T.C.

ALTINBAŞ ÜNİVERSİTESİ

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyomedikal Bilimler Anabilim Dalı

FARKLI DİYETLERİN KARACİĞER DOKUSU ÜZERİNDEKİ ETKİSİ: BİR ATR-FTIR ÇALIŞMASI

Nazlı EZER ÖZER

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ayça DOĞAN

İstanbul, 2022

FARKLI DİYETLERİN KARACİĞER DOKUSU ÜZERİNDEKİ ETKİSİ: BİR ATR-FTIR ÇALIŞMASI

Nazlı EZER ÖZER

Biyomedikal Bilimler Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

ALTINBAŞ ÜNİVERSİTESİ

2022

"Nazlı EZER ÖZER" tarafından hazırlanmış ve 28.02.2022 tarihinde sunulmuş "FARKLI DİYETLERİN KARACİĞER DOKUSU ÜZERİNDEKİ ETKİSİ: BİR ATR-FTIR ÇALIŞMASI" başlıklı tez Biyomedikal Bilimler Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak **oy birliği** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Feride SEVERCAN	Dr. Öğr. Üyesi Ayça DOĞAN
Eş Danışman	Danışman

Tez Savunma Sınavı Jüri Üyeleri:

Dr. Öğr. Üyesi Ayça DOĞAN	Tıp Fakültesi, Altınbaş Üniversitesi	_____
Dr. Öğr. Üyesi Şebnem GARİP USTAOĞLU	Tıp Fakültesi, Altınbaş Üniversitesi	_____
Prof. Dr. Semra ÖZDEMİR	Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa	_____

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak bütün şartları sağladığını beyan ederim.

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü kabul tarihi:

____/____/____

Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik davranışlara uygun olarak edinildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bu kuralların ve davranışların gerektirdiği şekilde, bu çalışmada, orijinal olmayan tüm materyalleri ve sonuçları tamamen alıntı yaptığımı ve referans gösterdiğimi de beyan ederim.

Nazlı EZER ÖZER

İTHAF

Bu tez çalışması boyunca gösterdiği rehberlik, sabır, teşvik ve danışmanlık için danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ayça Doğan'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması boyunca ve çalışma hayatımda öğreticiliği, yol göstericiliği ve destekleri ile her zaman yanımda olan eş danışmanım Prof. Dr. Feride Severcan'a en derin teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans sürecim boyunca gösterdikleri dostluk, destek ve yardımları için güzel kalpli çalışma arkadaşlarım Fulya Küçükcankurt'a, Zeynep Güngördü Dalar'a ve Zeynep Taner'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar arkadaşlarım Melike Nur Yangın ve Ceren Çelik'e tez yazım sürecindeki sonsuz yardım ve destekleri için teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca gösterdikleri sonsuz sevgi, destek, ilgi ve anlayışları için canım annem Nurhan Ezer'e, canım babam Savaş Ezer'e ve hayatıma girdiği andan itibaren sevgi ve desteğini esirgemeyen eşim Tolga Özer'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Onların destekleri olmadan burada olamazdım. Bu çalışmayı aileme ithaf ediyorum.

ÖNSÖZ

Bu tez, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından TÜBİTAK-3501-SBAG-118S484 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

FARKLI DİYETLERİN KARACİĞER DOKUSU ÜZERİNDEKİ ETKİSİ: BİR ATR-FTIR ÇALIŞMASI

EZER ÖZER, Nazlı

Yüksek Lisans, Biyomedikal Bilimler Anabilim Dalı, Altınbaş Üniversitesi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ayça DOĞAN

Eş Danışman: Prof. Dr. Feride SEVERCAN

Tarih: Şubat/2022

Sayfa: 70

Biyolojik sistemlerde bulunan moleküllerin karmaşık işlevlerini yerine getirebilmeleri yapılarına ve dinamik özelliklerine bağlıdır. Bu nedenle, yapı ve fonksiyon analizi ve biyomoleküllerin aralarındaki ilişkilerin incelenmesi araştırılması gereken en temel konulardan biridir. Pek çok hücre fonksiyonunun gerçekleşebilmesini sağlayan moleküller arası etkileşmelerin ve hücrelerdeki biyomoleküler yapı ve dinamik gibi fonksiyonel ilişkilerin incelenmesi hastalık oluşum mekanizmalarının açıklanabilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Özellikle yüksek enerji içerikli diyetlerin tüketiminin artması, obezite gelişiminde önemli rol almakta, tip II diyabet, dislipidemi, kardiyovasküler hastalıklar ve hipertansiyon gibi metabolik bozukluklara sebep olmaktadır. Genellikle bu klinik bozukluklar birbirini tetiklemektedirler. Obezitenin bu hastalıklarla paylaştığı ortak özelliği, vücutta insülin üretilmesine rağmen üretilen insülinin dokularda etkisini gösterememesidir. Karaciğer, enerji metabolizması ile ilgili tüm reaksiyonların kontrol edildiği organ olması nedeniyle insülin direnci oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Bu tez çalışmasında obeziteye yatkın ve insan obezite modellerine en yakın model olan inbred erkek C57BL/6J fare modellerinde yüksek yağ ve karbonhidrat içeriğine sahip diyetlerin uygulanması ile obezite gelişmesi sağlanmış ve diyete bağlı olarak karaciğer dokusunda oluşan moleküler farklılıklar, biyomoleküler yapı ve fonksiyon değişimleri Zayıflatılmış Toplam Yansıma-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) spektroskopi tekniği ile incelenmiştir. Çalışmamızın sonuçlarına göre, yüksek yağlı diyetle beslenmiş

(YYD) erkek C57BL/6J fare grubunda, doymuş lipit, lipit/protein, glikojen/protein ve kolajen miktarı anlamlı olarak artmıştır. Yüksek karbonhidratlı diyetle beslenmiş (YKD) erkek C57BL/6J fare grubunda da benzer olarak doymuş lipit, lipit/protein, glikojen/protein ve kolajen miktarı anlamlı olarak artmıştır. Kolajen integritide anlamlı azalma sadece YKD gruplarında gözlenmiştir. Ayrıca yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş fare gruplarının karaciğer dokularında membran lipitlerinin düzeninde artış ve dinamiğinde azalma meydana gelmiştir. Sonuç olarak yüksek yağ ve yüksek karbonhidrat içerikli diyetlerin karaciğer dokusunda moleküler olarak karaciğer fonksiyonlarını etkileyebilecek global değişikliklere sebep olduğu görülmüştür. Bu tez çalışması sayesinde elde edilen sonuçlar, obezite gibi metabolik bozuklukların oluşum mekanizmalarının açıklanabilmesine, erken teşhis ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesine katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelimeler: Obezite, Yüksek Yağlı Diyet, Yüksek Karbonhidratlı Diyet, Karaciğer, ATR-FTIR

ABSTRACT

EFFECT OF DIFFERENT DIETS ON LIVER TISSUE: AN ATR-FTIR STUDY

EZER ÖZER, Nazlı

M.Sc., Department of Biomedical Sciences, Altınbaş University

Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Ayça DOĞAN

Co-Supervisor: Prof. Dr. Feride SEVERCAN

Date: February/2022

Pages: 70

The ability of the biomolecules to perform complex biological tasks depends on their three-dimensional shapes and their dynamic properties. Therefore, the relationship of structure to function and examining the relationships between biomolecules is one of the most fundamental issues to be investigated. In order to identify the underlying mechanisms of disease, it is important to investigate the biomolecular interactions and structure-dynamics relationship since all of these are important factors affecting a number of cellular functions Especially, the increase in the consumption of high energy diets is one of the main factors that take a role in the generation of obesity. Clinical disorders, such as type 2 diabetes, dyslipidemia, cardiovascular diseases, and hypertension, are all basic metabolic diseases in close relation to obesity. These metabolic disorders generally trigger each other's prevalence. The common property shared by obesity and these metabolic disorders is the inability of insulin to exert its action on tissues, even though insulin is produced by the body. The liver plays a major role in the generation of insulin resistance since it is the sole organ where all reactions related to energy metabolism are controlled. In this thesis, high fat and carbohydrate diet-induced molecular alterations and differences in biomolecular structure and function are investigated in liver tissues of male inbreed C57BL/6J mice models with Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) spectroscopy technique. These mice are susceptible to obesity and generate a

model that is very similar to obesity in humans. According to the results of our study, the amount of saturated lipid, lipid/protein, glycogen/protein, and collagen increased significantly in the high-fat diet fed (YYD) male C57BL/6J mouse group. Similarly, in the high-carbohydrate diet fed (YKD) male C57BL/6J mouse group, the amount of saturated lipid, lipid/protein, glycogen/protein, and collagen increased significantly. Significant decrease of collagen integrity was observed only in YKD groups. In addition, an increase in the order of the membrane lipids and a decrease in their dynamics occurred as an indicator of lipid peroxidation that may have occurred in the liver tissues of mouse models fed with high-calorie diets. As a result, it has been observed that diets with high fat and high carbohydrate content cause molecular changes in liver tissue that may affect liver functions. The results obtained through this thesis will contribute to the explanation of the formation mechanisms of metabolic disorders such as obesity, to the development of early diagnosis, and new treatment methods.

Keywords: Obesity, High Fat Diet, High Carbohydrate Diet, Liver, ATR-FTIR

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET ..... **vii**

ABSTRACT ..... **ix**

TABLO LİSTESİ ..... **xiii**

ŞEKİL LİSTESİ ..... **xiv**

KISALTMALAR ..... **xvi**

SEMBOL LİSTESİ ..... **xviii**

1. GİRİŞ **1**

1.1. OBEZİTE NEDİR? 1

1.2. KARACİĞERİN FONKSİYONLARI 2

1.2.1. Glikoz Metabolizması 3

1.2.2. Lipit ve Kolesterol Metabolizması 4

1.2.3. Protein ve Amino Asit Metabolizması 5

1.3. OBEZİTE KARACİĞERİ NASIL ETKİLER? 5

1.4. INBRED (SOY İÇİ) HAYVANLAR 6

1.5. NEDEN C57BL/6J FARELERİNİ KULLANIYORUZ? 6

1.6. ELEKTROMANYETİK RADYASYON VE SPEKTROSKOPİ 7

1.6.1. Infrared Spektroskopinin Temeli 10

1.6.2. FTIR Spektroskopisi 12

1.6.3. FTIR Spektroskopisinin Avantajları 15

2. MATERYAL VE METOT **17**

2.1. HAYVAN DENEYLERİ 17

2.2 ATR-FTIR SPEKTROSKOPİ DENEYLERİ 18

2.2.1. ATR-FTIR Spektral Verilerin Toplanması 18

2.2.2. ATR-FTIR Spektrum Analizleri 19

Sayfa

2.2.3. İstatistiksel Analiz 20

3. BULGULAR 21

3.1. KARACİĞER DOKULARININ GENEL FTIR SPEKTRUMU VE BANT TANIMLAMASI 21

3.2. C-H TİTREŞİM BÖLGESİ VE PARMAK İZİ BÖLGELERİNDE KARACİĞER SPEKTRUMLARININ GENEL KARŞILAŞTIRMASI 24

3.3. DETAYLI SPEKTRAL ANALİZ 26

3.3.1 Karaciğer Spektrumlarının Bant Alanları ve Dalga Sayısı Değerlerinin Karşılaştırılması 26

3.3.1.1 C-H gerilme bölgesi 26

3.3.1.2 Parmak izi bölgesi 27

3.3.2 Kontrol ve Obez Farelerin Bant Alan Oranı Değerlerinin Karşılaştırılması 30

3.3.3 Kontrol ve Obez Farelerin Lipit ve Protein Bant Genişliği Değerlerinin Karşılaştırılması 36

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR 38

REFERANSLAR 49

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: DSÖ 1998 raporundan kabul edilen obezite sınıflandırmalarına ait VKİ tablosu 1

Tablo 1.2: Infrared spektrumun üç alt bölgesi..... 10

Tablo 3.1: Karaciğer dokusu IR spektrumundaki başlıca soğurmalar..... 23

Tablo 3.2: B6 erkek fare karaciğer dokularının spektrumlarında görülen bant alan değerleri arasındaki farklılıklar..... 30

Tablo 3.3: B6 erkek fare karaciğer dokularının spektrumlarında görülen bant dalga sayısı değerleri arasındaki farklılıklar. 30

Tablo 3.4: B6 erkek fare karaciğer dokularının spektrumlarında görülen bant alan oranları arasındaki farklılıklar..... 31

Tablo 3.5: B6 erkek fare karaciğer dokularının spektrumlarında görülen bant genişliği değerleri arasındaki farklılıklar. 37

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Obezite ile İlişkili Hastalıklar 2

Şekil 1.2: Elektromanyetik radyasyon 8

Şekil 1.3: Soğurmanın fiziksel temeli 9

Şekil 1.4: Heteronükleer iki atomlu molekülün dipol momentindeki değişim 11

Şekil 1.5: A. Lineer olmayan triatomik moleküllerdeki bazı moleküler titreşimlerin şematik gösterimi B. Lineer triatomik moleküllerdeki bazı moleküler titreşimlerin şematik gösterimi 12

Şekil 1.6: FTIR spektrometre bileşenleri 13

Şekil 1.7: Michelson interferemetresi tipik şeması. 14

Şekil 1.8: FTIR için kullanılan iki ana örnekleme yöntemi 15

Şekil 2.1: Arka planın ATR-FTIR spektrumu (4000-400 cm^{-1}) 19

Şekil 3.1: Kontrol diyeti (KD), yüksek karbonhidratlı (YKD) ve yüksek yağlı (YYD) diyetler ile beslenmiş B6 erkek farelerin karaciğer dokularına ait 4000-900 cm^{-1} bölgesinde Amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar 22

Şekil 3.2: Kontrol diyeti (KD), yüksek karbonhidratlı (YKD) ve yüksek yağlı (YYD) diyetler ile beslenmiş B6 erkek farelerin karaciğer dokularına ait 3000-2830 cm^{-1} frekans aralığında 3319 cm^{-1}'de konumlanan Amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar 24

Şekil 3.3: Kontrol diyeti (KD), yüksek karbonhidratlı (YKD) ve yüksek yağlı (YYD) diyetler ile beslenmiş B6 erkek farelerin karaciğer dokularına ait 1800-900 cm^{-1} frekans aralığında 3319 cm^{-1}'de konumlanan Amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar 25

Şekil 3.4: B6 erkek farelerinde; a. CH_3 antisimetrik gerilme bandı, b. CH_2 antisimetrik gerilme bandı, c. CH_2 simetrik gerilme bandı, d. CH_2 bükülme bandı, e. Amid I bandı, f. Amid II bandı, g. Kolajen bandı h. Glikojen bandı 29

Şekil 3.5: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda CH_2 antisimetrik gerilme / CH_3 antisimetrik gerilme bant alanları oranı 32

Sayfa

Şekil 3.6: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda CH_2 simetrik gerilme / (CH_2 antisimetrik gerilme + CH_2 simetrik gerilme) bant alanları oranı 32

Şekil 3.7: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda Amid I / Amid II bant alan oranı 33

Şekil 3.8: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda Amid I / (Amid I + Amid II) bant alan oranı 34

Şekil 3.9: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda (CH_2 antisimetrik gerilme + CH_2 simetrik gerilme) / (Amid I + Amid II) bant alan oranı..... 35

Şekil 3.10: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda Amid II / kolajen bant alan oranı 35

Şekil 3.11: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda C—O gerilme / (Amid I + Amid II) bant alan oranı 36

KISALTMALAR

ATR-FTIR	:	Zayıflatılmış Toplam Yansıma - Fourier Transform Infrared
ATR	:	Zayıflatılmış Toplam Yansıma
FTIR	:	Fourier Transform Infrared
IR	:	Infrared
B6	:	C57B6L/J
KD	:	Kontrol Diyeti Uygulanan Erkek Fare Grubu
YYD	:	Yüksek Yağ Diyeti Uygulanan Erkek Fare Grubu
YKD	:	Yüksek Karbonhidrat Diyeti Uygulanan Erkek Fare Grubu
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
VKİ	:	Vücut Kitle İndeksi
HMG-CoA	:	3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA
DYE	:	Dahili Yansıma Elemanı
PTFE	:	Politetrafloroetilen
NaCl	:	Sodyum Klorür
KCl	:	Potasyum Klorür
KBr	:	Potasyum Bromür
CaF_2	:	Kalsiyum Florür
BaF_2	:	Baryum Florür
NH_4Cl	:	Amonyum Klorür
NMR	:	Nükleer Manyetik Rezonans
ESR	:	Elektron Spin Rezonans
CD	:	Dairesel Dikroizm
ipITT	:	İntraperitonel İnsülin Tolerans Testi

NAFLD	:	Alkolden Bağımsız Karaciğer Yağlanması
NASH:	:	Alkolsüz Steatohepatit
PUFA	:	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
GLUT4	:	Glukoz Taşıyıcı Tip 4
BFMI	:	Berlin Obez Fare Inbred
UCP1	:	Uncoupling Protein 1
EDL	:	Extensor Digitorum Longus
STZ	:	Streptozotosin
NADPH	:	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
LDL	:	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
ALP	:	Aterojenik Lipoprotein Profili
VLDL-TG	:	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Trigliserit

SEMBOL LİSTESİ

λ	:	Dalga boyu
ν	:	Frekans
c	:	Işık hızı
h	:	Planck sabiti
E	:	Enerji

1. GİRİŞ

Bu çalışmada, yüksek yağ ve karbonhidrat içeriğine sahip diyetlerin karaciğer üzerindeki etkileri C57BL/6J fare modellerinde Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi aracılığıyla moleküler düzeyde rapor edilmiştir. Bu bölümde karaciğerin yapısal ve fonksiyonel özellikleri, obezite, yüksek yağ ve yüksek karbonhidrat içerikli diyetlerin karaciğer dokusu üzerindeki etkileri ve infrared spektroskopinin temelini içeren ayrıntılı bir ön araştırma yapılmıştır.

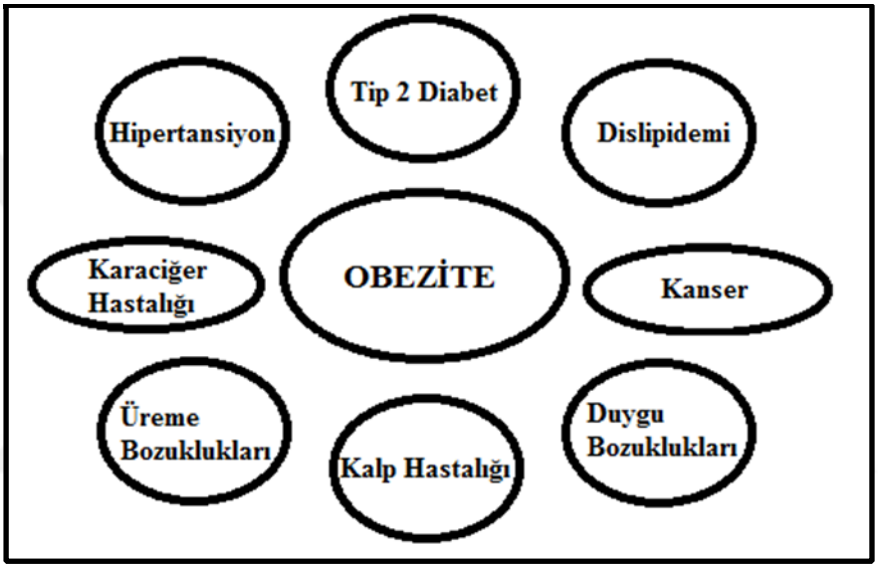
1.1. OBEZİTE NEDİR?

Obezite, enerji metabolizmasında oluşan aksaklıklar sonucu ortaya çıkan bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), dünya çapında 1 milyardan fazla yetişkinin aşırı kilolu olduğunu tahmin etmektedir. Bunların 300 milyonu klinik olarak obezdir. Kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diyabet gibi bulaşıcı olmayan hastalıklar için önemli bir risk faktörü olan obezite, DSÖ tarafından sağlığı bozabilecek aşırı yağ birikimi olarak tanımlanır ve kişinin kilogram cinsinden ağırlığının, boyunun metre cinsinden karesine (kg/m^2) bölünmesiyle elde edilen vücut kitle indeksi (VKİ) 30 kg/m^2'de teşhis edilir. Tablo 1.1'de DSÖ 2000 raporunda belirtilen obezite sınıflandırmalarına ait VKİ tablosu verilmiştir.

Tablo 1.1: DSÖ 2000 raporunda belirtilen obezite sınıflandırmalarına ait VKİ tablosu (Dünya Sağlık Örgütü [DSÖ], 2000: 9).

Ağırlık Statüleri	**Vücut Kitle İndeksi (VKİ), kg/m^2**
Zayıf	<18.5
Normal Aralık	18.5-24.9
Kilolu	25.0-29.9
Obez	≥30
*Obez Sınıf I	30.0-34.9
*Obez Sınıf II	35.0-39.9
*Obez Sınıf III	≥40

Obezitenin temel nedeni, tüketilen kaloriler ile harcanan kaloriler arasındaki uzun vadeli enerji dengesizliğidir. Son 50 yılda obezite prevalansı dünya çapında artarak pandemik seviyelere ulaşmıştır. Obezitenin; tip II diyabet, artmış insülin direnci riski, yağlı karaciğer hastalığı, hipertansiyon, miyokardiyal enfarktüs, felç, demans, osteoartrit, obstrüktif uyku apnesi ve kanser gibi çeşitli hastalıkların riskini önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiş ve bu hastalıklar şema halinde Şekil 1.1'de gösterilmiştir. Bu nedenle hem yaşam kalitesi hem de beklenen yaşam süresinde düşüşe neden olduğu için obezite büyük bir sağlık sorununu temsil etmektedir (Wree, Kahraman, Gerken, ve Canbay, 2011: 124; Blüher, 2019: 288; Liu, Shao, Lu, Zhao, Qiu, ve Liu, 2021: 1).



Şekil 1.1. Obezite ile İlişkili Hastalıklar (Kyrou, Randeva, Tsigos, Kaltsas, ve Weickert, 2018: 2000).

Vücut homeostazının bozulması sonucunda vücut yağ kitlesi artar. Özellikle abdominal bölgede toplanan yağ dokusu, insülin direnci ve karbonhidrat metabolizması bozukluğunu ortaya çıkaran nedenler arasında önemli bir rol oynamaktadır. Tip II diyabetin patofizyolojik bir öncüsü olan insülin direnci, insülinin etkisine karşı azalmış bir duyarlılık olarak tanımlanmaktadır (Liu ve diğerleri, 2021: 4). Karaciğer glikozun ilk olarak üretildiği organdır. Yağ asidi konsantrasyonunun artması hem iskelet kasında hem de karaciğerde insülin direncinin meydana gelmesine neden olmaktadır. Yağ dokusundan salgılanan hormon regülasyonunun bozulması da insülin direncine etki etmektedir (Kalan ve Yeşil, 2010: 79).

1.2. KARACİĞERİN FONKSİYONLARI

Karaciğer sayısız metabolik işleve sahip en büyük organdır. Safra üretir, proteinleri, karbonhidratları ve yağları metabolize eder, glikojen, vitaminler ve diğer maddeleri

depolar, kan pıhtılaşma faktörlerini sentezler, atıkları ve toksik maddeleri kandan uzaklaştırır, kan hacmini düzenler ve eski kırmızı kan hücrelerini yok eder. Karaciğer fonksiyonunun tamamen kaybedilmesi, dakikalar içinde ölüme yol açabilir, bu da karaciğerin taşıdığı önemi gösterir (Ozougwu, 2017: 13).

Karaciğer, metabolik homeostazın merkezi organıdır. Başlıca işlevleri şunlardır:

a. Besin maddelerinin bağırsaktan alımının ve işlenmesinin düzenlenmesi.
b. Proteinlerin, karbonhidratların ve lipitlerin sentezi ve biyotransformasyonu.
c. Safranın atılması ve hidrofobik bileşiklerin ortadan kaldırılması.
d. Enerji metabolizmasının düzenlenmesi.
e. Endokrin fonksiyonlar ve normal büyüme ve gelişmeye aracılık.
f. İmmünolojik işlev.
g. İlaç metabolizması.
h. Sıvı dengesinin düzenlenmesi (Leiskau ve Baumann, 2017: 12).

