

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOKİMYA VE GENETİK (TIP)  
ANABİLİM DALI



**YÜKSEK ENERJİLİ RASYONLA BESLENEN RATLARDA  
LİPOGENEZ YOLAĞINDAKİ BAZI GENLERİN EKSPRESYON  
SEVİYELERİ**

DOKTORA TEZİ

Hüseyin ÖZKAN

**Danışman**

Doç. Dr. Akın YAKAN

**HATAY-2018**

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOKİMYA VE GENETİK (TIP)  
ANABİLİM DALI

**YÜKSEK ENERJİLİ RASYONLA BESLENEN RATLARDA  
LİPOGENEZ YOLAĞINDAKİ BAZI GENLERİN EKSPRESYON  
SEVİYELERİ**

DOKTORA TEZİ

Hüseyin ÖZKAN

**Danışman**

Doç. Dr. Akın YAKAN

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
16380 nolu proje olarak desteklenmiştir.

**HATAY-2018**

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOKİMYA VE GENETİK (TIP)  
ANABİLİM DALI

**YÜKSEK ENERJİLİ RASYONLA BESLENEN RATLARDA  
LİPOGENEZ YOLAĞINDAKİ  
BAZI GENLERİN EKSPRESYON SEVİYELERİ**

Doktora Tezi  
Hüseyin ÖZKAN

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 01/02/2018 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında ~~oyçokluğu~~/oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi:** Jüri Başkanı: Prof. Dr. Ceyhan ÖZBEYAZ  
Üye: Prof. Dr. Necmettin ÜNAL  
Üye: Doç. Dr. Meral URHAN KÜÇÜK  
Üye: Doç. Dr. Akın YAKAN  
Üye: Yrd. Doç. Dr. Bülent ÖZSOY



Bu tez, Enstitümüz Moleküler Biyokimya ve Genetik (Tıp) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

.../.../2018  
Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitim sürecine başladığım günden itibaren bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen, gerek akademik gerek sosyal anlamda örnek aldığım, öğrencisi olmaktan gurur ve onur duyduğum değerli hocam Doç. Dr. Akın YAKAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora tez çalışmamın histopatolojik incelemelerinde laboratuvar aşamalarına ve sonuçların değerlendirilmesine yardımcı olan, tecrübelerinden faydalandığım Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Şule Yurdağül ÖZSOY hocama, tez çalışmamda kullandığım rasyonların düzenlenmesinde fikirlerini ve bilgilerini esirgemeyen Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Bülent ÖZSOY hocama, tez çalışmamın deneysel aşamalarında yardımcı olan Uzm. Hamdullah Suphi BAYRAKTAR, Ar. Gör. Aysel ERASLAN ŞAKAR ve Ar. Gör. İshak GÖKÇEK'e yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Mesleğimi seçmemde yolumu aydınlatan ve doktora eğitimim boyunca motivasyonumu hep yüksek tutmamı sağlayan, manevi olarak desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	XI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	XII
ÖZET	XV
ABSTRACT	XVI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Enerji Metabolizması ve Karaciğer	5
2.1.1. Yağ Kaynaklarının Kullanımı	7
2.1.2. Karbonhidrat Kaynaklarının Kullanımı	8
2.1.2.1. Sükrozun Kullanımı	8
2.1.2.2. Glikozun Kullanımı	9
2.1.2.3. Fruktozun Kullanımı	10
2.2. Gen Ekspresyonu	13
2.3. Genler	17
2.3.1. PPAR $\alpha$	17
2.3.2. LXR $\alpha$	19
2.3.3. ChREBP	21
2.3.4. SREBP-1c	23
2.3.5. AQP9	25
2.4. Protein Ekspresyonu	26
2.5. Biyokimyasal Parametreler	27
2.5.1. Glikoz	27
2.5.2. İnsülin	28
2.5.3. HDL	28

2.5.4. LDL	29
2.5.5. VLDL	29
2.5.6. Kolesterol	29
2.5.7. Trigliserit	30
2.5.8. ALT	30
2.5.9. AST	31
2.5.10. GGT	31
2.6. Karaciğer Histopatolojisi	31
3. GEREÇ ve YÖNTEM	33
3.1. Deneme Grupları ve Besleme Periyodu	33
3.2. RNA İzolasyonu	35
3.3. cDNA Sentezi	35
3.4. RT-qPCR Uygulaması	35
3.5. ELISA Uygulaması	37
3.6. Biyokimyasal Parametreler	37
3.7. Histopatoloji	37
3.8. İstatiksel Analiz	38
4. BULGULAR	39
4.1. Enerji Tüketimi ve Canlı Ağırlık Değişimi	39
4.2. Total RNA İzolasyonu Bulguları	44
4.3. RT-qPCR Sonuçları ve Gen Ekspresyonu Bulguları	47
4.4. Hedef Genlere Ait Protein Miktarları	65
4.5. Biyokimyasal Parametreler	66
4.6. Histopatoloji	68
5. TARTIŞMA	73
5.1. Enerji Tüketimi ve Canlı Ağırlık Değişimi	74
5.2. RT-qPCR Sonuçları ve Gen Ekspresyonu Bulguları	77
5.2.1. PPAR $\alpha$	77
5.2.2. LXR $\alpha$	79
5.2.3. ChREBP	81
5.2.4. SREBP-1c	82
5.2.5. AQP9	84

5.3. Hedef Genlere Ait Protein Miktarları	85
5.3.1. PPAR $\alpha$	85
5.3.2. LXR $\alpha$	86
5.3.3. ChREBP	87
5.3.4. SREBP-1c	89
5.3.5. AQP9	91
5.4. Biyokimyasal Parameterler	91
5.5. Histopatoloji	96
6. SONUÇ	98
7. KAYNAKLAR	101
EKLER	112
EK-1 Etik Kurul Kararı	112
ÖZGEÇMİŞ	113

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Dünya nüfusunun yıllara göre değişimi.....	5
Şekil 2.2. Glikozun SGLT1 aracılığıyla hücre içerisine alımı ve transferi.....	10
Şekil 2.3. Fruktoz ve glikozun hücre içine alımı.....	12
Şekil 2.4. Fruktozun ince barsaklara alındıktan sonra karaciğere gelerek metabolize edilişi.....	13
Şekil 2.5. RT-qPCR amplifikasyon eğrileri, Ct grafiği.....	15
Şekil 2.6. Melting Curve analizi.....	16
Şekil 2.7. PPAR yapısı.....	18
Şekil 2.8. PPAR $\alpha$ 'nın ligand bağımlı olarak RXR ile heterodimer oluşturması ve aktivasyonu.....	19
Şekil 2.9. LXR Yapısı.....	20
Şekil 2.10. ChREBP Aktivasyonu.....	23
Şekil 2.11. Karaciğerde LXR, ChREBP ve SREBP-1c'nin insülin ve glikoza bağlı olarak izlediği yollar.....	25
Şekil 4.1. K (Kontrol Grubu), Y (Yağ Grubu), S (Sükroz Grubu) ve F(Fruktoz Grubu) gruplarında canlı ağırlıklar.....	43
Şekil 4.2. Haftalık alınan ortalama metabolik enerji (kcal).....	43
Şekil 4.3. Kontrol grubundaki ratların karaciğer dokularından izole edilen total RNA görüntüleri.....	44
Şekil 4.4. Yağ grubundaki ratların karaciğer dokularından izole edilen total RNA görüntüleri.....	45
Şekil 4.5. Sükroz grubundaki ratların karaciğer dokularından izole edilen total RNA görüntüleri.....	45
Şekil 4.6. Fruktoz grubundaki ratların karaciğer dokularından izole edilen total RNA görüntüleri.....	45
Şekil 4.7. Kontrol grubundaki ratların kas dokularından izole edilen	



total RNA görüntüleri.....	46
Şekil 4.8. Yağ grubundaki ratların kas dokularından izole edilen total RNA görüntüleri.....	46
Şekil 4.9. Sükroz grubundaki ratların kas dokularından izole edilen total RNA görüntüleri.....	46
Şekil 4.10. Fruktoz grubundaki ratların kas dokularından izole edilen total RNA görüntüleri.....	47
Şekil 4.11. PPIA geninin karaciğer dokularındaki Ct grafiği.....	47
Şekil 4.12. PPIA geninin karaciğer dokularındaki erime eğrisi grafiği.....	48
Şekil 4.13. PPAR $\alpha$ geninin karaciğer dokularındaki Ct grafiği.....	48
Şekil 4.14. PPAR $\alpha$ geninin karaciğer dokularındaki erime eğrisi grafiği.....	48
Şekil 4.15. LXR $\alpha$ geninin karaciğer dokularındaki Ct grafiği.....	49
Şekil 4.16. LXR $\alpha$ geninin karaciğer dokularındaki erime eğrisi grafiği.....	49
Şekil 4.17. ChREBP geninin karaciğer dokularındaki Ct grafiği.....	49
Şekil 4.18. ChREBP geninin karaciğer dokularındaki erime eğrisi grafiği.....	50
Şekil 4.19. SREBP-1c geninin karaciğer dokularındaki Ct grafiği.....	50
Şekil 4.20. SREBP-1c geninin karaciğer dokularındaki erime eğrisi grafiği.....	50
Şekil 4.21. AQP9 geninin karaciğer dokularındaki Ct grafiği.....	51
Şekil 4.22. AQP9 geninin karaciğer dokularındaki erime eğrisi grafiği.....	51
Şekil 4.23. Karaciğer dokularında PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 gen ekspresyon seviyeleri.....	53
Şekil 4.24. PPIA geninin kas dokularındaki Ct grafiği.....	54
Şekil 4.25. PPIA geninin kas dokularındaki erime eğrisi grafiği.....	54
Şekil 4.26. PPAR $\alpha$ geninin kas dokularındaki Ct grafiği.....	55
Şekil 4.27. PPAR $\alpha$ geninin kas dokularındaki erime eğrisi grafiği.....	55
Şekil 4.28. LXR $\alpha$ geninin kas dokularındaki Ct grafiği.....	55
Şekil 4.29. LXR $\alpha$ geninin kas dokularındaki erime eğrisi grafiği.....	56
Şekil 4.30. ChREBP geninin kas dokularındaki Ct grafiği.....	56
Şekil 4.31. ChREBP geninin kas dokularındaki erime eğrisi grafiği.....	56
Şekil 4.32. SREBP-1c geninin kas dokularındaki Ct grafiği.....	57
Şekil 4.33. SREBP-1c geninin kas dokularındaki erime eğrisi grafiği.....	57
Şekil 4.34. AQP9 geninin kas dokularındaki Ct grafiği.....	57

Şekil 4.35. AQP9 geninin kas dokularındaki erime eğrisi grafiği.....	58
Şekil 4.36. Kas dokularında PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 gen ekspresyon seviyeleri.....	60
Şekil 4.37. PPIA geninin karaciğer dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü.....	61
Şekil 4.38. PPAR $\alpha$ geninin karaciğer dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü.....	61
Şekil 4.39. LXR $\alpha$ geninin karaciğer dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü.....	62
Şekil 4.40. ChREBP geninin karaciğer dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü.....	62
Şekil 4.41. SREBP-1c geninin karaciğer dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü.....	62
Şekil 4.42. AQP9 geninin karaciğer dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü.....	63
Şekil 4.43. PPIA geninin kas dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü.....	63
Şekil 4.44. PPAR $\alpha$ geninin kas dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü.....	63
Şekil 4.45. LXR $\alpha$ geninin kas dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü.....	64
Şekil 4.46. ChREBP geninin kas dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü.....	64
Şekil 4.47. SREBP-1c geninin kas dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü.....	64
Şekil 4.48. AQP9 geninin kas dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü.....	65
Şekil 4.49. Kontrol grubu; karaciğerde normal histolojik yapı.....	69
Şekil 4.50. Y grubu; santral vende hyalinöz materyal ve eritrositler ve yangısal hücre infiltrasyonu.....	70
Şekil 4.51. Y grubu; hepatositlerde parankim ve hidropik dejenerasyonu, yağ vakuelleri ile yangısal hücre infiltrasyonu.....	70

Şekil 4.52. Y grubu; hepatosit sitoplazmalarında keskin sınırlı yağ vakuelleri....	70
Şekil 4.53. S grubu; hepatositlerde balonumsu dejenerasyon.....	71
Şekil 4.54. S grubu; hepatositlerde eozinofilide artış ve sitoplazmada hiperkromazi, vena sentraliste eritrositler ve periferinde yangısal hücre infiltrasyonu, hepatositlerde hidropik dejenerasyon ve yağ vakuelleri.....	71
Şekil 4.55. F grubu; hepatositlerde yağ vakuelleri ile balonumsu dejenerasyon.....	71
Şekil 4.56. F grubu; vena sentraliste eritrosit biriki ile hyalinöz madde birikimi, sinüzoidal boşluklarda eritrosiler birikimi ile genişleme, yağlanma, hidropik dejenerasyon.....	72



## ÇİZELGELER

	Sayfa No
<b>Çizelge 3.1.</b> Gruplarda kullanılan rasyonların enerji miktarları.....	33
<b>Çizelge 3.2.</b> Temel rasyon ve yağlı rasyon içerikleri.....	34
<b>Çizelge 3.3.</b> Gen primerlerinin Forward ve Reverse dizileri.....	36
<b>Çizelge 4.1.</b> Besleme periyodu boyunca gruplardaki canlı ağırlık, toplam alınan enerji, tüketilen yem ve su miktarları.....	40
<b>Çizelge 4.2.</b> Karaciğer ve kas dokularından izole edilen total RNA'nın konsantrasyon ve saflık değerleri.....	44
<b>Çizelge 4.3.</b> Karaciğer dokularında PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 genlerinin kontrol grubuna göre kat değişimleri.....	52
<b>Çizelge 4.4.</b> Kas dokularında PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 genlerinin kontrol grubuna göre kat değişimleri.....	59
<b>Çizelge 4.5.</b> PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 protein miktarları.....	66
<b>Çizelge 4.6.</b> Bazı biyokimyasal parametreler.....	67
<b>Çizelge 4.7.</b> Karaciğerlerde gözlenen genel histopatolojik bulgular.....	69

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b><math>\alpha</math></b>	: Alfa
<b>ABCA1</b>	: ATP Binding Cassette Subfamily A Member 1
<b>ABCG1</b>	: ATP Binding Cassette Subfamily G Member 1
<b>ACC</b>	: Acetyl-CoA Carboxylase
<b>ACOX</b>	: Acyl-CoA Oxidase
<b>AF</b>	: Activation Function
<b>ALT</b>	: Alanine Aminotransferase
<b>APO</b>	: Apolipoprotein
<b>AQP</b>	: Aquaporin
<b>Asetil-CoA</b>	: Acetyl Coenzyme A
<b>AST</b>	: Aspartate Aminotransferase
<b>ATP</b>	: Adenosine Triphosphate
<b>B</b>	: Beta
<b>Bç</b>	: Baz Çifti
<b>Bp</b>	: Base Pair
<b>C</b>	: Karbon
<b>ChoRE</b>	: Carbohydrate Response Element
<b>ChREBP</b>	: Carbohydrate Response Element Binding Protein
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Karbondioksit
<b>CPT</b>	: Carnitine Palmitoyltransferase
<b>Ct</b>	: Treshold Cycle
<b>CYP7A1</b>	: Cytochrome P450 Family 7 Subfamily A Member 1
<b>CYP8B1</b>	: Cytochrome P450 Family 8 Subfamily B Member 1
<b>DEPC</b>	: Diethyl Pyrocarbonate
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>dnMlx</b>	: Dominant-negative Mlx
<b>ELISA</b>	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
<b>F<sub>2,6P</sub></b>	: Fructose-2,6-bisphosphate

<b>F6P</b>	: Fructose 6-phosphate
<b>FABP</b>	: Fatty Acid Binding Protein
<b>FAS</b>	: Fatty Acid Synthase
<b>FGF21</b>	: Fibroblast Growth Factor 21
<b>γ</b>	: Gamma
<b>G1P</b>	: Glucose 1-phosphate
<b>G6P</b>	: Glucose 6-phosphate
<b>GAPDH</b>	: Glyceraldehyde 3-phosphate Dehydrogenase
<b>GGT</b>	: Gamma-Glutamyl Transferase
<b>GLUT</b>	: Glucose Transporter
<b>GPAT</b>	: Glycerol-3-Phosphate Acyltransferase
<b>g</b>	: Gram
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilin Eozin
<b>H</b>	: Hydrogen
<b>HCL</b>	: Hidroklorik asit
<b>HDL</b>	: High Density Lipoprotein
<b>IDL</b>	: Intermedier Dansito Lipoprotein
<b>Insig-1</b>	: Insulin-induced gene 1 protein
<b>IP</b>	: İntraperitoneal
<b>K</b>	: Potasyum
<b>Kcal</b>	: Kilokalori
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>LDL</b>	: Low Density Lipoprotein
<b>LPL</b>	: Lipoprotein Lipase
<b>LXR</b>	: Liver X Receptor
<b>LXRE</b>	: LXR Response Element
<b>MAX</b>	: MYC Associated Factor X
<b>ME</b>	: Metabolik Enerji
<b>mg</b>	: Miligram
<b>miRNA</b>	: Micro RNA
<b>MLX</b>	: MAX-like Protein X
<b>MLXIPL</b>	: Max-like Protein X Interacting Protein Like

<b>mRNA</b>	: Messenger RNA
<b>MYC</b>	: MYC Proto-Oncogene
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>NaCl</b>	: Sodyum Klorür
<b>Ng</b>	: Nanogram
<b>NR1C1</b>	: Nuclear Receptor Subfamily 1 Group C Member 1
<b>NR1C2</b>	: Nuclear Receptor Subfamily 1 Group C Member 2
<b>NR1C3</b>	: Nuclear Receptor Subfamily 1 Group C Member 3
<b>NR1H2</b>	: Nuclear Receptor Subfamily 1 Group H Member 2
<b>NR1H3</b>	: Nuclear Receptor Subfamily 1 Group H Member 3
<b>O</b>	: Oksijen
<b>pH</b>	: Power of Hydrojen
<b>PPAR</b>	: Peroxisome Proliferator Activated Receptor
<b>PPIA</b>	: Peptidylprolyl Isomerase A, Cyclophilin A
<b>PPRE</b>	: Peroxisome Proliferator Responsive Element
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>rRNA</b>	: Ribosomal RNA
<b>RT-qPCR</b>	: Quantitative Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
<b>RXR</b>	: Retinoid X Receptor
<b>SCD1</b>	: Stearoyl-CoA Desaturase
<b>SGLT1</b>	: Sodyum Glikoz Transporter 1
<b>SREBP</b>	: Sterol Regulatory Element Binding Protein
<b>TAG</b>	: Triaçilgliserol
<b>TAQ</b>	: Thermus Aquaticus
<b>Tm</b>	: Melting Temperature
<b>tRNA</b>	: Transfer RNA
<b>USA</b>	: United States of America
<b>VLDL</b>	: Very Low Density Lipoprotein
<b>WHO</b>	: World Health Organisation, Dünya Sağlık Örgütü
<b>YFMS</b>	: Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu

## ÖZET

### **Yüksek Enerjili Rasyonla Beslenen Ratlarda Lipogenez Yolağındaki Bazı Genlerin Ekspresyon Seviyeleri**

Bu araştırma yağ, sükröz ve fruktoz kaynaklı yüksek enerjili rasyonların lipogenez yolağında görevli PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP ve SREBP-1c isimli transkripsiyon faktörleriyle AQP9 membran proteininin karaciğer ve kas dokularındaki aktivitelerinin gen ekspresyonu düzeyinde tespiti amacıyla yapılmıştır.

Araştırma 2017 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılmıştır. Araştırmanın hayvan materyalini yaklaşık 3 aylık yaşta Wistar Albino ratlar oluşturmuştur. Kontrol grubu (K), Yağ grubu (Y), Sükröz grubu (S) ve Fruktoz grubu (F) olmak üzere 4 grup rat (Her grup için n=8) 3 ay süreyle farklı rasyonlarla beslenmiştir. K grubu temel rasyonla (2600 kcal/kg), Y grubu yağlı rasyonla (3600 kcal/kg), S ve F grupları temel rasyona ilaveten 1 kcal/ml ME'li sükrözlu ve fruktozlu çözeltilerle *ad libitum* beslenmiştir.

Gruplarda araştırmanın başlangıcında canlı ağırlık bakımından farklılıklar önemsizken, araştırma sonunda K, Y, S ve F gruplarında canlı ağırlık ortalamaları sırasıyla 356,56±12,01 g; 360,40±7,59 g; 356,28±9,57 g ve 423,15±26,13 g olarak tespit edilmiş olup gruplar arası fark önemli olmuştur (P<0,05).

Deneme gruplarında ilgili genlerin ekspresyon miktarları K grubu ile kıyaslanarak kat değişimi olarak verilmiştir. Karaciğerde LXR $\alpha$ , S ve F gruplarında K grubuna göre 1,87±0,30 (P<0,05) ve 2,01±0,29 (P<0,01) iken, SREBP-1c Y, S ve F gruplarında sırasıyla 4,52±1,25 (P<0,05); 4,05±1,11 (P<0,05) ve 3,85±1,04 (P<0,05) olarak belirlenmiştir. AQP9, S ve F gruplarında 1,75±0,18 (P<0,01) ve 1,80±0,20 (P<0,01) olarak tespit edilmiştir. Kas dokuda ise F grubunda LXR $\alpha$  gen ekspresyonu 1,77±0,30 (P<0,05) iken SREBP-1c 2,71±0,56 (P<0,05) olmuştur.

İlgili genlerden kodlanan protein miktarları ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. F grubunda karaciğerde ortalama ChREBP (33,92±8,84 ng/mg protein (P<0,05)) ve SREBP-1c (135,16±15,57 ng/mg protein (P<0,001)) miktarlarının diğer gruplardan önemli düzeyde fazla olduğu tespit edilmiştir. Kas dokuda LXR $\alpha$  6,67±0,60 ng/mg protein (P<0,05), ChREBP 7,11±1,29 ng/mg protein (P<0,01) ve SREBP-1c 43,17±6,37 ng/mg protein (P<0,05) olmuştur. Gen ekspresyonu ve protein miktarları arasındaki farklılığın miRNA'lar gibi faktörlere bağlı şekillenmiş olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Rat, Yüksek enerji, Lipogenez, Gen ekspresyonu, Karaciğer



## ABSTRACT

### Expression Levels of Some Genes on Lipogenesis Pathway at High Level Energy Consumed Rats

The objectives of this research were to investigate the underlying mechanism of PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c transcription factors and AQP9 membrane protein at the level of gene expression with high-energy diets from fat, sucrose and fructose in liver and muscle tissues.

The study was conducted at Research and Application Center for Experimental Researches of Mustafa Kemal University in 2017. The study groups were consisted of Wistar Albino rats that were approximately 3 months old. There were four study groups (n=8 for per group): Control group (K), Fat Group (Y), Sucrose group (S), and Fructose group (F). Experimental groups were fed different diets for 3 months. Rats in K group were fed with basic diet (2600 kcal/kg); rats in Y group were fed with fatty diet (3600 kcal/kg); and rats in study groups S and F were fed basic diet and solution which contained sucrose and fructose containing 1 kcal/mL Metabolic Energy.

Body weights of rats were measured throughout the study. There were no significant differences for means of body weights among all the groups at the beginning of the study, while means of body weights in K, Y, S and F groups at the end of the study (356,56 $\pm$ 12,01; 360,40 $\pm$ 7,59; 356,28 $\pm$ 9,57 and 423,15 $\pm$ 26,13 g, respectively) were differed significantly (P<0,05).

Furthermore, gene expression quantities were compared between K group and the experimental groups, and were given as fold changes. Following experiment was done in which LXR $\alpha$  gene expression levels of S and F study groups were compared with that of K study group. Results were 1,87 $\pm$ 0,30 (P<0,05) and 2,01 $\pm$ 0,29 (P<0,01). In Y, S and F groups SREBP-1c levels have been detected that 4,52 $\pm$ 1,25 (P<0,05); 4,05 $\pm$ 1,11 (P<0,05) and 3,85 $\pm$ 1,04 (P<0,05), respectively. AQP9 levels have been detected 1,75 $\pm$ 0,18 (P<0,01) and 1,80 $\pm$ 0,20 (P<0,01) at S and F groups. LXR $\alpha$  gene expression levels in the F group was 1,77 $\pm$ 0,30 (P<0,05) and SREBP-1c was 2,71 $\pm$ 0,56 (P<0,05) at muscle tissues.

In this study, ELISA method was used to measure protein quantities that are encoded by related genes. Results indicated that, livers of rats in F study group was ChREBP (33,92 $\pm$ 8,84 ng/mg protein (P<0,05)) and SREBP-1c (135,16 $\pm$ 15,57 ng/mg protein (P<0,001)); protein levels were much higher than in other study groups. In muscle tissues, The protein amounts of LXR were 6,67 $\pm$ 0,60 ng/mg protein (P<0,05), ChREBP were 7,11 $\pm$ 1,29 ng/mg protein (P<0,01) and SREBP-1c were 43,17 $\pm$ 6,37 ng/mg protein (P<0,05), in F study group. This shows that differences between gene expression levels and protein amounts could occur due to other factors such as miRNAs.

**Keywords:** Rat, High energy, Lipogenesis, Gene expression, Liver

# 1. GİRİŞ

Sürdürülebilir sağlıklı yaşam, çok sayıda faktöre bağlı olmakla birlikte temel besin maddelerinin dengeli ve sürekli tüketimi ile mümkündür. Besin maddeleri, organizmada fizyolojik ve biyokimyasal olayları yöneten moleküler mekanizmaları etkiler. Diyetle alınan yağlar, karbonhidratlar ve proteinler organizmada birçok görevlerinin yanı sıra enerji kaynağı olarak kullanılırlar (Coşkun 2007, Guyton ve ark. 2007). Diyeti oluşturan maddeler ve bu maddelerin oranları birçok doku ve organı etkileyerek homeostazinin düzenlenmesinde rol oynarlar (Kim ve ark. 2004, Nakamura ve ark. 2014).

Besin maddeleri ile elde edilen enerji yaşamın sürdürülebilmesi için gereklidir. Diyetle alınan enerjinin fazlalığı ve/veya kullanımındaki yetersizlik, multifaktöriyel bir hastalık olan obeziteye yol açmaktadır. Obezite, WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından; vücutta sağlığı bozacak düzeyde aşırı miktarda yağ birikmesi olarak tanımlanmaktadır (WHO 2000). Obezite'nin karaciğer yağlanması, hiperlipidemi, koroner kalp hastalıkları, kalp krizi, hipertansiyon, diyabet ve kanser gibi birçok hastalığın oluşma riskini artırdığı ve dünya çapında yetişkin bireylerin % 20-25'inin obeziteyle ilişkili metabolik hastalıklara sahip olduğu bildirilmektedir (Yang ve ark. 2012, Hirako ve ark. 2015, Kogelman ve ark. 2015). Obeziteyle ilişkili hastalıklardan olan diyabet, 19. yy sonlarında 100 bin insanda 2-3 vaka olarak belirlenmişken, günümüzde nüfusun %7'den fazlasının diyabet hastası olduğu, 2020'de ise bu oranın ikiye katlanacağı tahmin edilmektedir (Johnson ve ark. 2007, WHO 2016).

Obezite ve obezite ile ilişkili hastalıklar bakımından yapılan araştırmalarda lipid ve karbonhidrat metabolizması üzerinde durulmaktadır. Obezite; yüksek yağ, şeker (glikoz+fruktoz) ve/veya fruktoz içeriğine sahip diyetlerin aşırı tüketimi ile ilişkilendirilmektedir. Yüksek enerjili diyetlerin uzun süreli tüketimi sonucu çeşitli metabolik hastalıkların oluştuğu bildirilmektedir (Ikemoto ve ark. 1996, Vidal-Alabro ve ark. 2012, Yang ve ark. 2012).

Değişen yaşam şartları dolayısıyla değişen beslenme şekli (yüksek enerjili batı tarzı diyet), günümüzde metabolizma ile ilişkili birçok hastalığın görülme sıklığını artırmıştır. Diyetle bulunan yüksek yağın obeziteyle ilişkili hastalıkları tetiklediği uzun bir süre kabul

görmüş olsa da son yıllarda yapılan çalışmalar bu hastalıkların oluşumundan yağlardan ziyade karbonhidratların sorumlu olduğunu ortaya çıkarmaktadır (Karaçor ve ark. 2014). Gerek sükroz gerekse fruktozun (meyve şekeri) gıdalarda yüksek miktarda kullanımıyla diyetle alınan toplam kalori miktarı artmaktadır. Organizmanın ihtiyacından fazla kalorinin alınması ve bu fazla kalorinin sükroz ve fruktoz gibi basit karbonhidratlardan sağlanması metabolik bozuklukların gelişmesini tetiklemektedir (Schultz ve ark. 2013).

Sükroz ve fruktoz yaklaşık olarak aynı metabolik enerjiye (sırasıyla 3950 kcal/kg ve 3750 kcal/kg) sahip olmasına rağmen metabolize edilmelerindeki farklılıklar yüzünden ayrı ayrı ve birlikte değerlendirilmesi gereken farklı 2 karbonhidratlardır (Samuel ve ark. 2011). Meyvelerde değişen oranlarda bulunan fruktoz, sükrozun yapısında bulunan bir şeker olsa da gıda endüstrisinde mısır nişastasından elde edilen glikozun enzimatik reaksiyonlarla dönüştürülmesi sonucu üretilerek birçok gıdada değişen oranlarda kullanılmaktadır. Sükroza göre daha ekonomik olduğu ve daha yüksek oranda (1,73 kat daha tatlı) tatlı hissettirdiği için üretimde daha çok tercih edilir hale gelmiştir. İçeriğindeki fruktozdan dolayı düşük glisemik indekse sahip olduğu bilinen yüksek fruktozlu mısır şurubu önceleri diyabet hastalarına alternatif bir tatlandırıcı olarak sunulmuştur. Ancak sonrasında yapılan çalışmalar YFMS (Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu) aracılığıyla alınan fruktozun insülin bağımsız olarak metabolize edilmesiyle trigliserit üretimini ve lipogenezi tetikleyerek kronik metabolik bozuklukların oluşumunu tetiklediğini ortaya koymuştur (Lopez-Rodriguez ve ark. 2015). Sükrozun yapısında bulunan diğer bir şeker ise glikozdur. Regülasyonu insüline bağımlı olan glikozun fazlası vücutta glikojen şeklinde depo edilmektedir (Samuel ve ark. 2011).

Epidemiyolojik çalışmalar, birçok hastalıkta tanı, tedavi ve korunma stratejileri bakımından büyük öneme sahiptir. Bununla birlikte günümüzde gelişen teknoloji ve bilim sayesinde moleküler çalışmalar ön plana çıkmıştır. Enerji metabolizmasının anlaşılmasında popülasyon düzeyinde yapılan çalışmalarla birlikte moleküler çalışmalar önem kazanmaktadır. Yeni bilim dalları olarak nutrigenomik ve nutrigenetik terimlerinin literatüre kazandırılması bu durumun göstergesidir (Ikemoto ve ark. 1996, Kussmann ve ark. 2006, Kogelman ve ark. 2015). Yapılan çalışmalar, düşük ve yüksek enerjili diyetlerle beslenmeyle metabolizma ile ilişkili dokularda çok sayıda genin ekspresyon düzeyinde değişim olduğunu göstermektedir. Metabolizmadaki aktivitenin, immun sistem, sinyal mekanizmaları, hücre döngüsü, apoptoz, transkripsiyon ve translasyon regülasyonu gibi birçok mekanizma ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Kim ve ark. 2004, Cao ve ark. 2012).

Karaciğer ve kas dokuları metabolik aktivitenin yoğun olduğu dokulardır. Bu aktivite lipogenez ve lipoliz yollarında görevli transkripsiyon faktörleriyle düzenlenmektedir. Transkripsiyon faktörleri diyetdeki enerji miktarına ve içeriğine (karbonhidrat, yağ, protein) göre değişmektedir. Bu transkripsiyon faktörlerinden bazıları metabolik hastalıkların tedavisinde hedef reseptörler olarak kullanılmaktadır. Diyet içeriğindeki karbonhidrat, yağ ve protein oranları ile monosakkarit (glikoz, fruktoz miktarları), yağ asidi (doymuş/doymamış yağ asidi miktarları) ve aminoasit (hayvansal, bitkisel aminoasit miktarları) miktarları bu transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini etkilemektedir (Denechaud ve ark. 2008, Burri ve ark. 2010).

Bu çalışmada diyet içeriğinin ve yüksek enerjinin karaciğer ve kas dokularında PPAR $\alpha$  (Peroxisome Proliferator Activated Receptor alpha), LXR $\alpha$  (Liver X Receptor alpha), ChREBP (Carbohydrate Response Element Binding Protein), SREBP-1c (Sterol Regulatory Element Binding Protein) transkripsiyon faktörlerinin ve AQP9 (Aquaporin 9) membran proteininin, mRNA ve protein düzeyinde incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

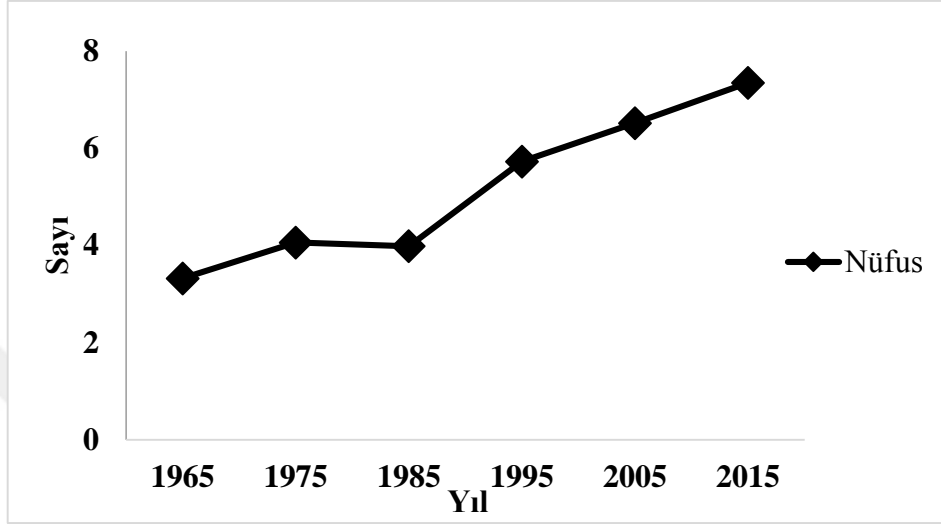
Yeryüzünde milyonlarca tür olduğu tahmin edilmektedir. Yaklaşık 200 bin yıldır var olan insan, 10-12 bin yıl önce avcı-toplayıcı yaşam şeklinden yerleşik hayata geçmiş, tarım ve hayvancılığa yönelmiştir (Anderson 2001, Tattersall 2009). Yakın geçmişten günümüze ise modern teknolojinin tarım, gıda ve hayvancılık endüstrilerine entegrasyonu ile besin maddelerine olan ulaşım kolaylaşmış ve bu durum insan sağlığında bazı değişimlere sebep olmuştur. Yaşam tarzındaki değişimlerle birlikte (daha az hareket etme gibi), diyetteki değişiklikler çeşitli metabolizma hastalıklarının ortaya çıkmasını tetiklemiştir (Johnson ve ark. 2007, Bauman ve ark. 2009).

Günümüzde sofraya şekeri olarak tüketilen ve birçok gıdada tatlandırıcı olarak kullanılan sükröz, ilk olarak Hindistan ve Yeni Gine’de şeker kamışından üretilmiştir. Uzun bir süre çok pahalı olan sükröz, 15. yy sonlarında birçok ülkede üretilmeye başlanmış, dolayısıyla ekonomik olarak daha kolay ulaşılabilir bir ürün haline gelmiştir (Johnson ve ark. 2007).

Tatlandırıcı olarak kullanılan diğer karbonhidrat kaynağı fruktozun en önemli kaynağı YFMS’dir. YFMS ilk olarak ABD’de 1970’li yıllarda üretilmiş ve üretim miktarı sürekli olarak artmıştır. Amilaz, glikoamilaz ve izomeraz enzimleri kullanılarak üretilen YFMS’de %42, %55 ve %90 gibi değişen oranlarda fruktoz bulunmaktadır. Fruktoz, bu şurupların gıdalarda doğrudan kullanımıyla ya da kristalizasyon işlemiyle yüksek saflıkta kristal hale getirilmesiyle tüketime sunulmaktadır (Karaoğlu 2014). Raf ömrü uzun, ekonomik ve tatlılık derecesi fazla olan bu şurup bisküvi, çikolata, reçel, meyve suyu ve gazlı içecekler gibi çeşitli işlenmiş ürünlerde sükrözle birlikte veya tek başına kullanılmakta ve bunun sonucunda diyetle birlikte değişen oranlarda fruktoz alınmaktadır (Johnson ve ark. 2007, Mock ve ark. 2017).

Dünya nüfusu 1965’te 3,3 milyar civarında iken, 1985’te yaklaşık 4 milyar, 2015’te ise 7,35 milyar olmuştur. Bu sayının 2050 yılında 10 milyara yaklaşması beklenmektedir (Şekil 2.1), (DeSA 2013, FAO 2017). Artan popülasyon neticesinde gıdaya dolayısıyla da sükröze ve fruktoza olan talep giderek artmakta bu yüzden her geçen gün daha fazla sükröz ve fruktoz üretilmektedir. Dünya şeker üretimi 19. yy ortalarında yıllık 250 bin ton iken, 20.

yy'de 8 milyon tona ulaşmıştır (Johnson ve ark. 2007). Günümüzde ise yıllık yaklaşık 170 milyon ton sükröz üretilmektedir. YFMŞ ise yıllık yaklaşık 15 milyon ton üretilmektedir (Suisse 2015).



Şekil 2.1. Dünya nüfusunun yıllara göre değişimi (milyar kişi)

## 2.1. Enerji Metabolizması ve Karaciğer

Enerji metabolizmasının regülasyonunda birçok doku ve organ görev almaktadır. Bununla birlikte karaciğer bu regülasyonda anahtar role sahiptir. Zira karaciğer metabolik enerjinin düzenlenmesinde merkez organ konumundadır (Vidal-Alabro ve ark. 2012, Rui 2014). Vücuttaki en büyük organ olan karaciğer, kan depolama, safra ve pıhtılaşma faktörlerinin üretimi, vitamin ve bazı minerallerin depolanması gibi önemli görevlere sahiptir. Bu organ, gıdalarla alınan karbonhidrat, yağ ve protein kökenli enerji kaynaklarının kullanımının yanı sıra ihtiyaç durumunda depo enerji kaynaklarını değerlendirerek organizmanın gereksinim duyduğu enerjiyi temin etmektedir. Organizmada kullanılan ana enerji kaynağı glikozdur. Bu yüzden çeşitli doku ve organlara ihtiyaç duyulan enerji karaciğerden glikoz olarak sağlanır. Gıdalarla alınan enerjinin yetersizliğinde ve/veya uzun süreli açlıklarda bu organda glikojenoliz yoluyla glikojenden, glukoneogenez yoluyla ise gliserol ve laktat gibi maddelerden glikoz üretilir. Bu yüzden karaciğer, enerji kaynaklarının

birbirine dönüşümünden önemli oranda sorumludur (Guyton ve ark. 2007, Vidal-Alabro ve ark. 2012).

Besin maddeleriyle alınan yağlar, yağ asitleri ve gliserole, karbonhidratlar basit şekere (fruktoz, glikoz gibi), proteinler ise aminoasitlere yıkılır. Oluşan bu ürünler Asetil-CoA ile sitrik asit döngüsüne girer. Bu metabolik olaylarda temel olarak H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> ve ATP rol alır. Alınan glikozun fazlası özellikle iskelet kası ve karaciğerde enerjinin depo şekli olan glikojene dönüştürülerek kısa süreli ihtiyaçların karşılanmasında enerji kaynağı görevi görür. Enerjinin uzun süreli depolanmasında ise lipogenez mekanizmaları devreye girer ve fazla enerji yağ şeklinde depolanır (Murray ve ark. 2004).

Glikoz, ince barsaklarda sindirilerek portal ven aracılığıyla karaciğere gelir ve burada glikojen, yağ asidi ve/veya aminoasitlerin metabolize edilmesinde kullanılır. Normal şartlarda kan glikoz seviyesi yüksek olduğunda pankreastan insülin hormonu salgılamakta, karaciğer insüline yanıt olarak kandaki glikozun bir kısmını glikojen olarak depolamaktadır. Glikojen depoları dolduğunda karaciğerde lipogenez başlamaktadır. Yağ asitlerinin sentezi olarak tanımlanan lipogenez beyin, akciğer ve adipöz dokularda da gerçekleşmekle birlikte öncelikli ve yoğun olarak karaciğerde gerçekleşen anabolik bir olaydır. Lipogenez'in hızı beslenmeye bağlı olarak değişmektedir. Fazla karbonhidrat içeren diyetler lipogenez hızlandırırken, yağ içeriği yüksek diyetler veya kalori miktarı düşük diyetler lipogenez hızını azaltmaktadır (Guyton ve ark. 2007, Vidal-Alabro ve ark. 2012).

Lipidler, karaciğerden VLDL (Very Low Density Lipoprotein) halinde dolaşıma verilerek diğer dokulara transfer edilir. Enerji ihtiyacının olduğu durumlarda pankreastan salgılan glukagon, glikojenoliz ve glukoneogenez ile glikoz üretimini tetikler. Aminoasitler ise organizmada enerji kaynağı olarak kullanılma hedefinden ziyade protein veya diğer moleküllerin üretiminde kullanılırlar (Guyton ve ark. 2007, Vidal-Alabro ve ark. 2012, Rui 2014).

Karaciğer lipogenik aktivitenin yoğun gerçekleştiği bir organ olduğu için enerji metabolizmasıyla ilgili çalışmalarda adipöz doku ile birlikte değerlendirilmektedir. Kas dokusu yüksek düzeyde lipogenik karakter göstermemektedir. Ancak yapılan son çalışmalar, obeziteyle ilişkili metabolik hastalıklarda, kas dokusundaki lipogenez aktivitesinin ve trigliserit oluşumunun enerji metabolizmasında önemli rol oynadığını ortaya koymuştur. Diyete bağlı gelişen hastalıklar bakımından karaciğer ve adipöz dokunun yanı sıra kas

dokudaki metabolik aktivitenin değerlendirilmesinin de önemli olacağı düşünölmüştür (Kamei ve ark. 2008).

### **2.1.1. Yağ Kaynaklarının Kullanımı**

Kolesterol, fosfolipid ve trigliseritler (nötral yağlar), genel olarak lipidler (yağlar) olarak sınıflandırılmıştır. Diyetle alınan lipidlerin çoğu trigliseritlerden oluşmakla birlikte az miktarda kolesterol ve fosfolipid içermektedir. Trigliserit ve fosfolipitler basit uzun zincirli yağ asitlerinin birleşimiyle oluşmaktadırlar (Guyton ve ark. 2007).

Trigliseritler, üç yağ asidi ve bir gliserolden meydana gelir. Diyetle alındıktan sonra lingual lipaz ve gastrik lipaz enzimleri ile az miktarda sindirilen trigliseritlerin asıl sindirim yeri ince barsaklardır. Yağlar ince barsaklarda safra tuzlarının da etkisiyle emölsifiye hale getirilerek hidroliz olurlar. Pankreatik lipaz enzimi aracılığıyla oluşan lipid komponentleri, ince barsaklarda barsak epitel hücreleri tarafından emilir ve bu hücrelerde tekrar sentezlenerek protein, kolesterol ve fosfolipitlerden oluşan şilomikronlar vasıtasıyla taşınırlar. Suda çözünmeyen lipid komponentleri karaciğer ve adipöz dokuda lipoprotein lipaz (LPL) enzimi sayesinde yağ asitleri ve gliserole parçalanırlar. Oluşan yağ asitleri karaciğer ve adipöz dokuya giderek hepatosit ve adipositlere girer. Yağ asitleri hepatositlerin mitokondrilerinde  $\beta$ -oksidasyona uğrayarak Asetil-CoA'ları meydana getirir. Asetil-CoA, sitrik asit döngüsüne girerek okside olur ve enerjiye dönüşür. Meydana gelen Asetil-CoA'ların bir kısmı iki Asetil-CoA'nın bileşimiyle oluşan Asetoasetik asit şeklinde, çok sayıda doku ve organ tarafından alınmak üzere karaciğer hücrelerinden hücre dışı sıvılara verilir. Diğer doku ve organlara ulaşan Asetoasetik asit ise tekrar Asetil-CoA'ya dönüşerek ilgili dokuda enerji kaynağı olarak kullanılır (Guyton ve ark. 2007).

Kolesterol ise karaciğerde büyük oranda safra tuzlarına dönüştürölür ve safrada depolanır. Kalan kısmı lipoproteinler şeklinde dolaşıma verilir ve hedef doku ve organlarda bulunan hücrelerin zar ve diğer komponentlerinin oluşumunda kullanılır.

Önceki çalışmalarda, tipik bir diyetle yüksek miktarda yağ bulunması durumunda obezite ve insölin direnci gelişiminin tetiklendiği bildirilse de son zamanlarda yapılan çalışmalarda diyetle bulunan yağın %10'dan fazla bulunması halinde lipogenezin baskılandığı savunulmaktadır. Ayrıca diyet yağ asidi içeriğinin lipogenez mekanizmasının



kontrolünde önemli olduğu bildirilmektedir (Ikemoto ve ark. 1996, Küçükkaya 2008, Nishikata ve ark. 2011, Duarte ve ark. 2014).

### **2.1.2. Karbonhidrat Kaynaklarının Kullanımı**

C, H ve O moleküllerinin farklı oranlarda birleşmesiyle oluşan karbonhidratlar organizmanın enerji gereksinimi bulunduğu durumlarda ilk tercih edilen enerji kaynaklarıdır. Karbonhidratlar, içerdikleri şekerlere göre monosakkarit, disakkarit ve polisakkaritler olarak üç gruba ayrılırlar. En küçük karbonhidratlar olan monosakkaritler glikoz, fruktoz, galaktoz ve riboz gibi basit şekerlerdir. İki monosakkaritin birleşmesiyle maltoz, laktoz ve sükroz gibi disakkaritler, çok sayıda monosakkaritin birleşimiyle ise nişasta, selüloz ve glikojen gibi polisakkaritler oluşur (Guyton ve ark. 2007).

