T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

YÜKSEK YAĞ ve YÜKSEK KARBONHİDRAT İÇERİKLİ DİYETLERİN FARE İSKELET KAS DOKUSU YAPI ve FONKSİYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Nazlı EZER ÖZER

DANIŞMAN
Prof. Dr. Semra ÖZDEMİR

II. DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Ayça DOĞAN

Biyofizik Anabilim Dalı

Biyofizik Programı

Mayıs, 2022

Aileme ithaf ediyorum…

BÜTÇE DESTEKLERİ

YÜKSEK YAĞ ve YÜKSEK KARBONHİDRAT İÇERİKLİ DİYETLERİN FARE İSKELET KAS DOKUSU YAPI ve FONKSİYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Bu tez çalışması, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun (TÜBİTAK) 118S484 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmam boyunca gösterdiği rehberlik, destek, sabır ve teşvik ile her zaman yanımda olan danışmanım Prof. Dr. Semra Özdemir'e en içten teşekkürlerimi sunarım.
Doktora tez çalışmamın her aşamasında yardım ve desteğini hissettiğim, projesinde çalışma fırsatı bulduğum için kendimi çok sanslı hissettiğim eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ayça Doğan'a teşekkürlerimi sunarım.
Doktora tez çalışmam boyunca ve çalışma hayatımda bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyen öğreticiliği ve yol göstericiliği ile akademik yaşantıma ışık tutan Prof. Dr. Feride Severcan'a en derin teşekkürlerimi sunarım.
Deneysel çalışmalarımın Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde gerçekleştirmiş olduğum kısmında yardımını ve dostluğunu esirgemeyen arkadaşım Bahar Öztürk Kurt'a en içten teşekkürlerimi sunarım.
Doktora tez sürecim boyunca gösterdikleri destek, yardım ve teşvik için çalışma arkadaşlarım Fulya Küçükcankurt'a, Zeynep Güngördü Dalar'a ve Zeynep Taner'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.
Hayatım boyunca yanımda olan, sevgi, destek, ilgi ve anlayışları ile bu aşamaya gelmemi sağlayan canım annem Nurhan Ezer'e, canım babam Savaş Ezer'e ve hayatıma girdiği andan itibaren sevgi ve desteğini esirgemeyen canım eşim Tolga Özer'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs 2022 Nazlı EZER ÖZER

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI ..... **ii**
BEYAN iii
BÜTÇE DESTEKLERİ v
TEŞEKKÜR vi
İÇİNDEKİLER vii
ŞEKİL LİSTESİ ix
TABLO LİSTESİ xi
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ xii
ÖZET xv
ABSTRACT xvi
1. GİRİŞ 1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE **3**
2.1 OBEZİTE 3
2.2 İSKELET KASLARI 5
2.2.1 İskelet Kaslarının Yapısal Organizasyonu 7
2.2.2 Sarkolemmanın Yapısı 8
2.2.3 İskelet Kası Lif Çeşitleri 9
2.2.4 Longissimus Dorsi (LD) İskelet Kası 12
2.3 OBEZİTE, İSKELET KASLARI VE İNSÜLİN DİRENCİ 13
2.4 OBEZİTE ARAŞTIRMALARINDA KULLANILAN INBRED C57BL/6J FARE MODELLERİ 16
2.5 ELEKTROMANYETİK RADYASYON VE SPEKTROSKOPİNİN TEMELLERİ 17
2.5.1 Infrared (IR) Spektroskopi 21
2.5.2 Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopisi 22
2.6 ESER ELEMENTLER 24
2.6.1 Demir (Fe) 25
2.6.2 Çinko (Zn) 27
2.6.3 Krom (Cr) 28
2.7 İNDÜKTİF EŞLEŞMİŞ PLAZMA-OPTİK EMİSYON SPEKTROSKOPİSİ (ICP-OES) 30

3. YÖNTEM 34
3.1 HAYVANLARIN DENEY İÇİN HAZIRLANMASI 34
3.2 ATR-FTIR SPEKTROSKOPİ DENEYLERİ 345
3.2.1 ATR-FTIR Spektral Verilerin Toplanması 345
3.2.2 ATR-FTIR Spektrum Analizleri 346
3.3 ICP-OES DENEYLERİ 347
3.3.1 Örneklerin Hazırlanması ve Doku Yaş Yakma Tekniği 347
3.3.2 Eser Element Konsantrasyonlarının Tayini 347
3.4 İSTATİSTİKSEL ANALİZ 40
4. BULGULAR **41**
4.1 ATR-FTIR SPEKTROSKOPİ SONUÇLARI 41
4.1.1 İskelet Kas Dokularının Genel FTIR Spektrumu ve Bant Tanımlanması 41
4.1.2 3050-2800 cm^{-1} ve 1800-900 cm^{-1} Bölgelerinde İskelet Kas Spektrumlarının Genel Karşılaştırması 43
4.1.3 Detaylı Spektral Analiz 46
4.1.3.1 *İskelet Kas Spektrumlarının Bant Alan Oranlarının Karşılaştırılması* 46
4.1.3.2 *İskelet Kas Spektrumlarının Bant Frekansı ve Bant Genişliğinin Karşılaştırılması* 52
4.2 ICP-OES SONUÇLARI 53
5. TARTIŞMA **57**
6. SONUÇ VE ÖNERİLER **65**
KAYNAKLAR **66**
İNTİHAL RAPORU **78**
ETİK KURUL İZİN YAZISI **79**
ÖZGEÇMİŞ **80**

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: 2025 yılında Dünya'da yetişkinlerde obezite prevalansı tahminleri 4
Şekil 2.2: Türkiye'de 2019 yılına ait obezite prevalansı..... 5
Şekil 2.3: Işık mikroskobunda a) iskelet kası, b) kalp kası ve c) düz kasın görünümü 7
Şekil 2.4: İskelet kasının yapısal organizasyonu..... 8
Şekil 2.5: Miyofibrilin yapısal organizasyonu 9
Şekil 2.6: ATPaz boyası kullanılarak hazırlanan normal insan kasındaki kas lifi türleri 12
Şekil 2.7: Longissimus dorsi kası 13
Şekil 2.8: Elektromanyetik dalga 18
Şekil 2.9: Temel durumu ve ilk uyarılmış durumu gösteren tipik enerji seviyesi diyagramları 19
Şekil 2.10: Elektromanyetik spektrum 20
Şekil 2.11: Moleküler titreşim türleri 22
Şekil 2.12: Bir Michelson interferometresinin tipik şeması 23
Şekil 2.13: ATR-FTIR modunun tipik şeması 24
Şekil 2.14: Demir homeostazının hepsidin aracılı düzenlenmesi 26
Şekil 2.15: İnsan vücudunda çinko depolanması ve dağılımı 28
Şekil 2.16: Kromodulin tarafından insülin reseptör kinaz aktivitesinin aktivasyonu için önerilen mekanizma 30
Şekil 2.17: ICP-OES cihazının şematik gösterimi 32
Şekil 3.1: Arka fon ATR-FTIR spektrumu 36
Şekil 3.2: Ölçüme ait demir kalibrasyon grafiği 38
Şekil 3.3: Ölçüme ait çinko kalibrasyon grafiği..... 39
Şekil 3.4: Ölçüme ait krom kalibrasyon grafiği 39
Şekil 4.1: Kontrol diyeti (KD), yüksek karbonhidratlı (YKD) ve yüksek yağlı (YYD) diyetler ile beslenmiş B6 dişi farelerin karaciğer dokularına ait 4000-900 cm^{-1} bölgesinde amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar 42
Şekil 4.2: Kontrol (KD), yüksek karbonhidratlı (YKD) ve yüksek yağlı (YYD) diyetler ile beslenmiş B6 dişi farelerin iskelet kas dokularına ait 3050-2800 cm^{-1} frekans aralığında amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar 44

Şekil 4.3: Kontrol (KD), yüksek karbonhidratlı (YKD) ve yüksek yağlı (YYD) diyetler ile beslenmiş B6 dişi farelerin iskelet kas dokularına ait 1800-900 cm^{-1} frekans aralığında 3318 cm^{-1}'de lokalize olan amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar.....45

Şekil 4.4: LD iskelet kas dokularının alan oranlarındaki değişim a) Alifatik zincir uzunluğu $\mathbf{A_{2922}/A_{2958}}$ b) Doymuş lipit miktarı $\mathbf{A_{2852}/A_{2922+2852}}$ c) Doymamış / doymuş lipit miktarı $\mathbf{A_{3010}/A_{2922+2854}}$ 47

Şekil 4.5: LD iskelet kas dokularındaki lipit peroksidasyonu $\mathbf{A_{1163}/A_{2958}}$.....47

Şekil 4.6: LD iskelet kas dokularındaki trigliserit-kolesterol ester miktarı $\mathbf{A_{1743}/A_{2922+2854}}$....48

Şekil 4.7: LD iskelet kas dokularının alan oranlarındaki değişim a) Protein yapısal değişimi $\mathbf{A_{1640}/A_{1550}}$ b) Protein miktarı $\mathbf{A_{1640}/A_{1640+1550}}$ 49

Şekil 4.8: LD iskelet kas dokularında (CH_2 antisimetrik gerilme + CH_2 simetrik gerilme)/(amid I + amid II) bant alan oranı.....49

Şekil 4.9: LD iskelet kas dokularında amid II/kolajen bant alan oranı.....50

Şekil 4.10: LD iskelet kas dokularında C—O gerilme/(amid I + amid II) bant alan oranı.....51

Şekil 4.11: LD iskelet kas dokularında ölçülen demir konsantrasyonu.....54

Şekil 4.12: LD iskelet kas dokularında ölçülen çinko konsantrasyonu 55

Şekil 4.13: LD iskelet kas dokularında ölçülen krom konsantrasyonu.....55

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Dünyada obezite ile yaşayan 20 yaş üstü tahmini yetişkin sayısı 4

Tablo 2.2: DSÖ'ye göre eser elementlerin sınıflandırılması 25

Tablo 3.1: Elementlere ait standart değerler 38

Tablo 4.1: İskelet kas dokusu FTIR spektrumundaki başlıca soğurmalar 43

Tablo 4.2: Seçilen bantların alan oranları ve tanımları 46

Tablo 4.3: B6 dişi fare iskelet kas dokularının spektrumlarında görülen bantların alan oran değerleri arasındaki farklılıklar 51

Tablo 4.4: B6 dişi fare iskelet kas dokularının spektrumlarında görülen bantların frekans değerleri arasındaki farklılıklar 53

Tablo 4.5: B6 dişi fare iskelet kas dokularının spektrumlarında görülen bant genişliği değerleri arasındaki farklılıklar 53

Tablo 4.6: B6 dişi fare iskelet kas dokularında ölçülen Fe, Zn ve Cr konsantrasyonları arasındaki farklılıklar. 56

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler **Açıklama**

E : Elektrik Alan
B : Manyetik Alan
ν : Frekans
h : Planck Sabiti
λ : Dalga Boyu
c : Işık Hızı
$\bar{\nu}$: Dalga Sayısı

Kısaltmalar **Açıklama**

AAS : Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
AChE : Asetilkolinesteraz
AE : Akrodermatitis Enteropatika
Akt : Protein Kinaz B
Ar : Argon
as : Antisimetrik
ATR : Zayıflatılmış Toplam Yansıma
ATR-FTIR : Zayıflatılmış Toplam Yansıma-Fourier Dönüşüm Infrared
ATP : Adenozin Trifosfat
ATPaz : Adenozin Trifosfataz
B6 : C57BL/6J
Ca : Kalsiyum
CD : Dairesel Dikroizm
Co : Kobalt
Cr : Krom
CrPic : Krom Pikolinat
Cr-Tf : Krom-Transferrin
Cu : Bakır
Dmt1 : İki Değerlikli Metal (İyon) Taşıyıcı 1

DNA : Deoksiribonükleik Asit
DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü
Dcytb : Duodenal Demir Oksidoredüktaz
ECM : Hücre Dışı Matris
ESR : Elektron Spin Rezonans
Fe : Demir
FTIR : Fourier Transform Infrared
GC : Glukokortikoidler
Ge : Germanyum
GLUT4 : Glikoz Taşıma Proteinleri
$HClO_4$: Perklorik Asit
HNO_3 : Nitrik Asit
HOMA-IR : Homeostaz Model Değerlendirmesi-İnsülin Direnci
HOMA-β : β-Hücre Fonksiyonunun Homeostaz Modeli Değerlendirmesi
I : İnsülin
I : İyot
ICP : İndüktif Eşleşmiş Plazma
ICP-OES : İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektroskopisi
IGF-1 : İnsülin Büyüme Faktörü-1
IMCL : İntramiyoselüler Lipit
IR : Infrared
IR : İnsülin Direnci
IRS : İnsülin Reseptörü Substrat Proteinleri
IUPAC : Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
ipITT : İnsülin Tolerans Testi
K : Potasyum
KD : Kontrol Diyeti ile Beslenmiş Fare Grubu
LC-CoA : Uzun Zincirli Yağ Asiti Koenzim A
LD : Longissimus Dorsi
LDH : Laktat Dehidrogenaz
LMWCr : Düşük Moleküler Ağırlıklı Krom
Mg : Magnezyum
MHC : Miyozin Ağır Zincir
miRNA : Mikro Ribonükleik Asit

MMP : Metaloproteazlar
Mn : Manganez
Mo : Molibden
mRNA : Mesajcı Ribonükleik Asit
MyomiR : Kas-Spesifik Mikro Ribonükleik Asit
Na : Sodyum
NIH : Ulusal Sağlık Enstitüleri
NMR : Nükleer Manyetik Rezonans
PFK : Fosfofruktokinaz
PMT : Foton Çoğaltıcı Tüp
PUFA : Çoklu Doymamış Yağ Asiti
RF : Radyo Frekans
ROS : Reaktif Oksijen Türleri
s : Simetrik
SBD : Standart Beslenme Diyeti
Se : Selenyum
Si : Silikon
SOL : Soleus
Tfr1 : Transferrin Reseptör Protein 1
TGF-β : Dönüştürücü Büyüme Faktörü-β
TH1 : Tip 1 T Yardımcı Hücre
TIB : Tibialis
UV : Ultraviyole
VKİ : Vücut Kitle İndeksi
υ : Gerilme
YKD : Yüksek Karbonhidrat Diyeti ile Beslenmiş Fare Grubu
YYD : Yüksek Yağ Diyeti ile Beslenmiş Fare Grubu
ZDF : Zucker Diyabetik Yağlı
Zn : Çinko
ZnSe : Çinko Selenit
ZnT : Çinko Taşıma Proteinleri

ÖZET

DOKTORA TEZİ

YÜKSEK YAĞ ve YÜKSEK KARBONHİDRAT İÇERİKLİ DİYETLERİN FARE İSKELET KAS DOKUSU YAPI ve FONKSİYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Nazlı EZER ÖZER

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyofizik Anabilim Dalı

Biyofizik Programı

Danışman : Prof. Dr. Semra ÖZDEMİR

II. Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Ayça DOĞAN

Yaşam şekli ve yeme alışkanlıklarındaki değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkan obezite, oldukça yaygın metabolik bir hastalıktır. Özellikle yüksek enerji içerikli diyetlerin tüketilmesi obezite gelişiminde rol almakta, tip II diyabet, kardiovasküler problemler ve hipertansiyon gibi metabolik bozukluklara sebep olmaktadır. Bu tez çalışmasında, yüksek yağ ve yüksek karbonhidrat içeriğine sahip diyetlerin, inbred C57BL/6J dişi fare iskelet kas dokusundaki biyomoleküllerin yapı, miktar ve fonksiyonları üzerindeki etkilerinin ve eser element seviyelerindeki değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, dişi C57BL/6J farelerinin iskelet kas dokularında yüksek kalorili diyetlerin neden olduğu biyomoleküler değişiklikler Zayıflatılmış Toplam Yansıma-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spektroskopisi ile, eser element seviyelerindeki değişiklikler ise İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES) ile araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, yüksek karbonhidrat diyetinin yüksek yağlı diyete nazaran iskelet kas dokusunda daha fazla hasara sebep olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca her iki diyetin de lipit, protein, glikojen ve kolajen gibi biyomoleküllerin içeriğinde değişikliklere sebep olduğu, lipit düzeni ve dinamiğini etkilediği, eser element seviyelerinde değişiklikler meydana getirdiği, dolayısı ile moleküler seviyede iskelet kas fonksiyonlarını etkileyebilecek global değişikliklere sebep olabileceği gözlenmiştir.

Mayıs 2022 , 96. sayfa.

Anahtar kelimeler: Yüksek yağlı diyet, yüksek karbonhidratlı diyet, iskelet kası, FTIR, ICP-OES

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

EFFECTS of HIGH FAT and HIGH CARBOHYDRATE DIETS on THE STRUCTURE and FUNCTIONS of MOUSE SKELETAL MUSCLE TISSUES

Nazlı EZER ÖZER

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Biophysics

Biophysics Programme

Supervisor : Prof. Dr. Semra ÖZDEMİR

Co-Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ayça DOĞAN

Obesity, which arises from changes in lifestyle and feeding habits, is a very common metabolic disease. Especially, the increase in the consumption of high energy diets is one of the main factors that take role in the generation of obesity and causes metabolic disorders such as type II diabetes, cardiovascular problems and hypertension. In this thesis study, it was aimed to investigate the effects of high-fat and high-carbohydrate diets on the structure, amount and functions of biomolecules, and changes in trace element levels in inbred female C57BL/6J mouse skeletal muscle tissue. For this purpose, biomolecular changes induced by high-calorie diets in skeletal muscle tissues of female C57BL/6J mice were investigated by Attenuated Total Reflectance- Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) spectroscopy, and changes in trace element levels were investigated by Inductive Coupled Plazma-Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES). According to results, a high-carbohydrate diet causes more damage to skeletal muscle tissue than a high-fat diet. In addition, it has been observed that both diets cause changes in the content of biomolecules such as lipid, protein glycogen and collagen, affect lipid order and dynamics, cause changes in trace element levels, and lead to global changes that may affect skeletal muscle functions at the molecular level.

May 2022, 96. pages.

Keywords: High fat diet, high carbohydrate diet, skeletal muscle, FTIR, ICP-OES

1. GİRİŞ

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaşam şekli ve yeme alışkanlıklarındaki değişikliklere bağlı olarak birçok metabolik hastalık ortaya çıkmaktadır. Özellikle yüksek enerji içerikli diyetlerin tüketilmesi ile obezite, tip II diyabet, hipertansiyon, kalp ve damar sistemi gibi hastalıklarla sıklıkla karşılaşılmaktadır. Genellikle bu metabolik hastalıklar birbiri ile ilişkilidir ve birbirlerini tetiklemektedir. Bu hastalıkların ortak özelliği, vücutta insülin üretilmesine rağmen üretilen insülinin dokularda etkisini gösterememesidir (Karaçil ve Şanlıer, 2014; Misra ve diğ., 2010; Aggoun, 2007; Pritchett ve diğ., 2005; Ormazabal ve diğ., 2018; Solymoss ve diğ., 2003). İskelet kasları, vücutta bulunan kimyasal formdaki enerjiyi mekanik enerjiye dönüştüren dokudur. Vücuttaki karbonhidrat ve lipit metabolizmasını belirler. İnsülin metabolizmasında görev alarak insülin direnci oluşumunda rol oynar (DeFronzo ve Tripathy, 2009; Jensen ve diğ., 2011).

Biyolojik sistemde bulunan moleküllerin işlevlerini yerine getirebilmeleri yapılarına ve dinamik özelliklerine bağlıdır. Biyomoleküler miktar ve lipit düzeni gibi yapısal ve lipit dinamiği gibi fonksiyonel ilişkilerin ve moleküller arası etkileşimlerin incelenmesi hastalık oluşum mekanizmalarının açıklanabilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Protein-lipit etkileşimleri gibi biyomoleküler etkileşimlerin yapısal ve dinamik temelleri spektroskopik yöntemlerle en etkili şekilde incelenebilir. Fourier Transform Infrared (FTIR) spektroskopisi, biyolojik sistemlerdeki farklı makromoleküler fonksiyonel grupların büyük bir örnek miktarına ihtiyaç duyulmaksızın hızlı, hassas ve eş zamanlı olarak izlenmesini sağlayan değerli bir tekniktir (Ezer ve diğ., 2017; Dogan ve diğ., 2007; Bozkurt ve diğ., 2007; Bozkurt ve diğ., 2010; Garip ve diğ., 2016; Sen ve diğ., 2015).

Eser elementler, canlı dokularda çok az miktarlarda bulunan ancak hayati süreçler için oldukça önemli olan inorganik elementlerdir. Eser elementler bir dizi fizyolojik süreçte yer alırlar. Eser elementlerin uygun metabolik işleyişi, çeşitli vücut dokularındaki normal seviyelerine bağlıdır. Çeşitli metabolik özellikler ve fonksiyonlar nedeniyle, demir (Fe), bakır (Cu), çinko (Zn), krom (Cr) gibi eser elementler normal insan sağlığı için gerekli kabul edilir. Eser elementlerin eksikliği veya fazlası, tip II diyabet, mutasyon ve kanser gelişimi de dahil olmak üzere metabolik bozukluklara neden olabilir (Khan ve Awan, 2014).

İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES) çok küçük konsantrasyonda yüksek hassasiyette birçok elementin aynı anda kantitatif tayininin yapılabildiği hassas bir tekniktir. Temel prensibi yüksek derişimde katyon ve buna yaklaşık olarak eşdeğer derişimde elektron içeren plazmada atomlar ve iyonların uyarılması ile yaydıkları ışının uygun bir dedektörle ölçülerek çözeltideki elementlerin miktarının belirlenmesi esasına dayanır (Sneddon ve Vincent, 2008; Amorello ve diğ., 2016; He ve diğ., 2017).

Bu çalışmada, yüksek yağ ve karbonhidrat içeriğine sahip diyetlerle beslenen dişi C57BL/6J fare modellerinde obezite geliştirilerek longissimus dorsi (LD) iskelet kas dokusunda meydana gelebilecek yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin moleküler düzeyde incelenmesi ve bu diyetlerin iskelet kas dokusunda sebep olduğu eser element seviyelerindeki değişikliklerin saptanması amaçlanmaktadır. ATR-FTIR spektroskopisi ile elde edilen spektrumlardaki bantların alan oranları, frekansları ve bant genişlikleri ölçülerek istatiksel analizleri karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir. ICP-OES ile yüksek yağ ve karbonhidrat içeriğine sahip diyetlerle beslenen C57BL/6J fare iskelet kası doku örneklerindeki elementlerin tayinini yapmak için her bir elemente uygun dalga boyları seçilmiş ve konsantrasyonları saptanmıştır.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

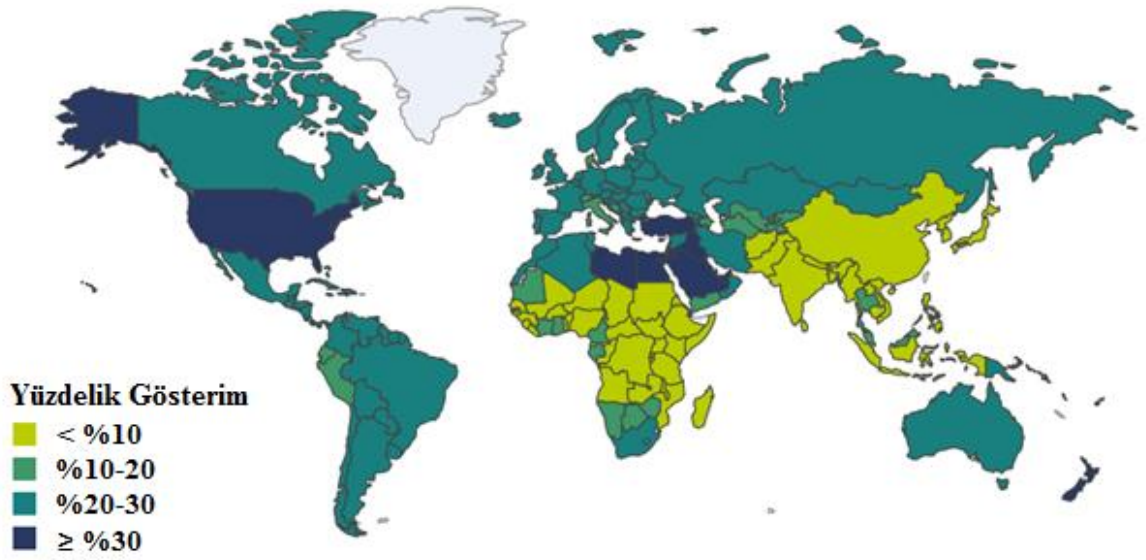
2.1. OBEZİTE

Obezite, enerji metabolizmasındaki aksaklıklar sonucu ortaya çıkan oldukça yaygın bir hastalıktır. Yaşam tarzı, yüksek kalorili diyetle beslenme, yetersiz fiziksel aktivite, ekonomik durum, genetik faktörler gibi birçok değişkenin etkisi ile ortaya çıkabilir. Prevalansının dünya çapında giderek artması ve insan sağlığını tehdit eden boyutlara ulaşması obeziteyi tüm bilimsel alanlarda sıklıkla çalışılan önemli bir araştırma konusu haline getirmiştir (Gülcan ve Özkan, 2006).

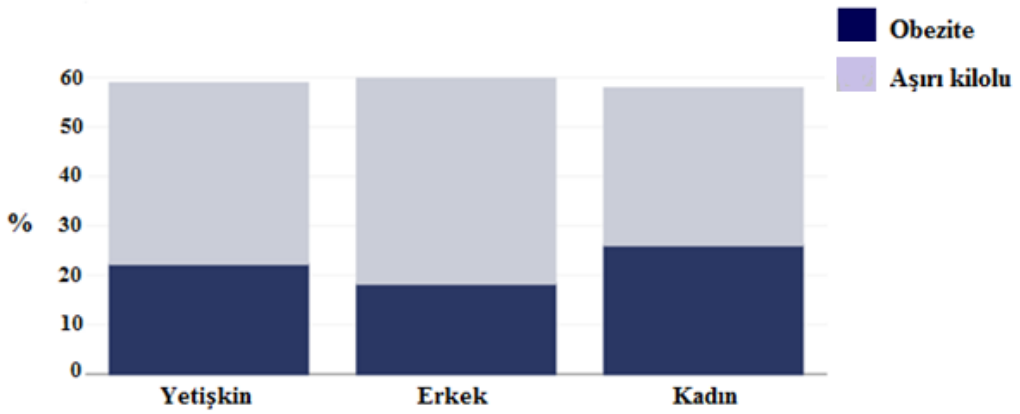
Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre fazla kilo ve obezite, sağlığı bozabilecek anormal veya aşırı yağ birikimi olarak tanımlanmaktadır. Vücut kitle indeksi (VKİ), yetişkinlerde aşırı kiloyu ve obeziteyi sınıflandırmak için yaygın olarak kullanılan basit bir boy-ağırlık indeksidir. Bir kişinin kilogram cinsinden ağırlığının, boyunun metre cinsinden karesine (kg/m^2) bölünmesiyle elde edilir. VKİ, her iki cinsiyette ve her yaştan yetişkin için aynı olduğundan, aşırı kilo ve obezitenin nüfus düzeyinde en yararlı ölçüsüdür. Farklı bireylerde aynı derecede şişmanlığı karşılayamadığından kabaca bir rehber olarak kullanılmaktadır. DSÖ'ye göre; yetişkinler için VKİ değeri 25'e eşit veya daha büyükse fazla kilolu, VKİ değeri 30'a eşit veya daha büyükse obezite olarak tanımlanır. Çocuklar için fazla kilo ve obezite tanısı konulurken yaş dikkate alınmaktadır. DSÖ, 2016 yılında yaklaşık 2 milyar yetişkinin fazla kilolu olduğunu ve 650 milyon yetişkinin obeziteden (VKİ $\geq$ 30 kg/m^2) etkilendiğini bildirmiştir (Tablo 2.1). Dünya çapında obezite prevalansı 1975 ile 2016 arasında neredeyse üç katına çıkmıştır. Mevcut eğilimler devam ederse, 2025 yılına kadar 2,7 milyar yetişkinin fazla kilolu olacağı, 1 milyardan fazla yetişkinin obeziteden etkileneceği ve 177 milyon yetişkinin obeziteden ciddi şekilde etkileneceği tahmin edilmektedir (Şekil 2.1). Türkiye'de de 2019 yılına ait obezite prevalansı Şekil 2.2'de verilmiştir (www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight, Erişim tarihi: 3 Nisan 2022; www.worldobesity.org/about/about-obesity/prevalence-of-obesity, Erişim tarihi: 3 Nisan 2022).

Tablo 2.1: Dünyada obezite ile yaşayan 20 yaş üstü tahmini yetişkin sayısı, 2016 (www.worldobesity.org/resources/resource-library/world-obesity-day-missing-the-targets-report, Erişim tarihi: 3 Nisan 2022).

	Fazla kilo VKİ ≥ 25-29,9 kg/m²	Obezite VKİ ≥ 30 kg/m²	Aşırı Obezite VKİ ≥ 35 kg/m²	Morbid Obezite VKİ ≥ 40 kg/m²
	694 Milyon	281 Milyon	67 Milyon	18,7 Milyon
	613 Milyon	390 Milyon	136 Milyon	45,4 Milyon
Toplam	1,307 Milyon	671 Milyon	203 Milyon	64,1 Milyon



Şekil 2.1: 2025 yılında Dünya'da yetişkinlerde obezite prevalansı tahminleri (data.worldobesity.org/maps/?area=maps, Erişim tarihi: 3 Nisan 2022).



Şekil 2.2: Türkiye'de 2019 yılına ait obezite prevalansı (https://data.worldobesity.org/country/turkey-219, Erişim tarihi: 3 Nisan 2022).

Yüksek enerjili besinlerin sıklıkla ve düzensiz tüketimi, enerji alımı ve harcanması arasında dengesizlik oluşturarak vücut homeostazının bozulmasına neden olur. Obezite, bulaşıcı olmayan hastalıklar için en önemli risk faktörlerinden birini oluşturmaktadır. Tip II diyabet, dislipidemi, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon vb. klinik bozukluklar obezitenin yakından ilişkili olduğu metabolik hastalıklardır (Goodpaster ve diğ., 2000; Kuhlmann ve diğ., 2005). Vücutta üretilen insülin hormonunun dokularda etkisini gösterememesi bu hastalıkların ortak özelliğidir. Diğer bir deyişle insülin direnci, dolaşımda normal konsantrasyonda bulunan insüline karşı hücrelerin verdiği azalmış cevap olarak adlandırılır (Gerich, 2003; Wilcox, 2005). Obezite, insülin direnci oluşumu, lipit ve karbonhidrat metabolizması bozuklukları ile yakından ilgilidir. Obez bireyler, insülinin karaciğerden glikoz çıkışını inhibe etme, ayrıca yağ ve kasta glikoz alımını teşvik etme yeteneğinin bozulması ile karakterize edilen, insülinin hücresel etkilerine karşı direnç geliştirir (Qatanani ve Lazar, 2015).

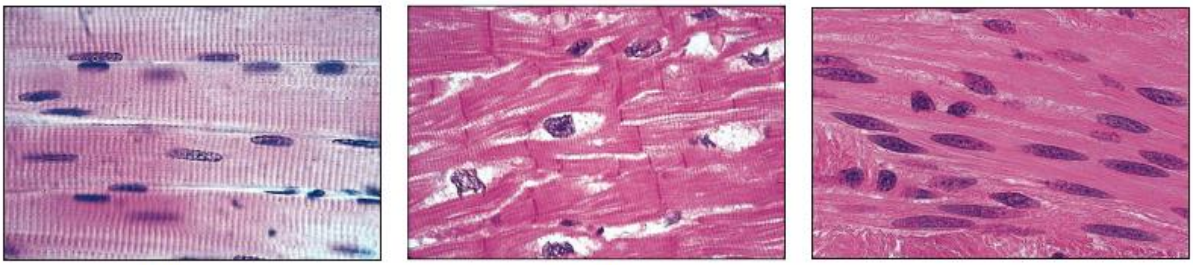
2.2. İSKELET KASLARI

Kalp kası, iç organlardaki düz kaslar ve iskelete tendonlar yardımıyla bağlanmış iskelet kasları insan vücudundaki kas sistemini oluşturur (Şekil 2.3). İskelet kasları, toplam vücut ağırlığının yaklaşık %40'ını oluşturur ve tüm vücut proteinlerinin %50-75'ini içerir. Düz kas ve kalp kasından farklı olarak iskelet kasları istemli kontrol altındadır (Serbest ve Eldoğan, 2014; Frontera ve Ochala, 2014).

