

**T C**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YAĞLI DİYETLE BESLENEN FARELERİN KARACİĞER DOKUSUNDA**  
**MAGNEZYUMUN NİTRİK OKSİT, MALONDİALDEHİT ve GLUTATYON**  
**DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

**GÜLŞAH CESURER**  
**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Ayla ÖZCAN**

**2015-KARS**

## TEZ ONAY SAYFASI

TC  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde **Gülşah CESURER** tarafından hazırlanmış olan “**Yağlı Diyetle Beslenen Farelerin Karaciğer Dokusunda Magnezyumun NO, MDA ve GSH Üzerine Etkisi**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmenliği uyarınca değerlendirilerek **oy birliğiyle** kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21/10/2015

Adı Soyadı:

İmza:

Başkan: Prof. Dr. Ayla ÖZCAN

Üye: Prof. Dr. Necati UTLU

Üye: Prof. Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ali Rıza AKSOY

**TC**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde **Gülşah CESURER** tarafından hazırlanmış olan “**Yağlı Diyetle Beslenen Farelerin Karaciğer Dokusunda Magnezyumun Nitrik Oksit, Malondialdehit ve Glutasyon Düzeylerine Etkisi**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy ..... ile ..... edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: ...../...../.....

Adı Soyadı:

İmza:

Başkan: .....

.....

Üye: .....

.....

Üye: .....

.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../ .../... gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Birçok hastalığa da neden olan obezite genelde iş yoğunluğundan kaynaklanan düzensiz beslenme alışkanlıkları, stres, yaş, cinsiyet, genetik, psikolojik etkiler ve çevresel faktörlerin etkisiyle günümüzde küçük gibi görünen büyük bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Obezite, glukoz ve lipid metabolizması bozuklukları, kardiyovasküler hastalıklar ve oksidatif stresin artışı ile ilişkilidir. Metabolizmanın bozulmasıyla birlikte yağ oranının artışı hormon dengesinin bozulması, antioksidan savunma sistemindeki çeşitli değişiklikler, obezitede oksidatif stresi artıran mekanizmalardır. Antioksidanlar ise, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya reaktif oksijen türlerini (ROT) toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Obezitenin tedavisi için diyet, egzersiz, ilaç tedavileri gibi çeşitli uygulamalar yapılmaktadır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen, sabırla tezimi okuyan usanmadan bana doğruları gösteren, bilgi ve deneyimlerini bize aktarmak için çabalayan, güler yüzlü şekilde bizimle çalışmalara katılan, yol gösteren, saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Ayla ÖZCAN'a, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli kürsü hocalarım Prof. Dr. Şaban MARAŞLI, Prof. Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN ve Doç. Dr. Emine ATAKİŞİ'ye, aldığım eğitim süresince gerek derslerde, gerekse ders dışında deneyimlerinden faydalandığım, sürekli ilgili halde olan değerli hocalarım Yard. Doç. Dr. Metin ÖĞÜN, Yard. Doç. Dr. Oğuz MERHAN ve Arş. Gör. Abdulsamed KÜKÜRT'e, laboratuvar analizleri için kitlerin temininde yardımcı olan değerli hocam Yard. Doç. Dr. Cem ÖZİÇ'e ve eğitimim süresince maddi ve manevi desteklerini gördüğüm fedakâr babama, özellikle bana destek olan kız kardeşim Fatma CESURER'e ve beni sabırla bekleyen erkek kardeşlerim İsmail CESURER ve Fevzi CESURER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Yağlı Diyetle Beslenen Farelerin Karaciğer Dokusunda Magnezyumun Nitrik Oksit, Malondialdehit ve Glutatyon Düzeylerine Etkisi**

Bu çalışmada yağlı diyetle beslenen farelerin karaciğer dokusunda, canlı organizma için birçok faaliyette görev alan magnezyumun nitrik oksit (NO), malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeylerine etkisinin araştırılması amacıyla, 39 adet 2 aylık *Swiss albino* cinsi erkek fare kullanılmıştır. Fareler 4 gruba ayrılarak deneysel periyottan önce Grup I farelerin vücut ağırlıkları  $33.91 \pm 0.79$  g, Grup II farelerin vücut ağırlıkları  $31.67 \pm 0.26$  g, Grup III farelerin vücut ağırlıkları  $37.17 \pm 0.46$  g, Grup IV farelerin vücut ağırlıkları  $35.27 \pm 0.91$  g olarak kaydedildi. Grup I standart pelet yem ve içme suyu ile, Grup II % 31.5 yağ içeren pelet yem ve içme suyu ile, Grup III % 31.5 yağ içeren pelet yem ve 7.5 g/L  $MgSO_4$  içeren su ile, Grup IV standart pelet yem ve 7.5 g/L  $MgSO_4$  içeren su ile 12 hafta süreyle beslenmiştir. Beslenme periyodunun sonunda sırasıyla Grup I  $37.70 \pm 0.68$ , Grup II  $40.39 \pm 0.28$ , Grup III  $39.83 \pm 0.25$  ve Grup IV  $36.01 \pm 1.16$  g olarak kaydedildi. Vücut ağırlıkları tartıldıktan sonra anestezi işlemi gerçekleştirildi. Ötenazi işleminden sonra karaciğer dokularından 0,5g parçalar alındı ve homojenize edildi. Elde edilen süpernatantlarda NO, MDA, GSH ve Mg analizleri yapıldı. Çalışmanın sonunda Grup I, Grup II ve Grup III'ün ilk ve son ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0,01$ ) gözlenirken Grup IV'nin ilk ve son ağırlıkları arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı. Yağlı diyet verilen grubun NO düzeyleri kontrol grubuna göre ( $p < 0,001$ ) anlamlı bulundu. Yağlı diyet ve Mg verilen grubun NO düzeyleri, standart pelet yem ve Mg verilen gruba göre artış göstermesine ( $p < 0,001$ ) rağmen yağlı diyet ve Mg verilen grubun seviyeleri kontrol grubuna yakın seviyelerde görülmüştür. Yağlı diyet verilen grubun Mg düzeyi kontrol grubuna göre ( $p < 0,001$ ), standart pelet yem ve Mg verilen gruba göre de yağlı diyet ve Mg verilen grubun Mg düzeyi düşük ( $p < 0,001$ ) bulunmuştur. Yağlı diyet ile beslenen grup ile yağlı diyet ve Mg ile beslenen grupta MDA değeri kontrol grubuna göre artış ( $p < 0,001$ ) göstermiştir. Standart pelet yem ve Mg verilen grupta MDA değeri kontrol grubuna yakın bulunmuştur ve istatistiksel açıdan anlamlı değildir. Yağlı diyet ile beslenen grup ile yağlı ve Mg ile beslenen grubun GSH düzeyi kontrol grubuna göre düşük ( $p < 0,05$ ) bulunmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı değildir. Standart pelet yem ve Mg verilen grubun GSH düzeyleri kontrol grubuna göre önemli artış ( $p < 0,001$ ) göstermiştir.

Sonuç olarak yağlı diyet MDA ve NO düzeylerinde artışa, GSH düzeylerinde de bir azalmaya neden olmuştur. Yağlı diyete bağlı olarak MDA ve NO düzeylerinin normal seviyelere düşürülmesi bakımından Mg uygulamasının alternatif bir yöntem olarak kullanılabilceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Obezite, GSH, MDA, NO, Mg, Yağlı diyet

**ABSTRACT****The effect of Magnesium on Nitric Oxide, Malondialdehyde and Glutathione in Mice Liver Tissue Fed on Fat-Diet**

In the study which was conducted in order to examine the effect of magnesium serving in many activities for the living organism in mice fed with fat diet on glutathione (GSH), nitric oxide (NO) and malondialdehyde (MDA) levels, 39 2-month *Swiss albino* mice were used. Mice were divided into 4 groups. Before experimental period, respectively body weights of Group I (control), Group II, Group III and Group IV Mouse were registered as  $33.91 \pm 0.79$ ,  $31.67 \pm 0.26$ ,  $37.17 \pm 0.46$  and  $35.27 \pm 0.91$  g. Group I was fed with standart pellet food and drinking water, Group II was fed with the diet containing 31.5 % oil and drinking water, Group III was fed with the diet containing 31.5 % oil and drinking water containing 7.5 g/L magnesium sulphate ( $MgSO_4$ ), Group IV was fed with standart pellet food and drinking water containing 7.5 g/L  $MgSO_4$  for 12 weeks. At the end of feeding period, respectively body weights of Group I (control), Group II, Group III and Group IV Mouse were registered as  $37.70 \pm 0.68$ ,  $40.39 \pm 0.28$ ,  $39.83 \pm 0.25$  and  $36.01 \pm 1.16$  g. The anesthesia operation was performed. After euthanasia operation and 0.5g of the liver tissue pieces were homogenized. The obtained supernatant NO, MDA, GSH and Mg analyzes were performed. At the end of the study, while the difference between the initial and the final weight of Group I, Group II and Group III was significant statistically ( $p < 0.01$ ), the difference between the initial and the final weight of Group IV wasn't significant statistically. Yağlı diyet verilen grubun NO düzeyleri kontrol grubuna göre ( $p < 0.001$ ) anlamlı bulundu. NO levels of the group administered group increased compared to the control group ( $p < 0.001$ ) and NO levels of Mg administered group increased compared to the standard pellet feed and Mg administered group ( $p < 0.001$ ), levels of fat diet and Mg administered group was in levels close to the control group. In the study Mg level of fat diet administered group was lower compared to the control group ( $p < 0.001$ ) while Mg level of fat diet and Mg administered group was lower compared to the standard pellet feed and Mg administered group ( $p < 0.001$ ). In the study, MDA value increased in the group fed with fat diet and in the group fed with fat diet and Mg compared to the control group ( $p < 0.001$ ) MDA value in the standard pellet feed and Mg administered group was close to the control group and was not statistically significant. In the study, although GSH value in the group fed with fat diet and in the group fed with fat diet and Mg was lower than the control group ( $p < 0.05$ ), it was not statistically significant. GSH levels of standart pellet feed and Mg administered group significantly increased compared to the control group ( $p < 0.001$ ).

To conclude, fat diet caused an increase in MDA and NO levels and a decrease in GSH levels. Depending on a fatty diet, it was reached the conclusion that Mg implementation could use as an alternative method in terms of that increasing NO and MDA levels decrease to normal levels.

**Key words :** Obesity, Fat Diet, GSH, MDA, NO, Mg

**İÇİNDEKİLER**

	Sayfa
TEZ ONAY SAYFASI	I
ÖNSÖZ	II
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ	X
RESİMLER DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Obezite	3
2.1.1. Obezite Oluşumunu Etkileyen Faktörler	4
1. Demografik Faktörler	5
2. Genetik Faktörler	5
3. Çevresel Faktörler	5
4. Davranışsal Faktörler	6
2.2. Serbest Radikaller	7
2.3. Oksidatif Stres	9
2.4. Nitrik Oksit	10

2.5. Malondialdehit	12
2.6. Glutasyon	13
2.7. Magnezyum ve Biyokimyasal Etkisi	15
3. MATERYAL ve METOT	16
3.1. Materyal	16
3.2. Metot	17
3.2.1. Nitrik Oksit Tayini	17
3.2.2. Malondialdehit Tayini	21
3.2.3. Glutasyon Tayini	23
3.2.4. Magnezyum Tayini	25
3.2.5. Histopatolojik İnceleme	27
3.2.6. İstatistiksel Analiz	27
4. BULGULAR	28
4.1. Nitrik Oksit Düzeyleri	29
4.2. Malondialdehit Düzeyleri	30
4.3. Glutasyon Düzeyleri	31
4.4. Magnezyum Düzeyleri	32
4.5. Karaciğerde Histopatolojik Bulgular	34
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	38
6. KAYNAKLAR	43
7. EKLER (Etik Kurul)	50



**KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ**

- ROT : Reaktif Oksijen Türleri  
TNF-  $\alpha$  : Tümör Nekroz Alfa  
NO: Nitrik Oksit  
-SH: Sülfidril  
GSH: Glutasyon  
MDA: Malondialdehit  
NADPH: Nikotin Amid Adenin dinükleotit  
-OH: Hidroksil  
Mg: Magnezyum  
GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz  
ROOH:Lipit Hidroperoksit  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen Peroksit  
nNOS: Nöronal Nitrik Oksit  
eNOS: Endotelyal Nitrik Oksit  
iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit  
MgSO<sub>4</sub>: Magnezyum Sülfat  
TBA: Tiyobarbütirik Asit  
TCAA: Trikloroasetik Asit  
LPO: Lipit Peroksidasyonu  
HCl: Hidroklorik Asit  
NEDD: Naftil Etilen Diamin Dihidroklorür  
NaNO<sub>2</sub>: Sodyum Nitrit  
NaNO<sub>3</sub>: Sodyum Nitrat  
NaOH: Sodyum Hidroksit  
ZnSO<sub>4</sub>: Çinko Sülfat  
DTNB: Dinitrobenzoik Asit  
HFD: High Fat Diet  
LI: Liver İndeks  
FFA: Serbest Yağ Asidi  
LDL: Düşük Dansiteli Protein  
VKİ: Vücut Kitle İndeksi

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<b>Şekil 1.</b> Obezite ve Oksidatif Stres	9
<b>Şekil 2.</b> Nitrik Oksit Sentezi	11
<b>Şekil 3.</b> Obezitede Lipit Peroksidasyonu Döngüsü	13

**RESİM DİZİNİ**

- Resim 1.** Kontrol Grubuna Ait Karaciğer Dokusu (Hematoksilen-Eozin x 40) 34
- Resim 2.** Standart Pelet Yem ve Mg'lu Su Verilen Gruba Ait Karaciğer Dokusu  
(Hematoksilen-Eozin x 40) 35
- Resim 3.** Yağlı Diyet ve İçme Suyu Verilen Gruba Ait Karaciğer Dokusu  
(Hematoksilen-Eozin x 40) 36
- Resim 4.** Yağlı Diyet ve Mg'lu Su Verilen Gruba Ait Karaciğer Dokusu  
(Hematoksilen-Eozin x 40) 37

**TABLolar LİSTESİ**

<b>Tablo 1:</b> Oksidan ve Antioksidan Maddeler	7
<b>Tablo 2:</b> Gruplar ve Yem Rasyonları	16
<b>Tablo 3:</b> Nitrat Ölçüm Yöntemi	19
<b>Tablo 4:</b> Nitrit Ölçüm Yöntemi	20
<b>Tablo 5:</b> MDA Ölçüm Yöntemi	22
<b>Tablo 6:</b> GSH Ölçüm Yöntemi	24
<b>Tablo 7:</b> Yağlı Diyetle Beslenen Farelerde NO, Mg, MDA ve GSH Düzeyleri	34

## 1-GİRİŞ ve AMAÇ

Latince “obezus” sözcüğünden türetilmiş olan obezite; başta aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere diyabet, üreme bozuklukları, osteoartrit, respiratuvar ve gastrointestinal sistem bozuklukları ve bazı kanser türleri ile ilişkisi olduğu saptanan dünyada giderek artan bir sağlık problemidir (Yılmaz 1999). Genel olarak bedenin yağ kütesinin yağsız kütleyle oranının aşırı artması sonucu boy uzunluğuna göre vücut ağırlığının istenilen düzeyin üstüne çıkması şeklinde tanımlanan obezite, aşırı yağ depolanmasından kaynaklanmaktadır ve oksidatif stres tarafından etkilenmektedir (Higdon ve Frei 2003, Miller 1996).

Oksidatif stres, oksidan ve anti-oksidan sistemler arasındaki dengenin oksidan sistemler lehine bozulması sonucu lipid peroksidasyonu ve buna bağlı olarak reaktif oksijen türlerinin (ROT) açığa çıkarak organizmada hücrel hasara yol açması şeklinde tanımlanabilir ve birçok hastalıkta kritik öneme sahiptir (Fearon ve Faux 2009). Geniş vücut kütesinden kaynaklanan basınç nedeniyle ortaya çıkan progresif ve kümülatif hücre hasarı tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) başta olmak üzere çeşitli sitokinlerin salınımına yol açar ve bu durum dokularda ROT açığa çıkmasına neden olabilir (Khan ve ark. 2002). Başka olası mekanizmalardan birisi de diyetle antioksidan kapasiteyi aşacak miktarda serbest yağ asidi alımı lipid peroksidasyonuna yol açarak oksidatif stresi uyarabilir (Khan ve ark. 2006). Geçmişte sadece enerji ve yağda çözünen vitaminler için depo görevi gördüğü düşünülen yağ dokusunun günümüzde parakrin, otokrin ve hatta endokrin özelliklerinin olduğu ileri sürülmektedir (Galic ve ark. 2010, Kershaw ve Flier 2004). Adipositler ve çevrelerindeki bağ dokusundan salınan adipokin veya adipositokin (leptin-adiponektin) olarak isimlendirilen moleküllerin vücutta kronik inflamasyona ve oksidatif strese yol açacak sinyalleri uyardığı kaydedilmiştir (Galic ve ark. 2010, Higdon ve Frei 2003, Kershaw ve Flier 2004, Guerre-Millo 2004, Higdon ve Frei 2003, Matsubara ve ark. 2002). Leptin, Ob geni tarafından kodlanan ve vücutta hipotalamus üzerinden termogenez ve beslenmeyi düzenleyen bir hormon olup, obez kişilerde yağlanma derecesi ile doğru orantılı olarak yüksek seviyede salınım özelliği

göstermektedir. Leptinin immün hücre aktivasyonuna yol açarak inflamatuvar sitokin salınımını uyardığı bildirilmiştir (Matsubara ve ark. 2002).

