorum yapılabilmektedir.

3.9. Histopatolojik inceleme

Histopatolojik incelemeler, SDÜ Tıp Fakültesi Patoloji AD laboratuvarında yapıldı.

Materyal:

Histopatolojik inceleme için kullanılan cihazlar:

- Işık mikroskobu ve entegre fotoğraf makinesi sistemi: Olympus BX51 (Japan)
- Mikrotom cihazı: Leica RM 2245 (Germany)

Temel tanımlar:

Doku takip kaseti: İçlerine patolojik inceleme için alınan örneklerin bulunduğu plastik küçük delikli kutucuklar.

Doku takip donanımı: Patoloji laboratuvarına inceleneme için gönderilen materyallerden doku takip kasetine alınan örneklerin sertleşip, kesilebilir hale gelmesi için gerekli işlemlerin gerçekleştiği donanım.

Mikrotom donanımı: Parafin doku bloklarından mikroskopta incelenebilecek incelikte kesitler alınmasını sağlayan donanım.

Materyal saklama kabı: Patoloji laboratuvarına gönderilen ameliyat ve biyopsi materyallerinin bulunduğu ağız kapaklı çeşitli boylarda plastik veya cam kaplar.

Histokimyasal boya: Patolojik tanıya yardımcı yöntemlerden biridir.

5.1.1 Makroskopik Olarak Tespit Prosedürü:

Karaciğer ve böbrek organ örnekleri, numaralandırılmış kasetlere yerleştirildi. Kasetler, sıra ile doku takip cihazının sepetine dizildi ve sepet cihaza yerleştirildikten sonra, cihaz içinde toplam 12 saat süre ile aşağıdaki tespit solüsyonlarından geçerek tespit (dehidrate) edilmesi sağlandı.

- % 10 formalin - 3 saat
- Formal Alkol - 20 dakika
- Absülü alkol - 45 dakika
- Absülü alkol - 60 dakika
- Absülü alkol - 60 dakika
- Absülü alkol - 60 dakika
- Absülü alkol - 60 dakika
- Absülü alkol - 60 dakika
- Absülü xylene - 45 dakika
- Absülü xylene - 60 dakika
- Absülü xylene - 60 dakika
- Absülü wax (parafin) - 45 dakika
- Absülü wax (parafin) - 45 dakika
- Absülü wax (parafin) - 60 dakika
- Absülü wax (parafin) - 60 dakika

5.1.2 Makroskopik Olarak Tespit Olmuş Karaciğer ve Böbrek Örneklerinin İşlemden Geçirilerek Kalıcı Preparatların Hazırlanması:

- Doku takip cihazında tespit olan dokular, oda ısısında (23 °C de) parafin bloklara gömüldü.

- Parafin blokların buzdolabında (+ 4 °C' de) soğuması sağlandı.
- Soğuması tamamlanmış bloklar, mikrotomda 5 mikron kalınlığında kesilir, lamlara yerleştirildi.
- Lamlara yerleştirilen dokular, etüvde 60 °C sıcaklıkta ortalama 60 dakika bekletilerek deparafinize edildi.
- Deparafinize edilen dokular, rutin olarak kullanılan Hemotoksilen-Eozin ile boyandı.

5.1.3 Hematoksilen – Eosin Boyama Metodu

- %90- %80- %70 Alkol serilerinde 3'er dakika -Akarsuda yıkandı.
- Hematoksilen solusyonu 15 dakika
- Akar suda yıka 5 dakika
- Amonyaklı suya daldır çıkar
- Akar suda yıka 1 dakika
- Eosin solusyonu 1 dakika
- %70- %80- %90 alkol serilerinde 1 er dakika
- Aseton daldır çıkar
- Kurut, ksilene koy
- Entellan ve lamelle kapat

5.1.4. Prusya Mavisi Boyama Metodu

- %90- %80- %70 Alkol serilerinde 3'er dakika
- Akar suda yıkandı.
- %10 Potasyum ferrosiyaniid ve %20 Hcl solusyonu eşit oranda karıştırılır 20 dakika -Distile suda yıka
- Nükleer fast red solusyonu 10 dakika
- Distile suda yıka
- %70- %80- %90 Alkol serilerinde l'er dakika
- Kurut, ksilene koy

- Entellan ve lamelle kapat

Özet olarak kesit hazırlanması: Formaldehid içerisinde SDÜ Tıp Fakültesi Patoloji AD laboratuvarına getirilen doku örnekleri, tespitin ardından takip prosedürüne alındılar. Bu amaçla her hayvana ait doku örnekleri ayrı takip kasetlerine konuldu. Akarsu altında 1 saat yıkanan dokular doku takip cihazına takıldı ve gerekli ayarlamalar yapılarak dokuların gece boyunca düşük dereceli alkollerden yüksek dereceli alkollere (%70'den %100'e) geçirilerek sularının alınması, iki adet ksilolden geçirilerek yağının alınması ve sıcak parafine geçirilerek doku boşluklarına parafin dolması sağlandı. Sonraki gün sabah dokular parafine gömülerek blokajları sağlandı. Bloklardan 4-5 saat soğutulmanın ardından Leica RM 2245 (Germany) mikrotomda 4 mikron kalınlığında kesitler alındı ve hematoxilen eozin ile boyanarak histopatolojik olarak incelendi. Histolojik bulguların değerlendirilmesinde skorlama yapıldı.

5.2 MİKROSKOBİK DEĞERLENDİRME:

Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus, BX51, Japan) fotoğraflandı ve değerlendirildi.

Aşağıda; Resim 9'da; Histopatolojik incelemede kullanılan; Mikrotom cihazı: Leica RM 2245 (Germany), ve Resim 10'da; Histopatolojik incelemede kullanılan; Işık mikroskobu ve entegre fotoğraf makinesi sistemi: Olympus, BX51 (Japan) gösterilmiştir.

Resim 9: Histopatolojik incelemede kullanılan; Mikrotom cihazı: Leica RM 2245 (Germany)



Resim 10: Histopatolojik incelemede kullanılan; Işık mikroskobu ve entegre fotoğraf makinesi sistemi: Olympus, BX51 (Japan)



3.10. Nörodavranış deneyi için Morris labirenti

Morris Su Labirenti

Kognitif (bilişsel, kavramsal) fonksiyonun bir ölçütü olarak kullanılır ve hipokampusa bağımlı mekânsal hafızayı değerlendiren bir düzendir. Su labirenti 150 cm çapında, 80 cm yüksekliğinde, içi beyaz boyalı, galvanik metalden yapılmış dairesel bir havuzdur. Su labirentinin bulunduğu mekân güneş ışığı almamaktadır ve labirentin dört yanına yerleştirilmiş ve ışığı tavana yansıtılmış lambalar ile aydınlatılmıştır. Su labirentinin çevresinde sabit olarak tutulan görsel ipuçları (tablo, sandalye, masa) vardır. Deney öncesi su labirenti su ile doldurulmuş, 23°C'ye ısıtılmış ve non toksik sarı boya ile boyanmıştır. Su seviyesinin 2 cm altında kalacak şekilde gizli bir platform yerleştirilmiştir.

Deneyle, su labirentindeki tüm egzersizler ve bellek testi, gizli platformu bulma süresi ve katedilen yolu kaydeden bir bilgisayarla bağlantılı olan, havuzun üzerine yerleştirilmiş bir kamera ile kaydedilmiştir. Bu amaçla 'Smart Versiyon 2.5' programı kullanılmıştır (Smart Video- Tracking, Panlab, Barcelona, İspanya). Bu program ile labirent, "1. kadrant", "2. kadrant", "3. kadrant" ve "4. kadrant" olmak üzere dört kadranta ayrılmıştır. 4. kadrant hedef kadrant olarak belirlenmiş ve su seviyesinin 2 cm altında kalacak şekilde gizli bir platform konulmuştur. Günlük öğrenme eğitimlerinde sıçanlar, tek tek ve aynı sırayla, herbir kadrantın en az bir kez olacak şekilde suya bırakılmıştır. Platforma erişme süreleri, kadrantlarda geçirdikleri süreler ve katettikleri yol verileri kaydedilmiştir. Morris'in protokolü ile mekânsal ipuçlarını ve yönsel stratejileri kullanarak bu uygulamaya, ilk gün 4, diğer günler için günde 5 eğitim olacak şekilde 4 gün boyunca devam edilmiştir (95).

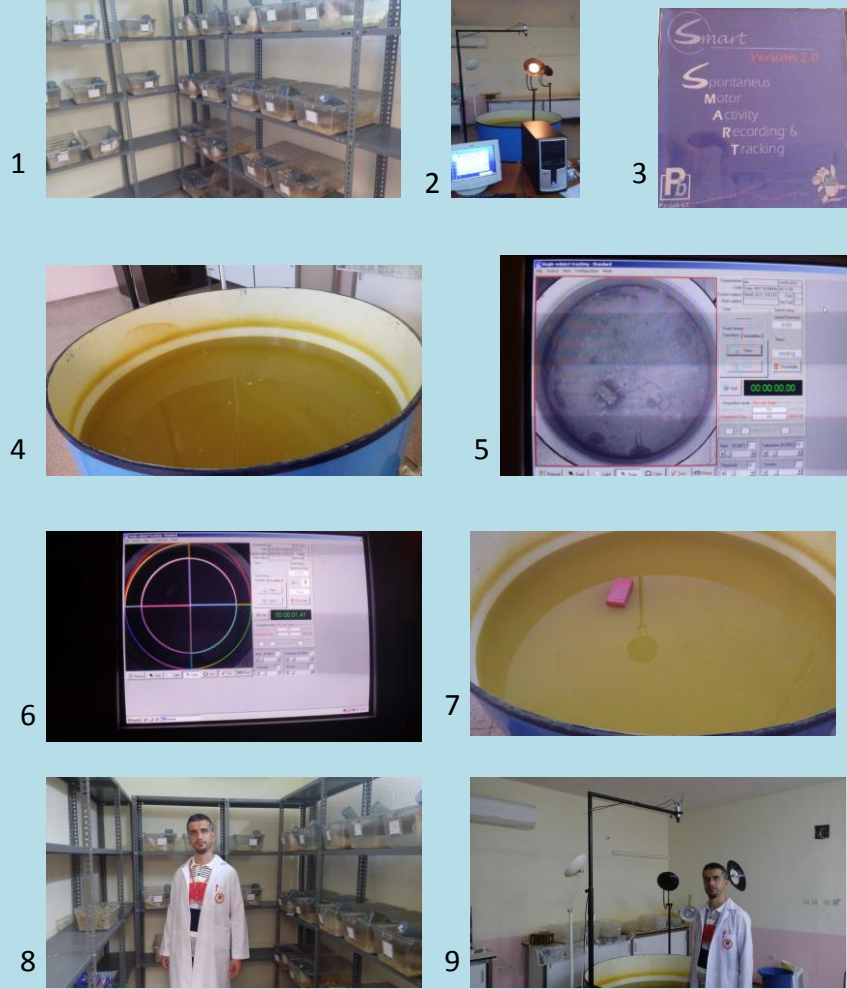
Testin ilk gününde sıçanlara platformu bulmaları için 60 sn'lik bir süre tanınmıştır. Eğer bir sıçan saklı platformu 60 sn'de bulamazsa hedef platforma yönlendirilmiş, platformu tanınması ve platformun sudan kurtuluş anlamına geldiğini kavraması için platformda 30 sn bekletilmiştir. Saklı platformu bulma süresi 60 sn'de gerçekleşmemiş ise bu veri 70 sn olarak kaydedilmiştir. Deneyin 2., 3. ve 4. günlerinde bir sıçan 60 sn'de platformu bulamaz ise araştırmacı tarafından platforma yönlendirilmiştir ancak bu kez platformda 15 sn kalmalarına izin verildikten sonra araştırmacı tarafından kafesine geri konulmuştur. Her sıçan için egzersizler arasında

en az 20 dk'lık aralar olmasına dikkat edilerek, her gün 5 egzersiz yaptırılmıştır. Herbir egzersizden sonra sıçanlar kafeslerine geri bırakılmadan önce bir havlu ve 40-W beyaz ampul (OSRAM) altında tutularak kurutulmuşlardır. Dördüncü günün sonunda her sıçan toplamda 19 kez öğrenim egzersizi yapmış ve eğitim dönemini tamamlamıştır. 'Probe trial' adı verilen testte 5. günde saklı platform kaldırılarak, sıçanlar daha önce saklı platformu içermeyen diğer 3 kadrandan bırakılmıştır. Sıçanların daha önceden saklı platformun bulunduğu hedef kadranda geçirdikleri süre kaydedilmiştir. Bu süre mekansal hafızanın ölçütü olarak kullanılmıştır.

Sıçanlara 5. Günde, Probe Trial adı verilen testten sonra, bu deneyin ipucu içeren versiyonu 'Visible (görünür) Platform' prosedürü uygulanmıştır. Bu versiyon ile motivasyon ve anksiyete üzerine uygulamamızın etkileri olup olmadığı değerlendirmek istenmiştir. Bu testte, her deneyde görünür platform farklı kadrana taşınırken (hedef kadrana hariç) sıçanlar her seferinde 4. (hedef) kadrandan bırakılmış ve görünür platformu bulma süreleri kaydedilmiştir (95).

Aşağıda; Resim 11'de: Water Maze (Morris Labirenti) materyal-metot resimleri gösterilmiştir.

Water Mase (Morris Su Labirenti) Deney Metodu:
(Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi
Biyokimya Anabilim Dalı Öğrenme Laboratuvarı)



Resim 11: Water Mase (Morris Labirenti) materyal-metot resimleri:

AÇIKLAMA: 1. Öğrenme laboratuvarında deney hayvanlarının barınma odası. 2. Water Mase; Kamera-bilgisayar- havuz düzeneği. 3. Deney hayvanının hareketlerini veriye dönüştüren bilgisayar programı; SMART. 4. Platformun suyun altında gizli olduğu düzenek. 5. Deney düzeneğinin kamera görünümü. 6. Deney düzeneğinin dört kadrant ve dört kadranta ait dış bölgeler olmak üzere sekize bölünmüş hali. 7. Visible (görünür) testte boyanmış ve su üstünde duran görünür platform. 8. Deney hayvanlarının öğrenme deneyinde hazırlanmaları. 9. Öğrenme deneyleri esnasında deney düzeneği ve araştırmacı.

3.11. İstatistiksel analiz

Metabolik veriler ve TAS, TOS, OSI verilerinin gruplar arası karşılaştırılması için:

İstatistiksel değerlendirmeler “SPSS 21.0 for Windows” paket programı kullanılarak yapıldı. Genel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı Kruskal-Wallis varyans analiziyle değerlendirildi. Sonuçlar ortalama \pm Standart sapma olarak verildi. P değerinin 0,05’den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi. Anlamlılığın hangi günden kaynaklandığını saptamak amacıyla Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U test uygulandı.

Öğrenme verileri için:

İstatistiksel değerlendirmeler “SPSS 21.0 for Windows” paket programı kullanılarak yapıldı. Nonparametrik Friedman Testi ile egzersiz dönemi olan ilk 4 güne ait verilerin günler arası karşılaştırılması yapılmıştır ve $p < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir. Anlamlılığın hangi günden kaynaklandığını saptamak amacıyla posthoc Willcoxon Test uygulanmış ve $p < 0,01$ anlamlı kabul edilmiştir. Nonparametrik Kruskal-Wallis Testi ile her bir egzersiz günü için gruplar arası karşılaştırma yapılmıştır.

Tıbbi araştırma raporlarında, standart hata (SEM) yerine, standart sapma (SD) kullanılmalıdır. Çünkü standart hata örnek büyüklüğünün fonksiyonudur. Böylece n sayısı artırılarak hata küçültülebilir. Tanımsal olarak SEM ortalamalarla ilgilidir. Deneklerle ilgili değildir. Sağlık araştırmalarında istenen, araştırma sonuçlarını genel olarak grup yerine, tek tek deneklere tatbik etmektir. Genişlik (Ortalama \pm SEM), örnek ortalamalarının yaklaşık % 95’ini kapsar. Fakat denekler üzerindeki gözlemlerin % 95’ini kapsamaz. Bunun için Ortalama \pm SD gereklidir (127).

4. BULGULAR

Bulgular aşağıdaki tablolarda sunulmuştur:

Tablo 64. Karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri ile malnutrisyon açısından genel durum belirteçlerinin serum düzeyleri (ortalama \pm standart sapma)

Tablo 65. Serumdan çalışılan metabolik durum göstergesi parametrelerin bir kısmı (ortalama \pm standart sapma)

Tablo 66. Çeşitli dokulardan çalışılan temel metabolik yollara ait enzimler (ortalama \pm standart sapma)

Tablo 67. Çeşitli dokulara ait total antioksidan-oksidan seviye ve oksidatif stres indeks değerleri (ortalama \pm standart sapma)

4.1. Biyokimyasal parametrelere dair bulgular

Tablo 3. Karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri ile malnutrisyon açısından genel durum belirteçlerinin serum düzeyleri (ortalama \pm standart sapma)

Parametre - Birim	AL (ort \pm st. sap)	İÖ (ort \pm st. sap)	İÖ-KK (ort \pm st. sap)	Kruskal- Wallis (p)
Serum Total Protein (g/dL)	6,61 \pm 0,19	6,79 \pm 0,58	6,32 \pm 0,43	0,216
Serum Albumin (g/dL)	3,24 \pm 0,21	3,42 \pm 0,18	3,36 \pm 0,32	0,157
Serum Kalsiyum (mg/dL)	10,09 \pm 0,38	10,53 \pm 0,74	10,24 \pm 0,98	0,403
Serum Demir (mg/dL)	195,88 \pm 41,83	192,33 \pm 27,44	216,66 \pm 20,96	0,125
Serum Magnezyum (mg/dL)	2,83 \pm 0,69	3,51 \pm 1,10	3,21 \pm 0,91	0,457
Serum Fosfor (mg/dL)	5,53 \pm 1,21	6,83 \pm 2,10	5,88 \pm 2,2	0,403
Serum BUN (mg/dL)	31 \pm 4,14	29,5 \pm 5,42	31,75 \pm 5,63	0,779
Serum Kreatinin (mg/dL)	0,57 \pm 0,05	0,63 \pm 0,06	0,66 \pm 0,07	0,062
Serum AST (U/l)	124,31 \pm 48,27	103,01 \pm 35,86	107,93 \pm 30,69	0,442
Serum ALT (U/l)	61,88 \pm 12,53	78,94 \pm 32,05	70,58 \pm 16,04	0,3
Serum AST/ALT (De-Ritis)	1,97\pm0,37	1,38\pm0,32*	1,57\pm0,52	0,022

Açıklama: AL: Ad libitum, İÖ: İki Öğün, İÖ-KK: İki Öğün ve Kalori Kısıtlı.

*: AL grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı gruplar (Mann-Whitney U, p<0,05)

Tablo 4. Serumdan çalışılan metabolik durum göstergesi parametrelerin bir kısmı (ortalama \pm standart sapma)

Parametre - Birim	AL (ort \pm st. sap)	iÖ (ort \pm st. sap)	iÖ-KK (ort \pm st. sap)	Kruskal- Wallis (p)
Serum Glikoz (mg/dl)	219,63 \pm 58,11	178,54 \pm 31,69	173,42 \pm 28,44	0,099
Serum İnsülin (mIU/l)	9,04 \pm 1,38	8,59 \pm 1,47	8,03 \pm 1,61	0,552
Serum HOMA-IR	4,81\pm0,89	3,76\pm0,80*	3,39\pm0,66*	0,012
Serum Glukagon (ng/l)	160,76 \pm 18,65	177,37 \pm 26,19	174,95 \pm 22,29	0,275
Serum İnsülin/Glukagon Oranı	0,058 \pm 0,01	0,050 \pm 0,01	0,048 \pm 0,01	0,064
Serum Nesfatin-1 (ng/ml)	1,92 \pm 0,41	1,78 \pm 0,51	1,52 \pm 0,41	0,148
Serum Leptin (pg/ml)	337,73 \pm 49,45	328,37 \pm 61,83	320,42 \pm 82,65	0,898
Serum Total Kolesterol (mmol/l)	5,54 \pm 0,65	5,58 \pm 1,11	5,62 \pm 0,79	0,983
Serum Trigliserit (mmol/l)	3,18 \pm 0,40	3,18 \pm 0,65	3,07 \pm 0,95	0,935
Serum LDL (mmol/l)	2,84 \pm 1,09	2,51 \pm 0,99	3,16 \pm 0,83	0,386
Serum HDL (mmol/l)	2,07 \pm 0,73	2,44 \pm 0,79	1,84 \pm 0,33	0,165

Açıklama: AL: Ad libitum, iÖ: İki Öğün, iÖ-KK: İki Öğün ve Kalori Kısıtlı.

*: AL grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı gruplar (Mann-Whitney U, p<0,05)

Tablo 5. Çeşitli dokulardan çalışılan temel metabolik yollara ait enzimler (ortalama \pm standart sapma)

Parametre - Birim	AL (ort \pm st. sap)	İÖ (ort \pm st. sap)	İÖ-KK (ort \pm st. sap)	Kruskal-Wallis (p)
Karaciğer Fosfofruktokinaz 1 (PFK 1) (ng/g prt)	5,83 \pm 0,98	6,38 \pm 1,18	6,80 \pm 1,04	0,314
Karaciğer Pirüvat kinaz 1 (PK 1) (ng/g prt)	4,75 \pm 0,99	5,18 \pm 0,68	5,18 \pm 0,62	0,255
Karaciğer Asetil Co A Karboksilaz (ACK) (ng/g prt)	4,83 \pm 1,27	5,06 \pm 1,06	5,60 \pm 1,47	0,523
Karaciğer Glikojen Sentaz (GS) (ng/g prt)	2,69 \pm 0,41	2,81 \pm 0,37	3,02 \pm 0,35	0,218
Karaciğer Glikojen Fosforilaz (GF) (ng/g prt)	3,29 \pm 0,58	3,51 \pm 0,85	4,19 \pm 0,47	0,054
Karaciğer HMG Co A Redüktaz (HMG CR) (ng/g prt)	5,03\pm0,14	5,13\pm0,18	5,56\pm0,35*#	0,007
Karaciğer Hepatik Lipaz (HL) (ng/g prt)	13,12 \pm 1,04	13,19 \pm 1,43	13,46 \pm 1,31	0,859
Karaciğer Fruktoz 1-6 Bifosfataz (FBF) (ng/g prt)	8,82 \pm 1,98	9,70 \pm 2,55	11,43 \pm 2,77	0,105
Karaciğer Glikoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) (ng/g prt)	6,61 \pm 0,39	6,63 \pm 0,56	7,03 \pm 0,42	0,1
Karaciğer Pirüvat Karboksilaz (PK) (ng/g prt)	4,75 \pm 0,99	5,18 \pm 0,68	5,18 \pm 0,62	0,255
Karaciğer Fosfoenol Pirüvat Karboksikinaz (PEPCK) (ng/g prt)	3,89 \pm 0,76	3,98 \pm 0,83	4,28 \pm 0,18	0,229
Karaciğer Glukokinaz (GCK) (ng/g prt)	7,76 \pm 0,97	9,08 \pm 1,49	8,19 \pm 0,50	0,089
Kas Heksokinaz (HK) (ng/g prt)	2,20\pm0,33	2,85\pm0,51*	2,71\pm0,42*	0,009
Yağ Doku Hormon Sensitif Lipaz (HSL) (ng/g prt)	1,42 \pm 0,58	1,48 \pm 0,26	1,71 \pm 0,46	0,281
Serum Lipoprotein Lipaz (ng/ml)	11,34 \pm 1,67	11,65 \pm 1,32	12,33 \pm 1,44	0,419

Açıklama: AL: Ad libitum, İÖ: İki Öğün, İÖ-KK: İki Öğün ve Kalori Kısıtlı.

*: AL grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı gruplar (Mann-Whitney U, p<0,05)

#: İÖ grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı gruplar (Mann-Whitney U, p<0,05)

4.2. Oksidatif stres ve antioksidan yanıtı dair bulgular

Tablo 6. Çeşitli dokulara ait total antioksidan-oksidan kapasite ve oksidatif stres indeks değerleri (ortalama ± standart sapma)

Parametre - Birim	AL (ort±st. sap)	İÖ (ort±st. sap)	İÖ-KK (ort±st. sap)	Kruskal- Wallis (p)
Serum Total Antioksidan Kapasite (TAS) (µmol troloxEq/l)	1,52±0,14	1,74±0,31	1,69±0,26	0,239
Serum Total Oksidan Kapasite (TOS) (µmol H ₂ O ₂ equiv/l)	16,03±3,08	14,40±5,07	14,65±5,86	0,05
Serum Oksidatif Stres İndeksi (OSI) (TOS/TAS)	10,73±2,79	8,23±2,08	8,63±2,76	0,294
Karaciğer Total Antioksidan Kapasite (TAS) (µmol troloxEq/gr prt)	0,2±0,02	0,22±0,01*	0,21±0,01	0,041
Karaciğer Total Oksidan Kapasite (TOS) (µmol H ₂ O ₂ equiv/ gr prt)	2,14±0,19	2,28±0,27	2,20±0,21	0,344
Karaciğer Oksidatif Stres İndeksi (OSI) (TOS/TAS)	10,89±1,75	10,50±1,45	10,39±1,32	0,898
Kas Doku Total Antioksidan Kapasite (TAS) (µmol troloxEq/gr prt)	0,15±0,01	0,18±0,06	0,18±0,02	0,111
Kas Doku Total Oksidan Kapasite (TOS) (µmol H ₂ O ₂ equiv/ gr prt)	0,34±0,08	0,3±0,05	0,34±0,11	0,57
Kas Doku Oksidatif Stres İndeksi (OSI) (TOS/TAS)	2,32±0,57	1,83±0,69	1,89±0,45	0,116
Yağ Doku Total Antioksidan Kapasite (TAS) (µmol troloxEq/gr prt)	0,30±0,14	0,43±0,15	0,50±0,23	0,122
Yağ Doku Total Oksidan Kapasite (TOS) (µmol H ₂ O ₂ equiv/ gr prt)	30,50±2,18	14,38±1,35*	13,69±1,73*	0,000
Yağ Doku Oksidatif Stres İndeksi (OSI) (TOS/TAS)	12,65±6,18	3,75±1,60*	3,40±1,83*	0,001
Beyin Total Antioksidan Kapasite (TAS) (µmol troloxEq/gr prt)	0,23±0,02	0,25±0,03	0,25±0,03	0,286
Beyin Total Oksidan Kapasite (TOS) (µmol H ₂ O ₂ equiv/ gr prt)	2,75±0,42	2,22±0,55	2,40±0,51	0,108
Beyin Oksidatif Stres İndeksi (OSI) (TOS/TAS)	12,19±2,16	9,33±3,29	10,01±2,91	0,153

Açıklama: AL: Ad libitum, İÖ: İki Öğün, İÖ-KK: İki Öğün ve Kalori Kısıtlı.