İnsan vücudunun en dinamik dokularından biri olan iskelet kasları, su (%75), proteinler (%20) ve inorganik tuzlar, mineraller, yağ ve karbonhidratlardan (%5) oluşur. En bol bulunan iskelet kası proteinleri, kas kasılmasında rol oynayan aktin, miyozin ve tropomiyozindir. Ayrıca oksijen bağlayıcı protein olan miyoglobin de iskelet kası dokusunda bulunur. Kalan %5'lik kısım ise enzimler, tuzlar, mineraller ve yüksek enerjili fosfatlar, üre, laktat, kalsiyum, magnezyum, fosfor, sodyum, potasyum, klorür iyonları, amino asitler, yağlar ve karbonhidratlar dahil diğer maddelerden oluşur. Genel olarak kas kütlesi, protein sentezi ve yıkımı arasındaki dengeye bağlıdır ve her iki süreç de diğerlerinin yanı sıra beslenme durumu, hormonal denge, fiziksel aktivite/egzersiz ve yaralanma veya hastalık gibi faktörlere duyarlıdır (Frontera ve Ochala, 2014).

İskelet kasına mikroskopla bakıldığında görülen en çarpıcı özellik, uzun eksene dik değişen açık ve koyu renkli bantların belirgin bir dizisidir. Kalp kası da bu karakteristik çizgili deseni paylaştığı için, bu iki tipe de çizgili kas denir. Üçüncü temel kas türü olan düz kas, adını bu çizgili görünümün olmamasından alır.

Kas gelişimi ve normal aktivite, birlikte motor üniteye katkıda bulunan merkezi ve periferik sinir sistemlerine bağlıdır ve bunlarla yakından entegredir. Beyin sapı veya omurilikteki bir motor nöron, motor nörondan çıkan periferik akson, nöromüsküler kavşak ve son olarak iskelet kası lifi bir motor üniteyi oluşturur. İskelet kası, çoklu vücut fonksiyonlarına önemli ölçüde katkıda bulunur. Mekanik açıdan bakıldığında iskelet kasının temel işlevi, kimyasal enerjiyi mekanik enerjiye dönüştürmek, duruşu korumak, hareket, kuvvet ve güç üretmektir. Metabolik açıdan bakıldığında ise, iskelet kasının rolleri, amino asitler ve karbonhidratlar gibi önemli substratlar için depolama işlevi gören bazal enerji metabolizmasına katkı, ısı üretimi ve oksijen tüketimini içerir. Organa özgü proteinlerin sentezi için deri, beyin ve kalp gibi diğer dokuların ihtiyaç duyduğu amino asitlerin deposu olarak işlev görür. Ayrıca, kastan amino asit salınımı, açlık koşulları sırasında kan glikoz seviyelerinin korunmasına katkıda bulunur. Hastalıkların önlenmesi ve sağlığın korunmasıyla ilgili olarak, azaltılmış bir kas kütlesi, vücudun strese ve kronik hastalıklara tepki verme yeteneğini bozar (Frontera ve Ochala, 2014).



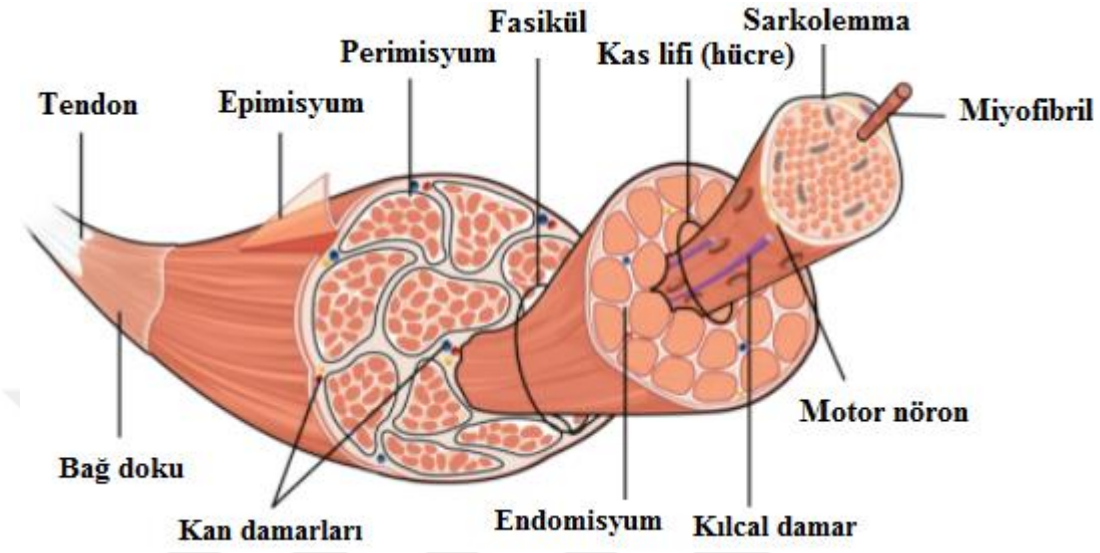
Şekil 2.3: Işık mikroskobunda a) iskelet kası b) kalp kası ve c) düz kasın görünümü (Widmaier ve diğ., 2016).

2.2.1. İskelet Kaslarının Yapısal Organizasyonu

Uzatılmış silindirik şekli ve birden fazla çekirdeğin varlığı nedeniyle, bir iskelet kası hücresine kas lifi de denir. İskelet kası mimarisi, kas liflerinin (miyofiber veya kas hücreleri) ve ilişkili bağ dokusunun çok özel ve iyi tanımlanmış bir düzenlemesi ile karakterize edilir. Diğer mezodermal kökenli hücrelerden farklı olarak kas lifi kendisine gelen uyarıyı alan, uyarlayabilen, yayan ve buna kasılma ile yanıt verebilen bir hücredir. Bu nedenle uygun özellikte ve dayanıklılıktadır, yoğun enerji kullanır. Kendisinden beklenen fonksiyonlar kas lifi yapısının özgün olmasını gerektirir. Her kas lifi, gelişim sırasında, miyoblastlar olarak bilinen bir dizi farklılaşmamış tek çekirdekli hücrenin, tek, silindirik, çok çekirdekli bir hücrede birleşmesi ile oluşturulur. Diğer hücre tipleriyle karşılaştırıldığında, iskelet kası lifleri son derece büyüktür. Yetişkin iskelet kası liflerinin çapları 10 ile 100 μm arasında ve uzunlukları 20 cm'ye kadar ulaşabilir.

Kas ve kas liflerinin yapısal organizasyonu Şekil 2.4'de gösterilmiştir. Epimisyum olarak bilinen fibröz bağ dokusu tüm kası çevreler. Bu koruyucu tabaka, tendonların yoğun ve güçlü bir bağ doku oluşturması için kas içi dokuyu birleştirir. Tendonlar, kasın her iki ucunu en dıştaki kemiğe bağlar. Epimisyumun altında fasikülleri oluşturan birçok lif demeti bulunur. Fasikülleri çevreleyen epimisyumdan uzanan bağ dokusu bölümlerine perimisyum denir. Her bir kas lifini kaplayan ve onu komşu liflerden ayıran ince bağ dokusu tabakasına endomisyum denir. Kılcal damarlar, endomisyum içinde bireysel kas liflerine oksijen ve besin sağlayan bir ağ oluşturur. Endomisyumun altındaki ince ve elastik kas lifi membranına sarkolemma adı verilir. Bu iki katmanın içine gömülü olarak proteinler yerleşmiştir (integral membran proteinleri). Lipit katmanların dışta olanı bazal lamina ile içte olanı ise hücre plazması ile komşudur. Sarkolemma üzerindeki en önemli yapılardan birisi, motor sinir akson terminalinin sinaps yaptığı, nöromüsküler kavşağın postsinaptik bölgesidir. Enzimler, yağ, glikojen, çekirdekler, mitokondri ve diğer organelleri içeren kas lifinin sitoplazmasına sarkoplazma

denir. Her bir lif, lifin çevresel kısmı etrafında düzenlenmiş birçok çekirdeğe sahiptir. Sarkoplazmik retikulum, depolarizasyon dalgasının T-tübül sistemi aracılığıyla lifin dış yüzeyinden iç ortamına hızla yayılmasını sağlar (Brooks, 2003; Widmaier ve diğ., 2016).



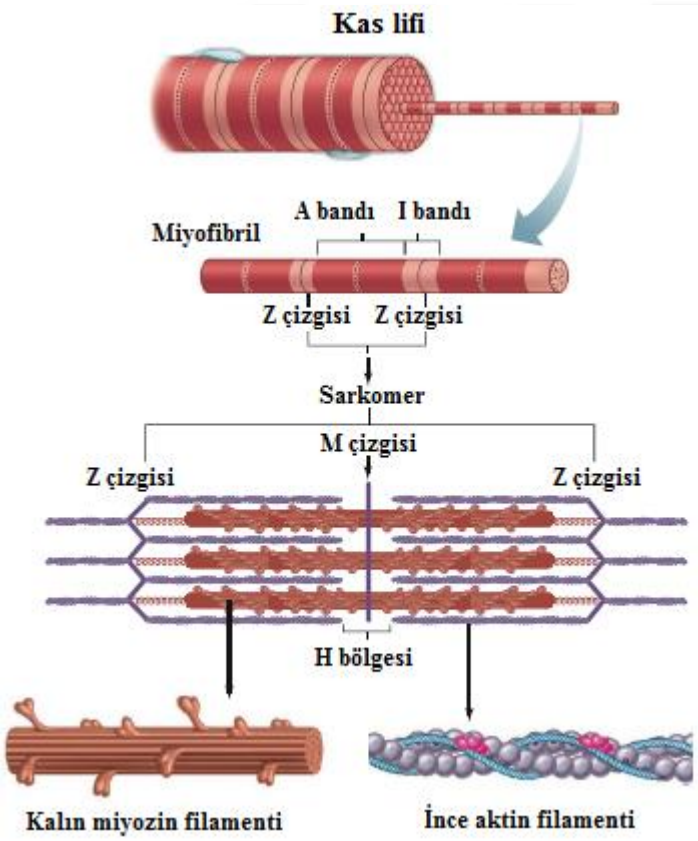
Şekil 2.4: İskelet kasının yapısal organizasyonu (Biga ve diğ., 2019).

2.2.2. Sarkolemmanın Yapısı

Su içeriği dikkate alınmadan, tek bir kas lifi çoğunlukla (%80) protein ve sarkoplazmadan (%8) meydana gelir. Her bir kas lifinin binlerce miyofibrilden oluştuğu ve milyarlarca miyofilament (protein) içerdiği tahmin edilmektedir. Miyofilamentler, çok düzenli ve karakteristik bir düzen içinde bir araya geldiklerinde, iskelet kasının temel kasılma birimleri olan sarkomerleri oluştururlar. Sarkomer ve sarkoplazma, hücre iskeletinin yapısına, uyarma ve kasılma süreçlerinin eşleşmesine, enerji salınımına ve kuvvet ve güç üretimine katkıda bulunan birçok başka protein içerir. En bol bulunan iki miyofilament, tek bir lifin toplam protein içeriğinin yaklaşık %70-80'ini oluşturan aktin ve miyozindir. Bunların dışında, tropomiyozin, troponin, α-aktinin, β-aktinin, M proteini ve C proteini gibi başka proteinler de vardır.

Miyofibrillerin yapısında, birbirini izleyen açık ve koyu renkli bantlar bulunur (Şekil 2.5). Bu durum, iskelet kasının çizgili yapısını oluşturur. Polarize ışık ile miyofibrillerin görünümü nedeniyle, kalın filamentlerin oluşturduğu geniş ve koyu bantlar A (anizotropik) ve ince filamentlerin kalın filamentlerle örtüşmeyen kısmını temsil eden açık bantlar I (izotropik) olarak adlandırılır. Koyu A bantları kalın miyozin filamentlerinden, açık I bantları ise ince aktin filamentlerinden oluşur. I bantlarını ikiye bölen ve bir sarkomerin sınırlarını belirleyen banta Z çizgisi adı verilir. A bantlarının ortasında, aktin filamentlerinin yokluğundan dolayı daha düşük

optik aktiviteye sahip bir bölge olan berrak H bölgesini veya bandını içerir. H bandının ortasında yer alan ve dar, koyu renkli bir şerit olan M bandı bitişik kalın filamentlerin merkez bölgelerini birbirine bağlayan proteinlere karşılık gelir. Kasın mekanik ve fizyolojik özelliklerine katkıda bulunan diğer proteinler titin ve nebulindir. Titin, sarkomerin Z diskine ve miyozine bağlanan ve kalın filamenti stabilize etmeye ve hizalamaya yardımcı olan büyük bir elastik proteindir. Nebulin ise aktin içeren ince filamentlerdeki diğer proteinlerle bütünleşir. Bu proteinler sarkomerin bütünlüğüne katkıda bulunur, tek hücrelerin pasif gerilim ve sertlik özelliklerini etkiler. Sarkomer, iki Z çizgisi arasında tekrar eden temel birimlerden oluşan iskelet kasının fonksiyonel birimidir (Cooper, 2000; Frontera ve Ochala, 2014; Widmaier ve diğ., 2016).



Şekil 2.5: Miyofibrilin yapısal organizasyonu (Widmaier ve diğ., 2016).

2.2.3. İskelet Kası Lif Çeşitleri

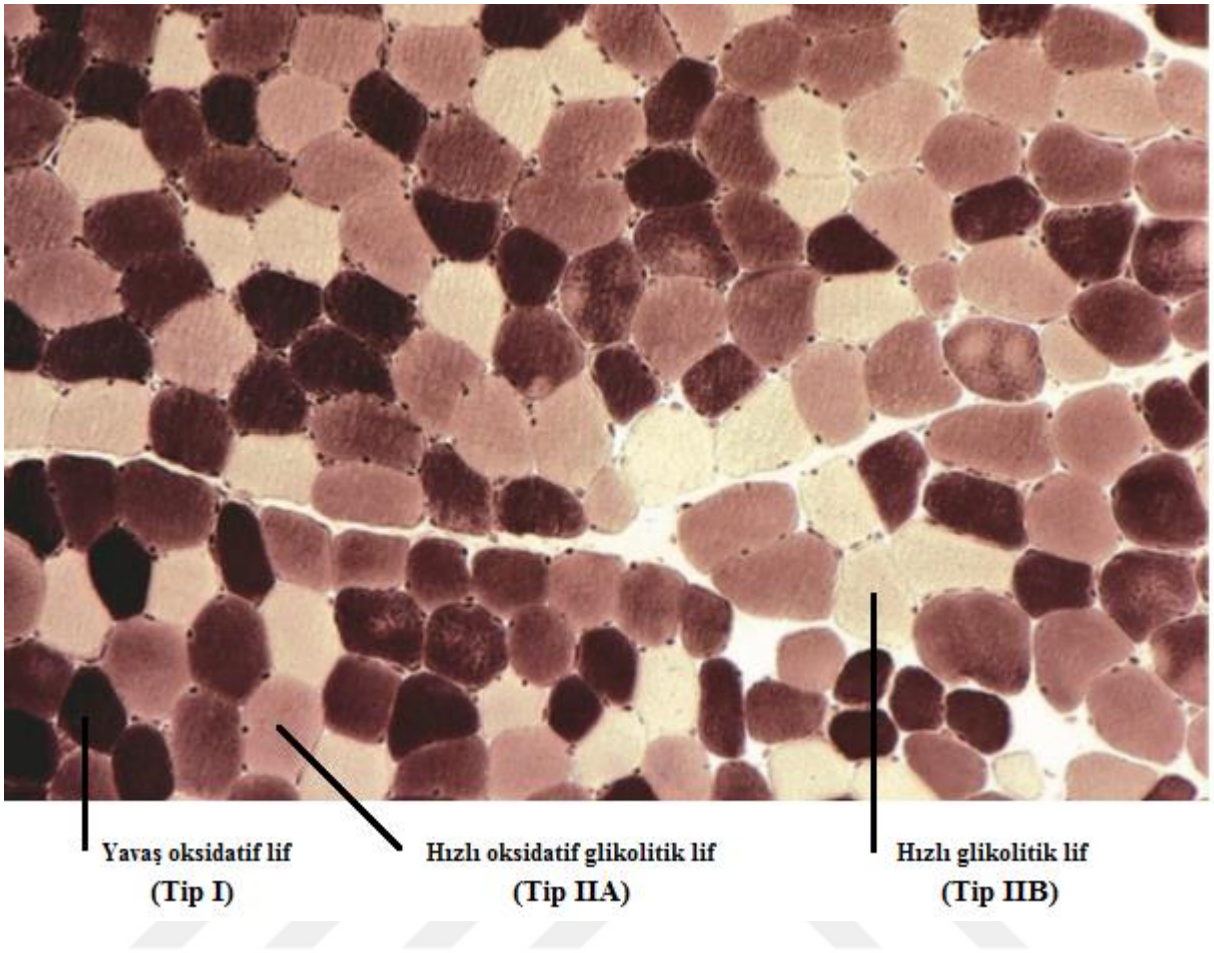
İnsan iskelet kasının heterojenliği, liflerin biyokimyasal, mekanik ve metabolik fenotiplerindeki önemli değişkenlik ile gösterilir. İnsan vücudunda farklı kaslar çeşitli lif türlerinin farklı göreli baskınlığına sahiptir. Aynı kasta farklı özelliklere sahip liflerin varlığı, motor nöronlar tarafından dayatılan farklı aktivite modellerine adaptasyonu yansıtabilir.

Fizyolojik özelliklerin bu çeşitliliği bir kasın çeşitli metabolik ve mekanik taleplerle aktivitelere katılmasına izin verir. Bu metabolik talepleri destekleyen kılcal besleme ağlarının mimarisi, fiber tipine bağlı olarak değişir. Ayrıca kas liflerinin denervasyon, kortikosteroidler, hormonal seviyeler, yaşlanma, hareketsizlik ve hastalık gibi uyaranlara tepkisi lif tipine özgüdür (Bottinelli ve Reggiani, 2000).

Bilim insanları, 19. yüzyılın ilk yarısından itibaren iskelet kaslarının kırmızı veya beyaz renklerine ve kasılma özelliklerine göre hızlı ve yavaş olarak ayırt edilebileceğinin farkındaydılar. Bununla birlikte, son 40 yılda kas lifi tipi çeşitliliği kavramı hızla ilerlemiş ve yetişkin memeli iskelet kaslarında dört ana lif tipinin tanımlanmasına yol açmıştır. İskelet kası, kasılma ve metabolik özelliklerine göre sınıflandırılan farklı lif tiplerinden oluşur. İskelet kası lifleri genel olarak "yavaş kasılan" (tip I) ve "hızlı kasılan" (tip II) olarak ikiye ayrılır. Tip I ve tip II lifler, farklı seviyelerde metabolik enzimlere ve kontraktil proteinlere sahiptir (Şekil 2.6). 1970 yılına kadar, memeli iskelet kaslarındaki çeşitliliğin yaygın görüşü, glikolitik metabolizma ile karakterize ve genellikle beyaz kaslarla tanımlanan fazik aktivite için özel hızlı kasılan kaslar ve miyoglobin ve oksidatif enzimler açısından zengin ve daha sürekli aktivite için özelleşmiş, kırmızı kaslar olarak da adlandırılan yavaş kasılan kaslardır (Schiaffino ve Reggiani, 2011).

Farklı iskelet kas lifi türleri, miyozin adenozin trifosfataz (ATPaz) aktivitesinin enzimatik özellikleri ve miyozin ağır zincir (MHC) izoformlarının moleküler türleri ile ayırt edilebilir. Tip I lifleri düşük miyozin ATPaz aktivitesine sahiptir ve tip I MHC'yi eksprese ederler. Tip I liflerde çok sayıda mitokondri bulunur, dolayısı ile oksidatif mekanizmaya daha iyi adapte olurlar ve yüksek oksidatif enzim sistemlerine sahiptirler. Bu tür liflerde adenozin trifosfat (ATP) üretiminin büyük bölümü kasa oksijen ve yakıt molekülleri sunan kan akışına bağımlıdır. Dolayısıyla, bu tip liflerin çok sayıda ince kan damarı ile kuşatılmış olması şaşırtıcı değildir. Ayrıca bu lifler, küçük bir oksijen deposu sağlayan miyoglobin adlı oksijen bağlayıcı proteini de yüksek düzeyde içerirler. Miyoglobin bu liflere koyu kırmızı bir renk verir. Dolayısıyla oksidatif lifler çoğu kez kırmızı kas lifleri olarak da adlandırılır. Daha yavaş kalsiyum işleme kabiliyeti ve kısalma hızı nedeniyle daha yavaş kasılma süresine sahiptirler ve yorgunluğa karşı dayanıklıdırlar. Bu nedenle, nispeten düşük yoğunluklu uzun süreli aktivite için en iyi şekilde uyarlanırlar. Tip I lifler çok sayıda enine yerleşimli mitokondri, beş çizgi içeren kalın bir Z diski ve nispeten düşük seviyelerde sarkoplazmik retikulum içerirler. Tip I lifler, daha az miktarda glikojene sahip olduklarını gösteren, enine kesit alanları boyunca düzgün bir granül birikimi sergiler.

Tip II lifler beyaz ve hızlı kasılan liflerdir. Ayrıca hızlı kasılan glikolitik (tip IIB) ve hızlı kasılan oksidatif-glikolitik (tip IIA) kas lifleri olarak iki gruba ayrılırlar (Şekil 2.6). Yüksek miyozin ATPaz aktivitesine sahiptirler ve kas lifi alt tiplerine bağlı olarak tip IIA ve IIB MHC eksprese ederler. Glikojen metabolizmasında yer alan daha yüksek konsantrasyonda enzimlere ve gelişmiş bir anaerobik enerji sistemine sahiptirler. Hızlı kasılan liflerin, glikolitik etkinin bir göstergesi olan daha yüksek bir fosfofruktokinaz (PFK) aktivitesine sahip oldukları gösterilmiştir. Daha hızlı kasılma süreleriyle yorgunluğa karşı dayanıksızdırlar. Kısa sürede yoğun aktiviteye daha iyi adapte olurlar. Tip I fiberlerle karşılaştırıldığında, enine tübüler sistemin membran özelleşmeleri tip II fiberlerde daha iyi gelişmiştir. Tip II liflerde kalsiyum (Ca^{2+}) salınımının hızlı olması ve verimli bir sarkoplazmik retikulum tarafından alınması nedeniyle aksiyon potansiyellerinin elektrokimyasal iletim kapasitesi yüksektir. Tip IIA lifleri, tip IIB liflerinden daha yüksek, tip I liflerden daha düşükbir oksidatif potansiyele sahiptir. Tip IIA lifleri, IIB tipi liflere göre yorulmaya karşı daha dirençlidir. Tip IIB lifleri, enine yerleşimli az sayıda mitokondriye, ince bir Z diskine ve bol miktarda sarkoplazmik retikuluma sahiptir. Tip IIA lifleri çok sayıda uzunlamasına mitokondriye, bir ara Z diskine ve bir ara sarkoplazmik retikulum içeriğine sahiptir. Tip II lifler, sitoplazma boyunca glikojenden oluşan çok sayıda granüllere sahiptir. Aksine, glikolitik liflerde tek tük mitokondri varsa da bunlarda glikolitik enzimler yüksek derişimdedir, geniş bir glikojen deposu bulunmaktadır. Oksijenin sınırlı miktarda kullanılmasına uygun olarak bu lifler görece az sayıda kan damarı ile kuşatılmıştır ve pek az miyoglobin içerir. Miyoglobinin eksikliği glikolitik liflerin soluk renginden sorumludur ve bunlara beyaz kas lifi adı verilir (Tellis ve diğ., 2004; Schiaffino, 2018; Talbot ve Maves 2016; Herbison ve diğ., 1982; Scott ve diğ., 2001).



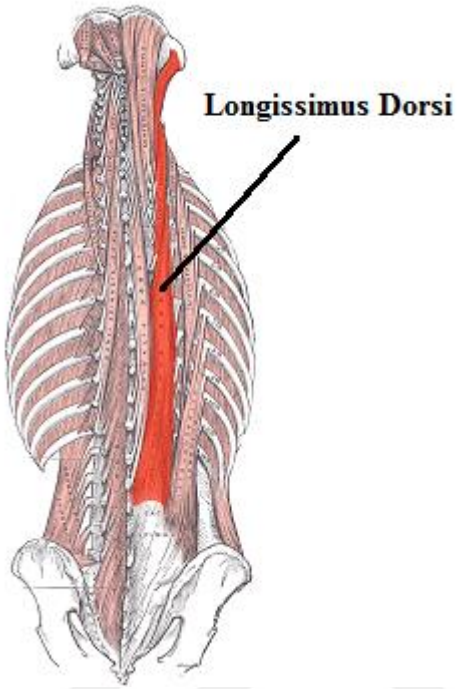
Şekil 2.6: ATPaz boyası kullanılarak hazırlanan normal insan kasındaki kas lifi türleri (Widmaier ve diğ., 2016).

2.2.4. Longissimus Dorsi (LD) İskelet Kası

Sırt kasları, intrinsik (birincil) sırt kasları ve ekstrinsik (ikincil) sırt kasları olarak gruplandırılmış çeşitli büyüklük ve işlevlere sahip birkaç kastan oluşur. Bu ayırım, kas gruplarının işlevselliğine ve embriyolojik kökenine dayanmaktadır. Ekstrinsik kaslar yüzeysel ve orta sırt kaslarını, intrinsik kaslar ise derin sırt kaslarını oluşturur. İntrinsik kasların orta katmanı, erektör spina diğer bir adıyla sakrospinalis kas grubundan meydana gelir. Erektör spina, vertebral kolonun tüm uzunluğu boyunca uzanan ve intrinsik veya derin sırt kaslarının ara katmanını içeren büyük bir kas-tendinöz kompleksidir. Erektör spina kasları, vertebral kolonun en güçlü ekstansörleridir.

Longissimus, Latince 'en uzun' anlamına gelir. Posterior servikal omurların enine süreçlerine doğru uzanan erektör spina kaslarının en uzun alt bölümüdür. Longissimus dorsi, spinalis ve iliokostalis ile birlikte erektör spina grubunu oluşturur. Longissimus en uzun, en kalın ve en merkezi erektör spina kasıdır (Şekil 2.7). Longissimus dorsi kası sırtaki en büyük kas olduğundan, omurganın stabilitesi üzerinde büyük etkisi vardır ve uygun hareket

kabiliyetini kolaylaştırır. Longissimus dorsi kası, bol miktarda hızlı kasılan glikolitik lifler (tip IIB) ile karakterize edilir. Bulundukları yere göre üç kısma (kapitis, servisis, torasis) ayrılır (Guzek ve diğ., 2015).



Şekil 2.7: Longissimus dorsi kası (Lewis, 1918)

Longissimus kapitis, başı bir yandan diğer yana döndürmeye ve başı uzatmaya yarayan boyun kasının en uzun kısmıdır. Longissimus servisis, longissimus kapitis ve longissimus torasis arasında yer alan kasın orta kısmıdır. Longissimus torasis, erektör spina kas grubunun kuyruk kısmı ve en belirgin bileşenidir. Longissimus torasis, lomber ve torasik olarak ikiye ayrılır (Lewis, 1918; Dietrich ve diğ., 2021).

2.3. OBEZİTE, İSKELET KASLARI VE İNSÜLİN DİRENCİ

Obezite ve diyabet tüm dünyada salgın boyutlarına ulaşmış metabolik hastalıklardır. Bu hastalıkların ortak özelliği insülin direnci oluşturmalarıdır. Bu nedenle insülinin geniş kapsamlı fizyolojik süreçlerdeki rolünü anlamak birçok metabolik hastalık için kritik bir öneme sahiptir. İnsülin, pankreas adacıklarının β hücreleri tarafından salgılanan bir peptit hormonudur. Hücresel glikoz alımını kolaylaştırarak, karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmasını düzenler ve mitojenik etkileriyle hücre bölünmesini ve büyümesini teşvik ederek normal kan glikoz seviyelerini korur. İnsülin direnci, insülinin glikoz düşürücü aktivitesine karşı hücrelerin

azalmış tepki gösterdiği patofizyolojik bir durumdur. Vücutta glikoz dağılımı ve glikoz homeostazının belirlenmesinde rol oynayan en temel dokulardan biri iskelet kası dokusudur. İskelet kasında insülin duyarlılığının bozulması, obezite ve tip II diyabet gibi metabolik hastalıkların patogenezinde erken bir belirteçtir. İnsülin direnci oluşumu sonucu kandaki glikozun kaslara alınamaması lipit ve protein metabolizmalarında bozukluklara yol açar (Wilcox, 2005; Venojärvi ve diğ., 2005; Borkman ve diğ., 1993; Fazakerley ve diğ., 2019).

İskelet kası, miyozin ağır zincir izoform ekspresyonuna göre bölünebilen, farklı lif tiplerinden oluşan heterojen bir dokudur. Farklı lif tiplerinin özellikleri ve iskelet kas dokusundaki kompozisyonları iskelet kaslarının insüline duyarlılığını etkiler. Oksidatif tip I lif baskın kaslarda insülin ile uyarılan glikoz alımı, glikolitik tip II liflere sahip kaslardan daha yüksektir. Yavaş kasılan oksidatif tip I kas lifleri insüline en duyarlı kaslardır. Tip I kaslara yakın özellikler gösteren tip IIa kasları hızlı kasılırlar fakat yüksek oksidatif ve düşük glikolitik kapasiteye sahiptirler. Hızlı kasılan glikolitik tip IIb kas lifleri ise insüline karşı direnç gösterirler (Albers ve diğ., 2015; Song ve diğ., 1999; Venojärvi ve diğ., 2005).