Karbonhidratlar diyetin ana enerji kaynağını oluştururlar. Normal bir diyetin yaklaşık %60'ı karbonhidratlardan oluşmaktadır. Diyetle alınan karbonhidratların sindirimi ağızda  $\alpha$ -amilaz (pityalin) ile başlar. Bununla birlikte bu enzimin sindirim etkisi düşüktür. Mide pH'sının düşüklüğü  $\alpha$ -amilaz'ın inaktif olmasına neden olur. Mideyi geçerek duodenojejunal bölgeye gelen karbonhidratlar burada pankreatik amilaz, maltaz, laktaz ve sükraz gibi enzimler vasıtasıyla monosakkaritlere dönüşürler ve ince barsaklardan glikoz, fruktoz ve galaktoz halinde emilirler. Diyetle alınan karbonhidratlar fazla olmaları durumunda karaciğerde glikolize uğrayarak yağ asitlerine dönüşürler. Oluşan yağ asitleri TAG (Triacylglycerol) ve VLDL halinde karaciğer ile diğer dokularda enerji kaynağı olarak depolanırlar (Guyton ve ark. 2007, Wang ve ark. 2015).

#### **2.1.2.1. Sükrozun Kullanımı**

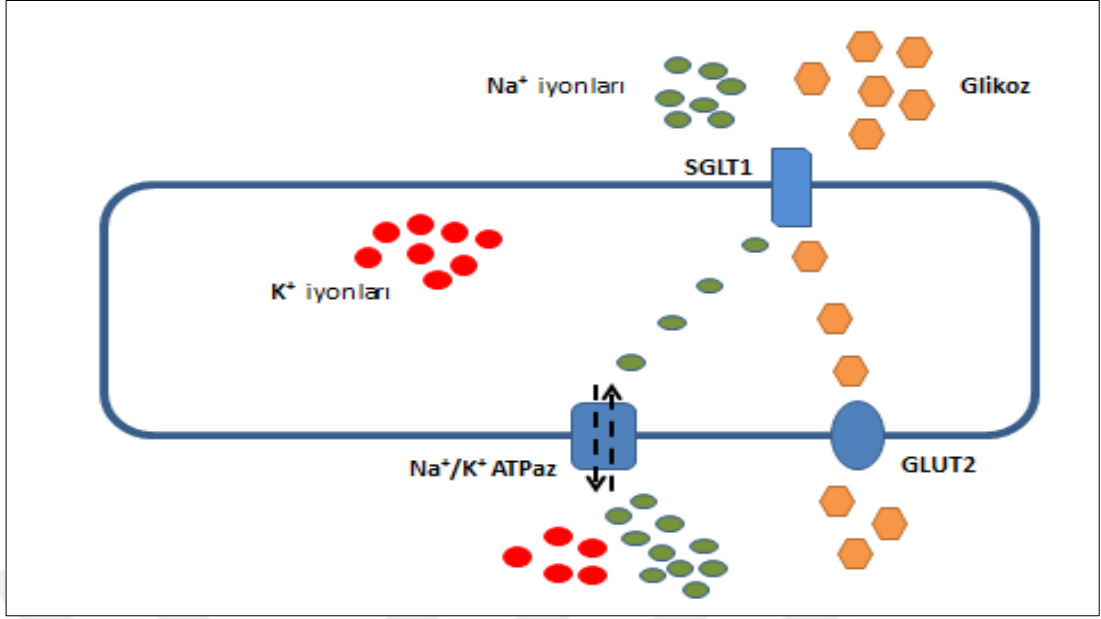
Kapalı formülü  $C_{12}H_{22}O_{11}$  olan sükroz bir molekül glikoz ve bir molekül fruktoz'un bir araya gelmesiyle oluşan bir disakkarittir. Beyaz renkte ve kokusuz olan sükroz parlak bir yapıya sahiptir. Birçok bitkide değişen oranlarda bulunan bu disakkarit, şeker kamışı ve şeker pancarından elde edilmektedir. Nişastada bol miktarda bulunan sükroz, ince

barsaklarda sükröz enzimi ile hidrolize olur ve monosakkaritlerine ayrılır (Guyton ve ark. 2007).

### 2.1.2.2. Glikozun Kullanımı

Glikoz  $C_6H_{12}O_6$  kapalı formülüne sahiptir. Birinci karbonunda aldehit grubu bulunmaktadır. Vücutta özellikle beyin dokusu için en önemli enerji kaynağı olan glikoz genellikle sükrözün monosakkaritlerine ayrılması sonucu açığa çıkmaktadır. Bu monosakkarit, ince barsaklarda SGLT1 (Sodyum Glikoz Transporter 1) isimli taşıyıcı proteinleri sayesinde enterositlere alınır. Glikoz alımı ortamdaki Na/K oranına bağlıdır. SGLT1,  $Na^+$  ve glikozun bağlanması için özel reseptörlere sahiptir.  $Na^+$  bu proteine bağlandıktan sonra proteinin yapısında konformasyonel bir değişim gerçekleşir. Böylece glikozun bu proteine bağlanması kolaylaşır.  $Na^+$  hücre içerisinde SGLT1 taşıyıcı proteininden uzaklaşır ve bunun sonucunda bu proteinin glikoza olan ilgisi azalır ve protein glikozu bırakır. Bu işlem ATP hidrolizi gerektirir. Hücre içerisine giren glikoz basit ve kolaylaştırılmış difüzyonla dolaşıma geçer (Şekil 2.2), (Gürdöl ve Ademoğlu 2006, Guyton ve ark. 2007). Diyetle alınan glikozun yaklaşık %70'i sistemik dolaşıma verilirken %30'u karaciğere gelir. Dolaşımdaki glikozun %40'ı iskelet kası, %20'si beyin ve kalan %20'si ise adipöz doku, böbrek, deri ve kan hücreleri tarafından kullanılır (Triplitt 2012).

Enterositlerden portal ven ile karaciğere gelen glikoz burada GLUT2 proteinleri aracılığıyla hepatositlere alınır. Glikozun hücrelere taşınma hızı ve kullanımı pankreastaki  $\alpha$  ve  $\beta$  hücrelerinden salınan glukagon ve insülin hormonlarına bağlıdır. Plazma glikoz miktarı arttığında insülin salınarak dokular tarafından glikoz alımı uyarılır ve dokularda özellikle de karaciğerde glikoz üretimi baskılanır. İnsülin, tokluk hormonu olarak bilinen leptinin salınımını artıran bir hormondur. Glikoza bağlı olarak insülin miktarı artınca leptin miktarında da artış gerçekleşir ve böylece leptin doyma hissi oluşturarak yem tüketimini azaltır (Guyton ve ark. 2007, Tappy ve Le 2010).



**Şekil 2.2.** Glukozun SGLT1 aracılığıyla hücre içerisine alımı ve transferi (Tappy ve Le (2010)'den uyarlanmıştır).

Dokularda değişen oranlarda glikojen olarak depolanan glukoz karaciğerde glukokinaz enzimi, diğer dokularda ise heksokinaz enzimi aracılığıyla fosforillenerek enerji, glikojen ve yağ üretimi için kullanılır. Hepatositler ağırlıklarının % 5-8'i kadar glikojeni depo edebilirken kas hücrelerinde bu oran % 1-3 civarındadır. Glukozun hepatositlerde yıkılmasıyla laktat, piruvat, Asetil-CoA gibi maddeler oluşur. Bu maddelerle lipogenez uyarılır (Şekil 2.3).

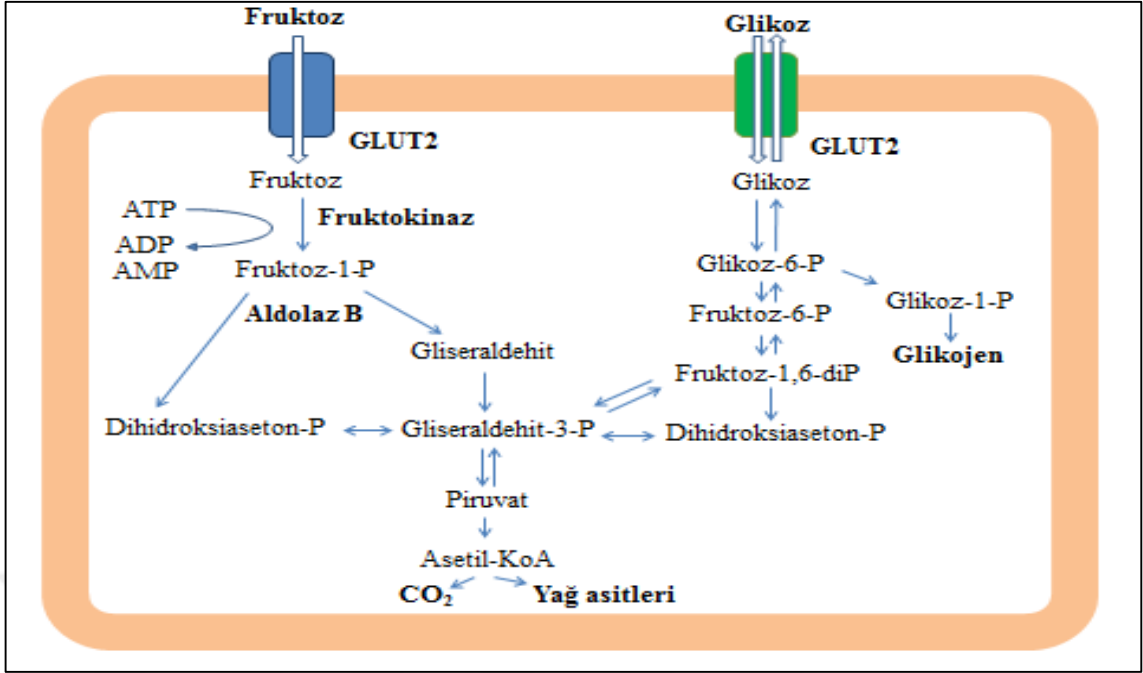
### 2.1.2.3. Fruktozun Kullanımı

Meyve şekeri olarak bilinen fruktozun kapalı formülü glukozun kapalı formülüne benzerdir. Kimyasal olarak birinci karbondaki aldehit grubu yerinde ikinci karbonunda bir keton grubu bulundurmasıyla glukozdan ayrılır. Gıdalarda daha çok tatlandırıcı olarak kullanılan fruktoz en çok sükröz ve YFMS' de bulunmaktadır. Fruktozun tatlandırıcı olarak kullanılmasının iki önemli sebebi vardır. Bunlardan birincisi ekonomik olması, ikincisi ise sükrözden 1,73 kat daha fazla tatlılık hissi vermesidir. Bununla birlikte diyetle bulunan diğer maddelerin tatlılıklarını da artırmaktadır (Hanover ve White 1993).

Diyetle vücuda alınan fruktoz ince barsaklarda GLUT5 adı verilen fruktoz-spesifik taşıyıcı proteinleri sayesinde kolaylaştırılmış difüzyonla enterositlere alınır. Glikozun aksine fruktoz emilimi için  $\text{Na}^+$  ve ATP hidrolizi gerekmez. Enterositlerin içerisine alınan fruktozun bir kısmı laktat'a dönüşerek portal dolaşıma verilirken bir kısmı da trioz fosfatlar sayesinde glikoza dönüşür. Önemli miktarda fruktoz enterositlerde GLUT2 taşıyıcı proteinleri aracılığıyla kana geçer. Dolaşımla hızlı bir şekilde karaciğere gelen fruktoz burada GLUT2 taşıyıcı proteinleriyle hepatositlere alınır. Hepatositlerde kendisi için spesifik bir enzim olan fruktokinaz ile Fruktoz-1-fosfata dönüşür (Tappy ve Le 2010). Fruktoz-1-fosfat, Aldolaz B enzimiyle gliseraldehit ve dihidroksiaseton fosfat'a, oluşan bu ürünlerde gliseraldehit-3-fosfata dönüşür. Ortaya çıkan ürünler glukoneogenez ile glikoza veya piruvat üzerinden Asetil-CoA ve yağ asitlerine çevrilir (Şekil 2.3).

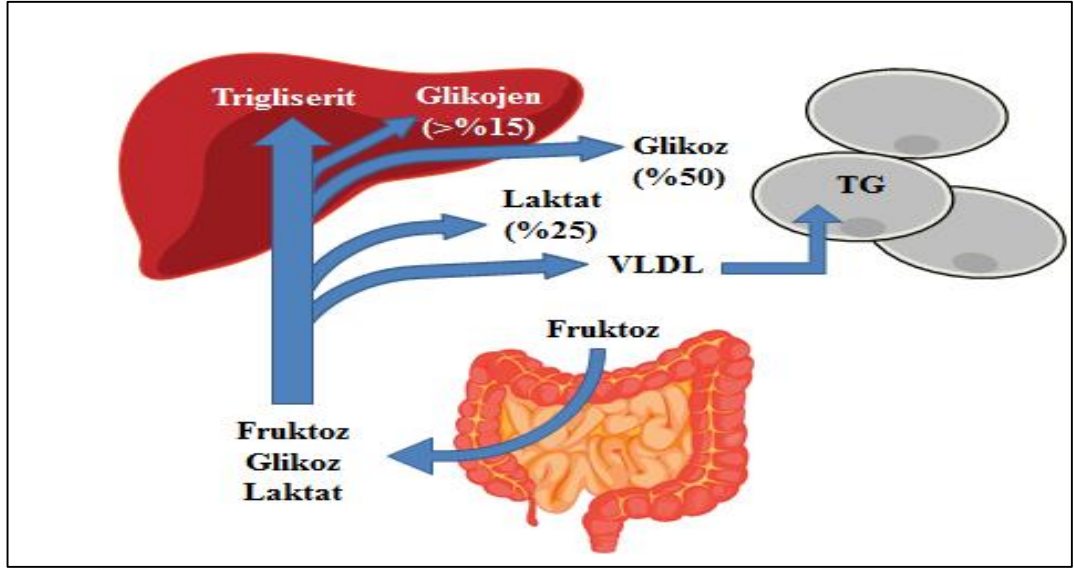
Glikoz aktif transport ile emilirken fruktoz kolaylaştırılmış difüzyon ile ince barsak epitel hücrelerine alınır ve dolaşıma verilir. Metabolize edilirken hız kısıtlayıcı denetim noktası olan fosforuktokinaz basamağını atlayan fruktoz karaciğerde glikoza göre daha hızlı bir şekilde gliserol-3-fosfat ve Asetil-CoA oluşumuna sebep olur. Bu durum lipogenezin daha hızlı bir şekilde gerçekleşmesine yol açar (Elliot ve ark. 2002, Tappy ve Le 2010).

Fruktozun taşınması için gerekli olan GLUT5 reseptörleri pankreastaki  $\beta$  hücrelerinde bulunmamaktadır. Bu durum fruktozun insülininden bağımsız metabolize edilmesine yol açmakta ve leptin salınımı fruktoza bağlı olarak değişmemektedir. Ayrıca iştah hormonu olarak bilinen ghrelin, fruktoz tarafından baskılanmamaktadır (Guyton ve ark. 2007, Tappy ve Le 2010).



Şekil 2.3. Fruktöz ve glikozun hücre içine alımı (Tappy ve Le (2010)'den uyarlanmıştır).

Karaciğerde fruktoz yaklaşık olarak %50 oranında glikoza, % 25 oranında laktata, %15 oranında glikojene, çok küçük bir kısmı ise serbest yağ asitlerine dönüşmektedir (Şekil 2.4). Bu yüzden fazla miktarda fruktozun glikoz, laktat ve yağ asidi üretiminin artmasına sebep olarak yağ dokusunun artışı, karaciğer yağlanması ve insülin direnci gelişimine neden olduğu savunulmaktadır (Korkmaz 2008, Stanhope ve Havel 2008, Pang ve ark. 2016).



**Şekil 2.4.** Fruktozun ince barsaklara alındıktan sonra karaciğere gelerek metabolize edilmesi (Tappy ve Le (2010)'den uyarlanmıştır).

## 2.2. Gen Ekspresyonu

Hücreler DNA'da bulunan bilgiyi proteine dönüştürmek için aracı molekül olarak RNA'ları kullanırlar. Genetik bilgi DNA'dan transkripte olarak RNA'ya, RNA'dan ise translasyona uğrayarak protein'e dönüştürülür. Yaşam faaliyetinin sürekliliği birçok faktöre bağlı olmakla birlikte RNA aktivitesine bağlıdır. RNA molekülleri fonksiyonlarına ve moleküler büyüklüklerine göre sınıflandırılmaktadırlar. tRNA (Transfer RNA), mRNA (Messenger RNA) ve rRNA (Ribozomal RNA) gibi protein üretiminde öncü olan büyük RNA molekülleriyle birlikte kodlama yapmayan ancak post-transkripsiyonel modifikasyon gibi moleküler işlemlerde görev alan RNA molekülleri de bulunmaktadır. Memelilerde genomun yaklaşık %3'ü protein kodlama amacıyla üretilen RNA'ları kapsamaktadır. Proteine dönüşmek üzere üretilen RNA molekülleri ise mRNA'lardır (Alberts ve ark. 2008, Malone ve Hannon 2009).

Günümüzde gelişen teknoloji ile birlikte fizyolojik ve biyolojik birçok olayı aydınlatmada genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik gibi -omik çalışmaları ön plana çıkmıştır. Bu çalışmalar sayesinde çeşitli hücre ve dokulardaki DNA, RNA ve protein aktivitelerinin belirlenebilmesi mümkün olmuştur. Hücredeki bilgi akışının değerlendirilmesiyle hücre ve/veya dokulardaki fizyolojik aktivite hakkında bilgi sahibi

olunabilmektedir. Birçok çalışmada olduğu gibi metabolizma ile ilgili çalışmalarda da RNA düzeyinde moleküler çalışmalara başvurulmakta, transkripsiyon ve translasyon düzeyinde araştırmalar yapılmaktadır.

Çevresel faktörlerin etkisiyle oluşan fizyolojik ve patolojik durumlar hücrelerde çeşitli RNA'ların ekspresyon düzeylerini değiştirmektedir. Bu değişikliklerin tespit edilmesinde Northern Blot, Mikroarray ve RT-qPCR (Quantitative Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) gibi teknolojilerden yararlanılmaktadır. Gen ekspresyon çalışmalarında, yüksek sensitivite ve spesifite ile çalışmaya olanak sağlayan RT-qPCR teknolojisi ön plana çıkmıştır. Bu teknolojiye, DNA'ya bağlanarak ışığa yapan SYBR Green I, SYTO9 gibi boyalar veya sinyal oluşturan prob diziler kullanılmaktadır. RT-qPCR bu boya ve problemlerin kullanımıyla PCR reaksiyonunun her siklusundan sonra oluşan ürün miktarının gerçek zamanlı olarak tespit edilebilmesine olanak sağlamaktadır (Ausubel ve ark. 2002, Vandesompele ve ark. 2002).

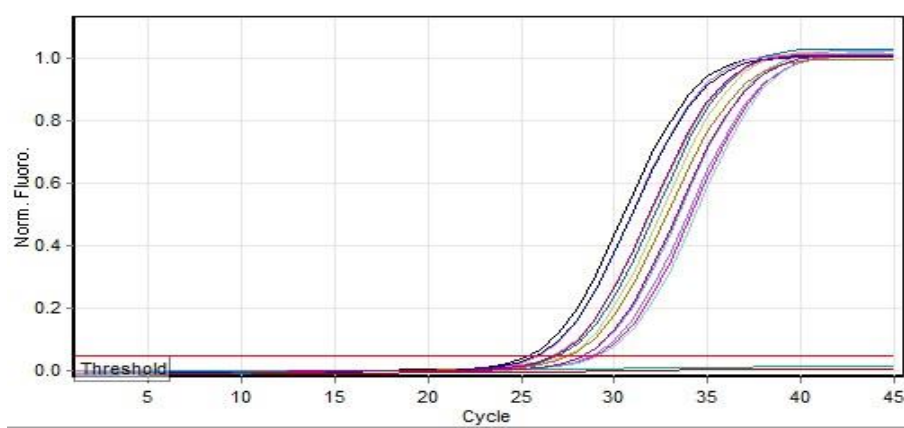
RT-qPCR ile hücre ve dokulardaki gen ekspresyon düzeyleri hakkında fikir sahibi olmak için bu hücre ve dokulardan RNA molekülleri izole edilir. İzolasyonun prensibi farklı oranlarda guanidyum tiyosiyonat, fenol ve kloroform kimyasallarının kullanılmasıyla protein, yağ ve diğer moleküllerin uzaklaştırılmasına ve RNA'nın saf olarak elde edilmesine dayanmaktadır. İlgili işlemler gerçekleşirken RNA'nın bütünlüğü korunmaktadır. Zira RT-qPCR çalışmalarında RNA'nın miktarı ve saflığının yanı sıra bütünlüğü de oldukça önemli bir faktördür. İzole edilen RNA moleküllerinin saflıkları  $A_{260}/A_{280}$  oranının hesaplanmasıyla spektrofotometrik olarak belirlenmektedir. Nükleik asitler maksimum absorbanı 260 nm'de proteinler ise 280 nm'de gösterirler. Bu oranın 2.00 civarında olması ürünün yeterince saf olduğu anlamına gelmektedir. RNA bütünlüğü elektroforetik yöntemlerle kontrol edilebilmekte ve 28S ile 18S rRNA alt ünitelerinin bütünlükleri ve oranları kalite kontrol parametreleri olarak değerlendirilmektedir. RNaz aktivitesine karşı oldukça hassas olan RNA molekülleri, bütünlüklerinin bozulması durumunda yanlış sonuçlar elde edilmesine sebep olabilmektedir (Fleig ve Pfaffl 2006).

Saflık ( $A_{260}/A_{280} > 1.7$ ) ve bütünlük (28S ve 18S bant bütünlükleri) bakımından uygun olan örneklerden yeterli konsantrasyonda olmaları halinde cDNA (complementary DNA) elde edilir. Bu prosedür enzim (Taq polimeraz gibi), dNTP, oligo ve random primerler içermektedir. cDNA elde edildikten sonra hedef genlerin ekspresyon miktarlarının

belirlenmesi amacıyla ilgili genler için spesifik olan primerler ve SYBR Green I gibi çift zincirli DNA'ya bağlandığında ışığa yayan boyalar kullanılır.

Hücre ve dokulardaki gen ekspresyonunu belirlemede tam (Absolute) ve göreceli (Relative) ölçüm olmak üzere iki yöntem kullanılmaktadır. Tam ölçüm yönteminde tespit edilen kopya sayısı ile kullanılan genin ekspresyon miktarı standart bir eğriye dayanarak tam olarak belirlenmektedir. Göreceli ölçümde ise hedef genle birlikte referans gen ya da genler kullanılarak hedef genin referans gene göre göreceli ekspresyonu hesaplanır. Her döngü sonrasında oluşan ürün miktarını gösteren floresan miktarının, belirlenen eşik değerini geçtiği nokta eşik döngüsü (Threshold Cycle, Ct) olarak adlandırılır (Şekil 2.5). Ct değeri çoğaltım sırasında üründeki ilk anlamlı artışın olduğu zamanı ifade etmektedir. Göreceli ölçümle yapılan ekspresyon çalışmalarında en sık kullanılan hesaplama yöntemi  $2^{-\Delta\Delta CT}$  metodudur. Ekspresyon düzeyi belirlenmek istenen genin kopya sayısı referans gen/genlere göre normalize edilerek deneme ve kontrol örnekleri arasındaki ilişki kat değişimi olarak hesaplanmaktadır (Ausubel ve ark. 2002, Fleig ve Pfaffl 2006, Schmittgen ve Livak 2008, Rao ve ark. 2013).

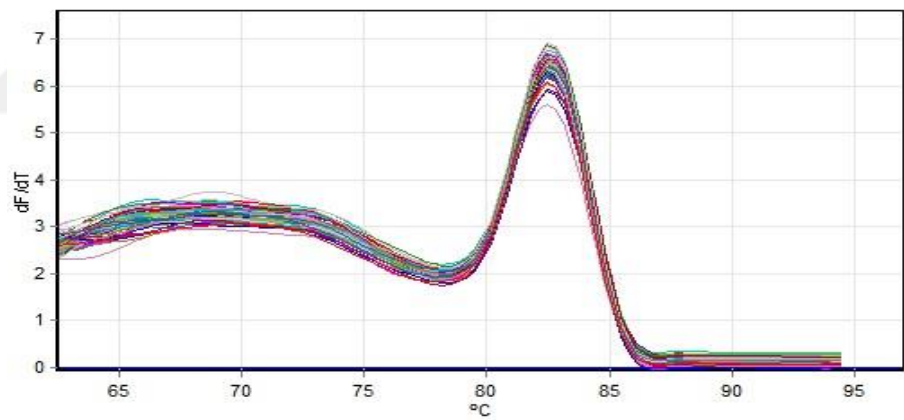
Referans olarak kullanılan genler ilgili fizyolojik ve patolojik durumlarda ekspresyon düzeyi değişmeyen ya da çok az miktarda değişen genlerdir (Schmittgen ve Livak 2008). Gen ekspresyonu çalışmalarında GAPDH (Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) ve ACTB ( $\beta$ -actin) gibi genler referans gen olarak kullanılmaktadır. Yaygın olarak kullanılan bu genlerin geçerliliği üzerine son zamanlarda yapılan çalışmalar referans gen olarak kabul görmüş her genin her çalışmada uygun olmayacağını ortaya koymuştur (Ausubel ve ark. 2002, Fleig ve Pfaffl 2006, Bar ve ark. 2009, Tong ve ark. 2009, Turabelidze ve ark. 2010).



Şekil 2.5. RT-qPCR amplifikasyon eğrileri, Ct grafiği



RT-qPCR reaksiyonu sonrasında elde edilen PCR ürününün kontrolü yine elektroforetik olarak belirlenmektedir. Hedef gende çoğaltılması istenen spesifik bölgenin uzunluğu (dizi uzunluğu), referans diziler içeren ladder'lar aracılığıyla kontrol edilmektedir. Özgül olmayan gen bölgesinin çoğaltılıp çoğaltılmadığı ve primer-dimer gibi non-spesifik ürün varlığının kontrolü için elektroforetik yöntemlerle birlikte melting curve (erime eğrisi) analizi yapılarak da bilgi sahibi olunabilmektedir. Her çift zincirli DNA bölgesinin özgül bir erime sıcaklığı (melting temperature,  $T_m$ ) değeri bulunmaktadır. Bu değer çift zincirli DNA'nın yarısının tek zincirli hale gelmesi için gereken sıcaklık değeridir (Şekil 2.6). Amplifikasyon reaksiyonu sonunda ürün sıcaklığı kademeli bir şekilde yükseltilerek floresans miktarı belirlenir. DNA sıcaklıkla birlikte çift zincirli halden tek zincirli hale geçerken, DNA'ya bağlanarak ışımaya yapan boya serbestlenir. Buna bağlı olarak ölçülen floresans miktarı azalır. Bu sayede melting curve'den yararlanılarak gene özgü  $T_m$  değeri belirlenebilmektedir (Wong ve Medrano 2005, Alberts ve ark. 2008).



Şekil 2.6. Melting Curve analizi

## 2.3. Genler

### 2.3.1. PPAR $\alpha$

Organizmada lipid sensörleri gibi davranan PPAR'lar 1990'lı yıllarda tanımlanmıştır. Nükleer reseptör süper familyasının üyelerinden olan bu transkripsiyon faktörleri 3 alt üyeden oluşmaktadır. Bu üyeler PPAR $\alpha$  (NR1C1, Nuclear Receptor Subfamily 1 Group C Member 1), PPAR $\beta/\delta$  (NR1C2, Nuclear Receptor Subfamily 1 Group C Member 2) ve PPAR $\gamma$  (NR1C3, Nuclear Receptor Subfamily 1 Group C Member 3)'dır. PPAR $\alpha$  ve PPAR $\gamma$  türler arasında yüksek düzeyde korunan PPAR üyeleridir (Isseman ve Green 1990). PPAR'lar hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması, lipid ve karbonhidrat metabolizması, enerji regülasyonu ve bağışıklık sistemi gibi homeostazinin sağlanmasında oldukça önemli görevler alırlar (Frazier-Wood ve ark. 2013). Fibrat (PPAR $\alpha$  agonisti) ve thiazolidinedione (PPAR $\gamma$  agonisti) gibi farmakolojik ajanlar PPAR agonisti olarak tip 2 diyabet ve hiperlipidemi gibi metabolik bozuklukların tedavisinde kullanılan sentetik PPAR agonistleridir (Koo ve ark. 2009, Rogue ve ark. 2010). PPAR'lar agonistle etkileştikten sonra çekirdeğe transfer olurlar. Çekirdekte RXR (Retinoid X Receptor) ile PPAR/RXR heterodimerini oluşturularak hedef genlerin promotor bölgelerinde bulunan PPRE (Peroxisome Proliferator Responsive Element) isimli spesifik dizilere bağlanır ve bu genlerin ekspresyon düzeyini düzenlerler (Şekil 2.8). PPAR/RXR kompleksleri lipogenez yolağındaki fonksiyonlarını LXR ve SREBP-1c aracılığıyla gösterirler. PPAR $\alpha$  ligandları SREBP-1c gen ekspresyon seviyesini artırır. PPAR'ların aktivasyonu diyet içeriğine, çeşitli ilaçlara ve organizmada üretilen lipitlere bağlı olarak değişmektedir (Kersten ve ark. 1999, Contreras ve ark. 2013, Frazier-Wood ve ark. 2013, Grygiel-Gorniak 2014).

PPAR yapısal olarak -NH<sub>2</sub> ucunda bulunan ligand bağımsız etkinleşen AF1 bölgesi (Activation Function 1), PPRE ile etkileşen (DNA bağlayan) bölge, PPAR agonistlerinin bağlandığı ligand bağlayan bölge, ligand bağlandıktan sonra transkripsiyon aktivasyonu için konformasyonel değişikliği sağlayan AF2 (Activation Function 2) bölgesi ve esnek eklem bölgesinden oluşmaktadır (Grygiel-Gorniak 2014, Şenol ve Tunçtan 2015), (Şekil 2.7).



**Şekil 2.7.** PPAR yapısı (DNA ile etkileşim gösteren DNA Bağlayan Bölge ve Ligand Bağlayan Bölge PPAR'ın önemli kısımlarıdır. Ligand bağlandıktan sonra çekirdekte DNA'ya, DNA bağlayan bölge olarak belirtilen kısımdan bağlanır ve DNA'da transkripsiyonu başlatır).

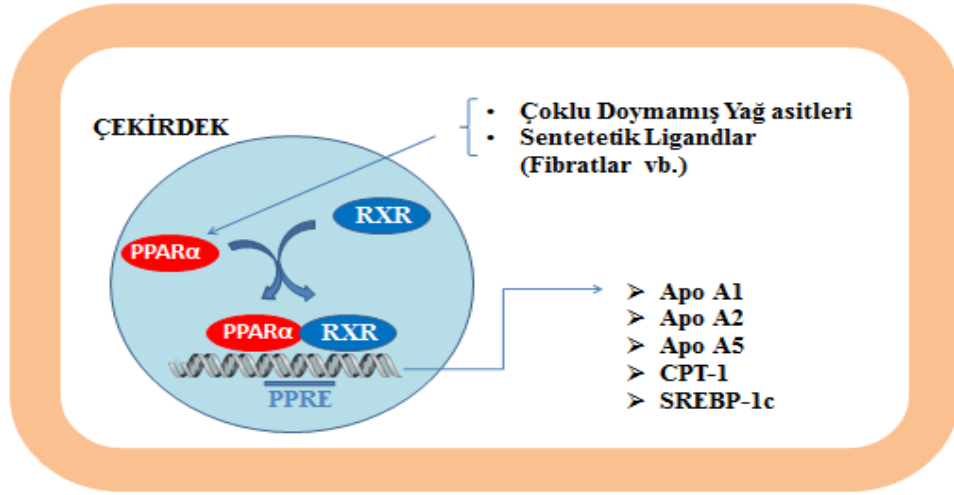
İlk tanımlanan lipid sensörü PPAR $\alpha$ 'dır. Aktivasyonu sonucunda peroksizom proliferasyonu arttığı için bu şekilde tanımlanmıştır. Peroksizomlar yağ asidi oksidasyonunu artırır (Koo ve ark. 2009). PPAR $\alpha$ , enflamasyon ve yağ asidi metabolizmasında rol alır. Yağ asitlerinin alımı, taşınımı ve atılımını kontrol eder (Rogue ve ark. 2010, Şenol ve Tunçtan 2015). Bu yüzden metabolik aktivitenin yoğun olduğu dokularda yüksek miktarda eksprese olmaktadır. Aktivitesi öncelikli olarak karaciğer, ince barsak, kahverengi adipöz doku, kas ve kalp dokularındadır. PPAR $\alpha$ , karaciğer dokusunda yağ asidi alımı veya harcanımı, lipoprotein oluşum ve transferinde görevli çeşitli genlerin ekspresyon seviyelerini düzenlemektedir. Kas dokuda ise daha çok yağ asidi oksidasyonunu uyarmaktadır (Kersten ve ark. 1999, Grygiel-Gorniak 2014).

Metabolik aktivitenin yoğun gerçekleştiği dokularda yağ asidi miktarı artınca PPAR $\alpha$  aktifleşerek bu yağ asitlerinin oksitlenmiş formunu artırır. Daha çok karaciğerde gerçekleşen yağ asidi oksidasyonu, bu organı açlıkta gelişen steatozdan korumaktadır. Yağ asidi oksidasyonunun azalması enerji harcanmasının azalması ve hepatik steatoz ile sonuçlanmaktadır. Doğal PPAR $\alpha$  ligandları omega-3 yağ asitleri iken, yağ asidi oksidasyonunu artıran sentetik ligandlar fenofibrat, clofibrate, bezafibrat gibi ligandlardır. PPAR $\alpha$  aktivitesi trigliserit miktarını azaltırken APO A-I (Apolipoprotein A-I) ve APO A-II gen ekspresyonlarını artırarak HDL kolesterol miktarını artırır. Ayrıca PPAR $\alpha$  kas dokuda yağ asidi alımını ve plazmada glikoz seviyesini azaltırken insülin hassasiyetini artırmaktadır (Kota ve ark. 2005, Grygiel-Gorniak 2014).

PPAR $\alpha$ , enerji metabolizmasının regülasyonunda görev alan Cytochrome P450 Family 8 Subfamily B Member 1 (CYP8B1), Lipoprotein Lipase (LPL), Fatty Acid Binding Protein (FABP), Carnitine Palmitoyltransferase (CPT), Acyl-CoA oxidase (ACOX), APO A-I ve APO A-II gibi 80'den fazla genin promotor bölgeleriyle etkileşerek metabolik

aktivitenin düzenlenmesinde görev almaktadır (Kota ve ark. 2005, Frazier-Wood ve ark. 2013).

### HÜCRE ZARI



Şekil 2.8. PPAR $\alpha$ 'nın ligand bağımlı olarak RXR ile heterodimer oluşturması ve aktivasyonu

Alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması durumunda yağ asidi oksidasyonunu, glikoneogenezi, glikolizi, yağ asidi alımını ve lipoprotein transportunu artırmakta, karaciğer hasarı, steatoz ve trigliserit oluşumunu engellemektedir. PPAR $\alpha$ 'nın yüksek miktarda şeker içeren diyetlerle beslenen ratların kas dokusunda insülin direncinin gelişimini önlemede aktif role sahip olduğu bildirilmektedir (Cao ve ark. 2012).

### 2.3.2. LXR $\alpha$

Liver X Receptor ailesi nükleer transkripsiyon faktörlerindedir. Bu ailede LXR $\alpha$  (NR1H3, Nuclear Receptor Subfamily 1 Group H Member 3) ve LXR $\beta$  (NR1H2, Nuclear Receptor Subfamily 1 Group H Member 2) olmak üzere iki üye bulunmaktadır. LXR $\alpha$  ve LXR $\beta$  kromozomlarda farklı bölgelerde bulunan iki ayrı gen bölgesinden transkribe olmakla birlikte nükleer reseptörlerin çoğu için karakteristik olan benzer yapıya sahiptir (Şekil 2.9). Kolesterol ve lipid biyosentezinde görevli olan bu aile kolesterolün üretiminde ve safra

asitlerine dönüşümünde görevli olan ABCA1 (ATP Binding Cassette Subfamily A Member 1), ABCG1 (ATP Binding Cassette Subfamily G Member 1), APOE (Apolipoprotein E) ve CYP7A1 (Cytochrome P450 Family 7 Subfamily A Member 1) gibi genlerin aktivitelerini düzenlemektedir (Gronning-Wang ve ark. 2013).



Şekil 2.9. LXR Yapısı

LXR'ler, PPAR'lar gibi RXR ile zorunlu olarak heterodimer oluşturmakta ve hedef genlerin promotör bölgelerinde bulunan LXRE (LXR Response Element)'ye bağlanarak lipogenik genlerin transkripsiyonunu düzenlemektedir. LXR'nin iki izoformu bakımından knockout farelerde yapılan bir çalışmada, karaciğer lipid metabolizmasında bozukluk geliştiği, lipogenezin %80 oranında azaldığı ve obeziteye karşı direnç geliştiği bildirilmiştir (Wang ve ark. 2015).

LXR, hipertrigliserideminin tedavisinde terapötik ajan olarak kullanılmaktadır. SREBP-1c ve ChREBP, karaciğer dokusunda LXR aracılı lipogenez oluşumunda önemli transkripsiyon faktörleridir (Liang ve ark. 2002, Cha 2007). LXR, tek başına ya da SREBP-1c ve/veya ChREBP ile birlikte FAS (Fatty Acid Synthase), SCD1 (Stearoyl-CoA Desaturase), ACC (Acetyl-CoA Carboxylase) gibi lipogenik enzimlerin gen ekspresyon düzeylerini artırmaktadır (Liang ve ark. 2002, Cha 2007). Liang ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada SREBP-1c knockout farelerin karaciğer yağ asidi sentez oranlarında %50'ye yakın bir düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Buna rağmen lipogenik genlerde artış olması diğer genlerin LXR ve lipogenez üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir (Cha 2007).

Lipogenez, birçok faktörle birlikte insülin ve glikozun birlikte etkisiyle gerçekleşen metabolik bir olaydır. Tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte LXR $\alpha$ 'nın karaciğerdeki lipogenik genlerin transkripsiyonunu insülin kontrolünde artırdığı bilinmektedir (Şekil 2.11), (Gronning-Wang ve ark. 2013). Bununla birlikte glikoz ve G6P (Glikoz 6 Fosfat)

direk olarak LXR $\alpha$  ile etkileşerek LXR $\alpha$ 'nın hedef genlerinin ekspresyon düzeyini değiştirebilmektedir. LXR $\alpha$  gen ekspresyonu SREBP-1c ve ChREBP gibi glikolitik ve lipogenik enzimlerin gen ekspresyon seviyelerini artırmaktadır (Wang ve ark. 2015). LXR $\alpha$ , kolesterol ve safra asidinin kontrolünde öncelikli rolü üstlenmiştir. Yağlı dokularda özellikle de karaciğerde bol miktarda eksprese olduğu bildirilmektedir (Cha 2007, Kamei ve ark. 2008, Gronning-Wang ve ark. 2013, Matsusue ve ark. 2014).

### 2.3.3. ChREBP

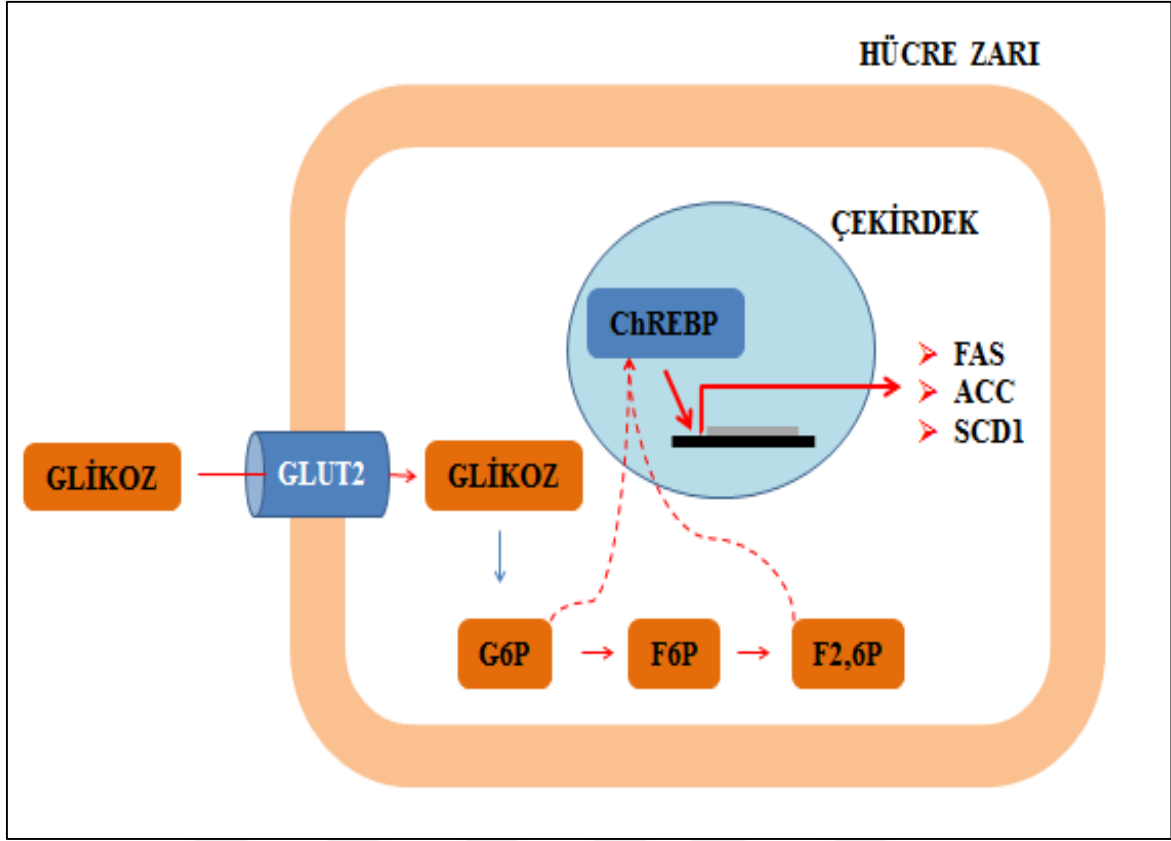
Glikoz, enerji kaynağı olarak kullanılmasının yanı sıra birçok molekülle etkileşerek anabolik etki göstermektedir. MLXIPL (Max-like Protein X Interacting Protein Like) ya da Mondo B olarak da bilinen ChREBP, sarmal kıvrım sarmal (helix loop helix) formunda büyük (868 aminoasitlik) bir transkripsiyon faktörüdür. Türler arasında yapısal ve işlevsel olarak oldukça benzerdir. ChREBP aktivasyonu glikoz tarafından fosforilasyon/defosforilasyon bağımlı post translasyonel mekanizmalarla düzenlenmektedir (Sakiyama ve ark. 2008). Düşük glikoz varlığında sitozolde yerleşim gösteren ChREBP, yüksek glikoz varlığında defosforile olarak MYC/MAX ailesinin bir üyesi olan MLX ile heterodimer oluşturmaktadır. Oluşan bu heterodimer çekirdeğe transloke olarak glikolitik ve lipogenik genlerin promotor bölgelerindeki ChoRE (Carbonhydrate Response Element) adı verilen korunmuş dizilere bağlanmaktadır. FAS, ACC ve SCD gibi lipogenik genlerin ekspresyonu glikoza cevap olarak artmaktadır (Şekil 2.10). Bu artışın önemli oranda sitozolden çekirdeğe gelen ChREBP-MLX heterodimerinin FAS, ACC ve SCD genlerinin ChoRE dizilerine bağlanması aracılığıyla gerçekleştiği bilinmektedir (Dentin ve ark. 2006, Filhoulaud ve ark. 2013). Düşük glikoz konsantrasyonunda ise PPAR $\alpha$  gibi çeşitli transkripsiyon faktörleri tarafından ChREBP aktivasyonu baskılanarak lipogenez engellenmektedir (Filhoulaud ve ark. 2013). Ayrıca, ChREBP protein aktivitesinin sadece yüksek glikoza bağlı olarak değişmediği bu mekanizmanın daha kompleks olduğu yapılan başka çalışmalarla da gösterilmiştir (Tsatsos ve ark. 2006, Xu ve ark. 2013). Bazı çalışmalarda ChREBP'in düşük glikozun yanı sıra doymuş ya da doymamış yağ asitlerine bağlı olarak translasyon düzeyinde baskılandığı bildirilmiştir. ChREBP protein miktarı yüksek sükrözla beslenen ratlarda çekirdekte (Sato ve ark. 2016), yüksek yağlı rasyonla

beslenenlerde ise sitoplazmada çok bulunmuştur (Dentin ve ark. 2005). Hanke ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada diyetdeki doymamış yağ asidi miktarı ile ChREBP aktivitesi arasında negatif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Başlıca karaciğer ve adipöz dokularında eksprese olan ChREBP, LXR'nin hedef genlerinden birisidir. Fazla karbonhidratın lipide dönüşümünde öncelikli öneme sahip olan ChREBP diyetle alınan karbonhidrata ve bunun sonucu salgılanan insüline bağlı olarak lipogenezin oluşumunu tetiklemektedir (Ge ve ark. 2012, Iizuka 2004).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda öncelikli olarak lipogenezde görevli olan ChREBP'in hücre gelişimi ve/veya proliferasyonu süreçlerinde de etkin rol aldığı gösterilmiştir. ChREBP'in hücre proliferasyonuna olan katkısı glikoz metabolizması ile hücre döngüsü arasındaki ilişki bakımından önemlidir (Filhoulaud ve ark. 2013, Sanders ve ark. 2016).

Farelerde yapılan çalışmalar ChREBP'in insülin direnci, tip 2 diyabet ve hepatik steatoz oluşumunda aktif rol aldığını göstermektedir (Dentin ve ark. 2006, Noordeen ve ark. 2010). Lipogenezde önemli bir faktörü olduğu bilinen ChREBP'in yüksek glikoz varlığındaki aktivitesi ile ilgili çok sayıda çalışma varken, rasyondaki yüksek fruktoza bağlı olarak değişen aktivitesi hakkında yeterince çalışma olmadığı anlaşılmıştır (Erion ve ark. 2012).



**Şekil 2.10.** ChREBP Aktivasyonu (GLUT2 reseptörleri aracılığıyla hepatositlere giren glikoz burada glikolitik yola girer. Fosforillenen G6P, F6P ve F2,6P (Fructose-2,6-bisphosphate) ile glikoliz şekillenir. G6P ve F2,6P ChREBP'in fosforillenmesini sağlayarak inaktif halden aktif hale geçmesini ve çekirdeğe transfer olmasını sağlar. ChREBP çekirdekte FAS, ACC ve SCD1 genlerinin transkripsiyonunu artırır (Sanders ve ark. (2016)'den uyarlanmıştır).