*: AL grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı gruplar (Mann-Whitney U, p<0,05)

4.3. Deney hayvanlarına ait vücut ağırlığı bulguları

Deney Başında ve Sonunda Sıçanların Ağırlıkları

Tablo 7: Deney başında ve sonunda sıçanların ağırlıkları (g)

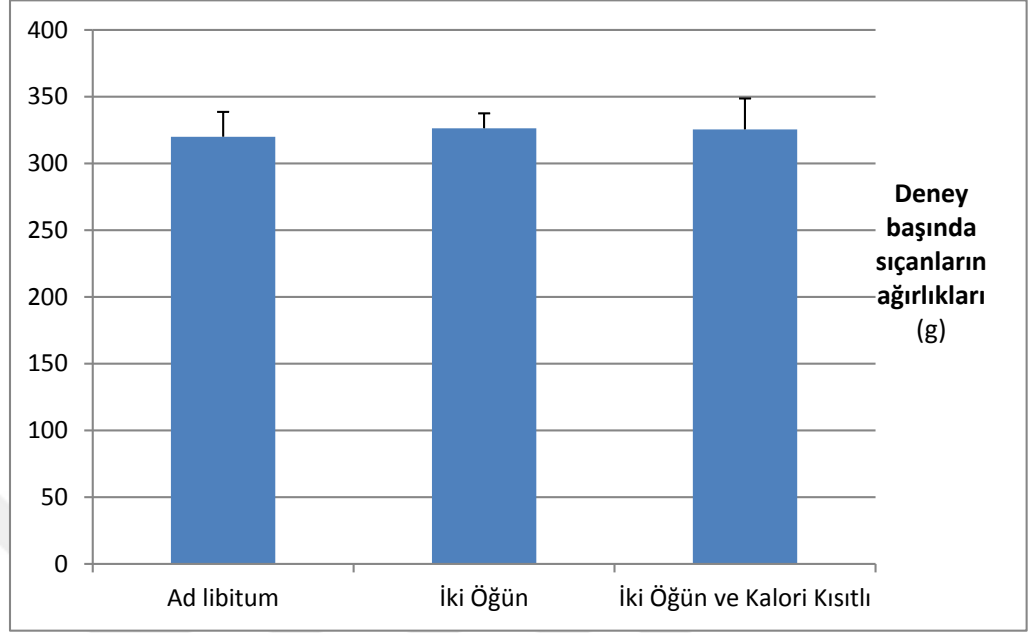
Deney Başlangıcı ve Sonunda Sıçanların Ağırlığı (g)	Gruplar	N	Deney Başında Ağırlık Ortalama± Standart Sapma	Deney Sonunda Ağırlık Ortalama± Standart Sapma
	AL	8	320,00±18,58	420,88±38,25
İÖ	8	326,37±11,21	298,25±26,95	
İÖ-KK	8	325,50±23,19	276,25±12,41	

Açıklama: AL: Ad libitum, İÖ: İki Öğün, İÖ-KK: İki Öğün ve Kalori Kısıtlı.

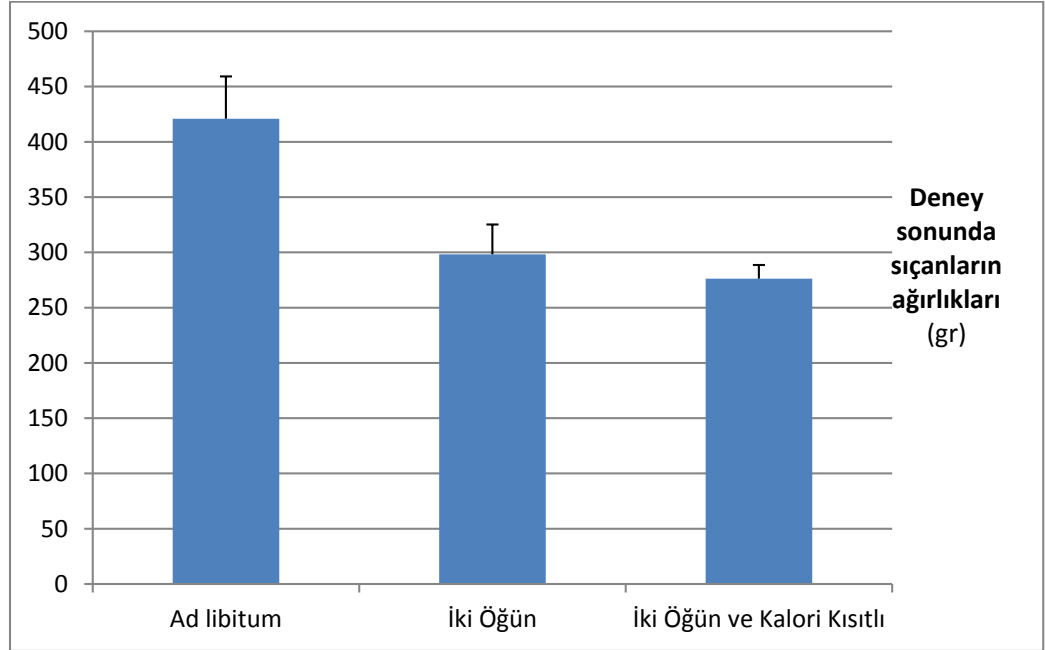
Deneye başlanacağı zaman, deney ve kontrol gruplarında sıçanların ağırlıkları ölçüldü. Her üç grupta da değerlerin birbirine yakın olduğu görüldü ve yapılan analizde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (Kruskall Wallis Test; $p>0,05$). 20 haftalık deney sonunda, deney ve kontrol gruplarında sıçanların ağırlıkları ölçüldüğünde gruplar arasında farklılıklar görüldü. Yapılan istatistik analizde, Kruskall Wallis Test ile bakıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p<0,05$). Sıçanların ağırlıkları için gruplar arasındaki farklılığın hangi gruplar arasındaki farktan kaynaklandığını bulmak için Mann Whitney U test uygulandı. AL ve İÖ-KK grupları arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0,001$). AL ve İÖ arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0,001$). İÖ ve İÖ-KK grupları arasında anlamlı farklılık saptandı ($p=0,038$).

Wilcoxon Signed Ranks Test ile deney başlangıç ve sonu arasındaki 24 sıçanın ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,715$). Fakat her grup kendi içinde, deney başlangıç ve sonu arasındaki ağırlıkları yönünden Wilcoxon Signed Ranks Test ile karşılaştırıldığında, üç grup için de anlamlı farklılık bulundu (AL: $p=0,012$, İÖ: $p=0,042$, İÖ-KK: $p=0,012$). 20 haftalık beslenme ile AL grubunda sıçan ağırlıkları anlamlı olarak artarken, İÖ ve İÖ-KK gruplarında azalmıştır.

Grafik 1: Deney başında sıçanların ağırlıkları (g)



Grafik 2: Deney sonunda sıçanların ağırlıkları (g)



Deney Boyunca Sıçanların Ağırlık Değişimleri

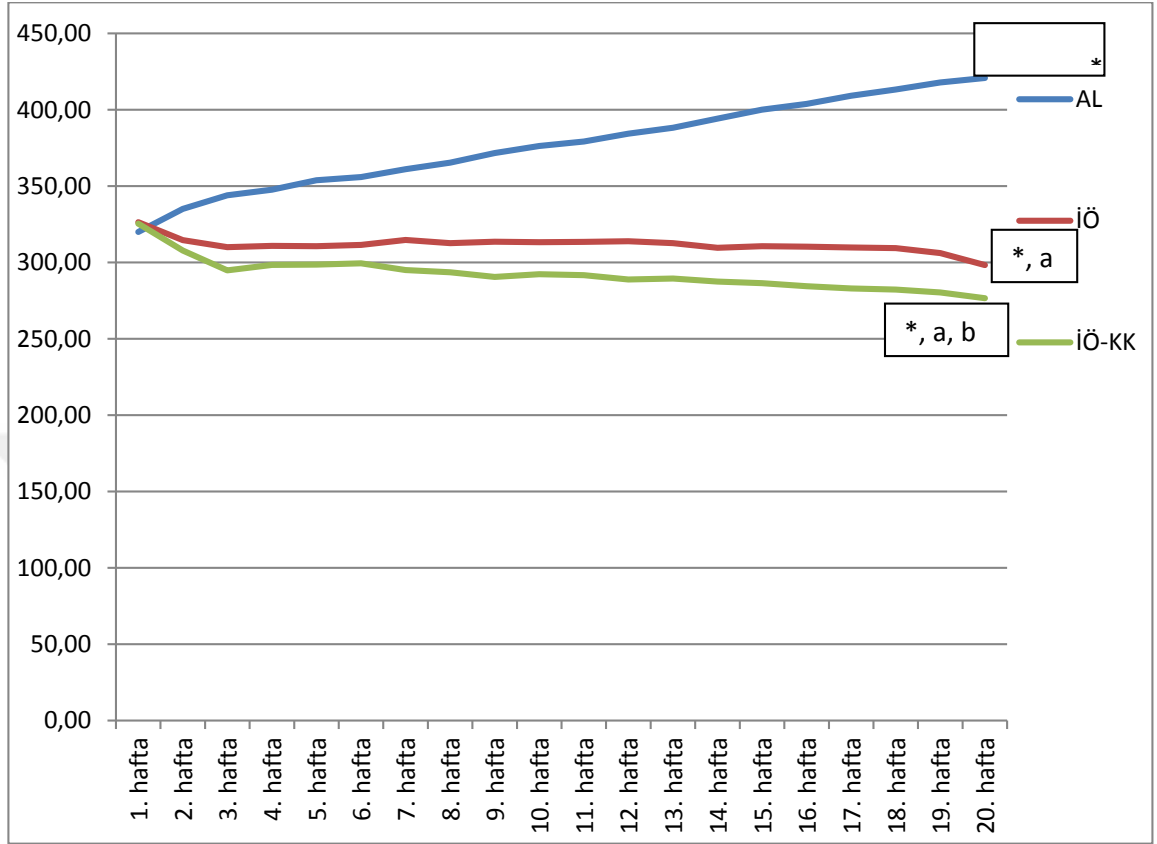
Tablo 8: Deney boyunca grupların ağırlık ortalaması: (g)

	AL	İÖ	İÖ-KK
1. hafta	320	326,38	325,5
2. hafta	335,13	314,63	307,88
3. hafta	344	310	294,88
4. hafta	347,63	310,88	298,38
5. hafta	353,88	310,63	298,63
6. hafta	356	311,5	299,5
7. hafta	361,13	314,75	295
8. hafta	365,38	312,63	293,63
9. hafta	371,63	313,63	290,5
10. hafta	376,25	313,25	292,38
11. hafta	379,25	313,5	291,75
12. hafta	384,38	313,88	288,88
13. hafta	388,25	312,63	289,5
14. hafta	394,25	309,63	287,5
15. hafta	400,13	310,63	286,5
16. hafta	403,88	310,38	284,5
17. hafta	409,25	309,88	283
18. hafta	413,25	309,38	282,25
19. hafta	417,88	306,13	280,38
20. hafta	420,88	298,25	276,63

Açıklama: AL: Ad libitum, İÖ: İki Öğün, İÖ-KK: İki Öğün ve Kalori Kısıtlı.

AL grubunda giderek ağırlık artarken, diğer iki grupta düşmüştür.

Grafik 3: Deney boyunca sıçanların ağırlık değişimleri



Açıklama: AL: Ad libitum, İÖ: İki Öğün, İÖ-KK: İki Öğün ve Kalori Kısıtlı.

*: Grup içi her bir grup için 1. Hafta ile 20. Hafta ile karşılaştırıldığında anlamlılığı ifade eder.

a: 20. Hafta sonunda gruplar arası karşılaştırmada AL grubuna göre anlamlılığı ifade eder.

b: Hafta sonunda gruplar arası karşılaştırmada İÖ grubuna göre anlamlılığı ifade eder.

Gruplara bakıldığında; AL grubunda sıçanların ağırlıkları giderek artmıştır. İÖ ve İÖ-KK grubunda ise vücut ağırlıkları azalmıştır. Neticede öğün sıklığı uygulanması ve kalori kısıtlaması vücut ağırlığını azaltmıştır.

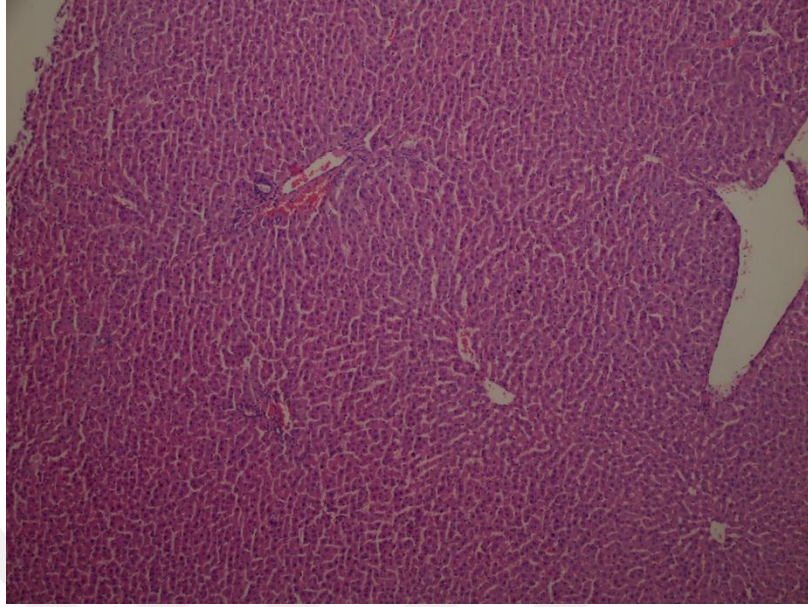
4.4. Histopatolojik inceleme bulguları

4.4.1. Karaciğere ait histopatolojik inceleme bulguları

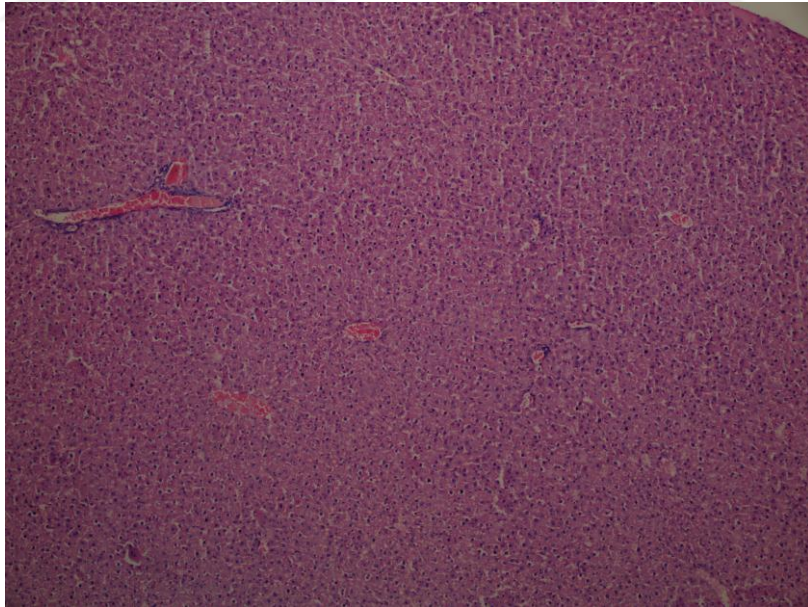
Sıçan KARACİĞER HİSTOPATOLOJİK İNCELEMESİ:

TABLO 9: SIÇAN KARACİĞER HİSTOPATOLOJİK İNCELEME:						
Grup	No	Granülarite	Hepatosit dizilimi değişikliği	Yağlanma	İnflamasyon	Fibrozis
İÖ-KK	1	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	2	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	3	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	4	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	5	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal
	6	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal
	7	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	8	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
İÖ	9	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	10	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	11	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	12	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	14	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	15	Belirgin	Var	Normal	Normal	Normal
	16	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal
AL	17	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal
	18	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	19	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	20	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	21	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal
	22	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal
	23	Belirgin	Var	Normal	Normal	Normal
	24	Belirgin	Var	Normal	Normal	Normal

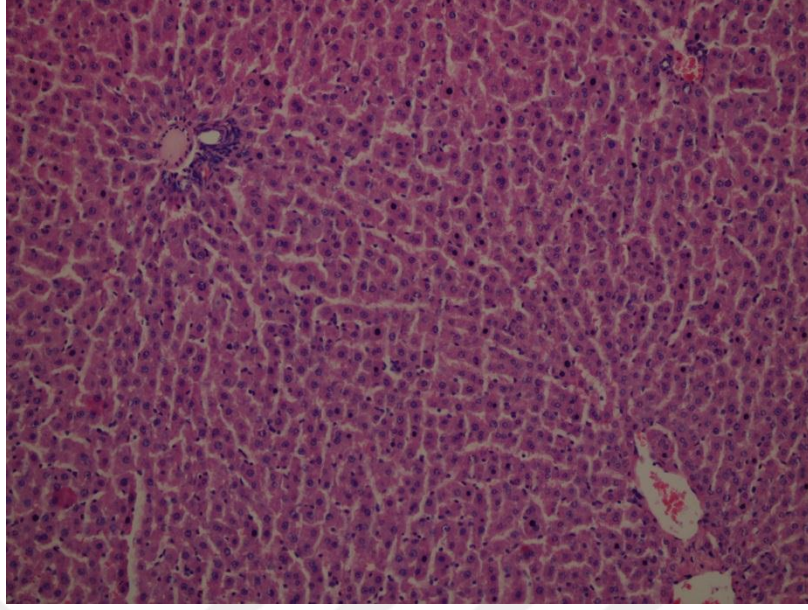
Açıklama: AL: Ad libitum, İÖ: İki Öğün, İÖ-KK: İki Öğün ve Kalori Kısıtlı.



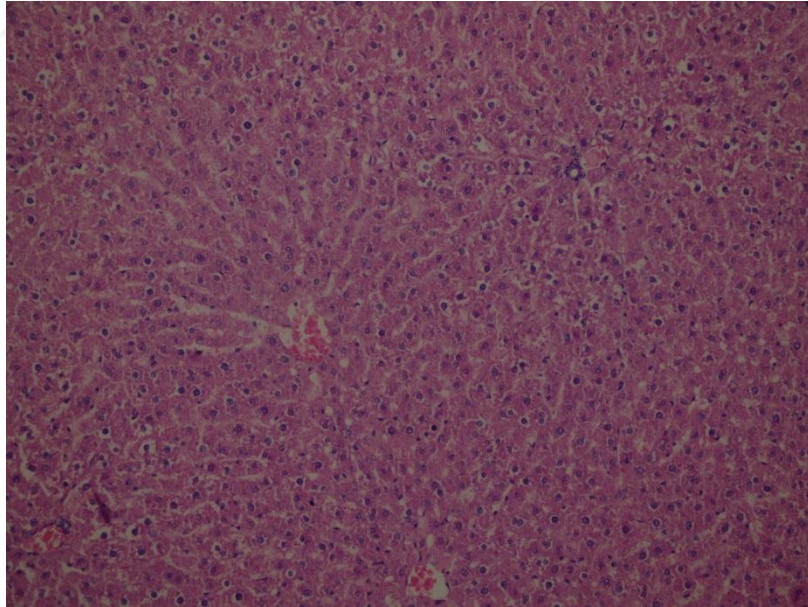
Resim 12: Sıçan karaciğeri. Normal dizilim. 40X görünüm.



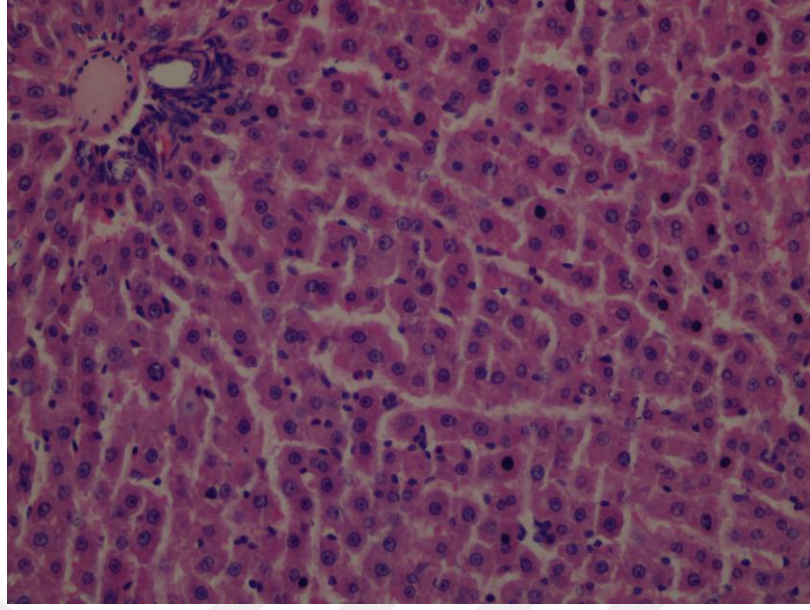
Resim 13: Sıçan karaciğeri. Değişmiş dizilim. 40X görünüm.



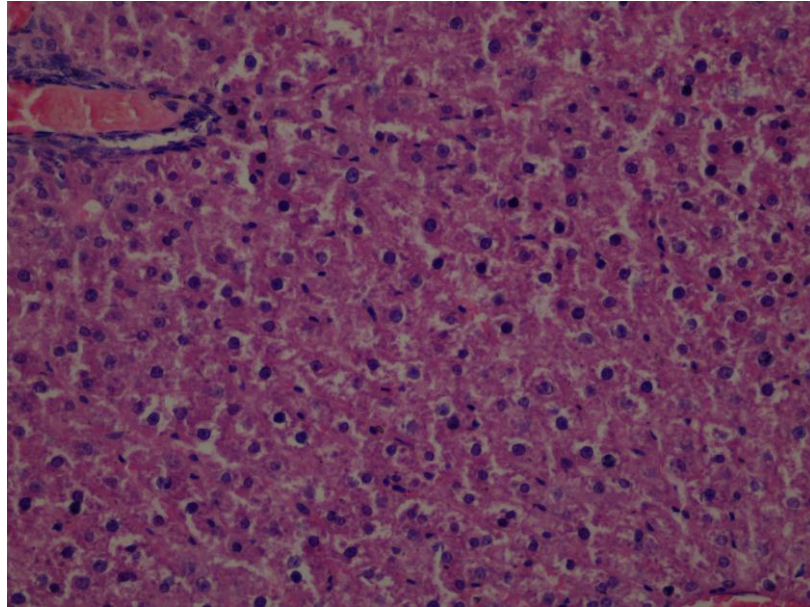
Resim 14: Sıçan karaciğeri. Granülarite hafif dizilim. Normal. 100X görünüm.



Resim 15: Sıçan karaciğeri. Granülarite belirgin dizilim. Normal. 100X görünüm.



Resim 16: Sıçan karaciğeri. Granülarite hafif dizilim. Normal. 200X görünüm.



Resim 17: Sıçan karaciğeri. Granülarite belirgin dizilim. Bozuk. 200X görünüm.

TABLO 10: Karaciğer Dokusunda Gözlenen Yapısal Değişikliklerin Özeti

Deney Grupları	Kontrol (Ad libitum)			İki öğün			İki Öğün ve Kalori Kısıtlı		
	(-)	(+)	(++)	(-)	(+)	(++)	(-)	(+)	(++)
Granülarite	0	6	2	1	5	2	0	4	4
Hepatosit dizilimi değişikliği	8	0	0	7	0	1	6	0	2
Yağlanma	8	0	0	8	0	0	8	0	0
İnflamasyon	8	0	0	8	0	0	8	0	0
Fibrozis	8	0	0	8	0	0	8	0	0

Karaciğer histopatolojisine dair bulgular:

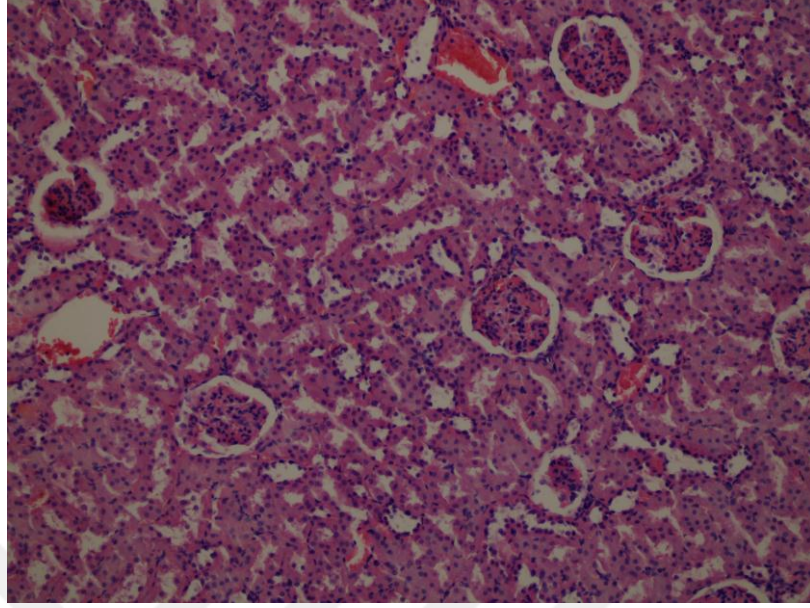
Yapılan istatistiksel analizde, Kruskal-Wallis test ile bakıldığında; karaciğerde yağlanma, inflamasyon ve fibrozis oluşmadığı ve gruplar arasında herhangi bir istatistiksel farklılık bulunmadığı görüldü ($p>0,05$). Sıçan karaciğerinde hafif granülasyon görülmesi normal karşılanabilir. Histopatolojik incelemede ortaya çıkan granülarite açısından gruplar değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı görüldü ($p=0,407$). Histopatolojik incelemede ortaya çıkan hepatosit dizilim değişikliği açısından gruplar değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı görüldü ($p=0,334$). Karaciğer histopatolojisinin incelenmesi sonucunda, uygulanan beslenme biçimlerinin yani öğün sıklığı uygulamalarının ve kalori kısıtlamasının karaciğerde hasar oluşturmadığı ortaya çıktı.

4.4.2. Böbreğe ait histopatolojik inceleme bulguları

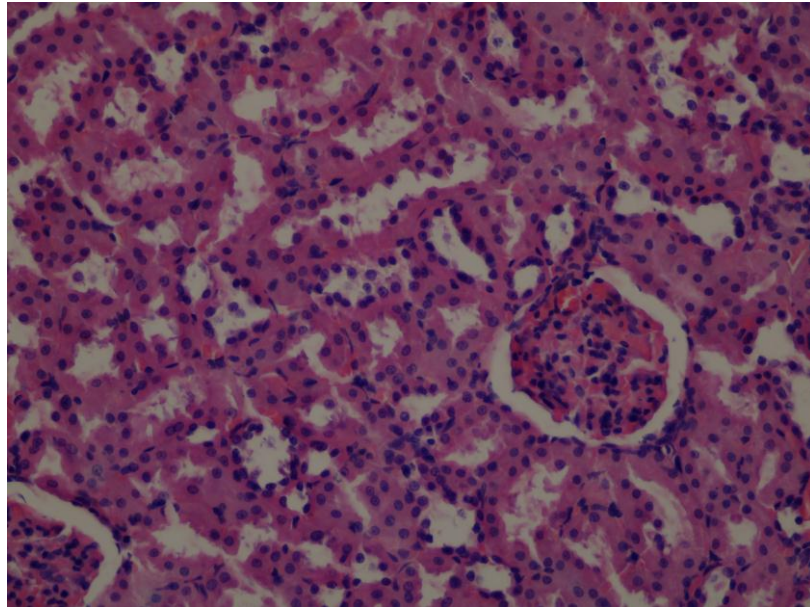
Sıçan Böbrek Histopatolojik İnceleme:

TABLO 11: SIÇAN BÖBREK HİSTOPATOLOJİK İNCELEME:							
Grup	No	Kortikal tübülerde pigment birikimi	Tübüler hasar	İnflamasyon	Tübüler dilatasyon	Tübüler dökülme	Glomerül
AL	1	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	2	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	3	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	4	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	5	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	6	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	7	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	8	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
İÖ	9	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	10	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	11	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	12	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	13	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	14	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	15	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	16	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
İÖ-KK	17	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	18	Belirgin	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	19	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	20	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	21	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	22	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	23	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
	24	Hafif	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal

Açıklama: AL: Ad libitum, İÖ: İki Öğün, İÖ-KK: İki Öğün ve Kalori Kısıtlı.