Nitrik oksit (NO) LDL oksidasyonu üzerine peroksinitrit aracılığıyla prooksidan veya ROT'nin şelasyonu yolu ile antioksidan etkisi olup, bu etki ortamın pH'ı ve ROT konsantrasyonu gibi çevresel şartlara göre değişmektedir (Cristol ve ark. 1995, Elizalde ve ark. 2000). Obezitenin oksidatif stresi uyardığı, oksidatif stresin de obeziteyi etkileyerek yağ dokusuyla ilişkili olduğu belirlenmiştir. Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan en sitotoksik ürünler, aldehitlerdir. Bu ürünlerden biri olan malondialdehit (MDA), lipit peroksidasyonun enzimatik olmayan oksidatif parçalanma ürünüdür. MDA hücre zarından kolayca geçebildiği için hücre içindeki yapıları olumsuz etkilemekte ve deformasyona neden olmaktadır. Yüksek yağlı diyetin obezitenin yanı sıra karaciğer yağlanmasına da neden olduğu bildirilmiştir (Altunkaynak 2005). Önemli bir indirgeyici ajan ve antioksidan olan glutatyon (GSH) hücrenin oksido-redüksiyon dengesini sürdürüp hücreleri endojen ve ekzojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır (Olszanecka-Glinianowicz ve ark. 2004, Cummings ve ark. 2001). GSH askorbik asit metabolizmasını, hücreler arası iletişimin sürdürülmesini sağlayan ve genel olarak proteinlerin sülfidril (-SH) gruplarının okside olmasını ve çapraz bağlanmasını engelleyen diğer birçok metabolik süreçte yer almaktadır. Ayrıca hücre içi bakır transportunda da işlevi olan GSH bakır iyonları ile şelatlar oluşturur ve bunların serbest radikal oluşturma kapasitelerini azaltır. GSH protein katlanmasında ve insülin gibi disülfid bağları taşıyan proteinlerin yıkılmasında da rol alır (Halliwell ve Gutteridge, 2001).

Bu çalışmada canlılar üzerinde çok sayıda olumlu etkileri olan, eksikliğinde ise çeşitli hastalıklara zemin hazırlayan magnezyumun yağlı diyetle beslenmiş farelerde NO, MDA ve GSH düzeylerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.Obezite

Önemli bir halk sağlığı sorunu olan ve dünya ekonomisi üzerinde ciddi bir risk oluşturan obezitenin yaygınlığı, gelişmiş ülkelere benzer şekilde az gelişmekte olan ülkelerde de artmaktadır. Obezite vücut yağ oranının artması, davranış, endokrin ve metabolik değişikliklerle karakterize, karmaşık, çok etkenli bir hastalıktır (Björntorp 2001, World Health Organization 2000).

Obezite, glukoz ve lipid metabolizması bozuklukları, kardiyovasküler hastalıklar ve oksidatif stresin artışı ile ilişkilidir. Obezitede yağ asidi seviyesi yüksektir, insülin direnci görülür ve karbonhidrat metabolizmasının etkinliği azalmıştır (Özata 2003). Karbonhidrat alımı hızlı insülin salgılanmasını uyarır, kan şekeri hızla düşer ve kandan dokulara geçen karbonhidrat yağa dönüşür. Kan şekerinin hızla düşmesi acıkmaya ve tekrar beslenmeye neden olduğundan giderek insülin direncine ve obeziteye yol açar (Wilborn ve ark. 2005). Karbonhidrattan fakir, yağdan zengin diyet yavaş insülin salınımına neden olmakta, kan şekerinde hızlı düşüş olmaması nedeniyle acıkmayı geciktirmekte ve fazla besin alınmasını önlemektedir. Bundan hareketle yağ ve proteinlerin serbest bırakıldığı ve karbonhidrat kısıtlamasının yapıldığı diyetler uygulanmaktadır (Wilborn ve ark. 2005). Yağ dokusu oldukça aktif bir metabolik ve endokrin organ görevine sahiptir. Adipokinler ise yağ dokusundan salgılanan ve önemli endokrin göreve sahip moleküllerdir. Obezitede yağ dokusu miktarının artması ile adipokinlerin (leptin, adiponektin, resistin) seviyeleri değişmektedir. Adiponektin ve resistin, insülin direnci ile ilişkili adipokinlerdir. Leptin, hipotalamusta iştah merkezinde bulunan reseptörüne bağlanıp, iştahı azaltarak metabolik etki göstermekte ve obeziteyi engelleyici olarak görev almaktadır (Finucane ve ark. 2009).

Metabolik reaksiyonlar sonucunda, yüksek derecede reaktif olan serbest oksijen radikalleri hücrelerde zararlı etkiler meydana getirirler. Her hücre için intrinsik

oksidasyon ve antioksidanlar arasındaki dengenin fizyolojik sınırlarda tutulması organ ve dokular için önemlidir.

Oksidatif strese bağı olarak lipidler, proteinler, enzimler, karbonhidratlar ve DNA zarar görmekte, membranlardaki hasarın neticesinde DNA zincirlerinde rastgele kırılmalar ve bağlanmalar meydana gelmektedir. Enzim ve yapısal proteinlerin zarar görmesi hücrenin ölmesiyle sonlanabileceği gibi bu olgular obezite, kanser, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar ile diyabet ve otoimmün bozuklukların gelişiminde moleküler temeli oluşturmaktadır (Cemeli ve ark. 2009). Bazı nörodejeneratif hastalıklarda önemli oranda kan-beyin bariyerini aşabilen antioksidanlara ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Cemeli ve ark. 2009, Kusano ve Ferrari 2008). Oksidatif stresin mitokondriyal süreçte glukoz aracılı insülin sekresyonunu etkilediği görülmüştür (Evans ve ark. 2003). Mitokondriyal ROS'taki artış ile oluşan proksimal bozukluğa karşı antioksidanlar; vücudun savunma sisteminde görev alır. Savunma sistemi farklı antioksidan bileşiklerden oluşmakta ve bu bileşiklerin antioksidan kapasiteleri vücutta sentezlenen serbest radikaller ve gıdalarla alınan antioksidanlar arasındaki dengeye göre değişmektedir. Özellikle meyve ve sebzeler çok iyi antioksidanlardır. Dokulardaki patolojik koşullar altında veya normal metabolizma sırasında oluşan serbest radikallerin zararlı etkileri, antioksidanlar tarafından kontrol altında tutulmaktadır.

### **2.1.1. Obezite Oluşumunu Etkileyen Faktörler**

Gereğinden fazla besin alımı insan sağlığını tehdit eden obeziteyi ortaya çıkarmaktadır. Tüm dünyada özellikle çocukluk çağı obezitesindeki artışta genetik yapıdaki değişikliklerin yanı sıra çevresel faktörlerinde olduğu kabul edilmektedir (Peker ve ark, 2000). Obeziteye neden olan faktörler aşağıda verilmiştir.



## **1-Demografik Faktörler**

**a)Yaş:** Her yaşta görülebilen obezite, 50-60 yaşlarına kadar yaşa bağlı artış göstermektedir (Cohen ve Vanhoutte 1995). Şişmanlığın çocukluk hatta süt çocukluğu devresinden itibaren başladığı ileri sürülmektedir (Kershaw ve Flier 2004). Yaş ilerledikçe azalan fiziksel aktivite nedeniyle enerji ihtiyacı da azalmaktadır. Vücut ağırlığının artması ile yaş arasında pozitif bir ilişki vardır (Kershaw ve Flier 2004).

**b)Cinsiyet:** Her vücut ağırlığı birimi için kadınlar erkeklerden daha fazla yağ içermektedir. Bunun gebelik ve doğumlarla ilgili olabileceği gibi östrojenin yağ dokusunu artırıcı etkisinden de kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Cohen ve Vanhoutte 1995, Kershaw ve Flier 2004).

## **2-Genetik Faktörler**

Yapılan çalışmalar, obezitenin genetik faktörlerden etkilendiğini göstermektedir (La Du 1992). Ancak kalıtımın etkisini aile içi ortam faktöründen arındırmak güçtür (Durrington ve ark. 2001). Günümüzde obezitenin, genetik yatkınlığı olan kişilerde çevresel faktörlerin etkisi ile ortaya çıktığı kabul edilmektedir.

## **3-Çevresel Faktörler**

Çocukluk çağında obezite gelişiminde beslenme tarzı, öğün sayısı, günlük aktivite şekli etkili olurken, okul çağı ve adolesan dönemde bireyin gününün büyük bir kısmını geçirdiği eğitim merkezindeki kantin ve yemekhanelerde sunulan besinlerin de obezite oluşumuna katkı sağladığı düşünülmektedir (Kershaw ve Flier 2004).

#### 4-Davranışsal Faktörler

**a)Diyet ve yeme alışkanlıkları:** Yanlış ve dengesiz beslenme alışkanlıkları sonucu ortaya çıkan sorunların başında gelen obezitede en önemli faktör hızlı ve fazla yeme alışkanlığıdır. Bugün, toplumların beslenmesinde yağ, şeker ve tuzdan zengin, posadan fakir bir diyetin yer aldığı görülmektedir. Esas problemin, diyetin yağ ve karbonhidrat kısmındaki dengesizlikten kaynaklandığı düşünülmektedir (Cohen ve Vanhoutte 1995). Aşırı kilolu çocukların fazla enerjiyi diyetten aldıkları belirtilmektedir (Babaoğlu ve Hatun 2002 ).

**b)Fiziksel aktivite:** Fiziksel aktivite ile enerji harcaması arasındaki etkileşim şişmanlığın oluşmasında önemli rol oynar (Kershaw ve Flier 2004). Düşük düzeyde fiziksel aktivitenin obezitenin nedeni olmaktan çok sonucu olduğu da düşünülebilir. Fiziksel olarak inaktif bir yaşam sürdürenler, genellikle aktif kişilere göre daha obezdir. Hareketsizlik, obezite nedeni olarak gözlenmekte, obezite ise hareket eksikliğine yol açarak kısır bir döngü oluşturmaktadır (Cohen ve Vanhoutte 1995).

**c)İntrauterin etkiler:** İntrauterin dönemdeki maternal faktörlerin, postnatal obezitede etkili olduğu bugün bilinmektedir. Örneğin, İkinci Dünya Savaşı sırasında gebe olan ve gebeliğinin ilk iki trimestrinde ağır açlık yaşayan gebelerin doğan çocuklarında, 8 yaşında iken obezite sıklığı iki kat fazla bulunmuştur. Düşük doğum tartısının erişkin yaşlarda abdominal yağlanmaya neden olduğu da gösterilmiştir. Diyabetik annelerin çocuklarında (sekiz yaşlarında) obezite oranı yüksek bulunmuştur (Durrington ve ark. 2001).

**d)Psikolojik etkiler:** Psikolojik sorunlara tepki olarak aşırı iştahsızlık görülebileceği gibi, bazılarında bu tepki fazla yeme şeklinde ortaya çıkar. Anne, baba ve çocuk arasındaki ilişkiler, ev ortamındaki problemler, arkadaş grupları tarafından kabul edilmeme, derslerdeki başarısızlıklar bireyin ruhsal yapısını etkileyerek beslenme bozukluklarına neden olmaktadır (La Du 1992). Obez çocuklarda özellikle puberte döneminde arkadaş edinememe, grup faaliyetlerine katılmama gibi ortaya çıkan psikolojik bozukluklar çocuğun obezite derecesini arttırmaktadır. Nadir olarak obezite, psikiyatrik bir hastalığa eşlik edebilir (Durrington ve ark. 2001).

## 2.2.Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktiflik kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır. Oksidan ve antioksidan maddelerin bir kısmı aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 1) (Diplock 1998).

**Tablo 1.** Oksidan ve Antioksidan Maddeler

Oksidan	Antioksidan
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sigara dumanı</li> <li>• Egzersiz</li> <li>• Çevre kirleticiler</li> <li>• Ateşli hastalıklar</li> <li>• Radyasyon</li> <li>• Çoklu doymamış yağ asitleri ile zengin bir diyet</li> <li>• İskemi</li> <li>• Karsinojen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Süperoksit dismutaz (SOD)</li> <li>• Katalaz (CAT)</li> <li>• Glutasyon peroksidaz (GSHPx)</li> <li>• Glutasyon (GSH)</li> <li>• Ubikinon</li> <li>• Selenyum (Se)</li> <li>• Ürik asit</li> <li>• E vitamini</li> <li>• C vitamini</li> <li>• <math>\beta</math> karoten ve diğer karotenoidler</li> </ul>

Serbest radikaller organizmada metabolik olaylar sırasında oluşabildiği gibi radyasyon, ilaçlar ve kimyasal maddeler gibi dış etkenler nedeniyle de oluşur. Büyük çoğunluğu oksijen ve azot kaynaklı olan bu radikallerin organizmada karbon ve kükürt kaynaklı olanları da vardır. Serbest radikaller organizmada oksidaz sistemi, sitoplazmik ksantin oksidaz, hücre membranına bağlı NADPH oksidaz ve lipooksijenazlar gibi enzimlerin katalize ettiği reaksiyonlar sırasında oluşur (Akkuş, 1995). Organizmanın oksijen ihtiyacının artmasıyla mitokondriyal elektron transport zincirindeki ortaklanmamış elektron çiftlerinin artışına bağlı olarak ROT meydana

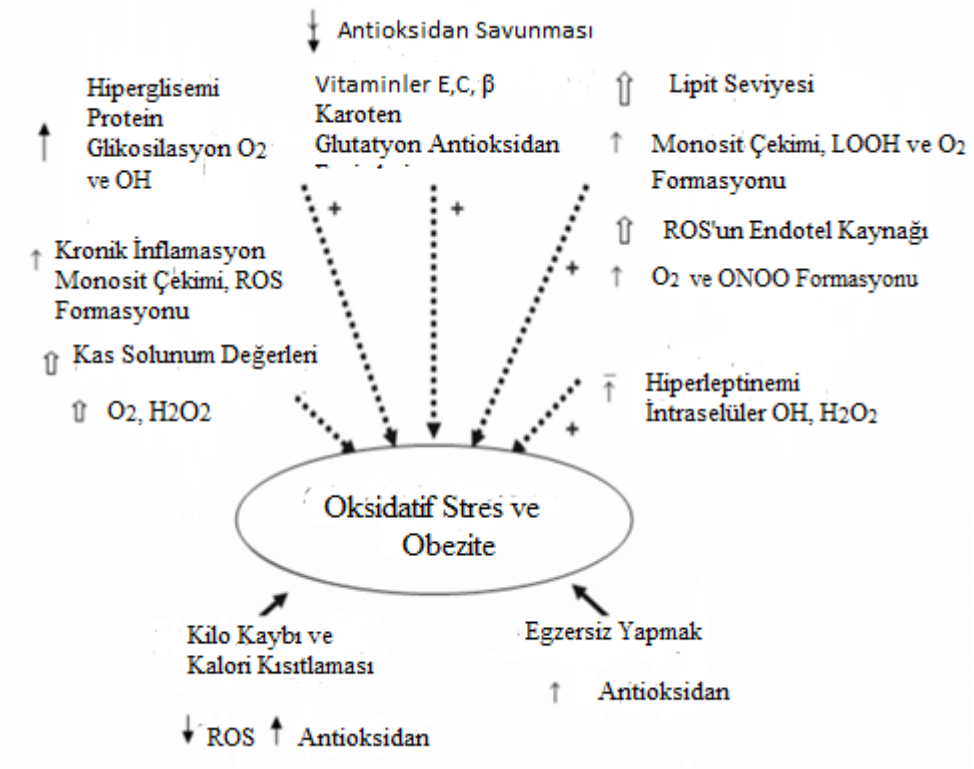
gelir. Bu radikallerin başlıcaları; singlet oksijen, süperoksit anyonu, hidroksi, hipoklorit, hidroksil, hidrojen peroksit, peroksi ve alkoksi radikalleridir.

Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi sonucu meydana gelen serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olup, organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler (Haliwell 1991 ).  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Mn}^{+3}$ , ve  $\text{Mo}^{+3}$  gibi geçiş metalleri ortaklanmamış elektronlara sahip olduğundan serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Fe iyonları, hidroperoksitlerin zararlı hidroksi radikaline dönüştüğü Fenton-tip reaksiyonları da katalizlemektedir. Hidroksi radikali ise oldukça reaktif bir tür olup, hızlı bir şekilde lipid radikallerini oluşturarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını başlatmaktadır (Meydani 2001). Özellikle yüksek oksijen kullanımı nedeniyle oksidatif strese karşı zayıf olan beyin, aynı zamanda yüksek düzeylerde Fe ve diğer divalent katyonları içermekte ve oluşan Fenton-tip reaksiyonlar ROT üreterek nöronlara zarar vermektedir. Nispeten düşük antioksidan savunmasına sahip olan beyin dokusu aynı zamanda oksidatif zararlara karşı dokuyu zayıflatan çoklu doymamış yağ asitlerini de yüksek düzeyde içermektedir (McConway ve ark. 2000).