1.2.1. Glikoz Metabolizması

Karaciğerin glikozu depolama, sentezleme, metabolize etme ve salma yeteneği bir organizmanın yaşamı boyunca korunur. Beslendikten sonra, karaciğer net çıktı modundan net alım moduna geçer. Bu, glukagonda bir düşüş ve insülinde bir artış gerektirir ve glikojen depolarından ve glukoneogenezden glikoz çıkışının azalmasına neden olur. Hepatositlerde glikoliz ve glikojen birikimi artar, bu da net hepatik glukoz alımına yol açar. Glikojenik tepki, glikojen rezervlerini geri yükler. Bir organizma soğurucu (absorptive) bir durumdan açlık durumuna geçerken insülin azalır ve glukagon artar. Bu, karaciğeri glikoz deposundan glikojen parçalanması ve glukoneogenezi içeren net glikoz çıkışına kaydırır. Glikoz çıkışı dinamiktir ve vücuttaki enerji ihtiyaçlarına (örneğin beyin, iskelet kası ve bağışıklık sistemi) yanıt verir.

Gelişmiş ülkelerde artan patolojik endişelerden biri, aşırı beslenmeye karşı hepatik yanıttır. Bu patolojik yanıtın önemli bir bileşeni, tip II diyabet, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı ve kardiyovasküler hastalıklar ile yakından ilişkili olan karaciğerdeki insülin direncidir. Bu hastalık durumlarının halk sağlığı üzerine etkileri göz önüne alındığında, bu durumun işlevsel sonuçlarını anlamak önemlidir. Hepatik insülin direnci, insülinin karaciğerden net glikoz çıkışını azaltma kabiliyetinin bozulmasıyla karakterizedir. Bu, artan kan şekerine katkıda bulunur. İnsülinin hepatik glukoz çıkışı üzerindeki inhibitör etkisi kaybolurken, insülinin lipogenez üzerindeki uyarıcı etkisi korunur. İnsülinin karbonhidrat ve lipit metabolizması üzerindeki etkilerinin bu ayrışması, bir seçici insülin direnci yaratır ve

bunun da bir dizi patolojik duruma katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Hepatik insülin direncinin gelişiminde rol oynayan bir dizi faktör vardır. Bunlar, insülin reseptörünün hücre içi sinyal proteinlerine, protein seviyelerine, kinaz aktivitelerine ve bir dizi başka moleküler mekanizmaya bağlanmasını içerir. Ek olarak, insülin direnci, aşırı beslenme sırasında karaciğere artan glukoneojenik substratlar ve yağ asitleri akışı ile ilişkilidir. Bu, artan substrat akışlarının uygun moleküler kontroldeki bir eksiklikle birleştiği ve insülin direncinin birçok patolojik sonucunun ortaya çıktığı bir paradigma yaratır.

1.2.2. Lipit ve Kolesterol Metabolizması

Karaciğer, sindirim emilimi için kritik öneme sahiptir ve lipitlerin ve lipoproteinlerin alımını, sentezini, paketlenmesini ve salgılanmasını gerçekleştirir. Karaciğerin safra sentez ve salgılama sistemi, lipitin sindirimden verimli bir şekilde emilmesini sağlar. Şilomikronlar, lenfatik sistemden dolaşıma geçmeden önce bağırsakta lipoproteinlerden ve sindirilmiş lipitlerden oluşur. Yağ asitleri daha sonra karaciğerde lipoprotein lipaz ile şilomikron kalıntılarından ekstrakte edilir. Bu yağ asitleri daha sonra bir dizi taşıma proteini (örneğin yağ asidi taşıma proteinleri 2, 4 ve 5 ve CD36) yoluyla hepatositlere taşınır. Karaciğer, oksidatif yollarla yağ asitlerini iç enerji kaynağı olarak kullanabilir ancak ketojenik ürünlerden (asetoasetat ve beta hidroksibutirat) diğer organlara da enerji sağlayabilir. Enerjik bir substrat olarak ketonları sağlama yeteneği, aşırı açlık çeken veya aşırı düşük seviyelerde diyet karbonhidratları tüketen organizmalar için gereklidir. Karaciğerden ketonların salınması, trikarboksilik asit döngüsü ara ürünlerinin aşırı oluşumunu önler ve böylece oksidatif durumu koruyabilir. Beslenme zamanlarında karaciğer, vücut için lipit substratları sağlamak için de önemli bir role sahiptir. Karaciğer yağ asitlerini ve gliserolü, hepatositlerden kan dolaşımına salgılanmak üzere çok düşük yoğunluklu lipoprotein parçacıkları ile paketlenen trigliseritlerde toplayabilir. Bunlar daha sonra depolanmak, yağ dokusu veya bir enerji kaynağı olarak kullanılmak üzere iskelet kası gibi diğer organlara ulaşabilir. Karaciğerin bu lipit işleme yeteneği, bir dizi yağda çözünen vitaminin emilimi için de kritik öneme sahiptir.

Karaciğer, vücuttaki kolesterol homeostazisi için de önem taşır. Kolesterol bağırsaktan emilebilir veya karaciğerde yeniden sentezlenebilir. Kolesterol membran akışkanlığının korunması için gerekli bir moleküldür. Kolesterol eksikliği ve fazlalığı sağlığa zararlıdır. Diyetten ve de novo sentezden (yeniden birleşim) kaynaklanan aşırı kolesterol, uygun olmayan membran dinamiklerine neden olabilir ve ayrıca ateroskleroz veya kardiyovasküler hastalığa katkıda bulunan patolojik süreçleri uyarabilir. Statinler,

kolesterol üretiminde hız sınırlayıcı enzim olan HMG-CoA (3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA) redüktazı inhibe eden bir ilaç sınıfıdır. Statinin kolesterol düşürücü etkisi, kardiyovasküler hastalıklar ve aterosklerozun iyileştirilmesinde kullanılır.

1.2.3. Protein ve Amino Asit Metabolizması

Proteinlerin sentezi ve parçalanması, tüm hücresel ve organ düzeyindeki işlevler için kritik öneme sahiptir. Bununla birlikte, karaciğerdeki bu metabolik süreçlerin daha geniş etkileri vardır. Karaciğer, dolaşımdaki protein hacminin %85-90'ından sorumludur. Albümin, bu salgılanan proteinlerin en bol olanıdır ve ortalama olarak toplam plazma proteininin %55'ine katkıda bulunur. Bu protein, kan hacminin korunması için gereklidir ve lipitler ve hormonlar gibi bir dizi kritik molekülün taşınmasında taşıyıcı fonksiyonlara sahiptir. Karaciğer ayrıca akut faz proteinlerini, büyüme faktörlerini ve sistemik düzenlemede yer alan çok sayıda başka peptiti de salgılar. Ek olarak, karaciğer proteinleri parçalama ve bunları içeren amino asitleri metabolize etme konusunda yüksek bir kapasiteye sahiptir. Amino asit metabolizması hepatosit için enerji sağlayabilir, ancak azotlu atıkların atılmasını gerektirir. Karaciğer üre döngüsü bunun için iyi bir mekanizmadır. Spesifik amino asitlerin karbon iskeleti, glukoneojenik substratlar olarak hizmet etmek için trikarboksilik asit döngüsüne de dahil edilebilir. Bu, amino asitlerin iskelet kası ve bağırsak gibi dokulardan glikoza dönüştürülmesine izin verir. Glukoneojenik amino asitlerin glikoza bu dönüşümü, glikoz homeostazı ve uzun süreli açlık zamanlarında glikoza bağımlı organlara enerji sağlanması ile ilgilidir (Trefts, Gannon, ve Wasserman, 2017: 1151).

1.3. OBEZİTE KARACİĞERİ NASIL ETKİLER?

Karaciğer, iskelet kası ve yağ dokusu, vücutta insülin metabolizmasında görev alarak insülin direnci oluşumunda rol oynayan organ ve dokulardır. Karaciğer fonksiyonlarının tümü yaşamı sürdürebilmek için gereklidir (DeFronzo, Jacot, Jequier, Maeder, Wahren, ve Felber, 1981: 1004; Petersen ve Shulman, 2002: 15). Besinlerdeki lipitlerin çoğu doğrudan veya dolaylı olarak karaciğere gelirler ve metabolizma reaksiyonlarına karaciğerde işlendikten sonra katılırlar. Yüksek kalorili diyetlerin tüketilmesi durumunda olduğu gibi gelen lipit miktarının artması, karaciğerin üstesinden gelemeyeceği bir noktaya ulaştığında vücutta çeşitli anormalliklere rastlanır. Obezite gibi metabolik hastalıklar, vücuttaki lipit oranını artırdığı ve protein profilinde değişikliklere yol açtığı için, karaciğerde direkt olarak bazı bozukluklara yok açmaktadır. Bu nedenle, hastalığın etkilerinin açık olarak gözlemlenebileceği en elverişli dokulardan biri karaciğer dokusudur (Motomura, Inoue, Ohtake, Takahashi, Nagamine, Tanno, Kohgo, ve Okumura, 2006: 1115). Ayrıca, lipit ve

protein metabolizmalarında görev alan birçok enzim karaciğer dokusunda sentezlenmektedir. Vücuttaki yüksek lipit miktarının neden olabileceği enzimlerin de dahil olduğu protein bozukluklarının çalışılması için de karaciğer en önemli dokulardan biridir (Schmid, Converset, Walter, Sennitt, Leung, Byers, Ward, Hochstrasser, Cawthorne, ve Sanchez, 2004: 2276; Inoue, Ohtake, Motomura, Takahashi, Hosoki, Miyoshi, Suzuki, Saito, Kohgo, ve Okumura, 2005: 218; Motomura ve diğerleri, 2006: 1111). Ayrıca, yüksek karbonhidrat içerikli diyetlerin tüketilmesinin glukoz intoleransını tetikleyebileceği (Sumiyoshi, Sakanaka, ve Kimura, 2006: 586), hepatik steatoz ve tümöre sebep olabileceği (Ip, Liu, Ausman, Lintig, ve Wang, 2014: 1219), obezite, dislipidemi ve diyabet için risk oluşturacağı da (Gross, Li, Ford, ve Liu, 2004: 777) literatürde rapor edilmiştir. Bütün bu nedenler göz önüne alınarak, bu tez çalışmasında yüksek yağ ve karbonhidrat içerikli diyetin etkileri karaciğer dokusu üzerinde araştırılmıştır.

1.4. INBRED (SOY İÇİ) HAYVANLAR

Inbred bir soy, en az 20 ardışık nesil erkek kardeş-kız kardeş çiftleşmesi ile oluşan bir hayvan popülasyonudur. Ortaya çıkan hayvanlar, aslında genetik düzeyde birbirinin klonlarıdır. C57BL/6, BALB/c, DBA/2 ve 129/Sv gibi en yaygın olarak kullanılan türler 200'den fazla nesildir kendi içinde yetiştirilmiştir. Sürekli akrabalı yetiştirme, hemen hemen her lokusta homozigot olan genetik olarak tek tip fareler üretir. Bu durum, genetik ve fenotipik tekdüzeliğe ek olarak, fizyolojileri ve deneysel bozulmalara nasıl tepki verdikleri ile karakterize edilir. Inbred soyların kullanımı, her deney için gereken fare sayısını önemli ölçüde azaltabilir. Aynı standart akraba soyunun kullanılmasıyla, dünyadaki herhangi bir laboratuvarda yapılan deneylerden elde edilen sonuçların karşılaştırılmasında karmaşık bir faktör olan genetik değişkenliği ortadan kaldırmak mümkündür (Silver, 2001: 53).

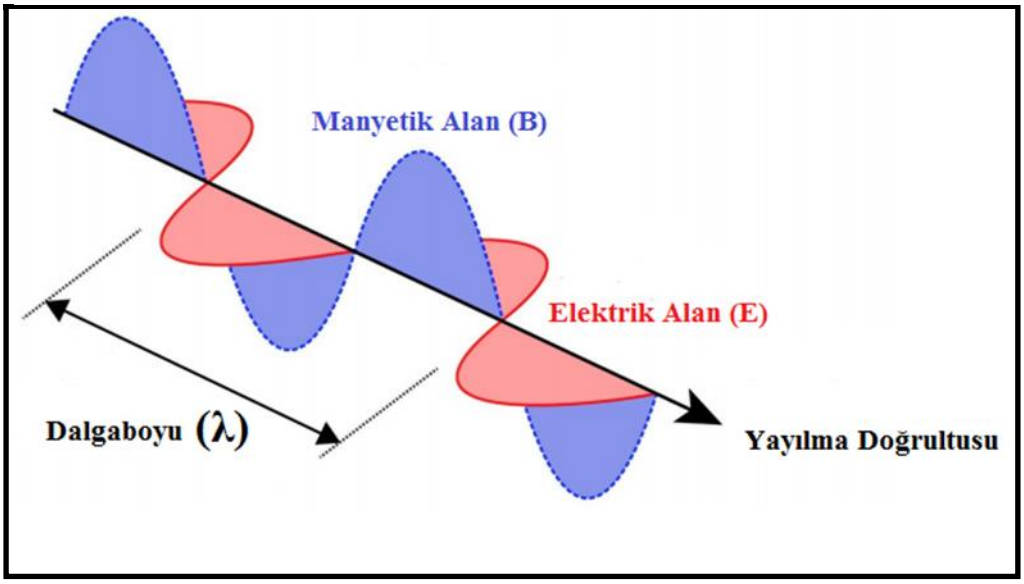
1.5. NEDEN C57BL/6J FARELERİNİ KULLANIYORUZ?

Hayvan deneyleri, yaşam biçiminden ve farklı kişisel hastalık karakteristiklerinden kaynaklanan olası değişimleri elememizi sağladıkları için hastalık ve/veya ilaç alakalı etkilerin çalışılmasında yararlı modellerdir (Nissen-Meyer, Svalheim, Taubøll, Gjerstad, Reinholt, ve Jemtland, 2008: 188). Fareler, metabolik hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli hastalık modelleri için en yaygın kullanılan laboratuvar hayvanlarından biridir. Çok sayıda mutasyona sahip olmalarından dolayı genetik çalışmalarda en çok tercih edilen tür olmuşlardır. Dünyada araştırma amacıyla yetiştirilen, inbred ve outbred (soy dışı) olmak üzere 400 farklı fare soyu bulunmaktadır.

Obezitenin oluşumunda çevresel faktörlerin etkisi kadar güçlü bir genetik temelinin olduğu da gösterilmiştir. Bu sebeple obezite, sık rastlanan, çoklu faktöriyel çevresel ve genetik faktörlerin birleşimi ile oluşan metabolik bir bozukluk olarak tanımlanmaktadır (Gedik, 2003: 1; Hotamisligil, 2003: 53, 54; Hotamisligil, 2005: 73). Nissen-Meyer ve diğerleri (2008: 188), hayvan modelleri ile yaptıkları çalışmalarında baskın olarak iki tip obeziteye rastlamışlardır. Birinci tip obezite, kemirgen suşlarda görülen obez Zucker (fa/fa) sıçanlar ve leptin eksikliği olan obez (Lepob/Lepob) farelerde farklı deney koşullarında gözlemlenebilen genetik obezitedir (Zhang, Proenca, Maffei, Barone, Leopold, ve Friedman, 1994: 431; Phillips, Liu, Hammond, Dugan, Hey, Caskey, ve Hess, 1996: 18). İkinci tip obezite ise, insanlarda görülen obeziteye daha yakın olarak çevresel ve genetik faktörlerin birleşmesi sonucunda meydana gelen obezitedir. Çevresel faktörlerin içerisinde beslenme alışkanlığı, örneğin uzun süreli olarak yüksek yağ ya da karbonhidrat içeren besinlerin tüketilmesi hem obezite hem de diyabetin oluşumuna katkısı nedeniyle birçok çalışmaya konu olmuştur. Özellikle inbred fareleri, yüksek yağ veya sükroz içeren diyetlere maruz bırakıldığında obezite, hiperglisemi ve hiperlipidemi geliştirdikleri için insan obezite modellerine en yakın hayvan modelini oluşturmaktadırlar (Koza, Nikonova, Hogan, Rim, Mendoza, Faulk, Skaf, ve Kozak, 2006: 769). Bu nedenle önerilen bu tez çalışmasında, yüksek yağ ve karbonhidrat içerikli diyetle beslenmeye bağlı olarak oluşan obezitenin çalışılması için inbred C57BL/6J fareleri kullanılmıştır.

1.6. ELEKTROMANYETİK RADYASYON VE SPEKTROSKOPİ

Elektromanyetik radyasyon, birbirine ve yayılma doğrultusuna dik açılarla salınan, elektrik ve manyetik alanlardan oluşur. Bu alanlar Şekil 1.2'de gösterildiği gibi bir sinüs dalgası olarak yayılır. Burada **E** elektrik alanı, **B** ise manyetik alanı göstermektedir (Stuart, 2004: 3).



Şekil 1.2. Elektromanyetik radyasyon (Verhoeven, 2007: 14).

Elektrik ve manyetik alan bileşenlerine sahip elektromanyetik dalgaları, frekansları ve dalgaboyları tanımlar. Dalgaboyu (λ), iki dalga tepesi arasındaki uzaklığı temsil eder. Saniyedeki titreşim sayısı (ν) frekans adını alır. Dalgaboyu ve frekansın çarpımı, bir dalganın yayılma hızını verir:

$$c = \lambda \nu \tag{1.1}$$

Burada c, vakumda ışığın hızıdır (3.0×10^8 ms^{-1}).

Elektromanyetik dalganın enerjisi Bohr denklemine göre şu şekilde verilir:

$$\Delta E = h\nu \tag{1.2}$$

Burada ν, uygulanan radyasyonun frekansı; h ise Planck sabitidir (6.6×10^{-34} Js). Infrared (IR) spektroskopisinde kullanılan dalga sayısı (cm^{-1}), bir santimetre uzunluğundaki dalgaların sayısıdır ve aşağıdaki gibi dalga boyunun tersi olarak tanımlanır:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} \tag{1.3}$$

Bu veriler Bohr denkleminde yerine yazılırsa;

$E = h\nu = hc\bar{\nu}$ elde edilir.

Bu denklemlerden, hem dalga sayısının hem de frekansın enerjiyle doğru orantılı olduğu görülür.

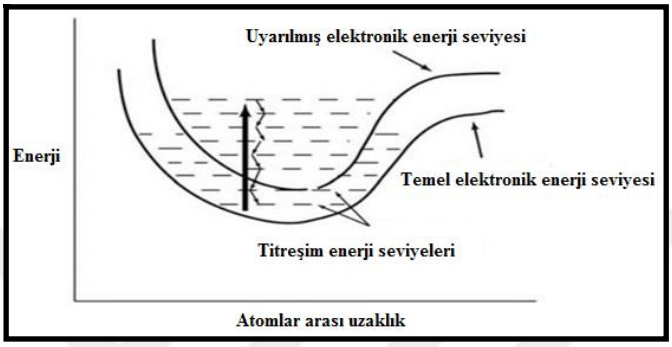
Elektromanyetik radyasyon ve madde arasındaki etkileşim, üç şekilde meydana gelir:

a. Radyasyon saçılabilir yani yayılma yönü değişir.

b. Radyasyon soğurulabilir yani enerjisi bir moleküle aktarılır.

c. Radyasyon yayılabilir yani enerji molekül tarafından serbest bırakılır.

Işığın enerjisi soğurulduğunda molekül uyarılır. Uyarılmış bir molekül, kuantum mekaniği yasaları tarafından tanımlanan bir dizi farklı enerji miktarından herhangi birine sahip olabilir. Bu miktarlara molekülün enerji seviyeleri denir. Elektronların uzaysal dağılımlarından elde edilen elektronik enerji seviyeleri, bir enerji seviyesi diyagramı ile temsil edilmektedir (Şekil 1.3). Temel durumdaki elektronlar en düşük enerji seviyesine sahiptir ve diğer tüm elektronlar uyarılmış durumdadırlar. İnce yatay çizgiler titreşimsel enerji seviyelerini temsil etmektedir.



Şekil 1.3. Soğurmanın fiziksel temeli. Bir kromoforun elektronları, ışık enerjisinin soğurulmasının bir sonucu olarak daha yüksek bir enerji seviyesine yükseltilebilir (büyük ok). Elektron çeşitli enerji düzeylerinden geçerek (küçük oklar) temel duruma döner. Elektron titreşimsel geçişe girerken açığa çıkan küçük enerji artışları, çözücü moleküllerle çarpışmalarda kaybolur ve ısı olarak görünür (Sheehan, 2009: 59).

Bir molekülün toplam enerjisi şu şekilde verilir:

$$E_{\text{toplam}} = E_{\text{öteleme}} + E_{\text{dönme}} + E_{\text{titreşim}} + E_{\text{elektronik}} + E_{\text{elektronik spin oryantasyonu}} + E_{\text{nükleer spin oryantasyonu}} \quad (1.4)$$

Denklemdeki her E, alt indisiyle belirtilen uygun enerjileri temsil eder ve bir spektroskopik teknik türüne karşılık gelir. Çözelti içinde bir molekül ötelenebilir, dönebilir ve titreşebilir.

Spektroskopi, elektromanyetik radyasyonun madde ile etkileşiminin incelenmesidir. Dalga sayısının, frekansın veya dalga boyunun bir fonksiyonu olarak soğurulan enerji miktarının grafiğine spektrum denir. Bir infrared spektrumu, çeşitli fonksiyonel grupların (örneğin metil, karbonil, amid vb.) karakteristik hareketleriyle oluşturulur. Bu fonksiyonel grupların kimyasal yapı, konformasyon ve ortamdaki herhangi bir değişikliğe duyarlılığının tespiti IR spektroskopinin ne kadar değerli bir teknik olduğunu gösterir (Arrondo, Muga, Castresana, ve Goni, 1993: 25; Stuart, 2004: 62; Küçük Baloğlu ve Severcan, 2018: 12).

1.6.1. Infrared Spektroskopinin Temeli

Infrared spektroskopi, biyomoleküllerin yapısal karakterizasyonu için çok önemli bir araç olarak kabul edilmektedir. Burada temel ilke, elektromanyetik enerjinin soğurulması sonucu moleküllerin titreşim enerji seviyeleri arasındaki geçişlerin meydana gelmesidir. IR spektroskopisinde, gelen elektromanyetik radyasyon, geçiş enerji seviyeleri arasındaki farkla eşleşir. Bu enerji, kullanacağımız orta infrared için 4000-400 cm^{-1} aralığındadır (Küçük Baloğlu ve Severcan, 2018: 12). Tablo 1.2'de infrared spektrumun üç alt bölgesi gösterilmiştir.

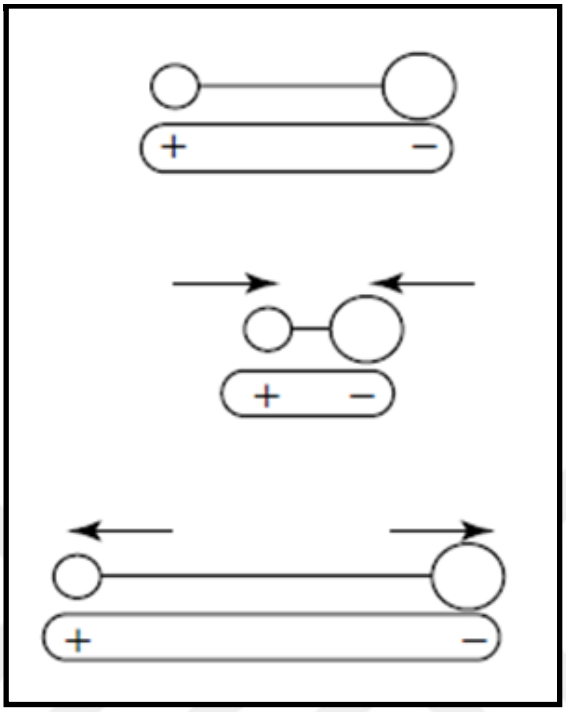
Tablo 1.2: Infrared spektrumun üç alt bölgesi (Küçük Baloğlu ve Severcan, 2018: 12).