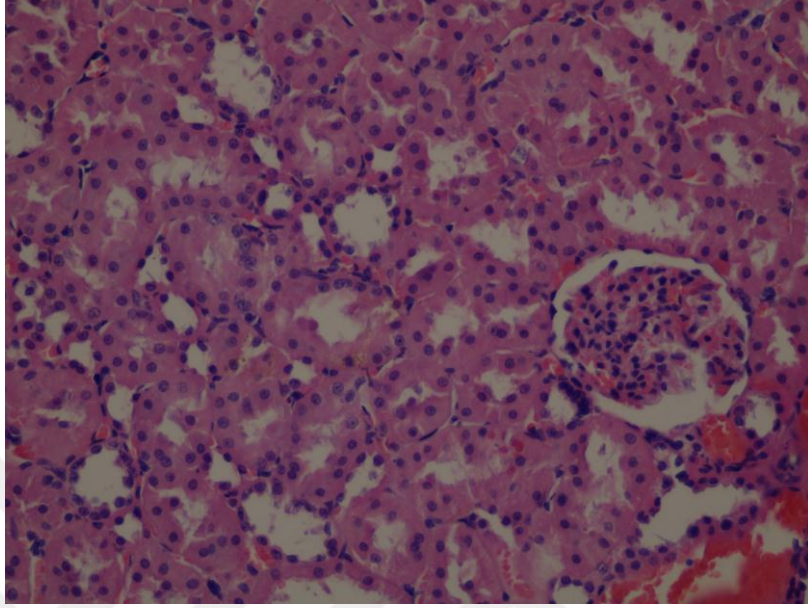


Resim 18: Sıçan böbrek. Normal. 100X görünüm.

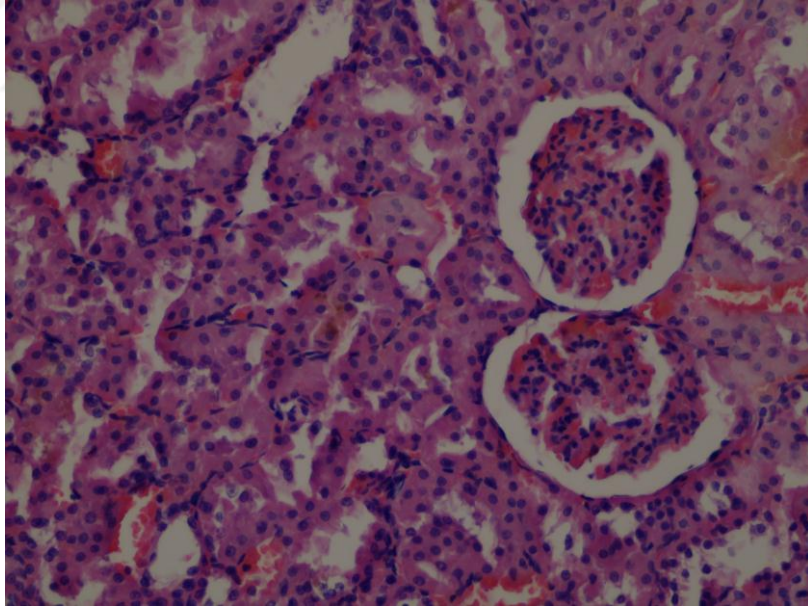


Resim 19: Sıçan böbrek. Normal. 200X görünüm.

Resim 20 A)

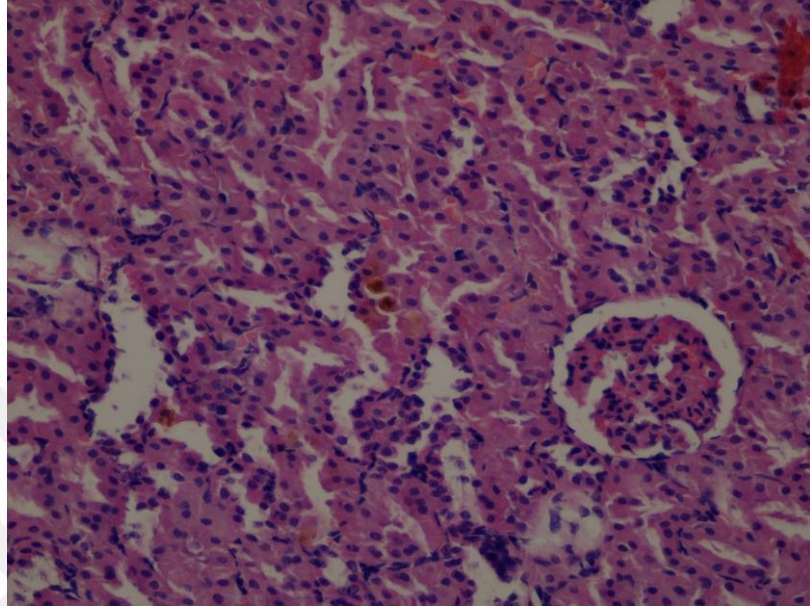


Resim 20 B)

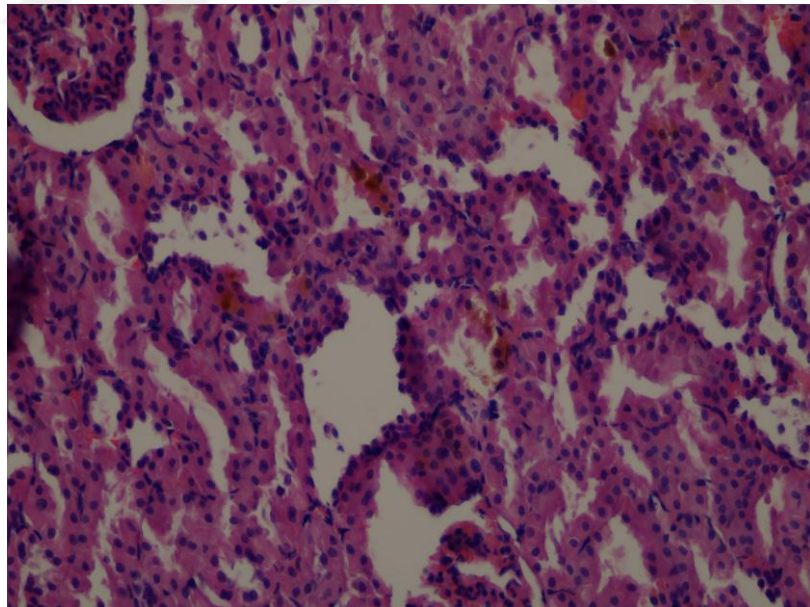


Resim 20 A ve B: Sıçan böbrek. Zayıf pigment birikimi. 200X görünüm.

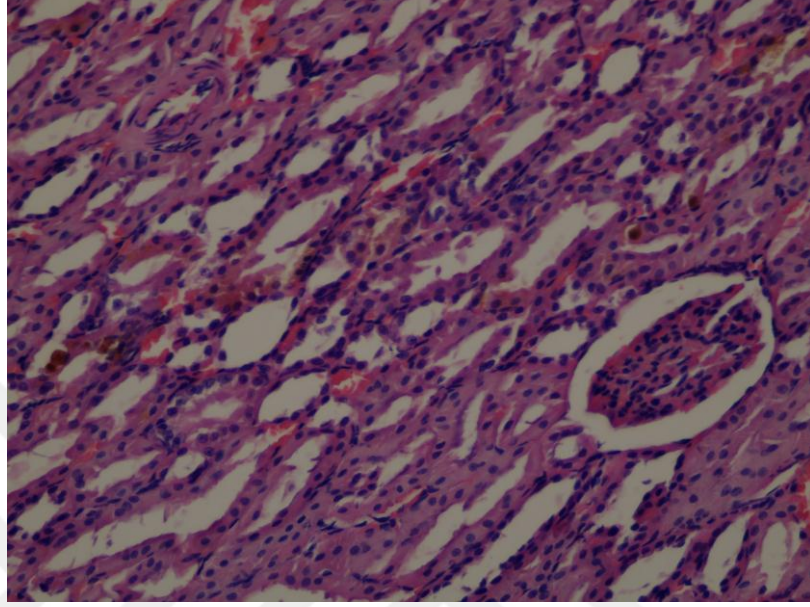
Resim 21 A)



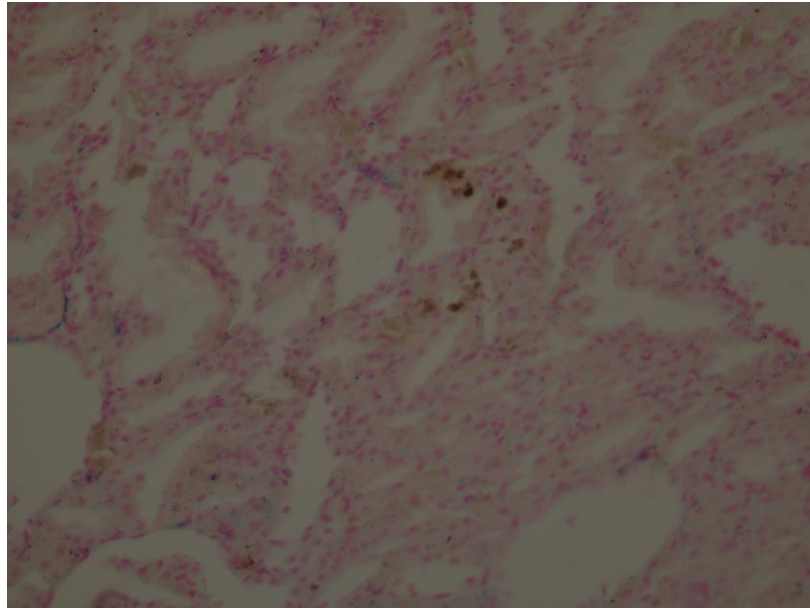
Resim 21 B)



Resim 21 C)



Resim 21 A, B ve C: Sıçan böbrek. Belirgin pigment birikimi. 200X görünüm.



Resim 22: Sıçan böbrek. Belirgin pigment birikimi. Prusya mavisi negatif. 200X görünüm.

Tablo 12: Böbrek Dokusunda Gözlenen Yapısal Değişikliklerin Özeti

Deney Grupları	Kontrol (Ad libitum)			İki öğün			İki Öğün Kısıtlı		
	(-)	(+)	(++)	(-)	(+)	(++)	(-)	(+)	(++)
Kortikal pigment birikimi tübülde	4	3	1	1	1	6	5	2	1
Tübüler hasar	8	0	0	8	0	0	8	0	0
İnflamasyon	8	0	0	8	0	0	8	0	0
Tübüler dilatasyon	8	0	0	8	0	0	8	0	0
Glomerüler yapı	8	0	0	8	0	0	8	0	0

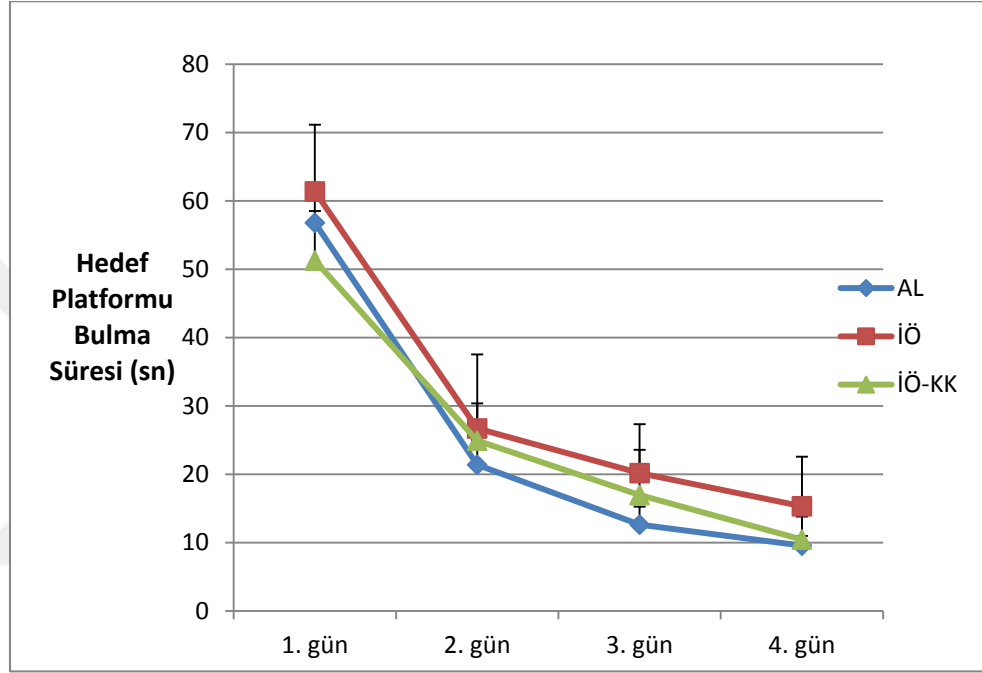
Böbrek histopatolojik incelenmesine dair bulgular:

Yapılan istatistiksel analizde, Kruskal-Wallis test ile bakıldığında; tübüler hasar, inflamasyon, tübüler dilatasyon, glomerüler yapı yönünden gruplar arasında herhangi bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Böylelikle uygulanan beslenme biçimi ile yani öğün sıklığı ayarlanması ve kalori kısıtlanması ile böbrek hasarı oluşmadığı görüldü. Fakat kortikal tübülde pigment (kast) birikimi için Kruskal-Wallis test ile istatistiksel analiz yapıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p=0,022$). Farkın hangi gruplar arasında olduğunu görmek için yapılan Mann-Whitney U test ile bakıldığında; Bonferroni düzeltmesine göre değerlendirilince; AL ile İÖ grupları arasında ($p=0,028$), AL ile İÖ-KK grupları arasında ($p=0,721$) ve İÖ ile İÖ-KK grupları arasında ($p=0,021$) anlamlı fark bulunamadı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturacak düzeyde böbrek tübüllerinde pigment (kast) oluşumu ortaya çıkmadığı görüldü. Pigment birikimi; böbrek kortikal alanı yanı sıra medüller alanda, tübüllerde oluşmuştur. Pigment birikimi proksimal tübüllerde, tübül epitelinde ve lümeninde yer almaktadır. Pigmentler hemosiderine benzer olarak görüldü ve demir boyası uygulandı. Demir boyası sonuçları negatif olarak bulundu.

4.5. Morris su labirenti verileri

4.5.1. Eğitim dönemi verileri

Her üç grup da kendi içinde, günler arası su labirentinde öğrenme durumları değerlendirildiğinde, eğitim dönemi olan 1. günden itibaren 4. güne kadar hedef platformu bulmayı öğrendikleri görülmüştür. Tüm gruplar sistemi ikinci günden itibaren öğrenmişlerdir ($p<0.05$), (Grafik 4).



Grafik 4. Morris su labirentinde, eğitim döneminde, hedef platformu bulma sürelerinin (sn) herbir grup için günler arası değerlendirmesi.

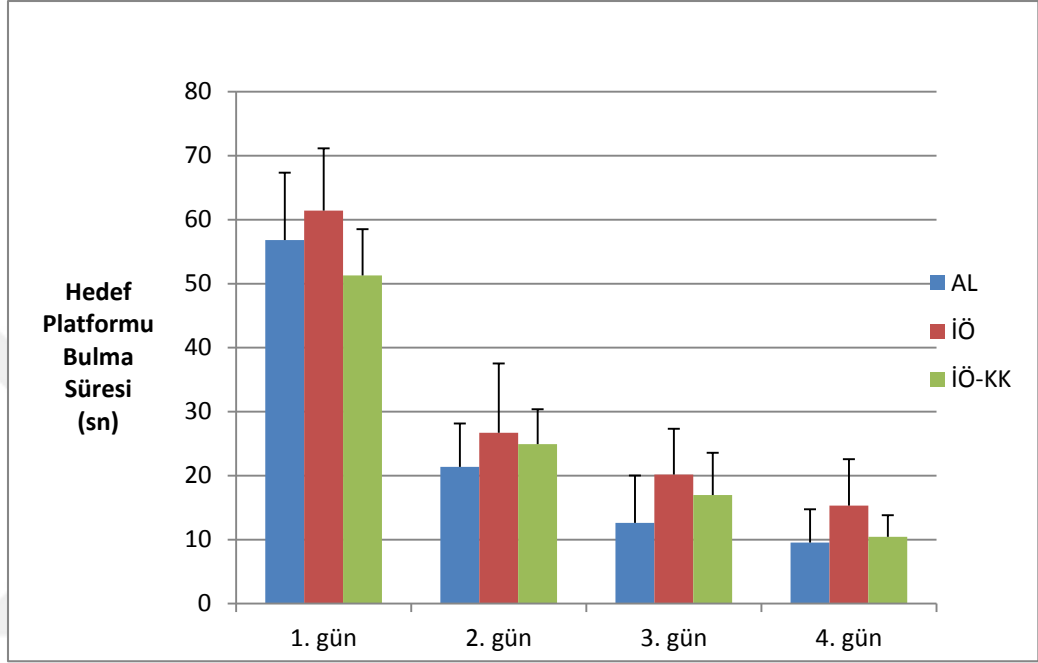
Açıklama: AL: Ad libitum beslenen grup. İÖ: İki öğün beslenen grup. İÖ-KK: İki öğün kalori kısıtlı beslenen grup. Veriler ortalama±SD olarak verilmiştir.

‘*’ 1. güne göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğunu ifade etmekte ($p<0,05$), ‘Δ’ 2. güne göre anlamlı farklılık olduğunu ifade etmektedir ($p<0,05$).

Kontrol ve deney gruplarının her bir eğitim günü için birbirleri ile ayrı ayrı karşılaştırması yapıldığında herbir eğitim günü için kontrol grubuna göre deney gruplarında platformu bulma süresi, yüzme hızı, katedilen yol açısından anlamlı bir

fark saptanmazken ($p < 0.05$), 3. ve 4. Günlerde İÖ grubunun dış kadranda yüzme süresinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (sırasıyla $p = 0.006$, $p = 0.009$).

Bu veri; İÖ grubunun öğrenme süreci devam ederken anksiyete düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğunu ifade etmektedir (Tablo 13).



Grafik 5. Morris su labirentinde, eğitim döneminde, hedef platformu bulma sürelerinin gruplar arası karşılaştırılması (Gruplar arası karşılaştırma)

Açıklama: AL: Ad libitum beslenen grup. İÖ: İki öğün beslenen grup. İÖ-KK: İki öğün kalori kısıtlı beslenen grup.

Öğrenme deneyine dair tüm verilerde ‘Ortalama \pm SD’ olarak sonuç verilmiştir. Tıbbi araştırma raporlarında, standart hata (SEM) yerine, standart sapma (SD) kullanılmalıdır. Çünkü standart hata örnek büyüklüğünün fonksiyonudur. Böylece n sayısı artırılarak hata küçültülebilir. Tanımsal olarak SEM ortalamalarla ilgilidir. Deneklerle ilgili değildir. Sağlık araştırmalarında istenen, araştırma sonuçlarını genel olarak grup yerine, tek tek deneklere tatbik etmektir. Genişlik (Ortalama \pm SEM), örnek ortalamalarının yaklaşık % 95’ini kapsar. Fakat denekler üzerindeki gözlemlerin % 95’ini kapsamaz. Bunun için Ortalama \pm SD gereklidir (127).

Tablo 13. Morris su labirentinde, eğitim dönemi verilerinin karşılaştırılması
(Gruplar arası değerlendirme)

Gün	Grup	Hedef Platformu Bulma Süresi (sn)	Dış Kadranda Geçirilen Ortalama Süre (sn)	Katedilen Ortalama Yol (cm)	Ortalama Hız (cm/sn)
1. Gün	AL	56,81±10,53	41,03±10,13	1000,79±245,88	18,98±3,13
	İÖ	61,41±9,75	42,18±8,12	1102,21±326,02	19,37±5,06
	İÖ-KK	51,28±7,24	32,54±8,49	888,41±206,45	19,58±2,68
2. Gün	AL	21,38±6,77	10,91±5,11	418,40±151,13	19,60±1,46
	İÖ	26,70±10,84	14,76±7,51	552,01±206,59	19,99±3,38
	İÖ-KK	24,93±5,45	10,06±3,89	511,75±135,25	19,24±3,39
3. Gün	AL	12,63±7,39	2,53±3,60	230,76±142,67	17,23±1,54
	İÖ	20,18±7,14	7,89±4,48*	358,11±123,78	17,01±2,17
	İÖ-KK	16,97±6,61	3,47±2,28	323,51±169,16	18,24±2,53
4. Gün	AL	9,55±5,19	1,49±1,21	157,11±74,28	17,79±2,41
	İÖ	15,33±7,24	6,46±5,41*	245,54±98,22	16,78±2,31
	İÖ-KK	10,45±3,37	2,52±1,58	176,41±64,47	17,45±3,64

Açıklama: AL: Ad libitum beslenen grup. İÖ: İki öğün beslenen grup. İÖ-KK: İki öğün kalori kısıtlı beslenen grup. “*” ile AL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir (p<0,05).

Morris su labirentinde, herbir eğitim günü için ölçülen veriler. AL: Ad libitum beslenen grup. İÖ: İki öğün beslenen grup. İÖ-KK: İki öğün kalori kısıtlı beslenen grup. Veriler ortalama±St. Sapma olarak verilmiştir.

4.5.2. Probe test verileri

Öğrenilen bilgilerin 'Probe test' ile kaydedilen verileri değerlendirildiğinde, hedef kadranda geçirilen ortalama süre, ortalama hız ve katedilen ortalama yol parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 15).

Tablo 15. Morris su labirenti probe test verileri

Gruplar	AL	İÖ	İÖ-KK
Hedef kadranda geçirilen ortalama süre (sn)	15,19±5,91	12,94±8,79	16,33±7,52
Ortalama hız (sn)	19,38±2,59	18,58±4,26	19,79±3,05
Katedilen ortalama yol (cm)	1161,76±155,19	1113,36±255,16	1186,23±182,74

Açıklama: AL: Ad libitum beslenen grup. İÖ: İki öğün beslenen grup. İÖ-KK: İki öğün kalori kısıtlı beslenen grup. Veriler ortalama±SD olarak verilmiştir.

4.5.3. Görünür platform test verileri

Görünür platform testinde, görünür platformu bulma süresi, ortalama hız ve katedilen yol verileri esas alınmış ve gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 16).

Tablo 16. Grupların görünür platform verilerinin karşılaştırılması

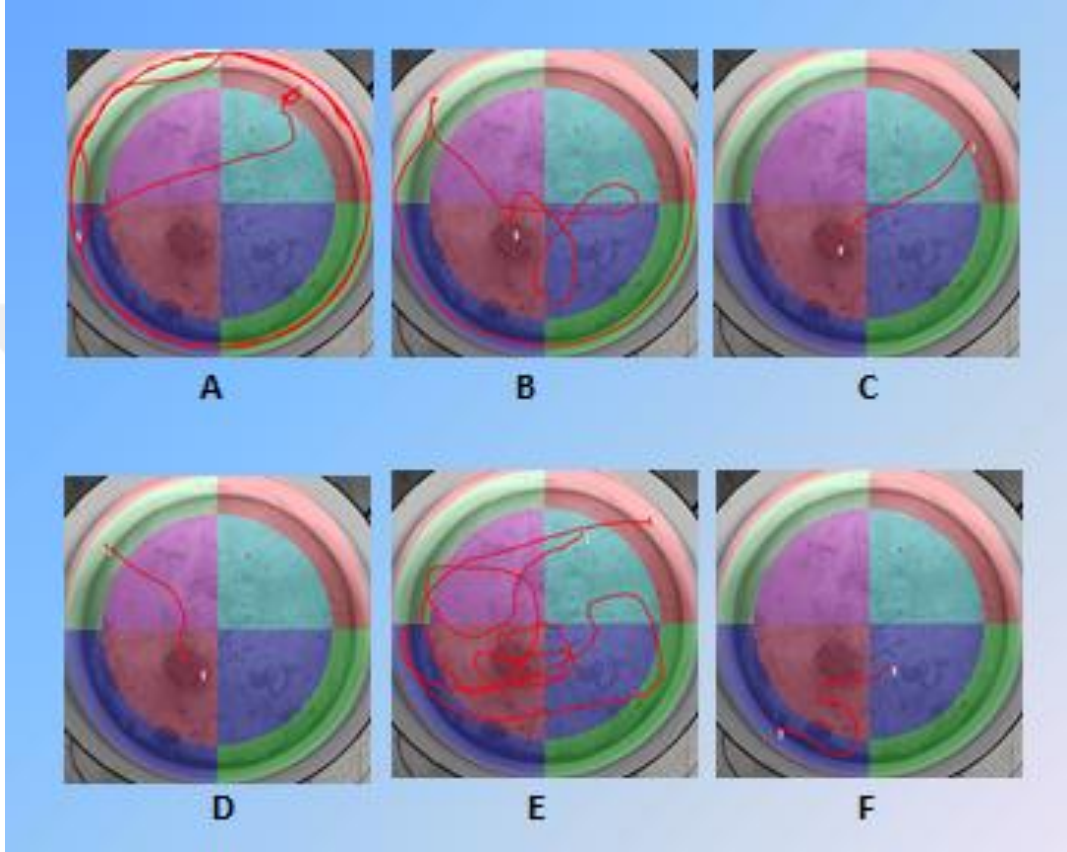
Gruplar	AL	İÖ	İÖ-KK
Görünür platformu bulma süresi (sn)	4,92±4,66	7,71±9,36	5,42±4,83
Ortalama hız (sn)	20,54±5,71	19,95±7,07	20,46±6,28
Katedilen ortalama yol (cm)	94,25±52,73	124,40±113,90	98,55±47,71

Açıklama: AL: Ad libitum beslenen grup. İÖ: İki öğün beslenen grup. İÖ-KK: İki öğün kalori kısıtlı beslenen grup. Veriler ortalama±SD olarak verilmiştir.

AL, İÖ ve İÖ-KK gruplarından örnek şekil oluşturması için, birer sıçana ait Water Mase, Probe test ve Visible test yüzme rotaları, Resim 23, 24 ve 25’de sunulmuştur.

ÖĞRENME DENEYİNDE SIÇANLARIN İZLEDİĞİ ROTALAR

Resim 23: Ad libitum grubundaki bir sıçana ait Water Mase, Probe test ve Visible test yüzme rotaları:



Açıklama:

A: Ad libitum grubundaki sıçana ait 1. Gün Water Mase yüzme rotası.

B: Ad libitum grubundaki sıçana ait 2. Gün Water Mase yüzme rotası.

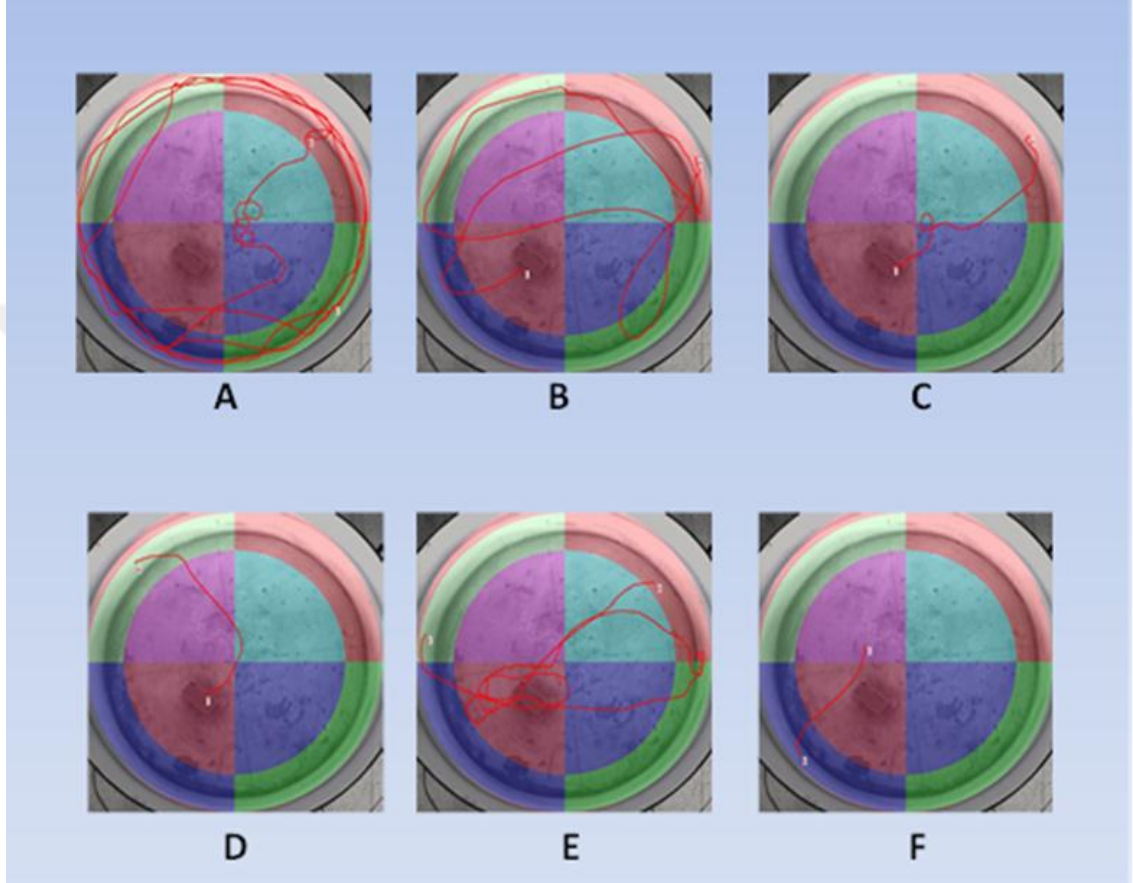
C: Ad libitum grubundaki sıçana ait 3. Gün Water Mase yüzme rotası.