İskelet kasındaki insülin direncinin kesin mekanizması bilinmemektedir. Literatürde, obezitede insülin direnci patolojisinin açıklanabilmesi için birkaç mekanizma önerilmiştir. Frias ve diğ. (2016) diyetle indüklenen obez farelerin soleus iskelet kasında mikro ribonükleik asit (miRNA)'lerin insülin direnci oluşumunun belirteçleri olabileceğine dair kanıtlar sunmuşlardır. Kas-spesifik mikroRNA'ların (myomiR), iskelet miyositlerinde insülin yanıtı ile ilişkili olan insülin büyüme faktörü-1 (IGF-1) sinyal yolunu hedeflediği göstermiş, bu durumun iskelet kasında insülin direnci gelişiminin bir belirteci olabileceğini öne sürmüşlerdir. Ayrıca kas-spesifik miRNA'ların (örn., miR-1a, miR-133a ve miR-206) miyogenezde kritik rol oynadığı bildirilmiştir. Wu ve Ballantyne (2017), obezitenin kronik inflamasyon ile ilişkili olduğunu, inflamasyonun obezitede iskelet kasında meydana geldiğini ve esas olarak artmış immün hücre infiltrasyonu ve intermiyoselüler ve perimusküler yağ dokusunda proinflamatuar aktivasyon ile kendini gösterdiğini ifade etmişlerdir. Diğer dokulardan, özellikle viseral adipoz dokudan artan yağ asitleri ve inflamatuar molekül akışının kas inflamasyonunu indükleyebileceğini ve miyosit metabolizmasını negatif olarak düzenleyerek insülin direncine yol açabileceğini göstermişlerdir. Khan ve diğ. (2014) obezitede αβ T hücrelerinin insülin duyarlılığı ve iskelet kası ve yağ dokusunun inflamatuar durumu üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, obez TCRb-/- farelerde azalan yağ dokusu ve iskelet kası enfeksiyonunun kısmen Tip 1 T yardımcı (TH1) hücrelerinin yokluğuna atfedilebileceği ve TH1 hücrelerinin obezitede inflamasyonu ve insülin direncini düzenlemede

önemli bir rolü olduğunu göstermişlerdir. İnsülin duyarlılığı, insülinin etkisine dahil olan kas membranlarındaki fosfolipitlerin yağ asidi bileşimi ile ilgili olabileceğini hipotez eden Borkman ve diğ. (1993) koroner arter cerrahisi geçiren 27 hastadan rektus abdominis kası örnekleri almış ve açlık serum insülin seviyelerini ölçmüşlerdir. İkinci çalışmalarında, 13 normal erkekte vastus lateralis kasından biyopsi yaparak insülin duyarlılığını öglisemik klemp çalışmalarıyla değerlendirmişlerdir. Sonuçlara göre, azalmış insülin duyarlılığının, iskelet kası fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin konsantrasyonlarının azalmasıyla ilişkili olduğunu ve kasların yağ asidi bileşimindeki değişikliklerin insülinin etkisini modüle etme olasılığının yüksek olduğunu ifade etmişlerdir. Storlien ve diğ. (1996) yüksek yağlı diyetle indüklenen insülin direncinin in vivo olarak diyetin yağ asidi profili ile ilişkili olduğunu, membran fosfolipitlerinin yağ asidi bileşimindeki değişikliklerin, insülin bağlanma mekanizmasını etkilediğini ifade etmişlerdir. Hem sıçanlarda hem de insanlarda in vitro ve in vivo çalışmalar, daha fazla doymamış yağ asitlerinin kas membranı fosfolipitlerine dahil edilmesinin gelişmiş insülin etkisi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Sonuç olarak, daha yüksek oranda doymuş yağın, insülin etkisinin bozulmasıyla (insülin direnci) bağlantılı olduğunu ifade etmişlerdir. Artan intramiyoselüler lipit (IMCL) içeriğinin, insülin direnci için biyobelirteç olarak önerildiği bir çalışmada, Kuhlmann ve diğ. (2005) tibialis (TIB) ve soleus (SOL) kasındaki insülin duyarlılığı indeksleri ile IMCL içeriği arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. IMCL, özellikle TIB'de, çeşitli sıçan modellerinde insülin duyarlılığı için geçerli bir biyobelirteç olduğunu göstermişlerdir. İnsülin etkisi ve yağlanmanın hücrenin yapısal lipit bileşimindeki değişikliklerle ilişkili olduğu hipotezini araştırmayı amaçlayan bir çalışmada, Pan ve diğ. (1997) 52 yetişkin erkek Pima Kızılderilisinde, insülin etkisi (öglisemik kelepçe), vücut yağ yüzdesi ve vastus lateralis kasının fosfolipit yağ asidi bileşimini belirlemişlerdir. Vücut yağ yüzdesinin, bir dizi bireysel yağ asidi ve delta5 desatüraz aktivitesi ile korele olduğu belirtilerek, delta5 desatüraz aktivitesinin bağımsız olarak hem insülin direnci hem de obezite ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Kas lifi tipi ile membran yağ asidi bileşimi arasındaki ilişkiyi araştırmak ve gönüllü egzersizin her iki değişkeni nasıl etkileyebileceğini belirlemek amacıyla Kriketos ve diğ. (1995) sedanter Wistar sıçanlarında, daha oksidatif ve insüline duyarlı kırmızı kuadriseps ve soleus kaslarında artan miktarlarda doymamış yağ asitleri, glikolitik beyaz kuadriseps kaslarında ise düşük çoklu doymamış yağ asitleri seviyeleri bulmuşlardır. Yetişkin dişi sıçanlar tarafından 45 gün boyunca gönüllü çalışan tekerlek egzersizi, ekstansör digitorum longus kasında tip IIb liflerinin oranlarının azalmasına, tip IIa/IIx

liflerinin oranlarının artmasına neden olmuştur. Egzersizin oksidatif kapasiteyi önemli ölçüde artırdığını tespit etmişlerdir.

2.4. OBEZİTE ARAŞTIRMALARINDA KULLANILAN INBRED C57BL/6J (B6) FARE MODELLERİ

Kendinden türemiş suşlar, birbirini izleyen 20 nesil erkek kardeş-kız kardeş çiftleşmesinin ürünü olarak tanımlanır. Bu koşullar altında, herhangi bir lokusta homozigotluk (bir genin iki aleli arasındaki genetik özdeşlik) olasılığının yaklaşık %100 olduğu hesaplanmıştır. Kendi içinde yetiştirilmiş bir suş statüsünü elde ettikten sonra, kesin olarak kabul edilen isimlendirme kuralları ile bir isim alır ve tür, bilimsel literatür aracılığıyla, genetik ve fenotipik özellikleri ile dünya çapında tanınır hale gelir. Bu tür genellikle daha sonra dünyadaki herhangi bir araştırmacı tarafından kullanılabilir. Inbred soyların kullanımı, deney aşamasında gerekli fare sayısını önemli derecede azaltır. Inbred bir türün her bir faresi, o türdeki diğer tüm farelerin özdeş bir ikizini temsil ettiğinden, farelerin doğal soyları, karmaşık hastalıkların genetiğinin incelenmesinde kullanım için güçlü araçlardır. Daha yaygın olarak kullanılan laboratuvar suşlarından bazıları pigmentasyonlarıyla birlikte şunları içerir: A (albino), BALB/c (albino), C3H (agouti), C57BL/6 (siyah), C57BL/10 (siyah), C57BR (kahverengi), C58 (siyah), DBA (seyreltik kahverengi), FVB (albino), NZB (siyah), NZW (beyaz), SJL (albino), SWR (albino) ve 129/Sv (genellikle albino veya çinçilla). Kendilenmiş bir türün tam adı, farelerin kaynağını belirtmek için bir kısaltma içerir. Kısaltma, doğuştan gelen suşun adını izleyen bir eğik çizgiden (/) sonra gelir. Örneğin, A/J fareleri Jackson Laboratuvarı'ndan A türü fareler olurken, FVB/N fareleri Ulusal Sağlık Enstitüleri'nden (NIH) FVB fareleri olacaktır. Standart adında a/ olan suşlar için, tedarikçinin kısaltması adın sonuna eklenir (örneğin, Jackson Laboratuvarı'ndan C57BL/6J fareleri) (Silver, 2001; Roderick, 2013; Kawai ve Rosen, 2013; Overbeek, 2014).

Obezite, diyet dahil olmak üzere genler ve çevre arasındaki karmaşık etkileşimlerin neden olduğu metabolik bir hastalıktır. İnsan diyetini kontrol etmek zor olduğu için insanlarda diyetle çevre ve gen etkileşimlerini incelemek zordur. İnsanlar obezite derecelerinde farklılık gösterir ve bu en azından kısmen genetik yapıları tarafından açıklanır. Bu nedenle, obezitenin genetiğini incelemek için birkaç hayvan modeli geliştirilmiştir. İnsanlar gibi, kemirgen türleri de obezite ve kilo alma dereceleri bakımından farklılık gösterirler. Bu tez çalışmasında, yüksek kalorili diyetlere maruz bırakıldığında çevresel ve genetik faktörlere bağlı olarak insan

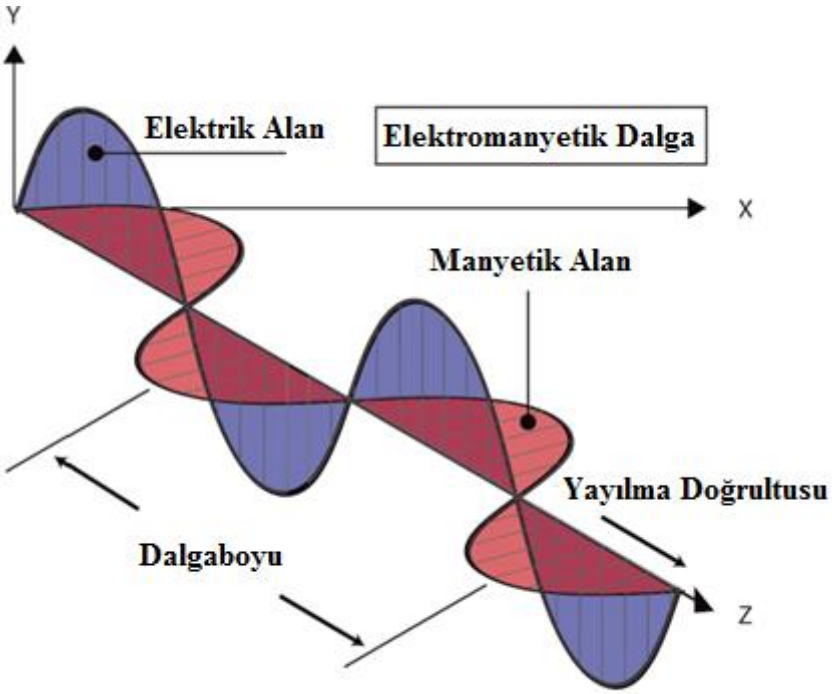
obezitesine en yakın modeli oluşturan inbred C57BL/6J farelerinin kullanılmıştır (Lin ve diğ., 2013).

2.5. ELEKTROMANYETİK RADYASYON VE SPEKTROSKOPİNİN TEMELLERİ

19. yüzyılda elektrodinamiğin hızlı gelişmesinin bir sonucu olarak, elektromanyetik dalgalar teorisi, elektromanyetik alanın özel bir formu olarak ortaya çıktı. 19. yüzyılın başında Danimarkalı fizikçi Hans Cristian Oersted ve İngiliz fizikçi Michael Faraday elektrik ve manyetik alanların bölünmezliği hakkında bir teori ortaya attılar. 1846'da İngiliz bilim adamı James Clarc Maxwell, elektriksel ve manyetik olayların temellerini bütünüyle açıklayan bir elektromanyetik alan teorisi yayınladı. Matematiksel olarak daha sonra Maxwell denklemleri olarak adlandırılan bu teorisini dört maddede şu şekilde açıkladı:

1. Elektrik alan kuvvet çizgilerinin orijinleri vardır ve elektrik yükleriyle son bulurlar.
2. Manyetik alan kuvvet çizgileri kapalı eğrilerdir.
3. Değişken bir manyetik alan, bir elektrik alanının oluşmasına neden olur.
4. Değişken elektrik alan ve hareket halindeki elektrik yükleri manyetik alanların oluşmasına neden olur.

Maxwell denklemlerinden, elektrik ve manyetizmanın tek bir elektromanyetik kuvvetin farklı göstergeleri olduğu anlaşılmaktadır. Manyetik alandaki bir değişiklik elektrik alanda bir değişiklik yaratır ya da bunun tam tersi olarak elektrik alandaki bir değişiklik de manyetik alanda değişime sebep olur. Elektrik yüklerinin ivmeli hareketi, uzayda sabit bir ışık hızında yayılan elektromanyetik dalgaları oluşturur. Elektromanyetik dalgalar, yayılmaları için bir ortama ihtiyaç duymadıkları için mekanik dalgalardan farklıdır. Bu, elektromanyetik dalgaların yalnızca hava ortamında ve katı malzemelerle değil, aynı zamanda boşlukta da hareket edebileceği anlamına gelir (Dervić ve diğ., 2019). Bir elektromanyetik dalganın şematik gösterimi Şekil 2.8’de verilmiştir.



Şekil 2.8: Elektromanyetik dalga (Verhoeven, 2017).

Elektromanyetik radyasyon, birbirlerine ve yayılma doğrultusuna dik bir açıyla salınan hem elektrik alan hem de manyetik alan bileşenlerine sahiptir. E elektrik alanı, B ise manyetik alanı temsil eder. Bohr denklemi, bir elektromanyetik dalganın enerjisini ölçmek için kullanılır:

$$\Delta E = h \nu \quad (2.1)$$

ν, uygulanan radyasyonun frekansını, h ise Planck sabitini (6.6×10^{-34} Js) ifade eder.

Dalga boyu ve frekans çarpılırsa, bir dalganın yayılma hızı elde edilir:

$$c = \lambda \nu \quad (2.2)$$

c, vakumda ışığın hızını (3×10^{8} ms^{-1}), λ ise dalga boyunu temsil eder. Dalga sayısı, bir santimetre uzunluğundaki dalgaların sayısı olarak tanımlanır ve cm^{-1} cinsinden ifade edilir. Yaygın olarak kullanılan bir spektroskopik birimdir.

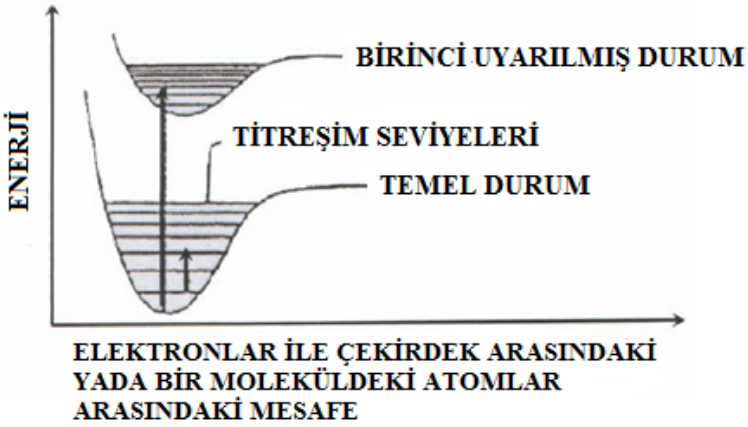
$\bar{\nu}$ = dalga sayısı = $1 / \lambda = \nu / c$ ile hesaplanabilir. (2.3)

Bu iki denklem birlikte kullanılırsa,

$E = h \nu = h c \bar{\nu}$ elde edilir. (2.4)

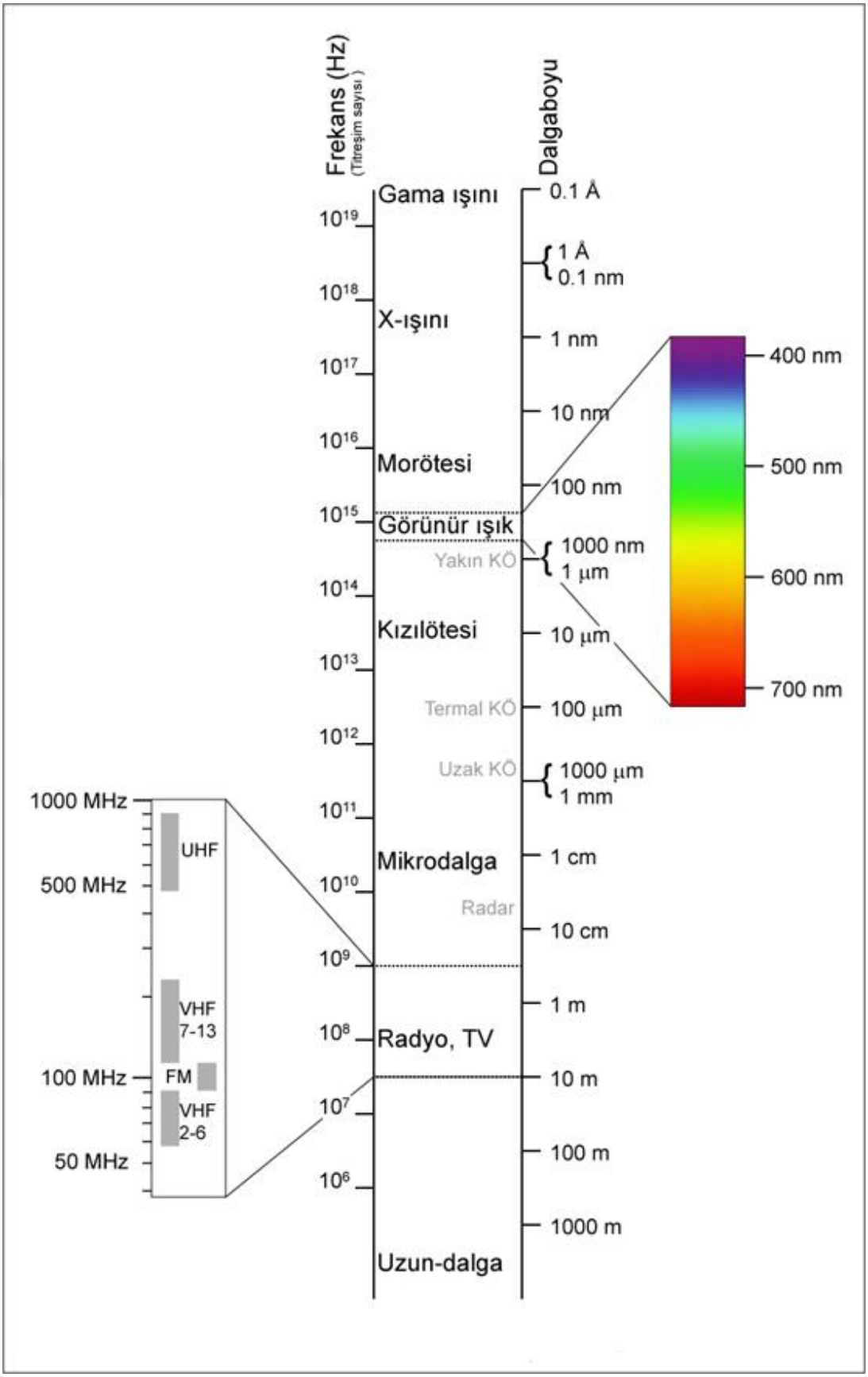
Denklemlerden de görüleceği gibi enerji, hem dalga sayısı hem de frekans ile doğru orantılıdır. Frekansı temsil eden sayısal değerler büyük olduğu için spektroskopik çalışmalarda dalga sayısı tercih edilir (Stuart, 2004).

Elektromanyetik radyasyon bir madde ile etkileşime girdiğinde üç farklı olasılık ortaya çıkar. Elektromanyetik radyasyonun yayılma yönü değişirse saçılabilir; enerjisi moleküle aktarılırsa soğurulabilir; enerji salıyorsa yayılabilir. Bir molekül elektromanyetik radyasyonu soğurursa, maddenin içindeki moleküller daha yüksek bir enerji seviyesine uyarılır. Uyarılmış molekül, kuantum mekaniği yasalarıyla tanımlanan molekülün enerji seviyeleri arasındaki farka eşit bir enerji kazanabilir. Elektronların uzaysal dağılımlarından elde edilen elektronik enerji seviyeleri, Şekil 2.9'da bir enerji seviyesi diyagramı ile verilmiştir. Temel durumdaki elektronlar en düşük enerji seviyesine sahiptir ve temel durumdakiler dışındaki tüm diğer elektronlar uyarılmış durumdadır. Toplam enerji, farklı enerjilerin toplamı ile elde edilir: $E_{toplam}=E_{öteleme}+E_{rotasyonel}+E_{titreşim}+E_{elektronik}+E_{elektronik\ spin\ oryantasyonu}+E_{nükleer\ spin\ oryantasyonu}$ (Campbell ve Dwek, 1984; Freifelder, 1982).



Şekil 2.9: Temel durumu ve ilk uyarılmış durumu gösteren tipik enerji seviyesi diyagramları. Titreşim seviyeleri ince yatay çizgiler olarak gösterilir. İlk uyarılmış durumun temel durumu ile dördüncü titreşim seviyesi arasındaki olası bir elektronik geçiş, uzun okla gösterilir. Temel durum içindeki titreşim geçişi kısa okla gösterilir (Freifelder, 1982).

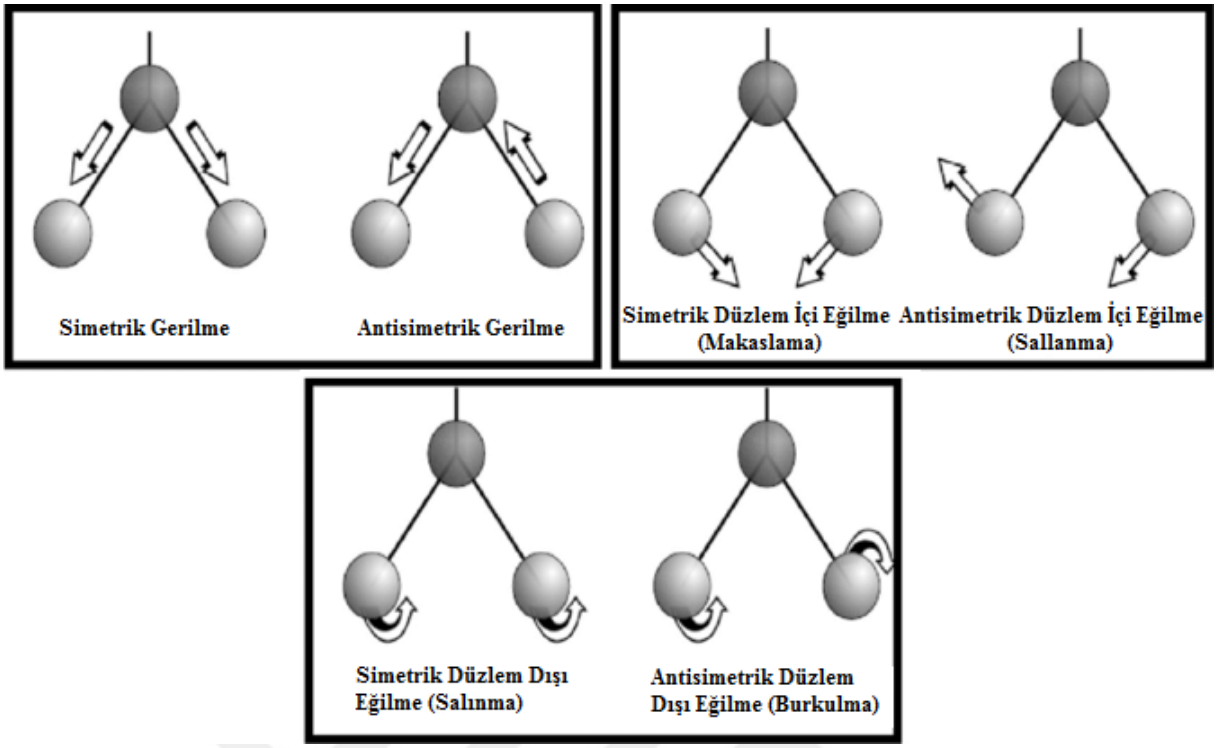
Elektromanyetik spektrum, elektromanyetik radyasyonların frekans veya dalga boyuna göre dağılımını gösterir (Şekil 2.10). Spektrumun bir ucunda yüksek enerjili ve nanometre düzeyinde dalga boyuna sahip gama ışınları yer alırken, diğer ucunda düşük enerjili ve kilometreler düzeyinde dalga boyuna sahip çok düşük frekanslı radyo dalgaları yer alır. Bu bölümlerin herhangi biri arasında kesin olarak kabul edilen sınırlar yoktur (Dervić ve diğ., 2019; Stuart, 2004).



Şekil 2.10: Elektromanyetik spektrum (Ramamurthy ve Lakshminarayanan, 2015).

2.5.1. Infrared (IR) Spektroskopi

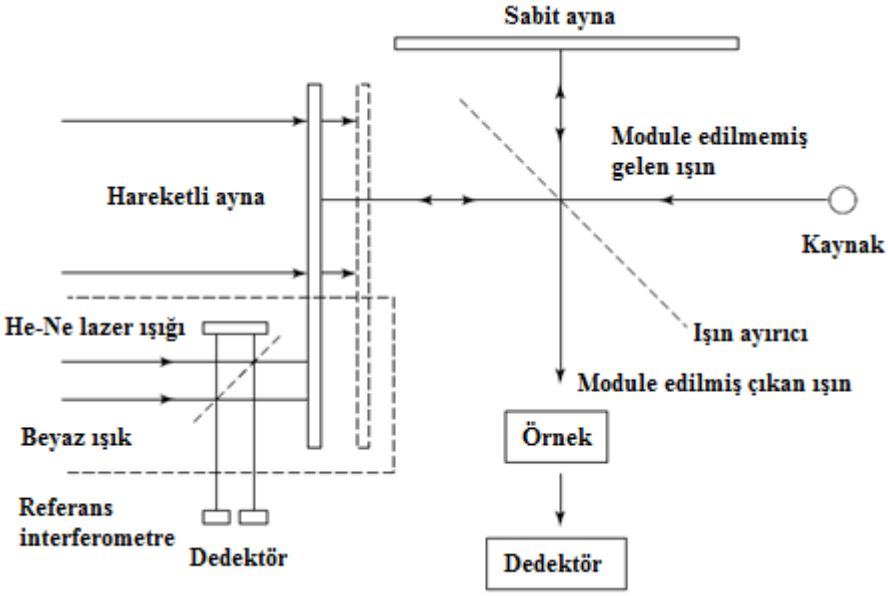
Tüm spektroskopik tekniklerde temel ilke, bir örnek üzerine elektromanyetik radyasyon demeti yansıtmak ve örneğin böyle bir uyarana nasıl tepki verdiğini gözlemlemektir. Başka bir deyişle, spektroskopi, elektromanyetik radyasyonun madde ile etkileşimine dayanmaktadır. Elektromanyetik radyasyonun özelliklerinin ve madde ile etkileşiminin anlaşılması, farklı spektroskopik tekniklerin ve bunların biyolojik problemlerin çözümüne yönelik uygulamalarının anlaşılmasına yol açar (Hofmann, 2010). Kızılötesi bölgedeki elektromanyetik dalganın enerjisi, titreşim enerji seviyelerindeki farklılıklar ile birleşirse, absorbans bantları elde edilir. Absorpsiyon spektrumu, dalga sayısı, dalga boyu veya frekansın bir fonksiyonu olarak emilen enerjinin bir grafiğidir. Kızılötesi bölge üç alt bölgeden oluşur; (1) uzak kızılötesi (400-10 cm^{-1}), (2) orta kızılötesi (4000-400 cm^{-1}) ve (3) yakın kızılötesi (14000-4000 cm^{-1}). Bu nedenle kızılötesi spektroskopi, bir molekül içindeki atomların titreşim enerji seviyeleri arasındaki geçişlerin belirlenmesini sağlar. Titreşimler, çeşitli fonksiyonel grupların hareketlerine göre bağ uzunluğunda ve açısında meydana gelen değişimlerin sonucu olarak sırasıyla gerilme ve eğilme titreşimleri olarak iki gruba ayrılır (Şekil 2.11). Farklı titreşimler aynı anda kızılötesi ışığa tepki verdiğinden, spektrum oldukça karmaşıktır. Her grubun titreşim modları, örneğin çevresel, kimyasal, yapısal ve moleküler konformasyonel değişikliklere ve ayrıca hastalık durumları gibi dış etkilere karşı çok hassastır. Bu nedenle, bir kızılötesi spektrum, ilgilenilen sistemin, örneğin sistemin parmak izi gibi tanımlanması açısından değerli bilgiler sağlar. Kızılötesi spektroskopisi, biyomedikal bilimler, eczacılık, mühendislik, kimya, biyofizik, gıda, bitki bilimi ve toksikoloji gibi çeşitli alanlarda değerli uygulamaları olan çok yönlü bir analitik ve biyofiziksel tekniktir.



Şekil 2.11: Moleküler titreşim türleri (Mohamed ve diğ., 2018).

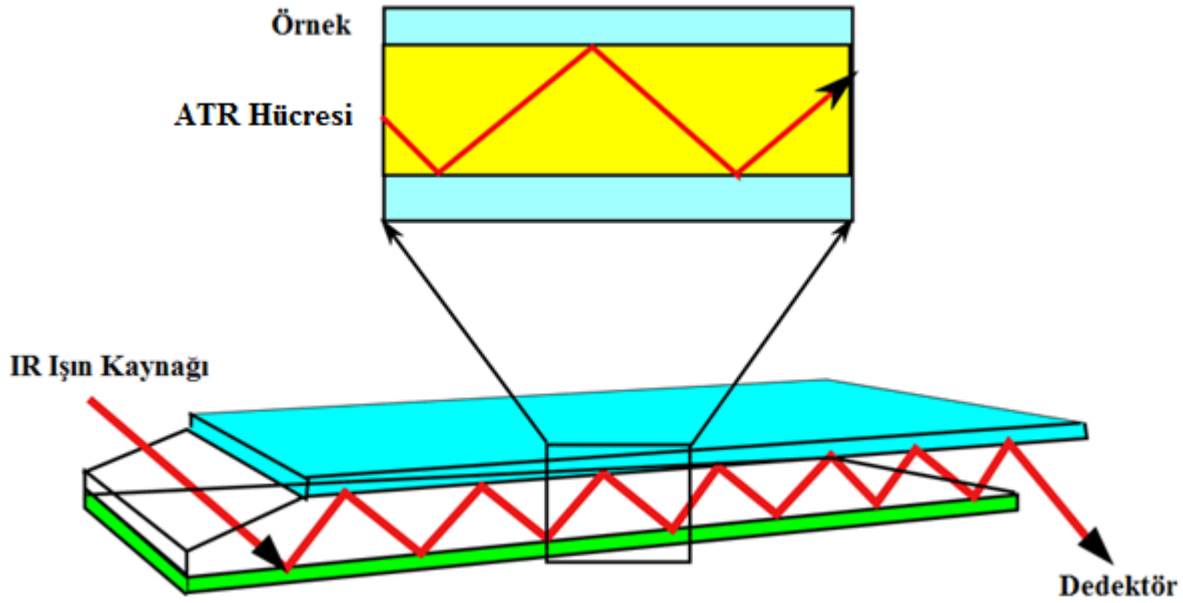
2.5.2. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopisi

FTIR spektroskopisi moleküllerdeki çeşitli titreşim gruplarının karakterize edilmesini sağlayarak, örneğe zarar vermeden biyolojik sistemler hakkında değerli bilgiler veren hassas bir tekniktir. Çalışma prensibi, bir interferogram elde etmek için iki ışın arasındaki radyasyon girişimi temeline dayanmaktadır. Bir interferogram, iki ışın arasındaki yol farkındaki değişiminin bir fonksiyonu olarak üretilen bir sinyaldir. FTIR cihazının temel optik bileşeni Michelson interferometresidir (Şekil 2.12). Michelson interferometresi, biri düzleme dik yönde hareket edebilen biri sabit olmak üzere iki düzlem aynadan oluşur. Yarı yansıtıcı bir film olan ışın ayırıcı, bu iki aynanın düzlemlerini ikiye böler. Dalga boyu λ olan monokromatik radyasyonun paralelleştirilmiş bir demeti ideal bir ışın ayırıcıya geçirilirse, gelen radyasyonun yüzde ellisi diğer aynaya iletilecektir. İki ışın bu aynalardan yansır, ardından yeniden birleşip ışın ayırıcıya geri dönerler. Sabit aynadan yansıyan ışının yüzde ellisi ışın ayırıcı aracılığıyla iletilir ve yüzde ellisi kaynak yönünde geri yansır. Giriş ışınına 90°lik açıyla interferometreden çıkan ışına iletilen ışın denir ve bu FTIR cihazında tespit edilen ışındır. Bir girişim deseninin bir spektruma dönüştürülmesinin matematiği, Fourier dönüşüm yöntemi kullanılarak yapılır (Stuart, 2004).



Şekil 2.12: Bir Michelson interferometresinin tipik şeması (Stuart, 2004).

FTIR spektroskopisinin örneklemesi, ilgilenilen örneğe bağlı olarak farklılık gösterebilir, buna göre farklı prosedürler kullanılır. İletim ve zayıflatılmış toplam yansıma (ATR) modları iki temel örnekleme modudur. Model membran çalışmaları için iletim modu tercih edilirken, yumuşak homojen dokular ve vücut sıvıları için genellikle ATR modu kullanılır (Şekil 2.13). ATR-FTIR spektroskopisinde temel ilke toplam iç yansımadır. Kızılötesi bölgedeki elektromanyetik dalga, yüksek kırılma indeksine sahip kızılötesi şeffaf malzeme aracılığıyla kristal yüzeyindeki numuneye gönderilir. IR 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 çeşitli analizlerinin ölçümünde geniş bir uygulanabilirliğe sahiptir. Örnekler, ATR ünitesinin kristali üzerine küçük bir miktar yerleştirilerek incelenebilir. Katı örneklerin üzerine basınç uygulanır. Ek bir hazırlık aşamasına gerek duyulmadan örnekler katı veya sıvı halde incelenebilir. ATR hücrelerinde kullanılan kristaller, suda çözünürlüğü düşük ve kırılma indeksi çok yüksek malzemelerden yapılmıştır. Elmas ve çinko selenit, diğer malzemelere göre nispeten daha ucuz ve birçok kimyasala dayanıklı olduğundan orta IR bölgesinde kullanım için en ideal kristallerdir. Kolayca temizlenebilen bu kristaller suya dayanıklıdır ve ıslak-sulu numunelerin çalışılmasını ve analiz edilmesini sağlar (Yurur ve diğ., 2021).



Şekil 2.13: ATR-FTIR modunun tipik şeması (Misra ve diğ., 2015).

