T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK FRUKTOZUN OLUŞTURDUĞU METABOLİK SENDROMDA *L. PLANTARUM* VE *L. HELVETİCUS*'UN BÖBREK FONKSİYONLARI İLE OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ÖMER ADİL KORKMAZ

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA PROGRAMI

DANIŞMAN
PROF. DR. BARBAROS NALBANTOĞLU

EŞ DANIŞMAN
PROF. DR. FATMA AKAR

İSTANBUL, 2019

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK FRUKTOZUN OLUŞTURDUĞU METABOLİK SENDROMDA *L. PLANTARUM* VE *L. HELVETİCUS*'UN BÖBREK FONKSİYONLARI İLE OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Ömer Adil KORKMAZ tarafından hazırlanan tez çalışması 09.05.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU
Yıldız Teknik Üniversitesi
Eş Danışman
Prof. Dr. Fatma AKAR
Gazi Üniversitesi

Jüri Üyeleri
Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Mehmet Bilgehan PEKTAŞ
Afyon Sağlık Bilimleri Üniversitesi _____

Prof. Dr. Emine KARAKUŞ
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa YAMAN
İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi _____

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün FDK-2018-3392 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Doktora tezi olarak Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalında sunulan bu çalışmada, deneyimi ve yardımlarıyla beni yönlendiren, zamanını ve desteğini esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU'na şükranlarımı sunarım.

Tez çalışması sırasında maddi manevi ilgi ve desteklerini eksik etmeyen eş danışmanım Sayın Prof. Dr. Fatma AKAR'a (Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi) teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarda laboratuvar olanaklarını kullanabilme fırsatı sunan ve yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Gökhan SADİ'ye (Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Fakültesi) ve istatistiksel analizlerin oluşturulmasında ve tez yazım aşamasında yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Mehmet Bilgehan PEKTAŞ'a (Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakütesi) şükranlarımı sunarım.

Ayrıca hayatımın her aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen kıymetli aile fertlerime sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Mayıs, 2019

Ömer Adil KORKMAZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ viii

KISALTMA LİSTESİ ix

ŞEKİL LİSTESİ xi

ÇİZELGE LİSTESİ xii

ÖZET xiii

ABSTRACT xv

BÖLÜM 1 1

GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 6
1.3 Hipotez 7

BÖLÜM 2 8

GENEL BİLGİLER 8

2.1 Metabolik Sendrom 8
2.1.1 Metabolik Sendrom'a Neden Olan Faktörler ve Obezite 10
2.1.2 Beslenmenin Metabolik Sendrom Açısından Önemi 11
2.1.3 İnsülin Direnci ve Metabolik Sendrom İlişkisi 12
2.2 Fruktoz 15
2.2.1 Fruktozun Kimyasal Yapısı 17
2.2.2 Fruktozun Farmakokinetiği 18
2.2.3 Fruktozun Metabolik Etkileri 19
2.2.4 Oksidatif Stres ve Antioksidanlar 22
2.2.5 Fruktozun Böbrek Fonksiyonu Üzerine Etkileri 24
2.3 Probiyotiklerin Önemi 26
2.3.1 *Lactobacillus Helveticus* ve *Lactobacillus Plantarum*'un Karakteristikleri 27
2.3.2 Diyette *Lactobacillus Helveticus* ve *Lactobacillus Plantarum*'un Metabolik Etkileri 29

BÖLÜM 3 32

MATERYAL VE METOT 32

3.1 Hayvanlar ve Diyet 32
3.1.1 Sıçanların Ağırlık Takibi, Günlük Yem, Sıvı Tüketimi ve Kalori Alımı Hesaplanması 33
3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Etik Onay 33
3.1.3 Liyofilize *L. plantarum* ve *L. helveticus* Suşlarının Çoğaltılması 33
3.2 Biyokimyasal Belirteçlerin Analizi 34
3.2.1 Plazma Glukoz Düzeyinin Belirlenmesi 34
3.2.2 Plazma İnsülin Düzeyinin Belirlenmesi 34
3.2.3 Plazma Trligliserid, VLDL, HDL ve Total Kolesterol Düzeylerinin Belirlenmesi 35
3.2.4 Plazma Total Protein ve Albümin Düzeylerinin Belirlenmesi 35
3.2.5 Plazma MDA Düzeyinin Belirlenmesi 35
3.2.6 Plazma Üre, Ürik Asit ve Kreatinin Düzeylerinin Belirlenmesi 35
3.2.7 Böbrek Dokusunda MDA Düzeyinin Belirlenmesi 35
3.2.8 Böbrek Dokusunda Üre ve Ürik Asit Düzeylerinin Belirlenmesi 36
3.3 Proteinlerin Miktar Tayini 36
3.3.1 Böbrek Dokularının Homojenizasyonu ve Toplam Protein Miktar Tayini 36
3.3.2 Western Blot Yöntemi ile SOD1, SOD2, CAT ve GPx Proteinlerinin Ölçümü 37
3.4 Real Time-PCR Yöntemi ile mRNA Miktar Tayini 38
3.4.1 Toplam RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi 38
3.4.2 Kuantatif Gerçek Zamanlı PZR (Real Time-PCR) 39
3.5 İstatistiksel Analiz 40

BÖLÜM 4 41

ARAŞTIRMA BULGULARI 41

4.1 Sıçanların Vücut ve Böbrek Doku Ağırlıkları 41
4.2 Sıçanların Günlük Yem Tüketimi, Sıvı ve Kalori Alımı 42
4.3 Sıçanların Plazma ve Böbrek Dokularında Biyokimyasal Bulgular 42
4.4 Sıçanların Böbrek Dokularında Western Blot Yöntemiyle Protein Miktar Tayini 44
4.4.1 SOD1 Protein Ekspresyonu 44
4.4.2 SOD2 Protein Ekspresyonu 45
4.4.3 CAT Protein Ekspresyonu 46
4.4.4 GPx Protein Ekspresyonu 47
4.5 Sıçanların Böbrek Dokularında RT-qPCR Yöntemiyle mRNA Miktar Tayini 48
4.5.1 *sod1* mRNA Ekspresyonu 48
4.5.2 *sod2* mRNA Ekspresyonu 49
4.5.3 *cat* mRNA Ekspresyonu 50
4.5.4 *gpx* mRNA Ekspresyonu 51

BÖLÜM 5 52

SONUÇ VE ÖNERİLER 52

KAYNAKLAR 59
ÖZGEÇMİŞ 85

SİMGE LİSTESİ

pmol	Pikomol
µmol	Mikromol
mmol	Milimol
g	Gram
mg	Miligram
µg	Mikrogram
N	Normal
M	Molar
mM	Milimolar
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
kkal	Kilokalori
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
h/h	Hacim/Hacim
a/h	Ağırlık/Hacim

KISALTMA LİSTESİ

ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat transaminaz
BSA	Bovin Serum Albumin
CAT	Katalaz
Cp	Kritik Eşik Döngü Sayısı
DEPC	Dietilpirokarbonat
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
Em	Emission
Ex	Excitation
GAPDH	Gliser Aldehit Fosfat Dehidrojenaz
GPx	Glutatyon Peroksidaz
GLUT-2	Glukoz Taşıyıcı Tip 2
GLUT-4	Glukoz Taşıyıcı Tip 4
GLUT-5	Glukoz Taşıyıcı Tip 5
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromotografisi
IL-1β	İnterlökin-1 Beta
IL-10	İnterlökin-10
IL-6	İnterlökin-6
IRS-1	İnsülin Reseptör Substrat-1
IgG	İmmünoglobulin G
LP	Lactobacillus Plantarum
LH	Lactobacillus Helveticus
MDA	Malondialdehit
MetS	Metabolik Sendrom
mRNA	Mesajcı RNA
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PMSF	Fenil Metil Sülfonil Florid

PVDF	Polivinilidindiflorür
RNA	Ribo Nükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforez
SOD1	Süperoksit Dismutaz 1
SOD2	Süperoksit Dismutaz 2
TNFα	T-Nükleer Faktör- α
TBST	Tris-Buffered Saline-Tween
V	Volt
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
VLDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2. 1 İnsülin direnci ve metabolik sendrom ilişkisi 14
Şekil 2. 2 Fruktoz ve glukozun kimyasal yapısı 17
Şekil 2. 3 Fruktoz/Glukoz absorbsiyonu ve taşınımı 18
Şekil 2. 4 Fruktoz ve glukozun metabolizasyonu 19
Şekil 2. 5 Fruktoz tüketiminin çeşitli doku ve organlar üzerindeki fizyolojik etkileri ... 22
Şekil 2. 6 Fruktoz tüketimine bağlı ürik asit ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu 25
Şekil 3. 1 Western-Blot ile protein yoğunluk tayini 38
Şekil 4. 1 Sıçanların böbrek doku örneklerinde Western Blot yöntemi ile ölçülen SOD1 protein ekspresyonunu gösteren temsili bantlar 44
Şekil 4. 2 Sıçanların böbrek doku örneklerinde Western Blot yöntemi ile ölçülen SOD2 protein ekspresyonunu gösteren temsili bantlar 45
Şekil 4. 3 Sıçanların böbrek doku örneklerinde Western Blot yöntemi ile ölçülen CAT protein ekspresyonunu gösteren temsili bantlar 46
Şekil 4. 4 Sıçanların böbrek doku örneklerinde Western Blot yöntemi ile ölçülen GPx protein ekspresyonunu gösteren temsili bantlar 47
Şekil 4. 5 Sıçanların böbrek doku örneklerinde RT-qPCR yöntemi ile ölçülen *sod1* mRNA ekspresyonu 48
Şekil 4. 6 Sıçanların böbrek doku örneklerinde RT-qPCR yöntemi ile ölçülen *sod2* mRNA ekspresyonu 49
Şekil 4. 7 Sıçanların böbrek doku örneklerinde RT-qPCR yöntemi ile ölçülen *cat* mRNA ekspresyonu 50
Şekil 4. 8 Sıçanların böbrek doku örneklerinde RT-qPCR yöntemi ile ölçülen *gpx* mRNA ekspresyonu 51

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2. 1 Metabolik sendrom tanı kriterleri 9
Çizelge 2. 2 Bazı besinlerde bulunan fruktoz miktarı 16
Çizelge 2. 3 İçeriğinde *L. plantarum* bulunan gıdalar 27
Çizelge 3. 1 Deney grupları ve diyet programları 32
Çizelge 3. 2 RT-qPCR yöntemiyle mRNA ekspresyonlarının belirlenmesi amacıyla kullanılan *sod1, sod2, cat, gpx* ve *gapdh* primer çiftleri 39
Çizelge 4. 1 Gruplara göre sıçanların vücut ve böbrek doku ağırlıkları 41
Çizelge 4. 2 Gruplara göre sıçanların günlük yem tüketimi, sıvı ve kalori alımı 42
Çizelge 4. 3 Gruplara göre sıçanların plazma ve böbrek dokularında biyokimyasal bulgular 43

ÖZET

YÜKSEK FRUKTOZUN OLUŞTURDUĞU METABOLİK SENDROMDA *L. PLANTARUM* VE *L. HELVETİCUS*'UN BÖBREK FONKSİYONLARI İLE OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Ömer Adil KORKMAZ

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU

Eş Danışman: Prof. Dr. Fatma AKAR

Diyet içerisinde yüksek fruktoz alımı metabolik sendroma (MetS) neden olabilir. Fruktoz tüketiminin neden olduğu oksidatif stres ve inflamatuvar değişkenler ise böbrek fonksiyonlarını bozarak hastalık riskini artırır. Probiyotikler antioksidan, antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkilere sahip bakterilerdir. Literatürde, probiyotiklerin yüksek fruktoz diyeti ile oluşturulan MetS modelleri üzerine etkilerini inceleyen sınırlı çalışma yer almaktadır. Bu çalışmada, liyofilize *Lactobacillus helveticus* (*L. helveticus*) ve *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) suşlarının yüksek fruktozun neden olduğu metabolik değişiklikler ve renal oksidatif stres üzerindeki etkileri araştırılmıştır. *Wistar* erkek sıçanlar dört gruba ayrılmıştır; kontrol, fruktoz, fruktoz+*L.helveticus* ve fruktoz+*L. plantarum.* Fruktoz 15 hafta süre ile içme suyu içerisinde %20 çözelti şeklinde verilirken; probiyotikler ise fruktoz uygulamasının 9.haftasından itibaren 6 hafta boyunca günde bir kez (10^{+9}CFU/ml/100 g) olmak üzere gastrik gavaj ile uygulanmıştır. Sıçanların plazma örneklerinde glukoz, insülin,

trigliserit, VLDL, HDL, total kolesterol, MDA, kreatinin, üre, ürik asit, albümin ve total protein ile renal MDA, üre ve ürik asit düzeyleri biyokimyasal yöntemlerle ölçülmüştür. Böbrek dokularındaki temel antioksidan enzimler olan SOD1, SOD2, CAT ve GPx mRNA/protein ekspresyonları ise qRT-PCR ve Western Blot analiz yöntemleri ile tespit edilmiştir. Fruktoz tüketimiyle artan plazma insülin, trigliserit, VLDL, MDA ve kreatinin ile renal MDA ve üre düzeyleri üzerine *L. helveticus* ve *L. plantarum* uygulamasının hafifletici etkileri tespit edilmiştir. Diğer taraftan, *L. helveticus* ve *L. plantarum* takviyesiyle renal SOD1, SOD2 ve CAT protein ekspresyon seviyesindeki değişiklikler önemli ölçüde geri kazanılmıştır. Sonuç olarak, diyet içerisinde *L. helveticus* ve *L. plantarum* alımının, fruktozun neden olduğu MetS'da belirli metabolik parametreler ve renal antioksidan enzimler üzerinde iyileştirici bir etkisi olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Fruktoz; renal antioksidan kapasite; *Lactobacillus helveticus; Lactobacillus plantarum.*

ABSTRACT

INVESTİGATİON OF THE EFFECTS OF *L. PLANTARUM* AND *L. HELVETİCUS* ON KİDNEY FUNCTİONS AND OXİDANT AND ANTİOXİDANT PARAMETERS İN FRUCTOSE-INDUCED METABOLİC SYNDROME

Ömer Adil KORKMAZ

Department of Chemistry

Biochemistry Program

Ph.D. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU

Co-Adviser: Prof. Dr. Fatma AKAR

High-fructose intake in the diet can cause metabolic syndrome (MetS). Oxidative stress and inflammatory variables caused by the consumption of fructose impair the kidney function and increase the risk of disease. Probiotics might have antioxidant, antiinflammatory and immunoregulatory properties. However, there was limited data on the influence of probiotics treatment in high-fructose-induced metabolic syndrome. The present study was aimed to search the influence of the supplementation of *Lactobacillus helveticus (L. helveticus)* and *Lactobacillus plantarum (L. plantarum)* on dietary fructose-induced metabolic changes and renal antioxidant/oxidant status of rats. Male

Wistar rats were randomly divided into four groups as control; fructose; fructose+*L. helveticus* and fructose+*L. plantarum*. Fructose was given to the rats as 20% solution in drinking water for 15 weeks and the probiotics supplementation (10^{+9} CFU/ml/100 g) was applied by gastric gavage once a day during 6 weeks from the 9th week of the application of fructose. Glucose, insulin, triglyceride, VLDL, HDL, total cholesterol, MDA, creatinine, urea, uric acid, albumin, and total protein in the samples of plasma with renal MDA, urea, and uric acid levels were measured by biochemical methods. The main antioxidant enzymes SOD1, SOD2, CAT, and GPx mRNA/protein expressions in kidney tissues were determined by qRT-PCR and Western Blot analysis methods. Dietary fructose-induced elevations in plasma insulin, triglyceride, VLDL, MDA, and creatinine as well as renal MDA, and urea levels were alleviated following the treatment with *L. helveticus,* and *L. plantarum*. Moreover, *L. helveticus,* and *L. plantarum* supplementation importantly recovered the changes in renal protein expression level of SOD1, SOD2 and CAT. In conclusion, the supplementation of *L. helveticus,* and *L. plantarum* has an improving effect on certain metabolic parameters and renal antioxidative enzymes in fructose-induced MetS.

Keywords: Dietary fructose; renal antioxidant status; *Lactobacillus helveticus*; *Lactobacillus plantarum*

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Metabolik Sendrom (MetS) hiperinsülinemi, hiperglisemi, dislipidemi ve abdominal obezite ile birlikte seyreden kompleks bir hastalıktır [1]. Son yıllarda gelişmiş ülkeler başta olmak üzere birçok ülkede MetS görülme sıklığında artış olduğu bilinmektedir. Avrupa ülkelerinde yetişkin popülasyonda görülme sıklığı %23-26 [2], Amerika'da ise %34 olduğu bildirilmiştir [3]. Dengesiz beslenme, düşük efor içeren yaşam tarzı, yağlı ve yüksek karbonhidrat içeren diyetin yaygınlaşması MetS sıklığındaki artışın temel sebepleri arasında gösterilmektedir [4]. Son çeyrek asırdır, rafineri şeker tüketimindeki dramatik artış ile MetS prevalansındaki artışın paralel seyretmesi, günlük kalori ihtiyacının sağlanmasında karbonhidratların payının artmasıyla MetS'un ilişkili olabileceğini göstermiştir. Yapılan çalışmalar, şekerli içecekler ve şeker ihtiva eden gıdaların içerisinde kullanılan yüksek fruktoz içeren mısır şurubunun (YFMŞ) insülin direnci, dislipidemi ve karaciğer yağlanması başta olmak üzere birçok hastalığa neden olduğunu göstermektedir [5],[6]. Karbonhidratlar içerisinde özellikle fruktozun bu olumsuz tabloya neden olması, fruktozun vücutta insülinden bağımsız bir şekilde metabolize edilmesiyle açıklanmaktadır [7]. Nitekim fruktozun olumsuz etkilerinin glukoz ve sukroz gibi diğer şekerlerle kıyaslandığı çalışmalarda, fruktozun daha tehlikeli bir monosakkarit olduğu gösterilmiştir [8],[9]. Deney hayvanlarına gerek YFMŞ, gerekse içme suyu ya da hayvan yemi içerisinde fruktoz verilmesiyle karaciğer insülin sinyal yolağının bozulduğu, insülin direnci ve inflamasyon geliştiği birçok çalışmada gösterilmiştir [10-13]. İçme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen *Sprague Dawley* sıçanlarda hiperinsülinemi ve dislipidemi geliştiği, torasik arterlerinde insülin sinyal yolağı komponentlerinden IRS-1 düzeylerinin azaldığı saptanmıştır [14]. Yine

içme suyu içerisinde, %56 fruktoz içeren YFMŞ (%20) ile beslenen *Wistar* sıçanlarda hipertrigliseridemi ve karaciğer yağlanması geliştiği tespit edilmiştir [15]. Diğer bir çalışmada ise, içme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen *Sprague Dawley* sıçanlarda omental adipoz dokuda hipertrofi geliştiği, adipoz doku örneklerinde inflamatuvar parametrelerden TNFα, IL-1β ve IL-10 düzeylerinin arttığı saptanmıştır [16].

Üre; vücutta protein yapıdaki moleküllerin yıkılmasıyla ortaya çıkar ve amonyağın karaciğerde karbondioksitle birleşmesiyle oluşur. Yetişkin bir birey günde 25-30 g civarında üreyi idrarla atar [17]. Kreatinin ise normal kas metabolizmasının sonucu oluşur. Bu kimyasal atık parçalandıktan sonra kan dolaşımına girer ve sonrasında böbrekler bu atık maddeyi kandan uzaklaştırır [18]. Böbrek yetmezliği, azotlu atıkların (üre) vücuttan atılmasını engelleyecek ve vücudun sıvı ve elektrolit dengesini bozacak kadar böbrek fonksiyonlarında meydana gelen ani değişme olarak tanımlanmaktadır. Diğer bir ifadeyle, böbrek fonksiyonlarının ani kaybı ile idrar atılımının başarısızlığıyla sonuçlanan ve buna bağlı olarak kan üre azotu ve serum kreatinin miktarının artmasıdır [19]. Diyet içerisinde fruktoz tüketiminin kanda ve idrarda üre/kreatinin düzeylerini değiştirdiği bilinmektedir. Yetişkin ICR farelere içme suyu içerisinde 12 hafta boyunca %30 fruktoz verilmesiyle serum üre ve kreatinin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir [20]. Başka bir çalışmada ise, *Sprague Dawley* sıçanlara 4 hafta boyunca yem içerisinde %60 fruktoz verilmesiyle serum üre, ürik asit ve kreatinin düzeylerinin arttığı saptanmıştır [21]. Böbrek fonksiyonlarının önemli bir belirteci olan ürik asitin MetS ile ilişkili olduğu bildirilmektedir [22]. Ürik asitin glukoz transportunda etkili olan nitrik oksit yapımını baskıladığı gösterilmiştir [23]. Serum ürik asitinin düşürülmesiyle kan basıncı yüksekliği, hiperinsülinemi, kilo alımı ve hipertrigliseridemi gibi MetS bileşenlerinde düzelme sağlandığı bildirilmiştir [24]. Ürik asit düzeyinde yükselme kronik böbrek hastalığında sık görülen bir bulgudur. Geçmişte, ürik asit yüksekliğinin sadece böbreklerden atılımının azalmasına bağlı olarak geliştiği belirtilirken; günümüzde ürik asitin aynı zamanda böbrek hasarının oluşmasında ve ilerlemesinde aktif bir rolünün olduğu ortaya konmuştur [25]. Hiperüriseminin, renal vazokonstrüksiyon, sistemik hipertansiyon, tübülointerstisyel hasar, nitrik oksit sentaz yapımında azalma ve afferent arteriolopatiye yol açtığı gösterilmiştir [26-29]. Alkolik olmayan karaciğer yağlanması bulunan çocuklarda ve adolesanlarda serum ürik asit düzeylerinin sağlıklı bireylere göre yüksek olduğu saptanmıştır [30]. *Wistar* sıçanlara 6 hafta boyunca içme suyu içerisinde %10 fruktoz verilmesiyle serum ürik asit düzeylerinin anlamlı olarak arttığı

gösterilmiştir [31]. Başka bir çalışmada ise Spontan Diyabetik *Torii* sıçanlarda fruktoz diyeti ile diyabetik nefropati oluşturulmuş ve sıçanların serum ürik asit düzeylerinde artış meydana gelmiştir [32].

Oksidatif stres, hücresel metabolizma sırasında oluşan hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin artışı (ROS) ile onları detoksifiye eden, antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanır [33]. Oksidatif stres sonucu ortaya çıkan serbest radikallerin etkileri ile makro moleküllerin oksidatif hasarı sonucunda malondialdehit (MDA), protein karbonil (PCO), 8-hidroksiguanin (8-OHG) gibi son ürünler açığa çıkar [34]. İnsan vücudunun serbest radikaller tarafından oluşturulabilecek oksidatif stresi ortadan kaldırmak için en önemli silahı ise antioksidanlardır. Antioksidanlar serbest radikalleri temizleyebilen ve hücre hasarını engelleyebilen maddelerdir. İnsanda bulunan antioksidanlar ya vücut tarafından doğal olarak üretilirler ya da dışarıdan ilave olarak alınırlar. Hem endojen hem de eksojen antioksidanlar serbest radikal süpürücü olarak hareket ederler. Bundan dolayı savunma sisteminin etkisini artırarak hastalık riskini de azaltırlar [35]. Diyet içerisinde fruktoz alımının neden olduğu kısmi hiperglisemi, dislipidemi ve inflamasyonun, plazma ve dokularda serbest oksijen radikallerinin (ROS) konsantrasyonunda artışa neden olduğu bilinmektedir. Yüksek yağlı ve içme suyu içerisinde %5 fruktoz ile 4 ay boyunca beslenen *Wistar* sıçanların böbrek dokularında reaktif oksijen türleri ve MDA düzeyleri artmıştır [36]. Diğer bir çalışmada, içme suyu içerisinde %20 YFMŞ ile 10 hafta boyunca beslenen *Wistar* sıçanların karaciğer dokularında MDA düzeylerinin arttığı, antioksidan enzimlerden katalaz (CAT) düzeyinin azaldığı saptanmıştır [37]. İçme suyu içerisinde 8 hafta boyunca %10 fruktoz verilen *Sprague Dawley* sıçanların böbrek dokularında MDA ve ROS düzeylerinin arttığı, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) ekspresyonlarının ise azaldığı gösterilmiştir [38]. Yüksek yağlı ve fruktoz (%60) içeren yem ile beslenen sıçanların karaciğer MDA düzeylerinin arttığı, SOD ve GPx düzeylerinin azaldığı saptanmıştır [39]. Diğer bir çalışmada ise, yem içerisinde yüksek yağlı ve fruktoz diyeti (%5) ile beslenen sıçanların plazma MDA ve nitrik oksit (NO) düzeylerinin arttığı, SOD ve CAT düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir [40]. İçme suyu içerisinde 9 hafta boyunca %10 fruktoz verilen *Wistar* sıçanların hipotalamus örneklerinde SOD1, CAT ve GPx ekspresyonunun değişmediği, SOD2 düzeylerinin ise azaldığı gösterilmiştir [41]. Klinik bir çalışmada ise, obez bireylerin karaciğer biyopsisi ile elde edilen

örneklerinde, glutatyon-S-transferaz (GST) ve CAT düzeylerinin obez olmayan sağlıklı bireylere göre düşük seviyede olduğu gösterilmiştir [42]. Fruktoz ile indüklenen MetS modelinde *Wistar* sıçanların karaciğer SOD, GPx ve CAT düzeylerinin azaldığı saptanmıştır [43]. Diğer bir çalışmada ise, %60 fruktoz içeren yem ile beslenen *Fischer* sıçanlarının karaciğer dokularında SOD düzeylerinin azaldığı, CAT düzeylerinin arttığı, GPx düzeylerinin ise değişmediği saptanmıştır [44]. Yüksek trans-yağlı, yüksek fruktoz ve yüksek kolesterol ihtiva eden diyet ile beslenen *Lepob/Lepob (ob/ob*) farelerde alkolik olmayan yağlı karaciğer modeli oluşturulmuş; farelerin karaciğerlerinde SOD1 ve CAT mRNA ekspresyonlarının azaldığı, SOD2 ve GPx düzeylerinin ise değişmediği gösterilmiştir [45].

Probiyotikler, belirli miktarlarda tüketildiğinde konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkilere neden olan mikrobiyal gıda katkıları olarak tanımlanmaktadır. Probiyotiklerin tüketici sağlığı üzerinde yarattığı etkilerin en detaylı şekilde araştırıldığı mikroorganizma grubu laktik asit bakterileridir. Bu çalışmalardan elde edilen veriler; probiyotiklerin kullanımının insanların ve hayvanların sağlıklı beslenmesinde ve mikrobiyal enfeksiyonlardan korunmasında ucuz ve güvenli bir yol olduğuna işaret etmektedir [46]. Günümüzde probiyotik tanımı, insan ve hayvan sağlığını destekleyen (güçlendiren), gıda, yem ya da gıda katkı maddelerine ilave edilen mikrobiyal preparatların tümünü kapsamaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların en önemli grubunu laktik asit bakterileri oluşturmaktadır. Bunların içerisinde *Bifidobacterium* ve *Lactobacilli* türleri en yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalardır. Ayrıca bazı bakteri cinsleri ile maya ve küf türlerinden de probiyotik ürünlerin hazırlanmasında yararlanılmaktadır [47]. Probiyotik bir mikroorganizmanın tanımı için zorunlu kriterler LABIP (Laktik Asit Bakteri Endüstriyel Platformu) tarafından belirlenmiştir. İnsan bağırsak mikroflorasında bulunan iki ana bakteri grubunun *Bacteriodetes* ve *Firmicutes* olduğu bilinmektedir. *Firmicutes* ailesinden *Lactobacilli* türü, florayı oluşturan en büyük bakteri grubu olarak bilinmektedir. Piyasada bulunan bütün probiyotik ürünler, *Lactobacilli* türü bakteri içermektedir [48]. Gastrointestinal mikroflora bileşimi; beslenme alışkanlığı, ilaç tedavisi, patojen bakterilerin invazyonu ve genetik miras ile değişebilmektedir. Diyetteki yağ ve lif oranı değişiminin, 24 saat gibi kısa bir süre içinde bile bağırsak mikobiyomunda değişiklik yapabileceği bildirilmiştir [49]. Mikroflora, başlıca fakültatif anaerop ve zorunlu anaeroplardan oluşmaktadır. İnsanlarda bağırsak bakteriyel popülasyonunun yaklaşık olarak %95'i *Bifidobacterium*,

Clostridium, Eubacterium, Fusobacterium, Peptococcus, Bacteroides ve *Peptostreptococcus* türlerinin içinde bulunduğu zorunlu anaeroplardan oluşmaktadır. Bağırsak popülasyonunun yaklaşık olarak %1-10'unda ise *Lactobacilli, E. coli, Klebsiella, Streptococcus, Staphylococcus* ve *Bacillus* türlerinin dâhil olduğu fakültatif anaeroplar bulunmaktadır [50]. Florada bulunan bakterilerin metabolizmasıyla oluşan lokal pH veya redoks potansiyeli değişiklikleri, bazı bakterilerce oluşturulan hidrojen sülfür ve kısa zincirli yağ asitleri, patojen mikroorganizmaları inhibe edici özellik sağlamaktadır. Normal mikroflora özellikle çok yoğun ve farklı bakterinin bulunduğu gastrointestinal sistem florası, konağın birçok biyokimyasal, fizyolojik ve immünolojik özelliklerini etkilemektedir [50],[51]. Yapılan çalışmalarda *Bifidobacter* ve *Lactobacilli* gibi probiyotik bakterilerin intestinal kanalda redoks potansiyelini düşürdüğü kanıtlanmıştır [48]. Probiyotik bakteriler substratlar transfer ederek karbonhidratı ve proteinleri metabolize ederler. Oksijen azlığındaki fosforilasyonda elektron alıcı metabolitler üretmektedirler. Fermentasyon sonucu 3:2 oranında asetat ve laktat son ürünü oluşur. Probiyotik bakteriler bağırsak yüzeyine yerleşerek istenmeyen bakterilerin tutunmasını engellemekte ve ürettikleri antimikrobiyal maddelerle de (asitler, reutein gibi bakteriyosinler) bu bakterilerin çoğalmalarını kontrol altına almaktadırlar. Probiyotik bakterilerin antimikrobiyal etkisi laktik asit, hidrojen peroksit ve antibiyotik benzeri maddelerin üretiminden kaynaklanmaktadır. Laktik asit ortamın pH'ını düşürerek diğer bakteriler için uygun olmayan bir ortam yaratmaktadır. *L. acidophilus* Gram(+) ve Gram(-) bakterilere karşı etkili olan asidofilin ve laktosidin adı verilen antimikrobiyal bileşikler üretmektedir [52]. İnsan bağırsak mikroflorasının doğal bakterileri probiyotik bakterilerden oluşabilmektedir. Günümüzün getirdiği stres, doğal olmayan beslenme alışkanlıkları, çevre kirliliği bu yapıyı bozmuştur. Bununla birlikte bağırsak mikrobiyal popülasyonu ile onların biyokimyasal etkileri ilişkilendirilememiştir. Bu yüzden biyokimyasal etki mekanizması için çok fazla *in vivo* çalışmaların yapılması gerekmektedir [53]. *L. helveticus,* topluca laktik asit bakterileri (LAB) olarak bilinen bir grup organizmaya aittir [54]. Bugüne kadar yapılan çalışmalar *L. helveticus*'un birçok farklı fizyolojik etkiye aracılık ettiğini göstermektedir. Bir çalışmada, *L. helveticus*'un koyun kemiklerinde Ca^{2+} ve oligopeptit düzeylerini arttırdığı ayrıca antioksidan etkinlik gösterdiği saptanmıştır [55]. Diyabetik sıçanlarda *L. helveticus* uygulamasıyla serum HDL düzeyinin arttığı, ALT ve AST düzeylerinin normalize olduğu tespit edilmiştir [56]. Diğer bir çalışmada *L. helveticus*'un anksiyete

ve depresyona bağlı kronik stres ve bilişsel işlev bozukluğunu iyileştirdiği, düşük plazma kortikosteronu ve adrenokortikotropik hormon seviyelerini arttırdığı, yüksek IL-10 düzeylerini ise normalize ettiği gösterilmiştir [57]. Laktik asit bakteri ailesine ait diğer bir tür olan *L. plantarum*, fermente gıdalarda ve ayrıca insan gastrointestinal kanalında yaygın olarak bulunmaktadır [58]. *L. plantarum*, geniş bir uygulama alanı olan birçok çevre nişinde karşılaşılan, metabolik olarak esnek ve çok yönlü bir çubuk ve fakültatif hetero-fermantatif *Lactobacilli*'dir [59]. Yakın dönemde yapılan çalışmalar da *L. plantarum*'un, birçok farklı farmakolojik etkinliğe aracılık ettiğini göstermektedir. Fruktoz diyetiyle beslenen *Wistar* sıçanlara *L. plantarum* uygulamasıyla artan vücut ağırlıklarının ve kan glukoz düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir [60]. Başka bir çalışmada, *L. plantarum* ile fermente edilen meyve ve sebzelerin yüksek antioksidan etki gösterdiği ifade edilmiştir [61]. Yüksek yağlı ve yüksek fruktoz içeren diyet ile beslenen sıçanların serum örneklerinde artış gösteren trigliserit, LDL, total kolesterol, insülin ile proinflamatuvar sitokinlerden IL-1β, IL-6 ve TNFα düzeylerinin, *L. plantarum* uygulaması ile azaldığı saptanmıştır. Aynı çalışmada, diyetle azalan serum SOD, CAT ve GPx aktivitelerinin *L. plantarum* uygulaması ile restore edildiği saptanmıştır [62]. Benzer bir çalışmada, *L. curvatus* ve *L. plantarum* uygulamasıyla fruktoz diyeti sonrası artan glukoz, trigliserit, total kolesterol ve insülin ile karaciğerde lipit peroksidasyon son ürünü olan MDA düzeylerinin normalize olduğu gösterilmiştir [63].