Bölge	**Dalga sayısı aralığı (cm^{-1})**
Yakın infrared	1400-4000
Orta infrared	4000-400
Uzak infrared	400-4

Infrared ışınların madde ile etkileşimi moleküler titreşimlerle ilgilidir. Bu nedenle Raman spektroskopisi ile birlikte titreşim spektroskopisi olarak da adlandırılır. Her molekül kendine özgü titreşim özelliklerine sahiptir, bu nedenle her molekül benzersiz bir infrared veya Raman spektrumu verir. Bu durum, titreşim spektroskopisini moleküler yapının karakterizasyonunda benzersiz bir araç haline getirir. Titreşim bandının konumu, sinyal şiddeti/alanı ve genişliği gibi bazı özellikleri, farklı koşullarda belirli bir fonksiyonel grubu veya molekülü izlemek için kullanılabilir. Bu koşullar metabolik koşullar, çevresel faktörlerde değişiklikler, biyomoleküllerin moleküler bileşimini, konsantrasyonunu, yapısını ve işlevini değiştirebilen hastalıklar olabilir. Bu değişiklikler doğrudan titreşim spektral bantlarına yansıyan titreşim geçişlerini etkileyebildiği için titreşimsel spektroskopi teknikleri kullanılarak değerlendirilebilir.

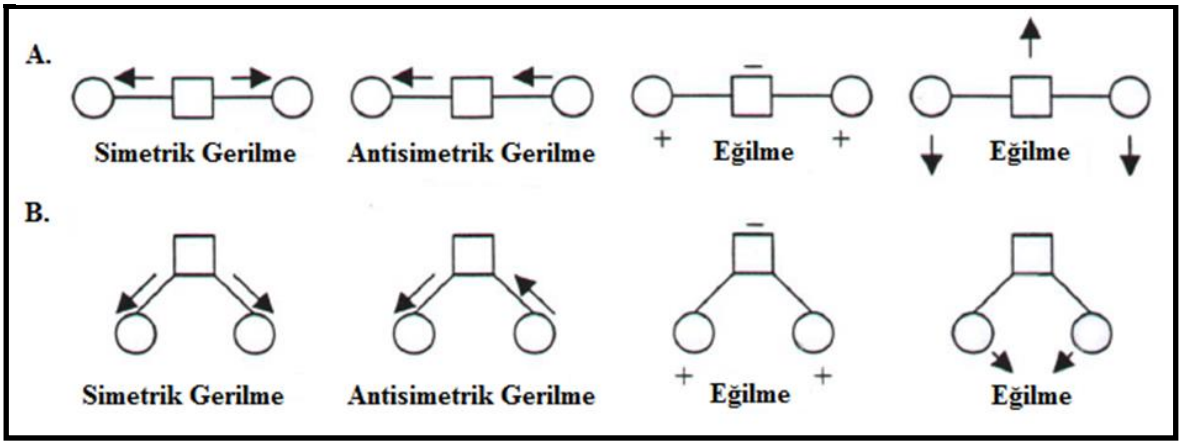
Bir molekülü oluşturan atomların titreşimi, gelen IR ışınının frekansı ile aynı frekansta salınan bir elektrik alanı ürettiğinde, moleküller infrared radyasyonunu soğururlar. Infrared radyasyonun soğurulması için molekülün dipol momentinde net bir değişme meydana gelmesi gerekir. Bu durum, infrared spektroskopi için seçim kuralıdır. Şekil 1.4, heteronükleer bir diatomik molekül olan "infrared aktif" bir molekül örneğini göstermektedir. Böyle bir molekülün dipol momenti, bağ genişledikçe ve daraldıkça değişir. Karşılaştırıldığında, "infrared-inaktif" bir molekül örneği, homonükleer bir

diatomik moleküldür, çünkü bağ ne kadar uzun olursa olsun, dipol momenti sıfır kalır. Homonükleer moleküller hariç tüm moleküller infrared ışınını soğururlar ve infrared spektrumu verirler.



Şekil 1.4: Heteronükleer iki atomlu molekülün dipol momentindeki değişim (Stuart, 2004: 6).

Moleküler titreşim türleri iki ana başlıkta toplanır. Gerilme titreşimleri, bağ uzunluğunda bir değişiklik yaratır. Uzama esnasında atomlar arasındaki mesafe artar ya da azalır. Gerilme titreşimleri simetrik veya antisimetrik olabilir. Eğilme titreşimleri ise bağ açısında bir değişikliğe neden olur ve makaslama, sallanma, salınma ve burkulma olmak üzere dört çeşittir.



Şekil 1.5: A. Lineer olmayan triatomik moleküllerdeki bazı moleküler titreşimlerin şematik gösterimi B. Lineer triatomik moleküllerdeki bazı moleküler titreşimlerin şematik gösterimi. (+) ve (–) sembolleri, sayfa düzleminden dışarı atomik yer değiştirmeyi temsil eder (Arrondo ve diğerleri, 1993: 30).

1.6.2. FTIR Spektroskopisi

Fourier Dönüşüm Infrared Spektroskopisi, infrared dalga boyunda elektromanyetik ışıma uygulanarak kimyasal bağların titreşiminin ölçülmesi prensibine dayanır (Garip, Bozoglu, ve Severcan, 2007: 186; Garip, Cetin Gozen, ve Severcan 2009: 1301; Başyiğit Kılıç ve Karahan, 2010: 446). Bu yöntemde, bir kovalent bağın titreşim enerjisine tamamen uyan enerji içeren fotonlar, titreşim sırasında molekülün dipol momentinde bir değişiklik varsa soğurulur. Infrared bölgesinde kimyasal bağların titreşimlerindeki değişim ve soğurma özellikleri spektral piklerin oluşmasını sağlar. Her fonksiyonel grup kendine özgü titreşim sıklığına sahiptir ve her infrared spektrum özgüldür (Cameron ve Charette, 1981: 224; Cakmak, Togan, ve Severcan, 2006: 54; Başyiğit Kılıç ve Karahan, 2010: 446). FTIR spektroskopisi biyolojik sistemlere zarar vermeden, örneklerin moleküler düzeyde incelenebilmesi, örnek hazırlama prosedürlerinin kolay olması ve sistemdeki bütün makromoleküllere ait bilgilerin aynı anda elde edilmesi gibi birçok avantajı olduğundan sıklıkla kullanılır. Katılar, sıvılar, çözeltiler, filmler, tozlar ve gazlar uygun analiz tekniği kullanılarak incelenebilir. Ayrıca, modern FTIR spektrometreleri, bilgisayar yazılım programları aracılığıyla yüksek çözünürlük, yüksek sinyal-gürültü oranları ve kapsamlı veri işleme olanakları sağladığı için klinik laboratuvardaki uygulamalar için de değerli bir tekniktir. FTIR spektroskopisi doku, hücre ve membran düzeyinde meydana gelen moleküler değişikliklerin tanımlanması ile hastalıkların teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Rigas, Morgello, Goldman, ve Wong, 1990: 8140; Grdadolnik, 2002: 641; Boyar, Zorlu, Mut, ve Severcan, 2004: 437; Severcan, Gorgulu, Gorgulu, ve Guray, 2005: 37; Toyran, Lasch, Naumann, Turan, ve Severcan, 2006: 428; Akkas, Severcan,

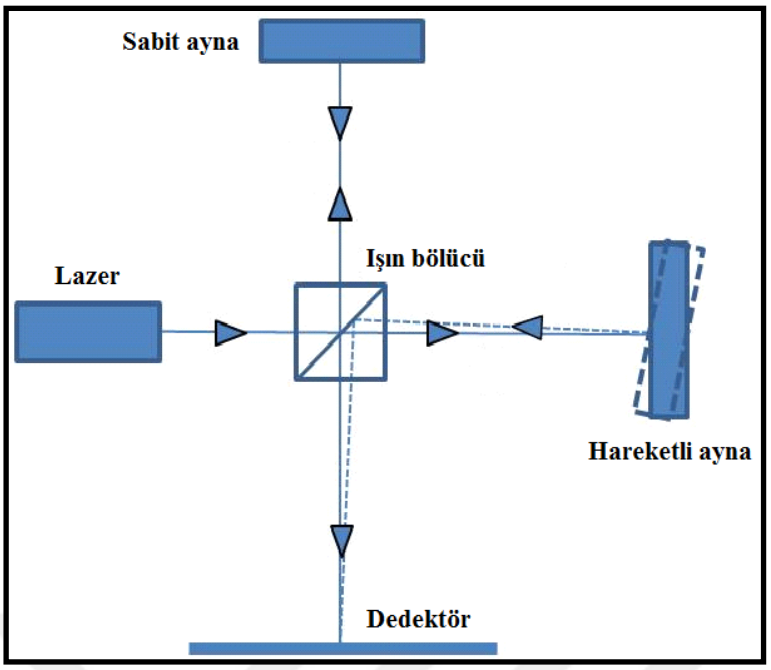
Yilmaz, ve Severcan, 2007: 1282; Dogan, Ergen, Budak, ve Severcan, 2007: 199; Sahin, Bilge, Kazanci, ve Severcan, 2013: 3; Gok, Aydın, Sural, Zorlu, Bayol, ve Severcan, 2016: 968; De Bruyne, Speeckaert, ve Delanghe, 2018: 2; Dogan, Gurbanov, Severcan, ve Severcan, 2021: 549; Garip Ustaoğlu, Kaygusuz, Bilgin, ve Severcan, 2021: 361).

Bir FTIR spektrometresinin temel bileşenleri şematik olarak Şekil 1.6'da gösterilmektedir. Kaynaktan çıkan radyasyon, detektöre ulaşmadan önce bir interferometreden numuneye geçirilir. Yüksek frekans katkılarının bir filtre ile ortadan kaldırıldığı sinyalin amplifikasyonu üzerine, veriler analogdan dijitale dönüştürücü ile dijital forma dönüştürülür ve Fourier dönüşümü için bilgisayara aktarılır.

kaynak	interferometre	örnek	dedektör	amplifikatör	analog	bilgisayar

Şekil 1.6: FTIR spektrometre bileşenleri (Stuart, 2004: 18).

FTIR spektrometresinde kullanılan en yaygın interferometre, Michelson interferometresidir (Şekil 1.7). Yarı yansıtıcı bir film olan ışın ayırıcı, biri sabit diğeri hareketli ayna düzlemlerini ikiye böler. Dalga boyu λ (cm) olan monokromatik radyasyon ideal bir ışın ayırıcıya geçirilirse, gelen radyasyonun %50'si aynalardan birine yansıtılırken %50'si diğer aynaya iletilir. İki ışın bu aynalardan yansıtılır ve yeniden birleşip ışın ayırıcıya geri döner. Hareketli ayna, interferometrenin iki kolu arasında optik yol farkı oluşturur. İki yol uzunluğu aynı ise, yol farkı nλ'ya eşit olur ve bütün frekanslar için yapıcı bir şekilde tekrar birleşirler. Eğer yol farkı (n+1/2) λ'ya eşit olursa iki ışın yıkıcı bir şekilde etkileşirler. Girişim frekansa ve aynanın hareket uzaklığına bağlı olur. İki ayna arasındaki optik yol farkının bir fonksiyonu olarak detektörün elde ettiği sinyale interferogram adı verilir (Stuart, 2004: 19; Gerwert ve Kötting, 2010: 1).

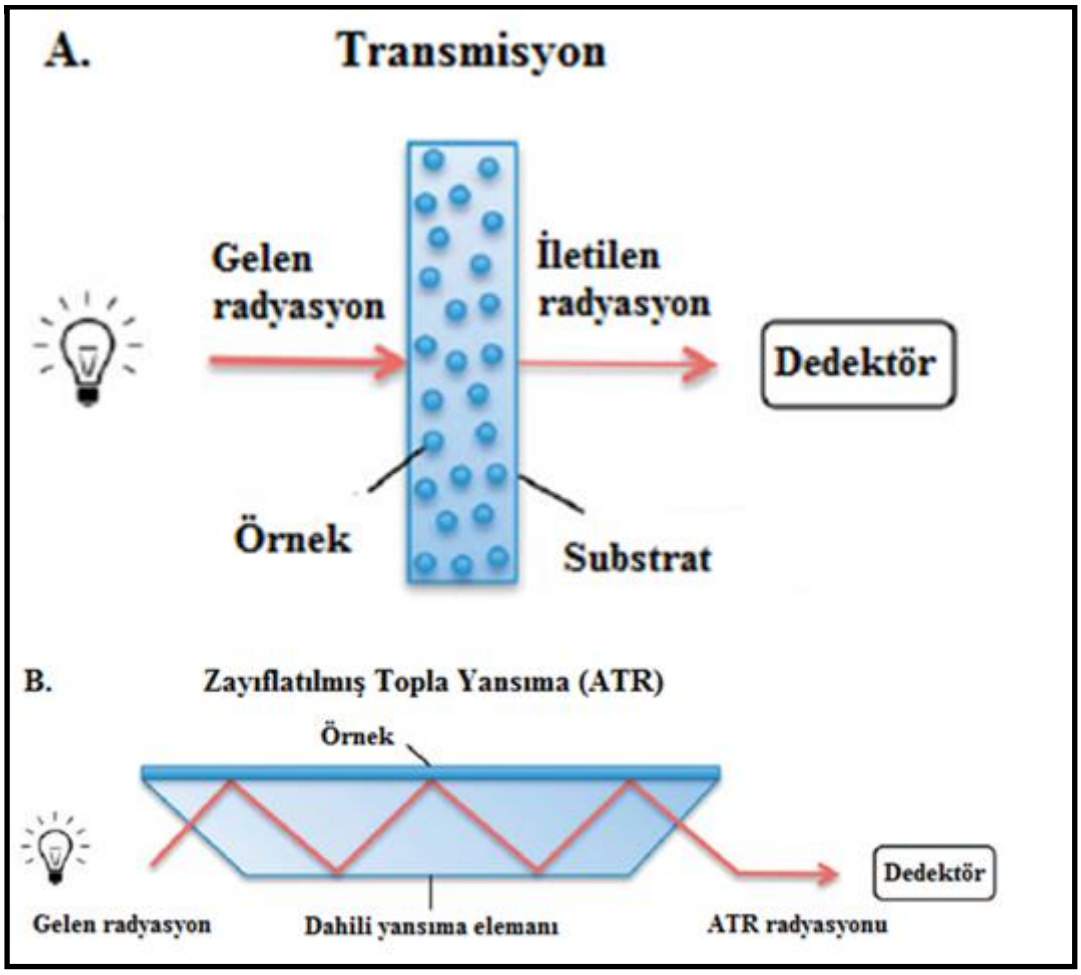


Şekil 1.7: Michelson interferometresi tipik şeması (Park, Didie, Yoshida, ve Ik Keun, 2016: 189).

FTIR spektroskopisinin iki ana örnekleme yöntemi vardır: transmisyon ve zayıflatılmış toplam yansıma (ATR) (Şekil 1.8). ATR-FTIR spektroskopisi, toplam iç yansıma ilkelerine göre çalışır. ATR modunda, infrared ışık, yüksek kırılma indisine sahip bir infrared şeffaf malzeme ile dahili yansıma elemanının (DYE) yüzeyindeki bir numune arasındaki ara yüze gönderilir. IR ışınının geliş açısı kritik açıdan daha büyük olduğu için, toplam iç yansıma meydana gelir. ATR-FTIR spektroskopisi, biyoakışkanların, kuru filmlerin, sıvı ve katı numunelerin, homojen, yumuşak ve sert dokuların çeşitli analizlerinin ölçümünde geniş uygulanabilirlik göstermiştir. Tüm numuneler, kristal üzerine küçük bir miktar yerleştirilerek ve aynı basınç uygulanarak incelenebilir. Numunelerin başka bir hazırlık yapmadan doğrudan katı veya sıvı formda incelenmesine izin verir.

Transmisyon modu, numunenin belirli dalga boylarındaki IR radyasyonunun soğurulması esasına dayanan en eski ve en basit yöntemdir. Transmisyon modunda, pencere malzemesi, yol uzunluğu ve pencere konfigürasyonunun seçimi, ilgili numune ve dalga boyu aralığına göre belirlenir. Kantitatif analiz için, numune genellikle bilinen bir yol uzunluğuna sahip bir hücrede analiz edilir. Sıvı numunelerin FTIR analizi genellikle, politetrafloroetilenden (PTFE, teflon olarak adlandırılır) yapılmış optimum kalınlıkta bir ayırıcı kullanılarak, kapalı bir sıvı hücre kullanılarak yapılır. Uçucu sıvılar için, sabit yol uzunluğundaki sızdırmaz hücreler kullanışlıdır, ancak temizlik için ayrılamaz. Pencere malzemesi, gelen

infrared radyasyona karşı şeffaf olmalıdır. En çok kullanılan malzemelerden birkaçı şu şekilde sıralanabilir: NaCl (suda çözünür, alkolde az çözünür olan en ucuz malzeme), KCl (özellikleri NaCl'ye benzer ancak daha az çözünür), KBr (hem suda hem de alkolde çözünür, mekanik ve termal şoka karşı iyi direnç gösterir), CaF_2 (suda çözünmez, asitlere ve bazlara direnç gösterir, yüksek basınçlı çalışma için yararlıdır), BaF_2 (suda çözünmez; asitlerde ve NH_4Cl'de çözünür; termal ve mekanik şoka duyarlıdır) (Stuart, 2004: 27; De Bruyne ve diğerleri, 2017: 3).



Şekil 1.8: FTIR için kullanılan iki ana örnekleme yöntemi: A. transmisyon ve B. ATR De (Bruyne ve diğerleri, 2017: 3).

1.6.3. FTIR Spektroskopisinin Avantajları

Son zamanlarda, spektroskopi biyomedikal uygulamalar için en önemli araçlardan biri haline gelmiştir. FTIR spektroskopisi, lipitler, proteinler, biyomembranlar, nükleik asitler, hayvan dokuları, mikrobiyal hücreler, bitkiler, gıda analizi, klinik örnekler ve birçok hastalığın teşhisinde başarılı bir şekilde çalışılmıştır (Severcan, Toyran, Kaptan, ve Turan, 2000: 56; Toyran, Zorlu, Dönmez, Öge, ve Severcan, 2004: 550; Severcan, Sahin, ve Kazancı, 2005: 216; Dogan ve diğerleri, 2007: 203; Shaw ve Mantsch, 2006: 1; Bozkurt,

Bilgin, ve Severcan, 2007: 152; Akkas ve diğerleri, 2007: 1281; Movasaghi, Rehman, ve Rehman, 2008: 135; Severcan, Bozkurt, Gurbanov, ve Gorgulu, 2010: 622; Bilge, Kazanci, ve Severcan, 2013: 76). Son yıllarda biyolojik çalışmalarda FTIR uygulamaları oldukça artmış ve hem klinik hem de klinik olmayan araştırmacılar tarafından ilgi görmüştür (Rigas ve Wong, 1992: 84; Wood, Quinn, Burden, ve McNaughton, 1996: 144; Paluszkiewicz ve Kwiatek, 2001: 329; Richter, Steiner, Abu-Id, Salzer, Bergmann, Rodig, ve Johannsen, 2002: 103; Andrus, 2006: 157; Movasaghi ve diğerleri, 2008: 136).

FTIR spektroskopisinin bazı avantajları şu şekilde sıralanabilir:

a. FTIR spektroskopinin ilk avantajı, neredeyse evrensel olmasıdır. Pek çok molekül infrared bölgede güçlü soğurma yapar. Katılar, sıvılar, gazlar, tozlar, polimerler, organikler, inorganikler, biyolojik malzemeler, saf maddeler ve karışımlar dahil olmak üzere birçok numune türünün infrared spektrumları ölçülebilir (Stuart, 2004: 1).
a. Fonksiyonel gruplardaki değişiklikleri eş zamanlı olarak tanımlayarak biyolojik örnekler hakkında değerli bilgiler verir. Titreşim spektrumlarındaki spektral bantlar moleküle özgüdür ve biyokimyasal bileşim hakkında doğrudan bilgi sağlar. Bu bantların çözümlemesi kolaydır ve moleküler yapıya, konformasyona ve ortama duyarlıdır (Haris ve Severcan, 1999: 208; Bozkurt ve diğerleri, 2007: 152; Garip ve diğerleri, 2007: 186).
b. FTIR spektroskopi tekniği nispeten basittir, tekrarlanabilir ve numuneye zarar vermez.
c. Küçük numune miktarları analiz etmek için yeterlidir ve in vivo çalışmalar mümkündür (Mendelsohn, Anderle, Jaworsky, Mantsch, ve Dluhy, 1984: 216).
d. FTIR spektroskopisi, NMR spektroskopisine, X-ışını kristalografisine, ESR (Elektron Spin Rezonans) ve CD (Dairesel Dikroizm) spektroskopisi gibi diğer spektroskopik tekniklere göre daha ucuzdur.
e. Hızlı ve tahribatsız bir teknik olup harici kalibrasyonlara ve ek problara ihtiyaç duyulmadan ölçüm yapılabilir.
f. Cihazların kullanımı nispeten kolaydır ve bilgisayar yazılımları ile veri işleme basittir. Ayrıca sistem, kalıcı veri depolamaya, verilerin manipülasyonuna ve nicel hesaplamalara izin verir (Stuart, 2004: 46).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. HAYVAN DENEYLERİ

Deneylerde diyetle tetiklenmiş obeziteye eğilimli erkek inbred C57BL/6J fare ırkı kullanılmıştır. Bu farelerin yetiştirilmesi, barındırılması ve vücut ağırlıklarının izlenmesi ile kandan glukoz ölçümleri Üsküdar Üniversitesi bünyesindeki hayvan evinde gerçekleştirilmiştir. Fareler beşli gruplar halinde kafeslerde tutulmuş, 12:12 saat aydınlık/karanlık döngüsünde, 22±2 °C oda sıcaklığında ve %65 nemlilikte yiyecek ve suya istedikleri zaman ulaşabilecek şekilde barındırılmıştır. Deney sırasında limitsiz yem ve su verilmiştir. Fareler her hafta tartılarak ağırlıkları kontrol edilmiş ve günlük tüketilen yem miktarı hesaplanmıştır.

Deneyler sırasında erkek inbred fareler ile üç ayrı deney grubu oluşturulmuştur:

1. Grup: Düşük yağ ve düşük karbonhidrat içerikli diyet uygulanan fare grubu (kontrol, n=6)

2. Grup: Yüksek yağ (%45 enerji sağlayan) ve düşük karbonhidrat (%35 enerji sağlayan) diyeti uygulanan fare grubu (YYD, n=8)

3. Grup: Yüksek karbonhidrat (%70 enerji sağlayan) ve düşük yağ (%10 enerji sağlayan) diyeti uygulanan fare grubu (YKD, n=7)

Deneylerde kullanılan diyetler SSniff Inc. (V1534-000, Ssniff R/M-H, Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest/Almanya) şirketinden temin edilmiştir. Birinci grup, düşük yağ ve karbonhidrat içeren diyetle beslenen farelerden oluşan kontrol grubudur. Bu gruba, düşük yağ ve karbonhidrat içerikli diyet olarak toplam kalorinin %25'i yağ, %20'si protein ve %55'i karbonhidrattan oluşan bir diyet uygulanmıştır (Ssniff S9101-E010, Almanya).

İkinci gruptaki fareler %45 oranında zararlı yağ içeren diyetle beslenmişlerdir (YYD). Bu gruba, toplam kalorinin %45'i yağ, %20'si protein ve %35'i karbonhidrattan oluşan bir diyet uygulanmıştır (Ssniff S9101-E012, Almanya).

