



**FRUKTOZUN OLUŞTURDUĞU METABOLİK
SENDROMDA KARDİYAK AKT/ENOS YOLAĞI
ÜZERİNE LACTOBACİLLUS PLANTARUM'UN
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Öznur Ece DURMAZ KURŞUN

**İnönü Üniversitesi ve Gazi Üniversitesi Farmakoloji
Anabilim Dalı Ortak Programı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Göknur AKTAY
Ortak Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fatma AKAR**

Doktora Tezi-2022

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FRUKTOZUN OLUŞTURDUĞU METABOLİK SENDROMDA KARDİYAK
AKT/ENOS YOLAĞI ÜZERİNE LACTOBACİLLUS PLANTARUM'UN
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Öznur Ece DURMAZ KURŞUN

**İnönü Üniversitesi ve Gazi Üniversitesi
Farmakoloji Anabilim Dalı
Ortak Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Göknur AKTAY**

**Ortak Tez Danışmanı
Prof. Dr. Fatma AKAR**

MALATYA

2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Fruktoz	3
2.1.1. Fruktozun Kimyasal Yapısı	3
2.1.2. Fruktozun Metabolik Etkileri.....	3
2.2. Metabolik Sendrom.....	4
2.2.1. Tanımı	4
2.2.2. Metabolik Sendroma Neden Olan Faktörler	4
2.2.3. Fruktoz ve Metabolik Sendrom	5
2.2.4. Metabolik Sendrom ve Kardiyovasküler Hastalıklar İlişkisi.....	6
2.2.5. Metabolik Sendrom ve İnsülin İlişkisi	8
2.2.6. Bağırsak Mikrobiyotası ve Metabolik Sendrom İlişkisi	11
2.2.7. Metabolik Sendromun Tedavi Yöntemleri	12
2.3. Probiyotikler	14
2.3.1. <i>Lactobacillus Plantarum</i> 'un Özellikleri	15
2.3.2. <i>Lactobacillus Plantarum</i> 'un Metabolik Etkileri.....	15
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. Deney Hayvanları	17
3.2. Deney Grupları	18
3.3. Fruktoz Çözeltisinin Hazırlanması	18
3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler	19
3.5. <i>Lactobacillus Plantarum</i> Suşlarının Çoğaltılması.....	19
3.6. Western Blot Analizi ile Protein Düzeylerinin Belirlenmesi.....	19
3.7. İstatistiksel Analizler	25
4. BULGULAR.....	26
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	40

KAYNAKLAR	41
EKLER.....	55
Ek 1. Etik Kurul İzin Belgesi.....	55
Ek 2. Özgeçmiş	57



TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim boyunca desteğini her zaman hissettiğim çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Göknur AKTAY'a ve bu süreçte değerli bilgi birikimi, katkıları ve emeği için saygıdeğer ortak danışman hocam Prof. Dr. Fatma AKAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, her zaman destekleri ve varlıkları ile bana sabırla yol gösteren çok değerli Prof. Dr. Kazim ŞAHİN ve Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN'e en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Bu süreçte her zaman desteklerini gördüğüm bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Prof. Dr. Cemal Georg ORHAN, Doç. Dr. Mehmet TUZCU ve Doç. Dr. Hasan GENÇOĞLU'na teşekkür ederim. Doktora sürecindeki destekleri ve yardımları için Prof. Dr. Engin ŞAHNA, Prof. Dr. Aslı Fahriye CEYLAN'a, bana kapılarını her zaman açan Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR ve Dr. Öğr. Üyesi İsmet YILMAZ'a, çalışmamdaki katkıları ve anlayışı için Doç. Dr. Ayşe DEMİREL'e teşekkür ederim. Laboratuvar analizlerinde ve çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Füsun ERTEN, Arş. Gör. Dr. Emre ŞAHİN, Dr. Beşir ER, Arş. Gör. Bayram AKOĞLAN, Arş. Gör. Ramazan ÖZMEN, doktora öğrencileri Büşra AĞZİKÜÇÜK ve Muhammet TOKMAK'a kıymetli zamanlarını ayırdıkları ve sabırları için teşekkür ederim. Tüm destekleri ve sabırları için Öğr. Gör. Ebru GÖKDERE, Öğr. Gör. Dilan AŞKIN ÖZEK ve Arş. Gör. Zeliha KESKİN ALKAÇ'a teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca varlıkları ile bana güç veren, her koşulda yanımda olan, sabırla beni her zaman destekleyen kıymetli büyük aileme, Veysel EMİR, Nafiye ALTUNTAŞ, Veciye KURŞUN, Nazir KURŞUN, canlarım annem İnci DURMAZ, babam M. Naci DURMAZ, kardeşim Gökçe DURMAZ BAL, eşi Erdem BAL ve yiğenim Nil BAL'a teşekkürü bir borç bilirim. Lisans öğrenimimin ilk döneminden itibaren sonsuz bir sevgi ve fedakârlık ile maddi manevi beni destekleyen sevgili eşim Ecz. Yunus KURŞUN'a ve varlığı ile hayatıma anlam katan canım oğlum Nazir Sina KURŞUN'a sonsuz sevgilerim ile çok teşekkür ederim.

ÖZET

Fruktozun Oluşturduğu Metabolik Sendromda Kardiyak Akt/eNOS Yolağı Üzerine *Lactobacillus Plantarum*'un Etkisinin İncelenmesi

Amaç: Diyetle yaygın şekilde kullanılan fruktozun, metabolik sendrom gelişme riskini artırdığı gösterilmiştir. Metabolik sendrom oksidatif stres ve inflamatuvar değişkenlerle ilişkili olarak kardiyovasküler hastalık riskini artırır. Laktik asit bakterilerinden olan *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*)'un, antioksidan, antikanser, antiinflamatuvar, antiproliferatif, obezite karşıtı ve antidiyabetik etkileri bulunmaktadır. Laktik asit bakterilerinin probiyotik suşlarının fruktoz ile metabolik sendrom oluşturulan modellerde kardiyovasküler hastalıklar üzerine etkisini inceleyen sınırlı sayıda çalışma yer almaktadır. Çalışmamızda, *L. plantarum* takviyesinin, fruktozla beslenen sıçanların kalplerinde, Akt/eNOS yolağı üzerindeki etkisi araştırılarak mekanizma irdelenmiştir.

Materyal ve Metot: Bu çalışma, fruktoz ile metabolik sendrom geliştirilmiş *Wistar Albino* erkek sıçanlarda yürütüldü. Sıçanlar kontrol, fruktoz ve fruktoz+*L. plantarum* olmak üzere üç gruba ayrıldı. Fruktoz, 15 hafta süre ile içme suyu içerisinde %20'lik çözelti şeklinde verilirken; probiyotikler, fruktoz uygulamasının son 6 haftasında günde bir kez (10^9 CFU/ml/100 g) olmak üzere gastrik gavaj ile uygulandı. Kalp dokularındaki Akt, eNOS, iNOS, IRS-1, SIRT1, mTOR, NF- κ B ve TNF- α protein düzeyleri Western Blot analiz yöntemleri ile değerlendirildi.

Bulgular: *L. plantarum* uygulamasının fruktoz grubuna göre sıçanların kalp dokusunda Akt düzeyini %24.7 ($p<0.0001$), IRS-1 düzeyini %43.7 ($p=0.0113$), eNOS düzeyini %25.7 ($p<0.0001$), mTOR düzeyini %35.1 ($p<0.0001$), SIRT 1 düzeyini %41.7 ($p=0.0031$) oranında yükselttiği ve iNOS düzeyini %25.0 ($p<0.0001$), NF- κ B düzeyini %27.6 ($p<0.0001$), TNF- α düzeyini ise %26.1 ($p<0.0001$) oranında düşürdüğü tespit edildi.

Sonuç: Çalışma, *L. plantarum*'un kalpte meydana gelen yangıyı engelleyebileceği, Akt/eNOS yolağı aracılığıyla insülin duyarlılığının artırılmasına katkı sağlayabileceği ve metabolik sendrom kaynaklı oluşabilecek kardiyovasküler bozuklukların önüne geçebileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Akt/eNOS, fruktoz, insülin, metabolik sendrom, *Lactobacillus plantarum*.

ABSTRACT

Investigation of the Effect of *Lactobacillus Plantarum* on Cardiac Akt/eNOS Pathway in Fructose-Induced Metabolic Syndrome.

Aim: It has been shown that fructose, which is widely used in the diet, increases the risk of developing metabolic syndrome. Metabolic syndrome, on the other hand, increases the risk of cardiovascular disease in relation to oxidative stress and inflammatory variables. *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*), one of the lactic acid bacteria, has antioxidant, anticancer, anti-inflammatory, antiproliferative, anti-obesity and antidiabetic effects. There are a limited number of studies in the literature examining the effects of probiotic strains of lactic acid bacteria on cardiovascular diseases in models with fructose-induced metabolic syndrome. In this study, it was investigated whether *L. plantarum* supplementation had an effect on the Akt/eNOS pathway in the hearts of fructose fed rats.

Material and Method: This study was conducted in *Wistar Albino* male rats with fructose-induced metabolic syndrome. Rats control, fructose and fructose+*L. plantarum* were divided into three groups. While fructose is given as a 20% solution in drinking water for 15 weeks; probiotics were administered by gastric gavage once a day (10^9 CFU/ml/100 g) in the last 6 weeks of fructose administration. Akt, eNOS, iNOS, IRS-1, SIRT1, mTOR, NF-kB and TNF- α protein levels in heart tissues were evaluated by Western blot analysis methods.

Results: According to the fructose group of *L. plantarum* application, Akt level was 24.7% ($p<0.0001$), IRS-1 level was 43.7% ($p=0.0113$), eNOS level was 25.7% ($p<0.0001$), mTOR level was 35.1% ($p<0.0001$) in heart tissue of rats compared to fructose group.) increased SIRT 1 level by 41.7% ($p=0.0031$) and increased iNOS level by 25.0% ($p<0.0001$), NF-kB level by 27.6% ($p<0.0001$), and TNF- α level by 26.1% ($p<0.0001$) found to be reduced.

Conclusion: As a result of the study, it has been shown that *L. plantarum* can prevent heart inflammation, contribute to increasing insulin sensitivity through Akt/eNOS pathway, and prevent cardiovascular disorders that may occur due to metabolic syndrome.

Key Words: Akt/eNOS, fructose, insulin, metabolic syndrome, *Lactobacillus plantarum*.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
a/h	: Ağırlık/hacim
AKT	: Protein Kinaz B
ANOVA	: Tek Yönlü Varyans Analizi
APO	: Apolipoprotein
APS	: Amonyum Persülfat
ASCVD	: Aterosklerotik Kardiyovasküler Hastalık
ATP	: Adenozin Trifosfat
CFU	: Koloni oluşturan birim
ChREBP	: Karbonhidrat Yanıt Elementini Bağlayan Protein (Carbohydrate Response Element-Binding Protein)
cm	: Santimetre
DHAP	: Dihidroksiaseton Fosfat
dk/hafta	: Dakika/hafta
DNL	: <i>de novo</i> lipogenez
eNOS	: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
FAS	: Yağ Asidi Sentaz (Fatty Acid Synthase)
g	: Gram
g/gün	: Gram/gün
GLUT	: Glukoz Taşıyıcısı
h/h	: Hacim/hacim
HDAC	: Histon Deasetilaz
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (High Density Lipoprotein)
HOMA	: Homeostatik Model Değerlendirme
IL	: İnterlökin
IRS	: İnsülin Reseptör Substrat
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
kg/m²	: Kilogram/metrekaare
kcal/gün	: Kilokalori/gün
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)

M	: Molar
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
mg/dL	: Milligram/desilitre
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
mmHg	: Milimetre civa
mRNA	: Mesajcı RNA
mTOR	: Rapamisin Memeli Hedefi (Mammalian Target of Rapamycin)
NAFLD	: Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (Non-alcoholic Fatty Liver Disease)
NASH	: Alkolik olmayan steatohepatit (Non-alcoholic Steatohepatitis)
NF-KB	: Nüklear Faktör Kappa B
nm	: Nanometre
NO	: Nitrik Oksit
PI3K	: Fosfatidilinositol-3 Kinaz (Phosphatidylinositol-3 Kinase)
PIP3	: Fosfatidilinositol (3,4,5)-Trifosfat (Phosphatidylinositol (3,4,5)-Trisphosphate)
PPAR	: Peroksizom Proliferatör-Aktive Reseptör (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor)
RNA	: Ribo Nükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SDS-PAGE	: Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroforez (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis)
SGLT	: Sodyum Glukoz Taşıyıcı Tip
SIRT	: Silent İnförmasiyon Regulator
SREBP	: Sterol Düzenleyici Eleman Bağlayıcı Protein (Sterol Regulatory Element-Binding Protein)
TEMED	: Tetra Metil Etilen Diamin
TGF	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
V	: Volt
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Very Low Density Lipoprotein)

α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gamma
κ	: Kappa
μ	: Mikro
μg	: Mikrogram
μl	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
μmol	: Mikromol



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Glukoz ve Fruktozun Kimyasal Yapıları.....	3
Şekil 2.2. Metabolik Sendroma Neden Olan Faktörler	5
Şekil 2.3. Bağırsak ve Karaciğerde Fruktoz Metabolizması	5
Şekil 2.4. Fazla enerji ve obezite ile metabolik sendromun risk faktörleri arasındaki ilişkiler.....	7
Şekil 2.5. <i>Lactobacillus plantarum</i> suşunun mikromorfolojik görüntüsü.....	15
Şekil 3.1. Western Blot yöntemi aşamaları	22
Şekil 3.2. Western Blot yöntemi blotlama aşaması; jeldeki protein bantların nitrosetülöz membrana aktarımı.....	23
Şekil 3.3. Western Blot yöntemi bloklama aşaması; spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitrosetülöz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması.....	24
Şekil 4.1. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda <i>Lactobacillus plantarum</i> (<i>L. plantarum</i>) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda protein kinaz B (Akt) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları.26	
Şekil 4.2. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda <i>Lactobacillus plantarum</i> (<i>L. plantarum</i>) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda insulin reseptör substrat 1 (IRS-1) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları.....	27
Şekil 4.3. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda <i>Lactobacillus plantarum</i> (<i>L. plantarum</i>) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları.....	28
Şekil 4.4. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda <i>Lactobacillus plantarum</i> (<i>L. plantarum</i>) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları	29
Şekil 4.5. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda <i>Lactobacillus plantarum</i> (<i>L. plantarum</i>) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda rapamisin protein	

kompleksinin memeli hedefi (mTOR) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları.....	31
Şekil 4.6. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda <i>Lactobacillus plantarum</i> (<i>L. plantarum</i>) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda sirtuin 1 (SIRT-1) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları.....	32
Şekil 4.7. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda <i>Lactobacillus plantarum</i> (<i>L. plantarum</i>) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda nükleer faktör kapp B (NF-κB) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları.....	33
Şekil 4.8. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda <i>Lactobacillus plantarum</i> (<i>L. plantarum</i>) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda tümör faktör alfa (TNF-α) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonlar	34

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1. Deney grupları ve diyet programları.....	18
Tablo 3.2. Ayırma ve yükleme jellerinin içerikleri.....	21



1. GİRİŞ

Meyvelerin birçoğunda doğal olarak bulunan bir şeker olan fruktoz, günümüzde endüstriyel tatlandırıcı olarak yaygın olarak kullanılmaktadır ve batı diyetlerinde yüksek miktarda tüketilmektedir. Yüksek fruktoz alımı, prediyabet ve metabolik sendrom gelişiminde giderek daha fazla ilişkili olarak kabul edilmektedir. Fruktoz kaynaklı metabolik bozuklukların altında yatan mekanizmalar hala tam olarak anlaşılammış olsa da çözülmeye başlamıştır. Hayvan ve insan çalışmalarında, yüksek miktarda tüketilen fruktozun insülin direnci, metabolik bozukluklar ve diyabet gelişmesine katkıda bulunan yağ oluşumundan sorumlu bir besin olduğunu gösteren önemli bulgular mevcuttur. Son yıllarda yapılan çalışmalar bu metabolik değişikliklerde yer alan mekanizmaların çözülmesine katkı sağlamaktadır (1).

Metabolik sendrom, insülin direnci temelinde ortaya çıkan klinik tablosunda glukoz tolerans bozukluğu, *diabetes mellitus*, obezite, esansiyel hipertansiyon, dislipidemi, proinflamatuvar ve protrombotik öğeleri bulunduran, ateroskleroz başlangıcının yer aldığı, kardiyovasküler hastalık riskinin artışı ile ilişkili olan bir risk faktörü topluluğudur. Son 20 yılda, dünya genelinde, obezite ve diyabet yaygınlığındaki artışla yakından ilişkili olarak, metabolik sendromlu hasta sayısında ciddi artış gözlenmektedir (2). Türkiye’de ise 35-70 yaş arasındaki nüfusun yaklaşık yarısını etkileyen önemli bir halk sağlığı sorunudur ve metabolik sendromun varlığı kardiyovasküler olay riskini iki katına çıkarmaktadır. Metabolik sendromun her bileşeni kardiyovasküler olay riskini artırır. Bununla birlikte, yüksek kan basıncı, yüksek açlık plazma glukozu ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)-kolesterol düşüklüğü, metabolik sendrom ile ilişkili kardiyovasküler riskinin ana belirleyicileridir (3).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 1998’te, diyabet, glukoz tolerans bozukluğu, bozulmuş açlık glisemisi veya insülin direnci ile beraber hipertansiyon, dislipidemi, hipertrigliseridemi veya düşük HDL, obezite veya mikroalbuminüriden en az ikisinin bulunmasını metabolik sendrom olarak tanımlamıştır (4).

Hareketsiz yaşam tarzı ile vücut kitle indeksi (VKİ)’nde artış metabolik sendromun artışını önemli derecede etkilemektedir. Ayrıca, diyet, metabolik işlev bozukluklarını önlemede ve temel sağlığın korunmasında en önemli rolü oynamaktadır.

Fruktoz, doymuş yağ ve çoklu doymamış yağ asitlerince zengin diyetin metabolik sendrom gelişimine neden olduğu gösterilmiştir (5).

Fruktoz tüketimi ve bununla birlikte metabolik sendrom görülme sıklığı son yıllarda çarpıcı bir şekilde artmıştır (6). Fruktozun, birçok moleküler sinyal faktörünün düzensizliği yoluyla metabolik sendroma ilerlemede rol oynadığı gösterilmiştir (7).

Bu tez çalışmasının amacı, sıçanlarda fruktoz ile oluşturulan metabolik sendromda, kardiyak protein kinaz B (Akt) / endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) yolağı üzerine *Lactobacillus plantarum*'un etkisinin incelenip insülin sinyal yolağı ve bağırsak mikrobiyota ilişkisini tanımlamak ve bir probiyotik bakteri olan *Lactobacillus plantarum*'un bu sistemler üzerine etkisini araştırmaktır. Fruktozun neden olduğu metabolik bozuklukta kalp dokusu üzerine *Lactobacillus plantarum*'un etkisinin yeterince incelenmediği görülmüştür. Günümüzde, dünya genelinde çok ciddi bir sorun olan metabolik sendroma yönelik tedavi yaklaşımları halk sağlığı için oldukça önemli bir yer teşkil etmektedir. Bu çalışma, çağımızda tüm dünyada beslenmenin önemli bir bileşeni olan fruktozun neden olduğu metabolik sendromda kardiyak Akt/eNOS yolağı ile *Lactobacillus plantarum* ilişkisinin anlaşılması ve bozulan yolakların aydınlatılmasında işlevsel sonuçlar ortaya konulmasına ve yeni tedavi alternatifleri sunulmasına olanak sağlayacaktır.

