YÜKSEK YAĞLI DİYETLE OLUŞTURULAN OBEZİTE HAYVAN MODELİNDE KURKUMİNİN TRPM2 KANAL PROTEİNİNE ETKİSİ

Merve DURHAN

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ

Doktora Tezi - 2025

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERİSTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK YAĞLI DİYETLE OLUŞTURULAN OBEZİTE HAYVAN MODELİNDE KURKUMİNİN TRPM2 KANAL PROTEİNİNE ETKİSİ

Merve DURHAN

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ

Tez Jüri Üyeleri
Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ
Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Prof. Dr. Sedat YILDIZ
Prof. Dr. Hasan ÖZEN
Prof. Dr. Asım KART

YÖK 100/2000 Öncelikli Alan Doktora Burs Programı tarafından desteklenmiştir.

MALATYA
2025

KABUL VE ONAY

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ danışmanlığında hazırlayıp sunduğum "Yüksek Yağlı Diyetle Oluşturulan Obezite Hayvan Modelinde Kurkuminin TRPM2 Kanal Proteinine Etkisi" başlıklı Doktora tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

31/ 01/ 2025

Merve DURHAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET viii
ABSTRACT ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ x
ŞEKİLLER DİZİNİ xiii
TABLOLAR DİZİNİ xv
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Obezite ve Epidemiyolojisi 3
2.2. Karaciğer Dokusu ve Obezite 4
2.3. Yağ Dokusu ve Obezite 5
2.4. Obezite ve Metabolizma 6
2.5. Obezite ve Antioksidan Sistem 10
2.6. Obezitede Hemodinamik Parametreler 11
2.7. Obezite ve Genetik 12
2.8. TRP Kanal Proteinleri ve TRPM2 14
2.9. Kurkumin 17
2.10. Kurkumin ve Obezite 19
2.11. Obezite Hayvan Modelleri 19
3. MATERYAL VE METOT 21
3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler 21
3.2. Kullanılan Alet ve Gereçler 21
3.3. Grupların ve Beslenme Modelinin Oluşturulması 22
3.4. Kurkumin Hazırlanışı 24
3.5. Hemodinami, Elektokardiyogram ve Elektrofizyolojik Analizler 24
3.6. Biyokimyasal Analizler 25
3.6.1. Malondialdehit Analizi (MDA) 26
3.6.2. Bakır-Çinko Süperoksit Dismutaz Analizi (Cu-Zn SOD) 26
3.6.3. Redükte Glutatyon Analizi (GSH) 27
3.6.4. Katalaz (CAT) Analizi 28
3.6.5. Protein Tayini 29
3.6.6. ELISA Analizleri 29

3.7. Moleküler Genetik Analizler 30
3.7.1. RNA Saflaştırılması 30
3.7.2. cDNA Sentezi 33
3.7.3. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Tepkimesi (RT-qPZT) Analizi 33
3.8. Histopatolojik Analizler 34
3.9. İstatistiksel Analizler 34
4. BULGULAR 35
4.1. Hayvan Ağırlıkları ve Tüketilen Yem Miktarları 35
4.2. Kan Glukoz Seviyeleri ve Organ Ağırlıkları 41
4.3. Hemodinami ve Elektrokardiyogram Sonuçları 44
4.4. Biyokimyasal Analizler 48
4.4.1. Serum Biyokimya Sonuçları 48
4.4.2. Karaciğer Dokusu MDA, GSH Seviyeleri, SOD ve CAT aktiviteleri 50
4.4.3. Doku ve Serum ELISA Analiz Sonuçları 53
4.5. Gerçek-Zamanlı qPZT Sonuçları 58
4.6. Histopatoloji 60
5. TARTIŞMA 66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 77
KAYNAKLAR 78
EKLER 96
EK.1. Özgeçmiş 96
EK.2. Deney Hayvanları Etik Kurul Onayı 96
EK.3. Primer Dizileri 97

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimi sürecim boyunca sabrıyla ve sonsuz desteğiyle yol gösterici olan danışmanım ve kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ'e ve tez izleme komitemde bulunup değerli katkılarıyla desteklerini sunan hocalarım Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ahmet KOÇ'a ve Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Sedat YILDIZ'a,

Doktora eğitimim boyunca bana katkıları ve destekleri için tüm Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Tez çalışmamın histopatoloji analizlerinde destekte bulunup yardımcı olan Balıkesir Üniversitesi Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Hasan ÖZEN'e, hemodinamik analizlerinde ve tüm doktora sürecimde desteğini esirgemeyen Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Onural ÖZHAN'a ve maddi desteklerinden dolayı İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Tez çalışmam boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı doktora öğrencisi değerli arkadaşım Selahattin TUNÇ'a,

6 Şubat depremlerinde kaybettiğim, doktora sürecimde desteğini her zaman hissettiğim ve motivasyonumu korumama vesile olan sevgili ve kıymetli arkadaşım Tıbbi Biyoloji ve Genetik doktora öğrencisi müteveffa Pınar YILMAZ'a,

Her zaman yanımda sabırla ve sevgiyle duran, zor zamanlarımda en büyük destekçilerim olan kıymetli aileme,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar,

Teşekkür ederim.

MERVE DURHAN

ÖZET

Yüksek Yağlı Diyetle Oluşturulan Obezite Hayvan Modelinde Kurkuminin TRPM2 Kanal Proteinine Etkisi

Amaç: Bu tez, yüksek yağlı besin tüketimiyle oluşturulan deneysel obezite modelinde Kurkumin'in TRPM2 kanal proteinine olan etkisini moleküler, biyokimyasal ve histopatolojik yönden incelemeyi amaçlamıştır.

Materyal ve metot: 12 hafta boyunca yüksek yağlı yem ve standart yem ile beslenen sıçanlar her grupta 12 hayvan olmak üzere kontrol, taşıt, Kurkumin (60 mg/kg v.a), yüksek yağlı yem ve yüksek yağlı yem + Kurkumin olarak beş gruba ayrıldı. Hayvanlardan kan glukoz seviyeleri, hemodinamik analizler, vücut ve organ ağırlık ölçümleri ile serum ve doku örneklerinden ELISA yöntemi ile insülin, CRP, TNFα, IL-6, IL-1β ve TRPM2 protein miktarları ölçüldü. Sıçanların karaciğer dokularından MDA, GSH seviyeleri ve SOD, CAT aktiviteleri ile *TRPM2* gen ifadesi ölçüldü. Ayrıca karaciğer, kalp, damar, böbrek, kas ve beyaz yağ doku örnekleri histopatolojik olarak analiz edildi.

Bulgular: Kan glukoz seviyesi yüksek yağlı yem gubunda diğer gruplara kıyasla yüksek idi ($P < 0.05$). Yüksek yağlı yem grubu diğer gruplardan daha düşük kan basıncı ve daha fazla EKG düzensizliği gösterdi. Karaciğer dokuda MDA, IL-1β, TRPM2 seviyeleri yüksek yağlı yem grubunda anlamlı yüksek bulunurken, SOD aktivitesi düşmüştü ($P < 0.05$). Gruplar arasında karaciğer dokusu CAT aktivitesi, IL-6, *TRPM2* gen ifadesinde bir fark gözlenmedi ($P > 0.05$). Histopatolojik olarak sadece yüksek yağlı yem tüketen gruplara ait karaciğer dokusunda steatoz bulundu; böbrek, kalp, damar, kas ve beyaz yağ dokuda patolojik bir farklılık gözlenmedi.

Sonuç: YYD ile beslenmenin kan glukoz seviyesi, ALP ve kolesterolde artışa ve kardiyak ölçümlerde anormalliğe neden olması, insülin metabolizmasında bozulmaya ve kardiyovasküler sorunlara yol açabilir. Karaciğerde artan MDA, IL-1β ve TRPM2 seviyeleri YYD ile oksidatif stresin artacağını gösterebilir. Kurkumin'in yükselen değerlerde düşüş sağlamasının oksidatif stres, lipid metabolizması ve enflamasyonda katkısının olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Yüksek Yağlı Diyet, Obezite, TRPM2, Kurkumin, Metaflamasyon

ABSTRACT

The Effect of Curcumin on TRPM2 Channel Protein in High-Fat Diet Obesity Animal Model

Aim: In this study, it was aimed to investigate the effect of Curcumin on TRPM2 channel protein in terms of molecular, biochemical and histopathological aspects in experimental obesity model induced by high-fat diet.

Material and method: Rats fed with high-fat diet and standard diet for 12 weeks were divided into five groups as control, vehicle, Cur (60 mg/kg bw), YY and YY + Cur. Blood glucose levels, hemodynamic analyses, body and organ weight measurements were taken from animals, and insulin, CRP, TNFα, IL-6, IL-1β and TRPM2 protein amounts were measured from serum and tissue samples by ELISA method. MDA, GSH levels and SOD, CAT activities and TRPM2 gene expression were measured from liver tissues of rats. In addition, liver, heart, vessel, kidney, muscle and white adipose tissue samples were studied histopathologically.

Results: Blood sugar was higher in the YY group compared to the other groups ($P < 0.005$), while YY group showed lower blood pressure and more ECG abnormalities. In the liver, MDA, IL-1β, TRPM2 levels were significantly higher in the YY group ($P < 0.005$), while SOD activity was lower ($P < 0.005$); this difference was not observed in the CAT activity, IL-6, *TRPM2* gene levels ($P > 0.005$). Histopathologically, steatosis was found only in the liver of HFD feeding groups; no pathological differences were observed in kidney, heart, vascular, muscle and white fat tissue.

Conclusion: The increased blood glucose levels, ALP and cholesterol with the HFD, and abnormal cardiac measurements may cause deterioration in insulin metabolism and cardiovascular problems due to the fatty diet. The increased levels of MDA, IL-1β and TRPM2 in the liver may indicate that oxidative stress will increase with HFD. The decrease in the elevated values with Curcumin may contribute to oxidative stress, lipid metabolism and inflammation.

Key Words: High Fat Diet, Obesity, TRPM2, Curcumin, Metaflammation

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADCY3 : Adenilat siklaz 3 geni

ADPR : Adenozin Di-Fosfat Riboz

AHA : Amerikan Kalp Birliği

ALP : Alkalen Fosfataz

ALT : Alanin Aminotransferaz

AST : Aspartat Aminotransferaz

AYKH : Alkolsüz Yağlı Karaciğer Hastalığı

BDNF : Beyin-Kökenli Nörotrofik Faktör geni

BUN : Kan Üre Nitrojen

BYD : Beyaz Yağ Doku

C3aR1 : Komplement 3a Reseptör 1 geni

CAT : Katalaz

cDNA : Komplementer Deoksiribonükleik Asit

COSI-TUR : Çocukluk Obezite Gözlem Araştırması-Türkiye

CRP : C- Reaktif Protein

$CuCl_2$: Bakır Klorit

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

EKG : Elektrokardiyogram

ELISA : Enzim Bağlı İmmüno Absorbe Analiz

FASN : Yağ Asidi Sentaz geni

GPx : Glutatyon Peroksidaz

GSH : Redükte Glutatyon

GST : Glutatyon-S-Transferaz

GWAS : Genom Çaplı Bağlantı Çalışmaları

H_2O_2 : Hidrojen Peroksit

HDL : Yüksek Yoğunluklu Lipid

HSD17 β1 : 17β - Hidroksisteroid Dehidrogenaz-1 geni

IGF-1 : İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü – 1

IGFBP3 : İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein 3 geni

IL- 6 : İnterlökin – 6

IL- 1β : İnterlökin - 1 Beta

Kur : Kurkumin

KSR2 : Kinaz Supressor Ras 2 geni

KYD : Kahverengi Yağ Doku

LEP : Leptin geni

LEPR : Leptin Reseptör geni

LDL : Düşük Yoğunluklu Lipid

MAPK : Mitojen Aktive Protein Kinaz geni

MC4R : Melanokortin 4 Reseptör geni

MCP-1 : Monosit Kemo-çekici Protein-1 geni

MDA : Malondialdehit

NAD : Nikotinamid Adenin Dinükleotid

NRF1 : Nükleer Solunum Faktörü geni

NF-κB : Nükleer Faktör Kappa B

PCSK1 : Proprotein Konvertaz Subtilisin/Kexin Tip 1 geni

POMC : Proopiomelanokortin geni

RNA : Ribonükleik Asit

ROT : Reaktif Oksijen Türleri

qRT-PZT : Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Tepkimesi

SNP : Tek Nükleotid Polimorfizmi

SOD : Süper Oksit Dismutaz

TBSA : Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması

TGFα : Transforming (Dönüştürücü) Büyüme Faktörü Alfa

TNFα : Tümör Nekroz Faktör Alfa

TRP : Transient Reseptör Potansiyel

TRPA : Transient Reseptör Potansiyel Ankrin

TRPC : Transient Reseptör Potansiyel Kanonik

TRPN : Transient Reseptör Potansiyel NOMPC

TRPM2 : Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2

TRPML : Transient Reseptör Potansiyel Mukolipin

TRPP : Transient Reseptör Potansiyel Polisistin ve

TRPV : Transient Reseptör Potansiyel Valinoid

v.a : Vücut ağırlığı

VLDL : Çok Düşük Yoğunluklu Lipid

VGF : İndüklenebilir Sinir Büyüme Faktörü geni

VKİ : Vücut Kitle İndeksi

YY : Yağlı Yem

YYD : Yüksek Yağlı Diyet

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No **Sayfa No**

Şekil 2.1. Aşırı besin yüklemesi sinyallerinin metabolik yolaklardan immün yanıt yolaklarına doğru akış şeması 7
Şekil 2.2. Obezite ile meydana gelen enflamasyonun kaynaklı insülin direnci ve ateroskleroz oluşumu 8
Şekil 2.3. TRP süper ailesi..... 15
Şekil 2.4. TRPM2'nin diyabet gelişimindeki öngörülen rolleri..... 16
Şekil 2.5. Kurkumin'in kimyasal yapısı 17
Şekil 2.6. Zerdeçal bitkisine ait çizim 18
Şekil 2.7. Zerdeçal kökü ve kökten elde edilen toz zerdeçal..... 18
Şekil 3.1. EKG ölçümü için kanüle edilen sıçan……..……25
Şekil 3.2. Gruplara ait toplam RNA % 1 agaroz jel görüntüsü 32
Şekil 4.1. Gruplara ait haftalık vücut ağırlığı değişim grafiği……..35
Şekil 4.2. Grupların 1. ve 12. hafta vücut ağırlıkları karşılaştırmaları. 36
Şekil 4.3. Gruplara ait haftalık tüketilen yem miktarı değişim grafiği. 37
Şekil 4.4. Grupların 1. ve 12. hafta yem tüketim karşılaştırmaları. 37
Şekil 4.5. Gruplara ait Lee İndeks oranları. 40
Şekil 4.6. Grupların haftalık kan glukoz seviyelerine ait değişim grafiği. 41
Şekil 4.7. Grupların 1. ve 12. hafta kan glukoz seviyeleri karşılaştırması 42
Şekil 4.8. Karaciğer, kalp ve böbrek organ ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması 44
Şekil 4.9. Normal ve aritmi EKG görselleri. 47
Şekil 4.10. ST depresyonu ve elevasyonu EKG görselleri. 47
Şekil 4.11. Dal blok ve T negatifliği EKG görselleri. 48
Şekil 4.12. Gruplara ait karaciğer MDA seviyeleri 51
Şekil 4.13. Gruplara ait karaciğer GSH seviyeleri 52
Şekil 4.14. Gruplara ait karaciğer SOD aktiviteleri..... 52
Şekil 4.15. Gruplara ait karaciğer CAT aktiviteleri..... 53
Şekil 4.16. Gruplara ait karaciğer TRPM2 seviyeleri 54
Şekil 4.17. Gruplara ait karaciğer IL-6 ve IL-1β seviyeleri 55
Şekil 4.18. Gruplara ait serum CRP seviyeleri..... 56

Şekil 4.19. Gruplara ait serum insülin seviyeleri..... 57
Şekil 4.20. Gruplara ait serum TNFα seviyeleri..... 57
Şekil 4.21. Karaciğer cDNA örneklerinden qPZT ile çoğaltılan TRPM2 ve β-aktin eğrileri 58
Şekil 4.22. β-aktin ve TRPM2 genlerinin qPZT ile çoğaltılan ürünlere ait agaroz jel görüntüsü..... 58
Şekil 4.23. Gruplarda karaciğer örneklerine ait TRPM2 gen ifade seviyeleri 59
Şekil 4.24. Karaciğer dokularına ait H-E boyanmış mikroskobik görüntüler. 60
Şekil 4.25. Böbrek dokularına ait H-E boyanmış mikroskobik görüntüler. 61
Şekil 4.26. Kalp dokularına ait H-E boyanmış mikroskobik görüntüler. 62
Şekil 4.27. Damar dokularına ait H-E boyanmış mikroskobik görüntüler. 63
Şekil 4.28. Kas dokularına ait H-E boyanmış mikroskobik görüntüler..... 64
Şekil 4.29. Beyaz yağ dokularına ait H-E boyanmış mikroskobik görüntüler. 65

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No **Sayfa No**

Tablo 2.1. Şiddetli monogenik obeziteye katkısı olan başlıca genler. 12
Tablo 3.1. Deney grupları ve şeması…….…….22
Tablo 3.2. Standart ve yüksek yağlı yem içerikleri. 23
Tablo 3.3. MDA analiz reaksiyon tablosu. 26
Tablo 3.4. SOD analiz reaksiyon tablosu. 27
Tablo 3.5. GSH analiz reaksiyon tablosu. 28
Tablo 3.6. Katalaz analiz reaksiyon tablosu. 28
Tablo 3.7. Doku örneklerinden elde edilen toplam RNA ölçüm sonuçları. 31
Tablo 3.8. Primer bilgileri. İleri primer (F), geri primer (R). 33
Tablo 4.1. Gruplara ait haftalık vücut ağırlıkları ortalaması……..38
Tablo 4.2. Gruplara ait haftalık yem tüketim miktarları ortalaması 39
Tablo 4.3. Gruplara ait Lee İndex oranları. 40
Tablo 4.4. Grupların haftalık kan glukoz seviyesi ortalama sonuçları 42
Tablo 4.5. Gruplara ait karaciğer, kalp, böbrek organ ağırlıkları 43
Tablo 4.6. Gruplarda gözlenen EKG değişimleri. 45
Tablo 4.7. Gruplar arası EKG ölçüm sonuçları. 46
Tablo 4.8. Serum ALP, AST ve ALT sonuçları 48
Tablo 4.9. Gruplarda serum üre azotu, BUN, kreatinin ve albümin sonuçları. 49
Tablo 4.10. Serum trigliserit, kolesterol, LDL, HDL ve VLDL sonuçları. 49
Tablo 4.11. Gruplara ait karaciğer MDA ve GSH miktarları ile SOD ve CAT aktiviteleri sonuçları 50
Tablo 4.12. Karaciğer dokusu TRPM2, IL-6, IL-1β ELISA sonuçları 54
Tablo 4.13. Serum TNFα, CRP, İnsülin ELISA sonuçları 56
Tablo 4.14. Karaciğer dokusu TRPM2 gen ifadesi. 59

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun üçte birinden fazlasını etkileyen obezite, multifaktöriyel ve çoğunlukla önlenebilir bir hastalıktır (1). Obezite, vücutta aşırı yağ birikmesi sonucu, vücudun enerji dengesinin bozulması, enflamasyonun artması ve metabolik sendrom gelişmesine yol açan çok etkenli bir sağlık durumu olarak tanımlanmaktadır (1). Enerji dengesi; genler ve çevre ile etkileşimle fizyolojik süreçlere ve kiloya bağlı karmaşık bir sistemdir. Enerji düzenini korumak adına yağ dokudan adiponektin ve leptin gibi adipokinlerle enflamatuvar sitokinler salgılanmaktadır. Normal durumdan aşırı enerjili besin tüketimine geçildiğinde, yağ doku hızlıca hipertrofiye (boyut artırma) ve hiperplaziye (sayı artırma) geçmektedir. Patolojik obezite koşullarına varıldığında yağ doku yeniden modellemeye gitmekte, böylece anjiyogenez azalmakta, hipoksi seviyesi yükselip düşük seviyede kronik enflamasyon gelişmektedir (2). Obezitede adiposit apoptozuna yanıt olarak yeni doku oluşumunda, yağ dokudaki immün hücrelerde ve makrofajlarda artış görülmektedir. Bu immün hücreler obezite hastalarında sıklıkla gözlenen insülin direncine katkı sağlayan öncül enflamatuvar sitokinleri salgılamaktadır (3). Aşırı enerji yüklü besin yüklenmesine yanıt olarak metabolik ve enflamatuvar hücrelerin meydana getirdiği düşük seviyeli ve kronik enflamasyon durumuna 'metaflamasyon' adı verilmektedir (4). Metaflamasyonun etkileri yağ dokuda başlayarak karaciğer, iskelet kası, pankreas ve beyin gibi metabolik organlara yayılıp insülin direnci ile metabolik bozukluklara yol açmaktadır (5).

Obeziteyle gelişen enflamasyona karşılık antienflamatuvar tedavi çalışmalarında pozitif metabolik sonuçlar elde edilse de uzun süreli sistemik sonuçlara henüz ulaşılamamıştır (6, 7). Aşırı besin tüketimi kaynaklı "besin sinyalleri"nin obezite kaynaklı enflamasyona neden olduğu ve bunun da insülin direncini şiddetlendirdiği düşünülmektedir (5). Araştırmalar obeziteye ve metabolik hastalıklara karşı diyete katkı olarak anti-enflamatuvar besinlerin eklenmesinin bir tedavi yaklaşımı olabileceğini bildirmektedir (8).

Transient reseptör potansiyel (transient receptor potential-TRP) kanal proteinleri her tipi farklı geçirgen özelliklere sahip katyon kanallardır. Özellikle TRP-melatatin2 (TRPM2) ve TRPM7, reaktif oksijen türleri (ROT) tarafından aktive edilen kalsiyuma (Ca^{+2}) geçirgen seçici olmayan katyon kanalı özelliği göstermektedir. Çoğunlukla

beyinde ve birçok dokuda gen ifadesi tespit edilmiş olan TRPM2 kanal proteini, oksidatif strese bağlı hücre ölümünde de rol almaktadır (9).

Zerdeçal bitkisinden elde edilen kurkumin polifenolü, anti-enflamatuvar etkilere sahip olup antioksidan savunma mekanizmalarının indüklenmesine katkı sağlamaktadır (10). Kurkumin'in lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği, antioksidan moleküllerin aktivitelerini artırdığı tespit edilmiştir (11). Kurkumin, antikanserojen ve anti-enflamatuvar özelliğiyle obezitede pozitif sonuçları gözlenmiş bir polifenolik moleküldür. Kurkumin'in yüksek yağlı diyetle beslenen *Sprague Dawley* sıçanlarında plazma yağ asidi ve tümör nekroz faktör alfa (TNFα) seviyelerini azalttığı tespit edilmiştir (12). Ayrıca Kurkumin, TRPM2 kanal proteinini inhibe edebilmektedir (13). Kurkumin ROT temizleyicisi olarak çalışabilmekte, oksidatif stresi azaltmakta ve böylece adenozin difosfat riboz (ADPR) oluşumunu ve devamında TRPM2 kanallarının çalışmasını önlemektedir (13).

Yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenme ile aşırı miktarda adipoz doku birikimi beraberinde hipertansiyon etkilerin görülmesine neden olmaktadır. Dolaşımdaki yüksek yağ oranı görülen obez bireylerde hemodinamik farklılaşmasıyla birlikte kardiyak morfoloji ve ventriküler fonksiyon değişimleri gözlenmektedir (14). Yüksek kalorili beslenme sonucunda farelerde oluşan obezite ve insülin direnciyle birlikte deri altı beyaz yağ dokuda metaflamasyon belirteçleri tespit edilmiştir. Araştırmalar yağlı diyetin sadece miyokardiyal fonksiyonu tehlikeye atmadığını, aynı zamanda hem çapı hem de kılcal yoğunluğunu azaltarak serebral mikrovasküler yapıda önemli zararlı değişikliklere neden olduğunu göstermektedir (15).

Kardiyovasküler etkileri ortaya konan yüksek yağlı diyetle beslenmenin metabolik enflamasyon ile olan ilişkisi için araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır ve bu nedenle anti-enflamatuvar çalışmalar önem kazanmıştır. Bu tez çalışmasında kurkuminin, enflamasyonda rol alan TRPM2 kanal proteinini inhibe etme özelliğinin obezite üzerindeki etkilerinin moleküler, biyokimyasal ve histopatolojik yönden araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite ve Epidemiyolojisi

Obezite ve aşırı kilo, dünya çapında en ciddi halk sağlığı sorunlarından biri olup sigaradan sonra ikinci sırada yer alan ölüm nedenleri arasında yer almaktadır (16). Obezite sınıflandırması tüm dünyada kilogram birimindeki vücut ağırlığının, boyun metre birimine bölünüp karesinin alındığı vücut kitle indeksi (VKİ) ile yapılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Amerikan Kalp Birliği (AHA) gibi sağlık otoriteleri obeziteyi sınıflandırmak için genellikle aşağıdaki kriterleri kullanmaktadır:

1. Normal: VKİ 18.5- 24.9 arasında bulunanlar
2. Obezite: VKİ 30-34.9 arası hafif, 35-39.9 arası orta ve 40 üzeri aşırı-morbid obezite olarak üç gruba ayrılmaktadır.
3. Ekstrem obezite: VKİ 50 ve üstü bulunanlar

Dünya genelinde, 1980 ve 2013 yılları arasında aşırı kilo ya da obezite yaygınlığı erkeklerde % 28.8'den % 36.9'a ve kadınlarda % 29.8'den % 38'e yükselmiş, 1975-2016 yılları arasında toplumda obezite yaygınlığının üç kat arttığı bildirilmiştir. Aynı zamanda endüstrileşmiş ülkelerde yaşayan erkek çocuklarında obezite yaygınlığı % 16.9'dan % 23.8'e ve kız çocuklarında % 16.2'den % 22.6'ya artmıştır (17). 154 farklı ülkede yapılan küresel obezite yaygınlığı araştırmasına göre her 5 çocuk ya da yetişkinden biri aşırı kilolu/obez durumundadır ve toplamda çocuk yaş obezitesi % 8.5 prevelans olarak hesaplanmıştır (18). DSÖ'nün güncel verilerine göre 1.9 milyar insan aşırı kilolu iken, bu insanların 650 milyonu obez durumundadır (19). Ülkemizde yapılan son epidemiyolojik araştırmalarına göre (Çocukluk Obezite Gözlem Araştırması-Türkiye, COSI-TUR) ilkokul 2. Sınıf öğrencileri arasında % 14.6'sı aşırı kilolu iken bunların % 9.9'u obez olduğu bildirilmiştir (20). 2019 yılında Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması'nın elde ettiği sonuçlara göre Türk insanlarının % 34'ü aşırı kilolu iken % 31.5'i obez olarak tespit edilmiştir (21). Avrupa Birliği 2019 yılı raporuna göre, Avrupa bölgesindeki insanların % 53'ü ve Türkiye nüfusunun % 59'u aşırı kilolu durumundadır (22). Obezite koroner kalp hastalıkları, inme, hipertansiyon, diyabet ve birçok kanser tipi gibi hastalıklarla ilişkilendirilmekte ve bu hastalıklarda risk artırıcı olarak görülmekte ve ulusal ekonomi ve halk sağlığı harcamaları üzerinde önemli bir yük oluşturmaktadır (23, 24).

Obezite nedenleri arasında fiziksel aktivite eksikliği, sigara kullanımı, diyet, genetik etkenler ve hastalıklar gibi birçok doğrudan etki gösterilmektedir (25, 26). Sıcaklık (27), hava kirliliği (28), iklim (29), sosyo-ekonomik durum gibi dolaylı etmenler de fiziksel aktivite ve diyete olan etkileri ile obeziteye katkıda bulunmaktadır.

Bireylerin ve popülasyonların obezite durumuna katkıda bulunan hayat ve çevre koşullarının etkilerinin toplamı için 'obezogenik çevre' tanımı kullanılmaktadır (30). Şehir yaşamı, ulaşım seçenekleri, ulaşılabilen market-restoran gibi obezogenik çevresel etmenlere erişim durumuna göre toplumda değişen obezite oranlarının olduğu görülmektedir (31).

Vücutta yağ dağılımı bilgisi VKİ ile ölçülememektedir ve insanlarda obezite sınıflandırılmasında VKİ'nin yanı sıra vücut bileşimi ve vücut yağ dağılımı ile bel çevresi ve bel/kalça oranı da kullanılmaktadır (32). Ayrıca anatomik olarak da sınıflandırma yapılabilmektedir (33). Yetişkin erkeklerde vücut yağ oranının % 25, kadınlarda ise % 30'un üzerine çıkması durumunda obezite gelişimi söz konusudur. Bölgesel yağ dağılımı genetik olarak erkek ve kadınlarda farklılık göstermektedir (33).

Çoğunlukla beyaz ırk Batı popülasyonlarında yapılan bazı araştırmalara göre, açlık plazma glukozu ve insülin konsantrasyonları, 2 saatlik glukoz ve insülin direnci değerlendirildiğinde obez kişilerin % 10-16'sı metabolik olarak normal bulunmuştur (34). Obeziteyi tanımlamak için "yağlanma temelli kronik hastalık" veya etiyolojik faktörlerin, yağlanma derecesinin ve eşlik eden diğer klinik özelliklerin daha bütünleştirici bir kombinasyonu gibi VKİ'e dayanmayan alternatif yaklaşımlar önerilmektedir (35, 36).

2.2. Karaciğer Dokusu ve Obezite

Karaciğer; glukoz ve lipid metabolizmasını düzenleyen, enerji düzenini sağlayan, hepatokinler aracılığıyla diğer dokularla iletişim kurarak besin işlenmesi, depolanması ve metabolik süreçleri yöneten bir organdır (37). Obezite ile meydana gelebilecek alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı (AYKH) daha şiddetli karaciğer rahatsızlıklarına neden olarak karaciğer sağlığını önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Obez bireylerin % 70'inde AYKH görülebilmekte, siroz ve hepatosellüler karsinom gibi komplikasyonlara yol açmaktadır (38).

Araştırmalar obezitede karaciğerde yağ birikimi, enflamasyon, insülin direnci, fibroz ve siroz gibi olayların meydana gelerek karaciğer fonksiyonunu bozduğunu göstermektedir (39). Aynı zamanda obezitede karaciğer enzimlerinde bir yükseliş ve

viseral yağ dokusu kaynaklı ‘kronik düşük seviyeli’ enflamasyon görülebilmektedir (40). Obezite, insülin direnci ve dislipidemi yoluyla karaciğer hastalığı riskini artıran metabolik sendromla bağlantılı olup C-reaktif protein gibi enflamasyon belirteçlerinin artan seviyeleri, obez bireylerde karaciğer hasarıyla ilişkilendirilmiştir (38, 41).

Araştırmalar, TRPM2'nin AYKH ve insülin direnci gibi obeziteyle ilişkili karaciğer rahatsızlıklarının gelişimine katkıda bulunan çeşitli yolaklarda yer aldığını göstermektedir. TRPM2 kanallarının, obezitede yükselen ve karaciğer hasarına ve karaciğer yağlanmasına katkıda bulunan ROT tarafından aktive edildiği ortaya konmuştur (42). TRPM2 inhibisyonunun hepatositlerde lipid birikimini azalttığı gösterilmiştir. Bu bulgu, TRPM2 aktivasyonunun karaciğer yağlanmasında başlıca rol sahibi olduğunu düşündürmektedir (43).

2.3. Yağ Dokusu ve Obezite

Yağ dokusu (adipoz doku), enerji depolama, metabolik homeostazın düzenlenmesi, organların korunması, hormon ve adipokin salgılama gibi birçok işlevi olan bir bağ doku türüdür. Başlıca iki ana yağ doku tipinden beyaz yağ doku (BYD) enerji depolanmasından sorumlu iken, diğer tip olan kahverengi yağ doku (KYD) enerji tüketimi ve termogenez ayarlanmasında rol oynamaktadırlar. KYD, vücutta bulunan diğer yağ dokularından farklı olarak yüksek miktarda mitokondri içermektedir. Bu mitokondriler, içlerindeki kahverengi pigment (sitokrom) sayesinde oksijeni daha etkin bir şekilde kullanarak enerji üretmekte ve bu süreç sırasında ısı açığa çıkmaktadır. Bu nedenle, kahverengi yağ dokusu, vücut ısısının korunmasında ve soğuk havalara karşı adaptasyonda önemli bir rol oynamaktadır. KYD, enerji üretimi için yağ asitlerini okside ederek vücutta yağ depolanmasının azalmasına ve enerji harcamasının artmasına yardımcı olabilmektedir. Aktivasyonuyla birlikte, glukozu hızla tüketerek metabolizmayı hızlandırabilmekte ve insülin duyarlılığını artırabilmektedir (44, 45).

Beyaz yağ doku, bejleşme denen bir süreçle kahverengi yağ dokunun morfolojik ve fizyolojik özelliklerine sahip olabilmektedir. Bej yağ dokusu, beyaz yağ dokunun uncoupling protein 1 (UCP1) ifade edilmesiyle oluşurken, obezite durumunda enflamasyon, yağ doku insülin hassasiyetini azaltan bej doku oluşumunda düşüşle ilişkilendirilmektedir (46).

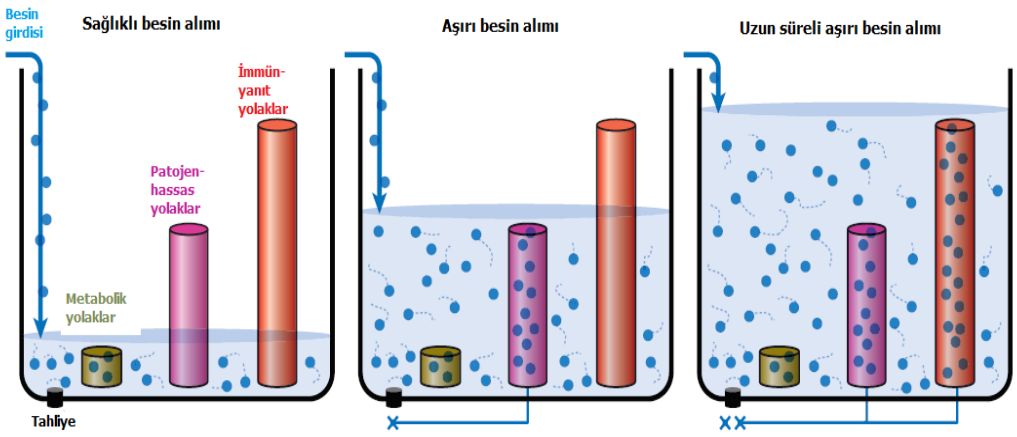
Kemirgenlerde genellikle iki ana tip olan BYD ve KYD adipoz dokusu bulunmaktadır. BYD çoğunlukla deri altı ve vücut geneline yayılmış, organların etrafında

gözlenmektedir. KYD genellikle hayvanın boyun ve sırt bölgesinde yer alırken soğuk havalardan vücut ısısının korunmasına yardımcı olmaktadır (47).

Kemirgenlerdeki adipoz doku dağılımı ve işlevleri, insanlardakinden farklılık göstermektedir. İnsanlarda genellikle üç temel bölgesel yağ deposu bulunmaktadır. Bu yağ depoları, vücutta farklı bölgelerde yerleşik olarak bulunmakta ve genetik, cinsiyet, yaşam tarzı gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Abdominal yağ, karın bölgesinde yer alan yağ depolama bölgesidir. Bu bölge, iç organlar etrafında (viseral yağ) ve deri altında (subkutan yağ) olmak üzere iki ana alt bölüme ayrılmaktadır. Viseral yağ, karaciğer, pankreas ve diğer iç organlarla yakından ilişkilidir ve metabolik sağlık üzerinde olumsuz etkilere sahip olmaktadır (47). Subkutan yağ ise deri altında bulunan ve vücut formunu belirleyen yağ depolama alanıdır. Gluteofemoral yağ, kalça (gluteus) ve uyluk (femur) bölgesinde bulunan yağ depolama alanıdır. Bu bölge genellikle kadınlarda daha fazla gelişmiştir ve estetik açıdan vücut şeklini belirlemede önemli rol oynamaktadır. Gluteofemoral yağ, enerji depolama ve koruma amacıyla kullanılmaktadır. İntraabdominal (iç karın bölgesi) yağ depolama alanı, abdominal boşluğun içinde bulunan ve organların etrafında yer alan yağ dokusunu ifade etmektedir. İntraabdominal yağ, genellikle viseral yağ ile ilişkilidir ve metabolik sendrom, tip-2 diyabet ve kardiyovasküler hastalık riski gibi sağlık sorunlarına katkıda bulunmaktadır (44).

