**T.C.**

**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOKİMYA (VETERİNER) DOKTORA PROGRAMI**

**FRUKTOZLA BESLENEN RATLARDA *STEVİA REBAUDİANA’*NINSERUM İRİSİN VE GLUKAGON BENZERİ PEPTİD 1 (GLP1) DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Aslıhan İNCİ**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Serap ÜNÜBOL AYPAK**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-17068 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN–2020**

# KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Veteriner) Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Aslıhan İNCİ tarafından hazırlanan “Fruktozla Beslenen Ratlarda *Stevia r*e*baudiana’*nın Serum İrisin ve Glukagon Benzeri Peptid 1 (GLP1) Düzeyleri Üzerine Etkileri” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/01/2020

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | |  | |  | İMZA |
| Üye (T.D.) | | : Doç. Dr. Serap ÜNÜBOL AYPAK | | | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya AD |  |
| Üye | : Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK | | | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi  Biyokimya AD | |  |
| Üye | : Prof. Dr. Hümeyra ÜNSAL | | | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi  Fizyoloji AD | |  |
| Üye | : Prof. Dr. Gül Fatma YARIM | | | Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi  Biyokimya AD | |  |
| Üye | : Prof. Dr. Gülay ÇİFTCİ | | | Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi  Biyokimya AD | |  |

Bu tez T. C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün ……………..……..…tarih ve …………………………sayılı oturumunda alınan ……………………nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit KUM

Enstitü Müdürü

# TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim boyunca bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren ve her türlü desteği sağlayan danışman hocam, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Serap ÜNÜBOL AYPAK’a, bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK’e, Prof. Dr. Funda KIRAL’a ve Prof. Dr. Pınar Alkım ULUTAŞ’a, analizlerin yapılması sırasındaki yardımlarından dolayı Arş. Gör. Dr. Gamze S. EKREN AŞICI’ya ve Kimyager İrem BAYAR’a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Recai TUNCA’ya ve Arş. Gör. Dr. Emrah İPEK’e, Arş. Gör. Dr. Mehmet KAYA’ya Deney Hayvanları Ünitesi sorumlusu Öğr. Gör. Dr. Asude Gülçe GÜLER’e ve Veteriner Hekim Burak ALAKUŞU’na teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmam sırasında teşvik, ilgi, sabır ve desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Aşkın İNCİ ve canım oğullarım Mustafa Utku İNCİ ile Ahmet Emre İNCİ’ye; varlıklarıyla bana hep destek olan babam ve anneme teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

[KABUL VE ONAY SAYFASI i](#_Toc29887926)

[TEŞEKKÜR ii](#_Toc29887927)

[İÇİNDEKİLER iii](#_Toc29887928)

[SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ vi](#_Toc29887929)

[ŞEKİLLER DİZİNİ viii](#_Toc29887930)

[RESİMLER DİZİNİ ix](#_Toc29887931)

[TABLOLAR DİZİNİ x](#_Toc29887932)

[ÖZET x](#_Toc29887933)

[ABSTRACT xii](#_Toc29887934)

[1. GİRİŞ 1](#_Toc29887935)

[2. GENEL BİLGİLER 3](#_Toc29887936)

[2.1. Fruktoz 3](#_Toc29887937)

[2.2. Fruktozun Yapısı, Özellikleri ve Metabolizması 4](#_Toc29887938)

[2.3. *Stevia rebaudiana* 6](#_Toc29887939)

[2.3.1. *Stevia rebaudiana*’nın Kökeni 6](#_Toc29887940)

[2.3.2. Stevyanın Biyokimyasal Özellikleri ve Besin Değeri 8](#_Toc29887941)

[2.3.3. Stevyanın İçerdiği Glikozitler 10](#_Toc29887942)

[2.3.4. Stevyanın Tatlılığının Sakkaroz ile Karşılaştırılması 12](#_Toc29887943)

[2.3.5. Stevyanın Aminoasit İçeriği 13](#_Toc29887944)

[2.3.6. Stevyanın Lipid İçeriği 13](#_Toc29887945)

[2.3.7. Stevyanın Vitamin ve Mineral İçeriği 14](#_Toc29887946)

[2.3.8. Stevyanın Antioksidan Aktivitesi 16](#_Toc29887947)

[2.3.9. Stevyanın Gıda Endüstrisinde Kullanımı 16](#_Toc29887948)

[2.3.10. Stevyanın Metabolizması 17](#_Toc29887949)

[2.3.11. Stevyanın Güvenilirliği 20](#_Toc29887950)

[2.3.12. JECFA’nın Steviolların Güvenilirliğine İlişkin Çalışmaları 21](#_Toc29887951)

[2.4. Metabolik Sendromun Tanımı 21](#_Toc29887952)

[2.4.1. Metabolik Sendromun Prevalansı ve Diagnozu 22](#_Toc29887953)

[2.4.2. Stevyanın Metabolik Sendrom Tedavisinde Kullanılması 23](#_Toc29887954)

[2.5. İrisin Hormonu 24](#_Toc29887955)

[2.5.1. İrisin Hormonunun Kimyasal Özellikleri, Etki Mekanizması ve Metabolik Etkileri 24](#_Toc29887956)

[2.5.2. FNDC5 Proteininin Yapısı ve İrisin Hormonunun Oluşumu 26](#_Toc29887957)

[2.5.3. İnsanlarda ve Hayvanlarda İrisin Hormonu 27](#_Toc29887958)

[2.5.4. FNDC5 Ekspresyonu ve İrisin Hormonunun Sentezlendiği Dokular 27](#_Toc29887959)

[2.5.5. İrisin Hormonunun Beyaz Yağ Dokusunun Kahverengi Yağ Dokusuna Dönüşmesindeki Rolü 28](#_Toc29887960)

[2.5.6. İrisin Hormonunun Egzersizle Düzenlenmesi 31](#_Toc29887961)

[2.5.7. İrisin Hormonunun Vücut Kitle İndeksi Üzerine Etkileri 32](#_Toc29887962)

[2.5.8. İrisin Hormonunun Glukoz Homeostazisi Üzerine Etkileri 33](#_Toc29887963)

[2.6. GLP-1 Hormonu 34](#_Toc29887964)

[2.6.1. GLP-1 Hormonunun Kimyasal Özellikleri, Etki Mekanizması ve Metabolik Etkileri 34](#_Toc29887965)

[2.6.2. GLP-1 Hormonunun Sentezi, Sekresyonu ve Eliminasyonu 37](#_Toc29887966)

[2.6.3. GLP-1 Hormonunun Pankreas β Adacık Hücrelerine Etkisi 38](#_Toc29887967)

[2.6.4. GLP-1’in İnkretin Bir Hormon Olarak Etkileri 39](#_Toc29887968)

[2.6.5. GLP-1 Hormonunun Vücut Kitle İndeksi Üzerine Etkileri 40](#_Toc29887969)

[2.6.6. GLP-1 Hormonunun Metabolik Hastalıklardaki Tedavi Edici Potansiyeli 41](#_Toc29887970)

[3. GEREÇ VE YÖNTEM 42](#_Toc29887971)

[3.1. Gereç 42](#_Toc29887972)

[3.1.1. Deney Hayvanı Materyali 42](#_Toc29887973)

[3.1.2. Kullanılan Cihazlar 45](#_Toc29887974)

[3.1.3. Kullanılan Kimyasallar 45](#_Toc29887975)

[3.2. Yöntem 46](#_Toc29887976)

[3.2.1. Haftalık Vücut Ağırlığı Değişimleri, Lee indeks ve VKİ’nin Belirlenmesi 46](#_Toc29887977)

[3.2.2. Rutin Biyokimyasal Analizlerin Yapılması 46](#_Toc29887978)

[3.2.3. İrisin ve GLP-1 Hormonunun ELISA Yöntemi ile Analizlerinin Yapılması 46](#_Toc29887979)

[3.2.3.1. ELISA Yöntemi 46](#_Toc29887980)

[3.2.4. ELISA Yöntemi ile İrisin ve GLP-1 Analizi Prosedürü 48](#_Toc29887981)

[3.2.5. ELISA Testi Prosedürünün Uygulanış Basamakları 49](#_Toc29887982)

[3.3. Histopatolojik Analizler 50](#_Toc29887983)

[3.4. İstatistiksel Analizler 50](#_Toc29887984)

[4. BULGULAR 51](#_Toc29887985)

[4.1. Haftalık Vücut Ağırlığı Değişimleri 51](#_Toc29887986)

[4.2. Biyokimyasal Parametreler 53](#_Toc29887987)

[4.3. Serum İrisin ve GLP-1 Düzeyleri 56](#_Toc29887988)

[4.4. Karaciğer, Böbrek ve Beyin Dokularında Görülen Histopatolojik Değişiklikler 57](#_Toc29887989)

[5. TARTIŞMA 60](#_Toc29887990)

[6. SONUÇ VE ÖNERİLER 68](#_Toc29887991)

[KAYNAKLAR 69](#_Toc29887992)

[EKLER 101](#_Toc29887993)

[ÖZGEÇMİŞ 102](#_Toc29887994)

# SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

**ALT :** Alanin Aminotransferaz

**ANP :** Atriyal Natriüretik Peptit

**AST :** Aspartat Aminotransferaz

**EFSA :** Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi

**ELISA :** Enzim Bağlı İmmunosorbent Analizi

**ERK :** Hücre Dışı Sinyal Düzenleme Kinazı

**FAO :** Gıda ve Tarım Örgütü

**FDA :** Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

**FNDC5 :** Fibronektin Tip III Domain 5

**FSANZ :** Avustralya ve Yeni Zelanda Gıda Standartları

**GIP :** Glukoza bağımlı insülinotropik peptit

**GLP-1 :** Glukagon Benzeri Peptid-1

**GLP-2 :** Glukagon Benzeri Peptid 2

**GLUT-2 :** Glukoz Taşıyıcısı-2

**GLUT-5 :** Glukoz Taşıyıcısı-5

**HDL-C :** Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

**HMF :** Hidroksimetil Furfural

**HOMA-IR :** Homeostatik Model Değerlendirmesi- İnsülin Direnci

**HSL :** Hormon Sensitif Lipaz

**IDF :** Uluslarası Diyabet Federasyonu

**IL-15 :** İnterlökin- 15

**JECFA :** Besin Katkı Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzman Komitesi

**LC-MS :** Sıvı Kromotografi- Kütle Spektrometrisi

**LDH :** Laktat Dehidrogenaz

**LDL-C :** Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

**MAPK :** Mitojenle Aktive Edilmiş Protein Kinaz

**MPGF :** Ana Proglukagon Parçası

**MS :** Metabolik Sendrom

**MSTN :** Miyostatin

**NCEP-ATP III :** Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Algılama Yetişkin Paneli III

**PGC-1α :** Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör γ koaktivatörü 1 α

**PI3K :** Fosfatidilinositol 3 Kinaz

**PKA :** Protein Kinaz A

**PPAR-γ :** Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör γ

**R1 :** Rezidü 1

**R2 :** Rezidü 2

**SCF :** Avrupa Komisyonu Bilimsel Gıda Komitesi

**TIMP4 :** Doku Metalloproteinaz İnhibitörü 4

**TPN** : Total Parenteral Besleme

**UCP-1 :** Ayırıcı Protein 1

**VE/VCO2 :** Ventilatör ile Ölçülen Performans Verimlilik

**VEGF-β :** Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörüβ

**VKİ :** Vücut Kitle İndeksi

**VO2 :** Oksijen Tüketimi

**WHO :** Dünya Sağlık Örgütü

# ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 1.** Bazı besinlerin içerdiği fruktoz oranları 3

**Şekil 2.** Fruktozun Haworth formülü ile gösterilmesi 4

**Şekil 3.** Fruktoz ve glukoz metabolizması 5

**Şekil 4.** Yüksek fruktoz içeren diyetle beslenme sonucu oluşabilecek hastalıklar 6

**Şekil 5.** Stevyanın kimyasal formülü 12

**Şekil 6.** İnsanlarda steviol glikozitlerin metabolizması 18

**Şekil 7.** Stevyanın metabolizması 19

**Şekil 8.** Rebuduositlerin ve steviositin aglikon metaboliti olan steviole hidroliz yolu 20

**Şekil 9.** Metabolik sendrom gelişiminden sorumlu metabolik mekanizmalar 22

**Şekil 10.** Egzersiz ve enerji üretilmesi ile FNDC5/irisin yolu arasındaki ilişki 25

**Şekil 11.** İrisin hormonunun N terminal ve C terminal yapıları ve irisin dimeri 26

**Şekil 12.** İrisin molekülünün aminoasit sekansı 27

**Şekil 13.** Yağ dokusunun deri altı ve visseral yerleşimi 29

**Şekil 14.** Beyaz ve kahverengi yağ dokusunun histolojik preparattaki görünümü 30

**Şekil 15.** İrisin adipositteki reseptörüne bağlandıktan sonraki etki mekanizması 31

**Şekil 16.** Proglukagon molekülünün pankreas ve ince bağırsaktaki proteoliz süreci 35

**Şekil 17.** GLP-1 hormonunun aminoasit dizilimi 35

**Şekil 18.** Glukoz, asetil kolin, GIP ve GLP-1’ in pankreas β adacık hücrelerine etkisi ve insülin salgılanması 36

**Şekil 19.** GLP-1 hormonunun fizyolojik etkileri 38

**Şekil 20.** Deney grupları ve grupların beslenme planı 43

**Şekil 21.** ELISA yönteminde antijen/ antikor reaksiyonu 47

**Şekil 22.** İrisin standart grafiği 48

**Şekil 23.** GLP-1 standart grafiği 48

# RESİMLER DİZİNİ

[**Resim 1.** Stevyanın anavatanı: Paraguay 7](#_Toc27387880)

[**Resim 2.** Stevya bitkisi 8](#_Toc27387881)

[**Resim 3.** Deney hayvanlarının kafesleri ve ratların tartılması 44](#_Toc27387882)

[**Resim 4.** Ratların burun anüs mesafesinin ölçülmesi 45](#_Toc27387883)

[**Resim 5.** İrisin analizine ait pleytin fotoğrafı 50](#_Toc27387884)

[**Resim 6.** Ratların karaciğer dokularına ait hematoksilen-eozin preparatları 63](#_Toc27387885)

# TABLOLAR DİZİNİ

**Tablo 1.** Kurutulmuş stevya yapraklarının analizi ve yaklaşık içeriği 9

**Tablo 2.** Stevya yapraklarında bulunan glikozitlerin miktarları 11

**Tablo 3.** Steviositler ve değişken grupları (R) 12

**Tablo 4.** Stevya yapraklarında bulunan aminoasit çeşitleri 13

**Tablo 5.** Stevya yapraklarında bulunan yağ asidi çeşitleri 14

**Tablo 6.** Stevya yapraklarında bulunan vitamin çeşitleri 14

**Tablo 7.** Kurutulmuş stevya yapraklarında bulunan mineraller 15

**Tablo 8.** Stevya ekstraktının değişik biyolojik sistemlerdeki antioksidan aktivitesinin ölçülmesi ile ilgili referanslar 16

**Tablo 9.** Metabolik sendromun teşhisinde kullanılan biyokimyasal ve antropometrik tanı kriterleri 23

**Tablo 10.** Çalışmada kullanılan standart rat yemi içeriği 45

**Tablo 11.** İrisin için standartların hazırlanması 49

**Tablo 12.** GLP-1 için standartların hazırlanması 49

**Tablo 13.** Canlı ağırlık ortalamaları 53

**Tablo 14.** Canlı ağırlık ortalamaları 53

**Tablo 15.** Lee indeksi ve VKİ sonuçları 54

**Tablo 16.** K, S-6, S-12, F, F-6 ve F-12 gruplarına ait rutin biyokimyasal parametreler 59

**Tablo 17.** K, S-6, S-12, F, F-6 ve F-12 gruplarına ait irisin ve GLP-1 sonuçları 61

**Tablo 18.** Karaciğer Dokularında Belirlenen Hasarın Skorlanması 62

# ÖZET

**FRUKTOZLA BESLENEN RATLARDA *STEVİA REBAUDİANA*’NIN SERUM İRİSİN VE GLUKAGON BENZERİ PEPTİD 1 (GLP1) DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**İnci A. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Biyokimya (Veteriner) Programı Doktora Tezi, Aydın 2020.**

Bu çalışmanın amacı, fruktozla beslenen ratlarda *Stevia rebaudiana*’nın serum irisin ve glukagon benzeri peptid 1 (GLP-1) düzeyleri üzerine etkisinin araştırılması ve stevianın karaciğer, böbrek ve beyin dokularına olan etkisinin histopatolojik olarak değerlendirilmesidir. Bu amaçla 42 adet erkek Sprague Dawley rat kullanılmıştır. Gruplar, K; kontrol, S-6; 6 mg/kg stevya, S-12; 12 mg/kg stevya, F; %20 fruktoz, F-6; %20 fruktoz + 6 mg/kg stevya, F-12; %20 fruktoz + 12 mg/kg stevya şeklinde oluşturulmuştur. 16 haftalık denemenin sonunda serum örneklerinde glukoz, total protein, albümin, ALT, AST, LDH, üre, ürik asit, kreatin, total kolesterol, trigliserit, HDL, LDL ve irisin ile GLP-1 düzeyleri ölçülmüştür. Ayrıca tüm deney gruplarındaki ratların karaciğer, böbrek ve beyin dokusu hemotoksilen-eosin ile boyanarak, bu dokularda hasar olup olmadığı araştırılmıştır. Serum glukoz düzeylerinin K grubuna göre, F, F-6 ve F-12 gruplarında yükseldiği, S-6 ve S-12 gruplarında düştüğü ve gruplar arasındaki bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür (P<0,05). Serum irisin ve GLP-1 seviyelerinde gözlenen farklılıkların anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Yalnızca stevya verilen ratların karaciğer dokularında hafif bir steatoz gözlenmiştir. Fruktoz ve stevyanın birlikte verildiği ratların karaciğer dokusunda ise daha şiddetli steatoz görülmüştür.

Fazla miktarda stevya kullanımının karaciğere zararlı olacağı görüldüğü için stevyayı kabul edilebilir miktarlarda tüketmeye özen gösterilmelidir. Ayrıca metabolik sendroma yatkın bireylerin stevya kullanırken daha dikkatli olmaları gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Glukagon benzeri peptid 1, irisin, metabolik sendrom, stevya

# ABSTRACT

**EFFECTS *STEVIA REBAUDIANA* ON SERUM IRISIN AND GLUCAGON LIKE PEPTIDE 1 (GLP1) LEVELS ON FRUCTOSE FED RATS**

**İnci A. Aydin Adnan Menderes University, Institüte of Health Science, Biochemistry (Veterinary) Program Phd Thesis, Aydin 2020.**

The aim of this study was to investigate the effect of *Stevia rebaudiana* on serum irisin and glucagon-like peptide 1 (GLP-1) levels in fructose-fed rats. The study was conducted using 42 male Sprague Dawley rats. Groups were named, K; control, S-6; 6 mg/kg stevia, S-12; 12 mg/kg stevia, F; 20 %fructose, F-6; 20 %fructose + 6 mg/kg stevia and F-12; 20 %fructose + 12 mg/kg stevia. At the end of the 16 week trial, glucose, total protein, albumin, ALT, AST, LDH, urea, uric acid, creatine, total cholesterol, triglyceride, HDL, LDL, irisin and GLP-1 levels were measured in serum samples. Additionally; liver, kidney and brain tissues were examined with hemotoxylin-eosin in all experimental groups and damage was determined in these tissues. Serum glucose levels increased in F, F-6 and F-12 groups, but decreased in S-6 and S-12 and the differences between the groups was statistically significant (P <0.05). The differences in serum levels of irisin and GLP-1 were not significant. Mild steatosis was observed in liver tissues of rats that was fed only stevia. It was observed more severe steatosis in the liver tissue of rats that was fed both fructose and stevia.

As it is seen that the use of excess stevya will be harmful to the liver, it should be taken carefully to consume stevya in acceptable amounts. It was also concluded that individuals who are predisposed to metabolic syndrome should be more careful at using stevya.