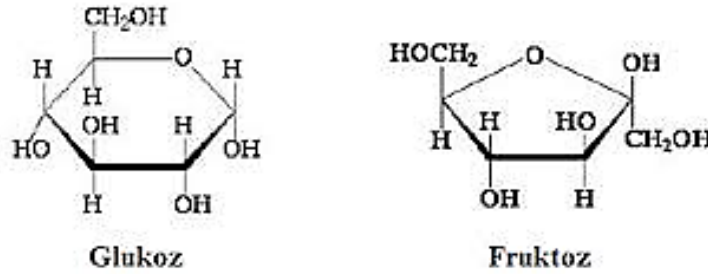
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fruktoz

Fruktoz, meyvelerde, balda ve bazı sebzelerde doğal olarak bulunan bir monosakkarittir. Ancak son zamanlarda fruktoz çoğunlukla alkolsüz içecekler, şekerli içecekler ve yüksek fruktozlu mısır şurubu gibi endüstriyel ve ticari ürünlerden de alınmaktadır. Meyve ve sebzeler gibi fruktoz içeren doğal gıdalar sadece küçük miktarlarda içerir; ayrıca fruktozları yavaş emilir. Bu nedenle, bu gıdaları tükettikten sonra serum fruktoz konsantrasyonundaki artış ihmal edilebilir düzeydedir (8).

2.1.1. Fruktozun Kimyasal Yapısı

Fruktoz, $C_6H_{12}O_6$ kimyasal formülü ile glukozun izomeri olan bir heksozdur. Glukoz karbon zincirinin 1. pozisyonunda bir aldehit grubuna karşı karbon zincirinin 2. pozisyonunda bir keto bulunması sebebiyle glukozdan farklıdır (Şekil 2.1). Kristalize fruktoz, yarı asetal ve iç hidrojen bağlarından dolayı, halkalı altı karbonlu bir yapıya sahiptir. Bu form D-fruktopiranoz olarak adlandırılır. Fruktoz, α -glukoz ile beraber sukrozun yapısını oluşturur (9).



Şekil 2.1. Glukoz ve Fruktozun Kimyasal Yapıları

2.1.2. Fruktozun Metabolik Etkileri

Fruktoz, diğer karbonhidratlara göre daha lipojeniktir ve glukozdan farklı olarak, glikolizin önemli bir hız sınırlayıcı yolu olan fosfofruktokinaz yolundan geçmeden gliserol-3-fosfata dönüştürülebilir. Bu nedenle, yüksek fruktoz tüketimi, kontrol edilmeyen yollardan trigliserit sentezinin nedeni olabilir. Hayvan çalışmalarına göre, toplam enerji diyetinin %60'ının fruktozlu tüketilmesi obezite, insülin direnci, dislipidemi ve hipertansiyon gibi metabolik sendromun bazı bileşenlerine neden olabilir (10).

On haftalık bir klinik çalışmada fruktozun, dislipidemiye neden olduğu, açlık kan şekerini ve insülin seviyelerini artırdığı ve insülin direncine neden olduğu tespit edilmiştir (11). Sağlıklı 74 gönüllü erkekte yapılan bir klinik çalışmada, fruktozun sistolik/diyastolik kan basıncını, açlık trigliseritini, açlık insülinini ve homeostatik model değerlendirme (HOMA) endekslerini artırdığı ve HDL kolesterolü önemli ölçüde azalttığı sonucuna varılmıştır (12).

2.2. Metabolik Sendrom

Metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıkların gelişimini etkileyen glukoz intoleransı, insülin direnci, obezite, dislipidemi ve hipertansiyon gibi çeşitli metabolik faktörler içerir (13).

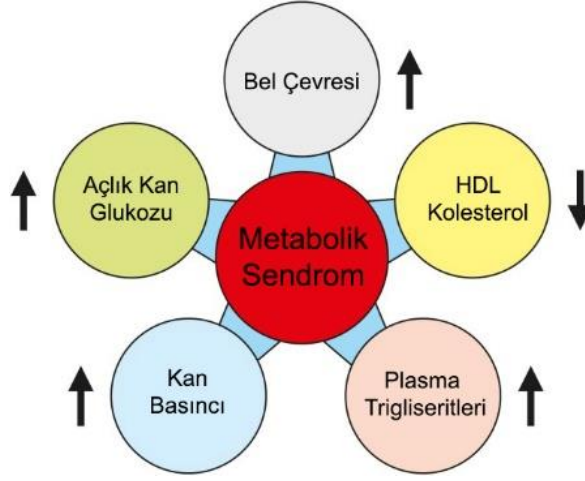
2.2.1. Tanımı

Metabolik sendrom, diyabet ve kardiyovasküler ölüm riskini doğrudan arttıran fizyolojik, biyokimyasal, klinik ve metabolik değişiklikler olarak tanımlanmaktadır (5). Metabolik sendrom, obezite, insülin direnci, dislipidemi ve hipertansiyonu da kapsayan patolojiler kümesidir (14).

2.2.2. Metabolik Sendroma Neden Olan Faktörler

3. Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Erişkin Tedavi Panelinde (NCEP/ATP III), açlık kan şekeri artışı, abdominal obezite, hipertrigliseridemi, HDL düşüklüğü ve hipertansiyondan en az üçünün beraber bulunması metabolik sendrom olarak kabul edilmiştir (15).

Obezite, aşırı yağ birikimi ve VKİ>30 olarak tanımlanabilir (16). Metabolik sendrom ise, obezite, insülin direnci, aterosklerotik dislipidemi (yüksek trigliserit, düşük HDL) ve hipertansiyonun birlikte ortaya çıkmasıdır (17).

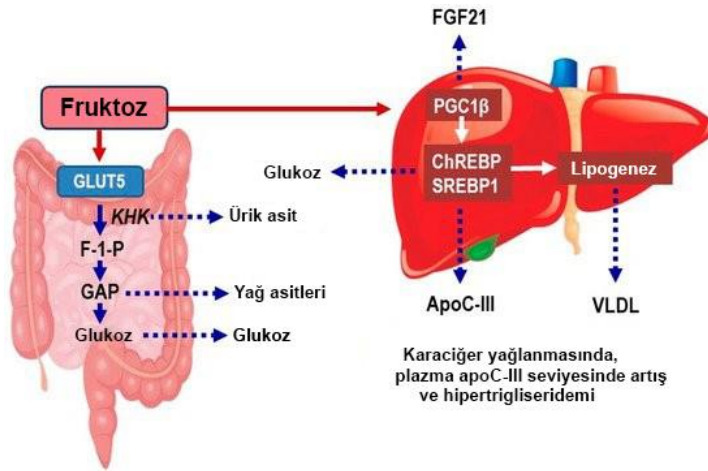


Şekil 2.2. Metabolik Sendroma Neden Olan Faktörler

Çocukluk ve ergenlik döneminde metabolik sendromun klinik tanısı için kriterler; bel çevresi ölçüsünün fazlalığı, açlık kan glukozu yüksekliği, HDL kolesterol düşüklüğü, kan basıncı yüksekliği ve plazma trigliseritlerin yüksekliğidir. Bu yaş grubundaki metabolik sendromun tanımı, obezite ve beraberinde iki veya ikiden fazla bileşenin varlığıdır (Şekil 2.2) (18).

2.2.3. Fruktoz ve Metabolik Sendrom

Fruktoz ve glukoz, formülleri birbirine çok benzeyen monosakkaritler olmasına rağmen, metabolizma yolları hem enterositlerde hem de hepatositlerde farklıdır (19). Fruktoz absorpsiyonuna esas olarak, enterositlerdeki lümen boyunca ince bağırsaktaki enterositlerin apikal sınırında eksprese edilen bir fruktoz taşıyıcısı olan GLUT5 aracılık eder (Şekil 2.3) (20).



Şekil 2.3. Bağırsak ve Karaciğerde Fruktoz Metabolizması

Fruktoz, ince bağırsakta ketoheksokinaz (KHK) tarafından fruktoz-1-fosfata (F-1-P) metabolize edilir. F-1-P daha sonra aldolaz B (ALDOB) tarafından dihidroksiaseton fosfat ve gliseraldehite dönüştürülür. Gliseraldehit, trioz kinaz tarafından gliseraldehit 3-fosfata (GAP) fosforile edilir. GAP ve diğer trioz fosfatlar, glukoneogenez yoluyla glukozu yeniden sentezlenir veya oksitlenen veya lipogenez için kullanılan laktat veya asetil-CoA'ya metabolize edilir. Karaciğerde, fruktoz, karbonhidrata duyarlı element bağlayıcı protein (ChREBP) ve sterol düzenleyici element bağlayıcı protein 1 (SREBP1c) transkripsiyon faktörlerini ve bunların koaktivatör peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör- β 'yi (PGC1 β) aktive eder. Bu, fruktoliz, glikoliz, lipogenez ve glukoz üretimini uyaran yolların düzenlenmesiyle sonuçlanır. Toplu olarak, bu artan hepatik glukoz üretimi, hepatik insülin duyarlılığını etkileyebilecek lipit ara ürünlerinin üretimi, apolipoprotein C3 (APOC3) ekspresyonunun artması ve VLDL'nin sekresyonunun artması ile sonuçlanır (Şekil 2.4). Artan APOC3 ekspresyonu, bir lipoprotein lipaz inhibitörü ve lipoprotein kalıntılarının hepatik klirensi olan plazma apoC-III'ün artmasına ve hipertrigliseridemiye ve aterojenik trigliseritten zengin lipoprotein (TRL) kalıntılarının birikmesine neden olur (21).

Basit bir ketoz monosakkarit olan fruktoz, doğrudan ince bağırsağın sınırı boyunca glukoz taşıyıcılarından GLUT5 tarafından enterosit içine emilir, daha sonra enterositlerin bazolateral kutbunda bulunan GLUT2 tarafından kana taşınır (22).

2.2.4. Metabolik Sendrom ve Kardiyovasküler Hastalıklar İlişkisi

Stres, aşırı çalışma, sigara ile beraberinde yüksek kalorili ve besin değeri düşük diyet intestinal dengeyi bozmakta ve vücudun doğal savunma mekanizmalarını zayıflatmaktadır. Uzun dönemde bu durum metabolik sendroma yol açmaktadır. NCEP/ATP III kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili metabolik sendromun, tanımlı, altı bileşenini raporlamıştır. Bu bileşenler; abdominal obezite, aterojenik dislipidemi, hipertansiyon, insülin direnci, proinflamatuvar durum ve protrombik durumdur (23).

Metabolik sendromlu çoğu kişi kategorik olarak obezdir ($VKİ \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Bunlar arasında, üst vücut obezitesi baskın olan bireyler metabolik sendroma en yatkın olanlardır. İç organlardaki yağlanma, metabolik sendromla güçlü bir şekilde ilişkilidir (24).



Şekil 2.4. Fazla enerji ve obezite ile metabolik sendromun risk faktörleri arasındaki ilişkiler

Fazla enerji ve obezite ile metabolik sendromun risk faktörleri arasındaki ilişkiler için mevcut kanıtlar, fazla enerji alımının ve eşlik eden obezitenin, tüm metabolik risk faktörlerinin ana nedenleri olduğunu göstermektedir (Şekil 2.4) (25).

Metabolik sendrom için aterosklerotik kardiyovasküler hastalık (ASCVD) şu faktörlerden oluşur: (i) aterojenik dislipidemi, (ii) yüksek kan basıncı, (iii) diyabet, (iv) protrombotik durum ve (v) proinflamatuvar durum (26).

Aterojenik Dislipidemi

Metabolik sendromu olan çoğu kişi aterojenik dislipidemi sergiler (27). Aterojenik dislipideminin ana nedeni, apolipoprotein (Apo) B içeren lipoproteinlerin yükselmesidir. Bunlara düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), HDL ve yüksek trigliseritler dahildir.

Yüksek kan basıncı

Metabolik sendromun ikinci önemli etmeni, kan basıncındaki yükselmedir (28), (26). Yüksek kan basıncı ile obezite ve kalori fazlalığı arasındaki ilişkiyi açıklamak için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Bunlar arasında sodyumun artmış renal reabsorpsiyonu (muhtemelen insülin direncinden kaynaklanır), intravasküler hacmin genişlemesi, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi ve sempatik sinir sisteminin aktivasyonları, adipoz dokudan anjiyotensinojen salınımı ve insülin direnci vardır. Mevcut fikir birliği, bu faktörlerin kan basıncını yükseltmek için birlikte hareket etmesidir (29, 30).

Proinflamatuvar durum

Yangı ve metabolik hastalıklar arasındaki bağlantı giderek daha fazla kabul görmektedir. Obezite, düşük dereceli, sistemik bir yangının altında yatabilir (31).

Makrofajlar, aşırı yağ dokusunu istila edip sitokinlerin salınmasına neden olarak sistemik yangıyı tetikleyebilirler (32). Bu durum C-reaktif protein (CRP) gibi akut faz reaktanlarında bir artışa sebebiyet verebilmektedir (33). Düşük dereceli yangıdan aşırı yağ dokusu sorumlu olsa da obeziteden bağımsız aşırı beslenme de yangısal yanıtlara neden olabilmektedir (34, 35). Yağ dokusundan salınan sitokinler, iskelet kasında insülin direncini uyarabilir, hipofiz-adrenal eksenini değiştirebilir ve pankreas beta hücrelerinin kaybını hızlandırabilir (36). Son olarak, aterosklerotik lezyonlardaki düşük dereceli yangı, akut kardiyovasküler olaylara neden olarak plaklarda kopma olasılığını artırabilmektedir (37).

Protrombotik durum

Obezite ve metabolik sendromu olan bireylerin hemostatik sistemde aterosklerotik kardiyovasküler hastalığa yatkın hale getirebilecek çoklu anormalliklere sahip oldukları görülmektedir. Bunlar arasında endotel disfonksiyonu, pıhtılaşmada artma, fibrinolizde bozulma ve trombosit işlev bozukluğu vardır (38). Spesifik anormallikler, plazminojen aktivatör tip 1, doku faktörü, fibrinojen ve faktör VIII aktivitesinin yüksek inhibitör seviyelerini içerir (38, 39). Metabolik sendromu olan kişilerde başlangıçtaki trombosit reaktivitesi artar ve aspirine karşı daha düşük antitrombotik yanıt vardır (40). Son olarak, bu sendromu olan hastaların venöz tromboz açısından daha yüksek risk altında olması muhtemel görünmektedir (25).

2.2.5. Metabolik Sendrom ve İnsülin İlişkisi

İnsülin

İnsülin, pankreasın beta adacıklarından salgılanan ve temelde hücrelerde glukoz internalizasyonuna neden olan peptit yapılı anabolik bir hormondur. Kan glukozundaki artışa cevap olarak pankreastan salınan insülin hormonu, ilk olarak portal dolaşım yoluyla karaciğere taşınır. Sağlıklı bireylerde yapılan bir çalışmada, insülinin yaklaşık %80'inin hepatositlerde ilk geçiş etkisi ile metabolize edildiği gözlemlenmiştir (41). İnsülinin metabolize edilmeyen kısmı ise sistemik kan dolaşımına katılarak hedef dokuları olan karaciğer, yağ dokusu, iskelet kası ve diğer periferel dokulara taşınır. İnsülin karaciğerde; glukolizisi, glikojen sentezini ve lipojenezi artırır, glukoneojenezi ise azaltır (42). İnsülin yağ dokusunda, lipolizi baskılar ve lipogenezi artırır. İskelet kasında ise glikojen sentezini artırarak glukoz kullanımını ve depolanmasını destekler (43). Tüm bunlara ek

olarak insülin; aminoasit sentezini arttırarak protein metabolizmasında da önemli rol oynamaktadır (44).

İnsülin Sinyal Yolağı

İnsülin, tirozin kinaz reseptörü olan insülin reseptörlerine bağlanarak etki göstermektedir. Bu insülin reseptörleri, kinaz etkisi sayesinde insülin reseptör substratları olan IRS-1 ve IRS-2'yi fosforile ederek insülin sinyalizasyonunu başlatmaktadır. IRS-1 ve IRS-2 fosforile olduktan sonra, hücreiçi efektörlerden biri olan fosfoinozidid-3-kinazı (PI3K) aktive eder ve fosfatidilinozitol difosfatın, fosfatidilinozitol trifosfata (PIP3) dönüşümünü sağlar (42). PIP3 de, Akt'nin fosforilasyon sonucu aktif formu olan fosfo-Akt (p-Akt)'ye çevrilmesini sağlar. Akt ise hepatik glukoz ve lipit metabolizmasında görevli proteinlerin fosforilasyonunda görev alarak insülin sinyal iletiminde önemli rol oynamaktadır. Literatür incelendiğinde, Akt'nin hücre içerisinde birçok metabolik olayı düzenlediğini görülmektedir (45). Akt aktive olduktan sonra; karaciğer dokusu glukoz taşıyıcılarından GLUT2 ve GLUT5'in regülasyonu ile hücre içerisine glukoz ve diğer monosakkaritlerin internalizasyonunun sağlaması (42) glikojen sentaz kinaz-3'ü uyararak glikojen sentezinin artırılması ve forkhead box proteinlerinin (FOXO) ekspresyonunu azaltarak glukoneogenezin baskılanması bildirilmektedir (46). Yapılan çalışmalar, PI3K/ Akt yolağı, eNOS ve fosfo-eNOS (p-eNOS) arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. İnsülinin karaciğerde bu sinyal yolağı üzerinden farklı molekülleri etkileyerek hücre büyümesinde gerekli olan proteilerin sentezini arttırdığı, mitokondriyal biyogenezi düzenlediği ve otofajiyi engellediği de bildirilmiştir (47). Akt, insülin sinyal iletiminde; hepatik glukoz ve lipit metabolizmasında görevli proteinleri fosforilleyerek önemli rol oynamaktadır. Hepatik rapamisin protein kompleksinin memeli hedefinin (mTORC2) *knock out* hayvanlarda hiperglisemi ve hiperinsülinemi ile birlikte Akt'nin ser473 fosforilasyonunu arttırdığını, SREBP1c'nin aktivasyonunun ise engellediğini ve mTORC2'nin tüm vücut metabolik homeostazını kontrol etmek amacıyla insülin ile indüklenen Akt sinyalizasyonu ile hepatik glukoz ve lipid metabolizmasını düzenlediği gösterilmiştir (48). Akt aktivasyonu esas olarak PIP3'ün bağlanmasıyla sağlanır. Bu, hücre zarındaki yukarı akış kinaz, 3-fosfoinositide bağımlı protein kinaz 1 tarafından fosforilasyon ve aktivasyon için Akt'nin kinaz alanını açığa çıkaran bir yapısal değişiklikle sonuçlanır. Son çalışmalar sirtuin izoformlarının, sessiz bilgi düzenleyici (silent information regulator)1 (SIRT1), SIRT3 ve SIRT6'nın Akt aktivasyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (49). SIRT1,

histon deasetilaz sınıf III (HDAC) protein ailesinin bir üyesidir. Sınıf III HDAC'ler, enzim aktiviteleri için nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺) gereksinimlerine göre diğer sınıflardaki HDAC'lerden ayırt edilir (50). SIRT1, PIP3 bağlanmasını ve aktivasyonunu teşvik etmek için Akt'yi deasetil hale getirirse de SIRT3 (reaktif oksijen türleri) ROS'in aracılık ettiği Akt aktivasyonunu kontrol eder ve SIRT6, Akt'yi kromatin düzeyinde transkripsiyonel olarak bastırır (49). Ayrıca SIRT1'in pankreas β hücrelerinde insülin salgılanmasını artırdığı, yağ dokusunda peroksizom proliferatör-aktive reseptör (PPAR) γ inhibisyonu yoluyla yağ oluşumunu baskıladığı ve yağ yıkımını da değiştirdiği bildirilmektedir (51).

İnsülin Direnci

Bugüne kadar yapılan birçok çalışma bize metabolik sendromun altında yatan temel nedenin insülin direnci olduğunu göstermektedir. Tanımlamak gerekirse, insülin direnci, mevcut bulunan insülin konsantrasyonuna rağmen vücuttaki biyolojik yanıtta azalma olarak açıklanabilir (52). İnsülin direnci sonucu hiperglisemi ve hipertrigliseritemi görülüp, bunların akabinde oksidatif stres artarak organlarda tahribata ve apoptotik durumlara sebep olduğu tespit edilmiştir (53). İnsülin ve glukoz seviyeleri yüksekliğinin oksidatif stresi arttırdığı ve bunun sonucu olarak da inflamatuvar faktörlerin uyarıldığı ve insülin sinyalizasyonunda aksamalara sebep olduğu bilinmektedir. İnsülinin hücrelerde yeterli yanıt oluşturmamasındaki temel nedenin bozulmuş sinyalizasyon ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (43). Bu durum sonucunda ise insülin direnci ve yangı arasında bir döngüye dönüşebileceği görüşü ortaya çıkmıştır (54).