Metabolizmanın bozulmasıyla birlikte yağ oranının artışı, hormon dengesinin bozulması, antioksidan savunma sistemindeki çeşitli değişiklikler gibi nedenler obezitede oksidatif stresi artıran mekanizmalardır. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya ROT'ni toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. ROT'nin zararlarına karşılık vücuttaki farklı doğal savunma sistemleri serbest radikalleri kontrol altında tutmaktadır. Bu sistemler farklı hücrelerde ve farklı serbest radikaller üzerinde rol oynadıkları için birbirlerini tamamlayıcı niteliktedirler. Sistemdeki dengenin bozulması durumunda organizmanın yapı elemanları olan protein, lipit, nükleik asitler ve enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açar (Haliwell 1991).

### 2.3.Oksidatif Stres

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (Altan ve ark. 2006).



**Şekil 1.** Obezite ve Oksidatif Stres (<http://www.nature.com./ijo/journal>)

Serbest oksijen radikallerinin ve lipit peroksidasyonun, birçok hastalığın patogeneğinde rol aldığı bilinmektedir. Oksijen radikallerinin kimyasal reaktiviteleri değişmekle birlikte en reaktif olanlarından bir tanesi hidroksil radikalidir (OH<sup>-</sup>).

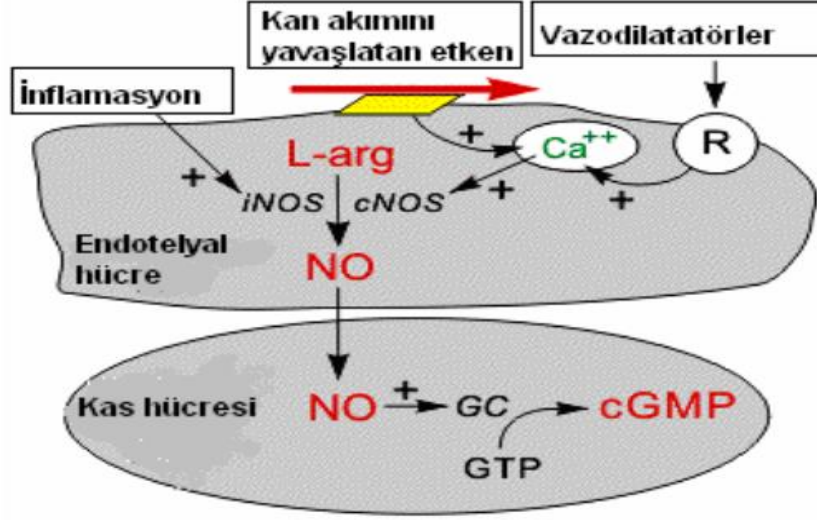
Hemen her molekülle *in vivo* hızlı bir şekilde reaksiyona girer ve serbest radikal üretimine neden olur. Serbest radikaller'in bazı durumlarda antioksidan sistemle dengesi bozulur ve oksidatif stres denilen durum ortaya çıkar (Daniels ve ark. 2005).

Magnezyum (Mg) eksikliği de oksidatif stresi etkileyen sebepler arasındadır. Hem Mg eksikliği hem de oksidatif stres, yaşlanmada ve yaşla ilgili hastalıklarda rol oynar. Bu iki faktör arasındaki bağlantı insanlarda çok açık olmamasına rağmen deney hayvanlarında Mg eksikliğinin oksidatif stresi arttırdığı gösterilmiştir (Manuel ve ark. 2000).Yapılan bir araştırmada (Kharb ve Singh 2000), Mg eksikliğinin GSH ve vitamin E seviyelerinde düşme MDA seviyelerinde artışa yol açtığı ve antioksidanların Mg eksikliğinin prooksidan etkilerine karşı rolü olabileceği ortaya konmuştur.

#### **2.4.Nitrik Oksit**

Nitrik Oksit (NO) suda ve yağda çözünebilen, yarılanma ömrü 30 saniye olan ve kolaylıkla nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) ve nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) okside olabilen renksiz ve stabil bir gazdır. Memelilerde NO'nun varlığı ilk kez 1916 yılında gösterilmiş, 1985'te aktive olmuş makrofajların NO saldığı bulunmuştur. Sonrasında NO sentezi için L-arginin öncü madde olduğu ve NO sentezinin inhibisyonu için L-arginin bazlı hem analogların kullanılabileceği gösterilmiştir (Davies ve ark. 1995).

Düşük konsantrasyondaki NO,  $\text{O}_2$ 'ye göre hemoglobine 3000 kat daha affiniteyle bağlanır. Hemoglobin oksijen formunda iken, NO'yu kısa sürede  $\text{NO}_3^-$  oksitler ve dolaşımdaki oksihemoglobin NO için iyi bir inhibitördür. NO, sinir sisteminde fizyolojik ve patolojik rolü olan ve nöral morfogenezde sinapsların şekillenmesinde rol oynayan, nörotransmitter salınımını ve gen ekspresyonunu düzenleyen biyolojik bir moleküldür (Türköz ve Özerol, 1997).



**Şekil 2.** Nitrik Oksit Sentezi (Özcan ve Erdem, 2013)

NO ile hücre içi guanilat siklaz aktive olur ve Guanozin trifosfat (GTP)'dan ikincil haberci olarak adlandırılan siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşur. cGMP de kas gevşemesi, sinapstan uyarı geçişi gibi hücre içi süreçleri düzenleyerek guanilat siklaz aktivitesini etkileyerek damar dilatasyonu, sinirlerden uyarı geçişi gibi fonksiyonları gerçekleştirir. Merkezi sinir sisteminde hafıza oluşumu, denge, uyarı geçişi, koku alma gibi birçok fonksiyonu desteklerken, periferik sinir sisteminde nonadrenerjik ve nonkolinerjik sinirleri etkileyerek vazodilatasyon, solunum, gastrointestinal fonksiyonların düzenlenmesine katkıda bulunur (Şekil 2) (Özcan ve Erdem 2013). NO sentezi uzun süreli devam ederse karaciğer hasarına, inflamasyona hatta tümör gelişimine neden olabilir (Atakişi ve ark. 2013).

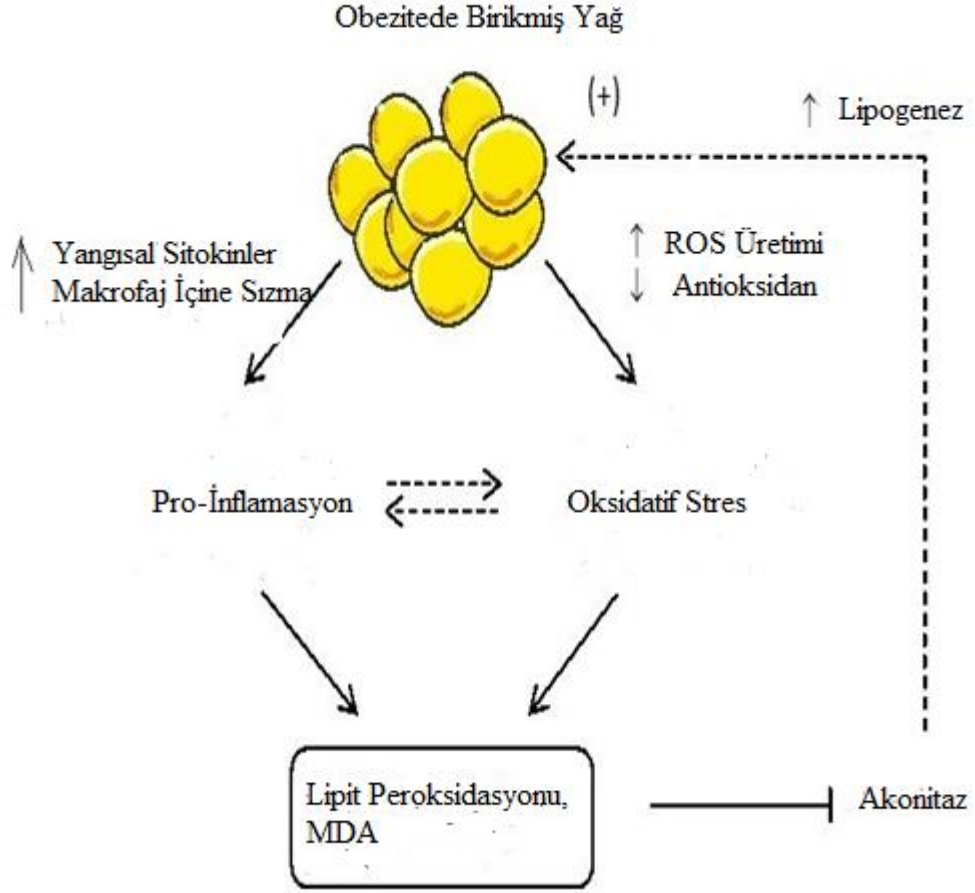
NO çok önemli biyolojik fonksiyonları yerine getirmek için üretilen nitrojen kaynaklı bir radikaldir. Paylaşılmamış elektron nitrojen atomuna aitse de bu elektronun hem nitrojen hemde oksijen atomunda yer almaması nedeniyle tam radikal özelliği taşımaz. Organizmada NO sentezini sağlayan mekanizmalar son derece kısıtlıdır. Organizmaya giren nitro bileşiklerinin metabolize edilmesi sonucu oluşan NO. bir tarafa bırakılacak olursa endojen NO. oluşturan tek kaynak nitrik oksit sentaz (NOS) enzimidir. Bu enzim nöronal (nNOS), endotelyal (eNOS) ve indüklenebilir (iNOS) olmak üzere 3 izoformda bulunur (Moshage, 1997).

Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar etkileriyle akut ve kronik yangıda önemli bir role sahip olup, peroksinitrit oluşumu ile oksidan etki gösterir. Bu oksidan özelliğinden dolayı bakterilere karşı sitotoksiktir ve savunma sisteminde önemli bir yere sahiptir. Yapılan çalışmalar NO'nun hem pro-oksidan hem de anti-oksidan mekanizmalarda rol oynayacağını göstermiştir. Antioksidan özelliğini serbest radikallerle etkileşerek gösterir (Güray ve ark. 1997). NO'nun iştahın düzenlenmesinde rolü olduğu düşünülmektedir. Çünkü NO sentezinin santral yoldan bloke edilmesi besin alımını azaltırken L-arginin gibi NO donörlerinin verilmesi bazı durumlarda besin alımını arttırmaktadır (Moncada ve ark. 1991).

## **2.5.Malondialdehit**

Lipit peroksidasyonu; fosfolipit, glikolipit, gliserid ve steroidlerin yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidan maddeler tarafından alkol, aldehit, hidroksi asit, etan ve pentan gibi ürünlere yıkılmasını sağlayan zincir reaksiyonu olmasından dolayı, oksidatif stres ile birlikte yağ dokusunu etkileyerek, obezite ve metabolik sendromla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Daniels ve ark. 2005). Uzun zincirli doymamış yağ asitleri birden çok çift bağ içerir ve metilen grupları bulundurlar. Metilen grupları oksidan maddelere karşı yüksek reaktiviteye sahip olup, uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile ilk ürün olarak peroksil radikal oluştururlar. Serbest radikaller birçok moleküllerle reaksiyona girerler ve iki radikal ajan bir araya gelirse elektronlarını paylaşarak kovalent bağ oluştururlar.





**Şekil 3.** Obezitede Lipit Peroksidasyonu Döngüsü (Nicolas ve ark. 2012)

Lipit peroksidasyonu sonucunda oluşan MDA, kanda oksidatif stres parametresi olarak kullanılmakta, plazmada kolaylıkla çözünebilmesinden dolayı idrarda da görülmektedir (Akkuş, 1995). MDA'nın hücre membranlarının geçirgenliğini arttırdığı, membranların iyon alışverişine etki ederek hücre içi iyon dengesini bozduğu, enzim aktivitelerinin bozulmasına, DNA'nın yapısında kırılmalara ve baz değişimlerine neden olduğu gösterilmiştir (Şekil 3) (Rio ve ark. 2005).

## 2.6. Glutasyon

Glutasyon, glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan, intraselüler konsantrasyonu fazla olan önemli bir indirgeyici ve antioksidan olup, hücrede oksido-redüksiyon dengesinin sürdürülmesinde görevlidir. Glutasyon enzimatik antioksidanların fonksiyonlarında

en önemli substrattır (Atakişi ve Özcan, 2002). Aynı zamanda hücrelerin endojen ve ekzojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korunmasında görev alarak organizmayı oksidan ajanlara karşı koruyan bir tripeptittir (Dickinson ve Forman, 2002).

GSH, glutatyon peroksidazın ve dehidroaskorbatın ön maddesidir ve glutatyon redüktaz tarafından katalizlenen reaksiyon ürünüdür. Glutatyon peroksidaz (GPx), lipid hidroperoksitleri (ROOH) veya hidrojen peroksidi ( $H_2O_2$ ) indirgeyerek serbest radikal oluşumunu azaltır (Özcan ve ark. 2007). Eritrositlerde GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidan olup, fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. GSH reaktif oksijen metabolitlerinin ve reaktif elektrofilik bileşenlerin detoksifikasyonunda anahtar rol oynar. GSH serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Çaylak ve ark. 2011).

Hücre içi bakır transportunda da işlevi olan GSH, bakır iyonları ile şelatlar oluşturur ve bunların serbest radikal oluşturma kapasitelerini azaltır. GSH koruyucu bir ajan olarak lökoeritrin sentezinde yer alan enzimler ve glioksilazları da içeren farklı metabolik yollarda çalışan bazı enzimler için yardımcı rol oynar. GSH protein katlanmasında ve insülin gibi disülfid bağları taşıyan proteinlerin yıkılmasında da rol alırken biyolojik membranları da lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır (Arrick ve Nathan 1984). Capel ve Dorrel (1994), ob/ob farelerde GSH, glutatyon redüktaz ve GSH-Px'nin düşük olduğunu, Prohaska ve ark. da (1988), ob/ob farelerin hepatik GSH-Px aktivitesinin kontrol grubuna göre %70, bakır-çinko SOD aktivitesinin ise %30 daha düşük olduğunu göstermiştir.

GSH, DNA sentezinde ve hasarlı DNA parçalarının onarılmasında, metabolik fonksiyonların yerine getirilmesinde, detoksifikasyonda ve serbest radikallerin olası hasarlarının önlenmesinde görev alır (Chavan ve ark. 2005).

## 2.7.Magnezyum ve Biyokimyasal Etkisi

Vücutta bol miktarda bulunan bir mineral olan Mg, besinlerin yanısıra besin takviyesi olarak ayrıca antasitler ve laksatifler gibi bazı ilaçlarla da alınmaktadır. Mg protein sentezi, kas ve sinir sistemi, kan şekeri kontrolü ve kan basıncı düzenlenmesi gibi vücutta çeşitli biyokimyasal reaksiyonları düzenleyen bir kofaktördür (Ross ve Caballero 2012).

Bir erişkinde ortalama 24 g kadar bulunan Mg'un % 1'inden azı plazmada (0.2-0.3 g), % 50'den biraz fazlası kemikte geri kalanı intrasellüler alandadır. Plazmada bu kadar az bulunması, Mg'un plazma miktarının, total vücut Mg depolarını gösteren bir indeks olarak kullanılmasını kısıtlamaktadır. Mg eksikliği olan hastalarda, total Mg seviyeleri azalmasına rağmen plazma Mg seviyeleri normal olabilir (Elin 1987).

Mg enerji üretimi, oksidatif fosforilasyon, glikoliz, DNA, RNA ve GSH sentezi için gereklidir ve kemiğin yapısal gelişimine katkıda bulunmaktadır. Ayrıca sinir uyarılarının iletimi, kas kasılması ve normal kalp ritmi için önemli bir süreç olan hücre zarından kalsiyum ve potasyum iyonlarının aktif transportunda da rol oynamaktadır (Ross ve Caballero 2012).Mg, nöromusküler ve kardiyovasküler sistem gibi sistemlerde, ara metabolizma, nükleik asit ve protein sentezleri için gereklidir (Elin 2004).

