



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubuyla Beslenen Sıçanlarda L-Karnitin ve Trans-Şalkon'un
Endoplazmik Retikulum Stresi ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Araştırılması

Hazırlayan
Velid UNSAL

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı
Doktora Tezi

Danışman
Doç. Dr. Köksal DEVECİ

TOKAT – 2017

Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubuyla Beslenen Sıçanlarda L-Karnitin ve Trans-Şalkon'un
Endoplazmik Retikulum Stresi ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Araştırılması

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: / /

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Başkan : Prof.Dr. Hatice PINARBAŞI

.....

Üye : Doç. Dr.Köksal DEVECİ

.....

Üye : Yrd.Doç.Dr.Z.Cansel ÖZMEN

.....

Üye: Yrd.Doç.Dr.Ayşe Kevser DEMİR

.....

Üye: Yrd.Doç. Dr. Rukiye yıldırım NAR

.....

Bu tez, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../..... tarih ve sayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü:

Mühür
İmza

T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(.../.../2017)

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Velid UNSAL

İmzası

.....

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince büyük emeği geçen, eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimleri ile beni destekleyen tez danışmanım, Anabilim Dalı başkanımız sayın Doç. Dr. Köksal DEVECİ'ye, bölümümüz öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Z. Cansel Özmen'e, önemli katkılarından dolayı Öğr. Gör. Dr. İsmail Benli'ye, Öğr. Gör. Dr. Leyla Aydoğan'a, çalışmam boyunca önemli katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. M. Kemal TÜMER'e, Biyoistatistik Anabilim Dalı başkanı Yrd. Doç. Dr. Osman Demir'e ve tüm Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına ve arkadaşlarıma; her zaman yanımda olan desteğini ve fikirlerini aldığım saygıdeğer babam, sevgili annem, kardeşlerime, hayattaki yol arkadaşım sevgili eşime, hayat sevincim çocuklarıma en içten teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZET

YÜKSEK FRUKTOZLU MISIR ŞURUBUYLA BESLENEN SIÇANLARDA L-KARNİTİN VE TRANS-ŞALKON'UN ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİ VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç; Yüksek fruktozlu mısır şurubunun (HFCS) endokrin tepkisi ve potansiyel sağlık etkileri ile ilgili ciddi bilimsel tartışmalar halen devam etmektedir. Protein ve lipid biyosentezi, ksenobiyotik detoksifikasyonu, hücrel kalsiyum depolama ve proteinlerin katlanması gibi önemli işlevleri yerine getiren endoplazmik retikulum (ER) homeostazının bozulmasına 'ER stresi' denir. Glucose-regulated protein-78 (GRP-78) ve X-box binding protein-1 (XBP-1) ER stresinin anahtar belirteçleri ve hastalıkların terapötik hedefleridir. Sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c), yağ asidi sentezi için enzimlerin ekspresyonunu düzenleyen en önemli transkripsiyon faktörüdür. Yağ asidi sentaz (FAS) trigliserit biyosentezinde önemli rol oynar ve tedavide anti-obezite için hedef olarak düşünülmektedir. Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin üretimi ile antioksidan savunmalar arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır. L-karnitin lipid metabolizmasında önemli yer tutan ve antioksidan molekül olarak bilinmektedir. Trans-şalkon molekülü son yıllarda keşfedilen yağ asidi sentetaz inhibitörü ve iyi bir antioksidan olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmadaki amacımız; L-karnitin ve trans-şalkon'un ER stresi ve oksidatif stres parametrelerini nasıl etkilediğini araştırmak, L-karnitin ve trans-şalkon moleküllerinin terapötik potansiyellerini keşfetmektir.

Materyal ve Metod; Rastgele seçilen 40 genç erkek erişkin wistar albino sıçan 5 gruba ayrılmıştır. Bütün gruplar standart yem ile beslenmiştir. Grup 1 içme suyu ile beslenirken, Grup 2, 3, 4, 5, % 15'lik HFCS ile beslenmiştir. Grup 2'ye DMSO, Grup 4'e L-karnitin ve Grup 5'e trans-şalkon intraperitoneal olarak verilmiştir. Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri, Malondialdehit (MDA), Glutasyon (GSH), Protein karbonil (PC) ve Nitrik oksit (NO) düzeyleri spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. GRP-78, XBP-1, SREB-1c düzeyleri ve FAS aktivitesi ELISA yöntemiyle belirlenmiştir.

Bulgular; HFCS ile beslenen sıçanların su tüketim miktarları artarken yem tüketim miktarı azalmıştır. Grup 2'ye ve Grup 3'e ait sıçanların ağırlıkları, Grup 1'e göre anlamlı şekilde artmıştır. Grup 3'te, ER stresi biyobelirteci GRP78, XBP-1; Oksidatif stres

biyobelirteci MDA seviyesi; total kolesterol, trigliserid, LDL düzeyleri anlamlı olarak artmıştır ($p<0,05$). L-karnitin verilen Grup 4'te XBP-1, SREB-1c, trans-şalkon verilen Grup 5'te MDA, XBP-1, SREBP-1c düzeyleri anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,05$).

Sonuç; Çalışmamız bize aşırı HFCS tüketiminin kilo artışına, hiperlipidemiye, oksidatif stres ve ER strese neden olduğunu göstermektedir. L-karnitin ve trans-şalkon; kilo alımını ve XBP-1, SREB-1c seviyelerini azaltır.

Anahtar Kelimeler; Endoplazmik Retikulum Stresi, Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu, Oksidatif Stres, L-Karnitin, Trans-Şalkon



ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF L-CARNITINE AND TRANS-CHALCONE ON ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS AND OXIDATIVE STRESS IN RATS FED WITH HIGH FRUCTOSE CORN SYRUP.

Objective; Serious scientific discussions on high fructose corn syrup (HFCS) endocrine response and potential health effects currently continue. “Endoplasmic reticulum (ER) stress” is called the degradation of the homeostasis of the ER, which performs important functions such as protein and lipid biosynthesis, xenobiotic detoxification and cellular calcium storage, folding of proteins. Oxidative stress is thought to be both a factor and a consequence of impairment of this homeostasis. Endoplasmic reticulum stress is the key markers of Glucose-regulated protein-78 (GRP-78) and X-box binding protein-1 (XBP-1) and therapeutic targets for diseases. Sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c) is the most important transcription factor that regulates the expression of enzymes for fatty acid synthesis. Fatty acid synthase (FAS) plays an important role in triglyceride lipid biosynthesis and is considered as an anti-obesity target in treatment. Oxidative stress, defined as a disturbance in the balance between the production of reactive oxygen species and antioxidant defenses. L-carnitine is known as an antioxidant molecule and which plays an important role in lipid metabolism. Trans-chalcone molecule is thought to be a good antioxidant and fatty acid synthetase inhibitor discovered in recent years. Our purpose in this study is; Investigating how L-carnitine and trans-chalcone affect ER stress and oxidative stress parameters, exploring the therapeutic potentials of L-carnitine and trans-chalcone molecules.

Materials and Methods; Randomly selected forty young male adult wistar albino rats were divided into 5 groups. All groups were fed with standard chow. While Group 1 was fed with drinking water, Group 2, 3, 4, 5 were fed with 15% HFCS. Group 2 was given DMSO, Group 4 was given L-carnitine and Group 5 was given trans-chalcone intraperitoneally. Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathion peroxidase (GSH-Px) activities, malondialdehyde (MDA), glutathion (GSH), protein carbonyl (PC) and nitric oxide (NO) levels were determined by spectrophotometric method. GRP-78, XBP-1, SREB-1c levels and FAS activity were determined by ELISA method.

Results; While the amount of water consumed by HFCS-fed rats increased, the amount of feed consumed decreased. There was a significant increase in the weights of rats of Group 2 and Group 3 according to Group 1. In Group 3, Endoplasmic reticulum stress biomarker GRP78, XBP-1 levels; Oxidative stress biomarker MDA level; total cholesterol, triglyceride, LDL levels were significantly increased ($p < 0.05$). In Group 4 given L-carnitine XBP-1, SREB-1c, in group 5 given trans-chalcone MDA, XBP-1, SREB-1c were significantly reduced ($p < 0.05$).

Conclusion; Our study shows that excessive consumption of HFCS causes weight gain, hyperlipidemia, oxidative stress and ER stress. L-carnitine and trans-chalcone; weight gain and reduced the level of XBP-1, SREB-1c.

Keywords; Obesity, Endoplasmic Reticulum Stress, High Fructose Corn Syrup, Oxidative Stress, L-Carnitine, Trans-Chalcone

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Obezite	3
2.1.1. Total Kolesterol, HDL, LDL, VLDL	3
2.1.2. Fruktoz ve Metabolizması	4
2.1.3. Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu	6
2.2. Endoplazmik Retikulum	7
2.2.1. Endoplazmik Retikulum Stresi	8
2.2.1.1. Katlanmamış Protein Cevabı	9
2.2.1.2. X-box Binding Proteini	10
2.3. ER Stresi ve Lipid Metabolizması	11
2.3.1. SREBP Aktivasyonunun Düzenlenmesi	12
2.3.2. ER Stresi ve Yağ Asidi Sentaz	14
2.3.2.1. Doğal FAS inhibitörleri	14
2.4. ER Stresi, Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Türleri	15
2.4.1. Reaktif Oksijen Türleri	15
2.4.1.1. Malondialdehit	17
2.4.1.2. Protein Karbonil	17
2.4.2. Oksidatif Protein Katlanması ve ER	18
2.4.3. ER Stresi Durumunda ROS Üretimi	18
2.4.4. ER Stresi Durumunda Mitokondriden Üretilen ROS	19
2.4.5. ER Stresi Durumunda Ca ⁺² ile ROS Üretimi	19
2.5. ER stresi ve Obezite	20
2.6. Antioksidanlar	21

2.6.1. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	21
2.6.1.1. Glutasyon	21
2.6.2. Enzimatik Antioksidanlar	22
2.6.2.1. Süperoksit Dismutaz	22
2.6.2.2. Glutasyon Peroksidaz	22
2.6.2.3. Katalaz	22
2.6.3. L-karnitin	23
2.6.4. Trans-şalkon	25
3. MATERYAL VE METOD	26
3.1. Kullanılan Malzemeler	26
3.1.1. Kimyasal Maddeler	26
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	27
3.2. Hayvan Grupları	27
3.3. Biyokimyasal İnceleme	29
3.3.1. Karaciğer Doku Örneklerinin Homojenize Edilmesi	29
3.3.2. Doku Protein Miktarının Belirlenmesi	29
3.3.3. Malondialdehit Düzeylerinin Belirlenmesi	30
3.3.4. Protein Karbonil Düzeylerinin Belirlenmesi	31
3.3.5. Nitrik Oksit Düzeylerinin Belirlenmesi	32
3.3.6. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi	33
3.3.7. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi	34
3.3.8. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi	35
3.3.9. Glutasyon Düzeyinin Belirlenmesi	35
3.3.10. GRP-78, XBP-1, SREB-1c Düzeylerinin ve FAS Aktivitesinin Belirlenmesi	36
3.3.11. Total Kolesterol, LDL, HDL, TG Seviyelerinin Belirlenmesi	36
3.3.12. İstatistik	37
4. BULGULAR	38
4.1. Deney Hayvanları	38
4.2. Biyokimyasal Analiz	43
4.2.1. Serum TG, Total Kolesterol, HDL, LDL, VLDL Düzeylerinin Belirlenmesi	43
4.2.2. Kilo ile LDL, HDL, Total Kolesterol, TG Korelasyon Analizi	45

4.2.3. Karaciğer Dokusunda Oksidatif Stres Parametreleri	46
4.2.4. Grupların Doku ve Serum Glutasyon Düzeyi	50
4.2.5. Grupların Karaciğer Dokusunda GRP-78, XBP-1, SREBP-1c Düzeyleri ve FAS Aktiviteleri	51
4.2.6. Kilo ile LDL, HDL, Total Kolesterol, TG ile Doku GRP-78, XBP-1, SREBP-1c Düzeyleri, FAS Aktiviteleri Arasındaki Korelasyon Analizi	54
4.2.7. Doku SOD, CAT, GSH-Px Aktiviteleri, MDA, PC, GRP-78, XBP-1, SREBP-1c Düzeyleri, FAS Aktiviteleri ve Kilo Arasındaki Korelasyon Analizi	55
4.2.8. Serum SOD, GSH-Px Aktiviteleri, MDA, PC, NO Düzeyleri	56
5. TARTIŞMA	58
5.1. Sonuçlar	69
5.2. Öneriler	71
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	85

TABLULAR LİSTESİ

- Tablo-1:** Grupların haftalık ortalama su tüketimi
- Tablo-2:** Grupların haftalık ortalama kilo değişimi
- Tablo-3:** Grupların haftalık yem tüketim miktarı
- Tablo-4:** Serum TG, total kolesterol, HDL, LDL, VLDL düzeyleri
- Tablo-5:** Kilo ile LDL, HDL, total kolesterol, TG arasındaki korelasyon analizinin gösterimi
- Tablo-6:** Karaciğer dokusunda oksidatif stres parametreleri
- Tablo-7:** Grupların doku ve serum GSH düzeyi
- Tablo-8:** Doku GRP-78, XBP-1, SREBP-1c düzeyleri ve FAS aktiviteleri
- Tablo-9:** Kilo ile serum LDL, HDL, total kolesterol, TG ile doku GRP-78, XBP-1, SREBP-1c düzeyleri, FAS aktiviteleri arasındaki korelasyon analizi
- Tablo-10:** Kilo ile doku SOD, CAT, GSH-Px, FAS aktiviteleri, doku MDA, PC, GRP-78, XBP-1, SREBP-1c düzeyleri arasındaki korelasyon analizi
- Tablo-11:** Serum SOD, GSH-Px aktiviteleri, MDA, PC, NO düzeyleri

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil-1:** Karaciğerde fruktozun metabolizması
- Şekil-2:** Yüksek fruktoz mısır şurubu tüketimi ve obezitenin yaygınlığı arasındaki zamansal ilişki
- Şekil-3:** Düz ve granüllü ER yapısı
- Şekil-4:** ER lümeninde katlanmamış proteinlere cevap yolları
- Şekil-5:** GRP-78'in tetiklemesiyle hedef genleri aktifleştiren XBP-1
- Şekil-6:** ER stresi durumunda XBP-1
- Şekil-7:** Memelilerde SREBP yolları
- Şekil-8:** Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki denge
- Şekil-9:** ROS'un ER, DNA, mitokondri, protein ve lipitlere etkisinin gösterimi
- Şekil-10:** ER stresi durumunda Ca^{+2} ve ROS
- Şekil-11:** SOD, CAT ve GSH-Px reaksiyon mekanizmaları
- Şekil-12:** Yağ asidi beta oksidasyonu, ROS ve L-karnitin ilişkisi
- Şekil-13:** Trans-şalkon molekülünün kimyasal yapısı
- Şekil-14:** Grupların su tüketim miktarının haftalık grafiksel gösterimi
- Şekil-15:** Grupların haftalık kilo ortalamalarının grafiksel gösterimi
- Şekil-16:** Deney gruplarının çalışma başında ve sonundaki ortalama kilolarının grafiksel gösterimi
- Şekil-17:** Çalışma sonunda Grup-1 ve Grup-3'ün sıçanlarından fiziksel görünüm
- Şekil-18:** Grupların yem tüketim miktarının haftalık grafiksel gösterimi
- Şekil-19:** Gruplarda doku SOD ve GSH-Px aktivitesinin grafiksel gösterimi
- Şekil-20:** Gruplarda doku MDA ve PC düzeyinin grafiksel gösterimi
- Şekil-21:** Grupların doku GRP-78 ve XBP-1 düzeylerinin grafiksel gösterimi
- Şekil-22:** Gruplarda doku FAS aktivitesinin ve SREB-1c düzeylerinin grafiksel gösterimi

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

- AAC:** Asetil-KoA Karboksilaz
BIP: Binding Immunoglobulin Protein
Ca²⁺: Kalsiyum
CAT: Katalaz
DMSO: Dimetil Sülfoksit
DNA: Deoksiribonükleik Asit
ER: Endoplazmik Retikulum
ER stresi: Endoplazmik Stresi
FAS: Yağ Asidi Sentaz
GOÜ: Gaziosmanpaşa Üniversitesi
GRP-78: Glucose-Regulated protein-78
GSH: Glutasyon
GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz
GSH-R: Glutasyon Redüktaz
GSSG: Okside Glutasyon
HDL: Yüksek Yoğunluklu Lipoproteinler
HFCS: Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu
H₂O₂: Hidrojen Peroksit
LOO•: Lipid Peroksil Radikali
LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
L•: Yağ Asidi Zincir Radikali
LCFA: Uzun Zincirli Yağ Asitleri
MDA: Malondialdehit
ml: Mililitre
mU: Mili Ünit
NADPH: Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NO: Nitrik Oksit
NO•: Nitrik Oksit Radikali
ROS: Reaktif Oksijen Türleri
SOD: Süperoksit Dismutaz
SREBPs: Sterol Düzenleyici Eleman Bağlayıcı Proteinler

O₂^{•-}: Süperoksit Anyon Radikali

OD: Optik Dansite

OH[•]: Hidroksil Radikali

TBA: Tiyobarbütirik Asit

TG: Trigliserit

VLDL: Very Low Density Lipoprotein

XBP-1: X-Box Binding Protein 1

XO: Ksantin Oksidaz



1. GİRİŞ

Obezite; vücutta aşırı miktara yağ birikmesi olarak tanımlanmaktadır. Temel bilim ve klinik araştırmalar için ilgi alanı oluşturan obezite artan ölüm riskiyle ilişkilendirilmektedir. Tip-2 diyabet, dislipidemi, hipertansiyon, kalp hastalığı, bazı kanser türleri, safra taşları, gut ve uyku apnesi dahil olmak üzere kronik vakaların bir çoğu için risk faktörüdür. Kilo artışıyla beraber trigliserit (TG) düzeyi, total kolesterol artarken, HDL kolesterol düzeyi azalır. Kilo verme, hipertansiyon ve diyabet gibi obezite komplikasyonlarının azaltılmasında yardımcı olmaktadır. Obezitede kilo kaybını arttırma da en iyi başlangıç stratejisi bir insanın yaşam tarzını değiştirmesine öncülük etmektir. Obezite tedavisinde kullanılan yöntemler; tıbbi beslenme (diyet) tedavisi, egzersiz tedavisi, davranış değişikliği tedavisi, cerrahi tedavi, farmakolojik tedavidir [1].

Endoplazmik retikulum (ER) hücrelerde salgı proteinlerinin sentezi, katlanma ve olgunlaşma işlevlerinin gerçekleştiği yerdir ve çoğu hücreyel aktiviteler için gereklidir. Bazı patolojik stres koşulları, ER homeostazını bozar ve ER lümeninde katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine yol açar. Bu homeostazın bozulmasına ER stresi denir. Hücreler bu stresle başa çıkmak için, katlanmamış protein cevabı (UPR) olarak adlandırılan sitoplazma ve çekirdeği birbirine bağlayan bir sinyal iletim sistemini harekete geçirir [2-4]. ER stresini tetikleyen koşullar arasında aşırı beslenme veya besin yoksunluğu, viral enfeksiyonlar, lipidler, salgı proteinlerin artmış sentezi ve mutant, yanlış katlanmış proteinlerin ekspresyonu vardır. Organizmada, serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemleri arasında bir denge vardır ve bu dengenin oksidanların lehine olması durumuna, oksidatif stres denir [5, 6]. ER stresi bağlantılı hastalık koşullarında ER stresi kaynaklı oksidatif stres bilgisini kullanmaya yönelik girişimler, büyük ölçüde emekleme aşamasındadır [7, 8]. Son yapılan araştırmalar ER stresinin ve oksidatif stresin diyabet, obezite gibi metabolik hastalıklar, kanser, immun yanıt ve nörodejeneratif hastalıklarda önemli rol oynadığını göstermektedir. Bununla beraber aşırı kilodan kaynaklı bu stres durumlarının ortadan kaldırılması ve anlaşılması için halen çalışmalar yetersizdir [9].

Trans-şalkon yağ asiti sentez inhibitörü ve antioksidan olarak bilinen bir moleküldür. L-karnitin de hem antioksidan ve hem de yağ yakıcı özelliğiyle

bilinmektedir. Bu çalışmadaki amacımız; HFCS ile beslenen sıçanlarda L-karnitin ve trans-şalkon molekülünün ER stresi ve oksidatif stres parametreleri üzerine etkisini araştırmak, L-karnitin ve trans-şalkon moleküllerinin terapötik potansiyellerini keşfetmektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite

Obezite, vücut ağırlığını düzenleyen sistemde bozukluk olarak tanımlanabilir ve vücut yağının aşırı birikimi ile karakterizedir. Günlük yaşamının yüksek düzeyde fiziksel aktivite gerektirdiği ve sürekli gıda teminin olmadığı toplumlarda, fazla kalorilerin yağ olarak depolanmasına sebep olan genetik yatkınlık yaşamsal değere sahipti. Bununla beraber günümüzde, hareketsiz yaşam tarzı, bolluk ve lezzet çeşitliliği, sanayileşmiş toplumlarda pahalı olmayan gıdalar, şüphesiz obezitenin yayılmasına sebep olmuştur. Obezite arttıkça, obezite ile ilişkili olan artrit, diyabet, hipertansiyon, kalp damar hastalıkları ve kanser riski de yükselmiş bulunmaktadır. Özellikle tehlike arzeden konu, son 20 yılda çocuk ve erişkinlerde obezitenin patlama yaparak 3 kat artmasıdır. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yaşam süresince aşırı kilolu veya obez birey olma riski sırasıyla % 50 ve % 25'tir [1]. Yüksek kalorili, yoğun enerjili besinler tercih edildiğinden, öğünlerimizden antioksidanlar ve lifli besinlerin çıkartılması sonucu obezite ve ilgili hastalıkların zemini oluşturulmaktadır [10].

2.1.1. Total Kolesterol, HDL, LDL, VLDL

Kolesterol hayvan dokularının karakteristik steroid alkolüdür ve vücutta çok sayıda önemli fonksiyona sahiptir. Örneğin kolesterol tüm hücre membranlarının yapısal bir bileşenidir ve membranların akışkanlığını sağlar, aynı zamanda safra asitleri, steroid hormonları ve D vitamininin öncül maddesidir. Dolayısıyla tüm hücrelere sürekli olarak kolesterol sağlanması kritik önem taşır. Kolesterol oldukça hidrofobik bir bileşiktir. Plazma kolesterolünün çoğu esterleşmiş durumdadır. Karaciğer, bağırsak, adrenal korteks ve yumurtalık, testis, plenta gibi üreme dokuları vücudun kolesterol havunuza en büyük katkıyı yapsalar da kolesterol vücuttaki tüm dokularda sentezlenmektedir [1]. Kolesterol vücut sıvılarında lipoproteinler içerisinde taşınmaktadır.

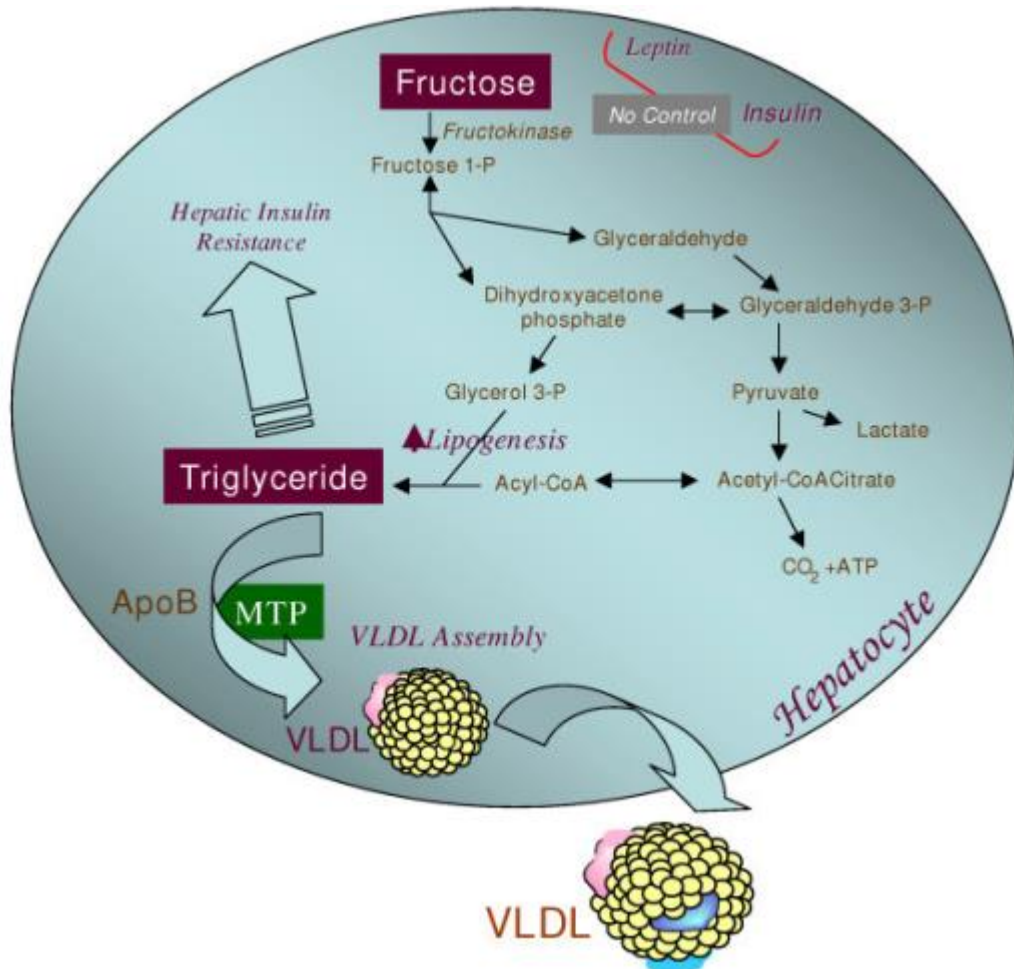
Lipoproteinler, hidrofobik iç kısmı ve hidrofilik yüzeyleri ile makro moleküler bileşiklerdir. İç kısmı TG ve kolesterol esterleri içermektedir. Amfipatik moleküllerden olan yüzey kısmı ise kolesterol, fosfolipidler ve apoproteinlerden oluşmaktadır. Kan plazma lipoproteinleri ihtiva ettikleri lipidlerin parçacıklarına ve onların yoğunluklarına göre sınıflandırılırlar. En fazla TG ve en az protein ihtiva eden lipoprotein en az yoğunluğa

sahiptir. Örneğin, VLDL (çok düşük dansiteli lipoproteinler) sadece % 9 protein içerirken LDL (düşük dansiteli lipoproteinler) % 21 protein HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) ise % 50'den daha fazla protein içermektedir. VLDL şilomikronlara benzer bir rol üstlenmektedirler, fakat alınan yağların transportunun yerine VLDL'ler vücutta üretilen TG ve kolesterolü paketlemekte ve onların vücut hücrelerine taşınmasını sağlamaktadırlar. VLDL'ler hedef dokularına ulaştıklarında içeriklerini salmakta, proteinlerini değiştirmekte ve böylece LDL'ye dönüşmektedirler. VLDL'de bulunan trigliserit ve kolesterol hücrelere aktarıldıkça VLDL'in yapısı ve yoğunluğu değişir, önce IDL (indmediate density lipoprotein), sonra da LDL'ye dönüşmektedir. Bu sürecin sonunda arta kalan kolesterolü içeren LDL karaciğer tarafından geri alınmaktadır. Şilokmikronlar ve VLDL'lerde ana yağ bileşeni trigliseritlerken LDL ve HDL'lerde ana yağ bileşeni kolesteroldür. Ortalama kandaki kolesterolün dörtte üçü LDL'lerde paketlenmektedir. LDL'ler ve HDL'ler arasındaki farklılık gidecekleri hedeflerdir. LDL'ler karaciğerden vücut hücrelerine kolesterolü taşımakta iken HDL'ler ise vücut hücrelerinden yoğun kolesterolü yakalayarak onları safraya dönüştürmek için karaciğere tekrar taşımaktadır. Kolesterol atılımının ana yolu safra oluşumu aracılığıyla olduğu için HDL'ler kandaki sirküle olan kolesterol seviyesini düşürmektedirler. Kan plazmasındaki serbest kolesterol, dokularla plazma arasında devamlı olarak alınıp verilmektedir. Bu sebeple, kan plazmasının kolesterol düzeyindeki değişiklikler organizmanın kolesterol durumu hakkında bir fikir vermektedir [11-13].

2.1.2. Fruktoz ve Metabolizması

Meyve ve sebze içeriğinde bulunan fruktoz bir monosakkarittir. Glukoz ve fruktoz'un kimyasal formülleri aynı olduğu halde kimyasal yapıları farklıdır. Beş karbonlu halkaya sahip olan fruktoz 2.karbonunda keton grubu içerir [14]. Fruktoz batı diyeti içinde hem meyveler hem de tatlandırıcılar içinde doğal olarak bulunan bir monosakkarittir. Fruktoz ATP oluşumuna katkıda bulunur. Ayrıca vücutta TG ve kısmen de glukozu dönüşür. Fruktoz glukozdan farklı olarak doğrudan yağ asitlerine dönüştürülür. Fruktoz metabolizması insüline bağımlı olmadığı için ilk zamanlarda diyabet hastalarına tavsiye edilmiştir fakat daha sonraları çok ciddi olumsuz etkileri ortaya çıkınca görüşler tersine dönmüştür [15]. Dışarıdan alınan fruktoz tümüyle karaciğerde metabolize olur [16]. GLUT-5 aracılığı ile bağırsaklardan absorbe edilen

fruktoz karaciğerde fruktozun spesifik enzimi olan fruktokinaz ile fosforile edilerek fruktoz-1-fosfata dönüşür. Akabinde bu ürün üç karbonlu gliseraldehite veya dihidroksiasetonfosfata dönüşür. Oluşan ara ürünlerin bir kısmı glukozu ya da laktat ve TG'e metabolize olur [17]. Üretilen TG karaciğer tarafından çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) olarak paketlenir ve kana verilir (**Şekil-1**). VLDL kanda bulunduğu süre içerisinde lipoprotein lipaz tarafından non-esterifiye yağ asitlerine ve monoaçıl gliserole hidrolize edilir. Yağ dokusu bu ara ürünleri alarak yeniden TG sentezler ve depo eder. Bu metabolik süreç nedeni ile yüksek düzeyde fruktoz tüketimi kan yağ asiti düzeylerini yükseltir ve insülden bağımsız yağ depolanmasına neden olarak şişmanlığa yol açar [18].



Şekil-1: Karaciğerde fruktozun metabolizması [19]

Fruktoz ile beslenme, bir takım mekanizmalarla beslenme oksidatif stresi arttırabilir. Bunların arasında glukoz artışı en önemlisidir. Glukoz, otoksidasyon, protein glikasyonu ve glikoksidasyon gibi proseslerle ROS üretmek için katabolizmanın

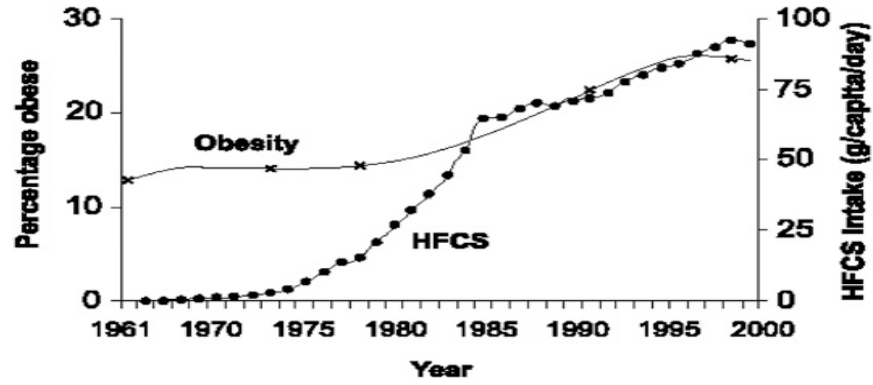
oksidatif olmayan yollarına girer. Ayrıca, artmış fruktoz metabolizması, hücrelerin oksidatif strese duyarlılığını artırabilen ATP tükenmesi ile ilişkilendirilir. İn vitro çalışmalarda da, yüksek fruktozun süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali ürettiğine dair bilgiler rapor edilmiştir [20, 21].

2.1.3. Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu

Fruktoz doğada doğal olarak bulunur. Ayrıca yapay olarak tatlandırıcılarda ve yüksek fruktozlu mısır şurubunda (HFCS) bulunmaktadır. HFCS, genelde mısır nişastasının, kimyasal ve enzimatik hidroliz teknikleri kullanılarak sıvılaştırma, parçalama ve izomerizasyon aşamaları ile üretilmektedir [22].