**Keywords:** Glucagon-like peptide 1, irisin, metabolic syndrome, stevia

# 1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütünün (WHO) tanımına göre sağlık, sadece hastalık ve sakatlığın olmayışı değil, bedenen, ruhen ve sosyal yönden tam bir iyilik halidir (WHO, 1978). İnsanın fiziksel, zihinsel ve sosyal yönden tam bir iyilik halinde olması, büyük ölçüde koruyucu sağlık önlemlerinin alınmasına bağlıdır. Sağlıklı beslenme; sağlıklı yaşamanın ön koşulu olup, besin öğelerinin hepsinden yeterli miktarda alınması ve vücutta uygun şekilde kullanılması olarak tanımlanır (Baysal ve ark, 2002). Günlük enerji ihtiyacının %50-55’i karbonhidratlardan, %30’u yağlardan ve %15-20’si proteinlerden elde edilir. Meyve ve sebze gibi doğal gıdalarda bulunan fruktoz, çay şekeri olarak bilinen sükroz ve yüksek fruktozlu mısır şurubu gibi şekerler, hazır gıdaların lezzetini arttırmak için gıdaların içeriklerine eklenmektedir. Yüksek fruktozlu mısır şurubunun ilk üretim prosesleri 1920’lerde geliştirilmiş, 1970’lerin sonuna gelindiğinde ise Amerikalıların diyetinde büyük bir yer edinmiştir. Ancak yapılan araştırmalara göre fruktoz; metabolik sendrom, tip 2 diyabet, obezite, hipertansiyon, dislipidemi ve kanser olmak üzere pek çok hastalık için predispozandır (Arslan ve Şanlıer, 2016).

Günümüzde şeker yerine, tatlılık oranı yüksek olması, glisemik etkisi ya da kalorisi olmaması sebebiyle sentetik tatlandırıcılar kullanılmaktadır. Fakat tatlandırıcıların kullanıldığı ürünlerle yapılan epidemiyolojik çalışmalar; tatlandırıcıların metabolik sendrom, obezite ve tip 2 diyabet gelişme riskini arttırabileceğini göstermektedir (Pepino, 2015). Sentetik tatlandırıcıların kanser gelişiminde rolü olduğu da tartışılmaktadır (Soffritti ve ark, 2007; Whitehouse ve ark, 2008).

Türkiye’de şeker otu olarak bilinen *Stevia rebaudiana* bitkisinden elde edilen ekstrakt, sentetik tatlandırıcıların yerine kullanılabilmektedir. Anavatanı olan Brezilya, Arjantin, Paraguay’da yüzyıllardır yerliler tarafından kullanılan stevya, yapraklarındaki tatlı mucize keşfedildiğinden beri sadece Güney Amerika’da değil başta Amerika Birleşik Devletleri, Japonya, Fransa, İsviçre, Çin, Avustralya, Yeni Zelanda, Kore, Meksika ve Arjantin olmak üzere dünyanın birçok ülkesinde, 100’den fazla çeşit yiyecek ve içeceğin tatlandırılmasında son derece yaygın olarak ve güvenle kullanılmaktadır. Stevyanın tatlandırıcı etkisi, yapraklarındaki Rebaduosid A adlı bileşikten kaynaklanır. Bu özler sayesinde stevya yaprakları şekerden 300 kat daha tatlıdır (Brandle ve ark, 1998).

Son yıllarda hızla gelişen gıda endüstrisinde geleneksel sentetik tatlandırıcıların yerine kullanılabilecek, insan sağlığı açısından risk teşkil etmeyen alternatif doğal tatlandırıcılara yönelik araştırmaların sayısı çoğalırken, sükrozdan 250-300 kat daha tatlı olan ve içerdiği tatlı diterpenler ve polifenoller gibi biyoaktif moleküller sayesinde antioksidan özellik gösteren stevyaya olan ilgi de artmaktadır.

Tatlandırıcılar, gastrointestinal kanalda bulunan enteroendokrin L-hücrelerinde lokalize olmuş tat reseptörlerine bağlanarak onları aktifleştirebilmektedir (Jang ve ark, 2007; Margolskee ve ark, 2007). Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda, intestinal tat reseptörleri ile barsaktan salınan hormonlar arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda, L-hücreleri tarafından sentezlenen glukagon benzeri peptit 1 (GLP-1)’in düzeylerinin, sentetik tatlandırıcıların tat reseptörlerini uyarması sonucu artmış olduğu rapor edilmiştir. Bu hormonların artması sonucu barsakta GLUT-2 reseptörlerinin upregüle olduğu ve intestinal glikoz emiliminde artış görüldüğü bildirilmiştir (Mace ve ark, 2007). Sentetik tatlandırıcıların tat reseptörleri ve inkretin düzeylerine etkisi ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmakla birlikte, stevyanın etkilerine dair herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu sebeple çalışmamızda stevyanın GLP1 düzeyleri üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

Metabolik sendrom (MS); obezite, hiperinsülinemi, hiperlipidemi, hipertansiyon ile karakterize olan, kardiyovasküler hastalıklar ve tip 2 diyabet için ciddi risk faktörü oluşturan bir durumdur. Yapılan çalışmalar, irisin hormonunun vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi ve serbest yağ kitlesi ile pozitif korelasyon gösterdiğini bildirmektedir. Huh ve ark (2012), metabolik sendromlu bireylerde irisin düzeylerinin artmış olduğunu bildirmişlerdir. Stevya kullanımının, irisin ve GLP1 gibi hormonların serum düzeylerine etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu çalışmada stevyanın, gelişmiş ülkelerde bir salgın gibi yayılan metabolik sendrom, obezite ve tip 2 diyabet gibi hastalıklardan koruyucu etkisi olduğu bilinen GLP-1 ve irisin düzeylerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

# 2. GENEL BİLGİLER

# 2.1. Fruktoz

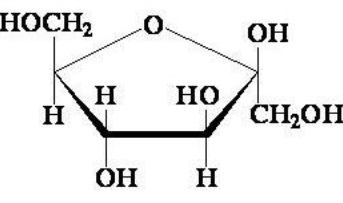
Fruktoz, renksiz, kristal yapıda, suda kolayca çözünen, altı karbonlu bir monosakkarittir. Fruktoz meyvelerde ve balda doğal olarak bulunur (Arslan ve Şanlıer, 2016).

Ayrıca fruktoz, sükroz ve yüksek fruktozlu mısır şurubunun bir bileşenidir. Günümüzde şeker (sükroz, yüksek fruktozlu mısır şurubu, bal, melas ve diğer şuruplar) ilave edilmiş gıdaların tüketiminin artması sonucu, fruktoz alımı günlük 60-150 gr’a ulaşmıştır. Bu miktarın günlük enerji ihtiyacının %10,2’sini karşıladığı tahmin edilmektedir. Diyetle alınan fruktozun büyük bir kısmını yüksek fruktozlu mısır şurubu ile tatlandırılmış alkolsüz içecekler oluşturmaktadır (Malik ve ark, 2010). Farklı besinlerde bulunan fruktoz oranları Şekil 1’ de gösterilmiştir.

Şekil 1. Bazı besinlerin içerdiği fruktoz oranları (Cozma ve Sievenpiper, 2013).

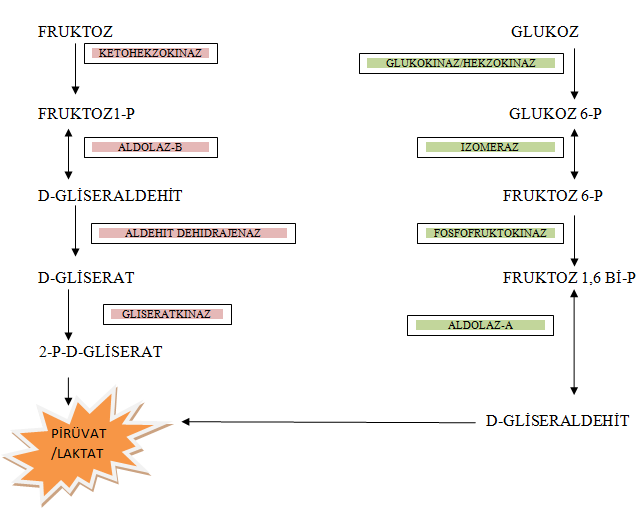
# 2.2. Fruktozun Yapısı, Özellikleri ve Metabolizması

Fruktoz altı karbonlu bir monosakkarit olup, kimyasal formülü C6H12O6’dır. Glikozun izomeri olan fruktoz, bir ketohegsoz olup, terminal karbon atomunda keton grubu içerir. (Şekil 2)



Şekil 2. Fruktozun Haworth formülü ile gösterilmesi (Sözbilir ve Bayşu, 2008).

İnsanlarda en çok kullanılan monosakkarit glikozdur. Glikozun yanında fruktoz ve galaktoz da diyetimizde önemli miktarda yer alan ve enerji metabolizmasına katkıda bulunan monosakkaritlerdir. Fruktozun en önemli kaynağı bir disakkarit olan sükrozdur. Fruktozun normalde günlük alımı 16-20 gr iken, son yıllarda gıda endüstrisinin gelişmesiyle birlikte tüketilen ambalajlı gıdaların yüksek fruktoz içermesi sebebiyle bu miktar 150 gr’a kadar çıkmıştır (Champe ve ark, 2007). Diyetle alınan fruktoz, spesifik bir fruktoz taşıyıcısı olan glukoz transporter 5 (GLUT-5) ile bağırsak hücresine alınmaktadır. Bu işlem kolaylaştırılmış difüzyon ile gerçekleşmekte ve enerji gerektirmemektedir. Bağırsak hücresine alınan fruktoz daha sonra enterositlerin bazolateralindeki GLUT-2 taşıyıcıları üzerinden kana verilmektedir. Enterosit içinde fruktozun bir kısmı laktata dönüşmektedir. Bir kısmı ise trioz fosfatlar üzerinden glikoza çevrilmektedir. Kana geçen fruktozun temel hedef organı karaciğer olup, fruktoz insülinden bağımsız olarak GLUT-2 yoluyla hepatositlere alınır (Feinman ve Fine, 2013). Fruktoz, glikoliz yolağına girmeden önce fruktokinaz enzimi ile fosforillenmektedir. Fruktokinaz enziminin bu etkisi insülin tarafından düzenlenmemektedir. Fruktoz metabolizması glukoz metabolizmasından daha hızlıdır. Çünkü glikoz metabolizmasında görevli olan fosfofruktokinaz enzimi fruktoz metabolizmasında görevli değildir. Fruktoz, fruktokinaz enzimi ile fruktoz-1-fosfata, fruktoz-1-fosfatta aldolaz B enzimi ile triozlara dönüşür ve glikolizin en önemli düzenleyici basamağı olan fosfofruktokinaz basamağı atlanarak doğrudan glikolitik yola geçilir (Şekil 3).



Şekil 3. Fruktoz ve glukoz metabolizması (Champe ve ark, 2007’ den uyarlanmıştır).