2.4. Obezite ve Metabolizma

Metabolizma; vücudun enerji üretimi ve kullanımını düzenleyen karmaşık bir süreç olarak tanımlanmaktadır. Aşırı besin tüketimiyle artan bazal metabolizma hızı ve artan metabolik sinyaller hücrelerin enflamasyon yanıtı vermesine ve metabolik dengenin bozulmasına neden olmaktadır (Şekil 2.1) (5). Obezite sıklıkla metabolik sendrom ile ilişkilendirilmektedir. Metabolik sendrom; obezite, yüksek kan basıncı, yüksek trigliserid seviyeleri, düşük HDL (iyi) kolesterol seviyeleri ve insülin direnci ile karakterize olup bu durumlar da sistemik enflamasyonun artmasına katkıda bulunmaktadır (4). Organizma sağlıklı beslenirken metabolik yolaklar, patojen hassas yolaklar ve immün yanıt yolaklar dengede olup sistem sağlıklı bir şekilde çalışmaktadır. Aşırı besin alımı ve bunun uzun süre devam etmesi ile hem metabolik yolaklar hem de patojen hassas ve immün yolaklar aşırı derecede indüklenerek organizmada metabolik sendrom ve buna bağlı olarak sistemik enflamasyonun artmasına katkıda bulunmaktadırlar (Şekil 2.1) (5).



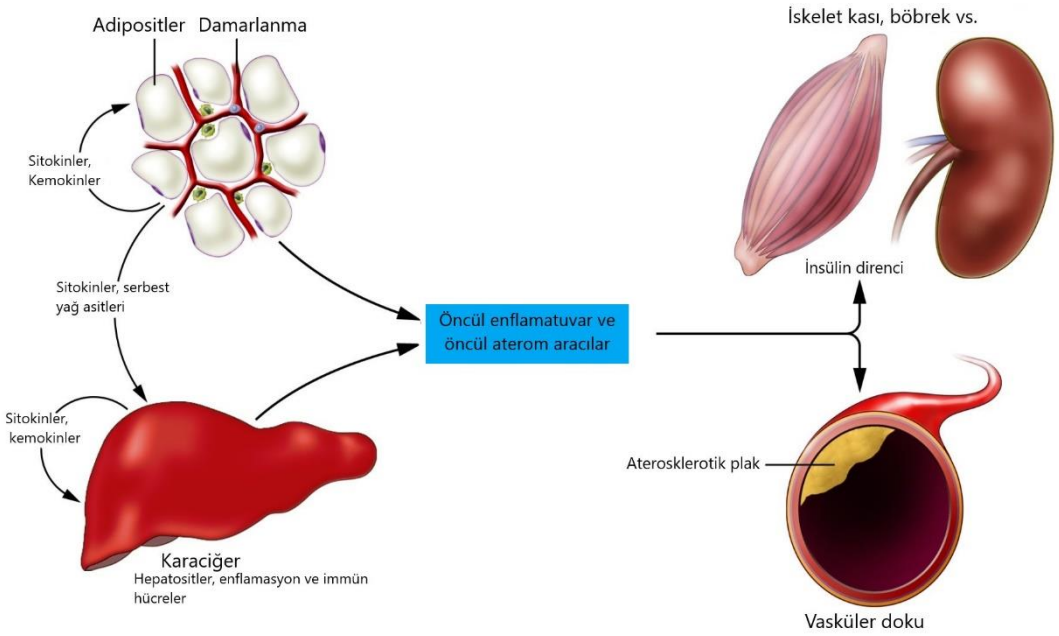
Şekil 2.1. Aşırı besin yüklemesi sinyallerinin metabolik yolaklardan immün yanıt yolaklarına doğru akış şeması (5).

İnsülin, pankreas tarafından üretilen ve kan şekerini (glukoz) düzenleyen bir hormondur. İnsülin, hücrelere glukozun alınmasını sağlamakta ve enerji üretimi için kullanılmaktadır. Obez bireylerde, vücutta fazla miktarda biriken yağ dokusu özellikle karın bölgesindeki viseral yağ (iç organlar etrafındaki yağ) insülin direncini artırabilmektedir. İnsülin direnci, hücrelerin insüline normalden daha az tepki göstermesidir. Obez bireylerin viseral beyaz yağ dokularından adipokin denen çeşitli sitokinlerin anormal seviyede salgılanmasıyla gelişen patolojik bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durumda, pankreas daha fazla insülin üretmekte ancak hücreler yeterince glukoz alamamaktadır. Sonuç olarak, kan şekerinin düzeyi yükselmekte (hiperglisemi) ve pankreas daha fazla insülin üretmeye devam etmektedir (6).

Obezitede, insüline hassas adiponektin gibi anti-enflamatuvar etkili bu moleküllerden bazıları azalırken; pro-enflamatuvar özellikli leptin, TNFα ve interlökin-6 (IL-6) gibi moleküllere rastlanmaktadır (4).

Obezite durumunda artan adipoz dokunun içindeki makrofaj sayısı artmakta ve özellikle viseral yağ dokusunda bu artış daha belirgin olmaktadır. Adipoz dokunun normal gruplara göre obez gruplarda daha fazla enflamatuvar sitokinleri (TNFα, IL-6, IL-1β, IL-8, TGFα gibi) salgıladığı ve gen ifadesini artırdığı ortaya konmuştur (48, 49). Artan adipozite, yağ ve karaciğerde enflamatuvar yanıtları aktive etmekte ve sitokin-kemokin üretiminde artış olmaktadır. Monositler ve makrofajlar başta olmak üzere immün hücreler indüklenmekte ve lokal insülin direncine neden olmaktadır. Karın

yağından kaynaklanan sitokinlerin ve lipidlerin portal iletimi hepatik enflamasyona ve insülin direncine katkıda bulunmaktadır. Pro-enflamatuvar ve pro-aterojenik moleküller yağ dokusunda ve karaciğerde ilişkili immün hücrelerinde üretilmektedir. Bu moleküllerin üretimi, iskelet kası ile diğer dokularda insülin direncine ek olarak atardamar duvarlarında anormal enflamatuvar ajanların oluşumunu (aterom) teşvik etmekte ve bu durumda sistemik enflamatuvar bir zayıflık meydana getirmektedir (Şekil 2.2) (50).



Şekil 2.2. Obezite ile meydana gelen enflamasyonun kaynaklı insülin direnci ve ateroskleroz oluşumu (50).

Adipoz doku, sadece enerji depolamakla kalmayan, aynı zamanda çeşitli biyolojik fonksiyonları yerine getiren önemli bir endokrin organ olarak kabul edilmektedir. İçerdiği birçok farklı protein ve peptid hormonları sayesinde, vücut metabolizmasını ve homeostazı düzenlemede aktif bir rol oynamaktadır. Adipogenez süreci, genellikle bir dizi hücresel ve moleküler sinyalleşmenin karmaşık etkileşimleriyle düzenlenmektedir. Bu sinyaller arasında hormonlar (örneğin, insülin, leptin), büyüme faktörleri (örneğin, insülin benzeri büyüme faktörü - IGF-1), nörotransmitterler ve diğer hücresel sinyaller yer almaktadır. Ayrıca, beslenme alışkanlıkları ve genetik faktörler de adipogenez sürecini etkileyebilmektedir (5, 51).

Leptin, adipoz doku tarafından salgılanan, 167 aminoasitten oluşan, 16 kilo dalton (kDa) ağırlığında, obez mutasyonu geni ile kodlanan ve enerji dengelemesinde kritik bir

rol oynayan bir hormondur (52). Ayrıca iskelet kası, mide, gastrik epitelyum, plasenta ve böbrek gibi dokulardan da salınımı olmaktadır. Leptin reseptörlerinin 6 farklı tipi bulunmasına rağmen bunlardan sadece uzun izoformda olan işlevseldir ve en fazla hipotalamusta ifade edilerek hücreler arası uzun sinyalleşme alanına sahip olarak iştahın düzenlenmesini sağlamaktadır. Leptin, beyindeki hipotalamus tarafından algılanarak iştahı baskılamakta ve enerji harcamasını düzenlemektedir. Kan-beyin bariyerini aşarak hipotalamus üzerinden iştahı azaltan anoreksijenik etkenleri indükleyip iştahın artmasına neden olan oreksijenik etkenleri inhibe ederek besin alımında azalma sağlamakta ve enerji harcanmasını artırmaktadır. Bu sayede, leptin vücut ağırlığının ve yağ depolanmasının kontrolünde önemli bir faktör olarak görülmektedir (53). Kadınlarda yağ oranının dağılımının farklılığı ve fazla olması nedeniyle kandaki leptin seviyesi daha yüksek görülmektedir. Benzer şekilde dişi kemirgenlerin plazma leptin seviyeleri erkeklere oranla daha yüksek bulunmuştur (54). Yağ doku miktarı arttıkça leptin seviyesi artmakta ve hipotalamustaki reseptörlere bağlanma oranı da artmaktadır ve obez bireylerde leptin düzeyleri normal olsa bile beyinde leptin reseptörlerinin direnç geliştirmesi sonucu leptin sinyalleri etkili olmamaktadır. Bu duruma leptin direnci denmektedir ve obezitenin sürdürülmesinde önemli bir faktör olduğu tespit edilmiştir (55). Adipoz dokunun en bol salgıladığı proteinlerden bir diğeri adiponektindir ve insülin duyarlılığını artırıcı etkisi vardır ve anti-enflamatuvar özelliklere sahiptir. Adiponektin düzeylerinin düşük olması, insülin direnci, tip-2 diyabet ve kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilendirilebilmektedir (56).

TNFα pro-enflamatuvar bir sitokin olup, adipoz dokudan salınabilmektedir. Yüksek düzeylerde TNFα, sistemik enflamasyonu artırabilmekte ve metabolik sağlık üzerinde olumsuz etkilere sahip olabilmektedir (57). Adipoz dokudan salınan bir molekül olan IL-6 hem enflamatuvar hem de anti-enflamatuvar özelliklere sahip bir sitokin olarak bilinmektedir. Adipoz dokudan salınan IL-6, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi durumlarla ilişkilendirilmiştir (57). Adipoz dokudan salınan enflamatuvar sitokinler (örneğin, TNFα, IL-6) aynı zamanda enerji dengesi üzerinde etkili olmaktadır. Bu sitokinlerin artan düzeyleri, sistemik enflamasyonu artırarak metabolik hastalık riskini de artırabilmektedir. Adipoz doku lipid metabolizması, enerji dengesinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Yağ asitlerinin depolanması ve serbest bırakılması, enerji depolama ve harcaması arasında dinamik bir denge sağlamaktadır (2, 58).

Obez dokusunda enflamasyona ait ilk bulgu zayıf ve obez fare grupları karşılaştırıldığında adipoz dokuda gözlenen TNFα seviyesi ile olmuştur (59). Bu keşfin ardından birçok çalışmada insanlarda ve hayvanlarda obez durumuyla zayıflık durumu arasında enflamasyon durumu farkını ortaya koymuş, enflamasyona bağlı IL-6, IL-1β, CC motif benzeri kemokin ligand 2 (CCL2) gibi sitokinlerin obez dokularında artışı gösterilmiştir (50, 60). Obezite indüklü enflamasyonun zamanlamasına dair çalışmalardan Xu ve arkadaşları 3 haftalık yüksek yağlı beslenme sonrası yağ dokuda makrofaj ilişkili genlerin ifadesini tespit etmiş ve16 ile 26 haftalık diyetlerde daha etkili artışla beraber yağ yoğunluğu arttıkça insülin direncini şiddetlendirdiği sonucuna varmışlardır (61).

2.5. Obezite ve Antioksidan Sistem

Oksidatif stres; vücutta serbest oksijen radikallerin fazla birikmesi ve bunların hücrelere zarar vermesi durumudur (62). Obezite, mekanik yükü ve miyokardiyal metabolizmayı artırmaktadır ve bu nedenle oksijen tüketimi de artmaktadır. Mitokondriyal solunumdaki artışla beraber süperoksit, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit ($H_2O_2^-$) gibi reaktif okisjen türleri oluşabilmektedir (63). Obezite, yüksek glukoz ve lipid seviyeleri, adipokinler ve kronik enflamasyon gibi faktörler nedeniyle serbest radikal üretimini artırmaktadır (62, 64). Oksidatif stres, obezite ve buna bağlı komplikasyonlarda önemli rol oynarken hücre yapısını bozarak metabolik sendrom, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve yaşam süresinin kısalmasına neden olmaktadır (64, 65). Yüksek yağ ve yüksek karbonhidrat içeren diyetler, oksidatif stresi artırarak lipid peroksidasyon ürünlerinin ve protein karbonilasyonunun artmasına neden olmaktadır (66). Obezite, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini değiştirebilmektedir (63). Obez bireylerde SOD aktivite seviyelerinin genellikle daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu durum, obezite ile ilişkili oksidatif stresin artmasına ve antioksidan savunma mekanizmalarının zayıflamasına bağlanmaktadır (67). Bazı çalışmalarda, obez çocukların ve SOD1, SOD2 ve SOD3 genlerinde farklı tek nükleotid polimorfizmini taşıyan obez bireylerin plazma SOD konsantrasyon ve aktivitesinin daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu artış araştırmacılar tarafından vücudun oksidatif strese karşı bir adaptasyon mekanizması olarak değerlendirilmiştir (68).

Redükte Glutatyon (GSH); yapısı glutamik asit, sistein ve glisin olmak üzere üç aminoasitten meydana gelen, hücrelerdeki oksidatif stresle başa çıkmada ve antioksidan sistemin desteklenmesinde önemli işlevi olan tripeptit enzim olmayan bir moleküldür (69). Obezitede artan yağ doku ile birlikte yükselen ROT üretimine karşılık, antioksidan sistemlerin azalması ve GSH seviyelerinin tükenerek düşmesi gözlemlenmiştir (66). Bununla birlikte obezitede GSH miktarının artmasını sağlayan antioksidan takviyelerin enflamasyona karşı koruyucu etki sağladığı tespit edilmiştir (63).

Malondialdehit (MDA) gibi oksidatif stres belirteçleri, çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuyla oluşan ürünlerdir ve çalışmalar VKİ ile MDA seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir (70). Araştırmalar, hem plazma hem de idrar MDA konsantrasyonlarının obez bireylerde obez olmayanlara kıyasla yüksek olduğunu ve obezite ile artan oksidatif stres arasında doğrudan bir ilişki olduğunu göstermektedir (71). Kilo kaybı, MDA seviyelerinde önemli bir azalmaya yol açabilmektedir. Örneğin, orlistat ile tedavi edilen obez bireylerde, kilo kaybı sonrası MDA seviyelerinde belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir (72). Metabolik sendromu olan obez bireylerde, metabolik sendromu olmayan obez bireylere göre MDA seviyeleri daha yüksek bulunmuştur ve bu da metabolik sendromun oksidatif stresi artırdığını göstermektedir (72).

2.6. Obezitede Hemodinamik Parametreler

Damar çeperlerinde yağ birikimi ile enflamasyon oluşumuna eşlik eden ateroskeroz, atardamar sertleşmesiyle plak oluşumunu hızlandırarak kan akışını etkileyebilmektedir ve kardiyovasküler hastalık riskini artırmaktadır (5). Obezitede hemodinamik parametreler, vücut ağırlığındaki artışa bağlı olarak önemli değişiklikler göstermektedir. Bu değişiklikler, kalp hızı, kan basıncı, kardiyak çıktılar ve periferik direnç gibi temel hemodinamik ölçümleri içermektedir. Obez bireylerde kalp hızı ve kan basıncı genellikle artmaktadır (73). Bazı çalışmalarda da obez bireylerde kalp hızı ve ortalama arteriyel basınçta belirgin azalmalar gözlemlenmiştir (74). Obez bireylerde kardiyak çıktı artarken, periferik direnç genellikle azalmaktadır ve bu durum, obezite ile ilişkili hipertansiyonun temel nedenlerinden biri olarak görülmektedir (73). Çalışmalar, obezitenin elektrokardiyogram (EKG)'de sol ventrikül hipertrofisi, düşük QRS voltajı, QTc uzaması, T dalgası düzleşmesi ve eksen kaymaları gibi çeşitli anormalliklere yol açtığını ve bu değişikliklerin kilo kaybıyla düzeltilebileceğini öne sürmektedir (75). Bununla birlikte, obez hayvanlarda lipid ve endokrin farklılıklar gözlenirken kan basıncı

ve kalp atış hızı gibi hemodinamik ölçümlerde anlamlı farklılık bulunmadığı da gösterilmiştir (76). Başka bir araştırmada obez sıçanlarda mekanik miyokardiyal fonksiyonda bozulma ile birlikte kardiyak oksidatif streste artış tespit edilmiştir (77).

2.7. Obezite ve Genetik

Gelişen teknoloji ile birlikte tek nükleotid değişimlerinin incelenmesi, genom haritalamaları ve deney modelleri ile epigenetik etkilerin incelenmesi ile obezitenin genetik ayrımı netleşmiştir ve genel olarak üç tipe ayrılmıştır (78, 79). Monogenik tip obezite, özellikle leptin-melanokortin yolağını etkileyen tek gen mutasyonu sonucu oluşmaktadır. Sendromik tip obezite ise nörogelişimsel bozukluklar ve diğer organ/sistem malformasyon fenotipleri ile ilişkili olarak gelişen şiddetli bir tipdir. Otozomal resesif Bardet-Biedel sendromu, Frajil-X sendromu ve Prader-Willi sendromuna sahip bireyler bu grup için birincil örnekleri teşkil etmektedir. Sendromların getirdiği işlev bozukluklarının yanı sıra, aşırı yeme ile klinik seyirlerini kötüleştiren bir etkiye sahiptir ve bireylerin ölümünü hızlandıran önemli bir etmendir (79). Poligenik tip obezite kilo alımını teşvik eden çok sayıda genin toplam katkısı ile meydana gelmektedir. Genom çaplı bağlantı çalışmaları (GWAS) ile birçok obezite yatkınlık gen ve tek nükleotid polimorfizmi (SNP) keşfedilmiş ve bireylerde genetik birikim analizleri için modeller oluşturulmuştur (80). Monogenik tip obeziteye neden olan, iştah ve beslenme düzenini sekteye uğratan ve çoğunlukla iki kopya olarak bulunduğunda etkin olan başlıca genler tabloda verilmiştir (Tablo 2.1) (78, 81).

Tablo 2.1. Şiddetli monogenik obeziteye katkısı olan başlıca genler.

Gen adı	Lokasyon	Obezite	İlişkili klinik durum
Adenilat siklaz 3 (*ADCY3*)	2p23.3	Şiddetli-erken başlangıç	Tip-2 diyabet
Beyin-kökenli nörotrofik faktör (*BDNF*)	11p14.1	Şiddetli-erken başlangıç	Aşırı yeme, hiperaktivite, bozuk bilişsel işlev
Kinaz supressor ras 2 (*KSR2*)	12q24.22-q24.23	Şiddetli	Çocuklukta aşırı yeme, insülin direnci, azalan bazal metabolik hız
Leptin (*LEP*)	7q32.1	Şiddetli-erken başlangıç	Aşırı yeme, hipogonadizm, nöroendokrin/metabolik ve immün bozukluk

Leptin reseptör (*LEPR*)	1p31.3	Şiddetli-erken başlangıç	Aşırı yeme, hipogonadizm, nöroendokrin/metabolik ve immün bozukluk
Melanokortin 4 reseptör (*MC4R*)	18q21.32	Şiddetli-erken başlangıç	Artan büyüme hızı, açlık insülin yüksekliği, eksik baskılanmış büyüme hormonu
Proprotein konvertaz subtilisin/kexin tip 1 (*PCSK1*)	5q15	Şiddetli-çocuklukta başlangıç	Aşırı yeme, bozuk glukoz homeostazı, azalmış büyüme, hipotiroidi, hipokortizol, hipogonadizm
Proopiomelanokortin (*POMC*)	2p23.3	Şiddetli-ilk aylarda başlangıç	Adrenokortikotropik hormon eksikliği, kırmızı saç ve soluk ten

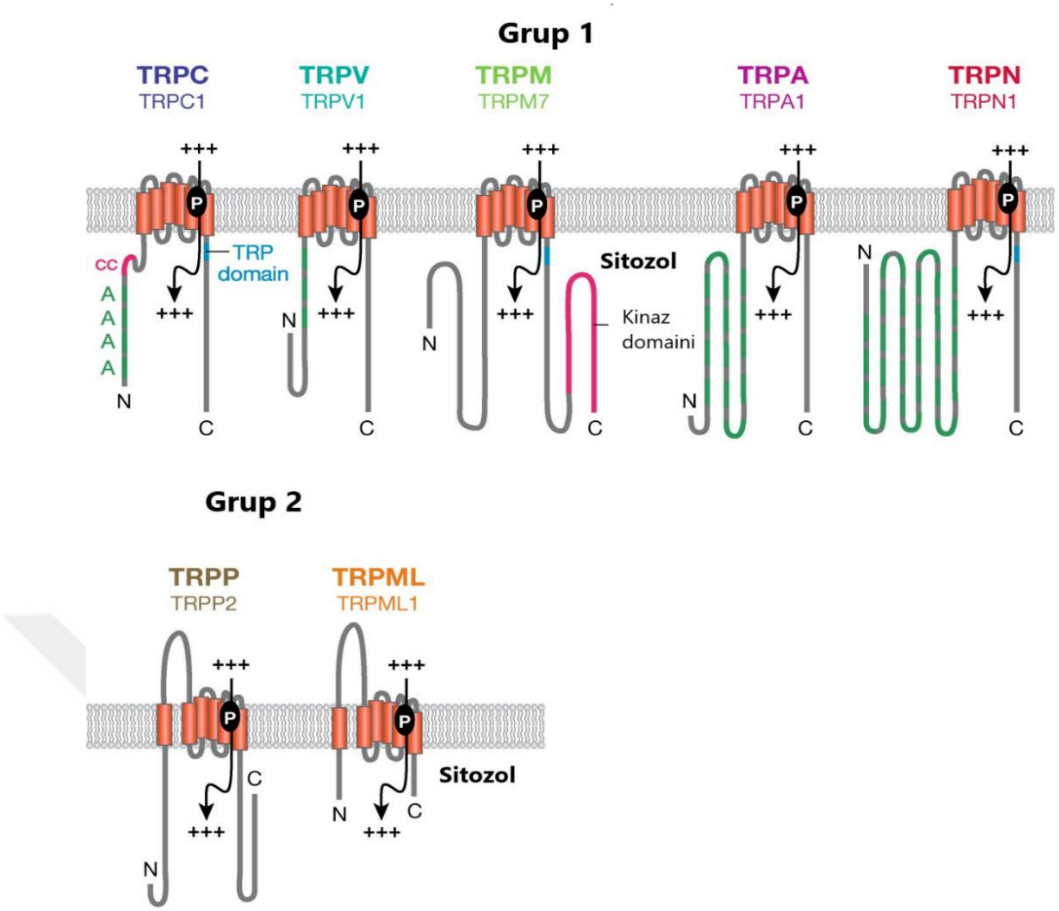
Obezitede özellikle yağ dokusu ve kas olmak üzere çeşitli dokularda gen ifadesinde önemli değişiklikler olabilmektedir. *IL-6, TNFα* ve *IL-1β* gibi enflamasyon ilişkili genlerin obez bireylerin yağ hücrelerinde, obez olmayan bireylerin yağ hücrelerine göre anlamlı derecede daha düşük seviyelerde ifade edildiği tespit edilmiştir. Enflamasyonla ilişkili diğer genlerin ifadelerini araştıran çalışmalar, bu genlerin obez bireylerde daha yüksek ifade edildiğini bildirmiştir (82). Araştırmalar, indüklenebilir sinir büyüme faktörü (*VGF)* ve komplement 3a reseptör 1 (*C3aR1)* gibi belirli genlerin obez bireylerde metabolik düzensizliğe katkıda bulunabilecek şekilde değişmiş ifade seviyeleri gösterdiğini ortaya koymaktadır. Obez bireylerdeyağ dokusu *VGF* gen ifadesi daha düşükken, *C3aR1* gen ifadesi daha yüksek olup, bu bulgu *VGF* ve *C3aR1* genlerinin obeziteyle olası bir metabolik bağlantısı olduğunu düşündürmektedir (83). Adiponektin gen ifadesinin obeziteyle birlikte azaldığı bildirilmiştir (84). Yağ asidi sentazı (*FASN*) ve nükleer solunum faktörü 1 (*NRF1*) gibi genlerin obez bireylerde önemli ölçüde ifade edildiği ve bu genlerin obezite lipid metabolizmasında önemli rolleri olabileceği bildirilmiştir (85). Obez bireylerde kilo azalması için yapılan diyetle birlikte meydana gelen kilo kaybında, 17β-hidroksisteroid dehidrogenaz-1 (*HSD17B1*) ve leptin (*LEP*) genlerinin ifadelerinin azaldığı, östrojen reseptörü-1 (*ESR1*) ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 3 (*IGFBP3*) genlerinin ifadesinde düşük oranda anlamlı artış olduğu tespit edilmiştir (86).

Belirli mikroRNA'ların obezite göstergeleriyle negatif ilişkisi bulunmuş ve metabolik yollarla ilgili çok sayıda mRNA'nın ifadesini etkiledikleri gösterilmiştir (87). Obezitede arteriyel dokularda ifadesi devamlı değişebilen 20 gen tespit edilmiş ve bu genlerin ifade değişimlerinin obezitede damar sağlığını etkileyebileceği bildirilmiştir (88).

Endüstrileşen dünyada bireylerin yiyeceğe ulaşım şartlarıyla birlikte çevresel faktörlerin de değişmesi epigenetik ve obezite ilişkisine dair bilgileri artırmaktadır. DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve gen-çevre ilişkisi çalışmaları daha çok analizi yapılan popülasyonla sınırlı olmasına rağmen, çocukluktan itibaren GWAS araştırma sonuçlarının da yardımıyla obezite risk oranını ortaya koymaktadır (80, 89).

2.8. TRP Kanal Proteinleri ve TRPM2

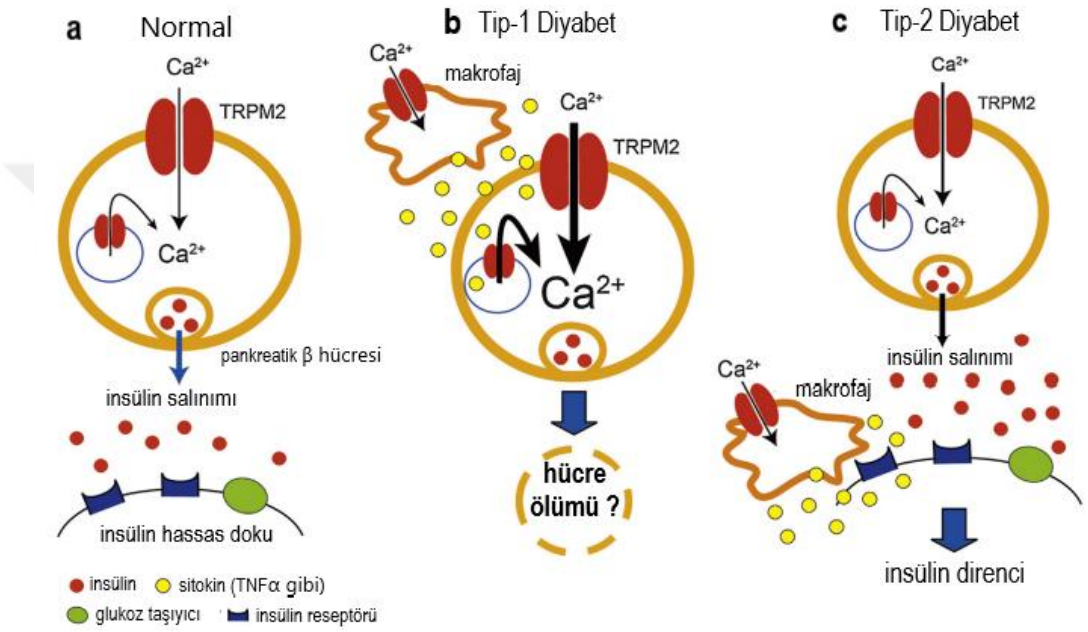
Memelilere ait 28 üyesi olan TRP kanal proteinleri seçici olmayan katyon kanalları olup iki grup ve yedi alt sınıfa ayrılmaktadır (Şekil 2.3) (13). Drosophila'da ilk TRP kanal proteini oksijensiz bir süreçte Ca^{+2} yoğunluğunu artırmasıyla keşfedilmiştir. Mayalardan birçok memeliye kadar çeşitli organizmalarda çalışılmışlardır. Süper aile olarak isimlendirilen TRP kanal proteinleri TRPC (kanonik), TRPA (ankrin), TRPV (valinoid), TRPN (NOMPC) ve TRPM (melastatin) olarak 5 ana alt aileye ayrılmaktadır. İkinci aile grubu da TRPP (polisistin) ve TRPML (mukolipin) olarak gruplanmaktadır. Transmembran geçişi altı segment olan tüm TRP kanalları Ca^{+2} taşıma yeteneğine sahip olup tipleri arasında kapasite farklılığı göstermektedir. Tüm üyelerden TRPC, TRPV ve TRPM alt aileleri oksidatif stres ile aktifleştiği gösterilmiştir (9, 90).



Şekil 2.3. TRP süper ailesi (91).

TRPM alt grubu 8 tip memeli homoloğa sahiptir ve bunlardan TRPM2 kanal proteininin transmembran segmentlerinin her iki ucu da sitozole bakarken karboksi ucu enzimatik aktivitede görev almaktadır. ROT tarafından aktive edilen Ca^{+2}'ye geçirgen TRPM2 ve TRPM7 kanalları oksidatif strese bağlı hücre ölümünde rol almaktadırlar. TRPM2 kanalının Ca^{+2} geçirgenliğini aktive eden unsurlar olarak ADPR, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) molekülleri ve H_2O_2, oksidan tertbütilhidroperoksit gibi ROT'lar tespit edilmiştir (9). Bu süreç, hücrenin stres durumlarına karşı adaptasyonunu ve hücresel sinyal yolaklarını etkileyebilmektedir. TRPM2 gen ifadesi en fazla beyin dokuda olmak üzere kemik iliği, dalak, karaciğer, kalp, akciğer dokularında ve pankreatik β ve immün sistem hücrelerinde tespit edilmiştir. Bazı çalışmalar TRPM2'nin fagositoz ve salınımında rol aldığını göstermiştir (92). TRPM2 kanalının disfonksiyonu veya aşırı aktivasyonu, nörodejeneratif hastalıkların (örneğin, Alzheimer hastalığı) patogenezinde rol oynayabilmekte ve oksidatif stres koşullarında TRPM2 kanalı aktivasyonunun artmasına bağlı olarak hücresel hasarlara neden olabilmektedir (93). TRPM2 knock-out

fareler yüksek yağlı diyetle beslendiğinde doğal tip farelere oranla daha az obez oldukları ve yağlanmaya direnç gösterdikleri gözlenmiş bununla birlikte knock-out farelerin yağ ve karaciğer dokularında enflamasyon oranı daha yüksek bulunmuştur. Yağlı beslenen TRPM2$^{-/-}$ farelerin beyaz yağ dokusunda IL-1β ve IL-6 seviyeleri azalırken, karaciğer sitokin enflamasyonunda da düşüş gözlenmiştir (94). Yüksek yağlı diyetle beslenmede, TRPM2'nin glukoz metabolizmasında yer alan çevresel organlarda insülin direnci ve enflamasyonda önemli rolü olabileceği öngörülmektedir (Şekil 2.4).



a) Normal fizyolojik koşullar altında, pankreas β hücrelerinde ifade edilen TRPM2, insülin salgılanmasında rol oynamaktadır. b) Tip-1 diyabet gelişimi sırasında TRPM2, pankreas hücrelerinde ve immünositlerde ifade edilmekte ve bu da enflamasyon ve β hücre ölümünde rol oynadığını göstermektedir. c) İmmünositlerde ifade edilen TRPM2, tip-2 diyabette beyaz yağ dokusu ve karaciğer (insüline duyarlı dokular) gibi insüline bağımlı glukoz metabolizmasında rol oynayan dokularda insülin duyarlılığının düzenlenmesinde rol oynamaktadır (92).

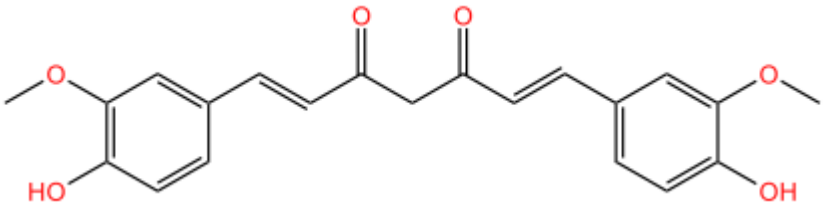
Şekil 2.4. TRPM2'nin diyabet gelişimindeki öngörülen rolleri.

Yağlı diyetle beslenen yabanıl tip farelerin kalp ve iskelet kasında kalmodulin ifadesinin TRPM2$^{-/-}$ farelere oranla artmış olduğu ve TRPM2$^{-/-}$ farelerde yağ dokuda beslenme indüklü enflamasyonun zayıfladığı tespit edilmiştir (94). Yapılan araştırmalarda enflamasyonu ağırlaştıran kemokin üretiminden sorumlu sinyalleşmeyi TRPM2'nin kontrol ettiği bulunmuştur (95).

Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda diğer TRP kanalları ile TRPM2 gen ifadesi düzensizliğinin metabolik olarak geniş bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (96). TRPM2 proteinini hedef alan çalışmalar, obez bireylerde insülin salgılanmasını ve glikoz metabolizmasını iyileştirerek tip-2 diyabet için yeni tedaviler geliştirebilmeyi hedeflemektedir (92). TRPM2'nin bir Ca^{+2} kanalı ve bir redoks sensörü olarak çift rolü, düzenlenmesinin obezitenin hem metabolik hem de enflamatuvar yönlerini ele alabileceğini düşündürmektedir (97). TRPM2 aracılı kalsiyum sinyallemesi, insülin direncini ve enerji metabolizmasını etkileyerek obez sıçanlarda metabolik işlev bozukluğunda önemli bir rol oynamaktadır. Oksidatif stresle aktive olan bu iyon kanalı, obeziteyle ilişkili metabolik bozukluklarda kritik olan glikoz metabolizmasının ve enflamasyonun düzensizliğine katkıda bulunmaktadır (92, 94).

2.9. Kurkumin

Zerdeçal adıyla bilinen *Curcuma longa* bitkisinin köklerinden elde edilen Kurkumin, hidrofobik bir polifenoldür (Şekil 2.5, Şekil 2.7) (98). Zerdeçal; sarı çiçekleri ve basit yeşil yaprakları olan, çok yıllık yumrulu bir bitkidir (Şekil.2.6). Kurkuminoidler, anti-enflamatuvar aktiviteye sahip olup organizmanın antioksidan savunma mekanizmasını indüklemektedir (10). Kurkumin'in antioksidan aktivitesi, özellikle reaktivitesini artıran metoksi ve fenolik gruplar gibi fonksiyonel grupların varlığı olmak üzere moleküler yapısından önemli ölçüde etkilenmektedir (99).



Şekil 2.5. Kurkumin'in kimyasal yapısı (100).



Şekil 2.6. Zerdeçal bitkisine ait çizim (101).



Şekil 2.7. Zerdeçal kökü ve kökten elde edilen toz zerdeçal

Birçok araştırmada Kurkumin'in SOD, GSH, glutatyon-s-transferaz (GST) ve GPx gibi antioksidan enzim ve biyomoleküllerin aktivitelerini artırdığı ve kanserde Kurkumin'in lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir (11). Adipositlerde mitojen aktive protein kinaz (MAPK) ve devamında (ERK, JNK ve p38) fosforilasyonunu

inhibe ettiği ve leptin reseptörünün fosforilasyonunu azaltarak leptin sinyalleşmesini bertaraf ettiği ortaya konmuştur (102). Kurkumin'in bir diğer mekanizması da yağ dokuda öncül enflamatuvar sitokin olan monosit kemo-çekici protein-1 (MCP-1)'i bloklayarak makrofaj birikimini önlemesidir (103). Kurkumin'in TRPM2 kanal proteini gen ifadesini hepatositlerde inhibe ettiği ayrıca beyin TRPM2 gen ifadesini de azaltan bir etki gösterdiği çalışmalarda tespit edilmiştir (13).

2.10. Kurkumin ve Obezite

Obezitenin enflamasyonla birlikte seyrettiği ortaya konduktan sonra enflamasyon önleyici ya da azaltıcı diyetlerle ilgili çalışmalar önem kazanmıştır. Kurkumin'in hipolipidemik ve plazma trigliserit seviyesini azaltan etkisi *in vivo* çalışmalarda gösterilmiştir (104). Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda serumda yükselen triaçilgliserit seviyesinin Kurkumin takviyesiyle azaldığı ve hepatik triaçilgliserit konsantrasyonunu düşürdüğü tespit edilmiştir (105, 106). Kurkumin'in anti-obezite etkisi esas olarak yağ birikimini azaltma ve enerji harcanmasını artırma olarak kendini göstermektedir (107, 108).

Diyete katkı olarak anti-enflamatuvar takviye edici gıdaların eklenmesi, obezite ve metabolik hastalıklara karşı bir tedavi yaklaşımı olabilmektedir. Örneğin, omega-3 poli-doymamış yağ asitleri (n-3 PUFA) yüksek yağlı diyetle birlikte uygulandığında enflamatuvar sitokinlerin azaldığı ve insülin direncinin zayıfladığı gözlenmiştir (109). Obez ya da aşırı kilolu yetişkin gruplarda yapılan 10 haftalık Kurkumin takviyesinin, obezitenin enflamasyon belirteçlerinden yüksek duyarlı C-reaktif protein (CRP) ve IL-6 seviyelerinde azalma sağladığı tespit edilmiştir (110). Kurkumin'in farelerde yağ ağırlığını ve plazma leptin seviyesini azaltırken, plazma adiponektin seviyesini artırdığı da bildirilmiştir (111). Kurkumin, yağ hücrelerindeki mitokondriyal işlevi destekleyerek oksijen tüketimini ve enerji harcaması için hayati önem taşıyan ATP üretimini fazlalaştırmakta ayrıca beyaz yağ dokusunun kahverengileşmesini kolaylaştırırarak UCP1'in ve enerji metabolizmasının diğer düzenleyicilerinin ifadesini artırmaktadır (112).