DNL de, özellikle doymuş olan serbest yağ asitleri, vasküler hücrelerde NAD(P)H oksidazın protein kinaz C'ye bağımlı aktivasyonu yoluyla ROS üretimini uyarabilir (55). Serbest yağ asitleri ve trigliserit, diasilgliserol ve seramidler gibi diğer lipit metabolitleri, protein kinaz C, c-jun N-terminal kinaz (JNK) ve nükleer faktör kappa (NF-KB) (I κ B) kinaz inhibitörü dahil proinflamatuvar kinazları aktive eder, böylece hepatik veya ekstrahepatik dokularda insülin sinyalini bozar (56). Seramidler sfingosin üretir, ardından sfingosin kinaz (SphK) tarafından sfingosin 1-fosfat (S1P) üretir, yüksek fruktoz tüketiminin neden olduğu SphK1/S1P sinyalinin sıçan karaciğerinde NF- κ B yolunu aktive edebileceğini ve bunun da yangının yanı sıra insülin direncini de hesaba kattığı bulunmuştur (57). Gelişmiş lipoksidasyon son ürünleri, oksidatif stres koşulu altında oluşur ve daha sonra proteinlerle eklentiler oluşturularak insülin duyarlılığını azaltabilir

(58). Ürik asit ise; fruktoz kaynaklı ürik asit üretimi, karaciğer, yağ, iskelet kası, böbrek, aort ve endotel hücreleri gibi karaciğer dışı dokularda ROS oluşumundan sorumludur. Lokal oksidatif stres hepatik steatozu, iskelet kası hasarını, böbrek fonksiyon bozukluğunu ve pankreas iltihabını teşvik eder (59). Fruktoz kaynaklı ürik asit, interlökin (IL)-1 β , tümör nekroz faktörü (TNF)- α , dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)- β 1 ve monosit kemotaktik protein 1'in uyarılmasıyla inflamatuvar yanıtı tetikleyerek ROS indüksiyonu sonucu inflamatuvar hasarı daha da kötüleştirir (60).

2.2.6. Bağırsak Mikrobiyotası ve Metabolik Sendrom İlişkisi

Bağırsak mikrobiyotası, özellikle insan vücudundaki hücrelerden daha fazla sayıda gastrointestinal sistemi kolonize eden bir dizi mikroorganizmadır (61). Mikrobiyota, mikroorganizmaların büyük çeşitliliğinden kaynaklanan hastalıkların alevlenmesinin yanı sıra konağın sağlığı ile doğrudan ilişkilidir ve bu da onu en önemli çevresel unsur yapar (62).

Mikrobiyotadaki bir dengesizliğin, azot döngüsündeki çeşitliliğini ve miktarını tehlikeye atacak değişikliklerin bir sonucu olabileceği bilinmektedir (63). Mikrobiyotadaki dengesizlik süreci, obez bireylerin bağırsak mikrobiyotasında iki filum, Firmicutes ve Bacteroidetes arasında yeni bir oran oluşturabileceği ileri sürülmüştür (64) (65). Öte yandan, mikrobiyotadaki dengesizlik, bugüne kadar açıklanamayan kronik yangısal hastalıkların patogenezi için daha da kötüleştirilebilir (61). Genetik ve çevresel faktörler arasındaki etkileşimler nedeniyle, bağırsak mikrobiyotası obezite, diyabet ve metabolik sendrom insidansına da katkıda bulunur (66). Obezite ve ilişkili metabolik bozukluklarla ilgili sistemik düşük dereceli yangıya bağırsak mikrobiyotasının katılımına dair birkaç kanıt vardır (67, 68). Bu anlamda, mikrobiyotadaki dengesizliğin önlenmesinin yanı sıra bağırsak epitel bariyer işlevinin korunması, metabolik bozuklukların ve obeziteye bağlı metabolik endotokseminin tedavisi için anahtar rol oynadığı tespit edilmiştir (69).

Metabolik endotoksemi, obezitede sıklıkla gözlenen yangı öncüsü ve oksidan bir ortam ile ilişkilidir. Bağırsaktan dolaşıma geçen plazma lipopolisakkaritin (endotoksin) düşük dereceli yükselmesi ile ilişkili klinik bir durumdur (70). Çalışmalar, bu endotoksinin, belirti göstermeden seyreden yangı sürecinde kronik metabolik

hastalıkların patojenitesini şiddetlendirdiğini ve sıklıkla tip 2 diyabet, dislipidemi, insülin direnci ve obezitesi olan kişilerde gözlemlendiği bildirilmiştir (71).

2.2.7. Metabolik Sendromun Tedavi Yöntemleri

Obezite, artan tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkili olduğundan, bu çocukluk ve ergenlik döneminde yetişkinliğe kadar devam edebilir. Bu nedenle, yaşam tarzı değişiklikleri, özellikle kiloyu normal sınırlar içinde tutmaya odaklanarak, çocukluk ve ergenlik döneminde metabolik sendromun önlenmesi için ana seçeneklerdir (72). Yaşam tarzı değişikliği, sağlıklı beslenme ve uygun miktarda toplam kalori yemeyi, fiziksel aktiviteyi artırmayı ve doğru kiloyu korumayı içerir (73).

Yaşam Tarzı Değişikliği

Diyet

Diyet içerisindeki yüksek kolesterolün kardiyovasküler hastalık, dislipidemi, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), alkolik olmayan steatohepatit (NASH) ve safra taşı hastalığı için ciddi bir risk faktörüdür. Bu hastalıklar ise metabolik sendrom oluşturan ana bileşenlerdir (74). Diyet karbonhidratları genellikle iki türe ayrılır: basit ve karmaşık. Karmaşık karbonhidratların günlük karbonhidrat alımının çoğunu oluşturması önerilir (75). Eklenen şekerlerin ve doğal olarak oluşan basit şekerlerin, kimyasal yapıları aynı olmasına rağmen, eklenen şekerler daha az vitamin ve mineral içerir. İlave şeker alımı kan şekerini hızla yükseltir ve insülin direnci riskini artırır. Düşük glisemik indeksli gıdalar hiperlipidemi ve hiperglisemiye iyileştirebilirken, yüksek glisemik indeksli gıdalar insülin direnci ve metabolik sendrom riskini artırabilir. (76, 77).

Fiziksel Aktivite

Epidemiyolojik araştırmalar, sağlıksız beslenme alışkanlıklarıyla birlikte hareketsiz bir yaşam tarzının insülin direnci, tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalık, NAFLD ve NASH riskini artırdığını ortaya koymuştur (78). Düşük fiziksel aktivitenin metabolik sendromun artması ile ilişkili olduğunu, yüksek fiziksel aktivitenin ise metabolik sendromun gelişimine karşı koruma sağladığını gösterilmiştir (79). Gerçekten de daha yüksek kardiyorespiratuar kondisyon ve kapsamlı fiziksel aktivitenin, glukoz metabolizmasını ve insülin duyarlılığını iyileştirdiği ve kardiyovasküler hastalık

mortalitesinin yanı sıra tip 2 diyabet, NAFLD ve NASH riskini azalttığı gösterilmiştir (80).

Farmakolojik

Metabolik sendroma dahil olan bireysel risk faktörlerinin yeterli bir şekilde düzeltilmesi için çoğu zaman çoklu farmakolojik müdahaleler gereklidir (81). Bireysel risk faktörlerini hedef alan çeşitli farmakolojik müdahaleler, genel popülasyonda daha sonraki kardiyovasküler hastalık ve mortalite ile ilgili faydalar göstermiştir (82).

Aterojenik dislipidemi tedavisi

Apo B içeren lipoproteinler dislipidemi tedavisinin birincil hedefidir. Bu lipoproteinlerin kabul edilebilir bir ölçüsü non-HDL-C'dir (83). İkincil önlemede, non-HDL-C'yi <100 mg/dL'ye düşürmek mantıklıdır; birincil korunmada makul bir hedef <130 mg/dL'dir. LDL-C için sırasıyla <70 mg/dL ve <100 mg/dL azalmalarına karşılık gelirler. Metabolik sendromlu hastalar, ASCVD için yaşam boyu yüksek riskli bir yörüngeye sahiptir. İkincil korunma için, non-HDL olmayan <70 mg/dL'ye en iyi yüksek yağunluklu statinlerle (örn. atorvastatin 80 mg veya rosuvastatin 20-40 mg) ulaşılır (84).

Kan basıncının kontrolü

Obezite veya metabolik sendromu olan hastalar için bazı araştırmacılar (85) anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörlerinin veya anjiotensin reseptör blokörlerinin (ARB) birinci basamak tedavi olması gerektiğine inanmaktadır. Bu ilaç grupları, insülin direncini veya diğer metabolik risk faktörlerini uyarımazlar. Bunların aksine, beta-1 reseptör blokerleri (örn., atenolol ve metoprolol) insülin direncini artırır ve potansiyel olarak metabolik sendromu kötüleştirir (86) Seçici olmayan beta/alfa-1 reseptör blokerleri (örn. karvediol) bu olumsuz metabolik etkilere sahip değildir ve metabolik sendromlu hastalar için tercih edilebilmektedir (87). Tiyazid diüretikleri insülin direncini artırır, hem tiyazidler hem de beta blokerler ASCVD'yi azaltır. Bu nedenle metabolik sendromlu hastalarda bu ilaçlardan birinin mi yoksa her ikisinin mi kullanılacağı konusunda klinik kanıtlara ihtiyaç vardır (88).

Hiperглиsemi yönetimi

Metabolik sendromlu hastalarda genellikle bozulmuş açlık glukozu, glukoz intoleransı veya hemoglobin A1C (HbA1C) %5.7–6.4'ten oluşan prediyabet vardır. Bu hastalarda en önemli hedef, diyabete dönüşümü önlemektir. Tedavinin ilk hedeflerinin

vücut ağırlığının %10'u kadar kilo kaybı ve fiziksel aktiviteyi haftada en az 150 dk/hafta orta aktiviteye çıkarmak olduğu konusunda genel bir fikir birliği vardır (89). Bu tür bir yaşam tarzı değişikliği, prediyabetin diyabete dönüşüm oranını yarıya indirecektir. Metformin tedavisi de aynı şekilde prediyabetin diyabete dönüşümünü yavaşlatacaktır, ancak yaşam tarzı değişikliğinden daha az etkilidir (90).

2.3. Probiyotikler

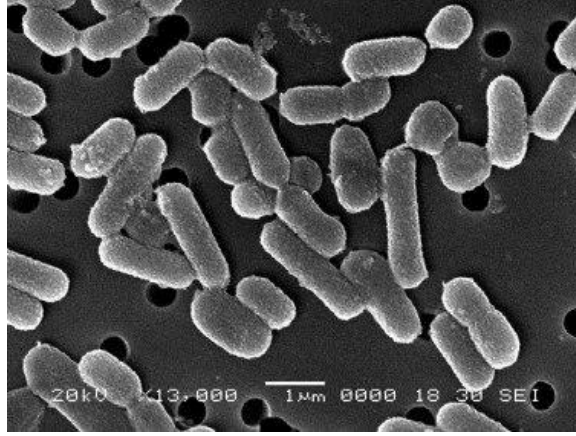
Sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle tüketiciler, biyoaktif bileşikleri fonksiyonel bir içerik olarak diyetlerine dahil etmeye giderek daha fazla ilgi duymaktadır. Bu biyoaktif bileşikler arasında probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotik gıdalar fonksiyonel gıda pazarında en karlı olanlar olarak öne çıkmaktadır (91).

Hill ve arkadaşları Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Birliği'nde (ISAPP), probiyotik teriminin doğru kullanımıyla ilgili bir öneride bulundu. "Yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar". Kanada ve İtalya'da, sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotasını destekleme konusunda probiyotiklerin yararı kabul görmektedir ve genel yaklaşım günlük 1×10^9 koloni oluşturan birim (CFU) alımıdır (92).

Birçok ticari ürün 10^9 ila 10^{10} CFU/doz arasında değişen probiyotik tür miktarları sunsa da daha düşük seviyelerde faydalı etkiler gösteren ürünler vardır, diğer ürünler ise büyük miktarlar gerektirir; bu nedenle probiyotik suşlar içeren ürünler için genel bir doz belirlemek mümkün değildir (93). Bu anlamda, sağlık yararları için gereken takviye süresi, probiyotik suş ve ilgili doz seçimi kadar önemlidir. Probiyotik mikroorganizma seçimi için gereken minimum kriterler şunlardır: (i) probiyotik mikroorganizma, cins ve suş bazında belirtilmelidir; (ii) canlı bir probiyotik suş içermelidir; (iii) raf ömürlerinin sonuna kadar faydalı etkileri teşvik etmeye yetecek kadar uygun dozlarda uygulanmalıdır (seriler arasında minimum farklılıklar ile); (iv) insanlarda etkinliği doğrulayan kontrollü çalışmaları göstermelidir (93).

Bilinen başlıca patentli probiyotik mikroorganizmalar arasında, *Bifidobacterium* (longum, catenulatum, breve, animalis, bifidum) ve *Saccharomyces boulardii*. *Enterococcus faecium* ve *Bacillus* (coagulans, subtilis, laterosporus) gibi mikroorganizmaların uygulamaları da anlatılmaktadır (94). *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine ait probiyotik suşlar, ticari suşlar arasında daha yaygındır (95, 96).

2.3.1. *Lactobacillus Plantarum*'un Özellikleri



Şekil 2.5. *Lactobacillus plantarum* suşunun mikromorfolojik görüntüsü

L. plantarum, fermente gıdalarda ve mide-bağırsak yolunda yaygın olarak bulunan ve potansiyel bir başlangıç probiyotik olarak gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bir gram pozitif laktik asit bakterisidir. Son zamanlarda, probiyotiklerle birlikte gıda tüketimi muazzam bir şekilde artmıştır. *L. plantarum* geleneksel olarak süt, et ve sebze fermantasyonu için kullanılmaktadır. Bu tür geleneksel kullanımı nedeniyle, *L. plantarum*, en uzun süredir kullanılan *Lactobacillus* türlerinden biridir ve “probiyotik” terimi yaygınlaşmadan önce bile insanlar tarafından uzun süredir gıda olarak kabul edilmektedir. Bunun yanı sıra laktik asit bakterileri arasında *L. plantarum*, antioksidan, antikanser, antiinflamatuvar, antiproliferatif, obezite karşıtı ve antidiyabetik özellikleri ile tıp alanındaki geniş uygulamaları nedeniyle de birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir (97).

Fizyolojik ve biyokimyasal tanımlama çalışması, suşun katalaz negatif, gram pozitif olduğunu gösterdi. Bu yeni suş, farklı bir tuz aralığına, özellikle NaCl ve safra tuzlarına, pH 4.0-8.0, 28-45 °C sıcaklıklara ve sırasıyla 37 °C ve pH 7.0'da optimum hücre büyümesine toleranslı olduğu tespit edilmiştir. Literatüre benzer şekilde tanımlanan suş, bu özellikleri ile üst gastrointestinal yolda düşük pH, litik enzimler ve safra tuzları gibi çeşitli biyolojik engellerden kurtulmuştur (98). Karbonhidrat asimilasyon testi, suşun çok çeşitli şekerleri, özellikle sırasıyla monosakkaritleri ve disakkaritleri kullanabildiği sonucuna varmıştır. Ayrıca, amilaz ve proteaz gibi hücre dışı enzimlerin üretimi de avantajlı olduğu tespit edilmiştir. Yukarıda bahsedilen sonuçlar yaygın olarak *L. plantarum* suşlarında gözlenmiştir (Şekil 2.5) (99).

2.3.2. *Lactobacillus Plantarum*'un Metabolik Etkileri

Literatürde, *L. plantarum* suşlarının tıp alanındaki uygulamaları için geniş çapta çalışıldığı gözlenmektedir. Özellikle, bu suşların kardiyovasküler hastalık riskinin aşağı regülasyonuna sahip olduğu (100), bağırsak epitel hücrelerinde yangı öncüsü sitokinler (101) ve çeşitli konsantrasyonlarda ekzopolisakkarit ürettiği bildirilmiştir. Antikanser etkilere sahip olmakla beraber (102), böbrek taşlarını azalttığı (103), dendritik hücrelerde splenositleri arttığı (104) ve yağ dokusundaki kolesterol seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir (105).

Son yıllarda yapılan pek çok çalışmada, probiyotikler tarafından bağırsak mikrobiyotasının modülasyonunun bazı parametreleri iyileştirebileceği gösterilmiştir (106, 107). Bu bağlamda insan mikrobiyotasının önemli bileşenlerinden biri olan *Lactobacillus* (L.) türleri ile takviyenin yüksek fruktozlu veya yüksek yağlı beslenen sıçanlarda ve genetik tip 2 diyabetik farelerde hiperglisemi, hiperinsülinemi ve dislipidemiye sınırladığı tespit edilmiştir. Yüksek fruktozla beslenen sıçanlarda, *L. curvatus* ve *L. plantarum* veya *L. reuteri* GMNL-263'ten oluşan bir probiyotikle tedavi, plazma insülin ve trigliserit düzeylerinin yanısıra lipojenik genler SREBP-1 ve yağ asidi sentazın (FAS) hepatik ekspresyonunu azalttığı görülmüştür (108, 109). *L. rhamnosus* GG'nin, lipit metabolizmasında yer alan genlerin hepatik ekspresyonunu düzenleyerek farelerin karaciğerinde fruktoz kaynaklı yağ birikimini hafiflettiği gösterilmiştir (110)

Probiyotikler etkilerin moleküler mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen, etkilerin çoğu obezite ve ilgili bozuklukların tedavisinde yardımcı olabilir. *L. plantarum* HAC01, yüksek yağlı diyetle (HFD) beslenen obez farelerde mezenterik yağ dokusunun genişlemesini baskıladığı (111); *L. plantarum* MTCC5690, HFD ile beslenen bir fare modelinde bağırsak bütünlüğünü iyileştirdiği, sistemik lipopolisakarit seviyelerini azalttığı (bir proinflamatuvar etki gösterir), glukagon benzeri peptid-1 seviyelerini arttırdığı, endoplazmik retikulum stresini azalttığı ve ardından periferik insülin duyarlılığını iyileştirdiği tespit edilmiştir (106). *L. plantarum* K21, yağ kütlesi birikimini baskılayarak, bağırsak bariyer fonksiyonunu güçlendirmiş ve bağırsak bakterilerinin bileşimini değiştirir (112, 113).

Bunlarla birlikte, insan beslenmesinde önemli bir konu olan ve yaygın şekilde kullanılan fruktozlu diyetle özellikle insülin sinyalizasyonu ile ilgili olarak laktik asit bakterilerinin probiyotik suşlarının kardiyovasküler etkileri hakkında bilgiyi artıracak yeni çalışmalar tasarlanmalıdır. Burada, *L. plantarum* takviyesinin, fruktozla beslenen sıçanların kalplerinde, Akt/eNOS yolağı üzerinde bir etkisi olup olmadığını araştırdık.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deney Hayvanları

Bu tez çalışması Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan etik kurul yönergesindeki ilkelere uygun olduğuna dair onay alındıktan sonra (G.Ü.ET-18.080 kod numaralı, Evrak Tarih ve Sayısı: 22.11.2018-E155453, Toplantı Tarihi: 16.11.2018, Toplantı Sayısı: 10), etik kurallara uygun bir şekilde hayvan refahı ve hayvan haklarına riayet edilerek yürütüldü.