Fruktoz metabolizması sırasında, glikoz metabolizmasında hız kısıtlayıcı enzimlerden olan fosfofruktokinaz basamağı atlandığı için piruvat üretimi daha hızlı olur. Oluşan piruvat kreps döngüsü ile enerji üretiminden ziyade karaciğerde trigliseritlere dönüşmektedir. Bu sebeple artmış yağ asiti sentezi, dolaşımdaki yağ asitlerini ve depolanan yağı artırabilir. Bu da adipoz doku dışındaki dokularda yağ asitlerinin yapımına bağlı olarak hücrelerin insülin duyarlılığını azaltan lipotoksisiteye yol açabilir (Neilson, 2007). Ayrıca aşırı fruktoz tüketiminin sebep olabileceği hastalıklar Şekil 4’ te özetlenmiştir.

Şekil 4. Yüksek fruktoz içeren diyetle beslenme sonucu oluşabilecek hastalıklar (Eckel ve ark, 2005).

# 2.3. *Stevia rebaudiana*

# 2.3.1. *Stevia rebaudiana*’nın Kökeni

Ülkemizde şeker otu olarak bilinen *Stevia rebaudiana* (Bertoni), Paraguay’ın kuzey doğusunda bulunan Amambay bölgesinde doğal olarak yetişen Asteraceae ailesine ait çalılık, dallı bir bitkidir. Brezilya ve Arjantinin’in Paraguay’a komşu olan bölgelerinde de doğal olarak yetişmektedir (Soejarto, 2002). Günümüzde Kanada’da, Asya’nın bir bölümünde ve Avrupa’da bu bitkinin kültürü yapılmaktadır (Amzad-Hossain ve ark, 2010). *Stevia* cinsine ait 230 tür olup sadece *rebaudiana* ve *phlebophylla* türleri steviol glikozitler içermektedir (Brandle ve Telmer, 2007).



Resim 1. Stevyanın anavatanı: Paraguay (WEB 1).

Moisés Santiago Bertoni, 1899 yılında *Stevia rebaudiana*’nın detaylı bir botanik sınıflandırmasını yapmıştır. İlk olarak *Eupatorium rebaudianum* olarak adlandırılmış, 1905 yılında adı *Stevia rebaudiana* Bertoni olarak değiştirilmiştir. Tatlı özleri ilk olarak 1909 yılında izole edilmiş, steviosit içeren ekstrakt ise 1931 yılında saflaştırılmış, diterpen glikozitlerin kimyasal yapısı ise 1952 yılında belirlenmiştir (Khiraoui ve ark, 2017).

Steviosit, steviol kısmı bir aglikona bağlı üç glikoz molekülü içeren bir glikozit olarak tanımlanmaktadır. 1970’lerden bu yana steviositlerin dışında ve steviositlerden daha tatlı olan rebaudioside A gibi bileşikler izole edilmektedir (Barriocanal ve ark, 2008). *S. rebaudiana* içerdiği steviositlerin tatlılığı ve yapraklarının çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılabilmesi sebebiyle araştırılan bir bitkidir. Tatlandırıcı olarak yiyecek ve ilaç sanayinde steviositleri pazarlayan ilk ülke Japonya olmuştur. Sonrasında stevya yetiştiriciliği Çin, Malezya, Singapur, Güney Kore, Tayvan ve Tayland’a da yayılmıştır (Chatsudthipong ve Muanprasat, 2009).

Paraguay yerlilerinin binlerce yıldır tükettiği stevya, ABD’de 2008, Avrupa’da 2011, Türkiye’de ise 2013 yılından beri kullanılmaktadır (İnanç ve Çınar, 2009). Tıbbi aromatik bitkiler grubunda yer alan stevya, gıda endüstrisinde de kullanılmakta ve Türkiye’de üretiminin artırılmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır (Turgut ve ark, 2015; Yücesan ve ark, 2016a; Yücesan ve ark, 2016b). Bu çalışmalar sonucunda stevyanın Türkiye’de yetiştirilebileceği, özellikle Akdeniz bölgesinin üretim için son derece uygun olduğu bildirilmiştir (Turgut ve ark, 2015).

****

Resim 2. Stevya bitkisi (WEB 2).

# 2.3.2. Stevyanın Biyokimyasal Özellikleri ve Besin Değeri

Stevyanın kurutulmuş yapraklarından elde edilen ekstraktında, flavonoidler, alkoloidler, suda çözünmüş klorofiller ve ksantofiller, hidroksinamik asit (kafein, klorojenik gibi), nötral oligosakkaritler, serbest şekerler, aminoasitler, lipitler, esansiyel yağlar ve iz elementler bulunur. Bu bileşiklerin miktarları farklı çalışmalarda gösterilmiş ve Tablo 1’de özetlenmiştir.

**Tablo 1.** Kurutulmuş stevya yapraklarının analizi ve yaklaşık içeriği (g/100 g kuru ağırlık).

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **İçeriği ve Referanslar** | **Savita ve ark, 2004** | **Tadhani ve Subhash, 2006** | **Mishra ve ark, 2010** | **Goyal ve ark, 2010** | **Serio, 2010** | **Kaushik ve ark, 2010** | **Abou-Arab ve ark, 2010** | **Atteh ve ark, 2011** | **Wöelwer-Rieck, 2012** | **Segura ve ark, 2014** | **Gasmalla ve ark, 2014** | **Khiraoui ve ark, 2017** |
| Protein | 9,8 | 20,4 | 10 | 11,2 | 11,2 | 12 | 11,4 | 16 | 12,1-15,5 | 12,11-15,05 | 12,44-13,68 | 11,75-16,23 |
| Yağ | 2,5 | 4,34 | 3 | 1,9 | 5,6 | 2,7 | 3,73 | 2,6 | 3,6-5 | 3,04-3,23 | 4,18-6,13 | 3,86-5,78 |
| Kül | 10,5 | 13,1 | 11 | 6,3 | T | 8,4 | 7,41 | 15,5 | 7,7-8,1 | 7,82-11,93 | 4,65-12,06 | 7,37-11,28 |
| Karbonhidrat | 52 | 35,2 | 52 | T | 53 | T | 61,9 | T | T | 64,06-67,98 | 63,10-73,99 | 51,50-56,72 |
| Nem | 7 | T | 7 | 4,65 | T | 7,7 | 5,37 | T | 7,2-8,8 | 7,45-7,80 | 4,45-10,73 | 4,97-8,31 |
| Lif | 18,5 | T | 18 | 15,2 | 15 | T | 15,5 | 6,8 | 9,7-12,1 | 5,92-9,52 | 4,35-5,26 | 17,43-19,13 |

T: Tanımlanamamıştır

# 2.3.3. Stevyanın İçerdiği Glikozitler

Stevyanın yaprakları çok çeşitli besin öğelerini içermesi sebebiyle oldukça yararlıdır. Karbonhidrat içeriği yüksek olan bu bitki, hem prebiyotik, hem de antioksidan etkilidir (Bernal ve ark, 2011). Stevyanın doğal olarak ihtiva ettiği bitkisel polisakkaritlerin, prebiyotiklerin ve diyetsel liflerin, lipid metabolizmasında ve diyabet kontrolünde önemli fonksiyonları bulunur (Braz de Oliveira ve ark, 2011).

Glikozitler temel olarak bitkilerde bulunan, hidrolitik reaksiyonlarla karbonhidrat ve karbonhidrat olmayan kısımlara ayrılabilen organik bileşiklerdir (Bernal ve ark, 2011). *S. rebaudiana’*nın yapraklarından izole edilen glikozitlerin genel adı steviosittir. Stevya, kalorisiz ve doğal olması sebebiyle yapay tatlandırıcılara alternatif olarak dünya pazarlarında yer bulmuştur (Anton ve ark, 2010).

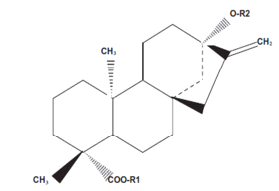
Stevya, diterpen yapılı olan steviosit, steviolbiosit, rebaudiosit A, B, C, D, E, F ve dulkosit olmak üzere çok sayıda steviol glikozitler içermektedir (Geuns, 2003). Stevyanın taze yapraklarında bulunan steviol glikozitlerinin oranı %4-%20 arasında olup, bu oran; büyüme koşulları, toprağın işlenmesi ve çiftçilik tekniklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Pol ve ark, 2007). *S. rebaudiana* yapraklarının kuru ağırlığının %5-15’ni oluşturan steviositlerin molekül ağırlığı, 804,8 g/mol olup, molekül formülü ise C18H60O18’dir (Bender, 2016). Ayrıca stevya yapraklarının kuru ağırlığının %3-6’sını rebaudiositler oluşturmaktadır (Mishra ve ark, 2010). Steviositler ve diğer steviol glikozitler, üç boyutlu kimyasal yapıları sayesinde asit ve enzimatik hidrolize dirençlidirler. Ayrıca yüksek kimyasal stabiliteye sahip bileşiklerdir (Khiraoui ve ark, 2017).Stevya yapraklarında bulunan glikozitlerin miktarları Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2. Stevya yapraklarında bulunan glikozitlerin miktarları (yaprak kuru ağırlığında % olarak).

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Steviol Glikozitler** | **Kinghorn ve Soejarto, 1985** | **Kolb ve ark, 2001** | **Kovylyaeva ve ark, 2007** | **Lavini ve ark, 2008** | **Gardana ve ark, 2010** | **Serio, 2010** | **Atteh ve ark, 2011** | **Jaworska ve ark, 2012** | **Khiraoui ve ark, 2017** |
| Steviosit | 5-10 | 3,78-9,75 | 4,8-5,8 | 5,7 | 5,8 | 6-7 | 6,5 | 2 | 6,26-10,10 |
| Rebaudiosit A | 2-4 | 1,62-7,27 | 1,2-1,3 | 8,36 | 1,8 | 1-4 | 2,3 | 5 | T |
| Rebaudiosit C | 1-2 | T | 0,3-0,5 | T | 1,3 | 1-2 | T | 2 | T |
| Dulcosit A | 0,4-0,7 | T | T | T | T | 0,2-0,7 | T | 1 | T |

T: Tanımlanamamıştır.

Bu diterpen glikozitler stevya yapraklarından izole edilmiş olup, aynı steviol omurgasına R1 ve R2’de faklı karbonhidrat rezidülerinin bağlanmasıyla ve C13 ve C19 pozisyonundaki mono, di, trisakkaritlerin glikoz ya da ramnoz olması ile birbirinden farklılık gösterirler (Kochikyan ve ark, 2006). R gruplarındaki farklılık Şekil 5 ve Tablo 3’te gösterilmiştir.