Üçüncü gruptaki farelere %70 oranında karbonhidrat içeren diyet verilmiştir (YKD). Bu gruba, toplam kalorinin %10'u yağ, %20'si protein ve %70'i karbonhidrattan oluşan bir diyet uygulanmıştır (Ssniff S9101-E014, Almanya).

Her üç grubun da diyet içerikleri aynı olup, farklılık sadece karbonhidrat ve yağ oranlarından kaynaklanmaktadır. Bu diyetlerdeki karbonhidratlar, mısır nişastası, maltodekstrin, sükroz ve selüloz, yağlar ise diyet yağları olmayıp sığır don yağı, hindistan cevizi yağı ve soya yağını içermektedir. Diyetlerde ayrıca mineral ve vitamin içerikleri

farelerin ihtiyaçlarını temin edecek şekilde ayarlanmıştır ve gruplar arasında değişmemektedir.

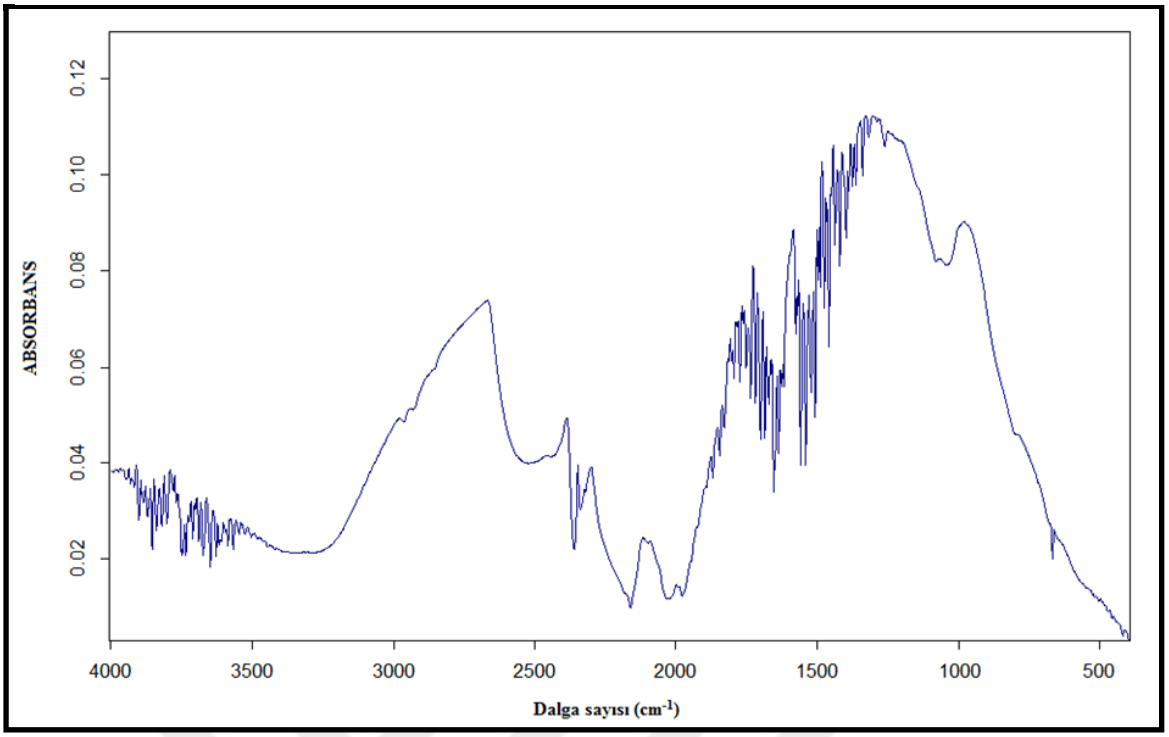
Üsküdar Üniversitesi hayvan evine getirilen fareler yerlerine alışma süresi olan bir hafta boyunca düşük yağ ve karbonhidrat içerikli kontrol grubu diyeti ile beslenmiştir. Daha sonra yüksek yağ ve karbonhidrat içerikli diyetlerin uygulamasına başlanmış ve bu uygulama altı ay süreyle devam etmiştir. Farelerin vücut ağırlıkları düzenli aralıklarla izlenmiştir, kandan glukoz ve insülin parametleri de ölçülmüştür. Kan glikoz seviyesi [mg/dl] farelerin kuyruğundan kan şekeri ölçüm cihazı ile insülin ise Eliza kiti (Mouse Serum Insulin, Millipore MADKMAG-71K-05 USA) kullanılarak ölçülmüştür. Bu amaçla fareler, dekapitasyon öncesi 6 saat aç bırakılmış, bu süre sonunda serum parametrelerinin ölçümü için kan alınmış, ardından intraperitonel insülin tolerans testi (ipITT testi) gerçekleştirilmiştir. Altıncı ayın sonunda vücut ağırlığı belirli biçimde artmış olan fareler anestezi altında dekapite edilerek karaciğer dokuları çıkarılmış ve bu örnekler deneysel çalışmalara kadar -80 ºC'de saklanmıştır.

Hayvanlarla ilgili etik izin Üsküdar Üniversitesi'nden alınmıştır (Belge No: 2017-02).

2.2 ATR-FTIR SPEKTROSKOPİ DENEYLERİ

2.2.1. ATR-FTIR Spektral Verilerin Toplanması

Karaciğer dokularına ait IR spektrumları, dokuların küçük bir miktarı hiçbir ön işlem yapılmadan ATR ünitesinin elmas kristali üzerine yerleştirilip üzerine aynı değerde basınç uygulanarak Bruker Alpha II FTIR Spektrometresi kullanılarak elde edilmiştir. Örnek çekimi öncesinde "background" yani arka plan veya arka fon çekimi yapılmış ve elde edilen spektrum bilgisayar programı aracılığıyla örnek spektrumundan matematiksel olarak çıkarılmıştır. Sözü edilen arka plan spektrumu Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1: Arka planın ATR-FTIR spektrumu (4000-400 cm^{-1}).

Karaciğer dokularının spektrumları oda sıcaklığında 4000-400 cm^{-1} aralığında kaydedilmiştir. Her spektrum, 4 cm^{-1} çözünürlükte 128 tarama ile elde edilmiştir. Örneklerden üç ayrı parça dokunun replike çekimi yapılmış ve bunların tümü aynı spektrumları vermiştir. Bu replike spektrumların ortalamaları detaylı veri analizi ve istatistiksel analizler için kullanılmıştır. Spektrum koleksiyonları ve veri manipülasyonları, Opus 5.5 yazılımı (Bruker, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her örnek için alınan üç tekrar spektrumdan ortalama spektrum hesaplanmış ve detaylı analizler için kullanılmıştır.

2.2.2. ATR-FTIR Spektrum Analizleri

FTIR spektroskopisi ile biyomoleküllerdeki (lipitler, proteinler, karbonhidratlar, kolajen, glikojen vb.) miktar, içerik ve yapısal değişiklikler izlenebilir. Bu bilgiler spektrumda yer alan bantlardan elde edilir. Bantlardaki frekans kaymaları, sinyal şiddeti ve/veya sinyal alanlarındaki değişimler ve bant genişlikleri örneğin moleküler yapı ve karakteri hakkında bilgi eldesinde kullanılır.

Karaciğer dokularının spektrumlarına ait bant alanlarının ve bant frekans değerlerinin tayinini içeren detaylı spektral analizler, örnekler üzerinde herhangi bir su çıkarma işlemi uygulanmadan normalize edilmemiş ham spektrumlar kullanılarak Opus 5.5 programı (Bruker, Almanya) ile yapılmıştır. Ortalama ham spektrumlara ön işlem olarak taban

düzleştirilmesi uygulanmıştır. Bant konumları, her bandın ağırlık merkezine karşılık gelen dalga sayısı kullanılarak ölçülmüştür. Belirli bantların bant genişliği değerleri, cm^{-1} cinsinden sinyalin 0.75x yüksekliğindeki genişlik olarak hesaplanmıştır.

FTIR spektrumunda yer alan bantlardan pek çok bilgi elde etmek mümkündür. Çeşitli bölgelerdeki bantlardaki frekans kaymaları ve sinyal şiddetlerindeki ve/veya alanlarındaki değişimler, sistemdeki çeşitli fizikokimyasal süreçler hakkında bilgi verir. Sinyal şiddeti ve/veya alan değerinin artması, ilgili grubun konsantrasyonunun artması; azalması da o grubun konsantrasyonunun azalması anlamına gelmektedir. Düzen (order), düzensizlik (disorder) parametreleri membran yapısı ve bant genişliği ise fonksiyonel bir parametredir. Örneğin CH_2 gerilme bant genişlikleri lipit dinamiği hakkında, bu bantların konumlarındaki kaymalar lipit düzeni hakkında, PO_2^- antisimetrik ve simetrik gerilim bant konumlarındaki kaymalar fosfolipitlerin kafa grupları, C=O gerilme bant konumundaki kaymalar ise bu gruplar etrafındaki hidrojen bağlarının kuvveti hakkında bilgi vermektedir. Bunlar dışında kalan bant konumlarında görülen kaymalar ise o bantların ait olduğu moleküllerdeki konformasyonel değişimleri işaret etmektedir (Cameron ve Charette, 1981: 224; Casal ve Mantsch, 1984: 382).

2.2.3. İstatistiksel Analiz

İstatiksel analiz, kontrol ve diyet grupları arasındaki değişimler ve bu değişimlerin istatistiksel anlamlılığın hesaplanması için Graphpad Prism 8.0.2.263 programı ile two-way ANOVA yöntemi (tüm grupların karşılaştırılması) ve t-test (ikili karşılaştırmalar) kullanılarak tüm gruplar kontrol gruplarına ve birbirlerine göre istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. 0,05'ten küçük p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Anlamlılık derecesi şu şekilde belirtilmiştir: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

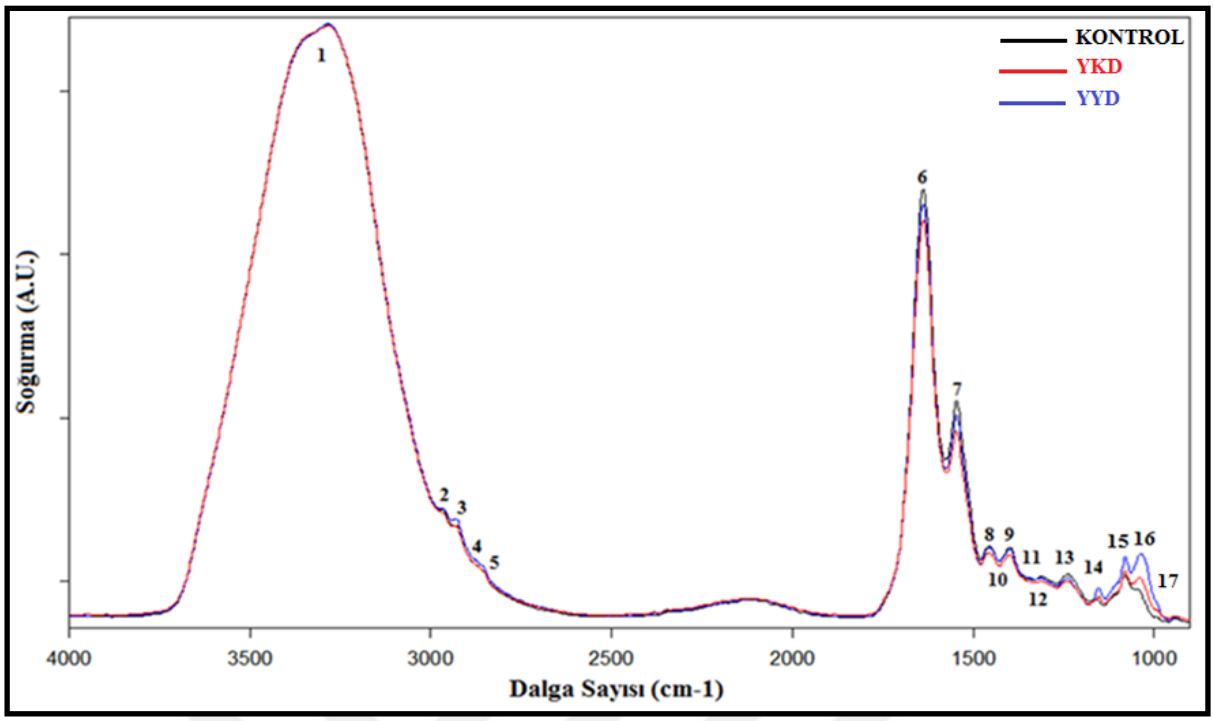
3. BULGULAR

Bu çalışma, yüksek yağ ve yüksek karbonhidrat içerikli diyetlerin meydana getirdiği obezitenin fare karaciğer dokusunun yapı ve fonksiyonu üzerindeki etkilerini FTIR spektroskopisi ile araştırmak amacıyla yapılmıştır.

3.1. KARACİĞER DOKULARININ GENEL FTIR SPEKTRUMU VE BANT TANIMLAMASI

Bu tez çalışmasında üç deney grubu; kontrol erkek C57B6L/J fare grubu (KD, n=6), zararlı yağları içeren yüksek yağ diyeti uygulanan erkek C57B6L/J fare grubu (YYD, n=8), yüksek karbonhidrat diyeti uygulanan erkek C57B6L/J fare grubu (YKD, n=7) kullanılmıştır. Toplam 21 örnek ATR-FTIR spektroskopisi ile incelenmiştir. 4000–400 cm^{-1} bölgesindeki yüksek yağlı, yüksek karbonhidratlı ve kontrol diyetleri ile beslenmiş B6 erkek farelerin karaciğer dokularının ortalama FTIR spektrumlarının soğurma bantları Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Tüm ortalama spektrumların taban çizgisi düzeltilmiş ve 3319 cm^{-1}'de konumlanan Amid A bandına göre normalize edilmiştir.

Şekil 3.1'de görüldüğü gibi, spektrum birçok banttan oluşur ve oldukça karmaşıktır. Kontrol örneklerine ait spektrumların, yüksek yağlı ve yüksek karbonhidratlı diyetle beslenen örneklere ait spektrumların birbirinden farklı olduğu görülmektedir. Bu titreşim modlarıyla ilişkili spektral değişiklikler, biyomoleküler bileşenler hakkında değerli yapısal ve konformasyonel bilgiler sağlayabildiklerinden karakteristik değere sahiplerdir (Dogan ve diğerleri, 2007: 200).



Şekil 3.1: Kontrol diyeti (KD), yüksek karbonhidratlı (YKD) ve yüksek yağlı (YYD) diyetler ile beslenmiş B6 erkek farelerin karaciğer dokularına ait 4000-900 cm^{-1} bölgesinde Amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar.

Kontrol ve yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş farelerin karaciğer dokularına ait ana bantlar şekilde etiketlenmiş ve ayrıntılı bant tanımları Tablo 3.1'de verilmiştir.

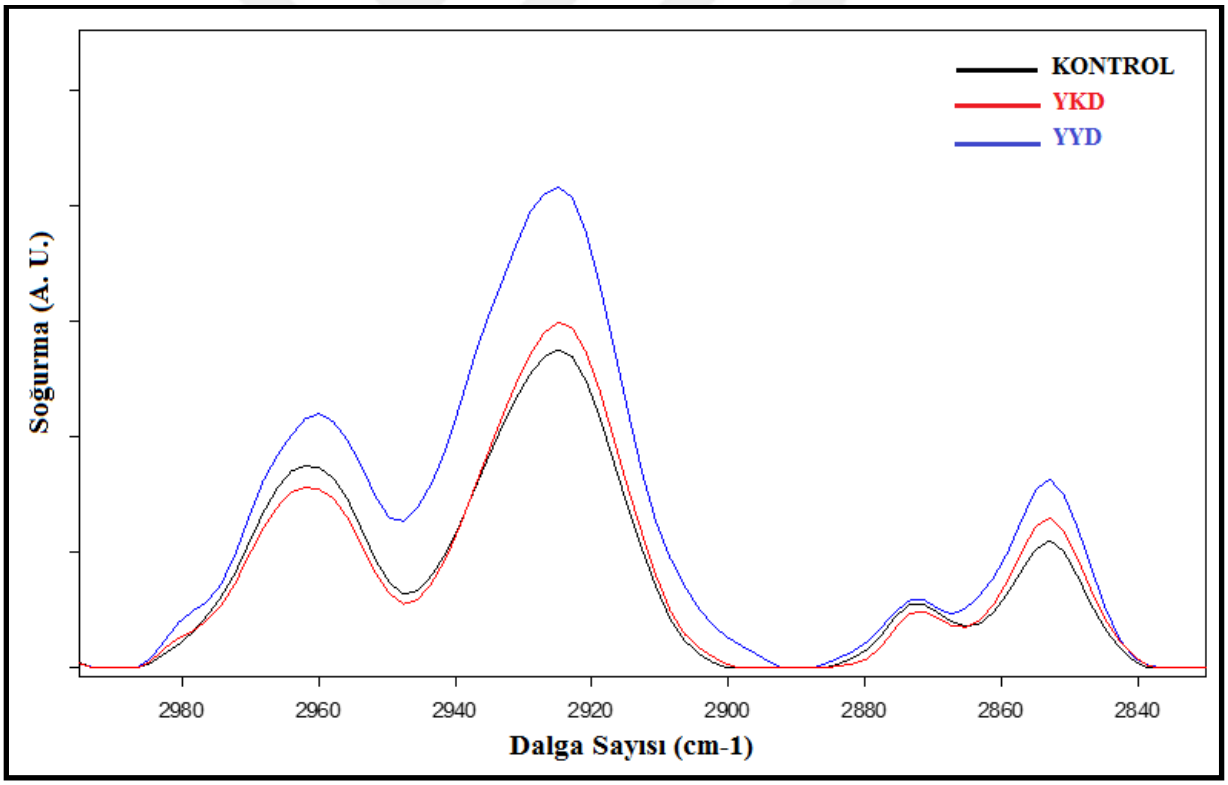
Tablo 3.1: Karaciğer dokusu IR spektrumundaki başlıca soğurmalar (Dogan, Lasch, Neuschl, Millrose, Albert, Schughart, Naumann, ve Brockmann, 2013: 12).

Bant No	**Frekans (cm^{-1})**	**Tanım**
1	3307	Amid A: N-H gerilme, protein
2	2962	CH_3 antisimetrik gerilme: lipit ve protein eşit katkı, karbonhidratlar ve nükleik asitlerden çok az katkı
3	2922	CH_2 antisimetrik gerilme: ağırlıklı olarak lipit; proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerden çok az katkı
4	2876	CH_3 simetrik gerilme: ağırlıklı olarak protein
5	2855	CH_2 simetrik gerilme: ağırlıklı olarak lipit; proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerden çok az katkı
6	1638	Amid I: protein (C=O gerilme)
7	1540	Amid II: protein (N-H bükülme, C-N gerilme)
8	1455	CH_2 bükülme: lipit
9	1400	COO^- simetrik gerilme: yağ asitleri ve aminoasitler
10	1342	CH_2 kolajen yan zincir titreşimleri
11	1312	Amide III: protein
12	1280	Kolajen
13	1228	PO_2^- antisimetrik gerilme: fosfolipitler
14	1156	C-O gerilme: glikojen
15	1080	PO_2^- simetrik gerilme: nükleik asitler ve fosfolipitler, C-O gerilme: glikojen
16	1040	Glikojenin C-OH gruplarının C-O bükülmesiyle birleştirilmiş C-O gerilme bandı
17	994	$C–N^+–C$ gerilme: nükleik asitler

3.2. C-H TİTREŞİM BÖLGESİ VE PARMAK İZİ BÖLGELERİNDE KARACİĞER SPEKTRUMLARININ GENEL KARŞILAŞTIRMASI

Deney gruplarının spektrumlarında görülen bantların alanları, bant alan oranları, bant konumları ve bant genişlikleri hesaplanarak detaylı spektrum analizleri yapılmıştır. Infrared bantlarının sinyal şiddetleri ve bu bantların altında kalan alanlar ve alan oranları ait olduğu fonksiyonel grubun konsantrasyonu/miktarı ve miktar oranları hakkında bilgi vermektedir (Cakmak ve diğerleri, 2006: 56).

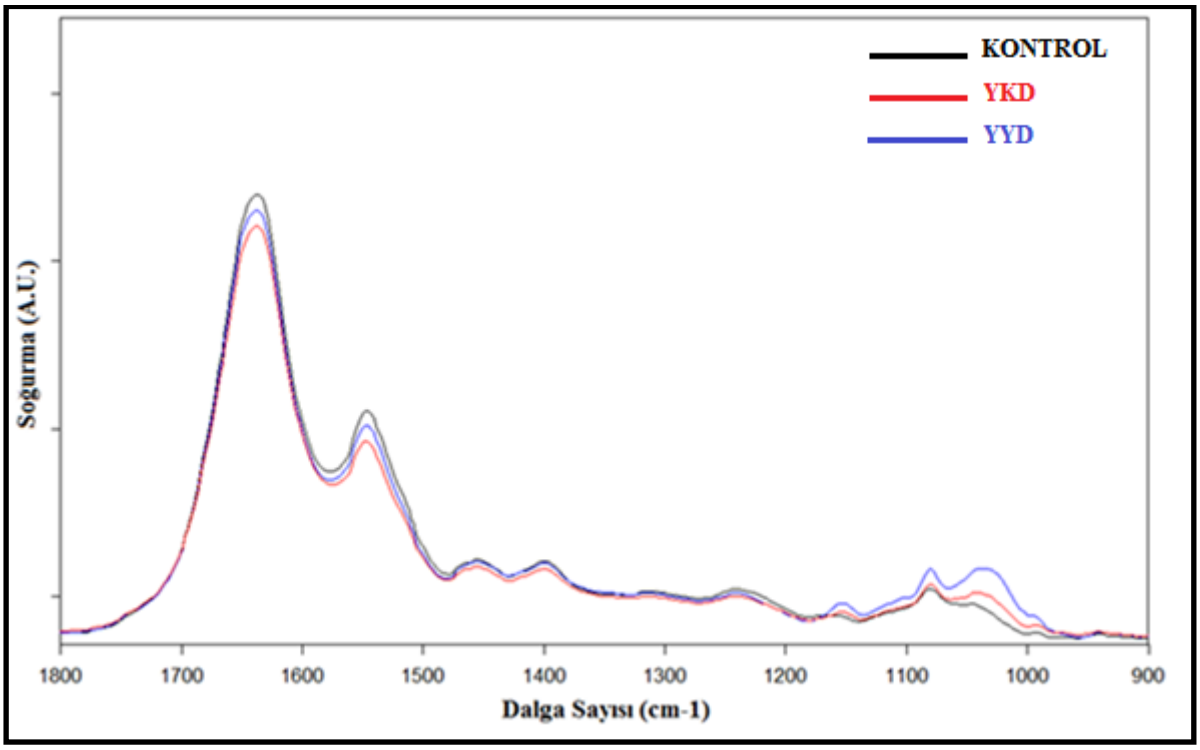
Değişimleri görsel olarak daha açık bir şekilde izlemek için analizler C-H titreşim bölgesi 3000-2830 cm^{-1} ve parmak izi bölgesi (1800-900 cm^{-1}) aralığında yapılmıştır. Bu iki bölgede Amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar kontrol, yüksek karbonhidrat ve yüksek yağ içeren diyetlerle beslenmiş erkek fare karaciğer dokuları için Şekil 3.2'de verilmiştir. Karaciğer dokuları için seçilen bu bantların alanları ve alan oranlarının sayısal karşılaştırmaları Tablo 3.2 ve Tablo 3.4' de verilmiştir.



Şekil 3.2: Kontrol (K), yüksek karbonhidratlı (YKD) ve yüksek yağlı (YYD) diyet ile beslenmiş B6 erkek farelerin karaciğer dokularına ait 3000-2830 cm^{-1} frekans aralığında 3319 cm^{-1}'de konumlanan Amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar.