FTIR spektroskopisi, biyolojik sistemler hakkında yapısal ve fonksiyonel bilgi elde etmek için kullanılabilecek hızlı, hassas ve tahribatsız bir tekniktir. Örnekler, sıvı veya katı halde kısa sürede çok kolay hazırlanabilir. Analiz için çok az miktarda örnek yeterlidir. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) spektroskopisi, X-ışını kristalografisi, Elektron Spin Rezonans (ESR) ve Dairesel Dikroizm (CD) gibi diğer spektroskopik tekniklere kıyasla daha ucuz bir tekniktir. Harici kalibrasyona ihtiyaç duymadan ölçümler yapılabilir. Sistemdeki makromoleküllerin fonksiyonel gruplarındaki herhangi bir değişiklik, aynı spektrum içinde aynı anda tespit edilebilir. Hastalık durumlarının ya da ilaç gibi uygulamaların sebep olduğu biyomolekülerdeki yapısal ve işlevsel değişiklikler incelenen numunelerin titreşim spektrumlarına doğrudan yansıdığından FTIR spektroskopisi klinik uygulama açısından oldukça elverişli bir tekniktir (Garip ve diğ., 2007; Haris ve Severcan, 1999; Mendelsohn ve Mantsch, 1986).

2.6. ESER ELEMENTLER

IUPAC (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği) tarafından eser (iz) elementler, ortalama konsantrasyonu 100 ppm'den veya 100 mg/kg'dan az olan elementler olarak tanımlanır. Eser elementler insan organizmasındaki tüm biyokimyasal ve fizyolojik süreçlerde aktif olarak rol alırlar. İnsan vücudundaki bu eser elementlerin seviyeleri çeşitli

faktörlerin etkisi altındadır. Eser elementlerin fazlalığı veya eksikliği birçok yaygın hastalıkta veya halk sağlığı probleminde rol oynamaktadır. Bu nedenle eser elementlerin optimum seviyelerindeki dengesizliklerin biyolojik süreçleri olumsuz etkileyebileceği ve kanser gibi birçok ölümcül hastalık ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Ozturk ve Ozdemir, 2015; Al-Fartusie ve Mohssan, 2017; Prashanth ve diğ., 2015; Bulska ve Ruszczyńska, 2017). DSÖ'ye göre eser elementler 3 gruba ayrılır:

1- Demir, krom, bakır, selenyum, çinko vb. esansiyel (temel) eser elementler,

2- Manganez, silikon, nikel, bor vb. muhtemel esansiyel (temel) elementler,

3- Flor, kurşun, kadmiyum, cıva ve lityum gibi potansiyel olarak toksik elementler (Mehri ve Marjan, 2013).

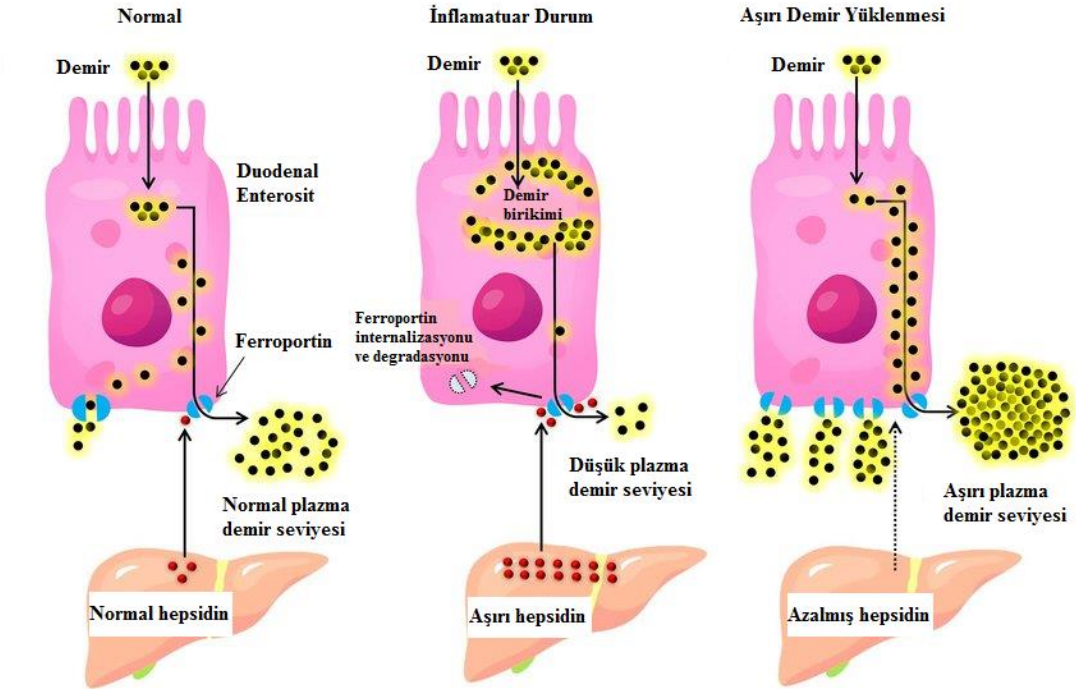
Tablo 2.2: DSÖ'ye göre eser elementlerin sınıflandırılması (Mehri ve Marjan, 2013).

Esansiyel (temel) eser elementler	Demir, krom, bakır, selenyum, molibden, iyot ve çinko
Muhtemel esansiyel (temel) elementler	Manganez, silikon, nikel, bor ve vanadyum
Potansiyel toksik elementler	Flor, kurşun, kadmiyum, cıva ve lityum

2.6.1. Demir (Fe)

Demir, insan vücudunda en bol bulunan temel eser elementtir. Vücut demirinin yaklaşık %60-70'i hemoglobinde ve eritrositlerde, %10'u miyoglobin, sitokrom ve demir içeren enzimlerde, %20-30'u ise karaciğer ve retiküloendotelyal sistem makrofajlarında depo halde bulunur. Oksijen taşınması, deoksiribonükleik asit (DNA) sentezi ve elektron taşınması dahil olmak üzere çok çeşitli metabolik süreçlere katıldığı için demir hemen hemen tüm canlı organizmalar için esansiyel bir elementtir. Demir, hücrelerde ve vücut sıvılarında iki oksidasyon durumu olan ferrik (Fe^{+3}) veya ferröz (Fe^{+2}) formda bulunur. Demir fazlalığı, serbest oksijen radikallerinin oluşumuna yol açmaktadır. Antioksidanlar tarafından detoksifiye edilemeyen serbest oksijen radikalleri hücresel elemanlar için toksiktir. Bu sebeple demirin serbest olmaması ve vücut dokularındaki konsantrasyonunun sıkı bir şekilde düzenlenmesi gerekir. Demir metabolizması bozuklukları, insanların en yaygın hastalıkları arasındadır ve anemiden aşırı demir yüklenmesine ve muhtemelen nörodejeneratif hastalıklara kadar çeşitli klinik belirtileri olan geniş bir hastalık yelpazesini kapsar (Bhattacharya ve diğ., 2016; Maladkar ve diğ., 2020; Abbaspour ve diğ., 2014).

Demir, çeşitli hücresel işlevler için gerekli olduğundan, demir homeostazını sürdürmek için demir alımı, taşınması, depolanması ve kullanımı arasında sabit bir denge gereklidir. Vücut, aktif demir atılımı için tanımlanmış bir mekanizmaya sahip olmadığından, demir dengesi esas olarak emilim noktasında düzenlenir. Hepsidin, karaciğer tarafından salgılanan ve demir homeostazının düzenlenmesinde merkezi rol oynayan dolaşımdaki bir peptit hormonudur. Demir alımı ile demirin kullanımını ve depolanmasını koordine eden sistemik demir homeostazının ana düzenleyicisidir. Demir homeostazının hepsidin aracılı düzenlenmesi Şekil 2.14'de gösterilmiştir. Bu hormon öncelikle hepatositler tarafından üretilir ve plazmaya demir girişinin negatif düzenleyicisidir. Hepsidin, bağırsak duodenum hücrelerinde, makrofajlarda ve plasenta hücrelerinde bulunan bir demir taşıyıcı olan ferroportine bağlanarak etki eder. Hepsidinin bağlanması, ferroportinin bozulmasını indükler. Hücre yüzeyinden ferroportin kaybı, plazmaya demir girişini engeller. Plazmaya azalan demir girişi, düşük transferrin doygunluğu ile sonuçlanır ve gelişen eritroblasta daha az demir verilir. Tersine, hepsidin ekspresyonunun azalması hücre yüzeyi ferroportinin artmasına ve demir emiliminin artmasına neden olur. Plazma hepsidin seviyeleri, sitokinler, plazma demiri, anemi ve hipoksi dahil olmak üzere farklı uyaranlar tarafından düzenlenir. Hepsidin ekspresyonunun düzensizliği demir bozukluklarına neden olur. Hepsidinin aşırı ekspresyonu, kronik hastalık anemisine yol açarken, düşük hepsidin üretimi, kalıtsal hemokromatozis ile sonuçlanarak hayati organlarda demir birikimine neden olur (Maladkar ve diğ., 2020; Abbaspour ve diğ., 2014).



Şekil 2.14: Demir homeostazının hepsidin aracılı düzenlenmesi (Maladkar ve diğ., 2020).

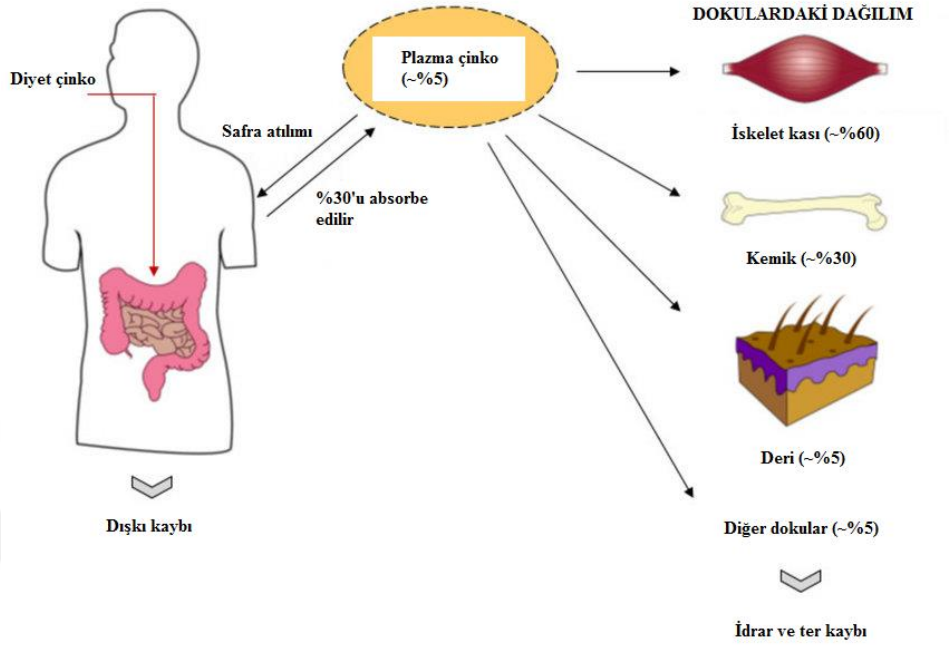
2.6.2. Çinko (Zn)

Çinko, insan vücudunda demirden sonra en çok bulunan ikinci eser elementtir. İnsan vücudu, ince bağırsakta duodenum ve jejunum tarafından emilen 2-3 g çinko içerir. Serumda yaklaşık %0,1 çinko bulunur, %80'i albümine gevşek bir şekilde bağlanır ve yaklaşık %20'si α2-makroglobuline sıkıca bağlanır. Çinkonun yaklaşık %60'ı iskelet kasında, %30'u kemikte ve yaklaşık %5'i deri ve karaciğerde depolanır. Kalan çinko beyin, böbrekler, pankreas ve kalp gibi diğer dokularda dağılır (Şekil 2.15). Çinkonun fazlası dışkı ve idrar yoluyla vücuttan atılmaktadır. Çinko, birçok enzim ve transkripsiyon faktörü tarafından kullanılan esansiyel bir element olmasına rağmen, yüksek konsantrasyonlar hücreler için toksiktir (Fukada ve diğ., 2011).

Çoğu memeli hücresinde ana hücre sinyal yollarının önemli bir düzenleyicisidir, bir antioksidan olarak işlev görür ve genomik stabilitenin korunmasında rol oynar. Bu metal iyonu, 3000'den fazla proteinin bir bileşeni ve 300'den fazla enzim için bir kofaktördür. Normal büyüme için çinko gereklidir. Yetersiz çinko alımı, enfeksiyon riskini artırır, yara iyileşmesini geciktirir ve bağışıklık sisteminin normal fonksiyonlarını etkiler. Çinko eksikliği, belirli nörolojik ve psikolojik işlevlerin değişmesi gibi yaşlanmayla ilgili semptomlarla bağlantılıdır (Roohani ve diğ., 2013; Salgueiro ve Zubilliga, 2000).

Çinko, karbonhidratların, lipitlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin sentezinde ve yıkımında rol oynar. Hücre proliferasyonu, farklılaşması ve hücrenin metabolik aktivitesinde de önemli bir rol oynar. DNA sentezi için gerekli polimeraz aktivitesinde çinko elzemdir. Beslenmeye bağlı çinko eksikliği DNA sentezinin bozulmasına ve gelişim geriliğine neden olmaktadır. Ayrıca hamilelik, çocukluk ve ergenlik döneminde normal büyüme ve gelişmeyi destekler. Emilim, diyette çinkoya bağlanan fitatlar ve lifin yanı sıra diyet demir ve kadmiyum varlığı ile inhibe edilir. Azalmış bir büyüme hızı ve enfeksiyona karşı zayıf direnç, insanlardaki çinko eksikliğin belirtisidir. Çinko metabolizması ile ilgili genetik bozukluk otozomal resesif geçişli bir hastalık olan akrodermatitis enteropatikadır (AE). AE, ishal, zayıf büyüme ve zayıf bağışıklık fonksiyonu dahil olmak üzere şiddetli çinko eksikliğinin belirti ve semptomları ile karakterizedir. İnsanlar, günde 100 mg'a kadar yüksek çinko alımlarına karşı çok toleranslıdır. Bununla birlikte, kontamine yiyecek veya içeceklerden yüksek çinko alımı ve akut çinko zehirlenmesi, karın ağrısı, ishal, mide bulantısı ve kusma gibi spesifik olmayan gastrointestinal semptomlarla ilişkilendirilmiştir. Yüksek çinko alımına uzun süreli maruz kalmanın, bakır emilimi gibi diğer eser elementlerin metabolizmasına müdahale ettiği gösterilmiştir. Bu tür

temel faaliyetlere dahil olması, çinkonun tüm yaşam formları için gerekliliğini açıklar (Jurowski ve diğ., 2014; Kechrid ve Bouzerna, 2004).



Şekil 2.15: İnsan vücudunda çinko depolanması ve dağılımı (To ve diğ., 2020).

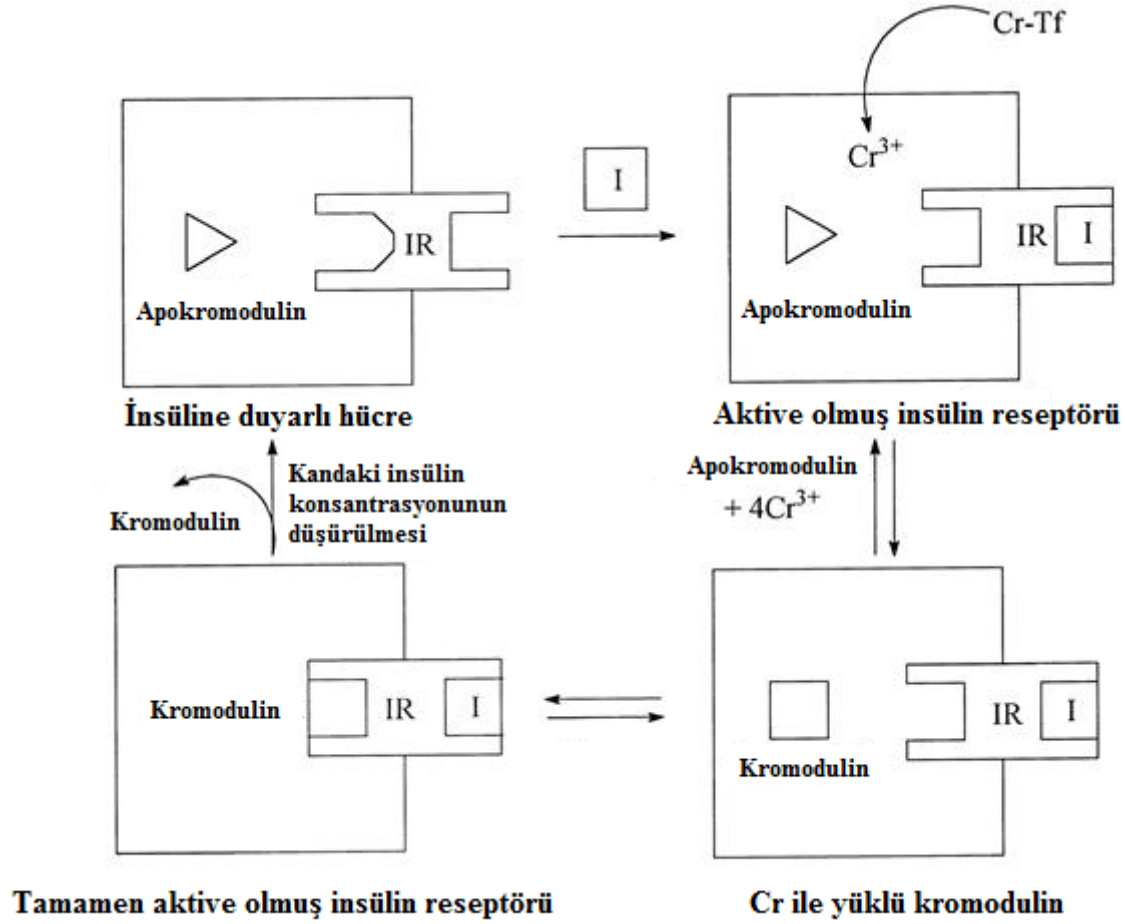
Reaktif oksijen türleri (ROS), inflamatuar hastalıklarda yer alır ve inflamasyonu artırırlar. Çinko, antioksidan süperoksit dismutaz ve metallotiyoneinlerin yapısında yer alarak dokuları serbest radikallerin zararlı etkilerinden korur. Çinko ayrıca T ve beta hücrelerini doğrudan etkiler. Vücutta çinko eksikliği varsa T hücrelerinin olgunlaşması gecikir, T hücrelerinin antikor yanıtı azalır ve kemik iliğinde yeterli sayıda lenfosit üretilemez. Bu da çinkonun bağışıklık sistemi üzerinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Çinkonun hücre içine alımı ve dışına taşınması özel proteinler aracılığıyla gerçekleşir. ZnT adı verilen taşıma proteinleri Zn^{+2}'nin hücre dışına taşınmasını sağlar. Tip 1 diyabette otoimmün yolakta ZnT'nin önemli olabileceği düşünülmektedir. Azalan çinko, insülinin düzgün paketlenmemesine neden olur ve beta hücre hasarını artırır. Benzer bir etki tip 1 diyabette görülür ve beta hücrelerinin kaybı nedeniyle granüllerden Zn^{+2} salınımı artar. Beta hücrelerindeki ZnT8, insülin içeren salgı veziküllerine Zn^{+2} taşınmasını sağlar. Zn^{+2} takviyesi ile ZnT8 miktarının arttığı gösterilmiştir (Mehri, 2020; To ve diğ., 2020).

2.6.3. Krom (Cr)

Krom, vücudun fizyolojik fonksiyonları için ihtiyaç duyduğu esansiyel eser elementler arasındadır. Vücutta bulunan baskın krom formu üç değerlikli kromdur (Cr^{3+}). Bu eser element,

insülinin etkinliğini artırarak karbonhidratların, lipitlerin ve proteinlerin metabolizmasında yer alır. Normal glukoz toleransının ve sağlıklı lipit profillerinin korunmasını sağlar. Enzim aktivitesini artırır. Karaciğerde yağ asidi ve asetattan kolesterol sentezinin uyarılmasında ve insülinin aktivasyonu yoluyla şeker metabolizmasının iyileştirilmesinde önemli bir işleve sahiptir. İnsanlarda gerçek krom eksikliği nadirdir. Buna rağmen, bazı çalışmalarda uzun süreli parenteral beslenme alan hastalarda krom eksikliğinin glukoz intoleransı ve insülin direnci ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca hematolojik parametrelerde (hemoglobin, hematokrit, eritrositler, lökositler ve ortalama eritrosit hacmi) artışın nedeninin krom eksikliği olabileceği bildirilmiştir (Davis ve Vincent, 1997; Cefalu ve Hu, 2004).

İnsülin etkisini teşvik etmek için insülin reseptörüne bağlanan ve onu aktive eden kromodulin oluşturmak üzere kromun, düşük moleküler ağırlıklı krom (LMWCr) bağlayıcı madde ile etkileşime girdiği öne sürülmektedir. LMWCr yalnızca glisin, sistein, aspartik asit ve glutamat gibi dört amino asit rezidüsünden oluşan bir oligopeptittir. Memelilerde yaygın olarak bulunan LMWCr, dört kromik iyonu sıkıca bağlama yeteneğine sahiptir. Bu oligopeptidin krom iyonları için bağlanma sabiti çok büyüktür, bu da onun güçlü ve sıkı bir şekilde bağlandığını gösterir. (Al-Fartusie ve Mohssan, 2017; Lewicki ve diğ., 2014). Kan şekeri seviyelerindeki artışa yanıt olarak, insülin hızla kan dolaşımına salınır. İnsülin, transmembran protein insülin reseptörünün harici bir α alt birimine bağlanır ve reseptörde bir konformasyon değişikliği meydana getirir. Reseptör, β alt biriminin iç kısmındaki tirozin kalıntılarını otofosforile ederek reseptörü aktif bir kinaza dönüştürür. Kromodulin, insüline duyarlı hücrelerin sitozolünde ve çekirdeğinde apo-formunda depolanır. Plazma insülin konsantrasyonlarındaki artışların, kromun kandan insüline bağımlı hücrelere hareketiyle sonuçlandığı bulunmuştur. Bu transfere metal taşıma proteini transferrin aracılık eder. Apokromodulin, bu kromik iyon akışına tepki olarak kromu ayırması gereken büyük bir kromik iyon bağlama sabitine sahiptir. Yeni üretilen holokromodulin (yani, Cr4-kromodulin) daha sonra insülinle uyarılan insülin reseptörüne bağlanarak aktif yapısının korunmasına yardımcı olur ve insülin sinyalini yükseltir (Şekil 2.16) (Vincent, 1999; Vincent, 2000).



Şekil 2.16: Kromodulin tarafından insülin reseptör kinaz aktivitesinin aktivasyonu için önerilen mekanizma. İnsülin reseptörünün (IR) aktif olmayan formu, insülinin (I) bağlanmasıyla aktif forma dönüştürülür. Bu, kromun transferrin (Cr-Tf) formunda kandan insüline bağımlı hücrelere hareketini tetikler, bu da kromun apokromoduline (üçgen) bağlanmasıyla sonuçlanır. Son olarak, holokromodulin (kare) insülin reseptörüne bağlanır ve reseptör kinaz aktivitesini daha da aktive eder. Apokromodulin, insülin reseptörüne bağlanamaz ve kinaz aktivitesini aktive edemez. İnsülin konsantrasyonu düştüğünde, etkilerini hafifletmek için hücreden holokromodulin salınır (Vincent, 2000).

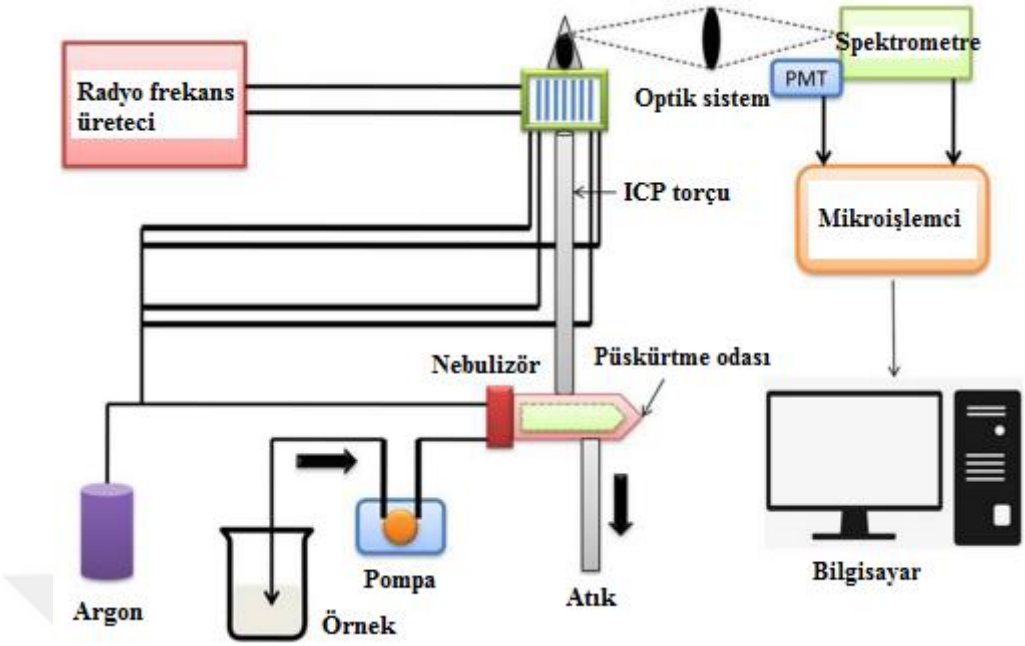
2.7. İNDÜKTİF EŞLEŞMİŞ PLAZMA-OPTİK EMİSYON SPEKTROSKOPİSİ (ICP-OES)

İndüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektroskopisi, birçok elementin aynı anda kantitatif tayininde kullanılan güçlü bir tekniktir. Çok sayıda elementin (özellikle metallerin) aynı esnada kantitatif tayininde kullanılabilen hassas ve başarılı bir analitik metottur. Yüksek hassasiyet, seçicilik, düşük gözlenebilme sınırı gibi önemli özelliklere sahiptir (Amorello ve diğ., 2016).

ICP-OES, yüksek konsantrasyonda katyon ve buna yaklaşık olarak eşdeğer konsantrasyonda elektron içeren bir plazmada, atom ve iyonların uyarılmasıyla yayılan ışının

bir dedektör aracılığıyla ölçülmesi ve çözeltideki element miktarının belirlenmesi prensibine dayanır. ICP kaynağı, argon gazından yüksek enerjili iyonize bir plazma oluşturur. Plazma, katyon ve elektronlardan meydana gelen ve elektrik akımını ileten ortama verilen addır. Plazmadaki negatif yüklerin toplamı, pozitif yüklerin toplamına yaklaşık olarak eşit olduğundan, toplam yük sıfırdır. %99,99 saf argon gazı, plazma oluşumu için kullanılan örneği sürüklemek, dedektörden nem ve oksijeni uzaklaştırmak ve torç bölümünü soğutmak için kullanılır. Plazma, yüksek frekanslı bir elektromanyetik alan (veya mikrodalga enerjisi) veya bir doğru akım tarafından enerjilendirilen bir argon akımı tarafından üretilir. Oluşan argon iyonları, iyonizasyon yoluyla plazma durumunu koruyacak bir seviyede bir sıcaklık oluşturmak için harici bir kaynaktan yeterli gücü emebilir. Argon katyonları enerjiyi emip kararlı bir plazmanın oluşması için gerekli iyonizasyonu sağlarken ortamın sıcaklığı 10000 ^{o}K civarında sabit tutulmasını sağlar. Numune asidik ortamda sulu faza alınır ve peristaltik pompa ile nebulizatör (sisleme) tertibatına iletilir. Sıvı ince parçacıklara dönüştürülür ve argon plazmasının merkezine enjekte edilir. İncelenen numunenin aerosolü plazmanın merkezine püskürtüldüğünde, 10000 ^{o}K sıcaklıktaki plazma numunedeki maddelerin ayrışmasını, atomizasyonunu ve uyarılmasını sağlar. Numunedeki elementlerde ayrışma, atomizasyon, iyonizasyon ve uyarılma işlemleri gerçekleşir. Numunedeki metaller kendilerine özgü dalga boylarında ışın yayarlar ve bu ışın optik aynalarla, monokromatörden veya polikromatörden geçerek dedektöre ulaşır. Uyarılmış atomlar da, temel durumlarına dönüşleri sırasında karakteristik bir frekansta ışık yayarlar. Yayılan ışık bir emisyon spektrometresi ile ölçülürken, spektrometre orijinal frekansları farklı dalga boylarına ayırmaya ve nicel sonuçlar elde etmeye izin verir. Örnek içindeki elementlerin konsantrasyonu ile yayılan ışığın şiddeti doğru orantılı olarak değişir (Khan ve diğ., 2022; Aktaş, 2019; Ölmez, 2019; Çağran, 2007).

.



Şekil 2.17: ICP-OES cihazının şematik gösterimi (Khan ve diğ., 2022).

Şekil 2.17'de şematik olarak gösterilen ICP-OES cihazı peristaltik pompa, nebulizör (sisleştirici), püskürtme odası (spray chamber), transfer hattı, torç (plazmanın oluştuğu cam oda), kon (cone), optik aynalar, mono/polikromatör, dedektör ve bilgisayar/yazılım sistemlerinden oluşur (Novaes ve diğ., 2016; Aktaş, 2019; Ölmez, 2019; Çağran, 2007; Khan ve diğ., 2022). Peristaltik pompa, vakum etkisi ile örneğin elastik borular boyunca ilerlemesini sağlar. Nebulizör örneği sisleştirilerek plazma alevine ulaşmasını sağlar. Nebulizör püskürtme odasının içinde yer alır. Püskürtme odası bu işlem esnasında oluşan büyük tanecikleri yerçekiminin etkisiyle tutar ve peristaltik pompaya bağlanan elastik borular sayesinde biriken taneciklerin dışarıya atılmasını sağlar. Sisleştirilen örneğin plazma bölümüne ulaştırıldığı yola transfer hattı adı verilir. Plazma oluşumu sırasında yüksek miktardaki argon gazı nedeniyle torçun yarattığı vakum, örneğin plazmaya ulaşmasını sağlar. Coil, radyo frekans (RF) jenaratöründen aldığı güç ile argon moleküllerinin çevresinde manyetik alan oluşturur. Böylece argon gazı nötrallerine (Ar), iyonlarına (Ar^+) ve elektronlarına (e^-) ayrışır. Hızlandırılan elektronların nötral argon ve iyonlarla çarpıştırılmasıyla yüklü ve uyarılmış birçok atom elde edilir. Örnek, 10000 ^oK sıcaklığındaki plazmanın merkezine enjekte edilir. Plazma, örnekteki elementlerin ayrışma, atomlaşma ve uyarılmasını sağlar. Monokramatör plazmadan gelen emisyon ışığını tek dalga boyunda ayıran prizma optiğine; polikramatör ise aynı anda birçok dalga boyunda ayırım yapan prizma optiğine verilen isimdir. Örnek içindeki elementlerin konsantrasyonu yayılan ışığın şiddeti ile doğru orantılıdır. Her bir element için yayılan ışık

foton çoğaltıcı tüpler (PMT) tarafından algılanır. Elektromanyetik dalga şeklindeki enerji akışı dedektör tarafından ölçülebilir niceliklere dönüştürülür ve bilgisayara kaydedilir (Öztürk Kurt, 2017).

3. YÖNTEM

3.1. HAYVANLARIN DENEY İÇİN HAZIRLANMASI

Tez çalışmamızda diyetle tetiklenmiş obeziteye eğilimli dişi inbred C57BL/6J fare modelleri kullanılmıştır. Deneyde kullanılan fareler, Üsküdar Üniversitesi bünyesindeki hayvan evinde yetiştirilmiş, barındırılmış, vücut ağırlıkları izlenmiş, kandan glikoz ölçümleri yapılmış ve iskelet kas dokuları tarafımıza gönderilmiştir.

Hayvanlar 22±2°C oda sıcaklığında, %65 nem oranında ve 12:12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü boyunca istedikleri zaman yiyeceğe ve suya erişimleri olacak şekilde barındırılmıştır. Deney süresince sınırsız yem ve su verilmiştir. Hayvanlar her hafta tartılarak vücut ağırlıkları kontrol edilmiş ve her gün tüketilen yem miktarı hesaplanmıştır. Deney esnasında, dişi inbred C57BL/6J farelerle üç bağımsız deney grubu oluşturulmuştur:

1. grup, düşük yağ ve düşük karbonhidrat içerikli diyet uygulanan kontrol (KD) fare grubu (n=9);

2. grup, yüksek yağ ve düşük karbonhidrat diyeti uygulanan YYD fare grubu (n=5);

3. grup, yüksek karbonhidrat ve düşük yağ diyeti uygulanan YKD fare grubudur (n=9).