1.2 Tezin Amacı

Bugüne kadar yapılan pek çok çalışmada, yüksek fruktoz diyetinin inflamatuvar ve oksidatif etkileri saptanmıştır. Çeşitli dokularda ve kan örneklerinde fruktozun olumsuz etkilerinin gösterilmesine rağmen, literatürde böbrek dokusuna ait yeterli kaynak yer almamaktadır. Diğer taraftan, birçok faydalı amaçla kullanılan probiyotiklerin fruktoz tüketimiyle oluşturulan MetS üzerinde etkileri yeterince araştırılmamıştır. Bu amaçla; çalışmanın ilk aşamasında, sıçanlara içme suyu içerisinde 15 hafta boyunca %20 fruktoz verilerek MetS modeli oluşturulmuştur. Sıçanların kan örneklerinde glukoz, insülin, trigliserit, VLDL, HDL ve total kolesterol düzeyleri ölçülerek, hedef modelin, uluslararası MetS kriterlerine göre uyumu test edilmiştir. Fruktoz diyetinin neden olduğu değişikliklerin böbrek fonksiyonları üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla kan örneklerinde MDA, kreatinin, üre, ürik asit, albümin ve total protein düzeyleri ile

böbrek dokularında üre ve ürik asit düzeyleri ölçülmüştür. Diğer taraftan, böbrek doku örneklerinde antioksidan/oksidan kapasitenin belirlenebilmesi için SOD1, SOD2, CAT, GPx ve MDA düzeyleri ölçülmüştür. Çalışmanın ikinci aşamasında ise sıçanlara fruktoz ile birlikte liyofilize *L. helveticus* ve *L. plantarum* suşları verilerek, probiyotiklerin MetS oluşturulmuş sıçanların böbrek fonksiyonları ile antioksidan/oksidan kapasite üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

1.3 Hipotez

Günümüzde yaşam tarzının ve beslenme alışkanlıklarının değişmesiyle gelişen MetS, kardiyovasküler hastalıklar için de önemli bir risk faktörüdür. Yakın dönemde yapılan çalışmalar, MetS prevalansındaki artışı fruktoz içeren yiyecek ve içeceklerin tüketilmesindeki artış ile ilişkilendirmektedirler. Diyet içerisinde fruktoz alımının insülin direnci, inflamasyon, oksidatif stres ve obeziteye neden olduğu bilinmektedir. Fruktoz tüketimi, bu olumsuz etkilerinin beraberinde böbrek fonksiyonları üzerinde de istenmeyen sonuçlar doğurabilir. Özellikle ROS artışı böbrek dokusu üzerinde dejeneratif etkilere sebebiyet verebilir. Ayrıca literatürde fruktozun antioksidan mekanizma içerisinde yer alan enzimleri baskıladığı kan örneklerinde ve birçok farklı dokuda gösterilmiştir. Fruktoz tüketimi böbrek dokularında antioksidan mekanizmayı bozarak böbreklerde fonksiyon bozukluklarına neden olabilir. Günümüzde probiyotiklerin etkinliklerini inceleyen çalışmalarda, özellikle *Lactobacilli* türü bakterilerin, immünomodülatör, antiinflamatuvar ve antioksidan etkinlikleri saptanmıştır. Palyatif amaçla kullanılan *Lactobacilli* türleri ise fruktozun farmakokinetiği üzerinden etkinlik göstererek, fruktozun neden olduğu olumsuz etkileri düzeltebilir ya da iyileştirebilir. Hipotetik açıdan bu tez çalışmasında, fruktoz diyeti ile ortaya çıkması muhtemel değişikliklerin *L. helveticus* ve *L. plantarum* uygulamalarıyla düzeltilebileceği düşünülmüştür. Çalışma sonrası elde edilecek verilerin kabul edilebilir düzeyde olması amacıyla, oksidan/antioksidan parametreler mRNA ve protein düzeylerinde ölçülerek gerekli karşılaştırmalar yapılmıştır. Bu amaçla, biyokimyasal testlerin (ELISA) yanında qRT-PCR ve Western blot analiz yöntemleri kullanılmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 Metabolik Sendrom

Sosyoekonomik şartların iyileşmesiyle birlikte gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde sıkça görülen MetS, insülin direnci, dislipidemi ve abdominal obezite gibi sistemik bozuklukların birbirine eklendiği ciddi bir endokrinopatidir [64]. İlk kez 1988'de Reaven tarafından tanımlanan MetS, kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet gelişmesi için önemli bir risk faktörüdür [65]. Hastalığın etiyopatogenezini açıklayabilecek tek bir genetik ya da çevresel faktör henüz tanımlanamamıştır. İnsülin direnci zemininde gelişen heterojen bir hastalık olan MetS'un seyrini modern kent hayatının getirdiği sedanter yaşam ve yüksek kalorili beslenme alevlendirmektedir. Zaman içerisinde vaka sayısının artması ve sendromun diğer hastalıklar ile ilişkili olduğunun kanıtlanması nedeniyle klinikte risk altındaki bireylerin saptanabilmesini sağlayacak tanımlama ve kriter gereksinimleri hasıl olmuştur. Bu amaçla kriterlerin belirlenmesine yönelik organizasyon düzeyindeki ilk girişim, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) diyabet grubu tarafından 1998 yılında gerçekleştirilmiştir. Bu çalıştay ile birlikte ilk tanı kriterleri 1999 yılında WHO kılavuzunda yer almıştır [66],[67]. Daha sonra Avrupa ve Amerika'da birçok sağlık örgütü ve organizasyon tarafından tanımlama ve kriterlere ilişkin kılavuzlar yayınlanmıştır. Hemen ardından yine 1999 yılında Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu (European Group for Study of Insulin Resistance, EGIR), WHO'nun tanımına çeşitli eklemeler yaparak kriterleri güncellemiştir [68]. Daha sonra Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Yetişkin Tedavi Paneli III (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel, NCEP ATP III) 2001 yılında kendi kriterlerini yayınlamıştır [69]. Benzer bir şekilde Amerikan Endokrinologları

Birliği 2003 yılında yeni tanımlama ve kriterler yayımlamıştır [70]. Tanımlamaların çoğalması tek, pratik ve farklı etnik gruplarda kullanılabilecek bir tanım gereksinimini doğurmuştur. Buna yönelik olarak Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF), 2005 yılında yeni MetS kriterlerine ilişkin bir kılavuz hazırlamıştır. Bu kılavuz, 2009 yılında NCEP ATP III kriterlerine benzer bir şekilde revize edilmiştir [71]. Hastalığa ilişkin tanı kriterleri Çizelge 2.1'de yer almaktadır [71].

Çizelge 2. 1 Metabolik sendrom tanı kriterleri

	WHO (1998)	**EGIR (1999)**	**AACE (2003)**	**IDF (2005)**	**ATP-III(2005)**
Zorunlu Kriter	IGT, IFG,Tip2 DM ya da azalmış insülin duyarlılığı	Hiperinsülineminin %75'in üzerinde olması	IGT ya da IFG (diyabet yok)	Artmış bel çevresi (toplumlara özgü)	Yok
Diğer Kriterler	+herhangi 2 kriter	+herhangi 2 kriter	+herhangi 2 kriter	+herhangi 2 kriter	herhangi 3 kriter
Vücut Ağırlığı	Bel-kalça oranı Erkekte >0.90, Kadında >0.85 VKİ >30kg/m^2	Bel çevresi Erkekte≥94 cm, Kadında≥80 cm	VKİ≥25 kg/m^2	Yok	Bel çevresi Erkekte ≥102 cm Kadında ≥88 cm
Lipit	TG≥150 mg/dl ve/veya HDL<35 (erkek) HDL<39 (kadın)	TG≥150 mg/dl ve/veya HDL<39 (erkek veya kadın)	TG≥150 mg/dl ve HDL<40 (erkek) HDL<50 (kadın)	1-TG≥150 mg/dl 2-HDL<40 (erkek) HDL<50 (kadın)	1-TG≥150 mg/dl 2-HDL<40 (erkek) HDL<50 (kadın)
Tansiyon	≥140/90 mmHg	≥140/90 mmHg	≥130/85 mmHg	≥130/85 mmHg	≥130/85 mmHg
Glukoz	Zorunlu kritere bakınız	BAG, BGT (diyabet yok)	Zorunlu kritere bakınız	≥100 mg/dl (diyabet dahil)	≥100 mg/dl (diyabet dahil)

(WHO: Dünya Sağlık Örgütü, **EGIR:**Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu, **AACE:** Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği, **IDF:** Uluslararası Diyabet Federasyonu, **ATP-III:** Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Yetişkin Tedavi Paneli III, **VKİ:**Vücut Kitle İndeksi, **DM:**DiabetesMellitus, **TG:**Trigliserit, **BAG:**Bozulmuş Açlık Glukozu, **BGT:** Bozulmuş Glukoz Toleransı)

2.1.1 Metabolik Sendrom'a Neden Olan Faktörler ve Obezite

Günümüzde MetS görülme sıklığındaki artışın temel nedenleri olarak hareketsiz yaşam tarzı ile beslenme alışkanlıklarının değişmesi gösterilebilir [72],[73]. Diğer taraftan, çevresel ve genetik etkenler de MetS oluşmasına neden olabilir. MetS'lu bireylerde genellikle vücut kitle indeksinde artış, obezite ya da abdominal yağlanma görülmektedir. Obezitenin gelişmesinde ise hazır gıda ya da fast-food tarzı beslenme, fiziksel aktivitede azalma, cinsiyet, yaş, eğitim düzeyi, genetik ve psikolojik faktörler etkilidir. WHO verilerine göre obezite, Avrupa'da yetişkinlerde tip II diyabet vakalarının %80'inden, iskemik kalp hastalıklarının %35'inden ve hipertansiyonun %55'inden sorumludur. Diğer bir çalışmada, Avrupa'da yetişkinlerin %30'undan fazlasının fazla kilolu, obez bireylerin ise %10-30 civarında olduğu gösterilmiştir [74]. Amerikan Ulusal Beslenme ve Sağlık Araştırması sonuçlarına göre Amerika'da 2009-2010 yıllarında yetişkinlerin %39,5'i obez olarak tanımlanmıştır [75]. Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı tarafından yapılan çalışma sonuçlarına göre yetişkin bireylerde obezite oranı %30,3 olarak kaydedilmiştir [76]. Obezite gelişiminde dikkat edilmesi gereken faktörlerden bir tanesi de bebeklik dönemindeki beslenme şeklidir. Bir araştırma sonuçlarına göre, anne sütü ile beslenen çocuklarda, beslenmeyenlere göre daha düşük oranda obezite görüldüğü saptanmıştır. Aynı çalışmada, anne sütü verilme süresi, takviye gıdaların türü ve miktarının da obezite oluşmasında etkili olduğu bildirilmiştir [77]. Son yıllarda fast-food ile YFMŞ içeren yiyecek ve içeceklerin tüketimindeki artış, MetS, diyabet ve obezite gelişimi için risk teşkil etmektedir. Deney hayvanları ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalar da bu durumu teyit etmektedir. Yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerin vücut ağırlıklarının arttığı, obezite ve karaciğer yağlanması geliştiği saptanmıştır [78]. Benzer bir çalışmada ise, 20 hafta süre ile yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda MetS oluştuğu gösterilmiştir [79]. Norveç'te yapılan bir çalışmada, yaşları 30-50 arası değişen 46 erkek bireye yüksek yağlı/düşük karbonhidratlı veya düşük yağlı/yüksek karbonhidratlı diyet uygulanmış ve her iki diyet

çeşidinin de kilo artışı ve MetS'a neden olduğu gösterilmiştir [80]. YFMŞ ile beslenen farelerde ağırlık artışı ve karaciğer yağlanması geliştiği gösterilmiştir [11]. Benzer bir çalışmada, yeni doğan sıçanlara 12 hafta boyunca YFMŞ verilmiş ve sıçanların ağırlık artışının hızlandığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada sıçanlardan izole edilen karaciğer örneklerinde yapılan çalışma sonuçlarına göre; YFMŞ tüketen sıçanların karaciğer SREBP1 düzeylerinin kontrol sıçanlara göre arttığı ve karaciğer yağlanması geliştiği saptanmıştır [81]. Diğer bir çalışmada, içme suyu içerisinde 6 hafta boyunca %10 fruktoz verilen sıçanlarda obezite ve MetS geliştiği rapor edilmiştir [82].

2.1.2 Beslenmenin Metabolik Sendrom Açısından Önemi

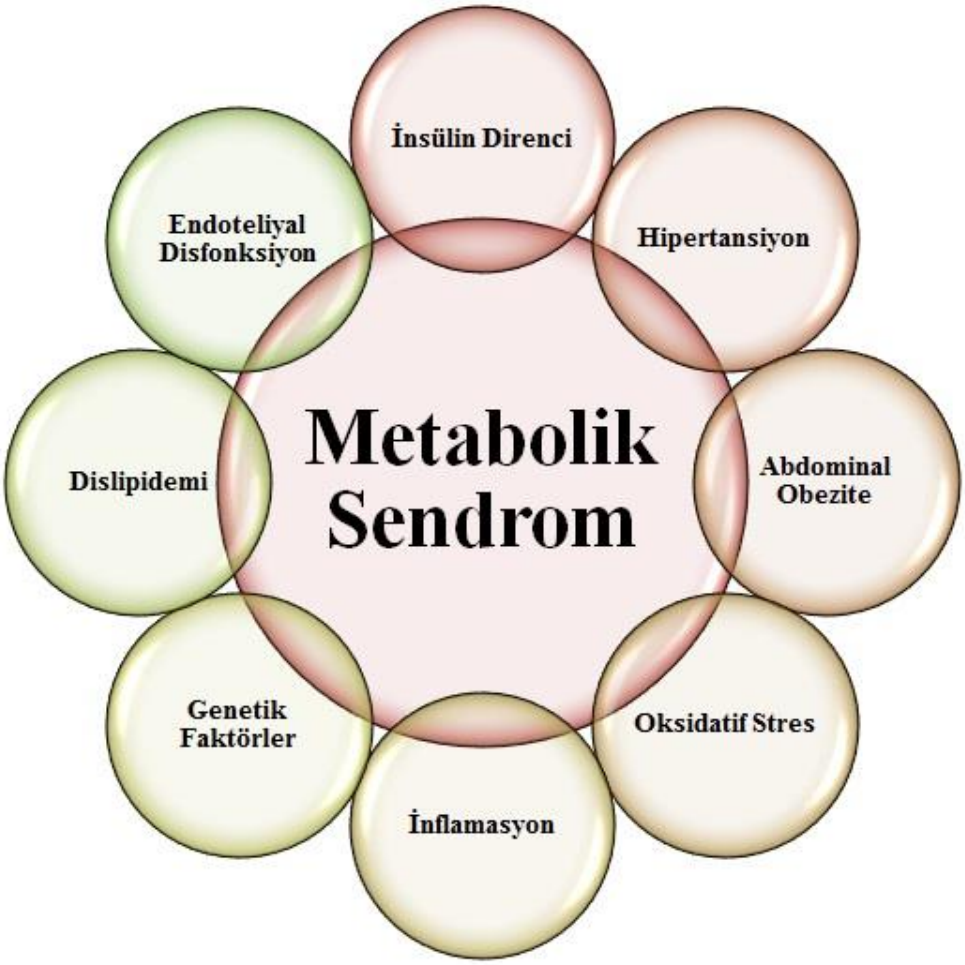
Obezite, hareketsiz yaşam ve beslenme alışkanlıklarındaki değişikliklerin MetS ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Yakın dönemde yapılan çalışmalar, özelikle beslenmenin MetS gelişmesinde ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Literatürde yüksek yağlı diyet, fast-food tarzı beslenme ve YFMŞ içeren besinlerin MetS oluşumunda en önemli beslenme faktörleri olduğu ifade edilmektedir [83]. Fruktoz, süt ürünleri, içecekler, çikolata, pasta ve hazır gıdalar içerisinde YFMŞ aracılığı ile diyet içerisindeki yerini almıştır. İnsanlar ve deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda fruktoz içeren diyetin lipit ve glukoz metabolizmasına etki ederek MetS, obezite ve diyabet riskini artırdığı saptanmıştır [23],[84],[85]. Fruktoz, glukoz ve sukroz gibi karbonhidratların yanında doymuş yağ bakımından zengin batı diyetinin de MetS ve kardiyovasküler hastalıklara neden olduğu gösterilmiştir [86],[87]. İran'da yapılan bir çalışmada hamburger, sosis, patates kızartmasının yer aldığı fast-food tarzı gıdalarla beslenen adolesan ve çocuklarda, MetS görülme sıklığının arttığı ifade edilmiştir. Aynı çalışmada, deney grubunda yer alan bireylerde, hipertrigliseridemi ve abdominal yağlanma geliştiği saptanmıştır [88]. Bu tarz beslenmeyle ortaya çıkan patolojilerin karaciğer fonksiyon bozuklukları ve *de novo* lipogenez bağlı trigliserit akümülasyonundaki artış ile ilişkili olduğu belirtilmektedir [89]. Bir çalışmada yüksek yağlı ve yüksek karbonhidrat içeren diyetle beslenen sıçanlarda MetS parametreleri incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, hem yüksek karbonhidrat hem de yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanların kan basınçlarının arttığı, dislipidemi, glukoz intoleransı ve abdominal yağlanma geliştiği saptanmıştır [90]. Diğer bir çalışmada ise obez adolesan ve çocuklarda tedavi amacıyla Akdeniz diyeti uygulanmış ve MetS komponentleri araştırılmıştır. Diyet sonrası deneklerin plazma trigliserit, total kolesterol ve LDL

düzeylerinin normalize olduğu ve VKİ'nin azaldığı saptanmıştır [91]. *Wistar* erkek sıçanlara içme suyu içerisinde %10 fruktoz verilmesiyle vücut ve karaciğer ağırlığının arttığı, visseral yağlanma geliştiği rapor edilmiştir. [81]. Yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde plazma glukoz ve trigliserit düzeylerinin arttığı, karaciğer yağlanması geliştiği ve bağırsak florasının bozulduğu saptamıştır [92]. Başka bir çalışmada, yüksek karbonhidrat ve yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanların vücut ağırlıklarının ve abdominal yağ oranının arttığı, hiperinsülinemi, dislipidemi ve hiperglisemi geliştiği ayrıca glukoz toleransının bozulduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada, damar düz kasında NO seviyesinin azaldığı, endotelin-1 düzeyinin arttığı gösterilmiş ve diyetin kardiyovasküler hastalıklar için risk teşkil ettiği ifade edilmiştir [93]. Yüksek yağlı diyetle beslenen *Wistar* sıçanların vücut ağırlıklarının yanı sıra pankreas islet hücre hacminin arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca yüksek yağlı diyet sonrası karaciğer glukojen düzeyinin azaldığı, karaciğer, pankreas ve mezenterik arter üzerinde oksidatif stres geliştiği saptanmıştır [94]. Yüksek yağlı diyetin metabolik etkilerinin incelendiği diğer bir çalışmada ise hayvanların vücut ağırlıklarının arttığı, hipertansiyon ve karaciğer yağlanması geliştiği gösterilmiştir [95].

2.1.3 İnsülin Direnci ve Metabolik Sendrom İlişkisi

İnsülin kan glukoz düzeylerinin artmasıyla indüklenen insülin geninin ekspresyonundaki artış ile pankreatik beta adacık hücrelerinde sentez ve depo edilen anabolik bir hormondur. İnsülinin vücutta glukoz ve aminoasitlerin transmembran ulaşımı, karaciğer ve iskelet kaslarında glukojen oluşumu, glukozun trigliseritlere dönüşümü, nükleik asit ve protein sentezi gibi önemli fonksiyonel görevleri vardır [96]. İnsülin kan ve spesifik doku hücrelerine glukoz taşınmasını GLUT4 taşıyıcı protein üzerinden sağlar. Vücuttaki biyoaktif görevlerini ise kendine has insülin reseptörü/ reseptör substratları (IR/IRS) aracılığı ile gerçekleştirir [97]. İnsülin direnci, vücutta mutad konsantrasyondaki insüline karşı yanıtın azalması olarak tanımlanır. İnsülin direnci obez, diyabetik ya da diyabetik olmayan bireylerde görülebilir. Klinik değerlendirme yapıldığında normal glisemik değerlere rağmen plazma insülin düzeylerinin yüksek düzeylerde olması gerekir [98]. Geçmişte "Sendrom X" olarak da tanımlanan insülin direnci, MetS'un komponentleri arasında yer almaktadır [99]. İnsülin direncinin temel nedeninin reseptör ya da reseptör substratlarındaki duyarsızlaşma olduğu bilinmekteydi. Fakat bazı çalışmalar, obez olmayan ve glukoz toleransı normal

bireylerde de insülin direnci geliştiğini göstermektedir [100]. Bu farklılıklar insülin reseptörü ile ilişkili genlerin mutasyonuyla açıklanmıştır. Ayrıca GLUT4, glukojen sentaz gibi yapılara ait genlerin mutasyonlarının da insülin direncine neden olabileceği ifade edilmiştir [101]. Hücre içi mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamış olsa da insülin direnci çoğunlukla hücre içi post reseptör-sinyal yolaklarının bozulmasıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Genetik yatkınlık, obezite, düzensiz beslenme, vücut ağırlığının artması ve yaşlılık gibi faktörler insülin direncinin gelişmesinde önemlidir. Serbest yağ asitlerinde artış ve VKİ'nin insülin direnci ile ilişkili olmasına ise adipositlerden salgılanan leptin, adiponektin ve rezistin gibi hormonların da katkısı vardır [102]. İnsülin direnci karaciğer ve böbrekte glukoz üretiminin artması ile çizgili kas dokusunda glukoz konsantrasyonunun azalmasıyla karakterizedir [103]. *Wistar* sıçanların %20 YFMŞ içeren diyet ile beslenmesinin damar düz kaslarında IRS-1 ekspresyonlarını azaltarak insülin direncine neden olduğu gösterilmiştir [10]. Başka bir çalışmada ise içme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen *Wistar* sıçanların damar düz kaslarında IRS-1 ve IRS-2 protein düzeylerinin azalmasıyla insülin direnci geliştiği saptanmıştır [14]. Benzer bir çalışmada içme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen *Wistar* sıçanların adipoz dokusunda insülin sinyal yolağının bozulduğu ve inflamasyon geliştiği gösterilmiştir [16]. Beslenme, insülin direnci ile ilişkili MetS, diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların ve komplikasyonlarının önlenmesinde önemli bir faktördür. Şöyle ki, kişiye özgü diyet programı ve egzersiz sayesinde başlangıç evresindeki insülin direncinin önüne geçilebilir. Beslenmedeki temel prensip ise kalori kısıtlaması ile makro besin dengesini sağlamaktır [104]. Düzensiz beslenme sürecinde ihtiyaçtan fazla alınan enerji farklı şekillerde depolanmaktadır. Adipositler hormonal ve nöral uyarılarla fazla enerjiyi trigliserit olarak depolamaya, gerektiğinde ise yağ asitleri olarak serbest bırakmaya adapte olmuşlardır. Aşırı ya da düzensiz beslenme ile sedanter yaşamın neden olduğu depo-trigliserit düzeyindeki artış obezite ile sonuçlanır. Obezite kısaca yağ doku kitlesinin artması şeklinde ifade edilebilir. Obezite etyopatolojik açıdan değerlendirildiğinde hem insülin direncinin hem de MetS'un gelişmesinde önemli bir risk faktörüdür [105].



Şekil 2. 1 İnsülin direnci ve metabolik sendrom ilişkisi

Esasen insülin direnci MetS'u oluşturan komponentlerden bir tanesidir (Şekil 2.1) [106]. İnsülin direnci gelişen bireylerde öncelikle trigliserit akümülasyonu gelişir. Depo-trigliseritler vücutta özellikle abdominal yağlanmaya neden olarak obezitenin önünü açar. Diğer taraftan trigliserit düzeylerindeki artış, VLDL ve LDL düzeylerini de artırarak dislipidemiyle sonuçlanır. Artan lipit türevleri ise lipit peroksidasyonu indükleyerek serbest oksijen radikallerin oluşumuna ve oksidatif strese neden olur. Uzun süreli oksidatif stres ise dokularda inflamasyonu tetikleyerek doku hasarına sebebiyet verebilir. Oksidatif stres damar düz kaslarında aterosklerotik plaklar oluşumuna ve NOS inhibisyonuna neden olarak vasküler endoteliyal disfonksiyonun gelişmesine neden olabilir. Bu durum kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir komplikasyondur [107].

2.2 Fruktoz

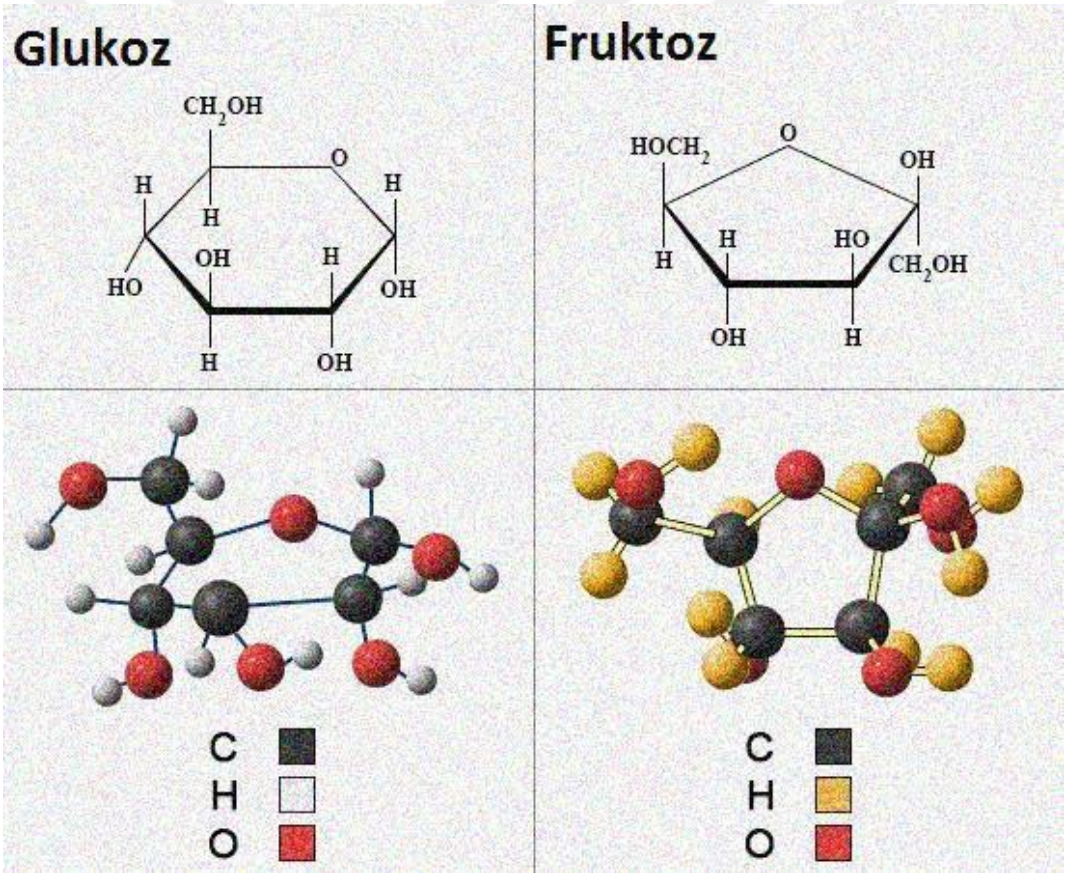
Fruktoz meyve ve bal gibi birçok besin maddesinde bulunan bir monosakkarittir. Geçmişte fruktoz kaynağı olarak meyve ve bal gibi doğal besinler tüketilirken; günümüzde en önemli fruktoz kaynağı yiyecek ve içeceklere eklenen sukroz ve YFMŞ'dur. Diyet içerisinde fruktoz tüketimi yıllara göre artış göstermektedir. Geçmişte doğal besinlerden günlük 16-20 g civarında fruktoz tüketilirken, son yılarda bu rakam 60-150 g düzeylerine ulaşmıştır [108]. Meyve ve sebzelerde yer alan fruktoz konsantrasyonu düşük seviyelerdedir ve günlük fruktoz tüketimindeki artışla ilişkili olma olasılığı zayıftır. Bazı besinlerin içerdiği fruktoz miktarları Çizelge 2.2'de gösterilmiştir [108]. Alternatif bir karbonhidrat kaynağı ve tatlandırıcı olan YFMŞ'nun ilk üretim prosesleri 1920'lerde geliştirilmiş ve 1970'lerin sonunda Amerikalıların diyetinde önemli bir yere sahip olmuştur. Nişastanın α-amilaz ve glikoamilaz ile hidrolize olmasıyla elde edilen YFMŞ içeriğinde genellikle %90 ya da %55 fruktoz ihtiva eder. Geri kalanı glukoz şurubu ile harmanlanarak YFMŞ üretimi tamamlanır. Fruktozun daha tatlı ve cezbedici olması nedeniyle meyve suyu ve gazlı içecekler içerisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca fruktozun diğer şekerlere göre hızlı kristalleşmemesi, daha ucuz, osmotik stabiliteye ve uzun raf ömrüne sahip olması nedeniyle üreticiler tarafından daha çok tercih edilmesine neden olmaktadır [109]. Yakın dönemde yapılan çalışmalar, diyet içerisinde yüksek fruktoz alımının olumsuz etkilerine işaret etmektedir. Bu çalışmalarda, fruktozun insülin direncine, dislipidemiye, kan basıncında artışa, inflamasyona, oksidatif strese, endoteliyal disfonksiyona, mikrovasküler hastalıklara, karaciğer yağlanmasına, hiperürisemiye, glomerüler hipertansiyon ve böbrek hasarına neden olduğu ifade edilmektedir [110]. Deneysel hayvan çalışmalarında, fruktozun olumsuz etkilerinin defaatle rapor edilmesinden dolayı fruktozun güvenli doz aralığı araştırılmakta ve diyet içerisinde günlük şeker tüketiminin azaltılması tavsiye edilmektedir. Bu konuyla ilgili olarak, Amerikan Kalp Derneği 2009 yılında yayınladığı raporda, şeker kaynaklı enerjinin kadınlarda 100 kkal/gün, erkeklerde ise 150 kkal/gün olması gerektiğini savunmuştur [111]. Bu konuda Dünya Sağlık Örgütü ise şeker tüketimiyle elde edilen enerjinin günlük alınan toplam enerjinin %10'unu aşmaması gerektiğini ifade etmiştir [112].