2.11. Obezite Hayvan Modelleri

Hayvanlarda, YYD ile oluşturulan obezite deneylerinde çoğunlukla genetik homojenlikleri nedeniyle belirli bir ırktan (örneğin, Sprague-Dawley) deney hayvanları

kullanılmaktadır (113). Obez hayvan oluşturma modelleri arasında yer alan beslenme manipülasyon modellerinde hayvanlar, insanlarda yaygın olan obezogenik ortamı taklit etmek için genellikle yağ ve şeker açısından zengin, yüksek kalorili diyetlerle beslenmektedir. Bu model ilk defa 1949 yılında yarı-sıvı yüksek lezzetli bir diyetle beslenen sıçanlarda denenmiştir. 1953 yılında anne sütünden ayrılmış fareler, yem içeriğinin % 50'si yağ olarak beslenmiş ve ilk kez beslenme indüklü obez hayvan modeli yapılmıştır (114). Bir diğer model olan kısıtlı diyet modelinde, hayvanların fiziksel aktiviteye erişimi kısıtlanmış veya yüksek kalorili yiyeceklere sınırsız erişim sağlanarak obezite oluşturulmuştur. Genetik tip obezite modelinde ise genetiği değiştirilmiş hayvanlar (ör. leptin eksikliği olan ob/ob sıçanları) obezite mekanizmalarını incelemek için kullanılmaktadır (115). Obezite modelinde hayvan seçiminde fare ve sıçanların öne çıkmasının nedenleri arasında insanlar gibi omnivor olmaları, geniş tat algısı ile benzer sinir ve sindirim sitemlerine sahip olmaları gibi nedenler sayılabilmektedir. Çalışma için seçilen modelde obezite takibi için ilk ve temel olarak kilo artışı takibi düzenli olarak ölçülmekte ve vücut ağırlığı birincil parametre olarak kabul edilmektedir. Hayvanların yağ kütlesinin çift enerjili X-ışını absorbsiyometri veya manyetik rezonans görüntüleme ölçümleri ile yağ-yağsız kütle oranı hesaplanarak vücut bileşimi hesaba katılmaktadır. Obezite modellerinde standart olarak analiz edilen insülin, kolesterol ve trigliserit gibi metabolik parametreler kan testleri ile incelenebilmektedir. Modelin bir diğer doğrulama tekniği de gıda alım ve hareket-etkinlik takibi ile olabilmektedir (116).

YYD hayvan besleme modellerinde, normal diyet yemi içeriğine göre yağ içeriği çoğunlukla doymuş yağlar (Hindistan cevizi yağı gibi), tekli doymamış yağlar (zeytinyağı gibi) ve çoklu doymamış yağlar (ayçiçeği yağı gibi) % 30 ile % 60 oranında daha yüksek olan yemler tercih edilmektedir (117). Yüksek yağlı diyetler, hayvanlarda hızla kilo alımına neden olabilmektedir ve metabolik sendrom belirtilerini tetikleyebilmektedir. Bu sendrom genellikle obezite, insülin direnci, dislipidemi (anormal kan lipid seviyeleri), hipertansiyon ve karaciğer yağlanması gibi durumları içermektedir.

3. MATERYAL VE METOT

Bu tez çalışması İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nde (İNÜTF-DEHÜM) ve İnönü Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirildi. Bu çalışmada tüm uygulamalar İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanan (19/ 10/ 2020 tarihli ve 2020/14-2 protokol no'lu karar) etik kurul protokolüne uygun şekilde yapıldı.

3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Kurkumin (Sigma), Üretan (Etil Karbamat, TCI), Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA, Sigma-Aldrich), Ksantin (Sigma), Ksantin oksidaz (5UN-Sigma), Nitrotetrazolium Blue Klor (Sigma), Sığır Serum Albümin (Sigma), Trikloroasetik asit (AppliChem), N-Butanol (Fluka), Potasyum Klorür (KCl, Merck), Sodyum Klorür (NaCl, Sigma), 2-Tıyobarbütirik Asit (Sigma), 5,5'-ditiyobis-2 nitrobenzoik asit (DTNB, Sigma), Sodyum Dihidrojen Fosfat (NaH_2PO_4. H_2O, Riedel-de-Haen), Disodyum Hidrojen Fosfat (Na_2HPO_4. $7H_2O$, Riedelde-Haen), Fosforik Asit (H_3PO_4, %85'lik, Riedel-de-Haen), 1,1,3,3, Tetramethoksipropan (Sigma-Aldrich), sodyum hidroksit (NaOH, Sigma-Aldrich), tri sodyum sitrat (Sigma-Aldrich), potasyum dihidrojen fosfat (KH2PO4, Sigma-Aldrich), Dipotasyum Hidrojen Fosfat (K_2HPO_4, Sigma-Aldrich), Hidrojen Peroksit (H_2O_2, Sigma-Aldrich) Na-K-tartarat (Sigma-Aldrich), bakır sülfat ($CuSO_4$, Sigma), Etidyum bromid (EtBr, Fisher Scientific), Agaroz (Sigma), Sodyum Sitrat Tri-bazik Dihidrat (Sigma), Sodyum Asetat (Sigma), Guanidin Tiyosiyanat (Sigma), Hidroklorik Asit (HCl, Sigma), IL-6 ve IL-1β ELİSA analizleri ELK Biotechnology, TRPM2 ELİSA analizi Sunlong Biotech, CRP, insülin ve TNFα ELİSA analizleri Elabscience firmalarından temin edilmiştir. RNA saflaştırma kitleri, cDNA sentez kiti, qPZT için gerekli master mix ve primerler Qiagen firmasından tedarik edildi.

3.2. Kullanılan Alet ve Gereçler

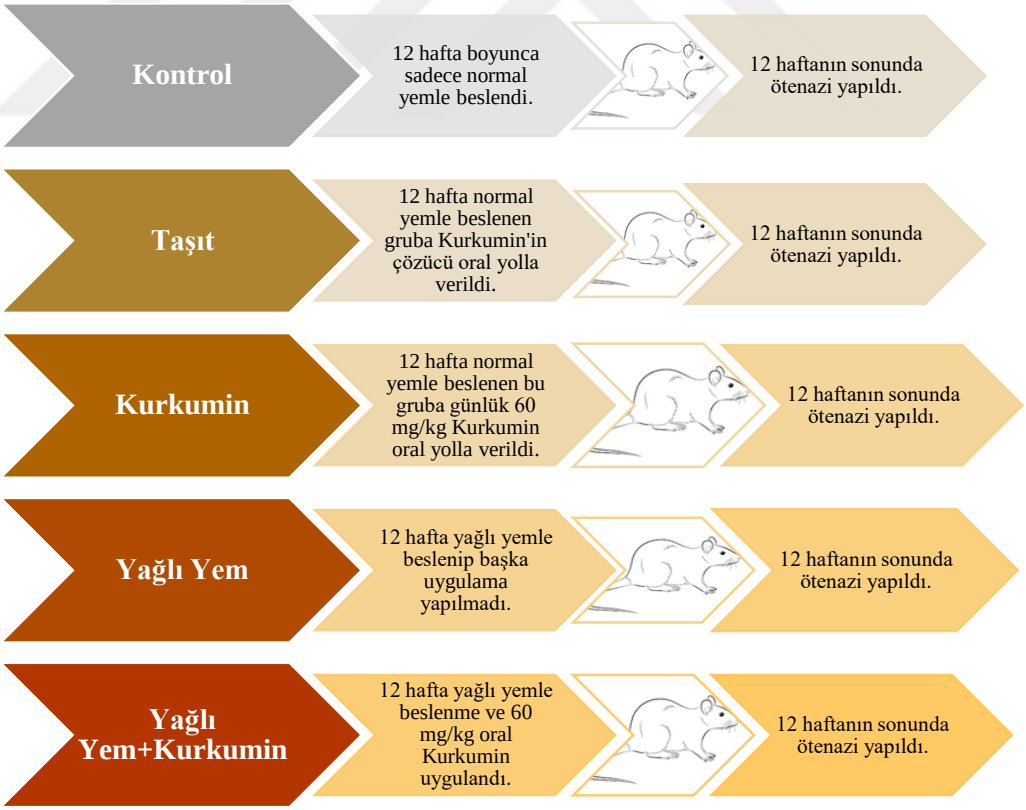
Hemodinami ve EKG analizlerinde BIOPAC MP-100 cihazı (BIOPAC Systems, Inc., Santa Barbara, CA), şeker ölçümünde Contour Plus marka glikometre cihazı, gerçek zamanlı qPZT analizlerinde Roche marka LC96 model gerçek zamanlı qPZT cihazı, tartımlarda Denver Instrument marka terazi, Ohaus marka hassas terazi, Biorad marka

elektroforez güç kaynağı, Retsch marka MM400 model bilyeli parçalama sistemi, Mettler Toledo marka EL20 model pH metre, Hettich-zetrifugen marka 200 model soğutmalı masaüstü santrifüj cihazı, Hermle marka Z216MK model mikro santrifüj, EpochBiotek marka spektrofotometre cihazı, Heidolph marka vorteks, Heidolph marka manyetik karıştırıcı, Scotsmann marka buz makinesi, Leica marka mikrotom ve mikroskop kullanıldı.

3.3. Grupların ve Beslenme Modelinin Oluşturulması

İNÜ-DEHÜM tarafından temin edilen 60 adet erkek *Sprague Dawley* soyundan sıçan, anne sütünden ayrıldığından itibaren (21 günlük-3 hafta) beslenme modeli için tekli kafeslere alındı. Hayvanlar, yapılan güç analizine göre tip I hata miktarı (alfa) 0.05, testin gücü (1-beta) 0.8 olduğundan her grupta en az 12 hayvan olmak üzere toplamda 60 hayvandan oluşan 5 deney grubu rastgele atama yöntemiyle aşağıdaki gibi ayrıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Deney grupları ve şeması.



1. **Kontrol grubu:** Bu gruptaki sıçanlar 12 hafta boyunca normal yem ile beslendi ve herhangi bir uygulama yapılmadı.
2. **Taşıt grubu:** Bu gruptaki sıçanlar 12 hafta boyunca normal yem ile beslendi ve sıçanlara deney süresince Kurkumin'in çözücüsü olan mısır yağı 1 ml olarak oral yolla uygulandı.
3. **Kurkumin (Kur) grubu:** Bu gruptaki sıçanlar 12 hafta boyunca normal yem ile beslendi ve sıçanlara 12 hafta boyunca 60 mg/kg vücut ağırlığında (v.a) gavaj yoluyla mısır yağında çözülen Kurkumin uygulaması yapıldı.
4. **Yağlı Yem (YY) grubu:** Bu gruptaki sıçanlara 12 hafta boyunca yüksek yağlı yem verildi.
5. **Yağlı Yem + Kurkumin (YY + Kur) grubu:** Bu gruptaki sıçanlara 12 hafta boyunca hem yağlı yem hem de 60 mg/kg v.a Kurkumin oral yolla verildi.

Tüm sıçanlar, tüketim yarışı ve verilerin doğru olması adına bireysel olarak tekli kafeslerde 12 hafta boyunca günlük tükettikleri yem ve ağırlık ölçümü yapılarak takip edildi. Deney süresince sıçanlar sıcaklığın 21 ^{o}C ve ortam neminin % 55-60 olduğu, 12 saat aydınlık-karanlık uygulanan odalarda, *ad libitum* olarak normal musluk suyu ve besin sağlanarak aynı bakım şartları altında tutuldu. Kontrol diyeti standart laboratuvar sıçan yeminden (chow) oluşturuldu (ARDEN Araştırma & Deney, Ankara). Kullanılan standart yemin metabolize edilebilir enerjisi 2.6 kkal/gr'dı. Yüksek yağlı yem; standart yemin % 60 oranında palm yağı içerdiği şekilde hazırlandı (ARDEN Araştırma & Deney, Ankara). Standart yem ve yüksek yağlı yem içerik bilgileri Tablo 3.2'de verildi. Beslenme süresi boyunca her hafta sıçanların kuyruk kanlarından glikometre cihazı (Contour, Bayer Ascensia) ve tek kullanımlık uçları ile kan glukoz ölçümleri yapıldı.

Tablo 3.2. Standart ve yüksek yağlı yem içerikleri.

Enerji ve Besin Ögesi	**Standart Yem**		**Yüksek Yağlı Yem**	
	% gr	% kkal	% gr	% kkal
Protein	54.1	59.6	26.2	20
Karbonhidrat	20.0	30.8	26.3	20
Yağ	2.7	9.3	34.9	60
Toplam enerji (kkal/gr)	2.6		5.24	

Obezitenin belirlenmesinde Lee indeksi kullanıldı. 12 haftanın sonunda sıçanların nazo-anal uzunlukları ve ağırlıkları kullanılarak her bir hayvanın Lee indeksi hesaplandı (118).

Lee indeksi formülü:

$$\text{Lee İndeksi } \left(\frac{\text{gr}}{\text{cm3}}\right) = \frac{\sqrt[3]{V\text{ücut ağırlığı } (gr)}}{\text{Nazo} - \text{anal uzunluk (cm)}}$$

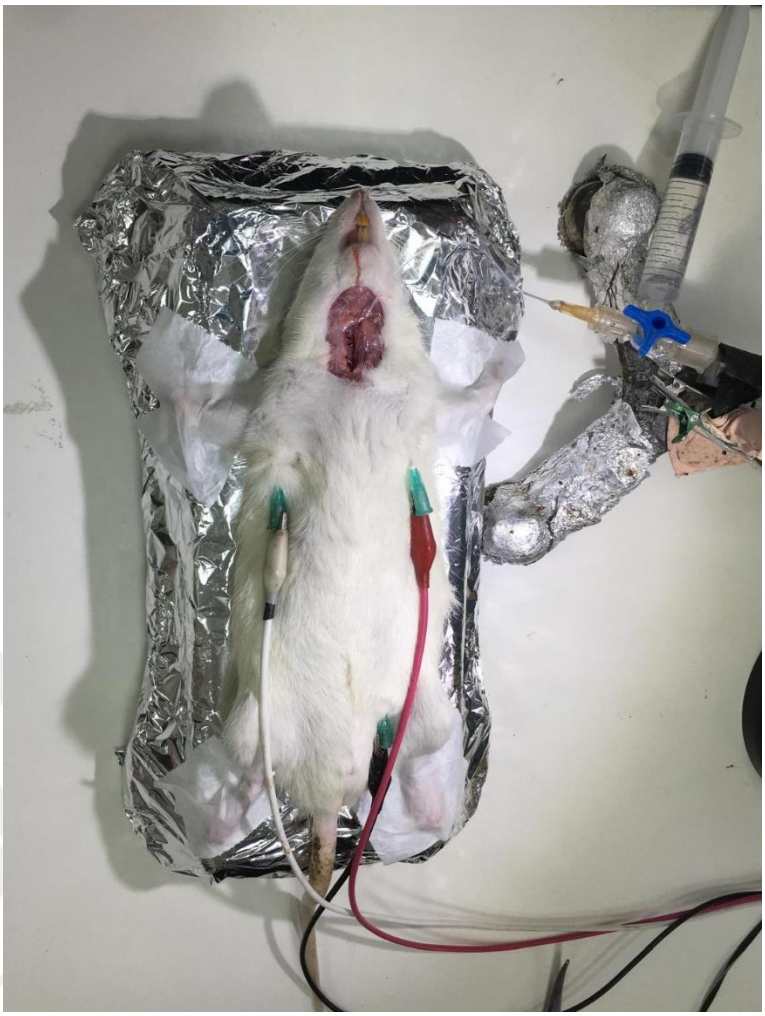
Sıçanların hemodinami analizlerinin ardından ötenazi yapılarak dokular alındı.

3.4. Kurkumin Hazırlanışı

Kurkumin, 1 ml mısır yağı içinde en az 5 dakika vortekslenerek iyice çözüldü ve günlük olarak hazırlandı. Sıçanların günlük tartımıyla ağırlık oranlarına göre belirlenen miktarı oral gavaj yöntemiyle uygulandı (119).

3.5. Hemodinami, Elektokardiyogram ve Elektrofizyolojik Analizler

Sıçanlar 1.2 gr / kg v.a üretan (etil karbamat) ile anestezi altına alındıktan sonra sol karotid arterleri dikkatlice kanüle edilerek 3 elektrotlu EKG ile hemodinamik parametreler olarak sistolik, diyastolik, ortalama kan basıncı ve EKG patolojileri ölçüldü (Şekil 3.1). Lambeth Convention kriterlerine göre hem aritmi çeşitliliği hem de PR, QRS ve QT süreleri hesaplandı. Deney protokolü tamamlandıktan sonra vena kava inferiordan kan örnekleri ve diğer analizler için doku örnekleri alındı.



Şekil 3.1. EKG ölçümü için kanüle edilen sıçan

3.6. Biyokimyasal Analizler

Hayvanlardan toplanan kan örnekleri 10 ml'lik kan ayırma tüplerine alınıp santrifüj edildi ve serumun ayrılması sağlandı. Elde edilen serum örnekleri mikro santrifüj tüplerine ayrılarak analiz edilinceye kadar -80 ^{o}C'de saklandı. Serum örneklerinin bir kısmından İnönü Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'nda Beckmann Coulter AU5800 cihazı ile glukoz, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), total protein, albümin, üre, kreatinin, trigliserid, kolesterol, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) analizleri yapıldı.

3.6.1. Malondialdehit Analizi (MDA)

Sıçan karaciğer doku örnekleri Mihara ve Uchiyama'nın yöntemine göre çalışıldı (120). Doku örnekleri % 1.15 KCl çözeltisi ile %10 konsantrasyonda olacak şekilde 15000 devir/dakika homojenizatör kullanılarak 1 dakika süresince buz üzerinde parçalandı. Homojenat örnekleri doğrudan analiz için kullanıldı.

Tablo 3.3. MDA analiz reaksiyon tablosu.

Reaktifler	**Miktar**
Homojenat	250 µl
%1 Fosforik Asit	1500 µl
% 0.6 (Tiyobarbütirik Asit) TBA	500 µl

Tablo 3.3'te belirtilen oranlara göre cam tüplerde hazırlanan karışımlar vortekslendikten sonra en az 95 derecede 1 saat suda bırakıldı. Süre sonunda soğutulan tüplere 2 ml n-butanol eklendi, sonra en az 5 dakika kuvvetlice vortekslendi. Örnek tüpleri 1500 x g hızında faz ayrımını sağlamak amacıyla en az 20 dakika santrifüj edildi. Renkli faz kısımların absorbans değerleri sprektrofotometrik olarak 520 ve 535 nm dalga boyunda okundu ve 1,1',3,3' tetrametoksipropan ile hazırlanmış standart grafiğinden MDA konsantrasyonları değerlendirildi ve nmol/gram yaş doku (g.y.d) olarak sonuç hesaplandı.

3.6.2. Bakır-Çinko Süperoksit Dismutaz Analizi (Cu-Zn SOD)

Karaciğer doku örneklerindeki SOD aktivitesi Sun ve arkadaşlarının metoduna göre analiz edildi (121). Doku örnekleri distile su ile %10 konsantrasyonda olacak şekilde 15000 devir/dakika homojenizatör kullanılarak 1 dakika süresince buz üzerinde parçalandı. Mikrosantrifüj tüplerine alınan homojenatlar 8000 x g hızında 20 dakika boyunca santrifüj edildi. Elde edilen süpernatan üzerine 3:5 oranında hazırlanan kloroform/etanol karışımından 1:1 oranında eklendi ve bu karışım 1500 x g hızında 20 dakika santrifüj edildi. En üstte oluşan berrak kloroform fazından alınan örnekler CuZn-SOD analizi için kullanıldı.

Tablo 3.4. SOD analiz reaksiyon tablosu.

Reaktifler	**Örnek**	**Kör**
Analiz reaktifi (0.3 mM/L ksantin, 0.6 mM/L Na_2EDTA, 150 µmol/L NBT, 400 mmol/L Na_2CO_3, 1 g/L BSA)	2.45 ml	2.45 ml
Süpernatan	0.5 ml	-
Distile Su	0.5 ml	-
Ksantin Oksidaz (167 Ü/L)	0.05 ml	0.05 ml

Tablo 3.4'te yer alan tüm reaktifler eklendikten sonra vortekslenip oda sıcaklığında, karanlıkta 20 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüplere 1 ml $CuCl_2$ (0.8 mmol/L) eklenerek reaksiyon durduruldu. Spektrofotometrede distile su ile sıfırlama yapıldıktan sonra 560 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü ve enzim aktivitesi U/gr protein olarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{\text{Absorbans (kör)} - \text{Absorbans (numune)}}{\text{Absorbans (kör)}} \text{ x } 100$$

$$\text{Ü / ml SOD} = \frac{\% \text{ inhibisyon}}{\% \text{ 50 inhibisyon}}$$

3.6.3. Redükte Glutatyon Analizi (GSH)

Sıçan karaciğer doku örneklerinden glutatyon tayini Ellman'ın yöntemine göre analiz edildi (122). Doku örnekleri distile su ile %10 konsantrasyonda olacak şekilde mekanik olarak 15000 devir/dakika homojenizatör kullanılarak 1 dakika süresince buz üzerinde parçalandı. Homojenatlar mikro santrifüj tüplerinde 1500 x g hızı 4 ^{o}C'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatanlar farklı tüplerde 1:1 oranında %10 trikloroasetik asit (TCA) ile karıştırılarak tekrar santrifüj edildi ve elde edilen süpernatanlar GSH analizi için kullanıldı.

Tablo 3.5. GSH analiz reaksiyon tablosu.

Reaktifler	**Örnek**	**Kör**
%10'luk Homojenat	500 µl	-
0.3 M Na_2HPO_4	4 ml	4 ml
5,5-ditiyo-bis-(2-nitrobenzoik asit)-DTNB (4 mg DTNB+10 ml %1'lik trisodyum sitrat)	500 µl	500 µl
Distile Su	-	500 µl

Tablo 3.5'te verilen GSH reaktif karışımlarına örnekler ve aynı miktarda DTNB eklendikten sonra vortekslenip oda sıcaklığında, karanlıkta 5-10 dakika inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan glutatyon standart grafiği ile 410 nm'de okunan absorbans değerleri karşılaştırıldı ve sonuçlar µmol/gram yaş doku (µmol/gyd) olarak verildi.

3.6.4. Katalaz (CAT) Analizi

Karaciğer doku örneklerindeki CAT aktivitesi Luck'un metoduna göre analiz edildi (123). Doku örnekleri distile su ile %10 konsantrasyon olacak şekilde mekanik olarak 15000 devir/dakika homojenizatör kullanılarak 1 dakika süresince buz üzerinde parçalandı. Mikrosantrifüj tüplerine alınan homojenatlar 8000 x g hızında 20 dakika boyunca santrifüj edildi.

Tablo 3.6. Katalaz analiz reaksiyon tablosu.

Reaktifler	**Örnek**	**Kör**
Fosfat Tamponu (50 mM, ph: 7.0)	-	2.99 ml
H_2O_2'li Fosfat Tamponu	2.99 ml	0.01 ml
Süpernatant	0.01 ml	-

Spektrofotometre kinetik okuma için 240 nm dalga boyuna ayarlanıp kör ile sıfırlandı ve örnekler eklendikten sonra absorbans ölçümleri 15 saniyede bir olacak

şekilde 90 saniye boyunca ölçüldü. Azalan absorbans değerleri kaydedildi ve doğrusal azalma aralığı değerlendirilerek enzim aktivitesi K / gr protein olarak aşağıda verilen formül ile hesaplandı.

$$K = \frac{2.3 x \log(\text{İlk absorbans}/\text{Son absorbans})}{\Delta t\ (\text{ölçüm süresi, sn})} \text{ x sulandırma faktörü}$$

$$\text{K / gr protein} = \frac{K}{gr/ml}$$

K = katalaz aktivite sabitesi

3.6.5. Protein Tayini

Örneklerde bulunan protein miktar hesabı standart olarak sığır serum albümin kullanılan Biüret yöntemi ile hesaplandı (124).

3.6.6. ELISA Analizleri

Hayvanlardan alınan kan dokuya ait serumların diğer bir kısmı ELISA analizi için kullanıldı. Serum örneklerinden C-Reaktif protein (CRP- Elabscience, Lot: 61FW7UWEUK), insülin (Elabscience, Lot: Q97CJ96G2U) ve tümör nekroz faktör alfa (TNFα, Elabscience, Lot: YCYRDT3Z9Y) protokole uygun bir şekilde çalışıldı.

ELISA plate kuyucuklarına serum örneklerinden 100 µl numune eklendi ve 37 °C'de 90 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası kuyucuklar pipetle tamamen temizlendi, hızlı bir şekilde kitte bulunan Biotinli Antikor tespit solüsyonundan (Biotinylated Detection Ab working solution) 100 µl eklendi, plate tekrar 1 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. Bu işlemlerden sonra tüm kuyucuklar aspire edildi ve her kuyucuğa 350 µl kitte hazır bulunan yıkama solüsyonu (Wash Buffer) eklendi ve daha sonra solüsyon aspire edildi. Bu yıkama işlemi 3 kez tekrar edildi, sonra kuyucuklara 100 µl HRP bağlı çalışma solüsyonu (HRP Conjugate Work Solution) eklenip plate 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha önceki yıkama işlemi ile aynı olacak şekilde 5 kez daha yıkama yapıldı. Daha sonra kuyucuklara 90 µl ayraç solüsyonu (Substrate Reagent) eklenip tekrar 37 °C'de 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Son olarak kuyucuklara 50 µl reaksiyon durdurma solüsyonu (Stop Solution) eklendi ve 450 nm'de spektrofotometre cihazında ölçüm alındı.

Hayvanlardan elde edilen karaciğer dokularının bir kısmından ELISA yöntemi ile interlökin-6 (IL-6, ELK Biotechnology, Lot: 17561106), interlökin 1 beta (IL-1β, ELK Biotechnology, Lot: 17561270) ve Transient Receptor Potential Melastatin-2 (TRPM2, Sunlong Biotech, Lot: 20240520) kit protokollerine uygun olarak protein analizleri yapıldı. Doku örnekleri % 10'luk fosfat-salin tamponu (PBS) içinde buz üzerinde homojenize edildikten sonra 1000 x g hızında 20 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatantlar çalışma öncesi 1/5 oranında kit içinde bulunan su ile dilüe edildi ve TRPM2 kuyucuklarına 50 µl, IL-6 ve IL-1β kuyucuklarına 100'er µl eklendi. Kit protokollerine göre numuneler sırasıyla 30 dakika ve 80 dakika 37°C'de inkübasyona bırakıldı ve ardından yıkama protokolü uygulandı. Sırasıyla HRP-bağlı ve Biotinli antikor solüsyonu eklenip 30 dakika ve 50 dakika 37 °C'de inkübasyona bırakıldı ve ardından yıkama protokolü uygulandı. İnterlökin kitleri için yıkama sonrası Streptavidinli solüsyon eklendikten sonra 50 dakika 37 °C'de inkübasyon tekrarlandı. Sırasıyla kromojen solüsyonlar eklendikten sonra tekrar 37 °C'de inkübasyon 30 dakikayı geçmeyecek şekilde tekrarlandı ve süre sonunda durdurma (stop) solüsyonu eklenerek oluşan sarı renk 450 nm'de spektrofotometrede ölçüldü.

Standart solüsyonlardan elde edilen ölçümler ile analiz sonuçlarında örneklerde bulunan protein miktarları hesaplandı.

3.7. Moleküler Genetik Analizler

3.7.1. RNA Saflaştırılması

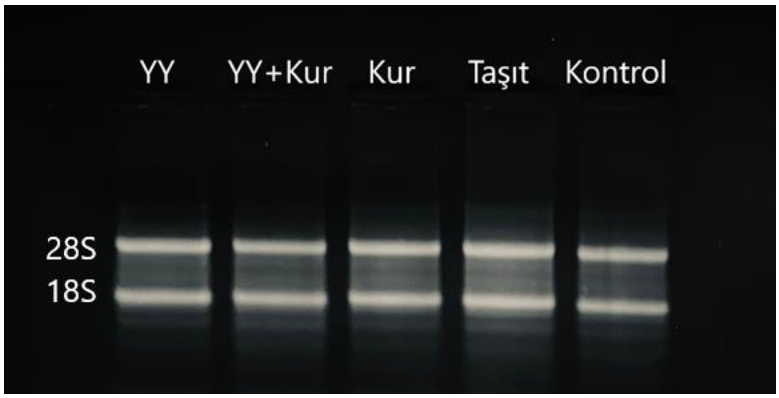
Dokulardan RNA saflaştırılması Qiagen izolasyon kitleri (RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit, AllPrep RNA FFPE Kit, Lot: 172038092) protokolüne göre gerçekleştirildi. Elde edilen karaciğer doku örnekleri % 10 homojenat olacak şekilde RLT solüsyonu içinde toplam 1 dakika boyunca 30 Hz hız ile bilyeli parçalayıcıda (Retsch MM 400, Almanya) homojenize edildi Elde edilen homojenatlar 3 dakika 15000 x g hızında santrifüj edildi ve sonrasında süpernatanlar farklı tüplere aktarıldı. Numuneler 1:1 oranında % 70 etanol ile karıştırıldı, spin-kolon tüplerine alındı. Spin-kolon tüpleri 8000 x g'de 15 saniye (sn) santrifüj edildikten sonra kolonda biriken sıvı döküldü kalan örnek için bu işlem tekrarlandı. Bu aşamada DNA kontaminasyonunu önlemek amacıyla DNaz solüsyonu filtre üzerine eklenip 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Filtreli tüpe 700 µl RW1 solüsyonu eklenip 8000 x g hızında 15 saniye santrifüj edildi ve kolonda biriken sıvı atıldı. Daha sonra filtreli tüpe 500 µl RPE solüsyonu eklenip 8000 x g hızında 15 saniye

santrifüj edildi ve kolonda biriken sıvı atıldı. Tekrar filtreli tüpe 500 µl RPE solüsyonu eklenip 8000 x g hızında 2 dakika santrifüj edildi ve kolonda biriken sıvı atıldı. Filtreli tüpler steril RNaz-DNaz temiz mikro santrifüj tüplerine alınarak üzerine 30-50 µl RNaz-DNaz temiz su eklenip 8000 x g hızında 1 dakika santrifüj edildi. Tüplerde toplanan sıvılardaki RNA miktarları spektrofotometrik olarak Biotek-Gen5 programında ng/µl olarak ölçüldü (Tablo 3.7) ve % 1 agaroz jelinde koşturularak elde edilen RNA saflığı kontrol edildi (Şekil 3.2).

Tablo 3.7. Doku örneklerinden elde edilen toplam RNA ölçüm sonuçları.

Örnek no	Karaciğer doku toplam RNA (ng/µl)	260/280 Oranı
1	621.61	2.03
2	1231.75	2.04
3	873.04	2.03
4	2000.11	2.02
5	1315.41	2.04
6	1287.58	2.04
7	1101.71	2.04
8	1470.17	2.05
9	975.36	2.03
10	1663.29	2.04
11	1688.34	2.03
12	1374.59	2.04
13	2788.12	1.82
14	1009.34	2.03
15	2543.34	1.97
16	1641.43	2.03
17	1576.89	2.04
18	2006.35	2.02
19	2390.13	2.00
20	1214.75	2.04
21	1738.33	2.04
22	1746.50	2.04
23	794.89	2.03
24	884.02	2.04
25	1162.45	2.05
26	1026.88	2.02
27	1090.63	2.01
28	1130.39	2.04
29	1105.24	2.03

30	1167.71	2.04
31	2227.23	2.01
32	1214.28	2.03
33	2310.55	2.01
34	1619.98	2.03
35	895.11	2.06
36	703.13	2.05
37	993.43	2.07
38	435.43	2.04
39	793.20	2.06
40	1582.34	2.06
41	656.23	2.05
42	585.03	2.06
43	638.23	2.04
44	1018.64	2.03
45	463.86	2.04
46	1104.49	2.07
47	1381.88	2.03
48	1105.49	2.02
49	692.20	2.02
50	1610.72	201
51	1890.45	2.02
52	1166.17	2.02
53	2126.49	2.01
54	1506.70	2.04
55	1297.12	2.04
56	1540.57	2.02
57	2173.81	2.00
58	1652.26	2.02
59	2077.26	2.00
60	1264.76	2.02



Şekil 3.2. Gruplara ait toplam RNA % 1 agaroz jel görüntüsü

3.7.2. cDNA Sentezi

Karaciğer doku örneklerinden saflaştırılan toplam RNA'dan 1000 ng miktarlar kullanılarak Qiagen- Quantitect Reverse Transcription Kit (Lot: 175027255) protokolüne uygun olarak cDNA sentezi gerçekleştirildi. Örnek başına 2 µl cDNA Wipeout buffer eklendikten sonra belirlenen konsatrasyonlara göre her bir örnek için RNA ve saf su ile hacim 14 µl olarak tamamlandı. Örnekler 2 dakika boyunca 42 ^{o}C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası her bir tüpe 1 µl Quantiscript Reverse Transcriptase, 4 µl Quantiscript RT Buffer ve 1 µl RT Primer Mix eklenerek toplam hacim 20 µl'ye tamamlandı ve numuneler 15 dakika boyunca 42 ^{o}C ve 3 dakika boyunca 95 ^{o}C'de inkübe edildi. Elde edilen cDNA örnekleri analize kadar -80 ^{o}C'de saklandı.

3.7.3. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Tepkimesi (RT-qPZT) Analizi

TRPM2 ve *β-aktin* cDNA örnekleri kullanılarak Roche Light Cycler 96 RT-qPZT cihazında Qiagen marka RT^{2} SYBR Green pPCR Master Mix kiti (Lot: 77502015) ile gen ifadelerine bakıldı. Kit protokolüne göre her bir reaksiyon için 12.5 µl SYBR Green master mix, 1 µl cDNA, 1 µl primer ve 10.5 µl saf su ile toplamda 25 µl PZT karışımı hazırlandı. 10 dakika 95 ^{o}C'de denaturasyonun ardından, 15 saniye 95 ^{o}C ve 1 dakika 60 ^{o}C döngüsü ile 45 döngü olarak çoğaltım sağlandı. Her örneğin cDNA'sı *β-aktin* ve *TRPM2* genlerine özgü primerler ile çoğaltılarak, sonuçlar *β-aktin* genine oranlandı ve Livak'ın 2-$^{\Delta\Delta}$CT metodu ile gen ifadesi hesaplandı (125). Çoğaltılan genlere ait primer bilgileri aşağıdaki tabloda verildi (Tablo 3.8).

Tablo 3.8. Primer bilgileri. İleri primer (F), geri primer (R).

Gen Adı	Primer dizileri	Ref. Sekans Number	Ürün büyüklüğü (bç)
β-aktin	F:5'GCTCCTAGCACCATGAAGAT 3' R:5'GATCAGCAAGCAGGAGTACG 3'	NM_031144.3	127
TRPM2	F: 5' AGGAACACGGACAATGCCTG 3' R: 5' GAAGTCGAGGTGTAGTAAGA 3'	NM_001011559.1	77

3.8. Histopatolojik Analizler

Deneysel uygulamalar sonrasında sıçanların nekropsileri gerçekleştirilerek karaciğer, böbrek, kalp, kas ve yağ dokularından elde edilen örnekleri % 10'luk PBS tamponlu formalin içerisine alındılar. Rutin işlemlerin ardından hazırlanan doku parafin bloklarından 5 μm kalınlığında alınan kesitler hematoksilen-eozin (H-E) ile boyanarak mikroskopta değerlendirildi.