Deneylerde kullanılan sıçanlar, Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (GÜDAM) temin edildi. Çalışmada 22 *Wistar Albino* ırkı erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlara günlük 12 saat aydınlık; 12 saat karanlık olacak şekilde bir aydınlatma periyodu uygulandı. Sıçanlar, 22 ± 2 °C sıcaklıkta, 55 ± 5 nispi nem bulunan havalandırma sistemine sahip bir ortamda özel olarak hazırlanan ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Çalışma süresince sıçanlara standart pelet yem ve su *ad libitum* olarak verildi. Tüm gruplardaki sıçanlar, standart sıçan yemi (kuru madde: %88, protein: %23, selüloz: %7, ham kül: 8, HCl'de çözülmeyen kül: %2, kalsiyum: %1.5, fosfor: %0.9, sodyum: % 0.7, tuz (NaCl): %1, metiyonin: 0.3, lizin:1) ile beslendi. 22 sıçan kontrol grubu 8, frukoz grubu 7 ve fruktoz + *L. plantarum* grubu 7 sıçan olacak şekilde rastgele 3 gruba ayrıldı. Gruplar ve diyet ile ilgili bilgiler Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Deney grupları ve diyet programları

Gruplar	Yem	Sıvı	Liyofilize Bakteri
Kontrol	SSY	İçme Suyu	
Fruk	SSY	İçme suyu içerisindeki %20 Fruktoz	
Fruk+LP	SSY	İçme suyu içerisindeki %20 Fruktoz	2 ml salin içerisinde 1×10^9 LP

(SSY; Standart sıçan yemi, **Fruk**; Fruktoz, **LP**; *Lactobacillus plantarum*)

3.2. Deney Grupları

Hayvanlar 3 gruba ayrıldı ve 15 hafta süresince aşağıdaki işlemler uygulandı;

- 1) Kontrol Grubu: Herhangi bir uygulama yapılmadı, standart sıçan yemi ve içme suyu (çeşme suyu) verildi (n=8).
- 2) Fruktoz Grubu: D-fruktozun içme suyu içerisinde %20 oranında çözülmesiyle hazırlanan fruktoz çözeltisi verildi. Fruktoz çözeltisi her gün taze olarak hazırlandı (n=7).
- 3) Fruktoz + *L. plantarum* Grubu: Fruktoz grubuyla aynı dozda ve şekilde fruktozlu içme suyu verilirken, bu gruba son 6 hafta boyunca *L. plantarum* 10^9 CFU/mL/100 g vücut ağırlığı dozunda oral gavaj yoluyla uygulandı (n=7).

3.3. Fruktoz Çözeltisinin Hazırlanması

Metabolik sendrom modeli oluşturmak için sıçanlara, içme suyu içerisinde 15 hafta boyunca %20 fruktoz verildi. Fruktoz çözeltisi, içme suyu içerisinde %20

ağırlık/hacim oranında her gün taze olarak hazırlandı. Çözelti hayvanlara verilmeden önce çalkalanarak suluklarına eklendi.

3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneyleerde kullanılan kimyasallar Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)'dan ve Santa Cruz Biotechnology, Inc.'den temin edildi. Fruktoz, Danisco Sweeteners OY (Finland) firmasından temin edildi. *L. plantarum* suşları ise Chr. Hansen (Denmark; ATCC: 14917) firmasından temin edildi.

3.5. *Lactobacillus Plantarum* Suşlarının Çoğaltılması

L. plantarum suşları Man, Rogosa ve Sharpe besiyerine (MRS; Oxoid; Unipath Ltd., Basing stoke, Hampshire, England) alınarak 150 rpm'de çalkalayıcıda 30°C'de kültürlendi. Stok kültürleri, %20 (h/h) gliserol içeren MRS besiyerinde -80°C'de saklandı. 20 ml MRS içeren erlenmeyer şişeleri, 1.5 ml gliserol stok kültürü ile aşılınıp ve kültürler çalkalayıcıda (35 devir/dakika) 35°C±1°C'de inkübe edildi. 600 nm'de (hücre yoğunluğu) 1.0'lik bir optik yoğunluğa kadar (1×10^8 CFU /ml) büyütüldü. Kültür, 10 ml tüplere (1×10^9 CFU) bölünüp ve bakteriler 4°C'de 5 dakika boyunca 5000 g'de toplandı. Hücre toplıkları, izotonik salin çözeltisi ile yıkanıp ve bir dondurucu kurutucu altında liyofilize edildi.

3.6. Western Blot Analizi ile Protein Düzeylerinin Belirlenmesi

Sıvı azot ile dondurulan ve -80°C'de stoklanan kalp dokuları (~300 mg) Tris 50 mM (pH 7:4), NaCl 150 mM, EDTA 5 mM, %1 h/h Triton x-100, %0.26 (a/h) sodyum deoksikolat, 50 mM sodyum florit, 0.1 mM sodyum ortovanadat ve 50 µg/ml PMSF içeren çözelti içinde homojenize (Tissue Rupture™, Qiagen, USA) edildi. Homojenatlar daha sonra 15000 rpm'de 60 dakika boyunca santrifüj edilip ve elde edilen süpernatantta toplam protein tayini yapıldı. Doku homojenatı protein denaturasyonunu sağlamak için 2x Laemmli tamponu ile 1:1 oranında sulandırılıp ve 95 °C'de 5 dk boyunca kaynatılarak örnekler elde edildi. Bu çalışmada bakacağımız protein düzeyleri Western blot yöntemi ile Şahin'e (114) göre tespit edildi.

Western blot analizi; elektroforez işlemiyle poliakrilamid jelde göç ettirilen proteinlerin, nitroselüloz membrana transferi ve membrandaki proteinlerin immünolojik yöntemlerle gösterilmesidir. Blotlama yapılmadan önce çalışılan örneklerdeki proteinler elektriksel ortamda poliakrilamid jel üzerinde göç ettirilmektedir. Proteinlerin

elektroforezleri sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Western blot tekniği, elektroforez işlemini takip eden 4 aşamada gerçekleştirilir. Bunlar; jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana aktarımı (blotlama), spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama), özgül antikorlarla tepkime ve en son aşamada ise proteinlerin görüntülenme aşamalarıdır.

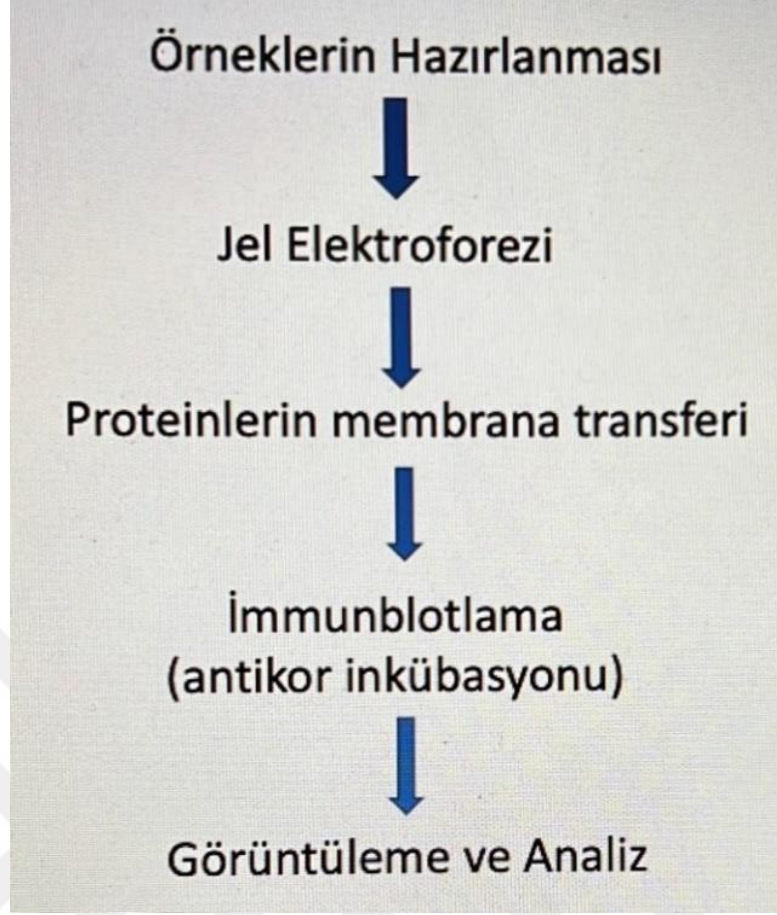
SDS-PAGE elektroforez jel sisteminde akrilamid monomerlerinden faydalanılır. Amonyum persülfat (APS) gibi bir serbest radikal ile tetra metil etilen diamin (TEMED) gibi stabilizatör sağlayıcı ortamda akrilamid monomerleri uzun zincirler oluşturacak şekilde polimerleşmekte ve daha sonra oluşan bu uzun zincirler arasında yanal bağlantılar oluşarak jel meydana gelmektedir. Jelin yapısında yer alan SDS deterjanının bulunması ile proteinler kendilerini oluşturan monomer alt birimlerine ayrılmaktadır. Böylece protein agregasyonu önlenmektedir. SDS moleküllerine bağlanan denatüre polipeptidler negatif yük kazanırlar. SDS bağlantılı polipeptid kompleksleri, molekül ağırlıklarına bağlı olarak jel içerisinde hareket ederler. Hareket eden moleküllerin ağırlıkları; aynı jel üzerinde bulunan bir standartla karşılaştırılarak tespit edilir. SDS-PAGE analizinde; mutasyon geçirmiş veya bazı olumsuz çevre faktörleri sonucunda canlı organizmanın bir kısım proteinlerinden normale göre parça kopması veya parça ilavesi ya da bazı proteinlerin yeterince sentezlenmemesi gibi özellikler bu jel sisteminde tespit edilmeye çalışılır.

SDS-PAGE için ilk olarak iki cam levha 0.75 µm aralık oluşturacak şekilde bir araya getirilerek sabitlenmiştir. Sabitlenen cam levhalar arasına ayırma jeli (Tablo 3.2) doldurulmuş ve polimerleşme gerçekleşene kadar beklenmiştir. Daha sonra ayırma jelinin üzerine yükleme jeli (Tablo 3.2) ilave edilerek ve kuyucuk tarağı yerleştirildi. Polimerleşme tamamlandıktan sonra cam levhalar elektroforez kasetlerine yerleştirildi ve elektroforez tankına koyulduktan sonra kuyucuk tarağı çıkartıldı. Elektroforez tankı koşturma solüsyonu ile dolduruldu ve kuyucuklara uygun miktarda örnek yüklendikten sonra 15 dk boyunca 80 voltta ardından 90 dakika boyunca 100 voltta koşturma yapıldı.

Tablo 3.2. Ayırma ve yükleme jellerinin içerikleri

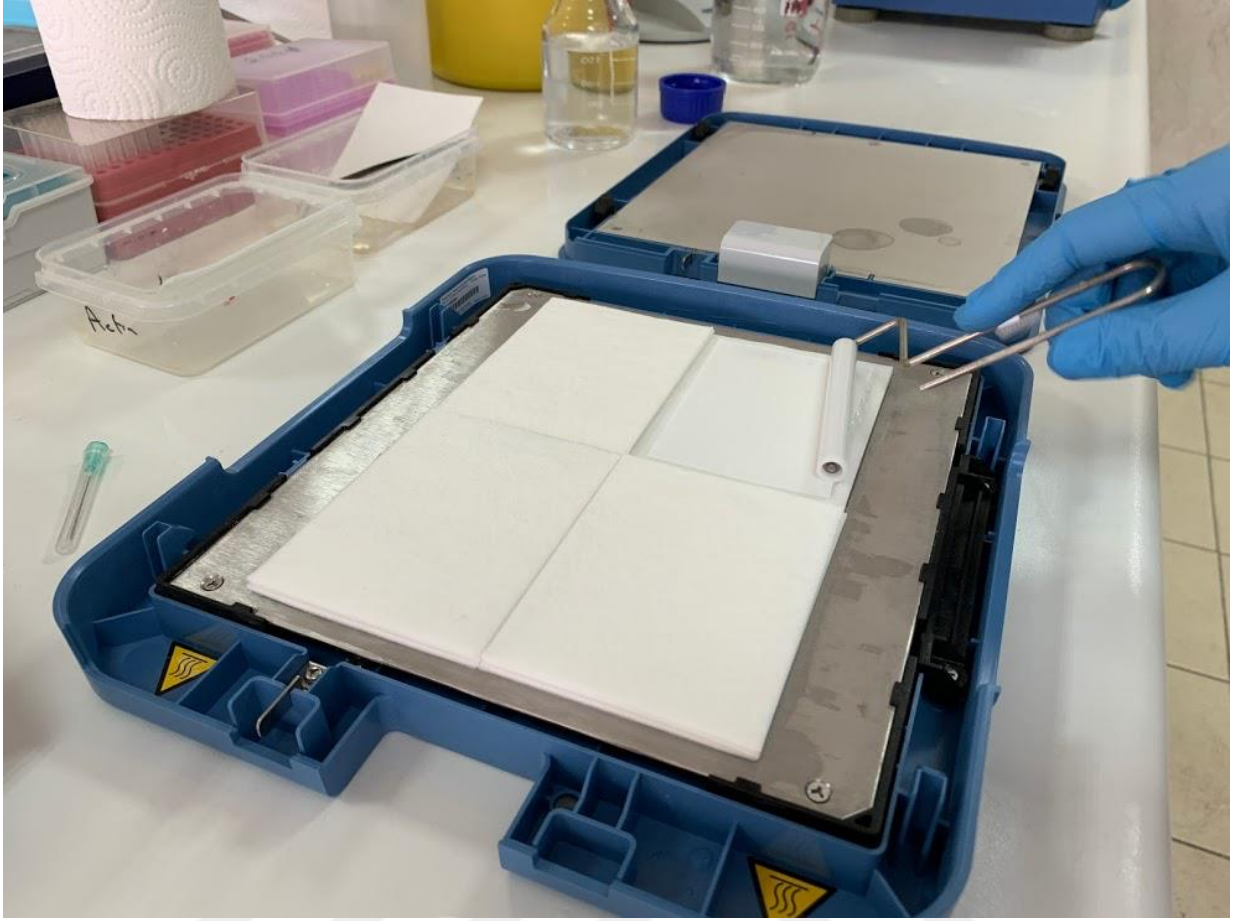
Ayırma Jeli (%12), 10 mL	Yükleme Jeli (%4), 10 mL
<ul style="list-style-type: none">• 3.35 mL saf su• 2.5 mL 1.5 M Tris (pH 6.8)• 100 µl %10 SDS• 4 mL Akrilamid (bis %30)• 75 µL APS• 15 µL TEMED	<ul style="list-style-type: none">• 6.1 mL saf su• 2.5 mL 0.5 M Tris (pH 6.8) □• 100 µL %10 SDS• 1.3 mL Akrilamid (bis %30) □• 60 µL APS• 12 µL TEMED

Elektroforez işlemi bittikten sonra jeller cam levhalardan ayrılarak dört aşamadan oluşan Western blot işlemine geçildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Western Blot yöntemi aşamaları

Birinci aşamada jeldeki protein bantlarının nitroselüloz membrana (Santa Cruz Biotechnology, sc-201698) aktarımı sağlandı (Şekil 3.2). Ayrırma jeli ve nitroselüloz membran aralarında boşluk kalmayacak şekilde karşı karşıya getirilerek sıkıştırıldıktan sonra blotlama tankına yerleştirildi. Blotlama tankı uygun miktarda blotlama tamponuyla (3.03 g Tris, 14.4 g Glisin ve 200 mL Metanol 1000 mL'ye tamamlanarak hazırlanır) dolduruldu ve kapağı kapatılarak güç kaynağına bağlandı. Blotlama işlemi 80-120 V arasında 250 mA akım uygulanarak 90 dk boyunca sürdürüldü. Tanktan çıkartılan nitroselüloz membranlar fosfat tampon çözeltisiyle (PBS, 0.075 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 0.025 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 1.45 M NaCl karışımı) yıkandı.



Şekil 3.2. Western Blot yöntemi blotlama aşaması; jeldeki protein bantların nitroselüloz membrana aktarımı.

İkinci aşamada spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama) işlemi gerçekleştirildi. Bu amaçla, nitroselüloz membran %5'lik BSA (5gr taze sığır serum albümini PBS ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlandı) içerisinde 90 dk boyunca bloklandı (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Western Blot yöntemi bloklama aşaması; spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması.

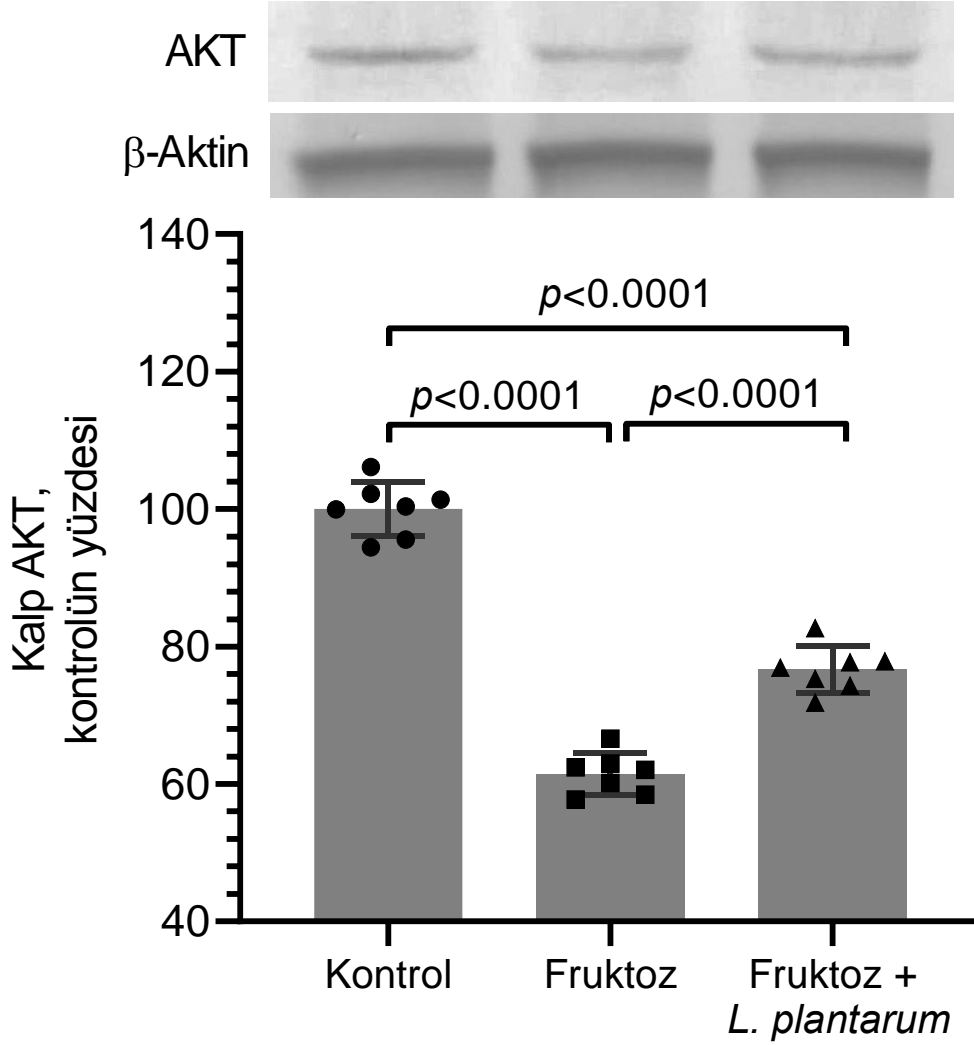
Üçüncü aşamada, Akt, eNOS, iNOS, IRS-1, SIRT1, mTOR, NF- κ B ve TNF- α primerlerine uygun sekonder antikor ile tepkime gerçekleştirildi. Ayrıca eşit miktarda protein yüklemesinin kontrolü ve yoğunluk karşılaştırma analizlerinin yapılabilmesi için beta-aktin (Santa Cruz Biotechnology, sc-47778) primeri kullanıldı. Primer antikorlar üretici firmanın belirttiği seyreltme düzeyi kullanılarak Tween20 içeren PBS ile sulandırıldı. Nitroselüloz membranlar ve sulandırılan primer antikorlar bir gece boyunca +4°C’de inkubasyona bırakıldı. Ertesi gün nitroselüloz membranlar PBS ile yıkandıktan sonra sekonder antikorla (Santa Cruz Biotechnology, sc-516102) 90 dk boyunca muamele edildi. Western blotlama her parametre için en az 3 kez tekrarlandı.