D: Ad libitum grubundaki sıçana ait 4. Gün Water Mase yüzme rotası.

E: Ad libitum grubundaki sıçana ait Probe test yüzme rotası.

F: Ad libitum grubundaki sıçana ait Visible test yüzme rotası.

Resim 24: İki Öğün grubundaki bir sıçana ait Water Mase, Probe test ve Visible test yüzme rotaları:



Açıklama:

A: İki öğün grubundaki sıçana ait 1. Gün Water Mase yüzme rotası.

B: İki öğün grubundaki sıçana ait 2. Gün Water Mase yüzme rotası.

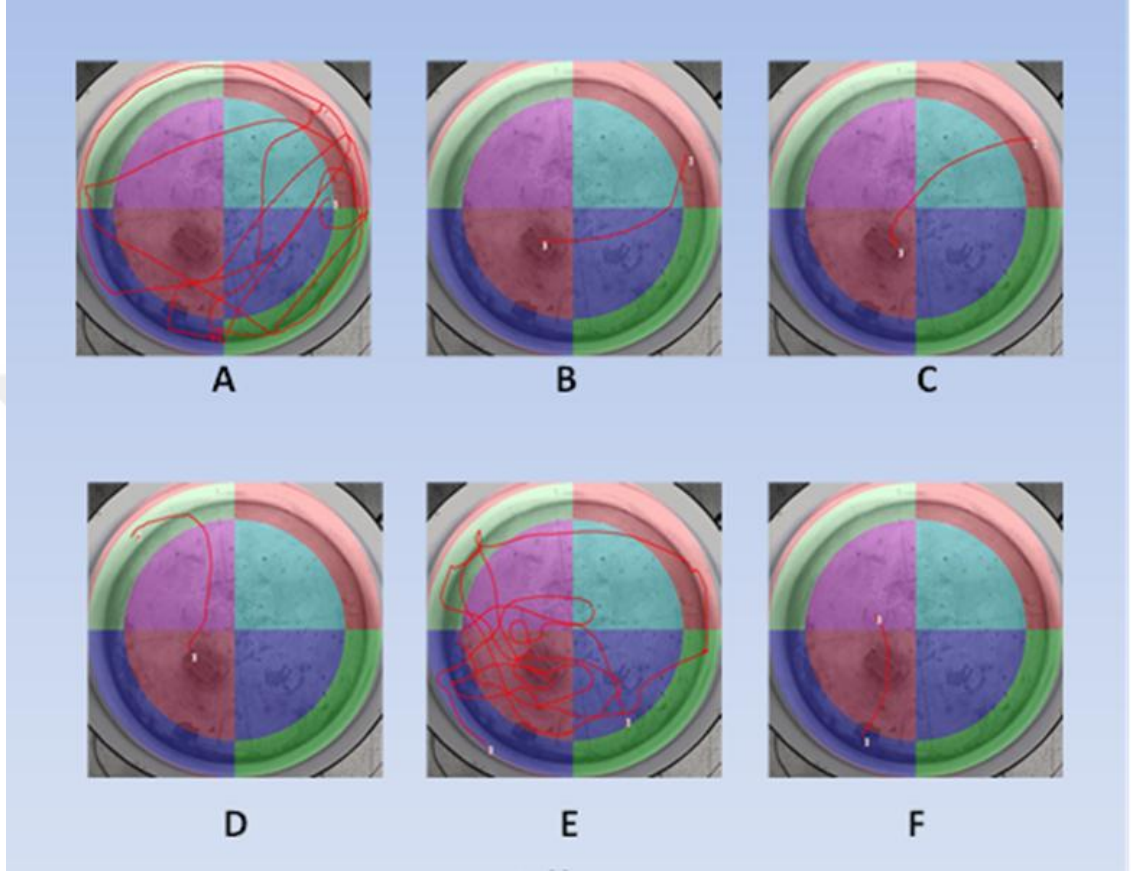
C: İki öğün grubundaki sıçana ait 3. Gün Water Mase yüzme rotası.

D: İki öğün grubundaki sıçana ait 4. Gün Water Mase yüzme rotası.

E: İki öğün grubundaki sıçana ait Probe test yüzme rotası.

F: İki öğün grubundaki sıçana ait Visible test yüzme rotası.

Resim 25: İki Öğün ve Kalori Kısıtlı grubundaki bir sıçana ait Water Mase, Probe test ve Visible test yüzme rotaları:



Açıklama:

A: İki öğün ve kalori kısıtlı grubundaki sıçana ait 1. Gün Water Mase yüzme rotası.

B: İki öğün ve kalori kısıtlı grubundaki sıçana ait 2. Gün Water Mase yüzme rotası.

C: İki öğün ve kalori kısıtlı grubundaki sıçana ait 3. Gün Water Mase yüzme rotası.

D: İki öğün ve kalori kısıtlı grubundaki sıçana ait 4. Gün Water Mase yüzme rotası.

E: İki öğün ve kalori kısıtlı grubundaki sıçana ait Probe test yüzme rotası.

F: İki öğün ve kalori kısıtlı grubundaki sıçana ait Visible test yüzme rotası.

5. TARTIŞMA

Obezite, insülin direnci ve metabolizma hızı ile öğün sıklığı ve kalori kısıtlaması ilişkisi

İbn-i Sina, Ortaçağ'ın en önemli bilimadamı, tıp hekimidir. Onun yazdığı 200'den fazla tıp kitapları Ortaçağ'da bütün tıp okullarında okutuluyordu. İbn-i Sina, 'İki öğün sağlıklıdır, üçüncü öğün hastalıktır' der.

Sık beslenmenin metabolizmayı aktif tuttuğu değil rolantide tuttuğu söylenebilir. Bunun aksine 2 öğün beslenme metabolizmayı daha aktif ve daha güçlü tutmaktadır. Yani metabolizmada yer alan enzim miktarları artmaktadır. Dolayısıyla metabolizma daha aktiftir, bir diğer ifadeyle metabolize etme gücü daha yüksektir. Enzimlerin miktarı arttığı için fazla miktarda besin sorunsuz bir şekilde metabolize edilebilecektir. Sık yemek metabolizmayı tembelleştirmektedir, operasyonel kabiliyeti düşük kalmaktadır. Metabolize etme gücü düşük olduğu için fazla miktarda yemek yendiği zaman yetersizlik olabilecektir.

Başlangıçta ad libitum beslenmeyle aynı miktarda yemi yiyen iki öğün beslenme grubu zaman içerisinde kilo almaz iken, ad libitum kilo almıştır. Aslında vücuda yeter miktar gıda alınmaktadır. Durum tesbiti yapan belirteçler bunu doğrulamaktadır. Ancak ad libitum beslenme zaman içerisinde daha fazla yemeye ve kilo almaya yol açmaktadır. İki öğün beslenmenin kilo almaması metabolizma hızının artmasıyla da ilişkilendirilebilir.

Ad libitum beslenmeye göre kan şekerindeki ve buna paralel olarak insülin düzeyindeki kısmi düşüklük HOMA indeksi düşüklüğü ile sonuçlanmıştır. Bunun anlamı iki öğün beslenmeye göre ad libitum beslenme insülin direncine gidişi artırmaktadır. Nitekim insülin direnci ile diyabet ve obezite gibi birçok kronik hastalıkla ilişkilendirilmektedir (128 - 131). Ad libitum beslenmedeki kilo artışına HOMA indeksindeki yükseklik de katkı sağlamış olabilir.

İki öğün beslenme kolesterol sentezi kontrol basamağı enzimi HMG KoA Redüktazı ve kolesterol düzeylerini artırtmaktadır. Bu bir olumsuzluk olarak kabul edilebilir mi konusu tartışmalıdır. Nitekim kalori kısıtlaması yaşam süresini ve yaşlanmakla ortaya çıkan hastalıkları hem geciktirmekte hem de hafifletmektedir

(132). Belki de metabolizmanın hızlı olması durumunda kolesterol yüksekliği bir dezavantaj olmaktan çıkmaktadır. Kolesterolün yüksekliğinin zararlı olmadığı konusu da tartışmalı bir konudur (133 - 136). Belki de kolesterol yüksekliğinin olumlu veya olumsuz etkileri farklı beslenme modellerinde yeniden incelenmelidir.

Bulduğumuz sonuçlardaki hafif yüksekliklerin anlamlı olmaması vaka sayısından kaynaklanabilir. Deney hayvanlarında çalıştığımız için gruptaki hayvan sayılarını kısıtlı olarak tuttuk.

Bunun yanında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, gerek gruplar arasındaki ve gerekse birbiriyle ilişkili parametreler arasındaki uyumlu değişiklikler bizim yorumlarımızı destekler mahiyettedir.

HOMA indeksinde gruplar arasındaki anlamlı farklılığın, İÖ ve İÖ-KK gruplarında, AL grubuna göre, insülin direncine gidişi durdurması açısından oluşturacağı sonuçları görmek için insülin direnci ile hastalıklar arasındaki moleküler mekanizmalara ve ilişkilere bakılmalıdır:

İnsülin direnci: Metabolik yönden; Sık sık, az miktarda ve düşük kalorili beslenme, sürekli insülin salınımına ve bağlantılı olarak leptin salınımına neden olacaktır. Uzun dönemde, leptin ve insülin direnci gelişecektir. İnsülin direnci, karaciğer, kas ve yağ doku fonksiyonlarına insülinin etki yeteneğinin azaldığı durumdur (137).

Leptin ve insülin direncinin sonucu olarak, göbek yağlanması, karaciğer yağlanması ve neticede obezite gelişecektir. Bu süreci durdurabilmek ve sağlıklı vücut kitle indeksine sahip olabilmek için, sık beslenme diyetlerinden kaçınmak ve dengeli, doğal, glisemik indeksi düşük gıdalarla beslenmek şarttır. Bunlara ek olarak fiziksel aktivitenin önemini de vurgulamak gerekir. Fiziksel aktivite, kalori dengesini sağlayacak ve yağ dokuyu azaltacak, bu sayede leptin ve insülin direncinin önüne geçilecektir (138).

Kilo fazlalığı ve obezite tüm kanser vakalarının yaklaşık olarak % 20'si ile ilişkilendirilebilir. Obezite ile ilişkisi bulunan kanser türleri olarak; özefagus, tiroit, kolon, renal, karaciğer, melanom, multiplmyelom, mesane, rektum, lösemi, lenfoma, erkekler için prostat, kadınlar için menopoz sonrası göğüs ve endometrium kanserleri sayılabilir (139).

İnsülin Direnci ve Beslenme: Bir bilim olarak beslenme (nutrition) en geniş anlamda gıdalar ve gıdaları oluşturan besinler bilimi olarak tanımlanır ve gıdalar ile sağlık arasındaki ilişkiyi araştırır (140).

İnsülin direnci ile ilişkili; metabolik sendrom, diyabet, hipertansiyon, dislipidemi, gibi hastalıkların ve komplikasyonlarının önlenmesinde ve tedavisinde beslenmenin düzenlenmesi önemli bir yer tutmaktadır. İnsülin direncinin başlangıç aşamalarındaki bireyler, beslenme düzenlenmesi ve egzersiz sayesinde ideal kilolarına ulaştıklarında ve ideal kiloyu uzun süreli koruduklarında; hipertansiyon, diyabet ve dislipidemisinin önüne geçilmesi mümkün olmaktadır (141).

Kilo kontrolünü amaçlayan çok sayıda diyet modeli mevcuttur. Temel prensip, tüketilen kaloriyi kısıtlamak, karbonhidrat veya protein kısıtlaması gibi makrobesin dengesini sağlamak ve egzersiz programı ile desteklemektir (142).

Karbonhidrat kısıtlaması, yağ ve kalori kısıtlaması, Akdeniz diyeti gibi farklı diyet modelleri arasında, iki yıla kadar süreli kısa dönem açısından kilo kaybettirici açıdan anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Karbonhidrat miktarı kısıtlanmış diyetlerin serum glikoz ve insülin seviyelerinde düşüşe yol açabileceği gösterilmiştir. İnsülin direncinin beslenme desteği ile önlenmesi için karbonhidrat ve toplam kalori kısıtlaması yapılması ve düzenli egzersiz ile bu diyetin takviye edilmesi gerekmektedir (143).

Diyet ürün olarak sunulan gıdaların da kalori içerebileceği bilinmeli, diyetten sonuç almanın uzun süreli, dengeli, egzersizle desteklenen bir diyet modeliyle mümkün olacağı unutulmamalıdır. Tip 2 DM önlenmesinde diyet konusu bir kez daha tartışılacaktır.

İnsülin Direnci ve Obezite: Besin kaynaklarının sürekli olmadığı dönemde, yaşamı sürdürebilmek için hemen kullanmak üzere ihtiyaçtan fazla enerji depolanması gerekmektedir. İnsan vücudundaki geniş yağ dokusu depolarında bulunan yağ hücreleri fazla enerjiyi trigliserid olarak depolamaya ve gerektiğinde depolanmış enerjiyi başka bölgelerde kullanılmak üzere serbest yağ asitleri olarak salmaya adapte olmuşlardır. Nöral ve endokrin sistem tarafından yönetilen yağ depolama ve kullanma sistemi uzun süreli açlığa dayanmayı sağlamaktadır. Ancak

aşırı beslenme ve sedanter yaşam tarzı birlikteliğinde, bu sistem genetik faktörlerden de etkilenecek yağ enerji depolarını çok arttırır ve olumsuz sağlık sonuçlarına yol açar. Obezite yağ doku kitlesinin aşırı olması halidir. Sıklıkla obezite artmış vücut ağırlığı ile eşdeğer görülse de bu yaklaşım her zaman doğru değildir. Yağ depoları dolu olmayan fakat kaslı bireylerde standardın üstünde vücut ağırlığı gözlenebilir. Yağlanmayı direkt olarak ölçmemesine rağmen obezitenin ölçümü için en fazla kullanılan yöntem; ağırlık/boy² formülüne eşit olan vücut kitle indekridir (VKİ). Obeziteyi ölçmek için kullanılan diğer spesifik yöntemler: antropometri (deri kıvrım kalınlığı), dansitometri (su altı ağırlığı), bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve elektrik empedanstır. VKİ değerlendirmesinde; <20: düşük, 20-25 arası: normal, 25-30 arası: fazla kilolu, >30: obez, >40: morbid obez olarak değerlendirilir. Değişik anatomik bölgelerin depolarındaki yağ dokusu dağılımı da morbidite açısından önemlidir. İntraabdominal ve subkutan yağ, kalçalarda ve alt ekstremitelerde bulunan cilt altı yağdan daha anlamlıdır. Bu ayırım en kolay bel/kalça oranı ile yapılır. Kadınlar için: >0.9, erkekler için: >1, değerleri anormal kabul edilir. İnsülin direnci, diyabet, hipertansiyon ve hiperlipidemi, kadınlarda hiperandrojenizm gibi obezite komplikasyonları, tüm vücut yağından ziyade, intraabdominal ve üst vücut yağı ile ilişkilidir. Altta yatan mekanizmanın intraabdominal adipositlerin lipolitik olarak diğer depolardakinden daha aktif olması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Neticede portal sisteme yağ asidi salınması, özellikle karaciğer olmak üzere olumsuz metabolik etkiler oluşturur. Obezite sıklığı günden güne artmaktadır. Kadınlarda, çocuklarda ve yoksul kesimde obezite sıklığı artışı dikkati çekmektedir. Tıbbi açıdan obezite prevelansı endişe vericidir (144).

Obezite insülin direncinin en sık nedenidir. Diyabet gelişmeden, öncesinde obezite ve insülin direnci birlikteliği görülebilir. Beta hücre fonksiyonları bozulmamış obez bireylerde insülin direncinin kompanse etmek için insülin sekresyonu artar. Obez bireylerde normal bireylere göre insülin sekresyonu üç kata kadar artış gösterir. Yüksek insülin düzeyleri hormonun etkisindeki azalmayı kompanse edebilir. Bu sayede glikoz konsantrasyonu normal bireylerle obez bireyler karşılaştırıldığında aynı dar aralıkta tutulabilir. Obez bireylerde insülin direnci gelişmesinden on yıl veya daha uzun bir süre sonrasında diyabet gelişebilir (145).

Obezite sıklığının erken yaşlardan itibaren artması sonucu tip 2 diyabet

görülme sıklığı gittikçe artmakta ve daha erken yaşlarda görülmektedir. Obezite gerek yağ dokusundan salınan adipokin hormonlar, gerekse özellikle visseral yağdan karaciğere gelen aşırı serbest yağ asitleri yolu ile ciddi bir insülin direncine yol açar. İnsülin direnci bozulduktan sonra, genetik yatkınlığı olan bireylerde zamanla glikoz toleransı bozulur ve açık diyabet tablosu ortaya çıkar. Hiperglisemi belirdikten sonra bile kilo verilmesi insülin direncini azaltır, hiperglisemiyi hafifletir veya düzeltir. Obezite basitçe alınan enerjinin tüketilenden fazla olması ile gelişir. Bu nedenle obezite tedavisinde basitçe, alınan enerji alımının optimumuna indirilmesi ve enerji tüketiminin yani fiziksel aktivitelerin artırılması ana ilkelerdir. Kalorisi çok ağır kısıtlanmış diyet yerine günlük 300-500 kcal arasında bir enerji eksikliği oluşturmak yeterli olacaktır. Fizik aktivite haftada 5-10 saat tempolu yürüyüş gibi planlanmalı ve makul bir şekilde artırılmalıdır. Fiziksel aktivite artışı kilo kaybını kolaylaştırıcı etkisi yanında doğrudan insülin direncini azaltıcı etki de göstermektedir. Yeni çalışmalar glikoz, früktoz, mısır şuruplarını içeren gıdaların fazla miktarda tüketilmesinin insülin direncini, tip 2 diyabet riskini ve obeziteyi özellikle arttırdığını göstermektedir (146, 147).

Obezite ile insülin direnci arasındaki moleküler ilişki uzun yıllardır araştırılan ve halen tamamen netleştirilemeyen bir konudur. Mevcut bulgular ışığında: 1- Obezitedeki hiperinsülineminin etkisi (reseptör downregulasyonu), 2- Obezite ile artan ve insülin fonksiyonlarını bozan serbest yağ asitleri, 3- İntraselüler lipid birikimi, 4- Adipositlerde üretilen, obez adipositlerinde aşırı miktarda bulunan ve insülini inhibe edebilen sitokin TNF ve interlökin (IL) 6'dır. Obezite ve insülin direnci bulunan her bireyde diyabet gelişmez. Bu durumda diyabetin ortaya çıkması için obezite sonucu, insülin direnci ve bozulmuş insülin sekresyonu ile birlikte diyabete yol açacak diğer faktörlerin de etkileşmesi gerektiği düşünülmektedir. Sonuçta obezite diyabet için önemli bir risk faktörüdür ve tip 2 diyabet hastalarının % 80 kadarı obezdir. Kilo kaybı ise artmış insülin duyarlılığı ile ilişkilidir ve sıklıkla diyabette glikoz kontrolüne yardımcı olur (148,149).

İnsülin Direnci ve Tip 2 Diyabet

Diyabet, pankreasın yeterli insülin üretememesi ya da üretilen insülinin

görevini yapamaması sonucunda, besinlerle vücuda alınan glikozun kullanılmaması ve kan şekerinin hızla yükselmesi tablosudur. Kan şekerinin yükselmesi ile ortaya çıkan belirtilerden bazıları; aşırı susuzluk hissi, sık idrara çıkma, yorgunluk, halsizlik, açıklanamayan kilo kaybıdır. Hastalığın daha da ilerlemesi durumunda görmede değişiklikler, el ve ayakta uyuşma hissi, yara iyileşmesinde gecikme ve kaşınma hissi görünebilir. Diyabet, global olarak etkili ve her yaş, cins ve ırktan milyonlarca kişiyi etkileyen bir hastalıktır. (150, 151).

Tip 2 Diyabet ABD'deki diyabet popülasyonunun % 90'ını oluşturur. Hastalık belirgin semptom vermeden aşamalı gelişir. Genellikle rutin taramalar sırasında tespit edilir. Tip 2 Diyabette birkaç haftalık poliüri ve polidipsi dönemi gözlenebilir. Nadiren polifaji de eşlik edebilir. İnsülin direnci ve beta hücre disfonksiyonu birlikteliği sonucu Tip 2 Diyabet gelişir.

İnsülin direncinin tip 2 diyabete dönüşmesi için insülin direncinin etkilerinin artmış insülin sekresyonu ile kompanse edilememesi gerekir. Yaşlılarda, obezlerde, fiziksel olarak inaktif bireylerde ve gebelerde insülin direncinin kompanse edilmesi zorlaşır ve tip 2 diyabet gelişebilir. Tip 2 diyabet geliştikten sonra yüksek olan insülin düzeyi azalmaya başlar. Yaklaşık on yılda normal düzeye iner ve bu düşüş devam ederek beta hücre disfonksiyonu gelişmesi sonrası 20-25. Yıllarda oldukça düşük düzeylerde insülin düzeyine ve çok yüksek glikoz düzeylerine yol açar. Egzersiz miktarı arttıkça ve kilo verilmesi sağlandıkça tip 2 diyabet gelişiminin önüne geçilebilir. Tip 2 diyabet gelişiminde genetik faktörler oldukça etkilidir. Monozigot ikizlerde hastalık gelişmesi durumunda her iki bireyde de hastalık oluşumu gözlenmektedir. Hastalık oluşumunda virüslerin ve otoimmün antikorların rolü bulunmaz. Tip 2 diyabette görülen metabolik değişiklikler hastalığın insüline bağımlı Tip 1 formuna göre daha ılımlıdır çünkü yetersiz olsa bile insülin salınımı devam etmektedir. İnsülin sekresyonunun bulunması sayesinde ketogenez ve diyabetik ketoasidoz kısmen önlenir. Açlık kan glikoz düzeyinin 126 mg/dl'nin üzerinde olması ile tanı konulabilir (145).

Tip 2 diyabette önleme stratejileri:

Tip 2 diyabette esas patofizyolojik bozukluk insülin direncidir ve koruma stratejileri insülin direncini hedef almıştır. Diyabet Koruma Programı (Diabetes

Prevention Program-DPP), ABD’de uygulanmış ve 25 milyon insanda tip 2 diyabet riski bulunduğu tahmin edilmiştir. 22 üniversite tarafından yürütülen çalışmada riskli kişilere tip 2 diyabet gelişiminin önlenmesi amaçlanmıştır. Haftada 150 dakika egzersiz, diyet düzenlenmesi ve vücut ağırlığının % 7’sinin kaybını içeren ciddi hayat tarzı değişikliklerinin tip 2 diyabeti önleme veya geciktirmede alınabilecek etkili önlem olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca metformin ve troglitazon tedavisi de tip 2 diyabet gelişimini önlemiştir. (150).

İnsülin Direnci ve Metabolik Sendrom

Metabolik sendrom etyopatogenezi tam olarak aydınlatılmamış, diyabetes mellitus ve kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörleri topluluğudur. Çok eskiden beri bilinmesine rağmen, henüz tanı kriterleri konusunda da tam bir görüş birliğine varılamamıştır. Dünyada ve ülkemizde erişkin toplumda metabolik sendrom sıklığı giderek artmakta, morbidite ve mortalite artışına yol açmakta, ortalamada erişkin toplumun üçte birine yakın bir oranda görünerek giderek büyüyen bir toplum sağlığı sorunu haline gelmektedir. Metabolik sendromun merkezinde insülin direnci yer almaktadır.

İnsülin direnci sendromu, sendrom X gibi isimlerle de adlandırılan metabolik sendroma ilk defa Reaven ve arkadaşları 1988’de dikkat çekmişlerdir. İnsülin direnci ile obezite, tip 2 diyabet, yüksek plazma trigliseritleri, düşük plazma HDL kolesterol dolayısıyla artmış kardiyovasküler risk arasındaki ilişki gösterilmiştir (152).

Metabolik sendrom ilk tanımlandığından bu yana kardiyovasküler risk faktörlerine dair deneysel, klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda elde edilen bulgular daha da netleşmiştir.

İnflamasyon, fibrinoliz ve endotel disfonksiyonu gelişmesi ile kardiyovasküler risk artışının gerçekleştiği gösterilmiştir. Genetik faktörler, visseral obezite ve çevresel faktörler bir araya geldiğinde; inflamasyon, insülin direnci, endotel disfonksiyonu ve mikroalbüminüri gelişmekte; bunun sonucunda dislipidemi, glikoz intoleransı, hemostaz bozukluğu, kan basıncı artışı ortaya çıkarak, kardiyovasküler hastalık riski başta olmak üzere, obezite, tip 2 diabetes mellitus, steatohepatitis ve polikistik over sendromu gibi ciddi hastalık riski artışları görülmektedir. Bu ilişkiler aşağıda şekil 4’de şematize edilmiştir (153).

Metabolik sendrom tanı kriterleri, Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği tarafından 2009 yılında yayınlanan; Metabolik Sendrom Kılavuzu'ndaki hali ile tablo 4'de gösterilmiştir (154).

Tablo 17: Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri.

Aşağıdakilerden en az biri:	
Diyabetes Mellitus	
Bozulmuş glikoz intoleransı	
İnsülin direnci	
ve	
Aşağıdakilerden en az ikisi:	
Hipertansiyon	Sistolik kan basıncı>130, diyastolik kan basıncı>85 mmHg veya antipertansif ilaç kullanmak
Dislipidemi	Trigliserid düzeyi>150 mg/dl veya HDL düzeyi erkekte<40, kadında<50 mg/dl
Abdominal obezite	Vücut kitle indeksi (VKI)>30 veya bel çevresi: erkeklerde>94 cm, kadınlarda>80 cm

Farklı tanı kriterleri tanımlamaları da mevcuttur. Örneğin aşağıdaki kriterlerden üç veya daha fazlasını bir arada bulunduran bireyler şeklinde de tanımlanmıştır.

1. Abdominal obezite; kadınlarda; 35 inç, erkeklerde; 40 inç.
2. Trigliserit > 150 mg/dl.
3. HDL: Erkeklerde<40, kadında<50 mg/dl.
4. Tansiyon değerleri; 130/85 mm Hg veya üzerinde ise.
5. Açlık plazma glikozu; 110 mg/dl veya üzerinde ise.