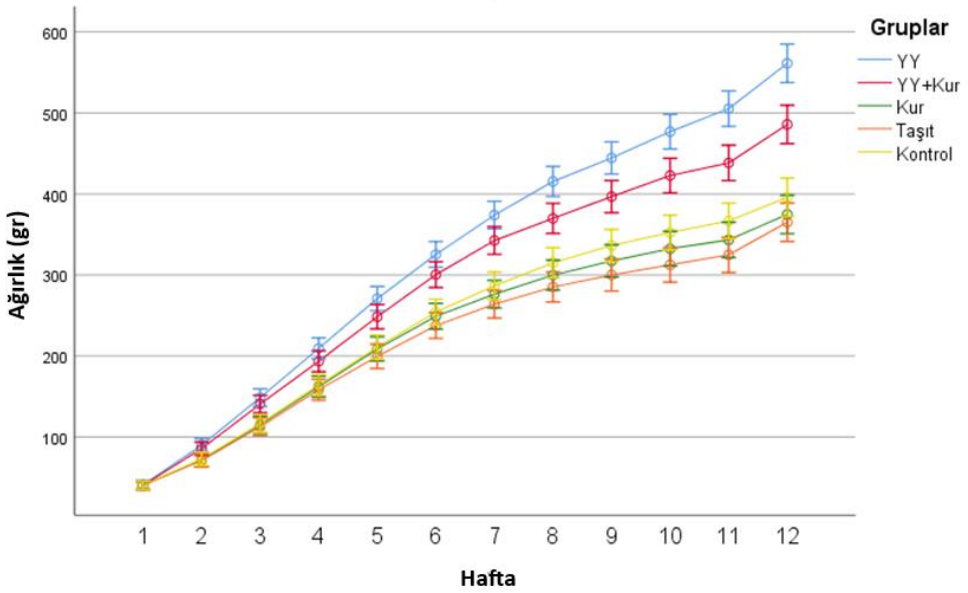
3.9. İstatistiksel Analizler

Verilerin analizlerinde IBM SPSS Versiyon 26.0 İstatistik programı ile MedCalc Versiyon 23.0.9 İstatistik programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro Wilk testiyle varyans homojenliği Levene testi ile incelendi. Dağılımların parametrik ve non parametrik olma durumlarına göre sırasıyla, istatistik analizlerde ANOVA, tek yönlü varyans analizi ile Tuksey HSD ya da Tamhane post hoc testleri ve Kruskal Wallis ile Conover post hoc testleri uygun olan yerlerde kullanıldı. Hayvanların vücut ve tükettikleri yem ağırlıkları ile kan şekeri ölçüm ve Lee indeksi sonuçları ANOVA, Tukey HSD post hoc testleri ile analiz edildi. Organ ağırlıkları verilerinin analizinde karaciğer için Tukey HSD, kalp ve böbrek için Tamhane post hoc testleri yapıldı. EKG ölçüm sonuçları, serum biyokimya parametreleri, MDA ve GSH seviyeleri ile SOD ve CAT aktivitelerinin gruplar arası karşılaştırılmasında parametrik dağılım gösteren veriler için ANOVA, tek yönlü varyans analizi ile Tukey HSD post hoc testi yapılırken, non parametrik veriler için Kruskal Wallis, Conover post hoc test yapıldı. ELISA sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılmasında ANOVA testi sonrası TRPM2, IL-6, IL-1β ve TNFα için Tamhane post hoc testi, CRP, insülin, *TRPM2 / β-aktin* gen ifadesi analizeri için Tukey HSD post hoc testleri kullanıldı. Normal dağılım gösteren veriler ortalama ($\bar{x}$) ± standart sapma (ss), normal dağılım göstermeyen veriler ise ortanca (min-maks) olarak gösterildi. $P < 0.05$ değeri istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hayvan Ağırlıkları ve Tüketilen Yem Miktarları

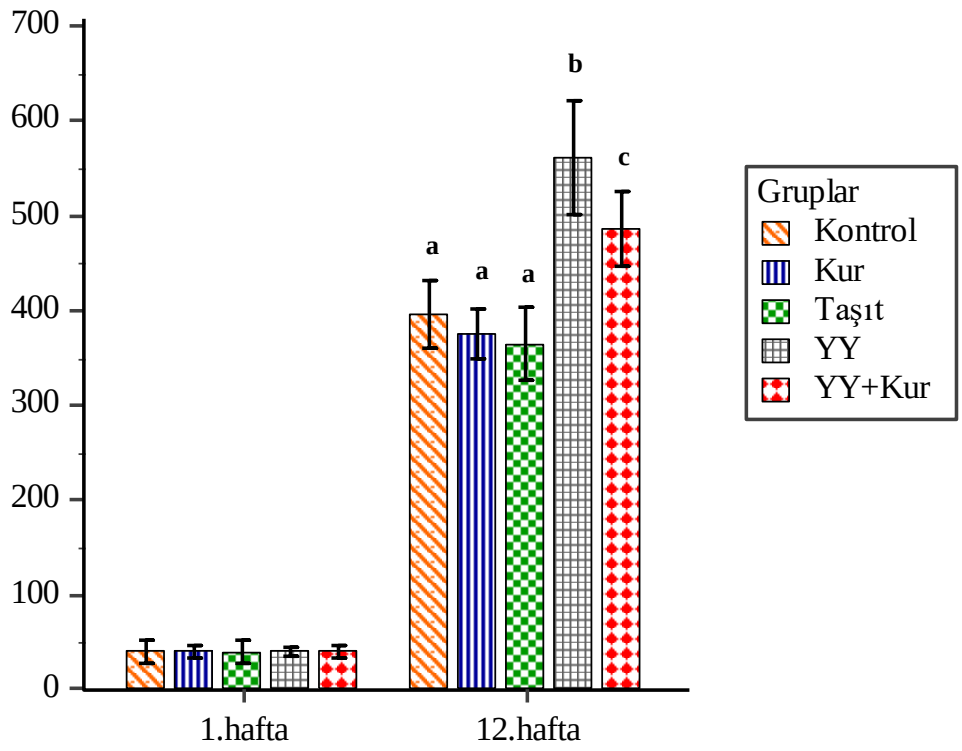
Tekli kafeslerde barınan hayvanların kilo ölçümleri günlük olarak yapıldı ve haftalık ağırlık ortalama değerleri 12 hafta için karşılaştırıldı (Tablo 4. 1). İlk hafta alınan ağırlık ölçümlerinde gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi ($P > 0.05$), 2. haftadan itibaren YY grubu hayvanların ağırlığı ile diğer gruplara göre istatistiki olarak anlamlı bir artış gösterdi *($P < 0.05$).* 3. haftadan itibaren 11. haftaya kadar YY grubu ile birlikte YY + Kur grubu hayvanların vücut ağırlığının diğer gruplardan daha yüksek olduğu tespit edildi *($P < 0.05$).* 11 ve 12. haftalarda YY grubu hayvanların vücut ağırlığındaki artış, YY + Kur grubuna kıyasla daha yüksek bulundu ($P < 0.05$). Grupların ağırlıklarına ait ortalama değişim ve karşılaştırmaları grafik üzerinde görülmektedir (Şekil 4.1).



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). (Hata çubukları; % 95 güven aralığını ifade etmektedir).

Şekil 4.1. Gruplara ait haftalık vücut ağırlığı değişim grafiği.

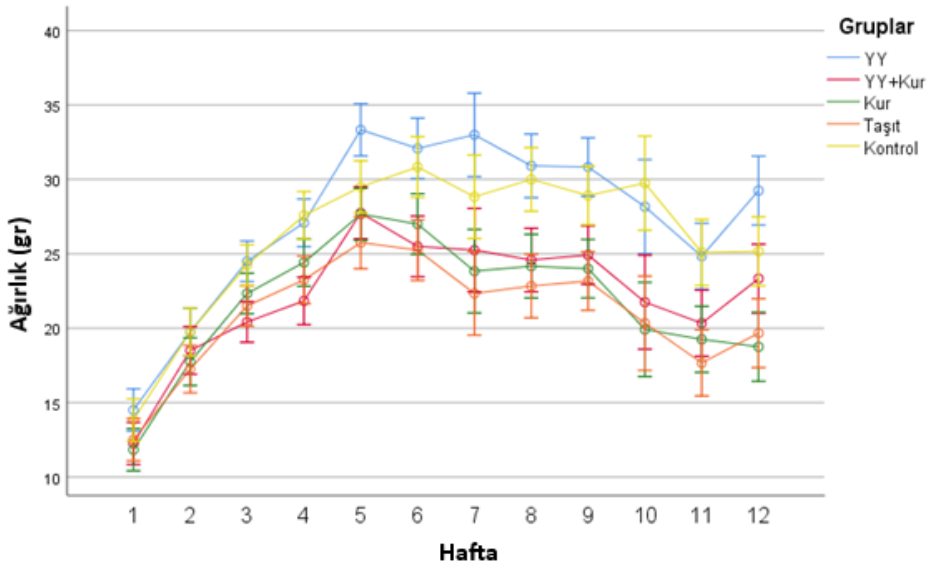
Grupların 1. ve 12. hafta vücut ağırlıkları karşılaştırıldıklarında 12. hafta YY grubu hayvanların vücut ağırlıklarının diğer tüm gruplardan daha yüksek olduğu tespit edildi *($P < 0.05$).* 12. hafta YY + Kur grubu hayvanların vücut ağırlığı YY grubu hayvanların vücut ağırlığından daha düşük idi *($P < 0.05$)* (Şekil 4.2).



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Gruplar arası farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P < 0.05)*. (ANOVA, Tukey HSD post hoc testi yapıldı).

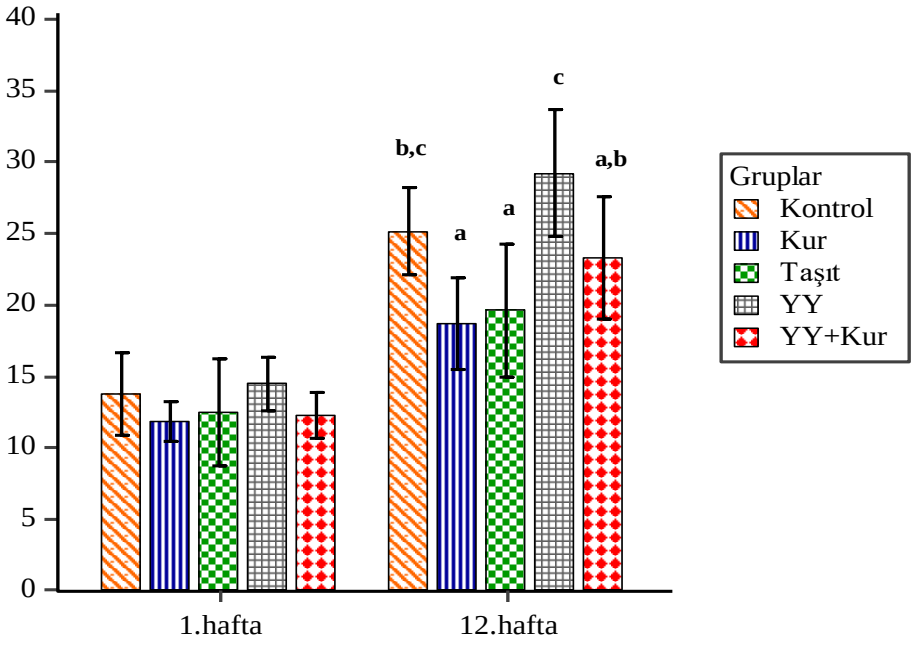
Şekil 4.2. Grupların 1. ve 12. hafta vücut ağırlıkları karşılaştırmaları.

Hayvanların tükettiği standart ve yağlı yemler günlük olarak ölçüldü, haftalık ortalama değerleri 12 hafta için gruplar arasında karşılaştırıldı (Tablo 4.2 ve Şekil 4.3). Buna göre gruplar arasında, ilk iki hafta yem tüketimi miktarında anlamlı bir fark görülmedi (*P > 0.05),* 3. haftadan itibaren grupların yem tüketim miktarları arasında farklılıklar bulundu. 3. haftadan itibaren YY grubu hayvanların taşıt ve YY + Kur grubuna göre daha yüksek miktarda yem tüketimine sahip olduğu gözlendi *(P < 0.05).* YY grubu hayvanlar 12. haftanın sonuna kadar tüm gruplardan daha yüksek miktarda yem tüketti *(P < 0.05).* 12. hafta kontrol grubu ve YY + Kur grubu yem tüketiminde birbirinden farklı değildi (*P > 0.05)* (Şekil 4.4).



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). (Hata çubukları; % 95 güven aralığını ifade etmektedir).

Şekil 4.3. Gruplara ait haftalık tüketilen yem miktarı değişim grafiği.



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Gruplar arası farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P < 0.05)*. (ANOVA, Tukey B post hoc testi yapıldı).

Şekil 4.4. Grupların 1. ve 12. hafta yem tüketim karşılaştırmaları.

Tablo 4.1. Gruplara ait haftalık vücut ağırlıkları ortalaması (g).

Gruplar (n=12)	Hafta 1	Hafta 2	Hafta 3	Hafta 4	Hafta 5	Hafta 6	Hafta 7	Hafta 8	Hafta 9	Hafta 10	Hafta 11	Hafta 12
Kontrol	41 ± 12	73 ±19	117 ± 26	164 ± 31	211 ± 34	254 ± 33	287 ± 32	315 ± 29	336 ± 30	352 ± 33	367 ± 34	396 ± 35
Taşıt	40 ± 12	71 ± 18	113 ± 22	158 ± 27	200 ± 31	238 ± 33	264 ± 34	285 ± 31	300 ± 34	313 ± 36	325 ± 38	365 ± 38
Kur	40 ±6	72 ±11	115 ± 14	162 ± 19	209 ± 23	249 ± 24	276 ± 23	300 ± 27	317 ± 27	332 ± 26	343 ± 25	375 ± 27
YY	41 ± 4	90 ± 8	149 ± 11	210 ± 15	271 ± 19	325 ± 24	374 ± 32	415 ± 37	444 ± 45	477 ± 50	505 ± 53	561 ± 60
YY+Kur	40 ± 6	86 ± 12	141 ± 15	194 ± 16	249 ±19	300 ± 20	343 ± 23	370 ± 35	397 ± 33	423 ± 36	438 ± 36	486 ± 41

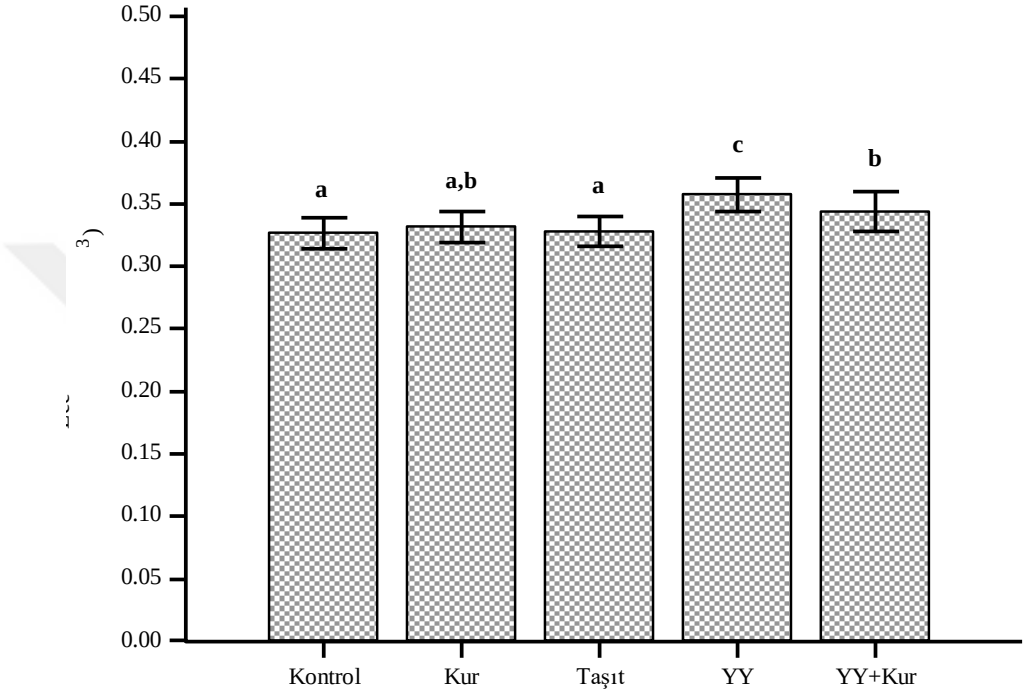
Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Veriler $\bar{x} \pm ss$ olarak gösterildi.

Tablo 4.2. Gruplara ait haftalık yem tüketim miktarları ortalaması (g).

Gruplar (n=12)	Hafta 1	Hafta 2	Hafta 3	Hafta 4	Hafta 5	Hafta 6	Hafta 7	Hafta 8	Hafta 9	Hafta 10	Hafta 11	Hafta 12
Kontrol	20 ± 3	20 ± 4	24 ± 3	28 ± 3	30 ± 3	31 ± 3	29 ± 3	30 ± 3	29 ± 3	30 ± 2	25 ± 3	25 ± 3
Taşıt	13 ± 4	17 ± 3	22 ± 2	23 ± 2	26 ± 3	25 ± 4	22 ± 2	23 ± 3	23 ± 3	20 ± 5	18 ± 4	20 ± 5
Kur	12 ± 1	18 ± 2	22 ± 2	24 ± 3	28 ± 2	27 ± 2	24 ± 2	24 ± 3	24 ± 2	20 ± 7	19 ± 3	19 ± 3
YY	15 ± 2	20 ± 1	25 ± 2	27 ± 3	33 ± 3	32 ± 4	33 ± 3	31 ± 6	31 ± 4	28 ± 5	25 ± 6	29 ± 4
YY+Kur	12 ± 2	19 ± 3	20 ± 2	22 ± 3	28 ± 3	26 ± 4	25 ± 9	25 ± 3	25 ± 4	22 ± 6	20 ± 3	23 ± 5

Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Veriler $\bar{x} \pm ss$ olarak gösterildi.

Sıçanlar için obezite-aşırı kilo ölçümü olarak temel alınan Lee indeksi hayvanların son gün kilo ve nazo-anal boy ölçümleri verilerinin oranlanıp küp kökü alınarak hesaplandı. Buna göre YY grubu hayvanların Lee İndeks oranı diğer gruplara göre daha yüksek bulundu *(P < 0.05*) (Şekil 4.5 ve Tablo 4.3).



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Gruplar arası farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P < 0.05)*. (ANOVA, Tukey HSD post hoc testi yapıldı).

Şekil 4.5. Gruplara ait Lee İndeks oranları.

Tablo 4.3. Gruplara ait Lee İndex oranları (gr/cm^3).

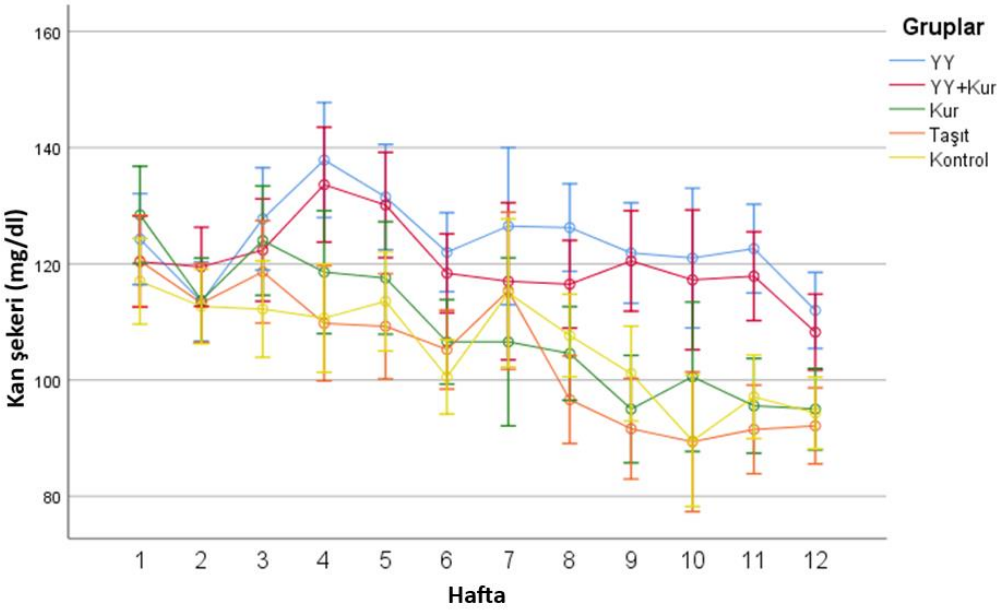
Gruplar (n=12)	Lee İndeksi (g/cm^3)
Kontrol	0.33 ± 0.01^{a}
Taşıt	0.33 ± 0.01^{a}
Kur	$0.33 \pm 0.01^{a,b}$
YY	0.36 ± 0.01^{c}
YY +Kur	0.34 ± 0.02^{b}

Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Veriler $\bar{x} \pm ss$ olarak gösterildi.

4.2. Kan Glukoz Seviyeleri ve Organ Ağırlıkları

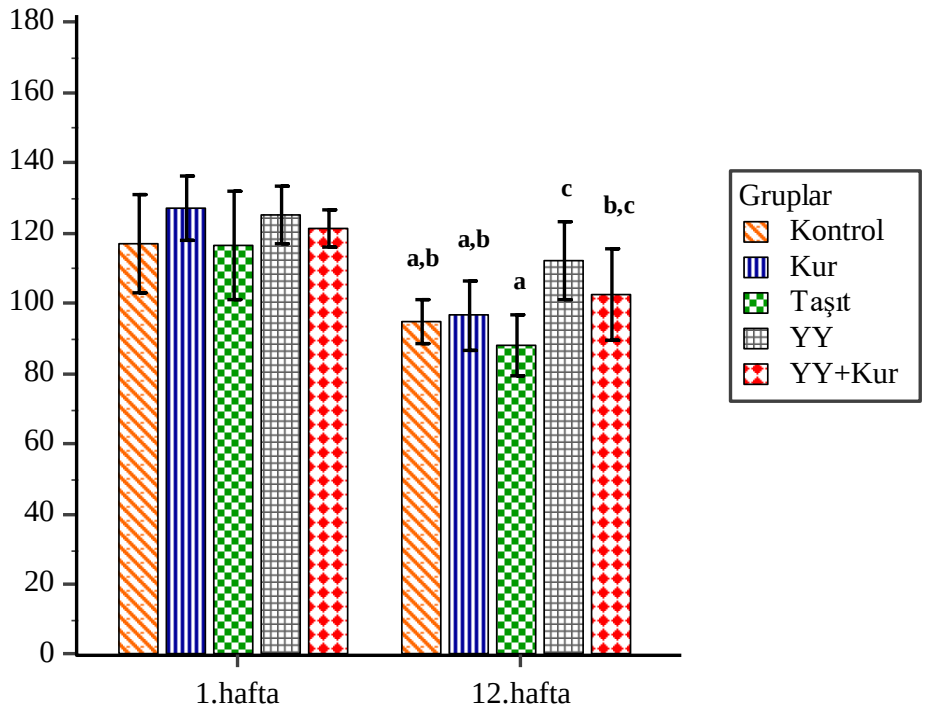
Hayvanların haftalık olarak kuyruklarından alınan kan ile glukometrede kan glukoz ölçümü yapıldı. Haftalık kan şekeri miktarları grup ortalamaları ile karşılaştırıldı (Tablo 4.4 ve Şekil 4.6).

Kandan ölçülen glukoz seviyelerinde ilk hafta gruplar arasında anlamlı bir fark görülmezken, 3. haftadan itibaren YY ve YY + Kur grupları kan glukoz düzeylerinin diğer gruplardan istatistiksel olarak yüksek olduğu tespit edildi ($P < 0.05$).



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). (Hata çubukları; % 95 güven aralığını ifade etmektedir).

Şekil 4.6. Grupların haftalık kan glukoz seviyelerine ait değişim grafiği.



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Gruplar arası farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P < 0.05)* (ANOVA, Tukey HSD post hoc testi yapıldı).

Şekil 4.7. Grupların 1. ve 12. hafta kan glukoz seviyeleri karşılaştırması

Tablo 4.4. Grupların haftalık kan glukoz seviyesi ortalama sonuçları (mg/dl).

Gruplar (n=12)	Hafta 1	Hafta 2	Hafta 3	Hafta 4	Hafta 5	Hafta 6	Hafta 7	Hafta 8	Hafta 9	Hafta 10	Hafta 11	Hafta 12
Kontrol	117 ± 15	114 ± 6	112 ± 9	112 ± 6	116 ± 6	105 ± 10	113 ± 10	108 ± 10	101 ± 9	91 ± 8	97 ± 9	95 ± 6
Taşıt	117 ± 16	110 ± 9	114 ± 15	110 ± 7	109 ± 11	106 ± 10	113 ± 27	99 ± 9	90 ± 10	89 ± 10	91 ± 5	88 ± 9
Kur	127 ± 10	114 ± 8	122 ± 10	118 ± 6	114 ± 10	110 ± 13	105 ± 10	102 ± 8	100 ± 21	99 ± 9	98 ± 8	97 ± 10
YY	125 ± 10	116 ± 13	127 ± 6	138 ± 19	132 ± 13	119 ± 11	127 ± 28	123 ± 13	121 ± 17	122 ± 25	120 ± 13	112 ± 11
YY+Kur	121 ± 6	123 ± 16	123 ± 15	133 ± 14	132 ± 15	116 ± 14	126 ± 18	114 ± 8	116 ± 12	115 ± 14	117 ± 13	103 ± 14

Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Veriler $\bar{x}$ ± ss olarak gösterildi.

Ötenazi sonrası hayvanlara ait karaciğer, kalp ve böbrek (tek) organlarına ait ağırlık ölçümleri yapıldı (Tablo 4.5), istatistiki karşılaştırmalar şekil 4.8'de verildi.

Tablo 4.5. Gruplara ait karaciğer, kalp, böbrek organ ağırlıkları (gr).

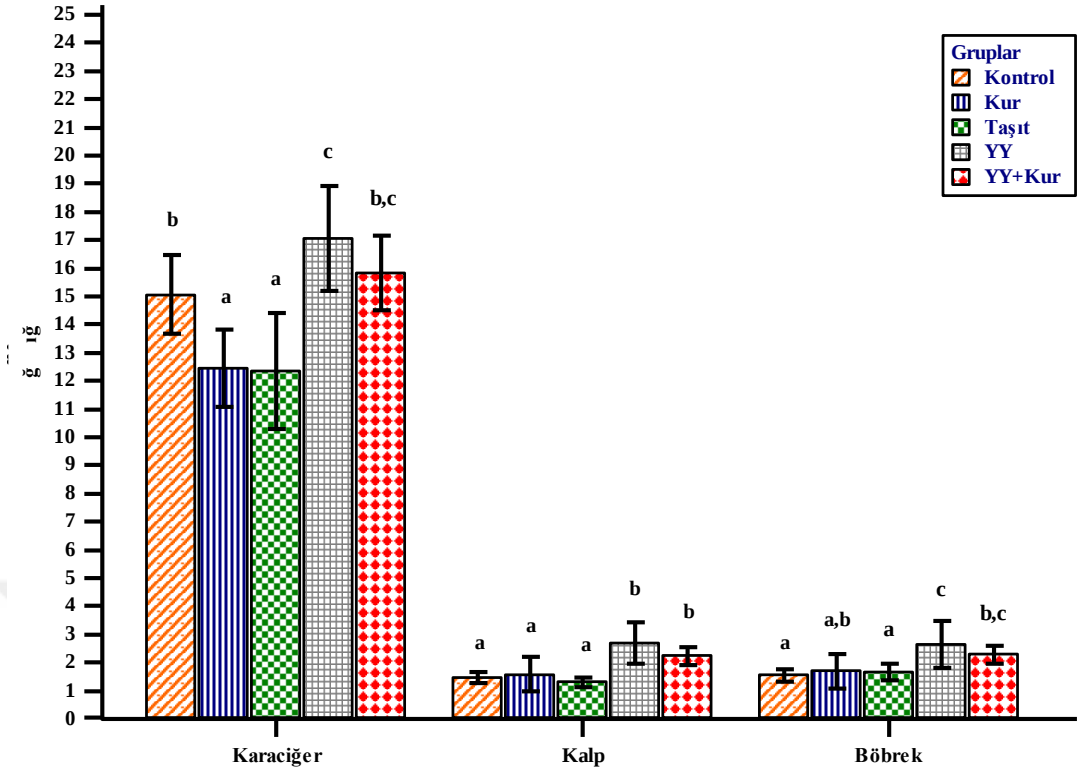
Gruplar (n=12)	Karaciğer	Kalp	Böbrek
Kontrol	15.07 ± 1.40^{b}	1.47 ± 0.19^{a}	1.55 ± 0.22^{a}
Taşıt	12.33 ± 2.06^{a}	1.30 ± 0.16^{a}	1.66 ± 0.31^{a}
Kur	12.43 ± 1.37^{a}	1.59 ± 0.59^{a}	$1.71 \pm 0.61^{a,b}$
YY + Kur	15.83 ± 1.32^{c}	2.24 ± 0.33^{b}	2.29 ± 0.31^{c}
YY	$17.05 \pm 1.85^{b,c}$	2.70 ± 0.72^{b}	$2.64 \pm 0.84^{b,c}$

Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Veriler $\bar{x} \pm ss$ olarak gösterildi.

YY grubu karaciğer organ ağırlığı kontrol grubu karaciğer organ ağırlığına göre anlamlı olarak fazla iken ($P < 0.05$), kontrol grubuna göre YY + Kur grubu karaciğer organ ağırlığında bir fark tespit edilmedi ($P < 0.05$).

YY ve YY+Kur grupları kalp organ ağırlığı Kontrol, Taşıt ve Kur gruplarına göre istatistiksel olarak fazla idi ($P < 0.05$).

Kontrol, taşıt ve Kur gruplarına göre YY grubu böbrek ağırlıkları istatistiki olarak anlamlı yüksek idi ($P < 0.05$), YY + Kur grubu böbrek ağırlıkları Kontrol ve Taşıt grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir ağırlığa sahipti ($P < 0.05$).



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Her bir grupta farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P < 0.05)*. (ANOVA, Karaciğer için Tukey HSD, Kalp ve Böbrek için Tamhane post hoc testleri yapıldı).

Şekil 4.8. Karaciğer, kalp ve böbrek organ ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması.

4.3. Hemodinami ve Elektrokardiyogram Sonuçları

EKG kayıt videoları görsel olarak analiz edildi ve ST depresyonu, ST elevasyonu, T negatif ve blok değerlendirmesi yapıldı. Tabloda yüzde olarak gruplara ait sonuçlar verildi (Tablo 4.6). EKG anomalileri gruplar arası kalp hızı ve kan basıncı farklılıkları, QR, QT ve QRS değişkenliklerindeki süre ve dalgalanmaların yüksek hassasiyetli ölçümleri Lambeth Sözleşmesi (126) kriterlerine göre yapılmıştır.

EKG kayıtlarına göre YY ve YY + Kur gruplarında % 8.30 aritmi gözlenirken, gruplarda ST depresyonu ve elevasyonu izlenmedi. T negatiflik yüzdesi en fazla YY + Kur grubunda tespit edildi ve blok yüzdesi ise Kur grubunda en yüksek ölçüldü (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Gruplarda gözlenen EKG değişimleri.

Gruplar (n=12)	Aritmi (gözlenen %)	ST depresyonu (gözlenen %)	ST elevasyonu (gözlenen %)	T negatiflik (gözlenen %)	Blok (gözlenen %)
Kontrol	0.00	0.00	0.00	0.00	33.30
Taşıt	0.00	0.00	0.00	16.70	33.30
Kur	0.00	0.00	0.00	16.70	41.70
YY	8.30	0.00	0.00	8.30	33.30
YY+Kur	8.30	0.00	0.00	33.30	25.00

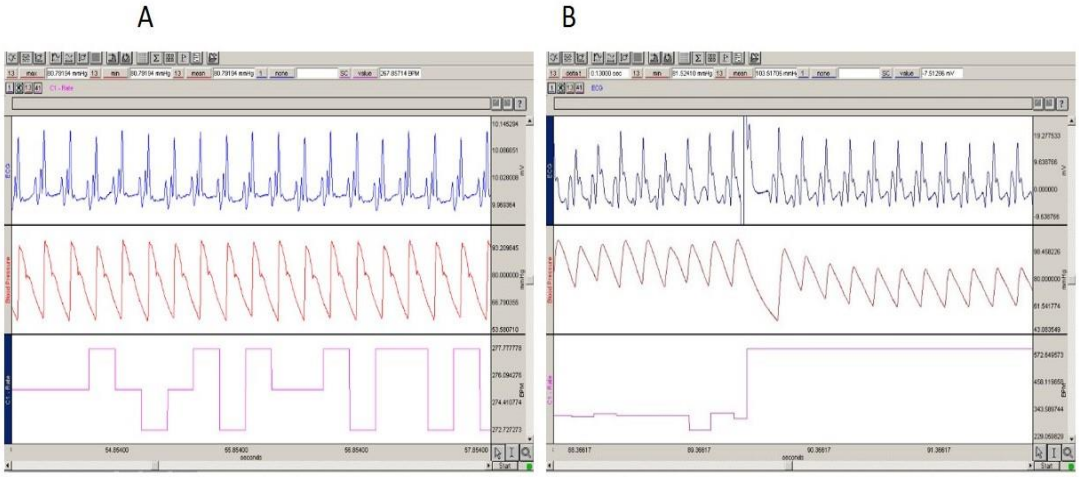
Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY).

Ortalama kan basıncı ve diastolik kan basıncı kontrol ve taşıt gruplarında YY grubuna kıyasla anlamlı olarak daha yüksek bulundu ve YY grubu da kurkumin grubuna göre istatistiksel olarak olarak daha düşük tespit edildi ($P < 0.05$). PR ölçüm değerleri tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş gösterdi ($P < 0.05$). QRS değerlendirmesinde YY+Kur grubu, Kur grubuna göre istatistiksel olarak yüksek iken, kontrol, taşıt ve YY grupları Kur grubuna göre farklı bulundu ($P < 0.05$) (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Gruplar arası EKG ölçüm sonuçları.

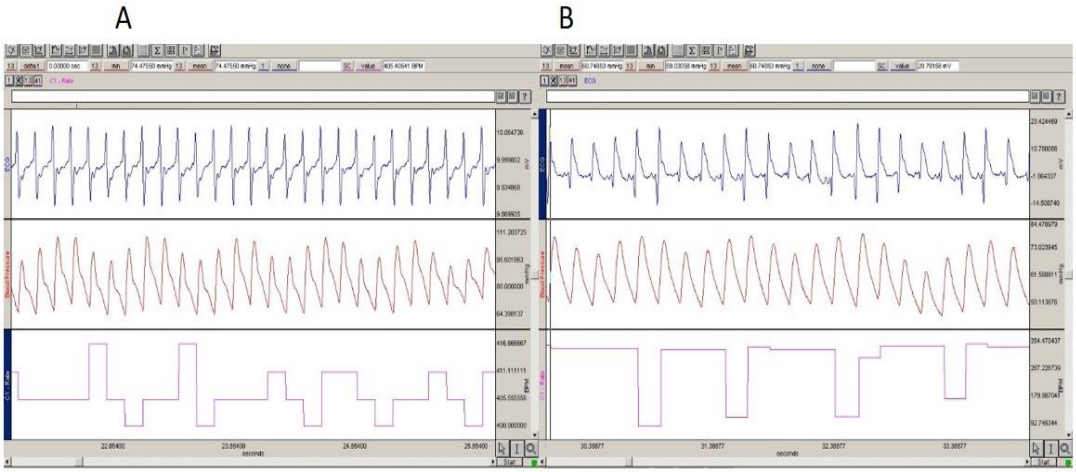
Gruplar (n=12)	Kan Basıncı Sistol	Kan basıncı Diastol	Kan basıncı ortalaması	Kalp hızı (atış/dakika)	PR	QRS	QT
Kontrol	84.3 ± 15.4	79.5 (51-106) [b]	82.5 (53-107)	265.7 ± 92.3	59.7 ± 7.9	108 (90-142) [c]	168 (130-202)
Taşıt	79.8 ± 15.0	75.5 (53-104) [b]	76.5 (55-105)	265.7 ± 37.7	49.8 ± 5.1 [a]	104 (68-126) [c]	164.5 (138-204)
Kur	83.3 ± 8.5	81.5 (61-94)	83.5 (63-95)	264.3 ± 53.5	53 ± 3.0 [a]	82 (68-106) [d]	150 (112-186)
YY	73.2 ± 6.4	67 (55-75) [c]	69.5 (59-80)	259.7 ± 28.5	48.7 ± 6.5 [a]	110 (60-130) [c]	166 (138-214)
YY + Kur	83 ± 25.7 [a]	69 (48-132)	70 (6-134)	273.4 ± 101.7	52.8 ± 3.9 [a]	112 (78-130)	160 (138-194)

[a]: Kontrole göre farklıdır, [b]: YY grubuna göre farklıdır, [c]: Kur grubuna göre farklıdır, [d]: YY + Kur grubuna göre farklıdır. Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Veriler $\bar{x}$ ± ss ve ortanca (min-maks) olarak gösterildi (Parametrik dağılım gösteren veriler için ANOVA, Tukey HSD post hoc testi yapıldı, non parametrik dağılım gösteren veriler için Kruskal Wallis, Conover post hoc test yapıldı).



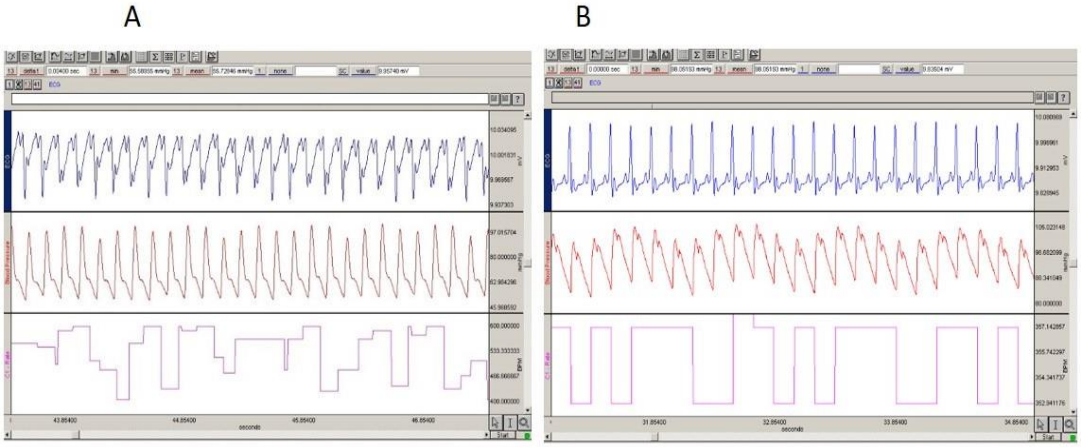
A) Normal EKG, B) Aritmi EKG

Şekil 4.9. Normal ve aritmi EKG görselleri.