Obezite glukoz intoleransı, kardiyovasküler hastalıklar, dislipidemi ve insülin direnci için yüksek bir risk teşkil etmektedir. Obez bireylerde yukarıda bahsedilen hastalıkların sebeplerinden birinin Mg eksikliği olduğu düşünülmektedir. Huerta ve ark. (2005) ve Song ve ark. (2007), sağlıklı çocuklarda ve yetişkinlerde vücut kitle indeksi ve serum Mg arasında negatif bir korelasyon bulmuştur. Obez bireylerde serum Mg düzeyini düşük olmasının olası nedenlerinden biri de diyetle alınan Mg'un düşük olmasıdır. Obez çocuklarda Mg alımının zayıf çocuklara göre daha düşük olduğu kaydedilmiştir (Jose ve ark 2011). Yakıncı ve ark. (1997) da çocukluk yaş grubu obez çocuklarda yaptıkları çalışmada serum Mg düzeyini obez gruplarda kontrol grubuna göre düşük saptamışlardır.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada Atatürk Üniversitesi Deneysel Hayvan Laboratuvarından temin edilen ve Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurul'unca kullanılması onaylanan, vücut ağırlıkları  $34.36 \pm 4$  gram olan 39 adet *Swiss albino* cinsi erkek fare materyal olarak kullanıldı. Kafkas Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma, Barındırma ve Uygulama Merkezine getirilerek 15 gün boyunca adaptasyona alındı. Çalışma süresince fareler, diüurnal ışık şartlarında (12 saat sürekli aydınlık, 12 saat sürekli karanlık), % 40 nem oranı ve  $22^{\circ}$  C sıcaklık bulunan bir ortamda tutuldu. Bu farelerden rastgele seçilerek 4 grup oluşturuldu.

**Grup I (Kontrol):** Standart pelet yem ve içme suyu *ad libitum* olarak verildi (n=10).

**Grup II:** Yağlı diyet (% 31.5 hayvansal yağ içeren diyet) ve içme suyu *ad libitum* olarak verildi (n=10).

**Grup III:** Yağlı diyet (% 31.5 hayvansal yağ içeren diyet) ve içme sularına 7.5 g/L magnezyum sülfat ( $MgSO_4$ ) katılarak *ad libitum* olarak verildi (n=10).

**Grup IV:** Standart pelet yem ve içme sularına 7.5 g/L  $MgSO_4$  katılarak *ad libitum* olarak verildi (n=9).

Gruplara göre verilen yem rasyonları Tablo 2'de gösterildiği gibidir.

**Tablo 2.** Gruplara Göre Yem Rasyonları

Yem Rasyonları	Grup I ve IV	Grup II ve III
(%) Protein	15	15
(%) Yağ	2.5	2.5
(%) Kil	14	14
(%) Hayvansal yağ	-	31.5
Metabolik Enerji ~Kcal/Kg	2736	6072

### 3.2. Metot

Farelerin vücut ağırlıkları belirlenip kaydedildikten sonra deneysel periyot boyunca Grup I ve Grup IV' dekilere standart pelet yem, Grup II ve Grup III' te yer alan farelere standart yemin 100 gramına 42.5 gram hayvansal yağ (tereyağ) katılarak ortalama % 31.5 yağ içeren günlük olarak hazırlanmış pelet yem (enerjinin ~% 55'i yağ kaynaklı) verildi (Yang ve ark. 2006). Grup III ve Grup IV'ün içme sularına 7.5 g/L MgSO<sub>4</sub> çözeltisi ilave edildi (Tariq ve ark. 1998).

12 haftalık uygulama sonrası fareler tekrar tartıldı ve vücut ağırlıkları kaydedildi. Anestezi edilen hayvanlardan ötenazi işlemini izleyerek alınan karaciğer doku örnekleri hemen serum fizyolojik ile yıkanarak kan ve diğer dokulardan temizlendi ve alüminyum folyo ile paketlenerek iki hafta süreyle -20°C'de saklandı.

Analiz edilmek üzere dokuların soğukluğu muhafaza edilerek cerrahi makasla her bir dokudan 0.5 gr parçalar alındı. Çalışmada kullanılan tüm solüsyonlar günlük olarak hazırlandı. Cam tüpe aktarılan dokular üzerine 5 ml fosfat tamponu (pH 7.4) eklendi. Buz doldurulmuş plastik kap içerisine yerleştirilen cam tüpteki doku homojenizatörde 16000 devir/dk hızda homojenize edildi. Homojenatlar 3000 devirde 15 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlarda NO, MDA, GSH ve Mg analizleri yapıldı.

#### 3.2.1. Nitrik Oksit Tayini

Nitrik oksit düzeyleri Miranda ve ark.'nın (2001) bildirdikleri yöntemle tayin edildi.

##### a) Deneyin Prensibi

Nitrat, vanadyum (III) klorür ile nitrite dönüştürülür. Nitritle sülfanilamidin asidik ortamda N-(1-Naftil) etilen diamindihidroklorür ile reaksiyonu sonucu kompleks diazonyum bileşiği oluşur. Oluşan bu renkli kompleks 540 nm'de ölçülür. Nitrit ve nitrat ölçümleri ayrı ayrı yapıldıktan sonra ikisinin toplamı NO düzeylerini gösterir.

**b) Deneyde Kullanılan Çözeltiler**

**Çinko Sülfat (% 10):** 10 g çinko sülfat distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

**Sodyum Hidroksit (0.3 M):** 1.2 g sodyum hidroksit distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

**1 M HCl:** İçinde bir miktar distile su bulunan balon jöjeye 8.29 ml HCl (d: 1.19; %37; Mol ağı: 36.46) ilave edilerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

**Vanadyum (III) Klorür (% 0.8):** 800 mg vanadyum (III) klorür 1 M HCl'de çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

**Sülfanilamid (% 2):** 2 g sülfanilamid % 5'lik HCl'de çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

**Naftil Etilen Diamin Dihidroklorür (% 0.1):** 100 mg 1-Naftil etilen diamin dihidroklorür (NEDD) distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

**Griess Ayracı:** 50 ml % 0.1 NEDD ve 50 ml % 2 sülfanilamid eşit miktarda karıştırıldı.

**Stok Nitrit Çözeltisi (1 mM):** 6.9 mg  $\text{NaNO}_2$  distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

**Stok Nitrat Çözeltisi (1 mM):** 8.5 mg  $\text{NaNO}_3$  distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

**c) Numunelerin Deproteinize Edilmesi**

400 µl numune üzerine 200 µl 0.3 M NaOH ilave edilerek vortekslendi ve 5 dakika beklendikten sonra 200 µl %10'luk  $\text{ZnSO}_4$  eklenerek tekrar vortekslendi. Numuneler 1400 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki berrak sıvı analiz için ayrıldı.

### 3.2.1.1. Nitrat Analizinin Yapılışı

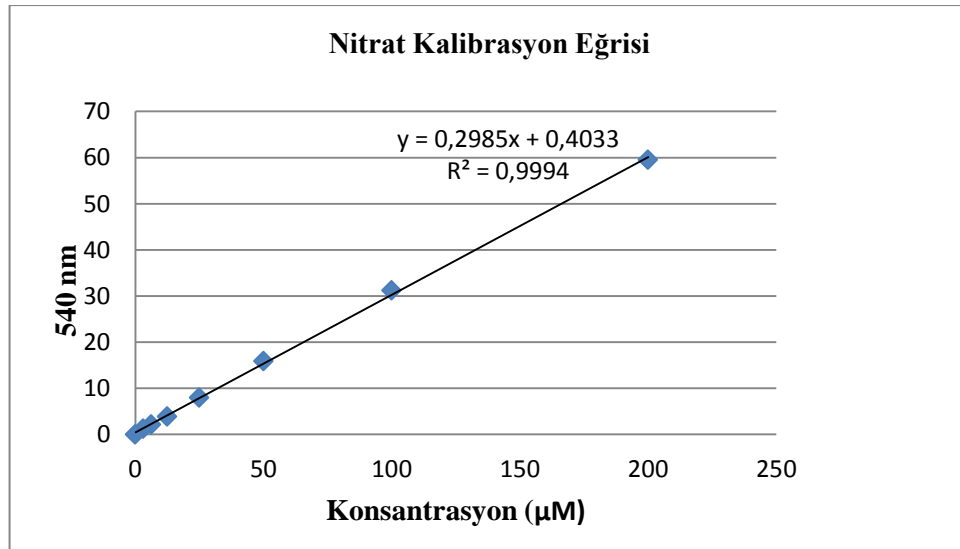
Mikroplak kuyucuklarına kör için 100 µl distile su, test için 100 µl süpernatant pipetlendi. Tüm kuyucuklara 100 µl  $VaCl_3$  ve 100 µl griess ayıracı ilave edildi. 30 dakika  $37^{\circ}C$ ' de etüvde inkübe edildikten sonra 540 nm dalga boyunda optik dansiteleri okundu.

**Tablo 3.** Nitrat Ölçüm Yöntemi

	Kör	Test
Distile Su	100 µl	-
Süpernatant	-	100 µl
Vanadyum (III) Klorür	100 µl	100 µl
Griess Ayıracı	100 µl	100 µl

37 C'de 30 dk inkübe edildikten sonra 540 nm'de optik dansitesi okundu.

**Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması:** 1 mM'lık stok nitrat çözeltisinden 3,125 - 6,25 - 12,5- 25 - 50 - 100- 200 µM'lık dilüsyonlar hazırlanarak nitrat analizindeki işlemler gerçekleştirildi. 540 nm'de köre karşı optik dansiteleri okundu ve kalibrasyon eğrisi çizildi.



**Grafik 1.** Nitrat Düzeyinin Saptanmasında Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi

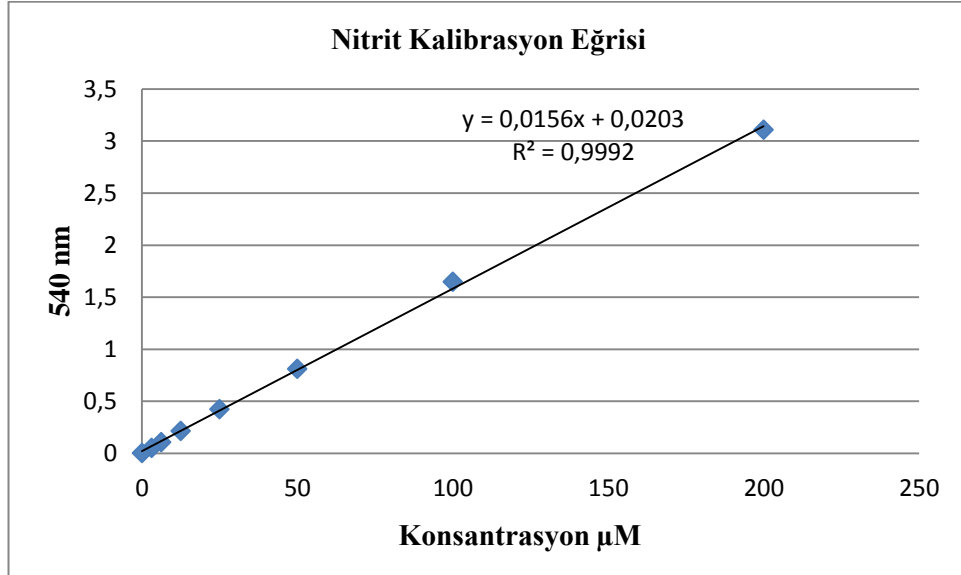
### 3.2.1.2. Nitrit Analizinin Yapılışı

Mikroplak kuyucuklarına kör için 100 µl distile su, test için 100 µl süpernatant pipetlendi. Her kuyucuğa 100 µl griess ayıracı eklenip, 30 dakika 37 °C'de etüvde inkübe edildikten sonra 540 nm dalga boyunda optik dansiteleri okundu.

**Tablo 4.** Nitrit Ölçüm Yöntemi

	Kör	Test
<b>Distile Su</b>	100 µl	-
<b>Süpernatant</b>	-	100 µl
<b>Griess Ayıracı</b>	100 µl	100 µl
37 C'de 30 dk inkübe edildikten sonra 540 nm'de optik dansitesi okundu.		

**Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması:** 1 mM'lık stok nitrit çözeltisinden 3,125 - 6,25 - 12,5 - 25 - 50 - 100 - 200 µM'lık dilüsyonlar hazırlanarak nitrit analizindeki işlemler gerçekleştirildi. 540 nm'de köre karşı optik dansiteleri okundu ve kalibrasyon eğrisi çizildi.



**Grafik 2.** Nitrit Düzeyinin Saptanmasında Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi



#### d) Sonuçların Hesaplanması

Kalibrasyon eğrisine bakılarak bulunan nitrat ve nitrit konsantrasyonları toplandı ve NO konsantrasyonu bulundu.

$$\text{Nitrik Oksit } (\mu\text{M}) = \text{Nitrat } (\mu\text{M}) + \text{Nitrit } (\mu\text{M})$$

#### 3.2.2. Malondialdehit Tayini

MDA tayini Yoshioka ve ark.'nın (1979) bildirdiği yöntemle ölçüldü.

##### a) Deneyin Prensibi

Tiyobarbütirik asit (TBA) tepkimesinde lipid içerik, düşük pH ve TBA varlığında ısıtıldığında 535 nm'de maksimum pik oluşturan stabil kırmızı-pembe renk meydana gelir. Kırmızı-pembe renk, MDA molekülü ile iki TBA molekülünün birleşmesi sonucu oluşan kromojenden dolayıdır. MDA'nın bir kısmı peroksidasyon sırasında, büyük çoğunluğu ortam asitleştirildikten sonra uygulanan ısıtma aşamasında LPO'nun yıkılması sonucu oluşur.

##### b) Deneyde Kullanılan Çözeltiler

**Triklorasetik asit (% 20):** 20 g triklorasetik asit (TCAA) distile suda çözüldü ve hacim 100 ml'ye tamamlandı.

**Tiyobarbütirik asit (% 0.67):** 1.675 g tiyobarbütirik asit (TBA) distile suda çözüldü ve hacim 250 ml'ye tamamlandı.

**Stok Standart Çözelti (20 mmol/L):** 0.494 ml 1,1,3,3-tetraetoksiopropan (d: 0.92; % 97; Ma: 220.3) 100 ml alkolde çözülerek, 20 mmol/l'lik stok standart çözelti hazırlandı.

**Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması:** 20 mmol/L'lik stok standart çözülden 0.1 ml alınarak hacmi 100 ml'ye tamamlandı ve 20  $\mu\text{mol/L}$ 'lik standart

çözelti elde edildi. Bu çözelti ile 0,3125 - 0,625 - 1,25 - 2,5 - 5 - 10 - 20  $\mu\text{mol/l}$ 'lik dilüsyonlar hazırlanarak aşağıda açıklandığı şekilde çalışıldı. 535 nm'de köre karşı optik dansiteleri okundu ve kalibrasyon eğrisi çizildi.

### c) Deneyin Yapılışı

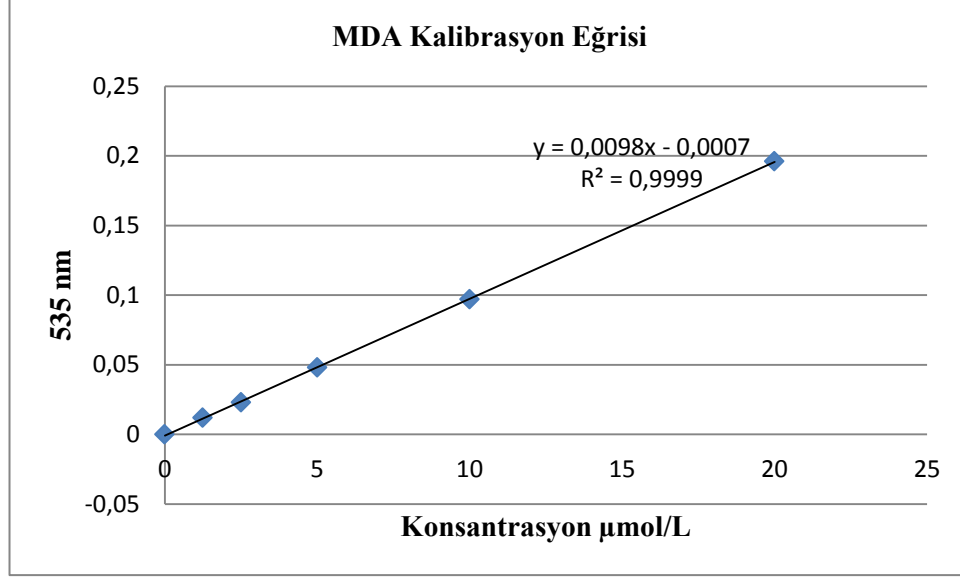
Numune ve kör olarak işaretlenen cam deney tüpleri alındı ve numune tüpüne 0.5 ml süpernatant, kör tüpüne 0.5 ml distile su pipetlendi. Bütün tüplere 2.5 ml TCAA ve 1 ml TBA ilave edildi. Tüpler 90  $^{\circ}\text{C}$ 'lik su banyosunda 30 dakika inkübe edildi, soğutuldu ve üzerine 4 ml n-bütanol pipetlenerek 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra n-bütanol tabakası başka bir tüpe aktarılarak 535 nm'de köre karşı testin optik dansitesi spektrofotometrede okundu.

**Tablo 5.** MDA Ölçüm Yöntemi

	<b>Kör</b>	<b>Test</b>
<b>Süpernatant</b>	-	0.5 ml
<b>Distile su</b>	0.5 ml	-
<b>TCAA</b>	2.5 ml	2.5 ml
<b>TBA</b>	1 ml	1 ml
90 $^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika inkübe edildikten sonra tüpler su altında soğutuldu.		
<b>n-Bütanol</b>	4 ml	4 ml
3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.		
Oluşan tabaka ayrılarak 535 nm'de köre karşı optik dansitesi okundu		

### a) Sonuçların Hesaplanması

Sonuçlar kalibrasyon eğrisinden bakılarak bulundu.