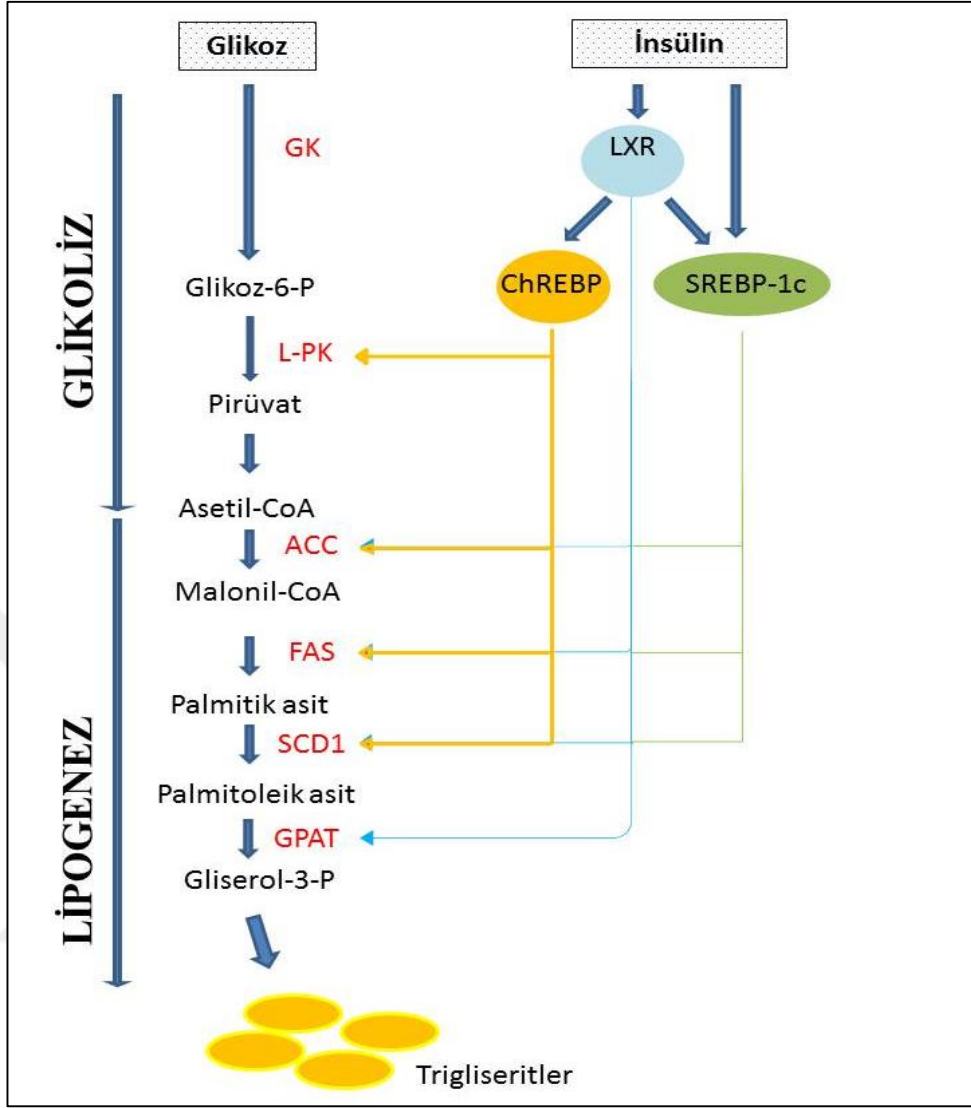
### 2.3.4. SREBP-1c

SREBP'ler, ChREBP'ler gibi sarmal kıvrım sarmal formunda olup transkripsiyon faktörleri olan 3 üyeden oluşmaktadır. SREBP-1a ve SREBP-2 kolesterol sentezinde rol alan genlerin ekspresyonunu düzenlerken SREBP-1c karbonhidrat ve lipid metabolizmasında rol oynamaktadır (Fernandez ve ark. 2011).

SREBP-1c özellikle karaciğer ve adipöz dokuda çok sayıda genin ekspresyonunu düzenleyen ana transkripsiyon faktörüdür. Diyetle alınan enerji miktarına bağlı olarak aktivitesi değişen bu transkripsiyon faktörü, obeziteyle ilişkili birçok hastalık bakımından önemlidir (Fernandez ve ark. 2011). SREBP-1c gen ekspresyon seviyesi beslenme durumu, açlık, tokluk gibi durumlarda lipogenik genlerle birlikte önemli derecede değişmektedir. Organizmada beslenmeye bağlı artan insülin miktarına cevap olarak *de novo* lipogenezde



öncelikli görev almaktadır. SREBP-1c, lipogenez yolağındaki çok sayıda genin ekspresyonunu artırarak lipogenezi düzenlemektedir (Cha 2007). Fruktoz ve sükröz gibi karbonhidratları yüksek miktarda ihtiva eden diyetlerin önemli oranda SREBP-1c aracılı yollarla karaciğer yağlanmasına neden olduğu bildirilmektedir (Kamei ve ark. 2008). SREBP-1c'nin, insüline bağlı olarak aktivitesi değiştiği, bununla birlikte insülin gerekmeksizin direk olarak glikozla da aktif olabildiği ve insülinin genomik aktivitesi SREBP-1c'den önemli düzeyde etkilendiği bildirilmektedir (Contreras ve ark. 2013, Gronning-Wang ve ark. 2013). Ayrıca bu transkripsiyon faktörü ChREBP ve LXR gibi diğer transkripsiyon faktörlerinin aktivitesinden de etkilenmektedir (Güldür 2009). SREBP-1c'nin önemli oranda iki yolla aktif olduğu bildirilmektedir. Birinci yol artan kan glikoz miktarına yanıt olarak salgılanan insülinin SREBP-1c'yi aktiveştirmesidir. İkinci yol ise LXR aracılığıyla olan aktivitedir. Karaciğerde LXR'nin aktif formunun LXR $\alpha$  aktivasyonu sonucu SREBP-1c'nin lipogenezi tetiklediği bildirilmektedir (Şekil 2.11), (Sanders ve ark. 2016).



Şekil 2.11. Karaciğerde LXR, ChREBP ve SREBP-1c'nin insülin ve glikoza bağlı olarak izlediği yollar (Gronning-Wang ve ark. (2013)'dan uyarlanmıştır).

### 2.3.5. AQP9

Organizmayı oluşturan hücreler genetik materyallerini, organellerini, yapısal protein ve metabolitlerini korumak için seçici geçirgen bir membranla dış ortamdan ayrılırlar. Hücre membranı besin maddeleri, su ve metabolitler gibi maddelerin alışverişini yapabilmek için yerleşik proteinlere sahiptir. Bu proteinlerden olan akuaporinler, büyük bir aileden oluşan integral membran proteinlerinin üyeleridirler. Bu proteinler hücre membranından su alışverişinin regülasyonunda görev almaktadırlar. Memelilerin tüm hücre tiplerinde bulunan

bugüne kadar 13 farklı Aquaporin (AQP0-AQP12) tanımlanmıştır. AQP0, AQP1, AQP2, AQP4, AQP5, AQP6 ve AQP8 su kanalı olarak işlev görürken, AQP3, AQP7, AQP9 ve AQP10 akuagliseroporinler olarak bilinmekte ve suyun yanı sıra üre ve gliserol transportunda da görev almaktadırlar (Caperna ve ark. 2007, Gregoire ve ark. 2015).

AQP9, glikozun glikojene dönüşümünde görevlidir (Carbrey ve ark. 2003). Su geçirgenliği düşük olan AQP9, hepatositlerde gliserol transportunda önemli bir role sahiptir. Bununla birlikte gliserol enerji metabolizmasında önemli bir moleküldür. Enerji ihtiyacı durumunda trigliseritlerin hidroliziyle açığa çıkan gliserol, hepatositlere AQP9 aracılığıyla alınmaktadır (Wakayama ve ark. 2014).

AQP9, PPAR $\alpha$ 'nın hedef genlerinden biridir. Bu yüzden özellikle karaciğerde enerji metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir fonksiyona sahiptir (Caperna ve ark. 2007, Hirako ve ark. 2015). Caperna ve ark. (2007) hücre kültüründe yaptıkları çalışmada, domuz hepatositlerinde glukagon hormon seviyelerindeki artış ile orantılı olarak AQP9 geninin ekspresyon seviyelerinde artış tespit etmişlerdir. Bununla birlikte insülin varlığında AQP9 gen ekspresyonunda azalma gözlemişlerdir. AQP9 ile insülin arasında negatif bir ilişki bulunmaktadır. AQP9-knockout farelerde normal beslenme sürecinde plazma gliserol ve trigliserit düzeylerinde artış gözlenmiştir. Beslenme yetersizliğinde adipöz dokudan gliserol salınmakta ve bu gliserol AQP9 aracılığıyla hepatositler tarafından alınarak glikoneogenezde kullanılmaktadır.

AQP9 gen ekspresyon seviyesinin açlıkta artarken, yüksek enerjili beslenme durumunda azaldığı bildirilmektedir. Alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanmasında AQP9 ekspresyonundaki azalmanın *de novo* trigliserit sentezinin azalmasına yol açabileceği düşünülmektedir (Gregoire ve ark. 2015).

## 2.4. Protein Ekspresyonu

Karakterlerin oluşumu DNA'da bulunan genetik bilginin proteine dönüşümüyle mümkündür. DNA'dan transkribe olan mRNA, bu bilgiyi taşıyan aracı moleküldür. Çeşitli RNA molekülleri (tRNA, rRNA ve diğer bazı RNA'lar) ve enzimler (polimeraz, aminoasit tRNA sentetaz gibi) sayesinde, mRNA'daki bilgi translasyona uğrayarak proteine dönüşmektedir. Başlama, uzama ve sonlanma aşamalarından oluşan protein sentezi

transkripsiyon, translasyon ve DNA modifikasyon mekanizmaları ile düzenlenmektedir. Ökaryotlarda protein sentezinin daha çok post translasyonel mekanizmalarla kontrol edildiği bildirilmektedir (Murray ve ark. 2004, Alberts ve ark. 2008).

RNA moleküllerine kıyasla oldukça stabil olan proteinler bilimsel çalışmalarda çevresel değişikliklere bağlı olarak verilen cevapta kontrol edilen parametrelerdendir. Özellikle gen ekspresyon çalışmalarında hedef genden üretilen protein miktarının tespiti önemlidir. Zira yakın geçmişte keşfedilen miRNA gibi RNA molekülleri mRNA aktivitesini durdurarak ilgili proteinin üretimini engelleyebilmektedir. Bazen de üretilen proteinin katlanmasındaki bozukluklar gibi faktörler hedef proteinlerin oluşumunu engelleyebilmektedir. Hücre ve dokularda proteinlerin kantitatif olarak tespit edilmesinde ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) ve Western Blotting gibi yöntemler hedef proteinlerin tespiti için oldukça sık kullanılan yöntemlerdir. Bu yöntemlerle hedef dokudan izole edilen proteinler spesifik antikorlar kullanarak tespit edilmektedir. Spektrofotometrik olarak değerlendirilen sonuçlar ilgili hücre, doku ve organlarda aranılan protein hakkında bilgi verebilmektedir.

## **2.5. Biyokimyasal Parametreler**

### **2.5.1. Glikoz**

Glikoz temel enerji kaynağı olarak kullanılmasının yanı sıra birçok moleküle etkileşerek metabolizmayı düzenleyen bir moleküldür. Diyetle alınan karbonhidratların sindirimiyle oluşan son üründür. Fazla glikoz iskelet kası ve karaciğerde glikojen şeklinde depolanmaktadır. Enerji metabolizmasının kontrolünde rutin kullanılan bir parametredir (Guyton ve ark. 2007, Triplitt 2012).

### **2.5.2. İnsülin**

Beslenme sonrası artan kan glikoz miktarına cevap olarak kana salınan insülin, etkisini hücre membranlarında bulunan kendisi için özelleşmiş reseptörler aracılığıyla göstermektedir. Tokluk durumunda insülin salınımının artması, plazma glikoz seviyesini kontrol altında tutmaya yaramaktadır. Fazla glikoz glikojen halinde depo edilirken, kan glikoz düzeyi düştüğünde kana verilen insülin miktarı azalarak glukagon hormonu gibi diğer hormonlar devreye girmektedir. Böylece, glikojen halinde depolanan enerji hızla glikoza yıkılarak kan glikoz düzeyi yeniden yükselmektedir (Guyton ve ark. 2007).

İnsülin üretimi ve salınımındaki bozukluklar ya da reseptör düzeyinde verilen cevaptaki bozukluklar enerji metabolizmasının düzenlenmesinde bozukluklara yol açmaktadır. Açlıkta plazma insülin seviyelerinin belirlenmesiyle metabolizma ve organlar hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir. Bu yüzden enerji metabolizması ile ilgili yapılan çalışmalarda önemli bir parametre olarak kullanılmaktadır (Guyton ve ark. 2007).

### **2.5.3. HDL (High Density Lipoprotein)**

HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein olarak bilinen bir kolesterol çeşididir. HDL'nin yaklaşık yarısını apolipoproteinler, %20'sini kolesterol, %15'ini fosfolipitler oluşturmaktadır. HDL, dokulardaki kolesterolü alarak hidrofobik hale getirmekte ve karaciğere taşımaktadır. Karaciğere kolesterol taşıyarak ateroskleroz gibi metabolik hastalıklarda önleyici rol almasının yanı sıra nitrik oksit gibi moleküllerin sentezini artırarak damar sağlığının sürekliliğini sağlamaktadır. Ayrıca apoptoz ve inflamasyon gibi organizmada çok önemli olan yollarda görev almaktadır. Dolaşımdaki HDL seviyeleri ile kardiyovasküler rahatsızlıklar arasında ters bir ilişki olduğu bilinmektedir. Düşük HDL seviyesi, yüksek LDL (Low Density Lipoprotein) seviyesi ile birlikte seyrettiği durumlarda aterosklerotik hastalıklar gelişmektedir (Guyton ve ark. 2007, Eren ve ark. 2012).

#### **2.5.4. LDL (Low Density Lipoprotein)**

LDL'ler, VLDL'lerin dolaşımında trigliseritlerini yitirmesi ve kolesterolden zengin hale gelmeleri ile oluşan kolesterol türüdür. Dokulara kolesterolü taşımakla görevli ana faktörler olan bu lipoproteinler okside hale dönüştüklerinde damar duvarına yerleşmektedirler. Damar duvarına yerleşen okside LDL'ler çeşitli sitokinlerin salınımına ve damarlarda vazodilatör etkili olan nitrik oksit sentezinin engellenmesine neden olmakta bunun sonucunda damar sağlığı bozulabilmektedir. Böylece ateroskleroz gelişimi tetiklenmektedir (Barter 2005).

#### **2.5.5. VLDL**

VLDL büyük oranda karaciğerde sentezlenen bir lipoproteindir. Çok küçük dansiteli olduğu için bu ismi almıştır. Bu lipoprotein trigliseritlerin karaciğerden diğer dokulara transferinden sorumludur. Yüksek miktarda karbonhidrat içeren diyetlerle beslenmeye bağlı olarak VLDL partiküllerinde hem boyut olarak hem de miktar olarak artış meydana gelmektedir. Trigliserit bakımından zengin olan (yaklaşık %70) VLDL'de lipoprotein lipaz enzimi ile trigliseritler serbest yağ asitlerine dönüştürülmekte ve bu yağ asitleri periferel dokularda enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (Barter 2005).

Hedef hücreye ulaşan VLDL'ler parçalandığında açığa çıkan kolesterol hücre zarı gibi hücre komponentlerinin yapısına katılır (Küçükkaya 2008). Dolaşımdayken trigliserit içeriğini giderek kaybeden bu lipoproteinler önce IDL (Intermedier Dansito Lipoprotein)'lere daha ileriki aşamalarda LDL'lere dönüşürler (Guyton ve ark. 2007).

#### **2.5.6. Kolesterol**

Bazı vitaminler ve hormonların ön maddesi olan kolesterol, hücre membran yapısında bulunan yapısal bir moleküldür. Kolesterolün üretimi SREBP'ler ile yakından ilişkilidir. Karaciğerden safra aracılığıyla atılan kolesterolün bir kısmı ince barsak tarafından

alınır. Vücutta fazla olduğunda safra kesesinde kristalleşerek safra taşı oluşumuna neden olabilmektedir ve büyük oranda endojen olarak karaciğerde üretilmektedir.

Lipidler suda çözünmeyen moleküller olduğu için kolesterol ve trigliseritler vücutta lipoproteinler şeklinde taşınmaktadırlar. Total kolesterol terimi kanda bulunan lipoprotein tabiatındaki HDL, LDL, IDL ve VLDL kolesterolün toplamını tanımlamaktadır. Lipoproteinler, lipid ve proteinlerin birleşmesiyle oluşan ve apolipoproteinler olarak anılan moleküllerdir. Apoprotein içeriklerine, büyüklüklerine, lipid miktarlarına ve yoğunluklarına göre sınıflandıran bu moleküller şilomikronlar, HDL, VLDL, IDL ve LDL'dir (Forti ve ak. 2006).

### **2.5.7. Trigliserit**

Üç yağ asidi ve bir gliserol molekülünün bir araya gelmesiyle oluşan trigliseritler diyetle alındıklarında safra asitleri ve lipaz enzimi ile hidrolize olurlar. İnce barsaklardan şilomikronlar halinde taşınan trigliseritler karaciğerde endojen kaynaklı üretildiklerinde dokulara dolaşım ile VLDL şeklinde verilirler. İhtiyaç durumunda kullanılmak üzere adipöz dokuda depolanan bu moleküllerin aşırı artması metabolik aktivitenin bozulmasına ve buna bağlı olarak birçok metabolik hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Guyton ve ark. 2007).

### **2.5.8. ALT (Alanin Aminotransferaz)**

GPT (Glutamat Pirüvik Transaminaz) olarak da bilinen ALT, en çok karaciğerde olmakla birlikte iskelet kası, kalp kası ve böbrek dokusunda bulunan bir enzimdir. Asıl görevi L-alanin ve glutamat arasındaki amino gruplarının transferini katalizlemek olan bu enzimin plazmada artışı karaciğer fonksiyonlarında meydana gelen bozukluğun göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Sitolitik bir enzim olan ALT, hepatositlerin nekroze olması sonucu şekillenebilmekle birlikte nekrozla sonuçlanmayan ancak hücre hasarı olan durumlarda da yüksek olabilmektedir (Ersoy 2012).

### **2.5.9. AST (Aspartat Aminotransferaz)**

AST hem sitozolik hem de mitokondriyal bir enzimdir. İskelet kası gibi dokularda da bulunmakla birlikte daha çok karaciğer spesifik olan bu enzimde meydana gelen artış hepatositlerdeki hasar hakkında fikir vermektedir. Alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması AST/ALT oranının 1'den büyük olması karaciğerde ileri fibrozis oluştuğunun ve siroza dönüşümün göstergesi olarak bildirilmektedir (Malnick ve ark. 2003).

Karaciğer hasar tespitinde öncelikli öneme sahip enzimler ALT ve AST'dir. Ciddi hastalıklarda mitokondri membran hasarına bağlı olarak mitokondriyal AST salınımı artmakta ve AST/ALT oranı yükselmektedir. Aynı ayrı değerlendirildiğinde karaciğer fonksiyonları hakkında fikir verebilen bu enzimlerin oranlarının değerlendirilmesi hasarın kaynağının bulunmasında oldukça önemlidir. Bazı çalışmalarda AST/ALT oranının 1,5'ten büyük olması durumunda hasarın kaynağı olarak alkol gösterilmektedir (Li ve ark. 2004).

### **2.5.10. GGT (Gamma Glutamil Transferaz)**

Hücre membranında bulunan bir glikoprotein olan GGT, gamma-glutamil transferini katalizleyen bir enzimdir. Daha çok alkole bağlı gelişen karaciğer yağlanmasının değerlendirilmesinde kullanılan bir parametre olmakla birlikte diyabet, pankreas hasarı, hiperlipidemi, tiroid bezi bozuklukları, kalp ve böbrek hastalıkları ve obezite gibi birçok hastalıkta GGT miktarında artış olabilmektedir. Plazma GGT seviyesi değerlendirilirken ALT ve AST enzimleriyle birlikte değerlendirilmesi, sonuçların daha doğru yorumlanması bakımından önemlidir (Malnick ve ark. 2003).

## **2.6. Karaciğer Histopatolojisi**

Histopatoloji çeşitli çevresel faktörler sonrası ilgili doku ya da organlarda meydana gelen patolojik değişiklikleri hücresel düzeyde inceleyen bir bilim dalıdır. Karaciğer dokusu diyet, egzersiz, metabolik aktivite gibi faktörlere bağlı olarak inflamasyon, yağlanma, dejenerasyon ve nekroz gibi değişikliklerle patoloji göstermektedir. Bu organda beslenmeye



bağlı oluşan değişikliklerin histolojik düzeyde değerlendirilmesi ile organ hakkında daha fazla bilgi sahibi olunabilmektedir. Yapılan çalışmalarda yağ ve karbonhidrat kaynaklarının karaciğerde meydana getirdiği bozukluğu değerlendirmek için histopatolojik yöntemler kullanılmakta ve karaciğer dokusu mikroskobik düzeyde değerlendirilerek metabolik aktivite hakkında fikir sahibi olunabilmektedir (Ackerman ve ark. 2005, Vila ve ark. 2011).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deneme Grupları ve Besleme Periyodu

Bu çalışma Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu (MKÜ-HADYEK)'ndan 31.03.2016 tarihli toplantıda 2016/2-8 karar numarası ile etik olarak onaylanmıştır (EK-1). Hayvanlar Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (MKÜ DAM) bünyesinde barındırılmıştır. Çalışmada yaklaşık 3 aylık yaşta (10-12 haftalık) Wistar Albino ırkı erkek ratlar kullanılmıştır. Ratlar her grupta 8 tane olacak şekilde 4 gruba (K: Kontrol grubu, Y: Yağ grubu, S: Sükroz grubu ve F: Fruktoz grubu) ayrılarak (n=8), deney protokolüne başlamadan önce 1 hafta süre ile çevre şartlarına alıştırmaya tabi tutulmuşlardır. Gruplar, ratların canlı ağırlık ortalamaları bakımından istatistiksel fark olmayacak şekilde oluşturulmuştur (p>0,05). Çalışma boyunca ortamdaki ışık 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık (07:00-19:00 aydınlık, 19:00-07:00 karanlık), nem oranı %55 ve ortam sıcaklığı 21±2 °C olacak şekilde düzenlenmiştir. Hayvanlar polikarbonat malzemeden oluşan şeffaf kafeslerde her kafeste 4 rat olacak şekilde barındırılmıştır. Çalışma periyodu boyunca bütün ratlar sabah ve akşam olmak üzere günde en az 2 kez kontrol edilerek, yem ve su ad libitum ve taze olarak tüketimi sağlanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Gruplarda kullanılan rasyonların enerji miktarları

Enerji Kaynağı	K	Y	S	F
Yem	2600 kcal/kg	3600 kcal/kg	2600 kcal/kg	2600 kcal/kg
Su	0 kcal/ml	0 kcal/ml	1 kcal/ml	1 kcal/ml

K: Kontrol Grubu, Y: Yağ Grubu, S: Sükroz Grubu, F: Fruktoz Grubu

Deneme gruplarında yer alan ratların alacakları günlük enerji miktarları, yaşam payı gereksinimlerine göre eşit olarak planlanmıştır (Çizelge 3.1), (National Research Council 1995). K, S ve F gruplarındaki ratlara 2600 kcal/kg ME (Metabolik Enerji)'li pellet yem (Bil-Yem, Ankara), Y grubundaki ratlara ise 3600 kcal/kg ME'li yağ ilaveli pellet yem verilmiştir (Çizelge 3.2). Bu yemdeki yüksek enerji ayçiçek yağından sağlanmıştır. Yağlı yemler ratlara sunulmadan 3 gün önce taze olarak hazırlanmış ve +4 °C'de muhafaza edilmiştir. S ve F gruplarına günlük hazırlanan ve ml'sinde 1 kcal ME bulunan sükrozlu ve fruktozlu su verilmiştir (yaklaşık %27'lik çözelti şeklinde). Ratlar 3 aylık besleme periyodu boyunca, 14 gün aralıklarla tartılmış ve tüketilen toplam yem ve su miktarları periyodik olarak kaydedilmiştir.

Çizelge 3.2. Temel rasyon ve yağlı rasyon içerikleri

	Temel Rasyon	Yağlı Rasyon
<b>Metabolik Enerji (kcal/kg)</b>	2600	3600
<b>Kuru Madde (%)</b>	88,4	82
<b>Ham Protein (%)</b>	22,5	22,3
<b>Ham Selüloz (%)</b>	8,1	7,23
<b>HCL'de Çözünmeyen Kül (%)</b>	1,05	0,90
<b>Yağ (%)</b>	3,15	13,5
<b>NaCl (%)</b>	0,45	0,45

Besleme dönemi sonunda, ratlar ötenazi edilecekleri gün 12 saat aç bırakılmış ancak önlerinden su hiç çekilmemiştir. Ötenazi, anestezi altında (80 mg/kg Ketamine ve 12 mg/kg Xylazine, IP) kalpten kan alma yöntemi ile uygulanmıştır. Alınan kanların plazmaları toplanarak biyokimyasal analizler için -86 °C'de saklanmıştır. Gen ve protein ekspresyonu için karaciğer ve kas dokuları (sol bacak M. Gluteus) hızlı bir şekilde alınarak sıvı azotta

dondurulduktan sonra -86 °C'de depolanmıştır. Histopatolojik incelemeler için alınan karaciğer örnekleri %10'luk formolde tespit edilmiştir.

### **3.2. RNA İzolasyonu**

Örnekler -86 °C'den çıkarılarak her örnekten yaklaşık 50 mg doku alınmıştır. RNaz/DNaz içermeyen steril tüplere alınan örneklerden çözümleri beklenmeden TRI-Reagent kit protokolüne göre (Sigma-Aldrich, USA, Kat. No: T9424) total RNA izolasyonu yapılmıştır. Örneklerden izole edilen total RNA'nın saflık ve konsantrasyonu nükleik asit ölçer (Merinton SMA-1000) ile değerlendirilmiştir. Yeterli saflık ve konsantrasyonda olan total RNA'lar, kalite kontrolü amacıyla %1'lik agaroz jel elektroforezinde 100 V'de yaklaşık 25 dakika koşturulmuştur.  $A_{260}/A_{280}$  oranı  $>1.7$  olan ve agaroz jel elektroforezinde 28S ve 18S bant bütünlükleri yönünden uygun olan örnekler, cDNA'ya dönüştürülmüştür. Uygun olmayan örnekler için dokudan RNA izolasyon işlemi tekrar edilmiştir.

### **3.3. cDNA Sentezi**

Örnekler olası DNA kontaminasyonuna karşı DNaz (DNase I, RNase free, Thermo Fisher Scientific, USA, Kat. No: EN0521) ile muamele edilerek cDNA sentez protokolüne geçilmiştir. cDNA sentezi, ilgili kit protokolüne (Revertaid First Strand cDNA Synthesis Kit, Thermo Fisher Scientific, USA, Kat. No: K1622) göre yapılmıştır. Thermal cycler kit protokolü gereği 42 °C'de 60 dakika, 25 °C'de 5 dakika ve 70 °C'de 5 dakika olacak şekilde düzenlenmiştir. cDNA sentez reaksiyonu sonrası örneklerin son hacmi DEPC'li (Diethyl Pyrocarbonate) su ile 100 µl'ye tamamlanmıştır.

### **3.4. RT-qPCR Uygulaması**

Kalıp olarak kullanılan cDNA'lar PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 genlerinin ekspresyon profilleri için SYBR Green boya içeren ticari kit (Maxima SYBR

Green/ROX qPCR Master Mix, Thermo Scientific, Kat. No: K0222) ile RT-qPCR'da (Rotor-Gene Q, QIAGEN) analiz edilmiştir. İlgili genleri çoğaltmak için kullanılan Forward ve Reverse primer dizileri BLAST (BLAST, NCBI) programı ile kontrol edildikten sonra kullanılmıştır (Çizelge 3.3). RT-qPCR protokolü 95 °C'de 10 dakikalık denatürasyon sonrası 95 °C'de 15 saniye, 60 °C'de 60 saniye, 72 °C'de 30 saniye ve 40 siklus olacak şekilde düzenlenmiştir. İnternal kontrol olarak PPIA (Cyclophilin A) geni kullanılmıştır.

**Çizelge 3.3.** Gen primerlerinin Forward ve Reverse dizileri

Genler	Erişim No*	Forward ve Reverse Primer Dizileri	Bç**	Kaynak
<b>PPIA</b>	NM_01710 1.1	F: 5'-CAGACAAAGTTCCAAAGACAGCA-3' R: 5'-CACCCCTGGCACATGAATCCT-3'	117	(Santos ve ark. 2016)
<b>PPAR<math>\alpha</math></b>	NM_01319 6.1	F: 5'-TAATTTGCTGTGGAGATCGGC-3' R: 5'-TTGAAGGAGTTTTGGGAAGAGAA-3'	140	(Prabha kar ve ark. 2016)
<b>LXR<math>\alpha</math></b>	NM_03162 7.2	F: 5'-CCTGATGTTTCTCCTGACTC-3' R: 5'-TGACTCCAACCCTATCCTTA-3'	147	(Moham madi ve ark. 2013)
<b>ChREBP</b>	NM_13355 2.1	F: 5'-CGGGACATGTTTGATGACTATGTC-3' R: 5'-AATAAAGGTCGGATGAGGATGCT-3'	86	(He ve ark. 2004)
<b>SREBP-1c</b>	NM_00127 6707.1	F: 5'-GCAACACTGGCAGAGATCTACGT-3' R: 5'-TGGCGGGCACTACTTAGGAA-3'	104	(He ve ark. 2004)
<b>AQP9</b>	NM_02296 0.2	F: 5'-CCCAGTTTTTGGGAGCCTTT-3' R: 5'-CCTACGACGAGCAGTTTTCC-3'	97	(Jesus ve ark. 2014)

\*: NCBI Genbank Erişim Numarası, \*\*: Baz Çifti, Ürün Büyüklüğü

RT-qPCR ürünleri % 1,5'lük agaroz jel elektroforezinde 100 V'da yaklaşık 40 dk koşturularak doğru genin amplifiye edildiği kontrol edilmiştir. Elektroforez aşamasında markör olarak 100-1000 bp'lik DNA ladder kullanılmıştır.

### **3.5. ELISA Uygulaması**

Çalışmada karaciğer ve kas dokularında PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 hedef genlerinden translasyona uğrayan proteinlerin miktar tayini rat için spesifik olan ELISA kitleri (SunRed Bio, China) ile belirlenmiştir. Daha sonra aynı örneklerde Lowry metoduna (Lowry ve ark. 1951) göre total protein analizi yapılarak ilgili genlerin kodladığı protein miktarları karaciğer ve kas dokularındaki total proteine oranlanarak belirlenmiştir.

### **3.6. Biyokimyasal Parametreler**

Biyokimyasal parametreler hizmet alımı ile otoanalizörde (Architect c8000 Chemistry Analyser, Abboott Laboratories) belirlenmiştir. Ratların plazma insülin seviyeleri ise rat spesifik (Sunred Bio, China) ticari kit üzerinden ELISA yöntemi ile ölçülmüştür.

### **3.7. Histopatoloji**

Formalinde tespit edilen dokulardan yaklaşık 5  $\mu$ m kalınlığında alınan kesitler ksilolde deparafinize edilip sırasıyla 100, 96, 80 ve 70'lik alkol serilerinden geçirilmiştir. Daha sonra Hematoksilen Eozin (H&E) yöntemi ile boyanarak (Luna 1968) doku kesitleri ışık mikroskop altında (Olympus CX31) incelendikten sonra mikrofotografaları (Olympus DP12) alınmıştır.

Karaciğer dokusundaki histopatolojik değişiklikler; yangı, yağlanma, pasif hiperemi ile birlikte dejeneratif ve nekrotik değişiklikler bakımından değerlendirilmiştir. Histopatolojik bulgular aşağıdaki kriterlere göre değerlendirilmiştir:

**Derece 0:** Histopatolojik değişiklik % 5'in altında.

**Derece 1:** Tüm alanın %5 ile %33'ü arasında meydana gelen hafif histopatolojik değişiklikler.

**Derece 2:** Tüm alanın %33 ile %66'sı arasındaki alanda meydana gelen orta derecede histopatolojik değişiklikler.

**Derece 3:** Tüm alanın %66'sından daha fazla alanda meydana gelen ağır histopatolojik değişiklikler.

### **3.8. İstatiksel Analiz**

İstatistiksel hesaplamalar SPSS 22.0 (SPSS 2013) paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel farklılık One Way ANOVA ile belirlenerek,  $P < 0,05$  anlamlı kabul edilmiştir. Gruplar arası farklılıklar Tukey testi ile analiz edilmiştir.

Gen ekspresyon sonuçları  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  yöntemiyle belirlenerek kat değişimi olarak hesaplanmıştır (Livak ve Schmittgen 2001). Histopatolojik bulgulardaki skor ortalamaları Tepe Değeri olarak alınmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Enerji Tüketimi ve Canlı Ağırlık Değişimi

Gruplardaki hayvanların yem, su ve enerji tüketimleri ile birlikte canlı ağırlıkları 2 haftalık periyotlarla 13 hafta boyunca ölçülmüştür. K (Kontrol), Y (Yağ), S (Sükroz) ve F (Fruktoz) gruplarındaki hayvanların canlı ağırlık ortalamaları çalışma başlangıcında sırasıyla 227,13±11,88, 217,00±3,39, 217,88±5,76 ve 228,63±12,71 (P>0,05) gram olmuştur. Canlı ağırlıklar arasındaki anlamlı farklılık ilk olarak 3. hafta sonunda tespit edilmiştir (278,84±10,84<sup>ab</sup>, 265,68±4,04<sup>b</sup>, 273,98±8,34<sup>ab</sup>, 314,51±15,62<sup>a</sup>, P<0,05). Bu farklılığın çalışma sonuna kadar devam ettiği görülmüştür (Şekil 4.1, Çizelge 4.1).

Gruplarda bulunan ratların aldıkları ortalama metabolik enerji (kcal) çalışma sonuna kadar ölçülmüştür (Şekil 4.2). Çalışma süresince alınan enerji miktarları kaydedilerek Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Kontrol grubundaki hayvanların ortalama aldıkları enerji 3. haftada en fazlaya ulaşmış diğer haftalarda ise 500 kcal civarında olmuştur. Gruplar arasında canlı ağırlık farkının oluşmaya başladığı 3. haftada en fazla kalori tüketimi K grubunda olurken, çalışma sonunda en fazla kalori alımı Y grubunda olduğu görülmüştür. Diğer bütün haftalarda en fazla kalori alımı F grubunda olmuştur.

Çalışma boyunca ratların aldıkları haftalık ortalama enerji K, Y, S ve F gruplarında sırasıyla 527,97±23,16<sup>b</sup>; 603,92±9,58<sup>a</sup>; 584,06±20,39<sup>ab</sup> ve 635,71±11,51<sup>a</sup> kcal/rat olurken (P<0,01), yemden alınan enerji 527,97±23,16<sup>b</sup>; 603,92±9,58<sup>a</sup>; 174,84±8,45<sup>d</sup> ve 241,85±12,21<sup>c</sup> kcal/rat olmuştur (P<0,001). S ve F gruplarında sükrozlu ve fruktozlu sulardan alınan enerji ise sırasıyla 409,22±14,37 ve 393,86±10,08 kcal/rat olarak belirlenmiştir. Haftalık tüketilen ortalama yem miktarı bakımından K, Y, S ve F grupları sırasıyla 203,06±8,91<sup>a</sup>, 167,76±2,66<sup>b</sup>, 67,24±3,25<sup>d</sup> ve 93,02±4,70<sup>c</sup> g/rat iken, haftalık tüketilen ortalama su miktarı 349,27±20,17<sup>bc</sup>, 300,11±14,12<sup>c</sup>, 409,22±14,37<sup>a</sup> ve 393,86±10,08<sup>ab</sup> ml/rat olmuştur. Ayrıca gruplardaki ratların karaciğer ağırlık ortalamaları sırasıyla 10,19±0,58<sup>b</sup>, 11,19±0,32<sup>b</sup>, 11,30±0,39<sup>b</sup> ve 15,90±1,52<sup>a</sup> g olarak belirlenmiştir (P<0,001), (Çizelge 4.1).



**Çizelge 4.1** Besleme periyodu boyunca gruplardaki canlı ağırlık, toplam alınan enerji, tüketilen yem ve su miktarları ( $\bar{x} \pm s\bar{x}$ )

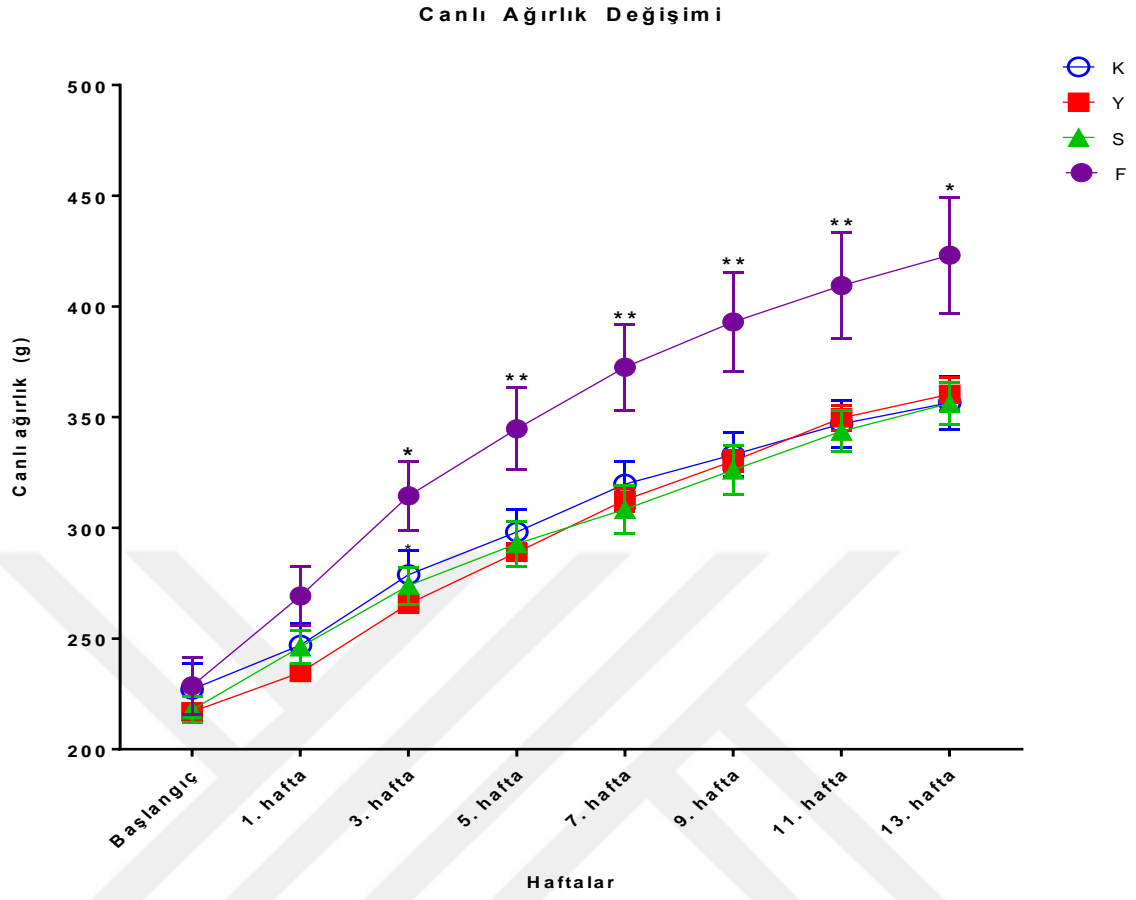
Beslenme Periyodu		K	Y	S	F	P
<b>Başlangıç (0. Hafta)</b>	<b>Canlı ağırlık (g)</b>	227,13 ± 11,88	217,00 ± 3,39	217,88 ± 5,76	228,63 ± 12,71	>0,05
	<b>Canlı ağırlık (g)</b>	247,00 ± 9,80	234,63 ± 3,31	246,25 ± 7,25	269,25 ± 13,43	>0,05
	<b>Toplam alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	479,27	618,80	655,11	670,16	
	<b>Yemden alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	479,27	618,80	212,33	285,71	
	<b>Sudan alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	-	-	442,78	384,44	
	<b>Haftalık tüketilen yem (g/rat)</b>	184,33	171,89	81,67	109,89	
	<b>Haftalık tüketilen su (ml/rat)</b>	238,89	222,22	442,78	384,44	
<b>1. Hafta</b>	<b>Canlı ağırlık (g)</b>	278,84 ± 10,84 <sup>ab</sup>	265,68 ± 4,04 <sup>b</sup>	273,98 ± 8,34 <sup>ab</sup>	314,51 ± 15,62 <sup>a</sup>	<0,05
	<b>Toplam alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	662,48	635,04	595,38	610,31	
	<b>Yemden alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	662,48	635,04	197,05	256,42	
	<b>Sudan alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	-	-	398,33	353,89	
	<b>Haftalık tüketilen yem (g/rat)</b>	254,80	176,40	75,79	98,62	
	<b>Haftalık tüketilen su (ml/rat)</b>	323,33	284,44	398,33	353,89	
<b>3. Hafta</b>	<b>Canlı ağırlık (g)</b>	298,13 ± 10,30 <sup>b</sup>	288,95 ± 3,92 <sup>b</sup>	292,85 ± 10,15 <sup>b</sup>	344,78 ± 18,55 <sup>a</sup>	<0,01
	<b>Toplam alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	519,28	625,40	627,39	669,09	
	<b>Yemden alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	519,28	625,40	174,06	278,32	
	<b>Sudan alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	-	-	453,33	390,78	
	<b>Haftalık tüketilen yem (g/rat)</b>	199,72	173,72	66,94	107,04	
	<b>Haftalık tüketilen su (ml/rat)</b>	364,44	307,22	453,33	390,78	
<b>5. Hafta</b>	<b>Canlı ağırlık (g)</b>	298,13 ± 10,30 <sup>b</sup>	288,95 ± 3,92 <sup>b</sup>	292,85 ± 10,15 <sup>b</sup>	344,78 ± 18,55 <sup>a</sup>	<0,01
	<b>Toplam alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	519,28	625,40	627,39	669,09	
	<b>Yemden alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	519,28	625,40	174,06	278,32	
	<b>Sudan alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	-	-	453,33	390,78	
	<b>Haftalık tüketilen yem (g/rat)</b>	199,72	173,72	66,94	107,04	
	<b>Haftalık tüketilen su (ml/rat)</b>	364,44	307,22	453,33	390,78	

**Çizelge 4.1 devam.** Besleme periyodu boyunca gruplardaki canlı ağırlık, toplam alınan enerji, tüketilen yem ve su miktarları ( $\bar{x} \pm s\bar{x}$ )

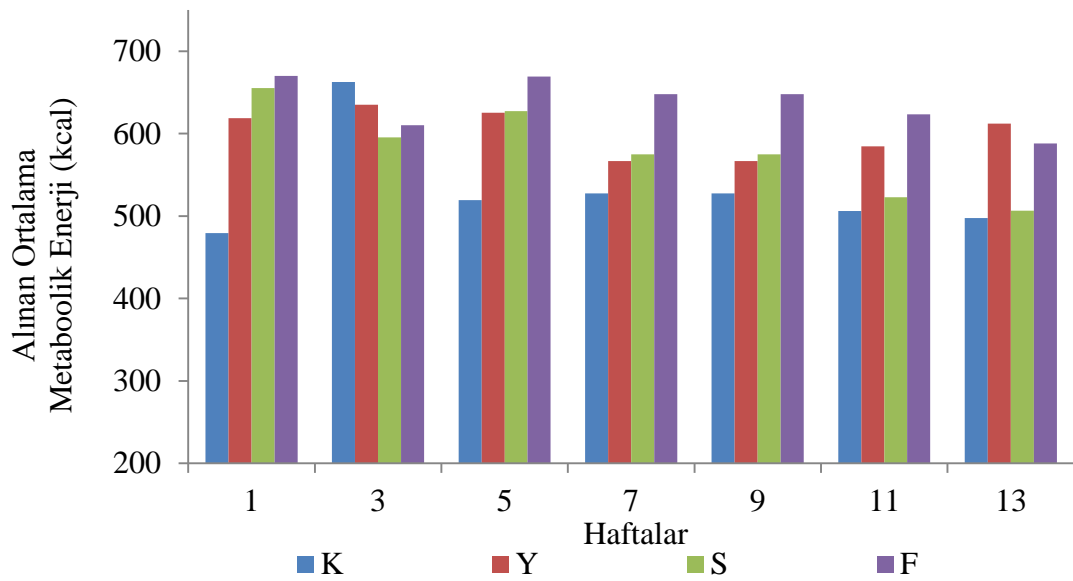
<b>7. Hafta</b>	<b>Canlı ağırlık (g)</b>	319,76 ± 10,40 <sup>b</sup>	312,64 ± 5,01 <sup>b</sup>	308,39±10,74 <sup>b</sup>	372,53 ± 19,30 <sup>a</sup>	<0,01
	<b>Toplam alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	527,40	566,52	574,65	647,78	
	<b>Yemden alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	527,40	566,52	166,31	237,78	
	<b>Sudan alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	-	-	408,33	410,00	
	<b>Haftalık tüketilen yem (g/rat)</b>	202,84	157,37	63,97	91,46	
	<b>Haftalık tüketilen su (ml/rat)</b>	388,33	328,33	408,33	410,00	
<b>9. Hafta</b>	<b>Canlı ağırlık (g)</b>	333,06 ± 9,29 <sup>b</sup>	330,23 ± 4,80 <sup>b</sup>	326,20 ± 10,96 <sup>b</sup>	393,05 ±22,41 <sup>a</sup>	<0,01
	<b>Toplam alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	505,93	584,48	522,78	623,41	
	<b>Yemden alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	505,93	584,48	151,12	212,85	
	<b>Sudan alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	-	-	371,67	410,56	
	<b>Haftalık tüketilen yem (g/rat)</b>	194,59	162,36	58,12	81,87	
	<b>Haftalık tüketilen su (ml/rat)</b>	388,89	315,56	371,67	410,56	
<b>11. Hafta</b>	<b>Canlı ağırlık (g)</b>	346,96 ± 10,57 <sup>b</sup>	349,70 ± 5,72 <sup>b</sup>	343,66 ± 9,25 <sup>b</sup>	409,45 ± 23,79 <sup>a</sup>	<0,01
	<b>Toplam alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	497,44	612,24	506,34	587,89	
	<b>Yemden alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	497,44	612,24	154,12	214,56	
	<b>Sudan alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	-	-	352,22	373,33	
	<b>Haftalık tüketilen yem (g/rat)</b>	191,32	170,07	59,28	82,52	
	<b>Haftalık tüketilen su (ml/rat)</b>	370,00	327,22	352,22	373,33	
<b>13. Hafta</b>	<b>Canlı ağırlık (g)</b>	356,56 ± 12,01 <sup>b</sup>	360,40 ± 7,59 <sup>b</sup>	356,28 ±9,57 <sup>b</sup>	423,15 ± 26,13 <sup>a</sup>	<0,05
	<b>Toplam alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	503,98	584,98	606,75	641,32	
	<b>Yemden alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	503,98	584,98	168,86	207,32	
	<b>Sudan alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	-	-	437,89	434,00	
	<b>Haftalık tüketilen yem (g/rat)</b>	193,84	162,49	64,94	79,74	
	<b>Haftalık tüketilen su (ml/rat)</b>	371,00	315,78	437,89	434,00	

**Çizelge 4.1 devam.** Besleme periyodu boyunca gruplardaki canlı ağırlık, toplam alınan enerji, tüketilen yem ve su miktarları ( $\bar{x} \pm s\bar{x}$ )

<b>0-13. Hafta (Ortalama)</b>	<b>Alınan enerji (kcal/rat/hafta)</b>	527,97±23,16 <sup>b</sup>	603,92±9,58 <sup>a</sup>	584,06±20,39 <sup>ab</sup>	635,71±11,51 <sup>a</sup>	<0,01
	<b>Yemden alınan enerji (kcal)</b>	527,97±23,16 <sup>b</sup>	603,92±9,58 <sup>a</sup>	174,84±8,45 <sup>d</sup>	241,85±12,21 <sup>c</sup>	<0,001
	<b>Sudan alınan enerji (kcal)</b>	-	-	409,22±14,37 <sup>a</sup>	393,86±10,08 <sup>a</sup>	<0,001
	<b>Haftalık tüketilen yem (g/rat)</b>	203,06±8,91 <sup>a</sup>	167,76±2,66 <sup>b</sup>	67,24±3,25 <sup>d</sup>	93,02±4,70 <sup>c</sup>	<0,001
	<b>Haftalık tüketilen su (ml/rat)</b>	349,27±20,17 <sup>bc</sup>	300,11±14,12 <sup>c</sup>	409,22±14,37 <sup>a</sup>	393,86±10,08 <sup>ab</sup>	<0,001
<b>Karaciğer Ağırlığı (g)</b>	10,19 ± 0,58 <sup>b</sup>	11,19 ± 0,32 <sup>b</sup>	11,30 ± 0,39 <sup>b</sup>	15,90 ± 1,52 <sup>a</sup>	<0,001	



Şekil 4.1. K (Kontrol Grubu), Y (Yağ Grubu), S (Sükroz Grubu) ve F (Fruktoz Grubu) gruplarında canlı ağırlıklar



Şekil 4.2. Haftalık alınan ortalama metabolik enerji (kcal)

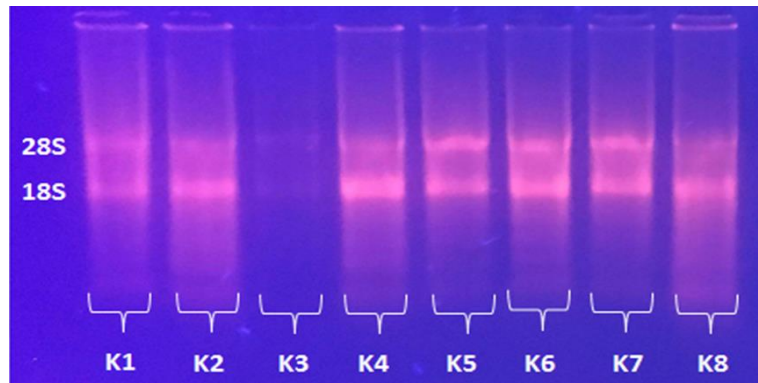
## 4.2. Total RNA İzolasyonu Bulguları

Karaciğer ve kas dokularından izole edilen total RNA'lar nükleik asit ölçer (Merinton SMA 1000) ile saflık ve konsantrasyon bakımından değerlendirilmiştir (Çizelge 4.2 ve 4.3). Yeterli saflık ve konsantrasyonda olan örnekler agaroz jel elektroforezinde koşturularak UV-transilluminatör ile görüntülenmiş, 28S ve 18S rRNA bantları değerlendirilerek bütünlük ve kalite bakımından kontrol edilmiştir (Şekil 4.3-10).