Bu kriterlerden üç veya daha fazlasını bir arada taşıyanlar metabolik sendrom veya insülin direnci sendromu olarak tanımlanmışlardır. Kardiyovasküler hastalık riski artışı bu hastalarda belirgindir (155).

İnsülin direnci ile ilişkili olan ve nadir görülen klinik sendromlar bulunmaktadır. Tip A insülin direnci sendromu prototip olarak incelenebilir;

hiperinsülinemi, akantozis nigrikans, ovaryan hiperandrojenizm ile insülin direnci birlikteliğidir (156).

Metabolik sendromda insülin direnci sonucu karaciğerde basit yağ birikiminden (hepatosteatoz), transaminaz yüksekliğine (steatohepatit), hatta siroza kadar ilerleyebilen bir seyir izler. Obezlerin % 75'inde hepatosteatoz, % 20'sinde steatohepatit, % 2'sinde siroz gözlenir. TURDEP çalışmasına göre ülkemizde 20 yaş ve üstünde kişilerin % 34'ünde abdominal obezite görülmüştür. Bu hastaların adipoz dokularından salınan ve artmış; TNF alfa, IL-6, IL-8, leptin, rezistin ve adiponektin seviyeleri görünür. Her obez hasta metabolik sendrom açısından taranmalıdır (157).

Metabolik sendromlu kadın hastalarda polikistik over sendromu yönünden de değerlendirme yapılmalıdır. Polikistik over sendromu; insülin direnci ile ortaya çıkan kronik anovulasyon ve hiperandrojenizmle karakterizedir. Polikistik over sendromlu hastaların % 40'ında, bozulmuş glikoz toleransı ve aşikar DM görülür. Polikistik over sendromlu hastalarda erken yaşta kardiyovasküler hastalık riski artmıştır. Ayrıca metabolik sendromlu hastalarda C-reaktif protein artışı, polikistik over sendromunun aralarında bulunduğu metabolik sendromun diğer bileşenleri ile korelasyon gösterir. Bu sebeple metabolik sendromlu hastalarda subklinik inflamasyon görülür (158).

Metabolik sendrom tedavisinde ilk hedef yaşam tarzı değişikliğidir. Diyet düzenlenmesi, düzenli egzersiz yapılması yolu ile insülin direncinin geriletilmesi hedeflenmektedir. Kilo kaybı temini, sağlıklı beslenme, düzenli egzersiz, sigaranın kesilmesi şeklinde yaşam tarzı değişikliği ile önlenemeyen durumlarda ortaya çıkan klinik şikâyetlere dönük ilaç tedavisi uygulanmalıdır.

İnsülin Direncinin Hastalıklarla İlişkisi:

İnsülin direncinin endotele etkisi ve hipertansiyon

Vasküler endotel normalde; vasodilatör olan nitrik oksit ve vasokonstriktör olan anjiyotensinII faktörlerini salgılayan ve dengede tutan aktif bir endokrin organdır. Metabolik sendromda klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce, brakial

arterde akıma bağılı dilatasyonun doppler US ile ölçümü sonucu endotel disfonksiyon geliştiğı gösterilmiştir. Esansiyel hipertansiyonun altında genellikle insülin direnci bulunmaktadır. İnsülin direncinde görülen hiperinsülinemi tablosu sonuçta sodyum tutulumuna, hücreseı proliferasyon ve matriks genişlemesi gibi hücreseı yanıtlara neden olur. Sonuçta insülin direnci aşğıdaki mekanizmalarla hipertansiyona yol açabilir: Böbrekte sodyum ve su reabsorbsiyonunda artma, sempatik sinir sistemi aktivasyonu, büyüme faktörlerinin uyarılması, proinsülin ve yıkım ürünlerinin etkisi, insülinin vazodilatatör etkinliğinin kaybı, hücre içi sitozolik serbest kalsiyum artışı, Na^+-H^+ antiport aktivitesinin artışı, protein kinaz C aktivitesinin artması, $Na^+-K^+-ATPaz$ aktivitesinde azalma neticede hipertansiyon gelişimine sebep olabilir (159).

İnsülin direnci ve oksidatif stres:

Yapılan hayvan ve insan çalışmalarıında; hücreseı düzeyde oksidatif strese maruz kalınca, insülin sinyal iletiminin inhibisyonu gösterilmiştir. Böylelikle insülin direncinin oksidatif stres ile ilişkisi bulunmuştur. Endotel disfonksiyonu ve insülin direnci olan hiperinsülinemik sıçanlarda süperoksit üretiminde anlamlı bir artış saptanmıştır (160).

İnsülin direnci ve hiperkoagulabilite

İnsülin direnci; plasminojen aktivatör inhibitör-1, Faktör VII, Faktör VIII, von-Willebrand faktör ve fibrinojen düzeylerini yükselterek makrovasküler hastalık riskini arttırır (161, 162).

İnsülin direnci; nörodejeneratif ve enfeksiyöz hastalıklar

İnsülin direnci ile ilgili tip 2 diyabet, obezite gibi metabolik bozukluklar, sıklıkla immün bozukluk ile birlikte dir. İnsülin direnci olan bireylerde nörodejeneratif hastalıkların gelişme sıklığının arttığı gösterilmiştir (163).

İnsülin direnci bulunan hastalarda yapılan çalışmada enfeksiyon gelişme sıklığının arttığı gösterilmiştir (164).

İnsülin direnci ve kanser

İnsülin direncinin; yağ hücrelerinin artışı ile ilişkili olduğu, inflamasyona yol açtığı, tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser sıklığında artışa yol açtığı gösterilmiştir. Yağ hücrelerinin artışı, obezite ile ilişkili diğer sorunların da artışına yol açmaktadır. İnsülin direnci ile kanser arasındaki ilişkiye uzun yıllardır dikkat çekilmektedir. İnsülin direnci ile meme kanseri arasındaki ilişki 1992’de gösterilmiştir (165).

Yapılan bir meta-analizde; insülin direnci ve kanser arasındaki ilişkiyi gösteren çok sayıda çalışma ile ilişkinin güçlü boyutları aydınlatılmıştır (166).

Yapılan bir vaka kontrol çalışmasında, renal hücreli kanser ile insülin direnci arasındaki ilişki gösterilmiştir (167).

Yakın tarihte yapılan çalışmalar ile insülin direnci ile ilişkisi gösterilen diğer bir kanser türü de prostat kanseridir (168).

Endometrium kanseri ile insülin direnci arasındaki güçlü ilişki de gösterilmiştir (169).

İnsülin direncinin çok sayıda farklı kanser türü ile muhtemel ilişkilerinin gösterilmesine karşılık, kansere yol bu ilişkiyi oluşturan moleküler mekanizmalar henüz aydınlatılamamıştır ve araştırılmaya devam etmektedir.

Sonuçta, İÖ ve İÖ-KK gruplarında, AL grubuna göre insülin direncine gidişin daha az olması, metabolik yönden; obezite, tip 2 diyabet, ilgili kanser türleri, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere birçok ciddi hastalık için koruyucu ve değerli bir bulgudur. Yeme sıklığını ve alınan toplam kalori miktarını azaltarak, beslenmenin bu şekilde düzenlenmesi yoluyla, birçok hastalığın önlenmesi veya geciktirilmesi mümkün olabilir. Çalışmamızın insülin direnci yönünden anlamlı bulguları literatür ile örtüşmektedir (27).

Lipit profili değerlendirilmesi:

Araştırmamız sonucunda; AL beslenen grupta, İÖ ve İÖ-KK gruplarına göre, insülin direnci riski için gösterge olan HOMA-IR indeksinde ve sıçan vücut

ağırlıklarında anlamlı artış görüldü ($p<0,05$). HOMA-IR indeksinde ve sıçan vücut ağırlıklarında anlamlı artış, obezite ve diyabet için risk artışı olarak değerlendirilebilir. Obezite ve diyabet, kalp damar hastalıkları başta olmak üzere birçok ölümcül hastalığa sebep olmaktadır (133).

Araştırmamızın diğer bir sonucu olarak; AL beslenen grupta, İÖ ve İÖ-KK gruplarına göre, insülin direnci riski için gösterge olan HOMA-IR indeksinde ve sıçan vücut ağırlıklarında anlamlı artış görülmekle birlikte, LDL ve total kolesterol düzeyinde anlamlı olmayan ($p>0,05$) ve kolesterol sentezi için hız kısıtlayıcı olan HMG KoA redüktaz enziminde anlamlı ($p<0,05$) azalma görüldü. Yine, AL beslenen grupta, İÖ-KK grubuna göre, trigliserit düzeylerinde ise anlamlı olmayan bir artış bulundu ($p<0,05$). HDL seviyesi açısından; İÖ grubunda, AL ve İÖ-KK gruplarına göre anlamlı olmayan ($p<0,05$) bir yükseklik görüldü. Tip 2 diyabet tanılı hastalarda, lipit içeriği düşük, karbonhidrat içeriği yüksek beslenme sonucunda, beklenenin aksine, kalp ve damar hastalıklarının tetiklendiğini gösteren araştırma sonuçları mevcuttur (134). Yapılan diğer bir araştırmada, yüksek lipit ve protein, düşük karbonhidrat ile beslenmenin koroner kalp hastalığı riskinde artışla ilişkili olmadığı bulunmuştur (135). Yapılan başka bir araştırmada, diyabet tanısı konulamamış fakat karbonhidrat metabolizması bozulmuş hastalarda koroner kalp hastalıkları riskinde anlamlı bir artış olduğu gösterilmiştir. Burada risk oluşturan temel sebep glikoz ve insülin yüksekliğidir. Dolayısıyla HOMA-IR indeksinde yükseklik sonucu kardiyovasküler hastalıkların oluşma riskinde artış beklenebilir (136).

Sonuçta AL grupta, HMG KoA redüktaz enziminde anlamlı ($p<0,05$) azalma görülmekle birlikte, serum lipit profilinde (HDL, LDL, Trigliserit ve total kolesterol) anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ($p>0,05$). Glikoz metabolizmasında ve vücut ağırlıklarındaki sorunları gösteren bulguların varlığı da göz önüne alınarak, diyabete yatkınlık oluşmuş sıçanlarda, kan lipitlerinin istatistiksel olarak anlamlı olmayan düşüklüğünün zannedilenin aksine, kalp damar hastalıklarından koruyucu olmayabileceği düşünülebilir. Kalori kısıtlaması ve az sıklıkta beslenme ile LDL seviyelerinin azalıp, HDL seviyelerinin arttığı çalışmaların mevcudiyetine rağmen bizim yaptığımız çalışmada, LDL ve HDL açısından gruplar arasında anlamlı farklılık olmaması beslenme düzenlemesinin uygulama süresinin daha uzun tutulması ile önceki çalışmalarla uyumlu hale gelebilir (25, 26).

Metabolizma, Antioksidan sistem ve Kalori kısıtlaması

Kalori kısıtlaması, esansiyel besin gereksinimi sürdürülürken alınan kalorinin azaltılması olarak ifade edilebilir ve bilinen sürekli açlıktan farklıdır. Başka bir ifadeyle, kalori kısıtlaması, malnütrisyon ve spesifik önemli besinlerde eksiklik oluşmadan, toplam gıda alımının azaltılmasıdır (171, 172).

Yapılan diğer bir çalışmada gösterilmiştir ki, kalori kısıtlaması yaşlanmayı geciktirici, ömrü uzatıcı etkileriyle birlikte muhtemel nöroprotektif etkilerinin olduğuna dair bilgiler de içermektedir (173). Yapılan başka bir çalışmada kalori kısıtlaması sayesinde, yaşlanma ve bazı hastalıklarda oluşan nörodejenerasyonun azalabileceği öne sürülmüştür (174). Nörodejenerasyonu indükleyici faktörler arasında oksidatif stres, mitokondriyal hasarlanma, inflamasyon ve protein-DNA yapısındaki değişiklik rol oynamaktadır. Kalori kısıtlamasının nörodejeneratif değişiklikleri azaltması ile ilgili mekanizmanın temelinde oksidatif stresin azaltılması ve nörotropin üretimi stimülasyonu olabileceği düşünülmektedir (175 - 177).

Bir başka çalışmada da kalori kısıtlamasının insülin sensitivitesinin artmasını, insülin direncine karşı koruyuculuğu, trigliserit, total kolesterol, LDL kolesterol seviyelerinin azalmasını, HDL kolesterolün artmasını sağlayarak serebrovasküler hastalıkların insidansını azalttığı bulunmuştur (178).

Kalori kısıtlaması ile oksidatif hasar ve oksidan ajanların üretimi azalır (179).

Yapılan birçok çalışmada kalori kısıtlamasının oksidatif stresi azalttığı tespit edilmiştir (180, 181, 182). Dubnov ve ark yaptığı çalışmada 40 gün %60 kalori kısıtlaması yapılmış. Deney sonucunda kalori kısıtlamasını birçok dokuda oksidatif stresi azalttığını bulmuşlardır. Beyinde de ROS üretiminde azalma tespit edilmekle beraber antioksidan sistemde bir artış görülmemiştir. Kısa dönem kalori kısıtlamasının beyinde sadece lipid peroksidasyonunu engellemesini sürenin az olmasıyla yorumlamışlardır (180).

Dixit ve ark sprague dawley cinsi ratları deneylerinde kullanarak %50'lik kalori kısıtlaması yapılan grup, %25 kalori kısıtlaması yapılan grup, obez grup şeklinde 3 gruba ayırmışlar ve 2 yıl boyunca beslemişlerdir. Kalori kısıtlaması yapılan grupta antioksidatif kapasitenin(glutatyon seviyeleri ve antioksidatif enzim

aktiviteleri) arttığı, lipit peroxidasyonun, protein oksidasyon ürünlerinin azaldığı tespit edilmiş (183).

Kabul gören kuramlardan biri hafif kalori kısıtlamasının serbest radikallerin yol açtığı hasarları azalttığı yönündedir. Malnütrisyon olmadan orta derecede kalori kısıtlamanın intrinsik hasar ajanlarını azalttığı, yaşla artan glial fibriler asidik proteini ve DNA'da oluşan oksidatif hasarı azalttığı tespit edilmiştir (184).

Yapılan bir çalışmada, wistar, erkek, obezite modeli oluşturulmuş sıçanlarda, deney grubuna dört haftalık % 40 kalori kısıtlaması yapılmış ve kontrol grubunda normokalorik diyet verilmiştir. Kalori kısıtlaması (KK) ile obez sıçanlarda, total kolesterol, LDL azalmış, HDL ise artmıştır. Superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX) ve glutatyon reduktaz aktiviteleri KK ile anlamlı düzeyde artmıştır, malondialdehid (MDA) düzeyi ise anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,05$). Böylelikle KK ile antioksidan etkinlik artmış, oksidatif stres ise azalmıştır (185).

Yapılan diğer bir araştırma sonucunda, orta seviye kalori kısıtlamasının yaşamı uzattığı vurgulanmıştır. Sıçanlarda yapılan çalışmada, kalori kısıtlamasının kontrol grubuna göre serum ve karaciğer doku homojenatında antioksidan etkinliği arttırdığı gösterildi (186).

Araştırmamız sonucunda İÖ ve İÖ-KK grubunda, kontrol grubuna göre; TAS açısından serum ve dokularda genelde bir artış görülmektedir. Karaciğer doku homojenatında literatür ile uyumlu olarak TAS düzeyi anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,05$). TOS ve OSI açısında yapılan değerlendirmede ise İÖ ve İÖ-KK grubunda, kontrol grubuna göre azalma görülmektedir. Fakat yağ doku haricinde istatistiksel olarak anlamlılık yoktur. Sadece yağ dokuda, TOS ve OSI düzeylerinde, İÖ ve İÖ-KK grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalma görülmektedir ($p<0,05$).

Sonuçta İÖ ve İÖ-KK beslenmenin, literatür ile uyumlu olarak, yaptığımız çalışmada oksidatif stresi azaltıp, antioksidan etkinliği arttırmada faydalı olabileceği görüldü. Araştırmamız sonucunda İÖ-KK grubunda, vücut ağırlığında ve HOMA-IR indeksinde ortaya çıkan anlamlı düşüş ve metabolik enzimlerde meydana gelen anlamlı olmayan genel artış, kalori kısıtlamasının obezite, diyabet ve ilişkili hastalıklar için koruyucu olduğunu ve metabolizmayı daha aktif hale getirdiğini

düşündürebilir. Ayrıca literatürde yeterli veri bulunmayan öğün sıklığı ve antioksidan sistem ilişkisine dair olumlu bulgular da ortaya çıkmıştır. Araştırmamız sonuçları gösterdi ki öğün sıklığını azaltmak muhtemelen, kalori kısıtlaması gibi antioksidan sistemi güçlendiriyor ve oksidatif stresi azaltıyor.

Öğün sıklığı ve glikoza etkileri:

Yapılan bir insan çalışmasında, yüksek öğün sıklığında beslenme ile düşük öğün sıklığında beslenme karşılaştırıldığında, düşük öğün sıklığının glikoz konsantrasyonunda düşüşe yol açtığı görüldü (187). Yaptığımız çalışmada, İÖ ve İÖ-KK gruplarında AL grubuna göre glikoz seviyelerinde bir azalma olmakla beraber bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Karaciğer ve böbrek histopatolojik incelenmesine dair bulguların değerlendirilmesi

Karaciğer:

Yapılan istatistiksel analizde, Kruskal-Wallis test ile bakıldığında; karaciğerde yağlanma, inflamasyon ve fibrozis oluşmadığı ve gruplar arasında herhangi bir istatistiksel farklılık bulunmadığı görüldü ($p>0,05$). Sıçan karaciğerinde hafif granülasyon görülmesi normal karşılanabilir. Histopatolojik incelemede ortaya çıkan granülarite açısından gruplar değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı görüldü ($p=0,407$). Histopatolojik incelemede ortaya çıkan hepatosit dizilim değişikliği açısından gruplar değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı görüldü ($p=0,334$). Karaciğer histopatolojisinin incelenmesi sonucunda, uygulanan beslenme biçimlerinin yani öğün sıklığı uygulamalarının ve kalori kısıtlamasının karaciğerde hasar oluşturmadığı ortaya çıktı. Ortaya çıkan ve istatistiksel olarak anlamlı olmasa da AL grubuna göre İÖ ve İÖ-KK gruplarında daha fazla görünen granülasyon ve hepatosit dizilim değişikliği, karaciğerde metabolizmanın daha aktif olması ve metabolizmada aktif rol alan granüllü endoplazmik retikulum gibi organellerin sayısının artışı ile açıklanabilir.

Böbrek:

Yapılan istatistiksel analizde, Kruskal-Wallis test ile bakıldığında; tübüler hasar, inflamasyon, tübüler dilatasyon, glomerüler yapı yönünden gruplar arasında herhangi bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Böylelikle uygulanan beslenme biçimi ile yani öğün sıklığı ayarlanması ve kalori kısıtlanması ile böbrek hasarı oluşmadığı görüldü. Fakat kortikal tübülde pigment (kast) birikimi için Kruskal-Wallis test ile istatistiksel analiz yapıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p=0,022$). Farkın hangi gruplar arasında olduğunu görmek için yapılan Mann-Whitney U test ile bakıldığında; Bonferroni düzeltmesine göre değerlendirilince; AL ile İÖ grupları arasında ($p=0,028$), AL ile İÖ-KK grupları arasında ($p=0,721$) ve İÖ ile İÖ-KK grupları arasında ($p=0,021$) anlamlı fark bulunamadı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturacak düzeyde böbrek tübüllerinde pigment (kast) oluşumu ortaya çıkmadığı görüldü. Pigment birikimi; böbrek kortikal alanı yanı sıra medüller alanda, tübüllerde oluşmuştur. Pigment birikimi proksimal tübüllerde, tübül epitelinde ve lümeninde yer almaktadır. Pigmentler hemosiderine benzer olarak görüldü ve demir boyası uygulandı. Demir boyası sonuçları negatif olarak bulundu. Spesifik olarak belirlenemeyen bu pigment (kast) birikiminin, diğer böbrek histopatolojik inceleme bulguları ve biyokimyasal parametreler dikkate alındığında böbrek hasarı ile ilişkili olmadığı görüldü.

Daha sık yemekle hepatik steatozis arasında ilişki bulunmasına karşılık bizim yaptığımız çalışmada anlamlı bir hepatik steatozis gözlenmedi (22). Üç ve altı öğün gibi daha sık öğün düzenlemesi ve daha uzun süreli beslenme yapılması durumunda belirgin hepatik steatozis görülmesi muhtemeldir.

Öğrenme deneyi Water-Mase değerlendirilmesi:

Nörodavranış ve beslenme:

Davranış, organizmanın uyaranlar karşısında gösterdiği tepkilerin tümüdür ve kişinin mizaç, kişilik ve karakter özelliklerini yansıtır. Merkezi sinir sistemi, davranışların şekillenmesinde belirleyicidir ve çevresel faktörlerden birisi olan beslenmeden etkilenir (188).

Besin içeriği gerek prenatal ve postnatal dönemde, gerekse erişkin dönemde davranışları etkileyen bir faktördür. Deneysel ve klinik çalışmalarda vitamin,

mineral, esansiyel yağ asitleri ve aminoasitler gibi besinsel öğelerin eksikliğinin nörodavranışı olumsuz etkilediği gösterilmiştir (189, 190).

Bazı mizaç türlerinin beslenme şeklini belirlediği veya etkilediği ile ilgili çocuklar üzerinde yapılmış çalışmalar vardır (191, 192).

Obezitenin birey psikolojisine etkilerini inceleyen çalışmalar da mevcuttur. Obez bireylerde, depresyona yatkınlık, özgüvende eksiklik, memnun olamama gibi bir takım sorunlar ile birlikte, psikoloji genel olarak etkilenmektedir (193).

Sağlıklı bir vücuda ve normal bir vücut kitle indeksine, dolayısı ile normal bir görünüme sahip olmak insan psikolojisini ve davranışlarını direkt olarak etkileyebilmektedir.

Yapılan Water Mase öğrenme deneyinde; kontrol ve deney gruplarının her bir eğitim günü için birbirleri ile ayrı ayrı karşılaştırması yapıldığında herbir eğitim günü için kontrol grubuna göre deney gruplarında platformu bulma süresi, yüzme hızı, katedilen yol açısından anlamlı bir fark saptanmazken ($p<0.05$), 3. ve 4. Günlerde İÖ grubunun dış kadranda yüzme süresinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (sırasıyla $p=0.006$, $p=0.009$). Probe test ve Visible test verileri değerlendirildiğinde, hedef kadranda geçirilen süre, hedef kadranı bulma süresi, hız ve katedilen yol parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$). 3. ve 4. Günlerde İÖ grubunun dış kadranda yüzme süresinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olması, İÖ grubunun öğrenme süreci devam ederken anksiyete düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğunu ifade etmektedir. Probe test ve Visible test verilerinde anlamlı farklılık olmaması, hipokampuse dayalı mekânsal bellek ve öğrenme açısından gruplar arasında farklılık olmadığını göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda yüksek kalorili diyet alımının Mase testinde öğrenmeyi ve hafızayı bozduğu gösterilmiştir (194). Fakat bizim çalışmamızda öğrenme açısından anlamlı bir farklılık bulunamadı. Kalori kısıtlama oranında artış ve beslenme düzenlemesinin daha uzun süre uygulanması ile öğrenme ve hafıza açısından anlamlı bulgulara ulaşılması muhtemeldir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yaptığımız çalışma sonucunda ortaya çıkan bulgular gösterdi ki: AL grubuna, yani sınırlama olmaksızın acıktıkça yiyen gruba göre, İÖ ve İÖ-KK kısıtlı gruplarda, yani serbest yiyen grupla yaklaşık aynı miktarı sadece sabah ve akşam yiyebilen ve serbest yiyen gruba göre yaklaşık % 20 daha az miktarı sadece sabah ve akşam yiyebilen gruplarda;

- İnsülin direnci oluşumu ve diyabet başta olmak üzere birçok kronik hastalığa yatkınlık için risk ortaya çıkışında,
- Kilo alımı ve obezite ile ilişkili olduğu bilinen birçok kronik sağlık probleminin oluşumunda,
- Metabolizmanın temel enzimlerinin miktarlarında,

Olumlu değişimler gözlenmiştir. Ayrıca, AL grubunda diğer gruplara göre, hormon direnci oluşumu ile açıklanabilecek şekilde, temel metabolik hormonlarda artış meydana gelmiştir.

Antioksidan etkinlik açısından, İÖ ve İÖ-KK gruplarında genel bir artış gözlemlendi. Oksidatif strese karşı vücudun koruyucu mekanizması olan antioksidan aktivitenin, özellikle metabolizmanın merkezi organlarından karaciğerde belirgin artışı, beslenme biçimi ile antioksidan etkinlik arasındaki ilişkiyi ortaya koydu.

Histopatolojik açıdan, her üç grupta da karaciğer ve böbrekte hasar oluşumu gözlemlenmedi. Böylelikle İÖ ve İÖ-KK gruplarında, histopatolojik açıdan olumsuz bir tablo oluşmamıştır.

Öğrenme hızında ve bellek değerlendirmesi ile ilgili yapılan testlerde, gruplar arasında anlamlı bir farklılık ortaya çıkmamıştır. Böylelikle İÖ ve İÖ-KK gruplarında, öğrenme ve bellek açısından olumsuz bir tablo oluşmamıştır.

İÖ ve İÖ-KK beslenme sonucunda, metabolizmanın daha aktif olabileceği, metabolik temel enzimlerin miktarında artış görülebileceği, metabolik temel hormonların fazla salınarak direnç oluşumunun önüne geçilebileceği, kilo alımının ve HOMA-IR indeksinin anlamlı şekilde azalması sonucu obezitenin ve insülin direncinin önlenebileceği görüldü. Buna karşılık malnutrisyon ve metabolik açıdan önemli olan organlarda fonksiyon bozukluğu göstergesi olabilecek biyokimyasal parametrelerin incelenmesi sonucu, İÖ ve İÖ-KK beslenme sonucunda herhangi bir olumsuz tablonun oluşmadığı görüldü.

İÖ ve İÖ-KK beslenme, yani serbest yiyen grupla yaklaşık aynı miktarı sadece sabah ve akşam yeme ve serbest yiyen gruba göre yaklaşık % 20 daha az miktarı sadece sabah ve akşam yeme, AL beslenmeye göre, metabolik açıdan daha sağlıklı ve doğru bir alternatif olarak sunulabilir. Bu alanda yapılabilecek, egzersizin, cinsiyetin, farklı öğün sıklığı ve kalori kısıtlamalarının dâhil edilebileceği birçok başka ilave çalışma bulunmaktadır. Yapılacak farklı ve yeni çalışmalarla bu verilerin desteklenmesi ve güçlendirilmesi halinde mevcut beslenme tavsiyelerinin temellerinin yeniden gözden geçirilmesi mümkün olabilir.

7.ÖZET

Tez Başlığı: Farklı Öğün Sıklığının Sıçanlarda Metabolizma ve Antioksidan Sistem ile Nörodavranış Üzerine Etkileri.

Amaç: Bu projede, öğün sıklığı ve kalori kısıtlamasının metabolizma, antioksidan sistem ve nörodavranışa etkileri bir bütün olarak incelendi.

Materyal-Metot: 9 sıçanla yapılan bir aylık pilot çalışma sonucunda, yem miktarı ve öğün süreleri belirlendi. Ana çalışmada, Wistar albino, 12 haftalık, erkek, 24 adet sıçan; Ad libitum kontrol (AL) (n=8), İki öğün beslenen deney grubu (İÖ), (n=8), iki öğün beslenen ve % 20 kalori kısıtlaması yapılan grup (İÖ-KK) (n=8) olmak üzere toplam üç gruba ayrılarak, kafeslerde teker teker tutuldular Kontrol gruplarına Ad libitum, İÖ grubuna pilot çalışma sonuçlarına göre 20 gr/gün; sabah ve akşam öğünleri için 10'ar gr, İÖ-KK grubuna 16 gr/gün; sabah ve akşam öğünleri için 8'er gr şeklinde yem verildi. Tüm sıçanlar 20 haftalık deney boyunca sağlıklı bir şekilde beslenme düzenlerine devam ettiler. Water Mase testi uygulandı ve deney sonlandırıldı. ELISA ve spektrofotometrik yöntem ile temel metabolik hormon ve enzimler, biyokimyasal parametreler ve oksidan-antioksidan durum ölçüldü. Karaciğer ve böbrekte, histopatolojik inceleme yapıldı.