**Grafik 3.** MDA Düzeyinin Saptanmasında Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi

### 3.2.3. Glutasyon Tayini

Glutasyon düzeyi Beutler ve ark.'nın (1963) bildirdikleri yöntemle tayin edildi.

#### a) Deneyin Prensibi

Sistein, glutamik asit ve glisinden oluşan bir tripeptit olan GSH'ın neredeyse tamamı kandaki eritrositler içinde bulunur. EDTA'lı kanın distile su ile hazırlanan hemolizinde, sülfidril grupları(-SH) taşımayan tüm proteinler çöktürülür. GSH, meydana gelen berrak sıvıda -SH gruplarının DTNB (5,5'-2-ditiobis nitrobenzoik asit) ile oluşturduğu sarı renkli kompleks, 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülür.

#### b) Deneyde Kullanılan Çözeltiler

**Çöktürücü çözelti:** 1.67 g metafosforik asit, 0.2 g EDTA, 30 g NACI alınarak bir miktar distile suda çözüldü ve hacim 100 ml ye tamamlandı.

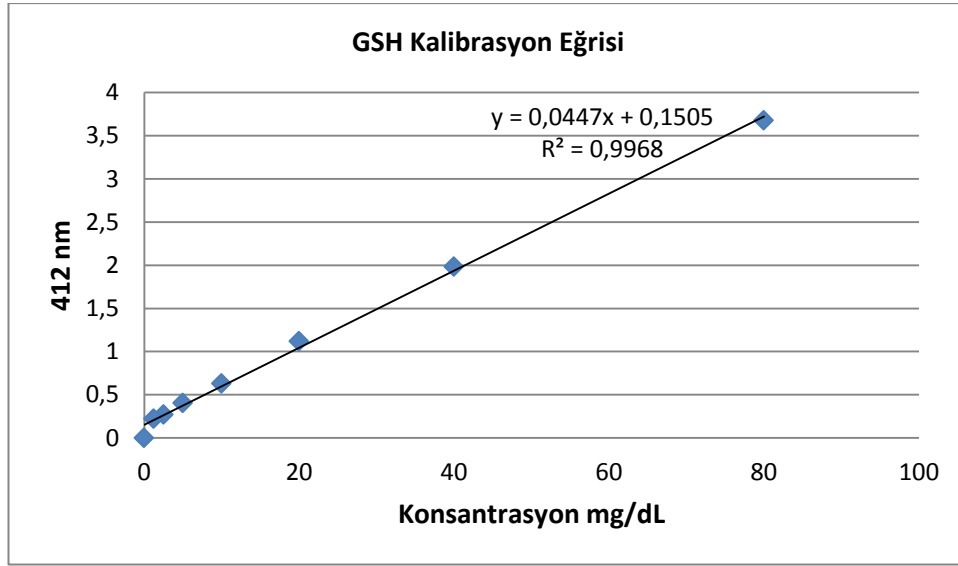
**Fosfat çözeltisi (0.3 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>):** 53.4 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O distile suda çözülerek hacim litreye tamamlandı.

**DTNB (Ellman's çözeltisi):** 40 mg DNTB alındı ve %1'lik sodyum sitrat ile hacim 100 ml'ye tamamlandı.

**Sodyum sitrat çözeltisi (%1):** 1g sodyum sitrat alınarak hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

**Standart GSH çözeltisi:** 20 mg GSH distile suda çözüldü ve hacim 100 ml'ye tamamlandı.

**Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması:** 80 mmol/L'lık stok standart çözeltiden 0.1 ml alınarak hacmi 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan 80 µmol/L'lık standart çözelti ile 0,3125 - 0,625 - 1,25 - 2,5 - 5 - 10 - 20 - 40 - 80 µmol/l'lık dilüsyonlar hazırlanarak aşağıda açıklandığı şekilde çalışıldı. 535 nm'de köre karşı optik dansiteleri okundu ve kalibrasyon eğrisi çizildi.



**Grafik 4.** GSH Düzeyinin Saptanmasında Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi

### c) Deneyin Yapılışı

Kör, standart ve numune olarak işaretlenen tüplerden numune tüpüne 200 µl süpernatant, standart tüpüne 200 µl standart çözeltisi alındı. Üzerine 1800 µl distile su ve 3 ml çöktürücü çözelti eklendi. Kör olarak işaretlenen tüpe 800 µl distile su, 1200 µl çöktürücü çözelti pipetlendi. Tüpler karıştırıldı ve buzlu suda 5 dk bekletildi,

3000 devirde 10 dk santrifüj edildi. Kör tüpü aynen alındı, standart ve numune olarak işaretlenen tüplerden yeni tüplere 2'şer ml alındı. Bütün tüplere 8'er ml fosfat çözeltisi ilave edilip karıştırıldı. 1 ml DTNB eklenip, 412 nm dalga boyunda köre karşı standart ve numunelerin optik dansitesi okundu.

**Tablo 6.** GSH Ölçüm Yöntemi

	<b>Kör</b>	<b>Standart</b>	<b>Test</b>
<b>Süpernatant</b>	-	-	200 µl
<b>Standart</b>	-	200 µl	-
<b>Distile su</b>	800 µl	1800 ml	1800 ml
<b>Çöktürücü çözelti</b>	1200 µl	3 ml	3 ml
Buzlu su da 5 dakika bekletildi. 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi ve başka tüplere süpernatantdan 2 ml aktarıldı.			
<b>Fosfat Çözeltisi</b>	2 ml	8 ml	8 ml
Karıştırıldı			
<b>DTNB</b>	1 ml	1 ml	1 ml
412 nm'de tüplerin optik dansiteleri köre karşı okundu			

#### a) Sonuçların Hesaplanması

Kalibrasyon eğrisine bakılarak GSH konsantrasyonları bulundu.

### 3.2.4. Magnezyum Tayini

#### a) Deneyde Kullanılan Çözeltiler

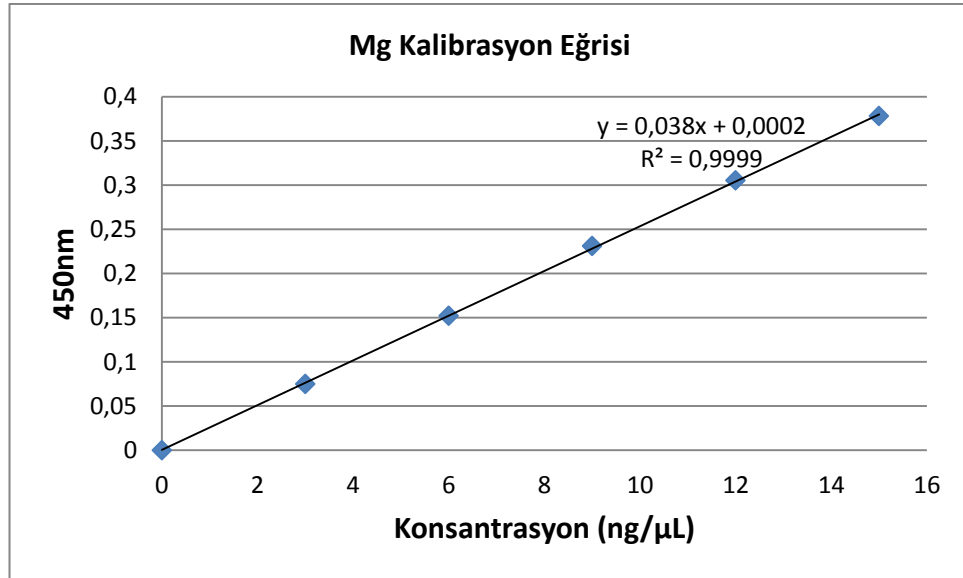
Magnezyum düzeylerinin ölçümü için Sigma-Aldrich® Magnezyum kiti (Katalog No: MAK026) kullanıldı ve ölçüm aşamaları aşağıdaki gibidir;

**a) Standart Solüsyonun Hazırlanışı:** Kolorimetrik tanımlama için 150 nmol/µl Mg standardından 10 µl alınıp, 990 µl distile su ile sulandırılarak 1.5 nmol/µl standart solüsyon hazırlandı.

**b)Master Reaction Mix Solüsyonunun Hazırlanışı:** 35 µl Magnesium Assay Buffer, 10 µl Developer ve 5 µl Magnesium Enzyme Mix karıştırılarak hazırlandı.

### b)Deneyin Yapılışı

- Bütün ayıraç ve örnekler oda sıcaklığına getirildi.
- Standart solüsyondan 0, 2, 4, 6, 8 ve 10 µl oranlarında kuyucuklara pipetlenerek distile su ile 50 µl'ye tamamlandı ve 0, 3, 6, 9, 12 ve 15 nmol/kuyucuk oranlarında standart konsantrasyonları elde edildi.
- Karaciğer homojenatından 5 µl uygun kuyucuklara eklendi ve distile su ile 50 µl'ye tamamlandı.
- Master Reaction Mix solüsyonunundan her kuyucuğa 50 µl eklendi ve karıştırıldı.
- Mikroplate alüminyum folyo ile kapatılarak 10 dakika 37 °C'de etüvde inkübe edildi.
- Optik dansiteler ELISA cihazında 450 nm dalga boyunda okundu.
- Ölçülen optik dansite değerleri kalibrasyon eğrisi grafiğine göre değerlendirildi (Grafik 4).



**Grafik 5.** Mg Düzeyinin Saptanmasında Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi

### 3.2.5. Histopatolojik İnceleme

Karaciğer dokuları hassas terazide tartıldı ve %10'luk formaldehit solusyonunda 48 saat fikse edildikten sonra uygun boyutlarda kesilerek kasetlendi. Dokular daha sonra sırayla % 70 ve % 80'lik etil alkolde 15'er dk, % 90'lık etil alkolde 30+30 dk, % 96'lık etil alkolde 30+30+45 dk tutuldu. Asetonda 45 dk bekletilerek şeffaflandırıldı ve sudan arındırılmak üzere 30 dk ksilende ve sonrasında etüvdeki sıvı parafin içinde 75 °C sıcaklıkta 40 dk bekletildi. İçinde parafin bulunan metal gömme kapların içerisine yerleştirilen dokular soğumaya bırakılarak blok haline getirildi. Parafin bloklardan Leica marka mikrotomla metal mikrotom bıçakları kullanılarak 0.5 mikron kalınlığında kesitler alınarak önce sıcak su havuzunda düzleştirildi daha sonra lam üzerine alınarak boyamaya hazır hale getirildi. Lam üzerine alınan bu dokuların bir kısmı genel histo-patolojik değerlendirme için Hematoksilen-Eozin boya ile boyandı ve mikroskopta incelenerek resimleri çekildi.

### 3.2.6. İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel analizlerinin hesaplanmasında IBM SPSS Statistics 16,0 programı kullanıldı. Veriler Aritmetik Ortalama (Mean)  $\pm$  Standart Hata (SE) olarak verildi. Gruplar arası farklar ve anlamlılık Tukey HSD ile analiz edildi,  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

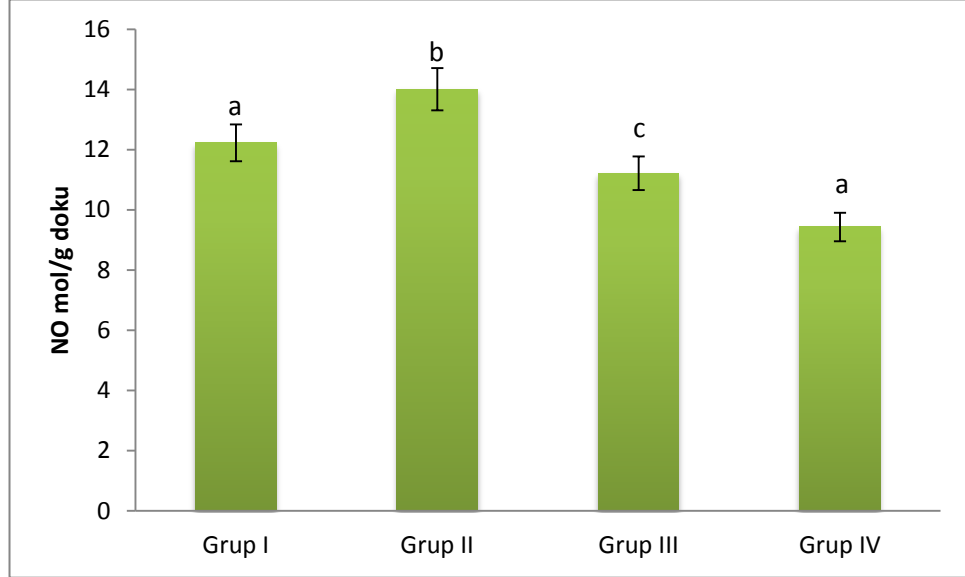
#### 4.BULGULAR

Bu çalışmanın başında Grup I farelerin vücut ağırlıkları  $33.91 \pm 0.79$ , Grup II farelerin vücut ağırlıkları  $31.67 \pm 0.26$ , Grup III farelerin vücut ağırlıkları  $37.17 \pm 0.46$ , Grup IV farelerin vücut ağırlıkları  $35.27 \pm 0.91$  g olarak kaydedildi. 12 haftalık beslenme sürecinin sonunda farelerin vücut ağırlıkları sırasıyla Grup I  $37.70 \pm 0.68$ , Grup II  $40.39 \pm 0.28$ , Grup III  $39.83 \pm 0.25$  ve Grup IV  $36.01 \pm 1.16$  g olarak kaydedildi. Çalışmanın sonunda vücut ağırlıkları bakımından Grup I, Grup II ve Grup III'ün ilk ve son ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0,01$ ) gözlenirken Grup IV'nin ilk ve son ağırlıkları arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı.



#### 4.1.Nitrik Oksit Düzeyleri

Yapılan çalışmada NO düzeyleri Grup I, II, III ve IV'te sırasıyla  $12.230 \pm 0.387$ ,  $16.010 \pm 0.376$ ,  $11.214 \pm 0.307$  ve  $9.432 \pm 0.378$  mol/g olarak bulundu (Tablo 7, Grafik 1). Çalışmada yağlı diyet verilen grubun NO düzeyi kontrol grubuna göre, yağlı diyet ve Mg verilen grubun NO düzeyi standart pelet yem ve Mg verilen gruba göre istatistiksel olarak önemli artış ( $p < 0,001$ ) göstermiştir. Yağlı diyet ve Mg verilen grubun NO düzeyi kontrol grubunun seviyelerine yakın olarak bulunmuştur (Grafik 1).

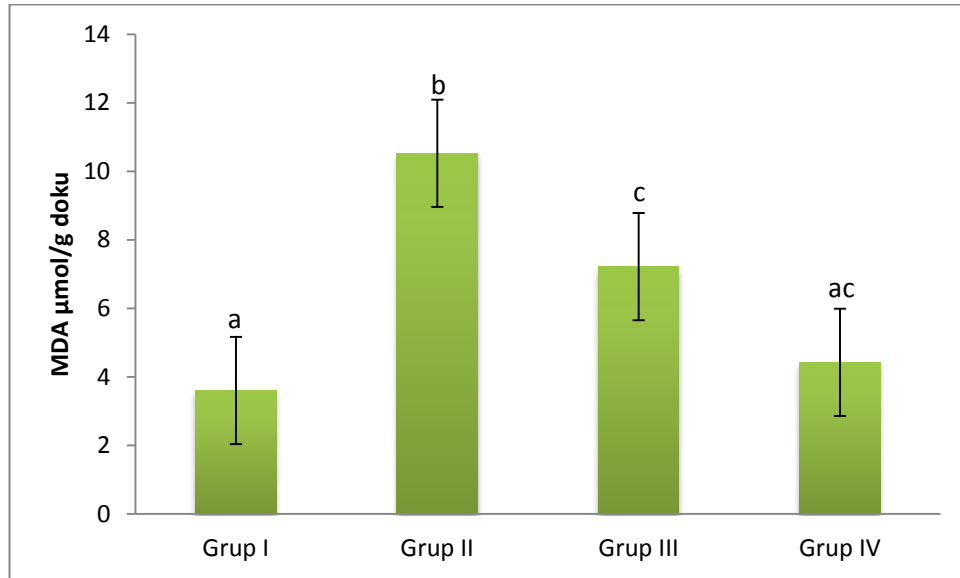


**Grafik 1.** Gruplara Göre Nitrik Oksit Düzeyleri

(Grup I: Standart pelet yem + İçme suyu, Grup II: Yağlı diyet + İçme suyu, Grup III: Yağlı diyet + Magnezyum, Grup IV: Standart pelet yem + Magnezyum, a, b, c, d her bir sütunda harf taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı)

#### 4.2.MDA Düzeyleri

Yapılan çalışmada Grup I, II, III ve IV'te MDA düzeyleri sırasıyla  $3.606 \pm 0.478$ ,  $5.26 \pm 0.700$ ,  $7.222 \pm 0.350$  ve  $4.428 \pm 0.4391$   $\mu\text{mol/g}$  doku olarak bulundu (Tablo7, Grafik 2). Çalışmada yağlı diyet ile beslenen grubun ve yağlı diyet ile Mg verilen grubun değerleri kontrol grubuna göre artış ( $p < 0,001$ ) göstermiştir. Kontrol grubu ile Mg verilen grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmemiştir. Yağlı diyet ve Mg verilen grupta istatistiksel açıdan önemli artış ( $p < 0,001$ ) görülmüştür (Grafik 2).