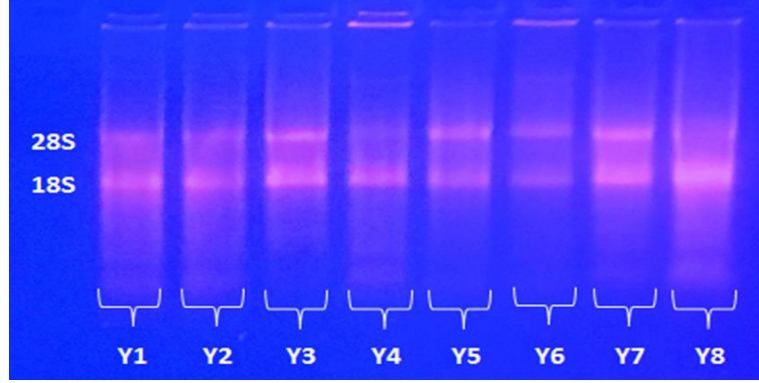
**Çizelge 4.2.** Karaciğer ve kas dokularından izole edilen total RNA'nın konsantrasyon ve saflık değerleri ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )

Doku	Özellik	Gruplar			
		K	Y	S	F
Karaciğer	Konsantrasyon (ng/ $\mu$ l)	503,15 $\pm$ 84,87	514,25 $\pm$ 115,72	450,87 $\pm$ 80,23	748,00 $\pm$ 135,97
	Saflık (A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub> )	1,98 $\pm$ 0,01	1,99 $\pm$ 0,01	1,99 $\pm$ 0,01	1,98 $\pm$ 0,01
Kas	Konsantrasyon (ng/ $\mu$ l)	231,84 $\pm$ 45,37	255,41 $\pm$ 37,62	335,83 $\pm$ 54,86	423,84 $\pm$ 58,87
	Saflık (A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub> )	1,76 $\pm$ 0,01	1,75 $\pm$ 0,01	1,78 $\pm$ 0,02	1,83 $\pm$ 0,02

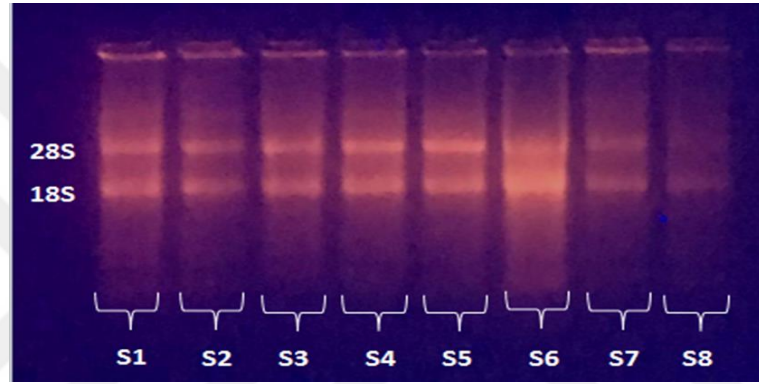
K: Kontrol Grubu, Y: Yağ Grubu, S: Sükroz Grubu, F: Fruktoz Grubu



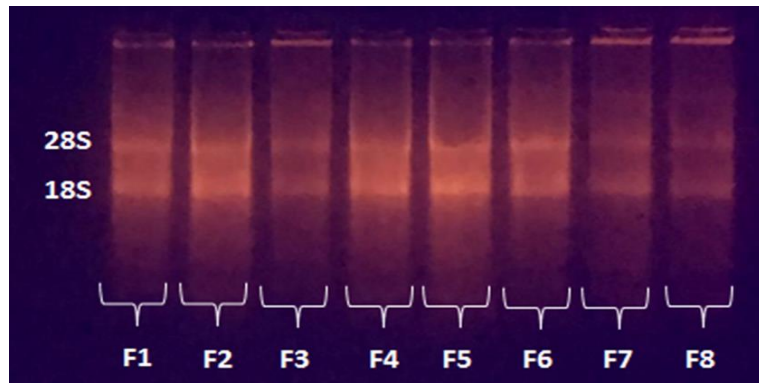
**Şekil 4.3.** Kontrol grubundaki ratların karaciğer dokularından izole edilen total RNA görüntüleri.



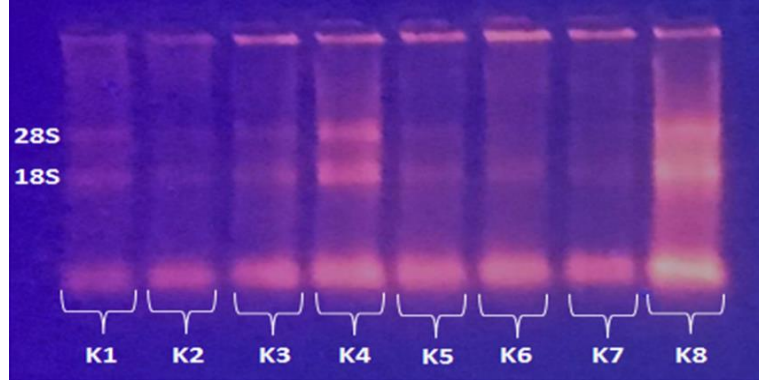
Şekil 4.4. Yağ grubundaki ratların karaciğer dokularından izole edilen total RNA görüntüleri.



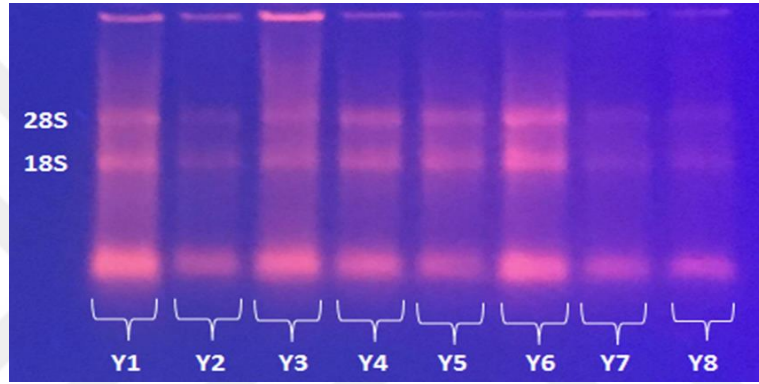
Şekil 4.5. Sükroz grubundaki ratların karaciğer dokularından izole edilen total RNA görüntüleri



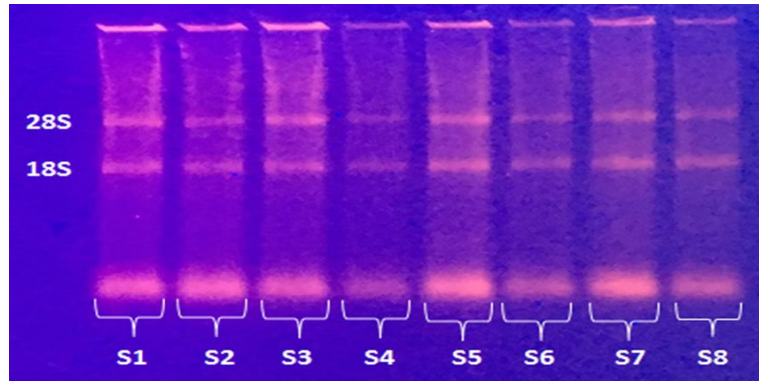
Şekil 4.6. Fruktoz grubundaki ratların karaciğer dokularından izole edilen total RNA görüntüleri



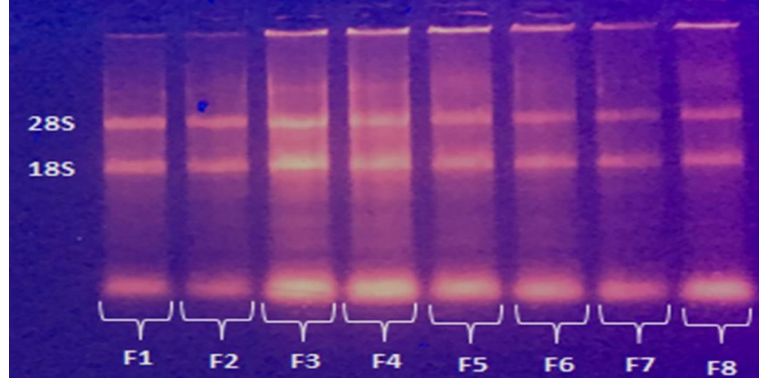
Şekil 4.7. Kontrol grubundaki ratların kas dokularından izole edilen total RNA görüntüleri



Şekil 4.8. Yağ grubundaki ratların kas dokularından izole edilen total RNA görüntüleri



Şekil 4.9. Sükroz grubundaki ratların kas dokularından izole edilen total RNA görüntüleri

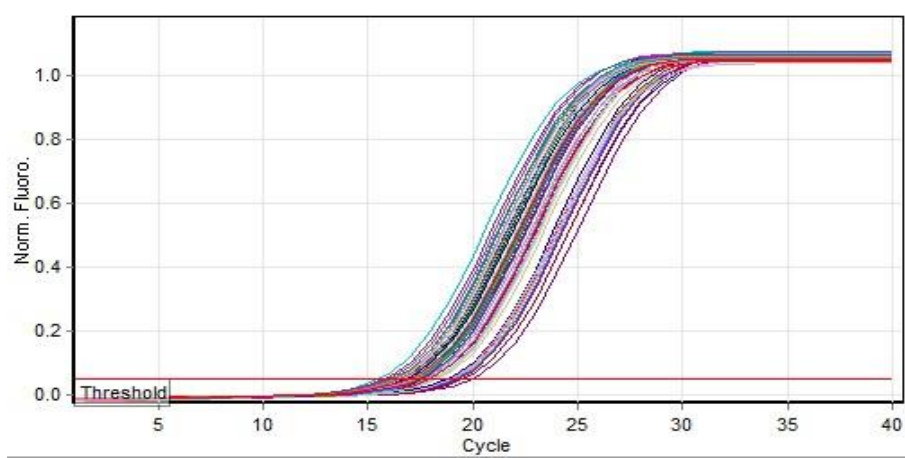


Şekil 4.10. Fruktoz grubundaki ratların kas dokularından izole edilen total RNA görüntüleri

### 4.3. RT-qPCR Sonuçları ve Gen Ekspresyonu Bulguları

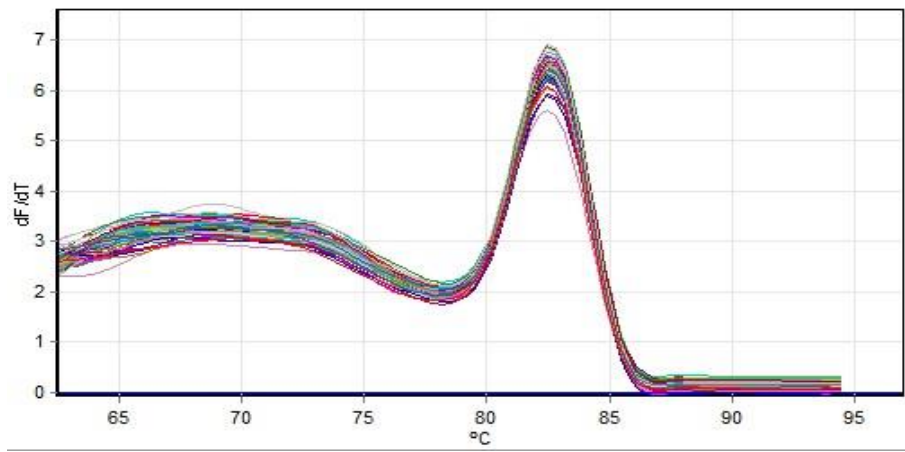
Karaciğer ve kas dokularından izole edilen total RNA'lar cDNA'ya dönüştürüldükten sonra PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 genlerinin ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. Referans gen olarak PPIA kullanılmıştır. RT-qPCR reaksiyonu sonrası bütün örnekler için erime eğrisi (melting curve) analizi yapılmıştır.

Karaciğer dokularında hedef genlere ait Ct ve Erime Eğrisi (Melting Curve) grafikleri Şekil 4.11-22'de verilmiştir.

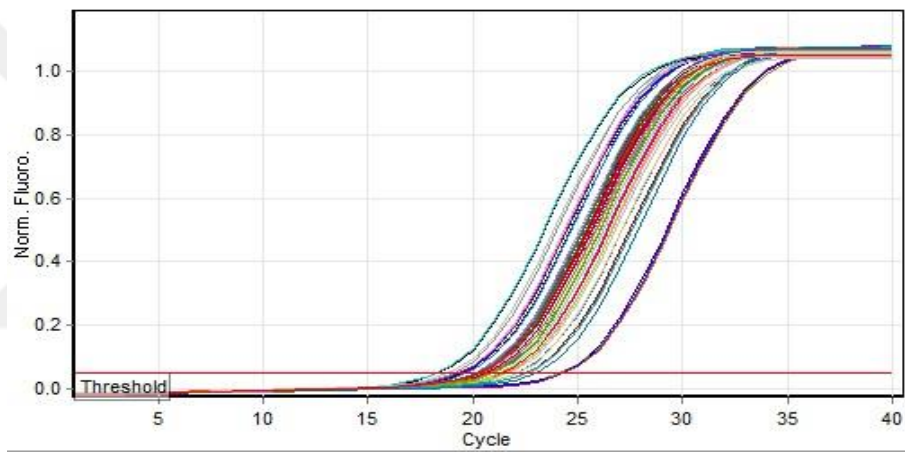


Şekil 4.11. PPIA geninin karaciğer dokularındaki Ct grafiği

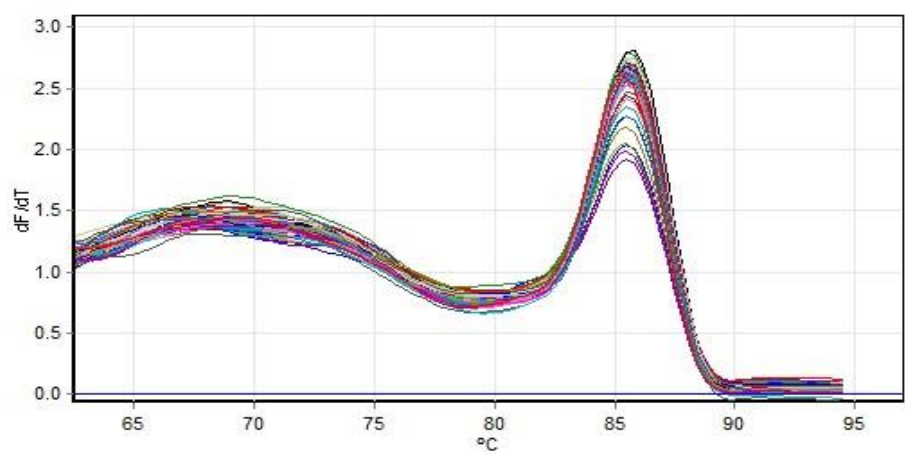




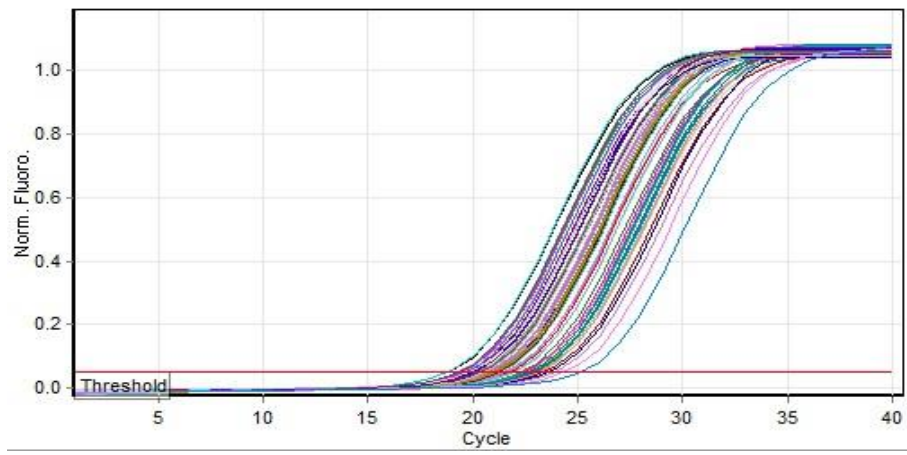
Şekil 4.12. PPIA geninin karaciğer dokularındaki erime eğrisi grafiği



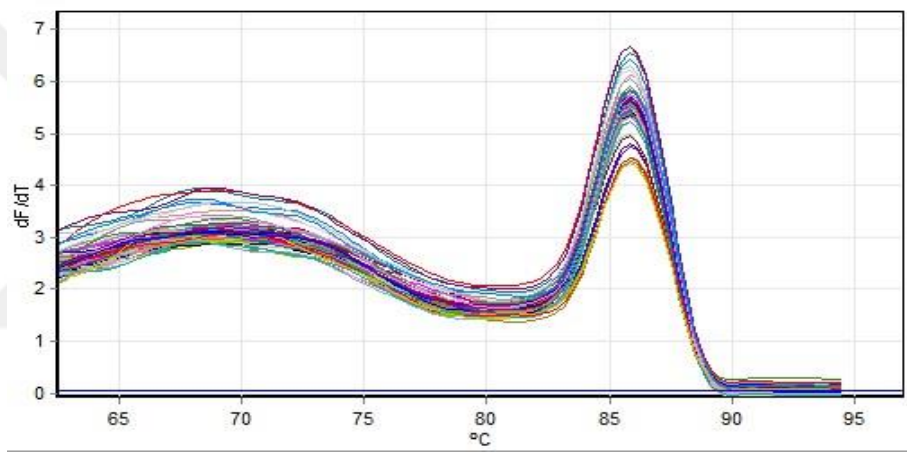
Şekil 4.13. PPARα geninin karaciğer dokularındaki Ct grafiği



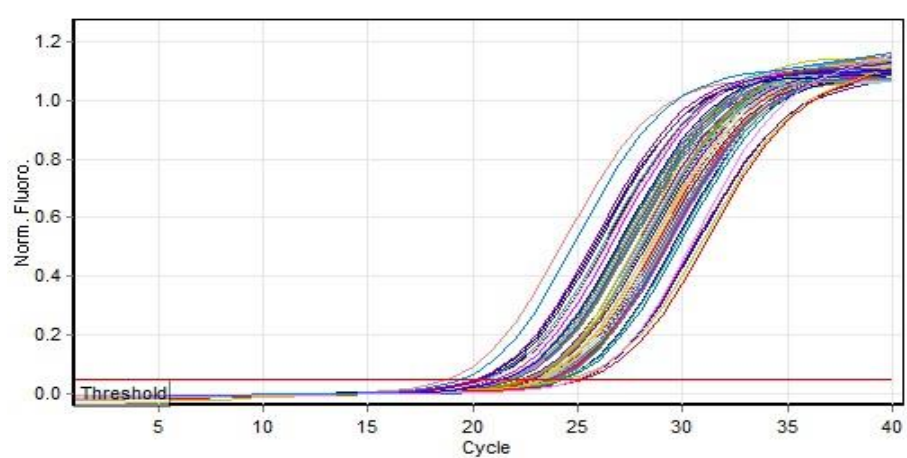
Şekil 4.14. PPARα geninin karaciğer dokularındaki erime eğrisi grafiği



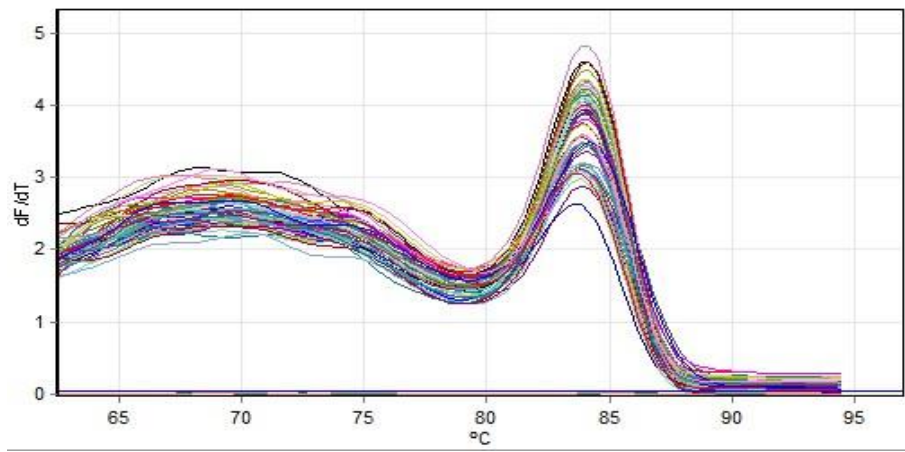
Şekil 4.15. LXR $\alpha$  geninin karaciğer dokularındaki Ct grafiği



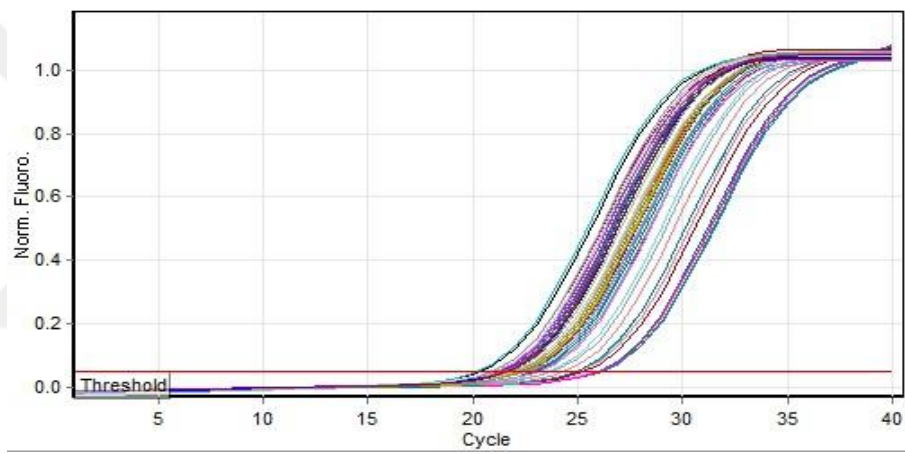
Şekil 4.16. LXR $\alpha$  geninin karaciğer dokularındaki erime eğrisi grafiği



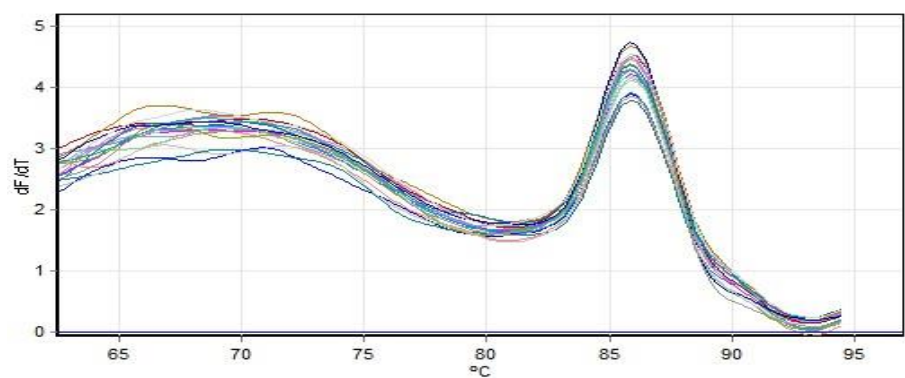
Şekil 4.17. ChREBP geninin karaciğer dokularındaki Ct grafiği



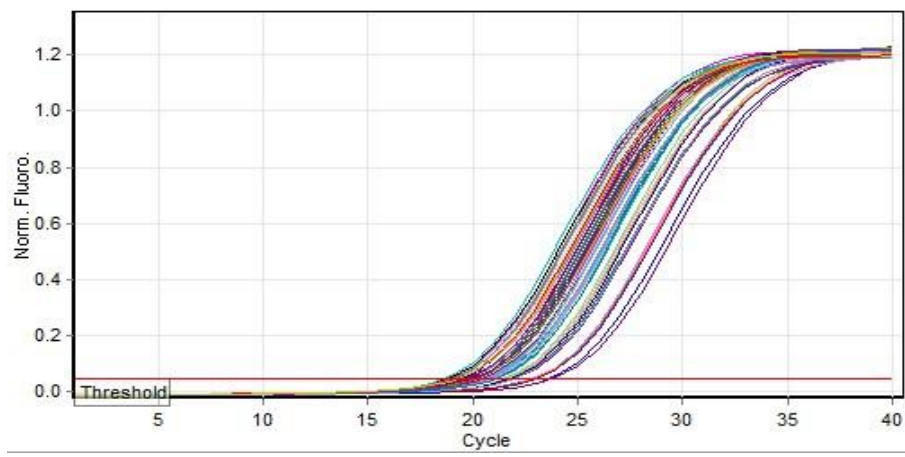
Şekil 4.18. ChREBP geninin karaciğer dokularındaki erime eğrisi grafiği



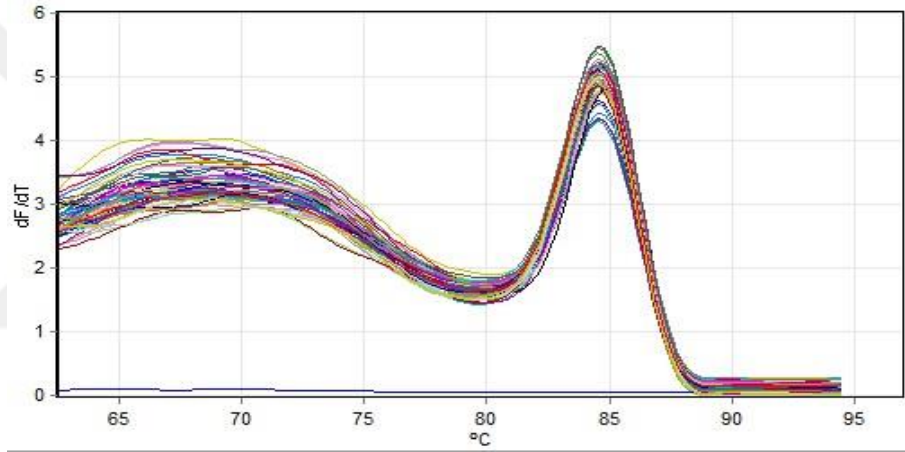
Şekil 4.19. SREBP-1c geninin karaciğer dokularındaki Ct grafiği



Şekil 4.20. SREBP-1c geninin karaciğer dokularındaki erime eğrisi grafiği



Şekil 4.21. AQP9 geninin karaciğer dokularındaki Ct grafiği



Şekil 4.22. AQP9 geninin karaciğer dokularındaki erime eğrisi grafiği

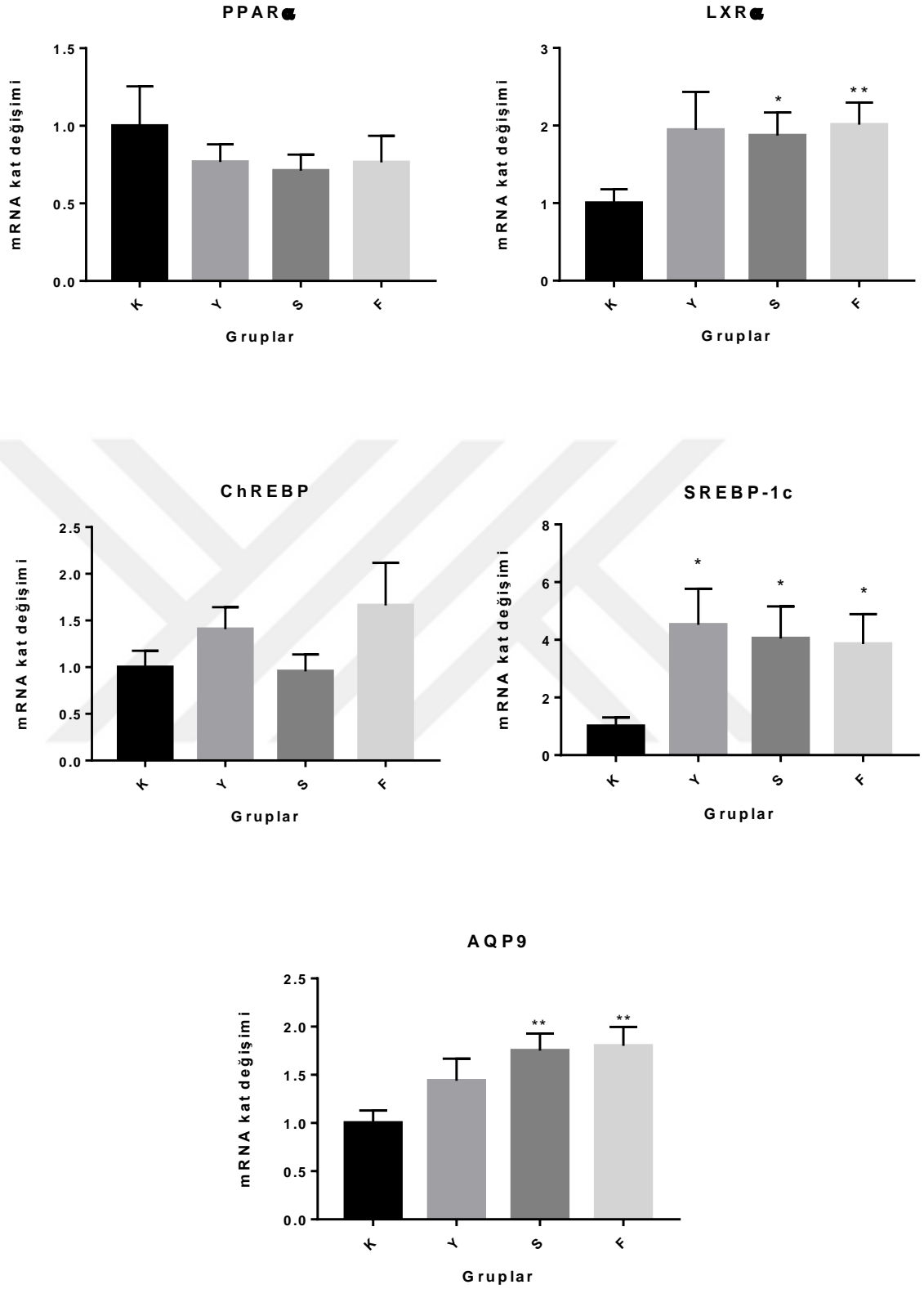
Karaciğer dokularındaki gen ekspresyon sonuçları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Sonuçlar PPIA referans genine göre normalize edilmiş, kontrol grubuna göre kat değişimi olarak gösterilmiştir.

Deneme gruplarında kontrol grubuna göre PPAR $\alpha$  gen ekspresyonu bakımından anlamlı bir artış tespit edilmemiştir. LXR $\alpha$  gen ekspresyonu bütün deneme gruplarında yaklaşık 2 kat artmıştır. Bununla birlikte istatistiksel olarak önemli artışın sadece S ve F gruplarında olduğu görülmüştür ( $P<0,05$ ). ChREBP gen ekspresyonu F grubunda yaklaşık bir buçuk kat ifade edilmiştir. SREBP-1c tüm deneme gruplarında kontrol grubuna göre yaklaşık 4 kat fazla ifade edilmiştir ( $P<0,05$ ). AQP9 gen ekspresyon seviyeleri ise S ve F gruplarında bir buçuk kattan fazla ifade edilmiştir ( $P<0,05$ ), (Şekil 4.23).

**Çizelge 4.3.** Karaciğer dokularında PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 genlerinin kontrol grubuna göre kat değişimleri ( $\bar{x} \pm s\bar{x}$ )

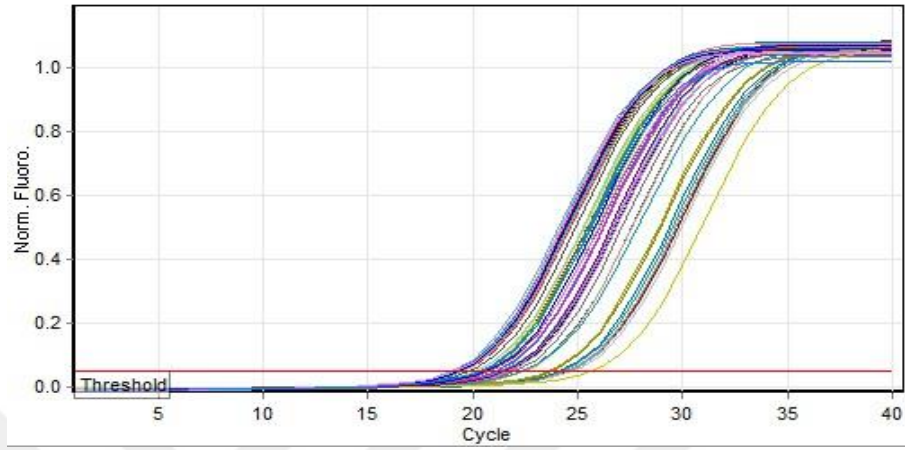
Genler	Y		S		F	
	Kat Değişimi	P	Kat Değişimi	P	Kat Değişimi	P
PPAR $\alpha$	0,76 $\pm$ 0,11	>0,05	0,71 $\pm$ 0,1	>0,05	0,76 $\pm$ 0,17	>0,05
LXR $\alpha$	1,94 $\pm$ 0,49	>0,05	1,87 $\pm$ 0,30	<0,05	2,01 $\pm$ 0,29	<0,01
ChREBP	1,41 $\pm$ 0,24	>0,05	0,95 $\pm$ 0,18	>0,05	1,66 $\pm$ 0,45	>0,05
SREBP-1c	4,52 $\pm$ 1,25	<0,05	4,05 $\pm$ 1,11	<0,05	3,85 $\pm$ 1,04	<0,05
AQP9	1,44 $\pm$ 0,23	>0,05	1,75 $\pm$ 0,18	<0,01	1,80 $\pm$ 0,20	<0,01

Y: Yağ Grubu, S: Sükroz Grubu, F: Fruktöz Grubu

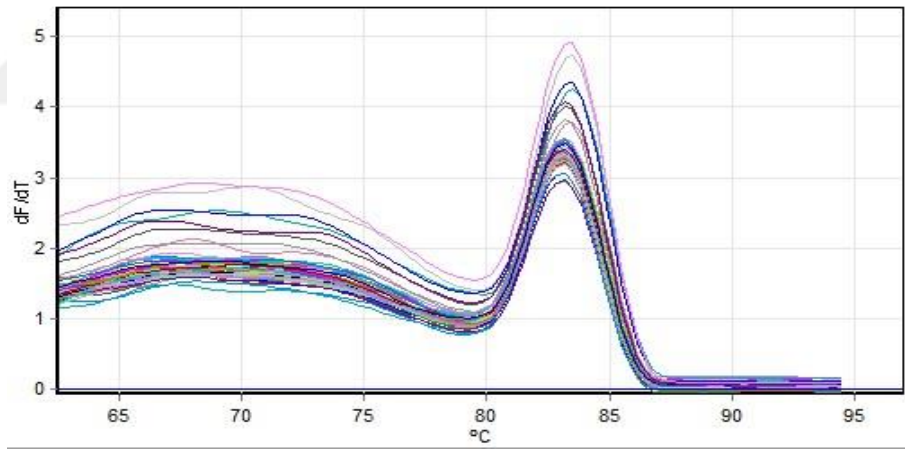


**şekil 4.23.** Karaciğer dokularında PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 gen ekspresyon seviyeleri (PPIA referans geni ile kontrol grubuna göre normalize edilen kat değişimleri, \*: p<0,05, \*\*:p<0,01).

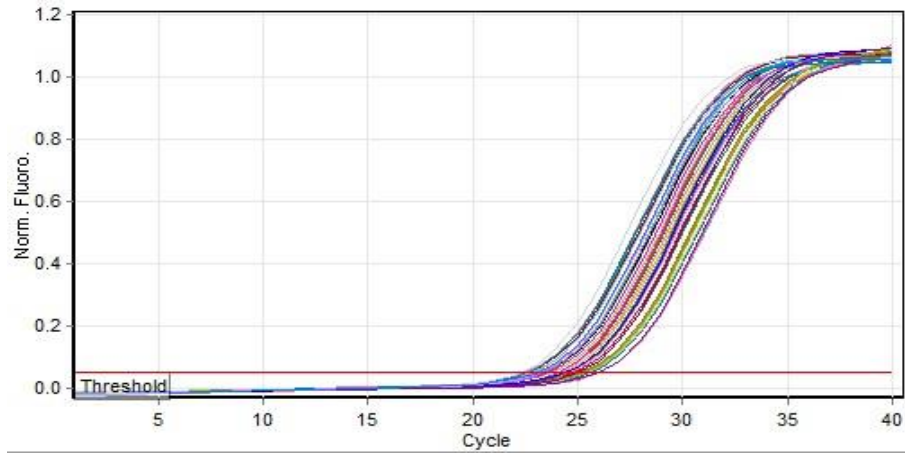
Kas dokularından çalışılan genlere ait Ct ve Erime eğrisi grafikleri Şekil 4.24-35’da verilmiştir.