Kontrol deney grubu 6 hafta boyunca sadece standart beslenme diyeti (SBD) ile beslenmiştir. Kullanılan SBD'nin (V1534-000, ssniff R/M-H, Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest/Almanya) %25'i yağ, %20'si protein ve %55'i karbonhidrattan oluşmaktadır (Ssniff S9101-E010, Almanya). Büyük çoğunluğu zararlı karbonhidratlardan oluşan yüksek karbonhidrat diyetinin %10'u yağ, %20'si protein ve %70'i karbonhidrattan oluşmaktadır (Ssniff S9101-E014, Almanya). Büyük çoğunluğu zararlı yağlardan oluşan yüksek yağ diyetinin %45'i yağ, %20'si protein ve %35'i karbonhidrattan oluşmaktadır (Ssniff S9101-E012, Almanya). Üsküdar Üniversitesi hayvan evinde dişi inbred C57BL/6J farelere bir hafta boyunca düşük yağlı ve düşük karbonhidratlı kontrol diyeti verilmiştir. Daha sonra yağ ve karbonhidrat oranı yüksek diyet uygulanmaya başlanmış ve 6 ay boyunca bu uygulama devam etmiştir. Farelerin vücut ağırlığı düzenli olarak izlenmiş ve kan şekeri ve insülin parametreleri ölçülmüştür. Kan glikoz seviyesi (mg/dl) farelerin kuyruğundan kan şekeri ölçüm cihazı kullanılarak, insülin ise Eliza kiti (Mouse Serum Insulin, Millipore MADKMAG-71K-05 USA) kullanılarak ölçülmüştür. Fareler dekapitasyon öncesi 6 saat aç bırakılmış, serum

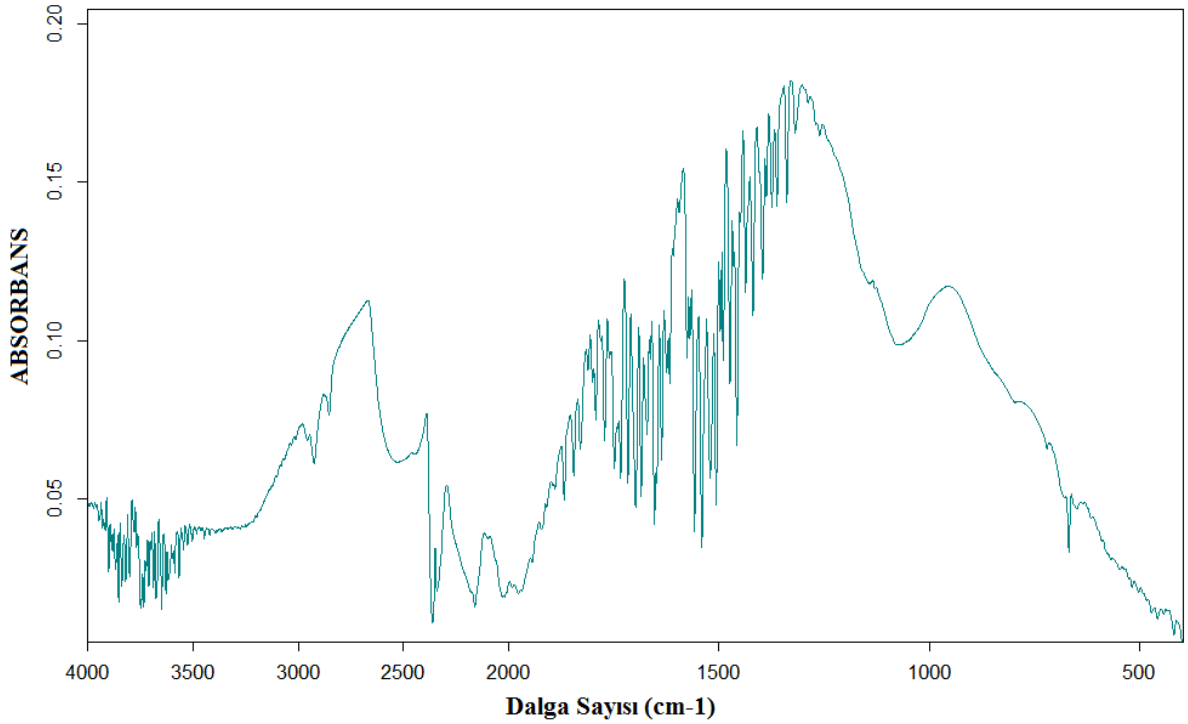
parametrelerini ölçmek için kan alınmış ve intraperitonel insülin tolerans testi (ipITT testi) yapılmıştır. Altıncı ayın sonunda ağırlıkları önemli derecede artan dişi fareler anestezi altında dekapite edilmiş ve ATR-FTIR ve ICP-OES deneyleri için kullanılacak olan iskeletleri deneysel çalışmalara kadar -80 ºC'de saklanmıştır. ATR-FTIR ve ICP-OES deneylerine başlanmadan önce LD iskelet kas dokuları çıkarılmış ve mikrosantrifüj tüplerinde -80 ºC'de muhafaza edilmiştir. Örnek taşınması sırasında ve deneylerden önce örneklerin tekrar tekrar dondurulup çözünmesinden kaçınılmıştır.

Hayvan deneyleri ile ilgili etik kurul izni Üsküdar Üniversitesinden alınmıştır (2017-02).

3.2. ATR-FTIR SPEKTROSKOPİ DENEYLERİ

3.2.1. ATR-FTIR Spektral Verilerin Toplanması

ATR-FTIR spektroskopi deneyleri Altınbaş Üniversitesi Tıp Fakültesi'ndeki Bruker Invenio S FTIR Spektrometresi ile gerçekleştirilmiştir. Dişi C57BL/6J farelerin LD iskelet kas dokularından küçük bir miktar alınarak ATR ünitesinin elmas kristali üzerine konulmuştur. Deney öncesi hiçbir ön işlem yapılmamıştır. Dokuların üzerine aynı basınç uygulanarak IR spektrumları elde edilmiştir. Örnek çekimi öncesinde background yani arka fon çekimi yapılmıştır. Background, bilgisayar programı aracılığıyla örnek spektrumundan otomatik olarak çıkarılmaktadır. İlgili arka fon spektrumu Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1: Arka fon ATR-FTIR spektrumu (4000-400 cm^{-1}).

LD iskelet kas dokularının spektrumları oda sıcaklığında 4000-400 cm^{-1} aralığında toplanmış ve kaydedilmiştir. Her spektrum, 4 cm^{-1} çözünürlükte ve 64 tarama ile elde edilmiştir. Örneklerden üç ayrı parça dokunun tekrar çekimi yapılmış ve alınan üç tekrar spektrumdan ortalama spektrum hesaplanarak ve detaylı analizler için kullanılmıştır. Spektrum koleksiyonları ve veri işlenmesi, Opus 5.5 spektrum yazılımı (Bruker, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. ATR-FTIR Spektrum Analizleri

FTIR spektroskopisi ile biyomoleküllerdeki (lipitler, proteinler, karbonhidratlar, kolajen, glikojen vb.) miktar, içerik ve yapısal değişiklikler spektrumda yer alan bantlardan elde edilir. Dişi inbred C57BL/6J farelerin LD iskelet kas dokularının IR spektrumlarına ait bant alanlarının, bant frekans ve bant genişliği değerlerinin tayinini içeren detaylı spektral analizler ham spektrumlar kullanılarak Opus 5.5 Spektrum (Bruker, Almanya) analiz programı 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 0.80x yüksekliğindeki genişlik olarak hesaplanmıştır.

3.3. ICP-OES DENEYLERİ

3.3.1. Öneklerin Hazırlanması ve Doku Yaş Yakma Tekniği

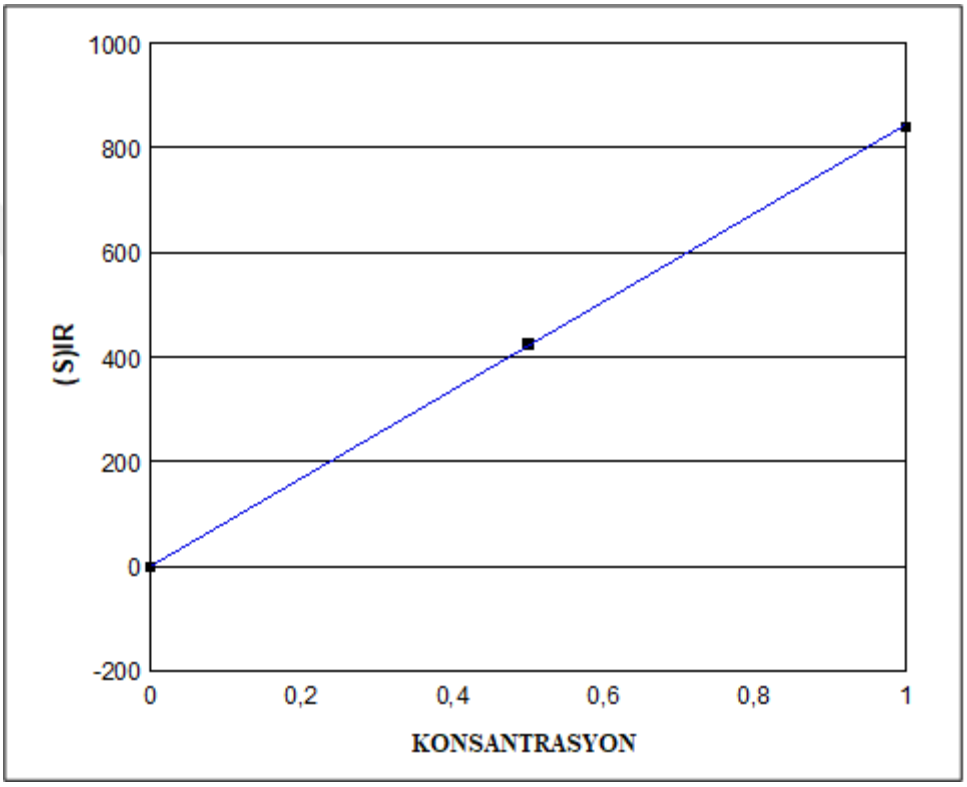
Dişi inbred C57BL/6J farelerin LD iskelet kas dokularının eser element ölçümleri ICP-OES (İndüktif Esleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektroskopisi-6000 Thermo) cihazı kullanılarak İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, darası alınmış ve ısıya dayanıklı cam tüplere konulan LD iskelet kas dokularının ağırlıkları hassas terazi aracılığıyla ölçülmüştür. Yaklaşık 1 g ağırlığındaki dokuların üzerine 5 ml %65' lik HNO_3 (nitrik asit) eklenerek 200 ºC'de etüvde yaklaşık 2 saat bekletilmiştir. Örnekler oda sıcaklığında bir süre tutulduktan sonra üzerlerine 1 ml $HClO_4$ (perklorik asit) ilave edilerek tekrar 200 ºC'de etüve konmuştur. Doku yaş yakma uygulamasından sonra örneklerin üzerine toplam hacim 10 ml olacak şekilde distile su eklenmiştir. Örnekler vortekslenerek eser element tayini için hazırlanmıştır (Öztürk Kurt, 2017).

3.3.2. Eser Element Konsantrasyonlarının Tayini

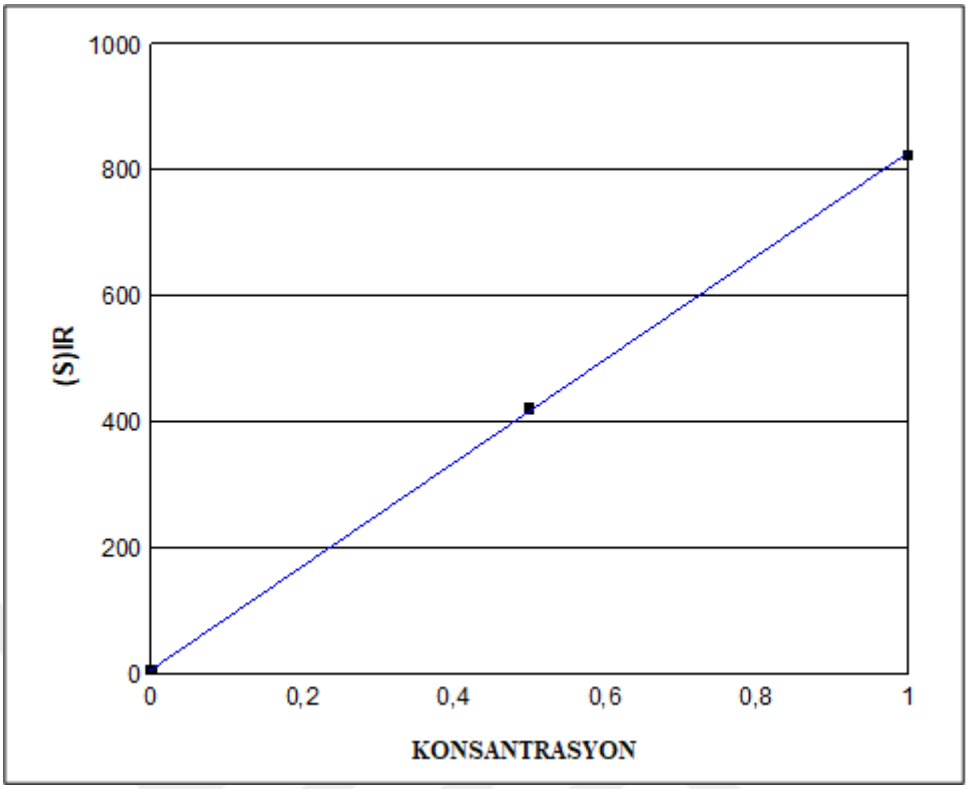
Doku yaş yakma işleminden sonra LD iskelet kas dokularının eser element konsantrasyonları ICP-OES cihazında ölçülmüştür. Öncelikle her bir elemente uygun dalga boyları seçilmiştir. Fe için λ_{Fe}= 259,940 nm, Zn için λ_{Zn}= 206,200 nm, Cr için λ_{Cr}= 267,716 nm dalga boyları seçilerek ölçüm alınmıştır. ICP-OES spektrofotometresinde ölçüme uygun veri tabanı ve metot oluşturulmuştur. ICP-OES cihazının kalibrasyonu için, tayini yapılacak her bir elementin ana stok solüsyonlarından (1000 mg/L) farklı konsantrasyonlarda çalışma standart çözeltileri hazırlanmıştır (Tablo 3.1). Blank çözeltisi olarak distile su kullanılmıştır. Ölçüme hazır hale getirilen standart çözeltiler ve kör olarak kullanılan distile su yardımıyla her bir elemente ait kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 3.2, 3.3, 3.4, 3.5). Kalibrasyon grafiklerine ait korelasyon katsayıları minimum 0,999 (maksimum değer 1) olduğunda cihaz ölçüm için uygun kabul edilerek LD iskelet kası doku örneklerinin element konsantrasyonları saptanmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. Sonuçlar sulandırma katsayısı ile çarpılarak (x10) ppm cinsinden ifade edilmiştir (Öztürk Kurt, 2017).

Tablo 3.1: Elementlere ait standart değerler.

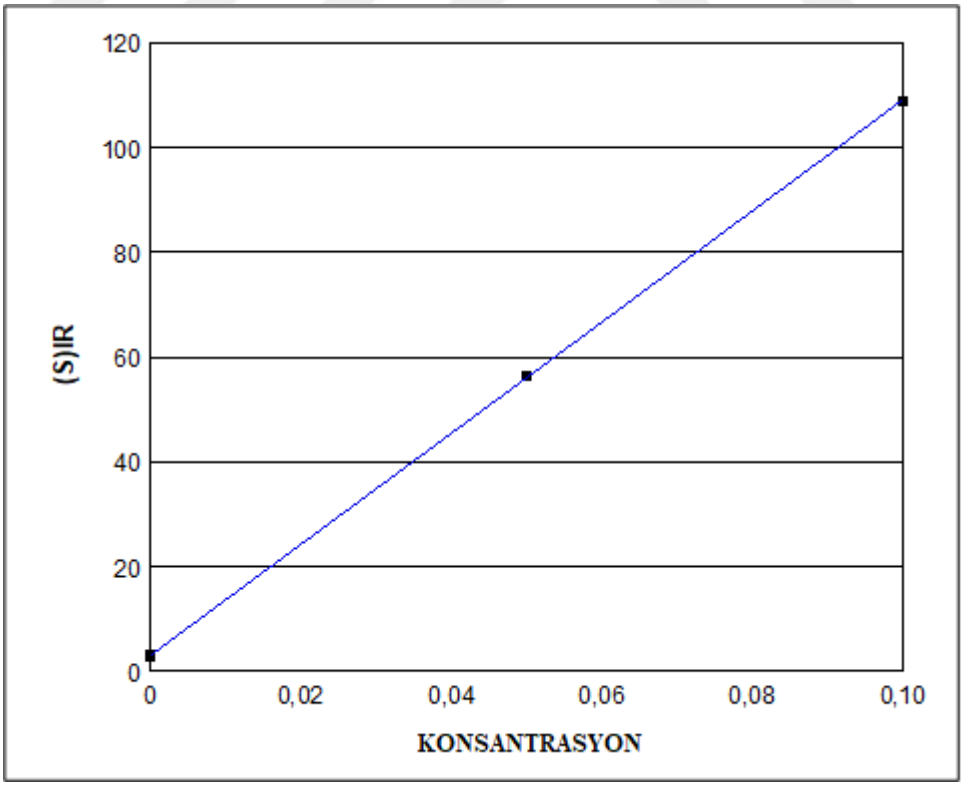
Element	Standart-1 (ppm)	Standart-2 (ppm)
Fe	0,5	1,0
Zn	0,5	1,0
Cr	0,05	0,10



Şekil 3.2: Ölçüme ait demir kalibrasyon grafiği



Şekil 3.3: Ölçüme ait çinko kalibrasyon grafiği



Şekil 3.4: Ölçüme ait krom kalibrasyon grafiği

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Dişi kontrol ve yüksek kalorili diyet uygulanan deney grupları arasındaki değişiklikler ve bu değişikliklerin istatistiksel anlamlılığın hesaplanması için Graphpad Prism 8.0.2.263 programı ile one-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.

Kontrol ve diyet grupları arasındaki karşılaştırmalar 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.
Anlamlılık derecesi şu şekilde belirtilmiştir: $p < 0,05$*, $p < 0,01$**, $p < 0,001$***, $p < 0,0001$****.

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında, insan obezite modellerine en yakın model olan inbred dişi C57BL/6J farelerine yüksek yağ ve karbonhidrat içeriğine sahip diyetlerin uygulanması ile obezite gelişimi sağlanmış ve bu diyetlere bağlı olarak iskelet kas dokusunda meydana gelebilecek yapısal ve fonksiyonel değişiklikler moleküler düzeyde ATR-FTIR ve ICP-OES teknikleri ile incelenmiştir.

4.1. ATR-FTIR SPEKTROSKOPİ SONUÇLARI

4.1.1. İskelet Kas Dokularının Genel FTIR Spektrumu ve Bant Tanımlaması

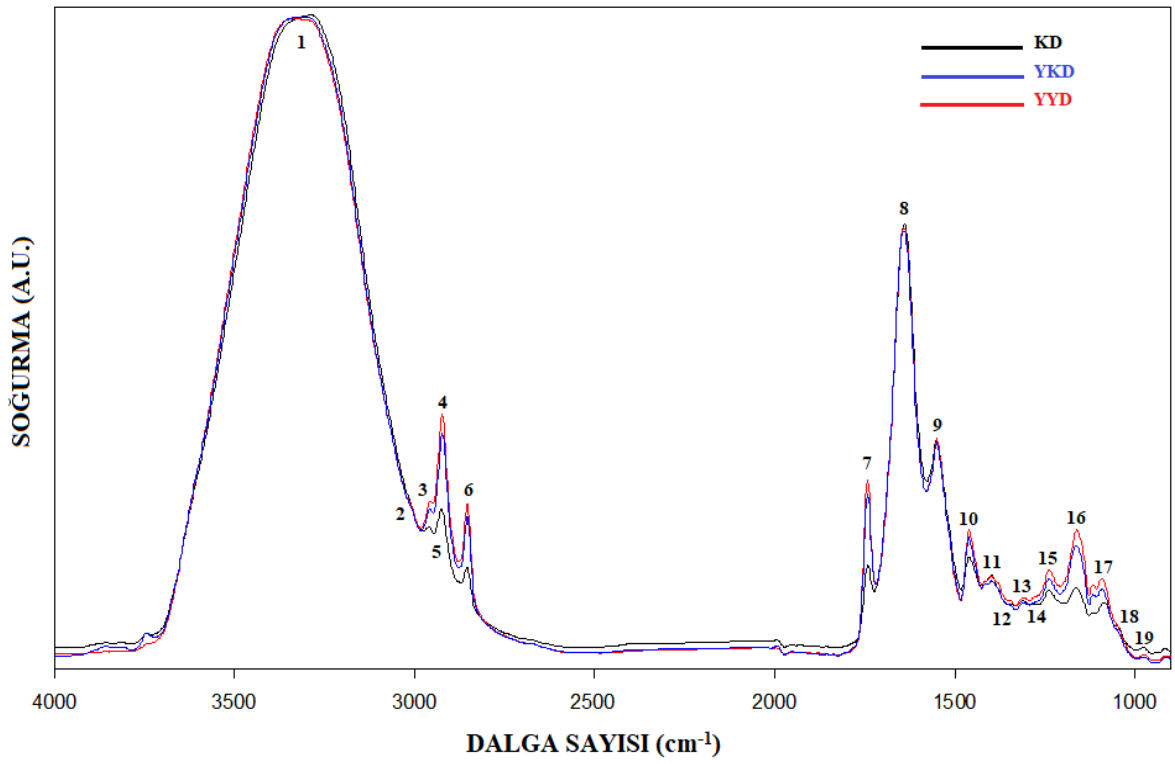
ATR-FTIR spektroskopisi, biyomolekülleri izole etmeden global olarak aynı anda inceleyebilme özelliği ile moleküler etkileşmelerindeki değişimlerin hızlı bir şekilde tespit edilmesine olanak sağlar. Çeşitli dalga boylarına karşılık gelen titreşim grupları görüntülenerek bu moleküllerin yapısal, fonksiyonel ve dinamik özelliklerinin karakterize edilmesine imkân verir (Yalçın Duygu ve diğ., 2009). Tez çalışmamızda dişi C57BL/6J fare ırkının LD iskelet kaslarındaki makromoleküllerin, miktar, düzen ve dinamiğinin tespiti ve yapısal özelliklerinin araştırması amacıyla kullanılmıştır.

Çalışmamızda kontrol dişi C57BL/6J fare grubu (KD, n=9), yüksek karbonhidrat diyeti uygulanan dişi C57BL/6J fare grubu (YKD, n=9) ve yüksek yağ diyeti uygulanan dişi C57BL/6J fare grubu (YYD, n=5) olmak üzere üç deney grubu oluşturulmuştur. Toplam 23 örnek ATR-FTIR spektroskopisi ile incelenmiştir.

Makromoleküllere ait farklı fonksiyonel gruplar, ilgili örneğin FTIR spektrumunda karakteristik soğurma bantları meydana getirir. Şekil 4.1'de 4000-900 cm^{-1} bölgesindeki yüksek yağlı, yüksek karbonhidratlı ve kontrol diyetleri ile beslenmiş B6 dişi farelerin iskelet kas dokularının ortalama FTIR spektrumlarının soğurma bantları gösterilmiştir (Mantsch, 1984; Diem ve diğ., 1999; Cakmak ve diğ.; 2006; Bozkurt ve diğ., 2010; Simsek Ozek ve diğ., 2010). Analizde kullanılan spektral bantlar şekilde etiketlenmiş ve atamaları detaylı olarak Tablo 4.1'de verilmiştir. "KD" kontrol diyeti, "YKD" yüksek karbonhidrat diyeti, "YYD" yüksek yağ diyeti terimlerinin kısaltılmasıdır. Görsel olarak daha net anlaşılması için tüm

ortalama spektrumların taban çizgisi düzeltilmiş ve 3318 cm^{-1}'de lokalize olan amid A bandına göre normalize edilmiştir.

İskelet kası örneklerinin ATR-FTIR spektrumu, lipit, protein ve karbonhidrat gibi birçok bant içeren oldukça karmaşık bir sistemdir. Aynı zamanda kontrol grubuna ait spektrumların, yüksek kalorili diyetle beslenen gruplara ait spektrumlarla eşdeğer olmadığı görülmektedir. Bu titreşim modlarıyla ilgili spektral değişiklikler, makromoleküler bileşenler hakkında değerli yapısal ve konformasyonel bilgiler sağladığından karakteristik değere sahiplerdir (Dogan ve diğ., 2007). Yüksek kalorili diyetlerin iskelet kas dokusunda meydana getirdiği değişimlerin belirlenebilmesi için bu tez çalışmasında lipit, protein, glikojen ve kolajen bantları incelenmiştir.



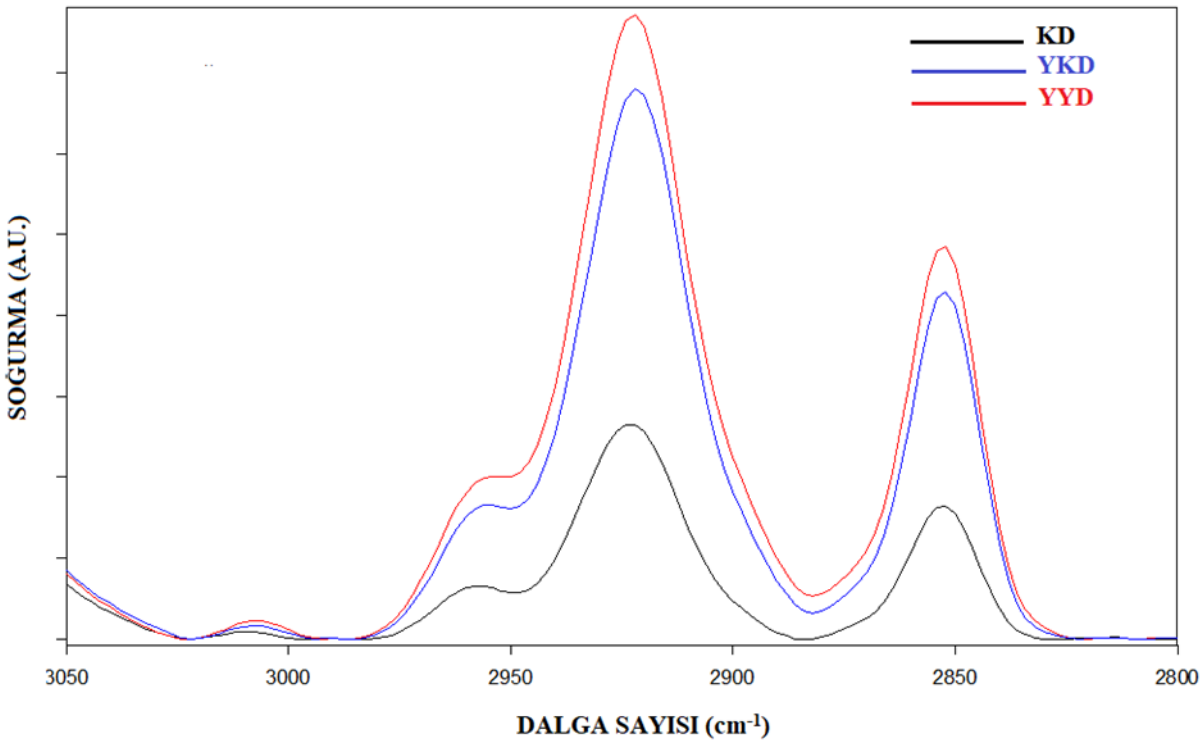
Şekil 4.1: Kontrol diyeti (KD), yüksek karbonhidratlı (YKD) ve yüksek yağlı (YYD) diyetler ile beslenmiş B6 dişi farelerin karaciğer dokularına ait 4000-900 cm^{-1} bölgesinde amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar

Tablo 4.1: İskelet kas dokusu FTIR spektrumundaki başlıca soğurmalar (Dogan ve diğ., 2013; Cakmak ve diğ., 2006; Toyran ve diğ., 2006; Ozek ve diğ., 2010; Bozkurt ve diğ., 2010).

Bant No	**Frekans (cm^{-1})**	**Tanım**
1	3318	Amid A: N-H gerilme: protein
2	3010	Olefinik HC=CH gerilme: doymamış lipit
3	2958	CH_3 antisimetrik gerilme: çoğunlukla lipit
4	2922	CH_2 antisimetrik gerilme: çoğunlukla lipit
5	2872	CH_3 simetrik gerilme: çoğunlukla protein, lipitlerden, karbonhidratlardan, nükleik asitlerden çok az katkı
6	2852	CH_2 simetrik gerilme: çoğunlukla lipit
7	1743	Ester C=O gerilme: trigliserit, kolesterol esterler
8	1640	Çoğunlukla amid gruplarının C=O gerilme titreşiminden oluşan Amid I: protein
9	1550	Amid gruplarının C-N germe titreşimine güçlü bir şekilde bağlanmış N-H bükülmesi nedeniyle oluşan Amid II: protein
10	1456	CH_2 bükülme: lipit
11	1396	COO- simetrik gerilme: yağ asitleri ve amino asitler
12	1342	CH_2 kolajen yan zincir titreşimleri
13	1310	Amid III: C–N gerilme and N–H bükülme
14	1280	Kolajen
15	1239	PO2– antisimetrik gerilme: az miktarda fosfolipit katkısı ile çoğunlukla nükleik asitler
16	1163	CO-O-C antisimetrik gerilme: fosfolipitler, trigliseritler ve kolesterol esterleri
17	1080	C-O gerilme: glikojen
18	1045	Glikojenin C-OH gruplarının C-O bükülmesi ile birleştirilmiş C-O gerilme bandı
19	976	C-N+-C gerilme: nükleik asitler, RNA riboz-fosfat ana zincir titreşimleri

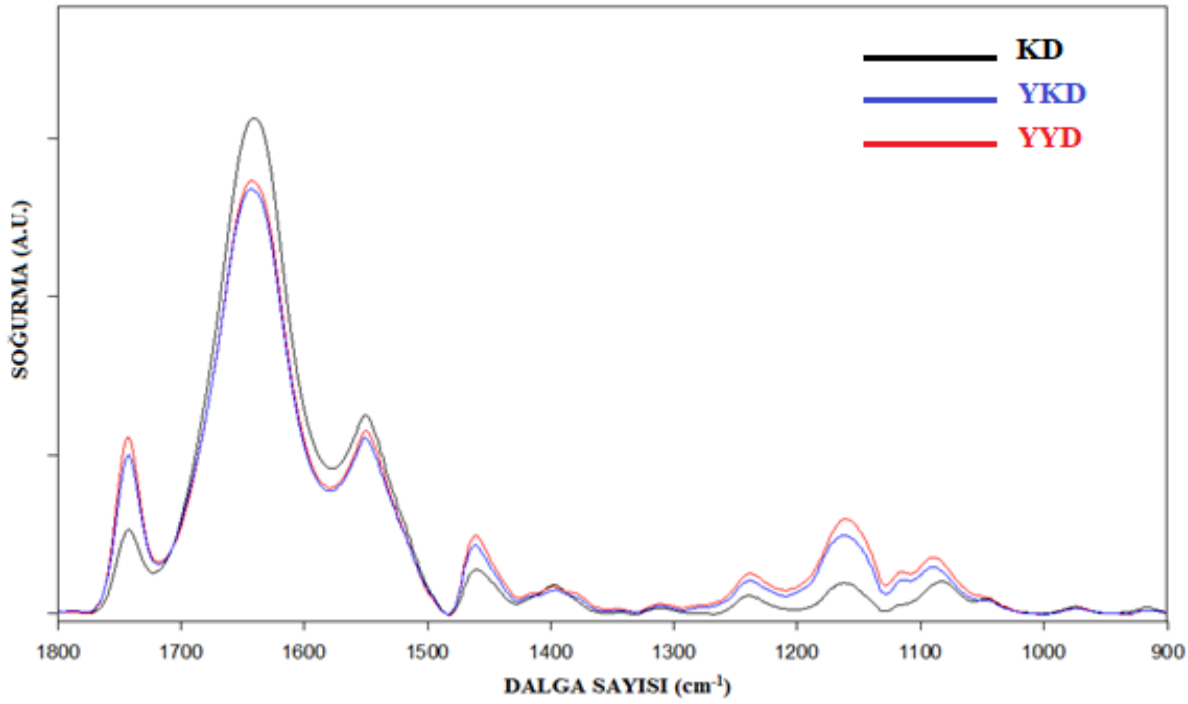
4.1.2. 3050-2800 cm^{-1} ve 1800-900 cm^{-1} Bölgelerinde İskelet Kas Spektrumlarının Genel Karşılaştırması

Bu tez çalışmasında, değişimleri görsel olarak daha net bir biçimde izlemek için analizler 3050-2800 cm^{-1} (C-H titreşim bölgesi) frekans aralığını kapsayan lipit bölgesi ve 1800-900 cm^{-1} frekans aralığını kapsayan parmak izi bölgesinde gerçekleştirilmiştir. Bu iki bölgede amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar kontrol, yüksek karbonhidrat ve yüksek yağ içeren diyetlerle beslenmiş dişi fare iskelet kas dokuları için Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.2: Kontrol (KD), yüksek karbonhidratlı (YKD) ve yüksek yağlı (YYD) diyetler ile beslenmiş B6 dişi farelerin iskelet kas dokularına ait 3050-2800 cm^{-1} frekans aralığında Amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar

Şekil 4.2'de görülen bantlar, CH_3 antisimetrik gerilme titreşimlerinden (bant 3), CH_2 antisimetrik gerilme titreşimlerinden (bant 4), CH_3 simetrik gerilme titreşimlerinden (bant 5) ve CH_2 simetrik gerilme (bant 6) titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Bozkurt ve diğ., 2012; Dogan ve diğ., 2013). Bu bölgede bulunan CH_3 antisimetrik, CH_2 antisimetrik ve CH_2 simetrik gerilme titreşimleri lipitlere ait yapısal ve fonksiyonel bilgiler verir. CH_3 simetrik gerilme titreşimleri ise proteinler hakkında bilgi vermektedir (Movasaghi ve diğ., 2008; Cakmak ve diğ., 2011).