Bulgular: İÖ ve İÖ-KK gruplarında, AL grubuna göre; HOMA-IR oranında, bir azalma görüldü ($p<0,05$). Deney başında her üç grupta sıçanların vücut ağırlıkları açısından farklılık bulunmuyordu ($p>0,05$). Deney sonunda sıçanların vücut ağırlıkları her üç grup için kendi içinde deney başı ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık oluştu ($p<0,05$).

Tartışma: HOMA-IR ve vücut ağırlıkları arasındaki anlamlı farklılıklar, insülin direnci, obezite, diyabet ve ilişkili diğer hastalıklardan korunmak için İÖ ve İÖ-KK beslenmenin faydalı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Beslenme, öğün sıklığı, kalori kısıtlaması, metabolizma, insülin direnci, obezite, diyabet, öğrenme, oksidan durum, antioksidan durum.

ABSTRACT

TEZ başlık İngilizce / Thesis Title: Effects of Different Meal Frequency on Metabolism, Antioxidant System and Neuro-Behaviour in Rats

Objective: In this project, the effects of meal frequency and caloric restriction on metabolism, antioxidant system and neuro-behaviour were examined as a whole.

Materials and Methods: As a result of a one-month pilot study amount of food and meal times was determined. In the main study, Wistar albino, 12 weeks, male, 24 rats were divided into three groups as; Ad libitum control (AL) (n = 8), two meals fed group (TM) (n = 8), two meals fed and 20% calorie restriction of group (TM-CR) (n = 8). All rats were kept individually in cages. According to the results of a pilot study in main study; 20 g/day; 10 g for the morning and evening meals were given to TM group, 16 g/day; for the morning and evening meals were given feed in the form of 8 grams to TM-CR group. All rats finished the nutrition regulation in a healthy way for 20 weeks. After Water Maze test, rats were sacrificed. Basic metabolic hormones and enzymes, biochemical parameters and oxidant-antioxidant status were measured with ELISA and spectrophotometric method. The liver and kidneys were examined histopathologically.

Results: In TM and TM-CR group, according to the AL group; HOMA-IR ratio showed a significantly decreasing ($p < 0.05$). At the beginning of experiments, there were no significant differences each of the three groups of rats body weight ($p > 0.05$), at the end the experiment; there was significant differences among the three groups (AL > TM > TM-CR) ($p < 0.05$).

Conclusions: Significant differences between HOMA-IR and body weight protects against insulin resistance, obesity, diabetes and other related diseases. TM and TM-CR nutrition are useful.

Keywords: nutrition, meal frequency, caloric restriction, metabolism, insulin resistance, obesity, diabetes, learning, oxidant status, antioxidant status.

KAYNAKLAR

1. Steffens AB. Blood glucose and FFA levels in relation to the meal pattern in the normal rat and the ventromedial hypothalamic lesioned rat. *Physiology & Behavior*. 1969; 4 (2): 215-216.
2. Lima FB, Hell NS, Timo-Iaria C. Carbohydrate metabolism and food intake in food-restricted rats. Relationship between the metabolic events during the meal and the degree of food intake. *Physiology & Behavior*. 1985; 35 (5): 695-700.
3. Glendinning JI, Smith JC. Consistency of meal patterns in laboratory rats. *Physiology & Behavior*. 1994; 56 (1): 7-16.
4. Surina-Baumgartner DM, Arnold M, Moses A, Langhans W. Metabolic effects of a fat- and carbohydrate-rich meal in rats. *Physiology & Behavior*. 1996; 59 (4-5): 973-981.
5. Melhorn SJ, Krause EG, Scott KA, Mooney MR, Johnson JD, Woods SC, Sakai RR. Acute exposure to a high-fat diet alters meal patterns and body composition. *Physiology & Behavior*. 2010; 99 (1): 33-39.
6. La Bounty PM, Campbell BI, Wilson J, Galvan E, Berardi J, Kleiner SM, Kreider RB, Stout JR, Ziegenfuss T, Spano M, Smith A, Antonio J. International Society of Sports Nutrition position stand: meal frequency. *J Int Soc Sports Nutr*. 2011; 8, (4). doi: 10.1186/1550-2783-8-4.
7. Leveille GA, Hanson RW. Adaptive changes in enzyme activity and metabolic pathways in adipose tissue from meal-fed rats. *J Lipid Res*. 1966; 7 (1): 46-55.
8. Paik HS, Yearick ES. The influence of dietary fat and meal frequency on lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase in rat adipose tissue, *J Nutr*. 1978; 108 (11): 1798-805.
9. Petrasek R. Liver hexokinase activity in rats adapted to intermittent starvation. *Nature*. 1959; 183: 329-330.
10. Liu Y. Triglyceride with medium chain fatty acids increases the activity and expression of hormone sensitive lipase in white adipose tissue of C57BL/6J mice, *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 2011; 75(10): 1939-1944.

11. Holmstrup ME, Owens CM, Fairchild TJ, Kanaley JA. Effect of meal frequency on glucose and insulin excursions over the course of a day, e-SPEN. *The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*. 2010; 5: 277-280.
12. Young VR. Diet as a modulator of aging and longevity. *Fed Proc*. 1979; 38 (6): 1994-2000.
13. Jones PJ, Leitch CA, Pederson RA. Meal-frequency effects on plasma hormone concentrations and cholesterol synthesis in humans. *Am J Clin Nutr*. 1993; 57 (6): 868-74.
14. Romsos DR, Leveille GA. Effect of meal frequency and diet composition on glucose tolerance in the rat. *J Nutr*. 1974; 104 (11): 1503-12.
15. Wolever TM. Metabolic effects of continuous feeding. *Metabolism*. 1990; 39 (9): 947-51.
16. Drewnowski A, Cohen AE, Faust IM, Grinker JA. Meal-taking behavior is related to predisposition to dietary obesity in the rat. *Physiol Behav*. 1984; 32 (1): 61-7.
17. Jenkins DJ, Wolever TM, Vuksan V, Brighenti F, Cunnane SC, Rao AV, Jenkins AL, Buckley G, Patten R, Singer W. Nibbling versus gorging: metabolic advantages of increased meal frequency, *N Engl J Med*. 1989; 321 (14): 929-34.
18. Stote KS, Baer DJ, Spears K, Paul DR, Harris GK, Rumpler WV, Strycula P, Najjar SS, Ferrucci L, Ingram DK, Longo DL, Mattson MP. A controlled trial of reduced meal frequency without caloric restriction in healthy, normal-weight, middle-aged adults. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85 (4): 981-8.
19. Muiruri KL, Leveille GA. Metabolic adaptations in meal fed rats: effects of increased meal frequency or ad libitum feeding in rats previously adapted to a single daily meal. *J Nutr*. 1970; 100(4):450-60.
20. Ohkawara K, Cornier MA, Kohrt WM, Melanson EL. Effects of increased meal frequency on fat oxidation and perceived hunger. *Obesity (Silver Spring)*. 2013; 21(2): 336-43. doi: 10.1002/oby.20032.
21. Mattson MP. Energy intake, meal frequency, and health: a neurobiological perspective. *Annu Rev Nutr*. 2005; 25: 237-60.
22. Koopman KE, Caan MWA, Nederveen AJ, Pels A, Ackermans MT, Fliers E, la Fleur SE, Serlie MJ. Hypercaloric Diets With Increased Meal Frequency, but Not

- Meal Size, Increase Intrahepatic Triglycerides: A Randomized Controlled Trial. *Hepatology*. 2014; 60(2): 545-553.
23. Hursting SD, Lavigne JA, Berrigan D, Perkins SN, Barret JC. Calorie restriction, aging and cancer prevention; mechanisms of action and applicability to humans. *Annu Rev Med*. 2003; 54: 131-152.
 24. Canto C, Auwerx J. Caloric restriction, SIRT1 and longevity. *Trends Endocrinol Metab*. 2009;20(7):325-31. doi: 10.1016/j.tem.2009.03.008.
 25. Trepanowski JF, Canale RE, Marshall KE, Mohammad MK, Bloomer RJ. Impact of caloric and dietary restriction regimens on markers of health and longevity in humans and animals: a summary of available findings. *Nutr J*. 2011; 10:107. doi: 10.1186/1475-2891-10-107.
 26. Lee CK, Allison DB, Brand J, Weindruch R, Prolla TA. Transcriptional profiles associated with aging and middle age-onset caloric restriction in Mouse hearts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99(23): 14988-93.
 27. Wang Z, Masternak MM, Al-Regaiey KA, Bartke A. Adipocytokines and the regulation of lipid metabolism in growth hormone transgenic and calorie-restricted mice. *Endocrinology*. 2007; 148(6): 2845-53.
 28. Jameson JL. *Harrison Endokrinoloji*, 16. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2009, s:268-271.
 29. <http://beslenme.gov.tr/index.php?page=40>, Erişim tarihi: 10.06.2016.
 30. Gürdöl F. *Bilimin Mum Işığında Yemek; Beslenmenin Biyokimyası*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2014, s: 1-5.
 31. Murray RK, Bender DA, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. *Harper'ın Biyokimyası*. 29. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2015, s: 517.
 32. Hosseinasab M, Norouzy A, Nematy M, Bonakdaran S. Low-Glycemic-Index Foods Can Decrease Systolic and Diastolic Blood Pressure in the Short Term. *Int J Hypertens*. 2015;2015:801268. doi: 10.1155/2015/801268.
 33. Gürdöl F. *Tıbbi Biyokimya*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2015, s: 487.
 34. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler*. Beşinci Baskıdan Çeviri. Ankara: Palme Yayıncılık, 2005, s: 940-950.
 35. Erdoğan S. *Beslenme ve Besin Teknolojisi*. Geliştirilmiş 2. Baskı. Ankara: Detay Yayıncılık, 2009, s: 357-385.

36. Food Intolerance and Food Aversion: A Joint Report of the Royal College of Physicians and the British Nutrition Foundation. J Royal College of Physicians of London, 1984; (18): 2.
37. Saldamlı İ. Gıda Kimyası. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 1998, s: 489-495.
38. Aguiar A, Eubig PA, Schantz SL. Review: attention deficit/hyperactivity disorder: a focused overview for children's environmental health researchers. Environmental Health Perspectives. 2010; 118(12): 1646–1653.
39. Gultekin F, Kumbul Doguc D. Allergic and Immunologic Reactions to Food Additives. Clin Rev Allergy Immunol. 2013; 45(1): 6-29. doi: 10.1007/s12016-012-8300-8.
40. Hobbs CA, Swartz C, Maronpot R, Davis J, Recio L, Hayashi SM. Evaluation of the genotoxicity of the food additive, gumghatti. Food Chem Toxicol. 2012; 50(3-4): 854-60.
41. Reyes FG, Valim MF, Vercesi AE. Effect of organic synthetic food colours on mitochondrial respiration. Food Addit Contam. 1996; 13(1): 5-11.
42. Demir A, Pala A. Genetiği değiştirilmiş organizmalara toplumun bakış açısı. Hayvansal Üretim Dergisi. 2007; 48: 33-43.
43. Ergin I, Gürsoy ŞT, Öcek ZA, Çiçeklioğlu M. Sağlık Meslek Yüksekokulu öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalara dair bilgi tutum ve davranışları. TAF Prev Med Bull. 2008; 7: 503-508.
44. Kulaç İ, Ağirdil Y, Yakın M. Soframızdaki tatlı dert, genetiği değiştirilmiş organizmalar ve halk sağlığına olan etkileri. Türk Biyokimya Dergisi. 2006; 31(3): 151–155.
45. Bayraç AT, Baloğlu MC, Kalemtaş G, Kavas M. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar. Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık, 2007, s: 4-5.
46. Çelik V, Balık TD. Genetiği değiştirilmiş organizmalar. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi. 2007; 23: 13-23.
47. Arda M. Biyoteknoloji (Bazı Temel İlkeler). 2. Baskı. Ankara: KÜKEM Derneği Bilimsel Yayınları, 1994, s: 349.
48. Cummins R, Lilliston B. Genetically Engineered Food. New York: Marlowe Company, 2000, s: 208.

49. Tunalıoğlu R. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü-Bakış. 2004; 7(2): 1-4.
50. Domigo JL. Health Risks of Genetically Modified Foods: Many Opinions But Few Data. Science. 2000; 288:1748-9.
51. Kulaç İ, Ağırdil Y, Yakın M. Sofralarımızdaki Tatlı Dert Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Halk Sağlığına Etkileri. Türk Biyokimya Dergisi. 2006; 31 (3): 151-5.
52. Nordlee JA, Taylor SL, Townsend JA, Thomas LA, Bush RK. Identification of A Brazil-Nut Allergen in Transgenic Soybeans. The New England Journal of Medicine. 1996; 344: 688-92.
53. Goodman RE. Assessing Genetically Modified Crops to Minimize the Risk of Increased Food Allergy: A Review: International Archives of Allergy and Immunology. 2005;137(2): 153.
54. Moellenbeck DJ, Peters ML, Bing IW. Insectisidal Proteins From Bacillus thuringensis Protect Corn From Corn Root worms. Nature Biotechnology. 2001; 19 (7):668-72.
55. Dawson, V, Schibeci, R. Western Australian high school students' attitudes towards biotechnology process. Journal of Biological Education. 2003; 38(1), 7-12.
56. Gunter B, Kinderlerer J, Beyleveld D. Teenagers and biotechnology: A survey of understanding and opinion in Britain. Studies in Science Education. 1998; 32, 81-112.
57. Lock R, Miles C. Biotechnology and genetic engineering: students' knowledge and attitudes. Journal of Biological Education. 1993; 27: 267-273.
58. Baysal A. Beslenme. 13. Baskı. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi, 2011, s: 1-17.
59. Gürdöl F. Metabolizma Dilimi -1. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2015, s: 1-10.
60. Aksoy M. Beslenme Biyokimyası. İkinci Baskı. Ankara: Hatiboğlu Yayınları, 2008, s: 639-655.
61. Grooper SS, Smith JS, Groff JL. Advanced Nutrition and Human Metabolism. Fourth Edition. Belmont USA: Thomson Wadsworth, 2005, p: 84-100.
62. Flier JS. Lilly Lecture: syndromes of insulin resistance. From patient to gene and back again. Diabetes. 1992; 41: 1207-19.

63. American Diabetes Association. Consensus Development Conference on Insulin Resistance. *Diabetes Care*. 1998; 21: 310-4.
64. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease (Review). *Diabetes*. 1988; 37: 1595-607.
65. Almind K, Doria A, Kahn CR. Putting the genes for type 2 diabetes on the map. *Nat Med*. 2001; 7: 277-9.
66. Expert panel. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. *JAMA* 2001; 285: 2486-97.
67. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns ED. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Fourth Edition. Elsevier Saunders, 2006, p: 140-200.
68. Gürlek A. İnsülin Direncinde Genetik Faktörler. *Klinik Endokrinoloji*. İzmir: Meta Basım, 2001, s: 49-53.
69. Hollenbeck C, Reaven GM. Variations in insulin stimulated glucose uptake in healthy individuals with normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab*. 1987; 64: 1169-73.
70. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. *Biyokimya*. Lipincott. 3. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2007, s: 340-342.
71. Mauvais-Jarvis F, Ueki K, Fruman DA, Hirshman MF, Sakamoto K, Goodyear LJ, Iannaccone M, Accili D, Cantley LC, Kahn CR. Reduced expression of the murine p85alpha subunit of phosphoinositide 3-kinase improves insulin signaling and ameliorates diabetes. *J Clin Invest*. 2002;109(1):141-9.
72. Accili D, Drago J, Lee EJ, Johnson MD, Cool MH, Salvatore P, Asico LD, José PA, Taylor SI, Westphal H. Early neonatal death in mice homozygous for a null allele of the insulin receptor gene. *Nat Genet*. 1996 Jan;12(1):106-9.
73. Joshi RL, Lamothe B, Cordonnier N, Mesbah K, Monthieux E, Jami J, Bucchini D. Targeted disruption of the insulin receptor gene in the mouse results in neonatal lethality. *EMBO J*. 1996 Apr 1;15(7):1542-7.
74. Brüning JC, Winnay J, Cheatham B, Kahn CR. Differential signaling by insulin receptor substrate 1 (IRS-1) and IRS-2 in IRS-1-deficient cells. *Mol Cell Biol*. 1997 Mar;17(3):1513-21.

75. Montagne CT, O’Rahilly S. The perils of portliness – causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes*. 2000; 49: 883-8.
76. McGary JD. Dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of the type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002; 51: 7-18.
77. Kim JK, Gavrilova O, Chen Y. Mechanisms of insulin resistance in a ZIP/17-1 fatless mice. *Biol Chem*. 2000; 276: 8456-60.
78. Boden G, Shulman GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta cell dysfunction. *Eur J Clin Invest*. 2002; 32: 13-23
79. Özata M, Yöner A. *Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet*. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2006, s: 553-55.
80. Carter S, Caron A, Richard D, Picard F. Role of leptin resistance in the development of obesity in older patients. *Clin Interv Aging*. 2013; 8: 829-44. doi: 10.2147/CIA.S36367.
81. Richard A, Harvey, Denise R, Ferrier. *Lippincott’s Illustrated Reviews: Biochemistry Fifth Edition*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2011, p: 349-355.
82. Yılmaz C. *Obeziteye Giriş, Obezite ve Tedavisi*. 1. Basım. İstanbul: Mart Matbaacılık, 1999, s: 7-10.
83. Birch LL, Davison KK. Family Environmental Factors Influencing the Developing Behavioral Controls of Food Intake and Childhood Owerweight. *Pediatrics Clinics of North America* 2001; 48: 893-907.
84. Tübitak, *Bilim ve Teknik*. Obezite, Mart 2007; 2-15.
85. Öztora S, Hatipoğlu S, Barutçugil MB, Salihoğlu B, Yıldırım R, Şevketoğlu E. İlköğretim çağındaki çocuklarda obezite prevalansının belirlenmesi ve risk faktörlerinin araştırılması. *Bakırköy Tıp Dergisi* 2006; 2: 11-4.
86. Balcıoğlu İ, Başer SZ. Obezitenin Psikiyatrik Yönü. *Türkiye’de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar Sempozyum Dizisi*. 2008; 62: 341-348.
87. Halliwell B. Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. Third ed. Oxford: Oxford Science Publications, 2000, p: 617-24.
88. Gürdöl F. *Biyokimya*. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2012, s: 548-50.

89. Young IS, Woodside JV. Antioxidant in health and disease. *J Clin Pathol.* 2001; 54(5): 356-61.
90. Kesner RP, Hopkins RO. Mnemonic functions of the hippocampus: A comparison between animals and humans. *Biol. Psych.* 2006; 73: 3-18.
91. Manns JR, Eichenbaum H. Evolution of the declarative memory. *Hippocampus.* 2006; 16: 795-808.
92. Hall CS. Emotional behavior in the rat I: Defecation and urinations as measures of individual differences in emotionality. *J. Comp. Psych.* 1934; 18: 385-403.
93. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods.* 1985; 14(3): 149-67.
94. Olton DS. Mazes, maps, and memory. *Am. Psychol.* 1979; 34(7): 583-96.
95. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods.* 1984; 11(1): 47-60.
96. Gürdöl F, Ademoğlu E. *Biyokimya*, 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2012, s: 238.
97. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Robbins Temel Patoloji*. 7. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2003, sayfa: 642.
98. David GG, Shoback D. *Greenspan's Lange Temel ve Klinik Endokrinoloji*. 8. Baskı. İstanbul: Güneş Tıp Kitabevleri, 2009, s: 660-669.
99. <https://en.wikipedia.org/wiki/Insulin>. Erişim tarihi: 13.06.2016.
100. <http://drrosedale.com/blog/2011/11/08/avandia-under-fire-with-dr-ron-roosedale-and-shelley-schlender/#axzz4BRaleNwK>. Erişim tarihi: 13.06.2016.
101. Painter PC, Cope JY, Smith JL. References information for the clinical laboratory. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz textbook of clinical chemistry*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999, p:1800.
102. Barron BA, Hoyer JD, Tefferi A. A bone marrow report of absent stainable iron is not diagnostic of iron deficiency. *Ann Hematol* 2001; 80: 166-9.
103. Baird GS, Rainey PM, Wener M, Chandler W. Reducing routine ionized calcium measurement. *Clin Chem.* 2009; 55: 533-40.

104. Ben Rayana MC, Burnett RW, Covington AK, D'Orazio P, Fogh- Andersen N, Jacobs E, et al. IFCC guideline for sampling, measuring and reporting ionized magnesium in plasma. *Clin Chem Lab Med.* 2008; 46: 21-6.
105. Rizzoli R, Bonjour J-P. Physiology of calcium and phosphate homeostasis. In: Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP. *Dynamics of bone and cartilage metabolism.* 2nd edition. San Diego, Calif: Academic Press, 2006, p: 345-60.
106. Taylor AJ, Vadgama P. Analytical reviews in clinical biochemistry: the estimation of urea. *Ann Clin Biochem* 1992; 29: 245-64.
107. Schmidt E, Schmidt FW. Diagnosis of icteric diseases. *Dtsch Med Wschr* 1984; 109:139-146.
108. Moss DW, Hendersn RA, Kachmar JF. Enzymes. In: Tietz NW. *Fundamentals of clinical chemistry.* WB Saunders Company, 1987, p: 369-373.
109. Syal K, Banerjee D, Srinivasan A. Creatinine Estimation and Interference. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 2013; 28: 210-211.
110. Barthelmai W, Czok R. Enzymatic determinations of glucose in the blood, cerebrospinal fluid and urine. *Klin Wochenschr.* 1962 Jun 1;40:585-9.
111. Doumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. 1971. *Clin Chim Acta.* 1997; 258(1): 21-30.
112. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Amer J Clin Path.* 1946; 16: 40.
113. Daly JA, Ertingshausen G. Direct method for determining inorganic phosphate in serum with the 'Centrifi Chem'. *Clin Chem.* 1972; 18(3): 263-5.
114. Talke H, Schubert GE. Enzymatische harnstoffbestimmung in lut und serum im optischen test nach Warburg. *Klin Wochenschr.* 1965; 43: 174-75
115. Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. IFCC Scientific Committee analytical section. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24: 481-95.
116. Delanghe Joris R, Speeckaert M. Creatinine determination according to Jaffe— what does it stand for?. *Nephrology Dialysis Transplantation Plus.* 2012; (19):1–4.

117. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985; 28 (7): 412–9. doi:10.1007/BF00280883.
118. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge". *Clinical Chemistry*. 1972;18 (6): 499–502.
119. Görmüş U. Laboratuvar Dünyası. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul. 2015. S:79-94.
120. Mehmetoğlu İ. Klinik Biyokimya El Kitabı. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul. 2013. 24-64.
121. Hornbeck P. Enzyme-Linked Immunosorbent Assays. *Curr Protoc Immunol*. 2001; 2: 21. doi: 10.1002/0471142735.im0201s01.
122. Çırak MY. Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA) Sistemleri. *T Klin Tıp Bilimleri*. 1999;19: 242-248.
123. Lequin RM. Enzyme Immunoassay (EIA)/ Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA). *Clinical Chemistry*. 2005; 51(12): 2415-2418.
124. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*. 2004; 37(4): 277-85.
125. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005; 38(12): 1103-11.
126. Sırmatel Ö, Sert C, Sırmatel F, Selek Ş, Yokus B. Total antioxidant capacity, total oxidant status and oxidative stress index in the men exposed to 1.5 T static magnetic field. *Gen. Physiol. Biophys*. 2007; 26: 86–90.
127. Akgül A. Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri SPSS Uygulamaları. 1. Baskı. Ankara: Yükseköğretim Kurulu Matbaası, 1997, s:134.
128. Hermans MP, Levy JC, Morris JC, Turner RC. Comparison of tests of beta-cell function across a range of glucose tolerance from normal to diabetes. *Diabetes*. 1999; 48(9): 1779-86.
129. Kidson W. Polycystic ovary syndrome: a new direction in treatment. *MJA*. 1998;169: 537-40.

130. Abe H, Yamada N, Kamata K, Kuwaki T, Shimada M, Osupa J, Shionoiri, F, Yahagi N, Kadowaki T, Tamemoto H, Ishibashi S, Yazaki Y, Makuuchi M. Hypertension, hypertriglyceridemia and impaired endothelium dependent vascular relaxation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *J Clin Invest.* 1998;101: 1784-8.
131. Yenigün M. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2001, s:51.
132. Patel SA, Chaudhari A, Gupta R, Velingkaar N, Kondratov RV. Circadian clocks govern calorie restriction-mediated life span extension through BMAL1- and IGF-1-dependent mechanisms. *FASEB J.* 2016; 30(4): 1634-42. doi: 10.1096/fj.15-282475.
133. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med.* 2010 30; 363(14): 1341-50. doi: 10.1056/NEJMra0912063.
134. Chen YD, Coulston AM, Zhou MY, Hollenbeck CB, Reaven GM. Why do low-fat high-carbohydrate diets accentuate postprandial lipemia in patients with NIDDM? *Diabetes Care.* 1995;18(1):10-6.
135. Halton TL, Willett WC, Liu S, Manson JE, Albert CM, Rexrode K, Hu FB. Low-carbohydrate-diet score and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med.* 2006; 9;355(19):1991-2002.
136. Selvin E, Coresh J, Golden SH, Brancati FL, Folsom AR, Steffes MW. Glycemic control and coronary heart disease risk in persons with and without diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Arch Intern Med.* 2005; 12;165(16):1910-6.
137. Salway J.G. Bir Bakışta Metabolizma Atlası. 3. Baskı. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi, 2012, s: 114.
138. Lofgren I. Waist circumference is a beter predictor than body mass index of coronary heart disease risk in owerweight premenopausal women. *J Nutr.* 2004; 134(5): 1071-6.
139. Wolin Y. K. Carson K. Colditz G. A. Obesity and Cancer. *The Oncologist.* 2010; 15: 556-565.

140. Shils ME. Modern Nutrition in Health and Disease. 9. Baskı. Lippincott Williams and Wilkins, 1999, p: 140-220.
141. Li G, Zhang P, Wang J. The long-term effects of lifestyle interventions to prevent diabetes in the China Da Qing Diabetes Prevention Study: a 20 year follow-up study. *Lancet*. 2008; 371: 1783-1789.
142. Lowe MR, Miller-Kovach K, Frye N. An initial evaluation of a commercial weight loss program: short-term effects on weight, eating behavior, and mood. *Obes Res*. 1999; 7: 51-59
143. American Diabetes Association. Standarts of medical care in diabetes-2011. *Diabetes Care*. 2011; 34: 11-61
144. Jameson JL. Harrison Endokrinoloji. 16. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2009, s:268-271.
145. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Biyokimya. Lipincott. 3. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2007, s: 340-345.
146. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. Sugar –sweetened beverages, weight gain and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA*. 2004; 292: 927-34.
147. Sencer E, Orhan Y. Beslenme. 1. Baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2005, s: 560-562.
148. Haffner S, Taegtmeyer H. Epidemic obesity and the metabolic syndrome. *Circulation*. 2003; 108(13):1541-5.
149. Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K, Schoelles K. Bariatric surgery: A systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2004; 13; 292(14):1724-37.
150. Lavin N. Lippincott Williams & Wilkins, Endokrinoloji ve Metabolizma El Kitabı, 3. Baskı. İstanbul: Güneş Kitabevi, 2006, s: 12-82.
151. Özenoğlu A, Hatemi HH. Diabette Beslenme. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2004, s: 12-18.
152. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insülin resistance in human disease (Review). *Diabetes*. 1988; 37: 1595-607.
153. McFarlane SI, Banerji M, Sowers JR. Insulin resistance and cardiyoascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 713-18.