Son aşamada ise protein bantları görünür hale getirildi. 1 mL 1M Tris ve 29 mL saf su içeren diaminobenzidin (DAB) solüsyonu (%0.05’lik) hazırlandı. DAB solüsyonunun içerisine 80 μ L %10’luk H₂O₂ ilave edilerek hazırlanan karışım nitroselüloz membranların üzerine döküldü. Protein bantları görünür hale geldikten sonra nitroselüloz membran saf su ile yıkandı ve kurutuldu. Elde edilen bantların yoğunlukları, dijital ortamda bir paket program (Image J; National Institute of Health, Bethesda, A.B.D.) yazılımı ile incelenip dansitometrik olarak analiz edildi (115).

3.7. İstatistiksel Analizler

Çalışma sonunda elde edilen veriler Fırat Üniversitesine ait lisanslı IBM SPSS (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, New York, A.B.D.) programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verildi ve $p < 0.05$ seviyesi önemli olarak kabul edildi. Yapılan analizler, verilerin parametrik olup olmama durumuna göre belirlendi. Veri dağılımlarının normalliğini belirlemek için Shapiro-Wilk testi ya da skewness ve kurtosis değerleri kullanılırken, varyans homojenliğini test etmek için ise Levene testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen veriler Kruskal-Wallis ve Bonferonni düzeltmeli Mann-Whitney U ($p < 0.01$) ile test edildi. Normal dağılım gösteren veriler tek yönlü varyans analizi (One way ANOVA) ile test edildi. Gruplar arası karşılaştırmalar yapılırken varyans homojenliğine sahip veriler için *post hoc* olarak Tukey's testi, varyansları homojen olmayan veriler için ise Tamhane testi kullanıldı. Parametreler arasındaki ilişkiyi belirlemek için Pearson korelasyon analizi yapıldı.

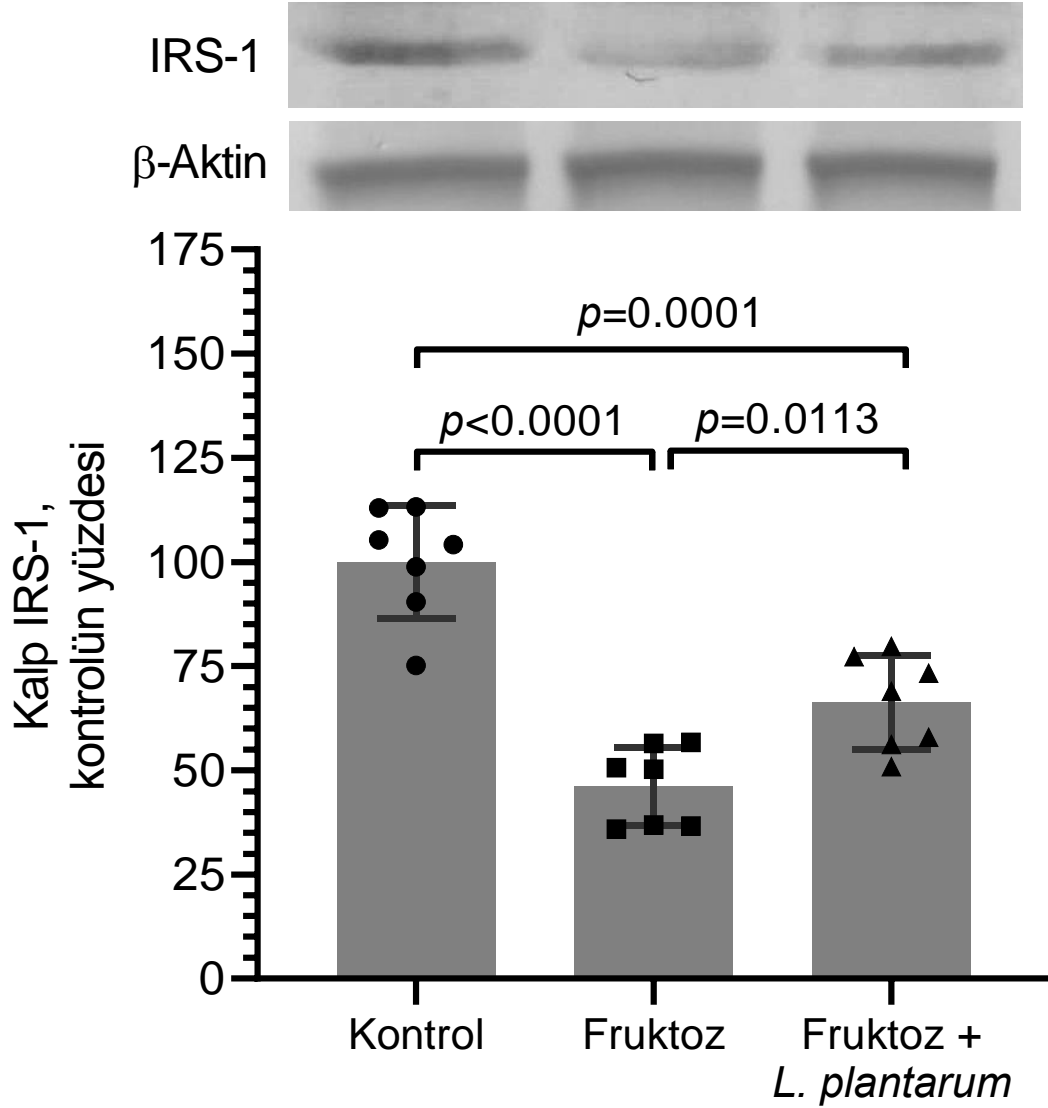
4. BULGULAR



Şekil 4.1. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda protein kinaz B (Akt) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları. Veriler (kontrolün yüzdesi) ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir. β -Aktin kontrol protein olarak kullanılmıştır ve protein ekspresyonlarının yüzdesi buna göre hesaplanmıştır.

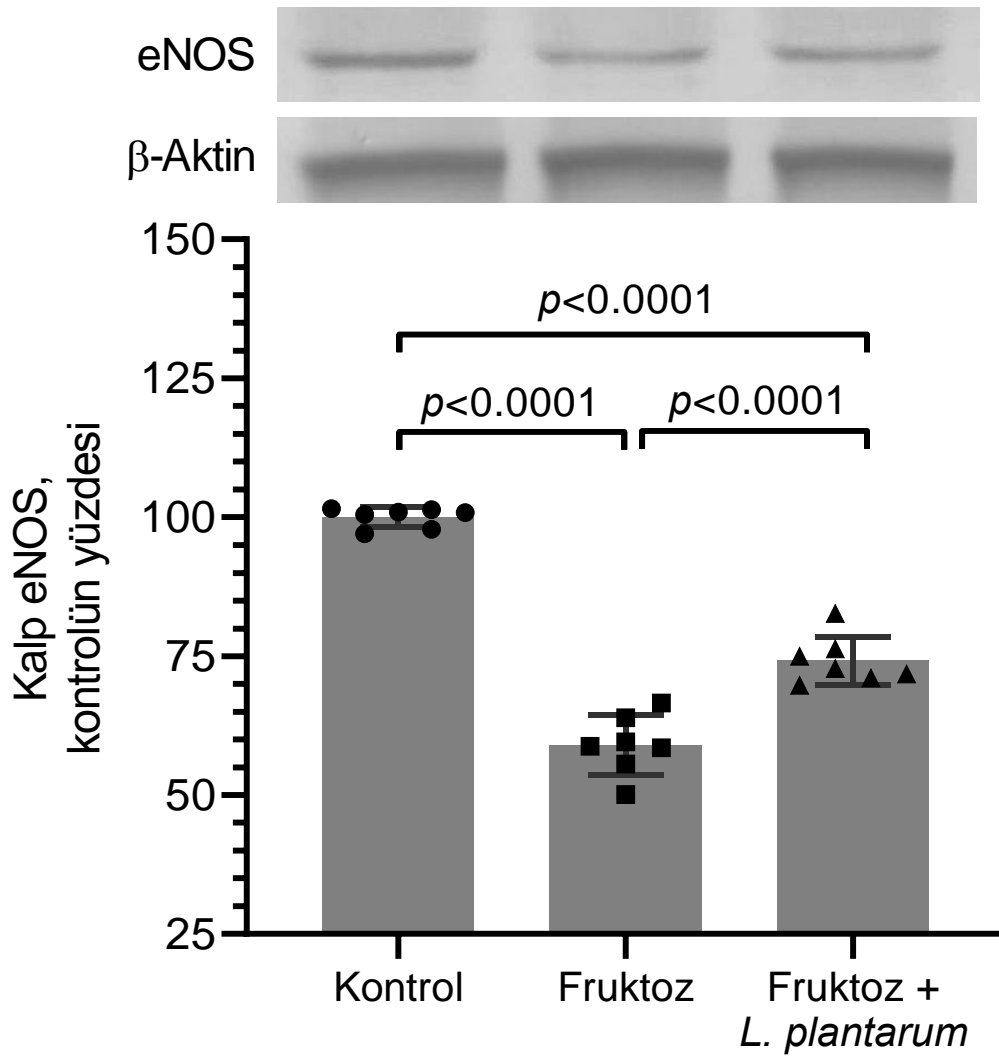
Fruktoz uygulaması ile metabolik sendrom oluşturulan sıçanlarda kalp dokusundaki Akt düzeyi Kontrol, Fruktoz ve Fruktoz + *L. plantarum* gruplarında sırasıyla 100.00 ± 3.98 , 61.48 ± 3.01 ve 76.64 ± 3.40 olarak ölçüldü (Şekil 4.1). Fruktoz grubundaki kalp dokusu Akt düzeyi Kontrol grubu ile kıyaslandığında %38.5 oranında azalma gösterdi (Şekil 4.1; $p < 0.0001$). Fruktoz uygulanan sıçanlara altı hafta *L. plantarum* katkısı yapılması ile kalp dokusu Akt düzeyi %24.7 düzeyinde bir artış sağlandı (Şekil 4.1;

$p < 0.0001$). Fruktoz grubu ile kıyaslandığında *L. plantarum* katkısı yapılan sıçanlarda kalp dokusu Akt düzeyi artış göstermiş olsa da kontrol grubuna kıyasla %23.4 oranında daha az bulundu (Şekil 4.1; $p < 0.0001$).



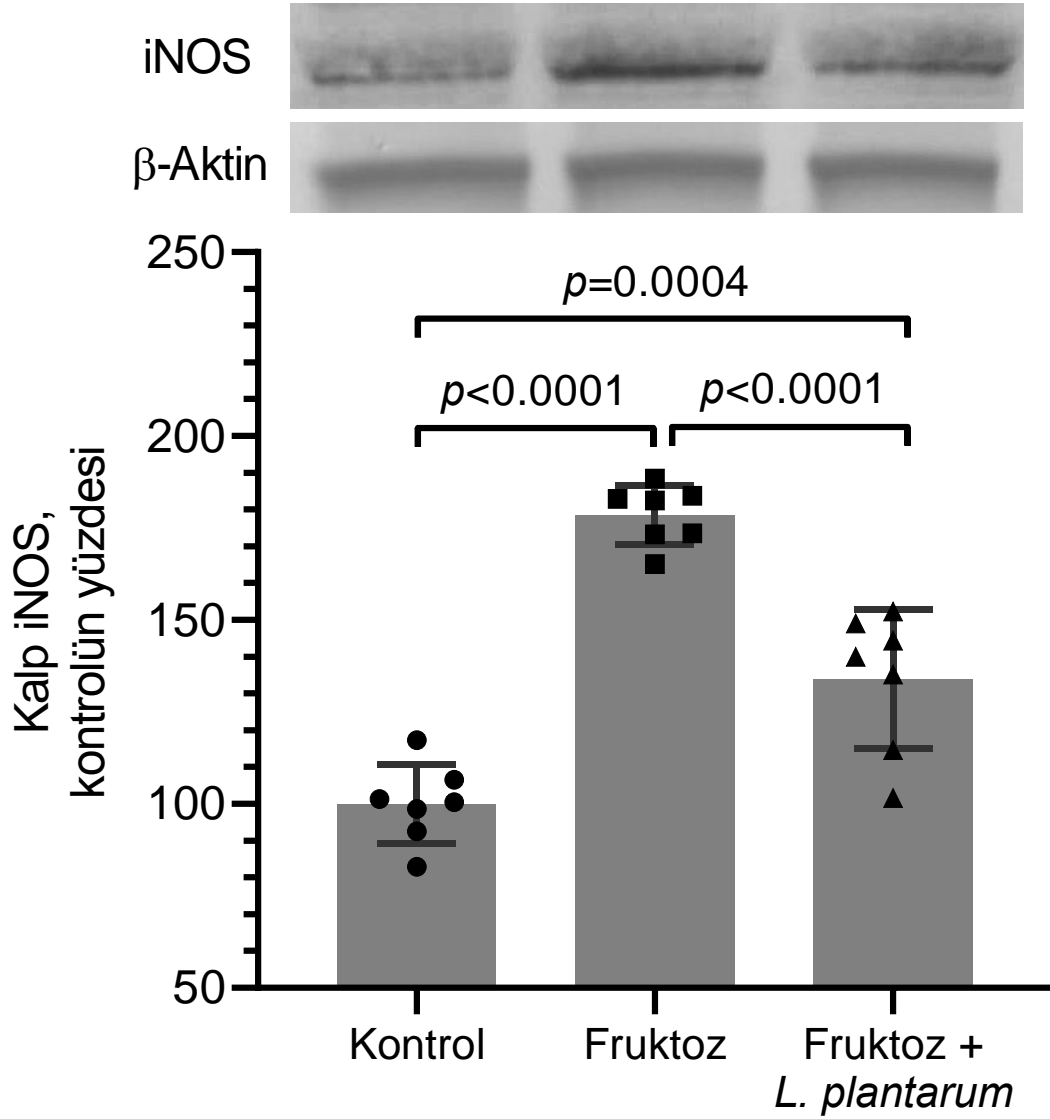
Şekil 4.2. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda insulin reseptör substrat 1 (IRS-1) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları. Veriler (kontrolün yüzdesi) ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir. β -Aktin kontrol protein olarak kullanılmıştır ve protein ekspresyonlarının yüzdesi buna göre hesaplanmıştır.

Metabolik sendrom oluşturulan sıçanlarda, kalp dokusundaki IRS-1 protein düzeyi Kontrol grubu için 100.00 ± 13.53 , Fruktoz grubu için 46.18 ± 9.45 ve Fruktoz + *L. plantarum* grubu için ise 66.36 ± 11.30 olarak tespit edildi (Şekil 4.2). Sıçanlarda kalp dokusu IRS-1 düzeyi Fruktoz ve Fruktoz + *L. plantarum* gruplarında Kontrol grubuna göre sırasıyla %53.8 ($p < 0.0001$) ve %33.6 ($p = 0.0001$) düzeyinde düşüş gösterdi (Şekil 4.2). *L. plantarum* uygulaması, metabolik sendrom oluşturulan sıçanlarda kalp dokusu IRS-1 protein düzeyini %43.7 oranında arttırdı (Şekil 4.2; $p = 0.0113$).



Şekil 4.3. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları. Veriler (kontrolün yüzdesi) ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir. β -Aktin kontrol

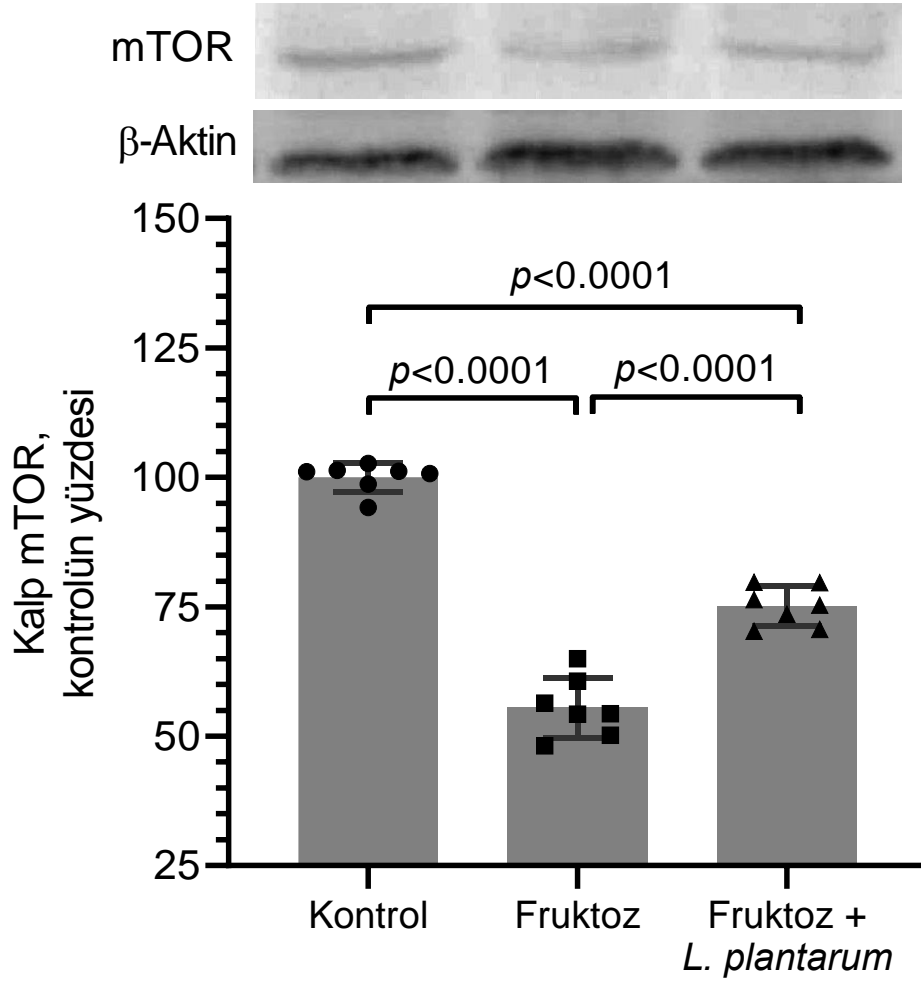
protein olarak kullanılmıştır ve protein ekspresyonlarının yüzdesi buna göre hesaplanmıştır.



Şekil 4.4. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları. Veriler (kontrolün yüzdesi) ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir. β -Aktin kontrol protein olarak kullanılmıştır ve protein ekspresyonlarının yüzdesi buna göre hesaplanmıştır.

eNOS ve iNOS düzeyleri incelendiğinde; eNOS düzeyi Kontrol, Fruktoz ve Fruktoz + *L. plantarum* grupları için sırasıyla 100.00 ± 1.82 , 58.99 ± 5.36 ve 74.18 ± 4.35 şeklinde belirlenirken (Şekil 4.3), iNOS düzeyi ise 100.00 ± 10.77 , 178.55 ± 8.06 ve 133.93 ± 18.85 şeklinde tespit edildi (Şekil 4.4). Kontrol grubuna göre fruktoz uygulanan sıçanlarda kalp dokusu eNOS düzeyi %41.0 oranında azalırken (Şekil 4.3; $p < 0.0001$), iNOS düzeyinde ise %78.6 oranında artış olduğu belirlendi (Şekil 4.4; $p < 0.0001$). Sıçanlarda *L. plantarum* uygulaması, Fruktoz grubuna göre kalp dokusu eNOS düzeyini %25.7 oranında artırırken (Şekil 4.3; $p < 0.0001$), iNOS düzeyinde %25.0 oranında düşüş sağlamıştır (Şekil 4.4; $p < 0.0001$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Fruktoz + *L. plantarum* grubundaki kalp eNOS düzeyinin %25.8 daha düşük (Şekil 4.3; $p < 0.0001$) ve iNOS düzeyinin ise %33.9 daha yüksek (Şekil 4.4; $p = 0.0004$) olduğu bulundu.