Fruktozun ticari amaçlı olarak yiyecek ve içeceklerde kullanılmasının en önemli sebebi, ucuz olmasının yanında rölatif tatlılık oranının yüksek olmasıdır. Öyle ki, tüm doğal karbonhidratlar içinde en tatlısı fruktozdur [23]. Diyetimizde sukroz ve basit şekerlerin HFCS ile yer değiştirmesinin ticari olarak daha karlı olduğu görülmüştür. Gıda sektöründe, kullanımı en fazla artan gıda katkısı HFCS'dir [24]. Sakkaroz gibi şekerler, fruktoz kaynağı olan HFCS, yüksek yağlı gıdalar, artan porsiyon boyutları, aşırı kalori alımının kaynakları olarak ilişkilendirilmektedir [25]. ABD'de HFCS, alkolsüz içeceklerde ve pek çok diğer tatlandırılmış içeceklerde kalolik tatlandırıcıların başlıca kaynağıdır ve ayrıca diğer pek çok gıdada bulunmaktadır [26]. Plazma TG düzeyini arttırdığına dair birçok çalışma mevcuttur [27]. Son dönemde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, HFCS tüketiminin obeziteyi arttırdığı düşünülmektedir (**Şekil-2**). Deneysel hayvan modelleriyle bu görüş desteklenmiştir [16, 26].

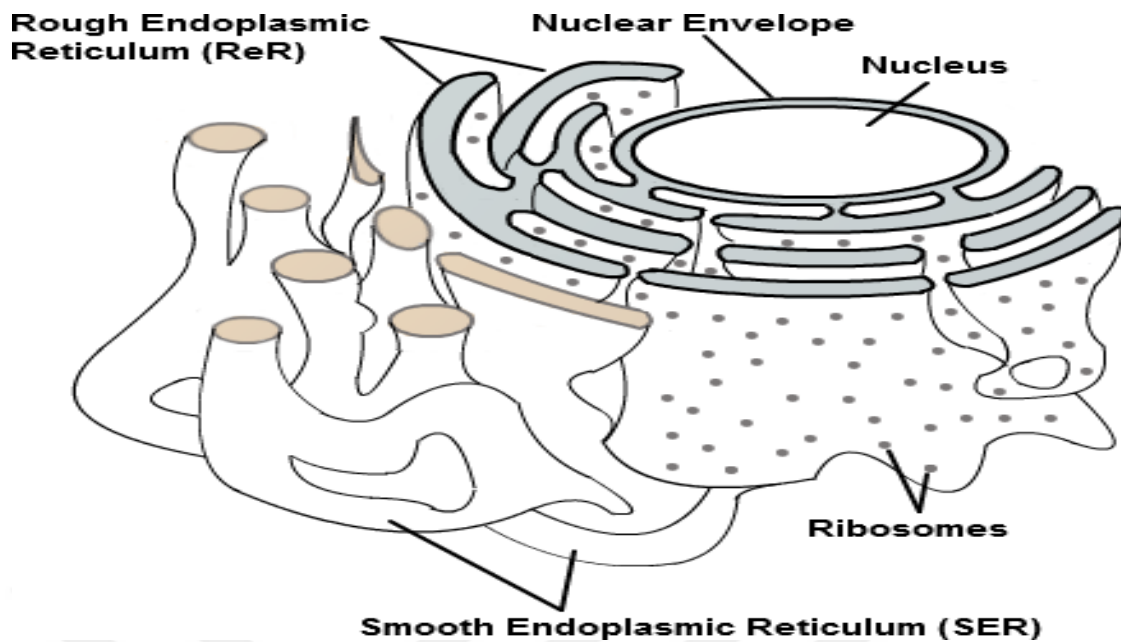
Fruktoz veya sukroz ile zenginleştirilmiş diyetlerin etkileri üzerine çok sayıda hayvan çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda, yüksek fruktoz/yüksek sukrozlu diyetlerin, dislipidemi, insülin direnci, hipertansiyon, hiperürisemi, kanser ve kilo artışı gibi çeşitli advers metabolik ve kardiyovasküler etkilere yol açtığını belirtilmiştir [28, 29]. Ancak HFCS'nin metabolik etkilerinin net olarak ortaya konulmadığı, HFCS'nin doğrudan obeziteye sebep olmadığını, genel popülasyonda yüksek kalorili besin tüketimi ve hareketsizliğin obezite için asıl problem teşkil ettiğini bildiren yayınlar da mevcuttur [22].



Şekil-2: Yüksek fruktoz mısır şurubu tüketimi ve obezitenin yaygınlığı arasındaki zamansal ilişki [30]

2.2. Endoplazmik Retikulum

ER, kalsiyum depolaması, protein sentezi ve lipid metabolizması gibi hücrede birçok role hizmet eden geniş, dinamik bir yapıdır [31]. ER, ribozom içermeyen düz endoplazmik retikulum (DER) ve ribozomla kaplı granüllü endoplazmik retikulum (GER) hücre içindeki membranöz tubüllerden oluşan bir ağıdır (**Şekil-3**). DER triaçilgliserol ve fosfolipitlerin sentezi için enzimler içerir. Ayrıca DER etanol gibi ilaç ve toksik kimyasallar ve steroid hormonlar gibi hidrofobik moleküllerin sentezini sağlayan sitokrom p450 enzimleri de içerir. Glikojen, DER zengin karaciğer hücrelerinin bu kısımlarında depolanır. GER belirli proteinlerin senteziyle ilişkilidir. GER'un membranlarına yapışık ribozomlar ona granüllü görünüm verir. Bu ribozomlarda üretilen proteinler GER'un lümenine girer, bu olay süreci akabinde proteinler bir diğer membran sistemi olan veziküllerden oluşan golgi kompleksine gitmekte ve daha sonra ya hücreden salınırlar ya da lizozomlar gibi membranla çevrili organel içinde tutulurlar ve plazma membranına gömülürler. N-bağlı glikozilasyon ve lipid temelli çengellerin (glikozil fosfatidil inozitol gibi) ve disülfid bağ teşekkülü başlangıcı gibi bu proteinlerin postranslasyonel modifikasyonları GER'de meydana gelir. Buna karşın, nükleus tarafından kodlanan sitoplazma, peroksisomlar ve mitokondrilerde bulunan proteinler sitozoldeki serbest ribozomlarda sentezlenirler ve bazen oligosakkarit eklentiler ile modifiye edilirler [32].



Şekil-3: Düz ve granüllü ER yapısı [33]

2.2.1. Endoplazmik Retikulum Stresi

ER, ökaryotik hücrelerde sentezlenen tüm proteinlerin neredeyse üçte birinin sentezinden sorumludur. Ayrıca proteinlerin oksidatif katlanmaları, hücre zarı, organel zarları ve diğer hücre bölümlerine gönderilmek üzere proteinlerin translasyon sonrası değişimi ER'da gerçekleşir. Kalsiyum ve redoks homeostazında bozulma, ksenobiyotik aldehytlerin artmış düzeyleri, salgı proteinlerinin sentezindeki artış, hatalı katlanmış proteinlerin birikimi, glukoz yoksunluğu, artmış glukozilasyon, gibi birçok stres faktörü hatalı veya katlanmasını tamamlayamamış proteinlerin ER lümeninde birikmesine neden olur. Bu durum hücreler için ciddi tehdit oluşturur. Artmış hatalı proteinler ER'de sinyal yollarını uyararak birçok diğer sinyal proteinlerinin transkripsiyonel veya translasyonel aktivasyonlarına neden olurlar. ER'de homeostazisinin bozulması durumunda ortaya çıkan hücresel cevap; ER stresi olarak tanımlanır. ER'daki bu değişimi tekrar eski haline getirebilmek veya denge haline getirebilmenin yolu katlanamamış veya hatalı katlanmış proteinlere karşı cevap oluşturmaktır [34-36].

UPR bu stresle başa çıkmak için, ER lümeni ile ER arasındaki bağlantıyı sağlayan sitoplazma ve nükleus ilişkili bir sinyal iletim sistemini aktive eder [9].

2.2.1.1. Katlanmamış Protein Cevabı

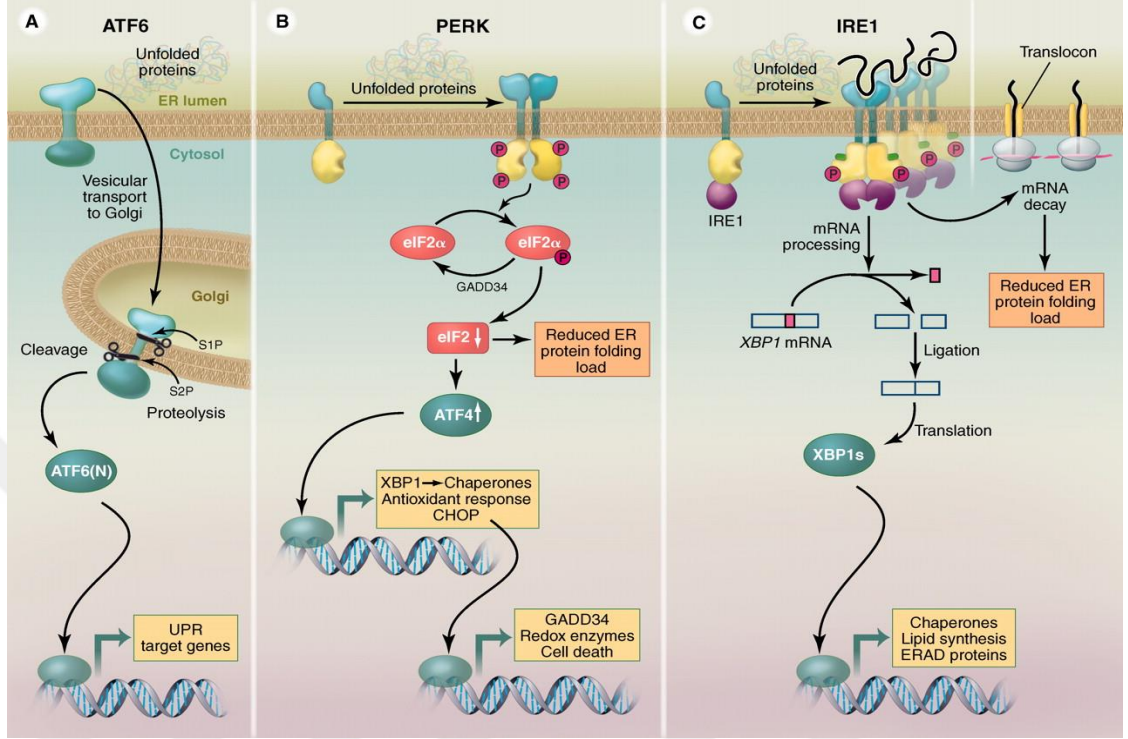
ER'de katlanmamış veya hatalı katlanmış proteinlerin birikmesi sonucunda tetiklenen sürece bir cevaptır. Katlanmamış Protein Cevabı (Unfolded Protein Response-UPR) aktivasyonunu tetikleyen faktörler aşağıdaki gibidir:

- Normal ER işlevini yeniden kurmak ve değişen çevreye adaptasyonu sağlamak,
- ER lümenine gelecek yeni proteinlerin miktarını azaltmak,
- ER'de proteinlerin katlanma kapasitesini arttırmak,
- ER'de bulunan katlanmamış veya hatalı katlanmış proteinlerin degradasyonunu ve tekrar sitoplazmaya dönüşünü sağlamak [34, 36, 37].

ER lümeninde protein katlanma koşullarını algılayan ve bilgiyi ileten üç sinyal aktarıcı protein ailesi (ATF6, PERK ve IRE1) mevcuttur [38]. UPR'nin aktivasyonu çift zincirli RNA ile aktive edilen protein kinaz benzeri ER kinaz (PERK), Aktif transkripsiyon faktör 6 (ATF6) ve inozitole ihtiyaç duyan protein (IRE1) olarak adlandırılan 3 farklı ER stresi sensörü tarafından düzenlenmektedir. Bu mediyatörler integral proteinlerdir, yanlış katlanan proteinlerin birikmesiyle oluşan ER stresine hassas ER lümeninde bir domaine ve downstream sinyal efektörlerini aktive eden sitozolik bir domaine sahiptirler [39, 40]. Bu 3 sinyal yolağı genel olarak; protein katlanma, işlenme ve degradasyonu, redoks homeostazi, otofaji, stres yanıtları, lipid ve aminoasit biyosentezi, veziküler trafik, hücre büyümesi ve sağkalım, mitokondriyal fonksiyon ve apoptozisin dahil olduğu hedef genlerin transkripsiyonunu uyararak hücrel yanıt oluşturur [41].

İyi çalışan ve stressiz bir ER 'de, bu üç transmembran proteinleri ısı-şok protein (HSP) ailesinden BIP (Binding immunoglobulin protein) adı verilen bir şaperona bağlı iken inaktiftirler. BIP, en bol bulunan ER şaperonudur [42]. Ayrıca GRP-78 (Glucose-regulated protein 78-kDa) olarak da bilinir; BIP veya GRP-78 yeni sentezlenen proteinlere geçici, yanlış katlanmış veya glukozilasyon altındaki proteinlere ise devamlı olarak bağlanır. ER yanlış katlanmış proteinlerin aşırı birikmesiyle, BIP/GRP-78 bu üç reseptörün (ATF6, PERK ve IRE1) aktivasyonuna yol açarak ayrılır (**Şekil-4**) ve yanlış katlanmış proteinlerin hidrofobik bölgelerine tercihi olarak bağlanır [43, 44]. GRP-78'den bu ayrılma ER stresi dönüştürücülerinin aktifleşmesine ve daha sonraki sinyal kaskatlarının başlatılmasına yol açar. Bundan dolayı GRP-78, ER stresinin

başlamasında anahtar düzenleyici olduğu için bir ‘ER stresi biyobelirteci’ olarak görülür [45, 46].



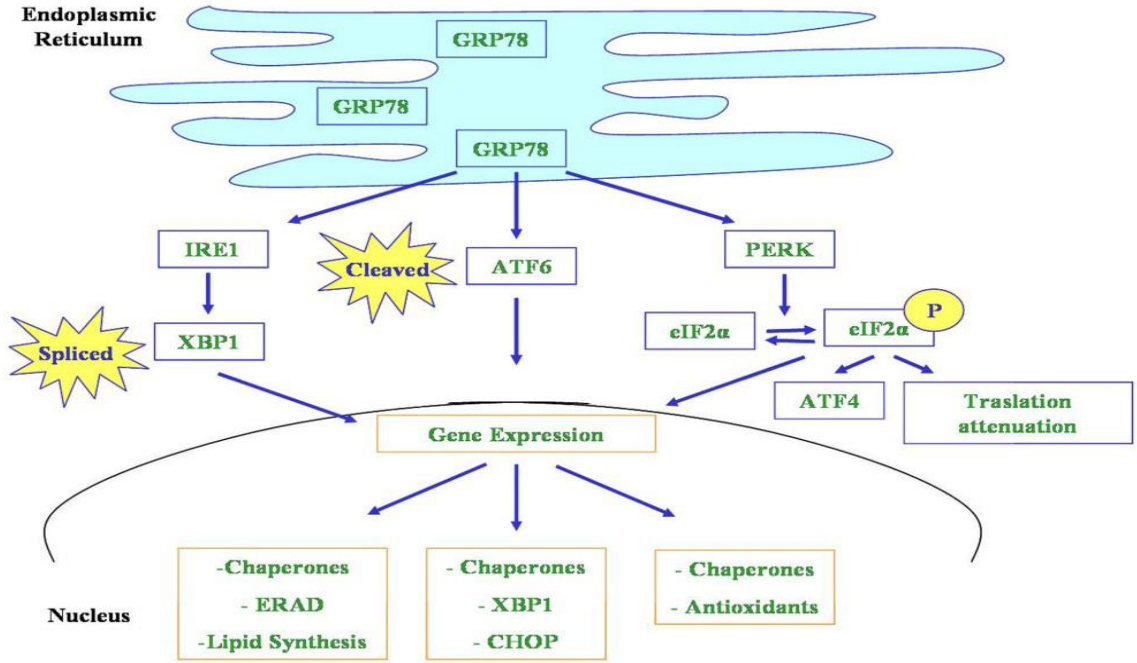
Şekil-4: ER lümeninde katlanmamış proteinlere cevap yolları [41]

2.2.1.2. X-box Binding Proteini 1

İnsanlarda XBP-1 geni tarafından kodlanan bir proteindir. IRE1 aktivasyonu ile unconventional splicing of X-box binding protein (uXBP-1) formundan hızlı şekilde transkripsiyon faktörü splicing of X-box binding protein (sXBP-1) formuna dönüşür [47, 48]. IRE1 öncül XBP-1 mRNA iki yerinden keserek intronları uzaklaştırır, geriye kalan 5' ve 3' mRNA parçaları birleştirilerek alternatif form sXBP-1 mRNA meydana getirilir [49]. Yeni oluşan sXBP-1 transkripsiyon aktivatörüdür (Şekil-5) ve UPR'de görev alan hedef genlerin transkripsiyonlarını aktifleştirerek ER de protein katlanma kapasitesini artırır [47, 50].

ER stresi durumunda uXBP-1 durumdan hızlı şekilde transkripsiyon faktörü sXBP-1 dönüşümü Şekil-6'da gösterilmektedir. Bu durum gen transkripsiyon faktörlerini indükleyerek lipit biyosentezinin artırmasına işaret etmektedir [35] Sonuç

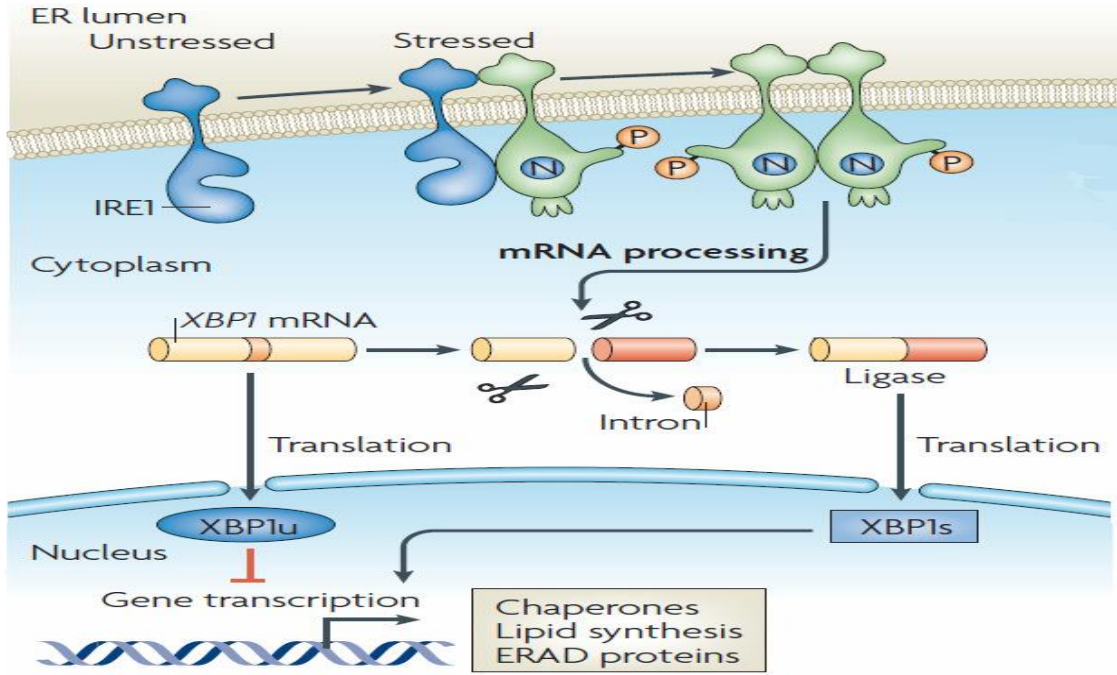
olarak; XBP-1, memelilerin katlanmamış protein yanıtının veya ER stresi tepkisinin anahtar düzenleyicisidir [35]



Şekil-5: GRP-78'in tetiklemesiyle hedef genleri aktifleştiren XBP-1 [51]

2.3. ER Stresi ve Lipid Metabolizması

ER, lipid metabolizmasının en önemli yeri olup, lipid ile ilgili birçok enzim metabolizma ER'de bulunur. UPR başlangıçta ER'de protein homeostazını korumak için tanımlanmış olmasına rağmen, bir dizi çalışma UPR'nin metabolik ve lipid homeostazı korumada önemli rol oynadığını düşündürmektedir. ER stresi ve lipid metabolizması önemli role sahiptir. ER stresi ve lipid metabolizması arasındaki ilişki iki yönlüdür. ER stresi yollarının aktivasyonu lipogeneze ve lipid homeostazında değişikliklere neden olabilirken, lipitler ve anormal lipid metabolizması da ER stresine neden olabilir [52]. Bu yüzden lipid sentezi yolları ile ER stresi arasında önemli bağlantı vardır [53]. Kolesterol ve diğer lipidlerin biyosentezini düzenleyen sterol-yanıt element bağlama proteinleri olan SREBP-1c ve SREBP-2'yi parçalayıp aktive ettiğinden ER stresi ve lipid metabolizması arasında böyle bir ilişki kurulmaktadır [54].



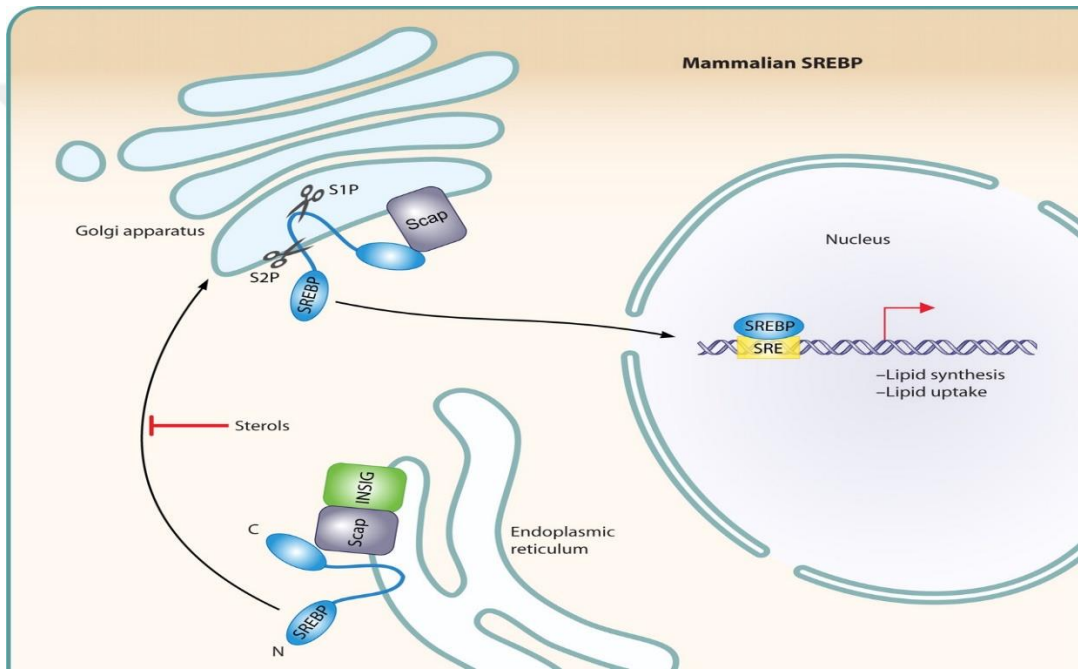
Şekil-6. ER stresi durumunda XBP-1 [35]

2.3.1. SREBP Aktivasyonunun Düzenlenmesi

Sterol Regulatory Element Binding Proteins (SREBP's), kolesterol, yağ asitleri, trigliseridler ve fosfolipidlerin sentezi ve alımı için ayrılmış 30'dan fazla genin yanı sıra, lipid sentezi için zorunlu bir faktör olan NADPH'ın üretilmesinde rol oynayan genlerin ifadesini de artırır [55-59].

Kolesterol steroid hormonlarının öncüsü olmasının yanı sıra hücre membranının düzgün işleyişi için gereklidir [60]. Membranlar içindeki dağılımı birçok biyolojik fonksiyon için gerekse de aşırı kolesterol toksik olabilir [61]. Eksojen kaynaklardan kolesterolü elde etmeye ek olarak, hücreler kolesterolü endojen olarak sentezleme kapasitesine sahiptir. Kolesterolün biyosentetik yolu, SREBP'ler tarafından düzenlenen birçok enzimden oluşur. Bu durumda gen ekspresyonu sterol bağımlı olarak düzenlenir. SREBP ER membranında integral bir proteindir ve ikinci bir ER membran proteini olan SCAP (SREBP bölünme aktive edici protein) ile ilişkilidir. Hücredeki sterol düzeyleri düşük olduğunda, SREBP-SCAP kompleksi ER'den golgi cisimciğine gönderilir. Golgide iki proteaz SREBP'ye etki eder ve bir transkripsiyon faktörü gibi fonksiyon gören, SRE'ye bağlanan ve nükleusa giren soluble bir parça oluşur. Böylece, HMG-

KoA redüktaz sentezinde artma meydana gelir. Eğer sterol düzeyi çok yüksekse, steroller SCAP'ın diğer sterole duyarlı bölgesine bağlanır ve SCAP'ın diğer ER membran proteinlerine (insülinle indüklenen gen proteinleri) bağlanmasını uyarırlar (**Şekil-7**). Bu, ER'da SCAP-SRABP kompleksinin birikimine, böylece SREBP aktivasyonunun önlenmesine ve sonuç olarak kolesterol sentezinin azalması yönünde düzenlenmesine neden olur [32, 62]. SREBP'ler kolestrol ve yağ asidi sentezinin düzenlenmesinin yanı sıra, doymamış yağ asidi sentezi enzimlerini kodlayan genlerin transkripsiyonunu da düzenler [63, 64].



Şekil-7: Memelilerde SREBP yolları [65]

Memeli hücreleri üç SREBP izoformu eksprese eder: SREBP-1a, SREBP-1c ve SREBP-2. SREBP-1a, SREBP'ye cevap veren tüm genlerin, kolesterol, yağ asitleri ve trigliseridlerin sentezine aracılık eden güçlü bir aktivatördür. SREBP-1a hem kolesterol hem yağ asidi sentezini etkinleştirirken; SREBP-1c yağ asidi, SREBP-2 kolesterol sentezi için spesifiktir [58]. SREBP-2'ye yanıt veren genler; kolestrol biyosentez yolundaki, HMG-KoA sentaz, HMG-KoA redüktaz, farnesil difosfat sentaz ve skualen sentaz gibi enzimleri kodlayan genlerdir. SREBP-1c'ye yanıt veren genler ise , ATP sitrat liyaz, asetil-KoA karboksilaz ve yağ asit sentazı olanları içerir. Ayrıca SREBP-1c

ve SREBP-2, lipid biyosentez yollarında çok aşamalı olarak tüketilen NADPH üretmek için gerekli üç geni de aktive eder [58, 66].

2.3.2. ER Stresi ve Yağ Asidi Sentaz

FAS, hücrelerdeki 16 karbonlu palmitat sentezinde katalize eden çok işlevli bir enzimdir. FAS, Asetil-koenzim A (Asetil-KoA) ve malonil-KoA'dan uzun zincirli yağ asitlerinin redüktif sentezini katalize eder [67, 68].

Fazla kalori içeren bir diyetin (özellikle yüksek kalorili, yüksek karbonhidrat diyetleri) uzun süreli tüketimi Asetil-KoA karboksilaz sentezinde artışa neden olur. Normal dokuda FAS ekspresyon seviyeleri nispeten düşüktür, çünkü yağ asidi genellikle diyet yağ asitleri tarafından sağlanmaktadır [69]. Palmitat ve stearat gibi doymuş yağ asitleri, çeşitli hücre tiplerinde ER stresinin indükleyicileridir [70]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda FAS inhibitörleri ile çalışmalar mevcuttur. Örneğin FAS inhibitörleri ile muamele edilen farelerde iştah azalması ve önemli derecede kilo kaybı görülmüştür. Dolayısıyla FAS, beslenme düzenlemesinde önemli bir bağlantıyı temsil eden, terapötik bir hedef olarak düşünülmektedir [71]. Literatürde FAS inhibitörlerine aşağıdaki gibi moleküller örnek verilebilir:

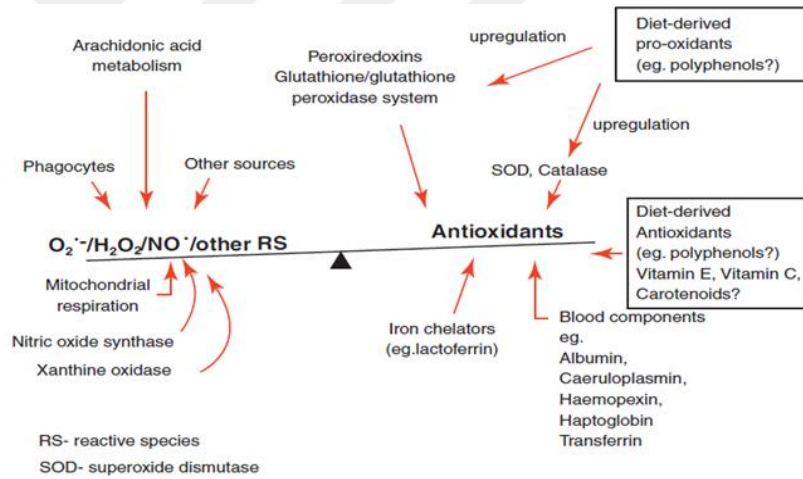
- Orlistat, obezite tedavisinde kullanılan pankreatik lipazın inhibitörüdür. Trigliseritlerin sindirimine engel olarak vücuda besinsel yağ alımını durdurur [72].
- Cefalosporium mantarlarından izole edilen cerulenin, FAS'a yarışmalı ve geri dönüşümsüz şekilde bağlanan umut verici bir FAS inhibitörüdür.
- C75, cerulenin sentetik türevidir, daha kararlı bir bileşiktir.
- C93, cerulenin sentetik türevidir olup, C75 benzeri bir inhibitördür. [73]

2.3.2.1. Doğal FAS İnhibitörleri

Bunların dışında doğal FAS inhibitörleri olduğu düşünülen, Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene), Epicatechin gallate (ECG), Luteolin, Quercetin, Amentoflavone, Curcumin, Cacalol, Diosgenin gibi etken maddeleri örnek verilebilir [73].

2.4. ER Stresi, Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Türleri

Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki oksidanlar lehine bir denge kayması oksidatif stres olarak adlandırılır (Şekil-8). Oksidatif stresin sinyal yolları üzerindeki genel etkisini gösteren çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Sinyal moleküllerinin en önemlisi Reaktif oksijen türleridir (ROS). Artan kanıtlar, ROS üretimi ile protein oksidasyonu ve protein katlanması, gibi hücresel olaylar arasında doğrudan bağlantı olduğunu göstermiştir [74, 75]. Oksidatif stres ve ROS üretimi, ER stresinin ayrılmaz bileşenleri olup, sadece ER stres indüksiyonunun sonuçları değildir. UPR indüksiyonu sırasında ROS üretiminin ana enzimatik bileşenleri protein disülfid izomeraz, ER oksidoredüksin ve NADPH oksidaz kompleksleridir. Ayrıca mitokondriyal elektron taşıma enzimleri ROS üretirler [76].



TRENDS in Pharmacological Sciences

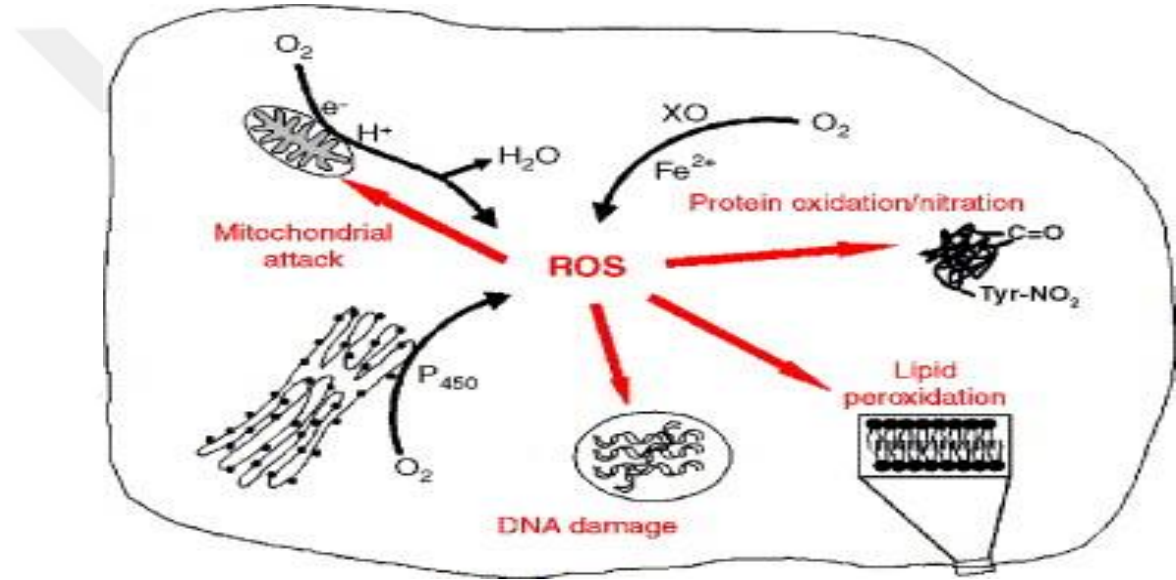
Şekil-8: Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki denge [77]

2.4.1. Reaktif Oksijen Türleri

Hücreler sinyal vermek ve normal işlev için bazal düzeyde ROS'a sahiptir. Fakat ışınlama ve çevre kirlenmeleri gibi zehirli ajanlara maruz kalındıkça veya enzimatik reaksiyonlar sırasında (mitokondriyal solunum zincir reaksiyonları, araşidonik asit yolu, sitokrom p450 ailesi ve glukoz oksidaz, aminoasit oksidaz, ksantin oksidaz, NADP/NADPH oksidaz veya NO sentezleri gibi) ROS düzeyleri artar [78, 79].