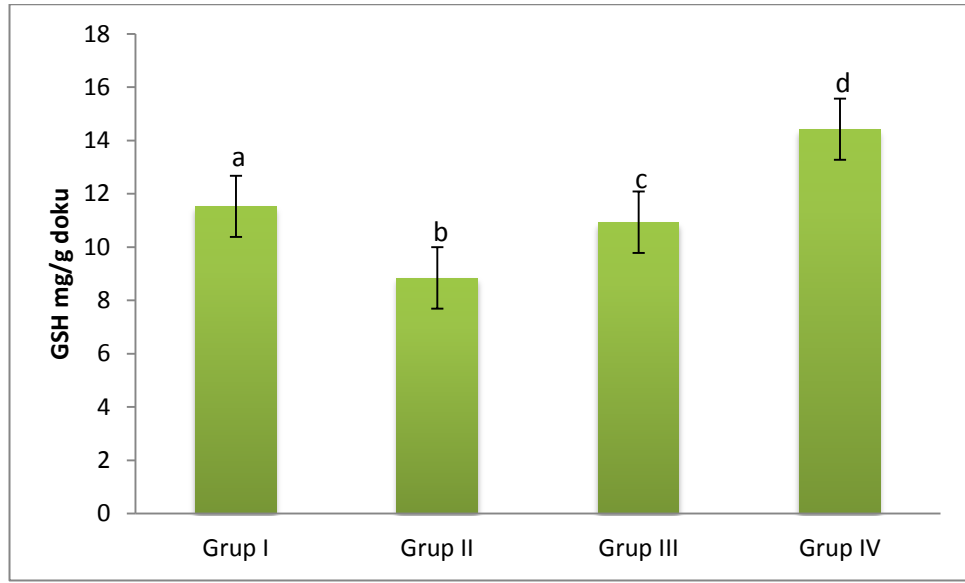


**Grafik 2.** Gruplara Göre MDA Düzeyleri

(Grup I: Standart pelet yem + İçme suyu, Grup II : Yağlı diyet + İçme suyu, Grup III : Yağlı diyet + Magnezyum, Grup IV : Standart pelet yem + Magnezyum, a, b, c, d her bir sütunda harf taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.)

### 4.3.GSH Düzeyleri

Yapılan çalışmada Grup I, II, III ve IV'te GSH düzeyleri sırasıyla  $11.527 \pm 0.695$ ,  $8.840 \pm 0.612$ ,  $10.930 \pm 0.365$  ve  $14.420 \pm 0.562$  mg/g doku olarak bulundu (Tablo7, Grafik 3).Çalışmada yağlı diyet ile beslenen grup ile yağlı diyet ve Mg ile beslenen grubun GSH düzeyi kontrol grubuna göre düşüş göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir. Mg verilen grubun GSH düzeyleri yağlı diyet ve Mg verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı artış ( $p<0,001$ ) göstermiştir (Grafik 3).

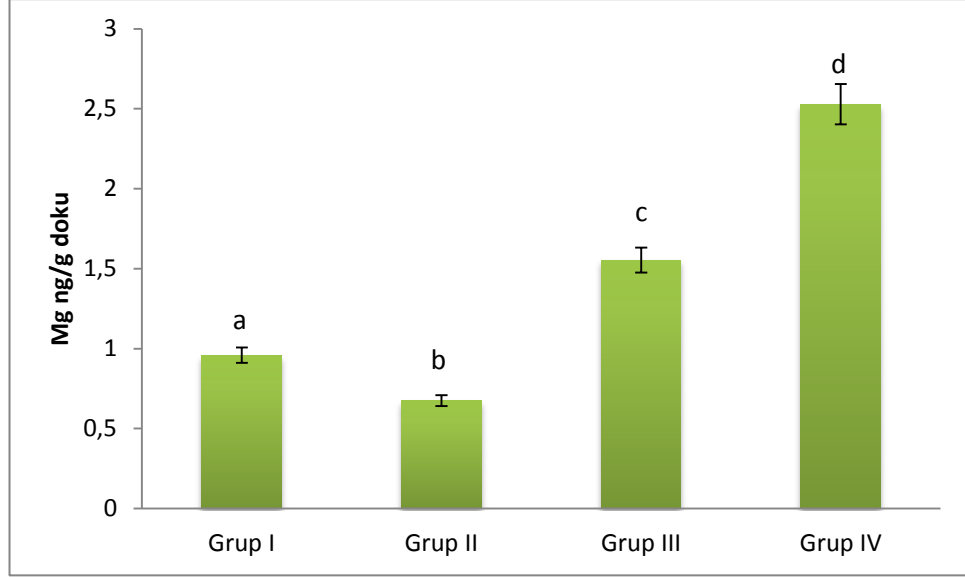


**Grafik 3.** Gruplara Göre GSH Düzeyleri

(Grup I: Standart pelet yem + İçme suyu, Grup II : Yağlı diyet + İçme suyu, Grup III : Yağlı diyet + Magnezyum, Grup IV : Standart pelet yem + Magnezyum, **a**, **b**, **c**, **d** her bir sütunda harf taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.)

### 4.4.Magnezyum Düzeyleri

Yapılan çalışmada Grup I, II, III ve IV'te Mg değerleri sırasıyla  $0.959 \pm 0.074$ ,  $0.675 \pm 0.172$ ,  $1.554 \pm 0.065$  ve  $2.528 \pm 0.149$  ng/g doku olarak bulundu (Tablo7, Grafik 4). Çalışmada yağlı diyet verilen grubun Mg düzeyi kontrol grubuna göre ( $p < 0,001$ ), yağlı diyet ve Mg verilen grubun Mg düzeyleri normal diyet ve Mg verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşme ( $p < 0,001$ ) göstermiştir (Grafik 4 ).



**Grafik 4.** Gruplara Göre Magnezyum Düzeyleri

(Grup I: Standart pelet yem + İçme suyu, Grup II : Yağlı diyet + İçme suyu, Grup III : Yağlı diyet + Magnezyum, Grup IV : Standart pelet yem + Magnezyum, **a, b, c, d** her bir sütunda harf taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.)

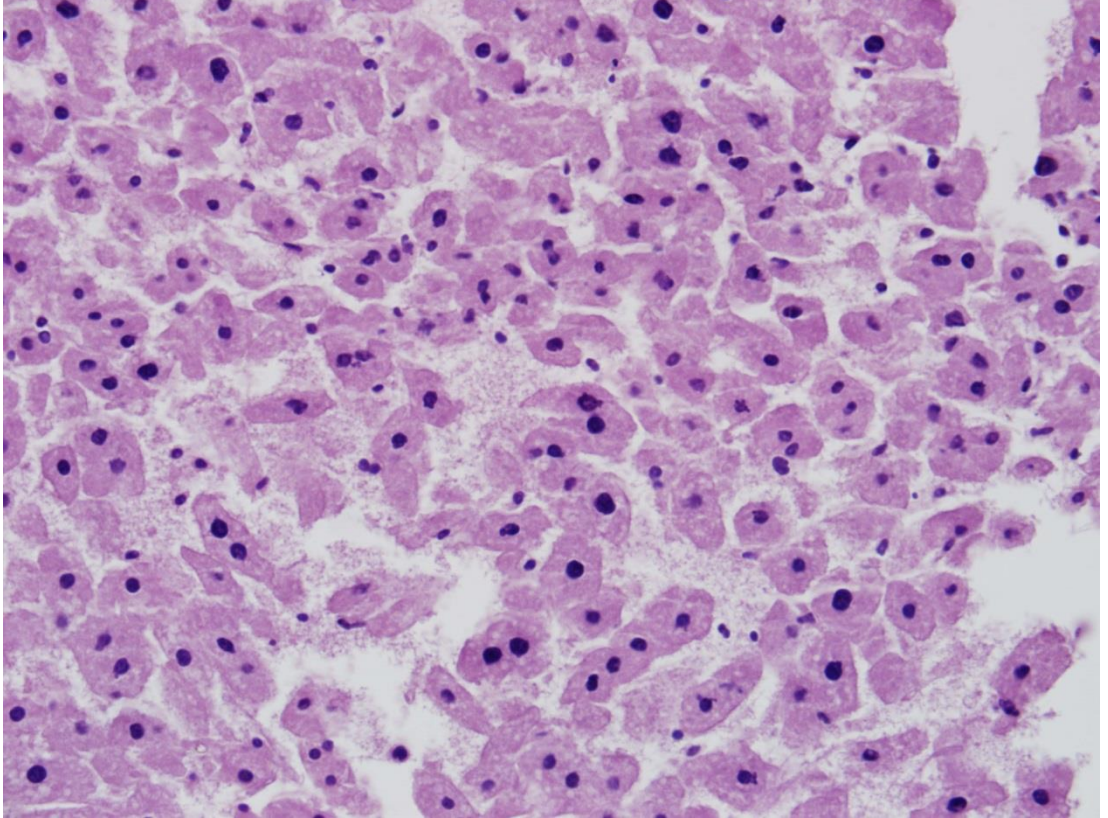
**Tablo 7.** Yağlı Diyetle Beslenen Farelerin Karaciğer Dokusunda NO, MDA, GSH ve Mg Düzeyleri

Parametre	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	P değeri
<b>NO (mol/g doku)</b>	12.230 ± 0.387 <sup>a</sup>	16.010 ± 0.376 <sup>c</sup>	11.214 ± 0.307 <sup>a</sup>	9.432 ± 0.378 <sup>b</sup>	P < 0,001
<b>MDA (μmol/g doku)</b>	3.606 ± 0.478 <sup>a</sup>	10.526 ± 0.700 <sup>b</sup>	7.222 ± 0.350 <sup>c</sup>	4.428 ± 0.439 <sup>a</sup>	P < 0,001
<b>GSH (mg/g doku)</b>	11.527 ± 0.695 <sup>a</sup>	8.840 ± 0.612 <sup>a</sup>	10.930 ± 0.365 <sup>a</sup>	14.420 ± 0.562 <sup>b</sup>	P > 0,05
<b>Mg (ng/g doku)</b>	0.959 ± 0.074 <sup>a</sup>	0.675 ± 0.172 <sup>c</sup>	1.554 ± 0.065 <sup>d</sup>	2.528 ± 0.149 <sup>b</sup>	P < 0,001

(Grup I: Standart pelet yem + İçme suyu, Grup II : Yağlı diyet + İçme suyu, Grup III : Yağlı diyet + Magnezyum, Grup IV : Standart pelet yem + Magnezyum **a, b, c, d:** her bir sütunda harf taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.)

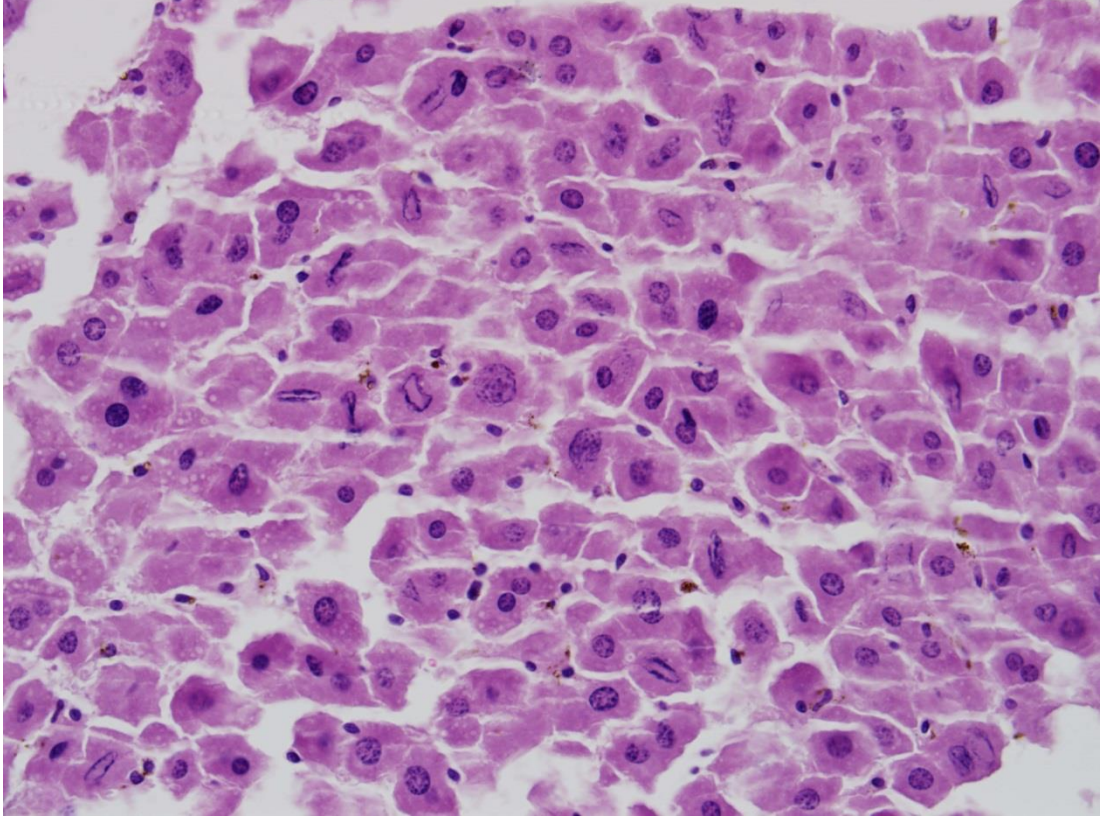
#### 4.5. Karaciğerde Histopatolojik Bulgular

**Grup I (kontrol):** Karaciğer hücrelerinde (hepatositlerin sitoplazmasında) lipit damlacıklarına rastlanmadı (Resim 1).



**Resim 1.** Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu (Hematoksilen-Eozin x 40)

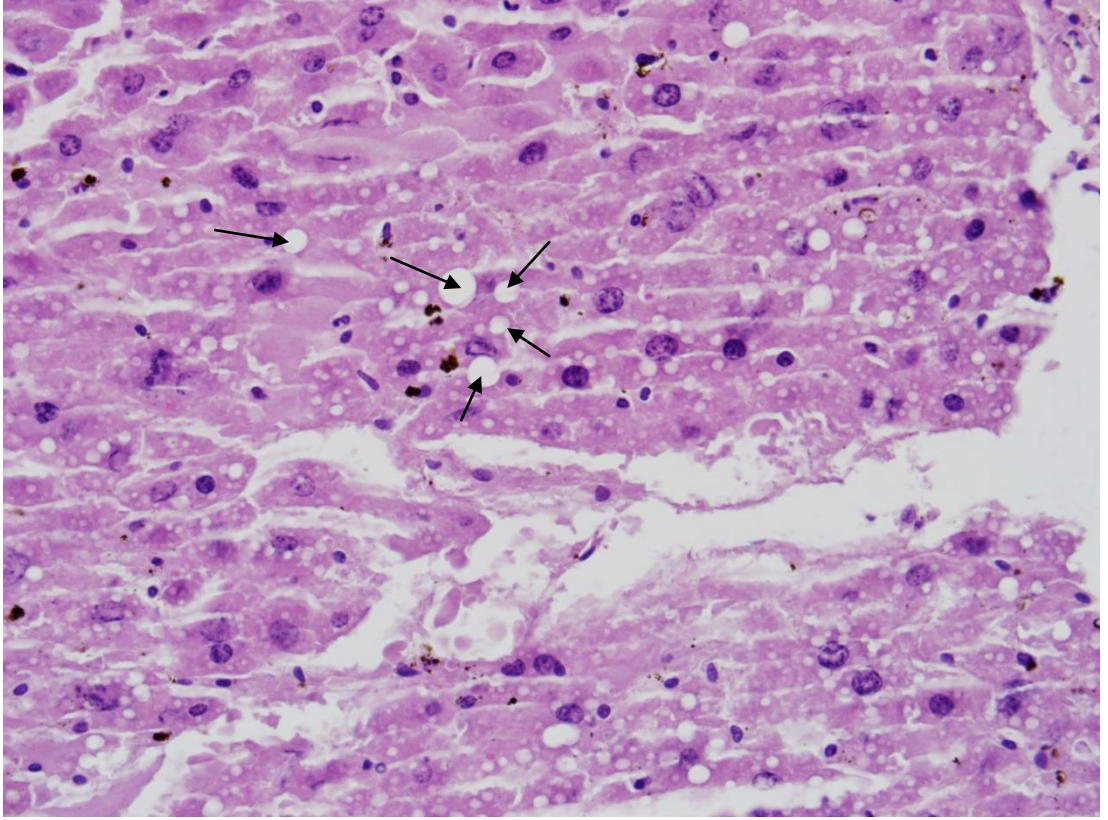
**Grup II:** Hepatositlerin sitoplazmasında lipid damlacıklarına rastlanmadı (Resim 2).