Şekil 4.3: Kontrol (KD), yüksek karbonhidratlı (YKD) ve yüksek yağlı (YYD) diyetler ile beslenmiş B6 dişi farelerin iskelet kas dokularına ait 1800-900 cm^{-1} frekans aralığında 3318 cm^{-1}'de lokalize olan Amid A bandına göre normalize edilmiş ortalama spektrumlar

Şekil 4.3 FTIR spektrumunun parmak izi bölgesini temsil etmektedir. Bu bölgede, 1743 cm^{-1} frekansında yer alan C=O gerilme bandı, trigliserit ve kolesterol esterlere aittir. 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. 1539 cm^{-1} frekansında yer alan Amid II bandı da %60 N-H bükülme ve %40 C-N oranında gerilme titreşimlerine sahip proteinlerden oluşmaktadır (Bozkurt ve diğ., 2010; Cakmak ve diğ., 2006; Doğan ve diğ., 2007; Simsek Ozek ve diğ., 2010; Stuart, 2004). 1342 cm^{-1} ve 1280 cm^{-1} frekanslarında bulunan bantlar kolajen yan zincir titreşimlerinden ve kolajenlerden kaynaklanmaktadır (Camacho ve diğ., 2001; West ve diğ., 2004). İskelet kas dokusuna ait spektumun 1080 cm^{-1} ve 1045 cm^{-1} frekansında yer alan gerilme bantları glikojenin C–O gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Simsek Ozek ve diğ., 2010; Toyran ve diğ., 2006).

4.1.3. Detaylı Spektral Analiz

4.1.3.1 İskelet Kas Spektrumlarının Bant Alan Oranlarının Karşılaştırılması

Beer-Lambert yasasına göre, bir molekülün belirli bir fonksiyonel grubuna ait infrared absorbsiyon bantlarının yoğunluğu ve/veya alanı, o molekülün konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Bu nedenle, biyomoleküller hakkında nispi konsantrasyon bilgisi elde etmek için bantların altında kalan alanların oranları hesaplanmıştır. Bu tez çalışmasında kullanılan bant alanlarının oranları ve tanımları Tablo 4.2'de, sayısal değerleri Tablo 4.3'te verilmiştir (Doğan ve diğ., 2021). İskelet kas dokuları için seçilen bu bantların alan oranlarının bar diagramları Şekil 4.4a, 4.4b, 4.4c, 4.5, 4.6a, 4.6b, 4.7, 4.8 ve 4.9'da verilmiştir.

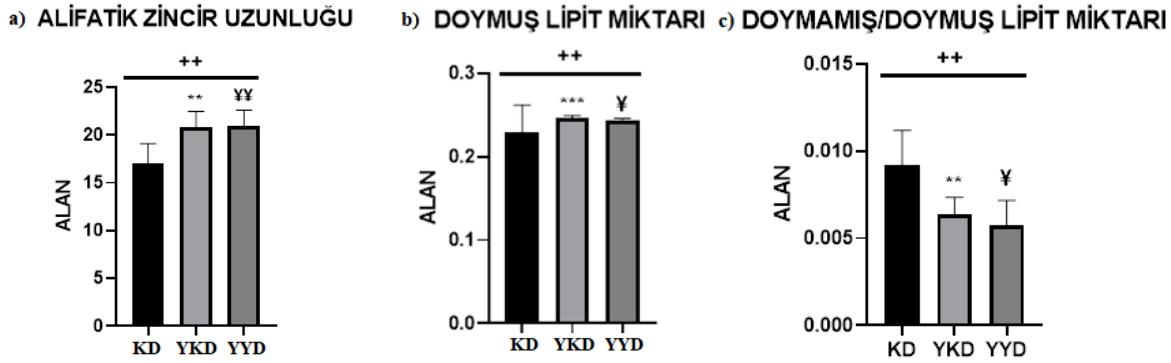
Tablo 4.2: Seçilen bantların alan oranları ve tanımları

Alan Oranı	**Biyomoleküler Köken ***	**Tanım**
$\mathbf{A_{2922}}$ / $\mathbf{A_{2958}}$	CH_2 as υ / CH_3 as υ	Alifatik zincir uzunluğu
$\mathbf{A_{2852}}$ / $\mathbf{A_{2922+2852}}$	CH_2 s υ / (CH_2 as υ + CH_2 s υ)	Doymuş lipit miktarı
$\mathbf{A_{3010}}$ / $\mathbf{A_{2922+2852}}$	Olefinik HC=CH υ / (CH_2 as υ + CH_2 s υ)	Doymamış/doymuş lipit miktarı
$\mathbf{A_{1163}}$ / $\mathbf{A_{2958}}$	CO–O–C as υ / CH_3 as υ	Lipit peroksidasyonu
$\mathbf{A_{1743}}$ / $\mathbf{A_{2922+2852}}$	ester C═O υ / (CH_2 as υ + CH_2 s υ)	Trigliserit-kolesterol ester miktarı
$\mathbf{A_{1640}}$ / $\mathbf{A_{1550}}$	amid I / amid II	Protein yapısal ve konformasyonel değişimleri
$\mathbf{A_{1640}}$ / $\mathbf{A_{1640+1550}}$	amid I / (amid I + amid II)	Protein konsantrasyonu
$\mathbf{A_{2922+2852}}$ / $\mathbf{A_{1640+1550}}$	(CH_2 as υ + CH_2 s υ) / (amid I + amid II)	Lipit/protein miktarı
$\mathbf{A_{1550}}$ / $\mathbf{(A_{1342}+A_{1280})}$	amid II / (CH_2 kolajen yan zincir titreşimleri + kolajen)	Kolajen integriti
$\mathbf{A_{(1045+1080)}}$ / $\mathbf{A_{1640+1550}}$	C—O υ / (amid I+amid II)	Glikojen/protein miktarı

*Kısaltma: as = antisimetrik, s = simetrik, υ = gerilme

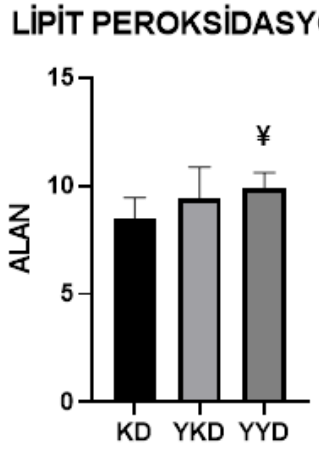
3050-2800 cm^{-1} lipit bölgesinde yer alan bantlardan, CH_2 antisimetrik gerilme bandının CH_3 antisimetrik gerilme bandına oranı sistemdeki lipitlerin alifatik zincir uzunluğu hakkında bilgi verir (Doğan ve diğ., 2021). Şekilden 4.4a'da görüleceği gibi yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş dişi B6 farelerin LD iskelet kas dokularında daha uzun zincirli lipitlerin var olduğunu gösteren anlamlı artış, kontrole göre yüksek karbonhidratlı ve yüksek yağlı diyetlerle beslenen fare gruplarında ve tüm gruplar arasında gözlemlenmiştir. Doymuş lipit miktarını veren CH_2 antisimetrik gerilme bandının CH_2 antisimetrik gerilme bandı ve CH_3 antisimetrik gerilme bandı alanlarının toplamına oranı incelendiğinde, yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş dişi B6 farelerin LD iskelet kas dokularındaki doymuş lipit miktarının kontrole göre yüksek karbonhidratlı ve yüksek yağlı diyetlerle beslenen fare gruplarında ve

tüm gruplar arasında anlamlı olarak arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.4b). Ayrıca doymamış lipit miktarı hakkında bilgi veren olefinik bandı alanının CH_2 antisimetrik gerilme bandı ve CH_3 antisimetrik gerilme bandı alanlarının toplamına oranı incelendiğinde, yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş dişi B6 farelerin LD iskelet kas dokularında doymamış / doymuş lipit miktarının da kontrole göre ve tüm gruplar arasında azalmış olduğu Şekil 4.4c'de görülmektedir.



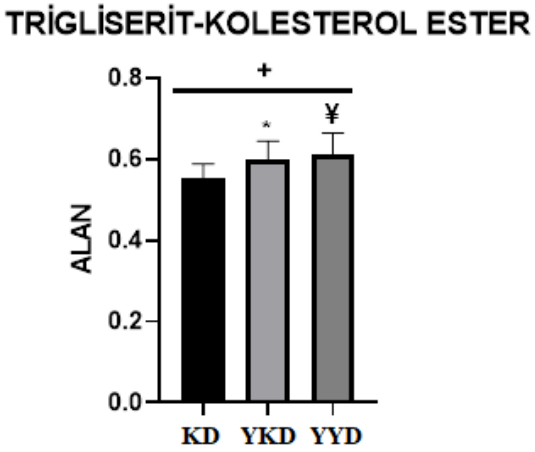
Şekil 4.4: LD iskelet kas dokularının alan oranlarındaki değişim a) Alifatik zincir uzunluğu $\mathbf{A_{2922}/A_{2958}}$ b) Doymuş lipit miktarı $\mathbf{A_{2854}/A_{2922+2854}}$ c) Doymamış / doymuş lipit miktarı $\mathbf{A_{3010}/A_{2922+2854}}$

CO–O–C antisimetrik gerilme / CH_3 antisimetrik gerilme bandı alan oranı lipit peroksidasyonu hakkında bilgi verir (Ricciardi ve diğ., 2017). Bu oran yüksek yağlı diyetle beslenen dişi farelerin LD kas dokularında kontrole göre anlamlı olarak artmıştır. (Şekil 4.5). YYD grubundaki oran artışında yağ depolanmasının etkili olduğu düşünülmektedir. Yağ depolanmasının insanlarda sistemik lipid peroksidasyonuna sebep olduğu bilinmektedir (Furukawa ve diğ., 2004).



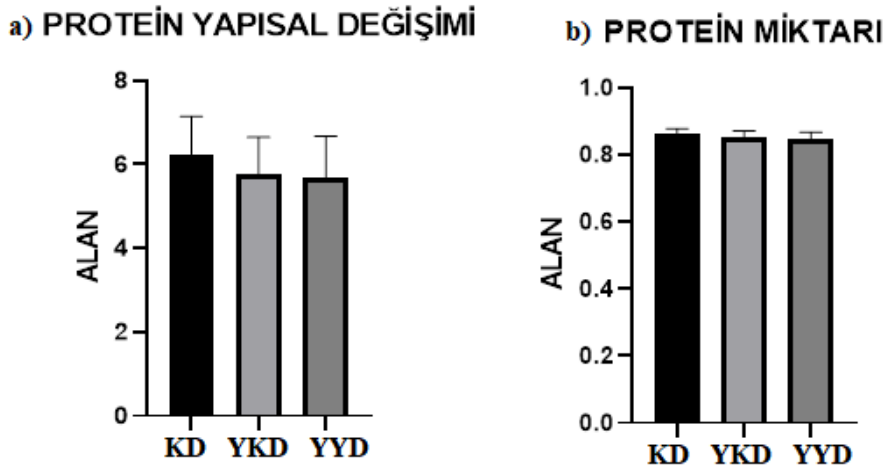
Şekil 4.5: LD iskelet kas dokularındaki lipit peroksidasyonu $\mathbf{A_{1163}/A_{2958}}$

Parmak izi bölgesinde trigliserit-kolesterol ester miktarının yüksek kalorili diyetlere bağlı değişimini incelemek üzere C=O gerilme bandı alanı, CH_2 simetrik ve antisimetrik gerilme bandı alanlarının toplamına oranlanmıştır. Yüksek kalorili diyetlerle beslenen farelerin LD iskelet kas dokularında trigliserit-kolesterol ester miktarı kontrole göre ve tüm gruplar arasında anlamlı olarak artmıştır (Şekil 4.6).



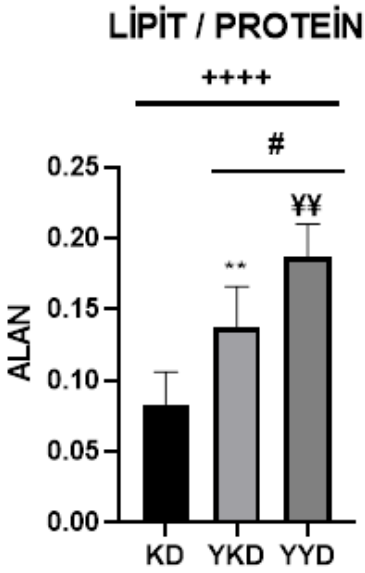
Şekil 4.6: LD iskelet kas dokularındaki trigliserit-kolesterol ester miktarı $\mathbf{A_{1743}/A_{2922+2854}}$

Amid I ve amid II bantları proteinlere ait temel bantlardan ikisidir ve proteinlerin ikincil yapısını izlemek için kullanılırlar. Amid I bandı temel olarak C=O gerilmesi (%80) ve C—N gerilmesinden kaynaklandığı, amid II'nin proteinlerin N—H bükülmesinden (%60) ve C—N gerilmesinden (%40) kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu bantların proteinlerin ayırt edici titreşimlerinden ortaya çıktığı ve proteinlerin yapısal bileşimine dayandığı göz önüne alındığında, proteinlerdeki yapısal değişikliklerin kaba bir tahminini elde etmek için amid I / amid II bant alanı oranı kullanılmıştır. Ayrıca amid I / (amid I + amid II) bant alanı oranı da protein konsantrasyonu hakkında bilgi sahibi olmak için araştırılmış, her iki sonuç Şekil 4.7a ve 4.7b'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre yüksek kalorili diyetlerle beslenen farelerin LD iskelet kas dokularının protein miktarında ve yapısal değişimlerinde anlamlı bir değişim gözlenememiştir.



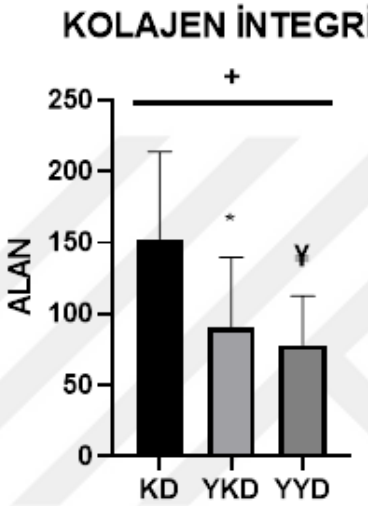
Şekil 4.7: LD iskelet kas dokularının alan oranlarındaki değişim a) Protein yapısal değişimi $\mathbf{A_{1638}/A_{1539}}$ b) Protein miktarı $\mathbf{A_{1638}/A_{1638+1539}}$

CH_2 antisimetrik gerilme titreşimi bant alanı ve CH_2 simetrik gerilme titreşimi bant alanları toplamının, amid I ve amid II bant alanlarının toplamına oranlanmasıyla total lipit / total protein miktarı elde edilmiştir (Şekil 4.8). Bu sonuçlara göre YYD ve YKD gruplarında dişi fare iskelet kas dokularının lipit/protein oranı kontrole göre, YKD ve YYD grupları ve tüm gruplar arasında belirgin anlamlı artış olduğunu göstermektedir. Kolesterol ve trigliserit miktarlarındaki artış da bu sonucu desteklemektedir. Lipit miktarındaki bu artış yüksek kalorili diyetlerle beslenen dişi farelerin iskelet kas dokusunda yağ depolanmasının işareti olarak kabul edilebilir (Furukawa ve diğ., 2004).



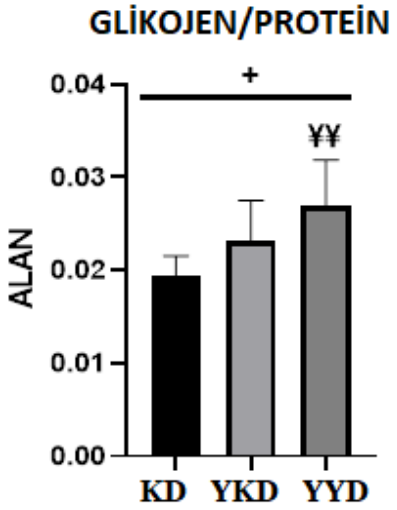
Şekil 4.8: LD iskelet kas dokularında (CH_2 antisimetrik gerilme + CH_2 simetrik gerilme)/(amid I + amid II) bant alan oranı.

Amid II bant alanının, CH_2 kolajen yan zincir titreşimleri ve kolajen bantlarının alanlarının toplanmasıyla elde edilen değere oranlanması ile kolajen integritisi hakkında veri elde edilmiştir. Obez durumda yağ dokusunun genişlemesi, doku sertleşmesine ve fibrozise katkıda bulunan artan kolajen içeriği ile ilişkilidir. Bu bandın alan oranının yoğunluğunun/miktarının azalması, kolajen denatürasyonunu gösterir. Elde edilen sonuçlara göre yüksek kalorili diyetler LD iskelet kas dokusunun kolajen integritisi kontrole göre ve tüm gruplar arasında belirgin anlamlı azalma göstermiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: LD iskelet kas dokularında amid II/kolajen bant alan oranı.

Glikojen/protein miktarını tespit etmek için glikojenden kaynaklanan 1045 ve 1080 cm^{-1} gerilme titreşimi bant alanlarının toplamı, amid I ve amid II bant alanlarının toplamına oranlanmıştır. Sonuçlara bakıldığında glikojen/protein miktarı kontrole göre hem YKD hem de YYD gruplarında artış göstermiştir (Şekil 4.10). YYD grubunda ve tüm gruplar arasında glikojen/protein oranında belirgin anlamlı artış gözlemlenmiştir. Bu oranın artışı özelikle zararlı yağları içeren YYD diyetiyle beslenen B6 dişi farelerinin LD iskelet kas dokularında glikojen depolanmasının artması ya da protein miktarının azalmasından kaynaklanıyor olabilir (Simsek Ozek ve diğ., 2010).



Şekil 4.10: LD iskelet kas dokularında C—O gerilme/(amid I + amid II) bant alan oranı.

Tablo 4.3: B6 dişi fare iskelet kas dokularının spektrumlarında görülen bantların alan oran değerleri arasındaki farklılıklar. Verilen değerler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık kontrol ile YYD ve YKD ve tüm gruplar karşılaştırılarak hesaplanmıştır ($p < 0.05$*, $p < 0.01$**, $p < 0.001$ ***, $p < 0.0001$ ****).

Alan Oranı	KD	YKD	YYD	YYDvsYKD	YYDvsYKDvsKD
A_{2922} / A_{2958}	17,05±2,08	20,82±1,67**↑	20,97±1,62¥¥↑		††
A_{2852} / $A_{2922+2852}$	0,23±0,03	0,25±0,003***↑	0,24±0,003¥↑		††
A_{3010} / $A_{2922+2852}$	0,009±0,002	0,0064±0,0010**↓	0,0057±0,0015¥↓		††
A_{1163} / A_{2958}	8,51±0,96	9,41±1,47↑	9,87±0,74¥↑		
A_{1743} / $A_{2922+2852}$	0,55±0,04	0,6±0,05*↑	0,61±0,05¥↑		†
A_{1640} / A_{1550}	6,24±0,85	5,76±0,89↓	5,67±1,01↓		
A_{1640} / $A_{1640+1550}$	0,86±0,02	0,85±0,02↓	0,85±0,02↓		
$A_{2922+2852}$ / $A_{1640+1550}$	0,08±0,02	0,14±0,03**↑	0,19±0,02¥¥↑	##	††††
A_{1550} / $(A_{1342}+A_{1280})$	152,63±61,48	90,99±48,79*↓	78,22±34,42¥↓		†
$A_{(1045+1080)}$ / $A_{1640+1550}$	0,019±0,002	0,023±0,004↑	0,027±0,005¥¥↑		†

4.1.3.2 İskelet Kas Spektrumlarının Bant Frekansı ve Bant Genişliğinin Karşılaştırılması

CH_2 simetrik ve antisimetrik gerilme bantlarının frekansları (konumlarının), lipitlerin konformasyonel değişimlerini belirlemek ve sistemdeki ortalama trans/gauche izomerizasyonunu incelemek için kullanılabileceği bilinmektedir. Ayrıca bahsedilen bantların bant genişliği, membran akışkanlığı ve dinamiği hakkında bilgi verir. Bu bantların dalga sayısının düşük değerlere kayması, lipitlerin asil zincirlerinin düzenli yapıda olması, yani trans/gauche oranının artması; yüksek değerlere kayması ise, lipitlerin asil zincirlerinin düzenliliğinin azalması, dolayısıyla trans/gauche oranının azalması anlamına gelir. Ayrıca CH_2 simetrik ve antisimetrik gerilme bandının bant genişliği değerlerinde artış, membran akışkanlığının artmasına; bant genişliği değerlerinde azalma ise membran akışkanlığının azalmasına işaret etmektedir (Ustaoglu ve diğ., 2021). Dişi B6 farelerin spektrumları üzerinden elde edilen bant frekans değerleri ve bant genişlikleri sırasıyla Tablo 4.4 ve Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, yüksek karbonhidratlı diyetle beslenen fare grubunun LD iskelet kas dokularına ait CH_2 antisimetrik gerilme bandının tepe konumu kontrole göre anlamlı olarak düşük dalga sayısı değerine kaymıştır. Aynı anlamlı azalma, CH_2 simetrik gerilme bandının frekans değerlerinde de gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, yüksek karbonhidrat diyetinin, LD iskelet kas dokusundaki membran lipitlerinin açil zincirlerinin düzenini artırdığı, diğer bir deyişle açil zincir esnekliğini azalttığı anlamına gelir, yani sistemdeki trans/gauche oranının arttığı söylenebilir. Aynı zamanda yüksek yağlı diyetle beslenen fare grubunda da LD iskelet kas dokularına ait CH_2 antisimetrik gerilme bandının tepe konumu kontrole göre anlamlı olarak düşük dalga sayısı değerine kaymıştır. Ayrıca yüksek kalorili diyetlerle beslenen grupların hem CH_2 antisimetrik hem de CH_2 simetrik bandının frekans değerleri tüm gruplar arasında da anlamlı değişiklik göstermiştir.

Amid I ve amid II bantlarına ait titreşim frekansları protein ikincil yapılarındaki olası değişimler hakkında bilgi verir (Haris ve Severcan, 1999; Jackson ve diğ., 1998, Lyman ve diğ., 1999). Yüksek karbonhidrat diyetiyle beslenen farelerin LD iskelet kas dokularının amid I bandı frekans değerleri anlamlı olarak artmıştır. Aynı anlamlı artış amid I bandında tüm gruplar arasında da gözlemlenmiştir. Bu bandın frekans değerlerinin anlamlı olarak artması, yüksek karbonhidratla beslenen farelerin LD iskelet kas dokularına ait proteinlerde yapısal değişiklik oluşmuş olabileceği anlamına gelmektedir. Yüksek kalorili diyetlerle beslenen farelerin LD iskelet kas dokularının amid II bant frekans değerlerinde kontrole göre ve tüm gruplar arasında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

Tablo 4.4: B6 dişi fare iskelet kas dokularının spektrumlarında görülen bantların frekans değerleri arasındaki farklılıklar. Verilen değerler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık kontrol ile YYD ve YKD ve tüm gruplar karşılaştırılarak hesaplanmıştır ($p < 0.05$*, $p < 0.01$**, $p < 0.001$ ***, $p < 0.0001$ ****).

Bant Frekansı	KD	YKD	YYD	YYDvsYKD	YYDvsYKDvsKD
2922	2923,37±0,79	2921,15±0,65***↓	2921,93±0,58¥¥↓		†††
2852	2852,49±0,23	2851,95±0,23***↓	2852,23±0,23↓		††
1640	1640,58±0,67	1641,66±0,76**↑	1641,25±0,86↑		†
1550	1551,44±2,34	1550,65±1,82↓	1550,55±2,02↓		

Elde edilen sonuçlara göre yüksek kalorili diyetlerle beslenen fare gruplarının LD iskelet kas dokularına ait CH_2 simetrik ve antisimetrik gerilme bantlarının genişliği kontrole göre ve tüm gruplar arasında anlamlı olarak azalmıştır. Bu anlamlı azalma, diyetlerin iskelet kas dokularının membran lipitlerinin hareket özgürlüğünü azalttığı, diğer bir deyişle membran akışkanlığını azalttığı anlamına gelir. Proteinlere ait amid I bandının genişliğinde herhangi bir değişiklik gözlemlenmemesine karşın yüksek yağ diyeti uygulanan grubun amid II bant genişliği değerleri anlamlı olarak azalmıştır. Aynı anlamlı azalma, amid II bandı için tüm gruplar arasında da elde edilmiştir. Bant genişliği değerlerindeki bu anlamlı azalma katı, esnekliği azalmış bir membran yapısı anlamına gelir (Ozek Simsek ve diğ., 2010; Dogan ve diğ., 2013; Bozkurt ve diğ., 2010).

Tablo 4.5: B6 dişi fare iskelet kas dokularının spektrumlarında görülen bant genişliği değerleri arasındaki farklılıklar. Verilen değerler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık kontrol ile YYD ve YKD ve tüm gruplar karşılaştırılarak hesaplanmıştır ($p < 0.05$*, $p < 0.01$**, $p < 0.001$***, $p < 0.0001$ ****).

Bant Frekansı	KD	YKD	YYD	YYDvsYKD	YYDvsYKDvsKD
2922	3,54±0,61	2,39±0,40****↓	2,19±0,15¥¥¥↓		†††
2852	7,18±0,91	5,13±0,73****↓	4,95±0,33¥¥¥↓		†††
1640	2,58±0,06	2,56±0,05↓	2,55±0,07↓		
1550	5,86±0,43	5,38±0,83↓	5,12±0,24¥¥↓		†

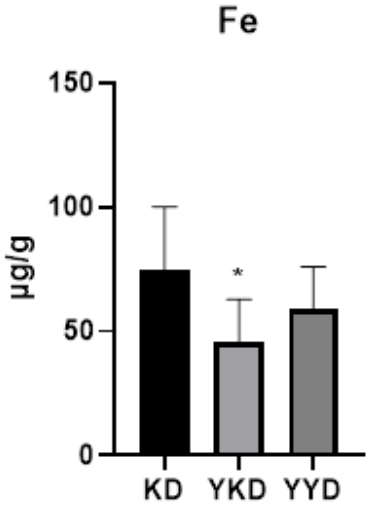
4.2. ICP-OES SONUÇLARI

ICP-OES çok düşük konsantrasyonlarda ve yüksek hassasiyette element analizinin yapılabildiği spektroskopik bir tekniktir. Yüksek derişimde katyon ve buna yaklaşık olarak eşdeğer derişimde elektron içeren plazmada, atomlar ve iyonların uyarılması ile yaydıkları ışının uygun bir dedektörle ölçülerek çözeltideki elementlerin miktarının belirlemesi esasına

dayanır. İnsan vücudundaki tüm biyokimyasal ve fizyolojik süreçlerde çok aktif olduğundan eser elementlerin optimum seviyelerindeki dengesizliklerin biyolojik süreçleri olumsuz etkileyebileceği ve birçok hastalık ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Hou ve Jones, 2006). Tez çalışmamızda ICP-OES tekniği, yüksek karbonhidrat diyeti ve yüksek yağ diyeti uygulanan dişi C57BL6/J fare gruplarının LD iskelet kaslarındaki eser elementlerin miktar tayininin araştırılması amacıyla kullanılmıştır.

Kontrol ve yüksek kalorili diyetlerle beslenen dişi B6 farelerin LD iskelet kas dokularında Fe, Zn ve Cr konsantrasyonları ölçülmüştür. Doku değerleri (doku konsantrasyonu x toplam hacim) /doku ağırlığı] formülü ile hesaplanmıştır. Analiz için seçilen elementlerin konsantrasyonları detaylı olarak Tablo 4.6'de, bar diagramları Şekil 4.11, 4.12 ve 4.13'de verilmiştir. "KD" kontrol diyeti, "YKD" yüksek karbonhidrat diyeti, "YYD" yüksek yağ diyeti terimlerinin kısaltılmasıdır.

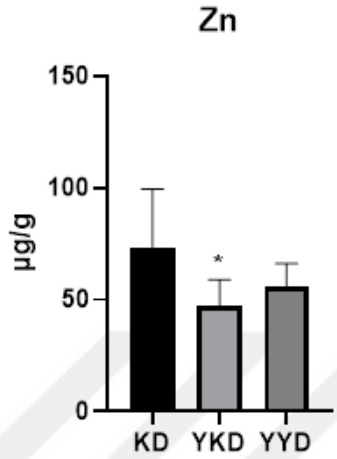
B6 farelerinin LD iskelet kas dokularında ölçülen Fe konsantrasyonları kontrol, YKD ve YYD gruplarında ± µg/g doku olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.11'den görülebileceği gibi, kontrol ve yüksek kalorili diyetlerle beslenen dişi B6 farelerinin LD iskelet kas dokularına ait eser element konsantrasyonları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, demir düzeyi YKD grubunda kontrole göre anlamlı azalma göstermiştir. YYD gruplarında da azalma görülmüştür fakat bu azalma anlamlı değildir.



Şekil 4.11: LD iskelet kas dokularında ölçülen demir konsantrasyonu.

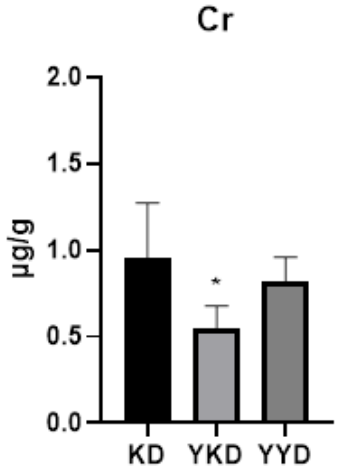
B6 farelerinin LD iskelet kas dokularında ölçülen Zn konsantrasyonları kontrol, YKD ve YYD gruplarında ± µg/g doku olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.12'den görülebileceği gibi, kontrol ve yüksek kalorili diyetlerle beslenen dişi B6 farelerinin LD iskelet kas dokularına ait

eser element konsantrasyonları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, çinko düzeyi YKD diyeti ile beslenen grupta kontrole göre anlamlı olarak azalmıştır. YYD ile beslenen grupla karşılaştırılmasında ise istatistiksel fark tespit edilememiştir.



Şekil 4.12: LD iskelet kas dokularında ölçülen çinko konsantrasyonu.