Mitokondriyal iç membran potansiyeli, membrana sızdırmaz süperoksit anyonu üreten elektron taşıma zincirinin oranını tanımlar. Üretilen süperoksit, mitokondriyal dismutaz ile hidrojen peroksit (H_2O_2) haline dönüştürülür ve mitokondriden sitoplazmaya dağılır. H_2O_2 , demir varlığında Fenton reaksiyonu yoluyla yüksek reaktif hidroksil radikalini (OH^\bullet) oluşturur [80]. Dahası süperoksit anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$), peroksinitrit ($ONOO^-$), hipokloröz asit ($HOCl$) ve singlet oksijen (1O_2) gibi diğer toksik metabolitleri üretir [81].

ROS hücrelerin protein, karbonhidrat, lipid, DNA gibi önemli yapılara etki ederler (**Şekil-9**) [82].



Şekil-9: ROS'un ER, DNA, mitokondri, protein ve lipidlere etkisinin gösterimi [83]

Reaktif oksijen türlerinden en çok etkilenen yapılar lipitlerdir. Hücre membranları çoklu doymamış yağ asitlerinden ve kolesterolden zengin oldukları için kolaylıkla oksidan radikallerden etkilenirler. Lipit peroksidasyonu; doymamış lipitlerin bulunduğu yerlerde, moleküler oksijenin de katıldığı reaksiyonlarla gerçekleşen ve lipit hidroperoksitlerinin olduğu kompleks bir işlemdir. Lipit peroksidasyonu otokatalitik ve geri dönüşümsüz bir reaksiyon olduğundan oldukça zararlıdır [84].

Lipit peroksidasyonunun aldehit yapıdaki ürünleri, sistenin sülfidril grupları ile veya lizin ve histidinler ile kovalent bağlar oluşturarak proteinlerde fragmentasyon ve

çapraz bağlanmalara yol açar. Bu olaylar proteinlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulmasıyla sonuçlanır.

Proteinler radikallerin etkilerine, lipitlere göre daha az duyarlıdır. Protein oksidasyonu, peptit bağlarının veya aminoasit yan zincirlerinin ROS veya oksidatif stres ürünleri ile kovalent modifikasyonu sonucu oluşur. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi fazladır [85]. Bazal fizyolojik koşullar altında enzimatik (örn. SOD, GSH-Px, CAT ve tioredoksin redüktaz) ve enzimatik olmayan (örn. vitaminler) antioksidan sistemleri, ROS birikimini önler [80, 81]. Ayrıca, redoks homeostazı, $NAD^+/NADH$, $NADP^+/NADPH$ ve GSSG/GSH gibi birkaç redoks sistemi ile düzenlenir [80].

2.4.1.1. Malondialdehit

Hücre zarlarında lipit peroksidasyonu sonucu zar transport sistemi bozulmakta, hücre içi ve dışı iyon dengeleri değişmektedir. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artması sonucu proteazlar aktive olmaktadır. Bu olaylar hücre hasarında etkin bir rol oynamaktadır. Lipit peroksidasyonun son ürünü olan aldehitlerin de sitotoksik etkileri vardır. MDA lipid peroksidasyonunun ürünüdür. Mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir. MDA'nın proteinlerin amino gruplarına, fosfolipidlere veya nükleik asitlere bağlanması sonucu toksik etkileri oluşmaktadır. MDA oksidatif stresin bir belirtecidir [5, 86].

2.4.1.2. Protein Karbonil

Protein karbonil (PC) türevleri oksidatif protein hasarının belirlenmesinde en çok kullanılan belirteçlerden biridir. Glutasyon disülfid, MDA gibi diğer oksidatif stres belirteçleri ile karşılaştırıldıklarında PC türevleri daha uzun süre dolaşımda stabil halde bulunur. Glutamil kalıntılarının oksidasyonu, proteinlerin α -amidasyon metabolik yoluyla bölünmesi veya lizin, arjinin, prolin ve treonin aminoasitlerinin direkt oksidasyonu sonucu PC türevleri oluşur. Aynı zamanda proteinlerin lizin bakiyelerinin lipid peroksidasyon metabolitleri (4-hidroksi-2-onenal, MDA), indirgen karbohidratlar ya da bunların oksidasyon ürünleri veya diğer reaktif karbonil türevleri (ketoaminler, ketoaldehitler, deoksiozon türevleri) ile enzimatik olmayan reaksiyonu sonucu da PC türevleri oluşur [87].

2.4.2. Oksidatif Protein Katlanması ve ER

Proteinlerin düzgün katlanması ve disülfid bağlarının oluşumu ER'de gerçekleşir. ER'nin lümeni içindeki redoks durumu, protein katlanma ve disülfid oluşumunu etkiler. Sitozolün aksine ER'nin lümeni, GSSG/GSH oranının artışıyla okside olma durumuna açık hale gelir. GSH, sitozolde sentezlenen bir tripeptittir (L- γ glutamil-L-sisteinil-glisin). Glutatyon redüktaz ile katalize edilen sitozolik NADPH'ye bağlı reaksiyon ile indirgenmiş bir durumda GSH bulunur [88]. GSH önemli bir tiyol-disülfid redoks tamponu görevi görür. GSH/GSSG oranı bir hücrel redoks hal indeksi olarak tanımlanır. Sitoplazmada GSH/GSSG oranı >50:1 iken ER lümeninde 1:1 ila 3:1'dir [89].

ER lümenindeki oksitleyici ortamın disülfid bağ oluşumunu kolaylaştırdığı iyi bilinmektedir. ER'nin daha büyük oksitleyici ortamı, ER'de mevcut protein disülfid izomeraz aracılığıyla ER lümeninde katlanmayan proteinlerin toplanmasını veya birikmesini önler [90]. Yukarıda belirtildiği üzere, oksidatif katlanma işlemi ER fizyolojisinde önemli bir katlanma mekanizmasıdır.

2.4.3. ER Stresi Durumunda ROS Üretimi

ER lümenindeki katlanmamış proteinlerin oksidatif stresi etkinleştirdiği konusu halen tartışmalıdır. Disülfid bağı oluşumu sırasında ROS üretimi için iki mekanizma önerilmiştir. Birincisi, ROS, protein tiyolünden moleküler oksijene elektronların (ER oksidoredüktaz-1 (ERO-1) ve protein disülfid izomeraz (PDI) yoluyla aktarımı sırasında bir yan ürün olarak oluşturulur. İkincisi, protein katlanması sırasında tüketilen GSH miktarına bağlı olarak üretilen ROS'tur [76, 91]. GSH'yi kullandıktan sonra tiyoller onarılır ve böylece ERO-1/PDI ile etkileşime girip yeniden oksitlenmeleri sağlanır. Bu adımlar, disülfid bağı kırılmasını ve oluşumunu tekrar eden döngüler üreterek ve her bir döngü bir yan ürün daha fazla ROS üretecektir [74]. Bu yüzden, birden fazla disülfid bağı olan proteinler, daha yüksek düzeylerde oksidatif stres üretmeye yatkındır. Başka bir mekanizma ise, ROS'un disülfid bağlarının oluşumundan bağımsız olarak açılmış proteinler tarafından üretilmesidir.

Katlanmamış proteinlerin ER'de birikmesi, Ca^{2+} 'yı sitozole sızdırmakta ve mitokondrinin ROS üretimini arttırmaktadır. ER proteini oksidasyonu ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyon, ER stresinde iyi tanımlanmış ROS kaynaklarıdır [78].

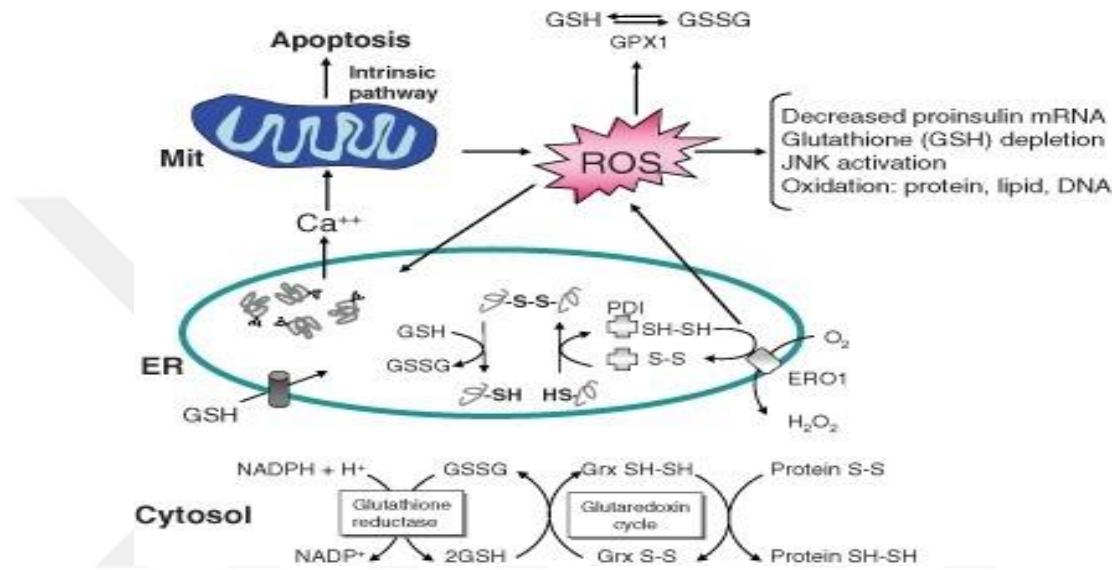
2.4.4. ER Stresi Durumunda Mitokondriden Üretilen ROS

Mitokondriyal oksidatif fosforilasyon ve elektron taşıma sistemi aktif olarak mitokondriyal ROS oluşumuna katılır. ER stresi ile ROS üretimi arasında bir korelasyon olduğu düşünülmektedir [92]. ER stresi anında mitokondri, ölümcül seviyelerde ROS üretimine önemli katkıda bulunur. Mitokondriyal ROS birikiminin önlenmesi hücre ölümünü tamamen engeller, ancak ER stresi yanıtını engellemez. ER, ER stresinden dolayı ROS oluşumunu başlatsa da, ROS, mitokondriyal elektron transfer sistemini daha sonra etkiler ve özellikle şiddetli/sürekli ER stresinde mitokondriyal ROS'un artmasına neden olur. GSH'nin tükenmesi (ER stres sırasında disülfit bağı azalması yoluyla), ROS'un mitokondri tarafından üretilmesini sağlar ve böylece hücre ölümüne katkıda bulunur [93]. Mitokondri kaynaklı ROS, elektron transfer sisteminden sızan elektronlardan türetilir. Mitokondriyal ROS, ER stresi tepkisini artırır. Artan ER stresinin ürettiği ROS'ta mitokondrinin düzgün çalışmasını engeller [94]. Kısacası, ER stresinin protein katlanma veya yanlış katlanma sebebiyle ER lümeninde oksidatif stres başlattığı ve mitokondri kaynaklı ROS GSH düzeylerinin tükenmesine yol açtığı (GSH'nin aşırı kullanılması nedeniyle) fikri mevcuttur. Ayrıca, ER stresi sinyalleri ile başlatılan ER lümenindeki bir oksidatif stres patlaması; ya sitozolik Ca^{2+} 'yı arttırarak, ATP'yi tüketerek, ya da mitokondrinin içindeki oksidatif fosforilasyonu tetikleyerek, eşik seviyelerinin üstünde ROS üretimini en üst düzeye çıkararak, mitokondriyi ciddi etkiler [92].

2.4.5. ER Stresi Durumunda Ca^{2+} ile ROS Üretimi

Hücreler, proteinlerin oksidasyonu durumunda bölgesel değişikliklere karşı sofistike bir hücre içi sinyal mekanizması geliştirmişlerdir. Hücre içi indirgeyici olduğundan artan oksidatif stres durumu bu mekanizmayı harekete geçirir [92]. Artan ROS düzeylerine bağlı oksidatif stres, hücre dışı ortamdan membrana bağlı kanallar yoluyla veya ER/Sarkoplazmik Retikulumdan'dan ER/SR lokalize kanallar yoluyla

sitoplazmaya Ca^{2+} akışına neden olur. Sitoplazmada artan Ca^{2+} konsantrasyonu, Ca^{2+} 'un çekirdeğe ve mitokondriye akışını teşvik eder [80]. ER'den salınan Ca^{2+} yakınında bulunan mitokondride birikmeye yol açar. Mitokondri de artan Ca^{2+} mitokondriyal metabolizmayı uyarır ve akabinde ROS üretimi artar. Mitokondride ki yüksek ROS seviyesi, oksidatif stresin ER'den Ca^{2+} salınmasının olasılığını arttırdığı bir dizi olayı başlatır [95] (Şekil-10).



Şekil-10: ER stresi durumunda Ca^{2+} ve ROS [95]

2.5. ER Stresi ve Obezite

ER stresinin nörodejeneratif bozukluklar, inme, bipolar bozukluk, kalp hastalığı, kanser, diyabet ve kas dejenerasyonu gibi geniş bir hastalık yelpazesi ile ilişkili olduğu bilinmektedir.

Son on yılda, obezitenin, hüresel stres sinyali ve inflamasyon yollarının aktivasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [8, 9, 96, 97]. Obezitede inflamatuvar yolların aktive olması ve inflamasyonun gelişimiyle ilgili olarak ER stresinin rolü olduğu gösterilmiştir [9]. ER bilindiği gibi salgı ve transmembran proteinlerin, tersiyer yapısını kazanarak katlandığı ve bu proteinlerin hedef bölgelerine gönderildiği bir organeldir. Metabolizmanın artışı sonucunda ER yükünün artışı katlanmamış protein yanıtı olarak adlandırılan bir reaksiyona neden olmaktadır.

Obezite mekanik stres, aşırı lipid birikimi, hücre içi enerji akışlarındaki anormallikler ve dokuda genişleme ve yapı bozukluğuna neden olması sebebiyle ER stresi ile ilişkilendirilir. Bu bilgiler ışığında obezite periferik dokularda ER stresin kronik bir uyarıcısıdır [9, 98].

2.6. Antioksidanlar

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir [99]. Antioksidanlar peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya ROS’u toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı olmak üzere iki gruba ayrılır. Endojen kaynaklı antioksidanlar enzimatik olan ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılır. Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) gibi enzimlerdir. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise GSH, tokoferol, β karoten, askorbik asit, urat, sistein, seruloplazmin, transferrin ve albümindir [75].

2.6.1. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

2.6.1.1. Glutatyon

Enzimatik olmayan maddelerden en önemlisi GSH’tır. GSH, iç ve dış kaynaklı toksik kimyasallara karşı hücrel savunma sisteminde önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca GSH, GSH-Px gibi çeşitli enzimler için bir koenzimdir. Bir hücrede, okside GSH miktarının artmış olması, oksidasyonun muhtemel bir indeksi olarak kabul edilmektedir [100]. Karaciğer, GSH sentezinin yapıldığı başlıca organdır. GSH, karaciğer hücrelerinin sitoplazmasında sentez edilir. Buradan dolaşım/taşıma sistemi ile diğer organ ve dokulara dağılır. Karaciğerdeki yüksek GSH seviyesi, hücrelerin sigortası görevi yapar. GSH seviyesinin az olması hücrelerin serbest radikal hasarına karşı hassasiyetini arttırmaktadır [101]. GSH’ın hücre içi seviyesinin herhangi bir şekilde azalması, lipid peroksidasyonuna veya diğer hücrel hasarlara da yol açabilmektedir. GSH, ROS ile direkt reaksiyona girerek onları detoksifiye eder. GSH, DNA ve protein sentezi, enzim aktivitesinin düzenlenmesi gibi diğer hücrel işlevlerde de koruyucu rol alır. ROS ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ile GSH, GSSG’ye

dönüşür. GSSG ise tekrar glutatyon redüktaz (GR) ile NADPH varlığında GSH'a rejenere edilir [102].

2.6.2. Enzimatik Antioksidanlar

2.6.2.1. Süperoksit Dismutaz

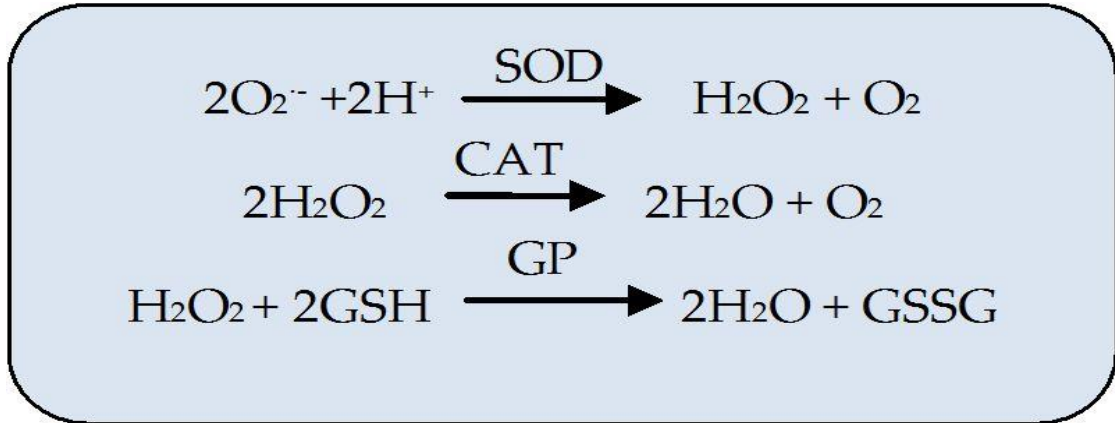
SOD, oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunur. Süperoksidin H_2O_2 dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir. SOD süperoksit serbest radikalının H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir (**Şekil-11**). İnsanlarda bulunan üç tip SOD vardır: sitozolik Cu-Zn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD ve hücre dışı-SOD'tur [103].

2.6.2.2. Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) sitozolde bulunur, 4 selenyum (Se) atomu içerir, tetramerik yapıdadır. Glutatyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir (**Şekil-11**). GSH-Px'in fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler [104].

2.6.2.3. Katalaz

Katalaz (CAT) 60 kDa ağırlığında 4 tane aynı yapıda (tetramerik yapıda) hem grubu bulunan bir hemoproteindir. CAT'ın görevi H_2O_2 'i oksijen ve suya parçalamaktır (**Şekil-11**) [105]. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak, katalaz enzimi bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak, diğerini ise oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. CAT hücrenin oksidatif hasara karşı korunmasında çok önemli bir enzimdir [106].

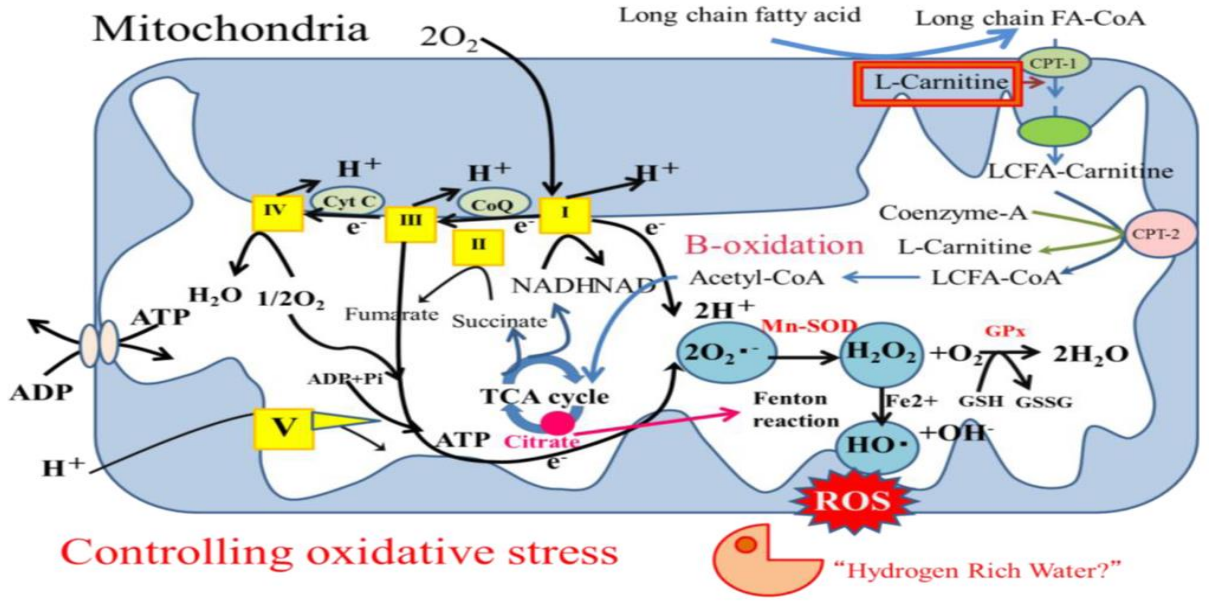


Şekil-11: SOD, CAT ve GSH-Px reaksiyon mekanizmaları [107]

2.6.3. L-karnitin

L-karnitin bütün memeli türlerinde endojen olarak bulunan ve yağ asitlerinin mitokondriyal oksidasyonunda yaşamsal bir kofaktör görevi yapan doğal bir bileşik olup, vücudun fazla yağ kütesinden kurtulup kilo kaybının yağ dokusundan verilmesini sağlar. Bunun yanında kasları güçlendirici, sperm hareketliliğini arttırıcı özellikleri ve bağışıklık sistemi, yüksek tansiyon, diyabet gibi hastalıkların tedavisinde yardımcı olarak kullanılması ile ilgili birçok çalışma mevcuttur [108, 109].

Uzun zincirli yağ asitleri (LCFA) hücreye alındıktan sonra uzun zincirli yağ açıl KoA sentetaz (tiyokinaz) tarafından sitozolde KoA türevlerine dönüştürülür. β oksidasyonu mitokondri matriksinde gerçekleştiği için yağ asidine geçirgen, KoA'ya geçirgen olmayan iç membrana taşınmalıdır. Bu nedenle özelleşmiş bir taşıyıcı açıl grublarını sitozolden mitokondri matriksine taşır (**Şekil 12**). Bu taşıyıcı karnitindir ve hız sınırlayıcı olan bu taşıma işlemi karnitin mekiği (carnitine shuttle) olarak bilinir. Karnitin iskelet ve kalp kasında olmayan, ancak karaciğer ve böbrekte bulunan bir enzimatik yolla lizin ve metiyonin aminoasitlerinden sentezlenebilir. Bu dokuların karnitin ihtiyacı tamamen karnitin endojen sentezine veya diyetle alınan karnitin alımına ve dağılımına bağlıdır [110, 111]. L-karnitin, oksidatif stresi önler. Hücresel solunumu ve oksidatif hasara karşı savunmada yer alan enzimlerin aktivitesini düzenler [112]. L-karnitin antioksidan sistemin önemli enzimlerinden olan GSH-Px, SOD, CAT gibi enzimleri peroksidatif hasara karşı korur [113, 114].



Şekil-12: Yağ asidi beta oksidasyonu, ROS ve L-karnitin ilişkisi [115]

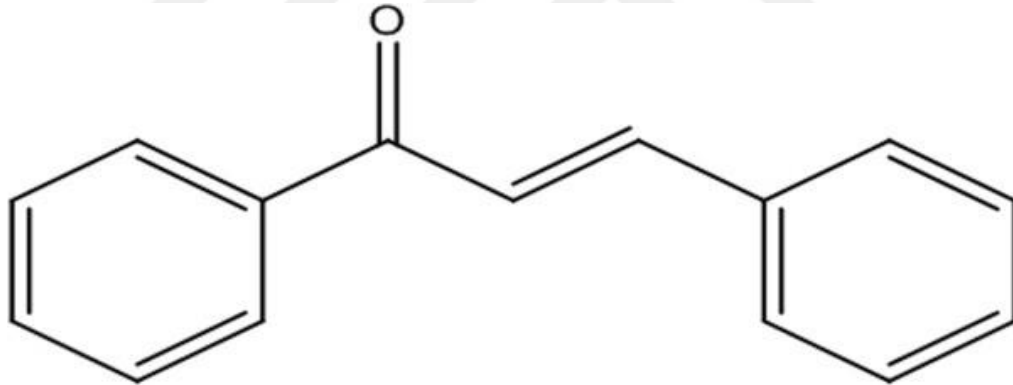
L-karnitin kullanıldığı alanlar şu şekilde sıralanabilir; yaşlanmayı geciktirmede, hafızanın güçlendirilmesinde, kalp krizi ve diğer kalp hastalıklarının önlenmesinde damar hastalıkları tedavisinde, kronik böbrek yetmezliği tedavisinde, alzheimer hastalığının önlenmesinde, AIDS hastalığı tedavisinde, sperm olgunluğu ve ruhsal hastalıklar ve depresyon tedavisinde, dengeli beslenme, diyet, obezite çalışmalarında ve şeker hastalığı tedavisinde, hiperlipidemi tedavisinde kullanılır.

Karnitin, organizmaya güçlü toksik etkileri olan, endojen veya eksojen organik asitlerin konjugasyonunda da görev yapmaktadır. Obezite, glukoz oksidasyonuna (ATP üretimi için) bağımlılık ve yağ asidi oksidasyonundaki azalmada dâhil olmak üzere, hücrel metabolizma bozukluğuna neden olabilir. L-karnitin, zayıflamaya destek olması, yağ asidi beta oksidasyonunu arttırdığı ve kas yapıcı özelliğinin olması özellikle obez kişiler tarafından tercih edilmektedir [114-116]. L-karnitin'in anti-obezite etkisi olduğu Lee ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir. Lee ve arkadaşları 3T3-L1 hücrelerinde L-karnitin'in lipolitik aktiviteyi ve beta oksidasyonuna katılan genlerin ekspresyonunu arttırdığı göstermişlerdir [117].

2.6.4. Trans-şalkon

Şalkonlar (Chalcones) eğrelti otlarından yüksek bitkilere kadar doğada bol miktarda bulunur. Şalkonlar iki aromatik halkanın birbirine, üç karbonlu α,β -doymamış karbonil köprüsü ile bağlı olduğu bileşiklerdir [118, 119].

Şalkonlar son yıllarda araştırmacıların dikkatini çekmiştir [120]. Şalkonlar anti-aritmik, anti-platelet, anti-diyabetik, anti-oksidan, anti-obezite, anti kanser, antimalaryal, anti-fungal, anti-bakteriyeldir. Çeşitli kimyasal farklı şalkon iskeletlerinin, TG sentezi, diaçilgliserol açiltransferaz (DGAT), kolesteril ester transfer proteini (CETP) pankreatik lipaz (PL) , açıl koenzim A: kolesterol açiltransferaz (ACAT) gibi enzimleri inhibe ettiği rapor edilmiştir [121]. Trans-şalkon (1,3-difenil-2-propen-1-on), daha karmaşık flavonoidlerde bulunabilen yapılara göre basit bir kimyasal yapıya sahiptir (**Şekil-13**). Şalkonların türevlerinden olan trans-şalkon yağ asidi sentaz ve α -amilazın inhibitörüdür [122, 123].



Şekil-13. Trans-şalkon molekülünün kimyasal yapısı

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Malzemeler

3.1.1. Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda kullandığımız kimyasal maddeler analitik safliktadır. Kimyasal maddeler genellikle Sigma-Aldrich ve Merck firmasından temin edilmiştir.

- L-karnitin (Sigma-Aldrich)
- Trans-şalkon (Sigma Aldrich)
- Tiyobarbitürik asit (Sigma Aldrich)
- Etanol (Sigma Aldrich)
- Etil asetat (Sigma Aldrich)
- 2,4 DNPH (Sigma Aldrich)
- DMSO (Sigma Aldrich)
- % 30 H₂O₂ (Merck)
- HCl (Merck)
- Na₂CO₃ (Sigma Aldrich)
- NaOH (Sigma Aldrich)
- Folin Cioacaltea (Sigma Aldrich)
- %20'lik Asetik Asit (Merck)
- Bütanol (Sigma Aldrich)
- Tris-Baz (Sigma Aldrich)
- Tris-HCl (Sigma Aldrich)
- Na₂ EDTA (Merck)
- Ksantin (Sigma Aldrich)
- CuSO₄ (Sigma Aldrich)
- Ksantin oksidaz (Sigma Aldrich)
- N-naftiletillen diamine (NDA)- (Sigma Aldrich)
- Cd Granülleri(Sigma Aldrich)
- Sodyum Azid (Sigma Aldrich)

3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Cam kalemi
- Enjektör
- Fotoğraf makinesi (Canon)
- Hassas terazi (Denver instrument)
- Hayvan kafesi
- Homojenizatör düzeneği (ika t18 basic ultra turrax homogenizer)
- Hettich Rotanto 460 R santrifüj cihazı
- Hettich universal 32R santrifüj cihazı
- Kronometre (Clp)
- Manyetik karıştırıcı (Velp)
- Mezür (25ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml)
- Operasyon takımı
- Otomatik pipet (Gilson)
- Pastör pipeti (isolab)
- Pipet uçları (1000 ve 100)
- Spektrofotometre (Techcomp UV-1000)
- Su banyosu (Medingen SWB 200)
- Vorteks (Velp)
- Buzdolabı (Vestel)
- Distile su ve ultra saf su cihazı (PURELAB Option-QMillipore Elga DV25)
- pH metre (Templog)
- Su bidonu
- Organon Teknika Microwell System (ELISA)

3.2. Hayvan Grupları

Çalışmamız, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde, 1986 Uluslararası Strazburg Hayvan Hakları Evrensel Beyannamesi şartlarına uygun olarak, Gaziosmanpaşa Üniversitesi'nden Etik Kurul onayı (2016 HADYEK- 39) alınarak veteriner hekim kontrolünde yapılmıştır. Tüm

hayvanlar araştırma öncesi birkaç gün sağlıklı olup olmadıklarını gözlemlemek açısından gözlem altında tutulmuştur.

Bu çalışma için 200-350 gr ağırlığında 40 adet 6-11 haftalık sağlıklı erişkin erkek wistar albino sıçan kullanılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce sıçanlar rastgele yöntemle yapılacak işlemlere göre 5 gruba ayrılmıştır. Sıçanlar plastik kafeslerde, her kafeste 8 hayvan bulunacak şekilde barındırılmıştır. HFCS (%55 fruktoz, %45 glukoz) içme suyuyla karıştırılıp herhangi bir kısıtlama yapmadan 750 ml'lik plastik şişelerde sıçanlara verilmiştir. HFCS'li sular %15'lik hazırlanmıştır. Kafeslerde normal aktivitelerini yapabilen sıçanlar $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, nem (%50-70) ve 12 saat gece/gündüz olarak ayarlanmış odalarda tutulmuştur.

Grupların yem tüketim miktarları ilk haftadan itibaren kontrol edilmiştir. Pazartesi günleri kafeslere bir hafta yetecek kadar sabit yem (1500 gr) konulmuştur. Ertesi pazartesi günü yemliklerden arta kalan yem tartılarak, bir hafta boyunca her kafesin ne kadar yem tükettiği hesaplanmıştır.

- **Kontrol Grubu:** 12 hafta boyunca ilaveten hiçbir şey verilmemiştir. İçme suyu ve yem ile beslenmiştir.
- **Sham Grubu:** 12 hafta boyunca standart yem + sularında % 15 HFCS (%55 fruktoz, %45 glukoz) çözeltisi ile beslenmiştir. 250 µl DMSO/3 gün i.p olarak verilmiştir.
- **HFCS Grubu:** 12 Hafta boyunca standart yem + sularında % 15 HFCS (%55 fruktoz, %45 glukoz) çözeltisi ile beslenmiştir.
- **HFCS + L-karnitin Grubu:** 12 hafta boyunca standart yem + sularında % 15 HFCS (%55 fruktoz, %45 glukoz) çözeltisi ile beslenmiştir. DMSO'da çözülen L-karnitin 100 mg/kg/3gün i.p olarak verilmiştir.
- **HFCS + Trans-şalkon Grubu:** 12 hafta boyunca standart yem + sularında % 15 HFCS (%55 fruktoz, %45 glukoz) çözeltisi ile beslenmiştir. DMSO'da çözülen trans şalkon 20 mg/kg/ 3 gün i.p olarak verilmiştir.

12. hafta sonunda çalışma sonlandırılmıştır. Sıçanlar ketamin-ksilazin anestezisi altında, intrakardiyak yolla kanları alınarak feda edilmiştir. Alınan kan örnekleri 3208xg de 5 dk santrifüj edilerek serum elde edilmiştir. Ayrıca sıçanların karaciğer dokuları

alınmıştır. Alınan örnekler biyokimyasal analiz için için en kısa sürede biyokimya laboratuvarına ulaştırılarak çalışma zamanına kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

Karaciğer dokusu homojenizasyonu sonucu elde edilen süpernatantlardan ve homojenatlardan SOD, GSH-Px, CAT enzim aktivitesi ve GSH, homojenatlardan ise MDA, PC, NO düzeyleri çalışılmıştır.