**Resim 2.** Normal diyet ve Mg'lu su verilen gruba ait karaciğer dokusu (Hematoksilen-Eozin x 40)



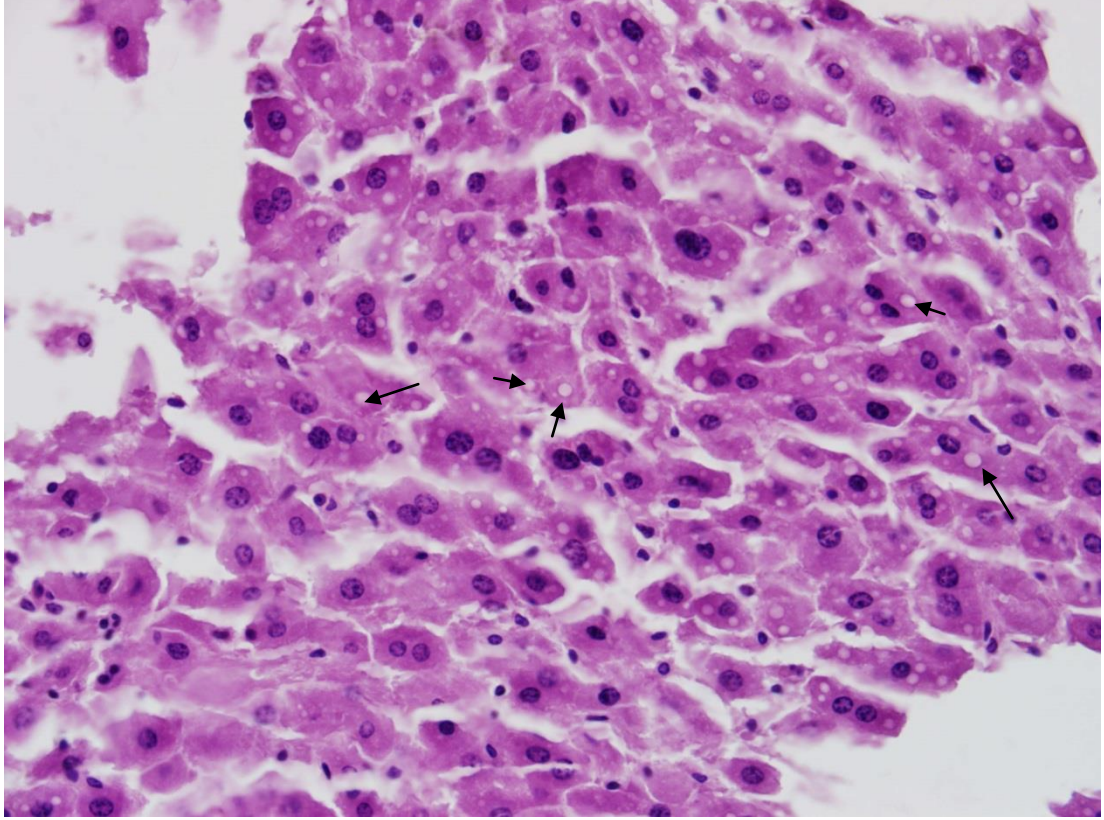
**Grup III :** Hepatositlerin sitoplazmasında içleri değişen büyüklüklerde boşluklu lipid vakuolleri görüldü (Resim 3).



**Resim 3.** Yağlı diyet ve normal su verilen gruba ait karaciğer dokusu (Hematoksilen-Eozin x 40)



**Grup IV:** Hepatositlerin sitoplazmasında değişen çaplarda lipit vakuelleri görüldü fakat yağlı diyet ve normal su verilen grup ile karşılaştırıldığında lipit vakuollerinin bu grupta daha küçük olduğu görüldü (Resim 4).



**Resim 4.** Yağlı diyet ve Mg'lu su verilen gruba ait karaciğer dokusu (Hematoksilen-Eozin x 40)

## 5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Obezite; başta aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere diyabet, üreme bozuklukları, osteoartrit, respiratuvar ve gastrointestinal sistem bozuklukları ve bazı kanser türleri ile ilişkisi olduğu saptanan ve dünyada giderek artan bir sağlık problemidir (Yılmaz 1999).

Bu çalışmada % 31.5 hayvansal yağ içeriği olan yem ile beslenen farelerde 12 hafta sonunda yağlı diyet verilen grubun canlı ağırlığında kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artış ( $p<0,01$ ) belirlenmiş, yağlı diyet ve Mg verilen grubun canlı ağırlıklarında önemli bir değişiklik görülmemiştir.

Yapılan birçok çalışmada normal diyete yaklaşık % 10 ile % 46 arasında değişen oranlarda tereyağı, domuz yağı ve sığır etinden elde edilen don yağ gibi hayvansal yağlar eklenerek 6-20 hafta arasında değişen sürelerde beslenen fare ve ratlarda canlı ağırlığının lipit birikimiyle bağlantılı olarak arttığı belirlenmiştir (Ryu ve Cha 2003, Woods ve ark. 2004, Lee ve ark. 2006, Yan ve ark. 2006, Yang ve ark. 2006, Chen ve ark. 2010). Yapılan araştırmada da yağlı diyet verilen grubun canlı ağırlığındaki artışın, lipogenez ve lipit birikiminden kaynaklanabileceği kanısına varılmıştır (Ryu ve Cha, 2003, Lee ve ark. 2006).

Yapılan çalışmada NO değerleri, kontrol grubunda  $12.230 \pm 0.387$ , yağlı diyet verilen grupta  $16.010 \pm 0.376$ , yağlı diyet ve Mg verilen grupta  $11.214 \pm 0.307$ , normal diyet ve Mg verilen grupta  $9.432 \pm 0.378$  mol/g doku, olarak belirlenmiştir. NO seviyesi yağlı diyet verilen grupta kontrol grubuna göre, yağlı diyet ve Mg verilen grubun NO seviyesi normal diyet ve Mg verilen gruba göre artış ( $p<0,001$ ) göstermiştir. Yağlı diyet ve Mg verilen grubun NO seviyesi kontrol grubunun seviyelerine yakın bulunmuştur (Tablo 7, Grafik 1).

$O_2^-$ , ROT,  $NO^\cdot$ ,  $HO^\cdot$ ,  $ROO^\cdot$  Ve  $H_2O_2$  gibi serbest radikaller oksidatif strese neden olmaktadır. Obezitede süperoksit türlerinin fazla miktarda olduğu ve oksidatif stresin sıklıkla meydana geldiği kaydedilmiştir (Altan ve ark. 2006). Cristol ve ark.(1995) ile Elizalde ve ark. (2000)  $NO$ 'nun LDL üzerine oksidan ve antioksidan olarak iki yönlü etkisi olduğu ve bunun ortamın pH'ı ve çevresel koşullara göre değişebildiği

kaydedilmiştir. NO'nun ilk olarak lipoliz düzenlenmesinde ikinci olarak obezitede düşük lipoliz oranlarının gösterilmesinde rol oynadığını ancak NO'nun bu rolünün açıklanabilmesi için daha fazla çalışma yapılması gerektiğini belirtmişlerdir. Olszanecka-Glinianowicz ve ark.(2004) NO konsantrasyonunun VKİ ile doğru orantılı olduğunu ve obezite ile birlikte insan adipoz dokusundaki iNOS aktivitesinin arttığını, insan ve farelerde beyaz adipoz dokuda iNOS ve eNOS'un bulunduğunu göstermişlerdir. Choi ve ark. (2001) ile Higashi ve ark. (2003) obez insanlarda VKİ'deki artışla serum NO konsantrasyonundaki artışın paralel olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde yapılan çalışmada yağlı diyet verilen grubun NO seviyesindeki artışın, VKİ'deki artışa bağlı olabileceği düşünülmektedir (Higashi ve ark. 2003).

Çalışmada MDA değerleri, kontrol grubunda  $3.606 \pm 0.478$ , yağlı diyet verilen grupta  $10.526 \pm 0.700$ , yağlı diyet ve Mg verilen grupta  $7.222 \pm 0.350$ , normal diyet ve Mg verilen grupta  $4.428 \pm 0.439$   $\mu\text{mol/g}$  doku olarak belirlenmiştir. Yağlı diyet verilen grupta MDA seviyesi kontrol grubuna göre, yağlı diyet ve Mg verilen grubun MDA seviyesi normal diyet ve Mg verilen gruba göre artış ( $p<0,001$ ) göstermiştir (Tablo 7, Grafik 2).

Diyetle alınan yağlar membran ve doku lipid bileşimlerinde değişikliklere neden olurlar ve bu değişiklik doymamış yağ asiti konsantrasyonunu artırarak lipid peroksidasyonunda da artışa yol açtığı belirtilmiştir (Nardini ve ark 1993, Rey ve ark 2003, Quiles ve ark 2003). MDA lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan, son ürün olup, proteinlerin amino gruplarına, fosfolipidler veya nükleik asitlere bağlanarak toksik etki göstermektedir. Davi ve ark. (2002) abdominaldeki yağ birikimi ile lipid peroksidasyonu arasında ilişki olduğunu belirtirken, Yılmaz ve ark. (2007) obez çocuklarda yaptıkları çalışmada MDA seviyelerini kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. Ghosh ve ark. (2011) obezite oluşturulan farelerin karaciğer dokusunda MDA değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Günyaktı (2000), rat yemlerine zeytinyağı, tereyağı, margarin ve ayçiçek yağı ilave ederek yaptığı çalışmasında; doymuş bir yağ olmasına rağmen margarinin lipid peroksidasyonuna dirençli olmadığı ve tereyağının yüksek kolesterol içeriğine rağmen lipid peroksidasyonun dirençli olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışmada da

yağlı diyet verilen grubun MDA düzeyinin kontrol grubuna göre artmış olmasının nedeni lipid peroksidasyonu ve dolayısıyla oksidatif stres ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (zata ve ark. 2002).

Araştırmada bir antioksidan olan GSH değerleri kontrol grubunda  $11.527 \pm 0.695$ , yağlı diyet verilen grupta  $8.840 \pm 0.612$ , yağlı diyet ve Mg verilen grupta  $10.930 \pm 0.365$ , normal diyet ve Mg verilen grupta  $14.420 \pm 0.562$  mg/g doku olarak belirlenmiştir. Yağlı diyet verilen grup ile yağlı diyet ve Mg verilen grupta GSH seviyesi kontrol grubuna göre önemli olmayan bir düşme, normal diyet ve Mg verilen grubun GSH seviyesi, yağlı diyet ve Mg verilen gruba göre artış ( $p < 0,001$ ) göstermiştir (Tablo 7, Grafik 3).

Seyithanoğlu ve ark. (2012) yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde karaciğer GSH düzeyinin değişmediğini kaydetmişlerdir. Günyaktı (2000), rat yemlerine zeytinyağı, tereyağı, margarin ve ayçiçek yağı ilave ederek yaptđđı çalışmasında; karaciğer ve eritrosit GSH değerleri arasında önemli bir fark belirleyememiştir. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada yağlı diyet verilen grubun GSH seviyesi kontrol grubuna yakın bulunmuştur.

Çalışmada Mg değerleri, kontrol grubunda  $0.959 \pm 0.074$ , yağlı diyet verilen grupta  $0.675 \pm 0.172$ , yağlı diyet ve Mg verilen grupta  $1.554 \pm 0.065$  ng/g normal diyet ve Mg verilen grupta  $2.528 \pm 0.149$  ng/g doku, olarak belirlenmiştir. Yağlı diyet verilen grupta Mg seviyesi, kontrol grubuna göre, yağlı diyet ve Mg verilen grubun Mg seviyesi normal diyet ve Mg verilen gruba göre düşüş ( $p < 0,001$ ) göstermiştir (Tablo 7, Grafik 4).

Oksidatif hasar ve Mg eksikliği kardiyovasküler hastalıklara eşlik etmektedir. Yapılan bir araştırmada (Kharb ve Singh 2000), Mg eksikliğinin, GSH ve vitamin E düzeylerinde düşmeye, MDA düzeylerinde artışa yol açtığı ve antioksidanların, Mg eksikliğinde ortaya çıkan prooksidan etkilere karşı rolü olabileceği kanaatine varılmıştır. Huerta ve ark. (2005) ile Jose ve ark. (2011) obez ocuklarda Mg düzeylerinin düşük olduğunu göstermişler ve insülin direncini arttırdđđını kaydetmişlerdir. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da yağlı diyetle beslenen grupta Mg seviyesi kontrol grubuna göre düşük saptanmış olup, Mg'un GSH

seviyesinde artışa NO ve MDA seviyesinde azalmaya neden olduğu görülmektedir. Bu durumla ilgili olarak bozulan antioksidan sistem ve artmış oksidatif stresin, Mg takviyesiyle düzeltilebileceği düşünülmektedir (Capel ve Dorrel, 1994).

Bu çalışmada farelerin karaciğerlerinden elde edilen histopatolojik sonuçlara göre kontrol grubu ile standart pelet yem ve Mg'li su verilen grupta herhangi bir lipid damlacığı görülmemiştir (Resim 1 ve 2). Ancak yağlı diyet verilen gruplarda karaciğer hücrelerinde değişik büyüklüklerde lipid vakuollerinin karaciğer yağlanması neden olabileceği görülmüştür (Resim 3). Yağlı diyet ve Mg'li su verilen grupta ise lipid vakuollerinin çaplarının daha küçük olduğu saptanmıştır (Resim 4).

Normal diyetle beslenen rat karaciğerinde araştırmalar sonucunda makroskobik ve mikroskobik bir anormallik gözlenmemiş olup, yağlı diyet ile beslenen rat karaciğerinde, vücutta aşırı yağ birikmesinden dolayı hepatik fibrozis bulguları görülmeye başlanmıştır (Altunkaynak 2005). DeAngelis ve ark.'nın (2005) % 21 yağ içeriği olan yem ile beslenen farelerde karaciğer yağlanmasının, % 6.5 yağ içeren yemle beslenen farelerden daha fazla olduğunu, yüksek yağlı diyetin karaciğer yağlanması yol açabileceğini belirtmişlerdir. Flowers ve Mickelson'ın (2010) 3, 6 ve 9 hafta süreyle yaptıkları çalışmada farelerin beslenmesinin süreyle doğru orantılı olarak karaciğerde yağlanma oranının arttığını gözlemlemişlerdir. Turecky ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada % 45 yağ içeriği olan yem ile beslenen farelerin bir kısmına alkol vermiş ve gerek alkol verilen gerekse verilmeyen gruplarda Mg seviyelerinin düştüğü ve karaciğer yağlanmasının görüldüğünü lipid birikimiyle bağlantılı olarak açıklamışlardır. Yukarıdaki çalışmaları destekler şekilde araştırmada % 31.5 yağ içeren yem ile 12 hafta süreyle beslenen farelerin karaciğerlerinde histopatolojik bulgularda görülen lipid damlacıklarının artmasına bağlı olarak karaciğer yağlanması olduğu kanaatine varılmıştır (Turecky ve ark. 2006).

Çalışmada Magnezyum Sülfat'ın GSH, NO ve MDA üzerine etkisi araştırılmış ve şu sonuçlara ulaşılmıştır.

- 1- Yağlı diyetle beslenen grubun canlı ağırlığındaki artışın lipit birikimi ile bağlantılı olabileceği ve Mg'un lipit birikimine ve oksidatif strese karşı olumlu etkisinin olabileceği kanaatine varılmıştır.
- 2- Yağlı diyet ile beslenen grupta toksik bir radikal olan peroksinitrit oluşmakta ve NO biyoyararlanımı azalmakla birlikte, VKI'deki artışın NO seviyesini arttırmış olabileceği, Mg'un ise NO düzeyini normale yaklaştırabileceği dűřünülmektedir.
- 3- Yađlı diyetin oksidatif stresi arttırarak lipit peroksidasyonuna yol ađtıđı, buna bađlı olarakta MDA düzeyini arttırdıđı gűrűlműřtűr.
- 4- Yađlı diyetle beslenen grupta antioksidan sistemin mekanizmasının bozularak oksidatif stresin artmıř olabileceđi kanaatine varıldı. Mg takviyesiyle, antioksidan metabolizmanın dűzeltilebileceđi GSH düzeyinin ise normale yaklařacađı dűřünülmektedir.