154. Metabolik Sendrom Kılavuzu, Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Ankara: Tuna Matbaacılık, 2009, s:11-26.
155. Expert panel. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. JAMA. 2001; 285: 2486-97.
156. Burtis CA. Ashwood ER. Bruns ED. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Fourth Edition. 2006. Elsevier Saunders. P:116-161.
157. Satman I, Yılmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, Bastar I, Tütüncü Y, Sargin M, Dinççag N, Karsidag K, Kalaça S, Ozcan C, King H. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). Diabetes Care. 2002; 25(9): 1551-6.
158. Onat A, Ceyhan K, Basar O, Erer B, Toprak S, Sansoy V. Metabolic syndrome: majör impact on coronary risk in population with low cholesterol levels, a prospective and cross-sectional evaluation. Atherosclerosis. 2002; 165: 285-92.
159. Abe H, Yamada N, Kamata K, Kuwaki T, Shimada M, Osupa J, Shionoiri, F, Yahagi N, Kadowaki T, Tamemoto H, Ishibashi S, Yazaki Y, Makuuchi M. Hypertension, hypertriglyceridemia and impaired endotheliumdependentvascular relaxation in mice lacking insulin receptor substrate-1. J Clin Invest. 1998;101:1784-8.
160. Altındal Ş. Diyabetik olmayan hipertansif hastalarda insülin direnci. Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi 5. İç Hastalıkları Kliniği. Uzmanlık Tezi. Danışman: Prof. Dr. M. Ziya Mocan. İstanbul. 2006, s: 8-26.
161. Flier JS. Lilly Lecture: syndromes of insulin resistance. From patient to gene and back again. Diabetes. 1992; 41: 1207-19.
162. American Diabetes Association. Consensus Development Conference on Insulin Resistance. Diabetes Care. 1998; 21: 310-4.
163. Kaidonvich-Beilin O. Crosstalk between metabolic and neuropsychiatric disorders. F1000 Biol Rep. 2012; 4: 14. doi: 10.3410/B4-14.
164. Jeon CY, Haan MN, Cheng C, Clayton ER, Mayed ER, Miller JW. Helicobacter Pylori infection is associated with an increased rate of diabetes. Diabetes care. 2012; 35: 520-25.

165. Brunning PF, Bonfrer JM, Von Noord PA, Hart A, de Jong Bakker M, Insulin resistance and breast cancer risk. *Int J Cancer*. 1992; 21: 52(4): 511-16.
166. Byers T, Sedjo RL. Does international weight loss reduce cancer risk? *Diabetes Obesity Metabolism*. 2011; 13: 1063-72.
167. Spyridopoulos TN, Dessypris N, Antoniadis AG, Gialamas S, Antolopoulos CN, Katsifoti K, Adami HO. Insulin resistance and risk of renal cancer. A case control study. *Hormones*. 2012; 11: 308-15.
168. Ma J, Li H, Giovanucci E, Mucci L, Qiu W, Nguyen PL, Gaziano JM, Pollak M. Prediagnostic body-mass index, plasma C peptide concentration and prostate cancer. Specific mortality in men with prostate cancer; a long term survival analysis. *Lancet oncology*. 2008; 9: 1039-47.
169. Mathews DR, Hosker YP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis Model Assessment-Insulin resistance and beta cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia*. 1985; 28(7): 412-419.
170. Wang Y, Hua S, Tian W, Zhang L, Zhao J, Zhang H, Zhang W, Xue F. Mitogenic and anti-apoptotic effects of insulin in endometrial cancer are phosphatidylinositol 3-kinase. *Gynecologic Oncology*. 2012; 125: 734-741.
171. Mattson MP, Duan W, Wan R, Guo Z. Prophylactic activation of neuroprotective stress response pathways by dietary and behavioral manipulations. *NeuroRx*. 2004; (1):111-6.
172. Akman C, Zhao Q, Liu X, Holmes GL. Effect of food deprivation during early development on cognition and neurogenesis in the rat. *Epilepsy Behav*. 2004; 5(4): 446-54.
173. Mattson MP, Duan W, Guo Z. Meal size and frequency affect neuronal plasticity and vulnerability to disease: cellular and molecular mechanisms. *J Neurochem*. 2003; 84: 417-31.
174. Prolla TA, Mattson MP. Molecular mechanisms of brain aging and neurodegenerative disorders: lessons from dietary restriction, *Trends Neurosci*. 2001; 11 (Suppl.): 21-31.

175. Mattson MP, Chan SL, Duan W. Modification of brain aging and neurodegenerative disorders by genes, diet and behavior. *Physiol. Rev.* 2002; 82: 637–672.
176. Bruce-Keller AJ, Umberger G, McFall R, Mattson MP. Food restriction reduces brain damage and improve behavioral outcome following excitotoxic and metabolic insults. *Ann. Neurol.* 1999; 45: 8–15.
177. Contestabile A, Ciani E, Sparapani M, Guarnieri T, Dell’Erba G, Bologna F, Cicognani C. Activation of the ornithine decarboxylase – polyamine system and induction of c-fos and p53 expression in relation to excitotoxic neuronal apoptosis in normal and microencephalic rats. *Exp. Brain Res.* 1998; 120: 519–526.
178. Karason K, Wikstrand J, Sjostrom L, Wendelhag I. Weight loss and progression of early atherosclerosis in the carotid artery: a four- year controlled study of obese subjects, *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1999; 9: 948 –956.
179. Drew B, Phaneuf S, Dirks A, Selman C, Gredilla R, Lezza A, Barja G, Leeuwenburgh C. Effects of aging and caloric restriction on mitochondrial energy production in gastrocnemius muscle and heart. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2003; 284(2): R474-80.
180. Dubnov G, Kohen R, Berry EM. Diet restriction in mice causes differential tissue responses in total reducing power and antioxidant compounds. *Eur J. Nutr* 2000; 39: 18-30.
181. Xia E, Rao G, Van Remmen H. Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fischer 344 rats are altered by food restriction. *J Nutr.* 1994; 125: 195-201.
182. Leeuwenburgh C, Wagner P, Hollszly JO, Sohal RS, Heinecke JW. Caloric restriction attenuates dityrosine cross-linking of cardiac and skeletal muscle proteins in aging mice. *Arch Biochem Biophys.* 1997; 346: 74-80.
183. Dixit R, Coleman JB, Mattson B, Balam GC, Kenan KP, St. Louis MO. The effects of uncontrolled excess caloric intake and moderate to marked caloric restriction(CR) on obesity, spontaneous disease and cancers in sprague dowley (SD) rats. *Toxicology Letters.* 1998; 95: 182-182.
184. Amie JD , Leeuwenburgh C, Caloric restriction in humans: Potential pitfalls and health concerns. *Mechanisms of Ageing and Development.* 2006; 127: 1–7.

185. Louala S, Benyahia-Mostefaoui A, Lamri-Senhadji MY. Energy restriction reduces oxidative stress in the aorta and heart and corrects the atherogenic risk in obese rat. *Ann Cardiol Angeiol.* 2013; 62(3): 155-60. doi: 10.1016/j.ancard.2013.04.005.
186. Stankovic M, Mladenovic D, Ninkovic M, Vucevic D, Tomasevic T, Radosavljevic T. *Gen Physiol Biophys.* Effects of caloric restriction on oxidative stress parameters. 2013; 32(2): 277-83. doi: 10.4149/gpb_2013027.
187. Munsters MJ, Saris WH. Effects of meal frequency on metabolic profiles and substrate partitioning in lean healthy males. *PLoS One.* 2012; 7(6): e38632. doi: 10.1371/journal.pone.0038632.
188. Rosales FJ, Reznick JS, Zeisel SH. Understanding the role of nutrition in the brain and behavioral development of toddlers and preschool children: identifying and addressing methodological barriers. *Nutritional neuroscience.* 2009; 12(5): 190-202.
189. Fredriksson A, Schroder N, Eriksson P, Izquierdo I, Archer T. Neonatal iron exposure induces neurobehavioral dysfunctions in adult mice. *Toxicology and applied pharmacology.* 1999; 159: 25–30.
190. Gesch CB, Hamond SM, Hampson SE, Eves A, Crowder MJ. Influence of supplementary vitamins, mineral sand essential fatty acids on the antisocial behavior of young adult prisoners. *The British journal of psychiatry: the journal of mental science.* 2002; 181: 22–2.
191. Wonderlich SA, Connolly KM, Stice E. Impulsivity as a risk factor for eating disorder behavior. Assessment implications with adolescents. *International Journal of Eating Disorders.* 2004; 36(2): 172–182.
192. Haycraft E, Farrow C, Meyer C, Powell F, Blissett J. Relationships between temperament and eating behaviours in young children. *Appetite.* 2011; 56(3): 689-692.
193. Wardle J, Cooke L. The impact of obesity on psychological well-being. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2005;19(3): 421-40.
194. Xu BL, Wang R, Ma LN, Dong W, Zhao ZW, Zhang JS, Wang YL, Zhang X. Effects of Caloric Intake on Learning and Memory Function in Juvenile C57BL/6J Mice. *Biomed Res Int.* 2015;2015:759803. doi: 10.1155/2015/759803.


BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

BEYAN

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

Tezi Hazırlayan

Ad Soyad: Hasan Basri SAVAŞ

İmza


Danışman

Ad Soyad: Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN

İmza



EKLER:

Ek 1: Etik Kurul İzni



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : 21438139 - 172
KONU: Etik Kurul Kararı

21/05/2015

SAYIN
Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN
(SDÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D.)

İlgi: 13.05.2015 tarih ve 172 sayılı dilekçeye istinaden, 04.12.2014 tarih ve 02 sayılı karara ek olarak;
“Farklı Öğün Sıklığının, Sıçanlarda Metabolizma ve Antioksidan Sistem İle Nörodavranış Üzerine Etkileri” konulu projeniz Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından **21 MAYIS 2015** tarih ve **02** sayılı kararı ile uygun bulunmuştur. Kararın bir örneği ekte sunulmuştur. Bilgilerinize rica ederim.

Doç. Dr. Etkan UZ
SDÜ-HADYEK Başkanı

Ek: 1 Adet HADYEK Kararı

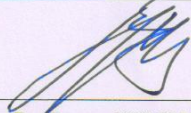

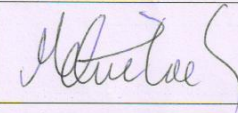
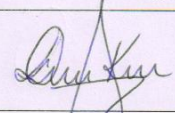
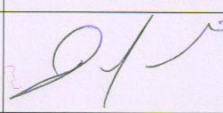
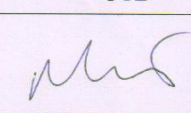

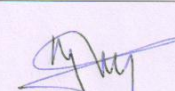
T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
21.05.2015	13	02

İlgi: 13.05.2015 tarih ve 172 sayılı dilekçeye istinaden, 04.12.2014 tarih ve 02 sayılı karara ek olarak; Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 21 MAYIS 2015 tarihinde Saat 15:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D. Öğretim Üyesi Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN'in yürütücüsü olduğu Arş. Gör. Hasan Basri SAVAŞ'ın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Öğün sıklığının ve yem miktarının metabolizma, oksidatif stres, öğrenme ve öğrenme ile ilişkili reseptörler üzerine etkileri." başlıklı çalışma için 13.05.2015 tarih ve 172 sayılı dilekçenize istinaden proje başlığının "Farklı Öğün Sıklığının, Sıçanlarda Metabolizma ve Antioksidan Sistem İle Nörodavranış Üzerine Etkileri" olarak değiştirilmesi;

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

Doç. Dr. Efan UZ BAŞKAN	Prof. Dr. Münire ÇAKIR BAŞKAN YARDIMCISI	Doç. Dr. İ. Metin ÇİRİŞ ÜYE
		
Doç. Dr. Duygu KUMBUL DOĞUÇ ÜYE	Doç. Dr. Emel SESLİ ÇETİN ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY ÜYE
		
Öğr. Gör. İbrahim ONARAN ÜYE	Vet. Hekim İsmail UZ ÜYE	Ecz. Mustafa Serhan DERYAL ÜYE
		KATILMADI

EK 2: Süleyman Demirel Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı (ÖYP) Koordinatörlüğü tarafından verilen ÖYP-DR-12 proje numaralı destek kararı:

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
ÖĞRETİM ÜYESİ YETİŞTİRME KOORDİNASYON BİRİMİ
DESTEKLEME PROTOKOLÜ

Toplantı Tarihi : 07.04.2015
Toplantı No: 2015/2

Proje No : ÖYP05333-DR-12
Proje Yöneticisi : Prof.Dr. FATİH GÜLTEKİN
Yöneticinin Adresi : Tıp Fakültesi , Biyokimya

Proje Başlığı : Farklı Öğün Sıklığının, Sıçanlarda Metabolizma ve Antioksidan Sistem ile Nörodavranış Üzerine Etkileri

Proje Bütçesi (TL) : 10.000,00
Proje süresi : Başlangıç Tarihi : 07.04.2015 Bitiş Tarihi: 14.04.2018 - 36 ay

İMZA
Prof.Dr.Süleyman SEYDİ
Rektör Yardımcısı
ÖYP Komisyon Başkanı

İMZA
Doç.Dr.S.Zeynep ALPARSLAN GÖK
ÖYP Koordinatörü
Komisyon Üyesi

İMZA
Doç.Dr.Belma KEKLİK
Sosyal Bilimler Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA
Doç.Dr.Mustafa KOÇ
Eğitim Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA
Prof.Dr.Ahmet ŞAHİNER
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA
Doç.Dr.Abdullah Şevki DUYZMAZ
Güzel Sanatlar Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA
Zeynel TUFAN
Şube Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA
Doç.Dr.Necdet ADANIR
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

İMZA
Prof.Dr.İbrahim DİLER
Su Enstitüsü Müdürü
Komisyon Üyesi

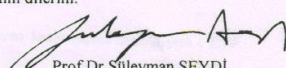
İMZA
Yakup GÜLFİDAN
Şube Müdürü
Komisyon Üyesi

PROJE YÖNETİCİSİNE TEBLİGAT
Sayın: **Prof.Dr. FATİH GÜLTEKİN**
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Süleyman Demirel Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Projesi Koordinasyon Birimi yukarıdaki kararı uyarınca sunduğumuz projenin belirtilen şartlarda desteklenmesine karar verilmiştir.

Proje protokolünü imzalamak üzere aşağıda belirtilen tarih ve saatte Öğretim Üyesi Yetiştirme Projesi Koordinasyon Birimi'nde hazır bulunmanızı rica eder, başarılarınızın devamını dilerim.

Tarih ve Saat :


Prof.Dr.Süleyman SEYDİ
Rektör Yardımcısı
ÖYP Komisyon Başkanı

Ek 3: Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından verilen 4476-ÖYP-D2-15 proje numaralı destek protokolü:

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ
PROTOKOLÜ

Proje No : 4476-ÖYP-D2-15

TARAFLAR:

1. Süleyman Demirel Üniversitesi adına hareket eden Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanı ile Proje Yöneticisi sıfatı ile hareket eden Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü adresinde çalışan görevli **Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN** aşağıdaki şartlarla bir araştırma projesi destekleme protokolü yapılmıştır.

Protokolde S.D.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Komisyonu'na kısaca "BAP Komisyonu", **Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN** kısaca "Proje Yöneticisi" diye anılacaktır.

PROTOKOLÜN KONUSU:

2. Bu protokolün Konusu ekli Bilimsel Araştırma Projesi müracaat formunda ayrıntıları belirtilmiş "Farklı Öğün Sıklığının, Sıçanlarda Metabolizma ve Antioksidan Sistem ile Nörodavranış Üzerine Etkileri." Adlı projenin Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından bu protokole belirtildiği şekilde desteklenmesidir.

PROJE YÖNETİCİSİNİN GÖREVLERİ:

3. Projenin protokole ekli araştırma projesi müracaat formunda belirtilen program içinde protokoledeki süre, amaç ve şartlara uygun olarak yürütülmesi, geliştirilmesi ve sonuçlandırılmasından proje yöneticisi sorumludur.

Desteklenmesi teklif ve kabul edilmiş projenin amaç, kapsam, süre, program ve bütçesinde BAP Komisyonunun yazılı izni alınmadan hiçbir değişiklik yapılamaz.

PROJE YARDIMCI PERSONELİNİN GÖREVLERİ

4. Yüksek lisans, doktora ve tıpta uzmanlık projelerinde yardımcı personel olarak görev alan lisans-üstü öğrenciler bu protokolün 3. maddesi 1. paragrafındaki belirtilen şartlar için sorumludur.

ARAÇ GEREÇ VE DONATIM:

5. Proje için Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından sağlanan araç, gereç ve donatımın (kullanılması tamamen tüketilmesine bağlı olanlar hariç) mülkiyeti BAP Koordinasyon Birimine aittir. Projenin bitiminde mülkiyet hakkı saklı kalmak üzere bu türlü araç, gereç ve donatımın proje yöneticisi elinde bırakılması veya geri alınması BAP Komisyonu tarafından ayrıca karara bağlanır. Proje için sağlanmış ve tahsis edilmiş araç, gereç ve donatımın iyi şekilde muhafazasından, gerekli bakım ve onarımlarından proje yöneticisi sorumludur.

RAPORLAR

6. Proje yöneticisi projenin devamı süresince her 6 (altı) ayda bir çalışmalarının gidişi ve harcama durumlarıyla ilgili bir gelişme raporu ve ayrıca istenildiğinde proje ile ilgili ayrıntılı bilgileri BAP Komisyonuna vermekle yükümlüdür. Gelişme raporları 6 ayda bir verilmeyen projelerde harcama yaptırılmayacaktır.

BAP Komisyonu gerekli görürse projeye ilgili çalışmaları çalışma yerinde inceleyebilir. Bu durumlarda proje yöneticisi projeye ilgili her türlü teknik, idari ve mali bilgileri ve belgeleri incelemeye hazır bulundurmak ve incelemeyi kolaylaştıracak bütün yardımları yapmakla görevlidir.

Gelişme Rapor Tarihleri

I. Gelişme Rapor Tarihi: **31.03.2015** II. Gelişme Rapor Tarihi: **01.10.2015** III. Gelişme Rapor Tarihi: **31.03.2016**
IV. Gelişme Rapor Tarihi: **30.09.2016** V. Gelişme Rapor Tarihi: **29.03.2017** VI. Gelişme Rapor Tarihi: **25.09.2017**

7. PROJEDE GÖREV ALAN YARDIMCI PERSONELLER

Hasan Basri SAVAŞ

KESİN RAPOR

8. Proje yöneticisi projenin bitiminde bütün teknik ayrıntıları ve belgeleri kapsayan kesin raporu hazırlayarak BAP Komisyonu'na vermekle yükümlüdür.

Ayrıca Proje sonuçlarını ihtiva eden ve Süleyman Demirel Üniversitesi bilimsel makale esaslarına uygun biçimde hazırlanmış bir makaleyi de üniversitenin periyodik yayınlarında yayınlamak üzere kesin raporla birlikte göndermekle görevlidir.

Ayrıca, yönetici isterse makalesini yurtdışında herhangi bir dergide Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklendiği atıfta bulunularak yayınlatabilir.

GÜVENLİK TEDBİRLERİ:

9. Proje Yöneticisi, proje yerinde kazaları önleme ve sağlık şartları bakımından iş kanunu ve sosyal sigortalar kanunu ve ilgili diğer kanun, tüzük ve yönetmeliklere göre gerekli her türlü güvenlik tedbirlerinin alınmasından sorumludur.

GİZLİLİK:

10. Proje Yöneticisi, projeye ilgili olarak elde edilecek bilgilerin gizliliğinin korunması bakımından BAP Komisyonuna karşı sorumludur.

Proje kesin raporu BAP Komisyonu kabul ve durum tebliğ edilinceye kadar, proje yöneticisi veya projede çalışan diğer personel tarafından BAP Komisyonundan izin alınmadan, projeye ilgili haber veya beyanat verilemez, yayın yapılamaz, rapor açıklanamaz.

PERSONEL VE HARCAMALAR:

11. Projede çalışacak laborant ve teknisyen gibi yardımcı personel ile tam zamanlı araştırmacılar proje yöneticisi tarafından bulunup seçilir ve proje müracaat formüller neticesinde görevlendirilir.

Bu elamanlara yapılacak ödemeler ve proje bakımından gerekli başka harcamalar proje yöneticisi tarafından, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Biriminden alınacak avanstaki karşılanabilir. Ücretler ve ödemelerden yapılacak gelir vergisi, sigorta primi, damga vergisi gibi her türlü kesintilerin yapılmasından ve gerekli mercilere yatırılmasından proje yöneticisi sorumludur.

DESTEK MİKTARI:

12. Projeyi desteklemek amacıyla BAP Koordinasyon Biriminden, ayrıntıları protokole ekli araştırma projesi müracaat formunda gösterilen toplam 12.500,00 TL destek sağlanacaktır.

ÖDEMENİN KESİLMESİ:

13. Sözleşme gereğince yapılan ödemelerin, proje amaç ve programına, sözleşme şartlarına uygun olarak kullanılmadığı; gelişme raporlarından istenen ayrıntılı bilgilerden, yapılan incelemelerden veya başka şekillerde anlaşılırsa veya proje gelişme raporları yapılan hatırlatmaya rağmen zamanında verilmez ise, başkaca ihbara lüzum kalmadan sözleşme gereğince yapılan ödemeler durdurulabilir. Başka talepler saklı kalmak üzere verilmiş araç, gereç, donatım derhal geri alınır. O güne kadar yapılmış tüm harcamalar sorumlulara faizi ile birlikte ödetilir.



YÜRÜRLÜK SÜRESİ:

14. Bu Protokol 01.10.2014 tarihinden 01.10.2015 tarihine kadar yürürlüktedir.

PROTOKOLUN UZAMASI:

15. Protokol süresinin uzatılması, uzatmanın proje yöneticisi tarafından protokol süresinin bitimi tarihinden 1 ay önce teklif edilmesine ve BAP Komisyonu tarafından uygun görülerek bu konudaki esaslar gereğince kararlaştırılmasına bağlıdır.

GÖREV YERİNİN DEĞİŞTİRİLMESİ:

16. Bu Protokolle ilgili yazışma ve tebligat birinci maddede yazılı adrese yapılır. Proje yöneticisi adresini değiştirdiği takdirde bunu en geç 10 gün içinde BAP Komisyonuna bildirmeye mecburdur. Görev yeri değişikliği bildirilmezse eski görev yerine gönderilen yazı ve tebligat o görev yerinde yapılmış sayılır.

PROTOKOL GİDERLERİ:

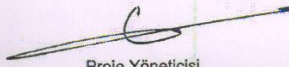
17. Protokol giderleri proje yöneticisine aittir

YETKİLİ MERCİ:

18. Anlaşmazlık halinde yetkili merci, Isparta Mahkeme ve icra müdürlükleridir.



Proje Yardımcı Personeli
Hasan Basri SAVAŞ



Proje Yöneticisi
Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN



Prof. Dr. Mehmet SALTAN
Rektör Yardımcısı
BAP Komisyon Başkanı

UYGUNDUR
01.10.2015



Prof. Dr. İlker Hüseyin ÇARIKÇI
Rektör

Ek 4: Özgeçmiş

ÖZGEÇMİŞ	
Kişisel Bilgiler	
Adı-Soyadı:	Hasan Basri SAVAŞ
Uyruğu:	Türkiye Cumhuriyeti
Doğum Yeri / Tarihi:	Şanlıurfa Merkez / 1980
E-posta:	drhbs63@gmail.com / hasansavas@sdu.edu.tr
Telefon:	05075240737 - 02462119405
Adres:	SDÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D. Isparta
Eğitim Düzeyi:	Mezun Olduğu Kurum / Yıl:
Doktora:	Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya AD./2016
Lisans:	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi / 2007
Lise:	Şanlıurfa Anadolu Lisesi / 1998
İş Deneyimi:	
• 2007-2008-	Şanlıurfa Akçakale Sağlık Ocağı- Tabip
• 2009-2010-	Ağrı Merkez 2 Nolu Sağlık Ocağı- Sorumlu Tabip.
• 2010-2011-	Ağrı Merkez 5 Nolu ASM- Aile Hekimi- Sorumlu Tabip.
• 2011-2016-	Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi- (2011 Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı (ÖYP) YÖK Yerleştirmesi ile Kazanılan) Tıbbi Biyokimya A.D. Araştırma Görevlisi.
Yabancı Dil:	KPDS /ÜDS / Diğer Puan:
İngilizce (İyi)	ÜDS - 72,5 Puan
İngilizce (İyi)	KPDS - 72,5 Puan
İngilizce (İyi)	YDS - 67,5 Puan
İngilizce (İyi)	Gazi Üniversitesi Yabancı Diller Okulu Başarı Belgesi (2012)
İngilizce (İyi)	Şanlıurfa Anadolu Lisesi Hazırlık Sınıfı Belgesi (1991)

YAYINLARI:

• MAKALELER:

» SCI, SCI Expanded, SSCI veya AHCI Index Kapsamındaki Yayınları

- Şanlıdere Aloğlu H, Demir Özer E, Öner Z, Savaş HB, Uz E. **Investigation of a Probiotic Yeast as a Cholesterol Lowering Agent on Rats Fed on a High Cholesterol Enriched Diet.** Kafkas Univ Vet Fak Derg 2015 DOI: 10.9775/kvfd.2015.13143.
- Ozturk SA, Ceylan C, Serel TA, Doluoglu OG, Soyupek AS, Guzel A, Özorak A, Uz E, Savas HB, Baspinar S. **Protective effect of theophylline on renal functions in experimental pneumoperitoneum model.** Ren Fail, Early Online: 1–6 2015. DOI: 10.3109/0886022X.2015.1040706
- Savas HB, Gultekin F. Guler M. ISSN: 0075-5222. **A Comprehensive and Updated Overview on the Cancer- Preventive Nutrition.** KASMER 2015 43(2) P 105-133.

» SCI, SCI Expanded, SSCI veya AHCI Dışındaki İndeksler Tarafından Taranan Yayınlar

- Yüksel Ö, Yüksel F, İlhan İ, Savaş HB, Karatas D, Uz E. **Serum Zinc Levels in Patients Suffering From Recurrent Aphthous Stomatitis.** Int J Health Nutr 2013; 4(2):9-13.
- Savaş HB, Yüksel Ö, Şanlıdere Aloğlu H, Öner Z, Demir Özer E, Gultekin F. **Effects of food based yeast supplementation on oxidative stress in rats fed by high cholesterol diet.** Cell Membranes and Free Radical Research. 5:3 2013; 252-255.

- Savas HB, Gultekin F, Kumbul Doguc D, Oren O, Guler M, Demiralay H. **Medical Doctors' Perception of Genetically Modified Foods**. DOI: 10.4328/JCAM.2639. Published Online. 2014.
 - Yiğit A, Savaş HB. **Glutathione S-Transferase Enzyme Gene Polymorphisms and Cardiovascular Diseases**. J Clin Anal Med 2016; DOI: 10.4328/JCAM.4323. Published Online. 2016.
-

» **Uluslararası Hakemli Dergilerdeki Yayınlar**

- Gultekin F, Savas HB, Mermi Ceyhan B, Akay MB, Cetinkaya N, Golcukcu A. **Medical Doctors' Perceptions of Food Additives**. Int J Basic Clin Med 2014; 2(3):118-22.