ELISA için ayrılan doku örnekleri homojenizasyon işlemine geçmeden önce dokulara 0,5 gr 10 hacim (ağırlık/hacim 1: 10) 0,01 N pH= 7,2-7,4 fosfat tamponu eklenmiştir. Dokular 16.000 devir/dakika hızda 3 dk. boyunca homojenize edilmiştir. Daha sonra homojenatlar 3208xg de $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ de 15 dk. santrifüj edilerek süpernatantlar alınmıştır. Bu süpernatantlardan ER stresi belirteçlerinden GRP-78, XBP-1 düzeyleri ve lipit sentezi belirteçleri FAS aktivitesi, SREBP-1c düzeyi ELISA yöntemiyle belirlenmiştir.

3.3. Biyokimyasal İnceleme

3.3.1. Karaciğer Doku Örneklerinin Homojenize Edilmesi

Karaciğer doku örnekleri 1/10 oranında 50 mM Tris-HCl (pH= 7,4) tampon kullanılarak, buz içinde, soğuk ortamda homojenize edilmiştir. Hazırlanan homojenatlarda PC, MDA ve NO düzeyleri belirlenmiştir. Homojenatların bir kısmı ise, soğutmalı santrifüjde $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 2456xg'de 30 dk. santrifüj edilerek süpernatantlar elde edilmiştir. Elde edilen süpernatantlardan GSH-Px, CAT aktivitesi, GSH ve protein düzeyi belirlenmiştir.

SOD aktivitesini belirlemek için bir kısım süpernatant, kloroform/etanol karışımı ile 1/1 (v/v) oranında karıştırılıp, 1372xg'de $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 40 dk. santrifüj edilmiştir. Üstte oluşan etanol fazı kullanılarak protein ve SOD enzim aktivite ölçümü yapılmıştır. Protein düzeylerinin tayini Lowry yöntemi ile yapılmıştır [124, 125].

3.3.2. Doku Protein Miktarının Belirlenmesi

Bakır-protein kompleksi alkali çözeltide oluşarak fosfomolibdat-fosfotungstat reaktifini (Folin-Ciocalteu-Phenol reaktifi) redükler ve koyu mavi bir renk meydana getirir. Oluşan rengin yoğunluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Folin reaktifi kullanılırken dikkat edilmesi gerekenler; bu reaktif sadece asit ortamda dayanıklıdır, fakat bahsedilen bu redükleme ise pH=10'da oluşmaktadır, bu nedenle folin reaktifi hızlı bir şekilde alkali bakır-protein çözeltisine ilave edilmeli ve karıştırılmalıdır. Bu şekilde kullanım ile Folin reaktifi parçalanmadan önce redüklenme olayı gerçekleşir [125].

Kimyasallar: Folin ciocalteu's fenol reaktifi, Bovine serum albumin, NaOH, CuSO₄, Na₂CO₃

Yöntem: Konsantrasyonunu bildiğimiz bovine serum albuminden hazırlanmış çözeltiler kullanılarak standart grafiği elde edilmiştir. Optik dansite (OD) mg/ml protein konsantrasyonu grafiği çizilerek protein değerleri bu grafikten elde edilmiştir. Örnek tüplerine 0,01 mL numune konulup ve üzerlerine 0,49 mL distile su eklenmiştir. 0,5 mL distile su da kör tüpüne konulmuştur. Hazırladığımız ölçüm reaktifi 2,5 mL olarak deney tüplerine dağıtılmıştır. Alt üst edilerek karıştırılan tüpler 10 dakika inkübasyona alındıktan sonra deney tüplerine 0,25 mL hazırlanan Folin ciocalteu's fenol reaktifi ekleyip tekrar 30 dakika oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. Süresi dolan standart ve numuneler köre karşı 700 nm'de okunmuştur [126].

Hesaplama Protein (mg protein/ml) = grafikten okunan değer x faktör F
(faktör) = standart hacmi (0,5 ml)/ numune hacmi (0,010 ml) = 50

Not: Kullanılan numune miktarına göre faktör değişir. Numunenin miktarı değişirse, distile su hacmi ile ters orantılı olarak tüpe ilave edilir.

3.3.3. Malondialdehit Düzeylerinin Belirlenmesi

MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve 90 °C'de tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek pembe renkli kromojen oluşturur. Oluşan pembe renkli bileşiğin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümüne göre MDA düzeyinin tayini yapılmıştır [126, 127].

Kimyasallar: %0,675'lik (ağırlık/hacim) Tiyobarbitürik asit (TBA), %10'luk (ağırlık/hacim) trikloro asetik asit (TCA), stok standart solüsyonu (1,1,3,3 tetra metoksiopropan)

Yöntem: Kapaklı cam deney tüplerine 2,5 ml %10'luk TCA konulduktan sonra üzerlerine 0,5 ml numune ilave edilerek vorteksle karıştırılmıştır. Elde edilen karışımların ağzları kapatılarak 90 °C'de 15 dk. inkübasyonda bırakıldıktan sonra soğuk su altında soğutulularak 1804xg'de 10 dk. santrifüj edilmiştir. Sonra elde edilen süpernatantlardan 2 ml ayrı tüplere alınarak üzerlerine %0,675'lik TBA eklenmiş ve tekrar 90 °C'de 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi dolduktan sonra soğuk su altında soğutilan numuneler, 532 nm'de köre karşı okutulmuştur. Kör tüpüne numune yerine 0,5 ml distile su konularak aynı işlemler yapılmıştır.

Hesaplama MDA (nmol/ g.yaş doku) = (Örnek OD/Standart OD) x Standart Konsantrasyonu

3.3.4. Protein Karbonil Düzeylerinin Belirlenmesi

Protein karbonil gruplarının 2,4-dinitrofenilhidrazin ile reaksiyonu sonucu 2,4 dinitrofenilhidrazon oluşması prensibine dayanarak, PC grubu düzeyleri spektrofotometrik olarak 370 nm'de belirlenmiştir [84, 126].

Kimyasallar: %20 TCA, 10mM 2,4 DNPH (2M HCl'de hazırlandı), 2M HCl, Etanol/Etil asetat (1/1), 100 mM NaOH

Yöntem: 0,5 mL numune, 1,5 mL'lik eppendorf tüplerine konularak üzerine 0,5 mL %20'lik TCA (ağırlık/hacim) eklenip ve vorteksle karıştırılmıştır. Mevcut karışım 13145xg'de 10 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj edildikten sonra oluşan süpernatantlar dikkatlice dökülerek pelletleri bırakılmıştır. Bırakılan pelletlerin her birinin üzerine 10mM 2,4 DNPH (2M HCl'de hazırlandı) ilave edilmiştir ve oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Bu süre içerisinde reaksiyon gerçekleşmesi için, her 10-15 dk.'da bir numuneler vorteksle karıştırılmıştır. 1 saat dolduktan sonra numunelerin üzerine 0,5 mL %20'lik TCA eklenip vorteksle karıştırılmıştır. Sonra 13145xg'de 3 dk. santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar pelletlerinden dikkatli bir şekilde ayrılmıştır. Kalan pelletlerin üzerine 1 mL etanol-etil asetat eklenip vorteks ile karıştırılmıştır ve 10 dk. beklendikten sonra örnekler 13145xg'de 3 dk. santrifüj edilmiştir. Etanol-etil asetat basamağı 3 kere tekrar edilmiştir. Bu basamak sonrası elde edilen süpernatant pelletinden ayrılmış ve üzerine 0,9 mL 100 mM NaOH ilave edilip 15 dk. 37 °C'de

çalkalayıcıda çözülmesi sağlanmıştır. Sonra, çözünmeyenleri çöktürmek için 13145xg'de 5 dk. santrifüj edilip, 370 nm'de numuneler köre karşı okunmuştur.

Hesaplama: PC düzeyleri nmol/ml olarak hesaplanmıştır. Hesaplamalar sırasında 2,4-dinitrofenilhidrazin için 370 nm'de molar absorpsiyon katsayısı $s = 22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ alınmıştır. Doku örnekleri için bu sonuçlar Lowry metoduyla ölçülen protein miktarları kullanılarak nmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Karbonil (M)} = [(AbsN - AbsC) / 22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}] \times (16 \times 10^6)$$

$$\text{Protein Karbonil (nmol/mg protein)} = \text{Karbonil (nmol/ml)} / \text{Protein (mg/ml)}$$

3.3.5. Nitrik Oksit Düzeylerinin Belirlenmesi

Nitrik oksit, üretildiği ortamda çok kısa bir sürede okside olarak önce nitrite (NO_2^-) daha sonrada nitrata (NO_3^-) dönüştüğü için endojen olarak, vücutta üretilen nitrik oksitin doku ve vücut sıvılarındaki miktarı, pek çok çalışmada nitrit ve nitrat olarak belirtilmiştir [128].

Proteinden zengin homojenat, serum ve plazma gibi sıvılarda Griess reaksiyonu ile ölçümlerde muhtemel nonspesifik reaksiyonları engelleyebilmek için numuneleri önce deproteinize edip daha sonra nitrit ve nitrat düzeyleri çalışılmıştır [129]. Deproteinizasyondan sonra nitrit ve nitrat miktarları Griess reaksiyonu ile belirlenmiştir [130]. Total nitrit (nitrit+nitrat) düzeyi modifiye kadmiyum redüksiyon metodu ile belirlenmiştir. Bakır (Cu) kaplı kadmiyum granülleri pH=9,7 glisin tamponunda deproteinize numune süpernatantı ile 90 dakikalık inkübasyona bırakılarak nitratın redüksiyonu sağlanmıştır. Üretilen nitrit düzeyi; sülfanilamid ve buna bağlı N-naftiletillen diamin (NNDA) diazotizasyonu ile reaksiyon sonucu oluşan pembe bir rengin spektrofotometrede 545 nm dalga boyunda okunması ile tayin edilmiştir.

Nitrit Standartlarının Hazırlanması: Nitrit Standartlarının hazırlanması; 0,1 mol/L NaNO_2 (sodyum nitrit) stok solüsyon olup oda ısısında 9 ay süreyle stabildir. Standart solüsyonundan değişik oranlarda dilüsyon yapılarak, standart eğri çizilmiştir.

Kimyasallar: Sülfanilamid, 5 mmol/L CuSO_4 , pH 9,7 Glisin-NaOH tamponu, Kadmiyum granülleri (Cd), N-naftiletillen diamine (NNDA), 0.1 mol/L H_2SO_4 standart solüsyonu (0,1 mol/L NaNO_2 , 10 mmol/L $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ içinde çözülür.)

Kadmiyumların Aktifleştirilmesi: Kadmiyumlar, 20 mililitrelik plastik tüplere (ağız kapatılan) 2,5-3 gr olarak dağıtılır. Kadmiyum granülleri 3 kez deiyonize su ile yıkanır. $CuSO_4$ solüsyonu içinde 1-2 dakika bekletildikten sonra solüsyon tekrar süzülerek dökülür. 3 kez glisin tamponu ile yıkanır. Aktifleştirilen kadmiyum granülleri 10 dk içinde kullanılır. Granüller kullanıldıktan sonra hemen distile su ile yıkanır ve sülfirik asit (H_2SO_4) solüsyonu içinde saklanır.

Yöntem: Deproteinizasyon işleminin yapılması; 250 μL numune + 1 mL $ZnSO_4$ (75 mmol/L) karışımı vortekslenir. Üzerine 1,250 mL NaOH (55 mmol/L) ilave edilip tekrar vortekslenir ve 2456xg'de 10 dk. santrifüj edilir. Elde edilen süpernatant numune olarak kullanılır.

Glisin tamponu ile yıkanmış aktif granül tüplerinin üzerine 1 mL glisin tamponu eklenir. Üzerine 1 mL deproteinize numune konur ve 2 mL distile su eklenir. Oda ısısında 90 dakika inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda ayrı bir tüpe, 2 mL alınıp üzerine 2,5 ml distile su ve 1 mL sülfanilamid, 1 mL NNDA ilave edilerek tekrar 1 saat inkübasyona bırakılır. İkinci inkübasyon süresi dolduktan sonra 545 nm'de köre karşı okunur. Elde edilen veriler NO metabolitlerinin toplam konsantrasyonunu göstermektedir ve $\mu mol/L$ ile $\mu mol/g$ yaş doku olarak sonuçlar kaydedilir.

3.3.6. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Sun ve arkadaşlarının yöntemi ile Durak ve arkadaşlarının yapmış olduğu modifikasyona göre süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi belirlenmiştir [124, 126, 131].

Bu yöntemde, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin, nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanarak SOD aktivitesi tespit edilir. Ortaya çıkan süperoksit radikalleri NBT'yi indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Meydana gelen kompleks 560 nm'de maksimum absorbans verir. Eğer ortamda enzim yoksa bu indirgenme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD varsa NBT indirgenmesi gerçekleşmeyip mavi-mor renk açığa çıkmamakta ve enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır. Buna göre SOD enzim aktivitesi (1U), NBT' un indirgenmesini %50 inhibe eden enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

Kimyasallar: 400 mmol/L Na₂CO₃, 1 g/L bovine serum albumin, 2 M (NH₄)₂SO₄, 0,8 mmol/L CuCl₂, 150 µmol/L NBT, 0,3 mmol/L xanthine, 0,6 mmol/L EDTA(2 Na tuzu), xanthine oxidase (XO)

Yöntem: Deney tüplerine öncelikle 2,85 mL SOD reaktifi konulmuştur. Üzerlerine 0,1 mL numunelerin ekstraktlarından eklenmiştir. Kör tüpüne ekstrakt yerine 0,1 mL distile su konulmuştur. Sonra tüm karışımların üzerine 0,05 mL ksantin oksidaz ilave edilip, hızlı bir şekilde alt üst edilerek karıştırılmıştır ve oda ısısında 20 dakika inkübasyona alınmıştır. İnkübasyon süresi dolan tüplere bekletilmeden stop solüsyonu olarak 0,1 mL bakır klorür eklendi ve numuneler köre karşı 560 nm'de okunmuştur.

Hesaplama:

% inhibisyon = [(Absorbans kör (K) - Absorbans Örnek {Ö}) / K x 100

% 50'lik inhibisyona 1 U denildiği için

Aktivite (U/ml) = [(% inhibisyon/50) x (1 /0,1)] ml.

U/ml = [(K-Ö) / K] x 20 x 5 (dilüsyon faktörü)

Spesifik aktivite = (U/ mg protein)

3.3.7. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Paglia ve arkadaşlarının yöntemine göre GSH-Px aktivitesi belirlenmiştir [132]. Hidrojen peroksit bulunan ortamda GSH-Px redükte GSH'un okside glutatyona (GSSG) yükseltgenmesini katalizler. GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. NADPH'nin NADP'ye yükseltgenmesi sırasında absorbans seviyesindeki azalmanın, 340 nm'de okunmasıyla GSH-Px aktivitesi belirlenir.

Enzim Ünitesi: NADPH'nin birim zamanda okside olan mikromol miktarıdır.

Kimyasallar: 50 mM H₂O₂, fosfat tamponu (pH = 7,50 mM), GSH-Redüktaz, 3,2 M (NH₄)₂SO₄, 150 mM redükte GSH, 8 mM NADPH, 1 M NaN₃ (Sodyum azid)

Ölçüm Yöntemi: Hazırlanan deney tüplerine; 2,650 mL EDTA'lı fosfat tamponu, 0,1 mL redükte GSH, 0,1 mL NADPH, 0,01 mL GSH-Redüktaz, 0,01 mL NaN₃, 0,02 mL numune karışımları hazırlanarak 30 dk. inkübasyona bırakıldıktan sonra deney tüplerine 0,1 mL hidrojen peroksit ilave edilip, 5 dk. boyunca dalga boyu 340 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede, numunelerin absorbans değerleri kaydedilmiştir.

Aktivite azalışının lineer olduğu absorbans aralığının 1 dakikalık süresi esas alınarak hesaplamada kullanılmıştır.

$$\text{Hesaplama (U/L)} = [(\Delta A/t)/6,22 \times 10^{-61} \times (1 / 0,02)]$$

$$\text{Spesifik aktivite U/mg protein} = (U/L) / (1000 \times w)$$

3.3.8. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Aebi yöntemine göre katalaz aktivitesi tayin edilmiştir [133]. Hidrojen peroksit 240 nm'de maksimum absorbans verir. Deney ortamına ilave edilen H₂O₂ katalaz aracılığıyla su ve oksijene parçalanmakta ve bu olay kendini ultraviyole spektrumda absorbans azalması olarak göstermektedir. Absorbanstaki bu azalma CAT enziminin aktivitesi ile doğru orantılıdır. Reaksiyon şu şekildedir:

Kimyasallar: Fosfat tamponu (pH 7,50 mM) ve absorbansı 0.500 nm'ye ayarlanmış olan H₂O₂'li fosfat tamponu

Ölçüm Yöntemi: 240 nm dalga boyunda, fosfat tamponuna göre sıfırlanan köre karşı, H₂O₂ çözeltisi optik dansite 0,500'e ayarlanmıştır. Kör tüpüne 2,99 ml fosfat tamponu konulup ve üzerine 0,01 mL H₂O₂ çözeltisi eklenerek kör oluşturulmuştur. Numune tüplerine de, 2,99 mL H₂O₂ çözeltisi ve üzerine 0,01 mL numune eklenmiştir. Absorbans azalması her 15 sn'de bir 2 dakika süre ile kaydedilmiştir.

Hesaplamada 1 dakikalık lineer absorbans azalmasının değerleri dikkate alınmıştır.

$$\text{Hesaplama: } k = \{[2,3 \times \log (OD1/ OD2)] / \Delta t (sn)\}$$

$$k/mg \text{ protein} = k / [(mg/ml \text{ protein}) \times 1000]$$

3.3.9. Glutasyon Düzeyinin Belirlenmesi

Ellman'ın tarif ettiği [134] metoda göre yapılmıştır. Metodun ölçüm prensibi, analiz tüpünde bulunan glutasyonun 5,5-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit ile reaksiyona girerek sarı-yeşilimsi renk vermesi ve oluşan bu rengin şiddetinin 410 nm dalga boyunda, spektrofotometrede okunarak redükte GSH miktarının tayin edilmesi şeklindedir.

Numunelerin Hazırlanması: Elde edilen süpernatanta TCA çözeltisi ilave edilip, karıştırılmıştır ve tekrar 1804xg'de, +4 derecede, 20 dakika santrifüj edilerek

proteinlerin çökmesi sağlanmıştır. Açık renkli süpernatant numuneleri GSH analizinde kullanılmıştır.

Kullanılan Reaktifler: % 10'luk TCA (ağırlık/hacim), % 1'lik trisodyum sitrat (ağırlık/hacim), % 0.4'lük 5,5'-Ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (ağırlık/hacim), 0.3 molar disodyum hidrojen fosfat.

	Numune	Kör
Süpernatant veya Serum	250 µL	-----
Na ₂ HPO ₄ (0.3 M)	2 mL	2 mL
DTNB	250 µL	250 µL
Distile su	-----	250 µL

Yukarda belirtilen çalışma şemasına göre deney tüpleri hazırlanmıştır, çözeltilerin iyice karışması için tüpler vortekslenmiştir. Spektrofotometre kör ile 410 nm'de sıfır absorbansa ayarlanmıştır. Oda sıcaklığında 5 dk. bekletilen numunelerde oluşan rengin şiddeti spektrofotometrede 410 nm'de okunmuştur ve GSH standard grafiğinden yararlanılarak GSH düzeyleri bulunmuştur. Doku GSH düzeyleri, nmol/mgprotein olarak ifade edilmiştir.

3.3.10 GRP-78, XBP-1, SREB-1c Düzeylerinin ve FAS Aktivitesinin Belirlenmesi

Sıçanların hem karaciğer dokusundan hem de serumlarından GRP-78, XBP-1, FAS, SREB-1c düzeyleri ELISA kiti kullanılarak, sandwich Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) metodu ile, Organon Teknika Microwell System cihazında üretici firmanın test prosedürüne göre tespit edilmiştir. Elisa kitlerimiz Elabscience Biotechnology Co., Ltd'den (USA) temin edilmiştir. Kitlerin %CV değerleri 10'un altındadır (GRP-78 Lot No: AK0017FEB07042, SREB-1c Lot No: AK0017FEB04044, FAS Lot No: AK0017FEB07045).

3.3.11 Total Kolesterol, LDL, HDL, TG Seviyelerinin Belirlenmesi

Sıçanların serumlarında total kolesterol, LDL, HDL, TG seviyeleri, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya

Laboratuvarı'nda 'Beckman Coulter Unicell DxC 800 Synchron Clinical System' cihazında çalışılmıştır.

3.3.12. İstatistik

Sonuçların istatistiksel analizi 'SPSS 21.0 for windows paket programıyla yapılmıştır. Parametrik test varsayımları sağlandığında, tanımlayıcı istatistikler; dağılımı normal olan değişkenler için ortalama \pm standart sapma olarak gösterilmiştir. Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkların önemliliği ANOVA testiyle araştırılmıştır. ANOVA testinde, gruplar arasındaki farklılığı hangi grubun ortaya çıkardığını bulabilmek için "post-hoc" testlerinden Tukey yöntemi kullanılmıştır. Deney başlangıcındaki ve sonundaki, grup içi zamanlar arasında fark araştırılırken karşılaştırma yöntemi olarak paired t testi uygulanmıştır. Parametreler arasında ilişki olup olmadığını anlamak için pearson korelasyon analizi yapılmıştır. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Deney Hayvanları

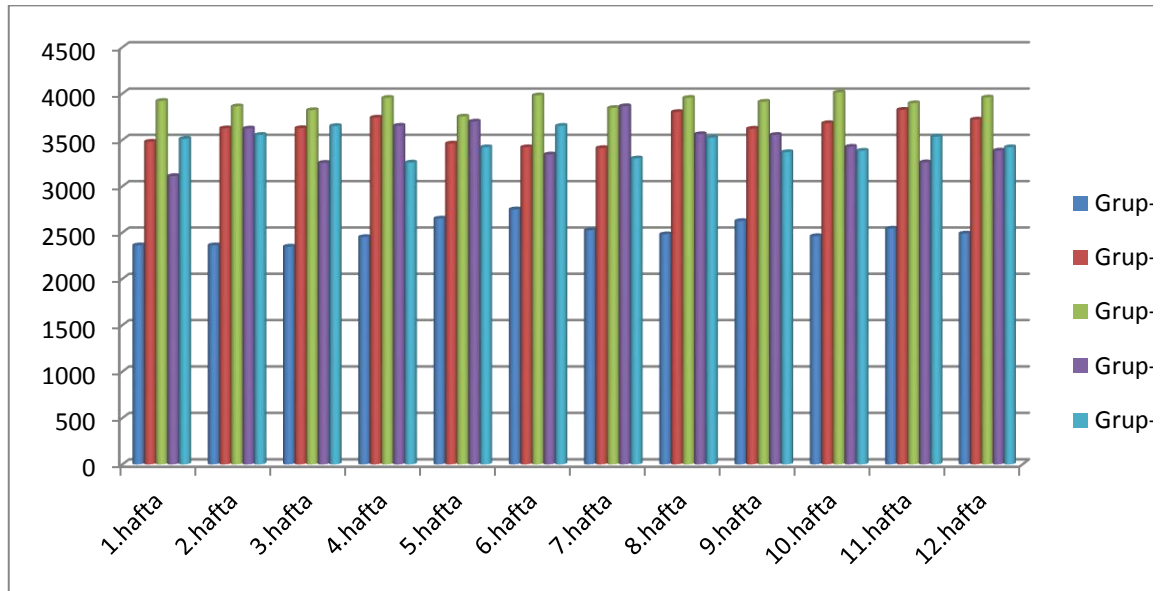
Çalışmamızda her kafeste 8 adet sıçan olmak üzere toplam 40 sıçan kullanılmıştır. Her pazartesi günü aynı saatte sıçanların kiloları alınmıştır. Pazartesi günleri 1 haftalık sabit standart yem konularak (1500 gr) arta kalan yem diğer pazartesi günü tartılmıştır. Her kafese ayrı su bidonu temin edilmiştir. Hayvanların içeceği sular buradan karşılanarak tüketilen su miktarı buradan takip edilmiştir. HFCS'li sularla beslenen hayvanların haftalık su tüketim miktarlarının önemli şekilde arttığı görülmüştür. Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in sıçanları içme suyuyla beslenen Grup 1' göre su içmeye daha fazla ilgi duyduğu gözlemlenmiştir.

HFCS ile beslenen bütün grupların su tüketim miktarları Grup 1'e göre yüksektir. Grup 3'ün haftalık ortalama su tüketim miktarı en yüksek olup, Grup 1'in ise en düşüktür.

Grupların haftalık su tüketimleri ve haftalık ortalama kilo değişimleri Tablo 1, Tablo 2, Şekil 14, Şekil 15'de gösterilmiştir. Şekil 16'da ise deney gruplarının çalışma başında ve sonundaki ortalama kiloları verilmiştir.

Tablo 1: Grupların haftalık ortalama su tüketimi

Hafta	Grup 1 (n=8)	Grup 2 (n=8)	Grup 3 (n=8)	Grup 4 (n=8)	Grup 5 (n=8)
1.hafta	2362 ml	3481 ml	3921 ml	3110 ml	3512 ml
2.hafta	2348 ml	3625 ml	3862 ml	3623 ml	3554 ml
3.hafta	2451 ml	3627 ml	3821 ml	3252 ml	3650 ml
4.hafta	2651 ml	3741 ml	3954 ml	3653 ml	3256 ml
5.hafta	2750 ml	3461 ml	3752 ml	3698 ml	3421 ml
6.hafta	2524 ml	3421 ml	3981 ml	3343 ml	3652 ml
7.hafta	2481 ml	3412 ml	3845 ml	3864 ml	3300 ml
8.hafta	2624 ml	3801 ml	3954 ml	3562 ml	3524 ml
9.hafta	2461 ml	3621 ml	3912 ml	3554 ml	3368 ml
10.hafta	2542 ml	3681 ml	4012 ml	3426 ml	3383 ml
11.hafta	2489 ml	3825 ml	3896 ml	3258 ml	3534 ml
12.hafta	2541 ml	3720 ml	3958 ml	3385 ml	3421 ml
Ortalama	2518,8 ml	3618,0 ml	3905 ml	3447 ml	3463 ml

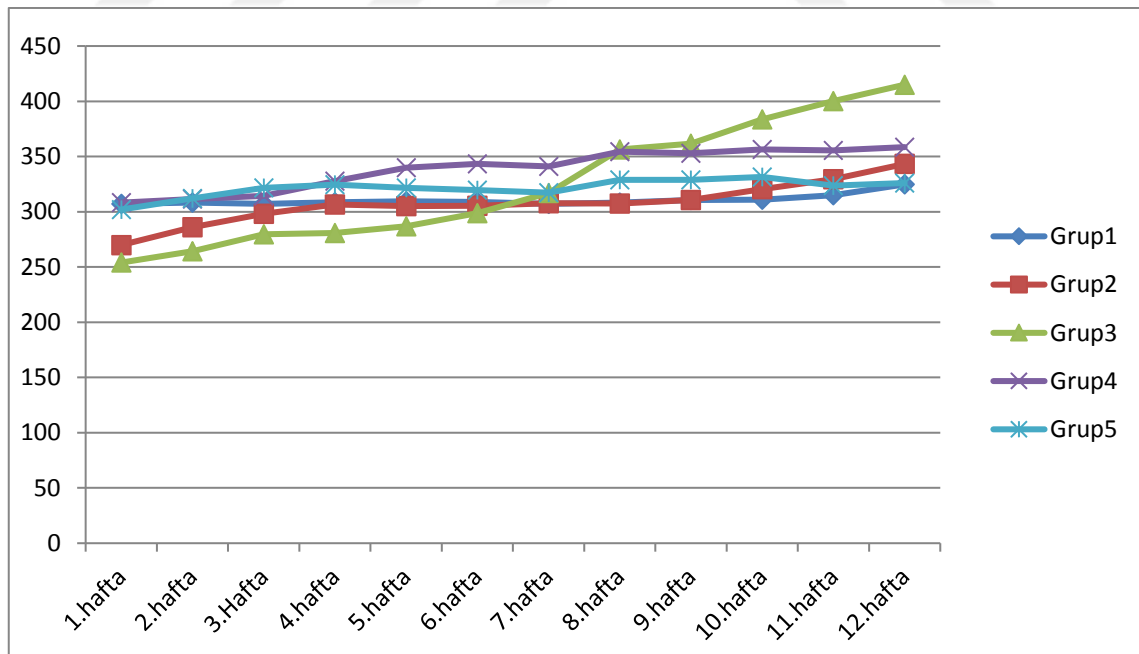


Grup 1: Kontrol **Grup 2:** Sham, **Grup 3:** HFCS, **Grup 4:** L-karnitin, **Grup 5:** Trans-şalkon

Şekil-14: Grupların su tüketim miktarının haftalık grafiksel gösterimi

Tablo 2: Grupların haftalık ortalama kilo değişimi

Hafta	Grup 1 (n=8) Ort \pm SD	Grup 2 (n=8) Ort \pm SD	Grup 3 (n=8) Ort \pm SD	Grup 4 (n=8) Ort \pm SD	Grup 5 (n=8) Ort \pm SD
1.hafta	307,1 \pm 38,4	269,8 \pm 32,4	254 \pm 25,7	308,2 \pm 33,1	302 \pm 36,7
2.hafta	308,3 \pm 40,04	286,1 \pm 29,9	264,2 \pm 25,4	311,5 \pm 14,9	312 \pm 36,2
3.hafta	307,1 \pm 40,9	298,2 \pm 34,3	279,7 \pm 19,7	314,5 \pm 30,4	321,5 \pm 45,1
4.hafta	308,5 \pm 38,2	306,5 \pm 33,8	280,7 \pm 22,2	327,7 \pm 28,07	324,5 \pm 44,9
5.hafta	309,5 \pm 40,5	305,2 \pm 31,8	287 \pm 25,5	339,7 \pm 29,4	321,5 \pm 36,6
6.hafta	308,7 \pm 34,4	305,5 \pm 34,9	298,7 \pm 30,2	343,2 \pm 24,5	319,7 \pm 43,02
7.hafta	307,1 \pm 48,3	307,6 \pm 10,9	317,1 \pm 23,5	341 \pm 29,4	317,2 \pm 38,3
8.hafta	308,2 \pm 38,6	307,3 \pm 12,3	356,5 \pm 25,2	354,5 \pm 30,7	328,7 \pm 48,4
9.hafta	310,5 \pm 32,3	310,7 \pm 17,11	361,7 \pm 39,2	353 \pm 28,5	328,7 \pm 48,1
10.hafta	311 \pm 16,9	320,5 \pm 21,06	383,5 \pm 31,8	356,5 \pm 26,2	331,5 \pm 23,1
11.hafta	315 \pm 39,9	329,3 \pm 6,9	400,1 \pm 36,6	355,5 \pm 34,5	323,7 \pm 26,2
12.hafta	324,75 \pm 37,6	343,2 \pm 8,8	415 \pm 26,15	358,5 \pm 28,2	326 \pm 31,2

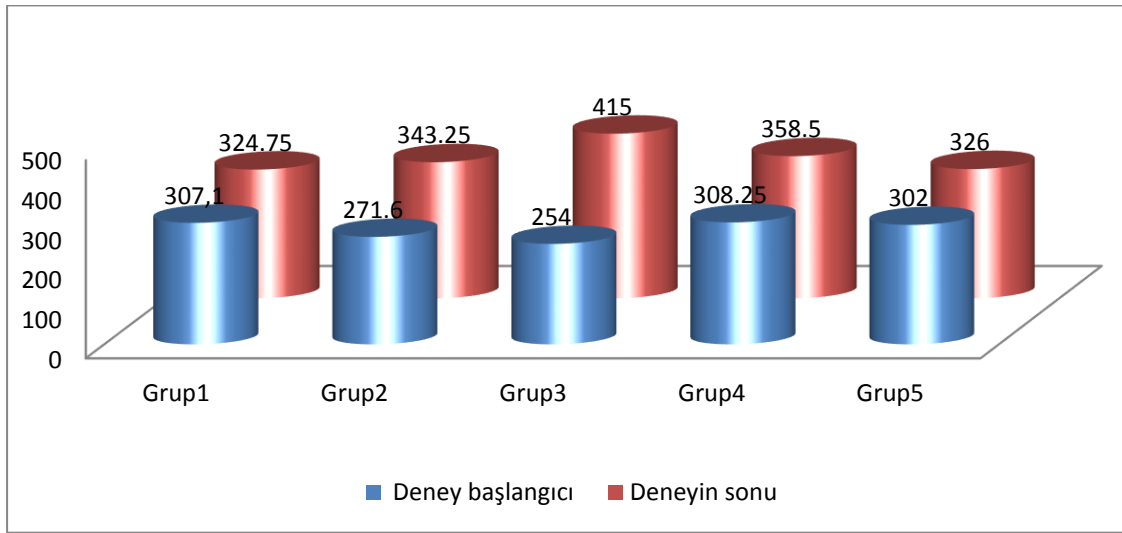


Grup1: Kontrol, **Grup 2:** Sham, **Grup 3:** HFCS, **Grup4:** L-karnitin, **Grup 5:** Trans-şalkon

Şekil-15: Grupların haftalık kilo ortalamalarının grafiksel gösterimi

Grupların haftalık ortalama kiloları karşılaştırıldığında Grup 2 ve Grup 3'ün haftalık ortalama kilo değişimi dikkatimizi çekmiştir. Çalışma sonunda en yüksek ortalama kiloya sahip grup Grup 3'tür. İçme suyu ile beslenen Grup 1, Grup-5'in ortalama kilo değişimleri Grup 2, Grup 3, Grup 4'e göre düşüktür (**Tablo-2**).