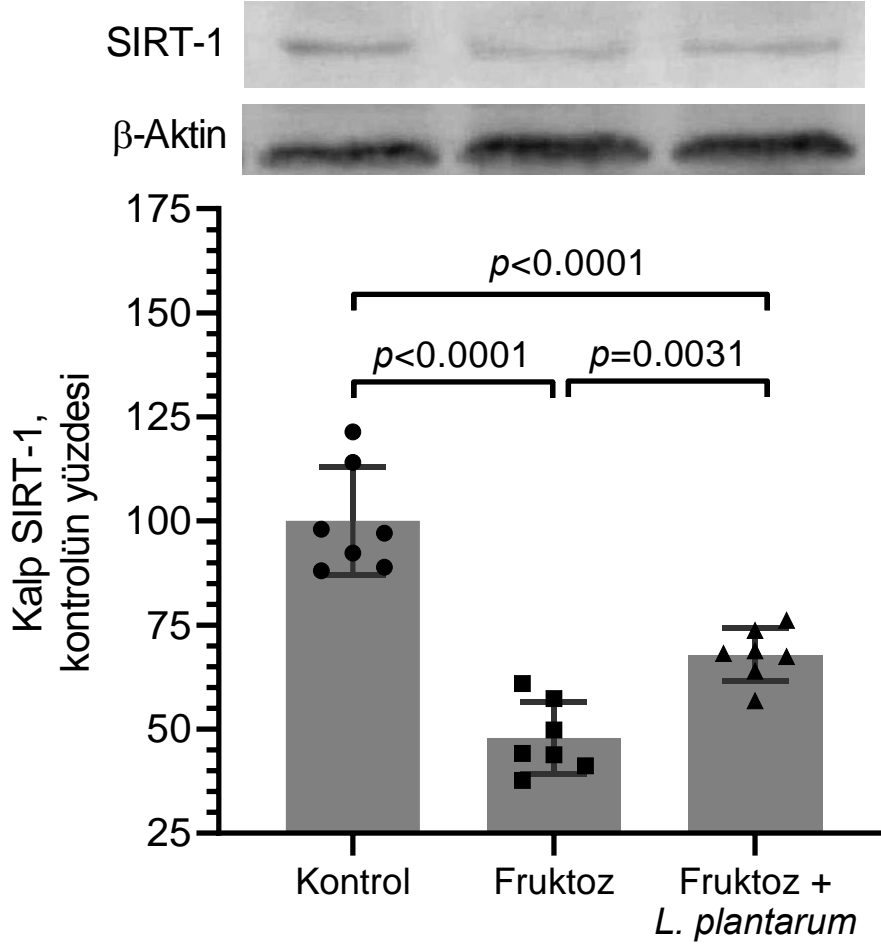
Western blot analizleri en az 3 tekrarlı şekilde yapıldı. Veriler kontrolün yüzdesi olarak her gruba ait bar grafikte ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur. Eşit protein yüklemesini sağlamak için β -aktin proteini kullanılmıştır. Grupların istatistiksel karşılaştırılmasında ANOVA ve grupların ikili karşılaştırılmalarında *post hoc* test olarak Tukey kullanılmıştır. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık p değerleri ile gösterilmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 4.5. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi (mTOR) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları. Veriler (kontrolün yüzdesi) ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir. β -Aktin kontrol protein olarak kullanılmıştır ve protein ekspresyonlarının yüzdesi buna göre hesaplanmıştır.

Fruktöz ile metabolik sendrom oluşturulan sıçanlarda, kalp dokusundaki mTOR protein düzeyi Kontrol, Fruktöz ve Fruktöz + *L. plantarum* gruplarında sırasıyla 100.00 \pm 2.84, 55.57 \pm 5.80 ve 75.10 \pm 3.86 olarak ölçüldü (Şekil 4.5). Fruktöz grubundaki kalp dokusu mTOR düzeyi Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %44.4 oranında azalma gösterdi (Şekil 4.5; $p < 0.0001$). Fruktöz uygulanan sıçanlara yapılan *L. plantarum* katkısı, altı haftalık uygulama süresi sonunda *L. plantarum* katkısı yapılmayan Fruktöz grubuna göre kalp dokusu mTOR düzeyinde %35.1 oranında bir artış sağladı (Şekil 4.5;

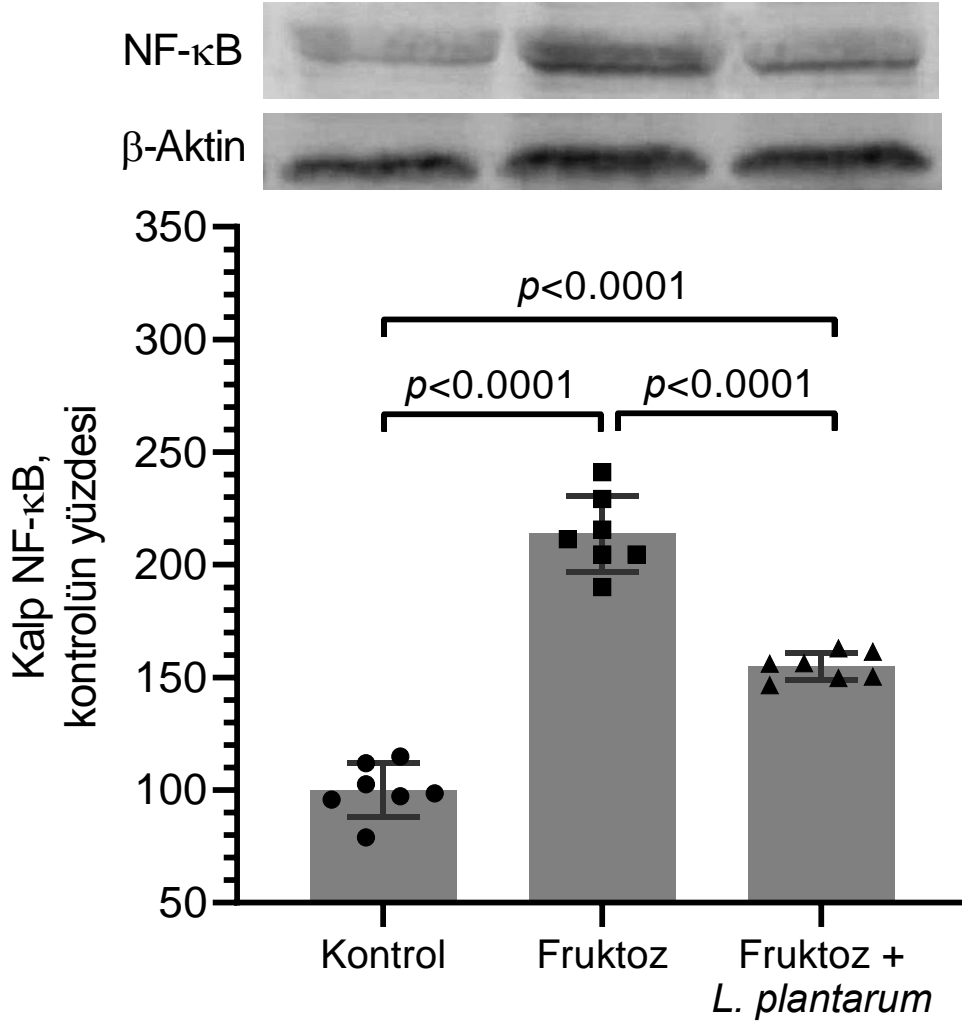
$p < 0.0001$). Fruktöz grubu ile kıyaslandığında *L. plantarum* katkısı yapılan sıçanlarda kalp dokusu mTOR düzeyinin artış gösterdiği tespit edilse de kontrol grubuna kıyasla %24.9 oranında daha az bulundu (Şekil 4.5; $p < 0.0001$).



Şekil 4.6. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda sirtuin 1 (SIRT-1) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları. Veriler (kontrolün yüzdesi) ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir. β -Aktin kontrol protein olarak kullanılmıştır ve protein ekspresyonlarının yüzdesi buna göre hesaplanmıştır.

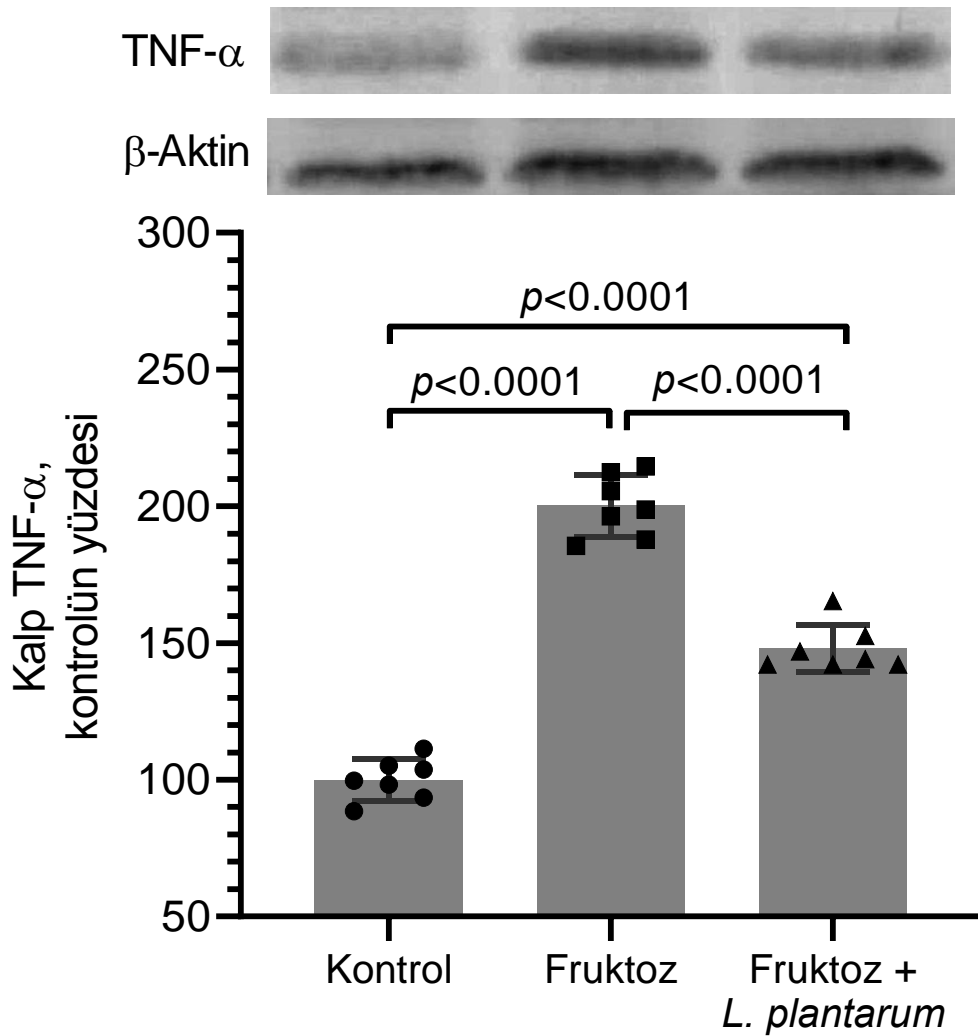
Metabolik sendrom oluşturulan sıçanlarda, kalp dokusundaki Sirtuin 1 (SIRT 1) protein düzeyi Kontrol grubu için 100.00 ± 12.87 , Fruktöz grubu için 47.89 ± 8.59 ve Fruktöz + *L. plantarum* grubu için ise 67.87 ± 6.36 olarak tespit edildi (Şekil 4.6).

Sıçanlarda kalp dokusu SIRT-1 düzeyi Fruktoz ve Fruktoz + *L. plantarum* grupları için, kontrol sıçanlarına göre sırasıyla %52.1 ($p<0.0001$) ve %32.1 ($p<0.0001$) düzeyinde azalma gösterdi (Şekil 4.6). *L. plantarum* uygulamasının, fruktoz ile metabolik sendrom oluşturulan sıçanlarda kalp dokusu SIRT-1 protein düzeyini %41.7 oranında yükselttiği bulundu (Şekil 4.6; $p=0.0031$).



Şekil 4.7. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda nükleer faktör kappa B (NF-κB) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları. Veriler (kontrolün yüzdesi) ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir. β -Aktin kontrol protein olarak kullanılmıştır ve protein ekspresyonlarının yüzdesi buna göre hesaplanmıştır.

NF-κB düzeyleri Kontrol, Fruktoz ve Fruktoz + *L. plantarum* gruplarında sırasıyla 100.00 ± 11.85 , 213.81 ± 16.92 ve 154.82 ± 6.15 olarak ölçüldü (Şekil 4.7). Fruktoz grubundaki kalp dokusu NF-κB protein düzeyi Kontrol grubu ile kıyaslandığında %113.8 oranında artış gösterdi (Şekil 4.7; $p < 0.0001$). Fruktoz + *L. plantarum* grubundaki kalp dokusu NF-κB düzeyi, Fruktoz grubuna göre göre %27.6 oranında düşüş gösterdi (Şekil 4.7; $p < 0.0001$). *L. plantarum* katkısı yapılan sıçanlar, kontrol grubuyla kıyaslandığında ise kalp dokusu NF-κB düzeyinin %54.8 daha yüksek olduğu saptandı (Şekil 4.7; $p < 0.0001$).



Şekil 4.8. Metabolik sendrom oluşturularak sıçanlarda *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) uygulaması yapılan sıçanların kalp dokusunda tümör faktör alfa (TNF-α) protein düzeylerini gösteren jel görüntüleri ve protein ekspresyonları. Veriler (kontrolün

yüzdesi) ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir. β -Aktin kontrol protein olarak kullanılmıştır ve protein ekspresyonlarının yüzdesi buna göre hesaplanmıştır.

Kalp dokusu tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) düzeyi, Kontrol, Fruktoz ve Fruktoz + *L plantarum* gruplarında sırasıyla 100.00 ± 7.56 , 200.17 ± 11.34 ve 147.96 ± 8.57 olarak tespit edildi (Şekil 4.8). Kontrol grubu ile kıyaslandığında kalp dokusu TNF- α proteini düzeyinin Fruktoz grubunda %100 (Şekil 4.8; $p < 0.0001$), Fruktoz + *L plantarum* grubunda ise %48 oranında artış gösterdiği bulundu (Şekil 4.8; $p < 0.0001$). Kalp dokusu TNF- α düzeyinde Fruktoz + *L plantarum* grubunda, Fruktoz grubuna göre %26.1 oranında düşüş tespit edildi (Şekil 4.8; $p < 0.0001$).

Western blot analizleri en az 3 tekrarlı şekilde yapıldı. Veriler kontrolün yüzdesi olarak her gruba ait bar grafikte ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur. Eşit protein yüklemesini sağlamak için β -aktin protein kullanılmıştır. Grupların istatistiksel karşılaştırılmasında ANOVA ve grupların ikili karşılaştırılmalarında *post hoc* test olarak Tukey kullanılmıştır. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık p değerleri ile gösterilmiştir ($p < 0.05$).

5. TARTIŞMA

İnsanlarda ve hayvanlarda gerçekleştirilen klinik ve deneysel çalışmalar aşırı miktarda fruktoz tüketiminin metabolik sendroma neden olduğunu ve bununla birlikte diyabete olan yatkınlığı arttırdığını göstermiştir (1).

Metabolik sendrom pro-trombotik durum, arterosklerozis ve kalp krizine neden olan faktörlerin meydana gelmesinde etkili olabilmektedir (25). Diğer yandan intestinal disbiyozis neticesinde obezite, diyabet ve metabolik sendrom gibi kronik yangısal bozukluklar daha şiddetli bir seyir gösterebilir. Çeşitli probiyotik takviyeleri intestinal mikrobiyotayı düzenlemeye yardımcı olarak metabolik sendromun olumsuz sonuçlarının önüne geçebilir (96). Bu çalışmada fruktoz ile metabolik sendrom indüklenen sıçanlarda kalpte meydana gelen olumsuzluklara karşı *L. plantarum*'un moleküler düzeyde düzenleyici bir etki sergilediğini gösterdik.

Daha önce gerçekleştirilen deneysel çalışmalar fruktoz uygulamasının deneysel metabolik sendrom modeli oluşturmak için uygun bir yöntem olduğunu göstermiştir. Korkmaz ve ark. bizim çalışmamızla uyumlu olarak 15 hafta boyunca %20'lik fruktoz çözeltisi kullanarak metabolik sendrom modeli oluşturduklarını fruktoz grubunda kontrol grubuna göre plazma glukoz, insülin, trigliserit, VLDL, MDA (malondialdehit) ve kreatinin değerlerindeki anlamlı artış ile göstermişlerdir. Kumar ve ark. sıçanlarda fruktoz ile indüklenen metabolik sendrom sonucunda deney sonu beden ağırlıklarının değişmediğini ve serum açlık glukoz, insülin, VLDL ve trigliserit düzeylerinin ise kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde yükseldiğini bildirmişlerdir. Yüksek kolesterol koroner kalp hastalıklarının ana nedenlerinden biri olarak kabul edilmekte ve total kolesterol seviyesinin dengede tutulması kalp hastalıklarının önüne geçilmesinde rol oynamaktadır (116-118).

Probiyotikler ince bağırsaklardaki kolesterolü bağlayabilme yetenekleri sayesinde hipokolestolemik bir etki gösterebilirler (119). Aminlari ve ark. (120) yüksek kolesterol verilen sıçanlara yapılan *L. plantarum* uygulamasının VLDL seviyesini düşürdüğünü HDL seviyesini ise arttırdığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar *L. plantarum*'un bu etkisini kolesterol düşürücü etki gösterme yeteneğine ve bağırsak epiteline kolonizasyonlarının kolay olmasına bağlamışlardır. Réggami ve ark. serumdaki antioksidan enzim düzeylerinin fruktoz ile indüklenen metabolik sendrom nedeniyle azaldığını, MDA seviyesinin ise belirgin bir şekilde arttığını ortaya koymuşlardır (117).

Yangısal reaksiyonlar, kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynar. Metabolik sendromda CRP, IL-6 ve TNF- α gibi parametrelerin yükseldiği gösterilmiştir (121). Yüksek düzeyde fruktoz tüketimi de NF- κ B aracılı yangısal reaksiyonların oluşumunu tetiklemekle birlikte hem kalpte hem de serumda TNF- α , IL-1 β , IL-18 ve IL-6 gibi sitokinlerin düzeyini arttırabilmektedir (122). Bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak Xie (123) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada yüksek fruktoz beslemesi yapılan farelerde kalpteki NF- κ B, IL-1 β ve TNF- α düzeylerinin çalışmamızla benzer biçimde kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde arttığı bildirilmiştir.

Bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen disbiyozis obezite, diyabet ve metabolik sendromun nedenlerinden biridir. Çünkü bağırsak disbiyozisinde lipopolisakkarit seviyesi artmakta ve bu artış metabolik endotoksemi ile sonuçlanmaktadır. Metabolik endotoksemi ise NF- κ B ile birlikte IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi sitokinlerin salınımını arttırarak yangısal reaksiyonları şiddetlendirebilmektedir (96). Probiyotik katkılar fruktoz ile indüklenen metabolik sendrom sonucunda meydana gelen kardiyak yangıyı kalp-bağırsak aksisini kontrol ederek hafifletmede etkili olabilmektedir. Daha önce farklı *Lactobacillus* türlerinin yüksek fruktoz uygulaması yapılan deney hayvanlarında oksidatif stres, insülin direnci ve yangısal durumu azalttığı gösterilmiştir (122). *L. plantarum* NF- κ B, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α seviyelerini azaltarak, IL-10 gibi sitokinlerin ise salınımlarını arttırarak bağırsaklarda lipopolisakkarit ile indüklenen yangıyı önleyebilmektedir (97). Mukozal, hümorale ve hücresele bağışıklık tepkilerini önemli ölçüde uyardığı ve irritabl bağırsak sendromu semptomlarına karşı koruduğu ve bununla birlikte NF- κ B gibi sitokinlerin üretimini ve aterosklerotik plak yangısını ise baskıladığı gösterilmiştir (124-126).

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar serum, karaciğer (127) ve bağırsak (128) gibi farklı dokular üzerinde duran çalışmalarla benzer biçimde, *L. plantarum*'un früktozla indüklenmiş metabolik sendromda kalp dokusundaki NF- κ B ve TNF- α seviyelerini azaltmaya yardımcı olduğunu ortaya koymuştur.