A) ST depresyonu B) ST elevasyonu

Şekil 4.10. ST depresyonu ve elevasyonu EKG görselleri.



A) Dal blok, B) T negatifliği

Şekil 4.11. Dal blok ve T negatifliği EKG görselleri.

4.4. Biyokimyasal Analizler

4.4.1. Serum Biyokimya Sonuçları

YY ve YY + Kur grupları ALP enzim aktivitesi kontrol, taşıt ve Kur gruplarına kıyasla yüksekti *(P < 0.05)*. YY + Kur grubu AST aktivitesi YY, Kur ve taşıt grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir yükseliş gösterdi *(P < 0.05)*. YY + Kur grubu ALT enzim aktivitesi YY, Taşıt ve Kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edildi *(P < 0.05)* (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Serum ALP, AST ve ALT sonuçları.

Gruplar (n=12)	ALP (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)
Kontrol	191 (150-214) [a]	200 ± 66 [a,b]	56 (33-90) [c]
Taşıt	174 (131-357) [a]	127 ± 30 [a]	46 (24-56) [b]
Kur	168 (139-318) [a]	176 ± 47 [a]	62 (44-96) [c,d]
YY	439 (252-724) [b]	177 ± 50 [a]	48 (36-111) [b,c]
YY + Kur	453 (267-1512) [b]	254 ± 114 [b]	72 (48-151) [a,d]

Her bir grupta farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P < 0.05)*. Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Veriler $\bar{x}$ ± ss ve ortanca (min-maks) olarak gösterildi. (AST aktiviteleri için

ANOVA, Tukey HSD post hoc testi, ALP ve ALT aktiviteleri için Kruskal Wallis, Conover post hoc test yapıldı).

Serum üre azotu ve BUN seviyesi YY ve YY + Kur gruplarında kontrol, taşıt ve Kur gruplarına kıyasla düşüktü *(P < 0.05).* YY ve YY+Kur grubu serum albümin miktarı diğer tüm gruplardan yüksek bulundu *(P < 0.05)* (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Gruplarda serum üre azotu, BUN, kreatinin ve albümin sonuçları.

Gruplar (n=12)	**Üre azotu (mg/dl)**	**BUN (mg/dl)**	**Kreatinin (mg/dl)**	**Albümin (mg/dl)**
Kontrol	57 (53-64) [a]	27 (25-30) [a]	0.7 (0.6-1.1) [a]	2.8 (2.7-2.9) [a]
Taşıt	47 (35-53) [c]	22 (16-25) [c]	0.7 (0.5-0.9) [a]	2.8 (2.6-3.0) [a,c]
Kur	51 (38-60) [b]	24 (18-28) [b]	0.6 (0.5-0.7) [b]	2.8 (2.6-2.9) [a,c]
YY	40 (32-43) [d]	19 (15-21) [d]	0.7 (0.6-0.8) [a]	3 (2.9-3.2) [b]
YY + Kur	43 (37-56) [d]	20 (17-26) [d]	0.8 (0.6-0.8) [a]	2.9 (2.5-3.1) [c]

Her bir grupta farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P < 0.05).* Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY) Veriler ortanca (min-maks) olarak gösterildi. (Kruskal Wallis, Conover post hoc test yapıldı).

Serum trigliserit ve VLDL miktarları kontrol grubuna göre Kur grubunda düşük iken *(P < 0.05)* YY ve YY + Kur gruplarında bir fark tespit edilmedi *(P > 0.05).* Serum kolesterol ve HDL miktarları YY ve YY + Kur gruplarında diğer gruplara göre istatistiki olarak yüksek bulundu *(P < 0.05).* YY+Kur grubu kolestrol ve HDL miktarları YY grubuna göre anlamlı bir düşüş gösterdi *(P < 0.05).* Serum LDL sonuçlarında gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı *(P > 0.05)* (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Serum trigliserit, kolesterol, LDL, HDL ve VLDL sonuçları.

Gruplar (n=12)	**Trigliserit (mg/dl)**	**Kolesterol (mg/dl)**	**LDL (mg/dl)**	**HDL (mg/dl)**	**VLDL (mg/dl)**
Kontrol	70 (54-116) [a]	52 ± 10 [a]	11 (3-15)	29 ± 5 [a]	14 (11-23) [a]
Taşıt	38 (22-70) [c]	55 ± 11 [a]	10 (5-24)	34 ± 6 [a]	8 (4-14) [c]

Kur	50 (42-71) [b,c]	53 ± 9 [a]	14 (5-21)	29 ± 5 [a]	10 (6-18) [b,c]
YY	53 (41-138) [a,b]	83 ± 10 [b]	16 (6-26)	56 ± 9 [b]	11 (8-28) [a,b]
YY + Kur	60 (27-96) [a,b]	71 ± 11[c]	13 (6-23)	46 ± 9 [c]	12 (5-19) [a,b]

Her bir grupta farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P <0.05)*. Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Veriler $\bar{x} \pm ss$ ve ortanca (min-maks) olarak gösterildi. (Parametrik dağılım gösteren veriler için ANOVA, Tukey HSD post hoc testi yapıldı, non parametrik veriler için Kruskal Wallis, Conover post hoc test yapıldı).

4.4.2. Karaciğer Dokusu MDA, GSH Seviyeleri, SOD ve CAT aktiviteleri

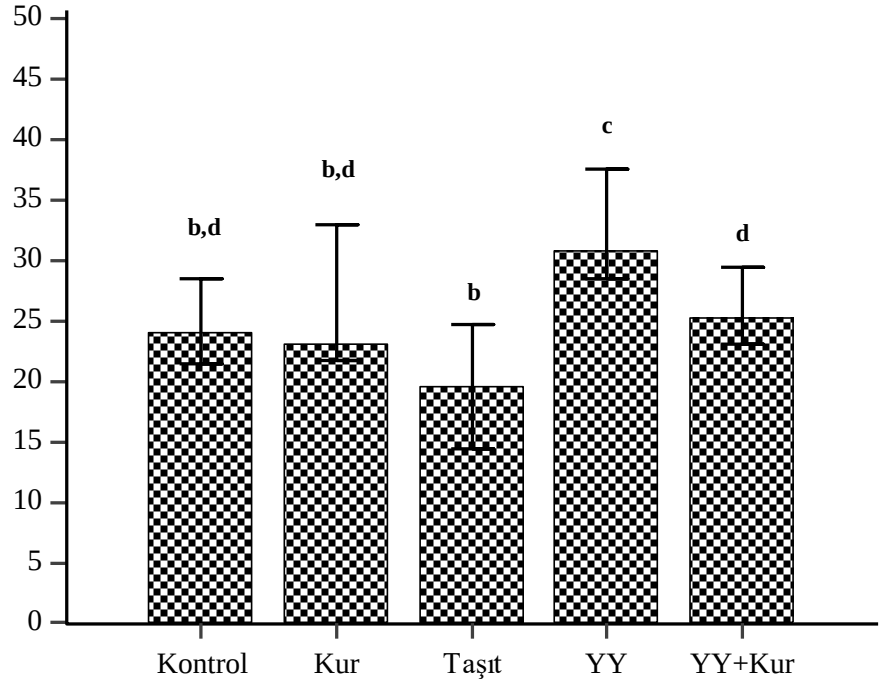
Karaciğer doku örneklerinden analiz edilen MDA düzeylerine bakıldığında YY grubu MDA seviyesi kontrol, taşıt, Kur ve YY + Kur gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi *(P < 0.05)*. YY + Kur grubu MDA seviyesi ise aynı zamanda taşıt grubu ile istatistiki olarak anlamlı bir şekilde farklı bulundu *(P < 0.05)* (Şekil 4.12). Karaciğer doku YY + Kur grubu GSH seviyeleri taşıt, Kur ve YY grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek ölçüldü *(P <0.05)* (Şekil 4. 13). YY ve YY + Kur grupları karaciğer SOD aktivitesi kontrol, taşıt ve Kur gruplarından istatistiksel olarak düşük bulundu (*P < 0.005*) (Şekil 4.14). Karaciğer CAT aktivitesi bakmından gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi (*P > 0.05*) (Şekil 4.15) (Tablo 4.11).

Tablo 4.11. Gruplara ait karaciğer MDA ve GSH miktarları ile SOD ve CAT aktiviteleri sonuçları.

Gruplar (n=12)	**MDA (nmol/gyd)**	**GSH (nmol/ gyd)**	**SOD (Ü/gr protein)**	**CAT (K/gr protein)**
Kontrol	24 (17-58)[b,d]	4309 (2378-6178)[a,b]	0.73 (0.60-1.32)[a]	6 (2-40)
Taşıt	20 (8-39)[b]	3309 (1165-5203)[b]	0.67 (0.47-1.26)[a]	15 (2-30)
Kur	23 (15-45) [b,d]	3234 (2365-6353)[b]	0.53 (0.37-0.76)[b]	13 (7-33)

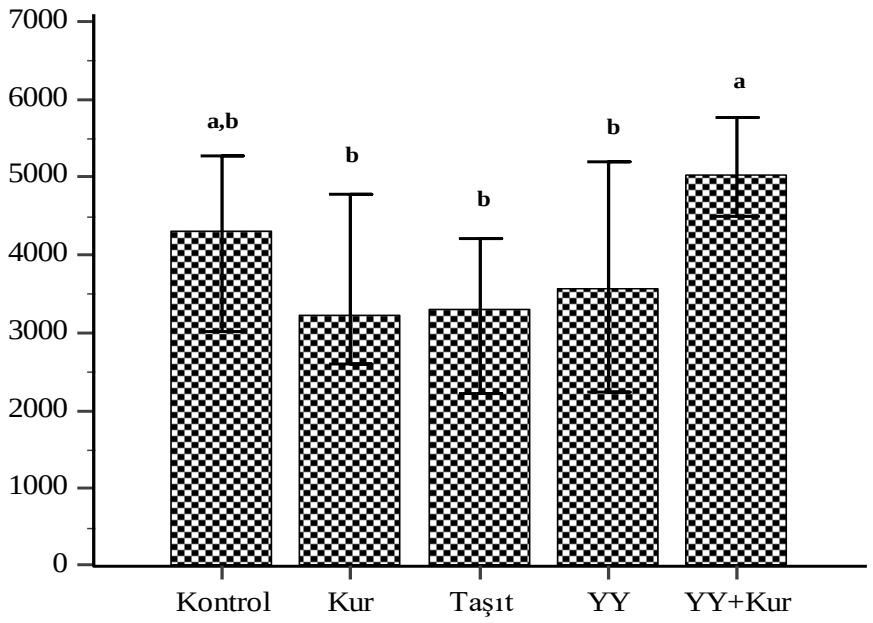
YY	31 (24-42)[c]	3565 (1515-5915)[b]	0.44 (0.20-0.50)[c]	11 (4-21)
YY + Kur	25 (20-35)[d]	5028 (2865-6190)[a]	0.45 (0.30-0.55)[c]	14 (7-25)

Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Veriler ortanca (min-maks) olarak verildi. ANOVA, Kruskal Wallis, Conover post hoc testi.



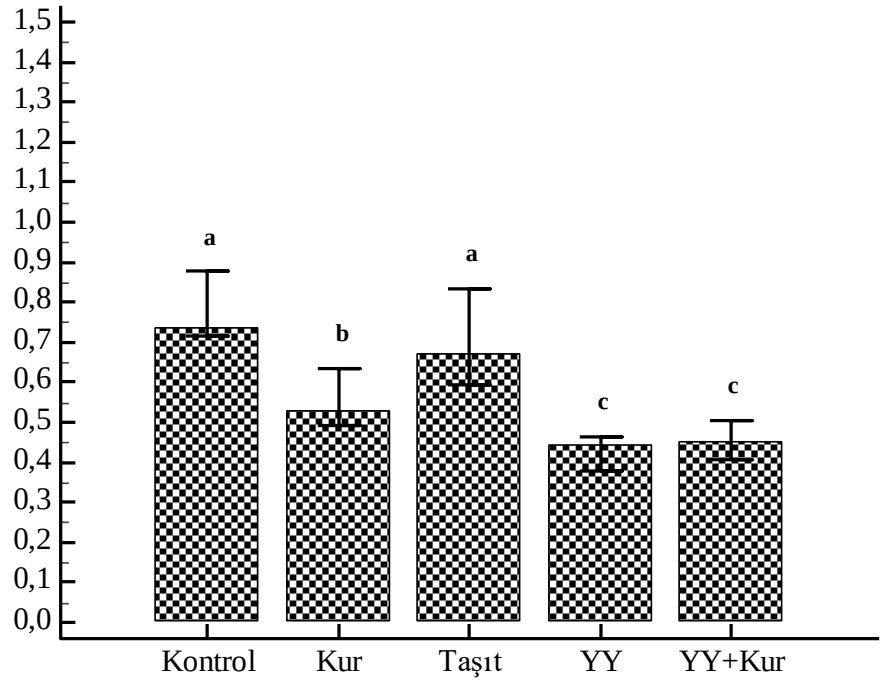
Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Her bir grupta farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P < 0.05)*. (Kruskal Wallis, Conover post hoc testi yapıldı).

Şekil 4.12. Gruplara ait karaciğer MDA seviyeleri



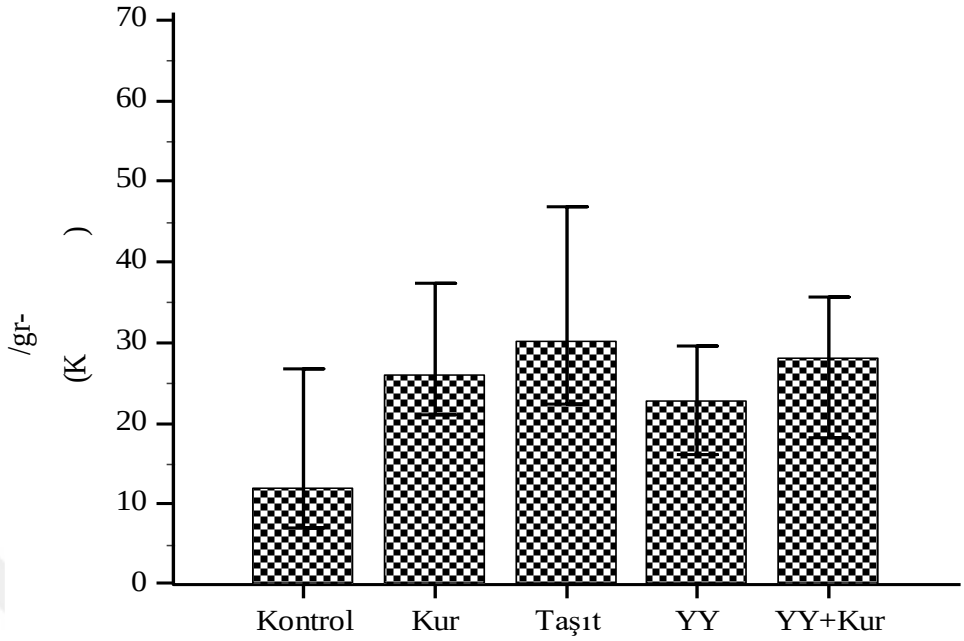
Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY).Her bir grupta farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır (*P < 0.05*). (Kruskal-Wallis, Conover post hoc testi yapıldı).

Şekil 4.13. Gruplara ait karaciğer GSH seviyeleri.



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Her bir grupta farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P < 0.05).* (Kruskal-Wallis, Conover post hoc testi yapıldı).

Şekil 4.14. Gruplara ait karaciğer SOD aktiviteleri.



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). (Kruskal-Wallis, Conover post hoc testi yapıldı).

Şekil 4.15. Gruplara ait karaciğer CAT aktiviteleri.

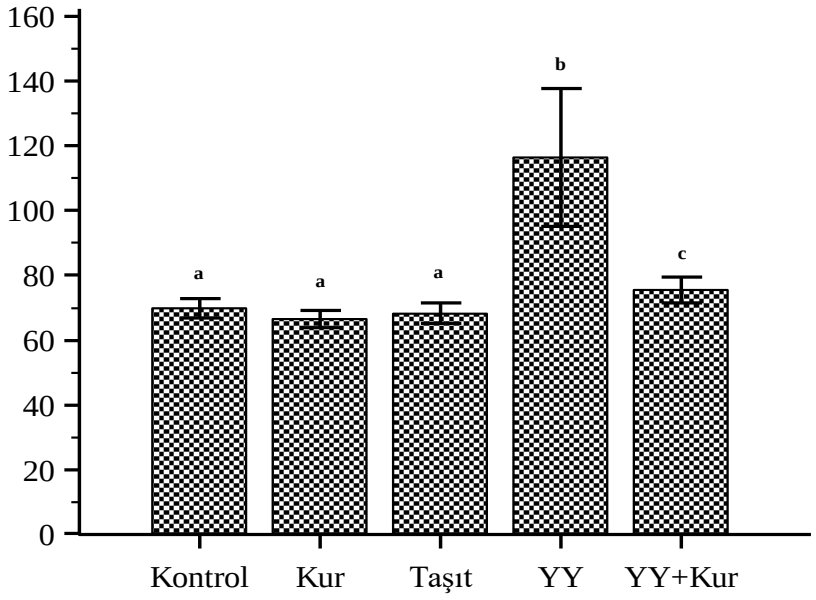
4.4.3. Doku ve Serum ELISA Analiz Sonuçları

Karaciğer doku örneklerinde ELISA yöntemi ile ölçülen TRPM2 protein miktarı kontrol, taşıt ve Kur grupları arasında farklı değilken *(P > 0.05),* YY grubu ve YY + Kur grubu TRPM2 protein miktarı diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek bulundu *(P <0.05),* YY grubu TRPM2 protein seviyesi, YY + Kur grubuna göre yüksek idi *(P <0.05)* (Şekil 4.16). Gruplar arası IL-6 miktarları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark gözlenmedi *(P > 0.05).* YY ve YY+Kur grupları IL-1β miktarları kontrol, taşıt ve Kur gruplarına göre anlamlı olarak yüksek tespit edildi *(P < 0.05)* (Şekil 4.17) (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. Karaciğer dokusu TRPM2, IL-6, IL-1β ELISA sonuçları

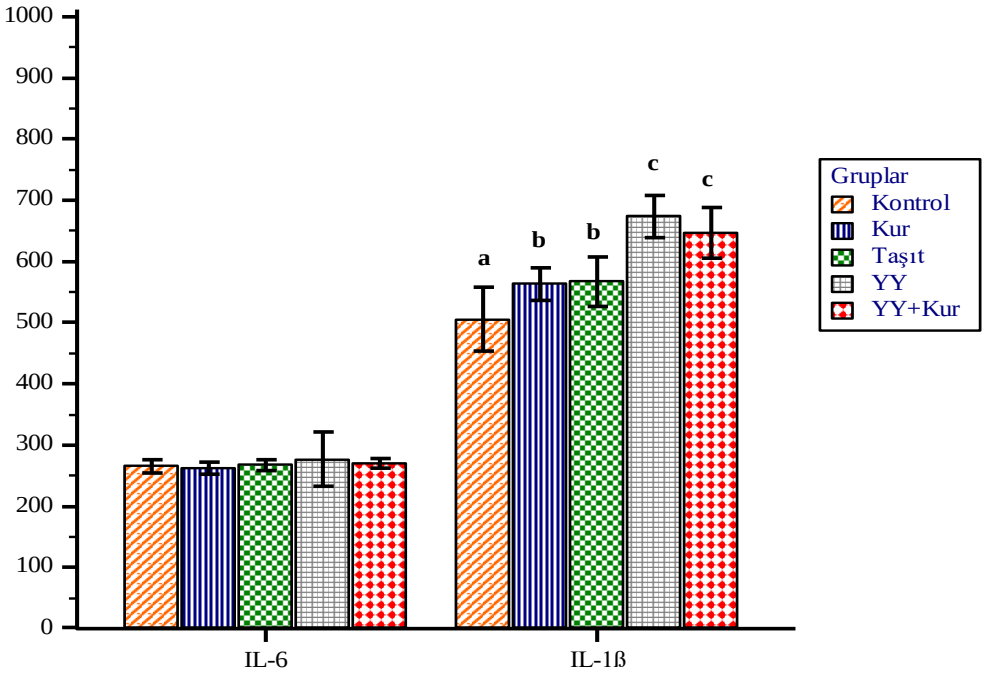
Gruplar (n=12)	TRPM2 (ng/ml)	IL - 6 (pg/ml)	IL-1β (pg/ml)
Kontrol	69.94 ± 2.97[a]	265.32 ± 11.56	505.46 ± 51.84[a]
Taşıt	68.34 ± 3.04[a]	267.45 ± 9.50	567.15 ± 39.65[b]
Kur	66.63 ± 2.63[a]	262.58 ± 9.56	563.44± 26.20[b]
YY	116.40 ± 21.20[b]	276.71 ± 44.01	673.63 ± 34.97[c]
YY + Kur	75.60 ± 3.94[c]	270.42 ± 7.32	646.32 ± 41.34[c]

Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Veriler $\bar{x} \pm ss$ olarak gösterildi.



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Her bir grupta farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P <0.05).* (ANOVA,Tamhane post hoc testi yapıldı).

Şekil 4.16. Gruplara ait karaciğer TRPM2 seviyeleri.



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Her bir grupta farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P <0.05).* (ANOVA,Tamhane post hoc testi yapıldı).

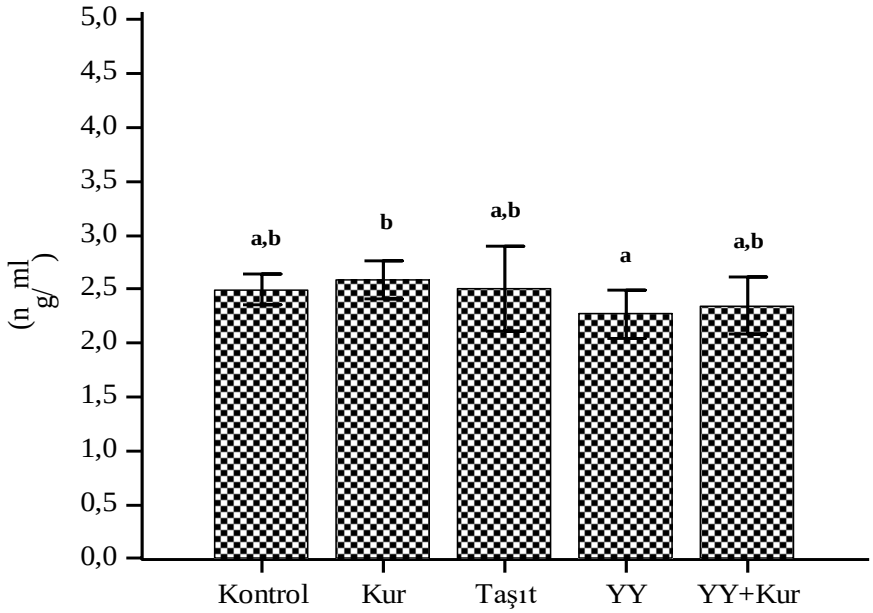
Şekil 4.17. Gruplara ait karaciğer IL-6 ve IL-1β seviyeleri.

Gruplar arasında serum CRP miktarları karşılaştırıldığında, Kur grubu CRP seviyesi, YY grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu *(P < 0.05)* (Şekil 4.18). Gruplar arası serum insülin miktarlarında istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi *(P > 0.05)* (Şekil 4.19). TNFα miktarları karşılaştırıldığında taşıt grubu ile YY ve kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark mevcuttu *(P < 0.05*) (Şekil 4. 20) (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Serum TNFα, CRP, İnsülin ELISA sonuçları

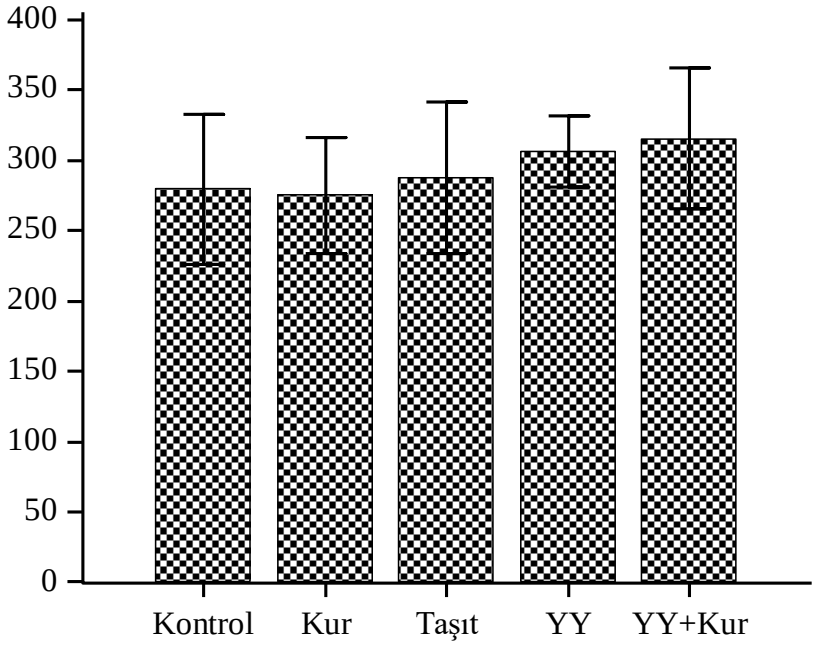
Gruplar (n=12)	TNFα (pg/ml)	CRP (ng/ml)	İnsülin (pg/ml)
Kontrol	20.33 ± 8.01^{a}	$2.50 \pm 0.14^{a,b}$	279.94 ± 53.17
Taşıt	47.67 ± 21.40^{b}	$2.51 \pm 0.40^{a,b}$	287.84 ± 53.70
Kur	$32.17 \pm 24.23^{a,b}$	2.59 ± 0.18^{b}	275.50 ± 41.21
YY	25.42 ± 11.18^{a}	2.28 ± 0.22^{a}	306.92 ± 25.11
YY + Kur	$36.75 \pm 19.40^{a,b}$	$2.35 \pm 0.26^{a,b}$	315.49 ± 49.90

Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Veriler $\bar{x} \pm ss$ olarak gösterildi.



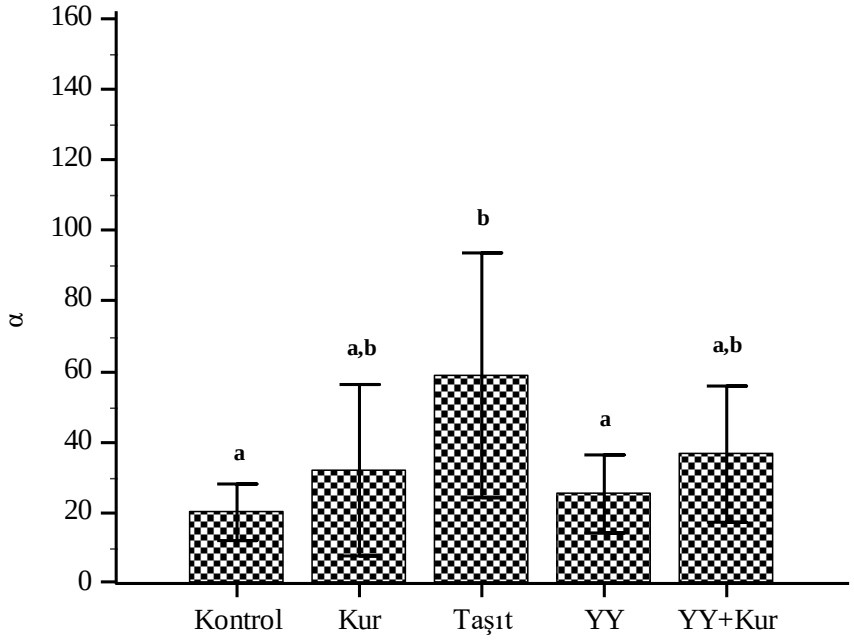
Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Her bir grupta farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P < 0.05).* (ANOVA,Tukey HSD post hoc testi yapıldı).

Şekil 4.18. Gruplara ait serum CRP seviyeleri.



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). (ANOVA, Tukey HSD post hoc testi yapıldı).

Şekil 4.19. Gruplara ait serum insülin seviyeleri.

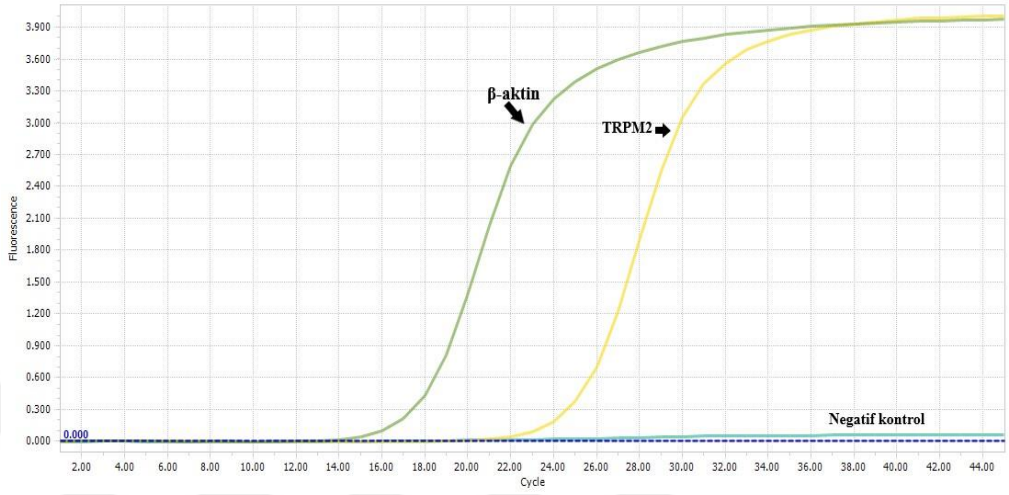


Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Her bir grupta farklı olan harfler birbirlerinden istatistiki olarak anlamlıdır *(P < 0.05)*. (ANOVA, Tamhane post hoc testi yapıldı).

Şekil 4.20. Gruplara ait serum TNFα seviyeleri.

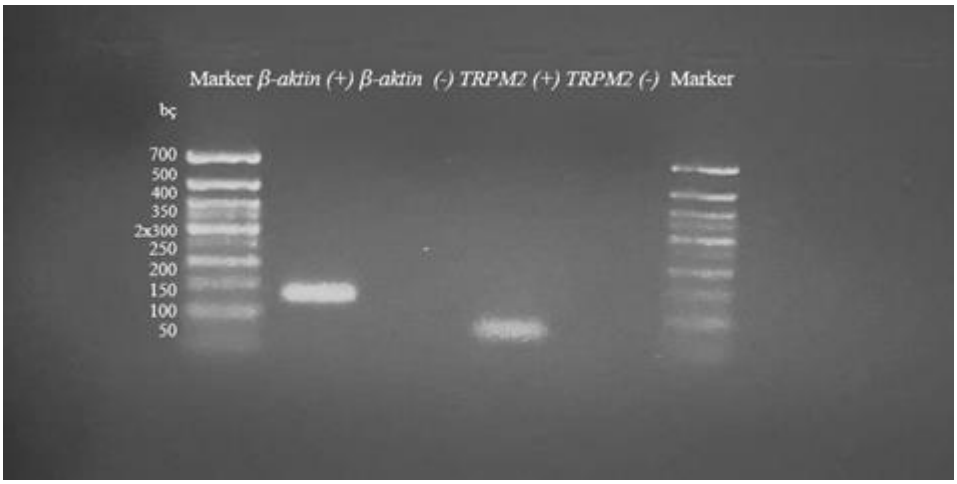
4.5. Gerçek-Zamanlı qPZT Sonuçları

Karaciğer doku örneklerinden elde edilen cDNA'lar qPZT yöntemi ile *TRPM2* ve *β-aktin* genleri için çoğaltıldı (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. Karaciğer cDNA örneklerinden qPZT ile çoğaltılan *TRPM2* ve *β-aktin* eğrileri.

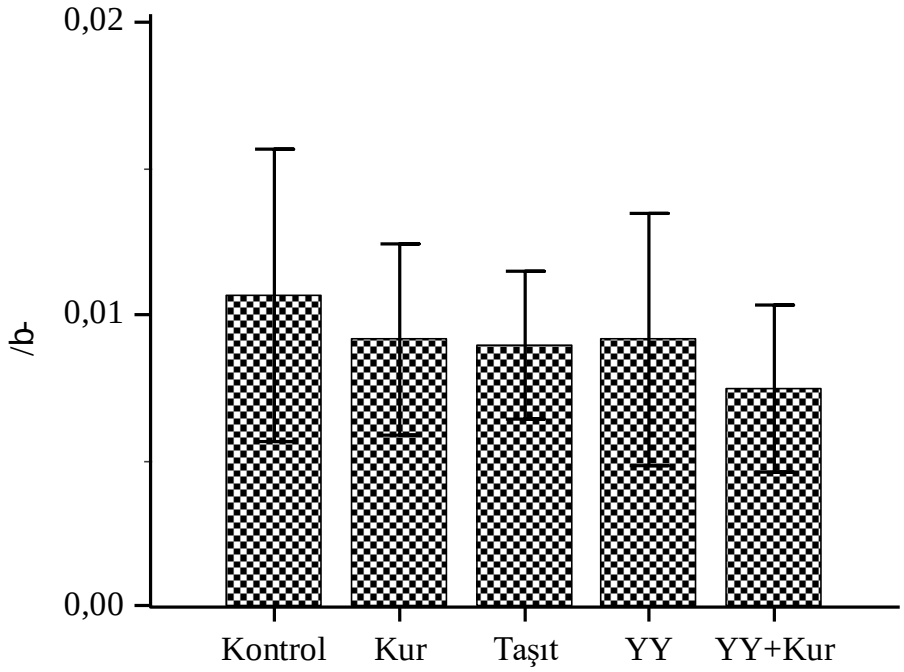
Çoğaltılan ürünler primer özgüllüğünün kontrolü için agaroz jel elektroforezi ile yürütülmüş ve her bir gene ait tek bant gözlenmiştir (Şekil 4.22).



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). (DNA Marker bilgisi; Bioron, 50 bç, catalog no: 304007, % 1.5 agaroz jeli).

Şekil 4.22. *β-aktin* ve *TRPM2* genlerinin qPZT ile çoğaltılan ürünlere ait agaroz jel görüntüsü.

Karaciğer örneklerinden çalışılan qPZT sonuçlara bakıldığında gruplar arasında *TRPM2* gen ifadesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı *(P > 0.05)* (Şekil 4.23) (Tablo 4.14).



Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). *(P > 0.05).* (ANOVA, Tukey HSD post hoc testi yapıldı).

Şekil 4.23. Gruplarda karaciğer örneklerine ait TRPM2 gen ifade seviyeleri.

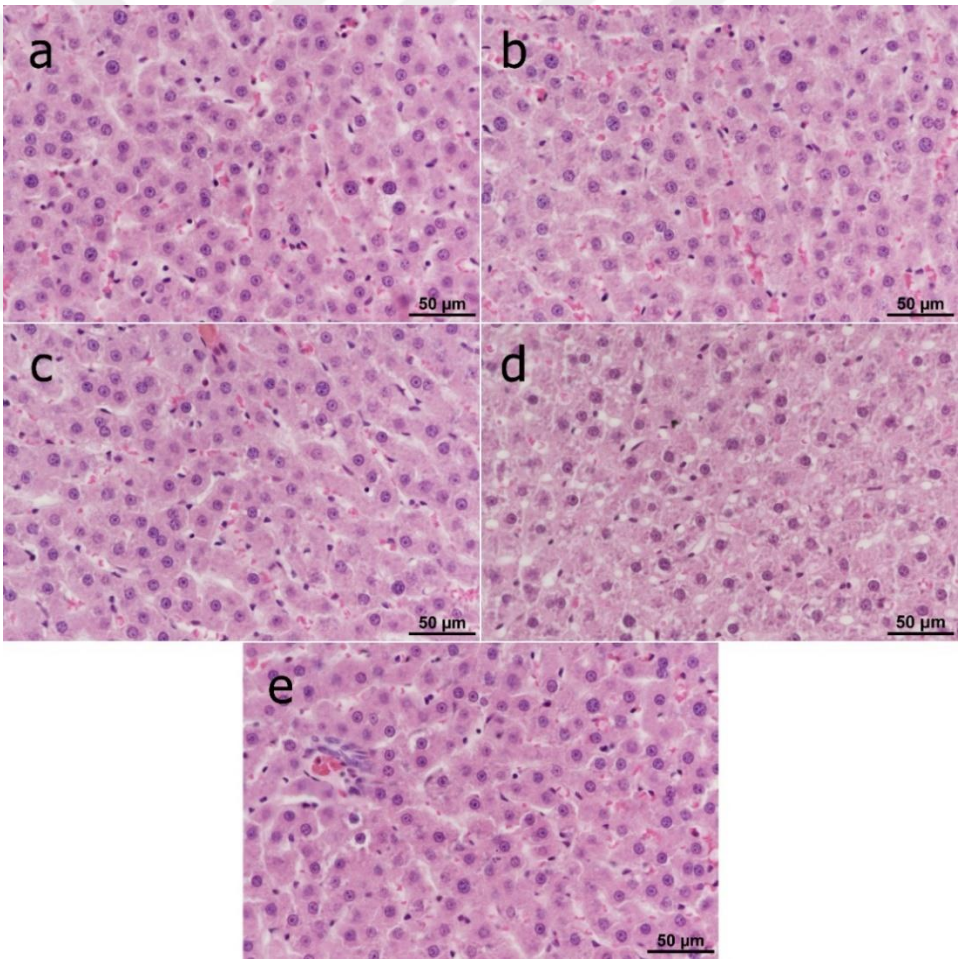
Tablo 4.14. Karaciğer dokusu TRPM2 gen ifadesi.