» **Ulusal Bilimsel Dergilerdeki Yayınlar**

- Yiğit B, Aslan Koşar P, Yiğit A, Savaş HB. **Biyopolimerler; Doku Mühendisliği Ve Tıbbi Tedavide Kullanımları**. Kimya ve Sanayi Dergisi. 2015; 1(5):6-22.
- Yiğit A, Yiğit B, Aslan Koşar P, Savaş HB, Korkmaz M. **Doku Mühendisliğinde Deselülerizasyon Metodları İle Ekstraselüler Matriks (Ecm) Eldesi Ve Tıbbi Tedavide Uygulama Alanları**. Kimya ve Sanayi Dergisi. 2016; 2(6):29-43.
- Savaş HB. **Sağlık Bilimlerinde Ar-Ge Süreci**. Yeni Milenyumda İnovasyon Dergisi. ISSN: 2458-844X. 2016; 1(2): 15-18.

• **TEBLİĞLERİ:**

» **Uluslararası Konferans ve Sempozyumlarda Bildiri Sunumu**

- Demiralay H, Gultekin F, Savas HB. **Attitudes and Level of Knowledge About Cancer of Nurse and Midwife.** *Int J Health Nutr* 2013 4(3):63. Abstract. International 2.Halal and Healthy Food Congress. November 07-10 2013. Konya. Turkey. PP49.
- Savas HB, Yuksel O, Guzel A, Ozturk SA, Ozorak A, Uz E. **Effects of Okserutin Treatment on Oxidant Status in Ischemia-Reperfusion Model.** *Int J Health Nutr* 2013 4(3):64. Abstract. International 2.Halal and Healthy Food Congress. November 07-10 2013. Konya. Turkey. PP50.
- Savas HB, Yuksel O, Uz E, Ozturk SA, Guzel A, Soyupek AS. **The Effects of Carbon Dioxide and Theophylline on Oxidant-Antioxidant System in Pneumoperitoneum Model.** *Int J Health Nutr* 2013 4(3):64-5. Abstract. International 2.Halal and Healthy Food Congress. November 07-10 2013. Konya. Turkey. PP51.
- Savas HB, Yuksel F, Yuksel O, Uz E. **The Relationship Between Serum Zinc Levels and Eating Habits.** Survey Practice. *Int J Health Nutr* 2013 4(3):65. Abstract. International 2.Halal and Healthy Food Congress. November 07-10 2013. Konya. Turkey. PP52.
- Savas HB, Gultekin F, Doguc DK, Oren O, Guler M, Demiralay H. **Genetically Modified Food Perception of Medical Doctors.** *Int J Health Nutr* 2013 4(3):66. Abstract. International 2.Halal and Healthy Food Congress. November 07-10 2013. Konya. Turkey. PP53.
- Gultekin F, Savas HB, Ceyhan BM, Akay MB, Cetinkaya N, Golcukcu A. **Food Additive Perception of Medical Doctors.** *Int J Health Nutr* 2013 4(3):66-67. Abstract. International 2.Halal and Healthy Food Congress. November 07-10 2013. Konya. Turkey. PP54.
- Savaş HB, Yüksel Ö, Uz E, Öztürk SA, Güzel A, Soyupek AS. **İntraabdominal Laparoskopik Operasyon Modelinde Karbondioksit İnsüflasyonu ve Teofilinin Antioksidan Enzim Aktivitesine Etkisi.** 1. Uluslararası Katılımlı Kök Hücre ve Hücrel Tedaviler Kongresi. Kök

Hücre ve Hücresel Tedaviler Derneği & TÜBİTAK. 20-23.03.2014. P-45. Kocaeli. (Poster Sunum).

- Savaş HB, Gültekin F. **Göz Muayenesi ile Tespit Edilen Eritrosit Hemolizinin Serum Potasyum Seviyesi Ölçümü ile Korelasyonu.** 1. Uluslararası Katılımlı Kök Hücre ve Hücresel Tedaviler Kongresi. Kök Hücre ve Hücresel Tedaviler Derneği & TÜBİTAK. 20-23.03.2014. P-46. Kocaeli. (Poster Sunum).
- Savaş HB, Gültekin F, Onder ME. **Nobel Prize-Winning Medical Student.** OP11. 2nd International Medical Student Congress. 9-11.May.2014. Barida Hotel. Isparta. Turkey. Oral Presentation. Book of Abstracts.
- Tan M, Savas HB, Uz E. **Markers Of Glomerular Filtration: Cystatin C Or Creatinine?** OP12. 2nd International Medical Student Congress. 9-11.May.2014. Barida Hotel. Isparta. Turkey. Oral Presentation. Book of Abstracts.
- Karaduman M, Ökdem C, Yiğit A, Yiğit B, Bağcı Ö, Özbaş H, Savas HB, Uz E. **Klinefelter's Syndrome And Infertility; The Case Report.** Op22. 2nd International Medical Student Congress. 9-11.May.2014. Barida Hotel. Isparta. Turkey. Oral Presentation. Book of Abstracts.
- Gültekin F, Savaş HB, Tulumbacı M, Kumartas S, Gurlek K. **Frequency Distribution Of Body Mass Index And Depressive Symptoms In The Suleyman Demirel University Medical School Students.** Op24. 2nd International Medical Student Congress. 9-11.May.2014. Barida Hotel. Isparta. Turkey. Oral Presentation. Book of Abstracts.
- Tan M, Savaş HB, Yiğit A, Yiğit B, Bağcı Ö, Özbaş H, Sancer O, Uz E. **A Case Report About Chromosome Anomalies In Recurrent Aborts.** PP4. 2nd International Medical Student Congress. 9-11.May.2014. Barida Hotel. Isparta. Turkey. Poster Presentation. Book of Abstracts.
- Savaş HB, Gültekin F, Çetinkaya N. **Alternative Careers for Medical Students; Doctorate.** PP6. 2nd International Medical Student Congress. 9-

11.May.2014. Barida Hotel. Isparta. Turkey. Poster Presentation. Book of Abstracts.

- Savaş HB, Gültekin F, Karaduman M. **A New Career Opportunities; Oyp.** PP7. 2nd International Medical Student Congress. 9-11.May.2014. Barida Hotel. Isparta. Turkey. Poster Presentation. Book of Abstracts.
- Savaş HB, Gültekin F, Akay MB. **The Relationship Between Obesity And Cancer.** PP22. 2nd International Medical Student Congress. 9-11.May.2014. Barida Hotel. Isparta. Turkey. Poster Presentation. Book of Abstracts.
- Savaş HB, Gültekin F, Güler M. **Cancer Preventive Nutrition.** Pp28. 2nd International Medical Student Congress. 9-11.May.2014. Barida Hotel. Isparta. Turkey. Poster Presentation. Book of Abstracts.
- Gültekin F, Kose SA, Savaş HB. **Investigating of the relationship between the first trimester screening biochemical markers and complications and anomalies in pregnant women.** 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress.5-12 September 2014. SDU & HSORD. Prof. Dr. Lütfü Çakmakçı Culture Center. Isparta. Turkey. PP. Cell Membranes and Free Radical Research. (6):1:2014:355.
- Yuksel O, Kumbul Doguc D, Savaş HB. **The effects of treadmill exercise on oxidant-antioxidant status in rat hippocampus.** 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress. 5-12 September 2014. SDU & HSORD. Prof. Dr. Lütfü Çakmakçı Culture Center. Isparta. Turkey. PP. Cell Membranes and Free Radical Research. (6):1:2014:356.
- Canbolat MF, Savaş HB, Gultekin F. **Catalase Incorporated Nanofiber Based Biocomposite Generation With and Without Cyclodextrin Addition.** 1st International Conference on Sustainable Composite Tecnologied. (SuCoTech 2014). Suleyman Demirel University Engineering Faculty Textile Engineering. 03-05 November 2014. Isparta. Turkey. Poster Presentation. Book of abstracts. PP 50-51.
- Okuducu HM, Öz FM, Savaş HB. **Melatonin in the ethology and the treatment of Type 2 Diabetes Mellitus.** 6th International Medical Student

Congress. TÖBAT. March 27-29, 2015. Oral Presentation 53. Book of Abstract. Ankara. TURKEY

- Savas HB, Mermi Ceyhan B, İlgin Y, Senol A. **Antioxidant activity of the thymoquinone in the experimental acute pancreatitis model**. 3rd Anticancer Agent Development Congress. İzmir. Turkey. Poster Presentation. 18-19 May 2015. Book of abstracts. PP 064.
- Savas HB, Canbolat MF, Gultekin F. **Reusebility and the Long Term Anti-Oxidant Effect of the Catalase Incorporated Nanofiber Based Biocomposite Generation with and without Cyclodextrin Addition**. 3rd Anticancer Agent Development Congress. İzmir. Turkey. Poster Presentation. 18-19 May 2015. Book of abstracts. PP 065.
- Savas HB, Canbolat MF, Gultekin F. **Reusebility of the Laccase Incorporated Nanofiber Based Biocomposite Generation with and without Cyclodextrin Addition**. 1st International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies. 27 October and 01 November 2015 in Bosnia and Herzegovina (Sarajevo). Book of Abstracts. PP 91.
- Mermi Ceyhan B, Savas HB, Senol A, Acarturk G. **Experimental Application of Kefir and Acetylsalicylic on Antioxidant Activity in Rats**. 1st International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies. 27 October and 01 November 2015 in Bosnia and Herzegovina (Sarajevo). Book of Abstracts. PP 94.
- Savas HB, Altuntaş A, Uz E, Sezer MT. **The Effects of Chronic Renal Failure on Oxidant-Antioxidant Status**. PA 226. The XXIV ISMS (International Symposium on Morphological Sciences). The Turkish Society of Anatomy and Clinical Anatomy. September 02-06, 2015. Istanbul. PP Abstract. Anatomy 2015;9(Suppl 2):v Published online: 2015 doi:10.2399/ana.15.V
- Savas HB, Mermi Ceyhan B, Gultekin F. **25 OH Vitamin D Levels of Patients Living in Isparta, Turkey**. PA 247. The XXIV ISMS (International Symposium on Morphological Sciences). The Turkish Society of Anatomy

and Clinical Anatomy. September 02-06, 2015. Istanbul. PP Abstract. Anatomy 2015;9(Suppl 2):v Published online: 2015 doi:10.2399/ana.15.V

- Savas HB, Türkkän A, Yavuz B, Yiğit A, Uz E, Bayram NA, Kale B. **Investigation Of Vaccinium Myrtillus's Antioxidant Effects In Experimental Diabetic Rat Model.** PA 307. The XXIV ISMS (International Symposium on Morphological Sciences). The Turkish Society of Anatomy and Clinical Anatomy. September 02-06, 2015. Istanbul. PP Abstract. Anatomy 2015;9(Suppl 2):v Published online: 2015 doi:10.2399/ana.15.V
- Türkkän A, Savas HB, Yavuz B, Yiğit A, Uz E, Bayram NA, Kale B. **The Prophylactic Effects Of Viscum Album In Streptozotocin-Induced Diabetic Rats.** PA 308. The XXIV ISMS (International Symposium on Morphological Sciences). The Turkish Society of Anatomy and Clinical Anatomy. September 02-06, 2015. Istanbul. PP Abstract. Anatomy 2015;9(Suppl 2):v Published online: 2015 doi:10.2399/ana.15.V
- Savas HB, Guler M, Gultekin F. **Nutrition Accuracy of Our Society in the Past.** 3rd International Halal and Healthy Food Congress. PP Abstract. October 30 - November 1, 2015. İstanbul. International Journal of Health and Nutrition. Special Issue: 2015 6(3): 41-52
- Savas HB, Catalbas T, Gultekin F. **The Role of Biochemistry Laboratory in Halal Food Certification.** 3rd International Halal and Healthy Food Congress. PP Abstract. October 30-31, 2015. İstanbul. International Journal of Health and Nutrition. Special Issue: 2015 6(3): 41-52
- Savas HB, Gultekin F. **The Clinical Significance, Identifying and Prevention of Insulin Resistance.** 3rd International Halal and Healthy Food Congress. PP Abstract. October 30 - November 1, 2015. İstanbul. International Journal of Health and Nutrition. Special Issue: 2015 6(3): 41-52
- Gultekin F, Savas HB, Tulumbacı M, Kumartas S, Gurlek K, Yurekli MV. **The Relationship between Nutrition, Regular Sports Action and Body Satisfaction with Depression and Body Mass Index in Medical Students.** 3rd International Halal and Healthy Food Congress. PP Abstract. October 30

- November 1, 2015. İstanbul. International Journal of Health and Nutrition. Special Issue: 2015 6(3): 41-52

- Yurekli MV, Basaran O, Savas HB, Kisioglu AN. **Knowledge and Attitudes of Medical Students Related with Healthy Nutrition And Halal Food.** 3rd International Halal and Healthy Food Congress. PP Abstract. October 30 - November 1, 2015. İstanbul. International Journal of Health and Nutrition. Special Issue: 2015 6(3): 41-52
- Catalbas T, Savas HB, Gultekin F. **Health Hazards of Genetically Modified Foods.** 3rd International Halal and Healthy Food Congress. PP Abstract. October 30 - November 1, 2015. İstanbul. International Journal of Health and Nutrition. Special Issue: 2015 6(3): 41-52
- Şanlıdere Aloğlu H, Öner Z, Demir Özer E, Savas HB, Uz E. **The Hypocholesterolemic Effect of a Probiotic Yeast in Rats Fed on a Cholesterol-Enriched Diet.** IDF World Dairy Summit. Vilnius, Lithuania. September 20-24, 2015. Poster Presentation.
- Sezer MT, Altuntas A, Yigit A, Uz E, Kıdır V, Aydın B, Inal S, Savas HB. **The Relationship between Serum Fetuin a Levels and Fetuin Gene Polymorphism in Hemodialysis Patients.** Nephrol. Dial. Transplant. (2015) 30 (suppl 3): iii597. doi: 10.1093/ndt/gfv199.29. ERA-EDTA 52nd Congress - London May 28th - 31th, 2015.
- Savas HB, Kose SA, Guler M, Gultekin F. **Investigating of the relationship between the second trimester screening biochemical markers and complications and anomalies in pregnant women.** 6th World Congress of Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP. 24 and 27 May 2016, Isparta, Turkey. Poster Presentation. Cell Membranes and Free Radical Research. Special Issue: 2016.
- Savas HB, Gultekin F. **The effects of meal frequency and calorie restriction on oxidant-antioxidant systems in rats.** 6th World Congress of Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP. 24 and 27 May 2016, Isparta,

Turkey. **Oral Presentation.** Cell Membranes and Free Radical Research. Special Issue: 2016.

- Savas HB, Mermi Ceyhan B, Ilgin Y, Senol A. **Effects of Thymoquinone on Oxidant-Antioxidant Systems in the Experimental Acute Pancreatitis Model.** 6th World Congress of Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP. 24 and 27 May 2016, Isparta, Turkey. Poster Presentation. Cell Membranes and Free Radical Research. Special Issue: 2016.
- Vural H, Savas HB, Mermi Ceyhan B. **The Effects of 25 OH Vitamin D3 Deficiency on Oxidant-Antioxidant System.** 6th World Congress of Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP. 24 and 27 May 2016, Isparta, Turkey. Poster Presentation. Cell Membranes and Free Radical Research. Special Issue: 2016.

» **Ulusal Konferans ve Sempozyumlarda bildiri sunumu:**

- Savaş H.B., Yüksel, Ö., Şanlıdere Aloğlu, H., Öner, Z., Demir Özer, E., Gültekin, F. **Yüksek Kolesterol İçeren Diyetle Beslenen Sıçanlarda Gıda Kaynaklı Mayanın Oksidan-Antioksidan Sistem Üzerine Etkileri.** Sağlıkta İnovasyon Üniversiteden Sanayiye “Eğitim Çalıştayı”, 16-17 Mayıs 2013, İzmir. (Poster Sunum).
- Yüksel Ö, Yüksel F, İlhan İ, Savaş HB, Uz E. **Rekürrent Aftöz Stomatitten Muzdarip Hastaların Serum Çinko Düzeyleri Düşük mü?** *Turk J Biochem*, 2013; 38 (S1), p 230.25. Ulusal Biyokimya Kongresi. 3-6 Eylül 2013. İzmir (Poster Sunum).
- Yüksel Ö, Kumbul Doguç D, Savaş HB. **Yaşlı sıçanların hipokampuslarında beyin-türevli nörotrofik faktör üzerinde koşu bandı egzersizinin etkileri.** 8. Hücrel Sinir Bilim Günleri. Sakarya Üniversitesi Tıp fakültesi. 29-30 Kasım 2014. Sakarya. Poster Sunum Bildiri Özeti. Sakarya Medical Journal pp 38.
- Topkaya Hİ., Tanrıseven B., Savaş HB. **Şizofreni hastalarında viral enfeksiyonlara dair olgu sunumu.** İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp

Fakültesi IV. Öğrenci Bilim Günleri. 28-29 Mart 2015. İstanbul. Sözlü Sunum.

- Öztürk SA, Ceylan C, Serel TA, Doluoğlu ÖG, Soyupek AS, Güzel A, Özorak A, Uz E, Savaş HB, Başpınar Ş. **Deneysel pnömoperiton modelinde Teofilinin böbrek fonksiyonları üzerinde koruyucu etkisi.** 11. Ulusal Endoüroloji Kongresi. 23-26 Nisan 2015 Mardan Palace Hotel Antalya. PP.
- İlgin Y, Şenol A, Savaş HB, Armağan İ, Bayram D, Çiftçi E, Aynali A, Mermi Ceyhan B, Koçkar MC. **Deneysel Akut Pankreatitte Thymoquinone'nin Koruyucu Etkisi.** 32. Ulusal Gastroenteroloji Haftası 25-29 Kasım 2015, Antalya. PP. 315. Abstract. Turk J. Gastroenterol 2015; 26 (Suppl. 1): 333.

KURS KATILIM BELGELERİ ve SERTİFİKALAR:

- 2010- Sağlık Bakanlığı- **Doğumsal Kalça Çıkığı** 1. Basamak Tanı ve Tedavi Kursu. Ağrı.
- 2010- Sağlık Bakanlığı- **Aile Hekimliği Sertifikası.** Aksaray.
- 2012- Türk Biyokimya Derneği- Kalite Kılavuzları Temelinde **Laboratuvar Hesaplamaları ve Değerlendirmeleri** Kursu. Konya.
- 2012- Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi MAEU-HADYEK SB025 Nolu **Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası.** Burdur.
- 2013- Radon Medikal- DSI- METRIS- **'Deney Hayvanlarında Cerrahi Yöntemle Telemetrik Veri Kaydı ve Tam Otomatik Davranış Sistemi ile Davranış Kaydı Kursu'** katılım ve başarı belgesi. Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Ankara.
- 2013- SDÜ Nörobam- HSORD- **İleri Hücre Kültürü Kursu-** 'Advanced Cell Culture Course' katılım ve başarı sertifikası. Süleyman Demirel Üniversitesi. Isparta.

- 2013- İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırmaları Enstitüsü- **Temel Western Blot Kursu**- ‘Basic Western Blot Course’ katılım ve başarı sertifikası. İstanbul Üniversitesi. İstanbul.
- 2013- SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Bilimsel Araştırmalar Kursu** Katılım Belgesi. SDÜ. Isparta.
- 2014- Kök Hücre ve Hücresel Tedaviler Derneği & TÜBİTAK- **Temel Kök Hücre Teknikleri Kursu**- 20.03.2014. Kocaeli.
- 2014- Scopus- Elsevier- ScienceDirect. ‘**Scopus ve ScienceDirect Veri Tabanları Eğitimi** Katılım Belgesi.’ Süleyman Demirel Üniversitesi. 14.04.2014. Isparta.
- 2014- **ProQuest Veri Tabanları Eğitimi** Katılım Belgesi.’ Süleyman Demirel Üniversitesi. 06.05.2014. Isparta.
- 2014- **Teknogirişim Proje Hazırlama Eğitimi** Katılım Belgesi. Teknokent & BAKA. Isparta.
- 2015- **Klinik laboratuvarında lc-ms kullanımı**- Kurs Sertifikası. Selçuk Üniversitesi SEM- Tıp Fakültesi Metabolizma Laboratuvarı. 7-8 Mart 2015. Konya.
- 2015- **Bioinformatic Tools for Exome Sequencing Data Analysis**. TÜBİTAK-MOKAD- Dokuz Eylül University. 19 Mayıs 2015. İzmir. Türkiye.
- 2015- **TÜBİTAK Bireysel Genç Girişim Programı BİGG SEA Hızlı Başla Eğitimi** Katılım Belgesi. BİGG SEA. 20.08.2015. Isparta.
- 2015- **Medical Photography Workshop Certificate**. 02.09.2015. 24. ISMS Congress. İstanbul. Türkiye.

KONGRE-ÇALIŞTAY KATILIM BELGELERİ:

- 2012- Türk Biyokimya Derneği. **24. Ulusal Biyokimya Kongresi**. Konya.

- 2013- Dokuz Eylül Üniversitesi-Türk Biyokimya Derneği. **‘Sağlıkta İnovasyon: Üniversiteden Sanayiye’ Çalıştayı.** Dokuz Eylül Üniversitesi. İzmir.
- 2013- **International 2nd Halal and Healthy Food Congress.** November 07-10 2013. Konya. Turkey.
- 2014- **1. Uluslararası Katılımlı Kök Hücre ve Hücresel Tedaviler Kongresi.** Kök Hücre ve Hücresel Tedaviler Derneği & TÜBİTAK. 20-23.03.2014. Kocaeli.
- 2014- **2nd International Medical Student Congress.** 9-11.May.2014. Barida Hotel. Isparta. Turkey.
- 2014- **5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress.** 5-12 September 2014. SDU & HSORD. Prof. Dr. Lütfü Çakmakçı Culture Center. Isparta. Turkey.
- 2014- **8. Hücresel Sinir Bilim Günleri.** Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi. 29-30 Kasım 2014. Sakarya. Türkiye.
- 2015- **İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi IV. Öğrenci Bilim Günleri.** 28-29 Mart 2015. İstanbul. Türkiye.
- 2015- **3rd Anticancer Agent Development Congress.** EACR- MOKAD- Dokuz Eylül University. 18-19 Mayıs 2015. İzmir. Türkiye.
- 2015- **The XXIV ISMS (International Symposium on Morphological Sciences).** The Turkish Society of Anatomy and Clinical Anatomy. September 02-06.09.2015. Istanbul.
- 2015- **1st International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies.** 27 October and 01 November 2015 in Bosnia and Herzegovina (Sarajevo).

TEŞEKKÜR BELGELERİ:

- 2014- **Certificate of Appreciation.** Hasan Basri SAVAŞ. 2nd International Medical Students Congress. 9-11.May.2014. Isparta. Turkey.
- 2016- **Certificate of Appreciation.** Hasan Basri SAVAŞ. International Traditional Chinese Medicine Symposium. 26-27.02.2016. SDÜ Isparta. Turkey.

ULUSAL SEMPOZYUM, KONGRE, KURS (WORKSHOP) DÜZENLENMESİ GİBİ ETKİNLİKLERDE ALDIĞI GÖREVLER

- 2014- Süleyman Demirel Üniversitesi HADYEK tarafından 10-17 Aralık 2014 tarihleri arasında düzenlenen “**XI. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı**” Laboratuvar Uygulama Biyokimya Laboratuvarı Dersinde Görevli.
- 2016- '**Sağlık Alanında Akademik Girişimciliğin Temelleri Atılıyor**' İsimli Kursta: 'Sağlık Bilimlerinde Ar-Ge süreci' başlıklı panel sunumu. **Akdeniz Üniversitesi İş Dünyası ile İşbirliği ve Teknoloji Transferi Uygulama ve Araştırma Merkezi (AKİŞMER).** 10.02.2016. Antalya TÜRKİYE.

ULUSLARARASI SEMPOZYUM, KONGRE, KURS (WORKSHOP) DÜZENLENMESİ GİBİ ETKİNLİKLERDE ALDIĞI GÖREVLER

- 2014- **2nd International Medical Student Congress.** Düzenleme Kurulu ve Bilim Kurulu Üyelikleri. 9-11.May.2014. Barida Hotel. Isparta. Turkey.
- 2016- **International Traditional Chinese Medicine Symposium.** 26-27.02.2016. SDÜ Isparta. Düzenleme kurulu üyesi.

ALANINDA BİLİMSEL ARAŞTIRMA VE ÇALIŞMALAR İÇİN ALDIĞI ULUSLARARASI BURS DESTEĞİ:

- 2015- 3rd The European Association for Cancer Research (EACR)- Sponsored Anticancer Agent Development Congress which will be held on 18th – 19th of May 2015 in Izmir, TURKEY. “**Young Researcher**

Scholarship”. Hasan Basri SAVAŞ. Moleküler Kanser Araştırma Derneği (MOKAD).

ALANINDA BİLİMSEL ARAŞTIRMA VE ÇALIŞMALAR İÇİN ALDIĞI ULUSAL BURS DESTEĞİ:

- 2013- **Tübitak Genç Araştırmacı Destekleme Bursu.** Hasan Basri SAVAŞ. Yüksek Kolesterol İçeren Diyetle Beslenen Sıçanlarda Gıda Kaynaklı Mayanın Oksidan-Antioksidan Sistem Üzerine Etkileri. Sağlıkta İnovasyon Üniversiteden Sanayiye “Eğitim Çalıştayı”, 16-17 Mayıs 2013, İzmir.

ULUSAL KURULUŞLARCA DESTEKLENEN BİLİMSEL PROJELERDE ALDIĞI GÖREVLER

- 2015- Araştırmacı. 'Farklı Öğün Sıklığının, Sıçanlarda Metabolizma ve Antioksidan Sistem ile Nörodavranış Üzerine Etkileri' **SDÜ BAP 4476-ÖYP-D2-15 Nolu Proje Desteği** ve **SDÜ ÖYP Koordinasyon Birimi ÖYP-DR-12 Nolu Proje Desteği.**
- 2015- Araştırmacı. 'NOAEL düzeyinde sentetik gıda boyalarına intrauterin maruziyetin tükürük bezi üzerine etkilerinin erişkin dönemde araştırılması'. **TÜBİTAK 1002 Projesi.**
- 2015- Araştırmacı: ‘Sıçan Kardiyak İskemi/Reperfüzyon Modelinde Miyokardiyal Hasarı Azaltmak İçin Yeni Bir İlaç Molekülü; Timokinon’ **Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından; 2006K120860-5 Nolu 2015 tarihli kararla desteklenen İlaç Araştırması.**

ÖDÜL BELGELERİ:

- 2014- **ANSİAD İş Fikri Bilimsel Proje Yarışması Birincilik Ödülü Belgesi:** Hasan Basri SAVAŞ. ‘Deselürize ve demineralize doku matriksi elde edilen hastalarda doku grefti olarak kullanılması’ ANSİAD & Akdeniz Üniversitesi & Uluslararası Antalya Üniversitesi & Süleyman Demirel

Üniversitesi & Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi. 11.12.2014. Antalya. Türkiye.

- 2015- **32. Ulusal Gastroenteroloji Haftası Poster Bildiri Birincilik Ödülü:** Yusuf İlgin, Altuğ Şenol, Hasan Basri Savaş, İlkay Armağan, Dilek Bayram, Esra Çiftçi, Ayşe Aynalı, Betül Mermi Ceyhan, Muhammed Cem Koçkar. Deneysel Akut Pankreatitte Thymoquinone'nin Koruyucu Etkisi. 32. Ulusal Gastroenteroloji Haftası 25-29 Kasım 2015, Antalya. Türkiye.

DOKTORA SEMİNERLERİ:

- **22.05.2013** tarihinde sunulup jüri tarafından kabul edilerek, **254 seminer numarası** ile basılı halde SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsüne teslim edilen: **'Beslenme ve Kanser İlişkisi'** başlıklı doktora semineri. Hasan Basri SAVAŞ. **Danışman: Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN.**

- **08.01.2014** tarihinde sunulup jüri tarafından kabul edilerek, **259 seminer numarası** ile basılı halde SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsüne teslim edilen: **'İnsülin Direnci'** başlıklı doktora semineri. Hasan Basri SAVAŞ. **Danışman: Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN.**