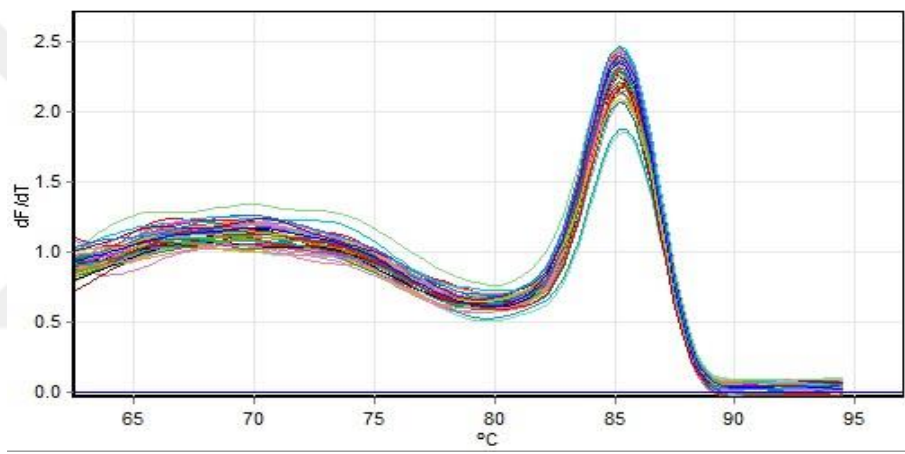
Şekil 4.24. PPIA geninin kas dokularındaki Ct grafiği



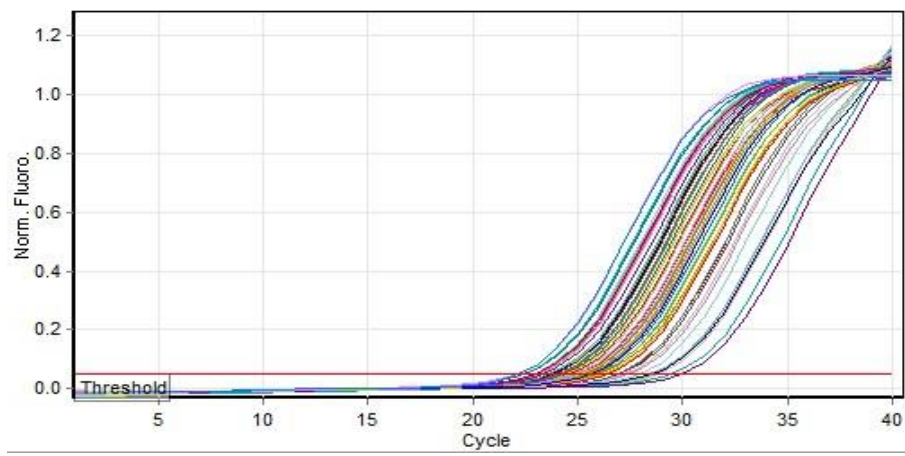
Şekil 4.25. PPIA geninin kas dokularındaki erime eğrisi grafiği



Şekil 4.26. PPARα geninin kas dokularındaki Ct grafiği

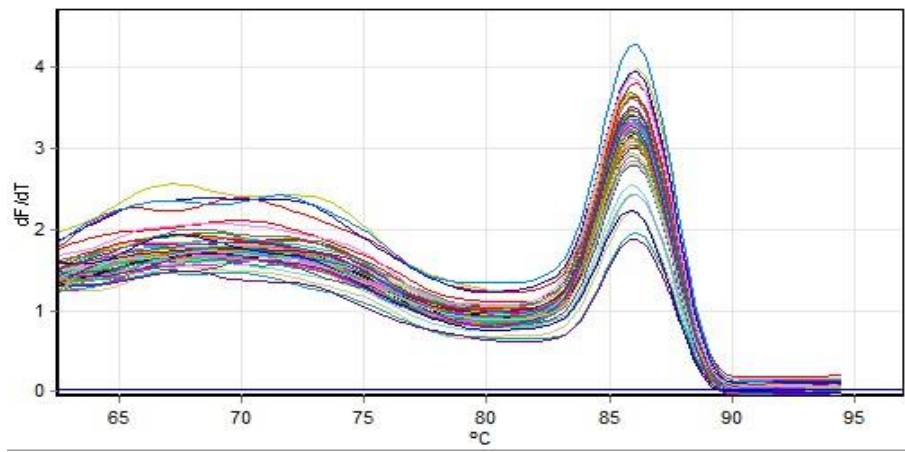


Şekil 4.27. PPARα geninin kas dokularındaki erime eğrisi grafiği

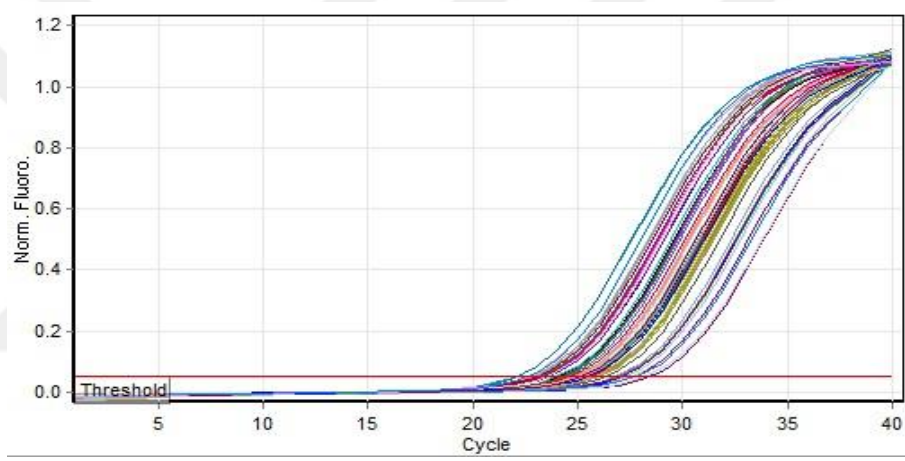


Şekil 4.28. LXRα geninin kas dokularındaki Ct grafiği

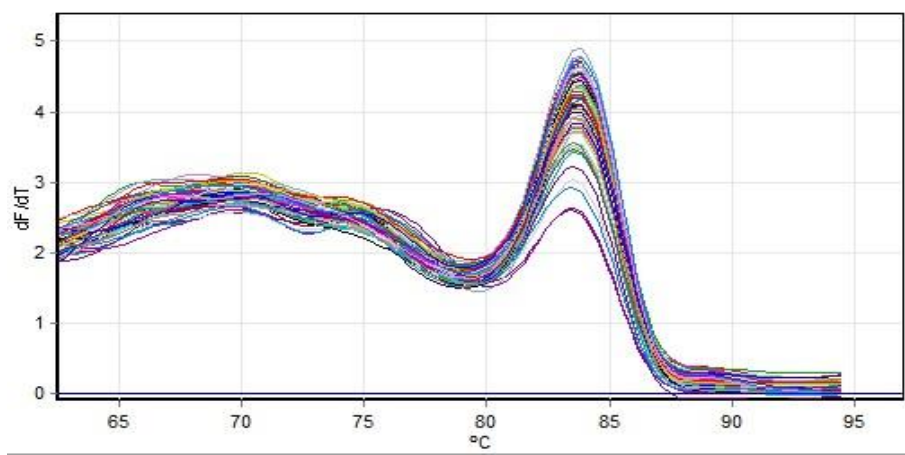




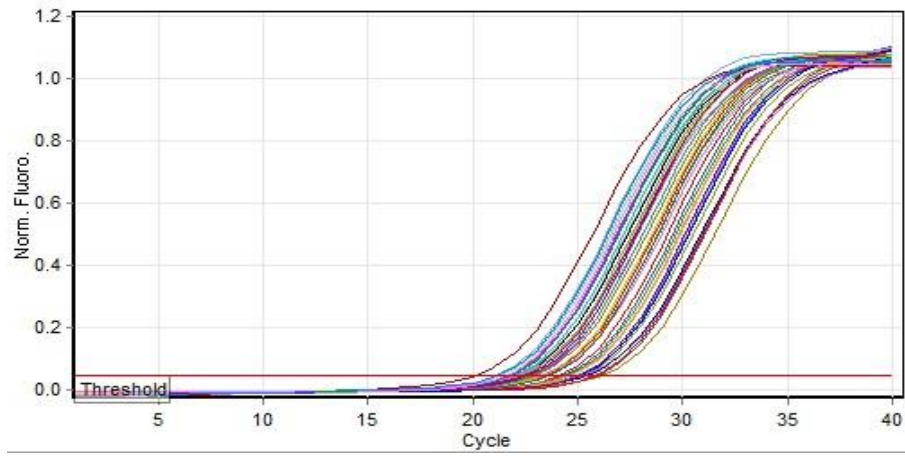
Şekil 4.29. LXRα geninin kas dokularındaki erime eğrisi grafiği



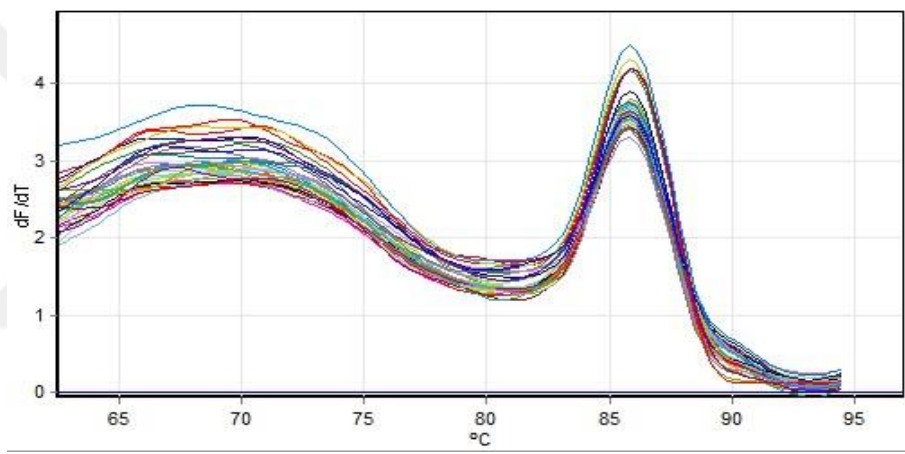
Şekil 4.30. ChREBP geninin kas dokularındaki Ct grafiği



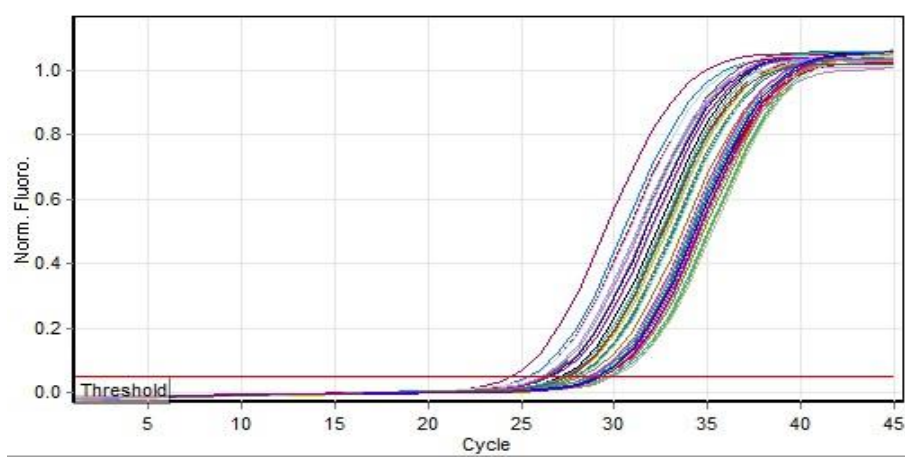
Şekil 4.31. ChREBP geninin kas dokularındaki erime eğrisi grafiği



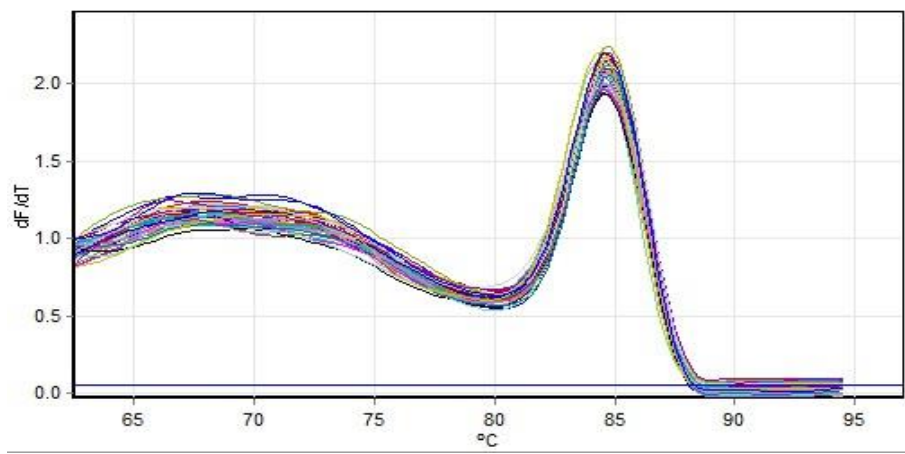
Şekil 4.32. SREBP-1c geninin kas dokularındaki Ct grafiği



Şekil 4.33. SREBP-1c geninin kas dokularındaki erime eğrisi grafiği



Şekil 4.34. AQP9 geninin kas dokularındaki Ct grafiği



Şekil 4.35. AQP9 geninin kas dokularındaki erime eğrisi grafiği

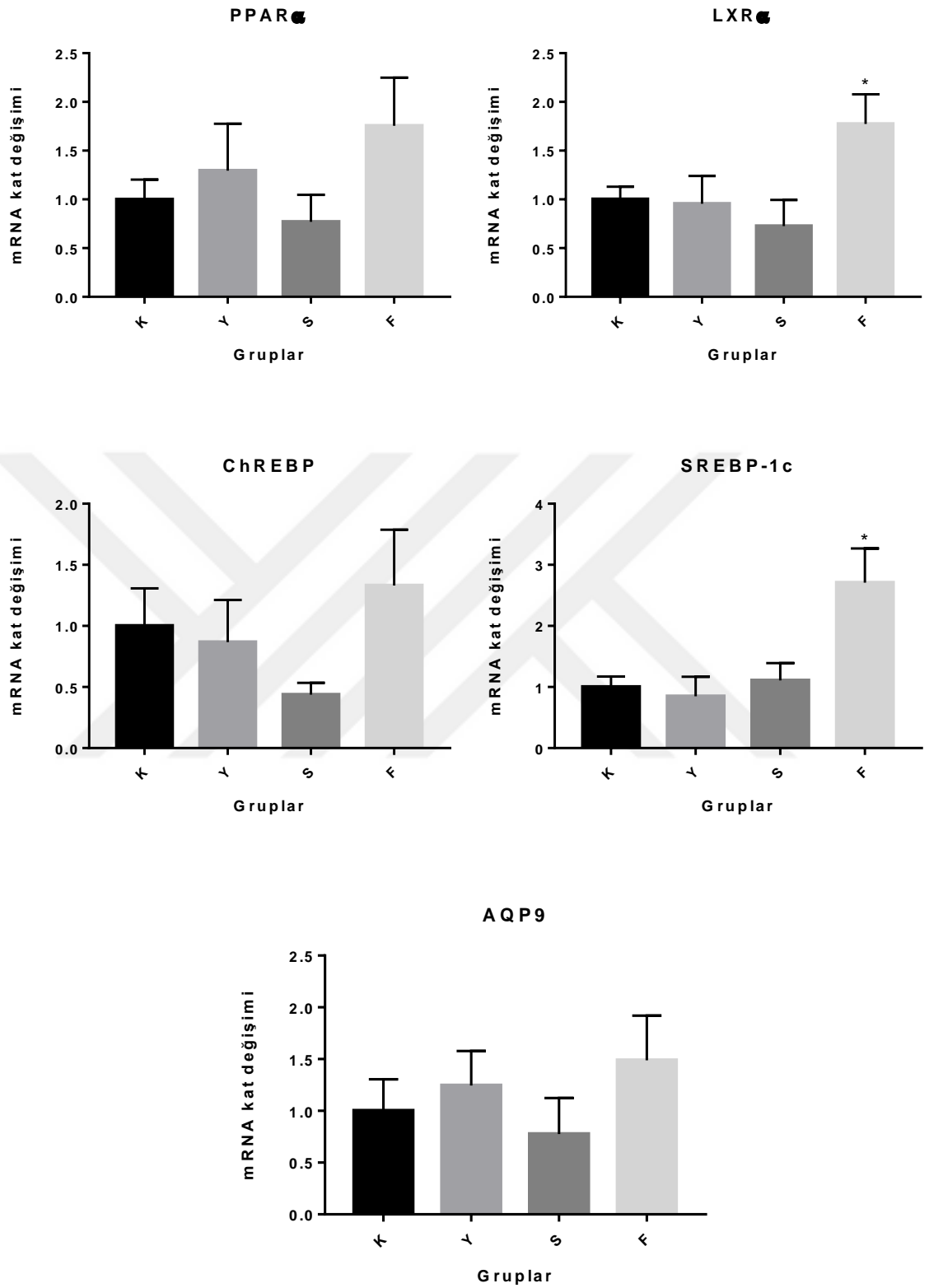
Kas dokudaki PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 genlerine ait ekspresyon seviyeleri Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

Kas dokuda deneme gruplarında kontrol grubuna göre PPAR $\alpha$  gen ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik olmazken F grubunda ortalama 1,76'lık bir artış tespit edilmiştir. LXR $\alpha$  gen ekspresyon seviyelerinde kontrol grubuna göre F grubunda LXR $\alpha$  gen ekspresyon seviyesi yaklaşık 2 kat ( $1,77 \pm 0,30$ ) artış tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ). Kas dokuda SREBP-1c gen ekspresyon seviyeleri yüksek enerjili gruplardan Y ve S grubunda K grubuna benzer olurken F grubunda yaklaşık 3 kat fazla ifade edilmiştir ( $P < 0,05$ ). AQP9 gen ekspresyon seviyelerinde yüksek enerjili beslemeye bağlı olarak anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir.

**Çizelge 4.4.** Kas dokularında PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 genlerinin kontrol grubuna göre kat değişimleri ( $\bar{x} \pm s\bar{x}$ )

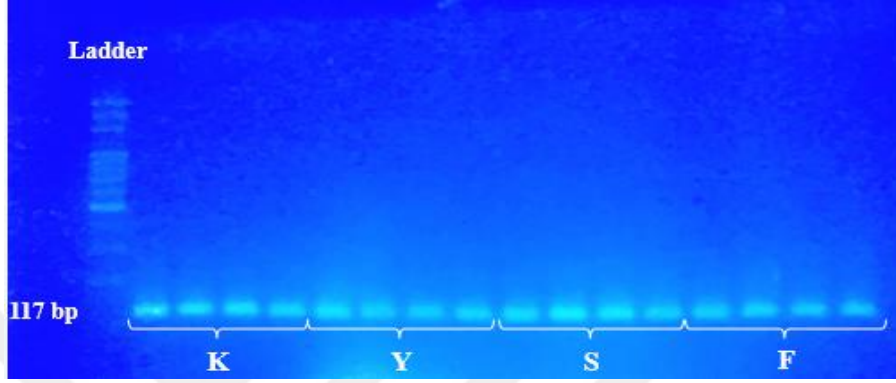
Genler	Y		S		F	
	Kat Değişimi	P	Kat Değişimi	P	Kat Değişimi	P
PPAR $\alpha$	1,30 $\pm$ 0,48	>0,05	0,77 $\pm$ 0,28	>0,05	1,76 $\pm$ 0,49	>0,05
LXR $\alpha$	0,96 $\pm$ 0,29	>0,05	0,73 $\pm$ 0,27	>0,05	1,77 $\pm$ 0,30	<0,05
ChREBP	0,87 $\pm$ 0,35	>0,05	0,44 $\pm$ 0,10	>0,05	1,33 $\pm$ 0,46	>0,05
SREBP-1c	0,85 $\pm$ 0,32	>0,05	1,11 $\pm$ 0,28	>0,05	2,71 $\pm$ 0,56	<0,05
AQP9	1,25 $\pm$ 0,33	>0,05	0,78 $\pm$ 0,35	>0,05	1,49 $\pm$ 0,43	>0,05

Y: Yağ Grubu, S: Sükroz Grubu, F: Fruktöz Grubu

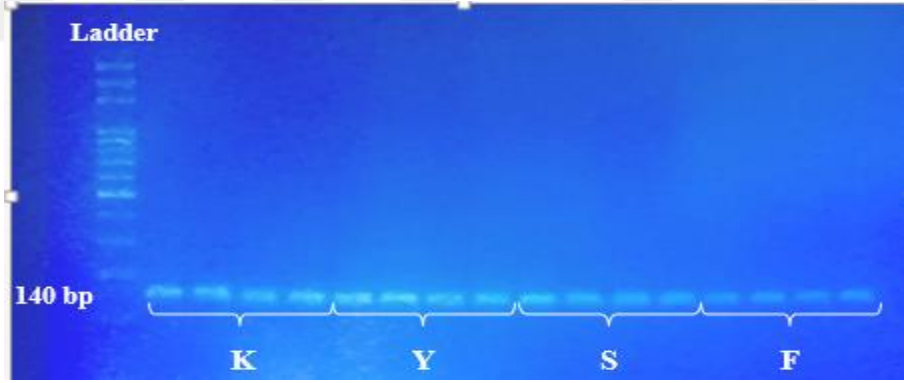


**şekil 4.36.** Kas dokularında PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 gen ekspresyon seviyeleri (PPIA referans geni ile kontrol grubuna göre normalize edilen kat değişimleri, \*: p<0,05).

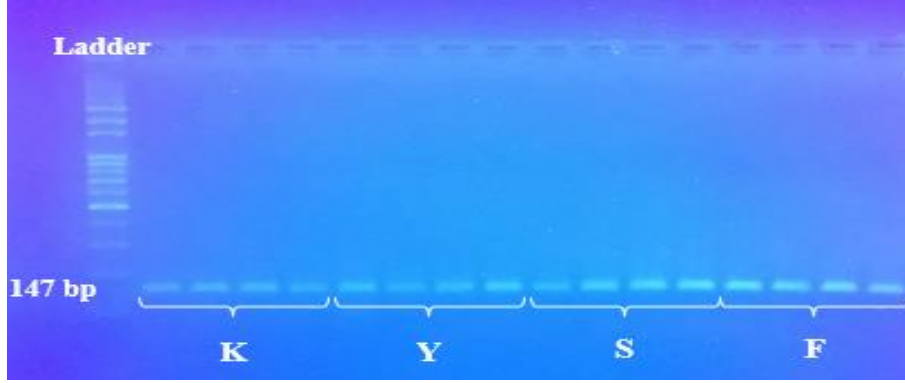
RT-qPCR uygulamasından sonra elde edilen ürünler doğrulama amacıyla %1,5'lük agaroz jel elektroforezinde 110 V'de yaklaşık 40 dk koşturulmuştur. Karaciğer ve kas dokularında çalışılan genlerin RT-qPCR ürünlerine ait jel görüntüleri Şekil 4.37-48'de verilmiştir.



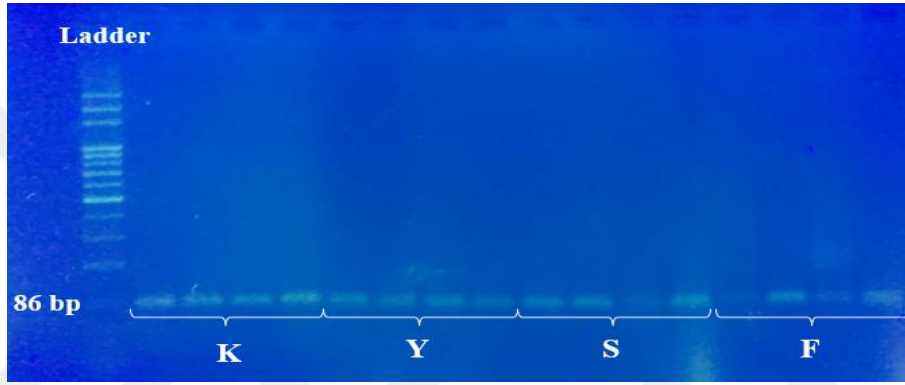
Şekil 4.37. PPIA geninin karaciğer dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü



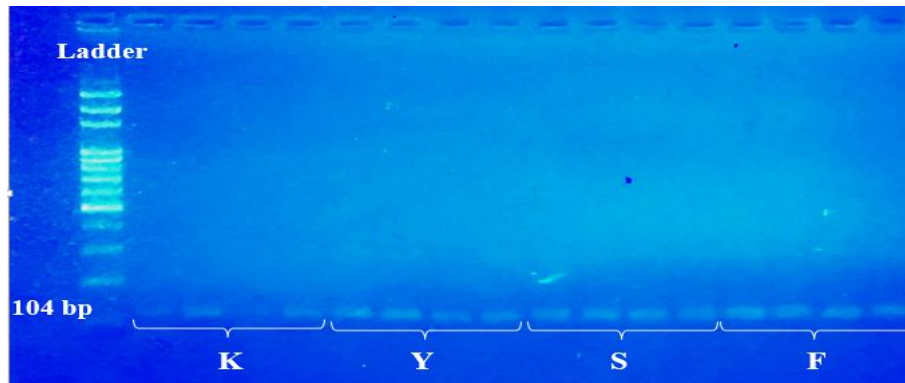
Şekil 4.38. PPARα geninin karaciğer dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü



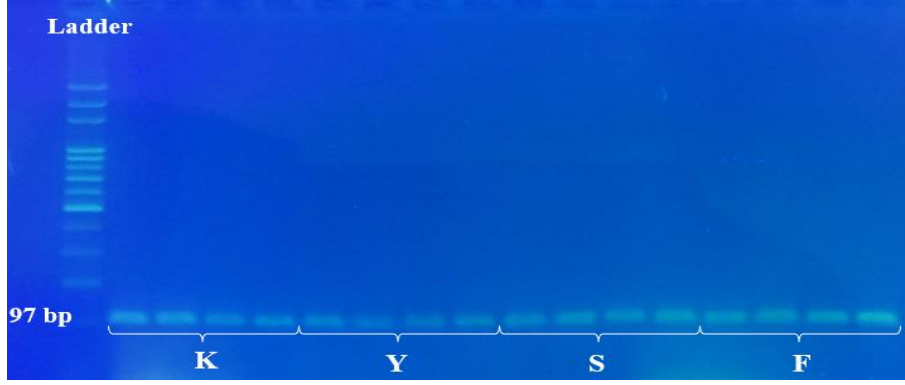
Şekil 4.39. LXR $\alpha$  geninin karaciğer dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü



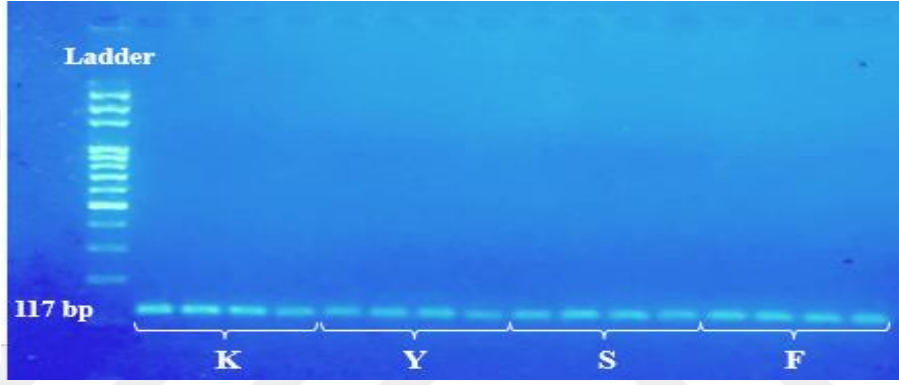
Şekil 4.40. ChREBP geninin karaciğer dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü



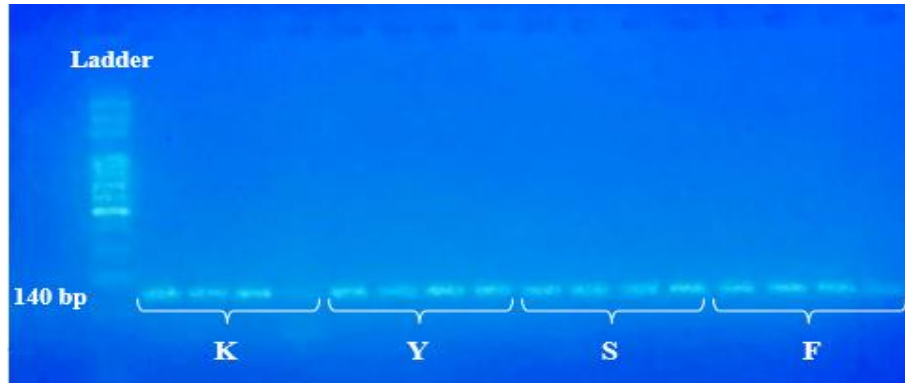
Şekil 4.41. SREBP-1c geninin karaciğer dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü



Şekil 4.42. AQP9 geninin karaciğer dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü

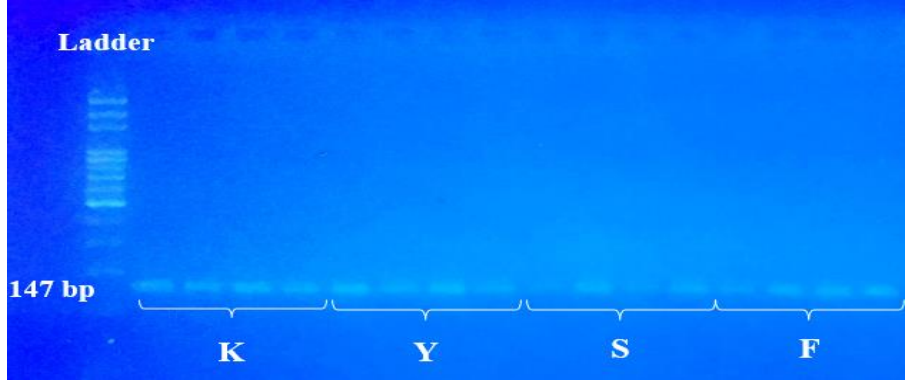


Şekil 4.43. PPIA geninin kas dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü

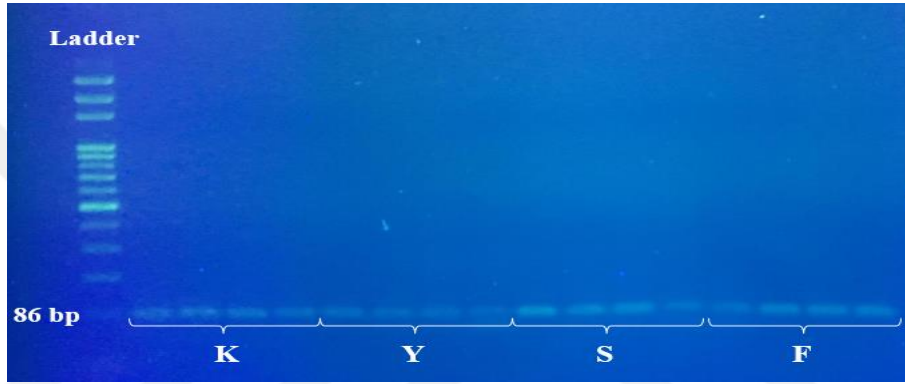


Şekil 4.44. PPARα geninin kas dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü

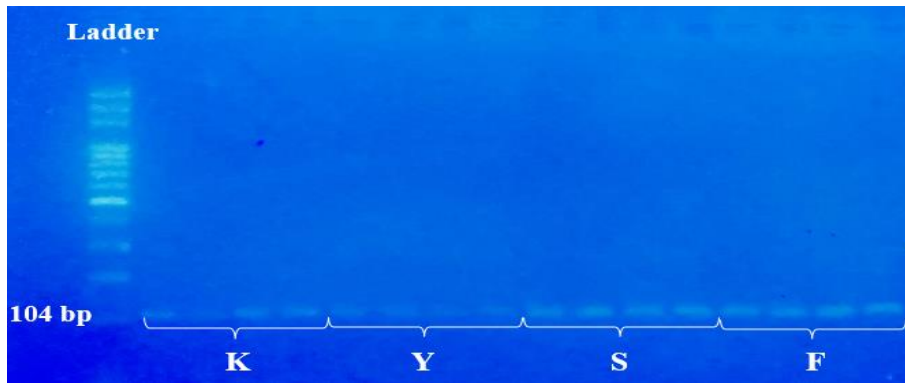




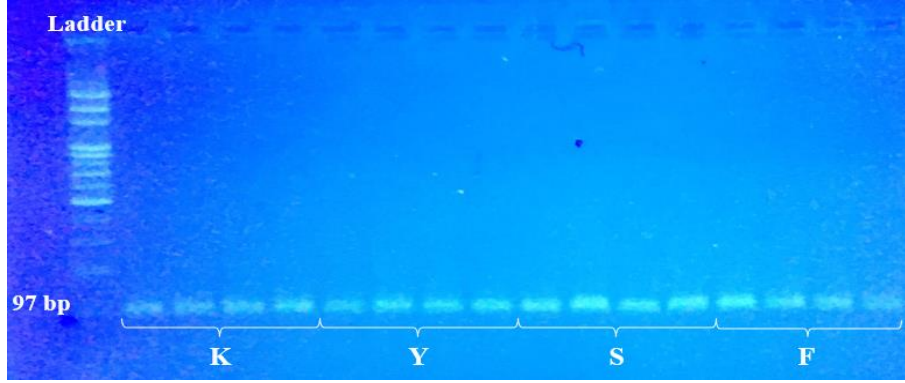
Şekil 4.45. LXR $\alpha$  geninin kas dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü



Şekil 4.46. ChREBP geninin kas dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü



Şekil 4.47. SREBP-1c geninin kas dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü



Şekil 4.48. AQP9 geninin kas dokularından elde edilen RT-qPCR jel elektroforez ürün görüntüsü

#### 4.4. Hedef Genlere Ait Protein Miktarları

PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 genlerinin kodladığı proteinler ELISA yöntemiyle belirlenerek ilgili dokudaki total proteine göre oranlanmış ve ng/mg protein cinsinden gösterilmiştir (Çizelge 4.5).

PPAR $\alpha$  ve AQP9 için yapılan ELISA çalışmasında hem karaciğer hem de kas dokusunda bütün gruplardaki protein konsantrasyonları benzer bulunmuştur. ChREBP ve SREBP-1c protein miktarlarında gruplar arasında her iki dokuda da anlamlı farklılık tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ;  $P<0,01$  ve  $P<0,001$ ). ChREBP ve SREBP-1c protein miktarları her iki dokuda da en yüksek F grubunda bulunmuştur.

**Çizelge 4.5.** PPAR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c ve AQP9 protein miktarları (ng/mg protein), ( $\bar{x} \pm s\bar{x}$ )

Protein	Doku	Gruplar				P
		K	Y	S	F	
PPAR $\alpha$	Karaciğer	108,76 $\pm$ 12,64	85,82 $\pm$ 5,10	92,17 $\pm$ 9,04	98,37 $\pm$ 17,75	>0,05
	Kas	27,03 $\pm$ 3,19	26,11 $\pm$ 4,02	26,30 $\pm$ 3,81	26,81 $\pm$ 2,13	>0,05
LXR $\alpha$	Karaciğer	20,20 $\pm$ 2,13	20,45 $\pm$ 0,92	18,68 $\pm$ 0,90	18,53 $\pm$ 4,09	>0,05
	Kas	4,86 $\pm$ 0,32 <sup>b</sup>	4,30 $\pm$ 0,72 <sup>b</sup>	5,15 $\pm$ 0,35 <sup>b</sup>	6,67 $\pm$ 0,60 <sup>a</sup>	<0,05
ChREBP	Karaciğer	24,05 $\pm$ 1,85 <sup>ab</sup>	13,06 $\pm$ 1,57 <sup>b</sup>	14,28 $\pm$ 3,76 <sup>b</sup>	33,92 $\pm$ 8,84 <sup>a</sup>	<0,05
	Kas	3,53 $\pm$ 0,29 <sup>b</sup>	4,22 $\pm$ 0,54 <sup>b</sup>	6,47 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	7,11 $\pm$ 1,29 <sup>a</sup>	<0,01
SREBP-1c	Karaciğer	82,16 $\pm$ 3,53 <sup>bc</sup>	97,98 $\pm$ 10,39 <sup>b</sup>	61,21 $\pm$ 7,18 <sup>c</sup>	135,16 $\pm$ 15,57 <sup>a</sup>	<0,001
	Kas	21,71 $\pm$ 2,56 <sup>b</sup>	24,52 $\pm$ 4,99 <sup>b</sup>	27,73 $\pm$ 3,92 <sup>b</sup>	43,17 $\pm$ 6,37 <sup>a</sup>	<0,05
AQP9	Karaciğer	62,44 $\pm$ 5,40	63,30 $\pm$ 8,60	54,42 $\pm$ 5,49	60,96 $\pm$ 13,16	>0,05
	Kas	15,78 $\pm$ 1,92	14,68 $\pm$ 1,80	14,57 $\pm$ 0,80	16,83 $\pm$ 1,12	>0,05

K: Kontrol Grubu, Y: Yağ Grubu, S: Sükroz Grubu, F: Fruktöz Grubu

#### 4.5. Biyokimyasal Parametreler

Bazı biyokimyasal parametreler plazmada ölçülerek Çizelge 4.6'da verilmiştir. İnsülin seviyeleri ELISA Reader cihazı (Multiskan GO Microplate Spectrophotometer, ThermoFisher Scientific) ile ölçülürken, diğer tüm parametreler otoanalizör (Architect c8000 Chemistry Analyser, Abbott Laboratories) ile ölçülmüştür. Glikoz en fazla F grubunda bulunurken en az S grubunda tespit edilmiştir. Bununla birlikte K, Y ve S gruplarında plazma glikoz miktarının benzer olduğu görülmüştür. İnsülin miktarının S ve F

grubunda, K ve Y grubuna göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Total kolesterol bakımından yapılan incelemede F grubunun en yüksek kolesterole sahip olduğu belirlenmiş ancak bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. HDL ve LDL bakımından gruplar arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir. Ancak trigliserit miktarının en fazla F grubunda olduğu belirlenmiştir (P<0,05). ALT ve AST miktarı K ve F gruplarında yüksek bulunmuştur (P<0,05). AST/ALT oranı 3,13 olarak en yüksek F grubunda tespit edilmiş ve K ve Y grubu ile arasında önemli fark bulunmuştur (P<0,05). GGT seviyesi tüm gruplarda benzer bulunmuştur (Çizelge 4.6).

**Çizelge 4.6.** Bazı biyokimyasal parametreler(  $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$  )

Özellik	Gruplar				P
	K	Y	S	F	
<b>Glikoz</b> (mg/dL)	146,30±8,71 <sup>b</sup>	156,75 ± 8,55 <sup>b</sup>	137,32 ± 8,35 <sup>b</sup>	196,13 ±15,79 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,05</b>
<b>İnsülin</b> (mIU/L)	2,56±0,36 <sup>a</sup>	2,44±0,11 <sup>ab</sup>	2,00±0,54 <sup>b</sup>	1,91±0,52 <sup>b</sup>	<b>&lt;0,05</b>
<b>T.Kol</b> (mg/dL)	84,13 ±6,55	87,88 ±3,30	92,25 ± 3,30	114,38 ±16,71	>0,05
<b>HDL</b> (mg/dl)	36,27 ± 2,65	36,58 ±1,53	36,01 ± 1,90	30,44 ± 2,42	>0,05
<b>LDL</b> (mg/dl)	11,17 ± 0,60	12,00 ± 0,60	9,63 ± 0,91	12,75 ± 1,97	>0,05
<b>Trigliserit</b> (mg/dl)	23,83 ± 4,21 <sup>b</sup>	23,83 ± 2,22 <sup>b</sup>	82,13 ± 17,81 <sup>b</sup>	191,98 ± 69,43 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,01</b>
<b>ALT</b> (U/L)	88,75 ± 26,64 <sup>a</sup>	51,75 ± 2,00 <sup>ab</sup>	36,00 ± 4,09 <sup>b</sup>	40,88 ± 2,50 <sup>b</sup>	<b>&lt;0,05</b>
<b>AST</b> (U/L)	153,63 ± 37,88 <sup>a</sup>	108,00 ± 2,35 <sup>b</sup>	94,63 ± 3,76 <sup>b</sup>	126,75 ± 10,39 <sup>ab</sup>	<b>&lt;0,05</b>
<b>AST/ALT</b>	2,17±0,34 <sup>b</sup>	2,12±0,11 <sup>b</sup>	2,85±0,32 <sup>ab</sup>	3,13±0,21 <sup>a</sup>	<b>&lt;0,05</b>
<b>GGT</b> (U/L)	3,38 ± 1,03	3,00 ± 0,27	3,38 ± 0,38	4,25 ± 0,70	>0,05

**T. Kol:** Total Kolesterol

#### 4.6. Histopatoloji

Kontrol ve deneme gruplarında gözlenen histopatolojik bulgular Çizelge 4.7’de özetlenmiştir.

**K grubu:** Karaciğer dokularında hepatositler, Remark kordonları ve hepatik sentral ven normal histolojik yapısında gözlenmiştir (Şekil 4.49).

**Y grubu:** Vena sentralislerin hyalinöz materyal ve eritrositler ile genişlediği, bazı portal venlerin periferinde çoğunluğu mononükleer tarzda yangısal hücre infiltrasyonların olduğu dikkat çekmektedir. Hepatositler arasındaki sinüzoidal boşluklarda yer yer genişleme ile bazı hepatosit sitoplazmalarında eozinofili artmış ve çekirdekleri hematoksilen ile daha koyu mavi renkte boyandığı görülmüştür (piknotik değişiklikler). Bu bulgulara ilaveten fokal alanlar halinde bazı hepatositlerin sitoplazmalarında keskin sınırlı yağ vakuelleri (steatoz) ile parankimden hidropiğe varan dejeneratif değişiklikler tespit edilmiştir (Şekil 4.50-52).

**S grubu:** Portal venlerin ve sinüzoidal bölgelerin eritrosit birikimine bağlı olarak genişlediği görülmüştür (pasif hiperemi). Fokal alanlar halinde vena sentralisler çevresinde keskin sınırlı yağ vakuelleri ile bazı hepatositlerde balonumsu dejenerasyon göze çarpmıştır. Hepatositlerde dejeneratif (parankim-hidropik) ve piknotik değişiklikler görülmüştür. Az sayıdaki mononükleer yangısal hücre infiltrasyonu perisentral yerleşimli olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.53-54).

**F grubu:** Remark kordonlarının düzenini kaybettiği, perisentral yerleşimli mononükleer hücrel infiltrasyona ven lümenlerinde yoğun hyalinöz materyal ile eritrosit birikiminin eşlik ettiği görülmektedir. Eritrosit birikimlerine bağlı sinüzoidal boşluklarda genişleme göze çarpmaktadır (pasif hiperemi). Y ve S gruplarına göre diffuz dağılımlı, daha büyük ve keskin sınırlı yağ vakuelleri (steatoz) tespit edilmiştir. Sitoplazmaları daha eozinofilik, çekirdekleri ise daha mavi boyanmış (hiperkromazi) çok sayıda hepatosit bulunmuştur. Hepatositlerde belirgin parankim ve hidropik dejenerasyon ile şiddetli etkilenen bazı hepatositlerin sitoplazmalarında balonumsu dejenerasyon (S grubuna göre daha şiddetli) tespit edilmiştir (Şekil 4.55-56).

**Derece 0:** Histopatolojik değişiklik % 5'in altında.

**Derece 1:** Tüm alanın %5 ile %33'ü arasında meydana gelen hafif histopatolojik değişiklikler.

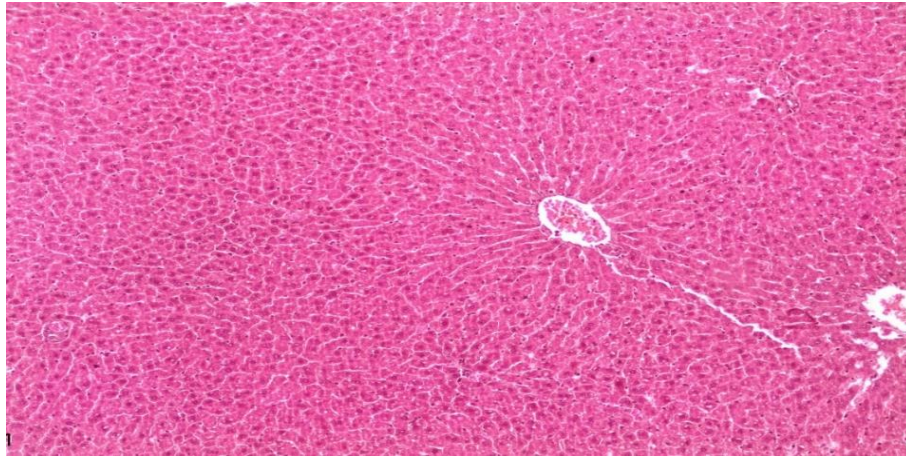
**Derece 2:** Tüm alanın %33 ile %66'sı arasındaki alanda meydana gelen orta derecede histopatolojik değişiklikler.