Şekil 3.2'de görülen bantlar CH_3 antisimetrik gerilme titreşimlerinden (bant 2), CH_2 antisimetrik gerilme titreşimlerinden (bant 3), CH_3 simetrik gerilme titreşimlerinden (bant 4) ve CH_2 simetrik gerilme (bant 5) titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Bozkurt, Bayari,

Severcan, Krafft, Jürgen, ve Severcan, 2012: 3; Dogan ve diğerleri, 2013: 12). Bu bölgede bulunan CH_2 antisimetrik, CH_2 simetrik ve CH_3 antisimetrik gerilme titreşimlerinin bant alanları sistemdeki lipit miktarı, CH_3 simetrik gerilme titreşimlerinin bant alanı ise sistemdeki protein miktarı hakkında bilgi vermektedir (Movasaghi ve diğerleri, 2008: 137; Cakmak, Zorlu, Severcan, ve Severcan, 2011: 2441).



Şekil 3.3: Kontrol (KE), yüksek karbonhidratlı (YKD) ve yüksek yağlı (YYD) diyetleri ile beslenmiş B6 erkek farelerin karaciğer dokularına ait 1800-900 cm^{-1} frekans aralığında 3319 cm^{-1}'de konumlanan Amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar.

Parmak izi bölgesinde 1638 cm^{-1} frekansında yer alan Amid I bandı, proteinlerden kaynaklanır. %80 oranında C=O gerilme titreşimleri, %10 oranında C-N gerilme titreşimleri ve %10 oranında N-H eğilme titreşimlerinden oluşur. 1540 cm^{-1} frekansında yer alan Amid II bandı da %60 N-H bükülme ve %40 C-N gerilme titreşimleri oranına sahip proteinlerden oluşmaktadır (Stuart, 2004: 142; Cakmak ve diğerleri, 2006: 57; Dogan ve diğerleri, 2007: 201; Bozkurt, Severcan, ve Severcan, 2010: 3112; Simsek Ozek, Sara, Onur, ve Severcan, 2010: 48). Amid I ve Amid II bantlarının dalga sayısı değerlerindeki değişiklikler, protein ikincil yapılarındaki değişiklikler hakkında bilgi verir (Haris ve Severcan, 1999: 214).

1455 cm^{-1} civarında yer alan CH_2 bükülme bandı, az miktarda protein katkısı ile çoğunlukla lipitlerden oluşur, lipit yapısı ve lipit içeriği hakkında bilgi verir (Simsek Özek ve diğerleri, 2010: 43).

1342 cm^{-1} civarında bulunan CH_2 yan zincir titreşim bandı, kolajenlerden kaynaklanmaktadır (Camacho, West, Torzilli, ve Mendelsohn, 2001: 4; West, Bostrom, Torzilli, ve Camacho, 2004: 377). Bu bandın dalga sayısı değeri, kolajenlerin üçlü sarmal yapısını gözlemlemek için kullanılabilir (West ve diğerleri, 2004: 380; Bozkurt ve diğerleri, 2010: 3110). Bununla birlikte, kolajen bandının alan değeri dokulardaki kolajen konsantrasyonu hakkında bilgi verir. Bu bandın yoğunluğunun azalması, kolajen denatürasyonunu gösterir (Dogan ve diğerleri, 2013: 2).

Karaciğer dokularının spektrumlarında 1240 cm^{-1} civarında yer alan bantlar çoğunlukla nükleik asitler ve fosfolipitler içindeki fosfat (PO_2^-) gruplarının P=O bağlarının absorbansından oluşur (Diem, Boydston-White, ve Chiriboga, 1999: 151; Dovbeshko, Gridina, Kruglova, ve Pashchuk, 2000: 245; Cakmak ve diğerleri, 2006: 57; Bozkurt ve diğerleri, 2010: 3117; Cakmak ve diğerleri, 2011: 2441). Bu bantlar, membran fosfolipitlerinin baş grupları hakkında önemli bilgiler verir (Mendelsohn ve diğerleri, 1984: 222; Bozkurt ve diğerleri, 2010: 3117; Cakmak ve diğerleri, 2011: 2441).

1156, 1080 ve 1040 cm^{-1}'de yer alan bantlar, özellikle dokulardaki glikojenin C–O gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Simsek Ozek ve diğerleri, 2010: 43). Bu bandın alan değeri dokulardaki glikojen içeriği hakkında bilgi verir (Toyran ve diğerleri, 2006: 434; Simsek Ozek ve diğerleri, 2010: 43).

3.3. DETAYLI SPEKTRAL ANALİZ

3.3.1 Karaciğer Spektrumlarının Bant Alanları ve Dalga Sayısı Değerlerinin Karşılaştırılması

3.3.1.1 C-H gerilme bölgesi

3000-2830 cm^{-1} bölgesinde yer alan bantlar, CH_3 antisimetrik gerilme, CH_2 antisimetrik gerilme, CH_3 simetrik gerilme ve CH_2 simetrik gerilme titreşimlerinden ileri gelmektedir (Severcan ve diğerleri, 2005: 216; Cakmak ve diğerleri, 2006: 55; Simsek Ozek ve diğerleri, 2010: 44; Bozkurt ve diğerleri, 2010: 3112). Bu bölgedeki CH_3 antisimetrik, CH_2 antisimetrik ve CH_2 simetrik gerilme titreşimlerinin bant alanı ve bant dalga sayısı değerlerindeki değişiklikler, lipit yapısı ve içeriğindeki değişiklikleri gösterir (Mantsch, 1984: 209; Bozkurt ve diğerleri, 2010: 3115; Cakmak ve diğerleri, 2011: 2441).

CH_2 antisimetrik ve simetrik gerilme bantlarından, lipit açil zincir esnekliği ve lipitlerin konformasyonel bozuklukları hakkında hakkında yapısal ve işlevsel bilgiler elde edilebilir (Bozkurt ve diğerleri, 2010: 3114). CH_3 antisimetrik, CH_2 antisimetrik ve CH_2 simetrik gerilme bant alanlarında özellikle YYD grubunda kontrole göre ve tüm gruplarda anlamlı artış

tespit edilmiştir (Şekil 3.4a, 3.4b, 3.4c). Aynı artış parmak izi bölgesinde yine lipit miktarı hakkında bilgi veren CH_2 bükülme bandında da gözlemlenmiştir (Şekil 3.4d). Her dört bant da lipitlerden kaynaklanmaktadır. Lipit miktarındaki bu artış YYD ile beslenen erkek farelerin karaciğer dokusunda yağ depolanmasındaki artıştan kaynaklanıyor olabilir. YKD grubunda ise CH_2 antisimetrik gerilme bandının alanında kontrole göre anlamlı artış gözlemlenmiştir. Yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş fare gruplarında kontrole kıyasla gözlenen bu artış, lipit içeriğinin artması ya da protein içeriğinin azalmasından kaynaklanıyor olabilir. Sonuçların daha doğru yorumlanabilmesi ve deney aşamasındaki hataları minimuma indirmek için bant alan oranları incelenmiştir.

YYD ve YKD gruplarında kontrole göre ve üçlü deney gruplarında CH_2 antisimetrik ve simetrik gerilme bantlarının konumunu gösteren dalga sayısı değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Bu durum, YYD ve YKD grubunda kontrol grubuna göre, karaciğer lipitlerinin düzeninin arttığını, yani sistemdeki trans konformerlerinin sayısının arttığını gösterir.

3.3.1.2 Parmak izi bölgesi

Parmak izi bölgesinde 1638 cm^{-1} dalga sayısında yer alan Amid I bandı, proteinlerden kaynaklanır, %80 oranında C=O gerilme titreşimleri, %10 oranında C-N gerilme titreşimleri ve %10 oranında oranında N-H eğilme titreşimlerinden oluşur. 1540 cm^{-1} dalga sayısında yer alan Amid II bandı da %60 N-H bükülme ve %40 C-N gerilme titreşimleri oranlarında proteinlerden meydana gelmektedir (Haris ve Severcan, 1999: 212; Stuart, 2004: 47; Cakmak ve diğerleri, 2006: 57; Dogan ve diğerleri, 2007: 200; Simsek Ozek ve diğerleri, 2010: 48; Bozkurt ve diğerleri, 2010: 3112). Tablo 3.2 ve Tablo 3.3'te Amid I ve Amid II bantlarının alan ve dalga sayısı değerleri verilmiştir. Amid I ve Amid II bantlarının dalga sayısı değerlerindeki değişiklikler, protein ikincil yapılarındaki değişiklikler hakkında bilgi verir (Garip ve Severcan, 2010: 585; Haris ve Severcan, 1999: 214). YYD ve YKD gruplarında kontrole kıyasla Amid I ve Amid II bant alanlarında ve dalga sayısı değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik tespit edilememesine rağmen, bu iki deney grubu arasında bant alanlarının anlamlı olarak değiştiği görülmüştür. Bu bulgu, gruplar arasında protein miktarında farklılıklar olabileceğini ifade etmektedir.

1456 cm^{-1} civarında yer alan CH_2 bükülme bandı, az miktarda protein katkısı ile çoğunlukla lipitlerden oluşur ve lipit yapısı ve lipit içeriği hakkında bilgi verir (Simsek Ozek ve diğerleri, 2010: 44). Erkek fare karaciğer dokularının CH_2 bükülme bant alanı değerleri kontrol grubu ile kıyaslandığında özellikle YYD grubunda, YKD ve YYD grupları ve tüm gruplar arasında

anlamlı değişiklikler göstermiştir. Bu bandın dalga sayısı değerleri kontrole göre YKD ve YYD gruplarında aynı zamanda üçlü deney grubu arasında anlamlı olarak azalmıştır. Bu durum, yüksek kalorili diyetler ile beslenen fare gruplarının karaciğerindeki lipit düzeninin anlamlı olarak arttığı anlamına gelmektedir. Bu bulgu daha önce bahsedilen lipit bantlarının davranışı ile tamamen uyum içindedir.

1342 cm^{-1} civarında bulunan CH_2 yan zincir titreşim bandı, kolajenlerden kaynaklanmaktadır (West ve diğerleri, 2004: 377). Bu bandın dalga sayısı değeri, kolajenlerin üçlü sarmal yapısını gözlemlemek için kullanılabilir (West ve diğerleri, 2004: 380; Bozkurt ve diğerleri, 2010: 3113). Ayrıca bu bandın alan değeri dokulardaki kolajen konsantrasyonu hakkında bilgi verir. YYD grubunda kontrole kıyasla bu bandın alan değerinde anlamlı bir değişiklik gözlemlenmezken, YKD grubunda anlamlı olarak artmıştır. Ayrıca bu bandın alan değerleri iki deney grubu arasında ve YKD, YYD ve kontrol grubu arasında anlamlı olarak değişiklik göstermiştir. Bu durum gruplar arasında kolajen miktarının değiştiğini ve YKD grubunda kolajen miktarının anlamlı olarak arttığını göstermektedir.

Erkek karaciğer dokularının spektrumlarında glikojen konsantrasyonunun değişimini gözlemlemek için glikojenden kaynaklanan ve 1156, 1080 ve 1040 cm^{-1} frekansında konumlanan bantların alan değerleri toplanmıştır (Dogan ve diğerleri, 2013: 12). Sonuçlarımıza göre yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş erkek fare gruplarının karaciğerlerinde glikojen miktarı anlamlı olarak artmıştır. Bu artış ikili ve üçlü deney gruplarında da gözlemlenmiştir.

Erkek fare karaciğer doku spektrumları üzerinden elde edilen bant alanları Şekil 3.4a, 3.4b, 3.4c, 3.4d, 3.4e, 3.4f, 3.4g ve 3.4h'de, bant alan oranları Şekil 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 3.10 ve 3.11'de; nümerik olarak sırasıyla Tablo 3.2 ve Tablo 3.4 'de gösterilmiştir. Erkek fare karaciğer doku spektrumları üzerinden elde edilen bant dalga sayıları ve bant genişliği değerleri nümerik olarak sırasıyla Tablo 3.3 ve Tablo 3.5' de gösterilmiştir. Bu karşılaştırma sırasında istatistiksel anlamlılık:

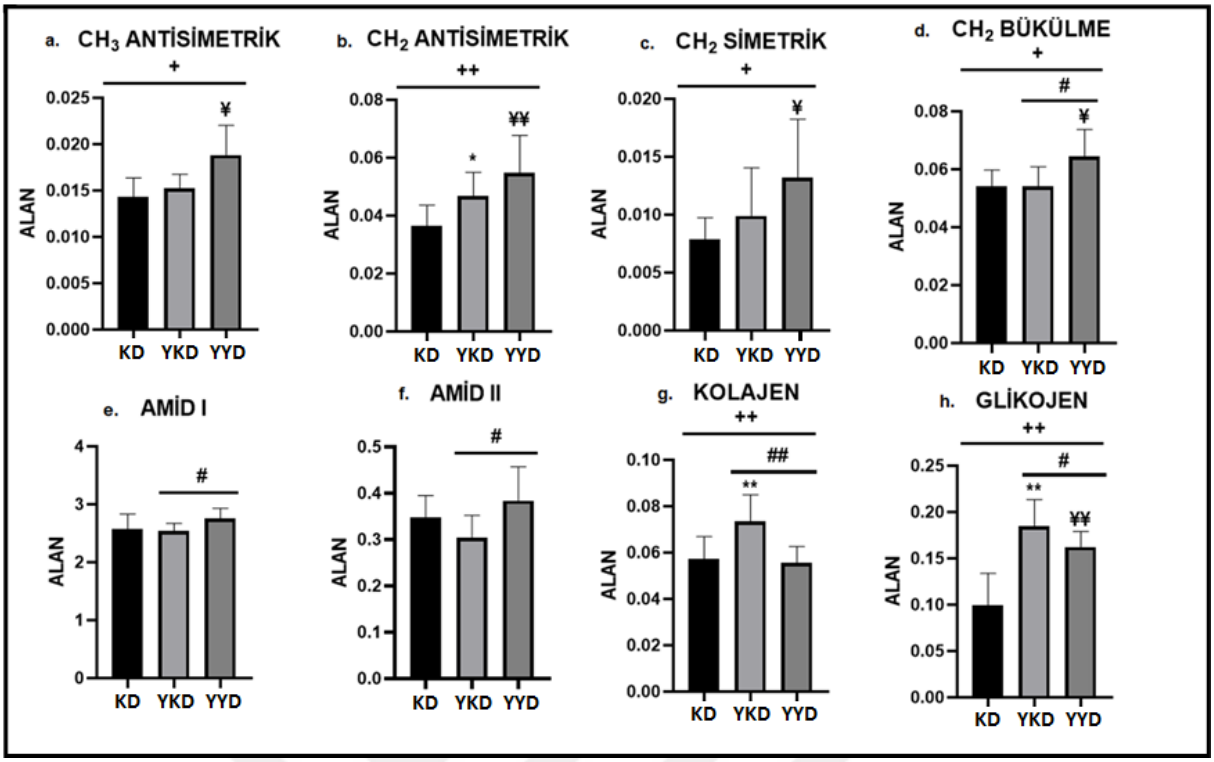
Tüm gruplar arasında tespit edilmişte **+**,

YKD ve YYD arasında tespit edilmişse **#**,

Kontrol grubu ve YKD arasında tespit edilmişse *****,

Kontrol grubu ve YYD arasında tespit edilmişse **¥** işareti ile gösterilmiştir.

İstatistiksel anlamlılık *****$p<0,05$, ******$p<0,01$, *******$p<0,001$ şeklinde belirlenmiştir.



Şekil 3.4: B6 erkek farelerinde; a. CH_3 antisimetrik gerilme bandı, b. CH_2 antisimetrik gerilme bandı, c. CH_2 simetrik gerilme bandı, d. CH_2 bükülme bandı, e. Amid I bandı, f. Amid II bandı, g. Kolajen bandı h. Glikojen bandı.

Tablo 3.2: B6 erkek fare karaciğer dokularının spektrumlarında görülen bant alan değerleri arasındaki farklılıklar. Verilen değerler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık kontrol ile YYDvsYKD ve tüm gruplar karşılaştırılarak hesaplanmıştır (*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001).

Alan	KD	YKD	YYD	YKDvsYYD	KDvsYKDvsYYD
A_{2962}	0,014±0,002	0,015±0,001	0,019±0,003¥↑		+
A_{2922}	0,036±0,007	0,047±0,008*↑	0,055±0,012¥¥↑		++
A_{2855}	0,008±0,002	0,010±0,004↑	0,013±0,005¥↑		+
A_{1638}	2,580±0,252	2,543±0,13↓	2,752±0,181↑	#	
A_{1540}	0,349±0,047	0,304±0,048↓	0,384±0,068↑	#	
A_{1455}	0,0542±0,006	0,0541±0,007↓	0,064±0,009¥↑	#	+
A_{1342}	0,057±0,010	0,074±0,011**↑	0,056±0,007↓	##	+
$A_{1156+}A_{1080+}A_{1040}$	0,099±0,035	0,185±0,029**↑	0,162±0,016¥¥↑	#	++

Tablo 3.3: B6 erkek fare karaciğer dokularının spektrumlarında görülen bant dalga sayısı değerleri arasındaki farklılıklar. Verilen değerler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık kontrol ile YYDvsYKD ve tüm gruplar karşılaştırılarak hesaplanmıştır (*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001).

Frekans	KD	YKD	YYD	YKDvsYYD	KDvsYKDvsYYD
2922	2922,86±0,113	2922,74±0,063*↓	2922,74±0,041¥↓		+
2855	2851,05±0,157	2850,92±0,183↓	2850,88±0,027¥¥↓		+
1638	1636,28±0,076	1636,26±0,083↓	1636,27±0,042↓		
1540	1540,53±0,063	1540,61±0,149↑	1540,33±0,107↑		
1455	1455,51±0,031	1455,27±0,029*↓	1455,29±0,045¥↓		+
1228	1227,95±0,019	1228,032±0,051**↑	1228,059±0,050¥¥¥↑		++
1080	1078,84±0,069	1078,95±0,011**↑	1078,97±0,055¥¥↑		++

3.3.2 Kontrol ve Obez Farelerin Bant Alan Oranı Değerlerinin Karşılaştırılması:

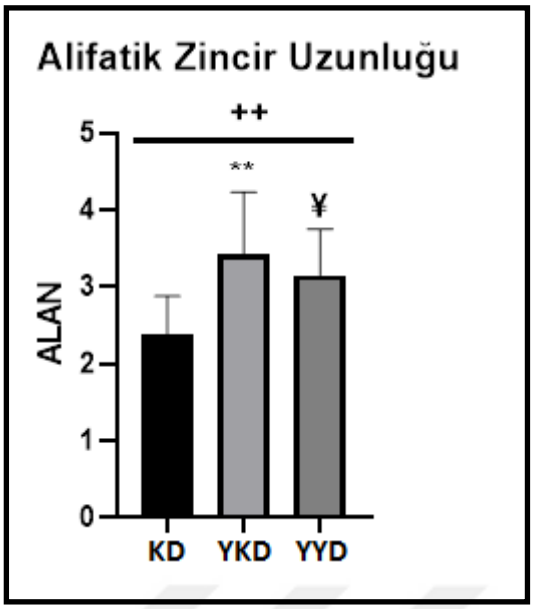
Bant alanları oran değerleri Şekil 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 3.10 ve 3.11'de verilmiştir. CH_2 antisimetrik gerilme / CH_3 antisimetrik gerilme bant alanları oranı, lipitlerin alifatik zincir uzunluğu hakkında bilgi elde etmek için hesaplanmıştır. CH_2 simetrik gerilme / (CH_2 antisimetrik gerilme + CH_2 simetrik gerilme) bant alanları oranı, doymuş lipit miktarı

hakkında bilgi elde etmek için hesaplanmıştır. Proteinlerdeki yapısal ve konformasyonel değişiklikleri incelemek için Amid I / Amid II bant alanları oranlanmıştır. Protein konsantrasyonunu gözlemlemek için Amid I / (Amid I + Amid II) bant alanları oranı kullanılmıştır. Lipit / protein konsantrasyonu tayinini yapmak için (CH_2 antisimetrik gerilme + CH_2 simetrik gerilme) / (Amid I + Amid II) bant alanları oranı hesaplanmıştır. Kolajen integritisi hakkında bilgi elde etmek için Amid II / kolajen bant alanları oranı kullanılmıştır. Glikojen / protein miktarını elde etmek için C—O gerilme / (Amid I + Amid II) bant alanları oranı hesaplanmıştır.

Tablo 3.4: B6 erkek fare karaciğer dokularının spektrumlarında görülen bant alan oranları arasındaki farklılıklar. Verilen değerler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık kontrol ile YKDvsYYD ve tüm gruplar karşılaştırılarak hesaplanmıştır (*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001).

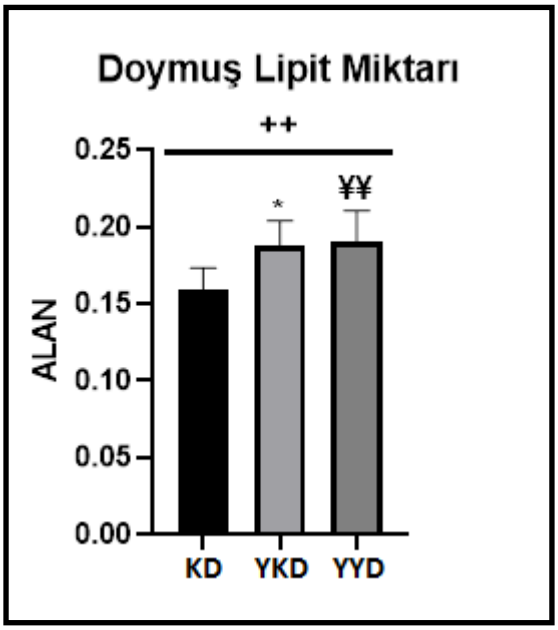
Bant Alan Oranları	Biyomoleküler Köken	Tanım	KD	YKD	YYD	YKDvsYYD	KDvsYKDvsYYD
A_{2922} / A_{2962}	CH_2 as υ / CH_3 as υ	Alifatik zincir uzunluğu	2,371±0,510	3,427±0,805**↑	3,154±0,598¥¥↑		++
A_{2855} / $A_{2922+2855}$	CH_2 s υ / (CH_2 as υ + CH_2 s υ)	Doymuş lipit miktarı	0,160±0,012	0,188±0,016*↑	0,190±0,019¥¥↑		++
A_{1638} / A_{1540}	Amid I / Amid II	Protein yapısal ve konformasyonel değişimleri	7,452±0,774	8,519±1,121↑	7,314±0,889↓	#	
A_{1638} / $A_{1638+1540}$	Amid I / (Amid I + Amid II)	Protein konsantrasyonu	0,881±0,011	0,894±0,011↑	0,879±0,013↓	#	
$A_{2922+2855}$ / $A_{1638+1540}$	(CH_2 as υ + CH_2 s υ) / (Amid I + Amid II)	Lipit/protein miktarı	0,015±0,002	0,020±0,003**↑	0,022±0,005¥¥↑		++
A_{1540} / (A_{1342}+A_{1289})	Amid II / CH_2 kolajen yan zincir titreşimleri	Kolajen integriti	6,301±1,735	4,177±0,758**↓	6,934±1,081↑	###	+++
$A_{(1156+1080+1040)}$ / $A_{1638+1540}$	C—O υ / (Amid I + Amid II)	Glikojen/protein miktarı	0,013±0,006	0,022±0,005*↑	0,022±0,003¥↑		+

(Kısaltma: as= antisimetrik, s= simetrik, υ= gerilme).