## 6.KAYNAKLAR

- Akkuş, İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza yay. Konya.
- Altan N., Dinçel A.S., Koca C. (2006). Diabetes mellitus ve oksidatif stres. Tr J. Biochem. 31(2): 51-56.
- Altunkaynak Z. (2005). Effects of high fat diet induced obesity on female rat livers (a histochemical study). Eur J Gen Med, 2(3): 100-109.
- Atakişi O., Özcan A., (2002). Protective effect of vitamin E on the oxidative damage caused by acute sodium nitrite intoxication. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. 8(2): 123-126.
- Atakişi O., Atakişi E., Özcan A., Karapehlivan M., Kart A., (2013). Protective effect of omega-3 fatty acids on diethylnitrosamine toxicity in rats. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 17:467-471.
- Arrick, B.A. and Nathan, C.F. (1984) Glutathione metabolism as a determinant of therapeutic Efficacy: A Review. Cancer Res, 44, 4224-4232.
- Beutler, E., Duron, O., Kelly, B.M. (1963). Improved method for determination of blood glutathione. J. Lab. Clin Med. 61: 882-888.
- Babaoğlu, K. Hatun, Ş. (2002); “Çocukluk çağında obesite”, STED, 11: 8-10.
- Björntorp P. (2001). Do stress reactions cause abdominal obesity and comorbidities? Obese Rev. 2(2):73-86.
- Capel ID, Dorrell HM. (1994). Abnormal antioxidant defense in some tissues of congenitally obese mice. Biochem J.,219: 41- 49, 14.
- Cemeli E1, Baumgartner A, Anderson D.( 2009). Antioxidants and the Comet assay. Mutat Res. 681(1):51-67.
- Chen H, Li-Jun L, Jian-Jun Z, Boa X, Rui L. (2010). Effect of soybean oligosaccharides on blood lipid, glucose levels and antioxidant enzymes activity in high fat rats. Food Chem, 119: 1633–1636.
- Chavan S., Sava L., Saxena V., Pillai S., Sontakke A. Ingöle D. (2005). Reduced glutathione: importance of specimen collection. Indian J Clin Biochem, 20(1): 150-152.

- Choi JW, Pai SH, Kim SK, Ito M, Park CS, Cha YN. (2001). Increases in nitric oxide concentrations correlate strongly with body fat in obese humans. *Clin Chem*.47(6):1106-9.
- Cohen RA, Vanhoutte PM. (1995). Endothelium-dependent hyperpolarization. Beyond nitric oxide and cyclic GMP. *Circulation* 92:3337-49.
- Cristol JP, Maggi MF, Guérin MC, Torreilles J, Descomps B. (1995). Nitric oxide and lipid peroxidation. *C R Seances Soc Biol Fil*, 189:797-809.
- Cros CE, Halliwell B, Borish E, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman D. (1987). Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med*, 107: 526-45.
- Çaylak EL. (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ve antioksidanlar. *Tıp Arş Derg*, 9 (1):73-83.
- Daniels SR, Arnett DK, Eckel RH, Gidding SS, Hayman LL, Kumanyika S, Robinson TN, Scott BJ, St Jeor S, Williams CL. (2005). Overweight in children and adolescents: pathophysiology, consequences, prevention, and treatment. *Circulation*. 19;111(15):1999-2012.
- Davi G, Guagnano MT, Ciabattini G, Basili S, Falco A, Marinopicolli M, Nutini M, Sensi S, Patrono C. (2002). Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *JAMA*. 23-30, 288(16): 2008-14.
- Davies MG1, Fulton GJ, Hagen PO. (1995). Clinical biology of nitric oxide. *Br J Surg*. 82(12):1598-610.
- DeAngelis RA1, Markiewski MM, Taub R, Lambris JD. (2005) A high-fat diet impairs liver regeneration in C57BL/6 mice through overexpression of the NF-kappaB inhibitor, IkappaBalpha. *Hepatology*. 42(5):1148-57.
- Dickinson D.A., Forman H.J. (2002). Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem Pharmacol*. 64(5-6): 1019-26.
- Diplock, A. (1998). Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe concise monograph series*, 59 p. Belgium
- Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. (2001). Paraoxonase and atherosclerosis. *arterioscler Thromb Vasc Biol* 21(4):473-80.
- Elizalde M, Rydén M, van Harmelen V, Eneroth P, Gyllenhammar H, Holm C, Ramel S, Olund A, Arner P, Andersson K. (2000). Expression of nitric oxide synthases in subcutaneous adipose tissue of nonobese and obese humans. *J Lipid Res* 41: 1244-51.



- Elin RJ. (1988). Magnesium metabolism in health and disease. *Dis Mon. Apr.*34(4): 161-218.
- Elin RJ. (2010). Assessment of magnesium status for diagnosis and therapy. *Magnes Res.* 23(4):S194-8.
- Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and  $\beta$ -cell dysfunction? *Diabetes* 2003;52:1-8.
- Fearon IM, Faux SP. (2009). Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight. *J Mol Cell Cardiol*; 47: 372-81.
- Finger B.C., Dinana T.G., Cryana J.F., (2011). High-fat diet selectively protects against the effects of chronic social stress in the Mouse. *J.neuroscience.* 351-360
- Flowers J, Mickelson B. (2010). C57BL/6 N Hsd male mice started on high-fat diets at three, six, or nine weeks of age attain similar obesity phenotypes. *FASEB J*, 554.6.
- Finucane F. M., Luan J., Wareham N. J., Sharp S. J., Rahilly S. O, Balkau B., Flyvbjerg A., Walker M., Højlund K., Nolan J. J., Savage D. B. (2009). Correlation of the leptin: adiponectin ratio with measures of insulin resistance in non-diabetic individuals. *52, 11, 2345-2349.*
- Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. (2010). Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol*, 316: 129-39.
- Ghosh S, Sulistyoningrum C.D, Glier B.M, Verchere B.C, Devlin M.A. (2011). Altered glutathione homeostasis in heart augments cardiac lipotoxicity associated with diet-induced obesity in mice. *J Biolog Chem*, 42483-42493.
- Guerrero-Romero F, Rodriguez-Mora'nM. (2000). Hypomagnesemia is linked to low serum HDL-cholesterol irrespective of serum glucose values. *J Diabetes Complicat* 14:272-276.
- Guerrero-Romero F, Rodriguez-Mora'nM. (2002). Low serum magnesium levels and metabolic syndrome. *Acta Diabetol.*39(4):209-13
- Guerre-Millo M. (2004). Adipose tissue and adipokines: for better or worse. *Diabetes Met.* 30: 13-9.
- Günyaktı A (2000) Katı ve sıvı yağ tüketiminin karaciğerde glutatyon sentezi ve serbest radikal üretimi üzerine olan etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniv Biyokimya (Tıp) AD, Konya.
- Güray A. Samancı N., Ovalı F., Dağoğlu T. (1997). Nitrik oksit fiziolojisi ve klinik önemi. *Tr Klin J Med Sci.* 17. 115-119.

Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, Kimura M, Noma K, Sasaki S. (2003). Low body mass index is a risk factor for impaired endothelium-dependent vasodilation in humans: Role of nitric oxide and oxidative stress. *J Am Coll Cardiol.* 42:256- 63.

Halliwell B. (1991). Reactive oxygen species in living system:source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med*; 91: 14S-21S.

Halliwell B, Gutteridge JMC. (2001). *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third Edition, Oxford Science Publications, 22- 24.

Higdon JV, Frei B. (2003). Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 23: 365-7.

Huerta MG, Roemmich JN, Kington ML, Bovbjerg VE, Wettman AL, Holmes YF, (2005). Magnesium deficiency is associated with insulin resistance in obese children: *Diabetes Care* 28:1175-81.

Jose B, Jain V, Vikram NK, Agarwala A, Saini S. (2011). Serum magnesium in overweight children. *Indian Pediatrics*, 49: 109-112.

Kershaw EE, Flier JS. (2004). Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin. Endocrinol Met.*,89: 2548-56.

Khan NI, Naz L, Yasmeen G. (2006). Obesity: an independent risk factor for systemic oxidative stress. *Pak J Pharm Sci*, 19: 62-5.

Kharb S, Singh V. (2000). Magnesium deficiency potentiates free radical production associated with myocardial infarction. *J Assoc Physicians India* 48:484-5.

La Du BN. (1992). Human serum paraoxonase/arylesterase. In: Kalow W. *Genetic Factors Influencing the Metabolism of Foreign Compounds: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics*. Pergamon Press, New York p.51-91.

Lee JS, Lee MK, Ha TY, Bok SH, Park HM, Jeong KS, Woo MN, Do M, Yeo JY, Choi MS. (2006). Supplementation of whole persimmon leaf improves lipid profiles and suppresses body weight gain in rats fed high-fat diet. *Food Chem Toxicol*, 44 (11): 1875-83.

Manuel Y, Keenoy B, Moorkens G, Vertommen J, Noe M, Neve J, De Leeuw I. (2000). Magnesium status and parameters of the oxidant-antioxidant balance in patients with chronic fatigue: Effects of supplementation with magnesium. *J Am Coll Nutr* 19:374-82.

Martinello F, Soares SM, Franco JJ, Santos AC, Sugohara A, Garcia SB, et al. Hypolipemic and antioxidant activities from *Tamarindus indica* L; pulp fruit extract in hypercholesterolemic hamsters. *Food Chem. Toxicol.* 2006; 44(6): 810-8.

- Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. (2002). Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *Eur J Endocrinol*, 147: 173-80.
- McConway, M.G., Johnson, D., Kelly, A., Griffin, D., Smith, J., Wallace, A.M. (2000). Differences in circulating concentrations of total, free and bound leptin relate to gender and body composition in adult humans. *Ann. Clin. Biochem.*, 37: 717-23.
- Meydani, M. (2001). Antioxidants and cognitive function. *ILSI. Nutr Rev.* 59(8); S75-S82.
- Miller, D.D. (1996). Minerals. In "Food Chemistry", O.R. Fennema (Ed), pp: Marcel Dekker, New York. 617-649.
- Miranda KM., Espey MG., Wink DA., 2001. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.*, 5, 62-71.
- Moncada S, Higgs A. (2002). The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329:2002-12.
- Moshage H. (1997). Nitric oxide determinations: much ado about NO<sup>•</sup> thing *Clin. Chem.* 43(4): 553-556.
- Nardini M, Scaccini C, D'Aquino M, Benedetti PC, Felice MD and Tomassi G (1993) Lipid peroxidation in liver microsomes of rats fed soybean, olive and coconut oil, *J Nutr Biochem*, 4, 39-43.
- Nicolas J. Pillon and Christophe O. Soulage (2012) Lipid Peroxidation by-Products and the Metabolic Syndrome. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*"Lipid Peroxidation", book edited by Angel Catala, ISBN 978-953-51.
- Olszanecka-Glinianowicz M, Zahorska-Markiewicz B, Janowska J, Zurakowski A. (2004). Serum concentrations of nitric oxide, tumor necrosis factor (TNF)-alpha and TNF soluble receptors in women with overweight and obesity. *Met* 53:1268-73.
- Özata, M, Mergenb M, Oktenli C, Aydin A, Sanisoglu SY, Bolu E, Yilmaz M.İ, Sayal A, Isimer Ozdemir C. (2002). Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. *Clin Biochem.* 35, 8, 627-631.
- Özcan A., Atakişi E., Karapehlivan M., Atakişi O., Çitil M.,(2007). Effect of L-carnitine on oxidative damage to liver, kidney and spleen induced by phenylhydrazine in mice. *J. Appl. Anim. Res.* 32, 97-100

Özcan A., Erdem Y.(2013). Koah'lı hastalarda nitrik oksit ve malondialdehit düzeylerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniv. Biyokimya AD, Kars.

Peker İ, Çiloğlu F, Buruk Ş, Bulca Z (2000) Egzersiz Biyokimyası ve Obesite, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, .83-97.

Prohaska JR, Wittmers LE, Haller EW. (1988). Influence of obesity, food intake and adrenalectomy in mice on selected trace element-dependent protective enzymes. *J Nutr* 118: 739- 746.

Quiles JL, Huertas JR, Ochoa JJ, Battino M, Mataix J and Manas M (2003) Dietary fat (virgin olive oil or sunflower oil) and physical training interactions on blood lipids in the rat, *Nutr*, 19, 363-368.

Rey AI, Lopez-Bote CJ, Kerry JP, Lynch PB, Buckley DJ and Morrissey PA (2003) Modification of lipid composition and oxidation in porcine muscle and microsomes as affected by dietary supplementation of n-3 with either n-9 or n-6 fatty acids and  $\alpha$ - tocopherylacetate, *Anim Feed Sci Technol*, 152 (6), 71-74.

Rio DD., Stewart AJ., Pellegrini NA., (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr. Met. Cardiovasc Dis.* 15(4): 316-28.

Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL, Ziegler TR, (2012). eds. *Modern Nutrition in Health and Disease*. 11th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins;;225-37.

Ryu MH, Cha YS. (2003). 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. *J Biochem Mol Biol*, 36 (3): 312-318.

Seyithanoğlu M., Öner-İyidoğan Y., Koçak H., Koçak-Toker N., Uysal M.(2012). Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin karaciğerinde trigliserid düzeyleri ve oksidatif stres üzerine enginar yaprağı ekstrelerinin etkisi. *Tr J.Biochem*, 37.

Sezgin N., Sezgin A.T., Güllü H., Karabulut A., Özyalın F., Topal E., Gözükara E.M. (2004). Sitokin, nitrik oksit ve süperoksit dismutaz düzeylerinin miyokard fonksiyonu üzerine etkileri. *Tr J Biochem.* 29 (2): 178-182.

Song CH. (2007). Associations of serum minerals with body mass index in adult women, *Eur J Clin Nutr* 61:682-5.

Tariq M1, Khan HA, al Moutaery K, al Deeb SM.(1998 ). Effect of chronic administration of magnesium sulfate on 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity in mice. *May*, 82(5):218-22.

Turecky L, Kupcova V, Szantova M, Uhlikova E, Viktorinova A, Czirfusz A. (2006). Serum magnesium levels in patients with alcoholic and non-alcoholic fatty liver. *Bratisl Lek Listy*, 107 (3):58-61

Türköz Y., Özerol E., (1997). Nitrik oksitin etkileri ve patolojik rolleri. *J Turgut Ozal Medical Center. Turgut Özal Tıp Merkezi Derg.* 4(4): 453-461.

Wilborn C, Beckham J, Campbell B, Harvey T, Galbreath M, Bounty PL, Nassar E, Wismann J and Kreider R. (2005). Obesity: prevalence, theories, medical consequences, management, and research directions *J Int Soc Sports Nutr.* 9;2:4-31.10.1186/1550-2783-2-2-4.

World Health Organization. (2000). Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Technical Report , Geneva: WHO,894.

Woods SC, D'alessio DA, Tso P, Rushing PA, Clegg DJ, Benoit SC, Gotoh K, Liu M, Seeley RJ. (2004). Consumption of a high-fat diet alters the homeostatic regulation of energy balance. *Physiol Behavior*, 83 (4): 573-578.

Yan MX, L YQ, Meng M, Ren HB, Kou Y. (2006). Long-term high-fat diet induces pancreatic injuries via pancreatic microcirculatory disturbances and oxidative stress in rats with hyperlipidemia. *Biochem Biophy Res Commun*, 347: 192–199.

Yang JY, Lee SJ, Park HW, Cha YS. (2006). Effect of genistein with carnitine administration on lipid parameters and obesity in C57Bl/6J mice fed a high-fat diet. *J Med Food*, 9(4): 459-67.

Yakinci C, Pac A, Kucukbay FZ, Tayfun M, Gul A. (1997). Serum zinc, copper, and magnesium levels in obese children. *Acta Paediatr Jpn*, 39:339-41.

Yılmaz C. (1999). "Obesiteye Giriş", C Yılmaz (Ed.), *Obesite ve Tedavisi*, 1. Basım, Mart Matbaacılık, s.7-10.

Yılmaz A, Coban E, Sari R. (2007). The effect weight loss on the mean platelet volume in obese patients. *Platelets* 18 (3): 212-216.

Yoshioka T., Kawada K., Shimada T., Mori M., (1979). Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activatedoxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 135, 372-376.



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 36643897-50

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

24.02.2014  
ERZURUM

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
Besin / Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanlığına

25240 – Kampus / ERZURUM

**İlgi** : 13.02.2014 tarih ve B.30.2.ATA.0.06.05.05/12 sayılı yazınız.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Ayla ÖZCAN'ın yürütücülüğünde, Kafkas ve Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültelerinin Biyokimya ve Patoloji Anabilim Dallarının Laboratuvarlarında yürütülecek olan “**Yağlı Diyetle Beslenen Farelerde Magnezyum Sülfatın (MgSO<sub>4</sub>) GSH ve MDA Üzerine Etkisinin Araştırılması**” başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 20.02.2014 tarih ve 1 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 32 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

  
Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR  
Başkan

**Toplantı Tarihi** : 20.02.2014

**Toplantı Sayısı** : 1

**KARAR NO** : 32- Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Ayla ÖZCAN'ın yürütücülüğünde, Kafkas ve Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültelerinin Biyokimya ve Patoloji Anabilim Dallarının Laboratuvarlarında yürütülecek olan “**Yağlı Diyetle Beslenen Farelerde Magnezyum Sülfatın (MgSO<sub>4</sub>) GSH ve MDA Üzerine Etkisinin Araştırılması**” başlıklı araştırma çalışması ile ilgili araştırmacı Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin/Gıda Hijyeni ve Teknoloji Anabilim Dalı Başkanlığının, 13.02.2014 tarih ve B.30.2.ATA.0.06.05.05/12 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

**Adres** : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Yakutiye / ERZURUM

**Telefon** : 0-442-231 47 30

**Fax** : 0-442-231 55 63

**e-mail**: hadyek@atauni.edu.tr

5