Çizelge 2. 2 Bazı besinlerde bulunan fruktoz miktarı

Besin	Fruktoz (g/100 g)	Besin	Fruktoz (g/100 g)
Bal	40.94	**Mısır**	1.94
Üzüm	8.13	**Şeftali**	1.53
Armut	6.42	**Kabak**	1.45
Elma	5.90	**Domates**	1.37
Elma Suyu	5.73	**Soğan**	1.29
Kiraz	5.37	**Karnabahar**	0.97
Yaban Mersini	4.97	**Salatalık**	0.87
Muz	4.85	**Brokoli**	0.68
Karpuz	3.36	**Havuç**	0.55
Erik	3.07	**Bezelye**	0.39
Çilek	2.44	**Patates**	0.26
Portakal	2.25	**Ispanak**	0.15

2.2.1 Fruktozun Kimyasal Yapısı

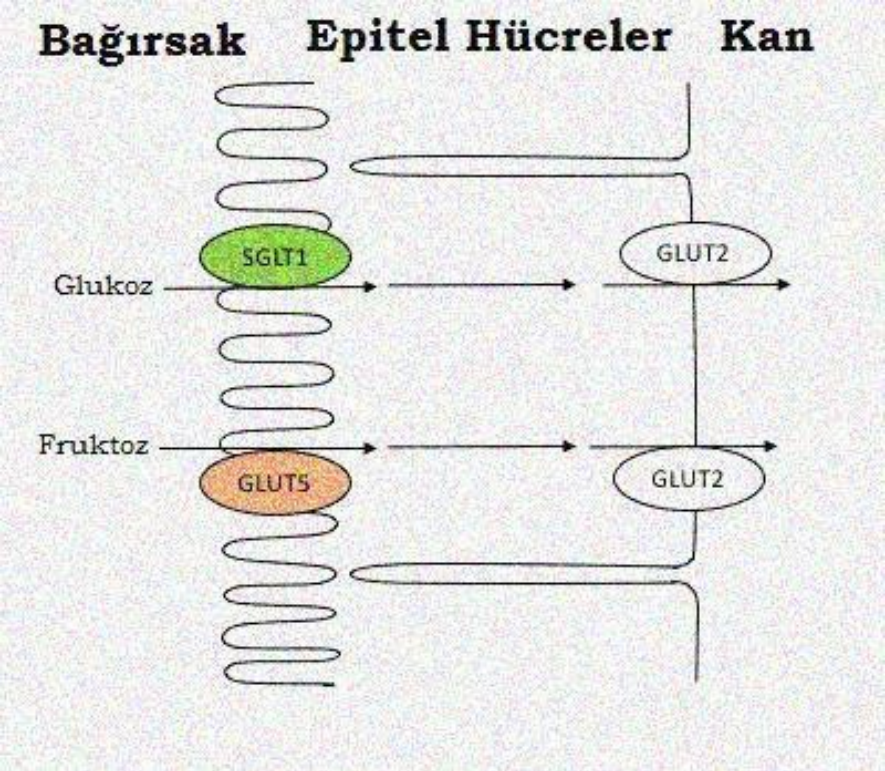
Fruktoz ve glukoz polihidroksiketon yapısında altı karbonlu izomer monosakkaritlerdir. Aynı formülasyonla ($C_6H_{12}O_6$) ifade edilmelerine rağmen farklı kimyasal özelliklere sahiptirler. Fruktoz keton grubuna sahipken glukoz aldehit grubuna sahiptir. Kristalize fruktoz, D-fruktopiranoz olarak adlandırılır. Bu form, yarı asetil ve iç hidrojen bağları içerdiğinden dolayı halkalı altı karbonlu bir yapıya sahiptir. D-fruktopiranoz, α-glukoz ile beraber sukrozun yapısını oluşturur. İlk olarak Fransız kimyacı Augustin-Pierre Dubrunfaut tarafından 1847 yılında keşfedilen fruktoz, bugünkü ismini 1857 yılında İngiliz kimyacı William Allen Miller tarafından almıştır. Saf fruktoz kuru, tatlı, beyaz, kristalimsi ve katı halde bulunur. Fruktoz ve glukozun kimyasal yapıları Şekil 2.2'de gösterilmiştir [113].



Şekil 2. 2 Fruktoz ve glukozun kimyasal yapısı

2.2.2 Fruktozun Farmakokinetiği

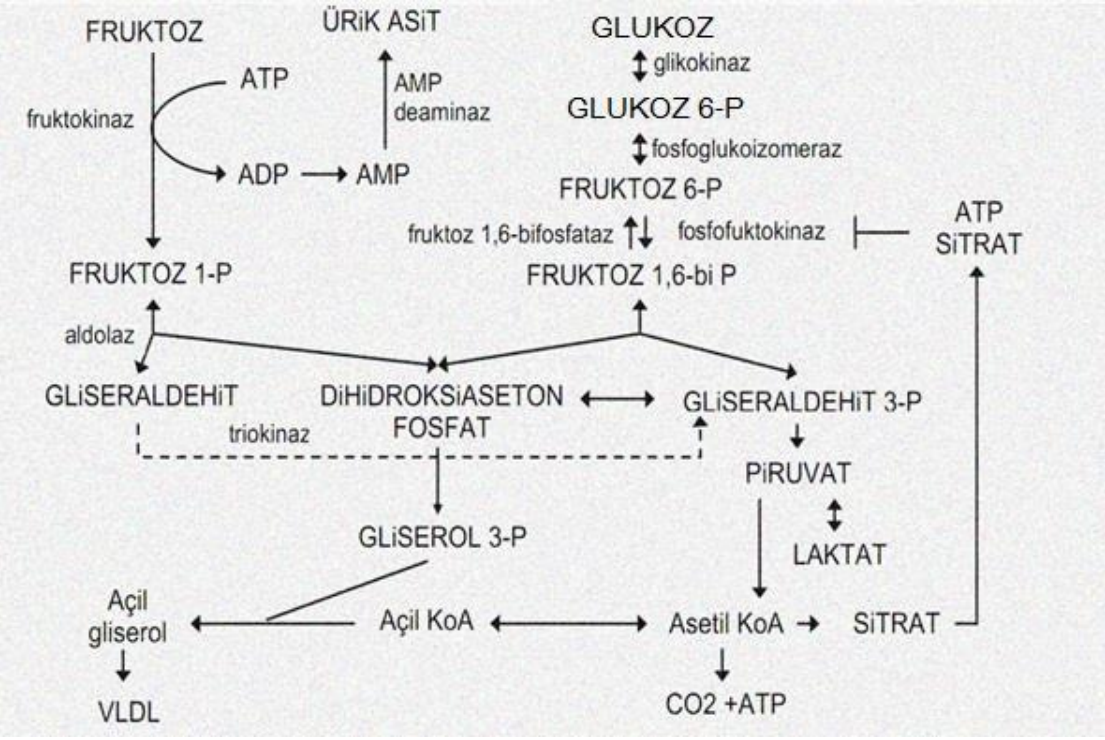
Fruktozun metabolizması glukoza göre farklılıklar göstermektedir. Fruktoz glukozdan farklı olarak bağırsak lümeninden ATP gereksinimi olmadan kolaylaştırılmış difüzyonla absorbe edilirken; kendisine has bir taşıyıcı protein olan GLUT5 aracılığı ile bağırsak hücresine taşınmaktadır. Fruktoz enterositlerin basolateralindeki GLUT2 taşıyıcı proteinlerin aracılığı ile kana karışır. Enterosit içindeki fruktozun bir kısmı laktata dönüşürken bir kısmı ise trioz-fosfatlar üzerinden glukoza çevrilmektedir. Kandaki fruktoz karaciğere geldiğinde, insülinden bağımsız olarak yine GLUT2 aracılığı ile hepatositlere alınır. Burada GLUT2 tek yönlü işlev görür. Ayrıca, fruktozun absorbsiyonu sodyumdan bağımsız gerçekleştiği için karaciğere alımı yüksek oranda gerçekleşir. Fruktozun absorbsiyonunun şematik hali Şekil 2.3'te gösterilmiştir [114].



Şekil 2. 3 Fruktoz/Glukoz absorbsiyonu ve taşınımı

İnsülinin fruktokinaz üzerinde düzenleyici etkisi yoktur. Bu nedenle fruktozun metabolizasyonu glukozdan farklı ilerler. Fruktoz hepatositlerde fruktokinaz ile fosforilasyona uğrayarak fruktoz 1-fosfat'a dönüşür. Bu şekilde fruktoz direkt glikolitik basamağa geçer ve glikoliz ürünlerinin ve yağ asitlerinin fazla üretilmesine neden olur. Fruktokinazın fruktoza afinitesinin yüksek olması, ATP ve sitrat gibi düzenleyicilerin

etkilenmemesi nedeniyle metabolizasyon hızı glukoza göre daha hızlıdır. Fruktozdan üretilen trioz-fosfatın bir kısmı piruvat üzerinden CO_2 ve H_2O'ya okside olurken, bir kısmı laktat üzerinden dolaşıma girer. Trioz-fosfatın büyük kısmı ise glukonoegenez üzerinden glukoza çevrilir. Fruktozdan geriye kalan karbonlar yapı temelde yağ asitlerine dönüştürülerek, fruktozun yağ asidi reesterifikasyonu ile VLDL-trigliserit sentezini artırır. Artan yağ asitleri ve lipit yapılar hücrelerin insülin duyarlılığını azaltan lipotoksisiteye yol açabilir. Fruktoz ve glukozun metabolizasyonunun şematik hali Şekil 2.4'te gösterilmiştir [115].



Şekil 2. 4 Fruktoz ve glukozun metabolizasyonu

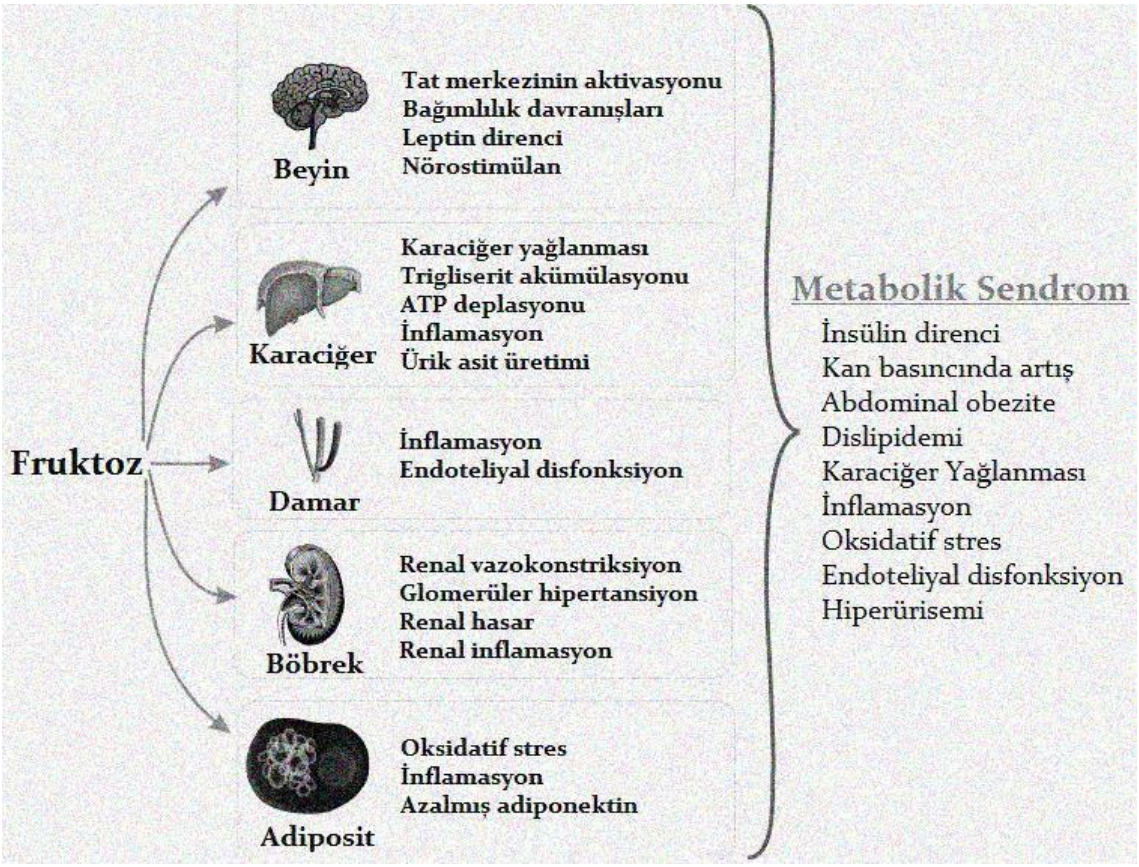
2.2.3 Fruktozun Metabolik Etkileri

Fruktozun diğer şekerlere göre farklı farmakokinetik özelliklere sahip olması, birçok metabolik değişikliğe neden olabilir. Özellikle karaciğer fonksiyonları üzerinde metabolik bozukluklara neden olan fruktoz, ciddi klinik etkilere yol açar. Yüksek fruktoz içeren diyetlerin ağırlık artışı, insülin direnci, dislipidemi ve kan basıncında artışa neden olduğu çok sayıda deney hayvan modellerinde gösterilmiştir [116]. Bazı çalışmalarda fruktoz tüketiminin serum ürik asit seviyelerini yükseltebileceği tespit edilmiştir [117]. Fakat sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, fruktoz tüketimine bağlı ürik asit artışı bazen görülmeyebilir. Bu durum sıçanlara özgü bulunan ve ürik asitin

yıkımından sorumlu ürikaz enziminden kaynaklanmaktadır [23]. Fruktozun glukoza göre ince bağırsaktan emilmesi sınırlıdır ve bireysel farklılıklar gösterir. Absorbe edilmeden kalan fruktozun bağırsakta osmotik gradiente bağlı olarak bağırsak lümenine su çekerek diyare, abdominal ağrı ve şişkinliğe yol açtığı, ayrıca bakteri üremesine neden olduğu ifade edilmiştir [118]. Fruktoz tüketimiyle gelişen dislipidemi, hiperürisemi ve insülin direncinin kronik diyare ve diğer bağırsak bozukluklarına yol açarak, obezite, tip-2 diyabet ve karaciğer yağlanmasına neden olduğu belirtilmektedir [119]. Yüksek fruktoz tüketimiyle fruktoz-protein kompleksleri ya da aminoşekerler adı verilen yapılar oluşur. Bu yapılar genellikle lizin yan zincirlerinde oluşur fakat fruktoz triptofan ve arjinin gibi diğer aminoasitlerle de reaksiyona girebilir. *Maillard* reaksiyonu olarak bilinen bu etkileşim sonrası ileri glikasyon ürünleri oluşur. Fruktoz tüketimiyle oluşan bu yapılar vasküler, renal ve oküler komplikasyonlara neden olur ve yaşlanmayı hızlandırıcı etki gösterir [120],[121]. Pankreasta glukoz alımından sonra insülin salınımı artar fakat fruktoz alımına bağlı insülin salınımı gerçekleşmez. Bu durum, pankreasta fruktoz taşıyıcısı GLUT5 taşıyıcı proteinin bulunmamasından kaynaklanmaktadır [122]. Fruktoz insülinotropik peptitlerden glukagon benzeri peptid-1'i (GLP-1) artırırken, glukoz bağımlı insülinotropik polipeptiti (GIP) etkilemez [123]. Büyük oranda adipositlerden salgılanan ve iştah kontrolünden sorumlu olan leptin hormonu fruktoz tüketimiyle down-regülasyona uğrar ve leptin direnci gelişir. Diğer taraftan uzun süreli yüksek fruktoz tüketimi ile insülin duyarlılığını artırıcı etkisi olduğu bilinen adiponektin düzeyi artar. Bu kompensatuvar değişiklik fruktozun olumsuz etkilerini baskılayamaz ve hiperadiponektinemi gelişir [124]. Fruktozun metabolizasyonu sonrası oluşan yağ asitleri, trigliserit ve diğer lipitlerin sentezine neden olur. Fruktoz, hepatik *de novo lipogenez* olarak tanımlanan bu reaksiyon zincirlerine hem gliserol, hem de yağ-açil kısmını sağlayarak katılır [7]. Fruktoza bağlı trigliserit, LDL, VLDL sentezindeki artış ile mitokondriyal yağ asiti oksidasyonundaki azalma protein kinaz C (PKC) aktivasyonuna neden olur. Bu değişiklikler insülin sinyal yolağının bozulmasına ve insülin direnci gelişmesine neden olur [125]. Ayrıca, fruktoz tüketimine bağlı gelişen leptin direncinin ve hiperüriseminin de insülin duyarlılığının azalmasına neden olduğu gösterilmiştir [123],[126]. İnsülin endoteliyal NO biyoyararlanımını artıran bir hormondur. İnsülin aracılı NO damar düz kasında vazodilatasyona neden olarak, glukozun iskelet kasına daha kolay geçmesini sağlar. Damar düz kası, insülin duyarlılığındaki azalma ile elastikiyetini kaybeder. Damar düz

kaslarındaki fonksiyonel bozukluklar ise kardiyovasküler hastalıklar için zemin hazırlar [127]. Deneysel çalışmalarda YFMŞ [10],[128] ya da fruktoz [14] içeren diyet ile beslenen sıçanlarda, endoteliyal nitrik oksit sentaz (eNOS) protein ekspresyonunun azaldığı, kan basıncının arttığı ve vasküler endoteliyal fonksiyon bozukluğu geliştiği gösterilmiştir. Fruktozun neden olduğu sistemik etkilerden bir tanesi de inflamasyondur. Sistemik inflamasyon ise MetS ve kardiyovasküler hastalıklar için karakteristiktir [129]. Yakın dönemde yapılan çalışmalarda, fruktozun inflamatuvar yolağın temel parametrelerinden tümör nekroz faktörü-α (TNFα) sentezinin artmasında ve fosforilasyonunda etkili olduğu ifade edilmektedir [130]. Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, fruktozun karaciğerde transkripsiyon sinyal ileticileri ve aktivatörleri-3 (STAT-3) aktivasyonuna neden olarak nükleer faktör kappa B (NfκB) ekspresyonunu artırdığı ifade edilmiştir [131]. Benzer çalışmalarda, fruktoz ile beslenen sıçanların karaciğer [11],[12] ve adipoz [16] dokularında TNFα, interlökin-1β, (IL-1β), IL-6, IL-10 ve NfκB düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Fruktoz tüketimine bağlı gelişen MetS'un inflamatuvar ve vasküler fonksiyon bozucu etkileri göz önünde bulundurulduğunda, renal fonksiyon bozuklukların gelişmesi de muhtemeldir. Yapılan bir çalışmada, fruktoz tüketimine bağlı gelişen renal fonksiyon bozukluğunun, kan basıncındaki artış ve diyabetik semptomlardan çok daha önce belirgin hale geldiği ifade edilmiştir [132]. Kronik böbrek yetmezliği ile MetS arasında güçlü bir korelasyon vardır. Kronik böbrek yetmezliği prevalansı MetS risk faktörleri olmayan hastalarda %0,9 iken, MetS risk faktörlerinden beşini taşıyan hastalarda ise bu oran %9'a yükseldiği gösterilmiştir [133]. Mikroalbüminüri böbrek hastalıklarının belirteçlerinden birisi ve MetS ile senkronize bir patolojidir. Bir çalışmada, MetS'un mikroalbüminüri ve proteinüri gelişimiyle bağlantılı olduğu gösterilmiştir [134]. Fruktoz ile oluşturulmuş MetS modellerinde artan TNFα düzeylerinin glomerüler ve proksimaltübüler hücrelerde reaktif oksijen türlerinin üretilmesine aracılık eder [135]. Reaktif oksijen türlerindeki artış ise renal tübüllerde endoteliyal disfonksiyona neden olabilir [136]. Diğer taraftan MetS, mikroalbüminüri, matriks akümülasyonu ve fibrozisi indükleyerek böbrek yetmezliğine yol açabilir. Bu etkinin büyük bir kısmının lipit peroksidasyon son ürünlerine ve okside LDL birikimine bağlı olduğu düşünülmektedir [137]. Bu açıdan, oksidatif stresin böbrek fonksiyonları üzerinde önemli etkisinin olduğu görülmektedir. Yüksek fruktoz diyeti (60g/100g) ile beslenen sıçanların böbrek dokularında lipit hidroperosidaz, MDA ve protein karbonil düzeylerinin anlamlı olarak arttığı ve doku hasarı geliştiği tespit edilmiştir [138]. Diğer

bir çalışmada ise, içme suyu içerisinde %10 fruktoz ile beslenen sıçanların böbrek dokularında, glomerüloskleroz, fibrozis, tübüler dejenerasyon ve epiteliyal hipertrofi geliştiği gösterilmiştir. Aynı çalışmada, serum kreatinin düzeyinin arttığı, sistatin-C düzeylerinin ise azaldığı rapor edilmiştir [139]. Klinik bir çalışmada ise, kısa süreli fruktoz diyetinin serum ürik asit düzeyini arttırdığı saptanmıştır [140]. Mevcut literatür kaynaklarına göre, diyet içerisinde fruktoz tüketimine bağlı metabolik etkilerin çok da olumlu olmadığı aşikardır. Çalışmalarda, fruktozun farklı dokular ve organlar üzerinde birçok potansiyel olumsuz etkileri saptanmıştır. Bu etkilerin bazıları ise Şekil 2.5'te özetlenmiştir [23].



Şekil 2. 5 Fruktoz tüketiminin çeşitli doku ve organlar üzerindeki fizyolojik etkileri

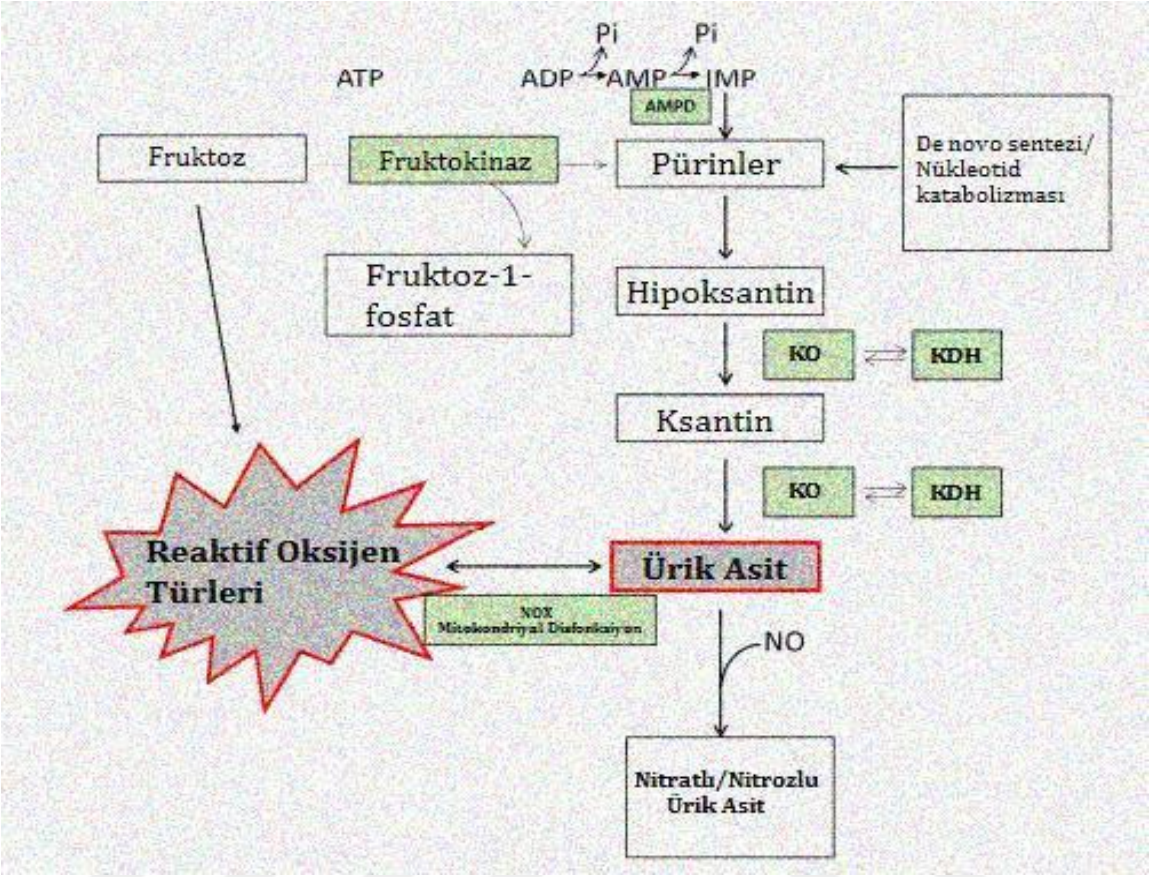
2.2.4 Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Vücudumuzda doğal ve metabolik yollarla sürekli olarak serbest oksijen radikalleri adı verilen toksik yapılar oluşmaktadır. Bu yapılar antioksidan enzim sistemi adı verilen savunma sistemleriyle parçalandığından ya da nötralize olduğundan herhangi bir sitotoksisiteye neden olmazlar. Ancak bu oksidan/antioksidan dengenin serbest oksijen radikalleri lehine bozulduğu durumlarda bir dizi patolojik olay ortaya çıkar. Bu durum

oksidatif stres olarak tanımlanır ve doku hasarına yol açabilir [141]. Oksidatif doku hasarı protein, lipit, karbonhidrat ve nükleik asit gibi yapıların endojen enzim sistemleriyle reaksiyonları sonucu ortaya çıkar. Reaktif oksijen türleri lipit kökenli yapıları oksidasyona uğratarak MDA oluşumuna aracılık eder. Lipit peroksidasyonu adı verilen bu zincir reaksiyonu membran yağ asitlerini de etkileyerek doku hasarına neden olur. Lipit peroksidasyon sonucu açığa çıkan MDA ise çapraz bağlanma ve polimerizasyona neden olarak, membran proteinleri üzerinde de ciddi hasarlara neden olabilir [142]. Membran proteinlerinin reaktif oksijen türlerinden etkilenme dereceleri, yapısında yer alan aminoasit bileşimlerine bağlıdır. Reaktif oksijen türleri, sülfür ve doymamış bağlara sahip aminoasitler ihtiva eden proteinleri daha kolay denatürize eder [143]. Oksidatif yapıların etkilerinden korunmak için hem hücre içinde hem de membranda etkili olan çok sayıda korunma mekanizması vardır. Antioksidan etkinlik gösteren bu yapılar içerisinde glutatyon disülfit (GSH), glutatyon-S-transferaz (GST), GPx, SOD ve CAT en çok bilinen enzimlerdir [144]. GSH ve alt ünitesi olan GPx genellikle organik peroksitleri nötralize ederek hidrojen peroksiti hücre ve dokulardan uzaklaştırır [145]. Birçok memeli türünde yer alan SOD'ın 3 farklı tipi (SOD1, SOD2, SOD3) bulunmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin vücuttan uzaklaştırılmasında SOD'ın CAT ile birlikte değerlendirilmesinde fayda vardır. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonrasında hidrojen peroksit birikimi gerçekleşebilir. CAT bu birikimin oluşmasını önlemektedir. CAT'ın karaciğer ve böbreklerde yüksek konsantrasyonlarda olduğu tespit edilmiştir. Canlı hücrelerde peroksizomlarda lokalize olan CAT, hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya katalize eden bir enzimdir [146]. Antioksidanlar doku hasarı öncesi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu önlemelerinin yanı sıra, oksidatif stres sonrası oluşan ara ürünlerin nötralizasyonunu ve okside biyomoleküllerin indirgenmesini sağlayarak doku hasarının önüne geçer [147],[148]. Uzun süreli oksidatif stresin böbrekte, tübüler hücrelerin dejenerasyonu sonucu akut böbrek yetmezliğine sebebiyet verdiği bilinmektedir. Ayrıca hayvan çalışmalarında renal iskemi ya da nefrotoksisite sonrası antioksidan kapasitenin azaldığı ifade edilmektedir [149],[150]. İleri glikasyon ürünlerinin ve uzun süreli hipergliseminin ise glomerüler ve tübüler hipertrofiyi arttırdığı ve reaktif oksijen türlerinin oluşmasını sağladığı gösterilmiştir [151].