Şekil-15'te gösterildiği gibi Grup 3'ün sıçanlarının haftalık ortalama kilosu gittikçe artmaktadır. Grup-4 ve Grup-5 sıçanlarının ise haftalık ortalama kilolarının arttığını, fakat Grup 3 gibi artmadığını görmekteyiz.



Grup 1 % kilo değişimi: %5,73 (p=0,380)

Grup 2 % kilo değişimi: %26,38 (p=0,001)

Grup 3 % kilo değişimi: %63,38 (p=0,001)

Grup 4 %kilo değişimi: %16,30

(p=0,022)

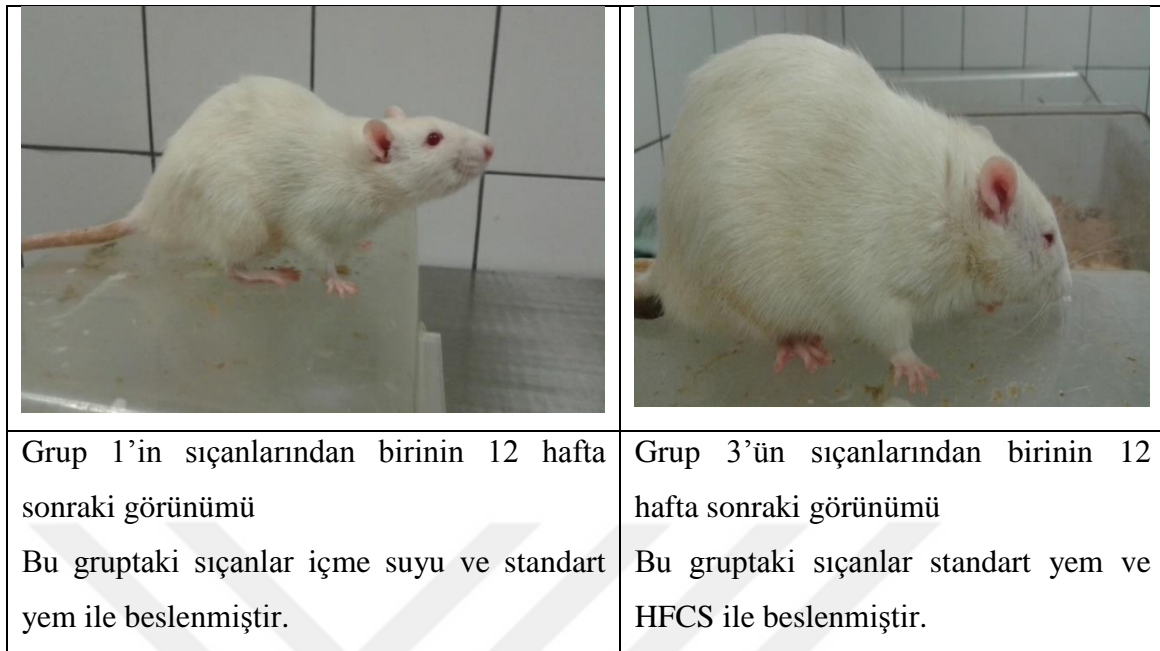
Grup 5 % kilo değişimi: %7,94

(p=0,270)

Grup 1: Kontrol, **Grup 2:** Sham, **Grup 3:** HFCS, **Grup 4:** L-karnitin, **Grup 5:** Trans-şalkon

Şekil-16: Deney gruplarının çalışma başında ve sonundaki ortalama kilolarının grafiksel gösterimi.

Çalışmamızda bütün gruplarda kilo artışları görülmüştür. Çalışmanın başından ve çalışma sonuna kadar Grup 1 ve Grup 5'in % kilo değişimleri anlamlı değildir (p=0,380; p=0,270). Fakat çalışma başından çalışma sonuna kadar Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'ün % kilo değişimleri anlamlıdır (Sırasıyla p=0,001, p=0,001, p=0,022) (**Şekil-16**).



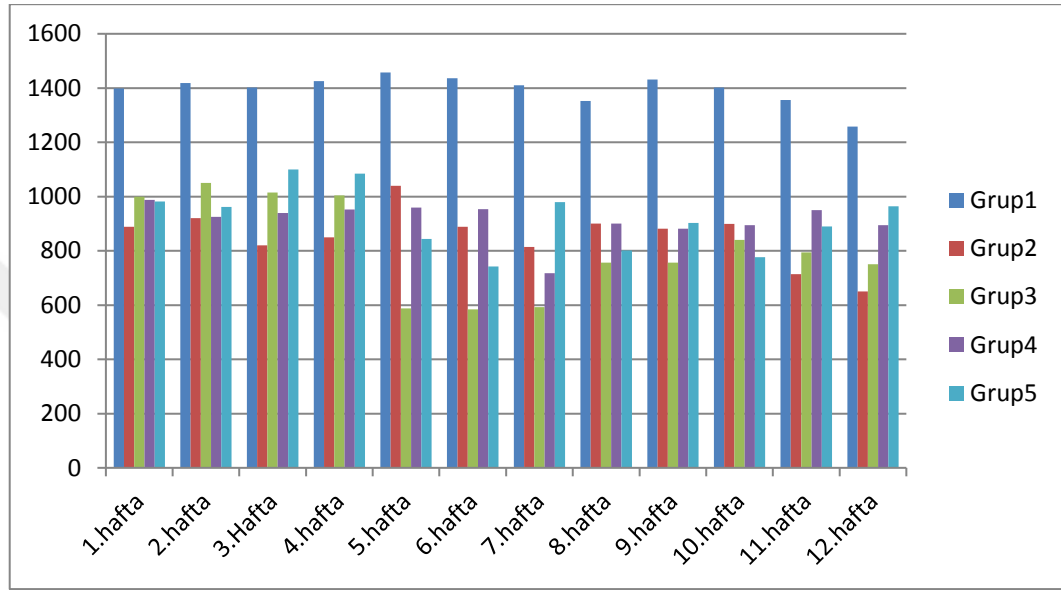
Şekil-17: Çalışma sonunda Grup-1 ve Grup-3'ün sıçanlarından fiziksel görünüm

Tablo 3: Grupların haftalık yem tüketim miktarı

Hafta	Grup 1(n=8)	Grup 2(n=8)	Grup 3(n=8)	Grup 4(n=8)	Grup 5(n=8)
1.hafta	1399 g	889 g	1000 g	988 g	982 g
2.hafta	1418 g	921 g	1050 g	925 g	962 g
3.hafta	1402 g	820 g	1015 g	939 g	1100 g
4.hafta	1426 g	850 g	1004 g	952 g	1084 g
5.hafta	1458 g	1040 g	588 g	960 g	844 g
6.hafta	1436 g	889 g	584 g	954 g	742 g
7.hafta	1410 g	814 g	592 g	718 g	980 g
8.hafta	1352 g	901 g	756 g	901 g	801 g
9.hafta	1431 g	882 g	756 g	882 g	903 g
10.hafta	1402 g	899 g	840 g	894 g	776 g
11.hafta	1356 g	714 g	794 g	950 g	890 g
12.hafta	1258 g	650 g	750 g	894 g	964 g
Ortalama	1395 g	855,75 g	810,75 g	913,08 g	919 g

Grup 1: Kontrol, **Grup 2:** Sham, **Grup 3:** HFCS, **Grup 4:** L-karnitin, **Grup 5:** Trans-şalkon

Grup 1'in deney sonunda haftalık ortalama yem tüketimi diğer gruplarla (Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5) karşılaştırıldığında oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir. Grup 1'in ortalama yem tüketim miktarı ve diğer grupların yem tüketim miktarları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Grupların haftalık yem tüketim miktarı **Tablo-3** ve **Şekil- 18'** de verilmiştir.



Grup 1: Kontrol **Grup 2:** Sham, **Grup 3:** HFCS, **Grup 4:** L-karnitin, **Grup 5:** Trans-şalkon

Şekil-18: Grupların yem tüketim miktarının haftalık grafiksel gösterimi

4.2. Biyokimyasal Analiz

4.2.1. Serum TG, Total Kolesterol, HDL, LDL, VLDL Düzeylerinin Belirlenmesi:

Serum lipit parametrelerinin düzeyleri mg/dl olarak ölçülmüştür. Sonuçlar Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4: Serum TG, total kolesterol, HDL, LDL, VLDL düzeyleri

Grup	Total kolesterol (mg/dl) Ort ± SD		LDL (mg/dl) Ort ± SD		HDL (mg/dl) Ort ± SD		VLDL (mg/dl) Ort ± SD		TG (mg/dl) Ort ± SD	
	F	r	F	r	F	r	F	r	F	r
Gruplar arası karşılaştırma	16,8	<0,001	3,7	0,012	0,59	0,669	9,6	<0,001	9,55	<0,001
Grup1 (n=8)	32,57±9,36		8,60±2,72		41,95±6,9		7,62±4,3		37,68±22,0	
Grup 2 (n=8)	45,3±9,02		9,46±2,08		39,2±8,9		10,6±3,2		52,65±12,1	
Grup 3 (n=8)	62,2±5,55		12,56±1,62		41,3±4,40		17,3±2,97		86,60±15,5	
Grup 4 (n=8)	47,2±5,7		10,49±1,85		39,8±4,33		9,25±2,4		46,65±15,0	
Grup 5 (n=8)	37,68±22,0		9,46±2,64		37,6±5,21		12,12±3,7		61,09±18,56	
1 vs 2 p değeri	0,012		0,936		0,904		0,411		0,416	
1 vs 3 p değeri	0,001		0,009		1,00		<0,001		<0,001	
1 vs 5 p değeri	0,019		0,936		0,651		0,084		0,068	
2 vs 4 p değeri	0,984		0,886		1,00		0,927		0,954	
2 vs 5 p değeri	1,00		1,00		0,987		0,902		0,859	
3 vs 4 p değeri	0,001		0,353		0,990		<0,001		<0,001	
3 vs 5 p değeri	<0,001		0,061		0,768		0,031		0,038	
4 vs 5 p değeri	0,956		0,886		0,955		0,454		0,452	
Grup 1: Kontrol, Grup 2: Sham, Grup 3: HFCS, Grup 4: L-karnitin, Grup 5: Trans-şalkon vs: versus: -e karşı										

Tablo 4’de gruplara göre çalışma sonunda sonunda sıçan serumlarındaki, total kolesterol, HDL, LDL, VLDL ve TG seviyeleri verilmiştir.

HFCS ile beslenen grupların TG seviyeleri ile içme suyu beslenen Grup 1’e göre anlamlı şekilde artmıştır. Grup 3’ün TG seviyesi en yüksektir. (86,60±15,5). Grup 4 ve Grup 5’in TG seviyeleri anlamlı şekilde azalmıştır (Sırasıyla 46,65± 15,0 61,09 ±18,56 **p <0,001, p=0,038**). Grup-2’nin (52,65±12,1) TG seviyesi Grup 4 (46,65± 15,0) ve Grup 5’in (61,09±18,56) TG seviyeleriyle karşılaştırıldığında anlamlı değildir.

Grupların total kolesterol seviyeleri incelendiğinde; Grup 3’ün (62,2±5,55) total kolesterol seviyesi en yüksek bulunmuştur. İçme suyu ile beslenen Grup 1’e (32,57±9,36) göre anlamlı şekilde artmıştır (**p=0,001**). Grup 4 (47,2±5,7) ve Grup 5’in (37,68±22,0) total kolesterol seviyeleri Grup 3’e göre anlamlı şekilde azalmıştır (Sırasıyla **p=0,001; p<0,001**). Grup-2’nin (45,3±9,02) total kolesterol seviyesi Grup-4 (47,2±5,7) ve Grup 5’in (37,68±22,0) total kolesterol seviyeleriyle karşılaştırıldığında anlamlı değildir (Sırasıyla p=0,984; p=1,00).

Grupların LDL seviyeleri incelendiğinde; Grup 3’ün (12,56±1,62) LDL seviyesi içme suyu ile beslenen Grup 1’e (8,60±2,72) göre anlamlı şekilde artmıştır (**p= 0,009**). Grup 4 (10,49±1,85) ve Grup 5’in (9,46±2,64) LDL seviyeleri Grup 3’e (12,56±1,62) göre azalmıştır. Fakat anlamlı değildir (Sırasıyla p=0,353; p=0,061). Grup 2’nin LDL seviyesi Grup 4 ve Grup 5’in LDL seviyeleriyle karşılaştırıldığında anlamlı değildir (Sırasıyla p=0,886; p=1,00).

4.2.2 Kilo ile LDL, HDL, Total Kolesterol, TG Korelasyon Analizi

Tablo-5: Kilo ile LDL, HDL, total kolesterol, TG arasındaki korelasyon analizinin gösterimi

	LDL		HDL		Total Kolesterol		TG	
	r	p	r	p	r	p	r	p
KİLO	0,366	0,020	-0,061	0,711	0,557	0,000	0,501	0,001

Grupların kilolarıyla LDL seviyeleri arasında zayıf pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır (r= 0,366 p= **0,020**) (**Tablo-5**).

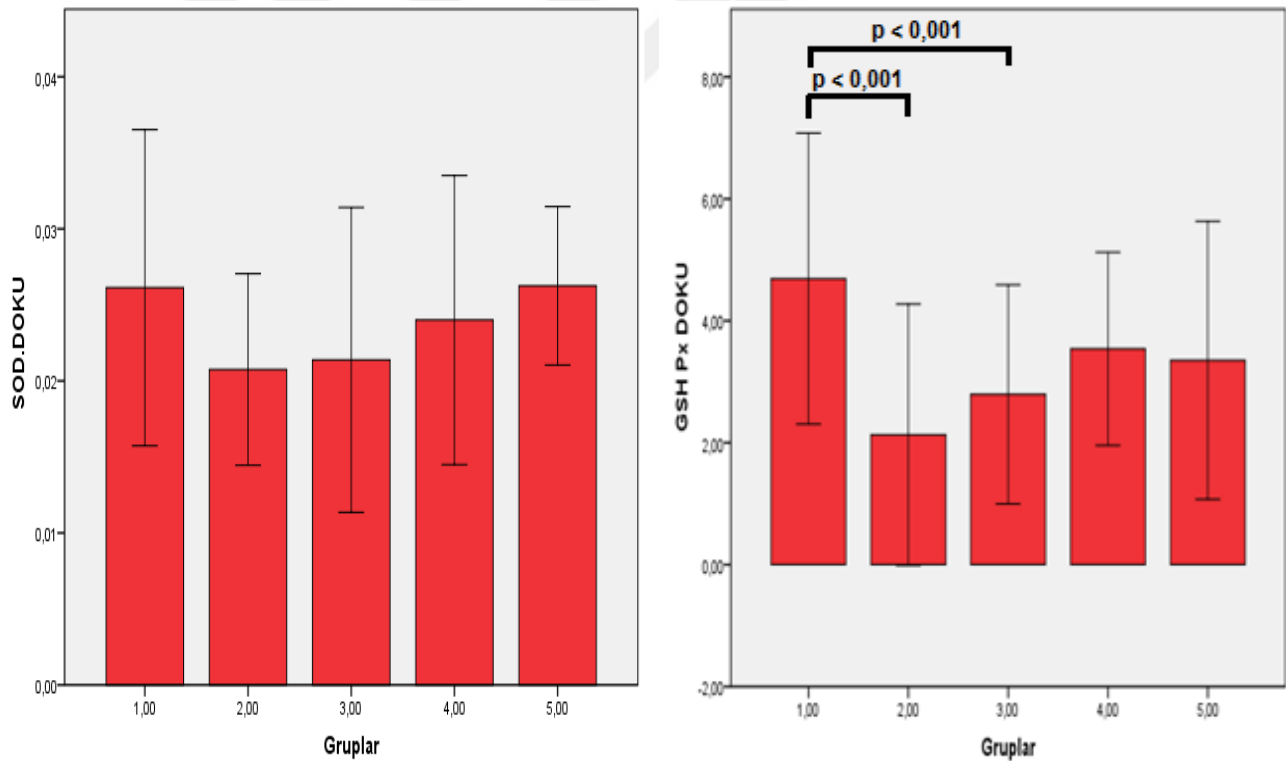
Grupların kilolarıyla total kolesterol seviyeleri arasında orta derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır (r= 0,557 **p < 0,001**) (**Tablo-5**).

Grupların kilolarıyla TG seviyeleri arasında orta derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r=0,557$, $p=0,001$) (Tablo-5).

4.2.3 Karaciğer Dokusunda Oksidatif Stres Parametreleri:

Çalışılan parametrelerin ort \pm SD değerleri Tablo 6’de gösterilmiştir.

SOD, CAT, GSH-Px aktiviteleri MDA, PC ve NO düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında SOD, GSH-Px aktiviteleri, MDA, NO düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (Sırasıyla $p=0,035$; $p<0,001$; $p<0,001$ ve $p=0,003$). CAT aktiviteleri ve PC düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı biçimde farklıdır (Sırasıyla $p=0,588$ ve $p = 0,252$). Bu parametrelerin grup içi karşılaştırmaları ise aşağıdaki gibidir.



Şekil-19: Gruplarda doku SOD ve GSH-Px aktivitesinin grafiksel gösterimi

Tablo 6: Karaciğer dokusunda oksidatif stres parametreleri

Grup	SOD		CAT		GSH-Px		MDA		PC		NO μ mol/g	
	U / mg	protein	k/g protein	Ort \pm SD	U/g protein	Ort \pm SD	nmol/g yaş	doku	nmol/mg	protein	Ort \pm SD	Ort \pm SD
Gruplar arası	F	r	F	r	F	r	F	r	F	r	F	r
Grup 1 (n=8)	0,026 \pm 0,005		1,94 \pm 0,94		4,69 \pm 1,19		11,38 \pm 4,25		0,23 \pm 0,05		3,53 \pm 0,11	
Grup 2 (n=8)	0,0207 \pm 0,003		1,31 \pm 0,95		2,13 \pm 1,0		13,55 \pm 2,75		0,26 \pm 0,07		3,69 \pm 0,10	
Grup 3 (n=8)	0,0214 \pm 0,005		1,41 \pm 0,98		2,79 \pm 0,89		16,11 \pm 3,69		0,28 \pm 0,07		3,81 \pm 0,08	
Grup 4 (n=8)	0,024 \pm 0,004		1,85 \pm 0,76		3,54 \pm 0,79		10,03 \pm 0,18		0,204 \pm 0,08		3,67 \pm 0,20	
Grup 5 (n=8)	0,0260 \pm 0,002		1,43 \pm 0,35		3,35 \pm 1,14		8,31 \pm 0,27		0,240 \pm ,08		3,76 \pm 0,09	
1 vs 2 p değeri	0,110		0,681		<0,001		0,656		0,948		0,133	
1 vs 3 p değeri	0,195		0,803		<0,001		0,041		0,607		0,002	
1 vs 5 p değeri	1,00		0,825		0,109		0,326		0,996		0,013	
2 vs 4 p değeri	0,557		0,787		0,068		0,196		0,539		0,996	
2 vs 5 p değeri	0,098		0,999		0,171		0,019		0,996		0,853	
3 vs 4 p değeri	0,735		0,887		0,597		0,004		0,184		0,236	
3 vs 5 p değeri	0,175		1,00		0,830		<0,001		0,821		0,943	
4 vs 5 p değeri	0,829		0,904		0,996		0,825		0,759		0,653	

Grupların karaciğer dokusunda SOD aktiviteleri incelendiğinde; Grup 3' ün (0,0214 \pm 0,005) SOD aktivitesi Grup 1'e (0,026 \pm 0,005) göre azalmıştır. Fakat anlamlı değildir (p=0,195). Aynı durumda Grup 4'ün (0,024 \pm 0,004) ve Grup 5'in (0,0260 \pm 0,002) SOD aktiviteleri Grup 3'e göre (0,0214 \pm 0,005) artmasına rağmen anlamlı değildir (Sırasıyla p= 0,735 ve p = 0,175). Grup 2'nin (0,0207 \pm 0,003) SOD

aktivitesi Grup 4 ($0,024\pm 0,004$) ve Grup 5'in ($0,0260\pm 0,002$) SOD aktiviteleriyle karşılaştırıldığında anlamlı değildir (Sırasıyla $p=0,557$; $p=0,098$) (**Şekil-19 ve Tablo-6**).

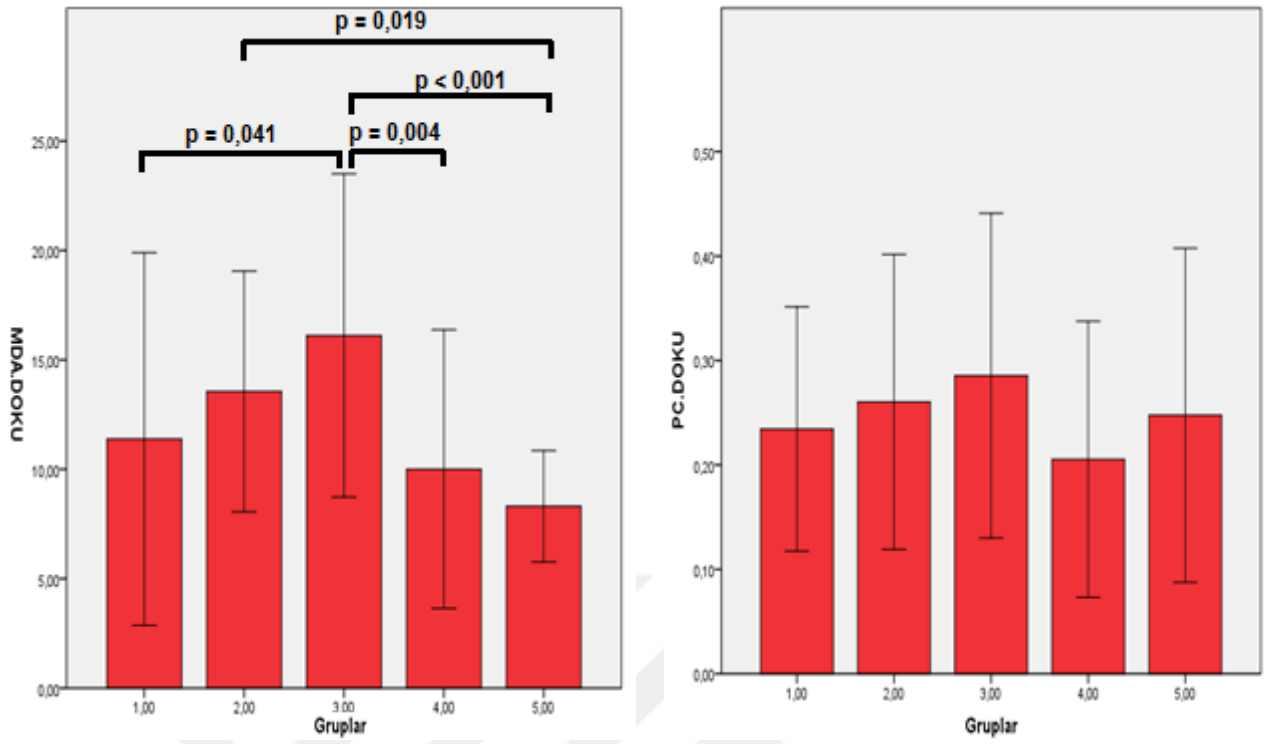
Grupların karaciğer dokusunda GSH-Px aktiviteleri incelendiğinde; HFCS ile beslenen grupların GSH-Px aktiviteleri Grup 1'e ($4,69\pm 1,19$) göre azalmıştır. Grup 3'ün ($2,79\pm 0,89$) azalışı anlamlıdır ($p<0,001$). Grup 4 ($3,54\pm 0,79$) ve Grup 5'in ($3,35\pm 1,14$) GSH-Px aktiviteleri Grup 3'e göre ($2,79\pm 0,89$) artmıştır ve Grup 1'e yaklaşmıştır. Fakat bu anlamlı değildir. Sırasıyla ($p=0,59$ ve $p=0,830$). Grup 2'nin ($2,13\pm 1,0$) GSH-Px aktivitesi Grup 4 ($3,54\pm 0,79$) ve Grup 5'in ($3,35\pm 1,14$) GSH-Px aktiviteleriyle karşılaştırıldığında anlamlı değildir (Sırasıyla $p=0,068$ $p=0,171$) (**Şekil-19 ve Tablo-6**).

Grupların karaciğer dokusunda CAT aktiviteleri incelendiğinde; Grup 3'ün ($1,41\pm 0,98$) CAT aktivitesi Grup 1'e ($1,94\pm 0,94$) göre azalmıştır. Fakat bu azalış anlamlı değildir. ($p=0,803$) Grup 4 ($1,85\pm 0,76$) ve Grup 5'in ($1,43\pm 0,35$) CAT aktivitesi Grup 3 ($1,41\pm 0,98$) göre artmıştır. Fakat bu artış anlamlı değildir. Grup 2'nin ($2,13\pm 1,0$) CAT aktivitesi Grup 4 ($1,31\pm 0,95$) ve Grup 5'in ($1,43\pm 0,35$) CAT aktiviteleriyle karşılaştırıldığında anlamlı değildir (Sırasıyla $p=0,787$; $p=0,999$) (**Tablo-6**).

Grupların karaciğer dokusunda MDA seviyeleri incelendiğinde; Grup 3'ün ($16,11\pm 3,69$) MDA seviyesi Grup 1'e ($11,38\pm 4,25$) göre anlamlı şekilde artmıştır ($p=0,041$). Grup 4 ($10,03\pm 0,18$) ve Grup 5'in ($8,31\pm 0,27$) MDA seviyeleriyle Grup 3'e ($16,11\pm 3,69$) göre anlamlı şekilde azalmıştır (Sırasıyla $p=0,004$ ve $<0,001$). Grup 2'nin ($13,55\pm 2,75$) MDA seviyesi ile Grup 4'ün ($10,03\pm 0,18$) MDA seviyesi karşılaştırıldığında anlamlı değildir ($p=0,196$). Grup 2 ($13,55\pm 2,75$) MDA seviyesi Grup 5'in ($8,31\pm 0,27$) MDA seviyesiyle karşılaştırıldığında anlamlıdır ($p=0,019$). (**Şekil-20 ve Tablo-6**).

Grupların karaciğer dokusunda PC düzeyleri incelendiğinde; Grup 2 ($0,26\pm 0,07$) ve Grup 3'ün ($0,28\pm 0,07$) PC düzeyleri Grup 1'e ($0,23\pm 0,05$) göre artmıştır. Fakat bu artış anlamlı değildir Sırasıyla ($p=0,948$, $p=0,607$). (**Şekil-20 ve Tablo-6**).

Grupların karaciğer dokusunda NO seviyeleri incelendiğinde; Grup 3'ün ($3,81\pm 0,08$) NO seviyesi Grup 1'e ($3,53\pm 0,11$) göre anlamlı şekilde artmıştır ($p=0,002$) (**Tablo-6**).



Şekil-20: Grumlarda doku MDA ve PC düzeyinin grafiksel gösterimi

4.2.4 Grupların Doku ve Serum Glutasyon Düzeyi: Doku ve serumda çalışılan GSH düzeyinin ort±SD değerleri Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7: Grupların doku ve serum GSH düzeyi

Grup	GSH-Doku nmol/mgprotein Ort ± SD		GSH-Serum nmol/ml Ort ± SD	
	F	r	F	r
Gruplar arası karşılaştırma	3,92	0,010	3,878	0,012
Grup-1	1,07± 0,23		172,9±19,1	
Grup-2	0,89 ±0,16		158,6±4,1	
Grup-3	0,69±0,10		152,2±6,5	
Grup-4	0,95±0,28		164,07±8,89	
Grup-5	0,81±0,19		158,2±8,15	
1 vs 2 p değeri	0,821		0,090	
1 vs 3 p değeri	0,007		0,04	
1 vs 5 p değeri	0,146		1,00	
2 vs 4 p değeri	1,00		1,00	
2 vs 5 p değeri	1,00		0,328	
3 vs 4 p değeri	0,173		1,00	
3 vs 5 p değeri	1,00		1,00	
4 vs 5 p değeri	1,00		1,00	

Grup 1: Kontrol, **Grup 2:** Sham, **Grup 3:** HFCS, **Grup 4:** L-karnitin, **Grup 5:** Trans-şalkon, **vs:** versus : -e karşı

Grupların doku ve serum örnekleri gruplar arası karşılaştırıldığında GSH düzeylerinde anlamlı değişiklik bulunmuştur. Grup içi karşılaştırmalarda ise hem dokuda hem de serumda HFCS verilen Grup-3’ün GSH düzeyi Grup 1’e göre anlamlı şekilde azalmıştır. Sırasıyla (**p=0,007**, **p =0,04**). Buna ek olarak hem doku hem serum örneklerinde; Grup-4 ve Grup-5’in Grup-3’e göre GSH düzeylerinde artış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır.

4.2.5. Grupların Karaciğer Dokusunda GRP-78, XBP-1, SREBP-1c Düzeyleri ve FAS Aktiviteleri

ELISA yöntemi ile ng/ml olarak belirlenmiştir ve ort±SD değerleri Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8: Doku GRP-78, XBP-1, SREBP-1c düzeyleri ve FAS aktiviteleri

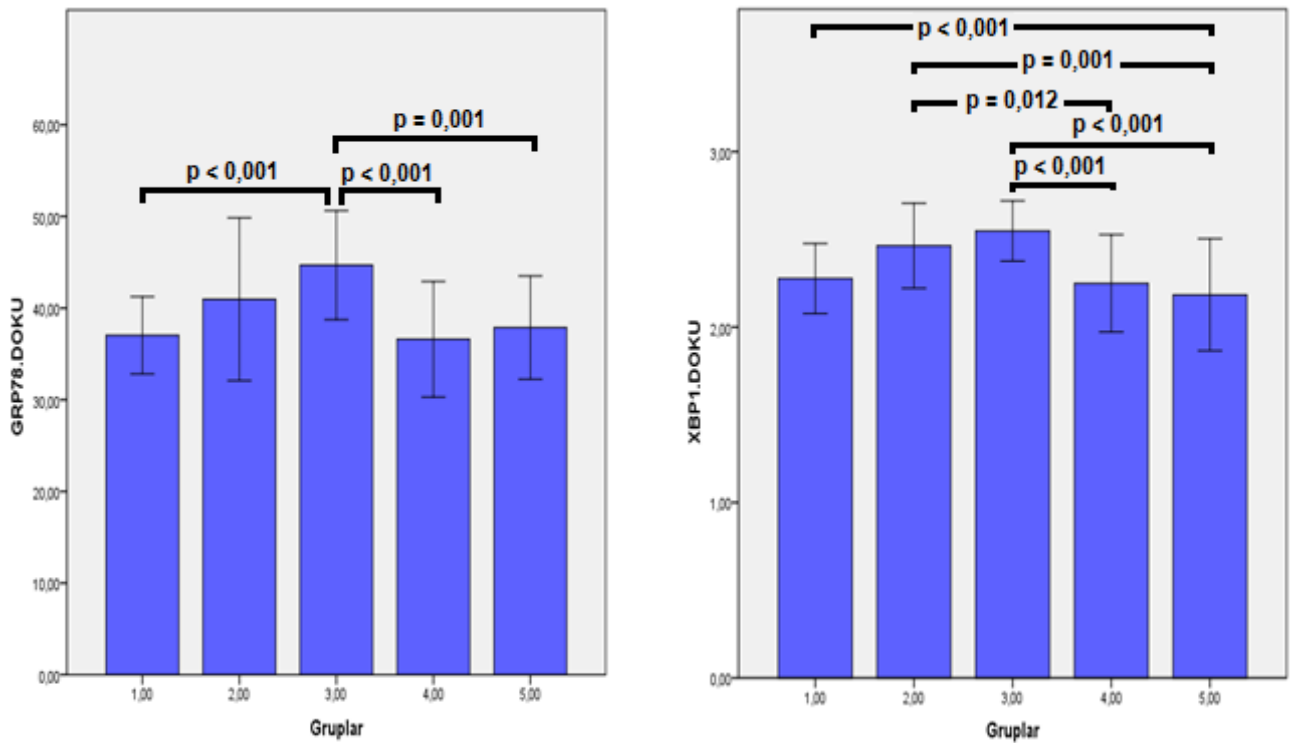
Grup	GRP-78		XBP-1		FAS		SREBP-1c	
	ng/ml		ng/ml		ng/ml		ng/ml	
	Ort ± SD		Ort ± SD		Ort ± SD		Ort ± SD	
Gruplar arası karşılaştırma	F	r	F	r	F	r	F	r
Grup 1 (n=8)	9,06	<0,001	12,35	<0,001	3,40	0,019	10,49	<0,001
Grup 2 (n=8)	37,02±2,1		2,27±0,09		17,44±1,09		1,81±0,20	
Grup 3 (n=8)	40,9±4,4		2,46±0,12		19,1±1,73		2,17±0,46	
Grup 4 (n=8)	44,6±2,97		2,54±0,085		20,05±1,21		2,44±0,3	
Grup 5 (n=8)	36,6±3,15		2,24±0,138		19,09±1,42		1,71±0,14	
1 vs 2 p değeri	37,8±2,81		2,18±0,159		18,99±1,62		1,67±0,21	
1 vs 3 p değeri	0,122		0,036		0,153		0,12	
1 vs 5 p değeri	<0,001		0,001		0,008		0,001	
2 vs 4 p değeri	0,983		<0,001		1,34		0,858	
2 vs 5 p değeri	0,069		0,012		1,00		0,025	
3 vs 4 p değeri	0,319		0,001		1,00		0,012	
3 vs 5 p değeri	<0,001		<0,001		0,681		<0,001	
4 vs 5 p değeri	0,001		<0,001		0,768		<0,001	
	0,930		0,828		1,00		0,098	

Grup 1: Kontrol, Grup 2: Sham, Grup 3: HFCS, Grup 4: L-karnitin, Grup 5: Trans-şalkon vs: versus : -e karşı

GRP-78, XBP-1, SREBP-1c düzeyleri ve FAS aktivitesi gruplar arası karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıdır (Sırasıyla $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p = 0,019$ $p < 0,001$) (Tablo-8). Bu parametrelerin grup içi karşılaştırmaları aşağıdaki gibidir.