Şekil 5. Stevyanın kimyasal formülü (Kochikyan ve ark, 2006).

Tablo 3. Steviositler ve değişken grupları (R).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Steviositler** | **R1** | **R2** |
| Steviol | H | H |
| Steviolbiosit | H | β-Glc-β-Glc (2→1) |
| Steviosit | β-Glc | β-Glc-β-Glc (2→1) |
| Rebaudiosit A | β-Glc | β-Glc-β-Glc (2→1)  | β-Glc (3→1) |
| Rebaudiosit B | H | β-Glc-β-Glc (2→1)  | β-Glc (3→1) |
| Rebaudiosit C | β-Glc | β-Glc-α-Rha (2→1)  | β-Glc (3→1) |
| Rebaudiosit D | β-Glc-β-Glc (2→1) | β-Glc-β-Glc (2→1)  | β-Glc (3→1) |
| Rebaudiosit E | β-Glc-β-Glc (2→1) | β-Glc-β-Glc (2→1) |
| Rebaudiosit F | β-Glc | β-Glc-β-Xyl (2→1)  | β-Glc (3→1) |
| Dulkosit A | β-Glc | β-Glc-α-Rha (2→1) |

# 2.3.4. Stevyanın Tatlılığının Sakkaroz ile Karşılaştırılması

Steviositler, stevyanın yapraklarında bol miktarda bulunan ve tatlılığı sakkarozdan ortalama 250-300 kat fazla olan steviol glikozitlerdir.Stevyanın yapraklarından elde edilen bütün steviol glikozitler farklı tatlılık derecesine sahip olup, tümü sakkarozdan daha tatlıdır. Sakkarozdan; rebaudiosit A 250-450 kez, rebaudiosit B 300-350 kez, rebaudiosit C 50-120 kez, rebaudiosit D 250-450 kez, rebaudiosit E 150-300 kez, dulkosit A ise 50-120 kez daha tatlıdır (Yadav ve Guleria, 2012).

# 

# 2.3.5. Stevyanın Aminoasit İçeriği

Stevya yaprakları glutamik asit, aspartik asit, lizin, serin, izolösin, alanin, prolin ve tirozin olmak üzere sekiz adet aminoasit içermektedir (Muhammed ve ark, 2007). Ayrıca stevya yapraklarında esansiyel ve non-esansiyel olmak üzere toplam on yedi aminoasit içerdiği bildirilmiştir (Abou-Arab ve ark, 2010; Li ve ark, 2011). Bu aminoasitlerin miktarı g/100 g olarak Tablo 4’te özetlenmiştir.

Tablo 4. Stevya yapraklarında bulunan aminoasit çeşitleri.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Aminoasitler (g/100 g)** | **Abou-Arab ve ark (2010)** | **Li ve ark (2011)** |
| **Esansiyel Aminoasitler** |  |  |
| Arjinin | 0,45 | 0,81 |
| Lizin | 0,70 | 0,15 |
| Histidin | 1,13 | 0,34 |
| Fenilalanin | 0,77 | 0,88 |
| Lösin | 0,98 | 1,30 |
| Metionin | 1,45 | T |
| Valin | 0,64 | 0,94 |
| Treonin | 1,13 | 0,75 |
| İzolösin | 0,42 | 0,72 |
| **Non-esansiyel Aminoasitler** |  |  |
| Aspartik asit | 0,37 | 1,72 |
| Serin | 0,46 | 1,02 |
| Glutamik asit | 0,43 | 1,90 |
| Prolin | 0,17 | 1,72 |
| Glisin | 0,25 | 0,85 |
| Alanin | 0,56 | 0,95 |
| Sistein | 0,40 | T |
| Tirozin | 1,08 | 0,49 |

T: Tanımlanamamıştır.

# 

# 2.3.6. Stevyanın Lipid İçeriği

Stevya yapraklarından, metil ester standartları kullanılarak altı farklı yağ asidi tanımlanmıştır (Tadhani ve Subhash, 2006; Atteh ve ark, 2011). Bu yağ asitleri palmitik, palmitoleik, sterik, oleik, linoleik ve linolenik asittir. Stevya yapraklarında bulunan yağ asidi çeşitleri ve miktarları Tablo 5’te özetlenmiştir.

**Tablo 5.** Stevya yapraklarında bulunan yağ asidi çeşitleri.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Yağ asitleri (g/ 100 g)** | **Tadhani ve Subhash, 2006** | **Atteh ve ark, 2011** |
| Palmitik asit | 27,51 | 29,5 |
| Oleopalmitik asit | 1,27 | 3,0 |
| Stearik asit | 1,18 | 4,0 |
| Oleik asit | 4,36 | 9,9 |
| Linolik asit | 12,40 | 16,8 |
| Linolenik asit | 21,59 | 32,6 |

# 2.3.7. Stevyanın Vitamin ve Mineral İçeriği

Stevya yapraklarından elde edilen ekstraktta, pek çok suda çözünen vitamin olduğu bildirilmiştir. Bu vitaminlerin arasında folik asit, C vitamini ve B2 vitaminin yüksek oranda bulunduğu belirtilmiştir. Yaprak eksraktında en çok folik asit, kallus eksraktında ise en çok C vitamini bulunduğu bilinmektedir (Kim ve ark, 2011). Stevya yapraklarında bulunan vitamin çeşitleri ve miktarları Tablo 6’da özetlenmiştir.

Tablo 6. Stevya yapraklarında bulunan vitamin çeşitleri.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Vitaminler (mg/ 100 g)** | **Yaprak Ekstraktı** | **Kallus Ekstraktı** |
| C vitamini | 14,98 | 1,64 |
| B2 vitamini | 0,43 | 0,23 |
| B6 vitamini | 0 | 0 |
| Folik asit | 52,18 | 0,09 |
| Niasin | 0 | 0 |
| Tiamin | 0 | 0 |

Kurutulmuş stevya yaprakları mikro ve makro elementlerden pek çoğunu içermektedir. İnsan sağlığı açısından gerekli olan bu minerallerin varlığı stevya yapraklarının besin değerini arttırmaktadır (Khiraoui ve ark, 2017).Kurutulmuş stevya yapraklarında bulunan mineraller ve miktarları Tablo 7’de özetlenmiştir.

Tablo 7. Kurutulmuş stevya yapraklarında bulunan mineraller.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Mineraller  (mg/ 100 g) | **Savita ve ark (2004)** | **Tadhani ve Subhash (2006)** | **Goyal ve ark (2010)** | **Serio (2010)** | **Mishra ve ark (2010)** | **Kaushik ve ark (2010)** | **Atteh ve ark (2011)** | **Khiraoui ve ark (2017)** |
| Kalsiyum | T | 1550 | 544 | 600 | 464,4 | 722 | 8,2 | 579,68-734,57 |
| Fosfor | 11,4 | 350 | 318 | 318 | 11,4 | T | 2,6 | T |
| Sodyum | T | 160 | 89,2 | T | 190 | 32,7 | 0,7 | 69,87-190,14 |
| Potasyum | 190 | 2510 | 1780 | 1800 | 1800 | 839 | 17,3 | 1421,24-2787,11 |
| Demir | 55,3 | 36,3 | 3,9 | 3,9 | 55,3 | 31,1 | 366 | 5,73-35,44 |
| Magnezyum | 1800 | T | 349 | 500 | 349 | T | 2,4 | 179,57-198,18 |
| Çinko | T | 6,39 | 1,5 | T | 1,5 | T | 20 | 1,71-5,32 |

T: Tanımlanamamıştır.

# 2.3.8. Stevyanın Antioksidan Aktivitesi

Stevyanın içerdiği esansiyel antioksidanlar (vitamin C ve aminoasitler), fenolik bileşikler, flavonoidler ve taninler sebebiyle antioksidan etkinlik gösterdiği pek çok çalışmada belirtilmiştir (Sativa ve ark, 2004; Ghanta ve ark, 2007; Tadhani ve ark, 2007; Abou-Arab ve Abu-Salem, 2010; Kim ve ark, 2011; Karaköse ve ark, 2011). Stevya ekstraktının değişik biyolojik sistemlerdeki antioksidan aktivitesinin ölçülmesi ile ilgili referanslar Tablo 8’de özetlenmiştir.

Tablo 8. Stevya ekstraktının değişik biyolojik sistemlerdeki antioksidan aktivitesinin ölçülmesi ile ilgili referanslar.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Antioksidan Aktivite** | **Biyolojik Sistem** | **Referanslar** |
| Hücresel antioksidan aktivitenin belirlenmesi | İnsan karaciğer hücresi | Bender, 2015; Bender ve ark, 2015 |
| Antioksidan enzim aktivitesinin belirlenmesi | İzole rat karaciğer mitokondrisi  İnsan karaciğer hücresi | Vasko ve ark, 2014  Bender ve ark, 2015 |
| Redükte glutatyon düzeylerinin belirlenmesi | İzole rat karaciğer mitokondrisi | Vasko ve ark, 2014 |
| Oksidatif fosforilasyonun | Rat karaciğer mitokondrisi | Kelmer ve ark, 1985 |
| DNA’nın oksidatif hasardan korunumunun belirlenmesi | İzole DNA | Ghanta ve ark, 2007; Mediesse ve ark, 2014 |
| Lipid peroksidasyonu (TBARS) | Rat karaciğer homojenatında | Ghanta ve ark, 2007; Mediesse ve ark, 2014 |

# 

# 2.3.9. Stevyanın Gıda Endüstrisinde Kullanımı

Stevyanın son yıllarda ülkemizde fazlaca ilgi görmesi ve elde edilen steviol glikozitlerin yüksek fiyatlara alıcı bulması, ayrıca pazarlanmasının kolay olması sebebiyle seralarda üretiminin kazançlı bir alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Yetiştiriciliğinin artmasıyla birlikte stevya, alternatif bir tatlandırıcı olarak gıda endüstrisindeki yerini almıştır. Örneğin son yıllarda stevyanın poşet çaylara katılarak, kalorisiz tatlı poşet çay yapımında kullanılabileceğine dair öngörüler, ileriki yıllarda stevyaya olan talebin katlanarak artacağını göstermektedir. Ayrıca diyabetik ve obez hasta grubunun tercih edebileceği gıdalardaki güvenli kullanımı, bu pazarın daha da büyüyeceğini göstermektedir.