2.2.5 Fruktozun Böbrek Fonksiyonu Üzerine Etkileri

Diyet içerisinde fruktoz alımının metabolik bozukluklara ve birçok farklı doku hasarına ya da organ yetmezliğine neden olduğu bilinmektedir. Böbrekler ise fruktoz tüketimine bağlı fonksiyon kaybına uğrayan majör organlardan birisidir [152]. Sağlıklı bireylerde fruktoz tüketimine bağlı oksalat absorbsiyonunun bozulduğu ve böbrek taşı oluştuğu ifade edilmiştir [153]. İçme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen *Sprague Dawley* sıçanların renal dopaminerjik indeksin bozulmasına bağlı olarak hipertansiyon geliştiği saptanmıştır [154]. İçme suyu içerisinde %30 fruktoz verilen *Wistar* sıçanların böbrek dokusunda lipit peroksidasyon son ürünü MDA ve inflamasyon indikatörü NfκB'nin arttığı, SOD aktivitesinin ise azaldığı tespit edilmiştir [155]. Fruktoz hepatositlerde fosfat kaynağı olarak ATP ve fruktokinaz katalizörü aracılığıyla fruktoz 1-fosfata dönüşür. Hücre içi fosfat (Pi) seviyelerinin azalmasıyla AMP deaminaz (AMPD) indüksiyonu gerçekleşir. Aktive AMPD ise AMP'yi inosin monofosfata (IMP) dönüştürür. İnosin ise ürik asit sentezinden sorumlu ksantin oksidaz (KO) aktivasyonuna neden olarak hipoksantin ve ksantin üzerinden ürik asit oluşumuna neden olur. Daha sonra ürik asit, NO ile reaksiyona girerek dinükleotit fosfat oksidaz (NOX) aktivasyonuna ve mitokondriyal disfonksiyona neden olur. Bu durum oksidatif stres ve endotel disfonksiyonuna sebebiyet verebilir (Şekil 2.6) [156]. Ürik asite bağlı NO düzeyindeki azalma ise hipertansiyon ve insülin direnci dâhil olmak üzere MetS'un birçok komponentine zemin hazırlar [157]. Erkek *Wistar* sıçanlara içme suyu içerisinde %10 fruktoz verilmesiyle renal anjiyotensin-1 düzeylerinin ve kan basıncının arttığı saptanmıştır [158]. Diyet içerisinde %20 fruktoz tüketiminin hipertansiyona neden olduğu ve renal NO düzeylerini azalttığı gösterilmiştir [159]. İçme suyu içerisinde %30 fruktoz verilerek 15 hafta süre ile beslenen sıçanlarda, sistolik kan basıncının arttığı ve renal oksidatif stres oluştuğu gösterilmiştir [160]. Diğer bir çalışmada, fruktoz tüketiminin böbreklerde insülin sinyal yolağını bozduğu, inflamasyona neden olduğu saptanmıştır [161]. Benzer bir çalışmada ise fruktoz tüketiminin böbreklerde IL-1β, IL-6, IL-18 ve TNFα düzeylerini artırarak doku hasarına neden olduğu gösterilmiştir [162]. İçme suyu içerisinde 8 hafta süre ile %10 fruktoz verilen *Sprague Dawley* sıçanların böbrek dokularında SIRT3 aracılı oksidatif stres, renal fibrozis ve inflamasyon geliştiği rapor edilmiştir. Aynı çalışmada renal MDA, TNFα, IL-1β ve JNK-1 düzeylerinin arttığı, SOD ve GSH düzeylerinin ise azaldığı tespit edilmiştir [38].



Şekil 2. 6 Fruktoz tüketimine bağlı ürik asit ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu

Erkek *Wistar* sıçanların içme suyu içerisinde %10 fruktoz ile beslenmesiyle plazma insülin, trigliserit, LDL, üre ve ürik asit düzeylerinin anlamlı olarak arttığı, HDL düzeylerinin ise azaldığı tespit edilmiştir. Buna karşılık idrarla atılan kreatinin düzeyinin azaldığı, albümin düzeyinin ise arttığı saptanmıştır. Aynı çalışmada, plazma ve böbrek dokusunda MDA düzeyi ile renal TNFα ekspresyonunun arttığı glomerüler dejenerasyon geliştiği ifade edilmiştir [163]. Nefrin, böbrek dokusunda podositlerden sentezlenen yarıklı diyaframın yapıca iskeletini oluşturan bir proteindir. İçme suyu içerisinde %10 fruktoz verilen *Sprague Dawley* sıçanların böbrek dokularında nefrin düzeylerinin azaldığı ve nefrotik sendrom oluştuğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada literatürden farklı olarak böbrek dokusunda SOD ve GPx düzeylerinin arttığı, CAT aktivitesinin ise değişmediği saptanmıştır [164]. Yem içerisinde %60 fruktoz diyetinin böbrek fonksiyonları üzerine etkilerinin incelendiği diğer bir çalışmada ise, renal NADPH aktivitesinin, O_2^-, IL-6 ve TNFα düzeylerinin arttığı, fibrozis ve makrofaj

infiltrasyonu geliştiği saptanmıştır. Aynı çalışmada plazma kreatinin düzeyinin değişmediği, böbrek ağırlığının ve proksimaltübüler alanın arttığı gösterilmiştir [165].

2.3 Probiyotiklerin Önemi

Probiyotikler uygun şekilde ve dozajda alındığında sağlık üzerinde olumlu etkileri olan mikroorganizmalardır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, probiyotiklerin bağırsak hastalıkları, immün sistem, metabolik fonksiyonlar ve inflamasyon üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir. Tedavi amacıyla kullanılacak probiyotikler tercihen insan kaynaklı, güvenli, antibiyotiklere ve toksisite faktörlerine direnç transfer edebilen vektörlerden arınmış; ayrıca bağırsak koşullarında hayatta kalabilmek için yeterli potansiyele sahip olmalıdır [166]. Bu kriterlere göre yapılan değerlendirmeler sonrası *Lactobacilli* türü bakterilerin insan sağlığı üzerinde tedavi amaçlı alternatif mikroorganizmalar oldukları ifade edilmektedir. *Lactobacilli* türü bakteriler, insan bağırsağında bulunan, yoğurt ve peynir gibi fermente süt ürünleri ile kurutulmuş etlerden eksojen olarak temin edilen mikroorganizma grubudur [167]. *Lactobacilli* türü bakterilerin dışında *Bifidobacterium, Enterococcus, Saccharomyces, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus* ve *Streptococcus* türleri de tedavi amaçlı kullanılan probiyotiklerdir. Probiyotiklerin birçok ülkede besin takviyesi olarak ruhsatı alınmış ve satışı gerçekleşmektedir. Prebiyotikler bağırsakta fermente olan, kolondaki bakterilerin çoğalmasını ve aktivitesini arttırarak konağın sağlığını iyileştiren, sindirilmeyen gıda bileşenidir. Probiyotik ve prebiyotiklerin birlikte bulunduğu şekli ise sinbiyotiklerdir. Probiyotik kültürünün biyolojik aktivitesi olan kısa zincirli yağ asitleri gibi yan ürünlerine postbiyotikler denir ve bunların sağlık üzerinde olumlu etkileri vardır [168]. Günümüzde, "postbiyotik" terimi, biyolojik aktiviteye sahip çözünür bileşenleri ifade etmekte olup, bu nedenle bakteri suşlarının kullanımında daha güvenli bir alternatif olabilir. Postbiyotiklerin etkilerinin incelendiği çalışmalarda, enfeksiyonların ve antibiyotiklerin neden olduğu diyare, irritabl bağırsak sendromu, *Clostridium difficile* ile ilişkili sindirim bozuklukları, ülseratif kolit, alerjik rinit ve dermatit üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir [169]. Probiyotiklerin vücutta etki gösterebilmeleri için bağırsak lümeninde kolonize olmaları gerekir. Yaygın kolonizasyonunu tamamlamış probiyotikler bağırsak mikroflorasını değiştirerek T_1 lenfosit ya da immunglobulin E fonksiyonlarını modüle ederek alerjik yanıtın düzenlenmesinde rol oynar [170]. Probiyotiklerin immün sistem üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmalarda interferon-

gama, TNFα, IL-10 ve IL-12 gibi sitokinlerin inhibisyonunu sağlayarak antiinflamatuvar etkinlik gösterdiği bildirilmiştir [171]. Son dönemde yapılan çalışmalar ise probiyotiklerin glukoz ve lipit metabolizasyonu üzerine farklı etkilerini ortaya koymaktadır. Diyet içerisinde %60 fruktoz tüketen *Sprague Dawley* sıçanlara *Lactobacillus casei* suşu verilmesiyle fruktozun neden olduğu metabolik değişikliklerin normalize edildiği saptanmıştır [172]. Benzer bir çalışmada, *Sprague Dawley* sıçanlara yem içerisinde %65 fruktoz verilmesiyle gelişen insülin direnci ve karaciğer yağlanmasının oral *Lactobacillus reuteri* uygulamasıyla iyileştirildiği rapor edilmiştir [173].

2.3.1 *Lactobacillus Helveticus* ve *Lactobacillus Plantarum*'un Karakteristikleri

Laktik asit bakterileri karakteristik açıdan G^+, spor yapmayan, aside dirençli ve farklı ekolojik nişlerde yayılabilen fakültatif anaerobik mikroorganizmalardır. Bu organizmaların çoğu patojenik değildir ve güvenli mikroorganizmalar olarak bilinirler. Biyokimyasal açıdan değerlendirildiğinde, hem homo-fermantatif (laktik asit üreten) hem de hetero-fermantatif (laktik asit ile birlikte asetik asit, etanol, karbondioksit, formik asit üreten) özellik gösterir. *Lactobacillus* bakterileri farklı sıcaklıklarda, yüksek tuz konsantrasyonlarında ve düşük pH'da çoğalabilme özelliğine sahiptirler. *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*), çok geniş bir habitata sahip fakültatif/hetero-fermantatif bir *Lactobacilli*'dir. Birçok fermente gıda içerisinde (Çizelge 2.3) yer alan *L. plantarum*, insan ve hayvanların normal mikrobiyotalarının bir parçasıdır [174].

Çizelge 2. 3 İçeriğinde *L. plantarum* bulunan gıdalar

Lactobacillus plantarum		
Afrika fermente tahıl (ragi)	Fermente elma	Maya
Amasi	Fermente kahve çekirdeği	Meksika geleneksel alkollü içecekleri
Arjantin peynirleri	Fermente sebzeler	Meksika peyniri
Arpa birası	Fermente üzüm	Mısır silajı
Balık	Fermente zeytin	Mozarella peyniri
Belçika yumuşak peyniri	Filipinler fermente süt ürünleri	Nijerya fermente süt ürünleri
Bulgar salamı	İran peyniri	Papaya

Çizelge 2. 4 İçeriğinde *L. plantarum* bulunan gıdalar (devamı)

Coreal fermente sebze (Kimchi)	İspanyol fermente et ürünleri	Portekiz domuz ürünleri
Çedar peyniri	İspanyol Majorero peyniri	Salamura zeytin
Çiğ meyve ve sebzeler	İspanyol Manchego peyniri	Salatalık turşusu
Çiğ süt peyniri	İsviçre peyniri	Şarap
Çiğ zeytin	İtalyan koyun peynirleri	Şeker kamışı
Çin kreması (Jiaoke)	Japon fermente et ürünleri(Aji-narezuski)	Tayvan yemekleri(Fu-Tsan)
Çin turşusu	Kakao	Tenerife peyniri
Deve sütü peyniri	Kenya fermente süt ürünleri	Tibet kefiri
Endonezya fermente süt ürünleri	Kırmızı Gingseng	Tibet qula peyniri
Ev yapımı peynirler	Kummis	Tunus tuzlu fermente et ürünleri
Ewe peyniri	Kuru sucuk	Yunan graviera peyniri
Fermente Çin süt ürünleri	Lahana turşusu	Zimbabwe peyniri

İlk olarak 1919 yılında Orla-Jennsen tarafından *Streptobacterium plantarum* olarak tanımlanan *L. plantarum*, bazı morfolojik ve biyokimyasal farklılıkları nedeniyle Pederson tarafından (1936) bugünkü ismiyle değiştirilmiştir [174]. *L. plantarum* genellikle D ve L-laktik asit oluşumu ile sonuçlanan Embden Meyerhof Parnas (EMP) yolu ile heksozları; fosfoketolaz varlığında pentozları mayalar [175]. *L. plantarum, L. pentosus* ve *L. paraplantarum* türleri genotipik olarak oldukça benzer fenotipler gösterirler. *L. plantarum* grubunun genetik heterojenliği, DNA-DNA hibridizasyon verilerine dayanarak Dellaglio ve arkadaşları (1975) tarafından gösterilmiştir [176]. Serolojik çalışmalar, *L. plantarum* suşlarının çoğunun, hücre duvarlarında ribitol ve teikoik asit içerdikleri için B serolojik grubuna ait olduğunu göstermiştir [177],[178]. *L. plantarum*, L(+) ve D(-)-laktat oluşturan spesifik laktik asit dehidrojenazlara (LDH) sahiptir [179]. Normal anaerobik glikoliz L(+)-laktik asit verirken, D(-)-laktik asit glikokaliks sisteminden sentezlenebilir. D(-)-laktik asit dehidrojenazın işlevi, D(-)-laktik asidin, alanin gibi başka bazı bileşiklerin sentezlenmesi için kullanılabilen pirüvik asite dönüştürmektir [180]. *L. plantarum*, amigdalin, sellobiyoz, eskülin, glukonat, mannitol, melezitoz, melibiyoz, rafinoz, riboz, sorbitol, sukroz ve ksiloz gibi birçok karbonhidratın fermentasyonunu sağlar [181]. Diğer bir *Lactobacilli* türevi olan *L.*

helveticus suşu üzerinde genomik yapısı ve dizi karşılaştırmalarına ilişkin son genom dizilimini ortaya çıkarma amacı taşıyan literatür kaynakları da vardır. İlginç bir şekilde, peynirden izole edilen *L. helveticus*'a ait ilk sekanslı türün analiz sonuçlarına göre, hızlı lizis ve yüksek proteolitik aktivite gösterdiği saptanmıştır [182]. *L. helveticus*, yapısında 14 eksojen aminoasit barındıran, yüksek besleyici özelliği ile bilinen *Lactobacilli* türlerinden birisidir [183]. Süt ile fermente edildiğinde kazeinden aminoasit serbestleştirerek kısa peptitler oluşturabilen proteolitik bir sisteme sahiptir [54]. Bu özelliği ile *L. helveticus*'un biyoaktif peptitler veya bakteriyosinler üretme potansiyeli vardır. Fermente süt ürünlerinde prebiyotiklerle ilişkilendirildiğinde sinbiyotik etki gösterir [184]. Bu nedenle *L. helveticus* gıda endüstrisinde önemi artan çok işlevli bir *Lactobacilli* olarak kabul edilir. Bu amaçla, İsviçre-İtalyan peynirlerinde ve süt içeceklerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu endüstriyel ürünlerde ürünlerin acısını azaltan ve lezzetini artıran bir faktördür. *L. helveticus*, diğer *Lactobacilli* türlerine göre daha güvenli ve ucuz olması nedeniyle daha çok tercih edilir. *L. helveticus*'un proteolitik etkinliğiyle immünostimulan, antimikrobiyal, mineral bağlayıcı, opioidal ve antihipertansif özellikleriyle bilinen birçok peptitin sentezlenmesine aracılık eder. Bu özelliği, *L. helveticus*'un sağlık üzerine de olumlu etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir [185].

2.3.2 Diyette *Lactobacillus Helveticus* ve *Lactobacillus Plantarum*'un Metabolik Etkileri

Laktik asit bakterileri, şekerleri laktik aside dönüştürme kabiliyetine sahip bakterilerdir. Genellikle fermente süt ürünleri, ekmek, tahıllar ve sebzeler dâhil fermente gıdaların mayalanması için kullanılan laktik asit bakterileri, Avrupa ve Amerika'da ilgili otoriteler tarafından güvenli bakteriler olarak tanımlanmaktadırlar. *L. plantarum*, bağırsak florası içerisinde hızlı yayılabilen ve vücutta birçok farklı metabolik etkilere aracılık eden G^+ bir *Lactobacilli*'dir [186]. Özellikle yakın dönemdeki çalışmalar *L. plantarum*'un antiinflamatuvar, antioksidan ve hipoglisemik etkilerine dikkat çekmektedir. Bir çalışmada, trinitrobenzenosulfonik asit ile ülseratif kolit oluşturulan *Wistar* dişi sıçanlara 2 hafta boyunca gavaj ile $1x10^{10}$ CFU/gün *L. plantarum* verilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, *L. plantarum* uygulanan sıçanların bağırsak IL-10 düzeyleri artarken, IL-1β düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Aynı çalışmada, antioksidan enzimlerden GSH düzeylerinin arttığı, lipit peroksidasyonun azaldığı tespit

edilmiştir [187]. Dekstran sülfat sodyum enjekte edilerek ülseratif kolit oluşturulan BALB/c farelere 14 gün boyunca gavaj ile $1x10^9$ CFU/gün *L. plantarum* verilmiş ve kolonda TNFα, IL-6 ve IL-1β düzeyleri ile miyeloperoksidaz aktivitesinin azaldığı ve *L. plantarum'*un immnünomodülatör etki gösterdiği saptanmıştır [188]. Benzer bir çalışmada ise *L. plantarum'*un MAPK-NfκB yolağını inhibe ettiği ve antiinflamatuvar etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir [189]. Yüksek fruktoz, yağlı ve/veya kolesterol içeren diyetle hiperglisemi, dislipidemi ve inflamasyon gelişen deney hayvanlarına, *L. plantarum* verilmesiyle serum glukoz, trigliserit, LDL, VLDL ve total kolesterol düzeyleri ile vücut ağırlığının azaldığı gösterilmiştir [60],[190-196]. Alloksan ile tip 1 diyabet oluşturulmuş *Wistar* sıçanlara $1,8x10^8$ CFU/gün *L. plantarum* verilmesiyle serum glukoz düzeyinin %43 azaldığı ve *L. plantarum'*un alloksan ile gelişen pankreatik β hücre hasarına karşı koruyucu etkinlik gösterdiği ifade edilmiştir [197]. Yüksek yağlı ve fruktoz içeren diyet ile beslenen *Sprague Dawley* sıçanlarda karbonhidrat ve lipit metabolizmasının bozulduğu, inflamasyon geliştiği, antioksidan kapasitenin azaldığı rapor edilmiştir. Çalışmada diyet ile gelişen metabolik bozuklukların $1x10^9$ CFU/gün *L. plantarum* uygulamasıyla normalize edildiği, antioksidan enzimlerden SOD aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir [62]. Yüksek yağlı diyet ve streptozotosin enjeksiyonu ile tip 2 diyabet modeli oluşturulmuş farelere, $2x10^9$ CFU/gün *L. plantarum* verilmesiyle tokluk glukoz düzeyinin azaldığı, insülin duyarlılığının arttığı, pankreatik fonksiyonların iyileştiği, oksidatif hasar ve inflamasyona bağlı değişkenlerin düzeldiği saptanmıştır [198]. Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde yapılan çalışmalarda lipit akümülasyonun ve vücut ağırlığının arttığı saptanmıştır. Obezite modelinin oluşturulduğu bu farelere 8 ve/veya 12 hafta boyunca $1x10^9$ CFU/gün *L. plantarum* uygulamasıyla vücut ve adipoz doku ağırlıklarının azaldığı, leptin, hepatik PPARγ ve lipoprotein lipaz düzeylerinin normalize olduğu saptanmıştır [199],[200]. Diğer bir çalışmada ise alüminyum verilerek eser element dengesizliği oluşturulan farelerde oksidatif stres modeli oluşturulmuş, karaciğer ve böbrek dokularında SOD, CAT ve GPx düzeylerinin azaldığı, plazma MDA ve kreatinin düzeylerinin ise arttığı tespit edilmiştir. Model farelere $1x10^9$ CFU/gün *L. plantarum* uygulamasıyla SOD, CAT ve GPx düzeylerinin normalize olduğu, plazma MDA ve kreatinin düzeylerinin ise azaldığı gösterilmiştir [201]. Diğer bir *Lactobacilli* türü olan *L. helveticus* ile ilgili *in vitro* çalışmalarda *L. helveticus'*un gastrointestinal geçişte hayatta kalabilme, epitel hücrelere yapışma ve patojenleri antagonize edebilme gibi

özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Benzer bir şekilde murin modellerinde yapılan *in vivo* çalışmalar da *L. helveticus*'un gastrointestinal enfeksiyonları önleyebildiğini, patojenlere karşı defans geliştirebildiğini, konakçı immün yanıtlarını modüle edebildiğini ve bağırsak mikrobiyosunun kompozisyonunu etkileyebildiğini göstermiştir. Klinik ve deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda *L. helveticus'*un *Salmonella enteritidis, Citrobacterrodentium, Salmonella typhimurium, Streptococcuspyogenes, Candida albicans* ile indüklenen vajinit gibi birçok enfektif faktöre karşı koruyucu etkinliği bilinmektedir [185]. *L. helveticus'*un antimikrobiyal ve immünostimulan etkinliklerinin yanı sıra lökotrien B_4, TNFα, IL-6 ve IL-8 gibi proinflamatuvar yapıların inhibisyonunu da sağlayarak antiinflamatuvar etkinlik gösterdiği ifade edilmektedir [202-204]. Fareler üzerinde yapılan bir *in vivo* çalışmada, *L. helveticus* uygulamasının meme kanserinin büyümesini engellediği saptanmıştır [205]. Aproteik diyetle beslenen farelerde *L. helveticus* verilmesiyle kolon mukozasının stabilitesinin sağlandığı ve *L. helveticus'*un süper enfeksiyonların gelişmesini önlediği ifade edilmiştir [206]. Diğer bir çalışmada, farelerde geliştirilen dermatitin *L. helveticus* uygulamasıyla iyileştirildiği gösterilmiştir [207]. Klinik bir çalışmada ise *L. helveticus'*un antidepresan etkinliği saptanmıştır [208]. Sıçanlarda yapılan benzer bir çalışmada ise *L. helveticus'*un anksiyetenin önüne geçtiği, bilinçsel faktörleri geliştirdiği, konsantrasyonu ve öğrenme kapasitesini artırdığı gösterilmiştir [209]. *L. helveticus'*un sağlık üzerine diğer bir olumlu etkisi ise kardiyoprotektif özelliğidir. Sıçanlarda yapılan bir *in vivo* çalışmada *L. helveticus'*un anjiyotensin-I inhibisyonuna neden olarak antihipertansif özellik gösterdiği saptanmıştır [210]. İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise *L. helveticus'*un sistolik ve diyastolik kan basıncını azalttığı gösterilmiştir [211].

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1 Hayvanlar ve Diyet

Deneyler için 3 haftalık *Wistar* erkek sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanların bakımları 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyoduna uygun, sıcaklık kontrollü (22^{o}C) ortamda sağlanmıştır. 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 beslenmişlerdir. Sıçanlar bir haftalık uyum süresinin ardından gruplara ayrılmışlardır. Deney grupları ve diyet programları Çizelge 3.1'de belirtilmiştir. Herbir grup için 7 ile 10 arası sıçan kullanılmıştır. Fruktoz, 4. haftadan itibaren 15 hafta boyunca hayvanlara içme suyu içerisinde verilmiş; bakteriler ise gavaj ile 13. haftadan itibaren 6 hafta boyunca uygulanmıştır. Toplam süreler 19 haftadır.

Çizelge 3. 1 Deney grupları ve diyet programları

Gruplar	**Yem**	**Sıvı**	**Liyofilize Bakteri**
Kontrol	SSY	İçme suyu	-
Fruk	SSY	İçme suyu içerisinde %20 fruktoz	-
Fruk+LP	SSY	İçme suyu içerisinde %20 fruktoz	2 ml salin içerisinde 1x10^{9} LP
Fruk+LH	SSY	İçme suyu içerisinde %20 fruktoz	2 ml salin içerisinde 1x10^{9} LH

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

Deney sürecinde sıçanların vücut ağırlıkları, tükettikleri yem ve sıvı alımları haftalık periyotda düzenli olarak takip edilerek kaydedilmiştir. Sıçanlar deney sonunda ketamin (100mg/kg) ve ksilazin (10mg/kg) ile ötenazi edilmiştir.

3.1.1 Sıçanların Ağırlık Takibi, Günlük Yem, Sıvı Tüketimi ve Kalori Alımı Hesaplanması

Sıçanların ağırlıkları sıçanlar temin edildikten itibaren deney süresi boyunca hassas terazi yardımıyla haftada bir kez ölçülmüştür. Günlük yem tüketimleri, deney süresi boyunca hassas terazi yardımıyla haftada bir kez; başlangıç saatindeki kafes yemliğindeki yem miktarı (g) ile 24 saat sonra yemlikte kalan yem miktarı arasındaki farkın hesaplanmasıyla ölçülmüştür. Günlük sıvı tüketimleri, sızdırmaz şişelere başlangıç saatinde şişede bulunan sıvı hacmi (ml) ile 24 saat sonra şişede kalan sıvı hacmi arasındaki farkın hesaplanmasıyla ölçülmüştür. Sıçanların günlük kalori alımları ise standart sıçan yeminden temin edilen kalori (3.5 kkal/g yem) ve içme suyu içerisinde fruktoz tüketiminden temin edilen kalori (4.1 kkal/g fruktoz) dikkate alınarak hesaplanmıştır.

3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Etik Onay

Deneylerde kullanılan kimyasallar Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)'dan temin edilmiştir. Fruktoz, Danisco Sweeteners OY (Finland) firmasından temin edilmiştir. *L. plantarum* ve *L. helveticus* suşları ise Chr. Hansen (Denmark; sırasıyla ATCC: 15009 ve ATCC: 14917) firmasından temin edilmiş ve Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Fakültesi Laboratuvarlarında çoğaltılmıştır. Bu tez çalışmasının deneysel protokolü, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Komitesinin kararı (AKUHADYEK-49533702/57) ile onaylanmıştır.

3.1.3 Liyofilize *L. plantarum* ve *L. helveticus* Suşlarının Çoğaltılması

L. plantarum ve *L. helveticus* suşları Man, Rogosa ve Sharpe besiyerine (MRS; Oxoid; Unipath Ltd., Basing stoke, Hampshire, England) alınarak 150 rpm'de çalkalayıcıda 30°C'de kültürlenmiştir. Stok kültürleri, % 20 (h/h) gliserol içeren MRS besiyerinde -80°C'de saklanmıştır. 20 ml MRS içeren erlenmeyer şişeleri, 1.5 ml gliserol stok kültürü ile aşılanmış ve kültürler çalkalayıcıda (35 devir/dakika) 35°C±1°C'de inkübe edilmiştir. 600 nm'de (hücre yoğunluğu) 1.0'lik bir optik yoğunluğa kadar ($1x10^8$ CFU /

ml) büyütülmüştür. Kültür, 10 ml tüplere ($1x10^9$ CFU) bölünmüş ve bakteriler 4°C'de 5 dakika boyunca 5000 g'de toplanmıştır. Hücre topakları, izotonik salin çözeltisi ile yıkanmış ve bir dondurucu kurutucu altında liyofilize edilmiştir.

3.2 Biyokimyasal Belirteçlerin Analizi

Biyokimyasal belirteçlerin analizi için deney süresi sonunda sıçanların intravenöz (kuyruk veni) ve intrakardiyak kan örnekleri alınmıştır. İntrakardiyak kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınmış, 30 dakika boyunca 2200 rpm'de santrifüj edilerek sıvı kısım ayrılmıştır. Ayrılan plazma örnekleri, ayrı tüplere alınarak -85^{o}C'de dondurularak saklanmıştır. Dekapitasyon sonrası izole edilen böbrek dokuları -85^{o}C'de dondurularak saklanmıştır. Biyokimyasal analizler öncesi dondurulmuş böbrek dokusundan 200 mg alınıp üzerine 2 ml fosfat tamponu (0.1 M, pH 7.4) eklenmiş ve homojenize edilmiştir. Homojenatlar 10.000g'de 10 dk santrifüj edilmiş ve insülin, trigliserid, VLDL, HDL, total kolesterol, total protein, albümin, MDA, üre, ürik asit ve kreatinin ölçümleri için süpernatantlar toplanmıştır. Biyokimyasal belirteçlerin analizi Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakütesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.2.1 Plazma Glukoz Düzeyinin Belirlenmesi

İntravenöz yolla alınan kan örneklerindeki glukoz, glukoz ölçüm cihazı (Accu-Check, Roche) kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler en az 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alınmıştır.

3.2.2 Plazma İnsülin Düzeyinin Belirlenmesi

İntrakardiyak kan örneklerinden izole edilen plazmalarda, rat-spesifik insülin kitleri (Elabscience, USA Catalog No: E-EL-R2466) kullanılarak, üretici firmanın kullanım talimatına uygun olarak ölçülmüştür. Absorbans okuması ChemWell 2910 marka ELISA okuyucu cihazında yapılmıştır (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA).

Analiz tipi: Sandwich

Tespit yöntemi: Kolorimetrik (450 nm)

3.2.3 Plazma Trligliserid, VLDL, HDL ve Total Kolesterol Düzeylerinin Belirlenmesi

İntrakardiyak kan örneklerinden izole edilen plazmalarda trigliserit, VLDL, HDL ve total kolesterol düzeyleri uygun enzimatik analiz kitleri kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler, ROCHE COBAS INTEGRA800 analizöründe ROCHE COBAS (Roche Diagnostics GmbH, D68298Mannheim) tarafından üretilen kitler kullanılarak yapılmıştır. Kolesterol (kolesterol esteraz, kolesterol oksidaz, peroksidaz), trigliserit (lipoprotein lipaz, gliserol kinaz, gliserol fosfat oksidaz), HDL (PEG/kolesterol esteraz, PEG/kolesterol oksidaz, peroksidaz) yöntemi ile ölçülmüştür.

3.2.4 Plazma Total Protein ve Albümin Düzeylerinin Belirlenmesi

İntrakardiyak kan örneklerinden izole edilen plazmalarda total protein (Biolabo 80016, France) ve albümin (Biolabo 80002, France) için uygun kitler kullanılarak, üretici firmanın kullanım talimatına uygun olarak ölçülmüştür. Total protein (biüret), albümin (bromocresol green) yöntemi ile belirlenmiştir.

3.2.5 Plazma MDA Düzeyinin Belirlenmesi

İntrakardiyak kan örneklerinden izole edilen plazmalarda MDA için uygun kolorimetrik (TBARS Assay, Cayman, USA) analiz kitleri kullanılarak üretici firmanın kullanım talimatına uygun olarak ölçülmüştür.