B6 farelerinin LD iskelet kas dokularında ölçülen Cr konsantrasyonları kontrol, YKD ve YYD gruplarında ± µg/g doku olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.13'de görülebileceği gibi, kontrol ve yüksek kalorili diyetlerle beslenen dişi B6 farelerinin LD iskelet kas dokularına ait eser element konsantrasyonları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Cr düzeyi YKD ile beslenen fare grubunda kontrole göre anlamlı azalma göstermiştir. YYD grubunda ise istatistiksel fark bulunmamıştır.



Şekil 4.12: LD iskelet kas dokularında ölçülen krom konsantrasyonu.

Tablo 4.6: B6 dişi fare iskelet kas dokularında ölçülen Fe, Zn ve Cr konsantrasyonları arasındaki farklılıklar. Verilen değerler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık kontrol ile YYD ve YKD ve tüm gruplar karşılaştırılarak hesaplanmıştır ($p < 0.05$*, $p < 0.01$**, $p < 0.001$***).

	KD	YKD	YYD	YYDvsYKD	YYDvsYKDvsKD
Fe (µg/g)	72,19±26,09	45,67±17,10*↓	58,97±16,93↓		
Zn (µg/g)	69,45±25,95	47,01±12,03*↓	56,05±10,19↓		
Cr (µg/g)	0,85±0,27	0,61±0,33*↓	0,82±0,30↓		

5. TARTIŞMA

Rastlanma sıklığı günden güne artan, çevresel ve genetik pek çok faktörün etkisi altında ortaya çıkan obezite, kardiovasküler problemler, hipertansiyon, dislipidemi gibi daha birçok hastalık ile yakın ilişki içerisindedir (de Castro ve diğ., 2021). İskelet kas dokusu, insülin uyarımında kandaki glikozun yaklaşık %80'ini aldığından glikoz dağılımını ve vücutta glikoz iç dengesini (homeostasis) belirleyen temel dokulardan biridir (Honka ve diğ., 2018). Obezite, sadece yağ dokularında değil, aynı zamanda yağ olmayan dokularda da lipitlerin birikmesine neden olur. Yağ dokusu lipolizi, yağ asitlerinin kan dolaşımına salınımının artmasına, karaciğer ve iskelet kası tarafından serbest yağ asitlerinin aşırı alımına, bazal metabolizma hızının azalmasına, daha yüksek vücut ağırlıklarına neden olur (Sen ve diğ., 2015). Serbest yağ asidi metabolizmasındaki bozulmalar, iskelet kası trigliseritinin birikmesi sırasında meydana gelir ve ayrıca insülin direncinin patogenezinde rol oynayabilir (Sikaris, 2004). Yüksek kalorili beslenme sırasında iskelet kası, oksitleyemediği miktarlarda lipitlerle karşı karşıya kalır ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu nedeniyle insülin sinyallemesinde düzensizliklere yol açar (Hegarty ve diğ., 2003; Han ve diğ., 2004; Moreno ve diğ., 2011).

Obezite gibi metabolik hastakların ortaya çıkma sebebi hücre düzeyindeki işlev bozukluklarıdır (Khan ve diğ., 2021). Bu işlev bozuklukları, membran işleyişi ve iyon kanalı kinetiği ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğundan biyomoleküllerin konformasyon ve yapısal dinamiklerindeki değişiklikler, dolaylı olarak çeşitli fizyolojik bozuklukların oluşumunda ve hastalıkların moleküler mekanizmalarının anlaşılmasında büyük önem taşımaktadır (Zaydman ve diğ., 2012). FTIR spektroskopi, protein ve lipit bileşimi, lipit düzeni/düzensizliği ve akışkanlığı gibi yapı/fonksiyon ilişkilerindeki temel faktörleri incelemek için oldukça elverişli bir yöntemdir (Goñi ve Alonso, 2000). Birçok avantajı nedeniyle, vücut sıvıları için biyomedikal uygulamalarda, dokulardaki patolojik değişikliklerde, hastalıkların teşhisinde ve özellikle kanserli dokuda hücre hattı sınıflandırması ve ayrımında değerli bir araştırma aracı olarak kullanılmaktadır (Balan ve diğ., 2019; Dogan Mollaoglu ve diğ., 2018).

Membran lipitleri ve proteinlerinin sıkı bir etkileşim içinde olduğu dikkate alındığında, lipit hidrokarbon zinciri uzunluğundaki değişiklikler, doymamış/doymuş lipit miktarı ve lipit/protein oranlarındaki herhangi bir değişiklik, membran kalınlığını, lipit çift tabakasının termodinamik stabilitesini ve pasif geçirgenliğini değiştirmekte, bu da lipit düzenini ve

akışkanlığını etkilemektedir. Akışkanlık ve düzen parametreleri, sinyal iletimi, madde taşınımı ve membranlarla ilişkili enzim aktivitesi gibi birçok membran fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. Lipit akışkanlığı, membran reseptörlerinin düzgün çalışması için sıkı bir şekilde kontrol edilir. Bu nedenle, membran akışkanlığının azalması, proteinlerde meydana gelebilecek fonksiyonel değişikliklerinin bir başka bir göstergesi olabilir (Turker ve diğ., 2014). FTIR spektroskopi sonuçlarımıza göre, yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş dişi B6 farelerin LD iskelet kas dokularındaki doymuş lipit miktarının kontrole göre ve tüm gruplar arasında anlamlı olarak arttığı, doymamış/doymuş lipit miktarının kontrole göre ve tüm gruplar arasında anlamlı olarak azaldığı gözlemlenmiştir. Ayrıca membran lipit düzeninin arttığı ve akışkanlığın azaldığı bulunmuştur. Lipit peroksidasyonu da membranların doymamış/doymuş lipit bileşimini değiştirir ve çapraz bağlı lipit-lipit ve lipit-protein etkileşimlerinin bulunduğu sert, katı membran yapılarının oluşmasına neden olur. Katı membranlar doğru insülin-reseptör bağlanması için engel teşkil ettiğinden insülin direnci ile ilişkilendirilebilir (Gurbanov ve diğ., 2017). Bu sonuçlar yüksek karbonhidrat ve yüksek yağ diyetleri ile beslenen farelerde insülin direnci oluşmuş olabileceği anlamına gelmektedir.

C=O gerilme bandı alanının, CH_2 simetrik ve CH_2 antisimetrik gerilme bandı alanlarının toplamına oranı incelendiğinde, LD iskelet kas dokularında yüksek kalorili diyetlerin hem kontrole göre hem tüm gruplar arasında anlamlı olarak arttığı, bu da LD iskelet kas dokularında trigliserit-kolesterol ester miktarının arttığı anlamına gelir. Literatürde iskelet kası trigliserit seviyeleri ve trigliseritlerdeki doymuş yağ asitleri ile insülin aktivitesinin ters orantılı olduğu gösterilmiştir (Storlien ve diğ., 1991; Vessby ve diğ., 1994). Çalışmamızda da benzer sonuçlar görülmüştür. Bu nedenle, LD iskelet kası içinde depolanan trigliserit-kolesterol miktarının artması, insülin direnci belirteçleri ile pozitif olarak ilişkilidir.

Glikoz metabolizmasında önemli bir işleve sahip olan iskelet kası, lipit veya karbonhidrat yakıtları kullanır ve oksidatif veya glikolitik kapasitesine bağlı olarak enerji ihtiyacına göre yakıt seçimini hızla değiştirebilir. Ancak, insüline dirençli durumda bu yakıtlar arasında geçiş yapma yeteneğini kaybeder. Obez durumda, insülin stimülasyonunun bozulması nedeniyle iskelet kasının glikojen depolama kapasitesinde anormallikler meydana gelir (Sen ve diğ., 2015). Tez çalışmamızda, zararlı yağlarla beslenen YYD grubunda ve tüm gruplar arasında glikojen/protein miktarında anlamlı artış tespit edilmiştir. Bu durum, yüksek yağ diyeti ile beslenen dişi farelerin LD iskelet kas dokusundaki glikojen birikiminden ya da protein miktarının azalmasından kaynaklanıyor olabilir.

Vücutta iskelet kası, tüm vücut protein kütlesinin ana bileşenlerinden biri olduğundan ve yağ asidi oksidasyonuna büyük ölçüde katkıda bulunduğundan, obezitede bu dokuda meydana gelen protein metabolizmasındaki değişiklikler dikkate alınmalıdır. Obezitenin glikoz ve lipit metabolizmasındaki işlev bozuklukları ile ilgili olduğu birçok çalışmada gösterilmiş olsa da protein metabolizmasını da etkileyip etkilemediği tartışmalıdır (Guillet ve diğ., 2009; Guillet ve diğ., 2012). Literatürdeki bazı araştırmalar, protein anabolizminin insülin hormonundan etkilendiğini ve obezitenin neden olduğu insülin direncinin özellikle kadınlarda protein metabolizmasında rol oynayabileceğini göstermiştir (Caballero ve Wurtman, 1991; Luzi ve diğ., 1996). Artan yağ dokusu kütlesinin, azalan nispi toplam protein içeriği ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Seraphim ve diğ., 2001). Bu nedenle, bozulmuş glukoz ve serbest yağ asidi metabolizmasına ek olarak, protein metabolizması ve artan protein döngüsündeki farklılıklar, orta derecede obezitede bile görülebilir (Jensen ve Haymond, 1991; Welle ve diğ., 1992). Obez hayvanlarda, birkaç çalışma, insülinin protein sentezini uyarma ve/veya kasta protein yıkımını engelleme yeteneğinin azaldığını belirtmiştir. Alloxan enjeksiyonu ile diyabetik hale getirilen ve kısa süre insülin ile tedavi edilen obez Zucker sıçanlarında yüksek fraksiyonel miyofibriler protein yıkım oranı ile birlikte, kas protein sentez hızında kontrol grubuna göre daha az artış olduğu bulgusu elde edilmiştir (Chan, 1985). Genetik olarak obez db/db farelerde diyete bağlı obezite, iskelet kası protein sentezinin bazal oranlarını etkilemezken, besin alımına yanıt olarak iskelet kası protein sentezinin aktivasyonunu bozduğu bulunmuştur (Anderson ve diğ., 2008). Obez hayvanların genetik modellerinde, genellikle daha düşük bir kas kütlesi rapor edilir (Dunn ve Hartsook, 1980; Durschlag ve Layman, 1983; Nilsson ve diğ., 2010). Düşük kas kütlesi, protein sentez hızında önemli bir azalmaya neden olur veya kas dokusunda aminoasit metabolizmasının bozulması ile ilişkilidir (Durschlag ve Layman, 1983; Chanseaume ve diğ., 2007). Tez çalışmamızda, proteinlere ait bant alan oranlarında anlamlı bir değişiklik elde edilememiştir. Fakat yukarıda bahsettiğimiz çalışmalarla paralel olarak hem lipit/protein hem de glikojen/protein oranlarında anlamlı artış gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara göre yüksek kalorili diyetlerin dişi farelerin LD iskelet kas dokularında protein miktarının azalmış olabileceği yorumu yapılabilir. Yüksek karbonhidratla beslenen farelerin LD iskelet kas dokularına ait amid I bandının frekans değerleri kontrole göre anlamlı olarak artarken, yüksek yağlı beslenen grupta ise amid II bandının genişliği kontrole göre anlamlı olarak azalmıştır. Bant genişliği değerlerindeki aynı anlamlı azalma tüm gruplar arasında da görülmüştür. Bu sonuçlara göre yüksek kalorili diyetlerin proteinlerde yapısal değişiklik meydana getirmiş olabileceği yorumu yapılabilir.

Kolajen, hücre dışı matrisin (ECM) en yaygın proteinidir ve iskelet kasında hem gerilme kuvveti hem de elastikiyet sağlanmasından sorumludur. Kas kuvvetlerinin kemiklere iletilmesi, hücre farklılaşmasının düzenlenmesi, mekanik ve iyonik filtrasyon dahil olmak üzere birçok önemli fonksiyona sahiptir (Gosselin, 2010). Aşırı beslenme, gen ekspresyonunda değişikliklere neden olur. Birkaç çalışmada, ECM genleri (Tip I, III, IV, V ve VI kolajen), integrinler (ITGBL1, ITGA4 ve ITGA5) ve matris metaloproteazları (MMP2 ve MMP25) aşırı beslenmeye tepki olarak artış göstermiştir. Bu bulgular, ECM'nin yeniden şekillenmesinin diyete bağlı insülin direnci gelişimi ile birleştiğini ve tip II diyabet patofizyolojisine neden olduğunu düşündürmektedir (Martinez-Huenchullan ve diğ., 2017; Tam ve diğ., 2017). Metaloproteazlardan MMP 9, bazal membranın önemli bir bileşeni ve ECM'nin yeniden şekillenmesinde önemli bir faktör olan kolajen IV'ü bozar. Kang ve diğ. (2014) diyete bağlı obez koşullarda artan kolajen birikiminin, kısmen MMP 9'un azalmış aktivitesinden kaynaklandığını ve MMP 9 aktivitesinin genetik olarak kaybolmasının, yüksek yağ diyeti ile beslenmiş farelerde kasta kolajen birikimini artırdığını ve kas insülin direncini bozduğunu bildirmiştir. Obezite yaygın olarak proinflamatuar sitokinlerin artan ekspresyonu ile ilişkilidir. Artan dönüştürücü büyüme faktörü-β (TGF-β) ekspresyonunun, kas liflerinin kesit alanının azalmasına, kuvvet aktarımının azalmasına ve kasın hücre dışı matrisinde kolajen birikimine neden olduğu gösterilmiştir. Kolajen, iskelet kası hasarına yanıt olarak birikme eğilimindedir. Obez durumda, kolajen içeriğinin artması yağ dokusunun genişlemesine, doku sertleşmesine ve fibrozise katkıda bulunur (Xu ve diğ., 2018). Kolajenlerin aşırı birikimi kolajen integritisinin bozulmasına yol açar. Spektrumun 1342 cm^{-1} bölgesinde yerleşmiş olan kolajen bandı, üçlü sarmalın düzenli yapısına duyarlıdır. Kolajen integriti, amid II bandı alanının kolajen bantlarının alanı toplamına oranlanması ile elde edilir (Dogan ve diğ., 2013). Sonuçlarımıza göre kolajen integriti yüksek karbonhidratlı ve yüksek yağlı diyetle beslenen dişi B6 farelerinin LD iskelet kas dokularında kontrole göre anlamlı olarak azalmıştır. Bu oran değerindeki anlamlı azalma, kolajen integritisinin bozulduğu anlamına gelir. Çalışmamıza benzer olarak, Bozkurt ve diğ. (2010) diyabetik sıçanların iskelet kaslarının kolajen integritisinin azaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca, Tam ve diğ. (2017) insan deneklerde, kısa süreli aşırı beslenmenin, insülin direncini, kolajen tip I ve III'ü ve MMP2 genlerinin artışını indüklediğini rapor etmişlerdir.

Literatürde, yüksek kalorili diyetlerin insan ve hayvan modellerinde serum ve dokularda eser element düzeylerini azalttığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Failla ve diğ. (1988) zayıf ve obez (ob/ob) C57BL/6J fare modellerinde demir doku seviyelerini karşılaştırmışlardır. Ad

libitumla beslenen obez farelerin iskelet-kas sisteminde demir konsantrasyonu zayıf farelere göre düşük bulunmuştur. Kennedy ve diğ. (1986) C57BL/6J yağsız (+/?) ve obez (ob/ob) farelerden alınan çeşitli dokulardaki eser elementlerin konsantrasyonlarını belirlemek üzere yaptıkları çalışmalarında, 22 haftalık obez farelerin karaciğer, femur, ince bağırsak ve kaslarında zayıf farelere göre daha düşük çinko konsantrasyonları elde edilmiştir. Yetişkin obez farelerin karaciğer, femur, ince bağırsak, kas ve testislerindeki bakır; karaciğer, femur, kas ve plazmalarındaki demir; karaciğer, femur ve ince bağırsaktaki manganez konsantrasyonlarının yağsız farelere göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Obez ve yağsız farelerin karaciğerlerinde farklı miktarlardaki nötr lipit miktarı göz önüne alındığında, obez farelerdeki çinko, bakır ve manganezin hepatik konsantrasyonları da zayıf farelerdekinden daha düşük bulunmuştur. Yetişkin obez farelerin dokularında eser elementlerin daha düşük konsantrasyonlarına yönelik eğilimin aksine, plazma çinko ve bakır seviyeleri ve seruloplazmin aktivitesi yetişkin obez farelerde zayıf kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur. Genetik obezitenin doku eser element konsantrasyonları üzerindeki etkisi, erkek ve dişi farelerde benzer etki göstermiştir. Genç (5-6 haftalık) obez farelerden alınan birkaç dokuda da farklılıklar yetişkinlerdeki kadar büyük olmasa da, aynı yaştaki zayıf farelere göre daha düşük eser element konsantrasyonları elde edilmiştir. Pinhas-Hamiel ve diğ. (2003) bir çalışmalarında, İsrail'de 321 fazla kilolu çocuk ve ergen arasında demir eksikliği prevalansını incelemiştir. Demir eksikliğini tanımlamak için sadece serum demir düzeylerini kullanan bu yazarlar, normal kilolu çocukların %4.4'ünde, aşırı kilolu çocukların % 12,1'inde ve obez çocukların %38, 8'inde demir eksikliği gözlemlemişlerdir ($p < 0,001$). Obezitenin genellikle demir homeostazı bozuklukları ile ilişkili olduğunu, hepsidinin, demir metabolizmasının önemli bir düzenleyicisi ve obezite kaynaklı demir eksikliğinden sorumlu olabileceğini öne sürerek Sonnweber ve diğ. (2012), demir homeostazındaki yüksek yağlı diyet kaynaklı değişiklikleri incelemek için C57BL/6J hayvan modelini kullanmışlardır. Fareler 8 hafta boyunca standart veya yüksek yağlı diyetle beslenmişlerdir ve ayrıca farelerin yarısına son 2 hafta boyunca yüksek demir takviyesi yapılmıştır. Yüksek yağlı diyet duodenal demir emiliminin azalmasına kadar uzanan sistemik demir eksikliğine yol açmıştır. Duodenal demir taşıyıcıları, iki değerlikli metal (iyon) taşıyıcı 1 (Dmt1) ve transferrin reseptör proteinin (Tfr1) mesajcı ribonükleik asit (mRNA) ve protein ekspresyonları, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde standart diyetle beslenen farelere göre önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur, bu da enterosit demir eksikliğini gösterirken, duodenal demir oksidoredüktaz (Dcytb) ve hephaestinin mRNA seviyeleri yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde daha düşük bulunmuştur. Ne hepatik ve adipoz doku ne de serum hepsidin

konsantrasyonları, standart ve yüksek yağlı diyet ile beslenen fareler arasında önemli ölçüde farklılık göstermemiş, oysa demir takviyesi, yüksek yağlı diyet farelerine kıyasla standart diyette hepatik hepsidin mRNA ekspresyonu ve serum hepsidin düzeylerinin artmasına neden olmuştur. Çalışmanın, yüksek yağlı diyetin, azalmış bağırsak demir alımının bir sonucu olan demir eksikliği ile sonuçlandığını ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda da yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş dişi farelerin LD iskelet kas dokularında demir konsanstrasyonları kontrol diyeti ile beslenen gruba göre azalmıştır. Özellikle yüksek karbonhidrat diyeti ile beslenmiş fare grubunda demir konsantrasyonu anlamlı azalma göstermiştir.

Oksidatif stres ve inflamasyon, obezite, metabolik sendrom, tip II diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere metabolik bozuklukların ayırt edici özellikleridir. Çinko, çok sayıda protein ve enzime bağlanan bir eser element olduğundan çoğunlukla oksidatif stres ve inflamasyonu önlemeyle ilgili birçok metabolik ve transkriptomik yolakta yer alır. Literatürde, düşük çinko seviyeleri, metabolik sendromlu obez insanlarda veya tip II diyabetli hastalarda artmış inflamatuar belirteçlerle ilişkilendirilmiştir. Amin ve diğ. (2020) atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) ile obez ve sağlıklı kadınların serumlarında eser element (çinko, demir) ve makro mineral (sodyum, potasyum ve kalsiyum) konsantrasyon ölçümü yapmışlar ve obez durumda sodyum hariç tüm element konsantrasyonlarının azaldığını rapor etmişlerdir. Di Martino ve diğ. (1993) obez hastalarda şiddetli hipokalorik diyetlerden önce ve sonra serum çinko düzeylerini ve VKİ ile korelasyonunu değerlendirmek üzere hastalara 60 gün boyunca şiddetli hipokalorik diyet (737 Kcal) uygulamışlardır. Obez hastalarda çinko düzeylerinin kontrollere göre anlamlı olarak ($p < 0, 01$) azaldığını, buna karşın VKİ değerlerinin anlamlı olarak arttığını söylemişlerdir. Obezitedeki anabolik ve katabolik mekanizmalar ile serum çinko seviyeleri arasında olası bir ilişki olduğunu ifade etmişlerdir. Staniek ve diğ. (2013) diyabetin, eser elementlerin taşınması, dağılımı, atılımı ve birikiminde değişikliklere neden olduğunu öne sürerek, Zucker yağsız, Zucker obez (insülin direnci ve erken evre diyabet modeli) ve Zucker diyabetik yağlı (ZDF, tip II diyabet modeli) sıçan dokularında eser element konsantrasyonlarını incelemişlerdir. Cu, Zn, Fe, Mg ve Ca konsantrasyonları karaciğer, böbrek, kalp ve dalakta, Cr konsantrasyonu ise karaciğer ve böbrekte araştırılmıştır. Zucker obez sıçanlarının karaciğerinde, ZDF ve/veya zayıf Zucker sıçanlara kıyasla Cu, Zn, Fe, Mg konsantrasyonlarında azalma tespit edilmiştir. Bizim çalışmamız da bu sonuçları destekler niteliktedir. Özellikle yüksek karbonhidrat diyeti ile beslenmiş dişi farelerin LD iskelet kas dokularında çinko konsanstrasyonları kontrol diyeti ile beslenen gruba göre anlamlı olarak azalmıştır.

Krom, optimal insülin aktivitesi ve normal karbonhidrat ve lipit metabolizması için gerekli olan esansiyel bir eser elementtir. Literatürde diyabetli ve obez deneklerin doku krom seviyelerinin normal kontrol deneklerinden daha düşük olduğunu ve dolaşımdaki düşük krom seviyeleri ile tip II diyabet insidansı arasında bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (Chang ve diğ., 2020; Lin ve diğ., 2013). Hayvanlar ve insanlarla yapılan araştırmalar, insülin hormonunun optimal etkisini elde etmek için esansiyel element olan kromun gerekli olduğuna dair kanıtlar sağlamaktadır. İnsanlarda ve hayvanlarda krom eksikliği, bozulmuş glukoz toleransı, yüksek kan glukoz seviyeleri, hiperkolesterolemi ve aort plaklarının gelişmesine neden olur. Bu klinik semptomların tümü, diyete krom takviyesi ile azaltılabilir veya önlenebilir. Kromun insülin işlevlerine katıldığı kesin mekanizma henüz açıklığa kavuşturulamasa da teoriler, kromun insülin ile doğrudan etkileşiminden, periferik insülin reseptörlerinin üretiminde veya reseptör sonrası eylemde kromun rolüne kadar uzanmaktadır. Chang ve diğ. (2020) obezitenin genellikle hiperglisemi ve tip II diyabet ile ilişkili olduğunu ve dokularda krom birikimini olumsuz etkilediğini öne sürmüştür. Bu amaçla yüksek yağlı diyetle beslenen erkek C57BL/6J farelerinde kan glikoz düzeylerini ve doku krom dağılımını incelemişlerdir. Düzenli koşu bandı egzersizinin, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde hiperglisemi, hiperinsülinemi, homeostaz model değerlendirmesi-insülin direnci (HOMA-IR) ve β-hücre fonksiyonunun homeostaz modeli değerlendirmesi (HOMA-β) indekslerini iyileştirdiğini, insülin direncini azalttığını, böylece glikoz homeostazını düzenlemeye yardımcı olduğunu ifade etmişlerdir. Egzersizin yüksek yağlı diyetin neden olduğu obeziteden kaynaklanan hasarı etkili bir şekilde azalttığını göstermişlerdir. Egzersizin obez farelerde kontrol farelerine göre kas, karaciğer, yağ dokuları ve böbrekte belirgin şekilde krom seviyelerini artırdığını bulmuşlardır. Kromun bu hareketinin, insülin sinyalini artırmış ve obezitenin neden olduğu hiperglisemi seviyelerini düşürmüş olabileceğini ifade etmişlerdir. Sonuç olarak, egzersizin, yüksek yağlı diyetin neden olduğu obeziteyi önlediğini ve insülin hedef dokularındaki azalmış krom dağılımını modüle edebileceğini belirtmişlerdir. İnsanlarda yapılan çalışmalar, kromun besin desteklerinde tercih edilen bir formu olan krom pikolinatın (CrPic) insülin seviyelerini azalttığını ve obez ve tip II diyabetik popülasyonlarda glikoz atılımını iyileştirdiğini göstermektedir. CrPic'in insülin direnci sendromunun tedavisine yardımcı olup olmayacağını değerlendirmek amacıyla Cefalu ve diğ. (2002), JCR:LA-obez sıçanlarda CrPic etkilerini araştırmışlardır. CrPic uygulanan obez sıçanlarda, obez kontrollere kıyasla açlık insülin seviyeleri önemli ölçüde düşmüş ve glikoz kaybını önemli ölçüde iyileştirmiştir. CrPic, insülin stimülasyonundan sonra obez sıçanlarda membranla ilişkili iskelet

kası glikoz taşıyıcısı (GLUT4) translokasyonunu önemli ölçüde artırmıştır. Bizim çalışmamız da bu sonuçları destekler niteliktedir. Yüksek kalorili diyetlerle beslenmiş dişi farelerin LD iskelet kas dokularında krom konsanstrasyonları kontrol diyeti ile beslenen gruba göre azalmıştır. Özellikle yüksek karbonhidrat diyeti ile beslenmiş fare grubunda krom konsantrasyonu anlamlı olarak azalmıştır. Yüksek karbonhidrat diyeti ile beslenmiş fare grubunda incelediğimiz her üç element konsantrasyonun anlamlı olarak azalması, yüksek yağlı ve yüksek karbonhidratlı diyetlerle beslenmiş fare gruplarının ayırt edilmesinde potansiyel bir biyobelirteç olma özelliğini taşımaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması, yüksek kalorili diyetlerin C57BL/6J fare modellerinde geliştirilen obezitenin iskelet kas dokusu biyomoleküllerindeki yapısal, içeriksel ve fonksiyonel etkileri ve eser element seviyelerindeki değişiklikleri ATR-FTIR ve ICP-OES spektroskopileri ile araştırmayı amaçlamıştır. Elde edilen sonuçlara göre, B6 farelerinin iskelet kas dokularında doymuş ve doymamış lipit, trigliserit, glikojen, kolajen integriti ve eser element miktarlarında önemli değişiklikler meydana gelmiştir. İncelenen spektral bölgelerde, özellikle lipit katkısı yüksek olan bantların frekans ve alan oran değerlerinde görülen farklılıklar, B6 dişi fare modellerinin LD kas dokularında yapısal ve fonksiyonel global değişikliklere sebep olduğunu göstermektedir. Ayrıca, yüksek karbonhidrat diyeti ile beslenen farelerin iskelet kas dokularında esansiyel eser elementlerin anlamlı azalışı bu iki diyeti birbirinden ayırmak için potansiyel bir biyobelirteç olma özelliğini taşımaktadır. Tüm sonuçlar göz önüne alındığında, obezite tedavisinde başarılı sonuç alabilmek için beslenme tipine göre bir yol izlenmesinin gerekliliği ortaya çıkmıştır. FTIR ve ICP-OES ile elde edilen sonuçlar, beslenme tipine bağlı olarak obezitede oluşan metabolik bozuklukların klinik değerlendirmeden önce erken teşhis edilmesini sağlayabilir ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesine katkıda bulunabilir. Umut verici yeni deneysel araçlar ve modeller, obezite ile ilgili soruların açıklığa kavuşturulmasına yardımcı olacak ve yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesi için kritik bir rol üstlenecektir.

KAYNAKLAR

Abbaspour, N., Hurrell, R., Kelishadi, R., 2014, Review on iron and its importance for human health, *Journal of Research in Medical Sciences: the Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences,* 19 (2), 164-174.

Aggoun, Y., 2007, Obesity, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Disease, *Pediatric Research*, 61, 653-659.

Aktaş, S., 2019, *Gümüş Endüstrisi Cevher ve Atıklarında Bazı Elementlerin ICP-OES ile Tayini,* Yüksek Lisans Tezi, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Albers, P.H., Pedersen, A.J.T., Birk, J.B., Kristensen, D.E., Vind, B.F., Baba, O., Nøhr, J., Højlund, K., Wojtaszewski, J.F.P., 2015, Human Muscle Fiber Type–Specific Insulin Signaling: Impact of Obesity and Type 2 Diabetes, *Diabetes*, 64 (2), 485-497.

Al-Fartusie, F., Mohssan, S., 2017, Essential Trace Elements and Their Vital Roles in Human Body, *Indian Journal of Advances in Chemical Science*, 5, 127-136.

Amin, M.N., Siddiqui, S.A., Uddin, M.G., Ibrahim, M., Uddin, S., Adnan, M.T., Rahaman, M.Z., Kar, A., Islam, M.S., 2020, Increased Oxidative Stress, Altered Trace Elements, and Macro-Minerals Are Associated with Female Obesity, *Biological Trace Element Research*, 197 (2), 384-393.

Amorello, D., Barreca, S., Bruno, M., Milia, A., Orecchio, S., Pettignano, A., 2016, Chemical characterization of ancient liturgical vestment (chasuble) by Inductively Coupled Plasma–Optical Emission Spectrometry (ICP–OES), *Microchemical Journal,* 129, 305-309.

Amorello, D., Barreca, S., Bruno, M., Milia, A., Orecchio, S.,Pettignano, A., 2016, Chemical characterization of ancient liturgical vestment (chasuble) by Inductively Coupled Plasma–Optical Emission Spectrometry (ICP–OES), *Microchemical Journal,* 129, 305-309.

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

Balan, V., Mihai, C.T., Cojocaru, F.D., Uritu, C.M., Dodi, G., Botezat, D., Gardikiotis, I., 2019, Vibrational Spectroscopy Fingerprinting in Medicine: from Molecular to Clinical Practice, *Materials (Basel, Switzerland),* 12 (18), 2884.

Bhattacharya, P.T., Misra, S.R., 2016, Hussain, M., Nutritional Aspects of Essential Trace Elements in Oral Health and Disease: An Extensive Review, *Scientifica,* 2016, 1-12.

Biga, L.M., Dawson, S., Harwell, A., Hopkins, R., Kaufmann, J., LeMaster, M., Matern, P., Morrison-Graham, K., Quick, D., Runyeon, J., 2019, *Anatomy & Physiology*, 1st ed., OpenStax/Oregon State University, Corvallis, USA, ISBN: 978-1-955101-15-8.

Borkman, M., Storlien, L.H., Pan, D.A., Jenkins, A.B., Chisholm, D.J., Campbell, L.V., The relation between insulin sensitivity and the fatty-acid composition of skeletal-muscle phospholipids, 1993, *The New England Journal of Medicine,* 328 (4), 238-244.

Bottinelli, R., Reggiani, C., 2000, Human skeletal muscle fibres: molecular and functional diversity, *Progress in Biophysics and Molecular Biology,* 73 (2-4), 195-262.

Boyar, H., Severcan, F., 1997, Tamoxifen-Phospholipid Model Membrane Interactions: An FT-IR Study, *Journal of Molecular Structure,* 408/409, 265-268.

Bozkurt, O., Bayari, S.H, Severcan, M., Krafft, C., Jürgen, P., 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.

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

Bozkurt, O., Severcan, M., 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, *The Analyst,* 135 (12), 3110-3119.

Brooks, S.V., 2003, Current topics for teaching skeletal muscle physiology, *Advances in Physiology Education,* 27 (1-4), 171-182.

Bulska, E., Ruszczyńska, A., 2017, Analytical Techniques for Trace Element Determination, *Physical Sciences Reviews,* 2 (5), 20178002.

Caballero, B.H., Wurtman, R.J., 1991, Differential effects of insulin resistance on leucine and glucose kinetics in obesity, *Metabolism: Clinical and Experimental,* 40 (1), 51-58.