Vasküler tonusun düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan eNOS'un aşağı regülasyonu, metabolik sendrom ve diyabet dahil olmak üzere birçok vasküler bozuklukta meydana gelmektedir (129). Tam aksine yangısal belirteçlerden biri olan iNOS ise fruktoz ile indüklenen metabolik sendrom sırasında yükselbilmektedir (130). Çalışmamızda fruktoz uygulaması ile kalp dokusundaki eNOS seviyesi azalırken, iNOS

seviyesi ise muhtemelen artan yangısal faktörlere bağı (TNF- α ve NF- κ B) olarak kontrol grubuna göre göreceli bir artış sergilemiştir (131). *L. plantarum* uygulaması TNF- α ve NF- κ B seviyesinin azalmasını sağılayarak eNOS seviyesinin artmasını, iNOS seviyesinin ise azalmasını sağılamış olabilir. Ayrıca *L. plantarum* takviyesi sonucunda metabolik sendrom kaynaklı azalan eNOS ekspresyonun ve/veya aktivitesin ve yine bu durum ile ilişkili iNOS ekspresyonunun yukarı regüstasyonun iyileşme göstermiş olması muhtemeldir.

Metabolik sendrom oluşturulan deney hayvanlarında Akt kinaz aktivitesi ve eNOS fosforilasyonunun azalması kardiyovasküler bozukluklara yol açan insülin direncinin şekillenmesine neden olabilmektedir (132). Farelerde yüksek yağlı ve yüksek fruktozlu diyet ile indüklenen metabolik sendrom sonrasında meydana gelen insülin direncinin, esas olarak IRS-1/PI3K/Akt sinyal yolunun sekteye uğramasından kaynaklandığı bildirilmiştir (133). Akt eNOS fosforilasyonunda önemli rol oynamaktadır. Dolayısıyla IRS-1/PI3K/Akt yolağının bozulması vasküler endoteldeki eNOS aktivitesini önemli ölçüde azaltabilmektedir (134). Oral *L. plantarum* uygulamaları, pankreasın beta hücrelerini koruma, insülin duyarlılığını artırma ve serumdaki insülin ve leptin seviyelerinin dengeli hale gelmesini sağılamada etkili olabilmektedir (135). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar metabolik sendrom oluşturulan sıçanlarda IRS-1 ve Akt proteini seviyelerinin literatür ile uyumlu olarak azaldığını ortaya koymuştur (133). Bu sıçanlara yapılan *L. plantarum* katkısı muhtemelen kalpte IRS-1/Akt/eNOS yolağını düzenleyici etkisine bağı olarak bu proteinlerin seviyelerinin artmasını sağılamıştır (136). Ayrıca *L. plantarum* uygulaması ile azalan serum insülin seviyesi bu probiyotik bakterinin insülin direncini azaltıcı etkisi olabileceğini desteklemektedir. Fruktozla indüklenmiş metabolik sendromda *L. plantarum*'un uygulamasının deney hayvanlarının genel karakteristikleri üzerine olan etkisi, laboratuvarımızda yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (116, 136).

Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefinin (mTOR) metabolik hastalıklarında önemli bir rol oynadığı ve bu yolağın inhibisyonunun hayvan modellerinde yaşam süresini uzatabileceği bildirilmiştir (137). Yüksek fruktoz uygulamaları karaciğerde mTOR yolağının aktivasyonunun artmasına ve buna bağı olarak hepatik insülin direnci ve yangısal reaksiyonların tetiklenmesine neden olabilmektedir (138). Diğer yandan Akt, mTOR'un fosforilasyonunu sağılamaktadır. Sıçanlarda diyet ile indüklenen obezite sonrasında kalpte insülin sinyal yolağındaki

Akt/mTOR yolağının aktivasyonu azalmaktadır (139). Ancak mTOR aktivasyonunun ya da inhibisyonun farklı patolojik durumlarda aynı değişimi gösterip göstermediği belirsizdir (140). Fruktoz ile indüklenen metabolik sendrom sonrasında *L. plantarum* uygulanması muhtemelen kalpte insüline bağlı olarak IRS-1/Akt/mTOR yolağını düzenlemiş ve mTOR aktivasyonunu arttırmıştır (141). Çalışmamızda *L. plantarum* uygulanması sonrası artan IRS-1, Akt seviyesi ve insülin duyarlılığının sonucunda bu sinyal yolağı ile ilişkili olarak mTOR seviyesi yükselmiştir. Bu durum kardiyovasküler fonksiyonların iyileştirilmesi için umut vaat edebilir.

Sirtuinler (SIRT-1-7) enerji metabolizmasının düzenlenmesinde görev almaktadırlar. SIRT-1 kalp dokusu dahil olmak üzere birçok dokuda NF-κB aracılı yangısal durumun önlenmesinde etkili olabilmektedir. Obezite, metabolik sendrom ve diyabetik durumlarda meydana gelen insülin direnci ve TNF-α, IL-6 ve iNOS seviyelerinin artması sonrasında SIRT-1 aktivasyonu azalabilmektedir (142).

Deneysel çalışmalar sıçanlarda kısa ya da uzun süreli fruktoz uygulamalarının karaciğer ve kalpteki SIRT-1 proteinin ekspresyonunu azalttığını bildirmişlerdir (143, 144). Bizim çalışmamızda kalp dokusunda *L. plantarum* uygulaması ile artan SIRT-1 düzeyi metabolik sendrom modelinde kullanılan *L. plantarum* ile Akt düzeyindeki iyileşme sonucu, sitoprotektif faktörlerin uyarımının artması ve *L. plantarum*'un yangı önleyici etkilerine bağlı olarak kalpteki SIRT-1 proteini seviyesini arttırmış olabilir (127, 128).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Elde edilen veriler sıçanlarda fruktoz ile indüklenen metabolik sendrom modeline karşı uygulanan *L. plantarum*'un (ATCC: 14917) kalpte meydana gelen yangıyı engelleyebileceğini, IRS-1/Akt/eNOS yolağı aracılığıyla insülin duyarlılığının artırılmasına katkı sağlayabileceğini ve kalpteki SIRT-1 seviyesini arttırarak metabolik sendrom kaynaklı oluşabilecek kardiyovasküler bozuklukların önüne geçebileceğini göstermiştir. Ancak bu bulguların desteklenmesi adına klinik düzeyde çalışmaların gerçekleştirilmesi ve *L. plantarum*'un farklı suşlarının etkilerinin açıklığa kavuşturulması gerekmektedir.



KAYNAKLAR

1. Miller A, Adeli K. Dietary fructose and the metabolic syndrome. *Curr Opin Gastroenterol.* 2008; 24(2): 204-9.
2. Fulop T, Tessier D, Carpentier A. The metabolic syndrome. *Pathol Biol (Paris).* 2006; 54: 375-86.
3. Oğuz A, Kılıçkap M, Güleç S, Altuntaş Y, Karşıdağ K, Temizhan A, Tümerdem BÇ, Keskinler MV, Rangarajan S, Yusuf S. Risk of cardiovascular events in patients with metabolic syndrome: Results of a population-based prospective cohort study (PURE Turkey). *Anatol J Cardiol.* 2020, 24(3): 192.
4. Alberti K, Zimmet P. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* 1998, 15: 539-53.
5. Castro EFS, Mostarda CT, Rodrigues B, Moraes-Silva IC, Feriani DJ, De Angelis K, Irigoyen MC. Exercise training prevents increased intraocular pressure and sympathetic vascular modulation in an experimental model of metabolic syndrome. *Braz J Med Biol Res.* 2015, 48(4): 332-8.
6. Le K, Tappy L. Metabolic effects of fructose. *Curr Opin in Clin Nutr Metab Care.* 2006, 9(4): 469-75.
7. Rutledge A, Adeli K. Fructose and the metabolic syndrome: pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutr Rev.* 2007, 65: 13-23.
8. Kelishadi R, Mansourian M, Heidari-Beni M. Association of fructose consumption and components of metabolic syndrome in human studies: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition.* 2014, 30(5): 503-10.
9. Tappy L, Le K. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev.* 2010, 90(1): 23-46.
10. Brown C, Dulloo A, Montani J. Sugary drinks in the pathogenesis of obesity and cardiovascular diseases. *Int J Obes (Lond).* 2008, 32(6): 28-34.
11. Stanhope K, Schwarz J, Keim N, Griffen S, Bremer A, Graham J, Hatcher B, Cox C, Dyachenko A, Zhang W, MCGahan J, Seibert A, Krauss R, Chiu S, Schaefer E, Ai M, Otokozawa S, Katsuyuki N, Nakano T, Beysen C, Hellerstein M, Berglund

- L, Havel . Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest*. 2009, 119(5): 1322-34.
12. Perez-Pozo S, Schold J, Nakagawa T, Sanchez-Lozada L, Johnson R, Lillo J. Excessive fructose intake induces the features of metabolic syndrome in healthy adult men: role of uric acid in the hypertensive response. *Int J Obes (Lond)*. 2010, 34(3): 454-61.
 13. Ansarimoghaddam A, Adineh H, Iraj Z, Sohrab I, Ali H. Prevalence of metabolic syndrome in Middle-East countries: Meta-analysis of cross-sectional studies. *Diabetes Metab Syndr*. 2017, 12(2): 195-201.
 14. Bray G, Nielsen S, Popkin B. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr*. 2004, 79(4): 537-43.
 15. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001, 285(19): 2486-97.
 16. Williams E, Mesidor M, Winters K, Dubbert P, Wyatt S. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *Curr Obes Rep*. 2015, 4(3): 363-70.
 17. Samson S, Garber A. Metabolic syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2014, 43(1): 1-23.
 18. Wang H, Lee D, Liu M, Portincasa P, Wang D. Novel insights into the pathogenesis and management of the metabolic syndrome. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2020, 23(3): 189-230.
 19. Shimamoto K, Ura N. Mechanisms of insulin resistance in hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens*. 2006, 28(6): 543-52.
 20. Latta M, Künstle G, Lucas R, Hentze H, Wendel A. ATP-depleting carbohydrates prevent tumor necrosis factor receptor 1-dependent apoptotic and necrotic liver injury in mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007, 321(3): 875-83.
 21. Taskinen M, Packard C, Borén J. Dietary fructose and the metabolic syndrome. *Nutrients*. 2019, 11(9): 1987.

22. Jones H, Butler R, Brooks D. Intestinal fructose transport and malabsorption in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2011, 300(2): G202-6.
23. Ebel B, Lemetais G, Beney L, Cachon R, Sokol H, Langella P, Gervais P. Impact of Probiotics on Risk Factors for Cardiovascular Diseases. A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2014, 54(2): 175-89.
24. Despres J. Is visceral obesity the cause of the metabolic syndrome?. *Ann Med*. 2006, 38(1): 52-63.
25. Grundy S. Metabolic syndrome update. *Trends Cardiovasc Medicine*. 2016, 26(4): 364-73.
26. National Cholesterol Education Program (NCEP). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002, 106(25): 3143-421.
27. Grundy S. Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol*. 1998, 81(4): 18B-25B.
28. Alberti K, Eckel R, Grundy S, Zimmet P, Cleeman J, Donato K. International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention, National Heart, Lung, and Blood Institute, American Heart Association, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society, & International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009, 120(16): 1640-5.
29. Reaven G. Relationship between insulin resistance and hypertension. *Diabetes Care*. 1991, 14(2): 33-8.
30. Hall J. Pathophysiology of obesity hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2000, 2(2): 139-47.
31. Johnson A, Justin Milner J, Makowski L. The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunol Rev*. 2012, 249(1): 218-38.
32. Weisberg S, Hunter D, Huber R, Lemieux J, Slaymaker S, Vaddi K, Charo I, Leibel R, Ferrante A. CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J Clin Invest*. 2006, 116(1): 115-24.
33. Khera A, Vega G, Das S, Ayers C, McGuire D, Grundy S, Lemos J. Sex differences in the relationship between C-reactive protein and body fat. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009, 94(9): 3251-8.

34. Laugerette F, Alligier M, Bastard J, Draï J, Chanséaume E, Lambert-Porcheron S, Laville M, Morio B, Hubert V, Michalski MC. Overfeeding increases postprandial endotoxemia in men: Inflammatory outcome may depend on LPS transporters LBP and sCD14. *Mol Nutr Food Res*. 2014, 58(7): 1513-8.
35. Tam C, Viardot A, Clément K, Tordjman J, Tonks K, Greenfield J, Campbell LV, Bonet D, Heilbronn L. Short-term overfeeding may induce peripheral insulin resistance without altering subcutaneous adipose tissue macrophages in humans. *Diabetes*. 2010, 59(9): 2164-70.
36. Wieser V, Moschen A, Tilg H. Inflammation, cytokines and insulin resistance: a clinical perspective. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2013, 61(2): 119-25.
37. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002, 105(9): 1135-43.
38. Alessi M, Juhan-Vague I. Metabolic syndrome, haemostasis and thrombosis. *Thromb Haemost*. 2008, 99(6): 995-1000.
39. Rao A, Freishtat R, Jalagadugula G, Singh A, Mao G, Wiles A, Cheung P, Boden G. Alterations in insulin-signaling and coagulation pathways in platelets during hyperglycemia-hyperinsulinemia in healthy non-diabetic subject. *Thromb Res*. 2014, 134(3): 704-10.
40. Vaduganathan M, Alviar C, Arikian M, Tellez A, Guthikonda S, DeLao T, Granada J, Kleiman N, Ballantyne C, Lev E. Platelet reactivity and response to aspirin in subjects with the metabolic syndrome. *Am Heart J*. 2008, 156(5): 1002.e1-1002.e7.
41. Meier J, Veldhuis J, Butler P. Pulsatile insulin secretion dictates systemic insulin delivery by regulating hepatic insulin extraction in humans. *Diabetes*. 2005, 54(6): 1649-56.
42. Petersen M, Shulman G. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiol Rev*. 2018, 98(4): 2133-223.
43. Pirola L, Johnston A, Van Obberghen E. Modulation of insulin action. *Diabetologia*. 2004, 47(2): 170-84.
44. Tokarz V, MacDonald P, Klip A. The cell biology of systemic insulin function. *J Cell Biol*. 2018, 217(7): 2273-89.
45. Coloff J, Rathmell J. Metabolic regulation of Akt: roles reversed. *J Cell Biol*. 2006, 175(6): 845-7.

46. Haeusler R, McGraw T, Accili D. Metabolic signalling: Biochemical and cellular properties of insulin receptor signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018, 19(1): 31-44.
47. Schultze S, Hemmings B, Niessen M, Tschopp O. PI3K/AKT, MAPK and AMPK signalling: protein kinases in glucose homeostasis. *Expert Rev Mol Med.* 2012, 14:e1.
48. Hagiwara A, Comu M, Cybulski N, Polak P, Betz C, Trapani F, Terracciano L, Heim M, Rüegg M, Hall M. Hepatic mTORC2 activates glycolysis and lipogenesis through Akt, glucokinase, and SREBP1c. *Cell Metab.* 2012, 15(5): 725-38.
49. Pillai V, Sundaresan N, Grupta M. Regulation of Akt signaling by sirtuins: its implication in cardiac hypertrophy and aging. *Circ Res.* 2014, 114(2): 368-78.
50. Haigis M, Sinclair D. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annu Rev Pathol.* 2010, 5: 253-95.
51. Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A, Senawong T, Machado de Oliveira R, Leid M, McBurney M, Guarente L. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature.* 2004, 429(6993): 771-6.
52. Ginsberg H. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest.* 2000, 106(4): 453-8.
53. Vanessa Fiorentino T, Prioletta A, Zuo P, Folli F. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. *Curr Pharm Des.* 2013, 19(32): 5695-703.
54. Chen Z, Yu R, Xiong Y, Du F, Zhu S. A vicious circle between insulin resistance and inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids Health Dis.* 2017, 16(1): 203.
55. Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu H, Kakimoto M, Imamura M, Aoki T, Etoh T, Hashimoto T, Naruse M, Sano H, Utsumi H, Nawata H. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C--dependent activation of NAD (P) H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes.* 2000, 49(11): 1939-45.
56. Choi C, Befroy D, Codella R, Kim S, Reznick R, Hwang Y, Liu Z, Lee H, Distefano A Samuel V, Zhang D, Cline G, Handschin C, Lin J, Petersen K, Spiegelman B, Shulman G. Paradoxical effects of increased expression of PGC-1 α on muscle

- mitochondrial function and insulin-stimulated muscle glucose metabolism. *Proc Natl Acad Sci*. 2008, 105(50): 19926-31.
57. Wang X, Zhang D, Gu T, Ding X, Fan C, Zhu Q, Shi Y, Hong Y, Kong L. Morin reduces hepatic inflammation-associated lipid accumulation in high fructose-fed rats via inhibiting sphingosine kinase 1/sphingosine 1-phosphate signaling pathway. *Biochem Pharmacol*. 2013, 86(12): 1791-804.
 58. Kannappan S, Palanisamy N, Anuradha C. Suppression of hepatic oxidative events and regulation of eNOS expression in the liver by naringenin in fructose-administered rats. *Eur J Pharmacol*. 2010, 645(1-3): 177-84.
 59. Cirillo P, Pellegrino G, Conte S, Maresca F, Pacifico F, Leonardi A, Timarco B. Fructose induces prothrombotic phenotype in human endothelial cells. *J Thromb Thrombolysis*. 2015, 40(4): 444-51.
 60. Roncal-Jimenez C, Lanaspá M, Rivard C, Nakagawa T, Sanchez-Lozada L, Jalal D, Hernando A, Tanabe K, Madero M, Li N, Cicerchi C, Fann K, Sautin Y, Johnson R. Sucrose induces fatty liver and pancreatic inflammation in male breeder rats independent of excess energy intake. *Metabolism*. 2011, 60(9): 1259-70.
 61. Breban M. Gut microbiota and inflammatory joint diseases. *Joint Bone Spine*. 2016, 83(6): 645-649.
 62. Thakur B, Saha P, Banik G, Saha D, Grover S, Batish V, Das S. Live and heat-killed probiotic *Lactobacillus casei* Lbs2 protects from experimental colitis through Toll-like receptor 2-dependent induction of T-regulatory response. *Int Immunopharmacol*. 2016, 36: 39-50.
 63. Briskey D, Tucker P, Johnson D, Coombes J. Microbiota and the nitrogen cycle: Implications in the development and progression of CVD and CKD. *Nitric Oxide*. 2016, 57: 64-70.
 64. Ley R, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone C, Knight R, Gordon J. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005, 102(31): 11070-75.
 65. Martinez K, Pierre J, Chang E. The gut microbiota: the gateway to improved metabolism. *Gastroenterol Clin North Am*. 2016, 45(4): 601-614.
 66. Ussar S, Griffin N, Bezy O, Fujisaka S, Vienberg S, Softic S, Deng L, Bry L, Gordon J, Kahn C. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet

- modulate the predisposition to obesity and metabolic syndrome. *Cell Metab.* 2015, 22(3): 516-530.
67. Cani P, Osto M, Geurts L, Everard A. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut Microbes.* 2012, 3(4): 279-88.
 68. de Cossío L, Fourrier C, Sauvant J, Everard A, Capuron L, Cani P, Laye S, Castanon N. Impact of prebiotics on metabolic and behavioral alterations in a mouse model of metabolic syndrome. *Brain Behav Immun.* 2017, 64: 33-49.
 69. Li T, Gao J, Du M, Mao X. Milk fat globule membrane supplementation modulates the gut microbiota and attenuates metabolic endotoxemia in high-fat diet-fed mice. *J Functional Foods.* 2018, 47: 56-65.
 70. Boutagy N, McMillan R, Frisard M, Hulver M. Metabolic endotoxemia with obesity: Is it real and is it relevant?. *Biochimie.* 2016, 124: 11-20.
 71. Gomes J, de Assis Costa J, Alfenas R. Metabolic endotoxemia and diabetes mellitus: a systematic review. *Metabolism.* 2017, 68: 133-44.
 72. Wagh A, Stone N. Treatment of metabolic syndrome. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2004, 2(2): 213-28.
 73. Grundy S. Drug therapy of the metabolic syndrome: minimizing the emerging crisis in polypharmacy. *Nat Rev Drug Discov.* 2006, 5(4): 295-309.
 74. Grundy S. Atherogenic dyslipidemia associated with metabolic syndrome and insulin resistance. *Clin Cornerstone.* 2006, 8(1): 21-27.
 75. Churuangsu C, Kherouf M, Combet E, Lean M. Low-carbohydrate diets for overweight and obesity: a systematic review of the systematic reviews. *Obes Rev.* 2018, 19(12): 1700-1718.
 76. Dowla S, Pendergrass M, Bolding M, Gower B, Fontaine K, Ashraf A, Soleymani T, Morrison S, Goss A. Effectiveness of a carbohydrate restricted diet to treat non-alcoholic fatty liver disease in adolescents with obesity: Trial design and methodology. *Contemp Clin Trials.* 2018, 68: 95-101.
 77. Hall K, Chung S. Low-carbohydrate diets for the treatment of obesity and type 2 diabetes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2018, 21(4): 308-12.