3.2.6 Plazma Üre, Ürik Asit ve Kreatinin Düzeylerinin Belirlenmesi

İntrakardiyak kan örneklerinden izole edilen plazmalarda üre (Biolabo 92032 France), ürik asit (Biolabo 80351, France) ve kreatinin (Biolabo 80107, France) için uygun kolorimetrik analiz kitleri kullanılarak, üretici firmanın kullanım talimatına uygun olarak ölçülmüştür. Üre (üreaz-glutamat dehidrojenaz) yöntemi ile 340 nm, ürik asit (ürikaz-peroksidaz) yöntemi ile 520 nm, kreatinin (Jaffe reaksiyonu) yöntemi ile 490 nm dalga boyunda spektrofotometrik okuma ile ölçülmüştür.

3.2.7 Böbrek Dokusunda MDA Düzeyinin Belirlenmesi

Böbrek süpernatantlarında lipit peroksidasyon (MDA) seviyeleri HPLC kullanılarak belirlenmiştir. Süpernatanlardan örnekler Chromsystems Diagnostics

(Munich/Germany)'den sağlanan kit ile protokole göre hazırlanmış, sisteme enjekte edilmiştir. Floresans dedektör kullanılarak (Ex:515 Em:553 nm) ölçümler alınmıştır. Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak (µmol/g protein) verilmiştir.

3.2.8 Böbrek Dokusunda Üre ve Ürik Asit Düzeylerinin Belirlenmesi

Böbrek süpernatantlarında üre (Biolabo 92032, France) ve ürik asit (Biolabo 80351, France) düzeyleri uygun kolorimetrik kitler kullanılarak, üretici firmanın kullanım talimatına uygun olarak ölçülmüştür. Sonuçlar doku homojenatının protein düzeyiyle oranlanarak (µmol/g protein) verilmiştir. Üre (üreaz-glutamat dehidrojenaz) yöntemi ile 340 nm, ürik asit (ürikaz-peroksidaz) yöntemi ile 520 nm dalga boyunda spektrofotometrik okuma ile ölçülmüştür.

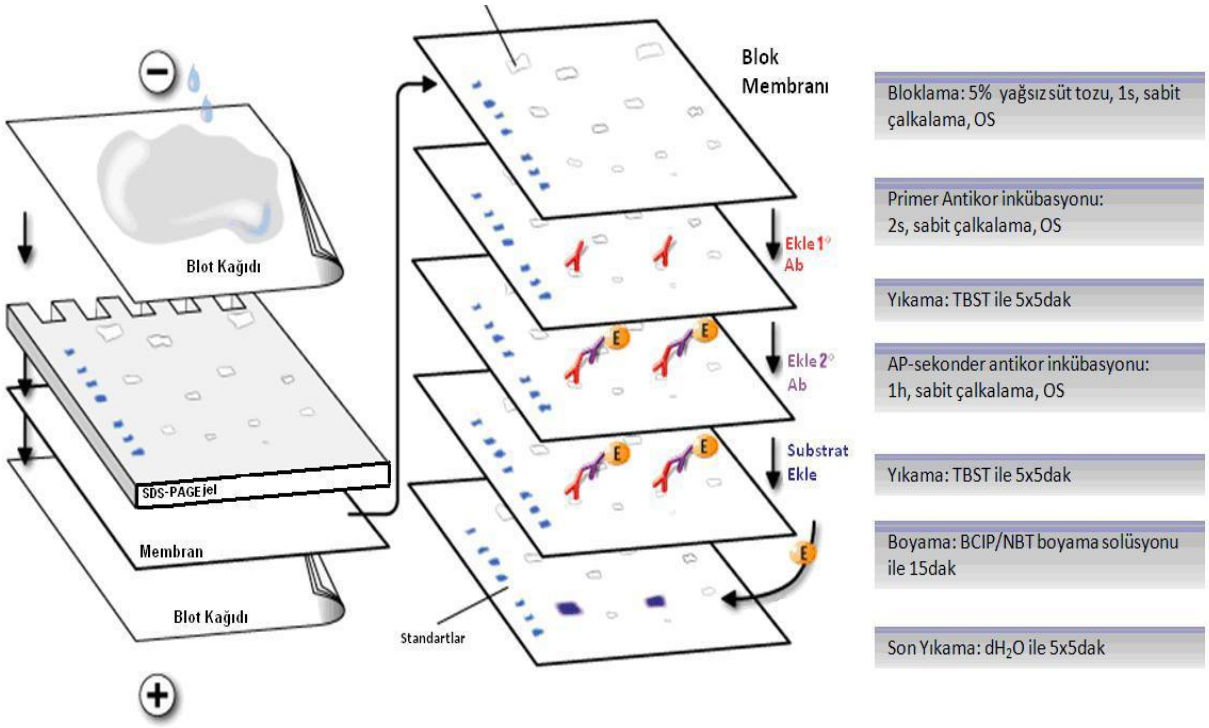
3.3 Proteinlerin Miktar Tayini

3.3.1 Böbrek Dokularının Homojenizasyonu ve Toplam Protein Miktar Tayini

Sıçanlardan izole edilen böbrek dokuları sıvı azot ile dondurulmuş ve -85 ºC'de stoklanmıştır. Analiz öncesi böbrek ağırlıklarının 4 katı kadar içinde; 50 mM Tris-base (pH 7.4), 150 mM NaCl, 5 mM EDTA, %1 h/h Triton x-100, %0.26 a/h Sodyum deoksikolat, 50 mM Sodyum florid, 0.1 mM Sodyum ortovanadat ve 0.2 mM PMSF içeren çözelti ile homojenize (TMQiagen, USA Tissue Rupture) edilmiştir. Homojenatlar daha sonra 1500g'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant, toplam protein tayini ve SOD1, SOD2, CAT ve GPx protein ekspresyonlarının Western Blot yöntemi ile belirlenmesi için kullanılmıştır. Doku homojenatlarının toplam protein konsantrasyonları Lowry yöntemine göre belirlenmiştir [212]. Buna göre, 50 kat seyreltilen örnekler ve standart sığır serum albümini (BSA) çözeltileri (0,05-1 mg/ml), 200 µl Lowry ACR reaktifi [Reaktif I (%2 a/h $CuSO_4.5H_2O$) Reaktif II (%2 a/h Na-K Tartarat) ve Reaktif A (0,1 N NaOH içinde % 2 a/h Na_2CO_3)] ile oda sıcaklığında ve karanlıkta 10 dakika inkübe edilmiştir. Üzerine 20 µl Folin reaktifi (1N) eklenerek 30 dakika karanlıkta bekletilen örneklerin renk yoğunluğu 660nm dalga boyunda ölçülerek (ThermoScientific MultiscanGo) oluşturulan standart grafik yardımı ile protein miktarları hesaplanmıştır.

3.3.2 Western Blot Yöntemi ile SOD1, SOD2, CAT ve GPx Proteinlerinin Ölçümü

Farklı miktarda protein içeren böbrek doku süpernatantları proteinleri SDS-PAGE yöntemi ile Mini ProteanTetra elektroforez cihazı (Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, USA) kullanılarak birbirlerinden ayrılmıştır. Western Blot yöntemi kullanılarak SOD1, SOD2, CAT ve GPx proteinlerinin yoğunlukları ayrı ayrı ölçülmüştür. Yönteme göre, süpernatantlar, yükleme tamponu (3.55 ml distile su, 1.25 ml 0.5mM Tris-HCl pH 6.8, 2.5 ml gliserol, 2 ml %10 SDS, 0.2 ml %0.5 a/h Bromfenol mavisi, 50 µl β-merkaptoetanol) ile 1/1 oranında karıştırılmıştır. Örnekler 5 dakika boyunca 95^{o}C'de bekletildikten sonra %4'lük sıkıştırıcı ve %12'lik ayırıcı jellerden oluşan SDS-PAGE'ye yüklenerek sabit voltajda (200V) proteinler birbirlerinden ayrılmıştır. Daha sonra, jeldeki proteinler PVDF membrana Western Blot tekniği (Şekil 3.1) kullanılarak aktarılmıştır [213]. Western Blot membranları TBST (0.5M NaCl, 20mM Tris pH:7.4, 0.05% h/h Tween-20) ile beş kez yıkandıktan sonra membran üzerindeki protein içermeyen bütün bölgelerin kapanmasını sağlayacak %5'lik BSA (TBST içinde hazırlanmış) ile bir saat muamele edilmiştir. SOD1, SOD2, CAT ve GPx proteinleri için ayrı ayrı SDS-PAGE ve Western Blot işlemleri yapılmıştır. SOD1 (Anti-SOD1 Sheep IgGpolyclonal, Calbiochem, 1/1.000), SOD2 (Anti-SOD2 Rabbit IgGpolyclonal, scbt 1/1.000), CAT (Anti-CAT Rabbit IgGpolyclonal, scbt 1/1.000) ve GPx (Anti-GPxRabbit IgGpolyclonal, scbt 1/5000) primer antikorlarının herbiri sadece bir membran ile oda sıcaklığında bir gece bekletilmiştir. TBST tamponu ile herbir membran beş kez yıkandıktan sonra, membranlar ikincil antikorları (SOD1 anti sheep HRP ve SOD2, CAT ve GPx için anti-rabbit HRP 1/10,000 scbt USA) ile bir saat inkübe edilmiştir. Herbir membran beş kez, beş dakikalık TBST yıkamasının ardından ECL (clarity western eclsubsrate bio-rad) solüsyonu (1/1 oranında Peroxide solution/ Luminol-enhancer solution) ile 10 dk muamele edilmiştir. Membranlar üzerindeki protein bantları BIO-RAD ChemiDocTM MP görüntüleme sistemi ile görüntülenmiştir. Daha sonra, normalizasyon için aynı membranlar GAPDH primer antikoru (Anti-GAPDH Rabbit IgG, SantaCruz, ABD, 1/4000) ve ikincil antikoru (anti-rabbit HRP 1/10,000 scbt USA) ile muamele edilmiş ve yukarıda belirtildiği gibi tekrar görüntülenmiştir. Image Lab 5.1 programı yardımı ile bant yoğunlukları ölçülen SOD1, SOD2, CAT ve GPx protein ekspresyonları GAPDH ekspresyonu ile oranlanarak veriler normalize edilmiştir.



Şekil 3. 1 Western-Blot ile protein yoğunluk tayini

3.4 Real Time-PCR Yöntemi ile mRNA Miktar Tayini

3.4.1 Toplam RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

Böbrek dokusuna ait total RNA'lar Qiagen RNeasy mini kit kullanılarak belirtilen protokole göre izole edilmiştir. Daha sonra RNA konsantrasyonu ve protein kontaminasyonu analizleri için MultiscanGO spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm'de ölçümler yapılmış ve 260/280 oranı kontrol edilmiştir. Ölçüm sonuçlarının 1,8-2,1 aralığında olması idealdir. Sonucun 2,1'in üzerinde olması nükleik asit bulaşığı ya da protein azlığı, 1,8'in altında olması protein bulaşığı ya da nükleik asit kırığı şeklinde yorumlanabilir. Toplam RNA konsantrasyonu 260 nm'deki net absorbansdan µg/ml biriminde hesaplanmıştır. 100-1000 µg arası sonuçlar normal kabul edilmiştir. Fazla ise seyreltilmiş, az olması durumunda tekrardan RNA izole edilmiştir. cDNA sentezi için izole edilen RNA'lar -85ºC'de saklanmıştır. İzole edilen RNA'lar konsantrasyonu 1 µg/ml olacak şekilde steril pcr tüplerine konulmuştur. Son hacim 11 µl olacak şekilde depc-steril su ilave edilmiş, daha sonra reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde sırasıyla; reaksiyon tamponu, oligo (dT) primer, ribolock inhibitör, dNTP karışımı, reverse transkriptaz ve depc-steril su eklenmiştir. Komponentlerin homojen bir biçimde karışması için santrifüj yapılmış ve termocyle'da 3 farklı sıcaklığa programlı cDNA

sentezine bırakılmıştır. İşlem 1 saat süreyle 42ºC'de gerçekleşmiştir. Daha sonra 70ºC'de 5 dakika bekletilen cDNA örnekleri +4ºC'ye soğutulmuş, işlem sonunda qPCR reaksiyon çalışmalarında kullanmak üzere -20ºC'de saklanmıştır.

3.4.2 Kuantatif Gerçek Zamanlı PZR (Real Time-PCR)

Böbrek dokusunda *sod1, sod2, cat* ve *gpx* genlerine ait mRNA miktarları SYBR Green I reaksiyon kimyasalı ve gerçek zamanlı PCR (RocheLightCycler 480 II) ile Çizelge 3.2'de verilen primer çiftleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Oluşturduğumuz cDNA aranılan mRNA karşılığının PCR ürünü olarak çoğaltılması için 96 well-plate içine 2,5 µl SYBR Greenmaster mix, 1 µl ileri, 1 µl geri primer, 0,5 µl cDNA eklenmiştir. Bileşenlerin homojen bir şekilde karışması için santrifüj yapılmış, daha sonra cihaza yerleştirilmiştir. 95ºC'de 10 dakika başlangıç denatürasyonunun ardından, 1) 95ºC'de 10 saniye denatürasyon, 2) 58ºC'de 15 saniye bağlanma ve 3) 72ºC'de 15 saniye uzatma işlemleri 40 defa tekrarlanarak her döngünün bağlanma aşamasından sonra floresans ışıma belirlenmiştir. Her bir çoğalma eğrisi için kritik eşik döngü sayısı (Cp) değerleri hesaplanarak örneklerdeki mRNA ifadelenmesi belirlenmiştir. Normalizasyon için internal standart olarak *gapdh* primerleri kullanılmış, dokular içerisinde istenilen gen ekspresyon düzeyleri *gapdh* genine oranlanarak birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Ayrıca oluşan ürünlerin ve varsa kontaminasyonun kontrol edilmesi için sonuçlar üzerinde melt analizi yapılarak, ürünlerin saflıkları kontrol edilmiştir.

Çizelge 3. 2 RT-qPCR yöntemiyle mRNA ekspresyonlarının belirlenmesi amacıyla kullanılan *sod1, sod2, cat, gpx* ve *gapdh* primer çiftleri

	Forward Primer (5' →3')	**Reverse Primer (5' →3')**
sod1	GCAGAAGGCAAGCGGTGAAC	TAGCAGGACAGCAGATGAGT
sod2	GCACATTAACGCGCAGATCA	AGCCTCCAGCAACTCTCCTT
cat	GCGAATGGAGAGGCAGTGTAC	GAGTGACGTTGTCTTCATTAGCACTG
gpx	CTCTCCGCGGTGGCACAGT	CCACCACCGGGTCGGACATAC
gapdh	TGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAG	TCCTTGGAGGCCATGTGGGCCAT

3.5 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için Graphpad Prism 5.02 programı kullanılmıştır. Bütün sonuçların istatistiksel analizi One-way ANOVA non-parametrik testi ve eş olmayan gruplar arası anlamlılık *Tukey* testi ile değerlendirilmiştir. P değeri 0.05'den küçük olan bulgular anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Sıçanların Vücut ve Böbrek Doku Ağırlıkları

Eş olmayan gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında vücut ağırlıkları, sol böbrek ağırlığının vücut ağırlığına oranı ve sağ böbrek ağırlığının vücut ağırlığına oranı açısından herhangi anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4. 1 Gruplara göre sıçanların vücut ve böbrek doku ağırlıkları

	Kontrol	**Fruk**	**Fruk+LH**	**Fruk+LP**
BVA (g)	90.7±5.2	92.1±3.7	93.1±3.4	92.3±1.8
DSVA (g)	354.6±5.2	359.3±12.7	373.4±17.7	354.2±19.2
SBA (g)	1.5±0.1	1.4±0.05	1.5±0.1	1.4±0.1
SBA/DSVA (%)	0.4±0.01	0.4±0.02	0.4±0.01	0.4±0.01
RBA (g)	1.5±0.1	1.4±0.05	1.5±0.1	1.4±0.1
RBA/DSVA (%)	0.4±0.01	0.4±0.02	0.4±0.01	0.4±0.01

(BVA; Başlangıç vücut ağırlığı, **DSVA**; Deney sonu vücut ağırlığı, **SBA**; Sol böbrek ağırlığı, **RBA**; Sağ böbrek ağırlığını ifade etmektedir. Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=7-10)

4.2 Sıçanların Günlük Yem Tüketimi, Sıvı ve Kalori Alımı

Eş olmayan gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında Fruk grubunda günlük yem tüketiminin ve sıvı alımının Kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Fruk grubunun günlük kalori alımının kontrol gruba göre anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). Fruk+LH ve Fruk+LP gruplarının günlük kalori alımları Fruk grubuna göre değişmediği saptanmıştır.

Çizelge 4. 2 Gruplara göre sıçanların günlük yem tüketimi, sıvı ve kalori alımı

	Kontrol	**Fruk**	**Fruk+LH**	**Fruk+LP**
Yem tüketimi (g/gün)	21.4±0.2	14.7±0.4 *	15.6±1.6	16.9±1.5
Sıvı alımı (ml/gün)	48.3±2	40.1±2.8 *	37.5±1.2	38.1±0.7
Total kalori alımı (kcal)	74.9±3.1	84.3±2.1 *	85.4±2.1	90.4±4.2

(Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=7-10, * $p<0.05$ Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.)

4.3 Sıçanların Plazma ve Böbrek Dokularında Biyokimyasal Bulgular

Eş olmayan gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında Fruk grubunun plazma glukoz, insülin, trigliserit, VLDL, MDA, kreatinin ve renal üre değerlerinin Kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Fruk+LH grubunun plazma trigliserit, VLDL, kreatinin, ürik asit ve renal üre değerlerinin Fruk grubuna göre anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Fruk+LP grubunun plazma insülin, trigliserit, VLDL, kreatinin, renal üre ve renal ürik asit değerlerinin Fruk grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görülmektedir. Fruk+LP grubunun plazma HDL düzeylerinin ise Fruk grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4. 3 Gruplara göre sıçanların plazma ve böbrek dokularında biyokimyasal bulgular

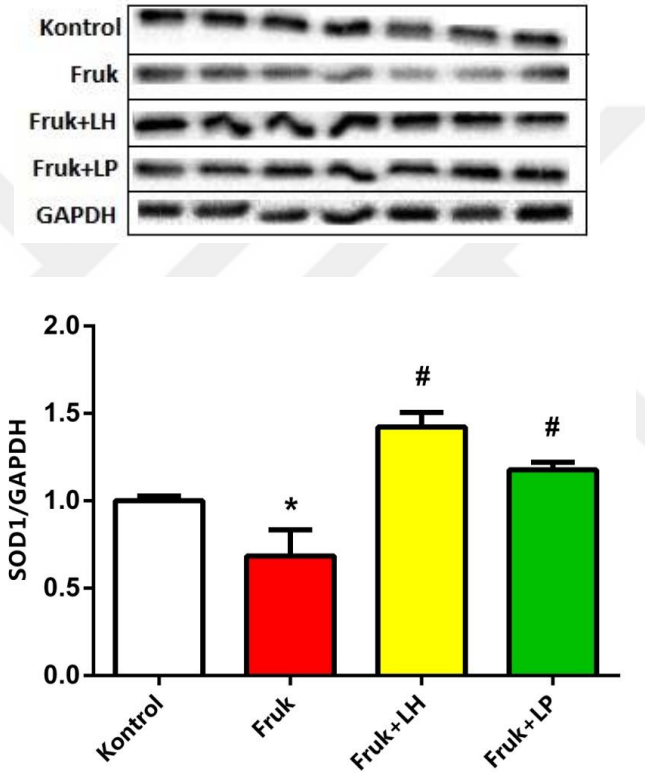
	Kontrol	Fruk	Fruk+LH	Fruk+LP
Glukoz (mmol/L)	6.1±0.3	8.5±0.3 *	8.7±0.9	8.2±0.5
İnsülin (pmol/L)	2.77±0.70	5.9±1.4 *	5.5±1.6	3.62±0.50 #
Trigliserit (mmol/L)	1.39 ± 0.10	3.75 ± 0.10 *	2.11 ± 0.10 #	1.73 ± 0.10 #
VLDL (mmol/L)	0.58 ± 0.05	1.63 ± 0.04 *	0.97 ± 0.03 #	0.79 ±0.02 #
HDL (mmol/L)	0.61±0.03	0.61±0.05	0.66±0.04	0.76±0.03 #
Total Kolesterol (mmol/L)	1.14±0.10	1.42±0.10	1.29±0.10	1.53±0.10
MDA (µmol/L)	21.5±1.1	27.1±2 *	29.1±3.2	23.6±0.9
Kreatinin (µmol/L)	15±1.8	21.2±2.7 *	14.1±2.6 #	15±2.7 #
Üre (mmol/L)	11.6±0.9	12.6±1	10.9±0.4	11.5±0.7
Ürik Asit (µmol/L)	142.7±11.9	127.9±11.8	107.1±5.9#	136.8±11.9
Albümin (g/L)	44±3	44±3	44±4	42±4
Total Protein (g/L)	74±1	79±1	79±2	81±1
Renal MDA (µmol/g protein)	1.47±0.10	1.6±0.20	1.32±0.20	1.27±0.20
Renal Üre (mg/g protein)	14.7±1.2	21.6±1.3 *	16.3±2.1 #	14.1±1.2 #
Renal Ürik Asit (mg/g protein)	8.6±0.6	10.2±0.9	8.8±0.6	7.2±0.8 #

(Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. n=7-10, * $p<0.05$. Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ ise Fruk grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.)

4.4 Sıçanların Böbrek Dokularında Western Blot Yöntemiyle Protein Miktar Tayini

4.4.1 SOD1 Protein Ekspresyonu

Eş olmayan gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında Fruk grubunda SOD1 protein ekspresyonunun Kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Fruk+LH ve Fruk+LP gruplarında SOD1 protein ekspresyonunun Fruk grubuna göre anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.1).

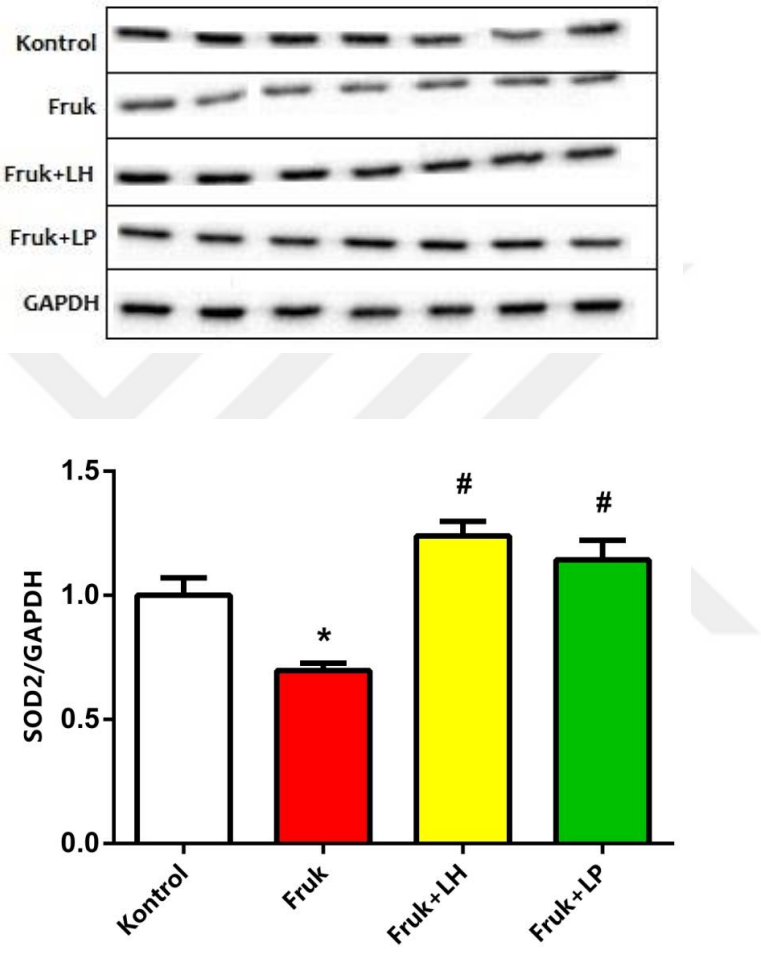


Şekil 4. 1 Sıçanların böbrek doku örneklerinde Western Blot yöntemi ile ölçülen SOD1 protein ekspresyonunu gösteren temsili bantlar.

Bantlardaki protein yoğunluğu dansitometrik analiz yöntemi ile hesaplanmış ve GAPDH'e göre oranlanmıştır. Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Şekilde Fruk, Fruk+LH ve Fruk+LP grupları Kontrole göre oranlanarak verilmiştir. n=7-10, * $p<0.05$ Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ ise Fruk grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.2 SOD2 Protein Ekspresyonu

Eş olmayan gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında Fruk grubunda SOD2 protein ekspresyonunun Kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Fruk+LH ve Fruk+LP gruplarında SOD2 protein ekspresyonunun Fruk grubuna göre anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.2).

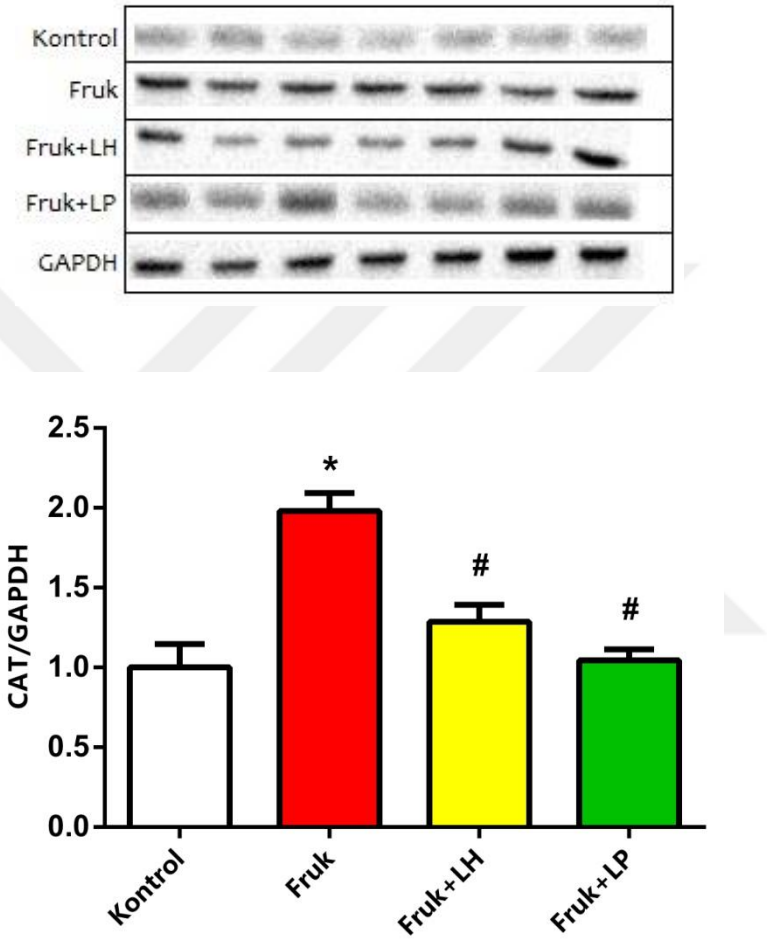


Şekil 4. 2 Sıçanların böbrek doku örneklerinde Western Blot yöntemi ile ölçülen SOD2 protein ekspresyonunu gösteren temsili bantlar.

Bantlardaki protein yoğunluğu dansitometrik analiz yöntemi ile hesaplanmış ve GAPDH'e göre oranlanmıştır. Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Şekilde Fruk, Fruk+LH ve Fruk+LP grupları Kontrole göre oranlanarak verilmiştir. n=7-10, * $p<0.05$ Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ ise Fruk grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.3 CAT Protein Ekspresyonu

Eş olmayan gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında Fruk grubunda CAT protein ekspresyonunun Kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Fruk+LH ve Fruk+LP gruplarında CAT protein ekspresyonunun Fruk grubuna göre anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.3).

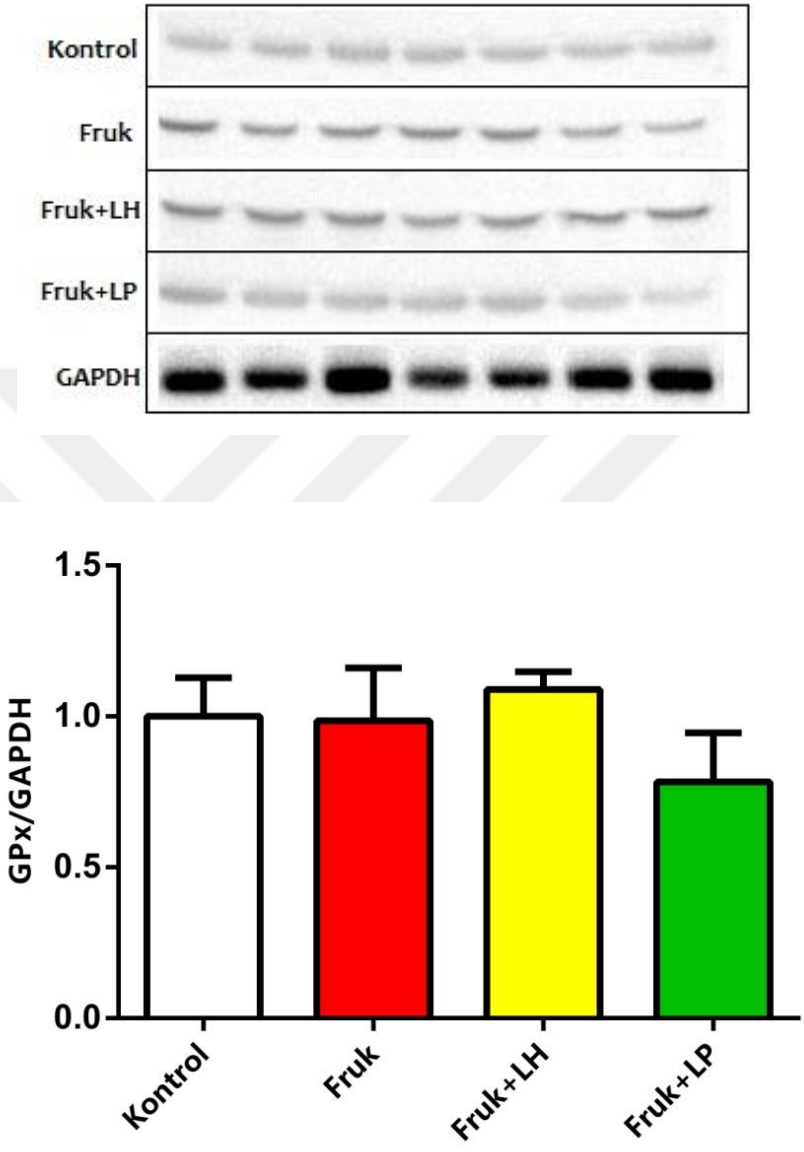


Şekil 4. 3 Sıçanların böbrek doku örneklerinde Western Blot yöntemi ile ölçülen CAT protein ekspresyonunu gösteren temsili bantlar.