Gruplar (n=12)	***TRPM2 / β-aktin* oranı**
Kontrol	0.0106 ± 0.0050
Taşıt	0.0089 ± 0.0025
Kurkumin	0.0092 ± 0.0033
YY + Kur	0.0075 ± 0.0029
YY	0.0092 ± 0.0043

Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY). Veriler $\bar{x}$ ± ss olarak gösterildi.

4.6. Histopatoloji

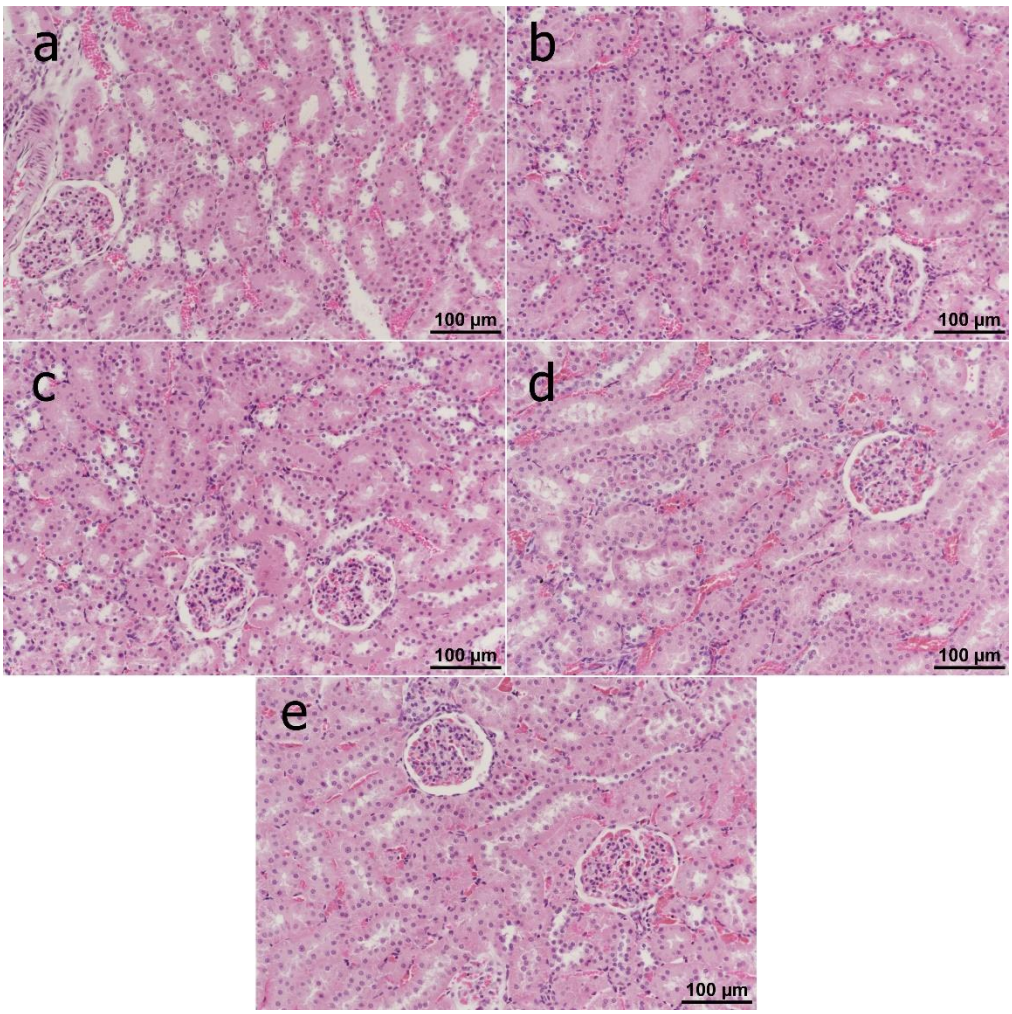
Ötenazi sonrası gruplaa ait karaciğer, böbrek, kalp, damar, kas ve yağ dokuları patolojik olarak mikroskobik yöntemle incelenmiştir. YY grubuna ait karaciğer dokularının mikroskobik incelemesinde, hafif dereceli olmak üzere hepatositlerde steatoz belirlenmiştir. Bazı hepatositlerde ayrıca hidropik dejenerasyonun mevcut olduğu ve steatoz ile birlikte seyrettiği dikkati çekmiştir (Şekil 4.24, 1d). Yağlı diyet ile beslenen deneklerde karaciğerde lipid birikiminin belirgin bir zonal yayılımı gözlemlenmemiştir. Yağlı diyet ile birlikte kurkumin verilen deneklerde steatoz belli belirsiz olarak az sayıda hepatositlerde gözlemlenmiştir (Şekil 4.24, 1e). Kontrol (Şekil 4.24, 1a), taşıt (Şekil 4.24, 1b) ve sadece kurkumin (Şekil 4.24, 1c) uygulanan gruplarda karaciğer dokusu normal histomorfolojik görünüşe sahip olarak görüntülenmiştir.



a) Kontrol grubu, b) Taşıt grubu, c) Kur grubu, d) YY grubu, e) YY + Kur grubu (Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY).

Şekil 4.24. Karaciğer dokularına ait H-E boyanmış mikroskobik görüntüler.

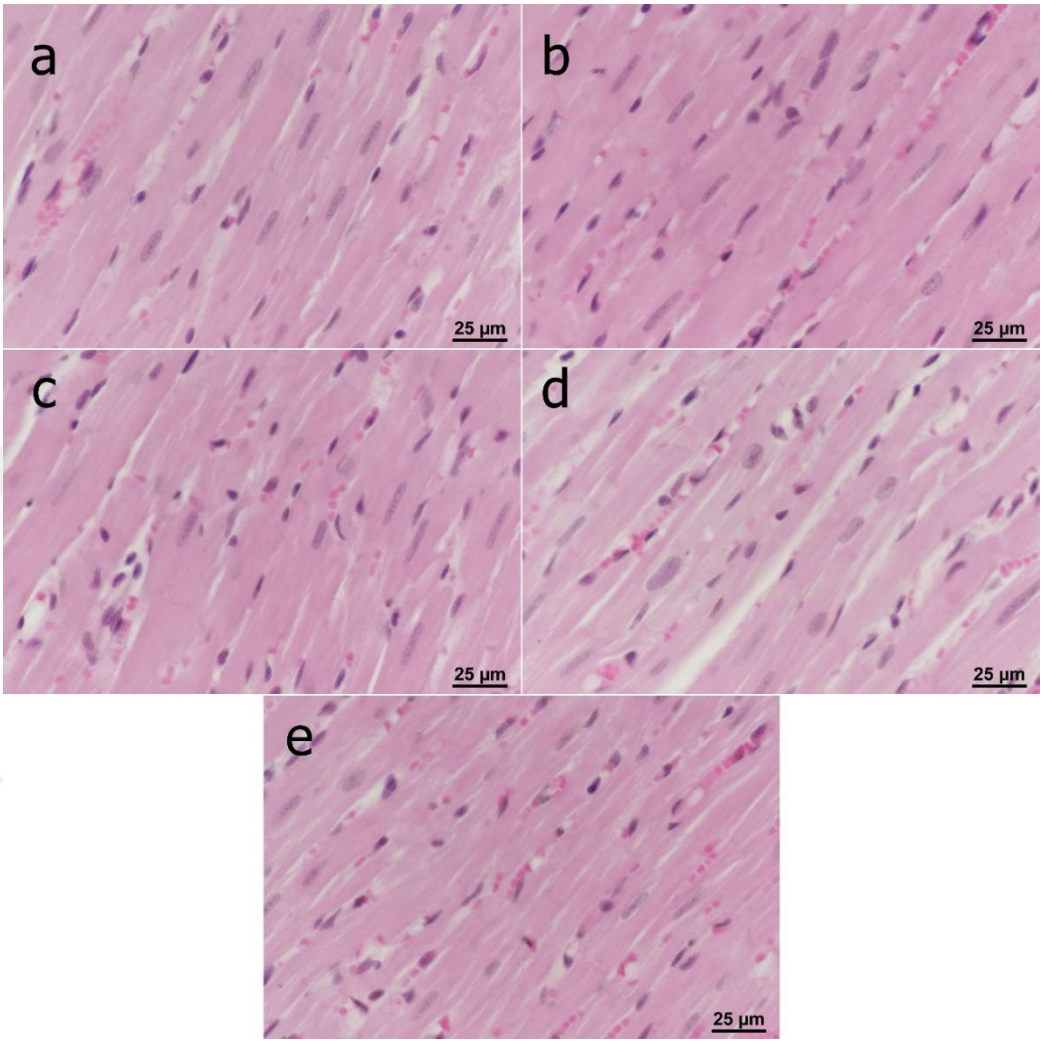
Böbrek dokularında, yağlı diyet uygulanan deneklerde belirgin bir patolojik değişiklik gözlemlenmemiştir (Şekil 4.25, 2d). Yağlı diyet ile birlikte Kurkumin uygulanan deneklerde (Şekil 4.25, 2e) ayrıca kontrol (Şekil 4.25, 2a), taşıt (Şekil 4.25, 2b) ve sadece Kurkumin (Şekil 4.25, 2c) verilen hayvanlarda böbrek dokularının normal histomorfolojik yapıda oldukları gözlemlenmiştir.



a) Kontrol grubu, b) Taşıt grubu, c) Kur grubu, d) YY grubu, e) YY + Kur grubu (Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY).

Şekil 4.25. Böbrek dokularına ait H-E boyanmış mikroskobik görüntüler.

Kalp kasında, Kontrol (Şekil 4.26, 3a), Taşıt (Şekil 4.26, 3b), Kurkumin (Şekil 4.26, 3c), YY grubu (Şekil 4.26, 3d) ve YY + Kur grubu (Şekil 4.26, 3e) deneklerde dikkati çeken bir değişiklik gözlemlenmedi. Herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı.

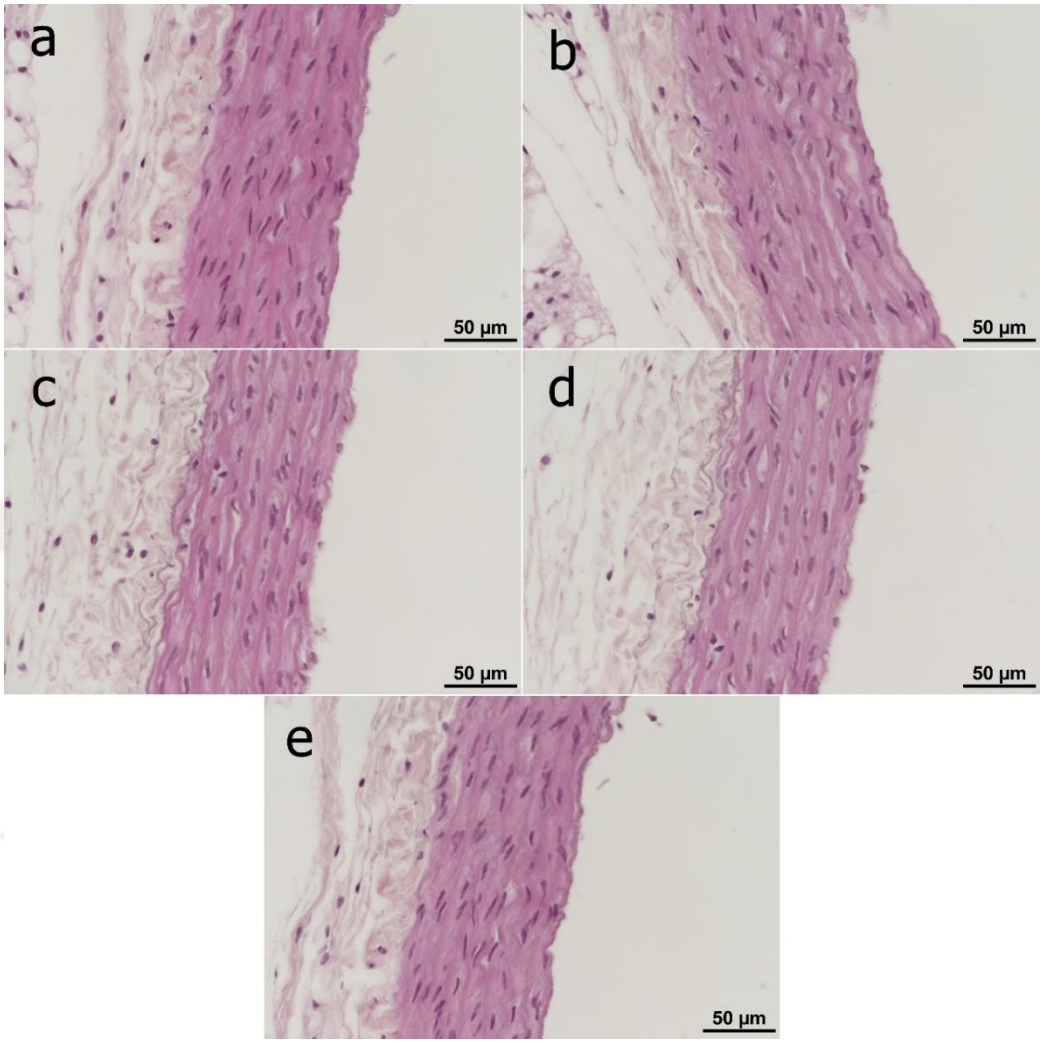


a) Kontrol grubu, b) Taşıt grubu, c) Kur grubu, d) YY grubu, e) YY + Kur grubu (Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY).

Şekil 4.26. Kalp dokularına ait H-E boyanmış mikroskobik görüntüler.

Torasik aort damar dokusu incelendiğinde, kontrol (Şekil 4.27, 5a), taşıt (Şekil 4.27, 5b), Kurkumin (Şekil 4.27, 5c), YY grubu (Şekil 4.27, 5d) ve YY + Kur grubu (Şekil 4.27, 5e) deneklerde herhangi bir patolojik değişikliğin bulunmadığı belirlenmiştir. Damarın intima, media ve adventisya katmanlarında normal histomorfolojik yapıların

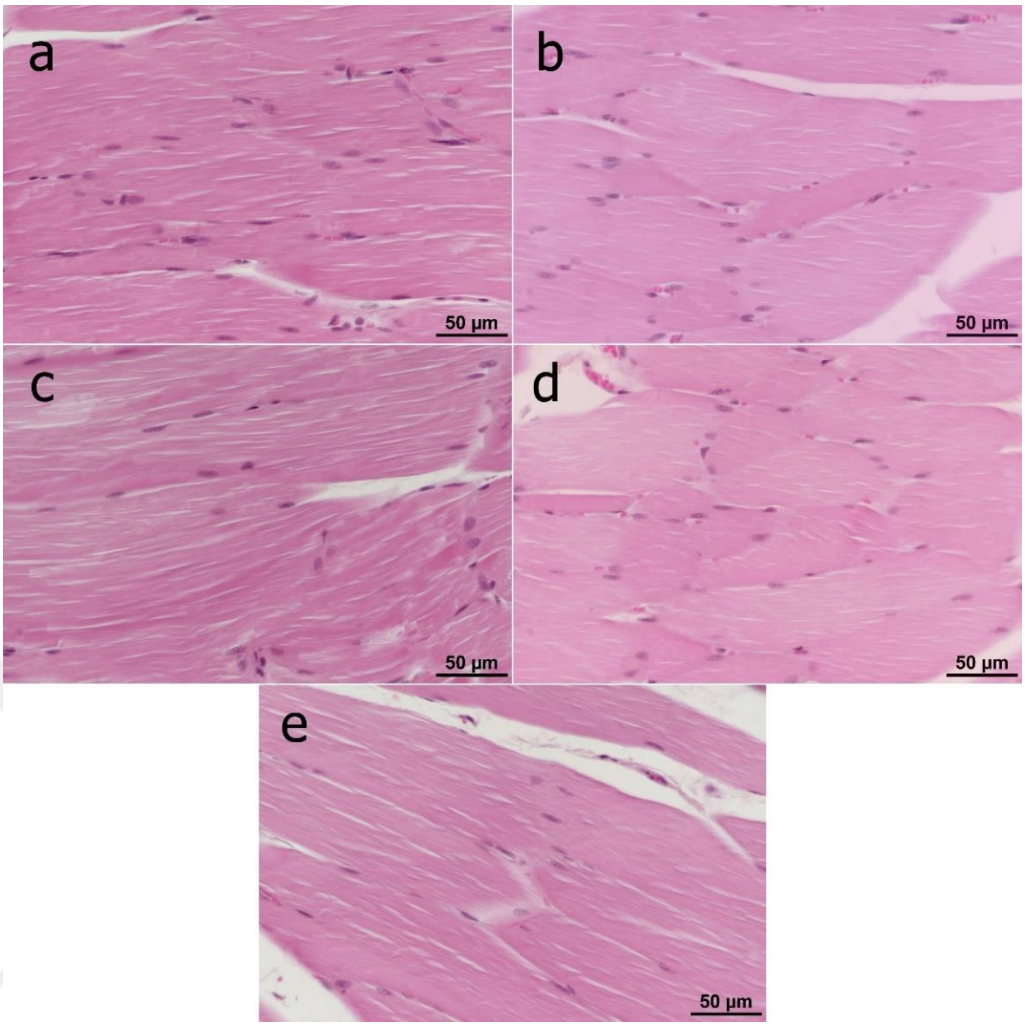
mevcut olduğu gözlemlenmiştir ve damarda yağ depozizasyonuna ilişkin herhangi bir bulguya yağlı diyet uygulanan deneklerde rastlanmamıştır.



a) Kontrol grubu, b) Taşıt grubu, c) Kur grubu, d) YY grubu, e) YY + Kur grubu (Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY).

Şekil 4.27. Damar dokularına ait H-E boyanmış mikroskobik görüntüler.

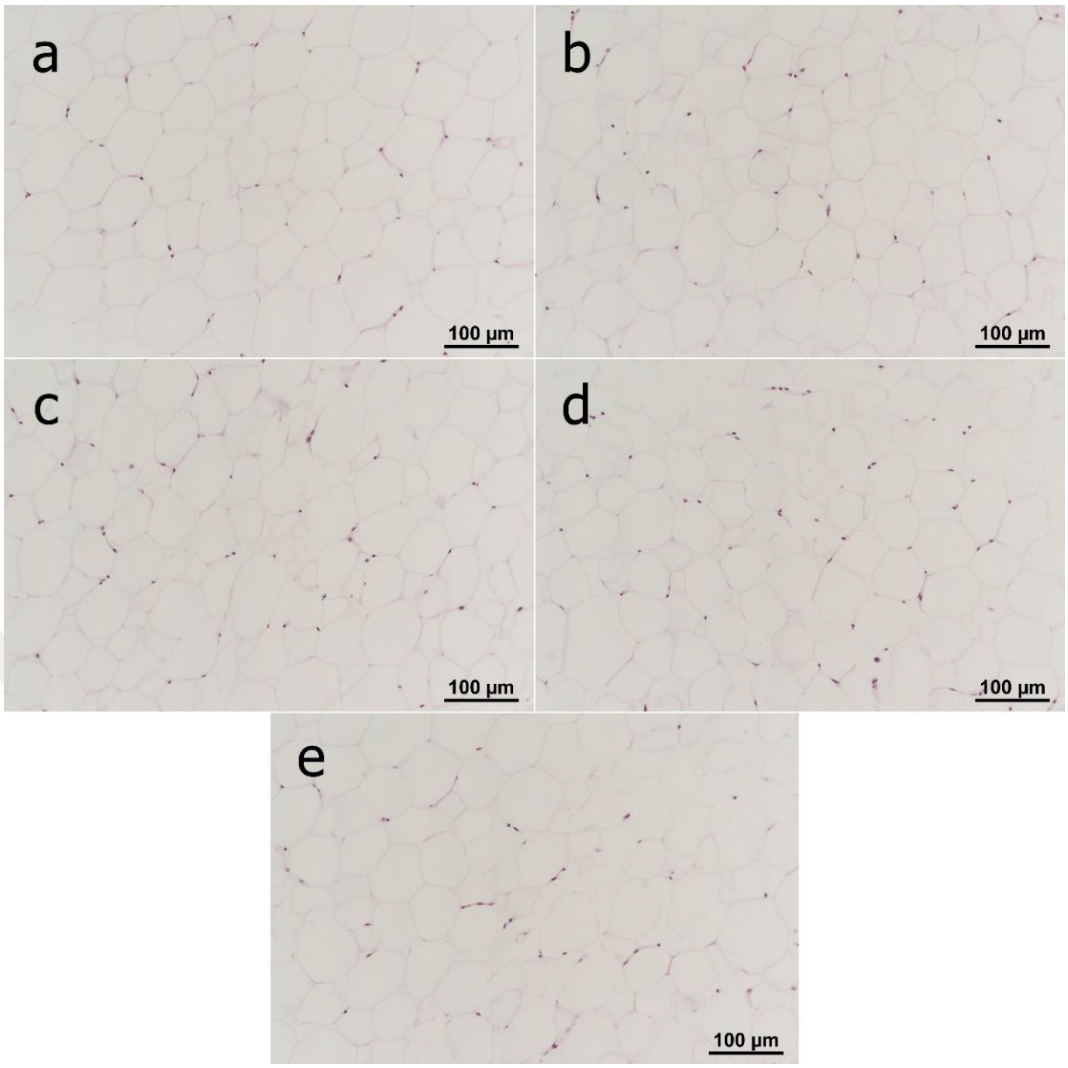
Çizgili kas dokusunda, kontrol (Şekil 4.28, 4a), taşıt (Şekil 4.28, 4b), Kurkumin (Şekil 4.28, 4c), YY grubu (Şekil 4.28,4d) ve YY + Kur grubu (Şekil 4.28, 4e) deneklerde normal histomorfolojik yapı gözlemlenirken herhangi bir patolojik değişikliğe rastlanmamıştır.



a) Kontrol grubu, b) Taşıt grubu, c) Kur grubu, d) YY grubu, e) YY + Kur grubu (Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY).

Şekil 4.28. Kas dokularına ait H-E boyanmış mikroskobik görüntüler.

Beyaz yağ dokularının incelenmesinde kontrol (Şekil 4.29, 6a), taşıt (Şekil 4.29, 6b), Kurkumin (Şekil 4.29, 6c), YY grubu (Şekil 4.29, 6d) ve YY + Kur grubu (Şekil 4.29, 6e) deneklerde hücresel bazda herhangi bir farklılığın ve patolojik değişikliğin olmadığı gözlemlenmiştir. Herhangi bir hiperplastik veya hipertrofik durum gruplar arasında fark edilmemiştir.



a) Kontrol grubu, b) Taşıt grubu, c) Kur grubu, d) YY grubu, e) YY + Kur grubu (Kurkumin (Kur), Yüksek Yağlı Yem (YY).

Şekil 4.29. Beyaz yağ dokularına ait H-E boyanmış mikroskobik görüntüler.

5. TARTIŞMA

Gıda üretiminin endüstrileşmeye başlaması ve işlenmiş gıdaya ulaşımın kolaylaşmasıyla birlikte dünyada obezite gün geçtikçe yaygınlaşmaya başlamıştır. Obezitenin metabolik mekanizmasını aydınlatmak adına çoğunlukla insanlarda oluşan obeziteyi taklit etmek için YYD tüketen kemirgen modelleri kullanılmaktadır (127). Araştırmamızda 12 hafta boyunca YYD ile beslenen sıçanların vücut ağırlıklarının standart yem tüketen gruplara kıyasla daha fazla arttığı gözlemlendi. İnsanlarda obezite derecesini belirten VKİ oranının sıçanlarda karşılığı olan hesaplama modeli Lee indeksidir. Araştırmamızda Lee indeksinin en fazla olduğu grup yüksek yağlı yemle beslenen grup idi. Bu sonuçlar yüksek yağlı yemle beslenen grupta obezite modelinin oluştuğunu doğrular niteliktedir. Zerdeçal bitkisinin antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşeni olan Kurkumin uygulaması YYD beslenmesinde kilo alımını yavaşlatmaktadır (128). Çalışmamızda YYD ile birlikte Kurkumin verilen grubun vucüt ağırlığının YYD tüketen gruba kıyasla daha düşük olduğu tespit edildi. Aynı şekilde tüm grupların haftalık yem tüketim miktarları karşılaştırıldığında kontrol grubu ile YYD ile beslenen grupların diğer gruplardan daha fazla yem tüketimi yaptığı gözlendi. Yapılan bir araştırma; yağ oranı yüksek beslenme şeklinin zamanla iştah üzerinde yeme miktarını artırdığını buna mukabil Kurkumin tüketiminin iştah yolaklarında etkili olarak kilo alımını yavaşlattığını bildirmiştir (111). Obezitede Kurkumin'in etkilerini derleyen bir çalışmada, lipid sentezini, depolamasını ve birikimini baskılayabileceği ve lipid metabolizmasında yer alan enzimleri düzenleyerek yağ asidi yıkımını teşvik edebileceğini göstermektedir (103). Araştırmamızda Kurkumin'in yüksek yağlı diyetle uygulanmasının vücut ağırlığı gibi yem tüketme eğilimininde azalmaya neden olduğunu gözlemledik. Bu bulgu diğer araştırmalar ile paralellik göstermekte ve Kurkumin'in iştah azaltıcı ve bazal metabolizma hızını artırıcı etkilerinin olabileceğini desteklemektedir.

Araştırmamızda kalp, karaciğer ve böbrek organ ağırlıklarının yüksek yağlı yem tüketen obez grupta anlamlı olarak daha fazla olduğunu tespit ettik. Kurkumin verilmesinin organ ağırlıkları açısından anlamlı bir farklılık oluşturmadığı da tespit edildi.

Obezite, insülin direncini tetikleyerek kan glukoz düzeyini önemli ölçüde etkilemekte ve bu da açlık kan glukozunun yükselmesine yol açmaktadır (129, 130). Yüksek yağlı diyetin hem insan hem de hayvan çalışmalarına ait derlemelere

bakıldığında, özellikle karın bölgesinde biriken yağ dokunun insülin direnci riskini artırdığı ve tip-2 diyabete yol açtığı ortaya konmuştur (44, 50). Obezite durumunda dolaşımda artan serbest yağ asitleri ve gliserol ile birlikte insülin yolağının etkilendiği ve devamında obez bireylerde insülin direncinin, dolayısıyla da tip-2 diyabetin geliştiği bilinmektedir (61, 130). Çalışmamızda serum insülin seviyelerinde anlamlı bir fark olmamakla birlikte haftalık kan glukoz ölçüm sonuçlarında YYD tüketen gruplarda kan glukoz seviyesinde artış tespit edilmiştir. Ancak serum insülin seviyeleri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi. Yapılan araştırmalar, çoğunlukla abdominal bölgede yağ dokusunda meydana gelen artışın karaciğerden glukoz üretimini artırdığını, buna bağlı olarak meydana gelen insülin direnci nedeni ile kan glukoz seviyesindeki yükselmenin durmadığını bildirmişlerdir. Buna mukabil yağ dokunun daha çok deri altında arttığı durumlarda insülin direncinin gelişmediği ve obezite ile sağlıklı gruplar arasında insülin seviyeleri açısıdan bir fark bulunamadığını da ortaya koyan araştırmalarda mevcut olup bizim bulgularımızı destekler niteliktedir (131).

Obezite insülin direnci, tip-2 diyabet ve metabolik sendromun gelişiminde nedensel bir rol oynayan kronik enflamasyonla da ilişkilendirilmektedir. Çalışmalar, Kurkumin uygulamasının diyabetik sıçanlarda açlık kan şekeri düzeylerinde bir azalmaya yol açtığını ve bunun da glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rolü olduğunu iddia etmektedir (132). Aşırı kilolu veya obez erkekler üzerinde yapılan bir çalışma, Kurkumin'in prednizolon ile birlikte uygulandığında, Kurkumin'in prednizolon kaynaklı ortaya çıkan insülin direnci veya diğer glikometabolik bozukluklar üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olmadığını da ortaya çıkarmıştır (133). Biz de benzer olarak çalışmamızda Kurkumin'in obez grupta kan glukoz seviyesi üzerine bir etkisini tespit edemedik. Obezitede artan yağ doku insülin direncine katkıda bulunurken, Kurkumin'in artan lipid ürünlerine etkisi ile insülin ve kan glukoz seviyelerinin düzenlenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (104, 132). Obezite durumunda artan yağ doku miktarı ile kardiyovasküler problemlerin meydana gelme riski de artmaktadır (60, 134). Kalp aritmisi genel olarak kardiyolojik bozukluklarla seyrederken, obezite ve yağ metabolizmasındaki düzensizlikler bu riski artırırmaktadır ancak, zayıflama ile aritmi problemlerinde de azalma gözlenmektedir (135). Çalışmamızda aritmi sadece YYD tüketen gruplardaki hayvanlarda tespit edilmiş ve diğer gruplarda aritmi seyredilmemiştir. EKG incelemelerinde gruplar arasında ve tek başına tüm hayvanlarda ST segment ölçüm farklılığı ve anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Bununla birlikte T negatifliği YYD

tüketen gruplarda daha belirgin iken kontrol grubunda rastlanmamıştır. Ani ölüm ve kalp yapısındaki bozukluklarla ilişkilendirilen bu değerler için obezite çalışmalarında düzenli sonuçlar elde edilememiş görülmektedir (136). Obez ve sağlıklı bireyler arasında karşılaştırmaya dayanan araştırmaların sonuçlarına göre, özellikle karın bölgesinde biriken yağ kütlesi ve beraberinde gelişen enflamasyon, damarlarda kan basıncında artışa yol açarak hipertansiyon riskini yükseltmektedir (60, 134). Obez bireylerde yapılan çalışmalarda QRS sürelerinde uzamalar, T dalgasında değişimler tespit edilmiştir ancak bu çalışmalar diğer kardiyolojik bozukluklarla kıyaslanarak genişletilmelidir (137). Araştırmamızda YYD gruplarında beklenenin aksine daha düşük kan basıncı ölçülmüştür. Aynı zamanda damar ve kalp dokularında histopatolojik olarak yağlanma izlenmemiştir. Ancak YY + Kur grubunda Kur grubundan daha uzun QRS süresi izlenmesi, Kurkumin'in metabolik yolakların aktive olduğu durumlarda kardiyak parametrelere daha az etki ettiğini düşündürmektedir. Atriyal ve ventriküler depolarizasyon arasındaki zamanı yansıtan PR değerlerine bakıldığında ise YYD tüketen gruplarda anlamlı bir farklılık bulunamamış olup Kurkumin'in etkisi de gözlenememiştir. Kurkumin'in kardiyovasküler operasyonların iyileşme sürecinde hızlanma sağladığı, kardiyotoksik etkili ilaçların yan etkilerini azalttığı ve kardiyak ölçümlerde iyileşmeye yol açtığı birçok çalışmada gösterilmiştir (138, 139). Araştırmamızın 12 hafta olan süresinin kısa olması kardiyolojik parametrelerde değişimin gözlenmemesinin nedenlerinden biri olabilir.

ALT, AST ve ALP enzimleri karaciğer hücre hasarı ve karaciğer enflamasyonunun tespiti için önem arz etmektedir (140). Hem insanlarda hem hayvanlarda birçok dokuda üretilerek metabolik düzeni sağlayan bu enzimlerin seviyelerinde meydana gelen % 50'den fazla artış karaciğer enflamasyonu için incelemeye ön ayak olmaktadır (141). Yapılan çalışmalarda genel olarak serum ALP, AST ve ALT değerleri obezitede daha yüksek tespit edilmektedir (141, 142). Araştırmamızda YY ve YY + Kur grupları ALP enzim aktivitesi kontrol, taşıt ve Kur gruplarına kıyasla yüksek bulundu. YY + Kur grubu AST aktivitesi YY, Kur ve taşıt grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir yükseliş gösterdi. YY + Kur grubu ALT enzim aktivitesi YY, taşıt ve Kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edildi. Araştırmamızda obez grubun ALP seviyesinin diğer gruplardan önemli bir artış göstermesi histopatolojik incelemede karaciğerde gözlenen yağlanma ile ilişkili olabilir. Kurkumin'in, AYKH olan bireylere takviye olarak verildiğinde ALT ve AST enzim aktivitelerinde düşüş sağladığı gösterilmiştir (143). Kurkumin'in AYKH durumuna da

öncülük eden viseral yağlanma durumunda artmış karaciğer enzimlerini düşürme etkisi çalışmamızda gözlenememiş aksine, YYD ile beslenen gruplara verilen Kurkumin bu enzimleri artırmış bulundu. Chang ve arkadaşlarının YYD ile beslenen fare çalışmasında olduğu gibi, Kurkumin'in kan glukoz seviyesine etki ederken hiperlipidemiye bağlı artan AST ve ALT enzimlerinde düşüş göstermesi beklenmekteydi (144). Imam ve arkadaşlarının olgu raporuna göre sağlıklı bir kadının bir ay boyunca yüksek dozda (500 mg/gün) Kurkumin takviyesi aldıktan sonra hepatit semptomları gösterdiği, bununla birlikte AST ve ALT enzimlerinin normal üst sınırdan 20 kat fazla olduğu gözlenmiştir (145). Kurkumin'in yüksek dozda veya uzun süreli kullanımında, karaciğere olan toksik etkileri bazı derlemelerde bir arada sunulmuştur (146, 147). YYD ile birlikte Kurkumin verilmesinin karaciğerde yağ artışı ile birlikte enzimlerde yükselmeye neden olduğunu söyleyebiliriz.

Plazma kolesterol seviyeleri ve bununla birlikte ölçümleri yapılan HDL, LDL ve VLDL değerleri dolaşım problemlerinin riskini belirlemek amaçlı kullanılırken, artmış kolesterol ve türevleri kardiyovasküler riskler oluşturabilmektedir (148). Araştırmamızda Serum kolesterol ve HDL miktarları YY ve YY + Kur gruplarında diğer gruplara göre yüksek bulundu. YY+Kur grubu kolestrol ve HDL miktarları YY grubuna göre anlamlı bir düşüş gösterdi. Serum LDL sonuçlarında gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Çalışmamızda YYD tüketen gruplarda ölçülen kolesterol ve HDL seviyeleri araştırmalarla uyumlu olarak diğer gruplara kıyasla yüksek bulunmuştur (149, 150). HDL, kandaki fazla kolesterolü karaciğere taşıyıp atılımını sağlamaya yardımcı olmaktadır ve Kurkumin'in de yapılan çalışmalarda HDL miktarını artırdığı gösterilmiştir (104). Sonuçlarımıza göre YYD ile artan kolesterol ve HDL seviyeleri, Kurkumin aracılığıyla ortak bir şekilde azalmıştır. Bu durumda Kurkumin'in kolesterol seviyesini azalttığı ve buna bağlı olarak kolesterol ile doğru orantılı miktarda bulunan HDL seviyesini de düşürdüğü öne sürülebilir. Bir meta analiz çalışmasında bireylerin beslenmesine takviye olarak kullanılan Kurkumin'in kolesterolü önemli ölçüde azalttığı ancak HDL seviyeleri üzerinde önemli bir etkisi olmadığı gösterilirken (151), Alwi ve arkadaşlarının çalışmasında düşük dozda Kurkumin'in HDL seviyelerini artırabileceği gösterilmiştir (152). Kurkumin, hepatik enzimlerden açil-CoA kolesteril astetil transferazı inhibe edebilmekte ve böylece kolesterolün azalmasını sağlayabilmektedir (153). Karaciğerde artan kolesterol, yağ asidi enzimi FAS genini inhibe ederek yağ

asitlerinin oksidasyonunu artırabilir ve Kurkumin kolesterol taşınmasından sorumlu HDL seviyesini artırarak bu oksidasyona müdahil olabilir (153). Çalışmamızda LDL seviyesinin kolesterol değişimleriyle etkilenmediği, HDL seviyesinin kolesterol ile uyumlu olarak YYD beslenmesinde artıp Kurkumin desteğiyle azaldığı gösterilmiştir.

Obez bireylerde yapılan çalışmalarda kolesterolün yanı sıra trigliserit ve VLDL miktarları da yüksek bulunurken, bunun kardiyovasküler hastalıklarla birlikte seyrettiği ve riski artırdığı da ortaya konmuştur (148, 150). Obezite ile dolaşımda artan lipid metabolitlerinin karaciğer ve kas dokusunda birikmesi ile insülin yolağında bozulmalar meydana gelmektedir ve insülin direnci oluşmaktadır (154, 155). YYD tüketen gruplarda trigliserit ve VLDL miktarları için anlamlı bir fark bulunamasa da, tek başına Kurkumin veilen grup kontrol grubuna kıyasla bu değerlerde azalma sağlamıştır. Kurkuminin lipidemi düzenlenmesinde olumlu etkisi olduğunu belirten çalışmalarla birlikte (12, 104, 151) yüksek yağlı beslenme çalışmalarında plazma yağ seviyesine anlamlı etki göstermediği de bildirilmiştir (156).