Stevyanın gıda endüstrisinde tercih edilmesinin diğer sebebleri de 200 °C’de bile stabil olması, fermente olmaması, karamelize ya da kristalize olmamasıdır. Ayrıca stevyanın gıda endüstrisindeki bir diğer avantajı, ısıl işleme tabi tutulduğunda şekerler gibi 5’ hidroksimetil furfural (HMF) oluşturmaması ve toksik olmamasıdır (İnanç ve Çınar, 2009).

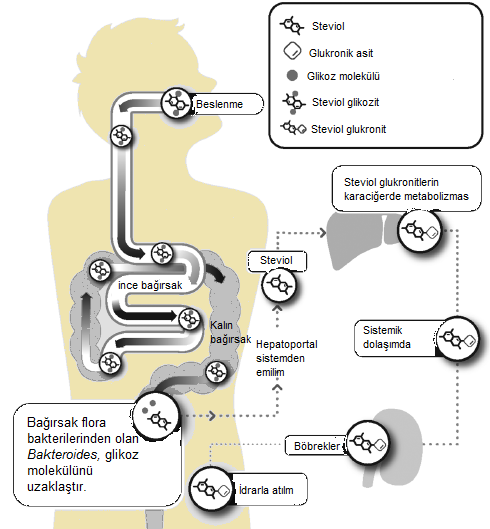
# 

# 2.3.10. Stevyanın Metabolizması

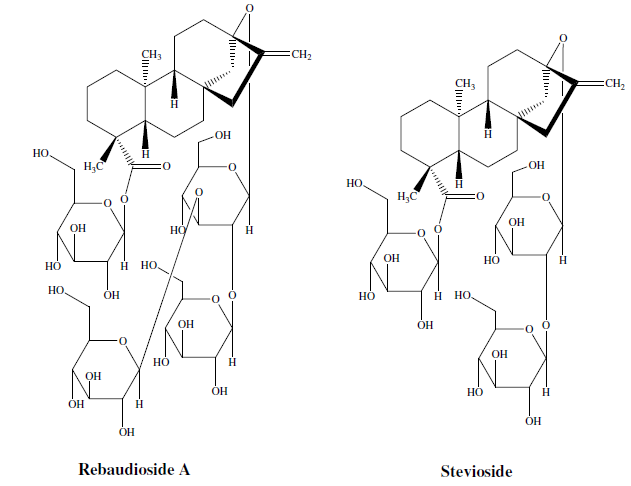
Türkiye’de stevyanın, gıda katkı maddesi olarak kullanılmasına 2013 yılından itibaren izin verilmiştir. Stevya E960 kodu ile gıda ambalaj etiketlerinde yer almıştır.

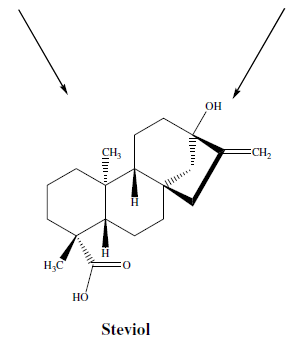
Yapılan *in vitro* çalışmalarda, steviositlerin, özellikle tatlandırıcı sektöründe en çok kullanılan ve R1 grubunda β-Glc içeren rebaudiosit A molekülünde, β glikozidik bağlar bulunmasından dolayı, sindirim enzimleri olan α-amilaz, pepsin ya da pankreas dokusu ve hepatik doku enzimleri ile sindirilmedikleri belirtilmektedir (Wingard ve ark, 1980; Ishi-Iwamoto ve Brache, 1995; Hutapea ve ark, 1997). Stevyanın metabolizmasına ilişkin farklı canlı türlerinde pek çok çalışma yapılmıştır. Steviositle beslenen ratlarda ve hamsterlerde stevya metabolizmasının, hayvanların çekum mikrobiyotası tarafından gerçekleştirildiği, steviollerin hayvanların kanında, maksimum konsantrasyona 8 saat sonra ulaştığı belirtilmiştir (Nakayama ve ark, 1986; Koyama ve ark, 2003). Bu iki kemirgen çalışmasında, hayvanlarda koprofaji önlenmemiştir. Bu nedenle hayvanların kanında steviol düzeyi artışının, beslenme sonrası stevyanın kolonda metabolizması sonucu mu, yoksa koprofaji sonucu alınan dışkılardan mı kaynaklandığı tespit edilememiştir. İnsan kolonundan izole edilen bakteriler steviositleri *in vitro* ortamda steviole dönüştürebilmektedir. Ancak *in vivo* ortamda kolonda oluşmuş steviolün bağırsak bakterileri tarafından oluştuğuna dair kesin kanıt bulunmamaktadır (Hutapea ve ark, 1997; Koyama ve ark, 2001; Koyama ve ark, 2003; Gardana ve ark, 2003).

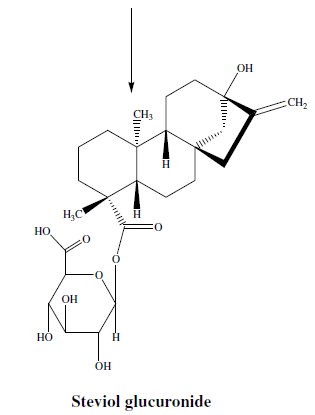
Ayrıca, horozlar (Pomaret ve Lavieille, 1931) ve tavuklarla (Geuns ve ark, 2003b) yapılan çalışmalarda steviositin hızlı ve büyük ölçüde metabolize edilmeden vücuttan atıldığı gösterilmiştir. Domuzlarda yapılan bir çalışmada ise oral yolla verilen steviositlerin feceste bulunan ve tek metabolit olan steviole metabolize olduğu, kanlarında ise steviosite ya da steviole rastlanmadığı bildirilmiştir (Geuns ve ark, 2003a). Bu çalışmalar steviol metabolizması açısından değerlendirildiğinde sadece çekum veya kolon mikrobiyotasının steviosidi steviole (fare, rat, hamster ve tavukların çekum; domuz ve insanın ise kolon) metabolize ettiği sonucuna varılmıştır. İnsan kolonundan izole edilen bakterilerle yapılan *in vitro* bir çalışmada, steviolün epoksite metabolize olduğunu ancak *in vivo* ortamda insan kolonunun anaerobik koşulları nedeniyle bir metabolit olarak epoksit meydana gelmeyeceği rapor edilmiştir (Hutapea ve ark, 1997). İnsanlarda steviol glikozitlerin metabolizması Şekil 6 ve Şekil 7’ de gösterilmiştir.



Şekil 6. İnsanlarda steviol glikozitlerin metabolizması (Samuel ve ark, 2018).

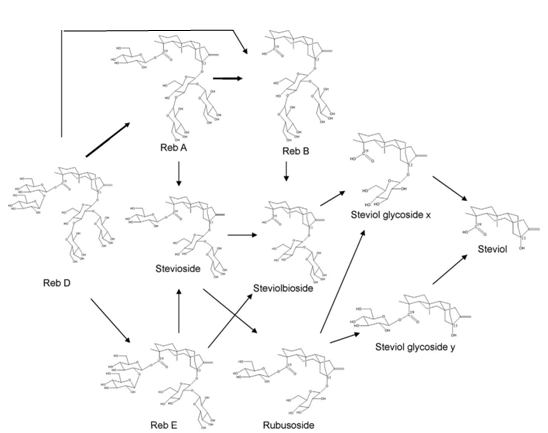






Şekil 7. Stevyanın metabolizması (Koyama ve ark, 2003).

İnsan feçes homojenatında *in vitro* ortamda inkübe edilen α- glikozile rebaudiosit A, α- glikozile steviosit, α- glikozile rebaudiosit C ve α- glikozile dulkosit A içeren steviol karışımının 24 saatin sonunda steviole hidroliz edildiği rapor edilmiştir (Koyama ve ark, 2003). Rebuduositlerin ve steviositin aglikon metaboliti olan steviole hidroliz yolu Şekil 8’ de gösterilmiştir.



**Şekil 8.** Rebuduositlerin ve steviositin aglikon metaboliti olan steviole hidroliz yolu (Nikiforov ve ark, 2013).

# 2.3.11. Stevyanın Güvenilirliği

Stevyanın kullanım güvenliği Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Besin Katkı Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzman Komitesi (JECFA), Avrupa Komisyonu Bilimsel Gıda Komitesi (SCF), Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), Avustralya Yeni Zelanda Gıda Standartları Kurumu (FSANZ) ve Türk Gıda kodeksi olmak üzere çeşitli bilimsel kuruluşlar ve düzenleyici kurumlar tarafından dikkate alınmıştır. Bu kurumlarca stevyanın bir tatlandırıcı olarak kullanımı test edilmiş ve bir veri tabanı oluşturulmuştur. Bu veri tabanı hem hayvan hem de insan deneylerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesiyle oluşturulmuştur. Deney hayvanlarında ve insanlarda steviol glikozitlerin metabolizması ve farmakokinetiği, kısa ve uzun süreli toksisitesi, karsinojenitesi, üreme ve gelişimsel toksikolojisi, *in vitro* ve *in vivo* mutajenitesi ve genotoksisitesi üzerine çalışmalar yapılmıştır. Toksikoloji çalışmaları saflaştırılmış steviosit, rebaudiosit A ve bunların metabolizması sonucu oluşan steviol glikozitlerle yapılmış olup, elde edilen sonuçlarla geniş bir literatür oluşturulmuştur (Aze ve ark, 1991; Toyoda ve ark, 1997; Curry ve Roberts, 2008; Curry ve ark, 2008; Nikiforov ve Eapen, 2008; Williams ve Burdock, 2009).

# 2.3.12. JECFA’nın Steviolların Güvenilirliğine İlişkin Çalışmaları

Gıda katkı maddelerinin ve steviol glikozitlerin güvenilirliği, JECFA tarafından 1998, 2004, 2007, 2008 yıllarında Cenevre de yapılan gıda katkı maddelerine ilişkin 4 ayrı toplantıda tartışılmıştır (JECFA, 1998, 2004, 2007a, b, 2008). Steviositlerin ve reb A’nın genotoksik olmadığı, aynı zamanda ratlarda ve insanlarda steviol glikozitlerin metabolizması sonucu oluşan steviollerin de subkronik etkilerinin ya da üreme ve gelişme üzerine toksik etkilerinin olmadığı yapılan araştırmalarla belirtilmiştir (Curry ve Roberts, 2008; Curry ve ark, 2008, Nikiforov ve Eapen, 2008, Roberts ve Renwick, 2008; Wheeler ve ark, 2008). Steviol glikozitlerin sağlıklı ve diyabetli bireylerde kan basıncını düşürdüğü bildirilmiştir (Maki ve ark, 2008a, b). Steviol glikozitlerden olan, steviosit, reb A, reb B, reb C, reb D, reb F, dulcosit A, rubusositler ile ilgili özel çalışmalar yapılmamış olup, metabolizmaları sonucu hepsi steviole dönüştüğü için JECFA tarafından onaylanmışlardır (WEB 3, 2016).