Cakmak, G., Togan, I., 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.

Cakmak, G., Zorlu, F., Severcan, M., 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.

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

Campbell, I.D. and Dwek, R.A., 1984, *Biological Spectroscopy,* Benjamin-Cummings, Addison-Wesley, Wokingham, UK, ISBN: 978-0805318470.

Casal, H.L., Mantsch, H.H., 1984, Polymorphic phase behaviour of phospholipid membranes studied by infrared spectroscopy, *Biochimica Biophysica Acta,* 779, 381-401.

Cefalu, W.T., Wang, Z.Q., Zhang, X.H., Baldor, L.C., Russell, J.C., 2002, Oral chromium picolinate improves carbohydrate and lipid metabolism and enhances skeletal muscle Glut-4 translocation in obese, hyperinsulinemic (JCR-LA corpulent) rats, *The Journal of Nutrition,* 132 (6), 1107-1114.

Cefalu, W.T., Hu, F.B., 2004, Role of Chromium in Human Health and in Diabetes, *Diabetes Care,* 27 (11), 2741-2751.

Chan, C.P., Hansen, R.J., Stern, J.S., 1985, Protein turnover in insulintreated, alloxan-diabetic lean and obese Zucker rats, *The Journal of Nutrition,* 115, 959-969.

Chang, G.R., Hou, P.H., Chen, W.K., Lin, C.T., Tsai, H.P., Mao, F.C., 2020, Exercise Affects Blood Glucose Levels and Tissue Chromium Distribution in High-Fat Diet-Fed C57BL6 Mice, *Molecules (Basel, Switzerland),* 25 (7), 1658.

Chanseaume, E., Giraudet, C., Gryson, C., Walrand, S., Rousset, P., Boirie, Y., Morio, B., 2007, Enhanced muscle mixed and mitochondrial protein synthesis rates after a high-fat or high-sucrose diet, *Obesity (Silver Spring),* 15, 853-859.

Chen, P.W., Lin, C., Chen, C.D., Chen, W.Y., Mao, F.C., 2013, Chromium levels in insulin-sensitive tissues and the thigh bone are modulated by prednisolone and high-fat diets in mice, *Biometals: An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine,* 26 (2), 347-354.

Cooper, G.M., 2000, *The Cell: A Molecular Approach,* 2nd ed., Sunderland (MA): Sinauer Associates, Washington, D.C., ISBN: 0-87893-106-6.

Çağran, F., 2007, *ICP-OES ile Menengiç ve Ürünlerinde Metal ve Yarı Metallerin Tayini,* Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Davis, C., Vincent, J., 1997, Chromium in carbohydrate and lipid metabolism, *Journal of Biological Inorganic Chemistry,* 2, 675-679.

de Castro, I.C., Pequito, D.C.T, Borghetti, G., Yamaguchi, A.A., de Brito, G.A.P., Yamazaki, R.K., Pôrto, L.C.J., Coimbra, T.M., Fernandes, L.C., Fernandez, R., 2021, Obesity-like metabolic effects of high-carbohydrate or high-fat diets consumption in metabolic and renal functions, *Archives of Physiology and Biochemistry,* 1-11.

DeFronzo, R.A., Tripathy, D., 2009, Skeletal Muscle Insulin Resistance Is the Primary Defect in Type 2 Diabetes, *Diabetes Care,* 32 (Suppl 2), 157-163.

Dervić, K., Šinik, V., Despotović, Ž., 2019, Basics of Electromagnetic Radiation, *IX International Conference Industrial Engineering and Environmental Protection 2019 (IIZS 2019),* 3-4 October 2019 Zrenjanin, Serbia, 512-530.

Di Martino, G., Matera, M.G., De Martino, B., Vacca, C., Di Martino, S., Rossi, F., 1993, Relationship between zinc and obesity, *Journal of Medicine,* 24, 177-183.

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

Dietrich, J., Handschuh, S., Steidl, R., Böhler, A., Forstenpointner, G., Egerbacher, M., Schöpper, H., Peham, C., Schöpper, H., 2021, Muscle Fibre Architecture of Thoracic and Lumbar Longissimus Dorsi Muscle in the Horse, *Animals,* 11 (3), 915.

Dogan Mollaoglu, A., Ozyurt, I. and Severcan, F., 2018, *Applications of Infrared Spectroscopy and Microscopy in Diagnosis of Obesity in Infrared Spectroscopy,* Infrared Spectroscopy Principles, Advances, and Applications, In: El-Azazy, M. (ed.), Chapter 5, IntechOpen, London, UK.

Dogan, A., Ergen, K., Budak, F., Severcan, F., 2007, Evaluation of Disseminated Candidiasis on an Experimental Animal Model: A Fourier Transform Infrared Study. *Applied Spectroscopy,* 61 (2), 199-203.

Dogan, A., Gurbanov, R., Severcan, M., 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.

Dogan, A., Lasch, P., Neuschl, C., Millrose, M.K., Albert., R, Schughart, K., Naumann, D., 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.

Dunn, M.A., Hartsook, E.W., 1980, Comparative amino acid and protein metabolism in obese and nonobese Zucker rats, *The Journal of Nutrition*, 110, 1865-1879.

Durschlag, R.P., Layman, D.K., 1983, Skeletal muscle growth in lean and obese Zucker rats, *Growth*, 47, 282-291.

Eken, A., Endirlik, B.Ü., Kaya, E., Özgök, Y., Erdem, O., Akay, C., 2016, Evaluation of trace element levels in patients with prostate cancer, benign prostatic hyperplasia and chronic prostatitis, *Gülhane Tıp Dergisi,* 58 (1), 27-32.

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

Failla, M.L., Kennedy, M.L., Chen, M.L., 1988, Iron Metabolism in Genetically Obese (ob/ob) Mice, *The Journal of Nutrition*, 118 (1), 46-51.

Fazakerley, D.J., Krycer, J.R., Kearney, A.L., Hocking, S.L., James, D.E., 2019, Muscle and adipose tissue insulin resistance: malady without mechanism?, *Journal of Lipid Research*, 60 (10), 1720-1732.

Freifelder, D., 1982, *Physical Biochemistry-Applications to Biochemistry and Molecular Biology*, W. H. Freeman and Co., New York, USA, ISBN: 978-0716714446.

Frias, F.T., de Mendonça, M., Martins, A.R., Gindro, A.F., Cogliati, B., Curi, R., Rodrigues, A.C., 2016, MyomiRs as markers of insulin resistance and decreased myogenesis in skeletal muscle of diet-induced obese mice, *Frontiers in Endocrinology*, 7, 76.

Frontera, W.R., Ochala, J., 2014, Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function, *Calcified Tissue International*, 96 (3), 183-195.

Fukada, T., Yamasaki, S., Nishida, K., 2011, Zinc homeostasis and signaling in health and diseases: Zinc signaling, *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 16 (7), 1123-1134.

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

Garip, S., Bayari, S.H., Severcan, M., Abbas, S., Lednev, I.K., Severcan, F., 2016, Structural effects of simvastatin on rat liver tissue: Fourier transform infrared and Raman microspectroscopic studies, *Journal of Biomedical Optics*, 21 (2), 025008.

Garip, S., Bozoglu, F., Severcan, F., 2007, Differentiation of mesophilic and thermophilic bacteria with fourier transform infrared spectroscopy, Applied Spectroscopy, 61, 186-192.

Gerich, J.E., 2003, Contributions of Insulin-Resistance and Insulin-Secretory Defects to the Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus, *Mayo Clinic Proceedings,* 78, 447-456.

Goñi, F.M., Alonso, A., 2000, Spectroscopic techniques in the study of membrane solubilization, reconstitution and permeabilization by detergents, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes,* 1508, 1-2, 51-68.

Goodpaster, B.H., Theriault, R., Watkins, S.C., Kelley, D.E., 2000, Intramuscular lipid content is increased in obesity and decreased by weight loss, *Metabolism,* 49 (4), 467-72.

Gosselin, L.E., 2010, Skeletal Muscle Collagen: Age, Injury and Disease, *Sarcopenia – Age-Related Muscle Wasting and Weakness,* 159-172.

Guillet, C., Delcourt, I., Rance, M., Giraudet, C., Walrand, S., Bedu, M., Duche, P., Boirie Y., 2009, Changes in basal and insulin and amino acid response of whole body and skeletal muscle proteins in obese men, The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 94, 3044-3050.

Guillet, C., Masgrau, A., Walrand, S., Boirie, Y., 2012, Impaired protein metabolism: interlinks between obesity, insulin resistance and inflammation, *Obesity Reviews,* 13 (2), 51-57.

Gurbanov, R., Bilgin, M., Severcan, F., 2016, Restoring effect of selenium on the molecular content, structure and fluidity of diabetic rat kidney brush border cell membrane, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes,* 1858 (4), 2016, 845-854.

Guzek, D., Glabska, D., Glabski, K., Pogorzelski, G., Barszczewski, J., Wierzbicka, A., 2015, Relationships between sarcomere length and basic composition of infraspinatus and longissimus dorsi muscle, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences,* 39 (1), 96-101.

Gülcan, E., Özkan, A., 2006, Obezite, *Dumlupınar Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Dergisi,* 10, 185-194.

Han, D.H., Nolte, L.A., Ju, J.S., Coleman, T., Holloszy, J.O., Semenkovich, C.F., 2004, UCP-mediated energy depletion in skeletal muscle increases glucose transport despite lipid accumulation and mitochondrial dysfunction, *American Journal of Physiology-Endocrinology,* 286, 347-353.

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

He, M., Hu, B., Chen, B., Jiang, Z., 2017, Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry for Rare Earth Elements Analysis, *Physical Sciences Reviews,* 2 (1), 20160059.

Hegarty, B.D., Furler, S.M., Ye, J., Cooney, G.J., Kraegen E.W., 2003, The role of intramuscular lipid in insulin resistance, *Acta Physiologica Scandinavica,* 178, 373-383.

Herbison, G.J., Jaweed, M.M., Ditunno, J.F., 1982, Muscle fiber types, *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation,* 63 (5), 227-230.

Hernández-Camacho, J.D., Vicente-García, C., Parsons, D.S., Navas-Enamorado, I., 2020, Zinc at the crossroads of exercise and proteostasis, *Redox Biology,* 35, 101529.

Hofmann, A., 2010, *Spectroscopic techniques: I Spectrophotometric techniques,* Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology (Seventh Edition), In: Wilson K., Walker J. (ed.), Chapter 12, Cambridge University Press, New York, USA, 477-519.

Honka, M.J., Latva-Rasku, A., Bucci, M., Virtanen, K.A., Hannukainen, J.C., Kalliokoski, K.K., Nuutila, P., 2018, Insulin-stimulated glucose uptake in skeletal muscle, adipose tissue and liver: a positron emission tomography study, *European Journal of Endocrinology*, 178 (5), 523-531.

Hou, X., Amais, R.S., Jones, B.T., Donati, G.L., 2006, *Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry*, Encyclopedia of Analytical Chemistry Applications, Theory and Instrumentation, In: Meyers R.A (ed.), Wiley, USA.

Jackson, M., Ramjiawan, B., Hewko, M., Mantsch, H.H., 1998, Infrared microscopic functional group mapping and spectral clustering analysis of hypercholosterolomic rabbit liver, *Cellular and Molecular Biology*, 44 (1), 89-98.

Jensen, J., Rustad, P.I., Kolnes, A.J., Lai, Y.-C., 2011, The Role of Skeletal Muscle Glycogen Breakdown for Regulation of Insulin Sensitivity by Exercise, *Frontiers in Physiology*, 2, 1-11.

Jensen, M.D., Haymond, M.W., 1991, Protein metabolism in obesity: effects of body fat distribution and hyperinsulinemia on leucine turnover, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53 (1), 172-176.

Joseph, A., Parvathy, S., Varma, K.K., 2021, Hyperinsulinemia Induced Altered Insulin Signaling Pathway in Muscle of High Fat- and Carbohydrate-Fed Rats: Effect of Exercise, *Journal of Diabetes Research*, 5123241.

Jurowski, K., Szewczyk, B., Nowak, G., Piekoszewski, W., 2014, Biological consequences of zinc deficiency in the pathomechanisms of selected diseases, Journal of Biological Inorganic Chemistry, 19, 1069-1079.

Kang, L., Mayes, W.H., James, F.D., Bracy, D.P., Wasserman, D.H., 2014, Matrix metalloproteinase 9 opposes diet-induced muscle insulin resistance in mice, *Diabetologia*, 57, 603-613.

Karaçil, M.Ş., Şanlıer, N., 2014, Obezojenik Çevre ve Sağlık Üzerine Etkileri, *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi,* 3 (2), 786-803.

Kawai, M. and Rosen, C.J., 2013, *Bone Marrow Fat and Bone Mass*, Translational Endocrinology of Bone, In: Karsenty G. (ed.), Chapter 14, Academic Press, USA, 167-179.

Kechrid, Z., Bouzerna, N., 2004, Effect of Zinc Deficiency on Zinc and Carbohydrate Metabolism in Genetically Diabetic (C57BL/Ksj Db+/Db+) and Non-Diabetic Original Strain (C57BL/Ksj) Mice, *Turkish Journal of Medical Sciences*, 34, 367-373.

Kennedy, M.L., Failla, M.L., Smith, J.C.Jr., 1986, Influence of genetic obesity on tissue concentrations of zinc, copper, manganese and iron in mice, *The Journal of Nutrition*, 116 (8), 1432-1441.

Khan, A.R., Awan, F.R., 2014, Metals in the pathogenesis of type 2 diabetes, Journal of Diabetes & Metabolic Disorders, 13, 16.

Khan, I.M., Dai Perrard, X.Y., Perrard, J.L., Mansoori, A., Wayne Smith, C., Wu, H., Ballantyne, C.M., 2014, Attenuated adipose tissue and skeletal muscle inflammation in obese mice with combined CD4+ and CD8+ T cell deficiency, *Atherosclerosis,* 233 (2), 419-428.

Khan, S., Luck, H., Winer, S., Winer, D.A., 2021, Emerging concepts in intestinal immune control of obesity-related metabolic disease, *Nature Communications,* 12, 2598.

Khan, W.A., Shabala, S., Cuin, T.A., Zhou, M., Penrose, B., 2022, Using Portable X-ray Fluorescence Spectroscopy for Inexpensive and Quick Determination of Micronutrients in Barley Shoots, *Communications in Soil Science and Plant Analysis.*

Kriketos, A.D., Pan, D.A., Sutton, J.R., Hoh, J.F., Baur, L.A., Cooney, G.J., Jenkins, A.B., Storlien, L.H., 1995, Relationships between muscle membrane lipids, fiber type, and enzyme activities in sedentary and exercised rats, *American Physiological Society Journal,* 269 (5 Pt 2), 1154-1162.

Kuhlmann, J., Neumann-Haefelin, C., Belz, U., Kramer, W., Jureschke, H.P., Herling, A.W., 2005, Correlation between insulin resistance and intramyocellular lipid levels in rats, *Magnetic Resonance in Medicine,* 53 (6), 1275-1282.

Kuhlmann, J., Neumann-Haefelin, C., Belz, U., Kramer, W., Juretschke, H.P., Herling, A.W., 2005, Correlation between insulin resistance and intramyocellular lipid levels in rats, *Magnetic Resonance in Medicine,* 53 (6), 1275-1282.

Lewicki, S., Zdanowski, R., Krzyżowska, M., Lewicka, A., Dębski, B., Niemcewicz, M., Goniewicz, M., 2014, The role of Chromium III in the organism and its possible use in diabetes and obesity treatment, *Annals of Agricultural and EnvironmentalM: AAEM,* 21 (2), 331-335.

Lewis, W.H., 1918, *Gray's Anatomy, the Anatomical Basis of Clinical Practice,* 20th ed., Lea & Febiger, Philadelphia & New York, ISBN: B000TW11G6.

Lin, C., Chen, P.W., Chen, W.Y., Sun, C.C., Mao, F.C., 2013, Glucagon and insulin have opposite effects on tissue chromium distribution in an obese mouse model, *Journal of Diabetes Investigation,* 4 (6), 528-532.

Lin, C., Theodorides, M.L., McDaniel, A.H., Tordoff, M.G., Zhang, Q., Li, X., Bosak, N., Bachmanov, A.A., Reed, D.R., 2013, QTL analysis of dietary obesity in C57BL/6byj X 129P3/J F2 mice: diet- and sex-dependent effects, *PLoS One,* 8 (7), e68776.

Luzi, L., Castellino, P., DeFronzo, R.A., 1996, Insulin and hyperaminoacidemia regulate by a different mechanism leucine turnover and oxidation in obesity, *The American Journal of Physiology,* 270 (2 Pt 1), 273–281.

Lyman, D.J., Murray-Wijelath, J., 1999, Vacular graft healing: I. FTIR analysis of a implant model for studying the healing of a vascular graft, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials,* 48, 172-186.

Maladkar, M., Sankar, S., Ya da v, A., 2020, A Novel Approach for Iron Deficiency Anaemia with Liposomal Iron: Concept to Clinic, *Journal of Biosciences and Medicines,* 8, 27-41.

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.

Martinez-Huenchullan, S., McLennan, S., Verhoeven, A., Twigg, S., Tam, C., 2017, The emerging role of skeletal muscle extracellular matrix remodelling in obesity and exercise, *Obesity Reviews,* 18, 776-790.

Mehri, A., 2020, Trace Elements in Human Nutrition (II) - An Update, *International journal of Preventive Medicine,* 11, 2.

Mehri, A., Marjan, R.F., 2013, Trace Metals in Human Nutrition: A Review, *International Journal of Medical Investigation,* 2, 115-128.

Mendelsohn, R. and Mantsch, H.H., 1986, *Fourier transform infrared studies of lipid-protein interaction*, Progress in Protein-Lipid Interactions, In: Watts A., DePont J.J.H.H.M., Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 103-147.

Misra, A., Singhal, N., Khurana, L., 2010, Obesity, the Metabolic Syndrome, and Type 2 Diabetes in Developing Countries: Role of Dietary Fats and Oils, *Journal of the American College of Nutrition,* 29 (sup3), 289-301.

Misra, N.N., Sullivan, C., Cullen, P.J., 2015, Process Analytical Technology (PAT) and Multivariate Methods for Downstream Processes, *Current Biochemical Engineering,* 2, 13.

Mohamed, E.S., Saleh, A., Belal, A., Gad, A.-A., 2017, Application of near-infrared reflectance for quantitative assessment of soil properties, *The Egyptian Journal of Remote Sensing and Space Science,* 21 (1), 1-14.

Moreno, M., Silvestri, E., de Matteis, R., de Lange, P., Lombardi, A., Glinni, D., Senese, R., Cioffi, F., Salzano, A.M., Scaloni, A., Lanni, A., Goglia, F., 2011, 3,5-Diiodo-L-thyronine prevents high-fat-diet-induced insulin resistance in rat skeletal muscle through metabolic and structural adaptations, *The FASEB Journal,* 25 (10), 3312-3324.

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

Nilsson, M.I., Greene, N.P., Dobson, J.P., Wiggs, M.P., Gasier, H.G., Macias, B.R., Shimkus, K.L., Fluckey, J.D., 2010, Insulin resistance syndrome blunts the mitochondrial anabolic response following resistance exercise, *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism,* 299, 466-474.

Novaes, C.G., Bezerra, M.A., da Silva, E.G.P., Santos, A.M.P. dos, Romão, I.L. da S., Santos Neto, J.H., 2016, A review of multivariate designs applied to the optimization of methods based on inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES), *Microchemical Journal,* 128, 331-346.

Ormazabal, V., Nair, S., Elfeky, O., Aguayo, C., Salomon, C., Zuñiga, F.A., 2018, Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease, *Cardiovascular Diabetology,* 17, 122.

Overbeek, P.A., 2014, *Factors Affecting Transgenic Animal Production,* Transgenic Animal Technology (Third Edition), In: Pinkert, C.A. (ed.), Elsevier, London, 71-107.

Ozturk B., Ozdemir, S., 2015, Effects of aluminum chloride on some trace elements and erythrocyte osmotic fragility in rats, *Toxicology and Industrial Health,* 31 (12), 1069-1077.

Ölmez, E., 2019, *Çorum'da Üretilen Unlarda ICP-OES ile Ağır Metal Tayini,* Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Öztürk Kurt, B., 2017, *Klorprifos Uygulanan Sıçanlarda Selenyumun Olası Koruyucu Etkisinin Hematolojik Parametreler, Oksidan Sistem ve Eser Element Düzeyleri Açısından İncelenmesi,* Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Pan, D.A., Lillioja, S., Kriketos, A.D., Milner, M.R., Baur, L.A., 1997, Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action, *Diabetes,* 46 (6), 983-988.

Pinhas-Hamiel, O., Newfield, R.S., Koren, I., Agmon, A., Lilos, P., Phillip, M., 2003, Greater prevalence of iron deficiency in overweight and obese children and adolescents. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity,* 27 (3), 416-418.

Prashanth, L., Kattapagari, K.K., Chitturi, R.T., Baddam, V.R., Prasad, L.K., 2015, A review on role of essential trace elements in health and disease, *Journal of Dr. NTR University of Health Sciences,* 4, 75-85.

Pritchett, A.M., Foreyt, J.P., Mann, D.L., 2005, Treatment of the metabolic syndrome: The impact of lifestyle modification, *Current Atherosclerosis Reports,* 7 (2), 95-102.

Qatanani, M., Lazar, M.A., 2007, Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu, *Genes & Development,* 21 (12), 1443-1455.

Ramamurthy, M. and Lakshminarayanan, V., 2015, *Human Vision and Perception,* Handbook of Advanced Lighting Technology, In: Karlicek R., Sun C.C., Zissis G., Ma R. (ed.), Springer, Switzerland, 1-23.

Ricciardi, V., Portaccio, M., Piccolella, S., Manti, L., Pacifico, S., Lepore, M., 2017, Study of SH-SY5Y Cancer cell response to treatment with polyphenol extracts using FT-IR spectroscopy, *Biosensors,* 7 (4), 57.

Roderick, T.H., 2013, *Mouse,* Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition), In: Maloy S., Hughes K. (ed.), Academic Press, Elsevier, 482-485.

Roohani, N., Hurrell, R., Kelishadi, R., Schulin, R., 2013, Zinc and its importance for human health: An integrative review, *Journal of Research in Medical Sciences,* 18 (2), 144–157.

Salgueiro, M.T. and Zubilliga, B.M., 2000, Zinc as an essential micronutrient: a review, *Nutrition Research,* 20 (5), 737-755.

Schiaffino, S., 2018, Muscle fiber type diversity revealed by anti-myosin heavy chain antibodies, *The FEBS Journal,* 285 (20), 3688-3694.

Schiaffino, S., Reggiani, C., 2011, Fiber types in mammalian skeletal muscles, *Physiological Reviews,* 91 (4), 1447-1531.

Schultz, C., Naumann, D., 1991, In vivo study of the state of order of the membranes of gram-negative bacteria by Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR), *FEBS Letters,* 294 (1-2), 43-46.

Scott, W., Stevens, J., Binder-Macleod, S.A., 2001, Human Skeletal Muscle Fiber Type Classifications, *Physical Therapy,* 81 (11), 1810-1816.

Sen, I., Bozkurt, O., Aras, E., Heise, S., Brockmann, G., 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 (FTIR) spectroscopic study, *Applied Spectroscopy*, 69 (6), 679-688.

Seraphim, P.M., Nunes, M.T., Machado, U.F., 2001, GLUT4 protein expression in obese and lean 12-month-old rats: insights from different types of data analysis, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34 (10), 1353-1362.

Serbest, K., Eldoğan, O., 2014, İskelet Kaslarının Yapısı ve Biyomekaniği, *APJES II-III*, 41-51.

Severcan, F., 1997, Vitamin E decreases the order of the phospholipid model membranes in the gel phase: An FTIR study, *Bioscience Reports*, 17, 231-235.

Severcan, F., Gorgulu, G., Gorgulu, T.S., Guray, T., 2005, Rapid monitoring of Diabetes-Induced Lipid peroxidation by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Analytical Biochemistry*, 339, 36-40.

Sikaris, K.A., 2004, The clinical biochemistry of obesity, *The Clinical Biochemistry Reviews*, 25 (3), 165-181.

Silver, L., 2001, *Inbred Strain*, Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition), In: Maloy S., Hughes K. (ed.), Academic Press, Elsevier, 53.

Simsek Ozek, N., Sara, Y., Onur, R., 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.

Sneddon, J., Vincent, M.D., 2008, ICP-OES and ICP-MS for the Determination of Metals: Application to Oysters, *Analytical Letters*, 41 (8), 1291-1303.

Solymoss, B.C., Bourassa, M.G., Lespérance, J., Levesque, S., Marcil, M., Varga, S., Campeau, L., 2003, Incidence and clinical characteristics of the metabolic syndrome in patients with coronary arter disease, *Coronary Artery Disease*, 14, 207-212.

Song, X.M., Kawano, Y., Krook, A., Ryder, J.W., Efendic, S., Roth, R., Walberg-Henriksson H., Zierath, J.R., 1999, Muscle fiber type-specific defects in insulin signal transduction to glucose transport in diabetic GK rats, *Diabetes*, 48, 1-7.

Sonnweber, T., Ress, C., Nairz, M., Theurl, I., Schroll, A., Murphy, A. T., Wroblewski, V., Witcher, D.R., Moser, P., Ebenbichler, C. F., Kaser, S., Weiss, G., 2012, High-fat diet causes iron deficiency via hepcidin-independent reduction of duodenal iron absorption, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 23 (12), 1600-1608.

Staniek, H., Rhodes, N.R., Di Bona, K.R., Deng, G., Love, S.T., Pledger, L.A., Blount, J., Gomberg, E., Grappe, F., Cernosek, C., Peoples, B., Rasco, J. F., Krejpcio, Z., Vincent, J.B., 2013, Comparison of tissue metal concentrations in Zucker lean, Zucker obese, and Zucker diabetic fatty rats and the effects of chromium supplementation on tissue metal concentrations, *Biological Trace Element Research*, 151 (3), 373-383.

Storlien, L.H., Jenkins, A.B., Chisholm, D.J., Pascoe, W.S., Khouri, S., Kraegen, E.W., 1991, Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid, *Diabetes*, 40 (2), 280-289.

Storlien, L.H., Pan, D.A., Kriketos, A.D., O'Connor, J., Caterson, I.D., Cooney, G.J., Jenkins, A.B., Baur, L.A., 1996, Skeletal muscle membrane lipids and insulin resistance, *Lipids*, 31, 261-265.

Stuart, B.H., 2004, *Infrared Spectroscopy, Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, England, ISBN: 0-470-85427-8 (HB).

Talbot, J., Maves, L., 2016, Skeletal muscle fiber type: using insights from muscle developmental biology to dissect targets for susceptibility and resistance to muscle disease, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 5 (4), 518-534.

Tam, C.S., Chaudhuri, R., Hutchison, A.T., Samocha-Bonet, D., Heilbronn, L.K., 2017, Skeletal muscle extracellular matrix remodeling after short-term overfeeding in healthy humans, *Metabolism*, 67, 26-30.

Tellis, C.M., Rosen, C., Thekdi, A., Sciote, J.J., 2004, Anatomy and fiber type composition of human interarytenoid muscle, *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*, 113 (2), 97-107.

To, P.K., Do, M.H., Cho, J.-H., Jung, C., 2020, Growth Modulatory Role of Zinc in Prostate Cancer and Application to Cancer Therapeutics, *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (8), 2991.

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

Turker, S., Severcan, M., Ilbay, G., Severcan, F., 2014, Epileptic seizures induce structural and functional alterations on brain tissue membranes, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1838 (12), 3088-3096.

Ustaoglu, S.G., Ali, M., Rakib, F., Blezer, E., Van Heijningen, C.L., Dijkhuizen, R.M., Severcan, F., 2021, Biomolecular changes and subsequent time-dependent recovery in hippocampal tissue after experimental mild traumatic brain injury, *Scientific Reports*, 11 (1), 12468.

Venojärvi, M., Puhke, R., Hämäläinen, H., Marniemi, J., Rastas, M., Rusko, H., Nuutila, P., Hänninen, O., Aunola, S., Role of skeletal muscle-fibre type in regulation of glucose metabolism in middle-aged subjects with impaired glucose tolerance during a long-term exercise and dietary intervention, 2005, *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 7 (6), 745-754.

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

Vessby, B., Tengblad, S., Lithell, H., 1994, Insulin sensitivity is related to the fatty acid composition of serum lipids and skeletal muscle phospholipids in 70-year-old men, *Diabetologia*, 37 (10):1044-1050.

Vincent, J.B., 1999, Mechanisms of chromium action: low-molecular-weight chromium-binding substance, *Journal of the American College of Nutrition*, 18, 6-12.

Vincent, J.B., 2000, The biochemistry of chromium, *The Journal of Nutrition*, 130 (4), 715-718.

Welle, S., Forbes, G.B., Statt, M., Barnard, R.R., Amatruda, J.M., 1992, Energy expenditure under free-living conditions in normal-weight and overweight women, *The American Journal of Clinical Nutrition, 5*5 (1), 14-21.

West, P.A., Bostrom, P.G., Torzilli, P.A., 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.

Widmaier, E.P., Raff, H., Strang, K.T., 2016, *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function,* 14th ed., McGraw-Hill Education, New York, USA, ISBN: 978-1-259-29409-9.

Wilcox, G., 2005, Insulin and insulin resistance, *The Clinical Biochemist Reviews,* 26 (2), 19-39.

World Health Organization, 2021, *Obesity and overweight*, https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight, [Ziyaret tarihi: 3 Nisan 2022].

World Obesity Federation, 2019, *Prevalence of Obesity,* https://www.worldobesity.org/about/about-obesity/prevalence-of-obesity, [Ziyaret tarihi: 3 Nisan 2022].

World Obesity Federation, 2020, *Obesity: missing the 2025 global targets Trends, Costs and Country Reports,* https://www.worldobesity.org/resources/resource-library/world-obesity-day-missing-the-targets-report, [Ziyaret tarihi: 3 Nisan 2022].

World Obesity Federation, 2021, *Estimates of prevalence of obesity in adults,* https://data.worldobesity.org/maps/?area=maps, [Ziyaret tarihi: 3 Nisan 2022].

World Obesity Federation, *Obesity prevalance: Turkey,* https://data.worldobesity.org/country/turkey-219/#data_prevalence, [Ziyaret tarihi: 3 Nisan 2022].

Wu, H., Ballantyne, C.M., 2017, Skeletal muscle inflammation and insulin resistance in obesity, *The Journal of Clinical Investigation,* 127 (1), 43-54.

Xu, P., Werner, J.U., Milerski, S., Hamp, C.M., Kuzenko, T., Jähnert, M., Gottmann, P., de Roy, L., Warnecke, D., Abaei, A., Palmer, A., Huber-Lang, M., Dürselen, L., Rasche, V., Schürmann, A., Wabitsch, M., Knippschild, U., 2018, Diet-Induced Obesity Affects Muscle Regeneration After Murine Blunt Muscle Trauma-A Broad Spectrum Analysis. *Frontiers in Physiology,* 9, 674.

Yalçın Duygu, D., Baykal, T., Açıkgöz, İ., Yıldız, K., 2009, Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy for Biological Studies, *Gazi University Journal of Science,* 22 (3), 117-121.

Yurur, G., Gedik Kapancık, T.N., Severcan, M., Ezer Ozer, N., Severcan, F., 2021, *Application of Mid-Infrared Spectroscopy on Therapeutic Effects of Herbal Medicine in Infectious Diseases,* Herbal Medicine: Back to the Future, In: Murad F., Rahman A., Bian K. (ed.), Chapter 4, Bentham Science Publishers, Sharjah, UAE, 123-152.

Zaydman, M.A., Silva, J.R., Cui, J., 2012, Ion channel associated diseases: overview of molecular mechanisms, *Chemical Reviews,* 112 (12), 6319-6333.

İNTİHAL RAPORU

YÜKSEK YAĞ ve YÜKSEK KARBONHİDRAT İÇERİKLİ DİYETLERİN FARE İSKELET KAS DOKUSU YAPI ve FONKSİYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

ORİJİNALLİK RAPORU

%10	%9	%1	%5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%1
2	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	%1
3	dspace.gazi.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
4	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%1
5	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	%1
6	www.turkbiyofizikdernegi.org İnternet Kaynağı	%1
7	www.itfnoroloji.org İnternet Kaynağı	<%1
8	Submitted to Dumlupinar University Öğrenci Ödevi	<%1