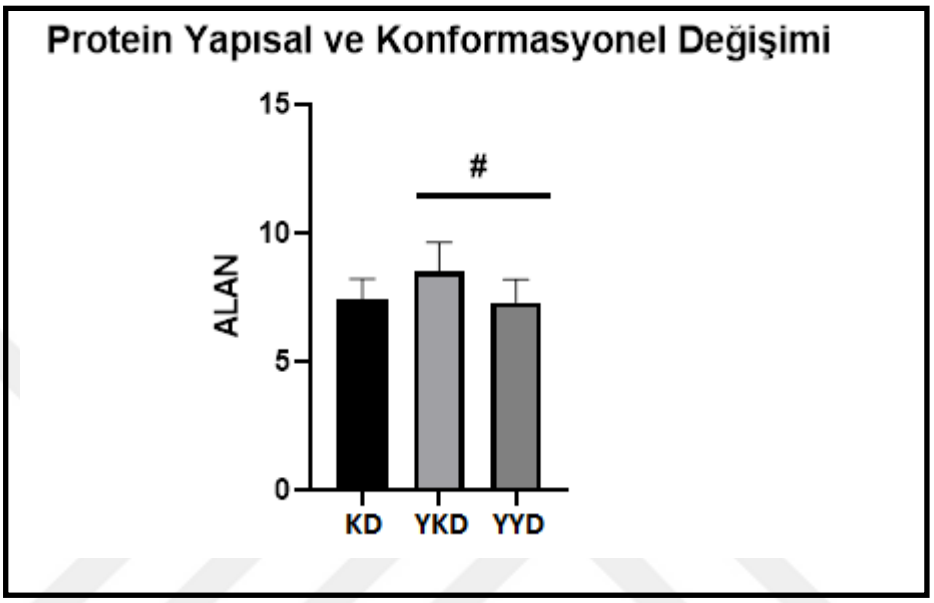
Şekil 3.5: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda CH_2 antisimetrik gerilme / CH_3 antisimetrik gerilme bant alanları oranı.

CH_2 antisimetrik / CH_3 antisimetrik gerilme bant alan oranı erkek YYD ve YKD gruplarında ve tüm gruplar arasında kontrole göre anlamlı olarak artmıştır (Şekil 3.5). Bu anlamlı artış lipitlerin alifatik zincir uzunluğunun her iki diyet grubunda da anlamlı olarak arttığını gösterir (Bozkurt ve diğerleri, 2010: 3114; Cakmak ve diğerleri, 2011: 2441).



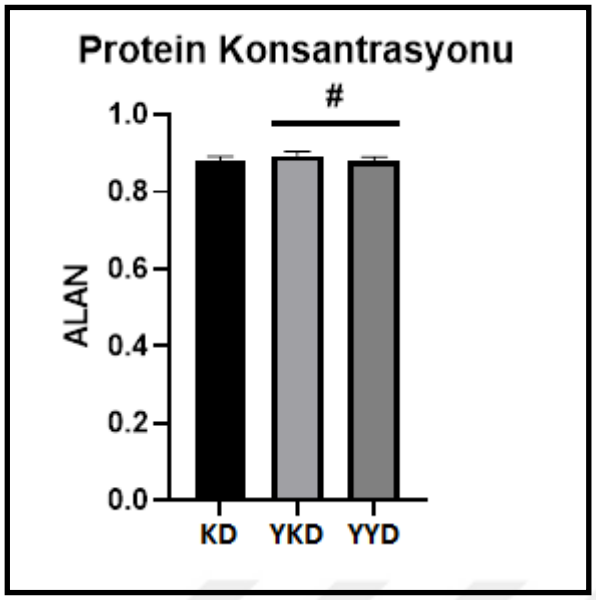
Şekil 3.6: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda CH_2 simetrik gerilme / (CH_2 antisimetrik gerilme + CH_2 simetrik gerilme) bant alanları oranı.

CH_2 simetrik gerilme / (CH_2 antisimetrik gerilme + CH_2 simetrik gerilme) bant alan değerlerinin oranı lipit saturasyonu hakkında bilgi verir (Ricciardi, Portaccio, Piccolella, Manti, Pacifico, ve Lepore, 2017: 6). Bu oran tüm gruplar arasında ve kontrole göre YYD ve YKD gruplarında belirgin artış olduğunu göstermektedir (Şekil 3.6). Bu artış karaciğer lipit içeriğinde doymuş yağ miktarının arttığını göstermektedir.



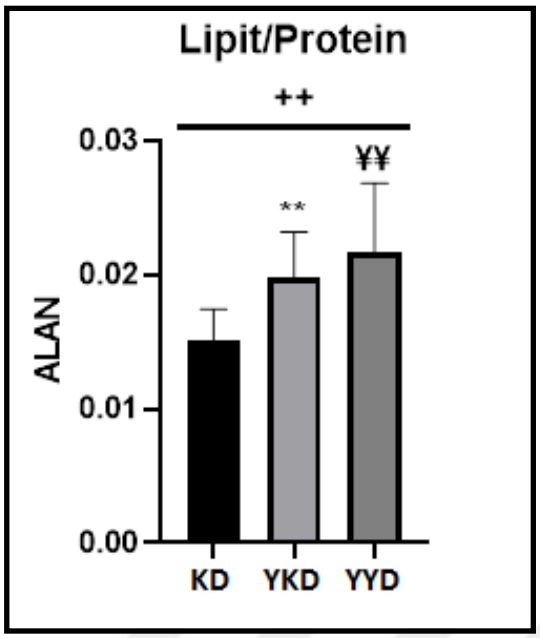
Şekil 3.7: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda Amid I / Amid II bant alan oranı.

Amid I / Amid II bant alan oranı karaciğer dokularındaki proteinlerin yapısal ve konformasyonel değişimleri tayin etmek için kullanmıştır. Sonuçlara göre yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş erkek farelerin karaciğer dokusuna ait proteinlerin yapı ve konformasyonunda kontrole göre anlamlı değişim gözlenmese de ikili deney grupları arasında anlamlı değişim gözlemlenmiştir (Şekil 3.7). Bu da erkek farelerin karaciğer dokusundaki proteinlerin yapısı ve konformasyonu üzerinde yüksek karbonhidrat ve yağ içerikli diyetlerin farklı etki gösterdiği anlamına gelmektedir.



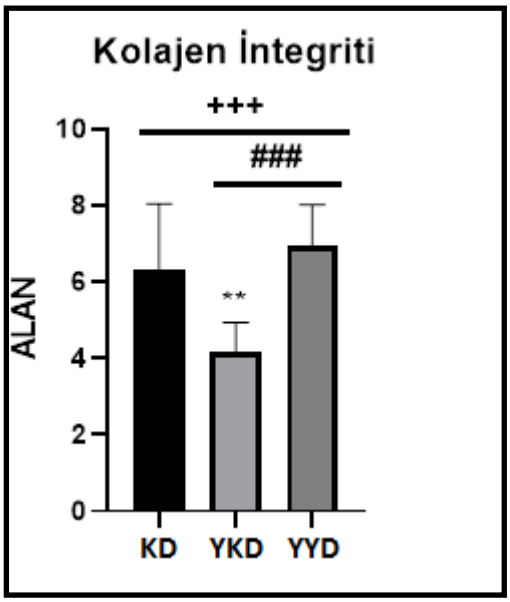
Şekil 3.8: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda Amid I / (Amid I + Amid II) bant alan oranı.

Literatürde değişik protein bantları arasındaki oranlar protein miktarı tayini için kullanılmaktadır. Biz çalışmamızda laboratuvarımızda diğer çalışmalarda kullandığımız Amid I / Amid I + Amid II oranını kullandık (Kucuk Baloglu, Garip, Heise, Brockmann, ve Severcan, 2015: 2208; Abbas, Simsek Ozek, Emri, Koksal, Severcan, ve Severcan, 2018: 8). Fare karaciğer protein miktarı kontrole göre YKD ve YYD grubunda anlamlı farklılık göstermese de ikili deney grupları arasında anlamlı değişiklikler gözlemlenmiştir (Şekil 3.8). Deney grupları arasındaki protein miktarındaki değişim gruplar arasında protein miktarında farklılıklar olduğunu ifade etmektedir.



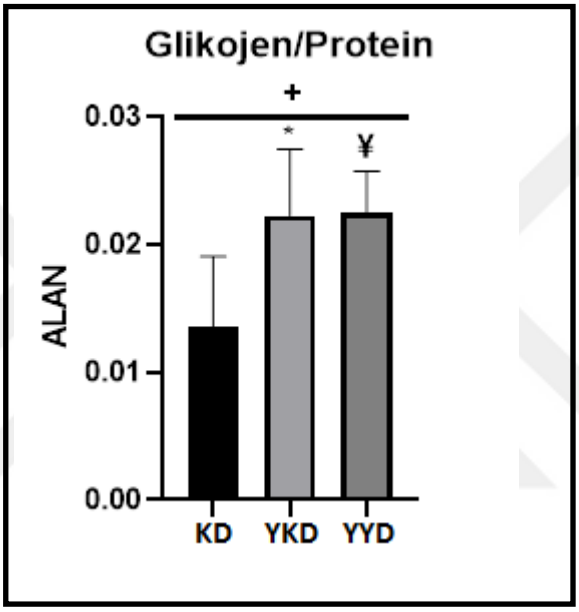
Şekil 3.9: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda (CH_2 antisimetrik gerilme + CH_2 simetrik gerilme) / (Amid I + Amid II) bant alan oranı.

Örneklerin spektrumlarındaki bantların absorbans değerleri kullanılarak yapılan oran hesaplamaları YYD ve YKD erkek fare karaciğer dokularında lipit / protein oranında kontrole göre ve tüm gruplar arasında belirgin anlamlı artış olduğunu göstermektedir (Şekil 3.9). Lipit / protein miktarındaki bu artış YYD ve YKD ile beslenen erkek farelerin karaciğer dokusunda yağ depolanmasının işareti olarak kabul edilebilir.



Şekil 3.10: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda Amid II / kolajen bant alan oranı.

1540 cm^{-1}'deki Amid II bandının alanının, 1342 cm^{-1}'deki ve 1280 cm^{-1}'deki kolajen bantlarının toplamına oranı kolajen integriti olarak adlandırdığımız değişiklikleri verir (Dogan ve diğerleri, 2013: 2). Kolajen integriti YKD grubunda anlamlı olarak azalmış, ayrıca ikili ve üçlü deney gruplarında anlamlı değişimler göstermiştir. YYD grubunda ise anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Şekil 3.10). Bu sonuçlara göre yüksek karbonhidrat diyeti ile beslenmiş erkek farelerin karaciğer dokusunda kolajen integritinin bozulduğu ve ikili ve üçlü deney gruplarında değişim gösterdiği yorumu yapılabilir. Bu nedenle bu parametre iki grubu ayırmak için biyobelirteç olarak kullanılabilir.



Şekil 3.11: B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda C—O gerilme / (Amid I + Amid II) bant alan oranı.

Erkek farelerin karaciğer dokusunda depolanan glikojen miktarının protein miktarına oranı, kontrol grubuna göre YKD ve YYD gruplarında ve üçlü deney grubu arasında anlamlı olarak artmıştır (Şekil 3.11). Bu sonuçlara göre yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş B6 erkek farelerin karaciğer dokularında depolanan glikojen miktarı anlamlı olarak artmıştır. Bu durum karaciğerde depolanan protein miktarındaki azalmadan ya da glikojen miktarındaki fazla artıştan kaynaklanıyor olabilir.

3.3.3 Kontrol ve Obez Farelerin Lipit ve Protein Bant Genişliği Değerlerinin Karşılaştırılması

Bant genişliği değerleri, CH_3 antisimetrik gerilme, CH_2 antisimetrik gerilme, CH_2 simetrik gerilme, CH_2 bükülme, Amid I ve Amid II bantlarının ayrıntılı analizi ile elde edilmiş olup

nümerik değerler Tablo 3.5' de verilmiştir. CH_3 antisimetrik gerilme, CH_2 antisimetrik gerilme, CH_2 simetrik gerilme bantlarının bant genişliği değerlerindeki değişikliklerden membran lipitlerinin dinamiği hakkında bilgi elde etmek mümkündür (Bozkurt ve diğerleri, 2010: 3115). C-H bölgesinde yer alan bu bantlarda, YKD ve YYD grubunda kontrole kıyasla anlamlı azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca parmak izi bölgesinde lipitlerden kaynaklanan CH_2 bükülme bandında da kontrole göre anlamlı azalma gözlemlenmesi, lipit membran dinamiğinin azaldığını göstermektedir.

Amid I ve Amid II bandlarının bant genişliği değerlerinde kontrole göre YYD ve YKD gruplarında ve ayrıca üçlü deney grupları arasında anlamlı bir değişim elde edilememiştir.

Tablo 3.5: B6 erkek fare karaciğer dokularının spektrumlarında görülen bant genişliği değerleri arasındaki farklılıklar. Verilen değerler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık kontrol ile YYDvsYKD ve tüm gruplar karşılaştırılarak hesaplanmıştır (*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001).

Frekans	KD	YKD	YYD	YKDvsYYD	KDvsYKDvsYYD
2962	7,68±0,62	7,66±0,92↓	7,35±0,57↓		
2922	6,35±0,38	5,91±0,25*****↓	5,91±0,23**¥**↓		**+**
2855	5,62±0,31	5,27±0,14*****↓	5,31±0,14**¥**↓		**+**
1638	5,82±0,66	6,37±0,42↑	6,21±0,59↑		
1540	10,02±0,64	10,19±0,76↑	9,98±0,37↓		
1455	5,58±0,32	5,63±0,23↑	5,10±0,33**¥**↓	##	**++**

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu tez çalışması, yüksek kalorili diyetlere bağlı olarak meydana gelen obezitenin karaciğerdeki biyomoleküler kompozisyon, yapı ve fonksiyon üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamıştır. Bu amaçla, yüksek kalorili ve kontrol diyetleri ile beslenmiş erkek C57B6L/J farelerin biyomoleküllerinin içerik ve yapısını karakterize etmek için FTIR spektroskopisi kullanılmıştır. Sonuçlara göre, yüksek kalori içerikli diyetlerin karaciğer dokusunda moleküler olarak karaciğer fonksiyonlarını etkileyebilecek global değişikliklere sebep olduğu görülmüştür.

Obezite prevalansı dünya çapında genç ve yaşlı bireylerde gün geçtikçe artmaktadır. Global olarak görülme sıklığı devamlı artış gösteren obezite, tip II diyabet, hipertansiyon, dislipidemi ve kalp damar hastalıkları gibi bir dizi risk faktörünün de yaygınlaşmasına sebep olmuştur. Karaciğer tüm metabolizma, bağışıklık ve sindirim üzerinde etkiye sahip kritik bir organdır. Vücuttaki hemen hemen her organ sisteminde rol oynar. Sindirim ve metabolizmaya yardımcı olarak endokrin ve gastrointestinal sistemlerle etkileşime girer. Sindirim sistemi ile dolaşım sistemi arasında bir bekçi gibi davranır. Genel dolaşıma girmeden önce toksik maddeleri işlemek, daha sonra kullanım için besinleri depolamak ve dönüştürmek, plazma proteinlerinin çoğunu sentezlemek, yağların yıkımı için ince bağırsaklara safra salgılamak, pıhtılaşma faktörü ve protein sentezi ile hematolojide rol oynamak başta olmak üzere çok sayıda metabolik fonksiyonu gerçekleştirir (Trefts ve diğerleri, 2017: 1147). Lipit ve protein metabolizmalarında görev alan birçok enzim karaciğer dokusunda sentezlenmektedir. Tüketilen diyetteki lipitlerin karaciğerde işlendikten sonra metabolizmaya girdiği göz önüne alındığında, yüksek kalorili diyetlerin karaciğer kapasitesini zorlayacağı, bazı bozukluklara sebep olacağı bilinmektedir. Gelen lipit miktarının artması, karaciğerin üstesinden gelemeyeceği bir noktaya ulaştığında vücutta çeşitli anormalliklere rastlanır. Obeziteye bağlı olarak vücutta artan yağ miktarı nedeniyle insülin direnci, lipit, protein ve karbonhidrat metabolizmasında bazı bozukluklar meydana gelmekte ve karaciğerde direkt olarak bazı bozukluklara yok açmaktadır. Yüksek kalorili diyetlerin meydana getirdiği obezite etkilerinin açık olarak gözlemlenebileceği en elverişli dokulardan birisi karaciğerdir (Green ve Hodson, 2014: 5018; Schmid ve diğerleri, 2004: 2271). Bu tez çalışmasında yüksek yağ ve yüksek karbonhidrat içerikli diyetlerin karaciğer biyomoleküllerinin içerik, miktar ve yapılarında değişikliklere neden

olarak organ fonksiyonunu etkileyeceği hipotez edilmiştir.

Biyolojik sistemde bulunan moleküllerin karmaşık işlevlerini yerine getirebilmeleri yapılarına ve dinamik özelliklerine bağlıdır. Bu nedenle, yapı-fonksiyon analizi ve biyomoleküllerin aralarındaki ilişkilerin incelenmesi araştırılması gereken en temel konulardan biridir. Pek çok hücre fonksiyonunun gerçekleşebilmesini sağlayan moleküller arası etkileşmelerinin ve hücrelerdeki biyomoleküler yapı ve dinamik gibi fonksiyonel ilişkilerinin incelenmesi hastalık oluşum mekanizmalarının açıklanabilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Yüksek yağ içerikli diyetlerin etkilerini gözlemlemek için bugüne kadar yapılan çalışmalarda hepatik insülin direnci (Liu, Patil, Jiang, Sancheti, Walsh, Stiles, Yin, ve Cadenas, 2015: 1), gastrointestinal motilite bozuklukları (Mushref ve Srinivasan, 2013: 8), alkolden bağımsız karaciğer yağlanması ve alkolsüz steatohepatit (NAFLD/NASH) (Sarwar, Pierce, ve Koppe, 2018: 534), gen ekspresyonu (Li, Yu, Pan, ve Unger, 2002: 1340), protein sentez aşamaları (Anderson, Gilge, Steiber, ve Previs, 2008: 347), incelenmiş ve çeşitli değişimler rapor edilmiştir. Diğer taraftan yüksek karbonhidrat içerikli diyet tüketiminin glukoz intoleransını tetikleyebileceği (Sumiyoshi ve diğerleri, 2006: 582), hepatik steatoz ve tümöre sebep olabileceği (Ip ve diğerleri, 2014: 1219), obezite, dislipidemi ve diyabet için risk oluşturacağı da (Gross ve diğerleri, 2004: 778) literatürde rapor edilmiştir. Fakat bu çalışmalar, hücrelerdeki protein, lipit gibi biyomoleküllerin yapıları, fonksiyonları ve aralarındaki ilişkiler hakkında yeterli bilgi vermedikleri için moleküler profilin tayini konusunda çeşitli boşluklar içermektedirler. Biyomoleküllerde meydana gelen yapısal, fonksiyonel farklılıkların belirlenmesi bu değişimlerin yaratacağı işlevsel bozukluklara ışık tutacağından hastalıkların moleküler mekanizmalarını tayini açısından büyük bir önem arz etmektedir. Ayrıca, protein ya da lipit yapılarında oluşan değişimler, özellikle membran protein-lipit etkileşimlerini değiştirerek hücre içinde bazı fonksiyonel bozukluklara neden olabilmektedir. Bu nedenle yüksek yağ ve yüksek karbonhidrattan oluşan diyetlerin karaciğerdeki moleküllerde neden olduğu yapısal, içeriksel ve dinamiksel değişimler ilk kez saptanmıştır.

FTIR spektroskopisi, biyolojik sistemlerdeki makromoleküler fonksiyonel grupların büyük numune miktarı gerektirmeden hassas ve eşzamanlı olarak izlenmesini sağlayan eşsiz bir tekniktir (Simsek Ozek ve diğerleri, 2010: 42; Ezer, Sahin, ve Kazanci, 2017: 6; Yonar, Ocek, Tiftikcioglu, Zorlu, ve Severcan, 2018: 2). Hastalıklar ya da ilaca bağlı patolojik durumlar doku, hücre ve membranların moleküler içerik, konsantrasyon, yapı ve

dinamiklerinde önemli değişikliklere neden olur. Bu değişiklikler FTIR spektroskopisi ile harici ajanlar kullanılmadan hızlı ve hassas bir şekilde belirlenebilir (Gok ve diğerleri, 2016: 968). ATR modu, toplam iç yansıma ilkelerine göre çalışır. Infrared bölgedeki elektromanyetik dalga, yüksek kırılma indeksine sahip infrared şeffaf bir malzeme aracılığıyla kristal yüzeyindeki numuneye gönderilir. Infrared ışının geliş açısı kritik açıdan büyük olduğu için toplam iç yansıma meydana gelir. ATR-FTIR spektroskopisi, biyoakışkanların, kuru filmlerin, sıvı ve katı numunelerin, homojen yumuşak ve sert dokuların ölçümünde geniş bir uygulanabilirliğe sahiptir. ATR ünitesinin kristali üzerine küçük bir miktar numune yerleştirilerek ilave bir hazırlık aşaması olmaksızın doğrudan katı veya sıvı halde çalışılabilir (Yurur vd., 2021: 130).

Hücre membranları lipit, protein ve karbonhidrat gibi moleküller içerirler. Protein ve lipit kompozisyonu, lipitlerde doymuşluk/doymamışlık miktarı ve lipit akışkanlığı, yapı ve fonksiyon analizinde temel parametrelerdir ve membranın düzgün işleyişi ile korelasyon gösterdikleri için fizyolojik bozuklukları indirekt şekilde gösterirler (Spector ve Yorek, 1985: 1029; Cakmak, Severcan, Zorlu, ve Severcan, 2016: 837). Lipitlerin alifatik zincir uzunluğundaki değişiklikler, lipit çift tabakanın kalınlığında değişiklikler meydana getirebilir. Bu durum biyolojik membranların lipit çift tabakasının termodinamik istikrar ve pasif geçirgenliğinde istenmeyen durumlar oluşturabilir. Lipit kompozisyonundaki herhangi bir değişim, proteinlerin yapı ve fonksiyonunu etkileyebilir. Ayrıca, akışkanlık parametresi membran işleyişi için önemli bir özelliktir. Yüksek miktarda doymuş yağ asidi içeren membranların daha az akışkan olduğu bilinmektedir. Çeşitli maddelerin hücreye giriş çıkışı membran akışkanlığından etkilenebilir. Ayrıca, membran proteinlerinin, lipit ortamının düzenine ve akışkanlığına duyarlı olduğu bilinmektedir. Lipit peroksidasyonu genel olarak serbest radikaller gibi oksidanların karbon-karbon çift bağları içeren lipitlere, özellikle çoklu doymamış yağ asitlerine (PUFA'lar) saldırdığı bir süreç olarak tanımlanabilir. Bu durum daha uzun zincirlerin daha kısa lipit açil zincirlerine parçalanmasıyla birlikte lipit yapısında doymamışlığın kaybolmasına neden olur (Ayala, Muñoz, ve Argüelles, 2014: 1; Olusi, 2002: 1163). Lipit peroksidasyonu ayrıca membranların doymamış/doymuş lipit bileşimini de değiştirir ve daha sert membranlarla sonuçlanan çapraz bağlı lipit-lipit ve lipit-protein kısımlarının oluşumuna neden olur (Gurbanov, Bilgin, ve Severcan, 2016: 850). Tez çalışmamızın sonuçlarına göre, lipit saturasyonu hakkında bilgi veren CH_2 simetrik gerilme / (CH_2 antisimetrik gerilme + CH_2

simetrik gerilme) bant alan oranı tüm gruplar arasında ve kontrole göre YYD ve YKD gruplarında belirgin artış olduğunu göstermiştir. Bu durum yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş farelerin karaciğer membran lipitlerinin peroksidasyona daha yatkın olduğunu göstermektedir. Alifatik zincir uzunluğunu veren CH_2 antisimetrik / CH_3 antisimetrik gerilme bant alan oranı erkek YYD ve YKD gruplarında ve tüm gruplar arasında kontrole göre anlamlı olarak artmıştır. Bu durum, lipitlerin alifatik zincir uzunluğunun her iki diyet grubunda da anlamlı olarak arttığını gösterir. Bu sonuç, erkek B6 farelerinin karaciğer dokularının esas olarak daha uzun açil zincirli lipitlerden oluşabileceğini ortaya koymaktadır. Gelişmiş lipit peroksidasyonu genellikle açil zincir uzunluğunun kısalmasıyla karakterize olsa da karaciğerde uzun zincirli lipitlerin sentezinin baskın olduğu yorumu yapılabilir. Daha uzun zincirli lipitlerin miktarındaki artış, sürekli sentezlenen yeni oluşan trigliseritlere bağlı olabilir (Sen, Bozkurt, Aras, Heise, Brockmann, ve Severcan, 2015: 684).