Bantlardaki protein yoğunluğu dansitometrik analiz yöntemi ile hesaplanmış ve GAPDH'e göre oranlanmıştır. Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Şekilde Fruk, Fruk+LH ve Fruk+LP grupları Kontrole göre oranlanarak verilmiştir. n=7-10, * $p<0.05$ Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ ise Fruk grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.4 GPx Protein Ekspresyonu

Eş olmayan gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında istatistikî açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.4).



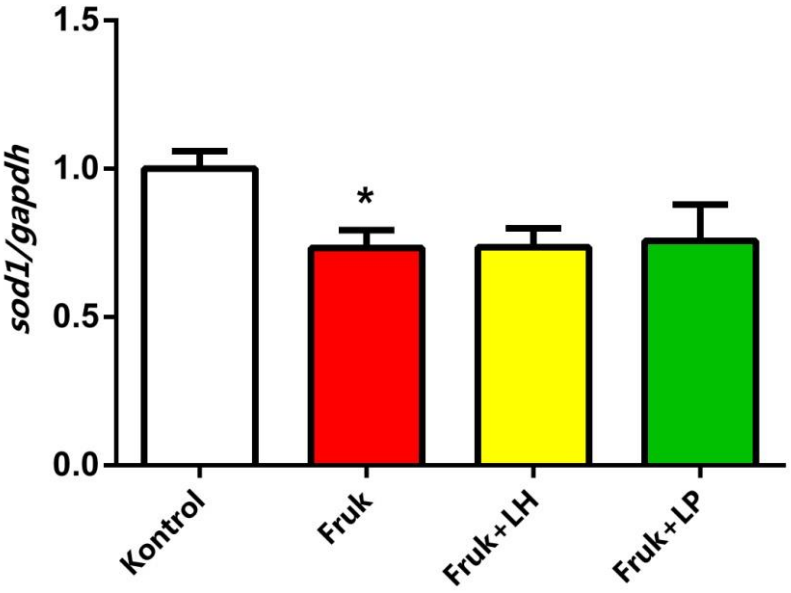
Şekil 4. 4 Sıçanların böbrek doku örneklerinde Western Blot yöntemi ile ölçülen GPx protein ekspresyonunu gösteren temsili bantlar.

Bantlardaki protein yoğunluğu dansitometrik analiz yöntemi ile hesaplanmış ve GAPDH'e göre oranlanmıştır. Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Şekilde Fruk, Fruk+LH ve Fruk+LP grupları Kontrole göre oranlanarak verilmiştir. n=7-10.

4.5 Sıçanların Böbrek Dokularında RT-qPCR Yöntemiyle mRNA Miktar Tayini

4.5.1 *sod1* mRNA Ekspresyonu

Eş olmayan gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında Fruk grubunda *sod1* mRNA ekspresyonunun Kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Fruk+LH ve Fruk+LP gruplarında *sod1* mRNA ekspresyonunun Fruk grubuna göre değişmediği tespit edilmiştir (Şekil 4.5).

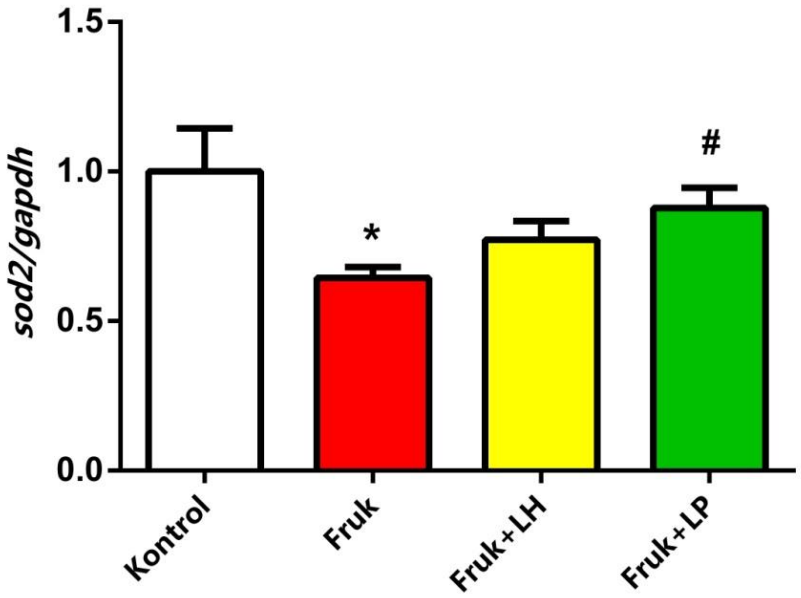


Şekil 4. 5 Sıçanların böbrek doku örneklerinde RT-qPCR yöntemi ile ölçülen *sod1* mRNA ekspresyonu. Sonuçlar gapdh'e göre oranlanmıştır.

Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Şekilde Fruk, Fruk+LH ve Fruk+LP grupları Kontrole göre oranlanarak verilmiştir. n=7-10, * $p<0.05$ Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.5.2 *sod2* mRNA Ekspresyonu

Eş olmayan gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında Fruk grubunda *sod2* mRNA ekspresyonunun Kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Fruk+LP grubunda *sod2* mRNA ekspresyonunun Fruk grubuna göre arttığı, Fruk+LH grubunun ise değişmediği tespit edilmiştir (Şekil 4.6).

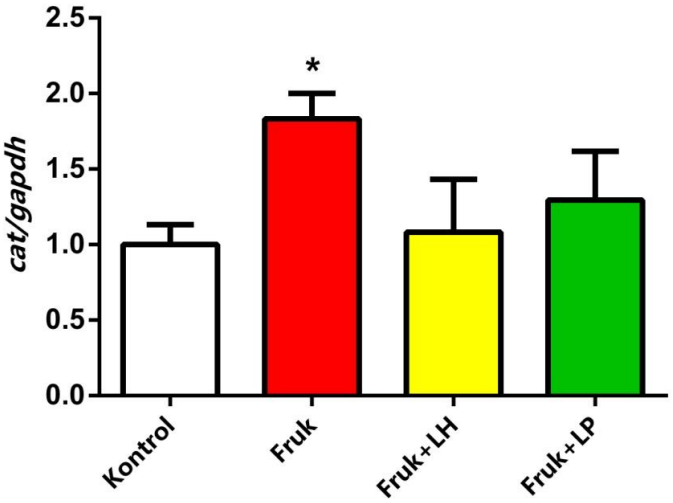


Şekil 4. 6 Sıçanların böbrek doku örneklerinde RT-qPCR yöntemi ile ölçülen *sod2* mRNA ekspresyonu. Sonuçlar gapdh'e göre oranlanmıştır.

Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Şekilde Fruk, Fruk+LH ve Fruk+LP grupları Kontrole göre oranlanarak verilmiştir. n=7-10, * $p<0.05$ Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. # $p<0.05$ ise Fruk grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.5.3 *cat* mRNA Ekspresyonu

Eş olmayan gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında Fruk grubunda *cat* mRNA ekspresyonunun Kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Fruk+LH ve Fruk+LP gruplarında *cat* mRNA ekspresyonunun Fruk grubuna göre değişmediği tespit edilmiştir (Şekil 4.7).

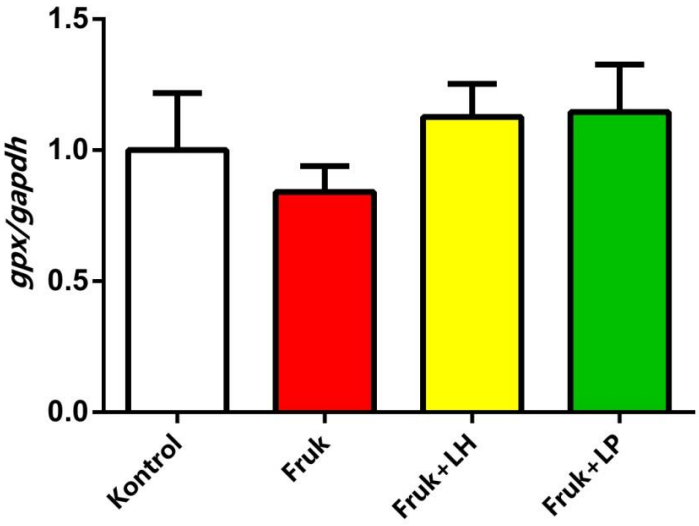


Şekil 4. 7 Sıçanların böbrek doku örneklerinde RT-qPCR yöntemi ile ölçülen *cat* mRNA ekspresyonu. Sonuçlar gapdh'e göre oranlanmıştır.

Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Şekilde Fruk, Fruk+LH ve Fruk+LP grupları Kontrole göre oranlanarak verilmiştir. n=7-10, * $p<0.05$ Kontrol grubuna göre istatistik olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.5.4 *gpx* mRNA Ekspresyonu

Eş olmayan gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında istatistikî açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 4.8).



Şekil 4. 8 Sıçanların böbrek doku örneklerinde RT-qPCR yöntemi ile ölçülen *gpx* mRNA ekspresyonu. Sonuçlar gapdh'e göre oranlanmıştır.

Değerler ortalama ± standart hata ortalaması olarak ifade edilmiştir. Şekilde Fruk, Fruk+LH ve Fruk+LP grupları Kontrole göre oranlanarak verilmiştir. n=7-10.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

MetS insülin direnci, dislipidemi ve obezite gibi birçok farklı endokrinopatinin bir arada seyrettiği sistemik bir hastalıktır [64]. Günümüzde MetS görülme sıklığındaki artışın temel nedenleri olarak hareketsiz yaşam tarzı ile beslenme alışkanlıklarının değişmesi gösterilmektedir [72],[73]. Literatürde yüksek yağlı diyet, fast-food tarzı beslenme ve YFMŞ içeren besinlerin MetS gelişmesine neden olduğu ifade edilmektedir [83]. Son çeyrek asırdır, rafineri şeker tüketimindeki artışın, MetS prevalansındaki artış ile paralel seyretmesi, günlük kalori ihtiyacının sağlanmasında karbonhidratların payının artmasıyla, MetS'un ilişkili olabileceğini göstermiştir. Fruktoz, YFMŞ içerisinde bulunan ve endüstriyel tatlandırıcı olarak kullanılan bir monosakkarittir. Fruktozun aşırı tüketimi ile omental adipoz doku hipertrofisi, karaciğer yağlanması, böbrek yetmezliği ile endoteliyal disfonksiyon geliştiği ileri sürülmektedir [10],[58],[138]. Karbonhidratlar içerisinde özellikle fruktozun bu olumsuz tabloya neden olması, fruktozun vücutta insülinden bağımsız bir şekilde metabolize edilmesiyle açıklanmaktadır [7]. Fruktoz tüketiminin etki spektrumu yüksek düzeyde konjesyona uğrayan organlarla başlar. Böbrekler fruktoz tüketimine bağlı fonksiyon kaybına uğrayan majör organlardan bir tanesidir. Literatürde, fruktoz tüketimine bağlı böbrek yetmezliği geliştiği ifade edilmektedir [133],[134]. Diyet içerisinde fruktoz alımının neden olduğu olumsuz etkilerden bir tanesi de oksidan/antioksidan dengesinin bozulmasına bağlı gelişen oksidatif strestir [26]. Deneysel çalışmalarda fruktoz tüketimine bağlı bir çok farklı doku ve organda oksidatif stres geliştiği gösterilmiştir [36],[38],[43],[137]. Bu tez çalışmasıyla yüksek fruktoz tüketiminin sıçanlarda metabolik parametreler ve renal

oksidan/antioksidan denge üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Diğer taraftan muhtemel değişiklikler üzerine *L. helveticus* ve *L. plantarum* gibi güvenli bakteriler sınıfındaki mikroorganizmaların etkileri incelenmiştir. Probiyotiklerin özellikle yüksek yağlı diyet ile oluşturulan MetS modellemelerinde terapötik potansiyeli olduğu gösterilmiştir [214],[215],[216]. Yüksek fruktoz diyeti ile oluşturulan MetS modeli üzerine probiyotiklerin etkilerini gösteren sınırlı çalışma vardır [60],[62]. Bu nedenle yaygın olarak kullanılan iki probiyotik suşunun (*L. helveticus, L. plantarum*) metabolik ve renal oksidan/antioksidan belirteçleri üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmamızda, diyet içerisinde fruktoz ile 15 hafta boyunca beslenen sıçanların vücut ve böbrek ağırlıklarındaki değişiklikler incelenmiş ve gruplar arasında herhangi bir farklılık saptanmamıştır. Bir çalışmada, 8 hafta süre ile içme suyu içerisinde %20 fruktoz ile beslenen sıçanların vücut ağırlıklarında değişiklik olmadığı gösterilmiştir [159]. Yem içerisinde %65 fruktoz tüketen spontan diyabetik *Torri* sıçanların vücut ve böbrek ağırlıklarında değişiklik saptanmamıştır [32]. Yapılan başka bir çalışmada ise 24 hafta süre ile içme suyu içerisinde %10 fruktoz tüketen *Wistar* sıçanların vücut ağırlıklarında artış meydana geldiği saptanmıştır [14]. Çalışmamızda deney sonu vücut ve böbrek ağırlıkları ile böbrek ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranlarının değişmemiş olması literatürle uyumlu görünmektedir. Bazı çalışmalarda fruktoz tüketimine bağlı ağırlık artışının saptanmış olması, sıçanların daha uzun süre fruktoz tüketimine maruz kalması ile ilişkili olabilir. Nitekim benzer fruktoz oranı ve deney süresinin uygulandığı bir çalışmada, karaciğer ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranının değişmediği gösterilmiştir [12]. Bu durum, uyguladığımız fruktoz diyetinin vücut ağırlığında artışa ve doku hipertrofisine neden olmadığını göstermektedir. Sıçanların 15 haftalık diyeti sonrası yem tüketimleri incelendiğinde, Fruk grubunun günlük tükettiği yem miktarında anlamlı bir azalma göze çarpmaktadır (Çizelge 4.2). Bu azalma, Fruk grubunun günlük kalori ihtiyacının bir kısmını fruktoz içeren içme suyu ile karşılamış olmasından kaynaklanmaktadır. Benzer bir çalışmada, 8 hafta boyunca yem içerisinde %60 fruktoz ile beslenen sıçanların standart diyet ile beslenen sıçanlardan daha az yem tükettiği gösterilmiştir [39]. İçme suyu içerisinde %20 YFMŞ tüketen erkek *Wistar* sıçanların günlük yem tüketiminin azaldığı ifade edilmiştir [10]. Sıçanların günlük sıvı alımları karşılaştırıldığında; Fruk grubunun sıvı alımları sadece içme suyu verilen Kontrol sıçanlara göre azaldığı saptanmıştır (Çizelge 4.2). İçme suyu içerisinde %20 fruktoz tüketiminin zor olması bu değişikliğin nedeni olabilir. Benzer bir çalışmada, içme suyu

içerisinde %20 fruktoz tüketen *Wistar* sıçanların günlük sıvı alımlarının azaldığı tespit edilmiştir [217]. Diğer bir çalışmada ise içme suyu içerisinde %20 fruktoz içeren sıçanların günlük sıvı alımlarının azalma eğiliminde olduğu gösterilmiştir [159]. Sıçanların günlük yem ve sıvı tüketimlerine bağlı olarak değişen kalori alımları değerlendirildiğinde ise Fruk grubunun günlük kalori alımlarının anlamlı olarak arttığı görülmektedir (Çizelge 4.2). Bu farklılık, Fruk grubunun hem standart sıçan yemi hem de içme suyu içerisinde fruktoz aracılığı ile kalori almasından kaynaklanmaktadır. Nitekim benzer çalışmalarda da fruktoz tüketen sıçanların günlük kalori alımında artış olduğu gösterilmiştir [12],[14],[16],[217]. Çalışmamızda ayrıca fruktoz tüketen sıçanlara 9. haftadan itibaren *L. helveticus* ve *L. plantarum* verilmesiyle; sıçanların günlük yem tüketimi, sıvı ve kalori alımlarının değişmediği saptanmıştır.

Deney sonrası sıçanlardan intrakardiyak alınan kan örneklerinde glukoz ve lipit metabolizmasındaki değişkenlerin tespitine ilişkin bir dizi parametre düzeyi ölçülmüş ve değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre Fruk grubunda plazma glukoz, insülin, trigliserit ve VLDL düzeylerinin anlamlı olarak arttığı, HDL ve total kolesterol düzeylerinin ise değişmediği saptanmıştır (Çizelge 4.3). Elde edilen bu bulgular, daha önce yapılan çalışmalara paralel bir şekilde, fruktoz tüketimine bağlı hiperglisemi, hiperinsülinemi ve hiperlipidemi geliştiğini ortaya koymaktadır [10],[12],[14-16],[217]. İçme suyu içerisinde %5 fruktoz ile 4 ay boyunca beslenen *Wistar* sıçanların plazma insülin, trigliserit ve VLDL düzeylerinin arttığı gösterilmiştir [36]. Benzer bir çalışmada, içme suyu içerisinde 8 hafta boyunca %10 fruktoz verilen *Sprague Dawley* sıçanların plazma trigliserit ve serbest yağ asitlerinde artış meydana gelmiştir [38]. Diyet içerisinde YFMŞ ile beslenen sıçanların plazma ve karaciğer trigliserit düzeylerinin arttığı ve karaciğer yağlanması geliştiği saptanmıştır [6]. Mevcut sonuçlar önceki çalışmalarımız ve literatür ile kıyaslandığında paralellik göstermektedir. Bu açıdan MetS modelinin başarıyla oluşturulduğunu söyleyebiliriz. Farklı ve yeni bulgular ise fruktoz ile beslenen sıçanlara *L. helveticus* ve *L. plantarum* verilmesinin plazma trigliserit ve VLDL düzeylerini anlamlı olarak düşürmesidir (Çizelge 4.3). Bununla birlikte, probiyotiklerden *L. plantarum*'un metabolik etkilerinin *L. helveticus*'a göre daha güçlü olduğunu söyleyebiliriz. Şöyle ki; *L. helveticus*'tan farklı olarak *L. plantarum* verilmesiyle sıçanların plazma insülin düzeylerinin normalize olduğu ve plazma HDL düzeylerinin arttığı görülmektedir (Çizelge 4.3). Literatüre bakıldığında, *L. plantarum* üzerinde yapılan serolojik çalışmalar, *L. plantarum*'un hücre duvarlarında ribitol ve

teikoik asit içerdiği, L(+) ve D(-)-laktat oluşturan spesifik laktik asit dehidrojenazlara sahip olduğunu göstermektedir [177-179]. *L. plantarum* bu farklı karakteristikleri nedeniyle birçok karbonhidrat türevlerini fermente edebilmektedir [181]. Yakın dönemde yapılan çalışmalar, deney hayvanlarına *L. plantarum* verilmesiyle plazma glukoz, trigliserit, LDL, VLDL ve total kolesterol düzeylerinin azaldığına işaret etmektedir [60],[190]. Konuyla ilgili yapılmış klinik çalışmalar da deneysel hayvan çalışmalarından elde edilen bulguları desteklemektedir. Hipertrigliseridemi hastalarına *L. plantarum* uygulaması ile plazma trigliserit düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir [218]. Plazma HDL düzeylerinin fruktoz tüketimiyle değişmemesine rağmen *L. plantarum* uygulaması ile artmış olması ise *L. plantarum*'un, kardiyovasküler hastalıklar üzerinde de olumlu etkiler gösterebileceğine işaret etmektedir. Sonuç olarak, morfolojik ve karakteristik özelliklerinden doğan farklılıklar nedeniyle *L. plantarum* bakterilerine ait metabolik etkinliklerin *L. helveticus*'tan daha yüksek düzeyde olduğu söylenebilir. Genel olarak değerlendirme yapıldığında ise *Lactobacilli* suşlarının, diyet içerisinde fruktoz alımıyla değişen glukoz ve insülin düzeyleri ile lipit profilinin iyileştirilmesi amacıyla kullanabileceğini göstermektedir.

Böbrek yetmezlikleri ya da böbrekte fonksiyonel bozukluklar genel olarak azotlu atıkların (üre) vücuttan atılmasının zorlaşmasıyla ve vücudun sıvı/elektrolit dengesinin bozulmasıyla ortaya çıkmaktadır. Serum kreatinindeki artış ise nefropatinin erken belirtisi olarak karşımıza çıkmaktadır [219]. Bu nedenle, serum üre, ürik asit ve kreatinin düzeyleri böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan temel parametrelerdir. Yüksek fruktoz diyetinin neden olduğu hiperglisemi böbrek fonksiyonları üzerinde olumsuz etkilere sebebiyet verebilir ve plazma üre, ürik asit ve kreatinin düzeylerini artırabilir. Yetişkin ICR farelere içme suyu içerisinde %30 fruktoz verilmesiyle serum üre ve kreatinin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir [20]. Başka bir çalışmada ise yem içerisinde %60 fruktoz içeren diyetle beslenen sıçanların üre, ürik asit ve kreatinin düzeylerinin arttığı saptanmıştır [21]. Benzer bir çalışmada ise yem içerisinde %60 fruktoz ile beslenen sıçanların serum kreatinin düzeylerinin değişmediği saptanmıştır [165]. İçme suyu içerisinde %10 fruktoz içeren diyetle beslenen *Wistar* sıçanların üre ve ürik asit düzeylerinin arttığı, kreatinin düzeylerinin ise azaldığı gösterilmiştir [163]. Çalışma sonuçlarımız fruktoz tüketimiyle plazma kreatinin düzeylerinin anlamlı olarak arttığını, plazma ürik asit düzeylerinin ise değişmediğini göstermektedir. Plazma üre düzeylerinin ise fruktoz tüketimine bağlı artış eğiliminde

olduğu fakat anlamlılıkla ilişkilendirilemediğini söyleyebiliriz (Çizelge 4.3). Böbrek homojenatlarında ölçülen üre düzeylerinin Fruk grubunda anlamlı olarak arttığı, renal ürik asit düzeylerinin ise artış eğiliminde olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3). Sağlıklı böbrek fonksiyonlarına sahip bireylerde albümin ve yüksek molekül ağırlıklı proteinler tübülointersistiyel sistemden geçemez. Böbrek hasarı veya böbrek yetmezliği gibi patolojiler söz konusu olduğunda ise idrarla albümin ve protein atılımı başlar. Bu nedenle fruktoz tüketiminin mikroalbüminüriye neden olabileceği bilinmektedir [135]. Mevcut bulgularımız, fruktoz tüketimiyle plazma albümin ve total protein düzeylerinin değişmediğini göstermektedir (Çizelge 4.3). Genel olarak böbrek fonksiyonlarına ilişkin bulgularımızı değerlendirecek olursak; fruktoz tüketimiyle oluşturduğumuz MetS modelinin, renal belirteçler üzerinde dramatik bir patolojiye neden olmadığını söyleyebiliriz. Plazma kreatinin ve renal üre düzeylerindeki kısmi artışların ise literatürle uyumlu olduğunu göstermektedir. Bu değişiklikler üzerine *L. helveticus* ve *L. plantarum*'un etkilerini değerlendirdiğimizde ise her iki bakteri suşunun plazma kreatinin ve renal üre düzeylerini; ayrıca *L. plantarum*'un renal ürik asit düzeyini, *L. helveticus*'un ise plazma ürik asit düzeylerini anlamlı olarak azalttığı görülmektedir. Literatür her iki bakteri suşunun antiinflamatuvar etkinliklerine dikkat çekmektedir [198],[202-204]. Bu açıdan değerlendirdiğimizde, *L. helveticus* ve *L. plantarum*'un antiinflamatuvar etkinlikleriyle böbrek doku hasarının önüne geçmiş olabilir. Sonuçlar, çalışmamızda kullandığımız probiyotiklerin, fruktoz tüketimiyle değişen renal belirteçler üzerinde olumlu etkilerini göstermektedir.

Oksidatif stres vücutta oksidan/antioksidan dengenin serbest oksijen radikalleri lehine bozulmasıyla ortaya çıkar [141]. Serbest oksijen radikallerindeki artış lipit kökenli yapıları oksidasyona uğratarak MDA oluşumuna neden olur. MDA düzeylerindeki artış ise membran proteinlerinin hasar görmesine yol açabilir [142]. Oksidatif stresin diğer bir nedeni ise antioksidan sistemin baskılanmasıdır. Deneysel hayvan çalışmalarında renal iskemi ya da nefrotoksisite sonrası antioksidan kapasitenin azaldığı gösterilmiştir [149],[150]. Fruktoz tüketiminin diğer olumsuz bir özelliği de birçok doku ve organ üzerinde oksidatif strese neden olmasıdır [220-224]. İçme suyu içerisinde %30 fruktoz verilen *Wistar* sıçanların renal MDA düzeylerinin arttığı, SOD aktivitesinin ise azaldığı saptanmıştır [155]. Diğer bir çalışmada ise içme suyu içerisinde 8 hafta boyunca %10 fruktoz verilen *Sprague Dawley* sıçanların renal MDA düzeylerinin arttığı, SOD ve GSH düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir [38]. Literatüre bakıldığında, fruktoz ile

oluşturulmuş MetS modellerinde, renal SOD, CAT ve GPx düzeylerinin genellikle azaldığı görülmektedir [138],[225],[226]. Buna rağmen fruktoz tüketimine bağlı CAT düzeylerinin değişimi ile ilgili çelişkili sonuçlar içeren çalışmalar da mevcuttur. Bir çalışmada fruktoz tüketiminin hepatik CAT düzeylerini artırdığı gösterilmiştir [227]. Benzer bir çalışmada ise fruktoz tüketimi ile hepatik ve renal CAT düzeylerinin değişmediği ifade edilmiştir [228]. Oksidan/antioksidan dengeye ilişkin çalışma sonuçlarımızı değerlendirdiğimizde, Fruk grubunda plazma MDA düzeylerinin Kontrol gruba göre anlamlı olarak arttığı, renal MDA düzeylerinin ise artış eğiliminde olduğu fakat anlamlılıkla ilişkilendirilemediği görülmektedir (Çizelge 4.3). Böbrek homojenatlarında antioksidan enzimlerden SOD1 ve SOD2 protein ve mRNA ekspresyonunun fruktoz tüketimiyle anlamlı olarak azaldığı (Şekil 4.1, 4.2, 4.5, 4.6), CAT'ın ise arttığı saptanmıştır (Şekil 4.3, 4.7). GPx protein ve mRNA ekspresyonlarının ise fruktoz tüketimiyle değişmediği tespit edilmiştir (Şekil 4.4, 4.8). MDA'in sadece plazma düzeyinde anlamlı bir artış göstermesi ve böbrek dokusunda anlamlı bir artış görülmemesi, uyguladığımız diyetin böbrek dokusunda dramatik bir hasara neden olmadığı tezimizi desteklemektedir. Öte yandan, SOD1 ve SOD2 düzeylerinin anlamlı bir şekilde azalması ise literatürle uyumludur [138],[155]. Çalışma sonuçlarımıza ilişkin paradoks ise CAT düzeylerinin artış göstermesidir. Bu farklılık, CAT'ın hücre içi yerleşimlerindeki farklılıklardan kaynaklanabilir. Çünkü CAT'ın büyük bir kısmı, elektron taşıma sistemleri yoluyla mitokondriyal primer oksidasyon reaksiyonlarına katılmasını engelleyen peroksizomlarda bulunur [229]. Fruktoz tüketimiyle CAT düzeyinin artması, peroksizomlarda oksidatif stres ile değişen biyobelirteçlere karşı gelişen kompensasyon olarak değerlendirilebilir. Fruktoz tüketimine bağlı değişen oksidan/antioksidan kapasite üzerine *L. helveticus* ve *L. plantarum* suşlarının etkileri incelendiğinde ise fruktoz tüketimiyle azalan renal SOD1 ve SOD2 protein ekspresyonunun *L. helveticus* ve *L. plantarum* verilmesiyle anlamlı olarak arttığı saptanmıştır (Şekil 4.1, 4.2). Her iki bakteri suşu renal SOD1 mRNA ekspresyonunu değiştirmezken (Şekil 4.5), *L. plantarum* verilmesiyle SOD2 mRNA düzeylerinin arttığı görülmektedir (Şekil 4.6). Fruktoz tüketimiyle artan renal CAT protein düzeyinin *L. helveticus* ve *L. plantarum* verilmesiyle anlamlı olarak azaldığı (Şekil 4.3); mRNA ekspresyonunun ise azalma eğiliminde olduğu fakat anlamlılıkla ilişkilendirilemediği tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Renal GPx düzeyleri karşılaştırıldığında ise *L. helveticus* ve *L. plantarum* uygulamasının herhangi bir

değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.4, 4.8). Diğer taraftan, *L. helveticus* ve *L. plantarum* uygulaması ile oksidatif son ürünlerden MDA düzeyinin hem böbrekte hem de plazma örneklerinde değişikliğe uğramadığı görülmektedir (Çizelge 4.3). Fruktoz tüketimiyle değişen oksidan/antioksidan dengenin ve anormalliklerin *L. helveticus* ve *L. plantarum* uygulaması ile iyileştirilmesi, tedavi açısından önemli olabilir. Bir çalışmada, *L. plantarum* içeren probiyotik tedavisinin, renal kalsiyum oksalat birikimi olan sıçanlarda idrardaki oksalat, kalsiyum, ürik asit, kreatinin ve serum ürik asit seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir [230]. Tip 1 diyabet modeli oluşturulmuş sıçanlarda probiyotik tedavisinin serum, beyin ve böbreklerde antioksidan kapasiteyi artırdığı saptanmıştır [231]. Diğer bir çalışmada, civa toksisitesi ile azalan GPx ve SOD düzeylerinin *L. plantarum* verilmesiyle arttığı gösterilmiştir [232]. Benzer bir *Lactobacilli* türevi olan *L. fermentum*'un plazma SOD, GPx ve hepatik CAT aktivitesini düzenlediği gösterilmiştir [233]. Civcivler üzerinde yapılan bir çalışmada ise probiyotik uygulamasının serum antioksidan kapasitenin artmasına neden olduğu ifade edilmiştir [234]. Diyabetik hastalar üzerinde yapılan bir klinik çalışmada ise *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium lactis* takviyesi alan hastaların eritrositlerinde SOD ve GPx aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir [235].

Çalışma sonuçlarımız literatürle karşılaştırıldığında uyum göstermektedir. Bu sonuçlar, *L. helveticus* ve *L. plantarum* uygulamalarının yüksek fruktoz diyeti ile gelişen oksidatif stres ve antioksidan kapasiteyi olumlu yönde etkileyebileceğini göstermiştir. Genel değerlendirme yaptığımızda ise bu tez çalışmasının bulguları; *L. helveticus* ve *L. plantarum* bakteri suşlarının, fruktoz diyetine bağlı gelişen metabolik bozuklukların ve renal antioksidan kapasitenin iyileştirilmesinde tedaviye yönelik bir alternatif olduğunu göstermektedir. Probiyotiklere ilişkin metabolik etkilerin moleküler düzeyde aydınlatılması için daha çok laboratuvar çalışmasına ve bulguya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

[1] McCracken, E., Monaghan, M., Sreenivasan, S., (2018). ‘’Pathophysiology of the metabolic syndrome’’, Clinics in dermatology, 36(1):14-20.