**Derece 3:** Tüm alanın %66'sından daha fazla alanda meydana gelen ağır histopatolojik değişiklikler.

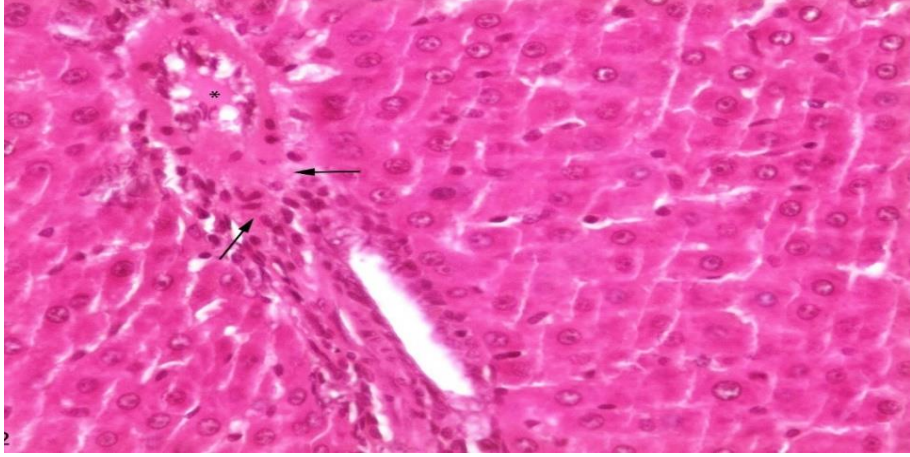
**Çizelge 4.7.** Karaciğerlerde gözlenen genel histopatolojik bulgular

Grup	Dejeneratif Değişiklikler						Nekrotik Değişiklikler	
	Yangı	Yağlanma	P. Hiperemi	Parankim	Hidropik	Balonsu	Sitoplazma Eozinofilinde Artış	Çekirdekte Hiperkromazi
<b>K</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Y</b>	1	1	1	1	1	0	2	2
<b>S</b>	2	1	3	2	2	1	2	2
<b>F</b>	2	2	3	3	3	2	3	3

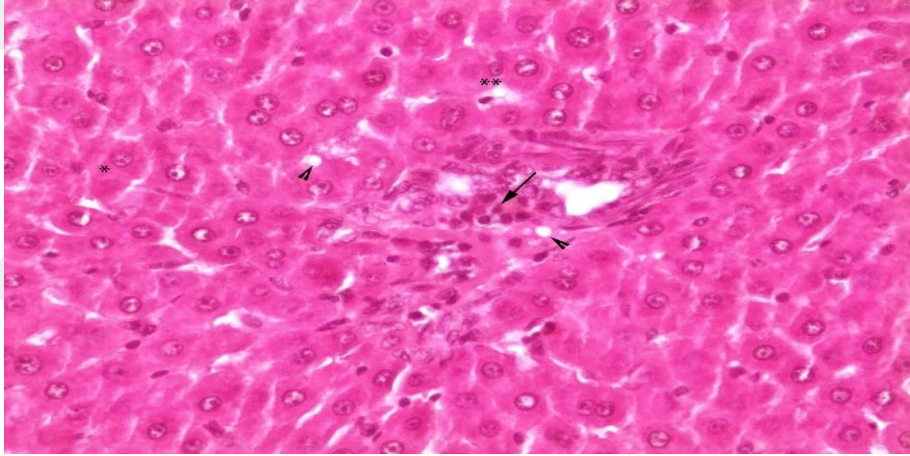
**P. Hiperemi:** Pasif Hiperemi



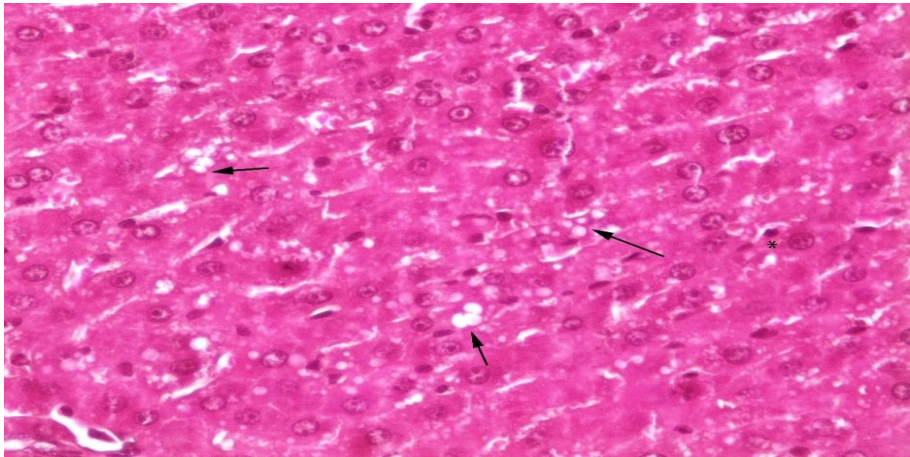
**Şekil 4.49.** Kontrol grubu; karaciğerde normal histolojik yapı, H&E X 100µm



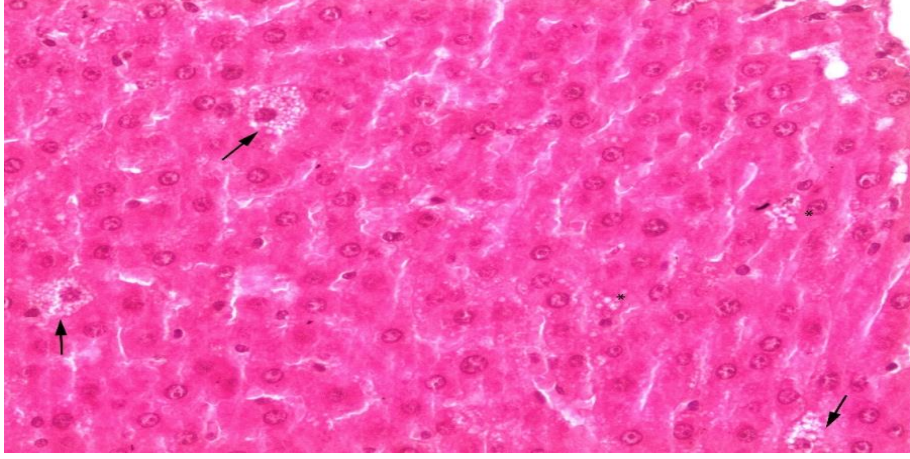
**Şekil 4.50.** Y grubu; santral vende hyalinöz materyal ve eritrositler (\*) ve yangısal hücre infiltrasyonu (oklar), H&E X 20µm



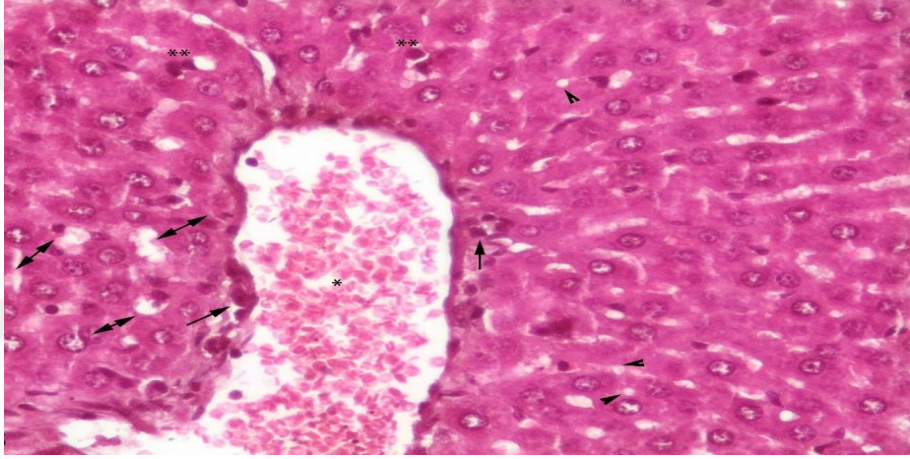
**Şekil 4.51.** Y grubu; hepatositlerde parankim (\*) ve hidropik dejenerasyonu (\*\*), yağ vakuelleri (ok başları) ile yangısal hücre infiltrasyonu (ok), H&E X 20µm



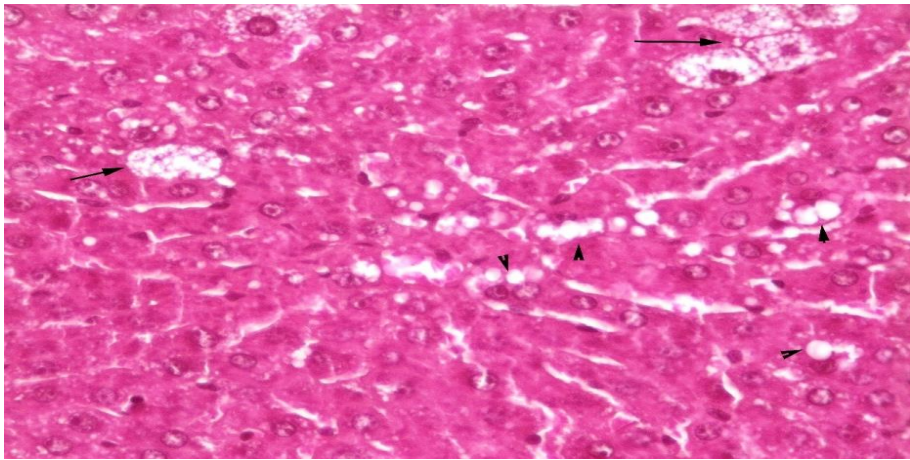
**Şekil 4. 52.** Y grubu; hepatosit sitoplazmalarında keskin sınırlı yağ vakuelleri (oklar), H&E X 20µm



**Şekil 4. 53.** S grubu; hepatositlerde balonumsu dejenerasyon (oklar), H&E X 20µm

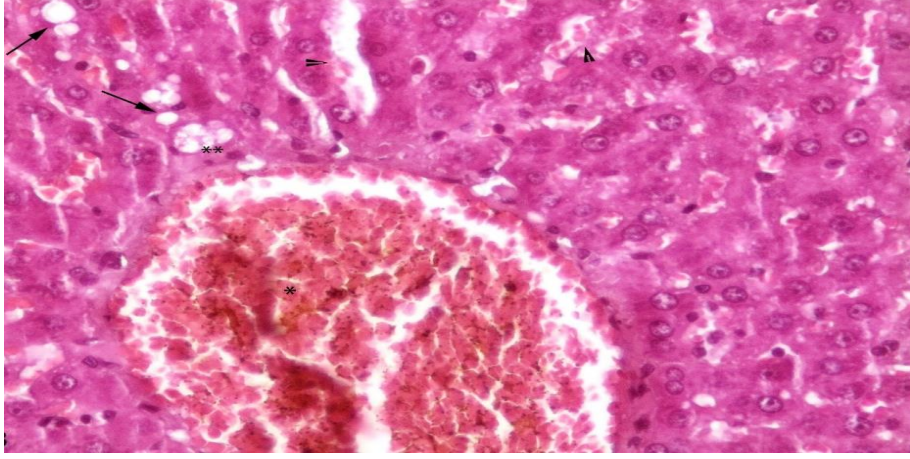


**Şekil 4. 54.** S grubu; hepatositlerde eozinofilide artış ve sitoplazmada hiperkromazi (\*\*), vena sentraliste eritrositler (\*) ve periferinde yangısal hücre infiltrasyonu (oklar), hepatositlerde hidropik dejenerasyon (çiftli oklar) ve yağ vakuolleri (ok başları), H&E X 20µm



**Şekil 4. 55.** F grubu; hepatositlerde yağ vakuolleri (ok başları) ile balonumsu dejenerasyon (oklar), H&E X 20µm





**Şekil 4. 56.** F grubu; vena sentraliste eritrosit biriki ile hyalinöz madde birikimi (\*), sinüzoidal boşluklarda eritrosiler birikimi ile genişleme (ok başları), yağlanma (oklar), hidropik dejenerasyon (\*\*), H&E X 20µm

## 5. TARTIŞMA

Beslenme, organizmada birçok olayın gerçekleşmesi için gerekli olan önemli bir fizyolojik aktivitedir. Beslenme prosesinde yüksek enerji tüketimi alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması, insülin direnci, diyabet, metabolik sendrom ve obezite gibi birçok metabolik hastalığa yol açabilmektedir. Karbonhidrat, yağ ve protein gibi diyeti oluşturan ana enerji kaynaklarının diyetdeki oranları da değişen derecelerde bu hastalıkların oluşumunu tetiklemektedir. Özellikle karbonhidrat içeriği yüksek diyetlerle beslenmenin bu metabolik bozukluklara ana sebep olduğu öne sürülmektedir (Skov ve ark. 1999, Bizeau ve Pagliassotti 2005). Besinlerde tatlandırıcı olarak değişen oranlarda kullanılan sükroz ve fruktozun, günümüzde obezitenin epidemik olarak görünmesine ana sebep olduğu düşünülmektedir. Diyetteki enerjinin oluşumunda sükroz ve fruktozun öneminden dolayı bilimsel çalışmalarda model organizma olan fare ve ratlarda değişen oranlarda sükroz ve fruktoz içeren rasyonlar oluşturulmakta ve bu karbonhidratların fazlalığında organizmada oluşan değişiklikler moleküler düzeyde incelenebilmektedir (Bray ve ark. 2004, Schultz ve ark. 2013, Mamikutty ve ark. 2014, Burgeiro ve ark. 2017).

Bu çalışmada farklı enerji kaynakları içeren yüksek enerjili rasyonlar oluşturularak lipogenez yolağındaki önemli transkripsiyon faktörlerinin bu farklı enerji kaynaklarına göre değişen aktiviteleri araştırılmıştır. Metabolik bozuklukların gelişmesi için gereken süreler hakkında çeşitli görüşler olmakla birlikte yapılan literatür taramaları sonucu metabolik değişikliklerin moleküler düzeyde incelenmesi için 90 günlük besleme süresinin uygun olabileceği düşünülmüştür (Chepulis ve Starkey 2008, Stanhope ve Havel 2008, Brons ve ark. 2009).

Obezite ve obeziteyle ilişkili metabolik hastalıkların gelişiminde karaciğer ve adipöz dokunun yanı sıra kas dokusunun metabolik aktivitesinin de bu hastalıkların oluşumunda önemli rol oynadığı bilinmektedir (Masi ve ark. 2012).

## 5.1. Enerji Tüketimi ve Canlı Ağırlık Değişimi

Yüksek yağlı diyetlerde kullanılan yağ çeşidi, yağ asidi kompozisyonu gibi faktörler lipid metabolizmasının regülasyonunu önemli derecede etkilemektedir (Ikemoto ve ark. 1996, Soriguer ve ark. 2009, Masi ve ark. 2012). Yüksek yağlı beslenmenin yanı sıra son zamanlarda oldukça tartışmalı olmakla birlikte karbonhidrat kaynaklarının fazla tüketiminin metabolik hastalıkları tetiklediği özellikle fruktozdan zengin diyetin metabolik hastalıkların oluşumunda önemli bir neden olduğu bildirilmektedir (Roglans ve ark. 2007, Bray 2010, Lozano ve ark. 2016). Bu sebeple bu çalışmada deneme gruplarını yüksek yağlı, sükrözlu ve fruktozlu rasyonla beslenen ratlar oluşturmuştur. Lipogenez yolağındaki önemli transkripsiyon faktörlerinin moleküler düzeydeki değişimleri rasyondaki enerji kaynağına göre incelenerek daha anlaşılır hale getirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma başlangıcında canlı ağırlık bakımından benzer olan gruplar (217-228 g arasında) 2 haftalık periyotlarla çalışma sonuna kadar enerji tüketimleri ve canlı ağırlık değişimleri bakımından izlenmiştir. Çalışmanın 3. haftasında F grubunda bulunan ratlar canlı ağırlık bakımından diğer gruplardan yüksek değerler göstermeye başlamış ( $P<0,05$ ) ve bu fark çalışma sonlanana kadar farklı önemlilik seviyelerinde ( $P<0,05$  ve  $P<0,01$ ) devam etmiştir. Ancak, yine çalışma süresince K, Y ve S gruplarında canlı ağırlık bakımından bir fark oluşmamıştır. Çalışma boyunca K grubu haftalık yaklaşık ortalama 500 kcal enerji tüketirken, başlangıçta deneme gruplarının enerji tüketimleri K grubuna göre 100-150 kcal civarı fazla olmuş 5. haftadan itibaren haftalık yaklaşık 650 kcal'lik enerji tüketimiyle en fazla enerji alımının F grubunda olduğu gözlenmiştir. Obezite gibi metabolik hastalıklara duyarlı olan yaklaşık 7 haftalık yaştaki erkek C57BL/6J farelerinde yapılan bir çalışmada (Murase ve ark. 2001), yüksek yağlı rasyonun canlı ağırlık değişimi üzerindeki etkileri incelenmiş ve bu hayvanların yüksek yağlı rasyonla çok kolay kilo aldıkları ve total kolesterol ve trigliserit miktarlarında normal rasyonla beslenen kontrol grubuna göre önemli miktarda artış olduğu tespit edilmiştir. Yüksek yağlı rasyonla beslenen grupta tokluk hormonu olarak iş gören leptin hormonunun mRNA seviyelerinde kontrol grubuna göre 4 kat artış olduğu görülmüştür. Bu durum, yüksek yağlı beslenmenin kilo alımını tetiklediğinin bir göstergesi olmakla birlikte yağ kaynaklarıyla alınan fazla enerjinin tokluk hissi oluşturduğunun göstergesidir. Bu çalışmada yüksek yağlı rasyonda doymamış yağ asit içeriği yüksek olan ayçiçek yağı kullanılarak canlı ağırlık artışı incelenmiştir. Çalışma

sonucunda doymuş yağ asidi içeriği düşük olan ayçiçek yağı tüketen Y grubunda canlı ağırlık artışı K grubu ile benzer olurken F grubundan düşük olmuştur.

Lozano ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada, bu çalışmaya benzer şekilde deney başlangıç ağırlığı yaklaşık 200 g olan 8 haftalık Wistar Albino ratlar kullanarak yüksek fruktoz, yüksek yağ ve yüksek fruktoz+yüksek yağ içeren rasyonlarla 8 aylık besleme uygulayarak canlı ağırlık değişimi ve bazı biyokimyasal parametreleri incelemişlerdir. Yüksek yağ ve yüksek fruktoz+yüksek yağ içeren rasyonlarla beslenen ratların canlı ağırlık değişiminin diğer gruplara göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Diyetin yüksek enerjili olmasını sağlayan enerji kaynaklarının oranları metabolik aktiviteyi değişen oranlarda etkilemektedir. Bu yüzden bu oranın göz önünde bulundurulması önemlidir. Zira, Lozano ve ark. (2016), yüksek fruktozla birlikte doymuş yağ asidi oranı yüksek yağ kullandıkları için canlı ağırlık artışını böyle bulmaları beklenebilir. Ancak obezite gibi metabolik bir bozukluk, doymuş yağ asidi içeriği yüksek rasyonlarla oluşturulabilmekle birlikte bu çalışmada olduğu gibi yüksek fruktoz ile de obeziteyi tetiklemek mümkün olabilmektedir.

Burgeiro ve ark. (2017), yüksek sükroz içeren rasyonlarla besledikleri 16 haftalık yaştaki ratlarda sükrozu içme suyunda %35'lik çözelti oluşturacak şekilde kullanmışlar ve 9 hafta süren besleme periyodu sonrası canlı ağırlık artışı, bazı biyokimyasal parametreler ve gen ekspresyonu bakımından ratları incelemişlerdir. Kontrol grubuna göre daha az yem tüketen ancak daha fazla enerji alan yüksek sükroz grubunda, enerjinin fazlasını sükrozdan aldıklarını tespit edilmiş fakat canlı ağırlık artışında kontrol grubuna göre önemli bir değişim tespit etmemişlerdir. Bu çalışmada da S grubunda 1 kcal/ml enerji içeren yaklaşık %27'lik sükroz çözeltisi kullanılmıştır. Besleme periyodu boyunca Burgeiro ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada olduğu gibi S grubundaki ratların tükettiği ortalama yem miktarı diğer gruplara göre düşük olmuştur (Çizelge 4.1). Bu durumu, sükrozun yapısında bulunan glikozun metabolize edilirken insülin bağımlı oluşu ile ilişkilendirmek mümkündür. Çözelti şeklinde su ile alınan sükroz tokluk hissini diğer gruplara göre daha çok oluşturmakta bu da yem tüketiminin baskılanmasıyla sonuçlanmaktadır. İnsülin, leptinin salınımını etkileyerek tokluk hissi oluşturmaktadır. Bu durum S grubundaki hayvanların yem tüketimlerinin düşük olması ve ağırlık ortalamaları bakımından K grubuna benzer olmasıyla sonuçlanmıştır.

Mamikutty ve ark. (2014) normal rasyon yanında %20'lik ve %25'lik çözeltiler şeklinde fruktozla 8 hafta boyunca besledikleri ratlarda fruktozla beslenen gruplarda yem tüketiminde önemli bir değişiklik olmamakla birlikte canlı ağırlık artışı tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada da besleme periyodu boyunca toplam alınan kalori bakımından diğer gruplarla benzer olan F grubu, S grubuna göre daha fazla yem tüketmiştir. Normal rasyona ilaveten fruktozla beslenen bu grupta tokluk hissinin K ve Y gruplarında olduğu gibi yem tüketimine bağlı olarak şekillendiği görülmektedir. Bu durumun insülinle ilişkili olduğu düşünülmektedir. F grubunun tükettiği fruktoz çözeltisi tercih edilen bir enerji kaynağı olmakla birlikte fruktozun insülin salınımını tetiklememesi dolayısıyla tokluk hissinin oluşmamasına ve yem tüketiminin S grubuna göre daha fazla olmasıyla sonuçlandığı düşünülmektedir. Çalışma boyunca tüketilen toplam yem miktarları bakımından ortalama tüketimin en az S grubunda olması sükrozun yem tüketimini baskılamada önemli rol oynadığını göstermektedir (Çizelge 4.1).

Basit bir karbonhidrat olan fruktoz gastrointestinal sistemde glikoz olmadan emilimi düşükken glikozla birlikte sindirimi artmaktadır. Dokuların çoğunda fruktoz taşıma sistemi olmadığından fruktoz ana olarak karaciğerde metabolize olmaktadır. Fruktoz, fruktoz-1-fosfata dönüştükten sonra trigliserite dönüşmeye hazır hale gelirken glikozdan oluşan glikoz-6-fosfat, fosfofruktokinaz tarafından düzenlendiği için trigliserite dönüştürülemez. Bu durum karaciğerde lipid üretiminin fruktoz tarafından glikoza göre daha hızlı bir şekilde tetiklenmesine neden olmaktadır. Ayrıca bu metabolize edilişteki farklılık fruktoza bağlı olarak dolaşımdaki trigliserit seviyesinin artışıyla sonuçlanmaktadır (Bray 2010). İnsülin salınımının yetersiz olduğu durumlarda leptin salınımı yetersiz olmakta bu da doyma hissinin oluşmamasına ya da geç oluşmasına yol açmaktadır. Tokluk hormonu olarak bilinen leptinin salınımı insülin bağımlı glikoz metabolizması ile ilişkilidir. Fruktoz tek başına plazma glikoz ve insülin seviyelerinde bir artışa neden olmadığı için leptin salınımını yeterince tetikleyememektedir (Stanhope ve Havel 2008).

F grubundaki hayvanların ağırlık artışıdaki ivmelenmenin ilk haftadan itibaren başladığı bununla birlikte gruplar arasındaki ilk anlamlı canlı ağırlık farkının 3. haftanın sonunda ortaya çıktığı görülmüştür. Bu süreden itibaren F grubundaki hayvanların canlı ağırlık ortalamalarının kontrol grubu ve diğer deneme gruplarına göre önemli derecede yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). İnsülin bağımsız olarak metabolize edilen fruktozun diyetinde yüksek oranda bulunması durumunda canlı ağırlık artışını tetiklediği görülmüştür.

## 5.2. RT-qPCR Sonuçları ve Gen Ekspresyonu Bulguları

### 5.2.1. PPAR $\alpha$

#### Karaciğer

Karaciğer metabolik aktivitenin en yoğun gerçekleştiği dokudur. Vücuttaki metabolik düzen daha çok karaciğerdeki aktiviteye göre şekillenmektedir. Lipoliz ve lipogenez yollarında görevli transkripsiyon faktörleri önemli oranda karaciğer dokusunda aktivite gösterdiği için bu çalışmada ilgili hedef genler karaciğerde incelenmiştir.

Lipid metabolizmasında anahtar role sahip olan ve yağ asidi sensörü olarak bilinen PPAR $\alpha$ , özellikle açlık durumunda aktivitesi artarak metabolizmayı düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Normalde karaciğerde açlığa verilen cevapta önemli rol alan PPAR $\alpha$ , sentetik ligandlar kullanılarak aktivitesi düzenlenebilen, glikolitik ve lipolitik mekanizmalarını harekete geçiren, glikojenez ve glikojenoliz arasındaki dengeyi sağlayan metabolik düzenleyicidir. PPAR $\alpha$  knockout farelerde yapılan bir çalışmada (Lundasen ve ark. 2007), FGF21 (Fibroblast Growth Factor 21) gibi metabolizmayla ilişkili PPAR $\alpha$  hedef genlerinin aktivitesinde önemli değişiklikler tespit edilmiştir. Glikojenolizin tetiklenmesinde öncü olduğu düşünülmeyle birlikte son zamanlarda yapılan çalışmalarda glikoz ve PPAR $\alpha$  arasında G1P ve G6P aracılığıyla direk bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Peeters ve Baes 2010). Kohjima ve ark. (2007) insanlarda PPAR $\alpha$  aktivitesindeki azalmanın insülin direncini tetikleyebileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca Roglans ve ark. (2007), fruktoz ve glikozla besledikleri ratlarda PPAR $\alpha$  gen ekspresyon seviyelerinde azalma ile birlikte VLDL ve trigliserit sentezinin daha fazla şekillendiğini, bu durumun fruktozla beslenen ratlarda hipertrigliseridemi ve hepatik steatoz ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Adipogenez yüksek enerjili beslenmeye bağlı olarak şekillenmektedir ve PPAR $\alpha$  aktivitesini baskılamaktadır. PPAR $\alpha$  aktivitesindeki azalma çeşitli metabolik hastalıklara neden olabilmektedir. Bazı sentetik ligandlar vasıtasıyla PPAR $\alpha$  aktivitesi artırılmakta ve hepatik steatoz gibi karaciğer bozuklukları tedavi edilebilmektedir (Costet ve ark. 1998).

Bu çalışmada yağ, sükröz ve fruktoz kaynaklarının metabolize edilmesindeki farklılıktan dolayı PPAR $\alpha$  gen ekspresyon seviyelerinde olabilecek değişiklik ve biyokimyasal parametreler ile ilişkisi incelenmiştir. Deneme gruplarında (Y, S ve F) kontrol grubuna göre PPAR $\alpha$  gen ekspresyon seviyeleri bakımından istatistiksel olarak önemli olmayan bir azalma tespit edilmiştir (Çizelge 4.3), (Şekil 4.23). Maithilikarpagaselvi ve ark. (2016) yüksek fruktozla (%60'lık fruktoz çözeltisi) besledikleri ratlarda bu çalışmaya benzer şekilde PPAR $\alpha$  gen ekspresyon seviyelerinde önemli bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Yine başka bir çalışmada yüksek yağlı rasyonla beslenen ratlarda karaciğer ve kas dokularında PPAR $\alpha$  gen ekspresyon seviyeleri incelenmiş ve önemli bir fark oluşmadığı bildirilmiştir (Crespillo ve ark. 2011).

Sprague-Dawley ratlarında yapılan bir çalışmada (Roglans ve ark. 2007) glikoz ve fruktozlu rasyonlar oluşturularak glikoz ve fruktoz %10'luk çözelti şeklinde ratlara verilmiş, fruktozla beslenen grupta karaciğer PPAR $\alpha$  gen ekspresyonunda %46'lık azalma tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada da fruktozla yüksek enerji oluşturulması durumunda PPAR $\alpha$  gen ekspresyon seviyesi kontrol grubuna göre yaklaşık %24 oranında (1'e karşı 0,76) azalmıştır (Çizelge 4.3). Yeterince enerji içeren rasyonlarla beslenme durumunda glikoliz mekanizmaları harekete geçmeyeceği için yüksek enerjili beslenmede rasyon içeriğindeki farklı enerji kaynaklarının karaciğer PPAR $\alpha$  aktivitesinde önemli bir değişim meydana getirmediği düşünülmüştür.

### **Kas Doku**

PPAR $\alpha$  karaciğer ve böbrek gibi dokuların yanı sıra iskelet kas dokusunda da yağ asidi oksidasyonu, lipoprotein metabolizması ve hücrelere yağ asidi alımında görevli olan bir transkripsiyon faktörüdür. İskelet kas hücrelerinde yapılan invitro çalışmalarla hücre farklılaşmasının erken dönemlerinde bu transkripsiyon faktörünün yüksek derecede aktivite gösterdiği anlaşılmıştır (Burri ve ark. 2010). İnsülin, fibratlar ve bazı spesifik agonistlerle ifade düzeyi uyarılabilen PPAR $\alpha$ 'nın normal şartlarda kas dokuda aynı süperfamilyada yer alan PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$ 'ya göre daha fazla ifade edildiği bildirilmektedir (Loviccach ve ark. 2000). Bununla birlikte aktivitesi kaslar arasında farklılık göstermektedir (Wu ve ark. 1999).

Kas dokuda PPAR $\alpha$  glikoz metabolizmasının regülasyonunda önemli role sahiptir. PPAR $\alpha$  upregülasyonu hücrel yağ asidi metabolizmasını etkilemekte uzun süre fazla düzeyde upregüle olmasının insülin direnciyle sonuçlanabileceği bildirilmektedir. PPAR $\alpha$

knockout farelerde yapılan bir çalışmada bu genin eksikliğinde veya bozukluğunda kas trigliserit içeriğinin arttığı bildirilmiştir (Finck ve ark. 2005). Yağ metabolizmasının regülasyonunun incelendiği başka bir çalışmada PPAR $\alpha$  aktivasyonu ile kas dokuda trigliserit miktarının azaltılabileceğinin bildirilmesi bu durumu doğrular niteliktedir (Muoio ve ark. 2002). Kas dokuda PPAR $\alpha$  gen ekspresyon düzeyinde fruktoz ile yüksek enerjili olarak beslemeye bağlı artış tespit edilmiştir (1'e karşı 1,76), (Çizelge 4.4). Bu durumun insülin direnciyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Diğer taraftan Y grubunda ekspresyon seviyesinde önemsiz seviyede bir artış olurken, S grubunda azalma olmuştur. Bu da PPAR $\alpha$ 'nın kas dokuda enerji kaynağındaki değişime bağlı olarak önemli olmayan değişimin olduğunu göstermiştir. Yapılan literatür taramaları sonucun farklı enerji kaynaklarının bu transkripsiyon faktörüne kas doku düzeyindeki etkilerinin yeterince incelenmediği anlaşılmıştır.

### **5.2.2. LXR $\alpha$**

#### **Karaciğer**

Lipogenez yolağında oldukça önemli diğer bir transkripsiyon faktörü olan LXR $\alpha$  en yoğun olarak karaciğer dokusunda ekspresse olmaktadır (Schulman 2017). Hücre kültürü çalışmalarıyla glikoz sensörü olarak görev aldığı belirlenen bu transkripsiyon faktörü, diyabet, dislipidemi ve kardiyovasküler hastalıklarda potansiyel terapotik hedefler olarak kullanılmaktadır (Mitro ve ark. 2007). Fazla karbonhidratın lipide dönüşümünden kısmen sorumlu olan LXR'ler, ChREBP ve SREBP-1c genlerinin ekspresyon seviyelerini düzenleyen ana transkripsiyon faktörleridir (Cha ve ark. 2007, Yang ve ark. 2012).

Yang ve ark. (2012) yaptıkları bir çalışmada 8 haftalık C57BL/6J farelerinde yüksek şükroz ve yağdan oluşan rasyonun karaciğerdeki kısa süreli etkilerini incelemişlerdir. İki ve 4 haftalık besleme periyotları sonrası karaciğer dokusunda LXR $\alpha$  gen ekspresyon seviyelerinde kontrol grubundaki hayvanlara göre yaklaşık 3 katlık bir artış tespit etmişlerdir.

LXR $\alpha$  gen ekspresyonundaki artışa bağlı olarak beyaz adipöz dokuda artış meydana gelmekte yani lipogenez şekillenmektedir. Curcumin maddesinin koruyucu etkisinin



araştırıldığı bir çalışmada yaklaşık %60 fruktoz içeren rasyonla 10 hafta boyunca beslenen ratlarda LXR $\alpha$  gen ekspresyon seviyesinin yaklaşık 2 kat arttığı tespit edilmiş, fruktozun bu transkripsiyon faktörünün aktivasyonunu önemli derece etkilediği bildirilmiştir (Maithilikarpagaselvi ve ark. 2016).

Bu çalışmada 3 ay boyunca yüksek enerjili rasyonla beslenen S ve F grubundaki ratlarda LXR $\alpha$  gen ekspresyon seviyeleri normal beslenen K grubuna göre (sırasıyla 1,87 $\pm$ 0,3 ve 2,01 $\pm$ 0,29) önemli seviyede artmıştır (P<0,05). LXR $\alpha$  gen ekspresyonundaki aktivitenin rasyon enerji miktarına bağlı olduğu ve fazla enerjiyi oluşturan sükroz ve fruktoz kaynaklarının bu transkripsiyon faktörünün aktivitesini benzer oranlarda etkilediği tespit edilmiştir. Bu hali ile elde edilen bulgular literatür bildirişleri ile (Yang ve ark. 2012 ve Maithilikarpagaselvi ve ark. 2016) uyumlu olmuştur.

### **Kas Doku**

Öncelikli olarak karaciğerde aktivite gösteren LXR $\alpha$ 'nın kas dokudaki aktivasyonu da karbonhidrat ve lipid metabolizması bakımından oldukça önemlidir. Diğer dokularda LXR $\beta$  ile benzer miktarlarda ifade edilen bu transkripsiyon faktörünün kas dokuda LXR $\beta$ 'ya göre oldukça az miktarda ifade edildiği bildirilmekle birlikte kas dokuda lipogenezin uyarılmasında oldukça aktif bir transkripsiyon faktörü olduğu bilinmektedir (Muscat ve ark. 2002, Hessvik ve ark. 2010).

Kas dokuda bu transkripsiyon faktörünün ekspresyon düzeyindeki artış ile lipid miktarının arttığı ve karbonhidrat metabolizmasındaki bozukluklarda da benzer şekilde aktivitesinde artış olduğu bildirilmiştir (Kase ve ark. 2005).

Cozzone ve ark. (2006), yaptıkları çalışmayla kas dokuda LXR $\alpha$  gen ekspresyonunun regülasyonunun insülin bağımsız şekillendiğini bildirmişlerdir. LXR $\alpha$ 'nın kas dokusundaki gen ekspresyon seviyesinin F grubunda K grubuna göre yaklaşık 2 kat (1,77) fazla ifade edildiği belirlenmiştir (P<0,05). Ancak Y grubundaki ekspresyon seviyesi değişmez iken (0,96 kat), S grubunda önemsiz düzeyde azalma (0,73 kat) olmuştur (Çizelge 4.4). Bu durum fruktozun, lipogenik mekanizmaları LXR $\alpha$  aracılığıyla karaciğerin yanı sıra kas dokudada da tetikleyen önemli bir besin kaynağı olduğunu göstermektedir. Ayrıca insülin bağımsız metabolize edilen fruktozun, insülin seviyesi değişmeden alınan fazla kaloriye bağlı olarak kas dokuda diğer faktörlerle birlikte LXR $\alpha$  aracılığıyla lipogenezi uyarabileceği anlaşılmıştır.

### 5.2.3. ChREBP

#### **Karaciğer**

ChREBP karbonhidratların sindirimi sonrası karaciğerde lipogenezin şekillenmesinde öncü transkripsiyon faktörlerindedir. Mlx ile zorunlu heterodimer oluşturan ChREBP hedef genlerde ChoRE bölgesine bağlanır. Primer hepatosit hücre kültüründe yapılan bir çalışmada (Haas ve ark. 2012), düşük ve yüksek glikoz varlığında mikroarray yöntemiyle 200'den fazla genin ekspresyon miktarının arttığı tespit edilmiştir. Bu genlerin yaklaşık %60'ının dnMlx (dominant-negative Mlx) tarafından inhibe edildiği görülmüştür. Bu durum karaciğerde glikozla ilişkili genlerin primer düzenleyicisinin ChREBP olduğunu göstermiştir. Ayrıca ACC, FAS, SCD1 gibi lipogenez yolağındaki genlerin neredeyse tamamının ChREBP'in hedef geni olduğu bildirilmektedir. Deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda ChREBP geninin susturulmasıyla glikoza cevap olarak lipogenik genlerin ekspresyon düzeylerinde azalma olduğu ve buna bağlı olarak lipid üretiminin önemli seviyede azaldığı bildirilmektedir (Haas ve ark. 2012).

ChREBP lipogenezin yanı sıra glikoliz yolağındaki genleri de aktive eden bir transkripsiyon faktörüdür (Denechaud ve ark. 2008, Iizuka ve ark. 2017, Geidl-Flueck ve Gerber 2017, Jois ve Sleeman 2017). Roglans ve ark. (2007), %10'luk fruktoz ve sükrözlu çözeltilerle besledikleri ratlarda 2 haftalık besleme periyodu sonrası karaciğer ChREBP gen ekspresyon düzeyinde artış tespit etmişlerdir. Rebollo de Grado ve ark. (2012) fruktozla beslenen ratlarda karaciğerde lipogenez oluşumunda ChREBP'in ana transkripsiyon faktörü olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca bu araştırmacılar, ChREBP ile PPAR $\alpha$  arasında ters bir ilişki olduğunu da belirlemişlerdir.

Bu çalışmada karaciğer dokusunda ChREBP gen ekspresyonu seviyeleri K grubuna göre Y ve F grubunda yaklaşık 1,5 katlık artış (sırasıyla 1,41 ve 1,66) gösterirken, S grubunda K grubuna göre benzer (0,95) bulunmuştur (Çizelge 4.3). Her ne kadar ChREBP ekspresyonunda insülin hormonunun çok önemli bir role sahip olduğu bildirilse de karaciğerde insülin reseptörü silinen farelerde ChREBP ekspresyon seviyelerinde artış olduğu bildirilmiştir (Haas ve ark. 2012). Bu durum ChREBP aktivasyonunun insülinden başka yollarla da ilişkili olabildiğini göstermektedir. Bu sebeple karaciğerdeki ChREBP aktivitesinin daha iyi anlaşılabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Zira, bu

çalışmada da Y ve F grubu ile S grubunun tepkilerinin farklı olması bu çalışmalara ihtiyaç olduğunun göstergesidir.

### **Kas Doku**

Kas dokunun fizyolojisi birçok faktörle birlikte glikoz ve ChREBP'e bağımlı olarak düzenlenmektedir. Yapılan bir çalışmada (Hanke ve ark. 2011) uzun süreli açlıkta hücre kültürü ortamındaki iskelet kası hücrelerinde ChREBP mRNA ekspresyon seviyelerinde azalma olduğu, yüksek karbonhidratlı rasyonla beslenme sonucu ise arttığı bildirilmiştir. İlgili çalışmada ChREBP aktivitesi glikoza bağımlı olarak düzenlendiği bildirilmektedir. ChREBP gen ekspresyonu ile ilgili yapılan literatür taramalarında karaciğer dokusunda çok sayıda çalışmaya rastlanırken kas doku ile ilgili sınırlı çalışma olduğu tespit edilmiştir (Tsintzas ve ark. 2006, Hanke ve ark. 2011). Yapılan bu çalışmada Y ve F gruplarında ChREBP gen ekspresyonu kas dokuda önemli bir değişim göstermez iken (sırasıyla 0,87 ve 1,33 kat), S grubunda 0,44 kat azalma gözlenmiştir. Bu hali ile yapılan çalışma Hanke ve ark. (2011)'in bildirisi ile uyum göstermemektedir. Bu uyumsuzluğun sebebi olarak, hücre kültürü ortamının metabolizmadaki diğer faktörlerden etkilenmiyor olması olarak düşünülmektedir.

### **5.2.4. SREBP-1c**

#### **Karaciğer**

SREBP'ler lipogenez yolağında görevli 3 izoformdan oluşmaktadır. Bu transkripsiyon faktörleri karbonhidrat bakımından zengin beslenme sonucu lipogenik genlerle birlikte kendi ekspresyon seviyelerini de artırmaktadır (Geidl-Flueck ve Gerber 2017). Gün aşırı ad libitum olarak beslenen farelerde karaciğer SREBP-1c gen ekspresyon seviyelerinde artış gerçekleşirken, insülin reseptörü susturulmuş farelerde bu artışın daha az olduğu anlaşılmıştır (Iizuka ve ark. 2004). SREBP-1c, aktivitesi insüline bağımlı olan bir transkripsiyon faktörü olmakla birlikte kendi ekspresyon düzeyini kendi aktivitesiyle düzenleyen bir transkripsiyon faktörü olarak bildirilmiştir (Haas ve ark. 2012). Farelerde % 60 fruktozlu rasyondan oluşan bir besleme ile yapılan çalışmada (Geidl-Flueck ve Gerber

2017) SREBP-1c gen ekspresyon seviyelerinde 1 hafta gibi kısa bir sürede anlamlı bir artışın olduğu tespit edilmiştir.

Schultz ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada %34 fruktozlu rasyonla 4 ay boyunca besledikleri ratlarda SREBP-1c gen ekspresyon seviyelerindeki artışın PPAR $\alpha$  gen ekspresyon seviyelerindeki azalmayla birlikte gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar karaciğer trigliserit miktarlarında meydana gelen artışın lipogenezin düzenlenmesinde çok önemli rol üstlenen bu transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerine bağlamışlardır.

Wada ve ark. (2013) ise yüksek yağlı ve yüksek fruktozlu rasyonlarla yaptıkları çalışmada karaciğer dokusunda en yüksek anlamlı SREBP-1c gen ekspresyonu seviyesinin yağ ve fruktozun birlikte kullanıldığı rasyonlarda olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada deneme gruplarının (Y, S ve F) tamamında kontrol grubuna göre karaciğer SREBP-1c gen ekspresyon seviyelerinde 4 kat civarında (sırasıyla 4,52, 4,05 ve 3,85 kat) bir artış tespit edilmiştir (P<0,05). Bu transkripsiyon faktörünün mRNA düzeyindeki aktivitesinin enerji kaynağı ne olursa olsun rasyonda fazla enerji olması durumunda literatür bildirileriyle uyumlu olarak artabileceğini ortaya koymuştur.

### **Kas Doku**

Kas doku, adipöz doku ve karaciğere göre çok fazla lipogenik karakter göstermemekle birlikte kas dokunun trigliserit depoladığı bilinmektedir (Rome ve ark. 2008). SREBP-1c ile ilgili kas dokuda yapılan bir çalışmada (Lecomte ve ark. 2013) bu transkripsiyon faktörünün 1000'den fazla genin ekspresyonunu düzenlediği bildirilmektedir. Bu genlerin bir kısmının lipogenezin yanı sıra kas doku oluşumu ve gelişiminde de görevli olduğu ifade edilmektedir.

İnsülin direnci gelişmiş ve diyabet olmuş hamsterlarda yapılan mikroarray çalışmasında iskelet kas dokusunda SREBP-1c ve onunla ilişkili lipogenik genlerin ekspresyon seviyesinde artış olduğu bildirilmiştir (Li ve ark. 2016). Bu artışın iskelet kası dokusunda yağ depolanmasına neden olabileceği, insülin direnci gelişimini tetikleyebileceği düşünülmüştür. Yağ veya fruktoz ile yüksek enerji verilen farelerde yapılan çalışmalarda (Defour ve ark. 2012, Song ve ark. 2012) kas dokuda SREBP-1c gen ekspresyon seviyesinin arttığı tespit edilmiştir. Fruktozlu yüksek enerji ile yapılan beslemeden elde edilen sonuçlar mevcut çalışma bulgularını destekler iken yağdan elde edilen yüksek enerji sonucunda artan

ekspresyon değeri mevcut çalışma ile uyuşmamaktadır. Bu durumun kaynağı olarak da, kullanılan yağın yağ asidi bileşiminin farklı olması akla gelmektedir.

Kas dokuda SREBP-1c gen ekspresyonu F grubunda yaklaşık 3 kat (2,71 kat) anlamlı bir artış göstermektedir ( $P<0,05$ ), (izelge 4.4). Her ne kadar SREBP-1c insüline bağımlı olarak aktivitesi değişiklik gösteren bir transkripsiyon faktörü olsa da insülin bağımsız olarak metabolize edilen yüksek fruktozlu rasyonun kas dokuda bu transkripsiyon faktörünün aktivitesini daha fazla artırarak lipogenezi tetiklediği anlaşılmıştır. Mevcut literatür bilgileri ile SREBP-1c'nin kas dokudaki lipogenez yolağı üzerindeki etkisinin tam olarak anlaşılabilmesi mümkün olmamıştır.

### 5.2.5. AQP9

#### **Karaciğer**

Karaciğer dokusunda diğer dokulara oranla mRNA düzeyinde daha fazla aktivite gösteren AQP9, su kanalı olarak bilinmekle birlikte suyun yanında üre ve gliserol transportundan da önemli oranda sorumlu olan bir integral membran proteindir. AQP9 aktivitesi ile obezite, metabolik sendrom dislipidemi ve diyabet gibi hastalıklar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar oldukça sınırlıdır. PPAR $\alpha$  ligandlarıyla dislipidemi tedavisinin denendiği bir çalışmada PPAR $\alpha$  aktivitesine bağlı olarak rat karaciğerinde AQP9 mRNA düzeylerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. İlgili alışmayla PPAR $\alpha$  aktivitesiyle AQP9 arasında negatif bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur (Lebeck ve ark. 2014). Yüksek enerjili besleme ile yapılan bu çalışmada da, PPAR $\alpha$  gen ekspresyon seviyesi ile (kontrolle göre deneme gruplarında 0,76; 0,71 ve 0,76 kat değişimi) AQP9 gen ekspresyonu (kontrolle göre deneme gruplarında 1,44; 1,75 ve 1,80 kat değişim) arasında negatif ilişki bulunmuştur.

Karaciğerdeki gliserol ve glikoz metabolizmasında önemli bir role sahip olduğu bilinen AQP9'un diyabetes mellitusun patogenezinde önemli bir faktör olduğu bildirilmektedir (Rojek ve ark. 2007). Glukoneogenezde aktivitesi artan bir protein olan AQP9, uzun süreli açlıklarda organizmadaki enerji ihtiyacının karşılanması amacıyla karaciğere gelen gliserolü hepatositlere almakla görevlidir. İnsanlarda yapılan bir çalışmada (Catalan ve ark. 2008), karaciğer AQP9 gen ekspresyon düzeylerinin insüline bağımlı olarak düzenlendiği bildirilmiştir. Deneme gruplarından diyabetli grupta AQP9 gen

ekspresyonunun azaldığı, glikoz toleransı bozulan obez grupta ise yaklaşık 1,5 kat arttığı bildirilmiştir.

Literatür bildirişlere uygun olarak bu çalışmada da karaciğer dokusu AQP9 ekspresyon seviyelerinde S ve F gruplarında K grubuna göre 2 kata yakın bir artış tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). AQP9 seviyelerindeki bu değişimin, transkripsiyon faktörlerinin aktivitesi sonucu artan lipogenezin bir sonucu olarak ve S ve F gruplarında meydana gelmiş olma ihtimali olan insülin direnci ya da diyabet olgusundan dolayı (bakınız 5.4. Biyokimyasal parametreler) şekillendiği düşünülmektedir.

### **Kas Doku**

Transgenik obez farelerde yapılan çalışmalarda (Rojek ve ark. 2007, Wakayama ve ark. 2014) kas doku yağ miktarının normal farelere göre 3 kat arttığı ve kas dokuda AQP9 gen ekspresyon seviyelerinde artış olduğu bildirilmiştir. Bu durum trigliserit üretiminin AQP9 aracılı ve başka bir yolak üzerinden yapılabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada kas doku AQP9 gen ekspresyonu bakımından gruplar arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Kas dokuda yüksek enerjili diyetle bağlı gelişen lipogenezin kontrolünde AQP9 gen aktivitesinin geri planda görevli bir regülatör olduğu fikri oluşmuştur. Aquaporinlerin kas dokudaki aktiviteleri hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

## **5.3. Hedef Genlere Ait Protein Miktarları**

### **5.3.1. PPAR $\alpha$**

#### **Karaciğer**

Gruplara göre değişmekle birlikte karaciğer dokusunda PPAR $\alpha$  protein seviyesi 85,82-108,76 ng/mg olmuştur ve gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 4.5). Bu durum Crespillo ve ark. (2011) ve Maithilikarpagaselvi ve ark. (2016)'nın yaptıkları çalışmalar ile uyumlu olmuştur ve PPAR $\alpha$  gen ekspresyon bulgularını destekler niteliktedir. Daha çok diyetteki yetersiz enerjiye bağlı olarak aktivitesi artan bu transkripsiyon

faktörünün normal veya fazla enerjili beslenme durumlarında karaciğer dokusundaki aktivitesinin bazal düzeyde olduğu anlaşılmıştır.

### **Kas Doku**

Kas dokuda PPAR $\alpha$  protein miktarları (26,11-27,03 ng/mg), mRNA düzeylerinde olduğu gibi gruplar arasında önemli bir değişiklik göstermemiştir (Çizelge 4.5). Loviscach ve ark. (2000), yaptıkları çalışmada sağlıklı ve diyabetli ratlarda gruplar arasında sunulan bu çalışmaya benzer şekilde kas dokuda PPAR $\alpha$  protein miktarı bakımından önemli bir fark bulunmamışlardır. Bu çalışma ile yüksek enerjili rasyon ile beslenen ratların kas dokusunda bu transkripsiyon faktörünün bir değişim göstermediği anlaşılmıştır. Yüksek yağlı rasyonla (doymuş yağ asit içeriği yüksek) yapılan bir çalışmada (Li ve ark. 2016), kas doku PPAR $\alpha$  seviyelerinin azaldığı ve bu durumun iskelet kasında lipid depolanmasına katkı sağladığı bildirilmiştir. PPAR $\alpha$ 'nın kas dokudaki aktivitesinin daha yüksek konsantrasyonda sükröz ve/veya fruktoz içerikli rasyonlarla veya doymuş yağ asidi içeriği yüksek yağlı diyetlerle düşebileceğini, ayrıca yüksek enerjili rasyonlarla beslenme süresinin de önemli bir faktör olabileceğini bildiren kaynaklar da bulunmaktadır (Muio ve ark. 2002).

### **5.3.2. LXR $\alpha$**

#### **Karaciğer**

Karaciğerde LXR $\alpha$  gen ekspresyon düzeyleri S ve F gruplarında anlamlı düzeyde artmış olsa da (Çizelge 4.3), kodladıkları protein miktarları bakımından (18,53-20,45 ng/mg arasında) gruplar arasında önemli bir fark bulunmamıştır (Çizelge 4.5). LXR $\alpha$ 'nın lipogenezin yanında inflamasyon yolağında da görevli bir transkripsiyon faktörü olduğu bilinmektedir (Schulman ve ark. 2017). Her ne kadar beslenmeye bağlı olarak karaciğerde mRNA düzeyi artan bir transkripsiyon faktörü olsa da çeşitli miRNA'larca translasyonu engellenerek aktivitesinin sınırlandırılabilirdiği düşünülmektedir (Ou ve ark. 2011). Yapılan bir çalışmada (Ou ve ark. 2011) miR-613 adlı miRNA'nın LXR $\alpha$  mRNA'sının proteine dönüşümünü engellediği bildirilmiştir. SREBP-1c promotorundan kontrol edilerek aktivite gösterdiği ileri sürülen miR-613'ün bir çeşit negatif feed-back mekanizmasıyla bu işlevi yerine getirdiği bildirilmektedir (Ou ve ark. 2011, Zhong ve ark. 2013). Rasyondaki yüksek

enerjiye bağı olarak mRNA düzeyi artan LXR $\alpha$ 'nın, post-translasyonel mekanizmalarla protein miktarının kontrol altına alındığı anlaşılmaktadır. Yüksek miktarda ifade edilen SREBP-1c'nin, negatif feed-back mekanizmasıyla bu genin protein miktarını azaltmak için bu baskılamaya yol açmış olabileceği düşünülmektedir.