78. Goran M. Metabolic precursors and effects of obesity in children: a decade of progress, 1990–1999. *Am J Clin Nutr.* 2001, 73(2): 158-71.
79. Fatone C, Guescini, M, Balducci S, Battistoni S, Settequattrini A, Pippi R, Stocchi L, Mantuano M, Stocci V, Feo P. Two weekly sessions of combined aerobic and resistance exercise are sufficient to provide beneficial effects in subjects with Type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest.* 2010, 33(7): 489-95.
80. Yassine H, Marchetti C, Krishnan R, Vrobel T, Gonzalez F, Kirwan J. Effects of exercise and caloric restriction on insulin resistance and cardiometabolic risk factors in older obese adults—a randomized clinical trial. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2009, 64(1): 90-95.
81. Rogozea L, Diaconescu D, Dinu E, Badea O, Popa D, Andrescu O, Leășu FG. Biomedical research ethics. *Rom J Morphol Embryol.* 2014, 55(2): 719-22.
82. Neal B, Perkovic V, Mahaffey K, De Zeeuw D, Fulcher G, Erondou N, Shaw W, Law G, Desai M, Matthews D. Canagliflozin and cardiovascular and renal events in type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2017, 377(7): 644-657.
83. Grundy S, Vega G, Tomassini J, Tershakovec A. Correlation of Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol and Low-Density Lipoprotein Cholesterol With Apolipoprotein B During Simvastatin+ Fenofibrate Therapy in Patients With Combined Hyperlipidemia (A Subanalysis of the SAFARI Trial). *Am J Cardiol.* 2009, 104(4): 545-53.
84. Deedwania P, Barter P, Carmena R, Fruchart J, Grundy S, Haffner S. Reduction of low-density lipoprotein cholesterol in patients with coronary heart disease and metabolic syndrome: analysis of the Treating to New Targets study. *Lancet.* 2006, 368(9539): 919-28.
85. Zreikat H, Harpe S, Slattum P, D'arcy P, Essah P, Cheang K. Effect of renin-angiotensin system inhibition on cardiovascular events in older hypertensive patients with metabolic syndrome. *Metabolism.* 2014, 63(3): 392-9.
86. Standl E, Erbach M, Schnell O. What should be the antihypertensive drug of choice in diabetic patients and should we avoid drugs that increase glucose levels? Pro and Cons. *Diabetes Metab Res Rev.* 2012; 28(2): 60-66.

87. Bakris G, Fonseca V, Katholi R, McGill J, Messerli F, Phillips R. Metabolic effects of carvedilol vs metoprolol in patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2004, 292(18): 2227-36.
88. Farah R, Khamisy-Farah R, Shurtz-Swirski R. Calcium channel blocker effect on insulin resistance and inflammatory markers in essential hypertension patients. *Int Angiol*. 2013, 32(1): 85-93.
89. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*. 2014, 37: 14-80.
90. Diabetes Prevention Program Research Group. 10-year follow-up of diabetes incidence and weight loss in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *Lancet*. 2009, 374(9702): 1677-86.
91. Cruz A, Cadena R, Walter E, Mortazavian A, Granato D, Faria J, Bolini H. Sensory analysis: Relevance for prebiotic, probiotic, and synbiotic product development. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2010, 9(4): 358-73.
92. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson G, Merenstein D, Pot B, Moralli L, Canani RB, Flint H, Salminen S, Calder P, Sanders ME. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014, 11(8): 506-14.
93. Leo E, Ortega A, Peñafiel A, Campos M. Volume 11: The Science of Beverages. In: Grumezescu AM, Holban AM (eds). *Functional and Medicinal Beverages* 11. Merida, Academic Press, 2019: 459-82.
94. Dixit Y, Wagle A, Vakil B. Patents in the field of probiotics, prebiotics, synbiotics: A review. *J Food: Microbiol, Saf & Hyg*. 2016, 1(2): 2-13.
95. de Simone C. The unregulated probiotic market. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019, 17(5): 809-17.
96. Xavier-Santos D, Bedani R, Lima E, Saad S. Impact of probiotics and prebiotics targeting metabolic syndrome. *J Funct Foods*. 2020, 64: 103666.
97. Liu Y, Liong M, Tsai Y. New perspectives of *Lactobacillus plantarum* as a probiotic: The gut-heart-brain axis. *J Microbiol*. 2018, 56(9): 601-13.

98. Vijayakumar M, Ilavenil S, Kim D, Arasu M, Priya K, Choi K. In-vitro assessment of the probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* KCC-24 isolated from Italian rye-grass (*Lolium multiflorum*) forage. *Anaerobe*. 2015, 32: 90-97.
99. Arasu M, Al-Dhabi N, Ilavenil S, Choi K, Srigopalram S. In vitro importance of probiotic *Lactobacillus plantarum* related to medical field. *Saudi J Biol Sci*. 2016, 23(1): 6-10.
100. Ahrén I, Xu J, Önning G, Olsson C, Ahrné S, Molin G. Antihypertensive activity of blueberries fermented by *Lactobacillus plantarum* DSM 15313 and effects on the gut microbiota in healthy rats. *Clin Nutr*. 2015, 34(4): 719-26.
101. Murofushi Y, Villena J, Morie K, Kanmani P, Tohno M, Shimazu T, Aso H, Suda Y, Hashiguchi K, Saito T, Kitazawa H. The toll-like receptor family protein RP105/MD1 complex is involved in the immunoregulatory effect of exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* N14. *Mol Immunol*. 2015, 64(1): 63-75.
102. Wang K, Li W, Rui X, Chen X, Jiang M, Dong M. Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. *Int J Biol Macromol*. 2014, 63: 133-9.
103. Sasikumar P, Gomathi S, Anbazhagan K, Abhishek A, Paul E, Vasudevan V, Sasikumar S, Selvam GV. Recombinant *Lactobacillus plantarum* expressing and secreting heterologous oxalate decarboxylase prevents renal calcium oxalate stone deposition in experimental rats. *J Biomed Sci*. 2014, 21(1): 86.
104. Ku H, Lee H, Choi I, Ra J, Kim T, Jeong J, Kim S, Sim J, Ahn Y. 102: Immunostimulatory effect of *Lactobacillus plantarum* HY7712 via toll-like receptor 2 signaling pathway. *Cytokine*. 2014, 70(1): 52.
105. Li C, Nie S, Ding Q, Zhu K, Wang Z, Xiong T, Gong J, Xie MY. Cholesterol-lowering effect of *Lactobacillus plantarum* NCU116 in a hyperlipidaemic rat model. *J Func Foods*. 2014, 8: 340-7.
106. Wu C, Weng W, Lai W, Tsai H, Liu W, Lee M, Tsai YC. Effect of *Lactobacillus plantarum* strain K21 on high-fat diet-fed obese mice. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015, 391767.
107. Choi I, Kim S, Jeong J, Lee D, Huh C, Hong S, Sim J, Ahn Y. Triglyceride-lowering effects of two probiotics, *Lactobacillus plantarum* KY1032 and *Lactobacillus*

- curvatus HY7601, in a rat model of high-fat diet-induced hypertriglyceridemia. *J Microbiol Biotechnol.* 2016, 26(3): 483-7.
108. Hsieh F, Lee C, Chai C, Chen W, Lu Y, Wu C. Oral administration of *Lactobacillus reuteri* GMNL-263 improves insulin resistance and ameliorates hepatic steatosis in high fructose-fed rats. *Nutr Metab.* 2013, 10(1): 35.
109. Park D, Ahn Y, Huh C, McGregor R, Choi M. Dual probiotic strains suppress high fructose-induced metabolic syndrome. *World J Gastroenterol.* 2013, 19(2): 274-83.
110. Ritze Y, Bárdos G, Claus A, Ehrmann V, Bergheim L, Schwiertz A, Bischoff S. *Lactobacillus rhamnosus* GG protects against nonalcoholic fatty liver disease in mice. *PloS one.* 2014, 9(1): e80169.
111. Park S, Ji Y, Jung H, Park H, Kang J, Choi S, Shin H, Hyun C, Kim K, Holzapfel W. *Lactobacillus plantarum* HAC01 regulates gut microbiota and adipose tissue accumulation in a diet-induced obesity murine model. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2017, 101(4): 1605-14.
112. Balakumar M, Prabhu D, Sathishkumar C, Prabu P, Rokana N, Kumar R, Raghavan S, Soundarajan A, Grover S, Kumar V, Mohan V, Balasubramanyam M. Improvement in glucose tolerance and insulin sensitivity by probiotic strains of Indian gut origin in high-fat diet-fed C57BL/6J mice. *Eur J Nutr.* 2018, 57(1): 279-95.
113. Oh Y, Kim H, Kim T, Yeo I, Ji G. Effects of *Lactobacillus plantarum* PMO 08 alone and combined with chia seeds on metabolic syndrome and parameters related to gut health in high-fat diet-induced obese mice. *J Med Food.* 2019, 22(12): 1199-1207.
114. Sahin K, Kucuk O, Orhan C, Erten F, Sahin N, Komorowski J. Effects of supplementing different chromium histidinate complexes on glucose and lipid metabolism and related protein expressions in rats fed a high-fat diet. *J Trace Elem Med Biol.* 2021, 65: 126723.
115. Sahin K, Orhan C, Tuzcu M, Sahin N, Erten F, Juturu V. Capsaicinoids improve consequences of physical activity. *Toxicol Rep.* 2018, 5: 598-607.
116. Korkmaz O, Sadi G, Kocabaş A, Yildirim O, Sumlu E, Koca HB, Nalbantoğlu B, Pektas MB, Akar F. *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus plantarum* modulate

- renal antioxidant status in a rat model of fructose-induced metabolic syndrome. *Arc Biol Sci.* 2019, 71(2): 265-273.
117. Réggami Y, Benkhaled A, Boudjelal A, Berredjem H, Amamra A, Benyettou H, Larabi N, Senator A, Siracusa L, Ruberto G. Artemisia herba-alba aqueous extract improves insulin sensitivity and hepatic steatosis in rodent model of fructose-induced metabolic syndrome. *Arch Physiol Biochem.* 2019,127(6): 541-550.
118. Kumar M, Nagpal R, Kumar R, Hemalatha R, Verma V, Kumar A, Chakraborty C, Singh B, Marotta F, Jain S, Yadav H. Cholesterol-lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases. *Exp Diabetes Res.* 2012, 902917.
119. Anandharaj M, Sivasankari B, Parveen Rani R. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on hypercholesterolemia: a review. *Chinese J Biology.* 2014.
120. Aminlari L, Shekarforoush S, Hosseinzadeh S, Nazifi S, Sajedianfard J, Eskandari M. Effect of probiotics *Bacillus coagulans* and *Lactobacillus plantarum* on lipid profile and feces bacteria of rats fed cholesterol enriched diet. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2019, 11(4): 1163-71.
121. Rochlani Y, Pothineni N, Kovelamudi S, Mehta J. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2017, 11(8): 215-25.
122. Cheng W, Li S, Lee T, Lee T, Chung C, Kao Y, Chen Y. Sugar Fructose Triggers Gut Dysbiosis and Metabolic Inflammation with Cardiac Arrhythmogenesis *Biomedicines.* 2021, 9(7): 728.
123. Xie X. Liquiritigenin attenuates cardiac injury induced by high fructose feeding through fibrosis and inflammation suppression. *Biomed Pharmacother.* 2017, 86: 694-704.
124. Ilavenil S, Kim D, Valan Arasu M, Srigopalram S, Sivanesan R, Choi K. Phenyllactic Acid from *Lactobacillus plantarum* Promotes Adipogenic Activity in 3T3-L1 Adipocyte via Up-Regulation of PPAR- γ 2. *Molecules.* 2015, 20(8): 15359-73.
125. Kim J, Kim H, Jung B, Kim N, Park J, Chung D. Lipoteichoic acid isolated from *Lactobacillus plantarum* suppresses LPS-mediated atherosclerotic plaque inflammation. *Mol Cells.* 2013, 35(2): 115-24.

126. Salah R, Trabelsi I, Hamden K, Chouayekh H, Bejar S. Lactobacillus plantarum TN8 exhibits protective effects on lipid, hepatic and renal profiles in obese rat. *Anaerobe*. 2013, 23: 55-61.
127. Huang L, Zhao Z, Duan C, Wang C, Zhao Y, Yang G, Gao L, Niu C, Xu J, Li S. Lactobacillus plantarum C88 protects against aflatoxin B 1-induced liver injury in mice via inhibition of NF- κ B-mediated inflammatory responses and excessive apoptosis. *BMC Microbiol*. 2019, 19(1): 170.
128. Jeong J, Lee H, Jang S, Han M, Kim D. Lactobacillus plantarum C29 alleviates NF- κ B activation and Th17/Treg imbalance in mice with TNBS-induced colitis. *Food Agricult Immunol*. 2018, 29(1): 577-89.
129. Muniyappa R, Sowers J. Role of insulin resistance in endothelial dysfunction. *Rev Endocr Metab Disord*. 2013, 14(1): 5-12.
130. Babacanoglu C, Yildirim N, Sadi G, Pektas M, Akar F. Resveratrol prevents high-fructose corn syrup-induced vascular insulin resistance and dysfunction in rats. *Food Chemical Toxicol*. 2013, 60: 160-167.
131. Silva J, Correa I, Diniz T, Lima P, Santos R, Cortes S, Coimbra C, Lemos V. Obesity, inflammation, and exercise training: relative contribution of iNOS and eNOS in the modulation of vascular function in the mouse aorta. *Front Physiol*. 2016, 7: 386.
132. Huang P. A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Dis Model Mech*. 2009, 2(5-6): 231-7.
133. Jeong O, Kim H. Dietary chokeberry and dried jujube fruit attenuates high-fat and high-fructose diet-induced dyslipidemia and insulin resistance via activation of the IRS-1/PI3K/Akt pathway in C57BL/6 J mice. *Nutr Metab*. 2019, 16: 38.
134. Kim J, Montagnani M, Koh K, Quon M. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation*. 2006, 113(15): 1888-904.
135. Li X, Wang N, Yin B, Fang D, Jiang T, Fang S, Zhao J, Zhang H, Wang G, Chen W. Effects of Lactobacillus plantarum CCFM0236 on hyperglycaemia and insulin resistance in high-fat and streptozotocin-induced type 2 diabetic mice. *J Appl Microbiol*. 2016, 121(6): 1727-36.

136. Sumlu E, Bostancı A, Sadi G, Alçığır M, Akar F. Lactobacillus plantarum improves lipogenesis and IRS-1/AKT/eNOS signalling pathway in the liver of high-fructose-fed rats. *Arch Physiol Biochem.* 2020,128(3): 786-794.
137. Passtoors W, Beekman M, Deelen J, van der Breggen R, Maier A, Guigas B, Derhovanessian E, Heemst D, Craen M, Gunn D, Pawelec G, Slagboom P. Gene expression analysis of mTOR pathway: association with human longevity. *Aging Cell.* 2013, 12(1): 24-31.
138. Wang Y, Zhou X, Li D, Ye J. Role of the mTOR-autophagy-ER stress pathway in high fructose-induced metabolic-associated fatty liver disease. *Acta Pharmacol Sin.* 2022, 43(1): 10-14.
139. Medeiros C, Frederico M, da Luz G, Pauli J, Silva A, Pinho R, Velloso L, Ropelle E, Souza C. Exercise training reduces insulin resistance and upregulates the mTOR/p70S6k pathway in cardiac muscle of diet-induced obesity rats. *J Cell Physiol.* 2011, 226(3): 666-74.
140. Sciarretta S, Forte M, Frati G, Sadoshima J. The complex network of mTOR signalling in the heart. *Cardiovasc Res.* 2022, 118(2): 424-439.
141. Yoon M. The role of mammalian target of rapamycin (mTOR) in insulin signaling. *Nutrients.* 2017, 9(11): 1176.
142. Vachharajani V, Liu T, Wang X, Hoth J, Yoza B, McCall C. Sirtuins link inflammation and metabolism. *J Immunol Res.* 2016, 8167273.
143. Rebollo A, Roglans N, Baena M, Sánchez R, Merlos M, Alegret M, Laguna C. Liquid fructose downregulates Sirt1 expression and activity and impairs the oxidation of fatty acids in rat and human liver cells. *Biochim Biophys Acta.* 2014, 1841(4): 514-24.
144. Boskovic M, Bundalo M, Zivkovic M, Stanisic J, Kostic M, Koricanac G, Stankovic A. Estradiol ameliorates antioxidant axis SIRT1-FoxO3a-MnSOD/catalase in the heart of fructose-fed ovariectomized rats. *J Func Foods.* 2019, 52: 690-8.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul İzin Belgesi





Ek 2. Özgeçmiş





16. Verilen Dersler

Akademik Yıl	Dönem	Dersin Adı	Haftalık Saati		Öğrenci Sayısı
			Teorik	Uygulama	
2018-2019	Güz Önlisans	Genel Biyoloji	2	0	21
		Tıbbi Terminoloji	2	0	21
	İlkbahar Önlisans	Pratik İlaç Bilgisi I	3	0	21
		Genel Biyokimya	2	0	21
		Mesleki Etik	2	0	5
2019-2020	Güz Önlisans	Pratik İlaç Bilgisi II	3	0	21
		Staj Değerlendirme	0	2	20
		Kozmetik, Doğal ve Medikal Ürünler	2	0	21
		Genel Biyoloji	2	0	24
		Tıbbi Terminoloji	2	0	24
	İlkbahar Önlisans	Halk Sağlığı	2	0	21
		Beslenme İlkeleri	2	0	21
		Pratik İlaç Bilgisi I	3	0	24
2020-2021	Güz Önlisans	Pratik İlaç Bilgisi II	3	0	23
		Kozmetik, Doğal ve Medikal Ürünler	2	0	25
		Staj Değerlendirme	0	2	24
		İletişim Becerileri	2	0	20
		Farmakoloji ve Akılcı İlaç Kullanımı	2	0	20
2020-2021	Bahar Önlisans	Pratik İlaç Bilgisi I	3	0	23
		Mesleki Etik	2	0	25
		Mesleki Etik (Bilg Prog)	2	0	24
		Pazarlama ve Satış Yönetimi	2	0	20
		Halk Sağlığı (Optisyonluk)	3	0	20

17. Sertifikalar

17.1. Fırat Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası-12.2015

17.2. Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA) I. Gıda ve Sağlıklı Beslenme Sempozyumu-04.2019

17.3. 41.Klinik Eczacılık Sempozyumu, Barcelona, Spain European Society of Clinical Pharmacy (ESCP)-10.2012

17.4. 6th European Forum for Qualified Person for Pharmacovigilance, London, UK Drug Information Association-04.2012

17.5. World Healthcare Students' Symposium Prague, Czech Republic-11.2011

17.6. Marmara Industrial Engineering Society İKFYVZ-03.2013

17.7. Tromboz, Hemostaz ve Anjioloji Derneği Farmakogenetik ve Farmakogenomik Sempozyumu-10.2012

17.8. KOSGEB Girişimcilik-09.2013 (Girişimcilik Sertifikası)

17.9. Marmara Üniversitesi MEFKO-2013 (Düzenleme Kurulu)