[2] Hu, G., Qiao, Q., Tuomilehto, J., Balkau, B., Borch-Johnsen, K., Pyorala, K., (2004). ‘’Prevalence of the metabolic syndrome and its relation to all-cause and cardiovascular mortality in nondiabetic European men and women’’, Archives of internal medicine, 164(10):1066-1076.

[3] Aguilar, M., Bhuket, T., Torres, S., Liu, B., Wong, R.J. (2015). ‘’Prevalence of the metabolic syndrome in the United States 2003-2012’’, Jama, 313(19):1973-1974.

[4] Engin, A., (2017). ‘’The definition and prevalence of obesity and metabolic syndrome’’, Obesity and Lipotoxicity, 1-17.

[5] Chung, M., Ma, J., Patel, K., Berger, S., Lau, J., Lichtenstein, A.H., (2014). ‘’Fructose, high-fructose corn syrup, sucrose, and nonalcoholic fatty liver disease or indexes of liver health: a systematic review and meta-analysis’’, The American journal of clinical nutrition, 100(3): 833-849.

[6] Mock, K., Lateef, S., Benedito, V.A., Tou, J.C., (2017). ‘’High-fructose corn syrup-55 consumption alters hepatic lipid metabolism and promotes triglyceride accumulation’’, The Journal of nutritional biochemistry, 39:32-39.

[7] Softic, S., Cohen, D.E., Kahn, C.R., (2016). ‘’Role of dietary fructose and hepatic de novo lipogenesis in fatty liver disease’’, Digestive diseases and sciences, 61(5): 1282-1293.

[8] Stanhope, K.L., Havel, P.J., (2008). ‘’Endocrine and metabolic effects of consuming beverages sweetened with fructose, glucose, sucrose, or high-fructose corn syrup’’, The American journal of clinical nutrition, 88(6):1733S-1737S.

[9] Das, U.N., (2015). ‘’Sucrose, fructose, glucose, and their link to metabolic syndrome and cancer’’, Nutrition, 31(1):249-257.

[10] Babacanoglu, C., Yildirim, N., Sadi, G., Pektas, M.B., Akar, F., (2013). ‘’Resveratrol prevents high-fructose corn syrup-induced vascular insulin resistance and dysfunction in rats’’, Food and chemical toxicology, 60:160-167.

[11] Chen, H.L., Tsai, T.C., Tsai, Y.C., Liao, J.W., Yen, C C., Chen, C.M., (2016). ‘’Kefir peptides prevent high-fructose corn syrup-induced non-alcoholic fatty liver disease in a murine model by modulation of inflammation and the JAK2 signaling pathway’’, Nutrition & diabetes, 6(12):e237.

[12] Pektas, M.B., Yücel, G., Koca, H.B., Sadi, G., Yıldırım, O.G., Öztürk, G., Akar, F., (2017). ‘’Dietary fructose-induced hepatic injury in male and female rats: influence of resveratrol’’, Drug research, 11(02):103-110.

[13] Lu, X.L., Zhao, C.H., Yao, X.L., Zhang, H., (2017). ‘’Quercetin attenuates high fructose feeding-induced atherosclerosis by suppressing inflammation and apoptosis via ROS-regulated PI3K/AKT signaling pathway’’, Biomedicine & Pharmacotherapy, 85:658-671

[14] Pektaş, M.B., Sadi, G., Akar, F., (2015). ‘’Long-term dietary fructose causes gender-different metabolic and vascular dysfunction in rats: modulatory effects of resveratrol’’, Cellular Physiology and Biochemistry, 37(4):1407-1420.

[15] Sadi, G., Ergin, V., Yilmaz, G., Pektas, M.B., Yildirim, O.G., Menevse, A., Akar, F., (2015). ‘’High-fructose corn syrup-induced hepatic dysfunction in rats: improving effect of resveratrol’’, European journal of nutrition, 54(6):895-904.

[16] Pektas, M.B., Koca, H.B., Sadi, G., Akar, F., (2016). ‘’Dietary fructose activates insulin signaling and inflammation in adipose tissue: Modulatory role of resveratrol’’, BioMed research international, 2016.

[17] Pasala, S., Carmody, J.B., (2017). ‘’How to use serum creatinine, cystatin C and GFR’’, Archives of Disease in Childhood-Education and Practice, 102(1):37-43.

[18] Pasala, S., Carmody, J.B., (2017). ‘’How to use serum creatinine, cystatin C and GFR’’, Archives of Disease in Childhood-Education and Practice, 102(1):37-43.

[19] Coulthard, M.G., (2016). ‘’The management of neonatal acute and chronic renal failure: a review’’, Early human development, 102:25-29.

[20] Shen, J., Yang, X., Meng, Z., Guo, C., (2016). ‘’Protodioscin ameliorates fructose-induced renal injury via inhibition of the mitogen activated protein kinase pathway’’, Phytomedicine, 23(12): 1504-1510.

[21] Shahataa, M.G., Mostafa-Hedeab, G., Ali, E.F., Mahdi, E.A., Mahmoud, F.A.E., (2016). ‘’Effects of telmisartan and pioglitazone on high fructose induced metabolic syndrome in rats’’, Canadian journal of physiology and pharmacology, 94(08):907-917.

[22] Sui, X., Church, T.S., Meriwether, R.A., Lobelo, F., Blair, S.N., (2008). ‘’Uric acid and the development of metabolic syndrome in women and men’’, Metabolism, 57(6):845-852.

[23] Johnson, R.J., Perez-Pozo, S.E., Sautin, Y.Y., Manitius, J., Sanchez-Lozada, L. G., Feig, D. I., Shafiu M., Segal M., Glassock R.J., Shimada M., Roncal C., Nakagawa T., (2009). ‘’Hypothesis: could excessive fructose intake and uric acid cause type 2 diabetes?’’, Endocrine reviews, 30(1):96-116.

[24] Nakagawa, T., Hu, H., Zharikov, S., Tuttle, K.R., Short, R.A., Glushakova, O., Ouyang X., Feig, D.I., Block, E.R., Herrera-Acosta, J., Patel, J.M., (2006). ‘’A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome’’, American Journal of Physiology-Renal Physiology, 290:625-31.

[25] Borges, R.L., Ribeiro, A. B., Zanella, M.T., Batista, M.C., (2010). ‘’Uric acid as a factor in the metabolic syndrome’’, Current hypertension reports, 12(2):113-119.

[26] Nakagawa, T., Kang, D.H., Feig, D., Sanchez-Lozada, L.G., Srinivas, T.R., Sautin, Y., Johnson, R.J., (2006). ‘’Unearthing uric acid: an ancient factor with recently found significance in renal and cardiovascular disease’’, Kidney international, 69(10):1722-1725.

[27] Mazzali, M., Hughes, J., Kim, Y.G., Jefferson, J.A., Kang, D.H., Gordon, K.L., Johnson, R.J., (2001). ‘’Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal-independent mechanism’’, Hypertension, 38(5):1101-1106.

[28] Corry, D.B., Eslami, P., Yamamoto, K., Nyby, M.D., Makino, H., Tuck, M.L., (2008). ‘’Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation and oxidative stress via the vascular renin–angiotensin system’’, Journal of hypertension, 26(2):269-275.

[29] Mazzali, M., Kanellis, J., Han, L., Feng, L., Xia, Y.Y., Chen, Q., Lan, H.Y., (2002). ‘’Hyperuricemia induces a primary renal arteriolopathy in rats by a blood pressure-independent mechanism’’, American Journal of Physiology-Renal Physiology, 282(6):F991-F997.

[30] Mosca, A., Nobili, V., De Vito, R., Crudele, A., Scorletti, E., Villani A., Alisi A., Byrne, C.D., (2017). ‘’Serum uric acid concentrations and fructose consumption are independently associated with NASH in children and adolescents’’, Journal of hepatology, 66(5):1031-1036

[31] El-Fawal, R., El Fayoumi, H.M., Mahmoud, M.F., (2018). ‘’Diosmin and crocin alleviate nephropathy in metabolic syndrome rat model: Effect on oxidative stress and low grade inflammation’’, Biomedicine & Pharmacotherapy, 102:930-937.

[32] Toyoda, K., Suzuki, Y., Muta, K., Masuyama, T., Kakimoto, K., Kobayashi, A., Shoda T., Sugai, S., (2018). ‘’High fructose diet feeding accelerates diabetic nephropathy in Spontaneously Diabetic Torii (SDT) rats’’, The Journal of toxicological sciences, 43(1):45-58.

[33] Yan, L.J., (2014). ‘’Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerance’’, Redox Biology, 2:165-169.

[34] Berlett, B.S., Stadtman, E.R., (1997). ‘’Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress’’, Journal of Biological Chemistry, 272(33):20313-20316.

[35] Shinde, A., Ganu, J., Naik, P., (2012). ‘’Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: a revie22’’, Journal of Dental and Allied Sciences, 1(2):63-66.

[36] Rosas-Villegas, A., Sánchez-Tapia, M., Avila-Nava, A., Ramírez, V., Tovar, A., Torres, N., (2017). ‘’Differential effect of sucrose and fructose in combination

with a high fat diet on intestinal microbiota and kidney oxidative stress'', Nutrients, 9(4):393.

[37] Topsakal, S., Ozmen, O., Ozgocmen, M., (2019). ''Effects of alpha-lipoic acid on high fructose induced hepatic pathology'', Biotechnic & Histochemistry, 11:1-6.

[38] Qiao Y., Xu L., Tao X., Yin L., Qi Y., Xu Y., Han X., Tang Z., Ma X., Liu K., Peng J., (2018). ''Protective effects of dioscin against fructose-induced renal damage via adjusting Sirt3-mediated oxidative stress, fibrosis, lipid metabolism and inflammation'', Toxicology letters, 284:37-45.

[39] Doğru-Abbasoğlu, S., Soluk-Tekkeşin, M., Olgaç, V., Uysal, M., (2018). ''Effect of betaine treatment on the regression of existing hepatic triglyceride accumulation and oxidative stress in rats fed on high fructose diet'', General physiology and biophysics, 37(5):563-570.

[40] Wang, S., Du, L.B., Jin, L., Wang, Z., Peng, J., Liao, N., Zhao, Y.Y., Zhang, J.L., Pauluhn, J., Hai, C.X., Wang, X., Li, W.L., (2018). ''Nano-oleanolic acid alleviates metabolic dysfunctions in rats with high fat and fructose diet'', Biomedicine & Pharmacotherapy, 108:1181-1187.

[41] Kovačević, S., Nestorov, J., Matić, G., Elaković, I., (2018). ''Chronic Stress Combined with a Fructose Diet Reduces Hypothalamic Insulin Signaling and Antioxidative Defense in Female Rats'', Neuroendocrinology.

[42] Caira, S., Iannelli, A., Sciarrillo, R., Picariello, G., Renzone, G., Scaloni, A., Addeo, P., (2017). ''Differential representation of liver proteins in obese human subjects suggests novel biomarkers and promising targets for drug development in obesity'', Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 32(1):672-682

[43] Ibitoye, O.B., Ajiboye, T.O., (2018). ''Dietary phenolic acids reverse insulin resistance, hyperglycaemia, dyslipidaemia, inflammation and oxidative stress in high-fructose diet-induced metabolic syndrome rats'', Archives of physiology and biochemistry, 124(5):410-417.

[44] Carvalho, M.M.F, Reis, L.L.T., Lopes, J.M.M., Lage, N.N., Guerra, J.F.D.C., Zago, H.P., Bonomo, L.F., Pereira, R.R., Lima, W.G., Silva, M.E., Pedrosa, M.L., (2018). ''Açai improves non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) induced by fructose'', Nutricion hospitalaria, 35(2):318-325.

[45] Boland, M.L., Oldham, S., Boland, B.B., Will, S., Lapointe, J.M., Guionaud, S., Rhodes, C.J., Trevaskis, J.L., (2018). ‘’Nonalcoholic steatohepatitis severity is defined by a failure in compensatory antioxidant capacity in the setting of mitochondrial dysfunction’’, World journal of gastroenterology, 24(16):1748-1765.

[46] Simova, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, T., Frengova, G., Spasov, Z., (2002). ‘’Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them’’, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 28(1):1-6.

[47] Billoo, A.G., Memon, M.A., Khaskheli, S.A., Murtaza, G., Iqbal, K., Shekhani, M.S., Siddiqi, A.Q., (2006). ‘’Role of a probiotic (Saccharomyces boulardii) in management and prevention of diarrhoea’’, World journal of gastroenterology: WJG, 12(28):4557-4560.

[48] Magistrelli, D., Zanchi, R., Malagutti, L., Galassi, G., Canzi, E., Rosi, F., (2016). ‘’Effects of cocoa husk feeding on the composition of swine intestinal microbiota’’, Journal of agricultural and food chemistry, 64(10):2046-2052.

[49] Kim, H.S., Park, H., Cho, I.Y., Paik, H.D., Park, E., (2006). ‘’Dietary supplementation of probiotic Bacillus polyfermenticus, Bispan strain, modulates natural killer cell and T cell subset populations and immunoglobulin G levels in human subjects’’, Journal of medicinal food, 9(3):321-327.

[50] Lee, Y.K., Salminen, S., (1995). ‘’The coming of age of probiotics’’, Trends in Food Science & Technology, 6(7):241-245.

[51] Stranahan, A.M., Norman, E.D., Lee, K., Cutler, R.G., Telljohann, R.S., Egan, J.M., Mattson, M.P., (2008). ‘’Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats’’, Hippocampus, 18(11):1085-1088.

[52] Salminen, S., Deighton, M.A., Benno, Y., Gorbach, S.L., (1998). ‘’Lactic acid bacteria in health and disease. In: Salminen S., von Wright, A. ads. Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects’’, 2nd ed., Marcel Dekker Inc., 211-254, New York.

[53] Marshall, V.M., (1993). ‘’Starter cultures for milk fermentation and their characteristics’’, International Journal of Dairy Technology, 46(2):49-56.

[54] Giraffa, G., (2014). ‘’*Lactobacillus helveticus*: importance in food and health’’, Frontiers in microbiology, 5:338.

[55] Han, K., Cao, J., Wang, J., Chen, J., Yuan, K., Pang, F., Gu S., Huo, N., (2018). ‘’Effects of *Lactobacillus helveticus* Fermentation on the Ca2+ Release and Antioxidative Properties of Sheep Bone Hydrolysate’’. Korean journal for food science of animal resources, 38(6):1144-1154.

[56] Roselino, M.N., Pauly-Silveira, N.D., Cavallini, D.C., Celiberto, L.S., Pinto, R.A., Vendramini, R.C., Rossi, E.A., (2012). ‘’A potential synbiotic product improves the lipid profile of diabetic rats’’, Lipids in health and disease, 11(1):114.

[57] Liang, S., Wang, T., Hu, X., Luo, J., Li, W., Wu, X., Duan Y., Jin, F., (2015). ‘’Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress’’, Neuroscience, 310:561-577.

[58] Lara-Villoslada, F., Olivares, M., Xaus, J., (2010). ‘’ Safety of probiotic bacteria. Bioactive foods in promoting health: probiotics and prebiotics. Edited by Watson RR and Preedy VR’’, Academic Press, 4:47-58.

[59] Leal-Sánchez, M.V., Jiménez-Díaz, R., Maldonado-Barragán, A., Garrido-Fernández, A., Ruiz-Barba, J.L., (2002). ‘’Optimization of bacteriocin production by batch fermentation of *Lactobacillus plantarum* LPCO10’’, Applied and Environmental Microbiology, 68(9):4465-4471.

[60] Yakovlieva, M., Tacheva, T., Mihaylova, S., Tropcheva, R., Trifonova, K., Tolєkova, A., Danova S., Vlaykova, T. (2015). ‘’Influence of *Lactobacillus brevis* 15 and *Lactobacillus plantarum* 13 on blood glucose and body weight in rats after high-fructose diet’’, Beneficial microbes, 6(4):505-512.

[61] Yang, X., Zhou, J., Fan, L., Qin, Z., Chen, Q., Zhao, L., (2018). ‘’Antioxidant properties of a vegetable–fruit beverage fermented with two *Lactobacillus plantarum* strains’’, Food Science and Biotechnology, 27(6):1719-1726.

[62] Huang, H.Y., Korivi, M., Tsai, C.H., Yang, J.H., Tsai, Y.C., (2013). ‘’Supplementation of *lactobacillus plantarum* K68 and fruit-vegetable ferment along with high fat-fructose diet attenuates metabolic syndrome in rats with

insulin resistance'', Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013.

[63] Park, D.Y., Ahn, Y.T., Huh, C.S., McGregor, R.A., Choi, M.S., (2013). ''Dual probiotic strains suppress high fructose-induced metabolic syndrome'', World Journal of Gastroenterology: WJG, 19(2):274.

[64] Stančáková, A., Laakso, M., (2014). ''Genetics of metabolic syndrome'', Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders, 15(4):243-252.

[65] Reaven, G.M., (1988). ''Role of insulin resistance in human disease'', Diabetes, 37(12):1595-1607.

[66] Alberti, K.G.M.M., Zimmet, P.F., (1998). ''Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation'', Diabetic medicine, 15(7):539-553.

[67] World Health Organization. Definition, Diagnosis, Classification of DiabetesMellitus and Its Complications: Report of a WHO consultation. Part 1: Diagnosisand Classification of Diabetes Mellitus (1999). World Health Organization Library, Geneva.

[68] Balkau, B., (1999). ''Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR)'', Diabet med, 16(5):442-443.

[69] Cleeman, J.I., Grundy, S.M., Becker, D., Clark, L., (2001). ''Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel (ATP III)'', Jama, 285(19):2486-2497.

[70] Alberti, K.G.M.M., Zimmet, P., Shaw, J., (2006). ''Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A consensus statement from the international diabetes federation'', Diabetic medicine, 23(5):469-480.

[71] Alberti, K.G.M.M., Eckel, R.H., Grundy, S.M., Zimmet, P.Z., Cleeman, J.I., Donato, K.A., Fruchart, J.C., James, W.P., Loria, C.M., Smith, S.C., (2009). ''Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention;

national heart, lung, and blood institute; American heart association; world heart federation; international atherosclerosis society; and international association for the study of obesity'', Circulation, 120(16):1640-1645.

[72] Hanson, R.L., Imperatore, G., Bennett, P.H., Knowler, W.C., (2002). ''Components of the "metabolic syndrome" and incidence of type 2 diabetes'', Diabetes, 51(10):3120-3127.

[73] Roberts, C.K., Hevener, A.L., Barnard, R.J., (2013). ''Metabolic syndrome and insulin resistance: underlying causes and modification by exercise training'', Comprehensive Physiology, 3(1):1-58.

[74] Strategy for Europe on nutrition, overweight and obesity related health issues implementation progress report, Directorate-General for Health & Consumers, 2010.

[75] National health and nutrition examination survey prevalence of obesity in the United States. 2012.

[76] T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (2013). Sağlıklı beslenme ve hareketli hayat programı araştırması, 2014-2017.

[77] Weng, S.F., Redsell, S.A., Swift, J.A., Yang, M., Glazebrook, C.P., (2012). ''Systematic review and meta-analyses of risk factors for childhood overweight identifiable during infancy'', Archives of disease in childhood, 97(12):1019-1026.

[78] Alsanea, S., Gao, M., Liu, D., (2017). ''Phloretin prevents high-fat diet-induced obesity and improves metabolic homeostasis'', The AAPS journal, 19(3):797-805.

[79] Nascimento, A.R., Gomes, F., Machado, M.V., Gonçalves-de-Albuquerque, C., Bousquet, P., Tibiriçá, E., (2019). ''I1-imidazoline receptor-mediated cardiovascular and metabolic effects in high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats'', Autonomic Neuroscience, 217:18-25.

[80] Veum, V.L., Laupsa-Borge, J., Eng, Ø., Rostrup, E., Larsen, T.H., Nordrehaug, J. E., Nygård O.K., Sagen J.V., Gudbrandsen O.A., Dankel S.N., Mellgren, G., (2016). ''Visceral adiposity and metabolic syndrome after very high–fat and low-fat isocaloric diets: a randomized controlled trial'', The American journal of clinical nutrition, 105(1):85-99.

[81] Kaur, H., Toop, C.R., Muhlhausler, B.S., Gentili, S., (2018). ‘’The effect of maternal intake of sucrose or high-fructose corn syrup (HFCS)-55 during gestation and lactation on lipogenic gene expression in rat offspring at 3 and 12 weeks of age’’, Journal of developmental origins of health and disease, 9(5):481-486.

[82] Geddawy, A., Hussian, M., Kamel, M.Y., Kamal, R., Ibrahim, M.A., (2017). ‘’Effects of liraglutide and vitamin E in fructose-induced metabolic syndrome in rats’’, Pharmacology, 99(1-2):48-56.

[83] Riccardi, G., Giacco, R., Rivellese, A.A., (2004). ‘’Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome’’, Clinical nutrition, 23(4):447-456.

[84] Lustig, R.H., Mulligan, K., Noworolski, S.M., Tai, V.W., Wen, M.J., Erkin-Cakmak, A., Gugliucci A., Schwarz, J.M., (2016). ‘’Isocaloric fructose restriction and metabolic improvement in children with obesity and metabolic syndrome’’, Obesity, 24(2):453-460.

[85] Pan, Y., Kong, L.D., (2018). ‘’High fructose diet-induced metabolic syndrome: pathophysiological mechanism and treatment by traditional Chinese medicine’’, Pharmacological research, 130:438-450.

[86] Hazarika, A., Kalita, H., Kalita, M.C., Devi, R., (2017). ‘’Withdrawal from high-carbohydrate, high-saturated-fat diet changes saturated fat distribution and improves hepatic low-density-lipoprotein receptor expression to ameliorate metabolic syndrome in rats’’, Nutrition, 38:95-101.

[87] DiNicolantonio, J.J., Lucan, S.C., O’Keefe, J.H., (2016). ‘’The evidence for saturated fat and for sugar related to coronary heart disease’’, Progress in cardiovascular diseases, 58(5):464-472.

[88] Asghari, G., Yuzbashian, E., Mirmiran, P., Mahmoodi, B., Azizi, F., (2015). ‘’Fast food intake increases the incidence of metabolic syndrome in children and adolescents: Tehran lipid and glucose study’’, PloS one, 10(10):e0139641.

[89] Ferramosca, A., Zara, V., (2014). ‘’Modulation of hepatic steatosis by dietary fatty acids’’, World journal of gastroenterology: WJG, 20(7):1746-1755.

[90] Wong, S.K., Chin, K.Y., Suhaimi, F.H., Ahmad, F., Ima-Nirwana, S., (2018). ‘’The effects of a modified high-carbohydrate high-fat diet on metabolic

syndrome parameters in male rats'', Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes, 126(04):205-212.

[91] Velázquez-López, L., Santiago-Díaz, G., Nava-Hernández, J., Muñoz-Torres, A.V., Medina-Bravo, P., Torres-Tamayo, M., (2014). ''Mediterranean-style diet reduces metabolic syndrome components in obese children and adolescents with obesity'', BMC pediatrics, 14(1):175.

[92] Dai, Z., Lyu, W., Xie, M., Yuan, Q., Ye, H., Hu, B., Zhou, L., Zeng, X., (2017). ''Effects of α-galactooligosaccharides from chickpeas on high-fat-diet-induced metabolic syndrome in mice'', Journal of agricultural and food chemistry, 65(15):3160-3166.

[93] Derkach, K.V., Bondareva, V.M., Trashkov, A.P., Chistyakova, O.V., Verlov, N.A., Shpakov, A.O., (2017). ''Metabolic and hormonal indices in rats with a prolonged model of the metabolic syndrome induced by a high-carbohydrate and high-fat diet'', Advances in Gerontology, 7(2):130-136.

[94] Auberval, N., Dal, S., Maillard, E., Bietiger, W., Peronet, C., Pinget, M., Schini-Kerth V., Sigrist, S., (2017). ''Beneficial effects of a red wine polyphenol extract on high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats'', European journal of nutrition, 56(4):1467-1475.

[95] Mostafa, D.K., Nasra, R.A., Zahran, N., Ghoneim, M.T., (2016). ''Pleiotropic protective effects of Vitamin D against high fat diet-induced metabolic syndrome in rats: One for all'', European journal of pharmacology, 792:38-47.

[96] Savas, H.B., Gultekin, F., (2017). ''Insulin resistance and clinical significance'', Med J SDU, 24(3):116-125.

[97] David, G.G., Shoback, D., (2009). Greenspan's Lange Temel ve Klinik Endokrinoloji, 8. Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, İstanbul, 660-667.

[98] Park, S.E., Park, C.Y., Sweeney, G., (2015). ''Biomarkers of insulin sensitivity and insulin resistance: Past, present and future'', Critical reviews in clinical laboratory sciences, 52(4):180-190.

[99] Hoffman, E.L., VonWald, T., Hansen, K., (2015). ''The metabolic syndrome''. South Dakota Medicine, 24-28.

[100] Hollenbeck, C., Reaven, G.M., (1987). ‘’Variations in insulin-stimulated glucose uptake in healthy individuals with normal glucose tolerance’’, The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 64(6):1169-1173.

[101] Almind, K., Doria, A., Kahn, C.R., (2001). ‘’Putting the genes for type II diabetes on the map’’, Nature medicine, 7(3):277-279.

[102] Solymoss, B.C., Bourassa, M.G., Lespérance, J., Levesque, S., Marcil, M., Varga, S., Campeau, L., (2003). ‘’Incidence and clinical characteristics of the metabolic syndrome in patients with coronary artery disease’’, Coronary artery disease, 14(3):207-212.

[103] Champe, P.C., Harvey, R.A., Ferrier, D.R., (2007). Biyokimya Lipincott, 3. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, 340-345, İstanbul.

[104] Yenigün, M., (2001). Her Yönüyle Diabetes Mellitus, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, 51, İstanbul.

[105] Martin, K.A., Mani, M.V., Mani, A., (2015). ‘’New targets to treat obesity and the metabolic syndrome’’, European journal of pharmacology, 763:64-74.

[106] Gluvic, Z., Zaric, B., Resanovic, I., Obradovic, M., Mitrovic, A., Radak, D., R Isenovic, E., (2017). ‘’Link between metabolic syndrome and insulin resistance’’, Current vascular pharmacology, 15(1):30-39.

[107] Park, Y.K., Yetley, E.A., (1993). ‘’Intakes and food sources of fructose in the United States’’, The American journal of clinical nutrition, 58(5):737S-747S.

[108] United States Department of Agriculture National Nutrient Database for Standard, http://ndb.nal.usda.gov.

[109] Neilson E.G.,(2007). ‘’ The fructose nation’’, Journal of the American Society of Nephrology, 18(10):2619-2621.

[110] Sánchez-Lozada, L.G., Le, M., Segal, M., Johnson, R.J., (2008). ‘’How safe is fructose for persons with or without diabetes?’’, The American Journal of Clinical Nutrition, 88(5):1189-1190.

[111] Johnson, R.K., Appel, L.J., Brands, M., Howard, B.V., Lefevre, M., Lustig, R.H., Wylie-Rosett, J., (2009). ‘’Dietary sugars intake and cardiovascular health: a

scientific statement from the American Heart Association'', Circulation, 120(11):1011-1020.

[112] World Health Organization.(2015) Guideline: sugars intake for adults and children, Geneva.

[113] Feinman, R.D., Fine, E.J., (2013). ''Fructose in perspective'', Nutrition & metabolism, 10(1):45.

[114] Ferraris, R.P., Choe, J.Y., Patel, C.R., (2018). ''Intestinal absorption of fructose'', Annual review of nutrition, 38:41-67.

[115] Geidl-Flueck, B., Gerber, P., (2017). ''Insights into the hexose liver metabolism—Glucose versus fructose'', Nutrients, 9(9):1026.

[116] Ter Horst, K.W., Serlie, M., (2017). ''Fructose consumption, lipogenesis, and non-alcoholic fatty liver disease'', Nutrients, 9(9):981.

[117] Gaby, A.R., (2005). ''Adverse effects of dietary fructose'', Alternative medicine review, 10(4):294-306.

[118] Patel, C., Douard, V., Yu, S., Gao, N., Ferraris, R.P., (2015). ''Transport, metabolism, and endosomal trafficking-dependent regulation of intestinal fructose absorption'', The FASEB Journal, 29(9):4046-4058.

[119] Astbury, S., Song, A., Zhou, M., Nielsen, B., Hoedl, A., Willing, B.P., Symonds, M.E., Bell, R.C., (2018). ''High fructose intake during pregnancy in rats influences the maternal microbiome and gut development in the offspring'', Frontiers in genetics, 9.

[120] Madero, M., Perez-Pozo, S.E., Jalal, D., Johnson, R.J., Sánchez-Lozada, L.G., (2011). ''Dietary fructose and hypertension'', Current hypertension reports, 13(1):29-35.

[121] Kretowicz, M., Johnson, R.J., Ishimoto, T., Nakagawa, T., Manitius, J., (2011). ''The impact of fructose on renal function and blood pressure'', International journal of nephrology, 2011.

[122] Curry, D.L., (1989). ''Effects of mannose and fructose on the synthesis and secretion of insulin'', Pancreas, 4(1):2-9.

[123] Adams, S.H., Stanhope, K.L., Grant, R.W., Cummings, B.P., Havel, P.J., (2008). ‘’Metabolic and endocrine profiles in response to systemic infusion of fructose and glucose in rhesus macaques’’, Endocrinology, 149(6):3002-3008.

[124] Shapiro, A., Mu, W., Roncal, C.A., Cheng, K.Y., Johnson, R.J., Scarpace, P.J., (2008). ‘’Fructose-induced leptin resistance exacerbates weight gain in response to subsequent high fat feeding’’, American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 295(5):1370-1375.

[125] Dekker, M.J., Su, Q., Baker, C., Rutledge, A.C., Adeli, K., (2010). ‘’Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome’’, American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 299(5):E685-E694.

[126] Han, T., Lan, L., Qu, R., Xu, Q., Jiang, R., Na, L., Sun, C., (2017). ‘’Temporal relationship between hyperuricemia and insulin resistance and its impact on future risk of hypertension’’, Hypertension, 70(4):703-711.

[127] Laakso, M., Kuusisto, J., (2014). ‘’Insulin resistance and hyperglycaemia in cardiovascular disease development’’, Nature Reviews Endocrinology, 10(5):293.

[128] Akar, F., Uludağ, O., Aydın, A., Aytekin, Y.A., Elbeg, S., Tuzcu, M., Sahin, K., (2012). ‘’High-fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: protective effect of resveratrol’’, Food and chemical Toxicology, 50(6):2135-2141.

[129] Wisse, B.E., (2004). ‘’The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity’’, Journal of the American society of nephrology, 15(11):2792-2800.