Grupların karaciğer dokusunda GRP-78 seviyeleri incelendiğinde; Grup 3'ün ($44,6 \pm 2,97$) GRP-78 seviyesi Grup 1'e ($37,02 \pm 2,1$) göre anlamlı şekilde artmıştır ($p < 0,001$). Grup 4 ($36,6 \pm 3,15$) ve Grup 5'in ($37,8 \pm 2,81$) GRP-78 seviyeleri Grup 3'e ($44,6 \pm 2,97$) göre anlamlı şekilde azalmıştır (Sırasıyla $p < 0,001$ ve $p = 0,001$). Grup-2'nin ($40,9 \pm 4,4$) GRP-78 seviyesi ile Grup-4 ($36,6 \pm 3,15$) ve Grup-5'in ($37,8 \pm 2,81$) GRP-78 seviyelerindeki değişim anlamlı değildir (Şekil-21 ve Tablo-8).

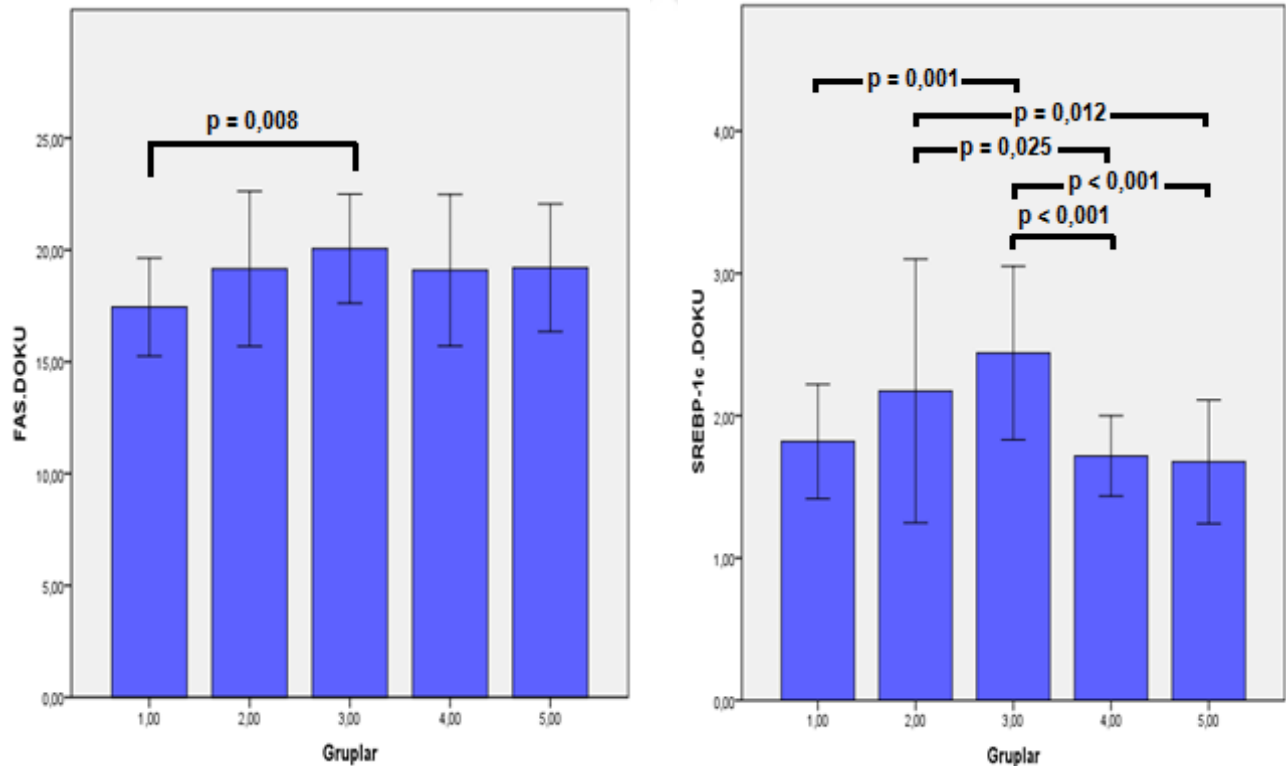
Grupların karaciğer dokusunda XBP-1 seviyeleri incelendiğinde; Grup 3'ün ($2,54 \pm 0,085$) XBP-1 seviyesi Grup 1'e ($2,27 \pm 0,09$) göre anlamlı şekilde artmıştır ($p = 0,001$). Grup 4 ($2,24 \pm 0,138$) ve Grup 5'in ($2,18 \pm 0,159$) XBP-1 seviyeleri Grup 3'e ($2,54 \pm 0,085$) göre anlamlı şekilde azalmıştır (Sırasıyla $p < 0,001$, $p < 0,001$). Grup-2'nin ($2,46 \pm 0,12$) XBP-1 seviyesi ile Grup-4 ($2,24 \pm 0,138$) ve Grup-5'in ($2,18 \pm 0,159$) XBP-1 seviyelerindeki değişim anlamlıdır (Sırasıyla $p = 0,012$; $p = 0,001$) (Şekil-21 ve Tablo-8).



Şekil-21: Grupların doku GRP-78 ve XBP-1 düzeylerinin grafiksel gösterimi

Grupların karaciğer dokusunda FAS aktivitesi incelendiğinde; Grup 3'ün (20,05±1,21) FAS aktivitesi Grup 1'e (17,44±1,09) göre anlamlı şekilde artmıştır (**p= 0,008**). Grup 4 (19,09±1,42) ve Grup 5'in (18,99± 1,62) FAS aktivitesi Grup 3'e göre (20,05±1,21) azalmıştır. Fakat anlamlı değildir. Sırasıyla (p= 0,681; p = 0,768). Grup-2'nin (19,1±1,73) FAS aktivitesi ile Grup-4 (19,09±1,42) ve Grup 5'in (18,99±1,62) FAS aktivitelerindeki değişim anlamlı değildir (Sırasıyla p= 1,00, p= 1,00) (**Şekil-22 ve Tablo-8**).

Grupların karaciğer dokusunda SREB-1c seviyeleri incelendiğinde; Grup 3'ün (2,44±0,3) SREB-1c seviyesi Grup 1'e (1,81± 0,20) göre anlamlı şekilde artmıştır (**p= 0,001**). Grup 4 (1,71±0,14) ve Grup 5'in (1,67±0,21) SREB-1c seviyeleri Grup 3'e (2,44±0,3) göre anlamlı şekilde azalmıştır (Sırasıyla **p<0,001**; **p< 0,001**). Grup 2'nin (2,17±0,46) SREB-1c seviyesi ile Grup 4 (1,71±0,14) ve Grup 5'in (1,67±0,21) SREB-1c seviyeleri karşılaştırıldığında anlamlıdır. (Sırasıyla **p= 0,025** **p= 0,012**) (**Şekil-22 ve Tablo-8**).



Şekil-22: Gruplarda doku FAS aktivitesinin ve SREB-1c düzeylerinin grafiksel gösterimi

4.2.6 Kilo ile LDL, HDL, Total Kolesterol, TG ile Doku GRP-78, XBP-1, SREBP-1c Düzeyleri, FAS Aktiviteleri Arasındaki Korelasyon Analizi:

Grupların kilolarıyla GRP-78 düzeyleri arasında zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r= 0,464$, $p= 0,003$).

Grupların kilolarıyla XBP-1 düzeyleri arasında zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r= 0,433$, $p= 0,005$).

Grupların kilolarıyla FAS aktiviteleri arasında çok zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,189$, $p= 0,243$).

Grupların kilolarıyla SREBP-1c düzeyleri arasında orta derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r= 0,424$, $p= 0,006$).

Grupların LDL seviyeleri ile GRP-78 düzeyleri arasında orta derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r= 0,464$, $p= 0,003$).

Grupların LDL seviyeleriyle XBP-1 düzeyleri arasında çok zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,10$ $p= 0,583$).

Grupların LDL seviyeleriyle FAS aktiviteleri arasında çok zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,193$ $p= 0,223$).

Grupların LDL seviyeleriyle SREBP-1c düzeyleri arasında zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,235$ $p= 0,145$).

Grupların HDL seviyeleri ile GRP-78 düzeyleri arasında çok zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,108$ $p= 0,508$).

Grupların HDL seviyeleri ile XBP-1 düzeyleri arasında çok zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,11$ $p= 0,498$).

Grupların HDL seviyeleri ile FAS aktiviteleri arasında çok zayıf derecede negatif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= -0,81$ $p= 0,620$).

Grupların HDL seviyeleri ile SREBP-1c düzeyleri arasında çok zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,103$ $p= 0,529$).

Grupların total kolesterol seviyeleriyle GRP-78 düzeyleri arasında zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r= 0,400$ $p= 0,012$).

Grupların total kolesterol seviyeleriyle XBP-1 düzeyleri arasında zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,290$ $p= 0,073$).

Grupların total kolesterol seviyeleriyle FAS aktiviteleri arasında çok zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,262$, $p= 0,107$).

Grupların total kolesterol seviyeleriyle SREBP-1c düzeyleri arasında çok zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r= 0,334$ $p= 0,037$).

Grupların TG seviyeleriyle GRP-78 düzeyleri arasında zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,310$ $p= 0,052$).

Grupların TG seviyeleriyle XBP-1 düzeyleri arasında çok zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,153$ $p= 0,347$).

Grupların TG seviyeleriyle FAS aktiviteleri arasında çok zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,058$ $p= 0,078$).

Grupların TG seviyeleriyle SREBP-1c aktiviteleri arasında zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r= 0,224$ $p= 0,164$).

Kilo, LDL, HDL, total kolesterol, TG ve doku GRP-78, XBP-1, FAS, SREBP-1c arasındaki korelasyon analizi Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo-9: Kilo ile Serum LDL, HDL, total kolesterol, TG ile doku GRP-78, XBP-1, SREBP-1c düzeyleri, FAS aktiviteleri arasındaki korelasyon analizi

	Kilo		LDL		HDL		Total Kolesterol		TG	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
GRP-78	0,464	0,003	0,283	0,077	0,108	0,508	0,400	0,012	0,310	0,052
XBP-1	0,433	0,005	0,10	0,503	0,11	0,498	0,290	0,073	0,153	0,347
FAS	0,189	0,243	0,193	0,223	-0,81	0,620	0,262	0,107	0,058	0,073
SREBP-1c	0,424	0,006	0,235	0,145	0,103	0,529	0,334	0,037	0,224	0,164

4.2.7. Doku SOD, CAT, GSH-Px Aktiviteleri, MDA, PC, GRP-78, XBP-1, SREBP-1c Düzeyleri, FAS Aktiviteleri ve Kilo Arasındaki Korelasyon Analizi

Kilo ile doku SOD, CAT, GSH-Px, FAS Aktiviteleri MDA, PC, GRP-78, XBP-1, SREBP-1c Düzeyleri Arasındaki Korelasyon Analizi Tablo-10'da gösterilmiştir.

Grupların SOD aktivitesiyle GRP-78 düzeyleri arasında zayıf derecede negatif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r= -0,374$ $p= 0,048$).

Grupların SOD aktivitesiyle XBP-1 düzeyleri arasında orta derecede negatif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r= -0,413$ $p= 0,008$).

Grupların SOD aktivitesiyle FAS aktiviteleri arasında zayıf derecede negatif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r= -0,393$ $p= 0,012$).

Grupların SOD aktivitesiyle SREBP-1c düzeyleri arasında zayıf derecede negatif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r = -0,357$ $p = 0,024$).

Grupların SOD aktivitesiyle kilo bulguları arasında çok zayıf derecede negatif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r = -0,110$ $p = 0,501$).

Grupların MDA düzeyiyle GRP-78 düzeyleri arasında zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r = 0,438$ $p = 0,001$).

Grupların MDA düzeyiyle XBP-1 düzeyleri arasında orta derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r = 0,579$ $p = 0,001$).

Grupların MDA düzeyiyle FAS aktiviteleri arasında zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlı değildir ($r = 0,262$ $p = 0,103$).

Grupların MDA düzeyiyle SREBP-1c düzeyleri arasında orta derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r = 0,499$ $p = 0,001$).

Grupların MDA düzeyiyle kilo bulguları arasında zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır. ($r = 0,318$ $p = 0,046$).

Grupların PC düzeyiyle GRP-78 düzeyleri arasında zayıf derecede pozitif korelasyon vardır ve anlamlıdır ($r = 0,345$ $p = 0,029$).

Tablo-10: Kilo ile doku SOD, CAT, GSH-Px, FAS aktiviteleri, doku MDA, PC, GRP-78, XBP-1, SREBP-1c düzeyleri arasındaki korelasyon analizi

	SOD		CAT		GSH-Px		MDA		PC	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
GRP-78	-0,374	0,048	0,051	0,754	-0,25	0,118	0,438	0,001	0,345	0,029
XBP-1	-0,413	0,008	-0,081	0,620	-0,27	0,092	0,579	0,001	0,23	0,144
FAS	-0,393	0,012	0,037	0,8	-0,22	0,161	0,262	0,103	0,08	0,612
SREBP-1c	-0,357	0,024	0,017	0,9	-0,23	0,150	0,499	0,001	0,284	0,075
Kilo	-0,110	0,501	-0,132	0,418	-0,19	0,22	0,318	0,046	0,227	0,160

4.2.8 Serum SOD, GSH-Px Aktiviteleri ve MDA, PC, NO Düzeyleri

Serum SOD, GSH-Px aktiviteleri, MDA, PC, NO düzeyleri Tablo-11 'de gösterilmiştir.

SOD, GSH-Px, MDA, PC ve NO parametrelerinde hem gruplar arası hemde grup içi karşılaştırmalarda anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Fakat Grup 3'ün MDA, PC,

NO düzeyleri diğer gruplara göre yüksektir. Grup 4 ve Grup 5'in SOD, GSH-Px aktiviteleri içme suyu ile beslenen Grup-1'e yaklaşmıştır. Anlamli olmasa da karaciğer doku verileriyle uyusmaktadır.

Tablo 11: Serum SOD, GSH-Px aktiviteleri, MDA, PC, NO düzeyleri

Grup	SOD		GSH-Px		MDA		PC		NO	
	Ort ± SD		Ort ± SD		Ort ± SD		Ort ± SD		Ort ± SD	
Gruplar arası karşılaştırma	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
Grup 1 (n=8)	11,05±1,05		1015,2± 312,4		0,25±0,05		361,6±69,1		194,8±10,1	
Grup 2 (n=8)	10,95±2,24		1012,2±307,2		0,31±0,11		392,7±112,1		193,0 ± 6,5	
Grup 3 (n=8)	10,46±1,65		710,9±301,9		0,36±0,10		470,4±152,1		196,1±9,54	
Grup 4 (n=8)	10,24±2,01		1027,2± 145,7		0,27±0,13		342,6±63,8		193,5±4,81	
Grup 5 (n=8)	11,36±2,06		905,4±185,04		0,25±0,06		365,5±72,00		191,08±5,35	

Grup1: Kontrol, **Grup 2:** Sham, **Grup 3:** HFCS, **Grup4:** L-karnitin, **Grup 5:** Trans-şalkon

5.TARTIŞMA

Son yıllarda sükröz, fruktoz ve yüksek fruktoz mısır şurubunun (HFCS) endokrin ve potansiyel sağlık etkileri ile ilgili ciddi bilimsel tartışmalar hararetli şekilde devam etmektedir. Geriye dönük olarak, bu şekerlerin üçünde de muazzam bir bilimsel literatür mevcut olmasına rağmen, son günlerde yayınlanan makaleler özellikle HFCS'nin birçok ülkede yaşanan obezite sorununda benzersiz bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir [135].

HFCS tüketimi, Birleşik Devletlerde ortalama toplam günlük enerji alımının% 15'ine kadar çıkmakta olup kilo alımı ve obezite ile ilişkilidir. Diyet bileşenleri, metabolik sendrom, obezite ve tip 2 diyabetin gelişmesinde ve insülin direncinde önemli bir rol oynar. İçeceklerde mevcut olan HFCS'nin tüketimi kilo alımında yükselişe ve obeziteye neden olduğu gösterilmiştir [26, 27]. Batılıların diyetinde de, toplam kalorisinin yaklaşık % 10'u fruktozdan sağlanır (yaklaşık olarak 55 gr/gün) [1].

Fruktoz enterositler tarafından emildikten sonra, karaciğere doğrudan portal dolaşım ile taşınır. Karaciğer, kandaki fruktozun temel hedef organıdır. Aktif hepatik enzim sistemi hızla fruktozu metabolize eder. Fruktoz hepatik metabolizmada trioz fosforlara dönüşür ve glikoz metabolizmasında önemli rol oynayan bir peptid hormon olan insülinin etkilenmez. Fruktoz, karaciğerde fruktokinaz enzimi ile fosforillenerek fruktoz-1 fosfata dönüştürülür. Bu molekülden ise gliseraldehit, dihidroksiaseton fosfat ve gliseraldehit-3-fosfat üretilir. Böylece fruktozdan enzimatik basamaklarla üç karbonlu (trioz) ara ürünler oluşur. Besinlerle alınan glukoz hem karaciğer glikojen depolarını hem de kan şekerini arttırdığı için, fruktoz metabolizması genellikle de novo TG sentezine yönlendirilir. Karaciğer tarafından TG, çok küçük dansiteli lipoprotein (VLDL) olarak kana verilir. Kanda bulunduğu sürede VLDL lipoprotein lipaz tarafından non-esterifiye yağ asitlerine ve monoasil gliserole hidrolize edilir. Adipoz doku bu ara ürünleri alarak yeniden TG sentezler ve depo eder. Bu nedenle yüksek fruktoz tüketiminin kan yağ asit düzeyini yükselttiği ve insülinin bağımsız olarak yağ depolanmasına sebep olarak obeziteye yol açtığı belirtilmektedir [136, 137].

Karaciğerde depolanan TG miktarını dengeleyen faktörlerden biri mitokondride gerçekleşen yağ asit β-oksidasyonudur. Yağ asit oksidasyonu; mitokondri, peroksizom ya da mikrozomlarda gerçekleşen katabolik bir yoldur. Kısa, orta ve uzun zincirli yağ

asitleri genellikle mitokondride okside olurken, çok uzun zincirli yağ asitlerinin peroksizomlarda okside olduğu bilinmektedir [138]. Fruktozun de novo lipogenezini arttırıcı etkisinin yanı sıra, uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriyal β -oksidasyonu üzerine inhibe edici etki göstererek de intrahepatik lipid miktarını arttırabildiği bilinmektedir [139].

L-karnitin, lipid metabolizmasında önemli bir fizyolojik rol oynamaktadır. Karnitin hücrede enerji üretimi için beta-oksidasyona uğrayacak olan uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri matriksine taşınmasında önemli rol oynayarak, kilolarının azaltılmasına yardımcı olur. L-karnitin, bir antioksidandır ve lipid oksidasyonunun nihai ürünlerinin birikimini önler [111].

Çeşitli farklı şalkon iskeletlerinin, anjiyotensin dönüştürücü enzim, kalsiyum / potasyum kanalları, TG sentezi, diaçilgliserol açıltransferaz, kolesteril ester gibi çeşitli kardiyovasküler hedefleri inhibe ettiği bildirilmiştir. Trans-şalkon yapısı, flavonoidler ve şalkon bileşiklerinin öncülüğünü yapmaktadır ve antioksidan, sitotoksik, antikanser, antimikrobiyal, antiprotozoal, antiülser, antihistaminik ve anti-inflamatuar gibi bir dizi terapötik özelliğe sahiptir [121, 122]. Ayrıca Trans-şalkon yağ asidi sentaz ve α -amilazın inhibitörüdür [122, 123].

HFCS ile beslenen grupların kiloları kontrol gruba göre anlamlı şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Jurgens ve ark. Farelerde, 73 gün, % 15'lik fruktoz, % 10'luk sukroz ve sentetik tatlandırıcıyla hazırlanmış üç farklı içecek vücut ağırlığının nasıl etkilendiğini araştırmışlardır. Fruktoz grubu farelerinin vücut ağırlığı diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede arttığını rapor etmişlerdir [140]. Light ve ark. yaptıkları çalışmada sıçanlara 8 hafta boyunca % 13' lük glukoz, sukroz, fruktoz ve HFCS vermişlerdir. Çalışma sonunda, sukroz verilen sıçanların vücut ağırlığı kontrol grubunun sıçanlarının vücut ağırlığına göre anlamlı artmazken, HFCS grubu sıçanlarının vücut ağırlığında anlamlı bir artış olduğunu bildirmişlerdir [141]. Lee ve ark. yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda, L-karnitin takviyesinin adipoz doku birikimini ve vücut ağırlığını önemli ölçüde azalttığı rapor etmişlerdir [142]. 12 haftalık HFCS ile beslenme HFCS grubu (Grup-3), sham grubu (Grup-2), L-karnitin grubunda (Grup-4) anlamlı kilo artışına neden olmuştur. Çalışmamızda trans-şalkon grubunun % kilo artışı kontrol grubu gibi anlamlı bulunamıştır. Bu veri trans-şalkon molekülünün kilo aldırmadığı yorumunu akla getirmiştir. Fakat Jalalvand ve ark. yaptıkları çalışmada

8 hafta boyunca yüksek yağlı diyetle beslenen farelere trans-şalkon vermiş ve çalışma sonunda trans-şalkon verilen grupta anlamlı kilo kaybı olmadığını rapor etmişlerdir [143]. Bu rapor çalışmamızla çelişmektedir, çalışmamızın bulgularına göre trans-şalkonun'un HFCS ile beslenmede vücut ağırlığı üzerine etkisi olduğu kanaati oluşmuştur.

Jurgens ve ark. içeriğinde % 10 sukroz ve %15 fruktoz oranında hazırlanmış su verilen farelerin yem tüketiminde azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Jurgens ve ark. farelerin gerekli enerjiyi içme suyunda bulunan yüksek karbonhidrattan sağladığı, bu yüzden yem tüketiminde azalma olduğunu şeklinde yorumlanmıştır [140]. Çalışmamızda HFCS ile beslenen grupların su tüketimi, kontrol grubuna göre ciddi oranda artmıştır. Fakat HFCS ile beslenen grupların yem tüketimi kontrol grubuna göre azalmıştır. Bu bulgular ışığında HFCS ile beslenen grupların yem tüketiminin azalmasının, artan HFCS tüketiminden kaynaklandığı ve sıçanların enerji ihtiyacını HFCS'den karşıladığı kanatındeyiz.

Bocarsly ve ark. 7 ay süren farklı konsantrasyonlarda HFCS uygulanan sıçanlarda HFCS'nin kısa (8 hafta) ve uzun vadeli (6-7 ay) etkilerini, vücut ağırlığını ve TG düzeylerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda kilo alımı ve TG'in aşırı artışını gözlemlemişlerdir. Dolayısıyla aşırı HFCS tüketiminin obeziteye neden olabileceği ve hayvanların HFCS ile beslendiğinde kalori ihtiyacını HFCS'den karşıladığı sonucuna varmışlardır [144]. Zhang ve ark. dişi CD-1 farelerine 8 hafta boyunca% 30 fruktoz çözeltisi vermiş, HFCS ile beslenen grupların yem tüketimi miktarında neredeyse yarı yarı azalma gözlemlemişlerdir. Çalışmalarında HFCS ile beslenen farelerin serumlarında LDL, total kolesterol seviyelerinde anlamlı şekilde artış saptamışlardır [145]. Jalalvand ve ark. yaptıkları çalışmada 8 hafta boyunca yüksek yağlı diyetle beslenen farelere trans-şalkon vermiş ve çalışma sonunda trans-şalkon verilen grubun TG, total kolesterol seviyelerinin azaldığı, HDL seviyesinin arttırğını bulmuşlardır [143]. Rajasekar ve ark.zengin fruktozlu diyetle besledikleri sıçanlarda karnitin uygulamasının TG seviyesini anlamlı şekilde azalttığını rapor etmişlerdir [117]. Çalışmamızda 12 haftalık HFCS tüketiminin sıçanların serumlarında total kolesterol, LDL, TG seviyelerini önemli ölçüde değiştirmiştir. Aşırı HFCS ile beslenmenin lipit profilini olumsuz şekilde değiştirdiği kanaatindeyiz. Sham grubunun total kolesterol, LDL, TG seviyeleriyle L-karnitin ve trans-şalkon grubunun total kolesterol, LDL, TG

seviyeleri karşılaştırıldığında bir anlamlılık bulunamamıştır. Bundan dolayı L-karnitin ve trans-şalkon moleküllerinin lipit profillerini düzeltmede yeterli katkıda bulunmadığını düşündürmüştür. Bunun sebebi bu moleküllerin düşük dozda verilmiş olmasından kaynaklanmış olabileceğini akla getirmektedir.

Oksidatif stres; ROS ile antioksidan sistem arasındaki dengenin oksidan yönde bozulması ile gerçekleşir. Oksidatif stres doğal bir süreç olup bu stresi kontrol altında tutan özelleşmiş mekanizmalar mevcuttur. Bu mekanizmaların yetersizliği durumlarında oksidatif hasar oluşur [5]. ROS zararlı etkilerine en çok maruz kalan biyolojik moleküller lipitlerdir. Çoklu doymamış yağ asitlerinden oldukça zengin olan hücre membranı serbest radikallerle hızla reaksiyona girebilmektedir. Yağ asitlerinde bulunan doymamış bağlar serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyona sebep olurlar. Membran akışkanlığının, lipitlerin yan zincirlerinde bulunan doymamış yağ asitleri tarafından sağlanması sebebiyle bu yapılarda oluşan hasar membran akışkanlığını da olumsuz etkiler. Membran yapısındaki bu peroksidasyon hücre zar akışkanlığında değişikliğe, fonksiyonlarında bozulmaya, Kalsiyum, Sodyum ve Potasyum kanallarında disfonksiyona ve neticesinde bozulmuş sinyal iletimine sebep olabilir. Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitlerinin aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sonuçlanır [146]. ROS'un proteinlerle etkileşimleri arjinin, histidin, lizin ve prolin gibi çok sayıda aminoasit kalıntısında ve/veya peptid omurgasında hasara ve bunun sonucunda da protein karbonilleri ürünlerinin açığa çıkmasına sebep olur [147].

Obezite ile oksidatif stres arasında da ilişki varlığını gösteren birçok mekanizma ileri sürülmektedir. Lipit ve glukoz metabolizmasının değişimi, doku disfonksiyonu, hiperleptinemi ve yemek sonrası ROS oluşumu bunlardan bazılarıdır. Adipositlerde ROS oluşumu insüline yanıt olarak ortaya çıkar. Peroksizomal yağ asidi metabolizması, sitokrom P450 mikrozomal tepkimeleri, inflamasyon ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyon gibi oksidatif stresi ortaya çıkaran patofizyolojik koşullarda ROS üretimi artar. Yılmaz ve ark. obez çocuklar üzerinde yaptıkları çalışmada MDA seviyelerini kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulmuşlardır [148]. Obezitede oksidatif stres nedeniyle ROS üretiminin artmasının yanı sıra yüksek TG derişiminin de adenin nükleotitlerin translokasyonunu inhibe ederek süperoksitlerin oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca obez bireylerde SOD, GSH-Px, CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde azalma rapor edilmiştir [146]. Kalori kısıtlaması ve / veya egzersiz ile

kilo kaybı oksidatif stres durumunu azaltabilir gibi görüşler mevcuttur. Ya da oksidatif stresin aşırı artması, anti-oksidan mekanizmaların yetersiz üretimi ile birlikte hücrel yapılar zarar verir ve bu da obezite sonucu oluşan komplikasyonların gelişimine yol açar [149, 150].

Obezitenin dışında, HFCS ile beslenmenin fruktoz metabolizmasının yükünün bir sonucu olarak oksidatif strese neden olduğu düşünülmektedir [151, 152]. Literatüre baktığımızda Saygın ve ark 10 hafta boyunca % 30'luk HFCS ile beslenmiş sıçanlarda kardiyovasküler sistem üzerine etkilerini araştırmışlardır. Saygın ve ark HFCS ile beslenen grubun kardiyak dokuda MDA düzeyinin arttığını ve CAT aktivitesinin azaldığını gözlemlemişlerdir ve HFCS'nin oksidatif stresi arttırdığı sonucuna varmışlardır. Farklı bir çalışmada Reddy ve ark. 60 gün boyunca yüksek fruktozla besledikleri sıçanların anti hiper-lipidemik, antioksidan özelliği olan *T.cordifolia* bitkisinin insülin direnci üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmada yüksek fruktozla beslenen grupların kilolarında ve su tüketimlerinde normal beslenen gruplara göre artış gözlemlemişlerdir. Yüksek fruktozla beslenen grupların karaciğer dokusunda oksidatif stres parametrelerinden MDA ve PC düzeyinin arttığını, SOD, GSH-Px, CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinin ise azaldığını gözlemlemişlerdir. Onlar yüksek fruktozla beslenmenin oksidatif stresi arttırdığı sonucuna varmışlardır [152]. Hussein ve ark. Yüksek Fruktozlu diyetle besledikleri sıçanlarda L-karnitin uygulamasının MDA düzeyini anlamlı şekilde azalttığını rapor etmişlerdir [153]. Bizim çalışmamızda ise HFSC grubunun hepatik MDA düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır. Trans-şalkon grubunun hepatik MDA düzeyi sham grubunun hepatik MDA düzeyine göre anlamlı azalma göstermiştir. Ancak bu durum L-karnitin grubunda gözlenmemiştir. MDA düzeyinin artışının HFCS ile beslenmenin sonucu mu yoksa kilo artışının sonucu mu olduğu tartışılabilir. MDA düzeyindeki artışın nedeninin kilo artışı olabileceğini düşünüyoruz. Çalışmamızda kilo ile hepatik MDA düzeyi arasında anlamlı derecede pozitif korelasyon bulunmuştur. Kilo artışının ve hepatik MDA düzeyinin en gruplar sham grubu ve HFCS grubudur. Şekil-17' de gösterildiği L-karnitin grubunun çalışma başında ve sonunda % kilo değişimi % 16,30 iken, trans-şalkon grubunun % kilo değişimi % 7,94'tür. L-karnitin grubundaki kilo artışı trans-şalkon grubuna göre daha yüksek olduğundan L-karnitin grubunun hepatik MDA düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Bu veriler HFCS'ye bağlı olarak kilo artışının hepatik MDA düzeyini

arttırdığını desteklemektedir. Oksidatif stres LDL'yi okside ederek aterosklerozu ilerletmektedir. LDL'nin oksidasyonu sonucunda endotel hücre toksisitesi, endotele lökosit adezyonu ve subendotel boşluğa lökositlerin migrasyonu oluşmaktadır. Tüm bu olaylar endotel fonksiyon kaybı sürecinde yer almaktadır. Bu nedenle ROS oluşumunun vasküler homeostaziste ve aterosklerozda çok sayıda etkileri olduğu düşünülmektedir [154, 155]. HFCS grubunun kilo bulguları ve hepatik MDA düzeyleri, LDL düzeylerinin, kontrol grubunun kilo bulguları ve hepatik MDA düzeyleri, LDL düzeylerine göre anlamlı artışı, HFCS'nin kilo artışına bağlı olarak vasküler homeostaziste ve aterosklerozda etkisi olabileceğini akla getirmektedir. Trans-şalkon kilo azaltıcı özelliğiyle artan lipid peroksidasyon ürünü ve oksidatif stres biyobelirteci MDA düzeyini azaltmada etkili olabileceği kanaatindeyiz.