CH_2 antisimetrik ve simetrik gerilme bantlarının konumları, lipit açil zinciri esnekliği ve lipitler içindeki konformasyonel bozuklukların derecesi hakkında bilgi verir (Bozkurt ve diğerleri, 2010: 3114). Yüksek kalorili diyetlerle beslenen erkek B6 farelerinin karaciğer dokularına ait CH_2 antisimetrik ve simetrik gerilme bantlarının dalga sayısı değerleri anlamlı olarak azalmıştır. Bu bantların dalga sayısı değerlerinde görülen azalma, lipitlerdeki açil zincirlerinin daha düzenli olduğunu ve lipitlerin trans/gauche konformerlerinin sayısının daha fazla olduğunu gösterir. Bu artış, membran yapısının sertleşmesine yol açar (Gurbanov ve diğerleri, 2016: 852). Bu sonuçlarla uyumlu olarak CH_2 antisimetrik ve simetrik gerilme bant genişliği değerlerinde görülen azalma yüksek kalorili diyetlerin erkek B6 farelerinin karaciğerinde lipit mobilitesinin azalmasına neden olduğu ve sert, rijit bir membran yapısı oluşturduğu yorumu yapılabilir.

Protein yapısal ve konformasyonel değişimleri ve protein konsantrasyonu tayini için sırasıyla Amid I / Amid II ve Amid I / (Amid I + Amid II) bant alan oranları incelenmiştir. Yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş erkek B6 farelerinin karaciğer dokusundaki proteinlerin konsantrasyonunda ve yapısal ve konformasyonel değişiminde anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Buna rağmen her iki alan oranının diyet gruplarında birbirlerine göre anlamlı değişiklik göstermesi gruplar arasında protein miktar ve konformasyonunda farklılıklar olduğunu ifade ediyor olabilir.

C-H titreşim bölgesindeki yüksek yağlı diyetle beslenmiş erkek B6 farelerinin karaciğer

dokularına ait lipit bantlarında (CH_3 antisimetrik gerilme, CH_2 antisimetrik ve simetrik gerilme) kontrole göre ve tüm gruplar arasında belirgin anlamlı artış gözlemlenmiştir. Benzer anlamlı artış parmak izi bölgesinde lipitlerden kaynaklanan CH_2 bükülme bandı alanında da gözlemlenmiştir. Lipit miktarındaki bu artış YYD ile beslenen erkek farelerin karaciğer dokusunda yağ depolanmasındaki artıştan kaynaklanıyor olabilir. Yüksek kalorili diyetlerin obezite ve insülin direnci ile ilişkili olduğu bilinmektedir. İnsülin direnci insülinin lipolizi baskılama kabiliyetini bozarak yağlı karaciğer gelişimine katkıda bulunabilir (Utzschneider ve Kahn, 2006: 4753). Aynı şekilde yüksek yağlı diyetle beslenmiş YYD grubunda erkek B6 farelerinin karaciğer dokularında lipit / protein miktarını veren (CH_2 antisimetrik gerilme + CH_2 simetrik gerilme) / (Amid I + Amid II) bant alan oranı hem YKD hem YYD grubunda kontrole göre ve tüm gruplar arasında anlamlı olarak artmıştır. Bu artış YYD grubunda kontrole kıyasla, lipit içeriğinde artış ve protein içeriğindeki düşüşten kaynaklanabilir. Bu sonuçlara göre YYD grubunun karaciğer dokusunda yağ birikimi meydana geldiği sonucuna varılabilir.

C-H titreşim bölgesindeki yüksek karbonhidratlı diyetle beslenmiş erkek B6 farelerinin karaciğer dokularına ait CH_2 antisimetrik gerilme lipit bandı alanında ve lipit / protein miktarını veren (CH_2 antisimetrik gerilme + CH_2 simetrik gerilme) / (Amid I + Amid II) bant alan oranında kontrole göre ve üçlü deney grubu arasında belirgin anlamlı artış gözlemlenmiştir. Bu bulgu YKD grubuna ait farelerin karaciğerindeki lipit miktarında artış olurken protein miktarında düşüş olduğunu göstermektedir. Literatürde düşük yağlı / yüksek karbonhidratlı diyetlerin de novo lipogenezi artırdığı ve karaciğerde yağ birikimine sebep olduğu gösterilmiştir (Hudgins, Hellerstein, Seidman, Neese, Diakun, ve Hirsch, 1996: 2081).

Kolajen ailesi, 42'den fazla farklı gen tarafından kodlanan 28 farklı kolajen türünden oluşan bir protein grubudur. Tüm kolajenler, tekrarlayan çekirdek bir amino asit dizisine (Glisin-Prolin-Hidroksiprolin) ve kolajen tipine bağlı olarak oldukça kararlı ve karakteristik bir üçlü sarmal yapısına sahiptir. Fibril oluşturan kolajenlerin dışında, diğer kolajenlerin çoğunda üçlü sarmal bölgede sık kesintiler olur, bu da onların daha esnek (örneğin tip IV ve diğerleri) veya zincir benzeri mikrofibriler yapıları (tip VI ve diğerleri) oluşturmalarına olanak tanır. Belirli kolajen genlerindeki mutasyonlar organ işlev kaybına sebep olabilir. Sağlıklı normal bir karaciğerde, kolajenlerin çoğu fibriler tip I, III ve V'dir. Fibriler kolajenler çoğunlukla interstisyel matrikste konumlanmıştır, miyofibroblastlar

tarafından üretilir ve doku yapısını destekler. Fibrozis geliştikçe ve ilerledikçe, kolajenlerin hem miktarları hem de dağılımları değişir. Bazal membran tip IV kolajen de sağlıklı karaciğerde büyük ölçüde bulunur ve özelleşmiş polarize hücreleri destekler, kan ve karaciğer endotel ve epitel arasında moleküllerin difüzyonuna izin verir (Arriazu, Ruiz de Galarreta, Cubero, Varela-Rey, Pérez de Obanos, Leung, Lopategi, Benedicto, Abraham-Enachescu, ve Nieto, 2014: 1080; Karsdal, Daniels, Holm Nielsen, Bager, Rasmussen, Loomba, Surabattula, Villesen, Luo, Shevell, Gudmann, Nielsen, George, Christian, Leeming, ve Schuppan, 2020: 738). Kolajenler, fonksiyonlarını sürdürmek amacıyla dokulara bütünlük ve elastikiyet sağlamaktan sorumludurlar. Obez durumda, yağ dokusunun genişlemesi, doku sertleşmesine ve fibrozise katkıda bulunan artan kolajen içeriği ile ilişkilidir. Dokuda yeniden şekillenme meydana geldikçe kolajen molekül yapısında değişikliklere neden olabilir. Kolajen üçlü sarmalının çözülmesi meydana gelebilir. Kolajen integriti, Amid II bandının alanının kolajen bantlarının alanına oranlanması ile elde edilir. Sonuçlarımıza göre yüksek karbonhidratlı diyetle beslenen erkek B6 farelerin karaciğer dokularında kolajen miktarı kontrole göre anlamlı olarak artmıştır. Ayrıca ikili ve üçlü deney grupları arasında da anlamlı değişiklikler görülmüştür. Bu durum, gruplar arasında kolajen miktarında farklılıklar olduğunu ifade ediyor olabilir. Kolajen integriti de yüksek karbonhidratlı diyetle beslenen erkek B6 farelerinin karaciğer dokularında kontrole göre anlamlı olarak azalmıştır. Bu oran değerindeki anlamlı azalma, kolajen integritisinin bozulduğunu gösterir. Ayrıca ikili ve üçlü deney grupları arasında da anlamlı değişiklikler görülmüştür. Bu sonuçlara göre kolajen miktarı ile kolajen integriti parametreleri negatif kolerasyon gösteriyor denilebilir (Dogan ve diğerleri, 2013: 2). Kolajen integriti parametresi yüksek yağlı ve yüksek karbonhidratlı diyetlerle beslenmiş fare gruplarının ayırt edilmesinde potansiyel bir biyobelirteç olma özelliğini taşımaktadır.

B6 erkek farelerin karaciğer spektrumlarının 1156 cm^{-1}, 1080 cm^{-1} ve 1040 cm^{-1}'de yer alan bantlar, dokulardaki glikojenin C–O gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Sonuçlarımıza göre, yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş B6 erkek farelerin karaciğer dokularında depolanan glikojen miktarı kontrol grubuna göre YKD ve YYD gruplarında, aynı zamanda ikili ve üçlü deney grubu arasında anlamlı olarak artmıştır. Bu bandın alan değerindeki artış, dokuların glikojen içeriğinde bir artışa işaret etmektedir (Sen ve diğerleri, 2015: 684). B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda depolanan glikojen miktarının protein miktarına oranını tespit etmek için, 1156 cm^{-1}, 1080 cm^{-1} ve 1040 cm^{-}

[1]'de yer alan C–O gerilme titreşimlerinin toplamının Amid I ve Amid II bantlarının toplamına oranı alınmıştır. B6 erkek farelerin karaciğer dokusunda depolanan glikojen miktarının protein miktarına oranı, kontrol grubuna göre YKD ve YYD gruplarında ve üçlü deney grubu arasında anlamlı olarak artmıştır. Bu sonuçlara göre yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş B6 erkek farelerin karaciğer dokularında depolanan glikojen miktarı anlamlı olarak artmıştır. Bu durum karaciğerde depolanan protein miktarındaki azalmadan ya da glikojen miktarındaki fazla artıştan kaynaklanıyor olabilir. İskelet kası glikojenin depolanması için en önemli dokudur. Kandaki glikoz iskelet kasında glikojene dönüştürülemezse, bu glikozun çoğu adipositler tarafından alınır. İnsülin, glikoz alımından ve GLUT4 (Glukoz Taşıyıcı Tip 4) taşıyıcılarını teşvik ederek adipositlerde depolanan trigliseritlere dönüştürülmesinden sorumlu olan ana hormondur (Sen ve diğerleri, 2015: 686). Hepatik insülin direnci, insülinin karaciğerden net glikoz çıkışını azaltma yeteneğinin bozulması ile karakterize edilir. Bu durum, artan kan şekerine katkıda bulunur. İnsülinin hepatik glukoz çıkışı üzerindeki inhibitör etkisi kaybolurken, insülinin lipogenez üzerindeki uyarıcı etkisi korunur. İnsülinin karbonhidrat ve lipit metabolizması üzerindeki etkilerinin bu ayrışması, bir 'seçici insülin direnci' yaratır ve bir dizi patolojik duruma (örneğin metabolik sendrom, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı ve kardiyovasküler hastalık) katkıda bulunur. Ek olarak, insülin direnci, aşırı beslenme sırasında karaciğere artan glukoneojenik substratlar ve yağ asitleri akışı ile ilişkilidir. Bu, artan substrat akışlarının uygun moleküler kontroldeki bir eksiklikle birleştiği ve insülin direncinin birçok patolojik sonucunun ortaya çıktığı bir paradigma yaratır (Trefts ve diğerleri, 2017: 1151).

Literatürde obezite ile ilgili yapılan çalışmalarda yapı fonksiyon ilişkisi incelenmiştir. Küçük Baloğlu ve diğerleri (2015: 6), Berlin yağlı erkek inbred farelerin (BFMI) viseral ve subkutan yağ dokularını makromoleküler içerik açısından karşılaştırmak, beyaz ve kahverengi adipositler arasındaki transdiferansiyonu araştırmak amacıyla Fourier transform kızılötesi (FTIR) mikrospektroskopisi ve uncoupling protein 1 (UCP1) immünohistolojik boyaması kullanmışlardır. Sonuçlar, obez gruplarda kahverengi adipositlerin beyaz adipositlere farklılaşmasından kaynaklanabilecek UCP1 protein içeriğinde bir azalma ile birlikte lipit / protein oranında dikkate değer bir artış göstermiştir. Kahverengi yağ dokusu miktarı azaltıldığında, fare hatlarının her iki yağ dokusunda daha düşük doymamışlık / doymuşluk oranı, daha uzun hidrokarbon açil zincir uzunluğuna sahip lipitler ve daha yüksek miktarda trigliserit elde edilmiştir. Sonuçlar ayrıca, subkutan yağ

dokusunun viseral yağ dokusuna kıyasla obezite kaynaklı yapısal değişikliklere daha yatkın olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, zararlı yağlarla ve karbonhidratlarla beslenmiş B6 farelerinin karaciğer dokularında tespit ettiğimiz sonuçlarla uyumludur.

Bozkurt ve diğerleri (2007: 152), diyabetin EDL (extensor digitorum longus) iskelet kası üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladığı bir çalışmada, streptozotosin (STZ) enjeksiyonu ile yetişkin erkek Wistar sıçanlarda Tip I diyabet oluşturmuşlardır. Diyabetik durumda sıçanların EDL iskelet kaslarında membran yapısındaki fosfolipit moleküllerinin hidrasyonundaki artışla birlikte lipit düzeninde önemli bir artış gözlenmiştir. Diyabetik EDL kaslarında lipit ve nükleik asit içeriğinde azalma meydana gelmiştir. Diyabette Amid II bandının (1540 cm^{-1}) bant genişliğinde dramatik bir artış ve bu bandın konumunun daha düşük frekans değerlerine kayması, diyabetik EDL kaslarının proteinlerinde meydana gelen yapısal değişikliklere işaret etmiştir. Bizim çalışmamızda da lipitlere ait CH_2 antisimetrik ve simetrik gerilme bantlarının dalga sayısı değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmış yani lipit düzeninde anlamlı artış gözlemlenmiştir. Fakat bizim çalışmamızda yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş fare gruplarının karaciğer dokularında lipit miktarında anlamlı bir artış meydana gelmiş, ayrıca protein bantlarının bant genişliği ve dalga sayısı değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir.

Furukawa, Fujita, Shimabukuro, Iwaki, Yamada, Nakajima, Nakayama, Makishima, Matsuda, ve Shimomura, (2004: 1754), obezitenin insanlarda ve farelerde sistemik oksidatif stresi indükleyebileceğini ve artan oksidatif stresin, adipositokinlerin düzensizliğinin ve metabolik sendromun gelişiminin altında yatan neden olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu amaçla, diyabetik olmayan insan deneklerde yağ birikiminin sistemik oksidatif stres belirteçleri ile yakından ilişkili olduğunu ve plazma adiponektin düzeylerinin sistemik oksidatif stres ile ters orantılı olduğunu göstermişlerdir. Daha sonra, KKAy ve db/db fareleri dahil olmak üzere çeşitli fare obezite modellerinde insan çalışmalarını tekrarlamışlardır. Reaktif oksijen türleri üretimi, obez farelerin yağ dokusunda artmış, buna NADPH (nikotinamid adenin dinükleotit fosfat) oksidaz ekspresyonunda artış ve antioksidatif enzim ekspresyonunda azalma eşlik etmiştir. Kültürlenmiş adipositlerde, yüksek yağ asitleri seviyeleri, adipositokinlerin (yağdan türetilen hormonlar) düzensiz üretimine neden olmuştur. Sonuçlar, birikmiş yağdaki artan oksidatif stresin metabolik sendromun erken bir tetikleyicisi olduğunu ve yağ dokusundaki redoks durumunun obezite ile ilişkili metabolik sendrom için potansiyel olarak yararlı bir

terapötik hedef olduğunu göstermiştir. Lipit düzen parametresi, CH_2 gerilme titreşimlerinin dalga sayısındaki kaymalar izlenerek belirlenir. Sıralı membran lipitleri, rijit bir membran yapısı oluşturan yüksek trans/gauche konformer seviyelerini gösterir. Membran sertliği için olası bir açıklama, serbest radikallerin varlığı ve membranların doymamış/doymuş lipit bileşimini değiştiren lipit peroksidasyonudur. Çalışmamızda da benzer şekilde yüksek kalorili diyetlerle beslenen farelerin karaciğer dokularınında doymuş yağ asitlerinin oranında bir artma tespit edilmiştir. Membran dinamiği, CH_2 gerilme bantlarının bant genişlikleri analiz edilerek tespit edilmiştir. Bu bantların bant genişliklerindeki azalma, membran dinamiğinde azalma anlamına gelir. Membran organizasyonunun bozulmasının doğrudan membran akışkanlığındaki azalma ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Gurbanov ve diğerleri, 2016: 852). Çalışmamızda obezitenin membran dinamiğinde azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuç, membran lipit dinamiklerinde oksidatif strese bağlı değişiklikler olabileceği ve bu durumun membran akışkanlığında azalmaya sebep olduğu söylenebilir.

Dogan ve diğerleri (2013: 1), yüksek yağ içerikli diyetle 29 farklı BXD ailesinde obezite oluşturmuş ve obezite ve sebep olduğu sekonder hastalıklar için gen haritalaması yapmış ve ilk kez infrared spektroskopisinden elde edilen verileri genotiplemede kullanmıştır. Yüksek yağlı diyetle indüklenen obezitede adipoz doku, karaciğer ve kas dokularında kantitatif karakter lokusu tespiti amaçlamış, FTIR spektroskopisi sadece fenotipleme için kullanılmıştır. Yüksek yağlı diyetin her dokudaki etkileri ayrıntılı olarak analiz edilmemiş, sadece ilgili dokulardaki biyomoleküllerin miktar bilgisi gen tespiti için kullanılmıştır. Çalışmamızla benzer olarak, obez farelerde toplam yağ miktarı, doymuş ve doymamış yağ miktarı ve lipit / protein oranı, kolajen miktarı, kolajen integriti parametreleri karşılaştırılmıştır. Kromozom 12 lokusunun B6 aleli D2 ile karşılaştırıldığında, yaklaşık 2,5 kat daha fazla toplam, doymuş ve doymamış yağ ve kolajen miktarına ve 3,9 kat daha yüksek lipit/protein oranına sahip olduğu gösterilmiştir. Kolajen integriti ise, homozigot B6'da D2 taşıyıcılarına göre 5,5 kat daha az bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da bu sonuçlarla uyumlu olarak yüksek yağlı diyetle beslenmiş B6 farelerinin karaciğer dokularında doymuş yağ miktarı ve lipit / protein oranı kontrole göre anlamlı olarak artmıştır. Aynı zamanda yüksek karbonhidratlı diyetle beslenmiş B6 farelerinin karaciğer dokularında doymuş lipit miktarı, lipit / protein oranı, kolajen miktarı anlamlı olarak artarken kolajen integriti ise anlamlı olarak azalmıştır.

Dankel, Bjørndal, Lindquist, Grinna, Rossmann, Bohov, Nygård, Hallström, Strand, E. ve Berge (2021: 2610), diyet karbonhidrat ve yağlarının hepatik ve dolaşımdaki trigliseritleri farklı şekilde etkilediği mekanizmaları ve bu mekanizmaların yağ asidi bileşimi ile nasıl ilişkili olduğunu açıklamayı amaçlayan çalışmalarında erkek Wistar sıçanlarını kullanmışlardır. Lipit metabolizması ve mitokondriyal fonksiyon parametreleri plazma ve karaciğerde ölçülmüştür. Erkek Wistar sıçanlarında, yüksek karbonhidrat diyetiyle beslenmiş grupta hepatik trigliserit miktarının yüksek yağ içerikli diyetle beslenmiş gruba göre %27 daha yüksek olduğu bulunmuştur. Buna karşılık, yüksek yağlı, düşük karbonhidratlı diyet, hepatik mitokondriyal yağ asidi oksidasyonunu etkilemeden hepatik yağ asidi içeriğini arttırmıştır. Yüksek karbonhidrat içerikli diyetle beslenen farelerin karaciğerindeki özellikle trigliserit formundaki yağ depolanması yüksek miktarda alınan karbonhidratların hepatik de novo lipogenezi tetiklemesi ile açıklanmaktadır. Wang, Yu, ve Walzem (2008: 151), yüksek karbonhidrat, düşük yağ içerikli diyetin lipoprotein metabolizması üzerine etkisini hamster fare modeli üzerinde araştırmışlar ve yüksek karbonhidratlı diyetin trigliserit ve serbest kolesterol miktarını arttırırken, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)'i azalttığını fakat aterojenik lipoprotein profilinin (ALP) ortaya çıkmasına neden olduğu rapor etmişlerdir. Çalışmada yüksek karbonhidrat içerikli diyetin LDL'de %20'lik bir azalma ile eş zamanlı olarak trigliseritte %42,5'lik ve kolesterolde %68,6'lık bir artışa neden olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda kolesterol esterlere ait C=O gerilme bandı gözlemlenmemiştir fakat her iki diyette de lipit miktarındaki artış bu sonucu desteklemektedir.

Zhukova, Novgorodtseva, ve Denisenko (2014: 1), uzun süreli yüksek yağlı diyet koşulları altında Wistar sıçanlarında kan plazması, eritrositler ve karaciğerin polar ve nötr lipitlerinin yağ asidi bileşimini araştırmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre, kolesterol ve doymuş yağ asitleri açısından zengin diyetin uzun süreli uygulanması, sıçan karaciğerindeki apoprotein ve lipoproteinlerin sentezinin inhibisyonuna ve yağ asitlerinin doku hücrelerine aktif taşınmasının bozulmasına neden olmuştur. Benzer başka bir çalışmada, Oosterveer, van Dijk, Tietge, Boer, Havinga, Stellaard, Groen, Kuipers, ve Reijngoud (2009: 1), yüksek yağlı diyetlerin kemirgen karaciğerinde yol açtığı değişimleri gözlemlemek amacıyla yüksek yağlı diyetle beslenen C57BL/6J farelerinde de novo lipogenezi ölçmüşlerdir. Çalışmanın sonuçlarına göre yüksek yağlı diyet, hepatik lipit birikimini teşvik etmiş ve kontrol diyeti ile beslenen farelere kıyasla lipojenik ve

kolesterojenik genlerin ekspresyonunu indüklemiştir. Ek olarak, fraksiyonel kolesterol sentezi artmıştır. Hepatik çok düşük yoğunluklu lipoprotein-trigliserit (VLDL-TG) üretimi, yüksek yağlı diyetten etkilenmemiştir. Doymuş yağın balık yağı ile kısmen değiştirilmesi ile yüksek yağlı diyetin lipojenik etkileri tamamen tersine çevrilmiş ve yağ asidi ve kolesterol sentez oranları normalleşmiştir. Yukarıda belirtildiği gibi bizim çalışma sonuçlarımızda da yüksek yağlı ve karbonhidratlı diyetle beslenen gruplarda, kontrol grubuna kıyasla FTIR sonuçlarında doymuş lipitlerin miktarında anlamlı artış tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında, yüksek yağ ve karbonhidrat içerikli diyetlerle beslenmiş obeziteye yatkın erkek inbred C57BL/6J farelerinin karaciğer dokusunda meydana gelen yapısal ve fonksiyonel değişiklikler ATR-FTIR spektroskopisi tekniği kullanılarak moleküler düzeyde incelenmiştir. YYD grubunda, doymuş lipit miktarı, lipit/protein, glikojen/protein ve kolajen konsantrasyonu anlamlı olarak artmıştır. YKD grubunda ise doymuş lipit miktarı, lipit/protein, glikojen/protein ve kolajen konsantrasyonu anlamlı olarak artmış, kolajen integriti de anlamlı olarak azalmıştır. Bu sonuçlara göre tez çalışmamız, yüksek kalorili diyetlere bağlı olarak karaciğerde meydana gelen yapısal ve fonksiyonel değişimlerin tespit edilmesi ile bu metabolik bozukluğun teşhis ve tedavisine katkı sağlayacaktır.