Bu tezde, serum üre azotu ve BUN seviyesi YY ve YY + Kur gruplarında kontrol, taşıt ve Kur gruplarına kıyasla düşük bulundu. YY ve YY+Kur grubu serum albümin miktarı diğer tüm gruplardan yüksek tespit edildi. Obezite ile birlikte meydana gelen insülin direnci ve kardiyovasküler bozukluklar böbrek sağlığını da etkileyerek üre ve BUN seviyelerinde değişimlere neden olabilmektedir (157). Obezitede artan yağ doku ile kas dokusundaki azalma proteinin metabolize edilmesini zorlaştırabileceği ve kas içi yağ dokunun artışıyla insülin metabolizmasının zarar göreceği Hegarty ve arkadaşlarının YYD ile beslenen sıçan çalışmasında gösterilmiştir (158). Kronik böbrek hastalığı olan bireylerle yapılan bir çalışmada artan yağ dokunun, böbreğin temizleme işlevinde bozulmaya ve bunun üre birikimine yol açmasına, azalan kas dokunun protein metabolizmasında azalmaya ve daha düşük üre üretimiyle sonuçlandığı gösterilmiştir (159). Nitekim çalışmamızda YYD tüketen grupların serum üre azotu ve BUN seviyeleri daha düşükken, albümin miktarlarında artış meydana gelmiştir. Histopatolojik olarak böbreklere ait incelemede bir farklılık bulunmaması da, bu değişimlerin daha çok serumda artan yağ ve protein miktarıyla ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Albümin karaciğer tarafından üretilen bir plazma proteini olarak, yağ dokuda serbest yağ asitlerinin taşınmasını kolaylaştırırken, insanlarda düşük plazma albümin konsantrasyonları artan kilo ile enerji düzenlenmesi ile ilişkilidir (160, 161). Albümin nakavt farelerde yapılan bir çalışmada plazmada serbest yağ asidi miktarının azaldığı ve insülin duyarlılığının

arttığı gösterilmiş ve albümin lipid metabolizmasında rol aldığı belirtilmiştir (161). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarla birlikte YYD tüketiminin artan yağ asidi miktarıyla birlikte karaciğerden üretimini artırabileceğini, bunun yanında yağ metabolizmasının protein metabolizmasını kısıtlayarak serumda üre azotu ve BUN seviyesini düşürebileceğini öne sürebiliriz. Araştırmalar, serum kreatinin düzeylerinin aşırı kilolu ve obez bireylerde normal kilolu kişilere kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olduğunu ve yetişkinlerde gözlemlenen kreatinin ile VKİ arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermiştir (157, 162). Kurkuminin nefrotoksisite koruyuculuğu ve serum kreatinin seviyesini düşürdüğü çalışmalarda gösterilmiştir (163, 164). Çalışmamızda sadece Kurkumin grubunda anlamlı kreatin seviyesi düşüklüğü gözlenirken YYD ile beslenen grupta Kurkumin'in kreatini azaltma etkisinin yetersiz kaldığı görülmektedir. Ayrıca YYD tüketen gruplarda nefrotoksisite ile ilişkilendirilecek bir kreatinin artışı da izlenmemiştir ve böbrek dokusunun histopatolojik incelemesinde patolojik bir bulgu olmaması da bu sonuçları desteklemektedir.

Bu tezde, karaciğer doku örneklerinden analiz edilen MDA düzeylerine bakıldığında obez grubu MDA seviyesi kontrol, taşıt, Kur ve YY + Kur gruplarına göre artış gösterirken, obez grubuna Kurkumin uygulamasının MDA seviyesini kontrol grubu seviyesine düşürdüğü tespit edildi. Obeziteyle birlikte metabolik yolaklar içinde artan serbest yağ asitleri ile lipid oksidasyon mekanizması da tetiklenmektedir ve artan seviyelerde oksidatif stres tespit edilmektedir (69). Araştırmalar, obez bireylerin MDA düzeylerinde artış ile SOD ve CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde değişimler olabileceğini göstermektedir (165). Obezite ile vücutta yüksek oksidatif stres oluşumu gözlenmekte, hücrelerde lipid peroksidasyonu ile MDA gibi zararlı bileşikler meydana gelebilmektedir (166, 167). Araştırmamızda obez grupta tespit edilen yüksek MDA seviyesi, hücresel ve doku düzeyinde oksidatif hasarın bir sonucu olarak lipid peroksidasyonunun başladığını gösteren önemli bir bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Karaciğer MDA düzeyinde obezite ile meydana gelen artış Kurkumin ile azalmıştır. Kurkuminin antioksidan özelliği ile bu durum gözlenmiş olabilir. Nitekim, birçok klinik çalışmada obez insanlara Kurkumin takviyesi ile MDA seviyelerinde düşüş gösterilmiş ve oksidatif stresin azalarak metabolik sağlığın düzelmesinde faydalı olduğu öne sürülmüştür (167-169). YYD ile beslenen hayvan çalışmalarının da birçoğu, artan lipid metabolizması ile ortaya çıkan yüksek MDA düzeylerinin Kurkumin'in antioksidan etkisiyle azaldığını göstermektedir (69, 170).

Karaciğer doku YY + Kur grubu GSH seviyeleri taşıt, Kur ve YY grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek ölçüldü. Obez sıçanlarda GSH düzeylerinin böbrek ve karaciğer dokularında azaldığı ve kalp dokularında arttığı gösterilmiştir (69, 171). Diğer yandan obez çocuklarda GSH düzeyleri düşük, metabolik sendromu tespit edilen obez hastalarda ise yüksek GSH düzeyleri gösterilmektedir (171). Çalışmamızda YYD ile beslenen gruplardan YY + Kur grubunun kontrol ile benzer seviyede ve diğer gruplardan yüksek GSH seviyesinde olması Noeman ve arkadaşlarının bulgularıyla benzeşmektedir (171). 4 hafta boyunca YYD uygulanan sıçanlara ait GSH seviyelerini inceleyen Noeman ve arkadaşları, yüksek yağlı yem tüketen hayvanlara ait karaciğer örneklerinde yükseldiğini tespit etmiştir (171). Vücudun antioksidan savunma sistemlerinden biri olan GSH, yüksek oksidatif stres durumunda yetersiz kalabilir ve bu durumda seviyesi düşebilir (69). Kurkumin, YYD ile beslenmede lipid metabolizması etkisiyle artan MDA seviyesini düşürürken, azalan GSH seviyesini de yükseltmiştir. Obez grubunda gözlenen Kurkumin uygulaması ile artan GSH seviyesi, Kurkumin'in antioksidan etkisi nedeniyle görülmüş olabilir.

Obezitede artan yağ doku ile birlikte ortaya çıkan oksijen radikallerine karşı vücudun savunma mekanizmalarından biri olan SOD enzimi aktivitesinin, bazı çalışmalarda arttığı gösterilirken diğer yandan, insülin direnci ile oksidatif strese adaptasyon sağlayarak zamanla SOD aktivitesinin azaldığı ve artan diğer biyokimyasal parametrelerle ilişkili olduğu öne sürülmektedir (68, 172). Çalışmamızda YYD ile beslenen grupların karaciğer SOD enzim aktivitelerinde azalma olması da literatürle benzerdir. Torkanlou ve arkadaşları obez bireylerde yaptıkları araştırmalarında, serum çinko ve SOD seviyelerinin birlikte azaldığını ve bu durumun azalan antioksidan tepki nedeniyle bir risk oluşturabileceğini öne sürmüştür (67). SOD enzimi obezitenin neden olduğu oksidatif stresi dengelemede başlangıçta olumlu etki gösterirken, zamanla bunun yeterli olmadığı da gösterilmiştir (173). Kurkumin uygulaması SOD enzim aktivitesini artırabilmektedir. Nitekim, Hassan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da YYD ile beslenen sıçanlarda SOD aktivitesinde azalma görürken, YYD ile Kurkumin verilen grupta SOD aktivitesini YYD grubuna kıyasla artmış bulmuşlardır (174). Buna karşın Gabr ve arkadaşlarının kanser hücreleriyle yaptığı çalışmada yüksek konsantrasyonda Kurkumin'in SOD aktivitesini azalttığı ve düşük konsantrasyonda artırdığı da tespit edilmiştir (172, 175). Çalışmamızda yalnızca Kurkumin uygulmasında kontrol ve taşıt grubuna kıyasla düşük SOD aktivitesi görülmesinin

uygulanan Kurkumin dozu nedeni ile olabileceğini düşünmekteyiz. Obezite çalışmalarında katalaz aktivitesinin genellikle artan oksidatif strese karşılık azaldığı ortaya konmuştur (176). Obezitede azalan katalaz aktivitesi nedeni ile birlikte karaciğer hasarının şiddetlenebileceği ifade edilmiştir. Nitekim Piao ve arkadaşları obez farelerde oluşan AYKH sürecinin katalaz aktivitesinin azalmasıyla hızlandığını göstermişlerdir (177). Bazı çalışmalar da, yüksek yağlı diyetlerin belirli fare türlerinde katalaz aktivitesini veya oksidatif hasarı önemli ölçüde değiştirmediği, bunun da katalaz aktivitesinin her zaman diyetten etkilenmebileceğini düşündürmektedir (178, 179). Çalışmamızda katalaz enzim aktivitesinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmaması da yağlı diyetin enzim aktivitesine yeterine etki etmediği sonuçlarına katkı sağlayabilir.

Obezitede beyaz adipoz dokuda meydana gelen enflamasyonun CRP artışına katkısı olduğu, ancak bunun cinsiyet, yaş, yağ kitle oranı ve VKİ gibi parametrelere bakılarak yorumlanması gerektiği araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (180). Lipid birikimiyle birlikte karaciğer, kas ve adipositokinlerde CRP artışı özellikle viseral yağ dokudan kaynaklı IL-6 ve TNFα gibi sitokinlerin artmasına neden olurken, bu sitokinlerin artışı da CRP üretimini indüklemektedir (181, 182). Obezite ile birlikte seyreden kronik enflamasyon belirteçlerinden biri olan CRP seviyesi YYD grubu serumlarında farklı bulunamadı. Kurkumin'in obeziteye bağlı adipoz doku enflamasyonunu azalttığı ve bununla ilişkili proteinlerin seviyelerine olumlu yönde etki ettiği gösterilmiştir (119, 128, 183, 184). Araştırmamızda YYD ile beslenmenin serum CRP seviyelerinde etkisini gösterecek kadar enflamasyon oluşmadığı ve çalışma süresinin daha uzun olması halinde farklılık gözlenebileceği ihtimali düşünülmüştür.

TNFα, obez hayvan modellerinde yağ dokudan indüklenerek diyabet oluşumuna ve insülin direncine katkıda bulunmakta, obezitede IL-6 gibi diğer enflamatuvar sitokinlerle artışı gözlenmektedir. Plazma seviyeleri için obez bireylerde tespit edilemeyecek kadar az olduğu da gösterilmiştir (59, 185). Çalışmamızda YYD tüketen gruplarda serum TNFα seviyelerinde anlamlı bir farklılık görülmemiştir. YYD ile beslenen hayvanların serum trigliseritlerinde de farklılık bulunmaması, adipokinde TNFα ve CRP gibi obezite enflamasyonu belirteçlerine etki edecek kadar artış olmadığını düşündürmektedir. TNFα, obezitede insülin direnci ve viseral yağ artışına bağlı öne çıkan sitokinlerden biri olup çalışmamızdaki hayvanların yağ kütlesinin bu sitokinin seviyesine etki edecek kadar artmadığı sonucuna varmaktayız. Kurkumin öncül enflamatuvar

sitokinlerin yağ dokudan üretimini azaltmakta etkili bir molekül olarak ortaya konmuştur (186). Serum TNFα miktarlarına bakıldığında, Kurkumin verilen gruplarda bir denge sağlandığını, ancak mısır yağı verilen taşıt grubunda Kurkumin verilmeyen gruplara kıyasla görülen artışın normal diyete eklenmiş mısır yağının enflamatuvar bir risk oluşturduğunu gösterebilir. Rusyn ve arkadaşları Kupffer hücrelerine verilen mısır yağı ile TNFα üretiminde önemli bir artış bulmuştur ve araştırmamızda gözlemlediğimiz taşıt grubunda TNFα artışının da benzer şekilde 12 hafta boyunca mısır yağı tüketimi nedeni ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir (187). Buna rağmen Kurkuminle birlikte mısır yağı verilen gruplarda bu artışın görülmemesi, Kurkumin'in yağdan kaynaklı enflamatuvar riski bertaraf edebileceğini düşündürmektedir.

Obezite enflamasyonunda öne çıkan bir diğer sitokin olan IL-6'nın da artmış yağ doku ve VKİ ile doğru orantılı olarak arttığı gösterilmiştir (48, 185). Karaciğer dokusundan ELISA yöntemi ile ölçülen IL-6 seviyeleri için çalışmamızda anlamlı bir fark bulunmamıştır. Araştırmalar çoğunlukla plazma ve yağ doku IL-6 seviyelerinde farklılık tespit etmiştir. Bu araştırmalar azalan IL-6 seviyesi ile steatozun ve dolaşımdaki lipid ile leptin seviyesinin arttığını göstermiştir (188, 189). Hayvanların histopatolojik incelemesinde karaciğer dokusunda yağlanma oranının az olduğu ve yağ doku incelemesinde patolojik bir bulgu olmadığı göz önüne alındığında IL-6 üretimini etkileyecek kadar enflamasyon oluşmadığını söyleyebiliriz. Bazı çalışmalarda IL-6'nın obezite ilişkili insülin direncine katkıda bulunduğu öne sürülse de, IL-6'nın genetik olarak eksik olduğu farelerde obezite gelişimi gözlenmemiştir (190, 191). Grupların insülin seviyesinde fark görülmemesi ile IL-6'nın insülin direncine olan katkısı paralellik göstermektedir. Bu durum, viseral yağın yeterince artmaması ve buna bağlı olarak insülin direnci gelişimine katkıda bulunan sitokinlerde de bir artış olmadığını düşündürmektedir.

Bir diğer metabolik enflamasyon belirteçlerinden olan IL-1β'nın obezitede artışı ile birlikte tip-2 diyabete yol açan insülin direncine katkı sağladığı gösterilmiştir (5, 58, 192). Çalışmada IL-1β seviyesi en fazla YY grubunda tespit edilmiş ve YY ile YY + Kur grupları IL-1β seviyesi diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. IL-1β sinyali, obezitede hepatik lipogenezi düzenler ve obez farelerde patojenik hepatik steatozun indüklenmesi için gerekli sitokinlerdendir (193). Obezitede IL-1β, insülin direncinine ek olarak AYKH gelişimini tetikleyerek devamında tip-2 diyabet oluşmasına katkıda bulunmaktadır (194). Serum CRP ve karaciğer IL-6 seviyelerinde fark görülmese de IL-1β seviyesi karaciğerde histopatolojik steatoz görüntüsüyle uyumlu olarak

artmıştır. Kurkuminin IL-1β adipoz doku seviyesinde, bazı çalışmalarda da plazma seviyesinde azalmaya neden olduğu ve birlikte enflamasyonu düşürdüğü, bazı çalışmalarda da etkisinin olmadığı gösterilmiştir (48, 193, 195). Nükleer faktör kappa B (NF-κB) ve p38 MAPK sinyal yolakları, IL-1β'nın hem mRNA hem de protein seviyesini karaciğer üzerinde kontrol eden mekanizmalardandır ve Kurkumin'in bu yolakları inhibe ederek IL-1β seviyesine etki ettiği gösterilmiştir (196). YYD gruplarında artan IL-1β seviyesi Kurkumin uygulaması ile azalmamıştır. Çalışmamızda obezitede tüm sitokinlerde artışın görülememesinin nedeni bu sitokinlerin üretiminde etkili olan NF-κB ve MAPK yolaklarının yeterince enflamasyon oluşup tetiklenmemesinden kaynaklanmış olabilir. IL-1β seviyeleri taşıt ve Kur gruplarında kontrol grubuna göre artmış bulundu, bu duruma Kurkumin'in çözücüsü olarak kullanılan mısır yağının neden olabileceğini düşünmekteyiz. Nitekim yapılan bir çalışmada mısır yağı açısından zengin diyetin enflamatuvar yolakları tetikleyerek dolaylı bir şekilde IL-1β seviyesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (197). Bu çalışmada da YY + Kur grubunda IL-1β seviyesinde yeterince azalma görülmemesinin bir diğer nedeni olabileceği kanaatini taşımaktayız.

Obezitede TRPM2, oksidatif stres ve enflamasyon gibi faktörlerle tetiklenen Ca^{+2} girişinin düzenlenmesinde rol almaktır. TRPM2 kanal proteininin üretimindeki artışının obezite enflamasyonuna katkıda bulunduğu ve inhibe edilmesinin yağ doku enflamasyonunda azalma sağladığı gösterilmiştir (94, 95). Bu araştırmada karaciğer dokusunda incelenen TRPM2 mRNA seviyesi için gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte, TRPM2 protein seviyeleri karşılaştırıldığında YY grubuna ait karaciğer TRPM2 protein seviyesi diğer gruplara kıyasla yüksek bulunmuştur. Araştırmalar TRPM2 gen ifadesinin obez farelere ait endotel hücrelerde arttığını ve bunun insülin direnci ile endotel bozukluğa neden olduğunu göstermektedir (198). Aynı zamanda artan TRPM2 proteininin endotel hücrelerine Ca^{+2} beraberinde NO girişini artırarak gevşemeye ve kan basıncında azalmaya neden olabileceği de gösterilmiştir (199). Karaciğer TRPM2 gen ifadesinde bir farklılık bulunmasa da YY grubunda yüksek miktarda TRPM2 proteini tespit edilmesi ve hemodinamik parametrelerde tespit edilen kan basıncının azalmış olması Alves-Lopes ve arkadaşlarının bulguları ile örtüşmektedir (199). Obeziteye ait yağ doku kaynaklı enflamasyon ile ADPR ve H_2O_2 gibi radikallerin artışıyla TRPM2 aktivasyonunun artması beklenmektedir (13) Çalışmamızda bu artışı gen seviyesinde izleyemesek de protein seviyesinde tespit edebildik. Kurkuminin sıçan hepatosit hücrelerinde TRPM2'yi *in vitro* olarak inhibe ettiği ve bunun da oksidatif stresi

azalttığı bulunmuştur (13). Bu çalışmada YYD uygulanan gruba Kurkumin uygulmasının TRPM2 protein miktarının azalttığı tespit edilmiştir. Kurkumin'in TRPM2'yi inhibe etme özelliği protein seviyesinde gözlenmiştir. Benzer olarak yapılan bir araştırmada Khedrahpezhouh ve arkadaşları, hepatosit hücrelerinde oksidatif stres ile aktive edilen TRPM2 kanalı üzerinde Kurkumin'in inhibe edici etkisini bildirmişlerdir (13).

Standart yem ile Kurkumin verilen grupta TRPM2'nin farklı olmaması, bu çalışmaya paralel olarak oksidatif stresin artmadığı koşullarda TRPM2'nin aktivasyonunun olmadığını gösteren bir bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Buna ek olarak TRPM2'nin mRNA ifadesinden bağımsız olarak protein miktarında değişim görülmesi bu kanal proteinin transkripsiyon sonrası ya da translasyon sonrası düzenlemelerden etkilenebileceğini göstermektedir. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada kanser hücrelerinde TRPM2 gen ifadesinde bir değişim olmasa bile protein olarak miktarında bir artış görüldüğü bildirilmiştir (200). Obezite grubuna Kurkumin uygulamasının artan oksidatif stresi ile indüklenen TRPM2 protein miktarını azalttığını bununda Kurkumin'in antioksidan özelliği nedeni ile olduğunu ifade edebiliriz. TRPM2 gen ifadesinde gruplarda herhangi bir değişimin olmama nedenlerinden biri de histopatolojik olarak gözlemlenen yağ dokusu artışının gruplarda az olmasının oksidatif stresi fazlaca alevlendirmemesi nedeni ile olabileceğini düşünmekteyiz.

Bu tez çalışması; YYD ile beslenme ile obezite oluşabileceğini, bununla birlikte organizmada histopatolojik, hemodinamik, biyokimyasal, moleküler parametrelerde değişiklikler meydana gelebileceğini, Kurkumin uygulamasının bu etkileri kısmen hafiletebileceğini ortaya koymaktadır. Kurkumin uygulaması, özellikle oksidatif stresin zararlarının giderilmesinde ve bazı enflamatuvar sitokinlerin seviyelerinin düzenlenmesinde olumlu etkiler göstermiştir. Kurkuminin obezite ve onun komplikasyonlarını azaltmada lipid metabolizmasını düzenleyerek ve anti-enflamatuvar potansiyeli dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar aracılığıyla etkili ve güvenli bir alternatif olabileceğini öne sürülmektedir (183).

Kurkumin TRPM2 proteini üzerinde hücresel dengeyi koruyucu bir düzenleme etkisi ile aşırı aktivasyonunu engelleyerek hücresel zararın önlenmesinde etkili olabilmektedir. Kurkumin'in bu çalışmada da görülen antioksidan ve anti-enflamatuvar özellikleri, TRPM2'nin aşırı uyarılmasını baskılayarak oksidatif hasar ve enflamasyonu azaltabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın bulguları yüksek yağlı diyetin obezite ve buna bağlı metabolik bozukluklar üzerinde önemli etkiler yarattığını ortaya koymuştur. YYD ile beslenen sıçanlarda gözlemlenen vücut ağırlığı artışı, kan glukoz seviyelerinde değişiklikler ve oksidatif stres artışı gibi obeziteyi tetikleyen ve obezite sonrası ortaya çıkabilecek mekanizmaların anlaşılması açışından önemli veriler sunmuştur.

Kurkumin'in yüksek yağlı diyetle birlikte uygulanması, vücut ağırlığını ve iştahı kontrol altına alarak, kan glukoz seviyesinin dengelenmesi, kolesterolün düşürülmesi gibi bazı metabolik parametreleri olumlu yönde etkileyebilmektedir. Ayrıca, Kurkumin'in oksidatif stresle başa çıkma konusundaki potansiyel faydaları, özellikle MDA ve GSH seviyeleri üzerindeki etkileriyle gözlemlenmiştir. Kurkumin hücresel dengeyi sağlarken, dolaylı olarak TRPM2 protein ifadesini düzenleyebilmektedir. Kurkumin ile TRPM2 arasında ki bu ilişki terapötik bir potansiyele sahip olabilir.

Çalışmamız, Kurkumin'in obeziteye bağlı bazı metabolik bozuklukların tedavisinde potansiyel bir yardımcı bileşik olarak değerlendirilebileceğini, ancak daha fazla araştırma ve uzun süreli deneylerin yapılması gerektiğini göstermektedir. Sonuçlar, Kurkumin'in oksidatif stresle mücadelede etkili olabileceği, ancak enflamasyon ve lipid metabolizmasındaki derin etkileri açısından daha fazla incelemeye ihtiyaç duyulduğunu ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

1. Hruby A, Hu FB. The epidemiology of obesity: a big picture. Pharmacoeconomics. 2015;33(7):673-89.
2. Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. Adipose tissue remodeling and obesity. J Clin Invest., 2011;121(6):2094-101.
3. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and management of obesity. N Engl J Med. 2017;376(3):254-66.
4. Dali-Youcef N, Mecili M, Ricci R, Andrès E. Metabolic inflammation: connecting obesity and insulin resistance. Ann Med. 2013;45(3):242-53.
5. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. Annu Rev Immunol. 2011;29:415-45.
6. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Vølund A, Ehses JA, Seifert B, et al. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. N Engl J Med. 2007;356(15):1517-26.
7. Dominguez H, Storgaard H, Rask-Madsen C, Steffen Hermann T, Ihlemann N, Baunbjerg Nielsen D, et al. Metabolic and vascular effects of tumor necrosis factor-alpha blockade with etanercept in obese patients with type 2 diabetes. J Vasc Res. 2005;42(6):517-25.
8. Kang JH, Goto T, Han IS, Kawada T, Kim YM, Yu R. Dietary capsaicin reduces obesity-induced insulin resistance and hepatic steatosis in obese mice fed a high-fat diet. Obesity (Silver Spring). 2010;18(4):780-7.
9. Yamamoto S, Wajima T, Hara Y, Nishida M, Mori Y. Transient receptor potential channels in Alzheimer's disease. Biochim Biophys Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. 2007;1772(8):958-67.
10. Esatbeyoglu T, Huebbe P, Ernst IM, Chin D, Wagner AE, Rimbach G. Curcumin—from molecule to biological function. Angew Chem Int Ed Engl. 2012;51(22):5308-32.
11. Bala K, Tripathy BC, Sharma D. Neuroprotective and anti-ageing effects of curcumin in aged rat brain regions. Biogerontology. 2006;7(2):81-9.
12. El-Moselhy MA, Taye A, Sharkawi SS, El-Sisi SF, Ahmed AF. The antihyperglycemic effect of curcumin in high fat diet fed rats. Role of TNF-α and free fatty acids. Food Chem Toxicol. 2011;49(5):1129-40.

13. Kheradpezhouh E, Barritt GJ, Rychkov GY. Curcumin inhibits activation of TRPM2 channels in rat hepatocytes. Redox Biol. 2016;7:1-7.
14. Alpert MA, Omran J, Bostick BP. Effects of obesity on cardiovascular hemodynamics, cardiac morphology, and ventricular function. Curr Obes Rep. 2016;5:424-34.
15. Marques Neto SR, Castiglione RC, da Silva TC, Paes LdS, Pontes A, Oliveira DF, et al. Effects of high intensity interval training on neuro-cardiovascular dynamic changes and mitochondrial dysfunction induced by high-fat diet in rats. PloS One. 2020;15(10):e0240060.
16. Chamie J. America's unhealthy lifestyles. Population levels, trends, and differentials: more important population matters. Cham: Springer Nature Switzerland; 2022. p. 285-7.
17. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. Lancet. 2014;384(9945):766-81.
18. Zhang X, Liu J, Ni Y, Yi C, Fang Y, Ning Q, et al. Global prevalence of overweight and obesity in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. JAMA Pediatr. 2024; 178(8):800-813.
19. World Health Organisation (WHO), Health topics _ obesity, 2023. https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1. Son Erişim Tarihi 06 Aralık 2024.
20. T.C Sağlık Bakanlığı, Türkiye Çocukluk Çağı Şişmanlık Araştırması, COSI-TUR 2016. 1. Baskı, Ankara, sayı:1080;151-154.
21. T.C Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması (TBSA), 1. Baskı, Ankara. 2019; 1132:49-55.
22. Eurostat, official site of EU, Over half of adults in the EU are overweight. https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/ddn-20210721-2 2021. Son Erişim Tarihi 06 Aralık 2024.
23. Al-Omar HA, Alshehri A, Abanumay A, Alabdulkarim H, Alrumaih A, Eldin MS, et al. The impact of obesity in Saudi Arabia: healthcare resource use and costs associated with obesity-related complications. Adv Ther. 2023;40(4):1430-43.

24. Vesikansa A, Mehtälä J, Mutanen K, Lundqvist A, Laatikainen T, Ylisaukko-oja T, et al. The association between body mass index groups and metabolic comorbidities with healthcare and medication costs: a nationwide biobank and registry study in Finland. J Mark Access Health Policy. 2023;11(1):2166313.
25. Foraita R, Witte J, Börnhorst C, Gwozdz W, Pala V, Lissner L, et al. A longitudinal causal graph analysis investigating modifiable risk factors and obesity in a European cohort of children and adolescents. Sci Rep. 2024;14(1):6822.
26. Salem V, AlHusseini N, Abdul Razack HI, Naoum A, Sims OT, Alqahtani SA. Prevalence, risk factors, and interventions for obesity in Saudi Arabia: A systematic review. Obes Rev. 2022;23(7):e13448.
27. Catalán V, Avilés-Olmos I, Rodríguez A, Becerril S, Fernández-Formoso JA, Kiortsis D, et al. Time to consider the "exposome hypothesis" in the development of the obesity pandemic. Nutrients. 2022;14(8):1597.
28. Seo MY, Kim S-H, Park MJ. Air pollution and childhood obesity. Clin Exp Pediatr. 2020;63(10):382-8.
29. Merrill RM. Explaining the inverse association between altitude and obesity. J Obes. 2020;2020:1946723.
30. Folkvord F, Hermans RCJ. Food marketing in an obesogenic environment: a narrative overview of the potential of healthy food promotion to children and adults. Curr Addict Rep. 2020;7(4):431-6.
31. Jia P. Obesogenic environment and childhood obesity. Obes Rev. 2021; 22:e13158.
32. T.C Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Türkiye Sağlıklı Beslenme ve Hareketli Hayat Programı (2014 - 2017). 3. Baskı, Ankara; 2013:773;22-31.
33. Pekcan AG, Samur G, Dikmen D, Kızıl M, Rakıcıoğlu N, Yıldız EA, et al. Population based study of obesity in Turkey: results of the Turkey Nutrition and Health Survey (TNHS)-2010. Progress in Nutrition. 2017;19(3):248-56.
34. Pajunen P, Kotronen A, Korpi-Hyövälti E, Keinänen-Kiukaanniemi S, Oksa H, Niskanen L, et al. Metabolically healthy and unhealthy obesity phenotypes in the general population: the FIN-D2D Survey. BMC Public Health. 2011;11:1-8.
35. Caballero B. Humans against Obesity: Who Will Win? Adv Nutr. 2019;10(suppl_1):S4-S9.

36. Mechanick JI, Hurley DL, Garvey WT. Adiposity-based chronic disease as a new diagnostic term: the American association of clinical endocrinologists and American college of endocrinology position statement. Endocr Pract. 2017;23(3):372-8.
37. Rui L. Energy metabolism in the liver. Compr Physiol. 2014;4(1):177.
38. Demir M, Frohme J, Tacke F. Obesity and liver diseases. Handbook of Obesity-Volume 1: CRC Press; 4th Edition, 2024. p. 537-47.
39. Marchesini G, Moscatiello S, Di Domizio S, Forlani G. Obesity-associated liver disease. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93(11_supplement_1):s74-s80.
40. Milić S, Lulić D, Štimac D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. World J Gastroenterol: WJG. 2014;20(28):9330.
41. Shastri M, Rathod VM, Raval DM, Khan S, Mallik S, Solanki DL. Liver involvement in individuals with obesity: a cross-sectional study from Western India. J Assoc Physicians India. 2023;71(2):11-2.
42. Ali ES, Rychkov GY, Barritt GJ. TRPM2 non-selective cation channels in liver injury mediated by reactive oxygen species. Antioxidants (Basel). 2021;10(8):1243.
43. Zhong C, Yang J, Zhang Y, Fan X, Fan Y, Hua N, et al. TRPM2 mediates hepatic ischemia–reperfusion injury via Ca2+-induced mitochondrial lipid peroxidation through increasing ALOX12 expression. Research (Wash D C). 2023;6:0159.
44. Gürbüz P, Yetiş G, Çelikhan G. Obezite ve yağ dokusu. İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi. 2016;4(2):32-43.
45. Tekin S, Erden Y, Ozyalin F, Cigremis Y, Colak C, Sandal S. The effects of intracerebroventricular infusion of irisin on feeding behaviour in rats. Neurosci Lett. 2017;645:25-32.
46. Stolarczyk E. Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response? Curr Opin Pharmacol. 2017;37:35-40.
47. Erden Y, Tekin S, Kirbag S, Sandal S. Mitochondrial uncoupling proteins in the brain: their structure, function and physiological roles. Medicine Science, 2015;4(2):2289-307.
48. Lee YH, Pratley RE. The evolving role of inflammation in obesity and the metabolic syndrome. Curr Diab Rep. 2005;5(1):70-5.

49. Andersen CJ, Murphy KE, Fernandez ML. Impact of Obesity and Metabolic Syndrome on Immunity. Adv Nutr. 2016;7(1):66-75.
50. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. J Clin Invest. 2006;116(7):1793-801.
51. Wang C-Y, Liao JK. A mouse model of diet-induced obesity and insulin resistance. Methods Mol Biol. 2012:821:421-33.
52. Ak C. Bir adipositokin üyesi: leptin. Med J SDU. 2016;23(1).
53. Aslan K, Serdar Z, Tokullugil HA. Multifonksiyonel hormon: leptin. Uludağ Tıp Derg. 2004;30(2):113-8.
54. Braga Tibaes JR, Azarcoya-Barrera J, Wollin B, Veida-Silva H, Makarowski A, Vine D, et al. Sex differences distinctly impact high-fat diet-induced immune dysfunction in wistar rats. J Nutr. 2022;152(5):1347-57.
55. Sáinz N, Barrenetxe J, Moreno-Aliaga MJ, Martínez JA. Leptin resistance and diet-induced obesity: central and peripheral actions of leptin. Metabolism. 2015;64(1):35-46.
56. Yang ZH, Chen FZ, Zhang YX, Ou MY, Tan PC, Xu XW, et al. Therapeutic targeting of white adipose tissue metabolic dysfunction in obesity: mechanisms and opportunities. MedComm (2020). 2024;5(6):e560.
57. Zeyda M, Stulnig TM. Obesity, inflammation, and insulin resistance-a mini-review. Gerontology. 2009;55(4):379-86.
58. Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. J Clin Invest. 2003;112(12):1785-8.
59. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. J Clin Invest. 1995;95(5):2409-15.
60. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. Circ Res. 2005;96(9):939-49.
61. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. J Clin Invest. 2003;112(12):1821-30.
62. Beltowski J, Wojcicka G, Gorny D, Marciniak A. The effect of dietary-induced obesity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and total plasma antioxidant capacity. J Physiol Pharmacol. 2000;51(4, 2):883-96.

63. Fernández-Sánchez A, Madrigal-Santillán E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-González Á, Esquivel-Chirino C, et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. Int J Mol Sci. 2011;12(5):3117-32.
64. Nijhawan P, Arora S, Behl T. Intricate role of oxidative stress in the progression of obesity. Obesity Medicine. 2019;15:100125.
65. Matsuda M, Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. Obes Res Clin Pract. 2013;7(5):e330-e41.
66. Rani V, Deep G, Singh RK, Palle K, Yadav UC. Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. Life Sci. 2016;148:183-93.
67. Torkanlou K, Bibak B, Abbaspour A, Abdi H, Saleh Moghaddam M, Tayefi M, et al. Reduced serum levels of zinc and superoxide dismutase in obese individuals. Ann Nutr Metab. 2017;69(3-4):232-6.
68. Lewandowski Ł, Kepinska M, Milnerowicz H. Alterations in concentration/activity of superoxide dismutases in context of obesity and selected single nucleotide polymorphisms in genes: SOD1, SOD2, SOD3. Int J Mol Sci. 2020;21(14):5069.
69. Dağ M. Comparison of malondialdehyde and reduced glutathione in some rat tissues in hypoxia and obesity. Phnx Med J. 2022;4(2):67-71.
70. Block G, Dietrich M, Norkus EP, Morrow JD, Hudes M, Caan B, et al. Factors associated with oxidative stress in human populations. Am J Epidemiol. 2002;156(3):274-85.
71. Lee SM, Cho YH, Lee SY, Jeong DW, Cho AR, Jeon JS, et al. Urinary malondialdehyde is associated with visceral abdominal obesity in middle-aged men. Mediators Inflamm. 2015;2015(1):524291.
72. Yesilbursa D, Serdar Z, Serdar A, Sarac M, Coskun S, Jale C. Lipid peroxides in obese patients and effects of weight loss with orlistat on lipid peroxides levels. Int J Obes (Lond). 2005;29(1):142-5.
73. Carroll JF, Huang M, Hester RL, Cockrell H K, Mizelle L. Hemodynamic alterations in hypertensive obese rabbits. Hypertension. 1995;26(3):465-70.
74. Reddy YN, Anantha-Narayanan M, Obokata M, Koepp KE, Erwin P, Carter RE, et al. Hemodynamic effects of weight loss in obesity: a systematic review and meta-analysis. JACC: Heart Fail. 2019;7(8):678-87.

75. Fraley M, Birchem J, Senkottaiyan N, Alpert M. Obesity and the electrocardiogram. Obes Rev. 2005;6(4):275-81.
76. Carroll JF, Zenebe WJ, Strange TB. Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity. Hypertension. 2006;48(1):65-72.
77. Vileigas DF, de Souza SLB, Correa CR, de Almeida Silva CCV, de Campos DHS, Padovani CR, et al. The effects of two types of Western diet on the induction of metabolic syndrome and cardiac remodeling in obese rats. J Nutr Biochem. 2021;92:108625.
78. Thaker VV. Genetic and epigenetic causes of obesity. Adolesc Med State Art Rev. 2017;28(2):379-405.
79. Concepción-Zavaleta MJ, Quiroz-Aldave JE, Durand-Vásquez MdC, Gamarra-Osorio ER, Valencia de la Cruz JdC, Barrueto-Callirgos CM, et al. A comprehensive review of genetic causes of obesity. World J Pediatr. 2024;20(1):26-39.
80. Khera AV, Chaffin M, Wade KH, Zahid S, Brancale J, Xia R, et al. Polygenic prediction of weight and obesity trajectories from birth to adulthood. Cell. 2019;177(3):587-96. e9.
81. Fairbrother U, Kidd E, Malagamuwa T, Walley A. Genetics of severe obesity. Curr Diab Rep. 2018;18:1-9.
82. Lee S-H, Choi N-H, Koh I-U, Kim B-J, Lee S, Kim S-C, et al. Putative positive role of inflammatory genes in fat deposition supported by altered gene expression in purified human adipocytes and preadipocytes from lean and obese adipose tissues. J Transl Med. 2020;18:1-14.
83. Koc G, Soyocak A, Alis H, Kankaya B, Kanigur G. Changes in VGF and C3aR1 gene expression in human adipose tissue in obesity. Mol Biol Rep. 2021;48:251-7.
84. Stenberg K, Novotny GW, Lutz TA, Mandrup-Poulsen T, Bjørnvad CR. Obesity-induced changes in gene expression in feline adipose and skeletal muscle tissue. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2023;107(5):1262-78.
85. Rodríguez A, Echandía C, Sánchez A, Satizábal J, Montoya JC, García Vallejo F. Complejidad de la expresión de genes asociados a obesidad en el tejido adiposo humano. Revista Med. 2018;26(1):14-25.