GSH-Px enzimi H_2O_2 'i ve lipit hidroperoksitlerinin bozunumunu (lipit peroksidasyonunda zincir kırıcı etki) katalizler. GSH-Px enzimi reaksiyon esnasında redükte GSH'u elektron alıcısı olarak kullanır [156]. GSH, birincil olarak ROS'a karşı koruyucudur. ROS tarafından üretilen ürünlerin detoksifikasyonunu sağlar. Bu amaçla serbest radikalleri süpürür ve H_2O_2 'yi azaltır. Hücrelerde oksidatif stresin etkisiyle oluşan H_2O_2 , GSH-Px ve GSH'ın etkisiyle suya yıkılır [157]. Yapılan çalışmalarda fruktozla zenginleştirilmiş diyetle beslenen sıçanların GSH düzeyleri ve GSH-Px aktiviteleri kontrol grubuna nazaran daha düşük bulunmuştur [151, 158]. Çalışmamızda HFCS grubunun hepatik GSH düzeyi ve hepatik GSH-Px aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır. GSH düzeyi ve GSH-Px aktivitesi antioksidan savunma sisteminde önem arzeder [159]. L-karnitin ve trans-şalkon grubunun hepatik GSH düzeyleri ve hepatik GSH-Px aktiviteleri sham grubunun hepatik GSH düzeyleri ve GSH-Px aktivitelerine göre anlamlı fark bulunamamıştır. Aşırı HFCS tüketimi antioksidanlar lehine çalışan GSH düzeyi ve GSH-Px aktivitesini azaltarak antioksidan kapasiteyi azaltmıştır.

Fruktoz, yağ asit sentezinde yer alan çeşitli genlerin ekspresyon düzeylerini arttırarak etki gösterebilmektedir. Diyet enerjisinin % 65-75'inin fruktozdan karşılandığı bazı deneysel çalışmaların sonuçları; FAS gibi lipogenik enzimlerin aktivitesi ile serum ve hepatik TG düzeylerinde artış olduğunu saptamıştır [160]. FAS, hücrelerdeki 16 karbonlu yağ asidi olan palmitat sentezinde multifonksiyonel bir enzimdir [68]. FAS ekspresyonu, memeli dokularında geniş bir dağılıma sahip değildir.

Sadece birkaç dokuda, çoğunlukla karaciğer ve yağ dokusu içinde eksprese edilir. FAS, karbohidrat-duyarlı eleman bağlayıcı proteinin ve SREBP-1c'nin bir hedef genidir [161, 162]. Yağ asitlerinin sentezinden FAS'ın sorumlu olduğu uzun zamandan beri bilinmesine rağmen, yakın zamana kadar FAS'ın metabolizma regülasyonu üzerindeki etkileri büyük oranda net değildi. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar FAS'ın beslenme davranışının kontrolünde rol oynadığı iştah ve vücut ağırlığının kontrolü için terapötik bir hedef olabileceğine dair görüşler mevcuttur [163]. Malonil CoA, FAS'ın substratı ve Asetil-CoA Karboksilaz (ACC)'ın ürünüdür. Bu nedenle FAS inhibisyonu ile birikir ve ACC 'nin tersine düzenlenmesine neden olan Malonil CoA, ACC inhibisyonu ile azalır. Malonil CoA'nın gıda alımının ve yağ asidi oksidasyonunun düzenlenmesinde bir sinyal molekülü olduğu gösterilmiştir [164]. FAS aktivitesinin vücut yağ seviyesi ile pozitif yönde korelasyon gösteren ve bunun da FAS ve obezite arasında yakın bir bağlantı olduğunu söyleyen çalışmalar mevcuttur. Loftus ve ark. FAS inhibitörü olan C75'i sentezlemişlerdir. Farelere C75'in intraperitoneal injeksiyonu ile C75'in yağ asitlerine ¹⁴C-asetat katılmada % 95'lik bir azalmaya ve FAS'nın ana substrat olan hepatik malonil-CoA düzeyinde % 110'luk bir artışa neden olduğu, kilo kaybının arttığı gözlenmiştir. Ek olarak, C75'in, yağ asidi β-oksidasyonunu hızlandırdığı sonucuna varılmıştır [163]. 2011 yılında Tian ve ark. birçok bitki türünde FAS inhibitörü olduğu iddia edilen etken maddelerin varlığını rapor etmişlerdir. Ursolic acid, EGCG, quercetin, kaempferol, morin, isorhamnetin gibi etken maddelerin FAS inhibitörü olduğunu bildirmişlerdir [165]. Kao ve ark. EGCG verdikleri farelerde, EGCG'nin kilo kaybına yol açtığını bildirmişler fakat çalışmalarında mekanizmayı net olarak ortaya koyamamışlardı. Sonraları Tian ve ark.yaptıkları çalışmada EGCG'ın kilo kaybına neden olmasının sebebini EGCG'nin bir FAS inhibitörü olduğundan kilo kaybına neden olduğunu açıklamışlardır [163, 165, 166].

[165]. Çalışmamızda HFCS grubunun hepatik FAS aktivitesi Kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır. Çalışmamızda aşırı HFCS tüketimi lipogenik enzim olan hepatik FAS aktivitesini artırarak yağ asidi sentezini hızlandırmış olabilir. Artan yağ asidi sentezi TG seviyesinin artmasına neden olmuş olabilir. Ancak L- Karnitin grubu ve trans-şalkon grubunun hepatik FAS aktiviteleri sham grubunun hepatik FAS aktivitesiyle karşılaştırıldığında bir anlamlılık gözlenmemiştir. L-karnitin grubunun ve trans-şalkon grubunun hepatik FAS aktivitesinin sham grubuna göre azalmayışını,

verilen L-karnitin ve trans-şalkon'un doz miktarının yetersizliğinden kaynaklı olarak düşünebiliriz. Yeni bir çalışma ile L-karnitin ve trans-şalkon doz miktarları artırılarak, L-karnitin ve trans-şalkon'un FAS aktivitesi üzerine etkisi araştırılabilir.

SREBP-1c, yağ asidi sentezi için enzimlerin ekspresyonunu düzenleyen en önemli transkripsiyon faktörüdür. Açlık sırasında SREBP-1c ifadesi bastırılırken, hayvanlara yüksek bir karbonhidrat diyeti uygulandığında belirgin bir şekilde artar. SREBP-1c transkripsiyonunun indüklenmesi hem ER membrana bağlı prekürsörün hem de transkripsiyon faktörünün nükleer formunun ekspresyonunda paralel bir artışa neden olur [167]. Zhang ve ark HFCS ile beslenen farelerde HFCS, hepatik SREBP-1c aktivasyonunu, SREBP-1c hedef genlerin ekspresyonunu arttırdığını ve SREBP-1c'nin iki hedef geni olan yağ FAS ve ACC aktivitesini artırdığını rapor etmişlerdir [145]. Aragnove ark. batı tipi yüksek yağlı diyet + fruktoz ile besledikleri sıçanların karaciğer dokusunda SREB-1c seviyesinin anlamlı şekilde arttığını rapor etmişlerdir [168]. Çalışmamızda HFCS grubunun hepatik SREBP-1c seviyesi kontrol grubunun hepatik SREB-1c seviyesine göre anlamlı şekilde artmıştır. SREBP-1c, hücrelerdeki yağ asitlerinin sentezinden sorumlu enzimleri kodlayan çoklu genlerin transkripsiyonunu aktive eder [55]. HFCS grubunun TG seviyesinin kontrol grubunun TG seviyesine göre yüksek olması HFCS tüketiminin SREB-1c ekspresyon artışına neden olduğunu düşünmekteyiz. HFCS grubunun TG ve SREBP-1c seviyeleri, FAS aktivitesi, kontrol grubunun TG ve SREBP-1c seviyeleri, FAS aktivitesine göre anlamlı artış göstermesi HFCS tüketiminin lipit biyosentezini arttırdığı ihtimalini akla getirmektedir. L-karnitin ve trans-şalkon grubunun hepatik SREBP-1c seviyeleri sham grubuna göre anlamlı azalmıştır. L-karnitin ve trans-şalkon grubunun TG seviyelerinin sham grubuna göre de anlamlı azalttığını bulmuştuk. L-karnitin ve trans-şalkon grubunun hepatik FAS aktivitesinin sham grubunun hepatik FAS aktivitesine göre azalmamasının, L-karnitin ve trans-şalkon moleküllerinin FAS inhibitörü olmama ihtimalini akla getirmektedir ya da çalışmada daha önce bahsedildiği gibi doz miktarlarının yetersizliğini akla getirmektedir. Bu bilgiler ışığında SREB-1c'in kontrolünün beslenme ve metabolik hastalıkların riskinin azaltılmasında önemli rol oynayabileceği kanaatindeyiz.

Son yıllarda artan kanıtlar, ER stresinin ve UPR aktivasyonunun, özellikle lipit metabolizmasındaki süreçte önemli rol oynayabileceğini göstermektedir [169]. Aşırı besin fazlalığı altında protein sentezi talebinin artması, hepatositlerde ve adipositlerde

ER stresine neden olur. Non alkolik karaciğer yağlanması olan insanlar ve hayvanlar kronik hepatik ER stresli olarak tanımlanmıştır [47]. Lipid homeostazisindeki bozulmaların ER stresi üzerindeki etkisine özellikle dikkat edilmiştir. Nitekim ER stresi, çeşitli lipotoksik koşullara yanıt olarak memeli hücrelerinde varolduğu bildirilmiştir. Örneğin, ER stresi, obez bireylerde insüline dirençli tip 2 diyabet oluşturabilen bir süreç olan pankreatik β hücrelerinde kronik esterlenmemiş doymuş yağ asidi maruziyeti nedeniyle ER stresin indüklendiği bildirilmiştir. Prion hastalığı, Alzheimer hastalığı ve Parkinson hastalığı gibi protein agregasyon hastalıklarının yanı sıra diyabet, metabolik sendrom hastalığı, inflamasyon ve ateroskleroz gibi katlanmamış protein ile ilişkili birçok hastalıkta rol oynar [170]. ROS, mitokondrideki oksidatif fosforilasyon gibi oksijen kullanan hücresel metabolik süreçler esnasında ortaya çıkar. ER, golgi bölmesine geçmeden önce protein katlama ve disülfid bağ oluşumu için eşsiz bir oksitleyici ortam sağlar [171]. GRP-78 veya BİP; ER'nin protein kalite kontrolünde kritik önem taşıyan ve ER-transmembran sinyal moleküllerinin aktivasyonunu kontrol eden önemli bir ER şaperon proteindir [172]. GRP-78, antiapoptotik özelliklere sahip büyük bir ER şaperonu rolünün yanı sıra UPR sinyalizasyonunun aktivasyonunu kontrol etme kabiliyeti nedeniyle ER stresi için ana düzenleyicidir [173]. GRP-78, ER homeostazının anahtar regülatörüdür. ER lümeninde protein katlanmaları normal şekilde devam ederse, GRP-78, PERK, ATF6 ve IRE1'e bağlanır ve bunları inaktif halde tutar. Fakat yanlış yönlendirilen proteinler ER lümeninde birikirse, GRP78 yanlış bağlanmış proteinleri bağlar ve böylece PERK, IRE1 ve ATF6 üzerinde freni bırakır. GRP78 PERK, ATF6 ve IRE1 proteinlerinden ayrılarak aktivasyonlarına ve katlanmamış protein cevabına yol açar [174, 175]. İnsanlarda kilo kaybı, adipoz ve karaciğer dokusunda ER stresi göstergelerinin tersine dönmesine neden olur. Gregor ve ark. 11 obez erkek ve kadın'da, gastrik bypass ameliyatından önceki karaciğer ve adipoz dokusunda ve ameliyattan 1 yıl sonraki karaciğer ve adipoz dokusunda GRP-78 düzeylerini araştırmışlardır. Çalışmalarında hastaların ameliyattan bir yıl sonraki kilolarında ameliyattan önceki kilolarına göre % 39±9 oranında azalma gözlemlemişlerdir. Hastaların ameliyat sonrasında karaciğer ve adipoz dokusunda ameliyat öncesindeki bu dokuların GRP-78 mRNA düzeylerinde önemli azalma gözlemlemişlerdir. Çalışma sonunda kilo kaybına bağlı olarak GRP-78 mRNA

düzeyinin azaldığı ve ER stres biyobelirteçlerinden GRP-78 düzeyinin obeziteyle ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır [176].

Aşırı kolesterol ER stresi indükler [177]. Normal koşullarda ER'daki kolesterol konsantrasyonları düşüktür. Ancak kolesterol konsantrasyonlarını arttıran koşullarda ER stresi ve SERCA (sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase) aracılı Ca^{2+} homeostazinin bozulmasına neden olur [178]. Çalışmamızda HFCS grubunun hepatic GRP-78 düzeyi ile kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır. Çalışmada total kolesterol seviyesiyle hepatic GRP-78 düzeyi arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur. Bununla beraber hepatic GRP-78 seviyesi kilo bulguları arasında da anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur. Artan kilonun veya aşırı HFCS tüketiminin GRP-78 düzeyini arttırmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Aşırı beslenme, oksidatif stres, kimyasal toksisite, hepatic viral enfeksiyon, metabolik bozukluklar ve uyuşturucu ve alkol gibi faktörlerle ER stresi indüklenebilir [9, 179]. Aşırı tüketimi fruktoz tüketimi ER stresi tetiklemiş olabilir. Çalışmamızda HFCS grubunun hepatic GRP-78 düzeyi kontrol grubunun hepatic GRP-78 düzeyine göre yüksek bulunmuştur. Aşırı HFCS tüketiminin ER homeostazisinin bozmuş olabileceği ve bu durumda ER fonksiyonunun azalabileceği ve dolayısıyla ER stres veya katlanmamış protein yanıtı (UPR)'nin tetiklenebileceği kanaatine varılmıştır. Örneğin yeni sentezlenen proteinlerin katlanma kapasitesini aşması gibi katlanmamış proteinlerin ER'de birikmesi, katlanma kapasitesini arttırmak ve katlanan yükü azaltmak amacıyla sinyal yollarının aktivasyonuna yol açar [180].

Zhang ve ark. aşırı fruktoz tüketiminin hepatic ER stresi tetiklediğini HFCS ile beslenen farelerin hepatic GRP-78'in düzeyinde artış olduğunu rapor etmişlerdir [145]. Bhuvanewari ve ark. yüksek fruktozlu yağlı diyetle (HFFD) besledikleri farelerde BİP'in yani GRP-78 düzeyinin arttığını gözlemlemişlerdir [181]. Bu sonuçlar çalışmamızı desteklemektedir.

Başka bir tartışma konusu ise HFCS grubunda artan oksidatif stres biyobelirteci MDA ve ER stresi biyobelirteci GRP-78 düzeyleri arasındaki yaklaşımlardır. Çalışmamızda HFCS grubunun MDA ve GRP-78 düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca grupların MDA düzeyiyle GRP-78 düzeyi arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur. Çalışmamıza göre oksidatif stres ER stresi tetiklemiş olabilir. Oksidatif stres, sitoplazmik kalsiyumun indüksiyonu ya da mitokondrideki

ROS düzeylerini arttırır. Oksidatif strese bağlı olarak artan ROS, hücre dışı ortamdan membrana bağlı kanallar yoluyla veya ER/Sarkoplazmik Retikulumdan'den ER /SR- lokalize kanallar yoluyla sitoplazmaya Ca^{2+} akışına neden olur [94]. Sitoplazmada artan Ca^{2+} konsantrasyonu, Ca^{2+} 'un çekirdeğe ve mitokondriye akışını teşvik eder [80]. Mitokondri de artan Ca^{2+} mitokondriyal metabolizmayı uyarır ve akabinde ROS üretimi artar. Mitokondri kaynaklı ROS, elektron transfer sisteminden sızan elektronlardan türetilebilir. Mitokondriyal ROS, ER stresi tepkisini arttırır [182]. HFCS grubunun GRP-78 düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek bulunması, oksidatif stres ve ER stres arasındaki ilişkiyi tekrar akla getirmektedir.

Nükleusa transloke olan ATF-6 transkripsiyon faktörü, XBP-1s transkripsiyon faktörünün ekspresyonunu sağlamaktadır. XBP-1s, ERSE (endoplasmic reticulum stress element) ve UPRE (unfolded protein response element) DNA bölgelerini içeren genlere bağlanarak ER genişlemesinde, katlama kapasitesinin artmasında ve ER ilişkili yıkım yolunun aktivasyonunda rol alan genlerin transkripsiyonunu uyarır ve ER'un üzerine binen talep yükünün karşılanmasını sağlar. Böylece ER üzerine binen yük azalır ve ER homeostazisi korunmuş olur. XBP-1s'nin ER stresi azaltmada çok önemli bir rol üstlendiğini gösterilmiştir. XBP1, ER stresi tepkisinin anahtar düzenleyicisidir [35, 42, 183].

Çalışmamızda HFCS grubunun hepatik XBP-1 düzeyi, kontrol grubunun hepatik XBP-1 düzeyine göre anlamlı şekilde artmıştır. L-karnitin ve trans-şalkon gruplarının hepatik XBP-1 düzeyleri sham grubunun hepatik XBP-1 düzeyine göre göre anlamlı şekilde azalmıştır. Aşırı HFCS tüketimi hepatik XBP-1 düzeyini arttırmıştır. Lee, A.H ve ark. XBP-1 proteinini ER stres tepkisinin anahtar düzenleyicisi olduğu ve lipojenik transkripsiyon faktörü olarak tanımlar. Karbonhidratla beslenen farelerde XBP-1 proteini ekspresyonunun yükseldiğini ve XBP-1'in yağ asidi sentezinde yer alan kritik genlerle ilişkili olduğu düşünmektedirler [184]. Liu X ve ark. XBP-1 proteininin Nonalkolik karaciğer yağlanması patogenezinde koruyucu önemli role sahip olduğunu düşünmektedirler [185]. GRP-78, katlanmamış protein yanıtında ATF6 ve XBP-1 transkripsiyon faktörleri ile ilişkilidir [186]. XBP-1 mRNA'sının ATF6 tarafından başlatıldığı gösterilmiştir. ATF6 ER stresine yanıt XBP-1 genlerinin indüksiyonunu başlatır [187]. HFCS grubunun hepatik GRP-78 ve hepatik XBP-1 düzeylerinin kontrol grubunun hepatik GRP-78 ve hepatik XBP-1 yüksek olması HFCS ile beslenmenin

üzerinde yük oluşturduğunun göstergesi olabilir. Liu X ve ark. Yaptıkları çalışma sonucunda XBP-1 proteininin farmakolojik veya genetik tedaviler için potansiyel bir terapötik hedef olabileceğini savunmaktadır [185]. Çalışmamızda trans-şalkon ve L-karnitin grubunun hepatik XBP-1 düzeylerinin sham grubuna göre anlamlı azalması, Fakat trans-şalkon ve L-karnitin grubunun hepatik GRP-78 düzeylerinin sham grubuna göre anlamlı azalmaması bu görüşü destekler niteliktedir. L-karnitin ve trans-şalkon hepatik GRP-78 düzeylerinin sham grubuna göre azalmamasını, GRP-78'in sadece ER stresin bir belirteci olduğunu, terapötik hedef olamayacağını kanaati oluşturmuştur. Ancak bu bulgular ışığında XBP-1 proteininin farmakolojik veya genetik tedaviler için potansiyel bir terapötik hedef olabileceği kanaatine varılmıştır.

Bazı kaynaklarda XBP-1 protein ekspresyonunun artışının oksidatif stresi azaltabileceğini rapor edilmiştir. Liu Y ve ark. XBP-1'in oksidatif strese karşı koruyucu bir rol oynadığını ve CAT ekspresyonunun pozitif düzenlenmesinin bu işlevi en azından kısmen açıkladığını rapor ettiler [188]. Bu rapor çalışmamızla çelişmektedir. Çünkü bulgularımızda XBP-1 protein'in artışı antioksidan enzim olan SOD aktivitesinde azalmaya neden olurken, oksidatif stres biyobelirteci MDA düzeyi yüksek bulunmuştur. Bu verilerden biz, HFCS ile beslenmenin çevresel diyet stresi oluşturduğunu, hepatosit XBP-1 seviyelerinin sinyallemesini arttırdığını ve çalışmamız için önem taşıdığını düşünmekteyiz. XBP-1 protein ekspresyonunun obezite, lipit profili ve oksidatif stres ile ilişkili olduğunu fakat bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

5.1. Sonuçlar

1. Standart yem ve HFCS ile beslenen grupların yem tükemi, Standart yem ve içme suyu ile beslenen gruplara göre azalmıştır. 12 hafta boyunca içme suyu ile beslenen kontrol grubu en fazla yem tüketen gruptur. HFCS ile beslenen grupların yem tüketimi içme suyu ile beslenen kontrol grubuna göre düşüktür. HFCS'li beslenmede enerjinin (kalorinin) büyük kısmı karşılandığından lifli gıdalardan (yem) uzaklaştırdığı tespit edilmiştir. Günlük hayatta meyve suları, çikolata, kek, şekerleme türleri, reçel marmelat ve diğer jöle gibi gıdaların HFCS içerdiği bilinmektedir. Özellikle çocukların çok tükettiği bu gıdalar sağlıklı beslenmeyi ve enerji (kalori) homeostazını önemli şekilde değiştirebilir.

2- HFCS ile beslenen gruplar ile kontrol grubuna göre neredeyse iki katı miktarda sıvı tüketmişlerdir. Tüketilen HFCS'li su miktarı arttıkça yem miktarı azalmıştır. Grupların kilo değişimi incelendiğinde HFCS'li su ile beslenen gruplarda (özellikle sham ve HFCS grubu) ile kontrol grubuna göre önemli şekilde kilo artışı görülmüştür. Bu nedenle HFCS'nin aşırı tüketiminin, HFCS kullanımındaki artış ile bağlantılı olarak "obezite gelişmesinde önemli bir faktör olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca trans-şalkon grubunda kilo değişimi çok fazla görülmemiştir. Trans-şalkon grubunun kilo değişimi kontrol grubu ile neredeyse aynı oranda kilo değişimi gözlenmiştir. Bu yüzden trans-şalkon'un kilo azaltıcı özelliğe sahip olduğunu düşünmekteyiz.

3- Aşırı HFCS tüketiminin lipid profili parametreleri olan TG, total kolesterol ve LDL seviyelerini arttırdığı tespit edilmiştir.

4- Kilo artışı lipid peroksidasyon ürünü ve oksidatif stres biyobelirteci olan MDA düzeyini artırmıştır. HFCS artan kiloya bağlı olarak ROS'u tetiklemiş, antioksidan kapasiteyi azaltmış olabilir. Çalışmamızda trans-şalkon MDA düzeyini azaltmıştır. Bu biyoaktif molekül kilo azaltıcı özelliği nedeniyle lipid peroksidasyonu azaltarak hücrel hasarı engellediği kanaatindeyiz.

5- HFCS grubunun FAS aktivitesi kontrol grubunun FAS aktivitesine göre yüksek bulunmuştur. HFCS, özellikle sham ve HFCS grubunda FAS aktivitesini artırmıştır. L-karnitin ve trans-şalkon verilen gruplarda FAS aktivitesi yeterince azalmamıştır. Yine de FAS'in beslenme davranışı ve vücut ağırlığının kontrolü için terapötik bir hedef olabileceğini düşündürmüştür. Bu amaçla farklı dozlarda L-karnitin ve trans-şalkon verilen çalışmalar yapılarak FAS aktivitesi üzerine nasıl etki ettiğiyle ilgili çalışmalar yapılabilir.

6- HFCS grubunun SREBP-1c seviyesi kontrol grubunun SREBP-1c seviyesine göre anlamlı şekilde arttığı bulunmuştur. L-karnitin ve trans-şalkon gruplarının SREBP-1c seviyeleri sham grubunun SREBP-1c seviyelerine göre anlamlı şekilde azalmıştır. HFCS grubunun SREBP-1c seviyesinin kontrol grubuna göre yüksek olması HFCS ile beslenmenin SREBP-1c'yi tetiklediği kanaati oluşturmuştur. Bununla beraber SREBP-1c seviyesinin azaltılması, metabolik hastalık riskini azaltabileceği kanaati oluşmuştur. Bunun için Trans-şalkon ve L-karnitin gibi biyoaktif moleküller kullanılabilir.

7- Gruplarda ER stresi biyobelirteci hepatik GRP-78 düzeyleri en yüksek olan HFCS grubunda tespit edilmiştir. Kilo artışı veya aşırı HFCS tüketimi katlanmamış proteinleri biriktirmiş ya da artan MDA proteinlerin redoks düzeninde değişiklik yaparak ER homeostazı bozmuş olabilir. Bulgularımız, beslenmede ER'un önemli organel olabileceği hipotezini desteklemektedir.

8- HFCS ile beslenme ER stresin ana düzenleyicilerinden biri olan XBP-1 düzeylerinde artış meydana getirmiştir. Trans-şalkon ve L-karnitin grubunun XBP-1 düzeylerini sham grubuna göre anlamlı azaltmıştır. XBP-1 proteininin farmakolojik veya genetik tedaviler için potansiyel bir terapötik hedef olabileceği kanaatine varılmıştır.

9- Günümüz en önemli sağlık problemlerinden obezite ve ilişkili hastalıkların önlenmesinde HFCS içeren gıdalar tüketilmemelidir. Özellikle kardiyovasküler hastalıklara ve metabolik hastalıklara sahip bireyler diyetlerinden bu tür gıdaları çıkartarak hiperlipidemi, oksidatif stres ve ER stresi gibi hücre içi ve hücre dışı homeostazı bozan durumlara karşı önlem almış olurlar.

10- Bu konuda ER stres yollarını bloklayan ilaç çalışmaları, farklı doz L-karnitin ve trans-şalkon etkisini inceleyen çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

5.2. Öneriler

- Bu çalışmanın parametreleri GRP-78, XBP-1, SREBP, FAS, SOD, CAT, GSH-Px western blot tekniğiyle çalışılabilir.
- Hücre kültürü ile çalışabilir. Ayrıca bu parametrelerin gen ifadeleri mRNA düzeyleri bakılabilir.
- Trans-şalkon molekülünün kilo azaltıcı molekül olduğunun desteklenmesi için daha farklı diyetle beslenen (yüksek yağlı diyet gibi) hayvan çalışmaları yapılabilir.
- ER stresinin in vivo tetikleyicileri nelerdir? Hayvan modelleri geliştirilebilir.
- ER stresi ve inflamasyon arasındaki ilişkiden yola çıkarak L-karnitin ve Trans şalkon'un inflamasyon durumunu nasıl etkilediği belirlenebilir.
- ER stresin takibi için biyolojik belirteçler veya araçlar geliştirebilir miyiz?

- FAS, beslenme düzenlemesinde önemli bir bağlantıyı temsil edebilir ve potansiyel bir terapötik hedef olabilir.
- FAS inhibitörü adayları olan moleküller araştırılabilir.
- XBP-1 yeni rutin parametre olabilecek mi? Takip edilebilir.
- Obezite ve diyabet patogeneğinde XBP-1'in doku ve hücre tipine özgü fonksiyonları nelerdir? Bu konular üzerinde araştırmalar yapılabilir.
- FAS aktivitesinin yanında malonil-CoA düzeyi bakılabilir. Çünkü FAS substratı Malonil-CoA'dır. Malonil CoA düzeyi HFCS ile beslenen sıçanlarda nasıl etkilenir?
- L-karnitin ve trans-şalkon'un etkilerine doz miktarları artırılarak çalışma bu tekrarlanabilir.
- Çalışmanın süresi 12 haftadan 24 haftaya çıkarılarak L-karnitin ve trans-şalkon'un daha uzun süreli etkinliğine bakılabilir.
- L-karnitin ve trans-şalkon intraperitoneal uygulama yoluyla değil oral yolla verilmesi deneyerek terapötik potansiyelleri daha iyi araştırılabilir.
- Trans-şalkon'un özellikle kilo kaybı, antioksidan etkilerinin ortaya çıkarılması için insanlara yönelik Faz-O ilaç araştırmaları yapılmasının faydalı olabileceğini kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Lippincott Biyokimya 5. Baskı Harvey, Ferrier Çeviri: Prof. Dr. Engin Ulukaya Ekim-İstanbul-2015
2. Hampton, R. Y. (2000). ER stress response: getting the UPR hand on misfolded proteins. *Current Biology*, 10(14), R518-R521.
3. Mori, K. (2000). Tripartite management of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell*, 101(5), 451-454.
4. Harding, H. P., Calton, M., Urano, F., Novoa, I., & Ron, D. (2003). Transcriptional and translational control in the mammalian unfolded protein response. *Annual review of cell and developmental biology*, 18(1), 575.
5. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA.
6. Unsal V. (2013) 'Ratlarda oluşturulan karaciğer tümör modelinde octreotide kemoterapötik ajanının , ısı şok proteinleri,8-hidroksi deoksiguanozin ve oksidatif stres parametreleri düzeylerine etkilerinin araştırılması 'Yüksek Lisans tez. Kahramanmaraş Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı Kahramanmaraş.
7. Özcan, U., Cao, Q., Yilmaz, E., Lee, A. H., Iwakoshi, N. N., Özdelen, E., ... & Hotamisligil, G. S. (2004). Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*, 306(5695), 457-461.
8. Hirosumi, J., Tuncman, G., Chang, L., Görgün, C. Z., Uysal, K. T., Maeda, K., ... & Hotamisligil, G. S. (2002). A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*, 420(6913), 333-336.
9. Özcan, U., Cao, Q., Yilmaz, E., Lee, A. H., Iwakoshi, N. N., Özdelen, E., ... & Hotamisligil, G. S. (2004). Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*, 306(5695), 457-461.
10. YAVUZ, R., & TONTUŞ, H. Ö. (2013). Erişkin, adolesan ve çocukluk yaş grubunda obeziteye klinik yaklaşım. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 30(1s).
11. Burtis CA, Ashwood ER. *Clinical Chemistry*, Second Ed. WB. Newyork, Saunders Company, USA. 1994.
12. Umutlu, U. (2012). L-karnitin uygulamasının ratlarda bazı lipit parametreleri üzerine etkisi (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
13. Brown, M. S., Goldstein, J. L., & Siperstein, M. D. (1973, December). Regulation of cholesterol synthesis in normal and malignant tissue. In *Federation proceedings* (Vol. 32, No. 12, pp. 2168-2173).
14. Aydın A. Uzun Süre Fruktöz İçen Sıçanlarda Resveratrol Verilmesinin Vazodilatör Cevap Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, 2009.
15. Akar F. Şeker ve hazır gıdalara eklenen früktozun toplum sağlığı üzerine etkileri. *Türk Farmakoloji Derneği Bülteni* 2011; 108: 16-18.
16. Bray, G. A. (2007). How bad is fructose?. *The American journal of clinical nutrition*, 86(4), 895-896.
17. Tran, L. T., Yuen, V. G., & McNeill, J. H. (2009). The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Molecular and cellular biochemistry*, 332(1-2), 145-159.

18. Fruktoz, K. A. (2008). Kronik Hastalıklar İçin Gizli Bir Tehdit. TAF Prev Med Bull, 7(4), 343-6.
19. Basciano, H., Federico, L., & Adeli, K. (2005). Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. Nutrition & metabolism, 2(1), 5.
20. Rajasekar, P., Palanisamy, N., & Anuradha, C. V. (2007). Increase in nitric oxide and reductions in blood pressure, protein kinase C β II and oxidative stress by L-carnitine: a study in the fructose-fed hypertensive rat. Clinical and experimental hypertension, 29(8), 517-530.
21. Çelik Ç.Neşe Fruktozla oluturulan nonalkoilk yağlı karaciğer modelinde Rifaksimim'in önleyici Rolü.Uzmanlık Tezi.Elazığ Fırat üniversitesi, 2014.
22. Parker, K., Salas, M., & Nwosu, V. C. (2010). High fructose corn syrup: production, uses and public health concerns. Biotechnology and Molecular Biology Reviews, 5(5), 71-78.
23. Hanover, L. M., & White, J. S. (1993). Manufacturing, composition, and applications of fructose. The American journal of clinical nutrition, 58(5), 724S-732S.
24. Johnson, R. J., Segal, M. S., Sautin, Y., Nakagawa, T., Feig, D. I., Kang, D. H., ... & Sánchez-Lozada, L. G. (2007). Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. The American journal of clinical nutrition, 86(4), 899-906.
25. Putnam, J. J., & Allshouse, J. E. (1994). Food Consumption, Prices, and Expenditures, 1970-93. US Department of Agriculture, Economic Research Service.
26. Bray, G. A., Nielsen, S. J., & Popkin, B. M. (2004). Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. The American journal of clinical nutrition, 79(4), 537-543.
27. Collison, K. S., Saleh, S. M., Bakheet, R. H., Al-Rabiah, R. K., Inglis, A. L., Makhoul, N. J., ... & Al-Mohanna, F. A. (2009). Diabetes of the Liver: The Link Between Nonalcoholic Fatty Liver Disease and HFCS-55. Obesity, 17(11), 2003-2013.
28. Tappy, L., & Lê, K. A. (2010). Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. Physiological reviews, 90(1), 23-46.
29. Liu, H., Huang, D., McArthur, D. L., Boros, L. G., Nissen, N., & Heaney, A. P. (2010). Fructose induces transketolase flux to promote pancreatic cancer growth. Cancer Research, 70(15), 6368-6376.
30. Rippe, J. M. (2010). The health implications of sucrose, high-fructose corn syrup, and fructose: what do we really know?. Journal of diabetes science and technology, 4(4), 1008-1011.
31. Schwarz, D. S., & Blower, M. D. (2016). The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling. Cellular and Molecular Life Sciences, 73(1), 79-94.
32. Lieberman M, Peet Alisa . Marks' Tıbbi Biyokimyanın Esasları "Klinik Yaklaşım". 1. Baskı, İstanbul : İstanbul tıp kitabevleri Yayınları, 2017.
33. <http://biology.tutorvista.com/animal-and-plant-cells/endoplasmic-reticulum.html>.