REFERANSLAR

World Health Organization. (2000). Consultation on Obesity: preventing and managing the global epidemic. Erişim adresi: https://apps.who.int/iris/handle/10665/42330

Wree, A., Kahraman, A., Gerken, G. ve Canbay, A. (2011). Obesity affects the liver-the link between adipocytes and hepatocytes. Digestion, 83(1-2), 124-133.

Blüher, M. (2019). Obesity: global epidemiology and pathogenesis. Nature Reviews Endocrinology, 15, 288-298.

Liu, C., Shao, M., Lu, L., Zhao, C., Qiu, L. ve Liu, Z. (2021). Obesity, insulin resistance and their interaction on liver enzymes. Plos One, 16(4), 1-9.

Kyrou, I., Randeva, H. S., Tsigos, C., Kaltsas, G. ve Weickert, M. (2018). Clinical Problems Caused by Obesity. K. R. Feingold, B. Anawalt, A. Boyce, G. Chrousos, W. W. de Herder, K. Dhatariya, K. Dungan, J. M. Hershman, J. Hofland, S. Kalra, G. Kaltsas, C. Koch, P. Kopp, M. Korbonits, C. S. Kovacs, W. Kuohung, B. Laferrère, M. Levy, E. A. McGee, R. McLachlan, J. E. Morley, M. New, J. Purnell, R. Sahay, F. Singer, M. A. Sperling, C. A. Stratakis, D. L. Trence, D. P. Wilson (Ed.), Endotext [Internet] içinde (2000- ss.). South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278973/

Kalan, I. ve Yeşil, Y. (2010). Obezite ile İlişkili Kronik Hastalıklar. Mised, 23-24, 78-81. Erişim adresi http://www.eczaakademi.org/images/upld2/ecza_akademi/makale/20110325014324obezite_ile_iliskili_kronik_hast.pdf

Ozougwu, J. C. (2017). Physiology of the liver. International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences, 4(8), 13-24.

Leiskau, C., Baumann, U. (2017). Structure, Function, and Repair of the Liver. D. A. Kelly (Ed.), Diseases of the Liver and Biliary System in Children içinde (1-17. ss.). UK: Wiley. https://doi.org/10.1002/9781119046936.ch1

Trefts, E., Gannon, M. and Wasserman, D. H. (2017). The liver. Current Biology, 6;27(21), 1147-1155.

DeFronzo, R. A., Jacot, E., Jequier, E., Maeder, E., Wahren, J. ve Felber, J. P. (1981). The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization, Diabetes. 30(12), 1000-1007.

Petersen, K. F. ve Shulman, G. I. (2002). Pathogenesis of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. The American Journal of Cardiology, 90(5), 11-18.

Motomura, W., Inoue, M., Ohtake, T., Takahashi, N., Nagamine, M., Tanno, S., Kohgo, Y. ve Okumura, T. (2006). Up-regulation of ADRP in fatty liver in human and liver steatosis in mice fed with high fat diet. Biochemical and Biophysical Research Communications, 340(4), 1111-1118.

Schmid, G. M., Converset, V., Walter, N., Sennitt, M. V., Leung, K., Byers, H., Ward, M., Hochstrasser, D. F., Cawthorne, M. A. ve Sanchez, J. (2004). Effect of high-fat diet on the expression of proteins in muscle, adipose tissues, and liver of C57BL/6 mice. Proteomics, 4, 2270-2282.

Inoue, M., Ohtake, T., Motomura, W., Takahashi, N., Hosoki, Y., Miyoshi, S., Suzuki, Y., Saito, H., Kohgo, Y. ve Okumura, T. (2005). Increased expression of PPARγ in high fat diet-induced liver steatosis in mice. Biochemical and Biophysical Research Communications, 336(1), 215-222.

Sumiyoshi, M., Sakanaka, M. ve Kimura, Y. (2006). Chronic Intake of High-Fat and High-Sucrose Diets Differentially Affects Glucose Intolerance in Mice. The Journal of Nutrition, 136(3), 582-587.

Ip, B. C., Liu, C., Ausman, L. M., Lintig, J. ve Wang, X. (2014). Lycopene Attenuated Hepatic Tumorigenesis via Differential Mechanisms Depending on Carotenoid Cleavage Enzyme in Mice. Cancer Prevention Research, 7(12), 1219-1227.

Gross, L. S., Li, L., Ford, E. S. ve Liu, S. (2004). Increased consumption of refined carbohydrates and the epidemic of type 2 diabetes in the United States: an ecologic assessment. American Journal of Clinical Nutrition, 79(5), 774-779.

Silver, L. (2001). Inbred strain. S. Maloy, K. Hughes (Ed.), Brenner's Encyclopedia of Genetics (second edition) içinde (53. ss.). USA: Sciencedirect. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00781-6

Nissen-Meyer, L. S. H., Svalheim, S., Taubøll, E., Gjerstad, L., Reinholt, F. P. ve Jemtland, R. (2008). How can antiepileptic drugs affect bone mass, structure and metabolism? Lessons from animal studies. Seizure, 17(2), 187-191.

Gedik, O. (2003). Obezite ve Çevresel Faktörler. Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism, 2, 1-4.

Hotamisligil, G. S. (2003). Inflammatory pathways and insulin action. International Journal of Obesity, 3, 53-55.

Hotamisligil, G. S. (2005). Role of Endoplasmic Reticulum Stress and c-Jun NH_2-Terminal Kinase Pathways in Inflammation and Origin of Obesity and Diabetes. Diabetes, 54(2), 73-78.

Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L. ve Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature, 425-432.

Phillips, M. S., Liu, Q., Hammond, H. A., Dugan, V., Hey, P. J., Caskey, C. J. ve Hess, J. F. (1996). Leptin receptor missense mutation in the fatty Zucker rat. Nature Genetics, 13(1), 9-19.

Koza, R. A., Nikonova, L., Hogan, J., Rim, J-S., Mendoza, T., Faulk, C., Skaf, J. ve Kozak, L. P. (2006). Changes in gene expression foreshadow diet-induced obesity in genetically identical mice. Plos Genetics, 2(5), 769-780.

Stuart, B. H. (2004). Infrared Spectroscopy, Fundamentals and Applications. England: John Wiley & Sons, Ltd.

Verhoeven, G. (2017). The reflection of two fields – Electromagnetic radiation and its role in (aerial) imaging. AARGnews, 55, 13-18.

Sheehan, D. (2009). Physical Biochemistry Principles and Applications (Second Edition). UK: Wiley & Sons, Ltd.

Arrondo, J. L., Muga, A., Castresana, J. ve Goni, F. M. (1993). Quantitative studies of the structure of proteins in solution by fourier transform infrared spectroscopy. Progress in Biophysics and Molecular Biology, 59(1), 23-56.

Küçük Baloğlu, F., Severcan, F. (2018). Characterization and Differentiation of Adipose Tissue by Spectroscopic and Spectral Imaging Techniques. L. Szablewski (Ed.), Adipose Tissue içinde. Open access peer-reviewed chapter. UK: IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.75156

Garip, S., Bozoglu, F. ve Severcan, F. (2007). Differentiation of Mesophilic and Thermophilic Bacteria with Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Applied Spectroscopy, 61(2), 186-192.

Garip, S., Cetin Gozen, A. ve Severcan, F. (2009). Use of Fourier transform infrared spectroscopy for rapid comparative analysis of Bacillus and Micrococcus isolates. Food Chemistry, 113(4), 1301-1307.

Başyiğit Kılıç, G. ve Karahan, A. G. (2010). Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Laktik Asit Bakterilerinin Tanısında Kullanılması, Gıda, 35(6), 445-452.

Cameron, D. G. ve Charette, G. M. (1981). Automation of Fourier Transform Infrared Studies of Temperature-Induced Phenomena. Applied Spectroscopy, 35(2), 224-225.

Cakmak, G., Togan, I. ve Severcan, F. (2006). 17β-estradiol induced compositional, structural and functional changes in rainbow trout liver, revealed by FTIR spectroscopy: A comparative study with nonylphenol. Aquatic Toxicology, 77(1), 53-63.

Rigas, B., Morgello, S., Goldman, I. S. ve Wong, P. T. (1990). Human colorectal cancers display abnormal fourier-transform infrared spectroscopy. Proceedings of the National Academy of Sciences, 87(20), 8140-8144.

Grdadolnik, J. (2002). ATR-FTIR spectroscopy: Its advantages and limitations. Acta Chimica Slovenica, 49, 631-642.

Boyar, H., Zorlu, F., Mut, M. ve Severcan, F. (2004). The effects of chronic hypoperfusion on rat cranial bone mineral and organic matrix - A Fourier transform infrared spectroscopy study. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 379(3), 433-438.

Severcan, F., Gorgulu, G., Gorgulu, S. T. ve Guray, T. (2005). Rapid monitoring of diabetes-induced lipit peroxidation by Fourier transform infrared spectroscopy: Evidence from rat liver microsomal membranes. Analytical Biochemistry, 339(1), 36-40.

Toyran, N., Lasch, P., Naumann, D., Turan, B. ve Severcan, F. (2006). Early alterations in myocardia and vessels of the diabetic rat heart: an FTIR microspectroscopic study. Biochemical Journal, 397(3), 427-436.

Akkas, S. B., Severcan, M., Yilmaz, O. ve Severcan, F. (2007). Effects of lipoic acid supplementation on rat brain tissue: An FTIR spectroscopic and neural network study. Food Chemistry, 105(3), 1281-1288.

Dogan, A., Ergen, K., Budak, F. ve Severcan, F. (2007). Evaluation of disseminated candidiasis on an experimental animal model: A Fourier transform infrared study. Applied Spectroscopy, 61(2), 199-203.

Sahin, I., Bilge, D., Kazanci, N. ve Severcan, F. (2013). Concentration-dependent effect of melatonin on DSPC membrane. Journal of Molecular Structure, 1052, 183-188.

Gok, S., Aydın, O. Z., Sural, Y. S., Zorlu, F., Bayol, U. ve Severcan, F. (2016). Bladder cancer diagnosis from bladder wash by Fourier transform infrared spectroscopy as a novel test for tumor recurrence. Journal of Biophotonics, 9(9), 967-975.

De Bruyne, S., Speeckaert, M. M. ve Delanghe, J. R. (2018). Aplications of mind-infrared spectroscopy in the clinical laboratory setting. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 55(1), 1-20.

Dogan, A., Gurbanov, R., Severcan, M. ve Severcan, F. (2021). CoronaVac (Sinovac) COVID-19 vaccine-induced molecular changes in healthy human serum by infrared spectroscopy coupled with chemometrics. Turkish Journal of Biology, 45, 549-558.

Garip Ustaoğlu, S., Kaygusuz, H., Bilgin, M. D. ve Severcan, F. (2021). Novel approaches for COVID-19 diagmosis and treatment: a nonsystematic review. Turkish Journal of Biology, 45, 358-371.

Gerwert, K., Kötting, C. (2010). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. Encyclopedia of Life Sciences (ELS) içinde (1-8. ss.). Chichester: John Wiley & Sons, Ltd. https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0003112.pub2

Park, H-S., Didie, D., Yoshida, S. ve Ik Keun, P. (2016). Evaluating Interfacial Adhesion Properties of Pt/Ti Thin-Film by Using Acousto-Optic Technique. Journal of the Korean Society for Nondestructive Testing. 36, 188-194.

Severcan, F., Toyran, N., Kaptan, N. ve Turan, B. (2000). Fourier transform infrared study of diabetes on rat liver and heart tissues in the C-H region. Talanta, 53(1), 55-59.

Toyran, N., Zorlu, F., Dönmez, G., Öge, K. ve Severcan, F. (2004). Chronic hypoperfusion alters the content and structure of proteins and lipits of rat brain homogenates: A Fourier transform infrared spectroscopy study. European Biophysics Journal, 33(6), 549-554.

Severcan, F., Sahin, I. ve Kazancı, N. (2005). Melatonin strongly interacts with zwitterionic model membranes—evidence from Fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 1668(2), 215-222.

Shaw, R. A., Mantsch, H. H. (2006). Infrared Spectroscopy in Clinical and Diagnostic Analysis. R. A. Meyers (Ed.), Encyclopedia of Analytical Chemistry içinde (1-20. ss.). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Ltd. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470027318.a0106

Bozkurt, O., Bilgin, M. D. ve Severcan, F. (2007). The effect of diabetes mellitus on rat skeletal extensor digitorum longus muscle tissue: An FTIR study. Spectroscopy-An International Journal, 21(3), 151-160.

Movasaghi, Z., Rehman, S. ve Rehman, I. (2008). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. Applied Spectroscopy Reviews, 43(2), 134-179.

Severcan, F., Bozkurt, O., Gurbanov, R. ve Gorgulu, G. (2010). FT-IR spectroscopy in diagnosis of diabetes in rat animal model. Journal of Biophotonics, 3, 621-631.

Bilge, D., Kazanci, N. ve Severcan, F. (2013). Acyl chain length and charge effect on Tamoxifen–lipit model membrane interactions. Journal of Molecular Structure, 1040, 75-82.

Rigas, B. ve Wong, P. T. (1992). Human colon adenocarcinoma cell lines display infrared spectroscopic features of malignant colon tissues. Cancer Research, 52(1), 84-88.

Wood, B. R., Quinn, M. A., Burden, F. R. ve McNaughton, D. (1996). An investigation into FTIR spectroscopy as a biodiagnostic tool for cervical cancer. Biospectroscopy, 2(3), 143-153.

Paluszkiewicz, C. ve Kwiatek, W. (2001). Analysis of human cancer prostate tissues using FTIR microscopy and SRIXE techniques. Journal of Molecular Structure, 565, 329-334.

Richter, T., Steiner, G., Abu-Id, M. H., Salzer, R., Bergmann, R., Rodig, H. ve Johannsen, B. (2002). Identification of tumor tissue by FTIR spectroscopy in combination with positron emission tomography. Vibrational Spectroscopy, 28(1), 103-110.

Andrus, P. G. (2006). Cancer monitoring by FTIR spectroscopy. Technology Cancer Research Treatment, 5(2), 157-167.

Haris, P. ve Severcan, F. (1999). FTIR spectroscopic characterization of protein structure in aqueous and non-aqueous media. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 7, 207-221.

Mendelsohn, R., Anderle, G., Jaworsky, M., Mantsch, H. H. ve Dluhy, R. A. (1984). Fourier transform infrared spectroscopic studies of lipid-protein interaction in native and reconstituted sarcoplasmic reticulum. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 775(2), 215-224.

Casal, H. L. ve Mantsch, H. H. (1984). Polymorphic phase behaviour of phospholipit membranes studied by infrared spectroscopy. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes, 779(4), 381-401.

Dogan, A., Lasch, P., Neuschl, C., Millrose, M. K., Albert., R, Schughart, K., Naumann, D. ve Brockmann, G. A. (2013). ATR-FTIR spectroscopy reveals genomic loci regulating

the tissue response in high fat diet fed BXD recombinant inbred mouse strains. BMC Genomics, 14(386), 1-17.

Bozkurt, O., Bayari, S. H, Severcan, M., Krafft, C., Jürgen, P. ve Severcan, F. (2012). Structural alterations in rat liver proteins due to streptozotocin-induced diabetes and the recovery effect of selenium: fourier transform infrared microspectroscopy and neural network study. Journal of Biomedical Optics, 17(7), 076023.

Cakmak, G., Zorlu, F., Severcan, M. ve Severcan, F. (2011). Screening of protective effect of amifostine on radiation-ınduced structural and functional variations in rat liver microsomal membranes by FT-IR Spectroscopy. Analytical Chemistry, 83(7), 2438-2444.

Bozkurt, O., Severcan, M. ve Severcan, F. (2010). Diabetes induces compositional, structural and functional alterations on rat skeletal soleus muscle revealed by FTIR spectroscopy: a comparative study with EDL muscle. Analyst, 135(12), 3110-3119.

Simsek Ozek, N., Sara, Y., Onur, R. ve Severcan, F. (2010). Low dose simvastatin induces compositional, structural and dynamic changes in rat skeletal extensor digitorum longus muscle tissue. Bioscience reports, 30 (1), 41-50.

Camacho, N. P., West, P., Torzilli, P. A. ve Mendelsohn R. (2001). FTIR Microscopic Imaging of Collagen and Proteoglycan in Bovine Cartilage. Biopolymers, 62(1), 1-8.

West, P. A., Bostrom P. G., Torzilli P. A. ve Camacho, N. P. (2004). Fourier Transform Infrared Spectral analysis of degenerative cartilage: an infrared fiber optic probe and imaging study. Applied Spectroscopy, 58(4), 376-381.

Diem, M., Boydston-White, S. ve Chiriboga, L. (1999). Infrared spectroscopy of cells and tissues: shining light onto a novel subject. Applied Spectroscopy, 53, 148-161.

Dovbeshko, G. I., Gridina N. Y., Kruglova E. B. ve Pashchuk O. P. (2000). FTIR spectroscopy studies of nucleic acid damage. Talanta, 53, 233-246.

Mantsch, H. H. (1984). Biological application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy: A study of phase transitions in biomembranes. Journal of Molecular Structure, 113, 201-212.

Garip, S. ve Severcan, F. (2010). Determination of simvastatin-induced changes in bone composition and structure by Fourier transform infrared spectroscopy in rat animal model. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 52(4), 580-588.

Ricciardi, V., Portaccio, M., Piccolella, S., Manti, L., Pacifico, S. ve Lepore, M. (2017). Study of SH-SY5Y Cancer Cell Response to Treatment with Polyphenol Extracts Using FT-IR Spectroscopy. Biosensors (Basel), 30, 7(4):57, 1-16.

Kucuk Baloglu, F., Garip, S., Heise, S., Brockmann, G. ve Severcan, F. (2015). FTIR imaging of structural changes in visceral and subcutaneous adiposity and brown to white adipocyte transdifferentiation. Analyst, 140(7), 2205-2214.

Abbas, S., Simsek Ozek, N., Emri, S., Koksal, D., Severcan, M. ve Severcan, F. (2018). Diagnosis of malignant pleural mesothelioma from pleural fluid by Fourier transform-infrared spectroscopy coupled with chemometrics. Journal of biomedical optics, 23(10), 1-14.

Green, C. J. ve Hodson, L. (2014). The influence of dietary fat on liver fat accumulation. Nutrients, 6(11), 5018-5033.

Liu, Z., Patil, I. Y., Jiang, T., Sancheti, H., Walsh, J. P., Stiles, B. L., Yin, F. ve Cadenas, E. (2015). High-Fat Diet Induces Hepatic Insulin Resistance and Impairment of Synaptic Plasticity. Plos One, 10(5), e0128274, 1-16.

Mushref, M. A. ve Srinivasan, S. (2013). Effect of high fat-diet and obesity on gastrointestinal motility. Annals of Translational Medicine, 1(2), 14.

Sarwar, R., Pierce, N. ve Koppe, S. (2018). Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: current perspectives. Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy, 11, 533-542.

Li, J., Yu, X., Pan, W. ve Unger, R. H. (2002). Gene expression profile of rat adipose tissue at the onset of high-fat-diet obesity. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 282(6), 1334-1341.

Anderson, S. R., Gilge, D. A., Steiber, A. L. ve Previs, S. F. (2008). Diet-induced obesity alters protein synthesis: tissue-specific effects in fasted versus fed mice. Metabolism, 57(3), 347-354.

Ezer, N., Sahin, I. ve Kazanci, N. (2017). Alliin interacts with DMPC model membranes to modify the membrane dynamics: FTIR and DSC Studies. Vibrational Spectroscopy, 89, 1-8.

Yonar, D., Ocek, L., Tiftikcioglu, B. I., Zorlu, Y. ve Severcan, F. (2018). Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis diagnosis from cerebrospinal fluids via Fourier transform infrared spectroscopy coupled with multivariate analysis. Scientific Reports, 8:1025, 1-13.

Yurur, G., Gedik Kapancık, T. N., Severcan, M., Ezer Ozer, N. ve Severcan, F. (2021). Application of Mid-Infrared Spectroscopy on Therapeutic Effects of Herbal Medicine in Infectious Disease. F. Murad, A. Rahman, K. Bian (Ed.), Herbal Medicine: Back to the Future içinde (123-152. ss.). Sharjah, UAE: Bentham Science Publishers Pte. Ltd. https://benthambooks.com/book/9781681089225

Spector, A. A. ve Yorek, M. A. (1985). Membrane lipid composition and cellular function. Journal of Lipid Research, 26(9), 1015-1035.

Cakmak, G., Severcan, M., Zorlu, F. ve Severcan, F. (2016). Structural and functional damages of whole body ionizing radiation on rat brain homogenate membranes and protective effect of amifostine. International Journal of Radiation Biology, 92(12), 837-848.

Ayala, A., Muñoz, M. ve Argüelles, S. (2014). Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 360438, 1-31.

Olusi, S. (2002). Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotectic enzymes in humans. International Journal of Obesity, 26(9), 1159-1164.

Gurbanov, R., Bilgin, M. ve Severcan, F. (2016). Restoring effect of selenium on the molecular content, structure and fluidity of diabetic rat kidney brush border cell membrane. Biochim Biophys Acta., 1858(4), 845-854.

Sen, I., Bozkurt, O., Aras, E., Heise, S., Brockmann, G. A. ve Severcan, F. (2015). Lipid profiles of adipose and muscle tissues in mouse models of juvenile onset of obesity without high fat diet induction: a Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopic study. Applied Spectroscopy, 69(6), 679-688.

Utzschneider, K. M, ve Kahn, S. E. (2006). The Role of Insulin Resistance in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 91(12), 4753-4761.

Hudgins, L. C., Hellerstein, M., Seidman, C., Neese, R., Diakun, J. ve Hirsch, J. (1996). Human fatty acid synthesis is stimulated by a eucaloric low fat, high carbohydrate diet. The Journal of Clinical Investigation, 97(9), 2081-2091.

Arriazu, E., Ruiz de Galarreta, M., Cubero, F. J., Varela-Rey, M., Pérez de Obanos, M. P., Leung, T. M., Lopategi, A., Benedicto, A., Abraham-Enachescu, I. ve Nieto, N. (2014).

Extracellular matrix and liver disease. Antioxidants & Redox Signaling, 1;21(7), 1078-1097.

Karsdal, M. A., Daniels, S. J., Holm Nielsen, S., Bager, C., Rasmussen, D. G. K., Loomba, R., Surabattula, R., Villesen, I. F., Luo, Y., Shevell, D., Gudmann, N. S., Nielsen, M. J., George, J., Christian, R., Leeming, D. J. ve Schuppan, D. (2020). Collagen biology and non-invasive biomarkers of liver fibrosis. Liver international: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver, 40(4), 736-750.

Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M. ve Shimomura, I. (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. Journal of Clinical Investigation, 114(12), 1752-1761.

Dankel, S. N., Bjørndal, B., Lindquist, C., Grinna, M. L., Rossmann, C. R., Bohov, P., Nygård, O., Hallström, S., Strand, E. ve Berge, R. K. (2021). Hepatic Energy Metabolism Underlying Differential Lipidomic Responses to High-Carbohydrate and High-Fat Diets in Male Wistar Rats. The Journal of Nutrition, 151(9), 2610-2621.

Wang, L., Yu, J. ve Walzem, R. L. (2008). High-carbohydrate diets affect the size and composition of plasma lipoproteins in hamsters (Mesocricetus auratus). Comparative Medicine, 58(2), 151-160.

Zhukova, N. V., Novgorodtseva, T. P. ve Denisenko, Y. K. (2014). Effect of the prolonged high-fat diet on the fatty acid metabolism in rat blood and liver. Lipids in Health and Disease, 13(49), 1-8.

Oosterveer, M. H., van Dijk, T. H., Tietge, U. J., Boer, T., Havinga, R., Stellaard, F., Groen, A. K., Kuipers, F. ve Reijngoud, D. J. (2009). High fat feeding induces hepatic fatty acid elongation in mice. PloS One, 4(6), e6066, 1-10.