86. Campbell KL, Foster-Schubert KE, Makar KW, Kratz M, Hagman D, Schur EA, et al. Gene expression changes in adipose tissue with diet-and/or exercise-induced weight loss. Cancer Prev Res (Phila). 2013;6(3):217-31.
87. Kim JH, Kim DH, Lim Y-H, Shin CH, Lee YA, Kim B-N, et al. Childhood obesity-related mechanisms: microRNome and transcriptome changes in a nested case-control study. Biomedicines. 2021;9(8):878.
88. Padilla J, Jenkins NT, Thorne PK, Martin JS, Rector RS, Davis JW, et al. Identification of genes whose expression is altered by obesity throughout the arterial tree. Physiol Genomics. 2014;46(22):821-32.
89. Keller M, Svensson SIA, Rohde-Zimmermann K, Kovacs P, Böttcher Y. Genetics and epigenetics in obesity: what do we know so far? Curr Obes Rep. 2023;12(4):482-501.
90. Pedersen SF, Owsianik G, Nilius B. TRP channels: an overview. Cell Calcium. 2005;38(3-4):233-52.
91. Venkatachalam K, Montell C. TRP channels. Annu Rev Biochem. 2007;76:387-417.
92. Uchida K, Tominaga M. The role of TRPM2 in pancreatic β-cells and the development of diabetes. Cell Calcium. 2014;56(5):332-9.
93. Nilius B. TRP channels in disease. Biochim Biophys Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. 2007;1772(8):805-12.
94. Zhang Z, Zhang W, Jung DY, Ko HJ, Lee Y, Friedline RH, et al. TRPM2 Ca2+ channel regulates energy balance and glucose metabolism. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2012;302(7):E807-E16.
95. Yamamoto S, Shimizu S, Kiyonaka S, Takahashi N, Wajima T, Hara Y, et al. TRPM2-mediated Ca2+ influx induces chemokine production in monocytes that aggravates inflammatory neutrophil infiltration. Nat Med. 2008;14(7):738-47.
96. Roy P, Martinelli I, Moruzzi M, Maggi F, Amantini C, Di Bonaventura MVM, et al. Ion channels alterations in the forebrain of high-fat diet fed rats. Eur J Histochem. 2021;65(Suppl 1):3305.
97. Li F, Munsey TS, Sivaprasadarao A. TRPM2-mediated rise in mitochondrial Zn2+ promotes palmitate-induced mitochondrial fission and pancreatic β-cell death in rodents. Cell Death Differ. 2017;24(12):1999-2012.

98. Rahimi HR, Nedaeinia R, Sepehri Shamloo A, Nikdoust S, Kazemi Oskuee R. Novel delivery system for natural products: Nano-curcumin formulations. Avicenna J Phytomed. 2016;6(4):383-98.
99. David IG, Iorgulescu EE, Popa DE, Buleandra M, Cheregi MC, Noor H . Curcumin electrochemisrty-antioxidant activity assessment, voltammetric behavior and quantitative determination, application aselectrode modifier. Antioxidants. 2023;12(11);1908.
100. Çeliker R, Özdemir ZÖ. Zerdeçal (Curcuma longa) bitkisindeki aktif maddeler ve ekstraksiyon yöntemleri. Bütünleyici ve Anadolu Tıbbı Dergisi. 2023;4(4):45-62.
101. Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew/ Zingiberaceae/ Curcuma Longa. https://colplanta.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:796451-1/general-information. Son Erişim Tarihi 14 Aralık 2024.
102. Shehzad A, Khan S, Sup Lee Y. Curcumin molecular targets in obesity and obesity-related cancers. Future Oncol. 2012;8(2):179-90.
103. Sedighiyan M, Abdolahi M, Honarvar NM, Hosseini B, Djafarian K. Curcumin as a novel agent targeting adipose tissue, lipid metabolism, and inflammatory pathways in obesity: a narrative review. J Nutr Sci & Diet. 2016;2(5).
104. Jang EM, Choi MS, Jung UJ, Kim MJ, Kim HJ, Jeon SM, et al. Beneficial effects of curcumin on hyperlipidemia and insulin resistance in high-fat-fed hamsters. Metabolism. 2008;57(11):1576-83.
105. Ejaz A, Wu D, Kwan P, Meydani M. Curcumin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice. J Nutr. 2009;139(5):919-25.
106. Manjunatha H, Srinivasan K. Protective effect of dietary curcumin and capsaicin on induced oxidation of low-density lipoprotein, iron-induced hepatotoxicity and carrageenan-induced inflammation in experimental rats. FEBS J. 2006;273(19):4528-37.
107. Alappat L, Awad AB. Curcumin and obesity: evidence and mechanisms. Nutr Rev. 2010;68(12):729-38.
108. Ding L, Li J, Song B, Xiao X, Zhang B, Qi M, et al. Curcumin rescues high fat diet-induced obesity and insulin sensitivity in mice through regulating SREBP pathway. Toxicol Appl Pharmacol. 2016;304:99-109.

109. Talukdar S, Bae EJ, Imamura T, Morinaga H, Fan W, Li P, et al. GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. Cell. 2010;142(5):687-98.
110. Saraf-Bank S, Ahmadi A, Paknahad Z, Maracy M, Nourian M. Effects of curcumin supplementation on markers of inflammation and oxidative stress among healthy overweight and obese girl adolescents: A randomized placebo-controlled clinical trial. Phytother Res. 2019;33(8):2015-22.
111. Kubota M, Shimizu M, Sakai H, Yasuda Y, Terakura D, Baba A, et al. Preventive effects of curcumin on the development of azoxymethane-induced colonic preneoplastic lesions in male C57BL/KsJ-db/db obese mice. Nutr Cancer. 2012;64(1):72-9.
112. Zhao D, Pan Y, Yu N, Bai Y, Ma R, Mo F, et al. Curcumin improves adipocytes browning and mitochondrial function in 3T3-L1 cells and obese rodent model. R Soc Open Sci. 2021;8(3):200974.
113. Kaya M, Çevik A. Hayvan deneylerinde planlanma ve model seçimi. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi. 2011;1(2):36-9.
114. Myers MG, Leibel RL. Lessons from rodent models of obesity. Europe PMC, Endotext. 2015(25905346).
115. Tschöp M, Heiman ML. Rodent obesity models: an overview. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2001;109(06):307-19.
116. Gelmez MY, Kasapoğlu P, Adaş ÇU, Tahralı İ, Gazioğlu SB, Çevik A, et al. Metabolik sendromda deneysel hayvan modelleri. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi. 2012;2(4):15-21.
117. Kanasaki K, Koya D. Biology of obesity: lessons from animal models of obesity. J Biomed Biotechnol. 2011;2011(1):197636.
118. Bernardis L, Patterson B. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. J Endocrinol. 1968;40(4):527-8.
119. Öner-İyidoğan Y, Koçak H, Seyidhanoğlu M, Gürdöl F, Gülçubuk A, Yildirim F, et al. Curcumin prevents liver fat accumulation and serum fetuin-A increase in rats fed a high-fat diet. J Physiol Biochem. 2013;69(4):677-86.
120. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. Anal Biochem. 1978;86(1):271-8.

121. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem. 1988;34(3):497-500.
122. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. Arch Biochem Biophys. 1959;82(1):70-7.
123. Aebi H, Suter H, Feinstein RN. Activity and stability of catalase in blood and tissues of normal and acatalasemic mice. Biochem Genet. 1968;2(3):245-51.
124. Hiller A, Greif RL, Beckman WW. Determination of protein in urine by the biuret method. J Biol Chem. 1948;176(3):1421-9.
125. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2− ΔΔCT method. Methods. 2001;25(4):402-8.
126. Walker M, Curtis M, Hearse D, Campbell R, Janse M, Yellon D, et al. The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia, infarction, and reperfusion. Cardiovasc Res. 1988;22(7):447-55.
127. Speakman JR. Use of high-fat diets to study rodent obesity as a model of human obesity. Int J Obes. 2019;43(8):1491-2.
128. Weisberg SP, Leibel R, Tortoriello DV. Dietary curcumin significantly improves obesity-associated inflammation and diabetes in mouse models of diabesity. Endocrinology. 2008;149(7):3549-58.
129. Dunggio T, Arwati N. Description of blood glucose levels in obesity patients in Puskesmas North City. Journal of Health, Technology and Science (JHTS). 2020;1(2):23-34.
130. Barazzoni R, Gortan Cappellari G, Ragni M, Nisoli E. Insulin resistance in obesity: an overview of fundamental alterations. Eat Weight Disord. 2018;23(2):149-57.
131. Schneider B, Faust I, Hemmes R, Hirsch J. Effects of altered adipose tissue morphology on plasma insulin levels in the rat. Am J Physiol. 1981;240(4):E358-E62.
132. Miao MS, Guo L, Tian S, Wang T. Effect of curcumin on the level of blood lipid and blood glucose in diabetic rat model. Advanced Materials Research. 2014;1051:419-22.
133. Hellmann PH, Bagger JI, Carlander KR, Hansen KB, Forman JL, Størling J, et al. No effect of the turmeric root phenol curcumin on prednisolone-induced glucometabolic perturbations in men with overweight or obesity. Endocr Connect. 2023;12(4).

134. Grundy SM, Brewer Jr HB, Cleeman JI, Smith Jr SC, Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. Circulation. 2004;109(3):433-8.
135. Patel KHK, Reddy RK, Sau A, Sivanandarajah P, Ardissino M, Ng FS. Obesity as a risk factor for cardiac arrhythmias. BMJ Med. 2022;1(1):e000308.
136. Dykiert I, Florek K, Kraik K, Gać P, Poręba R, Poręba M. T peak-T end ECG marker in obesity and cardiovascular diseases: a comprehensive review. Scientifica. 2024;2024(1):4904508.
137. Alpert MA, Terry BE, Cohen MV, Fan TM, Painter JA, Massey CV. The electrocardiogram in morbid obesity. Am J Cardiol. 2000;85(7):908-10.
138. Shati AA, Eid RA, El-Kott AF, Alqahtani YA, Shatoor AS, Zaki MSA. Curcumin attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity via suppressing oxidative Stress, preventing inflammation and apoptosis: Ultrastructural and computational approaches. Heliyon. 2024;10(5):e27164.
139. Tehrani SD, Hosseini A, Shahzamani M, Heidari Z, Askari G, Majeed M, et al. Evaluation of the effectiveness of curcumin and piperine co-supplementation on inflammatory factors, cardiac biomarkers, atrial fibrillation, and clinical outcomes after coronary artery bypass graft surgery. Clin Nutr ESPEN. 2024;62:57-65.
140. Center SA. Interpretation of liver enzymes. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2007;37(2):297-33.
141. Sharif S, Tanveer F, Naz S. Relationship analyses of overweight and obesity with liver function. LGU Journal of Life Sciences. 2020;4(01):47-57.
142. Jalili V, Poorahmadi Z, Hasanpour Ardekanizadeh N, Gholamalizadeh M, Ajami M, Houshiarrad A, et al. The association between obesity with serum levels of liver enzymes, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase and gamma-glutamyl transferase in adult women. Endocrinol Diabetes Metab. 2022;5(6):e367.
143. Vajdi M, Hassanizadeh S, Hassanizadeh R, Bagherniya M. Curcumin supplementation effect on liver enzymes in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a GRADE-assessed systematic review and dose–response meta-analysis of randomized controlled trials. Nutr Rev. 2025;83(1):1-12.

144. Chang G-R, Hsieh W-T, Chou L-S, Lin C-S, Wu C-F, Lin J-W, et al. Curcumin improved glucose intolerance, renal injury, and nonalcoholic fatty liver disease and decreased chromium loss through urine in obese mice. Processes. 2021;9(7):1132.
145. Imam Z, Khasawneh M, Jomaa D, Iftikhar H, Sayedahmad Z. Drug induced liver injury attributed to a curcumin supplement. Case Rep Gastrointest Med. 2019;2019(1):6029403.
146. Liu S, Liu J, He L, Liu L, Cheng B, Zhou F, et al. A comprehensive review on the benefits and problems of curcumin with respect to human health. Molecules. 2022;27(14):4400.
147. Philips CA, Ahamed R, Rajesh S, George T, Mohanan M, Augustine P. Comprehensive review of hepatotoxicity associated with traditional Indian Ayurvedic herbs. World J Hepatol. 2020;12(9):574-95.
148. Johansen MØ, Nielsen SF, Afzal S, Vedel-Krogh S, Davey Smith G, Nordestgaard BG. Very low-density lipoprotein cholesterol may mediate a substantial component of the effect of obesity on myocardial infarction risk: the Copenhagen general population study. Clin Chem. 2021;67(1):276-87.
149. Novelli EL, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GM, Rodrigues HG, Mani F, et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. Lab Anim. 2007;41(1):111-9.
150. Zhukova NV, Novgorodtseva TP, Denisenko YK. Effect of the prolonged high-fat diet on the fatty acid metabolism in rat blood and liver. Lipids Health Dis. 2014;13:49.
151. Deng Z, Yang K, Cai X, Mei H, Xiao H, Gao W. The beneficial effects of curcumin supplementation on blood lipid levels among patients with metabolic related diseases in Asia area: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Frontiers in Sustainable Food Systems. 2023;7:1167913.
152. Alwi I, Santoso T, Suyono S, Sutrisna B, Suyatna FD, Kresno SB, et al. The effect of curcumin on lipid level in patients with acute coronary syndrome. Acta Med Indones. 2008;40(4):201-10.
153. Lecerf J-M. Effets métaboliques du Curcumin (obésité, lipides circulants, insulinorésistance, diabète et athérosclérose). Phytothérapie. 2012;2(10):100-4.

154. Avramoglu RK, Basciano H, Adeli K. Lipid and lipoprotein dysregulation in insulin resistant states. Clin Chim Acta. 2006;368(1-2):1-19.
155. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. Cell. 2012;148(5):852-71.
156. Neyrinck AM, Alligier M, Memvanga PB, Névraumont E, Larondelle Y, Préat V, et al. Curcuma longa extract associated with white pepper lessens high fat diet-induced inflammation in subcutaneous adipose tissue. PloS One. 2013;8(11):e81252.
157. Akhter S, Sarkar CR, Zahid AZR, Ahmed N. A study of serum creatinine and urea in adult female individuals and their correlations with BMI. J Rang Med Col. 2022;7(2):25-30.
158. Hegarty BD, Cooney GJ, Kraegen EW, Furler SM. Increased efficiency of fatty acid uptake contributes to lipid accumulation in skeletal muscle of high fat-fed insulin-resistant rats. Diabetes. 2002;51(5):1477-84.
159. Wang H-L, Ding T-T, Shi L, Ye X, Jun T, Hu W-F, et al. Muscle mass loss and intermuscular lipid accumulation were associated with insulin resistance in patients receiving hemodialysis. Chin Med J (Engl). 2013;126(24):4612-7.
160. Basolo A, Ando T, Chang DC, Hollstein T, Krakoff J, Piaggi P, et al. Reduced albumin concentration predicts weight gain and higher ad libitum energy intake in humans. Front Endocrinol. 2021;12:642568.
161. Abdollahi A, Dowden BN, Buhman KK, Zembroski AS, Henderson GC. Albumin knockout mice exhibit reduced plasma free fatty acid concentration and enhanced insulin sensitivity. Physiol Rep. 2022;10(5):e15161.
162. Li X, Ma Y, Xie X, Yang Y, Zheng Y. Relationship between serum creatinine and obesity in children in Xinjiang, China. Genet Mol Res. 2014;13(2):2409-16.
163. Laorodphun P, Cherngwelling R, Panya A, Arjinajarn P. Curcumin protects rats against gentamicin-induced nephrotoxicity by amelioration of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis. Pharm Biol. 2022;60(1):491-500.
164. Kim KS, Lim H-J, Lim JS, Son JY, Lee J, Lee BM, et al. Curcumin ameliorates cadmium-induced nephrotoxicity in Sprague-Dawley rats. Food Chem Toxicol. 2018;114:34-40.
165. Monzo-Beltran L, Vazquez-Tarragón A, Cerdà C, Garcia-Perez P, Iradi A, Sánchez C, et al. One-year follow-up of clinical, metabolic and oxidative stress

profile of morbid obese patients after laparoscopic sleeve gastrectomy. 8-oxo-dG as a clinical marker. Redox Biol. 2017;12:389-402.

166. Widiastuti IAE, Zubaidi FF, Rahmat B, Buanayuda GW. Analysis of malondialdehyde (MDA) levels based on body mass index, waist circumstances, and body fat percentage in students of medicine program faculty of medicine Mataram University. JBT. 2022;22(4):1455-61.

167. Savira M, Rusdiana SSW, Syahputra M. Comparison malondialdehyde (MDA) level between obesity non metabolic syndrome and obesity with metabolic syndrome patients. Age. 2020;53(11.3):44.55-10.8.

168. Mokgalaboni K, Ntamo Y, Ziqubu K, Nyambuya TM, Nkambule BB, Mazibuko-Mbeje SE, et al. Curcumin supplementation improves biomarkers of oxidative stress and inflammation in conditions of obesity, type 2 diabetes and NAFLD: Updating the status of clinical evidence. Food Funct. 2021;12(24):12235-49.

169. Boulmokh Y, Belguidoum K, Meddour F, Amira-Guebailia H. Enhanced antioxidant properties of novel curcumin derivatives: a comprehensive DFT computational study. Struct Chem. 2024;35(3):825-39.

170. Maithilikarpagaselvi N, Sridhar MG, Swaminathan RP, Sripradha R. Preventive effect of curcumin on inflammation, oxidative stress and insulin resistance in high-fat fed obese rats. J Complement Integr Med. 2016;13(2):137-43.

171. Noeman SA, Hamooda HE, Baalash AA. Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. Diabetol Metabo Syndr. 2011;3:1-8.

172. Carillon J, Knabe L, Montalban A, Stévant M, Keophiphath M, Lacan D, et al. Curative diet supplementation with a melon superoxide dismutase reduces adipose tissue in obese hamsters by improving insulin sensitivity. Mol Nutr Food Res. 2014;58(4):842-50.

173. Guariglia M, Saba F, Rosso C, Bugianesi E. Molecular mechanisms of curcumin in the pathogenesis of metabolic dysfunction associated Steatotic liver disease. Nutrients. 2023;15(24):5053.

174. Hassan MH, Awadalla EA, Abd El-Kader AE-KM, Seifeldin EA, Mahmoud MA, Muddathir ARM, et al. Antitoxic Effects of Curcumin against obesity-induced multi-organs' biochemical and histopathological abnormalities in an animal model. Evid Based Complement Alternat Med. 2022;2022(1):9707278.

175. Gabr SA, Elsaed WM, Eladl MA, El-Sherbiny M, Ebrahim HA, Asseri SM, et al. Curcumin modulates oxidative stress, fibrosis, and apoptosis in drug-resistant cancer cell lines. Life. 2022;12(9):1427.
176. Shin S-K, Cho H-W, Song S-E, Bae J-H, Im S-S, Hwang I, et al. Ablation of catalase promotes non-alcoholic fatty liver via oxidative stress and mitochondrial dysfunction in diet-induced obese mice. Pflugers Arch. 2019;471:829-43.
177. Piao L, Choi J, Kwon G, Ha H. Endogenous catalase delays high-fat diet-induced liver injury in mice. Korean J Physiol Pharmacol. 2017;21(3):317-25.
178. Pérez-Estrada JR, Hernández-García D, Leyva-Castro F, Ramos-León J, Cuevas-Benítez O, Díaz-Muñoz M, et al. Reduced lifespan of mice lacking catalase correlates with altered lipid metabolism without oxidative damage or premature aging. Free Radic Biol Med. 2019;135:102-15.
179. DeLamatre JG, Schilleci JT, Hanson LH. Influence of dietary fat on the effect of endotoxin on murine hepatic peroxisomes. Hepatology. 1996;24(3):592-5.
180. Paepegaey A-C, Genser L, Bouillot J-L, Oppert J-M, Clément K, Poitou C. High levels of CRP in morbid obesity: the central role of adipose tissue and lessons for clinical practice before and after bariatric surgery. Surg Obes Relat Dis. 2015;11(1):148-54.
181. Greenfield JR, Campbell LV. Relationship between inflammation, insulin resistance and type 2 diabetes: 'cause or effect'? Curr Diabetes Rev. 2006;2(2):195-211.
182. Esani M. Association of C-reactive Protein and Cardiovascular Disease in Obese Patients. American Society for Clinical Laboratory Science. 2018.
183. Kasprzak-Drozd K, Oniszczuk T, Gancarz M, Kondracka A, Rusinek R, Oniszczuk A. Curcumin and weight loss: does it work? Int J Mol Sci. 2022;23(2):639.
184. Shehzad A, Ha T, Subhan F, Lee YS. New mechanisms and the anti-inflammatory role of curcumin in obesity and obesity-related metabolic diseases. Eur J Nutr. 2011;50:151-61.
185. Park HS, Park JY, Yu R. Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF-α and IL-6. Diabetes Res Clin Pract. 2005;69(1):29-35.

186. Dehzad MJ, Ghalandari H, Nouri M, Askarpour M. Effects of curcumin/turmeric supplementation on obesity indices and adipokines in adults: A grade-assessed systematic review and dose–response meta-analysis of randomized controlled trials. Phytother Res. 2023;37(4):1703-28.
187. Rusyn I, Bradham CA, Cohn L, Schoonhoven R, Swenberg JA, Brenner DA, et al. Corn oil rapidly activates nuclear factor-κB in hepatic Kupffer cells by oxidant-dependent mechanisms. Carcinogenesis. 1999;20(11):2095-100.
188. Gavito AL, Bautista D, Suarez J, Badran S, Arco R, Pavón FJ, et al. Chronic IL-6 administration desensitizes IL-6 response in liver, causes hyperleptinemia and aggravates steatosis in diet-induced-obese mice. PloS One. 2016;11(6):e0157956.
189. Franckhauser S, Elias I, Rotter Sopasakis V, Ferre T, Nagaev I, Andersson C, et al. Overexpression of Il6 leads to hyperinsulinaemia, liver inflammation and reduced body weight in mice. Diabetologia. 2008;51:1306-16.
190. Di Gregorio GB, Hensley L, Lu T, Ranganathan G, Kern PA. Lipid and carbohydrate metabolism in mice with a targeted mutation in the IL-6 gene: absence of development of age-related obesity. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2004;287(1):E182-E7.
191. Kraakman MJ, Kammoun HL, Allen TL, Deswaerte V, Henstridge DC, Estevez E, et al. Blocking IL-6 trans-signaling prevents high-fat diet-induced adipose tissue macrophage recruitment but does not improve insulin resistance. Cell Metab. 2015;21(3):403-16.
192. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. Diabetes Res Clin Pract. 2014;105(2):141-50.
193. Negrin KA, Roth Flach RJ, DiStefano MT, Matevossian A, Friedline RH, Jung D, et al. IL-1 signaling in obesity-induced hepatic lipogenesis and steatosis. PloS One. 2014;9(9):e107265.
194. Ghanbari M, Maragheh SM, Aghazadeh A, Mehrjuyan SR, Hussen BM, Shadbad MA, et al. Interleukin-1 in obesity-related low-grade inflammation: From molecular mechanisms to therapeutic strategies. Int Immunopharmacol. 2021;96:107765.
195. Ganjali S, Sahebkar A, Mahdipour E, Jamialahmadi K, Torabi S, Akhlaghi S, et al. Investigation of the effects of curcumin on serum cytokines in obese

individuals: a randomized controlled trial. ScientificWorldJournal. 2014;2014(1):898361.

196. Dong H-j, Shang C-z, Peng D-w, Xu J, Xu P-x, Zhan L, et al. Curcumin attenuates ischemia-like injury induced IL-1β elevation in brain microvascular endothelial cells via inhibiting MAPK pathways and nuclear factor-κB activation. Neurol Sci. 2014;35:1387-92.

197. Eid RA, Alkhateeb MA, El-Kott AF, Eleawa SM, Zaki MSA, Alaboodi SA, et al. A high-fat diet rich in corn oil induces cardiac fibrosis in rats by activating JAK2/STAT3 and subsequent activation of ANG II/TGF-1β/Smad3 pathway: The role of ROS and IL-6 trans-signaling. J Food Biochem. 2019;43(8):e12952.

198. Sun L, Liu Y-L, Ye F, Xie J-W, Zeng J-W, Qin L, et al. Free fatty acid-induced H2O2 activates TRPM2 to aggravate endothelial insulin resistance via Ca2+-dependent PERK/ATF4/TRB3 cascade in obese mice. Free Radic Biol Med. 2019;143:288-99.

199. Alves-Lopes R, Lacchini S, Neves KB, Harvey A, Montezano AC, Touyz RM. Vasoprotective effects of NOX4 are mediated via polymerase and transient receptor potential melastatin 2 cation channels in endothelial cells. J Hypertens. 2023;41(9):1389-400.

200. Zhu F, Cai X, Yang X, He J, Wang C, Wang M, et al. TRPM2 expression levels are associated with histological grading in patients with tongue squamous cell carcinoma. Mol Med Rep. 2020;22(4):3566-74.

EKLER

EK.1. Özgeçmiş

EK.2. Deney Hayvanları Etik Kurul Onayı

EK.3. Primer Dizileri

1. Beta aktin

Sıçan *β-aktin* geninin 1293 baz çiftinden oluşan mRNA dizilimi ve primerlerin dizilimdeki yerleri gösterilmiştir. Gen Bankası Kayıt No: NM_031144.3

1 gtcgagtccg cgtccacccg cgagtacaac cttcttgcag ctcctccgtc gccggtccac

61 acccgccacc agttcgccat ggatgacgat atcgctgcgc tcgtcgtcga caacggctcc

121 ggcatgtgca aggccggctt cgcgggcgac gatgctcccc gggccgtctt cccctccatc

181 gtgggccgcc ctaggcacca gggtgtgatg gtgggtatgg gtcagaagga ctcctacgtg

241 ggcgacgagg cccagagcaa gagaggcatc ctgaccctga agtaccccat tgaacacggc

301 attgtcacca actgggacga tatggagaag atttggcacc acactttcta caatgagctg

361 cgtgtggccc ctgaggagca ccctgtgctg ctcaccgagg cccctctgaa ccctaaggcc

421 aaccgtgaaa agatgaccca gatcatgttt gagaccttca acaccccagc catgtacgta

481 gccatccagg ctgtgttgtc cctgtatgcc tctggtcgta ccactggcat tgtgatggac

541 tccggagacg gggtcaccca cactgtgccc atctatgagg gttacgcgct ccctcatgcc

601 atcctgcgtc tggacctggc tggccgggac ctgacagact acctcatgaa gatcctgacc

661 gagcgtggct acagcttcac caccacagct gagagggaaa tcgtgcgtga cattaaagag

721 aagctgtgct atgttgccct agacttcgag caagagatgg ccactgccgc atcctcttcc

781 tccctggaga agagctatga gctgcctgac ggtcaggtca tcactatcgg caatgagcgg

841 ttccgatgcc ccgaggctct cttccagcct tccttcctgg gtatggaatc ctgtggcatc

901 catgaaacta cattcaattc catcatgaag tgtgacgttg acatccgtaa agacctctat

961 gccaacacag tgctgtctgg tggcaccacc atgtacccag gcattgctga caggatgcag

>>>>>>>>>>

1021 aaggagatta ctgccctggc tcctagcacc atgaagatca agatcattgc tcctcctgag

1081 cgcaagtact ctgtgtggat tggtggctct atcctggcct cactgtccac cttccagcag

1141 atgtggatca gcaagcagga gtacgatgag tccggcccct ccatcgtgca ccgcaaatgc

<<<<<<<<

1201 ttctaggcgg actgttactg agctgcgttt tacacccttt ctttgacaaa acctaacttg

1261 cgcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa

>>>>>>> İleri primer, <<<<<<<< Geri primer

2. TRPM2

Sıçan *TRPM2* geninin 4527 baz çiftinden oluşan mRNA dizilimi ve primerlerin dizilimdeki yerleri gösterilmiştir. Gen Bankası Kayıt No: NM_001011559.1

1 atggagccct tggaccagag aagaactgac tctgatcaag aggagggctt tggggtgcag
61 tcccggaggg ccactgatct gggcatggtc cccaatctcc gacgaagcaa tagcagtctt
121 tgcaagagca ggaggcttct gtgctccttc agcagtgaga agcaagaaaa ccttagctca
181 tggattcccg agaacatcaa gaagaaggaa tgtgtgtatt tcgtggaaag ttccaagctc
241 tcggatgcag ggaaggtagt gtgtgagtgt ggttacaccc acgagcagca cattgaagtg
301 gccatcaagc ctcacacctt ccagggcaag gagtgggacc caaagaaaca cgtccatgag
361 atgcctacag atgcctttgg tgacattgtc ttcaccggcc tgagccagaa agtggggaag
421 tatgtccgac tctcccagga cacgtcgtcc attgtcatct accagcttat gacacagcac
481 tggggcctgg atgtccccag cctcctcatc tctgtgaccg gtggggccaa gaacttcaac
541 atgaagctga ggttgaagag catcttccgg agaggcctgg ttaaggtggc ccaaaccacg
601 ggggcctgga tcatcactgg gggttcccac accggtgtga tgaagcaggt gggcgaggcg
661 gtacgggact tcagcctaag cagcagctgc aaagaaggcg acgtcatcac catcggcata
721 gccacgtggg gcaccatcca caaccgtgag gcactgatcc atcccatggg aggcttcccc
781 gctgagtaca tgctggatga ggaaggccaa gggaacctga cctgcctgga cagcaaccac
841 tcccacttca tcctggtgga tgatgggacc cacgggcagt atggtgtgga gattccgctg
901 aggactaagc tggagaagtt catatcggag caaacgaagg aaagaggggg tgtggccatt
961 aagatcccca ttgtctgcgt ggtgttggag ggtggccctg gcactctgca taccatctac
1021 aacgccatca ccaatggcac accctgcgtg atagtggagg gctccggccg agtggctgac
1081 gtcatcgctc aggtggccgc tctgcccgtc tctgagatca ccatctccct gatccagcag
1141 aagctcagcg tcttcttcca ggagatgttt gagactttca ccgaaaacca gattgtggaa
1201 tggaccaaaa agatccaaga tattgtcagg aggcggcagc tgctgacggt cttccgggaa
1261 ggcaaggatg gtcagcagga tgtggatgtt gccattctgc aagctttact gaaagcctct
1321 cgaagccaag atcacttcgg ccacgagaac tgggaccatc agctgaagct ggccgtggcc
1381 tggaaccgtg tggacatcgc ccgcagtgag atcttcactg atgagtggca gtggaagcct
1441 tcagacctgc atcccatgat gacagctgcc ctcatctcca acaagcctga gtttgtgagg
1501 ctctttctgg agaacggggt gcggctgaag gagtttgtca cctgggatac tcttctctgc
1561 ctctacgaga acctggagcc atcctgcctt ttccacagca agctgcagaa ggtgctggca
1621 gaagagcatg aacgcttagc ctatgcatct gagacacccc ggctgcaaat gcaccacgtg
1681 gcccaggtgc tgcgtgagct cctcggagac tccacacagc tgctgtatcc ccggccccgg
1741 tacactgacc ggccacggct ctcgctgccc atgccacaca tcaaactcaa cgtgcaagga

1801 gtgagcctcc ggtctctcta taagcgatca acaggccacg ttaccttcac cattgaccca
1861 gtccgcgatc ttctcatttg ggccatcatc cagaaccaca gggagctggc gggcatcatc
1921 tgggctcaga gccaggactg cacagcagcc gcactggcct gcagcaagat cctgaaggag
1981 ctgtccaagg aggaggaaga tacagacagc tctgaggaga tgctggcact cgcggatgag
2041 tttgagcata gagctatcgg tgtcttcacc gagtgctaca gaaaggatga ggaaagagcc
2101 cagaagctgc ttgtccgtgt gtctgaggcc tgggggaaga ccacctgcct gcagctggcc
2161 ctcgaggcca aggacatgaa attcgtgtct cacggaggga tccaggcttt cctaacgaag
2221 gtgtggtggg gtcagctctg cgtggacaat ggcctgtgga ggatcatcct gtgcatgctg
2281 gccttccctc tgctcttcac cggcttcatc tccttcaggg aaaagaggct gcaggcactg
2341 tgccgcccgg cccgcgtccg cgccttcttc aacgcgccgg tggtcatctt ctacctcaat
2401 attctctcct actttgcctt cctctgcctg tttgcctacg tgctcatggt ggacttccag
2461 ccctcaccat cctggtgcga gtacctcatc tacctgtggc tcttctccct ggtgtgcgag
2521 gagacacggc agctattcta cgatcccgat ggctgcgggc tcatgaagat ggcgtccctg
2581 tacttcagtg acttctggaa caaactggac gttggggcca ttctgctctt tatagcagga
2641 ctgacctgcc gactcatccc agcgacgctg taccctgggc gcatcatcct gtctttggac
2701 ttcattatgt tctgcctccg cctcatgcac atcttcacca ttagcaagac actggggccc
2761 aagataatca tcgtgaagcg gatgatgaag gacgtcttct tcttcctctt tctcctggcg
2821 gtgtgggtgg tgtccttcgg agtggccaag caggccatcc tcatccacaa tgagagccgc
2881 gtggactgga tcttccgcgg agttatctat cactcttacc ttaccatctt cgggcagatc
2941 ccgacctaca ttgacggcgt gaatttcagc atggaccagt gcagccccaa tggtacagac
3001 ccctacaagc ccaagtgtcc tgagagtgac tggacagggc aggcacccgc cttccccgag
3061 tggctgacag tcacccttct ctgcctctac ctgctcttcg ccaacatcct gctgcttaat
3121 ttgctcatcg ccatgttcaa ctacaccttc caggaggtgc aggagcacac agaccagatc
3181 tggaagttcc agcgccacga cctgattgag gagtaccacg gccggccccc ggcccctccc
3241 ccactcatcc tcctcagcca cctgcagctc ctgatcaaga ggattgtcct gaagatcccc
3301 gccaagaggc acaagcagct caagaacaag ctggagaaga atgaggaggc agccctcctg
3361 tcctgggagc tctacctgaa ggagaattac ctgcagaacc aacagtacca gcacaaacag
3421 cggccagagc agaagatcca ggacatcagt gagaaagtgg acaccatggt ggatctgttg
3481 gacatggacc gtgtgaagag atcaggctcc acagagcaga ggctggcctc ccttgaggaa
3541 caggtgactc agatgggcag atctttgcac tggatcgtga cgaccctgaa ggacagtggc
3601 tttggctcag gggccggtgc actgaccctg gcagcccaaa gggccttcga cgagccagat
3661 gctgagctga gtatcaggaa gaaaggagag gagggaggag atggctatca tgtgagcgcc
3721 cggcacctcc tctaccctga tgcccgcatc atgcgcttcc ccgtgcctaa tgagaaggtg

3781 ccttgggagg cagagtttct gatctacgac cctccgtttt acacagctga gaagaaggat

3841 gcgactctca cagaccctgt gggagacact gcagaacctc tgtctaagat caattacaac

3901 gtcgtggacg gactgatgga ccgttgcagc ttccatggga cctatgtggt ccaatatgga

3961 ttccctttga accccatggg ccgcaccggg ttgcgtggtc gtgggagcct cagctggttt

4021 ggtcccaacc acactctgca gccagttgtt acccggtgga agaggaacca gggtggaggc

4081 atctgccgga agagtgtcag gaagatgttg gaggtgctgg tcatgaagtt gcctcaatcc

4141 gagcactggg ccttgcctgg gggctctcgg gagccaggga agatgctacc acggaagctg

4201 aaacaggtcc tccagcagga gtactgggtg acctttgaga ccttgctaag gcaaggtaca

>>>>>>>

4261 gaggtgtaca aaggatacgt ggatgaccca aggaacacgg acaatgcctg gatcgagacg

<<<<<<<<

4321 gtggctgtca gcatccattt ccaggaccag aatgatgtgg agctgaagag gctggaagag

4381 aacctgcaaa ctcatgatcc aaaggagtcg gcccgtggct tggagatgtc tactgaatgg

4441 caggttgtag accggcggat ccctctgtat gtgaaccaca agaagatcct ccaaaaggtg

4501 gcctcgctgt ttggcgctca cttctga

>>>>>>> İleri primer, <<<<<<<< Geri primer