[130] Della Corte, K., Perrar, I., Penczynski, K., Schwingshackl, L., Herder, C., Buyken, A., (2018). ‘’Effect of dietary sugar intake on biomarkers of subclinical inflammation: A systematic review and meta-analysis of intervention studies’’, Nutrients, 10(5):606.

[131] Roglans, N., Vilà, L., Farré, M., Alegret, M., Sánchez, R.M., Vázquez-Carrera, M., Laguna, J.C., (2007). ‘’Impairment of hepatic Stat-3 activation and reduction of PPARα activity in fructose-fed rats’’, Hepatology, 45(3):778-788.

[132] Singh, A.K., Kari, J.A., (2013). ‘’Metabolic syndrome and chronic kidney disease’’, Current opinion in nephrology and hypertension, 22(2):198-203.

[133] Mallamaci, F., Leonardis, D., Tripepi, G., (2007). ‘’The metabolic syndrome and chronic kidney disease epidemics: severing the link’’, Port J Nephrol Hypert, 21(2):71-76.

[134] Gobal, F., Deshmukh, A., Shah, S., Mehta, J.L., (2011). ‘’Triad of metabolic syndrome, chronic kidney disease, and coronary heart disease with a focus on microalbuminuria: death by overeating’’, Journal of the American College of Cardiology, 57(23):2303-2308.

[135] Madani, Z., Louchami, K., Sener, A., Malaisse, W.J., Ait Yahia, D., (2012). ‘’Dietary sardine protein lowers insulin resistance, leptin and TNF-α and beneficially affects adipose tissue oxidative stress in rats with fructose-induced metabolic syndrome’’, International journal of molecular medicine, 29(2):311-318.

[136] Kang, M.W., Song, H.J., Kang, S.K., Kim, Y., Jung, S.B., Jee, S., Moon, J.Y., Suh, K.S., Lee, S.D., Jeon, B.H., Kim, C.S., (2015). ‘’Nafamostat mesilate inhibits TNF-α-Induced vascular endothelial cell dysfunction by inhibiting reactive oxygen species production’’ The Korean Journal of Physiology & Pharmacology, 19(3):229-234.

[137] Gluba, A., Mikhailidis, D.P., Lip, G.Y., Hannam, S., Rysz, J., Banach, M., (2013). ‘’Metabolic syndrome and renal disease’’, International journal of cardiology, 164(2):141-150.

[138] Sivakumar, A.S., Viswanathan, P., Anuradha, C.V., (2010). ‘’Dose-dependent effect of galangin on fructose-mediated insulin resistance and oxidative events in rat kidney’’, Redox Report, 15(5):224-232.

[139] Oraby, M.A., El-Yamany, M.F., Safar, M.M., Assaf, N., Ghoneim, H.A., (2019). ‘’Amelioration of Early Markers of Diabetic Nephropathy by Linagliptin in Fructose-Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetic Rats’’, Nephron, 1-14.

[140] Zawiasa, A., Nowicki, M., (2013). ‘’Acute effects of fructose consumption on uric acid and plasma lipids in patients with impaired renal function’’, Metabolism, 62(10):1462-1469.

[141] Scutiero, G., Iannone, P., Bernardi, G., Bonaccorsi, G., Spadaro, S., Volta, C.A., Greco, P., Nappi, L., (2017). ‘’Oxidative stress and endometriosis: a systematic review of the literature’’, Oxidative medicine and cellular longevity, 2017.

[142] Ayala, A., Muñoz, M.F., Argüelles, S., (2014). ‘’Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal’’, Oxidative medicine and cellular longevity, 2014.

[143] Redza-Dutordoir, M., Averill-Bates, D.A., (2016). ‘’Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species’’, Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 1863(12):2977-2992.

[144] Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K.V., (2003). ‘’Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review’’, Annals of botany, 91(2):179-194.

[145] Knapen, M.F., Zusterzeel, P.L., Peters, W.H., Steegers, E.A., (1999). ‘’Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction: a review’’, European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 82(2):171-184.

[146] Greenwald, R.A., (1990). ‘’Superoxide dismutase and catalase as therapeutic agents for human diseases a critical review’’, Free Radical Biology and Medicine, 8(2):201-209.

[147] Gutteridge, J.M., (1995). ‘’Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage’’, Clinical chemistry, 41(12):1819-1828.

[148] Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C., (2008). ‘’Free radicals, antioxidants in disease and health’’, International journal of biomedical science: IJBS, 4(2):89.

[149] Yoshioka, T., Fogo, A., Beckman, J.K., (1992). ‘’Reduced activity of antioxidant enzymes underlies contrast media-induced renal injury in volume depletion’’, Kidney international, 41(4):1008-1015.

[150] Paller, M.S., Hoidal, J.R., Ferris, T.F., (1984). ‘’Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat’’, The Journal of clinical investigation, 74(4):1156-1164.

[151] Baliga, R., Ueda, N., Walker, P.D., Shah, S.V., (1999). ‘’Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure’’, Drug metabolism reviews, 31(4):971-997.

[152] Soltani, Z., Rasheed, K., Kapusta, D.R., Reisin, E., (2013). ‘’Potential role of uric acid in metabolic syndrome, hypertension, kidney injury, and cardiovascular diseases: is it time for reappraisal?’’, Current hypertension reports, 15(3):175-181.

[153] Knight, J., Assimos, D.G., Easter, L., Holmes, R.P., (2010). ‘’Metabolism of fructose to oxalate and glycolate’’, Hormone and Metabolic Research, 42(12):868-873.

[154] Mikusic, N.L.R., Kouyoumdzian, N.M., Del Mauro, J.S., Cao, G., Trida, V., Gironacci, M.M., Puyó, A.M., Toblli, J.E., Fernández, B.E., Choi, M.R., (2018). ‘’Effects of chronic fructose overload on renal dopaminergic system: Alteration of urinary l-dopa/dopamine index correlates to hypertension and precedes kidney structural damage’’, The Journal of nutritional biochemistry, 51:47-55.

[155] Iskender, H., Yenice, G., Dokumacioglu, E., Hayirli, A., Sevim, C., Dokumacioglu, A., Terim Kapakin, K.A., (2018). ‘’Astaxanthin alleviates renal damage of rats on high fructose diet through modulating NFκB/SIRT1 pathway and mitigating oxidative stress’’, Archives of physiology and biochemistry, 6:1-5.

[156] Caliceti, C., Calabria, D., Roda, A., Cicero, A., (2017). ‘’Fructose intake, serum uric acid, and cardiometabolic disorders: a critical review’’, Nutrients, 9(4):395.

[157] Johnson, R.J., Segal, M.S., Sautin, Y., Nakagawa, T., Feig, D.I., Kang, D.H., Gersch, M.S., Benner, S., Sánchez-Lozada, L.G., (2007). ‘’Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease’’, The American journal of clinical nutrition, 86(4):899-906.

[158] Yokota, R., Ronchi, F.A., Fernandes, F.B., Jara, Z.P., Rosa, R.M., de Oliveira Leite, A.P., Fiorino, P., Farah, V., do Nascimento, N.R.F., Fonteles, M.C., Casarini, D.E., (2018). ‘’Intra-renal angiotensin levels are increased in high-fructose fed rats in the extracorporeal renal perfusion model’’, Frontiers in physiology, 9:1433.

[159] Gordish, K.L., Kassem, K.M., Ortiz, P.A., Beierwaltes, W.H., (2017). ‘’Moderate (20%) fructose-enriched diet stimulates salt-sensitive hypertension with increased

salt retention and decreased renal nitric oxide'', Physiological reports, 5(7):e13162.

[160] Francisqueti, F.V., Santos, K.C., Ferron, A.J., Lo, A.T., Minatel, I.O., Campos, D.H., Ferreira, A.L., Corrêa, C.R., (2016). ''Fructose: toxic effect on cardiorenal risk factors and redox state'', SAGE open medicine, 4:2050312116684294.

[161] Gu, T.T., Song, L., Chen, T.Y., Wang, X., Zhao, X.J., Ding, X.Q., Yang, Y.Z., Pan, Y., Zhang, D.M., Kong, L.D., (2017). ''Fructose downregulates miR-330 to induce renal inflammatory response and insulin signaling impairment: Attenuation by morin'', Molecular nutrition & food research, 61(8):1600760.

[162] Fan, C.Y., Wang, M.X., Ge, C.X., Wang, X., Li, J.M., Kong, L.D., (2014). ''Betaine supplementation protects against high-fructose-induced renal injury in rats'', The Journal of nutritional biochemistry, 25(3):353-362.

[163] El-Fawal, R., El Fayoumi, H.M., Mahmoud, M.F., (2018). ''Diosmin and crocin alleviate nephropathy in metabolic syndrome rat model: Effect on oxidative stress and low grade inflammation'', Biomedicine & Pharmacotherapy, 102:930-937.

[164] Prince, P.D., Lanzi, C.R., Toblli, J.E., Elesgaray, R., Oteiza, P.I., Fraga, C.G., Galleano, M., (2016). ''Dietary (–)-epicatechin mitigates oxidative stress, NO metabolism alterations, and inflammation in renal cortex from fructose-fed rats'', Free Radical Biology and Medicine, 90:35-46.

[165] Oudot, C., Lajoix, A.D., Jover, B., Rugale, C., (2013). ''Dietary sodium restriction prevents kidney damage in high fructose-fed rats'', Kidney international, 83(4):674-683.

[166] Shi, L.H., Balakrishnan, K., Thiagarajah, K., Ismail, N.I.M., Yin, O.S., (2016). ''Beneficial properties of probiotics'', Tropical life sciences research, 27(2):73-90.

[167] Raveschot, C., Cudennec, B., Coutte, F., Flahaut, C., Fremont, M., Drider, D., Dhulster, P., (2018). ''Production of bioactive peptides by Lactobacillus species: from gene to application'', Frontiers in microbiology, 9:2354.

[168] Johannsen, H., Prescott, S.L., (2009). ''Practical prebiotics, probiotics and synbiotics for allergists: how useful are they?'', Clinical & Experimental Allergy, 39(12):1801-1814.

[169] Tsai, Y.L., Lin, T.L., Chang, C.J., Wu, T.R., Lai, W.F., Lu, C.C., Lai, H.C., (2019). ‘’Probiotics, prebiotics and amelioration of diseases’’, Journal of biomedical science, 26(1):3.

[170] Feleszko, W., Jaworska, J., Rha, R.D., Steinhausen, S., Avagyan, A., Jaudszus, A., Ahrens, B., Groneberg, D.A., Wahn, U., Hamelmann, E., (2007). ‘’Probiotic-induced suppression of allergic sensitization and airway inflammation is associated with an increase of T regulatory-dependent mechanisms in a murine model of asthma’’, Clinical & Experimental Allergy, 37(4):498-505.

[171] Anukam, K.C., Hayes, K., Summers, K., Reid, G., (2009). ‘’Probiotic Lactobacillus rhamnosus GR-1 and Lactobacillus reuteri RC-14 may help downregulate TNF-Alpha, IL-6, IL-8, IL-10 and IL-12 (p70) in the neurogenic bladder of spinal cord injured patient with urinary tract infections: a two-case study’’, Advances in urology, 2009.

[172] Hsu, C.N., Lin, Y.J., Hou, C.Y., Tain, Y.L., (2018). ‘’Maternal administration of probiotic or prebiotic prevents male adult rat offspring against developmental programming of hypertension induced by high fructose consumption in pregnancy and lactation’’, Nutrients, 10(9):1229.

[173] Hsieh, F.C., Lee, C.L., Chai, C.Y., Chen, W.T., Lu, Y.C., Wu, C.S., (2013). ‘’Oral administration of Lactobacillus reuteri GMNL-263 improves insulin resistance and ameliorates hepatic steatosis in high fructose-fed rats’’, Nutrition & metabolism, 10(1):35.

[174] Melgar-Lalanne, G., Rivera-Espinoza, Y., Hernández-Sánchez, H., (2012). ‘*’Lactobacillus* plantarum: An overview with emphasis in biochemical and healthy properties. Lactobacillus: Classification, Uses and Health Implications. Pérez Campos A., Mena AL (eds)’’, Nova Publishing, 1-31, New York, USA.

[175] Todorov, S.D., Ho, P., Vaz-Velho, M., Dicks, L.M.T., (2010). ‘’Characterization of bacteriocins produced by two strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from Beloura and Chouriço, traditional pork products from Portugal’’, Meat Science, 84(3):334-343.

[176] Dellaglio, F., Bottazzi, V., Vescovo, M., (1975). ‘’Deoxyribonucleic acid homology among Lactobacillus species of the subgenus Streptobacterium Orla-

Jensen'', International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 25(2):160-172.

[177] Sharpe, M.E., (1955). ''A serological classification of lactobacilli'', Microbiology, 12(1):107-122.

[178] Knox, K.W., Wicken, A.J., (1972). ''Serological studies on the teichoic acids of *Lactobacillus plantarum''*, Infection and immunity, 6(1):43-49.

[179] Garvie, E.I., (1980). ''Bacterial lactate dehydrogenases'', Microbiological reviews, 44(1):106.

[180] Dennis, D., Kaplan, N.O., (1960). ''D-and L-lactic acid dehydrogenases in *Lactobacillus plantarum''*, Journal of Biological Chemistry, 235(3):810-818.

[181] Boone, G., David, R., Castenholz, R.W., (2001). Bergey's manual of systematic bacteriology, Springer Publishing, Chapter 6:174-185.

[182] Slattery, L., O'Callaghan, J., Fitzgerald, G.F., Beresford, T., Ross, R.P., (2010). ''Invited review: *Lactobacillus helveticus*—a thermophilic dairy starter related to gut bacteria'', Journal of dairy science, 93(10):4435-4454.

[183] Chopin, A., (1993). ''Organization and regulation of genes for amino acid biosynthesis in lactic acid bacteria'', FEMS microbiology reviews, 12(1-3):21-37.

[184] Griffiths, M.W., Tellez, A.M., (2013). '' *Lactobacillus helveticus*: the proteolytic system'', Frontiers in Microbiology, 4:30.

[185] Taverniti, V., Guglielmetti, S., (2012). ''Health-promoting properties of *Lactobacillus helveticus*'', Frontiers in microbiology, 3:392.

[186] Liu, Y.W., Liong, M.T., Tsai, Y.C., (2018). ''New perspectives of *Lactobacillus plantarum* as a probiotic: The gut-heart-brain axis'', Journal of Microbiology, 56(9):601-613.

[187] Kumar, C.S., Reddy, K.K., Reddy, A.G., Vinoth, A., Ch, S.R.C., Boobalan, G., Rao, G.S., (2015). ''Protective effect of *Lactobacillus plantarum* 21, a probiotic on trinitrobenzenesulfonic acid-induced ulcerative colitis in rats'', International immunopharmacology, 25(2):504-510.

[188] Liu, Y.W., Su, Y.W., Ong, W.K., Cheng, T.H., Tsai, Y.C., (2011). ''Oral administration of *Lactobacillus plantarum* K68 ameliorates DSS-induced

ulcerative colitis in BALB/c mice via the anti-inflammatory and immunomodulatory activities'', International immunopharmacology, 11(12):2159-2166.

[189] Jang, S.E., Han, M.J., Kim, S.Y., Kim, D.H., (2014). '' *Lactobacillus plantarum* CLP-0611 ameliorates colitis in mice by polarizing M1 to M2-like macrophages'', International immunopharmacology, 21(1):186-192.

[190] Zheng, Y., Lu, Y., Wang, J., Yang, L., Pan, C., Huang, Y., (2013). ''Probiotic properties of Lactobacillus strains isolated from Tibetan kefir grains'', PloS one, 8(7):e69868.

[191] Huang, Y., Wang, X., Wang, J., Wu, F., Sui, Y., Yang, L., Wang, Z., (2013). ''*Lactobacillus plantarum* strains as potential probiotic cultures with cholesterol-lowering activity'', Journal of dairy science, 96(5):2746-2753.

[192] Heo, W., Lee, E.S., Cho, H.T., Kim, J.H., Lee, J.H., Yoon, S.M., Kwon, H.T., Yang, S., Kim, Y.J., (2018). ''*Lactobacillus plantarum* LRCC 5273 isolated from Kimchi ameliorates diet-induced hypercholesterolemia in C57BL/6 mice'', Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 82(11):1964-1972.

[193] Salaj, R., Štofilová, J., Šoltesová, A., Hertelyová, Z., Hijová, E., Bertková, I., Strojný, L., Kružliak, P., Bomba, A., (2013). ''The effects of two *Lactobacillus plantarum* strains on rat lipid metabolism receiving a high fat diet'', The Scientific World Journal, 2013.

[194] Jeun, J., Kim, S., Cho, S.Y., Jun, H.J., Park, H.J., Seo, J.G., Chung, M.J., Lee, S.J., (2010). ''Hypocholesterolemic effects of *Lactobacillus plantarum* KCTC3928 by increased bile acid excretion in C57BL/6 mice'', Nutrition, 26(3):321-330.

[195] Ivanovic, N., Minic, R., Dimitrijevic, L., Skodric, S.R., Zivkovic, I., Djordjevic, B., (2015). ''Lactobacillus rhamnosus LA68 and *Lactobacillus plantarum* WCFS1 differently influence metabolic and immunological parameters in high fat diet-induced hypercholesterolemia and hepatic steatosis'', Food & function, 6(2):558-565.

[196] Wang, L.X., Liu, K., Gao, D.W., Hao, J.K., (2013). ‘’Protective effects of two *Lactobacillus plantarum* strains in hyperlipidemic mice’’, World Journal of Gastroenterology: WJG, 19(20):3150.

[197] Bejar, W., Hamden, K., Salah, R.B., Chouayekh, H., (2013). ‘’*Lactobacillus plantarum* TN627 significantly reduces complications of alloxan-induced diabetes in rats’’, Anaerobe, 24:4-11.

[198] Li, X., Wang, N., Yin, B., Fang, D., Jiang, T., Fang, S., Zhao, J., Zhang, H., Wang, G., Chen, W., (2016). ‘’Effects of *Lactobacillus plantarum* CCFM0236 on hyperglycaemia and insulin resistance in high-fat and streptozotocin-induced type 2 diabetic mice’’, Journal of applied microbiology, 121(6):1727-1736.

[199] Park, J.E., Oh, S.H., Cha, Y.S., (2014). ‘’*Lactobacillus plantarum* LG42 isolated from gajami sik-hae decreases body and fat pad weights in diet-induced obese mice’’, Journal of applied microbiology, 116(1):145-156.

[200] Wu, C.C., Weng, W.L., Lai, W.L., Tsai, H.P., Liu, W.H., Lee, M.H., Tsai, Y.C., (2015). ‘’Effect of *Lactobacillus plantarum* strain K21 on high-fat diet-fed obese mice’’, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015.

[201] Yu, L., Zhai, Q., Yin, R., Li, P., Tian, F., Liu, X., Zhao, J., Gong, J., Zhang, H., Chen, W., (2017). ‘’*Lactobacillus plantarum* CCFM639 alleviate trace element imbalance-related oxidative stress in liver and kidney of chronic aluminum exposure mice’’, Biological trace element research, 176(2):342-349.

[202] Kimoto-Nira, H., Suzuki, C., Kobayashi, M., Sasaki, K., Mizumachi, K. (2009). ‘’Inhibition of leukotriene B4 production in murine macrophages by lactic acid bacteria’’, International journal of food microbiology, 129(3):321-324.

[203] Wagar, L.E., Champagne, C. P., Buckley, N. D., Raymond, Y., Green-Johnson, J. M., (2009). ‘’Immunomodulatory properties of fermented soy and dairy milks prepared with lactic acid bacteria’’, Journal of food science, 74(8):M423-M430.

[204] Guglielmetti, S., Taverniti, V., Minuzzo, M., Arioli, S., Zanoni, I., Stuknyte, M., Granucci, F., Karp, M., Mora, D., (2010). ‘’A dairy bacterium displays in vitro probiotic properties for the pharyngeal mucosa by antagonizing group A streptococci and modulating the immune response’’, Infection and immunity, 78(11),:4734-4743.

[205] de LeBlanc, A.D.M., Matar, C., Farnworth, E., Perdigon, G., (2006). ‘’Study of cytokines involved in the prevention of a murine experimental breast cancer by kefir’’, Cytokine, 34(1-2):1-8.

[206] Dock-Nascimento, D.B., Junqueira, K., Aguilar-Nascimento, J.E.D., (2007). ‘’Rapid restoration of colonic goblet cells induced by a hydrolyzed diet containing probiotics in experimental malnutrition’’, Acta cirurgica brasileira, 22:72-76.

[207] Baba, H., Masuyama, A., Yoshimura, C., Aoyama, Y., Takano, T., Ohki, K., (2010). ‘’Oral intake of *Lactobacillus helveticus*-fermented milk whey decreased transepidermal water loss and prevented the onset of sodium dodecylsulfate-induced dermatitis in mice’’, Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 74(1):18-23.

[208] Romijn, A.R., Rucklidge, J.J., Kuijer, R.G., Frampton, C., (2017). ‘’A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of *Lactobacillus helveticus* and Bifidobacterium longum for the symptoms of depression’’, Australian & New Zealand Journal of Psychiatry, 51(8):810-821.

[209] Luo, J., Wang, T., Liang, S., Hu, X., Li, W., Jin, F., (2014). ‘’Ingestion of Lactobacillus strain reduces anxiety and improves cognitive function in the hyperammonemia rat’’, Science China Life Sciences, 57(3):327-335.

[210] Yamamoto, N., Akino, A., Takano, T., (1994). ‘’Antihypertensive effect of the peptides derived from casein by an extracellular proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790’’, Journal of dairy science, 77(4):917-922.

[211] Jauhiainen, T., Niittynen, L., Orešič, M., Järvenpää, S., Hiltunen, T.P., Rönnback, M., Vapaatalo, H., Korpela, R., (2012). ‘’Effects of long-term intake of lactotripeptides on cardiovascular risk factors in hypertensive subjects’’, European journal of clinical nutrition, 66(7):843-849.

[212] Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., (1951). ‘’Protein measurement with the Folin phenol reagent’’, Journal of biological chemistry, 193:265-275.

[213] Sadi, G., Güray, T., (2009). ‘’Gene expressions of Mn-SOD and GPx-1 in streptozotocin-induced diabetes: effect of antioxidants’’, Molecular and cellular biochemistry, 327(1-2):127-134.

[214] Andersson, U., Bränning, C., Ahrné, S., Molin, G., Alenfall, J., Önning, G., Nyman, M., Holm, C., (2010). ‘’Probiotics lower plasma glucose in the high-fat fed C57BL/6J mouse’’, Beneficial microbes, 1(2):189-196.

[215] Choi, I.D., Kim, S.H., Jeong, J.W., Lee, D.E., Huh, C.S., Hong, S.S., Sim, J-H., Ahn, Y.T., (2016). ‘’Triglyceride-lowering effects of two probiotics, *Lactobacillus plantarum* KY1032 and Lactobacillus curvatus HY7601, in a rat model of high-fat diet-induced hypertriglyceridemia’’, Journal of microbiology and biotechnology, 26:483-487.

[216] Martinic, A., Barouei, J., Bendiks, Z., Mishchuk, D., Heeney, D.D., Martin, R., Marco, M.L., Slupsky, C.M., (2018). ‘’Supplementation of *Lactobacillus plantarum* improves markers of metabolic dysfunction induced by a high fat diet’’, Journal of proteome research, 17(8):2790-2802.

[217] Yildirim, O.G., Sumlu, E., Aslan, E., Koca, H.B., Pektas, M.B., Sadi, G., Akar, F., (2018). ‘’High-fructose in drinking water initiates activation of inflammatory cytokines and testicular degeneration in rat’’, Toxicology mechanisms and methods, 27:1-41.

[218] Ahn, H.Y., Kim, M., Chae, J.S., Ahn, Y.T., Sim, J.H., Choi, I.D., Lee S-H., Lee, J.H., (2015). ‘’Supplementation with two probiotic strains, *Lactobacillus curvatus* HY7601 and *Lactobacillus plantarum* KY1032, reduces fasting triglycerides and enhances apolipoprotein AV levels in non-diabetic subjects with hypertriglyceridemia’’, Atherosclerosis, 241(2):649-656.

[219] Dabla, P.K., (2010). ‘’Renal function in diabetic nephropathy’’, World journal of diabetes, 1(2):48-56.

[220] Girard, A., Madani, S., Boukortt, F., Cherkaoui-Malki, M., Belleville, J., Prost, J., (2006). ‘’Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats’’, Nutrition, 22(7-8):758-766.

[221] Francini, F., Castro, M.C., Schinella, G., García, M.E., Maiztegui, B., Raschia, M.A., Gagliardino, J.J., Massa, M.L., (2010). ‘’Changes induced by a fructose-rich diet on hepatic metabolism and the antioxidant system’’, Life sciences, 86(25-26):965-971.

[222] Taleb-Dida, N., Krouf, D., Bouchenak, M., (2011). ‘’Globularia alypum aqueous extract decreases hypertriglyceridemia and ameliorates oxidative status of the muscle, kidney, and heart in rats fed a high-fructose diet’’, Nutrition Research, 31(6):488-495.

[223] Hussein, S.A., El-Hamid, O.M.A., Hemdan, H.S., (2014). ‘’Protective Effect of L-carnitine on Metabolic Disorders, Oxidative Stress, Antioxidant Status and Inflammation in a Rat Model of insulin resistance’’, International Journal of Biological Chemistry, 8(1):21-36.

[224] Abdel-Kawi, S.H., Hassanin, K.M., Hashem, K.S., (2016). ‘’The effect of high dietary fructose on the kidney of adult albino rats and the role of curcumin supplementation: A biochemical and histological study’’, Beni-suef university journal of basic and applied sciences, 5(1):52-60.

[225] Nasri, R., Abdelhedi, O., Jemil, I., Daoued, I., Hamden, K., Kallel, C., Elfeki, A., Lamri-Senhadji, M., Boualga, A., Nasri, M., Karra-Châabouni, M., (2015). ‘’Ameliorating effects of goby fish protein hydrolysates on high-fat-high-fructose diet-induced hyperglycemia, oxidative stress and deterioration of kidney function in rats’’, Chemico-biological interactions, 242:71-80.

[226] Rajasekar, P., Viswanathan, P., Anuradha, C.V., (2008). ‘’Renoprotective action of L-carnitine in fructose-induced metabolic syndrome’’, Diabetes, Obesity and Metabolism, 10(2):171-180.

[227] Nogales, F., Ojeda, M.L., Del Valle, P.M., Serrano, A., Murillo, M.L., Sánchez, O.C., (2017). ‘’Metabolic syndrome and selenium during gestation and lactation’’, European journal of nutrition, 56(2):819-830.

[228] Demirtas, C.Y., Pasaoglu, O.T., Bircan, F.S., Kantar, S., Turkozkan, N., (2015). ‘’The investigation of melatonin effect on liver antioxidant and oxidant levels in fructose-mediated metabolic syndrome model’’, European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 19(10):1915-1921.

[229] Sadi, G., Sadi, Ö., (2010). ‘’Antioxidants and regulation of antioxidant enzymes by cellular redox status’’, Turkish J Sci Rev, 3:95-107.

[230] Sasikumar, P., Gomathi, S., Anbazhagan, K., Abhishek, A., Paul, E., Vasudevan, V., Sasikumar, S., Selvam, G.S., (2014). ‘’Recombinant *Lactobacillus plantarum*

expressing and secreting heterologous oxalate decarboxylase prevents renal calcium oxalate stone deposition in experimental rats'', Journal of biomedical science, 21(1):86.

[231] Aluwong, T., Ayo, J., Kpukple, A., Oladipo, O., (2016). ''Amelioration of hyperglycaemia, oxidative stress and dyslipidaemia in alloxan-induced diabetic Wistar rats treated with probiotic and vitamin C'', Nutrients, 8(5):151.

[232] Majlesi, M., Shekarforoush, S.S., Ghaisari, H.R., Nazifi, S., Sajedianfard, J., Eskandari, M.H., (2017). ''Effect of probiotic Bacillus coagulans and *Lactobacillus plantarum* on alleviation of mercury toxicity in rat'', Probiotics and antimicrobial proteins, 9(3):300-309.

[233] Wang, A.N., Yi, X.W., Yu, H.F., Dong, B., Qiao, S.Y., (2009). ''Free radical scavenging activity of Lactobacillus fermentum in vitro and its antioxidative effect on growing–finishing pigs'', Journal of Applied Microbiology, 107(4), 1140-1148.

[234] Aluwong, T., Kawu, M., Raji, M., Dzenda, T., Govwang, F., Sinkalu, V., Ayo, J., (2013). ''Effect of yeast probiotic on growth, antioxidant enzyme activities and malondialdehyde concentration of broiler chickens'', Antioxidants, 2(4):326-339.

[235] Ejtahed, H.S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., Niafar, M., Asghari-Jafarabadi, M., Mofid, V., (2012). ''Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients'', Nutrition, 28(5):539-543.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ömer Adil KORKMAZ

Doğum Tarihi ve Yeri : 03.11.1986-Kartal

Yabancı Dili :İngilizce

E-posta :omeradilk@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Kimya	Yıldız Teknik Üniversitesi	2015
Lisans	Kimya	İstanbul Üniversitesi	2012

YAYINLARI

Makale

1. Korkmaz, O.A., Sadi, G., Kocabas, A., Yildirim, O.G., Sumlu, E., Koca, H.B., Nalbantoğlu, B., Pektas, M.B., Akar, F.,(2019). ‘’ *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus plantarum* modulate renal antioxidant status in a rat model of fructose-induced metabolic syndrome’’,doi: 10.2298/ABS190123008K Archives of Biological Sciences.

Bildiri

1. Yildirim, O.G., Korkmaz, O.A., Koca, T., Pektas, M.B., Bingol, G.O., Sumlu, E., Sadi, G., Akar, F., (2017).’’ Fructose Feeding Suppresses Insulin Signaling and Increases Inflammatory Markers in Kidney of Rats ‘’, 1st International Congress on Cancer & Ion Channels, IONCC2017, September 21-23, 2017, Sanliurfa.
2. Korkmaz, O.A., Yıldırım, O.G., Şumlu, E., Bingöl, G.Ö., Pektaş, M.B., Vurmaz, A., Akar, F., (2017). ‘’Yüksek Fruktozun Oluşturduğu Tip 2 Diyabet Modelinde; *Lactobacillus Plantarum*’un Böbrek Fonksiyon Ve İnflamasyon Göstergeleri İle Glukoz Taşıyıcıları Üzerine Etkisi’’, 24. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 17-20 Ekim 2017, Trabzon.

Proje

1. Arpadan β-glukan elde edilmesi, fonksiyonel gıda bileşeni ve doğal kıvam arttırıcı gıda katkı maddesi olarak kullanılması, TÜBİTAK 1003.
2. Yüksek Fruktozun Oluşturduğu Metabolik Sendromda *L. Plantarum* ve *L. Helveticus*’un Böbrek Fonksiyon ve Antioksidan Parametreleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi, YTÜ BAP (FDK-2018-3392).