# 2.4. Metabolik Sendromun Tanımı

Metabolik sendrom (MS), ilk kez Eskil Kylin tarafından 1920’li yıllarda hipertansiyon, hiperglisemi ve hiperürisemi varlığıyla karakterize metabolik bir bozukluk olarak tanımlanmıştır (Kylin, 1923). 1960’lı yıllara gelindiğinde ise MS patogenezinden insülin direncinin sorumlu olduğu belirtilmiştir (Görpe, 1997). Ayrıntılı olarak MS veya insülin direnci sendromu olarak adlandırılan bu bozukluğun özelliklerini 1988 yılında Gerald Reavan tanımlamıştır (Reaven, 1988; Boztepe, 2004). Reaven; şişmanlık, diyabet, hipertansiyon, hiperlipidemi ve aterosklerotik kalp hastalıklarının aynı hastada bulunmasının aynı metabolik bozukluktan kaynaklandığını belirtmiştir (Reaven, 1988). Kısacası MS, kardiyovasküler hastalıklara yol açan, hipertansiyon, hiperglisemi, dislipidemi, protrombik faktörler ve proinflamatuar faktörlerin artışı olarak tanımlanmaktadır (Arslan, 2006). Metabolik sendrom gelişiminden sorumlu metabolik mekanizmalar Şekil 9’ da özetlenmiştir.

Şekil 9. Metabolik sendrom gelişiminden sorumlu metabolik mekanizmalar (Carrera-Lanestosa ve ark, 2017).

# 2.4.1. Metabolik Sendromun Prevalansı ve Diagnozu

Dünya nüfusunun %15’ i ile %40'ını etkileyen MS’nin prevalansı, cinsiyet, yaş ve etnik köken gibi bazı faktörlere bağlıdır. 1999 ve 2006 yılları arasında ABD nüfusunun %22-34'ünde görülen MS, Meksika'da 1994 ile 2000 yılları arasında nüfusun %28'inden %40'ına, 2006'dan 2012'ye kadar ise nüfusun %42’isinde görülmüştür. Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırması'na (National Survey of Health and Nutrition (NHANES III)) göre bu oranlar, kadınlarda erkeklerdekinden daha yüksektir (National Survey of Health and Nutrition, 2012; Galvan-Melendez ve ark, 2014). MS’nin tanısı için biyokimyasal ve antropometrik ölçümler yeterli bulunmaktadır. WHO, Ulusal Kolesterol Eğitim Programı-Algılama Yetişkin Paneli III’ün (NCEP-ATP III) ve Uluslararası Diyabet Federasyonunun (IDF) tanı ölçütleri Tablo 9’da özetlenmiştir (Eckel ve ark, 2005; Gogia ve Agarwa, 2006; Coniglio ve ark, 2013).

Tablo 9. Metabolik sendromun teşhisinde kullanılan biyokimyasal ve antropometrik tanı kriterleri (Carrera-Lanestosa ve ark, 2017).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **Metabolik Sendrom Kriterleri** |  |
| **WHO kriterleri** | **NCEP-ATP III kriterleri** | **IDF kriterleri** |
| İnsülin direnci aşağıdaki parametrelerle belirlenir   * Tip 2 diyabet * Glukoz intoleransı: 126mg/dL ve glukoz yüklemesinden 2 saat sonra 140 ve 200mg/dL * Açlık glukozu ≥ 110 mg/dL * Abdominal obezite (BMI ˃ 30 kg/ m2) * Plazma trigliserid ≥150 mg/dL * HDL-C 35/39 mg/dL’den düşük olması * Arteriyel basınç ≥ 140/90 mmHg * Mikro albuminüri | MS tanısı koymak için aşağıdaki parametrelerin üçünün varlığı gerekmektedir   * Bel çevresinin artışı ile giden abdominal obezite (erkeklerde ˃102 cm, kadınlarda ˃ 88 cm) * Açlık glikoz düzeyi ≥ 110 mg/dL * Arteriyel basınç ≥130/ ≥85 mmHg * Trigliserit ≥ 150 mg/dL * HDL-C: erkeklerde ˂ 40 mg/mL   Kadınlarda ˂ 50mg/mL | MS tanısında bel çevresinin artışıyla karakterize abdominal obezitenin, erkeklerde bel çevresinin ≥94 cm, kadınlarda ≥ 80 cm’in üzerine çıkması ve aşağıdaki faktörlerden iki veya daha fazlası bu duruma eşlik etmelidir.   * Tip 2 diyabet tanısı almadan açlık glikozu ≥ 110mg/dL * Trigliserit ≥ 150mg/dL * HDL-C erkeklerde ˂40 mg/dL, kadınlarda ˂50 mg/dl * Arteriyel basınç ≥ 130/85 mmHg |

# 

# 2.4.2. Stevyanın Metabolik Sendrom Tedavisinde Kullanılması

Yüksek glisemik indekse sahip diyetler ve fazla karbonhidratla beslenme; insülin direnci, diyabet, hipertansiyon ve abdominal obezite gibi MS bileşenlerine sebep olmaktadır. Bu hastalıkların önlenmesi için şekerlerin yerine kalori içermeyen tatlandırıcıların kullanılmasının faydalı olacağı bildirilmiştir (Majchrzak ve ark, 2015).

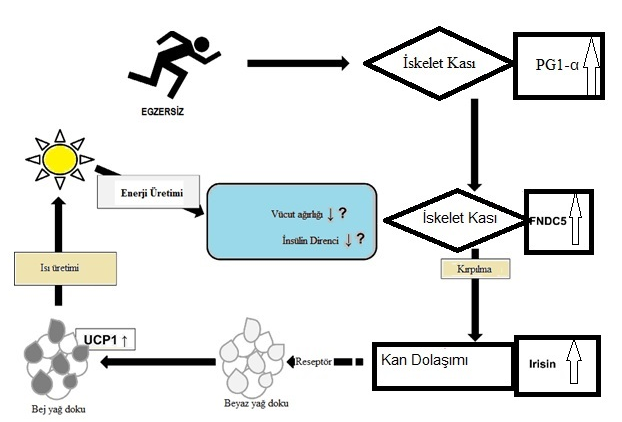
Stevyadan elde edilen glikozitler karbonhidratların yerine kullanılabilen ve kalori içermeyen doğal tatlandırıcılardır. Stevyanın pek çok biyolojik özelliği sayesinde, antibakteriyel, antirotavirüs, antihipertansif, antifungal, antiinflamatuar, antioksidan, diüretik, antasit, hipotansif, antihiperlipidemik ve antikarsinojenik olduğu bildirilmiştir. Antihiperlipidemik oluşu ve pankreas β hücrelerinden insülin salınımını stimüle ederek insülinotropik özellik göstermesi nedeniyle tip 2 diyabetin tedavisinde kullanılmaktadır. Carreare Lanestosa ve ark (2017) yapmış oldukları bir çalışmada stevyanın kan glukoz ve postparandial insülin düzeylerini düşürdüğü bildirilmiştir (Carreare Lanestosa ve ark, 2017). Bu sebeple stevya glikozitleri günümüzde hem diyabetli hem de obez hastalar tarafından çaylarda, ilaçlarda, diğer içecek ve yiyeceklerde kullanılmaktadır. Diterpen glikozitler insanların ve hayvanların bağırsaklarında steviole indirgenir (Aranda-Gonzalez ve ark, 2014; Gupta ve ark, 2014; Salvador- Reyes, 2014). Kalın bağırsaklardan emilen glikozitler, böbrekler ve hepatobiliyer sistem tarafından atılır. Glikozitlerin kan dolaşımında bulunan ana metaboliti stevioldür (Goyal ve ark, 2010; Marcinek ve Krejpcio, 2016). Steviol glikozitler gibi kalorisiz tatlandırıcılar, 9–10 günde 380 kalori ya da 0,45 kg vücut ağırlığı kaybına sebep olurlar. Ratlara oral olarak uygulanan rebaudiosit A vücut ağırlığını, safra asitini ve kolesterolü düşürür. Sağlıklı bireylerde rebaudiosit A’nın tüketildikten 8 veya 12 saat sonra %62'sinin glukronitlerle konjuge olduğu bildirilmiştir. Faz II reaksiyonu ile elimine edilen stevioller idrar ile atılmaktadır (Wheeler ve ark, 2008). Deneysel olarak diyabet oluşturulmuş ratlarda oral olarak verilen stevya ekstraktı ve steviosit metabolizmasının bir ürünü olan izosteviol, lipit profilini iyileştirmiş ve β adacık hücrelerinde insülin transkripsiyonunu düzenleyerek ekspresyonunun arttırmış, plazma trigliseritini azaltmış ve kilo kaybı sağlamıştır (Nordentoft ve ark 2008). Bu sebeple stevyanın MS ve bileşenleri olan diyabet, obezite ve hipertansiyon tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