### **Kas Doku**

Kas dokuda LXR $\alpha$  protein miktarı bakımından F grubunda en fazla proteinin olduğu tespit edilmiştir (P<0,05), diğer gruplardaki kas doku LXR $\alpha$  protein miktarları ise benzer bulunmuştur (Çizelge 4.5). Bu sonuç LXR $\alpha$  gen ekspresyon sonuçlarını doğrular niteliktedir (Çizelge 4.4). Zira kas dokuda LXR $\alpha$ , mRNA düzeyinde F grubunda yaklaşık 2 kat (1,77 kat) fazla ifade edilmiştir (P<0,05). Bu transkripsiyon faktörü insülden bağımsız şekilde kas dokuda lipid metabolizmasının aktivitesini artırarak yağ üretimini tetiklemektedir (Kase ve ark. 2005, Cozzone ve ark. 2006). Fruktozlu rasyonla beslenen grupta bu transkripsiyon faktörünün kas dokuda yüksek aktivite göstermesi, fruktozun kas dokuda lipid metabolizmasındaki değişiklere bağı olarak gelişecek bozukluklar bakımından sü kroza göre daha tehlikeli olabileceğini akla getirmektedir.

### **5.3.3. ChREBP**

#### **Karaciğer**

Karaciğerde lipogenez, büyük oranda ChREBP ve SREBP-1c transkripsiyon faktörlerinin aracılığıyla gerçekleşmektedir. ChREBP proteininin fazla üretilmesi durumunda yağ asidi ve trigliserit sentezinde görevli genlerin ekspresyon düzeyleri artmakta ve hepatik steatoz tetiklenmektedir (Xu ve ark. 2013). Yapılan bir çalışmada ChREBP'in kontrollü şartlarda baskılanması sonucu lipogenezin de kısmen baskılandığı tespit edilmiştir (Denechaud ve ark. 2008).

ChREBP total protein miktarında önemli bir değişim meydana gelmeden çekirdekdeki toplam ChREBP protein miktarı artabilmektedir. Zira ChREBP translasyonu gerçekleştikten sonra rasyon enerji içeriğine bağı olarak çekirdeğe transfer olarak aktivitesini artırmaktadır (Huang ve ark. 2010).



Karaciğerde ChREBP gen ekspresyonu bakımından gruplar arasında fark bulunmasa da, protein miktarı F grubunda diğer gruplara göre daha fazla bulunmuştur (Çizelge 4.3 ve 4.5). Y grubunda ChREBP protein miktarının F grubuna göre az olmasının yağlı rasyon içeriğinde bulunan yağ asitlerinden dolayı olabileceği düşünülmektedir. S grubunda F grubuna göre daha düşük seviyede tespit edilen ChREBP proteininin sebebi olarak rasyonda yüksek miktarda sükröz dolayısıyla glikoz bulunması, tüketimin insülin bağımlı oluşu ve ChREBP'in glikoz duyarlı olması olarak düşünülmektedir. ChREBP aktivitesi mRNA düzeyinde glikoza ya da diğer faktörlere bağlı olarak düzenlense de protein düzeyinde kontrolü rasyon içeriği ve rasyon enerji miktarı gibi faktörlerin yanı sıra bazı miRNA'larca da kontrol altına alınmaktadır. miRNA-613 isimli miRNA'nın ChREBP protein üretimini baskıladığı bildirilmiştir (Zhong ve ark. 2013). Bu sebeple, Y ve S gruplarında ChREBP protein miktarının düşük seviyede olması miRNA-613'ten kaynaklanmış olabilir. Ancak F grubunun bu miRNA'dan etkilenmemiş olması ile ilgili çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bunlarla birlikte ChREBP'in, fruktozun glikoza çeviriminden de önemli oranda sorumlu olduğu yapılan bazı çalışmalarla tespit edilmiştir (Poupeau ve Postic 2011, Kim ve ark. 2016). F grubundaki hayvanlar enerji tüketimlerinin büyük bir bölümünü fruktozdan sağladıkları ve fruktozun sükrözden farklı yolla metabolize edilişi ve lipogenezi tetiklemesi, bu çalışmadaki F grubu ChREBP protein miktarının fazla oluşu ile doğrulanmaktadır. Zira Koo ve ark. (2009), yaptıkları bir çalışmada yüksek glikoz (%63) ve yüksek fruktozlu (%63) rasyonlarla 2 hafta süreyle besledikleri ratlarda ChREBP gen ekspresyon seviyelerinde farklılık görmemekle birlikte ChREBP protein miktarınının fruktozla beslenen grupta yaklaşık 4 kat daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. İlgili çalışma (Koo ve ark. 2009) bulguları da ChREBP protein seviyesi bakımından tez çalışmasını desteklemektedir.

### **Kas Doku**

Glikoza verilen cevapta kritik rol oynayan ChREBP mRNA düzeyinde kas dokuda gruplar arasında bir değişiklik göstermemekle birlikte S ve F gruplarında K ve Y gruplarına göre protein düzeyinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ), (Çizelge 4.4 ve 4.5).

Ortamdaki glikoz konsantrasyonuna bağlı olarak aktivitesi değişen ChREBP'in, S ve F gruplarında yüksek enerjili beslenmeye bağlı olarak karaciğerdeki glikoz miktarının arttığı, buna bağlı olarak da kas dokuda yüksek miktarda aktivite gösterdiği düşünülmektedir.

### 5.3.4. SREBP-1c

#### **Karaciğer**

SREBP-1c, yağ asidi biyosentezinde görevli genlerin neredeyse tamamını regüle eden bir transkripsiyon faktörüdür. SREBP-1c geni susturulmuş farelerde yağ asidi sentezinde normal farelere göre %50'ye yakın bir azalma tespit edilmiştir (Cha ve ark. 2007).

Karaciğerde SREBP-1c protein miktarının F grubunda en fazla, S grubunda ise en düşük seviyede (135,16 ve 61,21 ng/mg protein) olduğu belirlenmiştir ( $P < 0,05$ ), (Çizelge 4.5). Diyetteki enerjinin fazla olması durumunda SREBP-1c gen ekspresyon düzeyi artarken aynı oranda protein üretiminin olmadığı, bu durumun bazı kontrol mekanizmalarınca engellendiği görülmektedir. İnsülin sinyal yolağında görevli olan ve glikoza bağlı olarak düzenlenen İnsig-1 (İnsülin-induced gen 1 protein), lipid sentezinin kontrolünde rol alan feed-back mekanizmalarından birisidir (Engelking ve ark. 2004). Transgenik farelerde yapılan çalışmada (Engelking ve ark. 2004), İnsig-1 geni ile SREBP-1c geni arasındaki ilişki incelenmiş, İnsig-1 ekspresyonunun artışına bağlı olarak SREBP-1c protein miktarının azaldığı tespit edilmiştir. İnsülinle ilişkili diğer bir protein olan İnsig-2 ile ilgili yapılan bir diğer çalışmada (Baena ve ark. 2016) normal rasyona ilaveten %10'luk fruktoz çözeltisiyle 2 ay boyunca beslenen ratlarda %10'luk glikoz çözeltisiyle beslenen gruba göre İnsig-2 protein miktarlarında azalma tespit edilmiştir. S grubu rasyonundaki sükröz, içerdiği glikozdan dolayı İnsig-1 ve İnsig-2 regülasyonlarını düzenleyerek lipogenezi baskılamak, F grubunda lipogenezin engellenemediği görülmüştür. K ve Y gruplarında ise İnsig-1 ve İnsig-2'nin S grubunda olduğu gibi SREBP-1c protein üretimini engellediği ve lipogenezin bu sayede baskılanmış olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca kodlama yapmayan ancak SREBP-1c ekspresyonunun baskılanmasında görev alan miRNA'lardan olan miR-33 bakımından yapılan bir çalışmada (Horie ve ark. 2013) miR-33 geni eksik farelerde kilo alımının ve lipogenezin anormal şekilde arttığı bildirilmiştir. Bununla birlikte yine SREBP-1c ekspresyonunun baskılanmasında görevli miR-613'te lipogenezi baskılamak için aktivite gösteren bir faktör olarak bildirilmiştir (Zhong ve ark. 2013). Ayrıca miR-145-3p, miR-7-1-5p gibi fruktozlu beslemede aktivitesi azalan miRNA'ların yokluğunda SREBP-1c aracılı lipogenezin tetiklendiği bildirilmektedir (Baena ve ark. 2016). Kompleks bir yolak olan lipogenezde görevli miRNA'ların aktiviteleri henüz tam olarak anlaşılmamıştır (Zarfeshani ve ark. 2015). Bu çalışmada karaciğerdeki SREBP-1c aracılı lipogenez yolağının F grubunda

İnsig-1, İnsig-2, miR-613, miR-33 gibi SREBP-1c'yi baskılayan faktörlerin yeterince aktif olmaması sonucu rasyonla alınan fruktozun SREBP-1c ekspresyonunu artırarak lipogeneze yol açtığını söyleyebilmek mümkün olmuştur. F grubunda fruktozun SREBP-1c ve onu kontrol eden mekanizmaları etkileyerek lipogenezi tetikleyecek şekilde düzenlediği anlaşılmıştır.

### **Kas Doku**

Kas dokuda SREBP-1c protein miktarları incelendiğinde mRNA ekspresyonlarını doğrular nitelikte olduğu görülmüştür. K, Y ve S gruplarında benzer miktarlarda olan SREBP-1c proteininin F grubunda diğer gruplara göre yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir ( $P < 0,05$ ), (Çizelge 4.5).

Song ve ark. (2012), C57BL/J6 farelerinde 4 ay süreyle yüksek fruktoz ve yüksek yağın kas dokusunda oluşturduğu metabolik değişiklikleri inceledikleri çalışmada SREBP-1c gen ekspresyon seviyelerinin yüksek fruktoz ve yüksek yağlı rasyonla beslenen gruplarda mRNA ve protein miktarlarının benzer oranlarda değiştiğini bildirmişlerdir. Kas dokuda depolanan fazla yağın SREBP-1c proteini ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir ve sonuçlar ratlarda yapılan bu çalışma sonuçlarını da destekler nitelikte olmuştur.

Guillet-Deniau ve ark. (2004), Sprague-Dawley ratlarından izole ettikleri kas hücreleriyle hücre kültüründe yaptıkları çalışmada SREBP-1c'nin rat iskelet kas hücrelerinde insülin bağımlı genlerin ekspresyonlarını insülin yokluğunda da artırarak glikolitik ve lipogenik yolağı aktive ettiklerini bildirmişlerdir. Commerford ve ark. (2004) Wistar Albino farelerde yaptıkları çalışma ile insülin bağımsız olarak SREBP-1c aktivitesinin arttığını göstermişlerdir. F grubunda kas dokularında bu transkripsiyon faktörünün mRNA ve protein düzeyinde artma sebebinin fruktozun insülin bağımsız metabolize edilmesinin yanı sıra, SREBP-1c'nin insülin yokluğunda da aktivite gösterebiliyor olması olarak düşünülmektedir.

Sunulan bu çalışmada fruktoz grubunda göreceli şekilde artan SREBP-1c gen ekspresyon seviyesinin Y grubunda artmama nedeninin verilen yağın içeriği ile, S grubunda artmama nedeninin ise sükrozdaki glikoz içeriği ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

### 5.3.5. AQP9

#### **Karaciğer**

Karaciğerde AQP9 aktivitesi karbonhidrat ve lipid metabolizması bakımından önemlidir. AQP9 gliserolün transportunu sağlayarak lipogenezin şekillenmesine katkı sağlamaktadır (Lebeck ve ark. 2014). Yüksek enerjili rasyonla 2 ay boyunca beslenen ratlarda yapılan bir çalışmada AQP9'un karaciğerde baskılanmasıyla lipogenezin kontrol altına alınabileceği ve hepatik steatoz şekillenmesinin önüne geçilebileceği bildirilmiştir (Cai ve ark. 2013).

Karaciğerde AQP9 protein miktarı gen ekspresyonu seviyesi bulgularından farklı olarak bütün gruplarda benzer bulunmuştur. Bu durumun AQP9 transkripsiyonunun post-translasyonel mekanizmalarla kontrol altına alınmış olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan literatür taramalarında yeterli çalışmaya rastlanılmamıştır. İlgili mekanizmanın anlaşılabilmesi için AQP9 ile lipogenez arasındaki ilişkinin inceleneceği çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

#### **Kas Doku**

Kas dokuda AQP9 protein miktarı bakımından yapılan incelemede mRNA düzeylerinde olduğu gibi gruplar arasında önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.4 ve 4.5). Gliserol transportunda görevli AQP9 proteininin kas dokudaki metabolik aktivitesinin diyetle ilgili olarak değişmediği görülmüştür. Deneme gruplarında yağ, sükröz ve fruktozdan sağlanan yüksek enerji, her ne kadar metabolizmanın hormonal kontrolünü değiştirse de (Rojek ve ark. 2007, Wakayama ve ark. 2014), hormonal kontrole bağlı olarak aktivite gösteren AQP9'un kas dokudaki aktivitesinin etkilenmediği anlaşılmıştır.

### 5.4. Biyokimyasal Parametreler

Farklı sürelerde yüksek enerjili rasyonlarla beslenen ratlarda açlık kan glikoz düzeyinde değişiklikler meydana geldiği bilinmektedir. Zira, yüksek yağlı, sükrözlu ya da fruktozlu rasyonların uzun süreli tüketimiyle glikoz regülasyonunun bozulduğu, plazma

glikoz seviyelerinin arttığı yapılan çok sayıda çalışmayla tespit edilmiştir (Catena ve ark. 2003, Taşyürek ve ark. 2014, İlhan ve ark. 2014, Qinna ve Badwan 2015).

Bu çalışmada F grubundaki ratlarda plazma glikoz düzeyinin diğer gruplara göre önemli seviyede yüksek olduğu ( $P<0,05$ ) tespit edilmiştir (Çizelge 4.6). Normalde rasyonla alınan enerji miktarına bağlı olarak artan kan glikoz düzeyi, insülin aracılığıyla kontrol altına alınmaktadır. Bununla birlikte fruktozun kronik olarak tüketilmesi insülin direnci, hipertrigliseridemi, hipertansiyon gibi metabolik bozukluklara yol açabilmektedir (Elliot ve ark. 2002). Beslenmeye bağlı olarak sürekli yüksek seyreden glikoz varlığında insülin mekanizmaları sürekli devreye girer ve lipogenez tetiklenir. F grubunda tespit edilen yüksek glikozun lipogenezi tetiklediği plazma trigliserit miktarlarıyla doğrulanmaktadır (Çizelge 4.6). Fruktozlu besleme sonucu metabolik sendrom oluşan ratlarda da bu çalışmada olduğu gibi yapılan bazı çalışmalarca glikoz seviyesinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Catena ve ark. 2003, İlhan ve ark. 2014, Qinna ve Badwan 2015, Ufat ve ark. 2016). Bu çalışmada plazma glikoz seviyesi bakımından elde edilen değerler deneysel olarak insülin direnci oluşturulmuş ratlarda plazma glikoz seviyelerinin benzer olduğu görülmüştür (Jalal ve ark. 2007, Lirio ve ark. 2016). Kronik fruktoz tüketiminin kan glikoz seviyelerini yükselttiği anlaşılmıştır.

Sağlıklı metabolizmaya sahip canlılarda plazma glikoz konsantrasyonu yeterli miktarda insülin ile kontrol altına alınırken, insülin direnci gelişen canlılarda daha fazla insülin sentezlenerek plazma glikoz seviyeleri kontrol altına alınmaya çalışılmaktadır. İnsülin direnci gelişmiş canlılarda plazma glikoz düzeylerinin kontrol altına alınabilmesi için daha fazla insülin üretimi gerekmektedir. Diyabet gelişmiş canlılarda ise plazma glikoz konsantrasyonunu düşürmek için yeterli insülin üretilmemektedir (American Diabetes Association 2014). Yapılan bir çalışmada (Havel ve ark. 2000) diyabetli ratlarda plazma glikoz konsantrasyonunun yüksekliğiyle birlikte insülin miktarında da kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalma tespit edilmiştir. İnsülin metabolizmasındaki bozukluk zamanla hipotalamus merkezli nöropeptitlerin aktivitelerini değiştirerek beslenme davranışlarında da değişiklik meydana getirmektedir (Havel ve ark. 2000).

Yapılan bazı çalışmalarda rasyondaki fruktozun insülin direnci gelişimini tetiklediği ve plazma glikoz konsantrasyonunun düzenlenmesinde bozukluklar meydana getirdiği bildirilmektedir (Elliott ve ark. 2002, Baena ve ark. 2016).

Çalışma grupları arasında plazma glikoz değerleri en yüksek değere sahip olurken plazma insülin seviyeleri bakımından deneme grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı

görülmektedir (Çizelge 4.6). Aksoy ve ark.(2016), ratlarda yaptıkları çalışmada 2 aylık besleme periyodu sonunda yüksek fruktozlu ve yüksek sükrözlu rasyonlarla beslenme sonucunda kan glikoz düzeylerinde bu çalışma ile benzer bulgular bildirmişlerdir. F grubundaki hayvanlar hiperglisemik oldukları halde insülin miktarlarında önemli bir değişimin oluşmamasının rasyondaki fruktoz oranı ve besleme periyodu ile ilişkili olabileceği düşündürmektedir. Besleme periyodunun uzun tutulması, yani fruktoza kronik olarak maruz kalma ile insülin direncinin gelişebileceği, bununla birlikte insülin direnci gelişmeden lipogenezin ileri düzeyde şekillenebileceği akla gelmektedir.

Plazmadaki total kolesterol miktarları bakımından gruplar arasında önemli bir fark olmadığı görülmüştür. Baena ve ark. (2016) yaptıkları bir çalışmada fruktozlu rasyonla (%10'luk fruktoz çözeltisi) 2 ay süreyle beslenen ratlarda lipogenik aktivitenin yanı sıra total kolesterol miktarlarını da incelemiş ve bu çalışma ile benzer bulgular bildirmişlerdir. Fruktozun metabolik etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada (Lirio ve ark. 2016) yine benzer şekilde total kolesterol miktarlarında önemli bir değişim bulunmamıştır. Bununla birlikte fruktoz kökenli yüksek enerjili rasyonlarla beslenen ratlarda yapılan farklı çalışmalarda (Collino ve ark. 2010, Akan 2012, Sefil ve Sefil 2013), plazma total kolesterol seviyelerinde artış bildirilmiştir. Yüksek sükrözlu rasyonla 20 hafta boyunca beslenen Sprague-Dawley ratlarda yapılan bir çalışmada (Cao ve ark. 2012) total kolesterol miktarının artmadığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar beslenme şekli ve süresindeki farklılıkların plazma kolesterol seviyesi üzerinde önemli değişikliklere sebep olduğunu göstermiştir.

Çalışmada, plazma HDL seviyeleri bakımından gruplar arasında önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Besleme şeklinin biyokimyasal parametrelere olan etkilerinin incelendiği çok sayıda çalışmada yüksek yağlı diyetin HDL düzeyini negatif yönde etkilediği, bununla birlikte rasyonda bulunan yağın yağ asidi içeriğinin bu regülasyonda önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Ryu ve ark. 2003, Vijaimohan ve ark. 2006, Altın 2013). Yüksek kolesterollü rasyonla beslenen ratlarda yapılan bir çalışmada rasyonun plazma HDL seviyesini 20 gün gibi kısa bir sürede bile düşürebildiği bildirilmiştir (Altın 2013). Lirio ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada fruktozla beslemenin plazma total kolesterol miktarlarına benzer şekilde HDL miktarını da değiştirmedeğini bildirmişlerdir. Fruktoz ve streptozotosin ile birlikte diyabet oluşturulan ratlarda yapılan başka bir çalışmada HDL miktarlarında anlamlı bir değişiklik bulunmadığı bildirilmiştir (Wilson ve İslam 2012).

Plazma HDL seviyeleri bakımından elde edilen bulgular rasyon karbonhidrat içeriğinin bu regülasyonda yağ içeriği kadar önemli olmadığını göstermiştir.

Yapılan bu çalışmada, plazma LDL seviyeleri gruplar arasında benzer olmuştur. Yüksek fruktoz içerikli rasyonla (%60) beslenen ratlarda yapılan çalışmalarda (Thirunavukkarasu ve ark. 2004, De Moura ve ark. 2008) plazma kolesterol seviyesinin yükseldiği bildirilmiştir. Bu çalışmada gruplar arasında fark bulunmamasının sebebi olarak yüksek enerji oluşturmak için kullanılan fruktoz oranının (Yaklaşık %27'lik çözelti şeklinde kullanıldı) diğer çalışmalara göre düşük olması akla gelmektedir. Her ne kadar fruktozun LDL kolesterol miktarlarını artırdığı bildirilen çalışmalar olsa da (Thirunavukkarasu ve ark. 2004, De Moura ve ark. 2008), bu durumu tetikleyen en önemli faktörün hayvan yaşı ve başlangıç ağırlığı ile birlikte rasyonda kullanılan fruktozun oranı olduğu anlaşılmıştır (Novelli ve ark. 2007). S ve Y gruplarında da plazma LDL bakımından K grubuna benzer sonuçlara ulaşılmış olmasının sebebi olarak rasyon karbonhidrat içeriğinin çok yüksek olmaması düşünülmektedir.

Plazma trigliserit miktarı bakımından yapılan değerlendirmede F grubunun diğer gruplara göre önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ), (Çizelge 4.6). Janevski ve ark. (2012), 4 hafta boyunca %60 fruktozlu rasyonla beslenen ratlarda canlı ağırlıkta önemli bir değişim meydana gelmeden FAS, ACC, SREBP-1c ve ChREBP gen ekspresyon seviyelerinde artış olduğunu, bu durumun trigliserit miktarını artırdığını bildirmişlerdir. Fruktozun hiperlipidemiye, insülin direncini ve uzun süreli tüketimi sonucunda da diyabeti tetiklediği ve bu bozuklukların hiperlipidemi ile başladığı bildirilmektedir (Benado ve ark. 2004, Trujillo ve ark. 2006, Barnes ve ark. 2009). Ratlarda yapılan birçok çalışmayla fruktozun hiperlipidemik bir besin kaynağı olduğu anlaşılmıştır (Tappy ve Le 2010, Nagai ve ark. 2009, Lirio ve ark. 2016). Ayrıca Stanhope ve Havel (2008) yaptıkları çalışmada yüksek fruktoz ve yüksek sükroz içeren diyetlerle besledikleri Rhesus maymunlarında 3, 6 ve 12 aylık sürelerde canlı ağırlık ve bazı biyokimyasal parametreleri incelemişler, metabolik aktivitenin gelişimi için 3 ayın yeterli olduğunu bildirmişlerdir. Kısa süreli ve uzun süreli çalışmalar, bu çalışmada olduğu gibi fruktoz tüketiminin trigliserit miktarını artırdığını göstermektedir (Swarbrick ve ark. 2008). İnsülininden bağımsız olarak metabolize edilen ve büyük oranda lipide çevrilen fruktozun hiperlipidemik etkisinin bu çalışmada moleküler düzeyde tespit edilen transkripsiyon

faktörlerinin (LXR $\alpha$ , ChREBP, SREBP-1c) aktivitelerini doğrular nitelikte olduğu görülmüştür.

ALT ve AST enzimleri hepatositlerde sentezlenmekle birlikte iskelet ve kalp kaslarında da üretilebilen enzimlerdir. Karaciğer hasarının tanımlanmasında rutinde kullanılan parametreler olmakla birlikte bu enzim düzeyleri tek başına yeterli olmayan parametrelerdir. Zira karaciğer yağlanmasıyla seyreden hepatitlerde ALT düzeylerinin dalgalanma gösterdiği, ilerlemiş bir sirozda dahi normal fizyolojik sınırlarda bulunabildiği ve karaciğer dışı patolojilerde de değişebildiği bildirilmektedir (Şentürk ve ark. 2004, Giannini ve ark. 2005).

Bu çalışmada ALT düzeyleri K grubunda diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur (P<0,05). AST düzeyleri ise K grubunda Y ve S gruplarına göre yüksek ancak F grubu ile benzer tespit edilmiştir (Çizelge 4.6). Yüksek enerjili rasyonla yapılan bazı çalışmalarda karaciğerde bir patoloji geliştiğinde bile bu parametrelerin normal sınırlarda olabileceği bildirilmiştir (Taşyürek 2014, Lirio ve ark. 2016). Yapılan bir çalışmada (Lirio ve ark. 2016) yüksek fruktozlu rasyonla 6 hafta beslenen ratlarda benzer şekilde ALT ve AST parametreleri bakımından önemli bir fark bulunmadığı bildirilmiştir. Fruktozun metabolik bozukluklar üzerindeki etkisinin incelendiği başka bir çalışmada fruktozla beslenen gruptaki ratların ALT ve AST değerlerinin kontrol gruplarına göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (Gübür 2015). Benzer durum ALT bakımından bu çalışmada da tespit edilmiştir.

Plazma AST ve ALT düzeyleriyle karaciğer hasarı hakkında fikir sahibi olmak için bu iki enzim düzeyinin oranının daha belirleyici bir kriter olabileceği bildirilmektedir. İnsanlarda karaciğer hasarının tespitinde bu oranın 2'den büyük olması ile hasarın alkole bağlı olma ihtimalinin arttığı bildirilmektedir (Botros ve Sikaris 2013). AST/ALT oranının yüksek fruktozlu rasyonla beslenen ratlarda artış gösterdiği bildirilen çalışmalar bulunmaktadır (Botezelli ve ark. 2012, El-Haleim ve ark. 2016). Yapılan bu çalışmada AST/ALT oranı en yüksek S ve F gruplarında görülmüştür. Bununla birlikte S grubu ile K ve Y grupları arasında önemli bir fark olmadığı anlaşılmıştır (Çizelge 4.6). F grubu en yüksek orana sahip grup olarak belirlenmiştir. Yüksek enerjili beslenmeye bağlı olarak karaciğerde meydana gelecek hasarın tespitinde biyokimyasal olarak AST/ALT oranının belirleyici bir kriter olabileceği bu çalışmada da anlaşılmıştır. Zira bu çalışmanın histopatoloji bölümünde tespit edilen karaciğer hasarının S ve F grubunda belirgin olduğu görülmektedir.



Çoğunlukla safra kanalı epitel hücrelerinden sentezlenen GGT'nin karaciğer hasarı durumunda ALT ve AST ile birlikte yükselbildiği bununla birlikte ALT ve AST normalden bile GGT'nin yüksek olabileceği bildirilmektedir (Şentürk ve ark. 2004). Yapılan bir çalışmada (Tzanetakou ve ark. 2012), yaklaşık 3 ay yüksek oranda yağlı rasyonla beslenen ratlarda plazma GGT seviyelerinde önemli bir değişim olmadığı bildirilmiştir. Zarghani ve ark. (2016), alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması oluşturmayı amaçladıkları bir çalışmada yağdan, sükrozdan ve fruktozdan zengin rasyonlarla besledikleri ratlarda plazma ALT ve AST parametrelerinin yanı sıra GGT miktarında da değişim olmadığını bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da literatüre benzer şekilde yağ, sükroz ve fruktoz kaynakları ile yüksek enerjili beslemeye bağlı olarak plazma GGT seviyeleri bakımından önemli bir değişim olmadığı tespit edilmiştir. Rasyona bağlı gelişen lipogenezin plazma GGT aktivitesinde 3 aylık besleme periyodu süresince önemli bir değişim meydana getirmediği, bu yüzden farklı enerji kaynaklarına bağlı olarak gelişecek metabolik bozukluklarda 3 ay gibi bir besleme periyodu sonunda referans bir parametre olarak incelenmesinin anlamlı olmayacağı anlaşılmıştır.

## 5.5. Histopatoloji

Yapılan histopatolojik incelemede beklenildiği gibi K grubundaki hayvanlara ait karaciğer dokularının normal histolojik yapıda olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte Y grubu örneklerinde de çok fazla yağlanma olmadığı görülmüş ve bu durumun rasyonun yağ asidi içeriğinden kaynaklandığı düşünülmüştür. S grubu karaciğer dokularında yağlanma ve hepatositlerde dejenerasyon olduğu göze çarpmakla birlikte rasyonda kullanılan sükroz oranı ve muhtemelen besleme süresinden dolayı yağlanma ve dejenerasyonun F grubundaki kadar şiddetli olmadığı anlaşılmıştır. Haubert ve ark. (2010), bu çalışmadaki S grubu bulgularının aksine %70 sükrozlu rasyonla besledikleri ratlarda mikroskobik olarak şiddetli yağlanma tespit etmişlerdir. Sükrozun yağlanma üzerindeki etkisinin rasyondaki miktarıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Ackerman ve ark. (2005) fruktozun sükroza göre daha kısa sürede yağlanma ve dejenerasyona sebep olduğunu bildirmektedirler. Zira, Vila ve ark. (2011) Sprague-Dawley ratlarında yaptıkları çalışmada normal rasyona ilaveten %10'luk çözelti şeklinde fruktoz vemişler ve 2 hafta gibi kısa bir sürede karaciğerde nekrotik alanlar

tespit etmişlerdir. Yapılan incelemede F grubundaki hayvanların karaciğer dokularında mikroskobik olarak en hasarlı grup olduğu belirlenmiştir. Zira, yağlanma Y ve S grubuna göre daha fazla olmakla birlikte dejenerasyonun en şiddetli hali balonumsu dejenerasyon F grubunda belirgin olarak tespit edilmiştir.

Yapılan çalışma her ne kadar lipogenez yolağındaki genlerin aktiviteleriyle ilgili olsa da histopatolojik incelemeler sonucu yangısal hücre infiltrasyonunun S ve F grubunda, Y grubuna göre daha belirgin olduğu anlaşılmıştır. Sükroz ve fruktozun hepatositlerde yıkımlayıcı etkilerinin yanı sıra belirgin bir inflamasyon oluşumuna yol açtığı tespit edilmiştir. Bu durum karaciğer dokusunu sekonder bakteriyel enfeksiyonlara karşı daha duyarlı hale getirebilecek ve oksidatif hasar oluşumunu artırabilecektir. Turasan (2014), bu çalışmaya benzer şekilde fruktoz ve sükrozun karaciğer dokusunda sinüzoidal dejenerasyon, ödem ve mononükleer hücre infiltrasyonuna neden olduğunu bildirmiştir.

Deneme gruplarında ortak olan bulgu eritrositlerin sentral venlerde ve sinüzoidal bölgelerde durgunlaşması olmuştur. Bu durumun karaciğer dokusunda anoksi ve hipoksi ortamı oluşturarak hepatositlerde dejeneratif ve nekrotik değişikliklerin ön plana çıkmasına neden olabileceği düşünülmektedir.

Fruktozun lipogenik etkisi F grubunda karaciğer dokusundaki yağlanmanın tespiti ile doğrulanmıştır. Histopatolojik bulguların çalışmada kontrol edilen lipogenez yolağındaki transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerini doğrular nitelikte olduğu görülmüştür. F grubunda karaciğer ağırlık ortalamalarının deneme gruplarına göre önemli düzeyde yüksek bulunması canlı ağırlıklarının fazla olmasının yanı sıra histopatolojik sonuçlarla da tespit edilmiştir. Karaciğerdeki bu ağırlık artışının yağlanmaya bağlı olarak şekillenmiş olabileceği düşünülmüştür.

## 6. SONUÇ

Farklı enerji kaynaklarıyla oluşturulan yüksek enerjili rasyonların kullanımıyla 90 gün boyunca beslenen ratlarda, karaciğer ve kas dokularında lipogenez yolağında rol olan önemli transkripsiyon faktörleri ile AQP9 membran proteininin gen ve protein ekspresyonu düzeyindeki aktiviteleri araştırılmıştır. Bununla birlikte bazı biyokimyasal parametrelerde meydana gelen değişimler ve karaciğer dokusunun histopatolojik durumu değerlendirilmiştir. Enerji miktarı bakımından benzer fakat farklı enerji kaynaklarını içeren yüksek enerjili rasyonlarla beslemenin enerji metabolizmasını farklı şekillerde etkilediği anlaşılmıştır. Her ne kadar yüksek enerjinin canlı ağırlık artışını dolayısıyla obeziteyi tetiklediği düşünülse de enerji kaynağının bu durumun oluşumunda oldukça önemli bir faktör olduğu görülmüştür. Zira çalışmada, birçok gıdada değişen oranlarda tatlandırıcı olarak kullanılan fruktozun lipogenez, yağ ve sükroz kaynaklarına göre daha fazla tetiklediği tespit edilmiştir. Bu durumun fruktoz tüketiminin insülin salınımını etkilememesi ve metabolize edilmesinin farklılığından ileri geldiği düşünülmüştür. Fruktoz bakımından zengin rasyonla beslemenin sükroz ve yağ kaynaklarına göre lipogenez ve canlı ağırlık artışı bakımından daha hızlı ve etkili olduğu anlaşılmıştır.

Günümüzde yapılan birçok çalışmada metabolik aktivitenin moleküler düzeyde incelenmesiyle birçok metabolik bozukluk hakkında önemli çıktılar üretilmektedir. Bu çalışmada lipogenezin şekillenmesinde önemli rol oynayan transkripsiyon faktörlerinden özellikle LXR $\alpha$  ve SREBP-1c'nin hem karaciğer hem de kas dokusunda önemli moleküler belirteçler olduğu görülmüştür. Bu transkripsiyon faktörleri mRNA ekspresyonu düzeyinde fruktozla beslemeye bağlı olarak karaciğerde sırasıyla yaklaşık 2 ve 4 kat artış göstermiş ve tespit edilen protein miktarları ile bu artış doğrulanmıştır. Ayrıca fruktozlu rasyonla beslenen ratlarda bu transkripsiyon faktörleri kas dokuda mRNA ekspresyonu düzeyinde sırasıyla yaklaşık 2 ve 3 kat fazla ifade edilmiş ve protein miktarlarının bu artışı doğrular nitelikte olduğu görülmüştür. Bu çalışmayla enerji metabolizması ile ilgili çalışmalarda metabolik aktivitede merkez organ konumunda olan karaciğerin yanısıra kas dokuya odaklanılarak önemli çıktılar üretilebileceği anlaşılmıştır. Zira çalışmada beslenmeye bağlı olarak aktivitesi incelenen transkripsiyon faktörlerinin kas dokudaki görevleriyle ilgili literatürde

yeterli çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca, PPAR $\alpha$ 'nın kas dokudaki aktivitesi hakkında daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu, kas dokuda ChREBP ve PPAR $\alpha$  arasındaki ilişkinin henüz tam olarak anlaşılmadığı görülmüştür.

Çalışmada karaciğer dokusunun ChREBP gen ekspresyon seviyeleri ile protein miktarları arasında farklılık tespit edilmiştir. ChREBP gen ekspresyon miktarının karaciğerde temel rasyona ilaveten %27'lik fruktozla beslemeye bağlı olarak değişmediği, bununla birlikte ChREBP protein miktarının fruktozla beslenen grupta en fazla olduğu görülmüştür. ChREBP ve lipogenez arasındaki ilişkinin fruktozla beslemeye bağlı olarak daha fazla incelenmesi gerektiği anlaşılmıştır.

Karaciğerdeki SREBP-1c aktivitesinin lipogenezde ön planda olan trigliserit üretimi ve canlı ağırlık değişimi ile sıkı bir ilişkisinin olduğu anlaşılmıştır. SREBP-1c'nin insülin aracılı veya direk olarak aktivite göstermesi, LXR $\alpha$  ve ChREBP gibi transkripsiyon faktörleriyle etkileşerek lipogenezi düzenlemesi gibi görevlerinin yanı sıra farklı enerji kaynaklarına olan cevabının ve miRNA'lar gibi metabolik yollarda görevli diğer faktörlerle olan ilişkisinin aydınlatılması gerektiği anlaşılmıştır.

Su kanalı olarak görev görmesinin yanı sıra üre ve gliserol transportunda da aktif rol alan AQP9'un sükröz ve fruktozdan zengin rasyonla beslemeye bağlı olarak karaciğerde gen ekspresyonunun LXR $\alpha$  ve SREBP-1c transkripsiyon faktörlerinin aktivitesine bağlı olarak artmış olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte karaciğer ve kas dokularında beslenmeye bağlı olarak aktivitesi değişen AQP9'un, mRNA ve protein düzeyinde daha fazla incelenmesi gerektiği anlaşılmıştır.

Biyokimyasal parametrelerden özellikle trigliserit miktarının fruktozla beslemeye bağlı olarak önemli düzeyde arttığı görülmüştür. Fruktozun hiperlipidemik olduğunu söylemek mümkündür.

Karaciğer dokusunun sağlığı hakkında referans parametreler olarak kullanılan ALT ve AST gibi enzimleri değerlendirirken güvenilir çıktıların üretilebilmesi için AST/ALT oranının daha belirleyici bir parametre olabileceği bu yüzden birlikte değerlendirilmesi gereken bir parametre olduğu yapılan bu çalışma ile de anlaşılmıştır.

Ratlarda rasyonda fruktoz kullanılarak gerek lipogenez gerekse karaciğer hasarı üzerine yapılması hedeflenen deneysel çalışmaların süresi belirlenirken rasyondaki fruktoz oranının önemli olduğu bununla birlikte normal rasyona ilaveten % 27'lik fruktoz çözeltisinin bu metabolik bozuklukları oluşturmada yeterli olabileceği anlaşılmıştır. Zira,

fruktozlu beslenmenin 3 aylık bir sürede karaciğer hasarı oluşturabileceği bu çalışmadaki histopatolojik bulgularla anlaşılmıştır. Çalışmada karaciğer dokusu bakımından en hasarlı grubun fruktoz grubu olduğu görülmüştür.

Beslenme bozukluğuna bağlı olarak gelişebilen diyabet ve diyabetle ilişkili metabolik bozuklukların oluşabilmesi için ilgili rasyona maruz kalınan süre ve rasyon enerji miktarının önemli olduğu yapılan çalışmayla anlaşılmıştır. Fruktozun bu metabolik bozuklukların oluşumunu tetikleyebileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak, fruktozun lipogenezde görevli transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerini artırarak canlı ağırlık artışını tetiklediği, gıdalarda değişen oranlarda kullanılan bu şekerin metabolik açıdan tehlikeli olabileceği söylebebilir.



## 7. KAYNAKLAR

1. **Ackerman Z, Oron-Herman M, Grozovski M, Rosenthal T, Pappo O ve ark.** Fructose-Induced Fatty Liver Disease. *Hypertension*, **2005**, s. 45(5): 1012-1018.
2. **Akan G.** Metabolik Sendromlu Sıçanların Karaciğer ve Viseral Yağ Dokularında 11 $\beta$ HSD-1 ve PAI-1 Gen Ekspresyonlarının İncelenmesi. Yüksek lisans tezi, İstanbul Bilim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, **2012**.
3. **Aksoy R, Gürbilek M, Çetinkaya ÇD, Topcu C.** Glukoz, Fruktoz, Nişasta Bazlı Şekerler ile Beslenmiş Ratlarda Na/K ATPaz (E.C.3.1.6.37) Aktivitesi, GLUT ve Adipositokinlerin Araştırılması. *Van Tıp Derg*, **2016**, s. 23(2): 167-175.
4. **Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K ve ark.** Hücrenin Moleküler Biyolojisi. 4. Baskı çeviri, *Türkiye Bilimler Akademisi*, Ankara, **2008**, s. 769-793.
5. **Altın M.** Yüksek Kolesterolü Diyetle Beslenen Ratlarda Ginsengin TNF-A, Leptin ve Bazı Serum Lipid Parametreleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, **2013**.
6. **American Diabetes Association.** Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes care*, **2014**, s. 37(1): 81-90.
7. **Andersson L.** Genetic Dissection of Phenotypic Diversity in Farm Animals. *Nature Reviews Genetics*, **2001**, s. 2: 130-138.
8. **Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG ve ark.** Short Protocols in Molecular Biology. *Current Protocols*, Wiley, Jersey, NJ. **2002**.
9. **Baena M, Sangüesa G, Dávalos A, Latasa MJ, Sala-Vila A ve ark.** Fructose, but not Glucose, Impairs Insulin Signaling in the Three Major Insulin-sensitive Tissues. *Scientific reports*, *Nature*, **2016**, s. 6: 26149.
10. **Bar M, Bar D, Lehmann B.** Selection and Validation of Candidate Housekeeping Genes for Studies Of Human Keratinocytes. Review and Recommendations, *Journal of Investigative Dermatology*, **2009**, s. 129(3): 535-537.
11. **Barnes KM, Miner JL.** Role of Resistin in Insulin Sensitivity in Rodents and Humans. *Current Protein and Peptide Science*, **2009**, s. 10(1), 96-107.
12. **Barter P.** The role of HDL-Cholesterol in Preventing Atherosclerotic Disease. *European Heart Journal Supplements*, 7 (suppl\_F), **2005**, s. 4-8.
13. **Basciano H, Federico L, Adeli K.** Fructose, Insulin Resistance, and Metabolic Dyslipidemia. *Nutrition & Metabolism*, **2005**, s. 2(1): 1-14.
14. **Bauman A, Bull F, Chey T, Craig CL, Ainsworth BE ve ark.** The International Prevalence Study on Physical Activity: Results From 20 Countries. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, **2009**, s. 6(1): 1-11.
15. **Benado M, Alcantara C, de la Rosa R, Ambrose M, Mosier K ve ark.** Effects of Various Levels of Dietary Fructose on Blood Lipids of Rats. *Nutrition research*, **2004**, s. 24(7): 565-571.
16. **Bizeau ME, Pagliassotti MJ.** Hepatic Adaptations to Sucrose and Fructose. *Metabolism*, **2005**, s. 54(9): 1189-1201.
17. **Bocarsly ME, Powell ES, Avena NM, Hoebel BG.** High-Fructose Corn Syrup Causes Characteristics of Obesity in Rats: Increased Body Weight, Body Fat and Triglyceride Levels. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **2010**, s. 97(1): 101-106.
18. **Botzelli JD, Cambri LT, Ghezzi AC, Dalia RA, Voltarelli FA ve ark.** Fructose-Rich Diet Leads to Reduced Aerobic Capacity and to Liver Injury in Rats. *Lipids in Health and Disease*, **2012**, s. 11(1): 78.
19. **Botros M, Sikaris KA.** The de Ritis Ratio: the Test of Time. *The Clinical Biochemist Reviews*, **2013**, s. 34(3): 117.
20. **Bray GA, Nielsen S J, Popkin BM.** Consumption of High-fructose Corn Syrup in Beverages may Play a Role in the Epidemic of Obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **2004**, s. 79(4): 537-543.

21. **Bray GA.** Fructose: Pure, White, and Deadly? Fructose, by any Other Name, is a Health Hazard. *Journal of Diabetes Science and Technology*, **2010**, s. 4(4): 1003-1007.
22. **Brons C, Jensen C. B, Storgaard H, Hiscock NJ, White A ve ark.** Impact of Short-Term High-Fat Feeding on Glucose and Insulin Metabolism in Young Healthy Men. *The Journal of physiology*, **2009**, s. 587(10): 2387-2397.
23. **Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA ve ark.** Defining High-fat-diet Rat Models: Metabolic and Molecular Effects of Different Fat Types. *Journal of Molecular Endocrinology*, **2006**, s. 36(3): 485-501.
24. **Burgeiro A, Cerqueira MG, Varela-Rodríguez BM, Nunes S, Neto P ve ark.** Glucose and Lipid Dysmetabolism in a Rat Model of Prediabetes Induced by a High-Sucrose Diet. *Nutrients*, **2017**, s. 9(6): s. 638.
25. **Burri L, Thoresen GH, Berge RK.** The Role of PPAR Activation in Liver and Muscle. *PPAR Research*, **2010**, s. 1-11.
26. **Cai C, Wang C, Ji W, Liu B, Kang Y ve ark.** Knockdown of Hepatic Aquaglyceroporin-9 Alleviates High Fat Diet-Induced Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Rats. *International Immunopharmacology*, **2013**, s. 15(3): 550-556.
27. **Cao L, Liu X, Cao H, Lv Q, Tong N.** Modified High-Sucrose Diet-Induced Abdominally Obese and Normal-Weight Rats Developed High Plasma Free Fatty Acid and Insulin Resistance. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2012**, s. 1-9.
28. **Caperna TJ, Shannon AE, Richards MP, Garrett WM, Talbot NC.** Identification and Characterization of Aquaporin-9 (AQP9) in Porcine Hepatic Tissue and Hepatocytes in Monolayer Culture. *Domestic Animal Endocrinology*, **2007**, s. 32(4): 273-286.
29. **Carbrey JM, Gorelick-Feldman DA, Kozono D, Praetorius J, Nielsen S.** Aquaglyceroporin AQP9: Solute Permeation and Metabolic Control of Expression in Liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2003**, s. 100(5): 2945-2950.
30. **Catalan V, Gómez-Ambrosi J, Pastor C, Rotellar F, Silva C ve ark.** Influence of Morbid Obesity and Insulin Resistance on Gene Expression Levels of AQP7 in Visceral Adipose Tissue and AQP9 in Liver. *Obesity Surgery*, **2008**, s. 18(6): 695-701.
31. **Catena C, Giacchetti G, Novello M, Colussi G, Cavarape A ve ark.** Cellular Mechanisms of Insulin Resistance in Rats with Fructose-Induced Hypertension. *American Journal of Hypertension*, **2003**, s. 16(11): 973-978.
32. **Cha JY, Repa JJ.** The liver X receptor (LXR) and Hepatic Lipogenesis the Carbohydrate-response Element-binding Protein is a Target Gene of LXR. *Journal of Biological Chemistry*, **2007**, s. 282(1): 743-751.
33. **Chepulis L, Starkey N.** The Long - Term Effects of Feeding Honey Compared with Sucrose and a Sugar-Free Diet on Weight Gain, Lipid Profiles, and DEXA Measurements in Rats. *Journal of Food Science*, **2008**, s. 73(1): 1-8.
34. **Chong MF, Fielding BA, Frayn KN.** Mechanisms for the Acute Effect of Fructose on Postprandial Lipemia. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **2007**, s. 85(6): 1511-1520.
35. **Collino M, Aragno M, Castiglia S, Miglio G, Tomasinelli C ve ark.** Pioglitazone Improves Lipid and Insulin Levels in Overweight Rats on a High Cholesterol and Fructose Diet by Decreasing Hepatic Inflammation. *British Journal Of Pharmacology*, **2010**, s. 160(8): 1892-1902.
36. **Commerford SR, Peng L, Dubé JJ, O'Doherty RM.** In vivo Regulation of SREBP-1c in Skeletal Muscle: Effects of Nutritional Status, Glucose, Insulin, and Leptin. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **2004**, s. 287(1): 218-227.
37. **Contreras AV, Torres N, Tovar AR.** PPAR- $\alpha$  as a Key Nutritional and Environmental Sensor for Metabolic Adaptation. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, **2013**, s. 4(4): 439-452.
38. **Costet P, Legendre C, Moré J, Edgar A, Galtier P ve ark.** Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\alpha$ -Isoform Deficiency Leads to Progressive Dyslipidemia with Sexually Dimorphic Obesity and Steatosis. *Journal of Biological Chemistry*, **1998**, s. 273(45): 29577-29585.
39. **Coşkun T.** Nütrisyonel Genomik. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, **2007**, s. 50: 47-66.
40. **Cozzone D, Debard C, Dif N, Ricard N, Disse E ve ark.** Activation of Liver X Receptors Promotes Lipid Accumulation but does not Alter Insulin Action In Human Skeletal Muscle Cells. *Diabetologia*, **2006**, s. 49(5): 990-999.