34. Zhang, K., & Kaufman, R. J. (2004). Signaling the unfolded protein response from the endoplasmic reticulum. *Journal of Biological Chemistry*, 279(25), 25935-25938.
35. Ron, D., & Walter, P. (2007). Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nature reviews Molecular cell biology*, 8(7), 519-529.
36. Gündeşli, H., & Dinçer, P. Endoplazmik retikulum stresinin moleküler mekanizması ve kas patolojisi arasındaki ilişki.
37. Xu, C., Bailly-Maitre, B., & Reed, J. C. (2005). Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *The Journal of clinical investigation*, 115(10), 2656-2664.
38. Walter, P., & Ron, D. (2011). The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science*, 334(6059), 1081-1086.
39. Schröder, M., & Kaufman, R. J. (2005). The mammalian unfolded protein response. *Annu. Rev. Biochem.*, 74, 739-789.
40. Seydel, G. Ş., & Aksoy, K. (2012). Endoplazmik Retikulum Stresi ve Apoptozis Mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 21(4).
41. Vincenz, L., Jäger, R., O'Dwyer, M., & Samali, A. (2013). Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response: targeting the Achilles heel of multiple myeloma. *Molecular cancer therapeutics*, 12(6), 831-843.
42. Kaufman, R. J. (2002). Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. *The Journal of clinical investigation*, 110(10), 1389-1398.
43. Kim, I., Xu, W., & Reed, J. C. (2008). Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities. *Nature reviews Drug discovery*, 7(12), 1013-1030.
44. Maurel, M., & Chevet, E. (2013). Endoplasmic reticulum stress signaling: the microRNA connection. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 304(12), C1117-C1126.
45. Bukau, B., Weissman, J., & Horwich, A. (2006). Molecular chaperones and protein quality control. *Cell*, 125(3), 443-451.
46. Çetinkaya, S., & Dursun, H. G. (2016). Endoplazmik Retikulum Stresinde Hücre Sağkalım ve Ölüm Kararı.
47. Cnop, M., Foufelle, F., & Velloso, L. A. (2012). Endoplasmic reticulum stress, obesity and diabetes. *Trends in molecular medicine*, 18(1), 59-68.
48. Liou, H. C., Boothby, M. R., Finn, P. W., Davidon, R., Nabavi, N., Zeleznik-Le, N. J., ... & Glimcher, L. H. (1990). A new member of the leucine zipper class of proteins that binds to the HLA DR alpha promoter. *Science*, 247(4950), 1581-1584.
49. Sidrauski, C., Cox, J. S., & Walter, P. (1996). tRNA ligase is required for regulated mRNA splicing in the unfolded protein response. *Cell*, 87(3), 405-413.
50. Lee, A. H., Chu, G. C., Iwakoshi, N. N., & Glimcher, L. H. (2005). XBP-1 is required for biogenesis of cellular secretory machinery of exocrine glands. *The EMBO journal*, 24(24), 4368-4380.
51. Stacchiotti, A., Favero, G., & Rezzani, R. (2013). Endoplasmic reticulum stress in the endothelium: a contribution to athero-susceptibility. *evolution*, 20, 23.
52. Fu, S., Yang, L., Li, P., Hofmann, O., Dicker, L., Hide, W., ... & Hotamisligil, G. S. (2011). Aberrant lipid metabolism disrupts calcium homeostasis causing liver endoplasmic reticulum stress in obesity. *Nature*, 473(7348), 528-531.

53. Sriburi, R., Jackowski, S., Mori, K., & Brewer, J. W. (2004). XBP1 a link between the unfolded protein response, lipid biosynthesis, and biogenesis of the endoplasmic reticulum. *The Journal of cell biology*, 167(1), 35-41.
54. Han, J., & Kaufman, R. J. (2016). The role of ER stress in lipid metabolism and lipotoxicity. *Journal of lipid research*, 57(8), 1329-1338.
55. Brown, M. S., & Goldstein, J. L. (1997). The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell*, 89(3), 331-340.
56. Morton, J. D., & Shimomura, L. (1999). Sterol regulatory element-binding proteins: activators of cholesterol and fatty acid biosynthesis. *Current opinion in lipidology*, 10(2), 143-150.
57. Edwards, P. A., Tabor, D., Kast, H. R., & Venkateswaran, A. (2000). Regulation of gene expression by SREBP and SCAP. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1529(1), 103-113.
58. Horton, J. D., Goldstein, J. L., & Brown, M. S. (2002). SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *The Journal of clinical investigation*, 109(9), 1125-1131.
59. Eberlé, D., Hegarty, B., Bossard, P., Ferré, P., & Foufelle, F. (2004). SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. *Biochimie*, 86(11), 839-848. .
60. Maxfield, F. R., & Wüstner, D. (2002). Intracellular cholesterol transport. *The Journal of clinical investigation*, 110(7), 891-898.
61. Maxfield, F. R., & Tabas, I. (2005). Role of cholesterol and lipid organization in disease. *Nature*, 438(7068), 612-621.
62. Yang, T., Espenshade, P. J., Wright, M. E., Yabe, D., Gong, Y., Aebersold, R., ... & Brown, M. S. (2002). Crucial step in cholesterol homeostasis: sterols promote binding of SCAP to INSIG-1, a membrane protein that facilitates retention of SREBPs in ER. *Cell*, 110(4), 489-500.
63. Espenshade, P. J., & Hughes, A. L. (2007). Regulation of sterol synthesis in eukaryotes. *Genetics*, 41.
64. Lagace, T. A., & Ridgway, N. D. (2013). The role of phospholipids in the biological activity and structure of the endoplasmic reticulum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1833(11), 2499-2510.
65. Bien, C. M., & Espenshade, P. J. (2010). Sterol regulatory element binding proteins in fungi: hypoxic transcription factors linked to pathogenesis. *Eukaryotic cell*, 9(3), 352-359.
66. Shimomura, I., Shimano, H., Korn, B. S., Bashmakov, Y., & Horton, J. D. (1998). Nuclear sterol regulatory element-binding proteins activate genes responsible for the entire program of unsaturated fatty acid biosynthesis in transgenic mouse liver. *Journal of Biological Chemistry*, 273(52), 35299-35306.
67. Wakil, S. J. (1989). Fatty acid synthase, a proficient multifunctional enzyme. *Biochemistry*, 28(11), 4523-4530.
68. Asturias, F. J., Chadick, J. Z., Cheung, I. K., Stark, H., Witkowski, A., Joshi, A. K., & Smith, S. (2005). Structure and molecular organization of mammalian fatty acid synthase. *Nature structural & molecular biology*, 12(3), 225-232.
69. Milgraum, L. Z., Witters, L. A., Pasternack, G. A., & Kuhajda, F. P. (1997). Enzymes of the fatty acid synthesis pathway are highly expressed in in situ breast carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 3(11), 2115-2120.

70. Guo, W., Wong, S., Xie, W., Lei, T., & Luo, Z. (2007). Palmitate modulates intracellular signaling, induces endoplasmic reticulum stress, and causes apoptosis in mouse 3T3-L1 and rat primary preadipocytes. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 293(2), E576-E586.
71. Liang, Y., Tian, W., & Ma, X. (2013). Inhibitory effects of grape skin extract and resveratrol on fatty acid synthase. *BMC complementary and alternative medicine*, 13(1), 361.
72. R Pandey, P., Liu, W., Xing, F., Fukuda, K., & Watabe, K. (2012). Anti-cancer drugs targeting fatty acid synthase (FAS). *Recent patents on anti-cancer drug discovery*, 7(2), 185-197.
73. Zhang, J. S., Lei, J. P., Wei, G. Q., Chen, H., Ma, C. Y., & Jiang, H. Z. (2016). Natural fatty acid synthase inhibitors as potent therapeutic agents for cancers: A review. *Pharmaceutical biology*, 54(9), 1919-1925.
74. Higa, A., & Chevet, E. (2012). Redox signaling loops in the unfolded protein response. *Cellular signalling*, 24(8), 1548-1555.
75. Kurutas, E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal*, 15(1), 71.
76. Santos, C. X., Tanaka, L. Y., Wosniak Jr, J., & Laurindo, F. R. (2009). Mechanisms and implications of reactive oxygen species generation during the unfolded protein response: roles of endoplasmic reticulum oxidoreductases, mitochondrial electron transport, and NADPH oxidase. *Antioxidants & redox signaling*, 11(10), 2409-2427.
77. Halliwell, B. (2011). Free radicals and antioxidants—quo vadis?. *Trends in pharmacological sciences*, 32(3), 125-130.
78. Malhotra, J. D., & Kaufman, R. J. (2007). Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword?. *Antioxidants & redox signaling*, 9(12), 2277-2294.
79. Perjes, A., Kubin, A. M., Konyi, A., Szabados, S., Cziraki, A., Skoumal, R., ... & Szokodi, I. (2012). Physiological regulation of cardiac contractility by endogenous reactive oxygen species. *Acta Physiologica*, 205(1), 26-40.
80. Murphy, M. P. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal*, 417(1), 1-13.
81. Scialo, F., Mallikarjun, V., Stefanatos, R., & Sanz, A. (2013). Regulation of lifespan by the mitochondrial electron transport chain: reactive oxygen species-dependent and reactive oxygen species-independent mechanisms. *Antioxidants & redox signaling*, 19(16), 1953-1969. .
82. Montgomery R, Dryer R, Conway T, Specter A, (Eds) *Biyokimya*, (2000) (Çeviri Edt.Altan N.) 6 th.Ankara Palme Yayınevi, SS 68-94. .
83. Barber, S. C., Mead, R. J., & Shaw, P. J. (2006). Oxidative stress in ALS: a mechanism of neurodegeneration and a therapeutic target. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1762(11), 1051-1067.
84. Slater, T. F. (1984). Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. *Methods in enzymology*, 105, 283-293.
85. Stadtman, E. R., & Levine, R. L. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino acids*, 25(3-4), 207-218.
86. Velid Unsal, Ergül Belge Kurutaş, Perihan Öztürk (2017) The effects of the H1-receptor blockers on Adenosine Deaminase, xanthine oxidase and Trace

- elements in patients with chronic idiopathic Urticaria. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 4(3), 117-121.
87. Buyukguzel, E. (2013). Protein Oksidasyonun Biyokimyasal ve Moleküler Mekanizması. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3(1), 40-51.
 88. Moroder, L., Besse, D., Musiol, H. J., Rudolph-Böhner, S., & Siedler, F. (1996). Oxidative folding of cystine-rich peptides vs regioselective cysteine pairing strategies. *Peptide Science*, 40(2), 207-234.
 89. Hwang, C. J. S. A., Sinskey, A. J., & Lodish, H. F. (1992). Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic reticulum. *Science*, 257(5076), 1496-1502.
 90. Van der Vlies, D., Makkinje, M., Jansens, A., Braakman, I., Verkleij, A. J., Wirtz, K. W., & Post, J. A. (2003). Oxidation of ER resident proteins upon oxidative stress: effects of altering cellular redox/antioxidant status and implications for protein maturation. *Antioxidants and redox signaling*, 5(4), 381-387.
 91. Tu, B. P., & Weissman, J. S. (2002). The FAD-and O₂-dependent reaction cycle of Ero1-mediated oxidative protein folding in the endoplasmic reticulum. *Molecular cell*, 10(5), 983-994.
 92. Bhandary, B., Marahatta, A., Kim, H. R., & Chae, H. J. (2012). An involvement of oxidative stress in endoplasmic reticulum stress and its associated diseases. *International journal of molecular sciences*, 14(1), 434-456.
 93. Lee, G. H., Bhandary, B., Lee, E. M., Park, J. K., Jeong, K. S., Kim, I. K., ... & Chae, H. J. (2011). The roles of ER stress and P450 2E1 in CCl₄-induced steatosis. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 43(10), 1469-1482.
 94. Yoon, H., Kim, D. S., Lee, G. H., Kim, K. W., Kim, H. R., & Chae, H. J. (2011). Apoptosis induced by manganese on neuronal SK-N-MC cell line: endoplasmic reticulum (ER) stress and mitochondria dysfunction. *Environmental health and toxicology*, 26, e2011017..
 95. Kaufman, R. J., Back, S. H., Song, B., Han, J., & Hassler, J. (2010). The unfolded protein response is required to maintain the integrity of the endoplasmic reticulum, prevent oxidative stress and preserve differentiation in β -cells. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 12(s2), 99-107.
 96. Uysal, K. T., Wiesbrock, S. M., Marino, M. W., & Hotamisligil, G. S. (1997). Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. *Nature*, 389(6651), 610-614.
 97. Yuan, M., Konstantopoulos, N., Lee, J., Hansen, L., Li, Z. W., Karin, M., & Shoelson, S. E. (2001). Reversal of obesity-and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikk β . *Science*, 293(5535), 1673-1677.
 98. Hotamisligil, G. S. (2005). Role of endoplasmic reticulum stress and c-Jun NH₂-terminal kinase pathways in inflammation and origin of obesity and diabetes. *Diabetes*, 54(suppl 2), S73-S78.
 99. Elliott, J. G. (1999). Application of antioxidant vitamins in foods and beverages: Developing nutraceuticals for the new millenium. *Food Technology*, 53(2), 46-48.
 100. Théron, P., Bonnefont-Rousselot, D., Davit-Spraul, A., Conti, M., & Legrand, A. (2000). Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 3(5), 373-384.

101. Nordberg, J., & Arner, E. S. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free radical biology and medicine*, 31(11), 1287-1312.
102. Luperchio, S., Tamir, S., & Tannenbaum, S. R. (1996). NO-induced oxidative stress and glutathione metabolism in rodent and human cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 21(4), 513-519.
103. Sheng, Y., Abreu, I. A., Cabelli, D. E., Maroney, M. J., Miller, A. F., Teixeira, M., & Valentine, J. S. (2014). Superoxide dismutases and superoxide reductases. *Chemical reviews*, 114(7), 3854-3918.
104. Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed research international*, 2014.
105. Chelikani, P., Fita, I., & Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 61(2), 192-208.
106. Goodsell DS (2004-09-01). "Catalase". *Molecule of the Month*. RCSB Protein Data Bank. Retrieved 2016-08-2.
107. Kulbacka, J., Saczko, J., Chwilkowska, A., Choromańska, A., & Skołucka, N. (2012). Apoptosis, free radicals and antioxidant defense in antitumor therapy. *Antioxidant enzyme*, 265-302.
108. Sharifi, A. M., Zare, B., Keshavarz, M., & Ghaderpanahi, M. (2009). Effect of short term treatment of L-carnitine on tissue ACE activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pathophysiology*, 16(1), 53-56.
109. Crentsil, V. (2010). Mechanistic contribution of carnitine deficiency to geriatric frailty. *Ageing research reviews*, 9(3), 265-268.
110. Harvey, R. A., & Ferrier, D. R. (2014). *Biochemistry*. Lippincott Williams & Wilkins. Çeviri : Prof.Dr. Engin Ulukaya Nobel Tıp Kitabevleri – İstanbul
111. Karlic, H., & Lohninger, A. (2004). Supplementation of L-carnitine in athletes: does it make sense?. *Nutrition*, 20(7), 709-715.
112. Brown, G. C. (1999). Nitric oxide and mitochondrial respiration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1411(2), 351-369.
113. Binienda, Z. K., & Ali, S. F. (2001). Neuroprotective role of L-carnitine in the 3-nitropropionic acid induced neurotoxicity. *Toxicology letters*, 125(1), 67-73.
114. Gülçin, İ. (2006). Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life sciences*, 78(8), 803-811.
115. Takaki, A., Kawai, D., & Yamamoto, K. (2013). Multiple hits, including oxidative stress, as pathogenesis and treatment target in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *International journal of molecular sciences*, 14(10), 20704-20728.
116. Rogge, M. M. (2009). The role of impaired mitochondrial lipid oxidation in obesity. *Biological Research for Nursing*, 10(4), 356-373.
117. Lee, M. S., Lee, H. J., Lee, H. S., & Kim, Y. (2006). L-carnitine stimulates lipolysis via induction of the lipolytic gene expression and suppression of the adipogenic gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of medicinal food*, 9(4), 468-473.
118. Elias, D. W., Beazely, M. A., & Kandepu, N. M. (1999). Bioactivities of chalcones. *Current Medicinal Chemistry*, 6(12), 1125.

119. Star, A. E., & Mabry, T. J. (1971). Flavonoid frond exudates from two Jamaican ferns, *Pityrogramma tartarea* and *P. calomelanos*. *Phytochemistry*, 10(11), 2817-2818.
120. Liu, X. L., Tee, H. W., & Go, M. L. (2008). Functionalized chalcones as selective inhibitors of P-glycoprotein and breast cancer resistance protein. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 16(1), 171-180.
121. Mahapatra, D. K., & Bharti, S. K. (2016). Therapeutic potential of chalcones as cardiovascular agents. *Life sciences*, 148, 154-172.
122. Bitencourt, T. A., Komoto, T. T., Massaroto, B. G., Miranda, C. E. S., Belebani, R. O., Marins, M., & Fachin, A. L. (2013). Trans-chalcone and quercetin down-regulate fatty acid synthase gene expression and reduce ergosterol content in the human pathogenic dermatophyte *Trichophyton rubrum*. *BMC complementary and alternative medicine*, 13(1), 1.
123. Najafian, M., Ebrahim-Habibi, A., Hezareh, N., Yaghmaei, P., Parivar, K., & Larijani, B. (2011). Trans-chalcone: a novel small molecule inhibitor of mammalian alpha-amylase. *Molecular biology reports*, 38(3), 1617-1620.
124. Sun Y, Oberley LW, Ying L, (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*: 34:497-500.
125. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951): Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *J Biol Chem*; 193:265-275.
126. Mertoğlu C.(2013) Yüksek Doz Metilprednizolonun Tavşan Kalp Dokusunda Oluşturduğu Hasar Üzerine Melatoninin Koruyucu Etkileri.Uzmanlık Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D ,TOKAT.
127. Esterbauer, H., & Cheeseman, K. H. (1990) Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in enzymology*, 186, 407-421.
128. Mueller, A. R., Platz, K. P., Langrehr, J. M., Hoffman, R. A., Nussler, A. K., Nalesnik, M., ... & Schraut, W. H. (1994). The effects of administration of nitric oxide inhibitors during small bowel preservation and reperfusion. *Transplantation*, 58(12), 1309-1316.
129. Malinski, T., Bailey, F., Zhang, Z. G., & Chopp, M. (1993). Nitric Oxide Measured by a Porphyrinic Micro Sensor in Rat Brain after Transient Middle Cerebral Artery Occlusion. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 13(3), 355-358.
130. Cortas, N. K., & Wakid, N. W. (1990). Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clinical chemistry*, 36(8), 1440-1443.
131. Durak, I., Yurtarlanl, Z., Canbolat, O., & Akyol, Ö. (1993). A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clinica Chimica Acta*, 214(1), 103-104.
132. Paglia, D. E., & Valentine, W. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 70(1), 158-169.
133. Aebi, H. (1974). Catalase In: Bergmeyer U (ed) *Methods of enzymatic analysis*.
134. Elman, G.L. (1959). Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82: 70–77.

135. Rippe, J. M., & Angelopoulos, T. J. (2013). Sucrose, high-fructose corn syrup, and fructose, their metabolism and potential health effects: what do we really know?. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 4(2), 236-245.
136. Altaş, M., Var, A., Köse, C., Özbilgin, K., & Ari, Z. (2010). Endothelial dysfunction in high fructose containing diet fed rats: Increased nitric oxide and decreased endothelin-1 levels in liver tissue. *Dicle Medical Journal/Dicle Tip Dergisi*, 37(3).
137. Stanhope, K. L., & Havel, P. J. (2008). Fructose consumption: potential mechanisms for its effects to increase visceral adiposity and induce dyslipidemia and insulin resistance. *Current opinion in lipidology*, 19(1), 16.
138. Cherkaoui-Malki, M., Surapureddi, S., I El Hajj, H., Vamecq, J., & Andreoletti, P. (2012). Hepatic steatosis and peroxisomal fatty acid beta-oxidation. *Current Drug Metabolism*, 13(10), 1412-1421.
139. Lim, J. S., Mietus-Snyder, M., Valente, A., Schwarz, J. M., & Lustig, R. H. (2010). The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nature reviews gastroenterology and hepatology*, 7(5), 251-264.
140. Jürgens, H., Haass, W., Castañeda, T. R., Schürmann, A., Koebnick, C., Dombrowski, F., ... & Ristow, M. (2005). Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obesity*, 13(7), 1146-1156.
141. Light, H. R., Tszan, E., Gigliotti, J., Morgan, K., & Tou, J. C. (2009). The type of caloric sweetener added to water influences weight gain, fat mass, and reproduction in growing Sprague-Dawley female rats. *Experimental biology and medicine*, 234(6), 651-661.
142. Lee, B. J., Lin, J. S., Lin, Y. C., & Lin, P. T. (2016). Effects of L-carnitine supplementation on lipid profiles in patients with coronary artery disease. *Lipids in Health and Disease*, 15(1), 107.
143. Jalalvand, F., Amoli, M. M., Yaghmaei, P., Kimiagar, M., & Ebrahim-Habibi, A. (2015). Acarbose versus trans-chalcone: comparing the effect of two glycosidase inhibitors on obese mice. *Archives of endocrinology and metabolism*, 59(3), 202-209.
144. Bocarsly, M. E., Powell, E. S., Avena, N. M., & Hoebel, B. G. (2010). High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: increased body weight, body fat and triglyceride levels. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 97(1), 101-106.
145. Zhang, C., Chen, X., Zhu, R. M., Zhang, Y., Yu, T., Wang, H., ... & Meng, X. H. (2012). Endoplasmic reticulum stress is involved in hepatic SREBP-1c activation and lipid accumulation in fructose-fed mice. *Toxicology letters*, 212(3), 229-240.
146. Ulusu, N. N., Sahilli, M., Avci, A., Canbolat, O., Ozansoy, G., Ari, N., ... & Karasu, Ç. (2003). Pentose phosphate pathway, glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E. *Neurochemical research*, 28(6), 815-823.
147. Evans, P., Lyras, L., & Halliwell, B. (1999). Measurement of protein carbonyls in human brain tissue. *Methods in enzymology*, 300, 145-156.
148. Yılmaz, F. M., Yılmaz, G., Erdeve, Ş. S., Dallar, Y., Topkaya, B. C., & Yücel, D. (2007). Serum sialic acid, hs-CRP and oxidative stress parameters in obese children. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 20(2), 205-210.

149. Imayama, I., Ulrich, C. M., Alfano, C. M., Wang, C., Xiao, L., Wener, M. H., ... & Mason, C. E. (2012). Effects of a caloric restriction weight loss diet and exercise on inflammatory biomarkers in overweight/obese postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Cancer research*, 72(9), 2314-2326.
150. Marseglia, L., Manti, S., D'Angelo, G., Nicotera, A., Parisi, E., Di Rosa, G., ... & Arrigo, T. (2014). Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(1), 378-400.
151. Faure, P., Rossini, E., Lafond, J. L., Richard, M. J., Favier, A., & Halimi, S. (1997). Vitamin E improves the free radical defense system potential and insulin sensitivity of rats fed high fructose diets. *The Journal of nutrition*, 127(1), 103-107.
152. Reddy, S. S., Ramatholisamma, P., Karuna, R., & Saralakumari, D. (2009). Preventive effect of *Tinospora cordifolia* against high-fructose diet-induced insulin resistance and oxidative stress in male Wistar rats. *Food and chemical toxicology*, 47(9), 2224-2229.
153. Hussein, S. A., El-Hamid, O. M. A., & Hemdan, H. S. (2014). Protective Effect of L-carnitine on Metabolic Disorders, Oxidative Stress, Antioxidant Status and Inflammation in a Rat Model of Insulin Resistance. *International Journal of Biological Chemistry*, 8(1), 21-36.
154. Wang, B., Peng, L., Zhu, L., & Ren, P. (2007). Protective effect of total flavonoids from *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid on human umbilical vein endothelial cell damage induced by hydrogen peroxide. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60(1), 36-40.
155. Shimizu, S. I., Nomoto, M., Yamamoto, T., & Momose, K. (1994). Reduction by NG-nitro-L-arginine of H₂O₂-induced endothelial cell injury. *British journal of pharmacology*, 113(2), 564-568.
156. Gülcü, E., 2010. Romatoit Artrit Hastalarında Antioksidan Enzim Düzeyleri ile Hastalık Aktivitesi Arasındaki İlişki. Tıpta Uzmanlık Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi. Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı. Van. 154s.
157. Hayes, J. D., & McLELLAN, L. I. (1999). Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free radical research*, 31(4), 273-300.
158. Girard, A., Madani, S., Boukourt, F., Cherkaoui-Malki, M., Belleville, J., & Prost, J. (2006). Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition*, 22(7), 758-766.
159. Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Serbest Radikaller. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4(1).
160. Tamer, F. (2017). Farelerde Diyet Yağ Asitleri ve Fruktozun Bazı İnflamatuar Medyatorlar ve Yağ Asit Biyosentezi Üzerine Etkileri . Doktora Tezi Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. ANKARA.
161. Radenne, A., Akpa, M., Martel, C., Sawadogo, S., Mauvoisin, D., & Mounier, C. (2008). Hepatic regulation of fatty acid synthase by insulin and T3: evidence for T3 genomic and nongenomic actions. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 295(4), E884-E894.
162. Horton, J. D., Shah, N. A., Warrington, J. A., Anderson, N. N., Park, S. W., Brown, M. S., & Goldstein, J. L. (2003). Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP

- target genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(21), 12027-12032.
163. Loftus, T. M., Jaworsky, D. E., Frehywot, G. L., Townsend, C. A., Ronnett, G. V., Lane, M. D., & Kuhajda, F. P. (2000). Reduced food intake and body weight in mice treated with fatty acid synthase inhibitors. *Science*, 288(5475), 2379-2381.
 164. Friedman, J. M. (2000). Obesity in the new millennium. *Nature*, 404(6778), 632-634.
 165. Tian, W. X., Ma, X. F., Zhang, S. Y., Sun, Y. H., & Li, B. H. (2011). Fatty acid synthase inhibitors from plants and their potential application in the prevention of metabolic syndrome. *Clinical Oncology and Cancer Research*, 8(1), 1-9.
 166. Kao, Y. H., Hiipakka, R. A., & Liao, S. (2000). Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate 1. *Endocrinology*, 141(3), 980-987.
 167. Davidson, N. O., & Shelness, G. S. (2000). Apolipoprotein B: mRNA editing, lipoprotein assembly, and presecretory degradation. *Annual review of nutrition*, 20(1), 169-193.
 168. Aragno, M., Tomasinelli, C. E., Vercellinato, I., Catalano, M. G., Collino, M., Fantozzi, R., ... & Boccuzzi, G. (2009). SREBP-1c in nonalcoholic fatty liver disease induced by Western-type high-fat diet plus fructose in rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 47(7), 1067-1074.
 169. Basseri, S., & Austin, R. C. (2011). Endoplasmic reticulum stress and lipid metabolism: mechanisms and therapeutic potential. *Biochemistry research international*, 2012.
 170. Brown, M. S., & Goldstein, J. L. (2008). Selective versus total insulin resistance: a pathogenic paradox. *Cell metabolism*, 7(2), 95-96.
 171. Malhotra, J. D., Miao, H., Zhang, K., Wolfson, A., Pennathur, S., Pipe, S. W., & Kaufman, R. J. (2008). Antioxidants reduce endoplasmic reticulum stress and improve protein secretion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(47), 18525-18530.
 172. Wang, M., Wey, S., Zhang, Y., Ye, R., & Lee, A. S. (2009). Role of the unfolded protein response regulator GRP78/BiP in development, cancer, and neurological disorders. *Antioxidants & redox signaling*, 11(9), 2307-2316.
 173. Lee, A. S. (2005). The ER chaperone and signaling regulator GRP78/BiP as a monitor of endoplasmic reticulum stress. *Methods*, 35(4), 373-381.
 174. Zhu, G., & Lee, A. S. (2015). Role of the unfolded protein response, GRP78 and GRP94 in organ homeostasis. *Journal of cellular physiology*, 230(7), 1413-1420.
 175. Sozen, E., Karademir, B., & Ozer, N. K. (2015). Basic mechanisms in endoplasmic reticulum stress and relation to cardiovascular diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 78, 30-41.
 176. Gregor, M. F., Yang, L., Fabbrini, E., Mohammed, B. S., Eagon, J. C., Hotamisligil, G. S., & Klein, S. (2009). Endoplasmic reticulum stress is reduced in tissues of obese subjects after weight loss. *Diabetes*, 58(3), 693-700.
 177. Lange, Y., and Steck, T.L. (2008). Cholesterol homeostasis and the escape tendency (activity) of plasma membrane cholesterol. *Prog. Lipid Res.* 47,319–332.

178. Feng, B., Yao, P. M., Li, Y., Devlin, C. M., Zhang, D., Harding, H. P., ... & Marks, A. R. (2003). The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages. *Nature cell biology*, 5(9), 781-792.
179. Liu, J., Jin, X., Yu, C. H., Chen, S. H., Li, W. P., & Li, Y. M. (2010). Endoplasmic reticulum stress involved in the course of lipogenesis in fatty acids-induced hepatic steatosis. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 25(3), 613-618.
180. Kozutsumi, Y., Segal, M., Normington, K., Gething, M. J., & Sambrook, J. (1988). The presence of malfolded proteins in the endoplasmic reticulum signals the induction of glucose-regulated proteins. *Nature*, 332(6163), 462-464.
181. Bhuvanewari, S., Yogalakshmi, B., Sreeja, S., & Anuradha, C. V. (2014). Astaxanthin reduces hepatic endoplasmic reticulum stress and nuclear factor- κ B-mediated inflammation in high fructose and high fat diet-fed mice. *Cell Stress and Chaperones*, 19(2), 183-191.
182. Dolai, S., Pal, S., Yadav, R. K., & Adak, S. (2011). Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in *Leishmania* through Ca²⁺-dependent and caspase-independent mechanism. *Journal of Biological Chemistry*, 286(15), 13638-13646.
183. Kaufman, R. J., Scheuner, D., Schröder, M., Shen, X., Lee, K., Liu, C. Y., & Arnold, S. M. (2002). The unfolded protein response in nutrient sensing and differentiation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 3(6), 411-421.
184. Herrema, H., Zhou, Y., Zhang, D., Lee, J., Hernandez, M. A. S., Shulman, G. I., & Ozcan, U. (2016). XBP1s Is an Anti-lipogenic Protein. *Journal of Biological Chemistry*, 291(33), 17394-17404.
185. Liu, X., Henkel, A. S., LeCuyer, B. E., Schipma, M. J., Anderson, K. A., & Green, R. M. (2015). Hepatocyte X-box binding protein 1 deficiency increases liver injury in mice fed a high-fat/sugar diet. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 309(12), G965-G974.
186. Hosoi, T., Korematsu, K., Horie, N., Suezawa, T., Okuma, Y., Nomura, Y., & Ozawa, K. (2012). Inhibition of casein kinase 2 modulates XBP1-GRP78 arm of unfolded protein responses in cultured glial cells. *PloS one*, 7(6), e40144.
187. Yoshida, H., Matsui, T., Yamamoto, A., Okada, T., & Mori, K. (2001). XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell*, 107(7), 881-891.
188. Liu, Y., Adachi, M., Zhao, S., Hareyama, M., Koong, A. C., Luo, D., ... & Shinomura, Y. (2009). Preventing oxidative stress: a new role for XBP1. *Cell Death & Differentiation*, 16(6), 847-857.

ÖZGEÇMİŞ

10/ 10/ 1981 Adana doğdu. İlk, orta, lise öğrenimimi Adana da tamamladı. 2009 yılında Yüzüncüyıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği bölümünden mezun oldu. 2010 yılında kısa dönem olarak vatani görevini tamamladı. 2013 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisansını tamamladı. Aynı zaman da KSÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda 2012-2013 yıllarında araştırma görevlisi olarak çalıştı. 2013 yılında Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. 2014 yılında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'na yatay geçiş yaptı. 2014 yılından beri Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır. 10'dan fazla ulusal projede araştırmacı olarak görev aldı. Ulusal kongrelerde 2 defa ödül aldı. Yayımlanmış 5 uluslararası, 3 ulusal makale, 23 ulusal-uluslararası sözlü/poster bildirisi mevcuttur. Evli ve 2 çocuk babasıdır.