41. **Crespillo A, Alonso M, Vida M, Pavón FJ, Serrano A ve ark.** Reduction of Body Weight, Liver Steatosis and Expression of Stearoyl - CoA Desaturase 1 by the Isoflavone Daidzein in Diet-Induced Obesity. *British Journal of Pharmacology*, **2011**, s. 164(7): 1899-1915.
42. **Çabuk Çelik N.** Fruktozla Oluşturulan Nonalkolik Yağlı Karaciğer Modelinde Rifaksimim'in Önleyici Rolü, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, **2014**.
43. **de Moura RF, Ribeiro C, de Oliveira JA, Stevanato E, de Mello MAR.** Metabolic Syndrome Signs in Wistar Rats Submitted to Different High-Fructose Ingestion Protocols. *British Journal of Nutrition*, **2008**, s. 101(8): 1178-1184.
44. **Defour A, Dessalle K, Perez AC, Poyot T, Castells J, ve ark.** Sirtuin 1 Regulates SREBP-1c Expression in a LXR-dependent Manner in Skeletal Muscle. *PLoS one*, **2012**, s. 7(9): 1-8.
45. **Denechaud PD, Dentin R, Girard J, Postic C.** Role of ChREBP in Hepatic Steatosis and Insulin Resistance. *FEBS Letters*, **2008**, s. 582(1): 68-73.
46. **Dentin R, Benhamed F, Hainault I, Fauveau V, Foufelle F ve ark.** Liver-specific Inhibition of ChREBP Improves Hepatic Steatosis and Insulin Resistance in ob/ob Mice. *Diabetes*, **2006**, s. 55(8): 2159-2170.
47. **Dentin R, Benhamed F, Pégorier JP, Foufelle F, Viollet B ve ark.** Polyunsaturated Fatty Acids Suppress Glycolytic and Lipogenic Genes Through The Inhibition of CHREBP Nuclear Protein Translocation. *Journal of Clinical Investigation*, **2005**, s. 115(10): 2843.
48. **Dentin R, Denechaud PD, Benhamed F, Girard J, Postic C.** Hepatic Gene Regulation by Glucose and Polyunsaturated Fatty Acids: A Role for ChREBP. *The Journal of Nutrition*, **2006**, s. 136(5): 1145-1149.
49. **DESA UN.** World Population Prospects: The 2012 Revision. *Population Division of the Department of Economic and Social Affairs of the United Nations Secretariat, New York*. **2013**.
50. **dos Santos BP, da Costa Diesel LF, da Silva Meirelles L, Nardi NB, Camassola M.** Identification of Suitable Reference Genes for Quantitative Gene Expression Analysis in Rat Adipose Stromal Cells Induced to Trilineage Differentiation. *Gene*, **2016**, s. 594(2): 211-219.
51. **Drolet MC, Roussel E, Deshaies Y, Couet J, Arsenault M.** A High Fat/high Carbohydrate Diet Induces Aortic Valve Disease in C57BL/6J Mice. *Journal of the American College of Cardiology*, **2006**, s. 47(4): 850-855.
52. **Duarte JA, Carvalho F, Pearson M, Horton JD, Browning JD ve ark.** A High-fat Diet Suppresses De novo Lipogenesis and Desaturation but not Elongation and Triglyceride Synthesis in Mice. *Journal of Lipid Research*, **2014**, s. 55(12): 2541-2553.
53. **Ducluzeau PH, Perretti N, Laville M, Andreelli F, Vega N ve ark.** Regulation by Insulin of Gene Expression in Human Skeletal Muscle and Adipose Tissue. *Diabetes*, **2001**, s. 50(5): 1134-1142.
54. **El-Haleim EAA, Bahgat AK, Saleh S.** Effects of Combined PPAR- $\gamma$  and PPAR- $\alpha$  Agonist Therapy on Fructose Induced NASH in Rats: Modulation of Gene Expression. *European Journal of Pharmacology*, **2016**, s. 773: 59-70.
55. **Elliott SS, Keim NL, Stern JS, Teff K, Havel PJ.** Fructose, Weight Gain, and the Insulin Resistance Syndrome. *The American journal of clinical nutrition*, **2002**, s. 76(5): 911-922.
56. **Engelking LJ, Kuriyama H, Hammer RE, Horton JD, Brown MS ve ark.** Overexpression of Insig-1 in the Livers of Transgenic Mice Inhibits SREBP Processing and Reduces Insulin-stimulated Lipogenesis. *Journal of Clinical Investigation*, **2004**, s. 113(8): 1168.
57. **Eren E, Yilmaz N, Aydin O.** High Density Lipoprotein and It's Dysfunction. *The Open Biochemistry Journal*, **2012**, s. 6: 78-93.
58. **Erion DM, Popov V, Hsiao JJ, Vatner D, Mitchell K ve ark.** The Role of the Carbohydrate Response Element-binding Protein in Male Fructose-fed Rats. *Endocrinology*, **2012**, s. 154(1): 36-44.
59. **Ersoy O.** Karaciğer Enzim Yüksekliğinin Değerlendirilmesi. *Ankara Medical Journal*, **2012**, s. 12(3): 129-135.
60. **FAO** Erişim: <http://www.fao.org>, **2017**.
61. **Fernandez-Hernando C, Suarez Y, Rayner KJ, Moore KJ.** MicroRNAs in Lipid Metabolism. *Current Opinion in Lipidology*, **2011**, s. 22(2): 86-92.
62. **Filhoulaud G, Guilmeau S, Dentin R, Girard J, Postic C.** Novel Insights into ChREBP Regulation and Function. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, **2013**, s. 24(5): 257-268.
63. **Finck BN, Bernal-Mizrachi C, Han DH, Coleman T, Sambandam N ve ark.** A Potential link between Muscle Peroxisome Proliferator-activated Receptor- $\alpha$  Signaling and Obesity-related Diabetes. *Cell Metabolism*, **2005**, s. 1(2): 133-144.
64. **Fleige S, Pfaffl MW.** RNA Integrity and the Effect on the Real-time qRT-PCR Performance. *Molecular Aspects of Medicine*, **2006**, s. 27(2): 126-139.



65. **Forti N, Diament J.** High-Density Lipoproteins: Metabolic, Clinical, Epidemiological and Therapeutic Intervention Aspects. An Update for Clinicians. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, **2006**, s. 87(5): 671-679.
66. **Frazier-Wood AC, Ordovas JM, Straka RJ, Hixson JE., Borecki IB ve ark.** The PPAR Alpha Gene is Associated with Triglyceride, Low-density Cholesterol and Inflammation Marker Response to Fenofibrate Intervention: the GOLDN Study. *The Pharmacogenomics Journal*, **2013**, s. 13(4): 312-317.
67. **Ge Q, Huang N, Wynn RM, Li Y, Du X, Miller B ve ark.** Structural Characterization of a Unique Interface Between Carbohydrate Response Element-Binding Protein (ChREBP) and 14-3-3 $\beta$  Protein. *Journal of Biological Chemistry*, **2012**, s. 287(50): 41914-41921.
68. **Geidl-Flueck B, Gerber PA.** Insights into the Hexose Liver Metabolism—Glucose versus Fructose. *Nutrients*, **2017**, s. 9(9): 1026.
69. **Giannini EG, Testa R, Savarino V.** Liver Enzyme Alteration: A Guide for Clinicians. *Canadian Medical Association Journal*, **2005**, s. 172(3): 367-379.
70. **Gregoire F, Lucidi V, Zerrad-Saadi A, Virreira M, Bolaky N ve ark.** Analysis of Aquaporin Expression in Liver with a Focus on Hepatocytes. *Histochemistry and Cell Biology*, **2015**, s. 144(4): 347-363.
71. **Gronning-Wang LM, Bindesbøll C, Nebb HI.** The Role of Liver X Receptor in Hepatic de novo Lipogenesis and Cross-talk with Insulin and Glucose Signaling. *In Lipid Metabolism. InTech*. **2013**, s. 61-90.
72. **Grygiel-Gorniak B.** Peroxisome Proliferator-activated Receptors and Their Ligands: Nutritional and Clinical Implications-a Review. *Nutrition Journal*, **2014**, s. 13(1), 1-10.
73. **Guillet-Deniau I, Pichard AL, Koné A, Esnous C, Nieruchalski M ve ark.** Glucose Induces de novo Lipogenesis in Rat Muscle Satellite Cells Through a Sterol-regulatory-element-binding-protein-1c-dependent Pathway. *Journal of Cell Science*, **2004**, s. 117(10): 1937-1944.
74. **Gunstone F.** Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses. *John Wiley & Sons Ltd Publication*. **2011**, s. 137-160.
75. **Guyton AC, Hall JE, Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ, Aydın Z ve ark.** Tıbbi Fizyoloji. 11. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul, **2007**, s. 808-873.
76. **Gübür S.** Basit Karbonhidrat İçeriği Yüksek Diyetle Beslenen Sıçanlarda Yeşil Çayın Antioksidan Etkisinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Başkent Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2015**.
77. **Güldür T.** Çoklu Doymamış Yağ Asitlerinin Lipid Metabolizmasına Etkileri ve Etki Mekanizmaları: Hangi Yağ? *Ankara Ecz. Fak. Derg.* **2009**, s. 38(3): 191-210.
78. **Gürdöl F, Ademoğlu E.** Biyokimya. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. **2006**.
79. **Haas JT, Miao J, Chanda D, Wang Y, Zhao E ve ark.** Hepatic Insulin Signaling is Required for Obesity-dependent Expression of SREBP-1c mRNA but not for Feeding-dependent Expression. *Cell Metabolism*, **2012**, s. 15(6): 873-884.
80. **Haimov-Kochman R, Fisher SJ, Winn VD.** Modification of the Standard Trizol-based Technique Improves the Integrity of RNA Isolated from RNase-rich Placental Tissue. *Clinical Chemistry*, **2006**, s. 52(1): 159-160.
81. **Hanke N, Scheibe RJ, Manukjan G, Ewers D, Umeda PK ve ark.** Gene Regulation Mediating Fiber-Type Transformation in Skeletal Muscle Cells is Partly Glucose-and ChREBP-dependent. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, **2011**, s. 1813(3): 377-389.
82. **Hanover LM, White JS.** Manufacturing, Composition, and Applications of Fructose. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **1993**, s. 58(5): 724-732.
83. **Haubert NJBGB, Padovan GJ, Zucoloto S, Vannucchi H, Marchini JS.** Experimental Induction of Steatosis in Different Tissues after the Ingestion of a Carbohydrate-rich diet: Effect on the Liver, on the Heart and on Indicators of Oxidation. *Arquivos de gastroenterologia*, **2010**, s. 47(4): 388-392.
84. **Havel PJ, Hahn TM, Sindelar DK, Baskin DG, Dallman MF ve ark.** Effects of Streptozotocin-induced Diabetes and Insulin Treatment on the Hypothalamic Melanocortin System and Muscle Uncoupling Protein 3 Expression in Rats. *Diabetes*, **2000**, s. 49(2): 244-252.
85. **He Z, Jiang T, Wang Z, Levi M, Li J.** Modulation of Carbohydrate Response Element-binding Protein Gene Expression in 3T3-L1 Adipocytes and Rat Adipose Tissue. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **2004**, s. 287(3): 424-430.

86. **Hessvik NP, Boekschoten MV, Baltzersen MA, Kersten S, Xu X ve ark.** LXR $\beta$  is the Dominant LXR Subtype in Skeletal Muscle Regulating Lipogenesis and Cholesterol Efflux. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **2010**, s. 298(3): 602-613.
87. **Hirako S, Wakayama Y, Kim H, Iizuka Y, Matsumoto A ve ark.** The Relationship between Aquaglyceroporin Expression and Development of Fatty Liver in Diet-Induced Obesity and ob/ob Mice. *Obesity Research & Clinical Practice*, **2015**, s. 1: 1-9.
88. **Horie T, Nishino T, Baba O, Kuwabara Y, Nakao T ve ark.** MicroRNA-33 Regulates Sterol Regulatory Element-binding Protein 1 Expression in Mice. *Nature Communications*, **2013**, s. 4: 1-12.
89. **Huang CY, Lin YS, Chen GC, Huang HL, Chuang SH ve ark.** Upregulation Of Lipogenesis And Protein Tyrosine Phosphatase-1B Expression in The Liver of Wistar Rats with Metabolic Syndrome Chronically Induced by Drinking Sucrose Water. *Annals of Nutrition and Metabolism*, **2010**, s. 57(3-4): 169-176.
90. **Iizuka K, Bruick RK, Liang G, Horton JD, Uyeda K.** Deficiency of Carbohydrate Response Element-Binding Protein (CHREBP) Reduces Lipogenesis as well as Glycolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **2004**, s. 101(19): 7281-7286.
91. **Iizuka K.** The Role of Carbohydrate Response Element Binding Protein in Intestinal and Hepatic Fructose Metabolism. *Nutrients*, **2017**, s. 9(2): 181.
92. **Ikemoto S, Takahashi M, Tsunoda N, Maruyama K, Itakura H ve ark.** High-fat Diet-induced Hyperglycemia and Obesity in Mice: Differential Effects of Dietary Oils. *Metabolism*, **1996**, s. 45(12): 1539-1546.
93. **İlhan N, Güngör H, İlhan AŞ.** Sıçan Metabolik Sendrom Modelinde Resveratrol'ün Oksidan ve Antioksidan Sistemler Üzerine Etkileri. *Türk Biyokimya Dergisi*, **2014**, s. 39(4): 449-454.
94. **Jalal R, Bagheri SM, Moghimi A, Rasuli MB.** Hypoglycemic Effect of Aqueous Shallot and Garlic Extracts in Rats with Fructose-induced Insulin Resistance. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, **2007**, s. 41(3): 218-223.
95. **Janevski M, Ratnayake S, Siljanovski S, McGlynn MA, Cameron-Smith D.** Fructose Containing Sugars Modulate mRNA of Lipogenic Genes ACC and FAS and Protein Levels of Transcription Factors ChREBP and SREBP1c with no Effect on Body Weight or Liver Fat. *Food & Function*, **2012**, s. 3(2): 141-149.
96. **Jesus TT, Bernardino RL, Martins AD, Sá R, Sousa M ve ark.** Aquaporin-9 is Expressed in Rat Sertoli Cells and Interacts with the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator. *IUBMB life*, **2014**, s. 66(9): 639-644.
97. **Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, Nakagawa T, Feig DI ve ark.** 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*, **2007**, s. 86(4): 899-906.
98. **Jois T, Sleeman MW.** The Regulation and Role of Carbohydrate Response Element Binding Protein in Metabolic Homeostasis and Disease. *Journal of Neuroendocrinology*, **2017**, s. 1-11.
99. **Kamei Y, Miura S, Suganami T, Akaike F, Kanai S ve ark.** Regulation of SREBP1c Gene Expression in Skeletal Muscle: Role of Retinoid X Receptor/Liver X Receptor and Forkhead-O1 Transcription Factor. *Endocrinology*, **2008**, s. 149(5): 2293-2305.
100. **Kannisto K, Chibalin A, Glinghammar B, Zierath JR, Hamsten A ve ark.** Differential Expression of Peroxisomal Proliferator Activated Receptors  $\alpha$  and  $\delta$  in Skeletal Muscle in Response to Changes in Diet and Exercise. *International Journal of Molecular Medicine*, **2006**, s. 17(1): 45-52.
101. **Karaçor K, Çam M, Orhan N, Coşgun E, Demirin H.** High Fatty Diet Effects on Rat Liver. *European Journal of General Medicine*, **2014**, s. 11(2): 99-108.
102. **Karaoğlu M.** Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu, Gıda Mühendisliği Dergisi, **2014**, s. 33.
103. **Kase ET, Wensaas AJ, Aas V, Højlund K, Levin K ve ark.** Skeletal Muscle Lipid Accumulation in Type 2 Diabetes may Involve the Liver X Receptor Pathway. *Diabetes*, **2005**, s. 54(4): 1108-1115.
104. **Kersten S, Seydoux J, Peters JM, Gonzalez FJ, Desvergne B ve ark.** Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\alpha$  Mediates the Adaptive Response to Fasting. *Journal of Clinical Investigation*, **1999**, s. 103(11): 1489-1498.
105. **Kim MS, Krawczyk SA, Doridot L, Fowler AJ, Wang JX ve ark.** ChREBP Regulates Fructose-Induced Glucose Production Independently of Insulin Signaling. *The Journal of Clinical Investigation*, **2016**, s. 126(11): 4372-4386.
106. **Kim S, Sohn I, Ahn JI, Lee KH, Lee YS ve ark.** Hepatic Gene Expression Profiles in a Long-term High-fat Diet-induced Obesity Mouse Model. *Gene*, **2004**, s. 340(1): 99-109.

107. **Kogelman LJ, Zhernakova DV, Westra HJ, Cirera S, Fredholm M ve ark.** An Integrative Systems Genetics Approach Reveals Potential Causal Genes And Pathways Related to Obesity. *Genome Medicine*, **2015**, s. 7(1): 1-15.
108. **Kohjima M, Enjoji M, Higuchi N, Kato M, Kotoh K ve ark.** Re-evaluation of Fatty Acid Metabolism-related Gene Expression in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *International Journal of Molecular Medicine*, **2007**, s. 20(3): 351-358.
109. **Koo HY, Miyashita M, Cho BS, Nakamura MT.** Replacing Dietary Glucose with Fructose Increases ChREBP Activity and SREBP-1 Protein in Rat Liver Nucleus. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2009**, s. 390(2): 285-289.
110. **Korkmaz A.** Fructose; A Hidden Threat for Chronic Diseases. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, **2008**, s. 7(4): 343-346.
111. **Kota BP, Huang THW, Roufogalis BD.** An Overview on Biological Mechanisms of PPARs. *Pharmacological Research*, **2005**, s. 51(2): 85-94.
112. **Köseler E.** Farklı Miktarlarda Tüketilen Fruktozun, Vücut Ağırlığı ve Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Başkent Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2011**.
113. **Kusmann M, Raymond F, Affolter M.** OMICS-driven Biomarker Discovery in Nutrition and Health. *Journal of Biotechnology*, **2006**, s. 124(4): 758-787.
114. **Küçükaya B.** Hiperlipidemik Hastalarda Ezetemib Monoterapisinin Lipid Profili İle Enflamatuvar Belirteçlerin Üzerindeki Etkileri. Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı, İstanbul Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul, **2008**.
115. **Lebeck J, Cheema MU, Skowronski MT, Nielsen S, Praetorius J.** Hepatic AQP9 Expression in Male Rats is Reduced in Response to PPAR $\alpha$  Agonist Treatment. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, **2014**, s. 308(3): 198-205.
116. **Lecomte V, Meugnier E, Euthine V, Durand C, Freyssenet D ve ark.** A New Role for Sterol Regulatory Element Binding Protein 1 Transcription Factors in the Regulation of Muscle Mass and Muscle Cell Differentiation. *Molecular and Cellular Biology*, **2013**, s. 30(5): 1182-1198.
117. **Li GS, Liu XH, Zhu H, Huang L, Liu YL ve ark.** Skeletal Muscle Insulin Resistance in Hamsters with Diabetes Developed from Obesity is Involved in Abnormal Skeletal Muscle LXR, PPAR and SREBP Expression. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **2016**, s. 11(6): 2259-2269.
118. **Li YM, Chen SH, Yu CH, Zhang Y, Xu GY.** Effect of Acute Alcoholism on Hepatic Enzymes and Oxidation/antioxidation in Rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, **2004**, s. 3(2): 241-244.
119. **Liang G, Yang J, Horton JD, Hammer RE, Goldstein JL ve ark.** Diminished Hepatic Response to Fasting/refeeding and Liver X Receptor Agonists in Mice with Selective Deficiency of Sterol Regulatory Element-binding Protein-1c. *Journal of Biological Chemistry*, **2002**, s. 277(11): 9520-9528.
120. **Lirio LM, Forechi L, Zanardo TC, Batista HM, Meira EF ve ark.** Chronic Fructose Intake Accelerates Non-alcoholic Fatty Liver Disease in the Presence of Essential Hypertension. *Journal of Diabetes and its Complications*, **2016**, s. 30(1): 85-92.
121. **Livak KJ, Schmittgen TD.** Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method. *Methods*, **2001**, s. 25(4): 402-408.
122. **Lopez-Rodriguez G, Osuna SK, Garcia MG, Dieguez TS.** Effects of Dietary High Fructose Corn Syrup on Regulation of Energy Intake and Leptin Gene Expression in Rats. *Revista de Nutrição*, **2015**, s. 28(6), 597-605.
123. **Loviscach M, Rehman N, Carter L, Mudaliar S, Mohadeen P ve ark.** Distribution of Peroxisome Proliferator-activated Receptors (PPARs) in Human Skeletal Muscle and Adipose Tissue: Relation to Insulin Action. *Diabetologia*, **2000**, s. 43(3): 304-311.
124. **Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ.** Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal of biological chemistry*, **1951**, s. 193(1): 265-275.
125. **Lozano I, Van der Werf R, Bietiger W, Seyfritz E, Peronet C ve ark.** High-fructose and High-fat Diet-Induced Disorders in Rats: Impact on Diabetes Risk, Hepatic and Vascular Complications. *Nutrition & Metabolism*, **2016**, s. 13(1): 15.
126. **Luna LG.** Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. *McGraw-Hill Book Co.*, NewYork, **1968**, s. 32.
127. **Lundasen T, Hunt MC, Nilsson LM, Sanyal S, Angelin B ve ark.** PPAR $\alpha$  is a Key Regulator of Hepatic FGF21. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2007**, s. 360(2): 437-440.

128. **Ma L, Robinson LN, Towle HC.** ChREBP Mlx is the Principal Mediator of Glucose-induced Gene Expression in the Liver. *Journal of Biological Chemistry*, **2006**, s. 281(39): 28721-28730.
129. **Ma Z, Deng C, Hu W, Zhou J, Fan, C ve ark.** Liver X Receptors and Their Agonists: Targeting for Cholesterol Homeostasis and cardiovascular diseases. *Curr Issues Mol Biol*, **2017**, s. 22: 41-64.
130. **Maithilikarpagaselvi N, Sridhar MG, Swaminathan RP, Sripradha R, Badhe, B.** Curcumin Inhibits Hyperlipidemia and Hepatic Fat Accumulation in High-fructose-fed Male Wistar Rats. *Pharmaceutical Biology*, **2016**, s. 54(12): 2857-2863.
131. **Malnick SDH, Beergabel M, Knobler H.** Non-alcoholic Fatty Liver: A Common Manifestation of a Metabolic Disorder. *Qjm*, **2003**, s. 96(10): 699-709.
132. **Malone CD, Hannon GJ.** Small RNAs as Guardians of the Genome. *Cell*, **2009**, s. 136(4): 656-668.
133. **Mamikutty N, Thent ZC, Sapri SR, Sahrudin NN, Mohd Yusof, MRve ark.** The Establishment of Metabolic Syndrome Model by Induction of Fructose Drinking Water in Male Wistar Rats. *BioMed Research International*, **2014**, s. 1-8.
134. **Masi LN, Martins AR, Neto JCR, Amaral C LD, Crisma AR ve ark.** Sunflower Oil Supplementation has Proinflammatory Effects and does not Reverse Insulin Resistance in Obesity Induced by High-fat Diet in C57BL/6 Mice. *BioMed Research International*, **2012**, s. 1-9.
135. **Matsusue K, Aibara D, Hayafuchi R, Matsuo K, Takiguchi S ve ark.** Hepatic PPAR $\gamma$  and LXR $\alpha$  Independently Regulate Lipid Accumulation in the Livers of Genetically Obese Mice. *FEBS letters*, **2014**, s. 588(14): 2277-2281.
136. **Mitro N, Mak PA, Vargas L, Godio C, Hampton E ve ark.** The Nuclear Receptor LXR is a Glucose Sensor. *Nature*, **2007**, s. 445(7124): 219-223.
137. **Mock K, Lateef S, Benedito VA, Tou JC. (2017).** High-Fructose Corn Syrup-55 Consumption Alters Hepatic Lipid Metabolism and Promotes Triglyceride Accumulation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **2017**, s. 39: 32-39.
138. **Mohammadi E, Ghaedi K, Esmailie A, Rahgozar S.** Gene Expression Profiling of Liver X Receptor  $\alpha$  and Bcl-2-associated X Protein in Experimental Transection Spinal Cord-injured Rats. *The Journal of Spinal Cord Medicine*, **2013**, s. 36(1): 66-71.
139. **Muoio DM, Way JM, Tanner CJ, Winegar DA, Kliewer SA ve ark.** Peroxisome Proliferator-activated Receptor- $\alpha$  Regulates Fatty Acid Utilization in Primary Human Skeletal Muscle Cells. *Diabetes*, **2002**, s. 51(4): 901-909.
140. **Murase T, Mizuno T, Omachi T, Onizawa K, Komine Y ve ark.** Dietary Diacylglycerol Suppresses High Fat and High Sucrose Diet-induced Body Fat Accumulation in C57BL/6J Mice. *Journal of Lipid Research*, **2001**, s. 42(3): 372-378.
141. **Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, Dikmen N ve ark.** Harper Biyokimya. *Nobel Tip Kitabevleri*, Ankara, **2004**, s. 160-307.
142. **Muruganandan S, Srinivasan K, Gupta S, Gupta PK, Lal J.** Effect of Mangiferin on Hyperglycemia and Atherogenicity in Streptozotocin Diabetic Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **2005**, s. 97(3): 497-501.
143. **Muscat GE, Wagner BL, Hou J, Tangirala RK, Bischoff ED ve ark.** Regulation of Cholesterol Homeostasis and Lipid Metabolism in Skeletal Muscle by Liver X Receptors. *Journal of Biological Chemistry*, **2002**, s. 277(43): 40722-40728.
144. **Musso G, Gambino R, Cassader M.** Cholesterol Metabolism and the Pathogenesis of Non-alcoholic Steatohepatitis. *Progress in Lipid Research*, **2013**, s. 52(1): 175-191.
145. **Nagai Y, Yonemitsu S, Erion DM, Iwasaki T, Stark R ve ark.** The Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  Coactivator-1  $\beta$  in the Pathogenesis of Fructose-induced Insulin Resistance. *Cell Metabolism*, **2009**, s. 9(3): 252-264.
146. **Nakamura MT, Yudell BE, Loor JJ.** Regulation of Energy Metabolism by Long-chain Fatty Acids. *Progress in Lipid Research*, **2014**, s. 53: 124-144.
147. **Nishikata N, Shikata N, Kimura Y, Noguchi Y.** Dietary Lipid-dependent Regulation of de novo Lipogenesis and Lipid Partitioning by Ketogenic Essential Amino Acids in Mice. *Nutrition & diabetes*, **2011**, s. 1(3): 1-12.
148. **Noordeen NA, Khera TK, Sun G, Longbottom ER, Pullen TJ ve ark.** Carbohydrate-responsive Element-binding Protein (ChREBP) is a Negative Regulator of ARNT/HIF-1 $\beta$  Gene Expression in Pancreatic Islet  $\beta$ -cells. *Diabetes*, **2010**, s. 59(1): 153-160.
149. **Novelli ELB, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG ve ark.** Anthropometrical Parameters and Markers of Obesity in Rats. *Laboratory Animals*, **2007**, s. 41(1): 111-119.

150. **Ou Z, Wada T, Gramignoli R, Li S, Strom SC ve ark.** MicroRNA hsa-miR-613 Targets the Human LXR  $\alpha$  Gene and Mediates a Feedback Loop of LXR $\alpha$  Autoregulation. *Molecular Endocrinology*, **2011**, s. 25(4): 584-596.
151. **Pang J, Xi C, Huang X, Cui J, Gong H ve ark.** Effects of Excess Energy Intake on Glucose and Lipid Metabolism in C57BL/6 Mice. *PLoS One*, **2016**, s. 11(1), 1-12.
152. **Peeters A, Baes M.** Role of PPAR $\alpha$  in Hepatic Carbohydrate Metabolism. *PPAR Research*, **2010**, s. 1-12.
153. **Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J, Pinillos MD, Gomez P, Paz-Rojas E ve ark.** A Mediterranean and a High-carbohydrate Diet Improve Glucose Metabolism in Healthy Young Persons. *Diabetologia*, **2001**, s. 44(11): 2038-2043.
154. **Poupeau A, Postic C.** Cross-regulation of Hepatic Glucose Metabolism via ChREBP and Nuclear Receptors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, **2011**, s. 1812(8): 995-1006.
155. **Prabhakar P, Reeta KH, Maulik SK, Dinda AK, Gupta YK.**  $\alpha$ -Amyrin Attenuates High Fructose diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, **2016**, s. 42(1): 23-32.
156. **Qinna NA, Badwan AA. (2015).** Impact of Streptozotocin on Altering Normal Glucose Homeostasis During Insulin Testing in Diabetic Rats Compared to Normoglycemic Rats. *Drug Design, Development and Therapy*, **2015**, s. 9: 2515-2525.
157. **Rao X, Huang X, Zhou Z, Lin X.** An Improvement of the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  Method for Quantitative Real-time Polymerase Chain Reaction Data Analysis. *Biostatistics, Bioinformatics and Biomathematics*, **2013**, s. 3(3): 71-85.
158. **Rebollo de Grado A, Baena Muñoz M, Roglans i Ribas N, Alegret i Jordà M, Laguna Egea JC.** Fructose Induces Synthesis and Reduces Oxidation of Liver Fatty Acids through ChREBP Activation. *Actualidad en Farmacología y Terapéutica*, **2012**, s. 10(4): 289-291.
159. **Roglans N, Vila L, Farré M, Alegret M, Sánchez R M ve ark.** Impairment of Hepatic Stat-3 Activation and Reduction of PPAR $\alpha$  Activity in Fructose-fed Rats. *Hepatology*, **2007**, s. 45(3): 778-788.
160. **Rogue A, Spire C, Brun M, Claude N, Guillouzo A.** Gene Expression Changes Induced by PPAR Gamma Agonists in Animal and Human Liver. *PPAR Research*, **2010**, s. 1: 1-16.
161. **Rojek AM, Skowronski MT, Füchtbauer EM, Füchtbauer AC, Fenton RA ve ark.** Defective Glycerol Metabolism in Aquaporin 9 (AQP9) Knockout Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2007**, s. 104(9): 3609-3614.
162. **Rome S, Lecomte V, Meugnier E, Rieusset J, Debard C ve ark.** Microarray Analyses of SREBP-1a and SREBP-1c Target Genes Identify New Regulatory Pathways in Muscle. *Physiological genomics*, **2008**, s. 34(3): 327-337.
163. **Rui L.** Energy Metabolism in the Liver. *Comprehensive Physiology*. **2014**, s. 4(1): 177-197.
164. **Ryu MH, Cha YS.** The Effects of a High-fat or High-sucrose Diet on Serum Lipid Profiles, Hepatic acyl-CoA Synthetase, Carnitine Palmitoyltransferase-I, and the Acetyl-CoA Carboxylase mRNA Levels in Rats. *BMB Reports*, **2003**, s. 36(3): 312-318.
165. **Sakiyama H, Wynn RM, Lee WR., Fukasawa M, Mizuguchi H ve ark.** Regulation of Nuclear Import/Export of Carbohydrate Response Element-binding Protein (ChREBP) Interaction of an  $\alpha$ -Helix of CHREBP with the 14-3-3 Proteins And Regulation By Phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry*, **2008**, s. 283(36): 24899-24908.
166. **Samuel VT.** Fructose Induced Lipogenesis: From Sugar to Fat to Insulin Resistance. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, **2011**, s. 22(2): 60-65.
167. **Sanders FW, Griffin JL.** De novo Lipogenesis in the Liver in Health and Disease: More than Just a Shunting Yard for Glucose. *Biological Reviews*, **2016**, s. 91(2): 452-468.
168. **Sato S, Jung H, Nakagawa T, Pawlosky R, Takeshima T ve ark.** Metabolite Regulation of Nuclear Localization of Carbohydrate-response Element-binding Protein (ChREBP) Role of AMP as an Allosteric Inhibitor. *Journal of Biological Chemistry*, **2016**, s. 291(20): 10515-10527.
169. **Schmittgen TD, Livak KJ.** Analyzing Real-time PCR Data by the Comparative CT Method. *Nature Protocols*, **2008**, s. 3(6): 1101-1108.
170. **Schulman IG.** Liver X Receptors Link Lipid Metabolism and Inflammation. *FEBS letters*. **2017**, s. 591(19): 1978-1991.

171. **Schultz A, Neil D, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA.** Hepatic Adverse Effects of Fructose Consumption Independent of Overweight/Obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, **2013**, s. 14(11): 21873-21886.
172. **Sefil NK, Sefil F.** Diyet ve Diyabet. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi*, **2013**, s. 4(15): 25-32.
173. **Shimomura I, Matsuda M, Hammer RE, Bashmakov Y, Brown MS ve ark.** Decreased IRS-2 and Increased SREBP-1c Lead to Mixed Insulin Resistance and Sensitivity in Livers of Lipodystrophic and ob/ob Mice. *Molecular Cell*, **2000**, s. 6(1): 77-86.
174. **Skov AR, Toubro S, Rønn B, Holm L, Astrup A.** Randomized Trial on Protein vs Carbohydrate in ad Libitum Fat Reduced Diet for the Treatment of Obesity. *International Journal of Obesity & Related Metabolic Disorders*, **1999**, s. 23(5): 528-536.
175. **Song GY, Ren LP, Chen SC, Wang C, Liu N ve ark.** Similar Changes in Muscle Lipid Metabolism are Induced by Chronic High-fructose Feeding and High-fat Feeding in C57BL/J6 Mice. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **2012**, s. 39(12): 1011-1018.
176. **Soriguer F, Almaraz MC, Ruiz-de-Adana MS, Esteve I, Linare F ve ark.** Incidence of Obesity is Lower in Persons who Consume Olive Oil. *European Journal of Clinical Nutrition*, **2009**, s. 63(11): 1371-1374.
177. **SPSS Inc.** SPSS for Windows. Version 22.0, SPSS Inc. USA, **2013**.
178. **Stanhope KL, Havel PJ.** Endocrine and Metabolic Effects of Consuming Beverages Sweetened with Fructose, Glucose, Sucrose, or High-fructose Corn Syrup. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **2008**, s. 88(6): 1733-1737.
179. **Suisse C.** Research Institute Thought Leadership from Credit Suisse Research and the World's Foremost Experts. *Global Wealth Report*, **2015**.
180. **Swarbrick MM, Stanhope KL, Elliott SS, Graham JL, Krauss RM ve ark.** Consumption of Fructose-Sweetened Beverages for 10 Weeks Increases Postprandial Triacylglycerol and Apolipoprotein-B Concentrations in Overweight and Obese Women. *British Journal of Nutrition*, **2008**, s. 100(5): 947-952.
181. **Szkudelski T.** The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiological Research*, **2001**, s. 50(6): 537-546.
182. **Şenol ŞP, Tunçtan B.** The Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in the Pathogenesis of Insulin Resistance and Septic Shock. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences*, **2015**, s. 5(4): 247-258.
183. **Şentürk H, Canbakan B, Hatemi İ.** Karaciğer Enzim Yüksekliklerine Klinik Yaklaşım. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Gastroenteroloji Klinik Yaklaşım Sempozyum Dizisi, İstanbul*, **2004**, s. 38: 9-13.
184. **Tappy L, Le KA.** Metabolic Effects of Fructose and the Worldwide Increase in Obesity. *Physiological Reviews*, **2010**, s. 90(1): 23-46.
185. **Taşyürek E.** Sıçanlarda Diyetle İndüklenen Obezitede DHEA ve Forskolin Tedavisinin Vücut Ağırlığı, Lipoprotein Lipaz, Serbest Yağ Asitleri, Serbest T3, Serbest T4, ALT, AST, Trigliserid ve İnsülin Rezistansı Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Konya, **2014**.
186. **Tattersall I.** Becoming Modern Homo Sapiens. *Evolution: Education and Outreach*, **2009**, s. 2(4): 584-589.
187. **Thirunavukkarasu V, Nandhini AT, Anuradha CV.** Effect of  $\alpha$ -lipoic Acid on Lipid Profile in Rats Fed a High-fructose Diet. *Journal of Diabetes Research*, **2004**, s. 5(3): 195-200.
188. **Tong Z, Gao Z, Wang F, Zhou J, Zhang Z.** Selection of Reliable Reference Genes for Gene Expression Studies in Peach Using Real-time PCR. *BMC Molecular Biology*, **2009**, s. 10(71): 1-13.
189. **Triplitt CL.** Examining the Mechanisms of Glucose Regulation. *The American Journal of Managed Care*, **2012**, s. 18(1): 4-10.
190. **Trujillo ME, Scherer PE.** Adipose Tissue-derived Factors: Impact on Health and Disease. *Endocrine Reviews*, **2006**, s. 27(7): 762-778.
191. **Tsatsos NG, Towle HC.** Glucose Activation of ChREBP in Hepatocytes Occurs via a Two-step Mechanism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2006**, s. 340(2): 449-456.
192. **Tsintzas K, Jewell K, Kamran M, Laithwaite D, Boonsong T ve ark.** Differential Regulation of Metabolic Genes in Skeletal Muscle during Starvation and Refeeding in Humans. *The Journal of Physiology*, **2006**, s. 575(1): 291-303.

193. **Turabelidze A, Guo S, DiPietro LA.** Importance of Housekeeping Gene Selection for Accurate Reverse Transcription-quantitative Polymerase Chain Reaction in a Wound Healing Model. *Wound Repair and Regeneration*, **2010**, s. 18(5): 460-466.
194. **Turasan E.** Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubunun Sıçanlarda Subkronik Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2014**.
195. **Tzanetakou IP, Doulamis IP, Korou LM, Agrogiannis G, Vlachos IS ve ark.** Water Soluble Vitamin E Administration in Wistar Rats with Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *The Open Cardiovascular Medicine Journal*, **2012**, s. 6: 88-97.
196. **Ufat H, Temizer Ozan PS, Ozan G.** Diyabet Oluşturulan Ratlarda Serum Apelin ve Chemerin Düzeyleri, F.Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg. **2016**, s. 30(3): 233-237.
197. **Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N ve ark.** Accurate Normalization of Real-time Quantitative RT-PCR Data by Geometric Averaging of Multiple Internal Control Genes. *Genome Biology*, **2002**, s. 3(7): 1-12.
198. **Vidal-Alabro A, Méndez-Lucas A, Semakova J, Gómez-Valadés AG, Perales JC.** Liver Glucokinase and Lipid Metabolism. *Dyslipidemia-From Prevention to Treatment, InTech*, **2012**, s. 235-262.
199. **Vijaimohan K, Jainu M, Sabitha KE, Subramaniyam S, Anandhan C.** Beneficial Effects of Alpha Linolenic Acid Rich Flaxseed Oil on Growth Performance and Hepatic Cholesterol Metabolism in High Fat Diet Fed Rats. *Life Sciences*, **2006**, s. 79(5): 448-454.
200. **Vila L, Rebollo A, Adalsteisson GS, Alegret M, Merlos M ve ark.** Reduction of Liver Fructokinase Expression and Improved Hepatic Inflammation and Metabolism in Liquid Fructose-fed Rats after Atorvastatin Treatment. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **2011**, s. 251(1): 32-40.
201. **Wada T, Miyashita Y, Sasaki M, Aruga Y, Nakamura Y ve ark.** Eplerenone Ameliorates the Phenotypes of Metabolic Syndrome with NASH in Liver-specific SREBP-1c Tg Mice Fed High-fat and High-fructose Diet. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **2013**, s. 305(11): 1415-1425.
202. **Wakayama Y, Hirako S, Ogawa T, Jimi T, Shioda S.** Upregulated Expression of AQP 7 in the Skeletal Muscles of Obese ob/ob Mice. *Acta Histochemica et Cytochemica*, **2014**, s. 47(1): 27-33.
203. **Wang C, Lv ZL, Kang YJ, Xiang TX, Wang PL, Jiang Z.** Aquaporin-9 Downregulation Prevents Steatosis in Oleic Acid-induced Non-alcoholic Fatty Liver Disease Cell Models. *International Journal of Molecular Medicine*, **2013**, s. 32(5): 1159-1165.
204. **Wang Y, Viscarra J, Kim SJ, Sul HS.** Transcriptional Regulation of Hepatic Lipogenesis. *Nature Reviews, Molecular Cell Biology*, **2015**, s. 16(11): 678-689.
205. **WHO.** Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. *World Health Organization Technical Report Series*, Switzerland, **2000**, s. 894: 6.
206. **WHO.** Global Report on Diabetes. *World Health Organization*, France, **2016**, s. 1(1): 20-74.
207. **Wilson RD, Islam MS.** Fructose-fed Streptozotocin-injected Rat: an Alternative Model for Type 2 Diabetes. *Pharmacological Reports*, **2012**, s. 64(1): 129-139.
208. **Wong ML, Medrano JF.** Real-time PCR for mRNA Quantitation. *Biotechniques*, **2005**, s. 39(1): 75-88.
209. **Wu P, Inskeep K, Bowker-Kinley MM, Popov KM, Harris RA.** Mechanism Responsible for Inactivation of Skeletal Muscle Pyruvate Dehydrogenase Complex in Starvation and Diabetes. *Diabetes*, **1999**, s. 48(8): 1593-1599.
210. **Xu X, So JS, Park JG, Lee AH.** Transcriptional Control of Hepatic Lipid Metabolism by SREBP and ChREBP. In *Seminars in Liver Disease*, Thieme Medical Publishers, **2013**, s. 33(4): 301-311.
211. **Yang ZH, Miyahara H, Takeo J, Katayama M.** Diet High in Fat and Sucrose Induces Rapid Onset of Obesity-related Metabolic Syndrome Partly through Rapid Response of Genes involved in Lipogenesis, Insulin Signalling and Inflammation in Mice. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, **2012**, s. 4(32): 1-10.
212. **Zarfeshani A, Ngo S, Sheppard AM.** MicroRNA Expression Relating to Dietary-induced Liver Steatosis and NASH. *Journal of Clinical Medicine*, **2015**, s. 4(11): 1938-1950.
213. **Zarghani SS, Soraya H, Zarei L, Alizadeh M.** Comparison of Three Different Diet-induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease Protocols in Rats: A Pilot Study. *Pharmaceutical Sciences*, **2016**, s. 22(1): 9-15.
214. **Zhang DQ, Tong X, VanDommelen K, Gupta N, Stamper K ve ark.** Lipogenic Transcription Factor ChREBP Mediates Fructose-induced Metabolic Adaptations to Prevent Hepatotoxicity. *The Journal of Clinical Investigation*, **2017**, s. 127(7): 2855-2867.

215. **Zhong D, Zhang Y, Zeng YJ, Gao M, Wu GZ ve ark.** MicroRNA-613 Represses Lipogenesis in HepG2 Cells by Downregulating LXR $\alpha$ . *Lipids in Health and Disease*, **2013**, s. 12(32): 1-9.





EKLER

EK-1



T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararları

Sayın Arş.Gör. Hüseyin ÖZKAN  
Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi

**KARAR 2016 / 2 / 8** : Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik AD Öğretim Üyesi Arş. Gör. Hüseyin ÖZKAN'ın yürütücüsü olduğu Doç.Dr. Akın YAKAN (Zootekni AD) ortak çalışmaları “*Yüksek Enerjili Rasyonla Beslenen Ratlarda Lipogenez Yolağındaki Bazı Genlerin Ekspresyon Seviyeleri*” proje önerisi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına oybirliğiyle karar verilmiştir.

Toplantı Tarihi	Toplantı No	Karar Sayısı	Saat
31/03/2016	2016 / 2	08	14:00

SN	BİRİMİ	ADI SOYADI	GÖREVİ	İMZA
1	VETERİNER FAKÜLTESİ	Prof. Dr. M. Enes ALTUĞ	Başkan	
2	VETERİNER FAKÜLTESİ	Doç.Dr. İlker YAVAŞ	Başkan Vekili	
3	VETERİNER FAKÜLTESİ	Prof. Dr. Mehmet YAMAN	Üye	
4	VETERİNER FAKÜLTESİ	Yrd. Doç. Dr. Altuğ KÜÇÜKGÜL	Üye	
5	VETERİNER FAKÜLTESİ	Doç.Dr. Sevinç ATEŞ	Üye	
6	TIP FAKÜLTESİ	Yrd. Doç. Dr.İbrahim KAHRAMAN	Üye	
7	TIP FAKÜLTESİ	Doç. Dr.Vedat URUÇ	Üye	
8	TIP FAKÜLTESİ	Doç.Dr. Ayşe YILDIRIM	Üye	
9	ZİRAAT FAKÜLTESİ	Yrd. Doç. Dr. Aziz GÜL	Üye	
10	FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ	Doç. Dr. Erol ATAY	Üye	
11	KIRIKHAN MYO	Ferhat KALKMAZ	Hukukçu Üye	
12	SERBEST MESLEK-SİVİL TOPLUM KURULUŞU	Kemal BOZKURT	Üye	
13	SERBEST MUHASEBECİ- MALİ MÜŞAVİR- ANTAKYA	Cengiz YILDIZ	Sivil Üye	
14	SORUMLU VETERİNER HEKİM	İrfan Osman HATİPOĞLU	Üye	
15	HADYEK	Hükümet ARDİLİ	Raportör	

## ÖZGEÇMİŞ

Hüseyin ÖZKAN, 1989 yılında Yozgat'ta doğdu. İlköğrenimine Yozgat'ta başlayarak, ilk, orta ve lise öğrenimlerini Mersin'de tamamladı. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2013 yılında mezun oldu. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi kadrosuna atandı.

Halen Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.