# 

# 2.5. İrisin Hormonu

# 2.5.1. İrisin Hormonunun Kimyasal Özellikleri, Etki Mekanizması ve Metabolik Etkileri

İrisin beyaz yağ dokusunu, kahverengi yağ dokusuna çevirerek enerji harcanmasını sağlayan termojenik bir peptiddir. İrisin adı mitolojik bir kahraman olan İris’ten gelmektedir. Boström ve ark (2012) sistematik egzersiz yapıldığında, kişiyi metabolik hastalıklardan koruyan ve egzersiz sonrası iskelet kasından salınan irisin proteinini keşfetmişlerdir. Peroksizom proliferatör aktive reseptör (PPAR)-γ ve peroksizom proliferatör ile aktifleştirilen reseptör gama koaktivatörü-1 alfa (PGC-1α), enerji metabolizmasında rol oynayan biyolojik mekanizmaların anahtar bir modülatörü olarak tanımlanan reseptörlerdir. Soğuğa maruz bırakılan farelerde, kahverengi yağ dokusu ve iskelet kası incelenmiş, ayırıcı protein (UCP-1) 1'in upregülasyonunu sağlayan, PGC-1α’ nın mRNA ekspresyonununda artış olduğu gözlenmiştir (Puigserver ve ark, 1998). PGC-1α’yı aşırı eksprese eden transgenik farelerde, yaşa bağlı olarak artan kilo alımına direnç geliştiği, insülin hassasiyetinde de artış olduğu belirtilmiştir (Wenz ve ark, 2009). Bu bulgular ışığında, irisin peptidinin iskelet kası kaynaklı olan, diğer organlarla iletişim sağlayan bir faktör olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle Boström ve ark (2012), PGC-1α’yı aşırı eksprese eden transgenik farelerde termojenez ile ilgili olan ve kahverengi yağ dokusunda gelişimi arttıran genleri incelemişlerdir. İnterskapular kahverengi yağ dokusu veya visseral beyaz yağ dokusunda bu genlerin ekspresyonu açısından bir fark bulamamışlardır. Deney hayvanlarıyla yapılan bir çalışmada, treadmil egzersizi yapan vahşi ratların PGC-1α mRNA ekspresyonunun aşırı arttığı, deri altı beyaz yağ dokusu kahverengileşmiş olanlarda inguinal subkütanöz yağ doku tabakasında UCP1 protein seviyelerinde de artış olduğu gözlemlenmiştir. Bu etkinin doğrudan kas ile adipoz doku arasındaki bir sinyale bağlı olabileceği düşünülmüştür. Bu sebeple, iskelet kası tarafından salınarak PGC-1α’yı hedef alan muhtemel beş proteinin genleri çalışılmıştır. İnsanlarda ve farelerde dayanıklılık egzersizini takiben interlökin 15 (IL-15), fibronektin tip III domain 5 (FNDC5), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF-β), lösinerik α-2-glikoprotein 1 (LRG1) ve metaloproteinaz inhibitörü 4 (metalloproteinaz 4'ün doku inhibitörü; TIMP4) adlı bu beş proteinin mRNA seviyelerinin upregüle olduğu bulunmuştur (Boström ve ark, 2012). Ancak, deri altına yağ dokusuna doza bağlı olarak FNDC5 uygulandığında; FNDC5’in UCP1 mRNA ekspresyonunda güçlü bir artışa sebep olduğu bildirilmiştir. Kas hücrelerine anti-FNDC5 antikoru uygulandığında ise tam tersine PGC1-α ekspresyonunda ve yağ hücresi kültüründe UCP1 aktivitesinde önemli bir azalma gözlemlendiği rapor edilmiştir. Bu sebeple FNDC5’in major fizyolojik görevinin beyaz yağ doku hücrelerini kahverengi yağ doku hücrelerine dönüştürmek olduğu bildirilmiştir (Boström ve ark, 2012). Egzersiz ve enerji üretilmesi ile FNDC5/irisin yolu arasındaki ilişki Şekil 10’ da gösterilmiştir.



Şekil 10. Egzersiz ve enerji üretilmesi ile FNDC5/irisin yolu arasındaki ilişki (Hofmann ve ark, 2014).

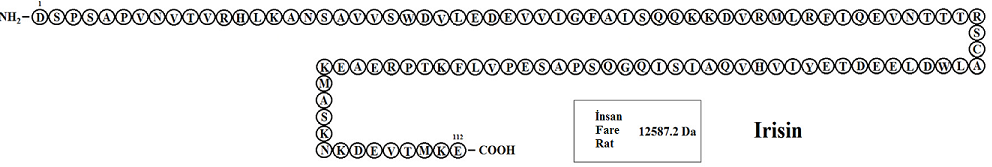
# 2.5.2. FNDC5 Proteininin Yapısı ve İrisin Hormonunun Oluşumu

FNDC5 proteini, bir sinyal peptit olup, fibronektin III domain adlı protein ve C-terminal bölgeden oluşur (Ferrer-Martinez ve ark, 2002; Teufel ve ark, 2002). İrisin hormonunun N terminal ve C terminal yapıları ve irisin dimeri Şekil 11’de gösterilmiştir.

An external file that holds a picture, illustration, etc.
Object name is zbc0511368520001.jpg

**Şekil 11.** İrisin hormonunun N terminal ve C terminal yapıları ve irisin dimeri (Schumacher ve ark, 2013).

Tip I membran proteinlerinin yapısı aydınlatıldıktan sonra, FNDC5 proteinin proteolizisi ve salınımı hipotezi de kabul edilmiştir. Bu hipoteze dayanarak, immunoblot yöntemi ile FNDC5 içeren ortamlarda FNDC5 eksprese eden hücreler tespit edilmiş ancak kırpılma ve salınmayı belirleyen C terminal kuyruğu-işaretli FNDC5 tespit edilememiştir. Sentezlenen FNDC5 proteinin modifikasyonu ile 112 amino asit içeren irisin hormonu sentezlenmektedir (Boström ve ark, 2012). İrisin molekülünün aminoasit sekansı Şekil 12’de gösterilmiştir.



Şekil 12. İrisin molekülünün aminoasit sekansı (Aydın, 2014).

# 

# 2.5.3. İnsanlarda ve Hayvanlarda İrisin Hormonu

İnsanlar, fareler ve ratlarda yapılan sekans analizleri sonucunda irisin hormonunun bu türlerde %100 aynı kimliği gösterdiği rapor edilmiştir (Boström ve ark, 2012). İrisin hormonunun değişik türlerdeki korunma oranı incelendiğinde, fizyolojik önemi daha iyi anlaşılmıştır. Zebra balığı (*Danio rerio*) için korunma oranı %97'nin üzerinde ve Bankiva tavuğu (*Gallus gallus*) için %80'in üzerinde olduğu rapor edilmiştir (Boström ve ark, 2012). Ancak, Raschke ve ark (2013) yapmış oldukları bir çalışmaya göre insan FNDC5 geninin, başlangıç kodonundaki bir mutasyon sonucu diğer canlılardan farklı olduğu belirtilmiştir. Birkaç kemirgen türünde ve diğer hayvanlarda translasyona başlama kodonu ATG iken, insanlarda başlangıç kodonu olarak translasyon verimliliği düşük olan ATA kodonu bulunmuştur (Kozak, 1989). ATG saç tokası kodonu, insan FNDC5 peptidi için uygun değildir. Bu saç tokası yapıları, tarama sürecini yavaşlatarak ekspresyon verimini artırabilir. Çünkü helikazlar bu kodonların yapılarını yavaş çözer ve ribozomda başlangıç kodonu olarak ATG kodonunun yanlış okunmasına sebep olur (Kozak, 1990). Bu nedenle, insan FNDC5 geninin, tam uzunluktaki FNDC5 proteinine çevrilme kabiliyetinin az olduğu ve muhtemelen oluşan FNDC5 proteinlerinin irisin peptidine dönüştürülemediği düşünülmektedir. İnsan FNDC5 geninin başlangıç kodonundaki mutasyon sonucu, translasyon etkinliği azalmakta ve bu sebeple ratlara kıyasla daha az irisin salınımı gerçekleşmektedir (Raschke ve ark, 2013).

# 

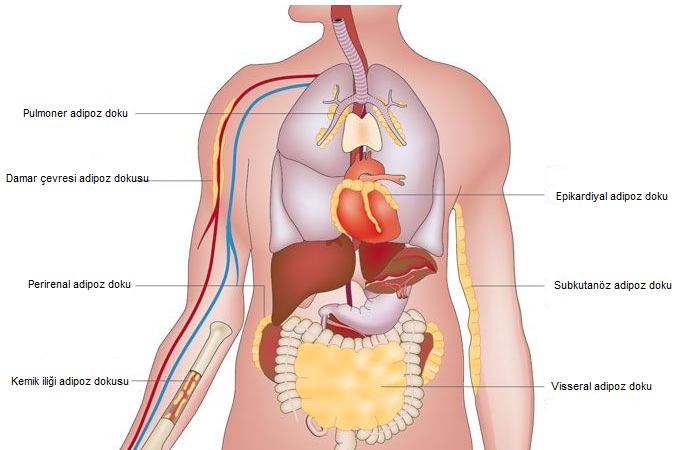
# 2.5.4. FNDC5 Ekspresyonu ve İrisin Hormonunun Sentezlendiği Dokular

İnsanlarda ve birçok kemirgen türünde egzersiz sonrasında, iskelet kaslarında FNDC5 mRNA'sı artış göstermektedir (Boström ve ark, 2012; Huh ve ark, 2012; Lecker ve ark, 2012; Dun ve ark, 2013; Roberts ve ark, 2013). Ayrıca, FNDC5 mRNA’sındaki artışa bağlı olarak insan, fare ve ratlarda plazma irisin hormonu düzeyinde de artış tespit edilmiştir (Boström ve ark, 2012; Huh ve ark, 2012; Sharma ve ark, 2012; Liu ve ark, 2013; Stengel ve ark, 2013; Swick ve ark, 2013; Wen ve ark, 2013; Zhang ve ark, 2013a). Farklı insan dokuları kullanılarak yapılan subsekans çalışmalarında, FNDC5 mRNA’sı kantitatif PCR yöntemi ile araştırılmıştır. Bu çalışmalarda iskelet kasının yanı sıra pek çok organ ve doku kullanılmıştır. Örneğin perikardiyumu da içeren kalp kası, dil, rektum, optik sinir, beyin gibi pek çok dokuda FNDC5 mRNA’sının ekspresyonuna rastlanmıştır. Akciğer, karaciğer ve böbreklerde ekspresyonun daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (Huh ve ark, 2012). Ayrıca FNDC5 mRNA’sının ve irisin hormonunun rodentlerde yağ dokusu, kardiyomiyositler ve serebellumdaki purkinje hücrelerinde (Aydın ve ark, 2013c; Dun ve ark, 2013; Roca-Rivada ve ark, 2013); insanlarda ise yağ dokusunda (Huh ve ark, 2012; Moreno-Navarrete ve ark, 2013), serebrospinal sıvıda (Piya ve ark, 2014) ve anne sütünde (Aydın ve ark, 2013b) bulunduğu görülmüştür. Bu sebeple başta bir miyokin olarak tanımlanan irisin hormonunun görevinin sadece enerji harcanmasının düzenlenmesi olmadığı düşünülmektedir. İnsanlarda irisinin, serum ve plazmanın yanında tükürükte de (Aydın ve ark, 2013a) tespit edilmesi, irisin çalışmalarının invaziv olmayan alternatif yöntemlerle de yapılabileceğini göstermiştir.

# 

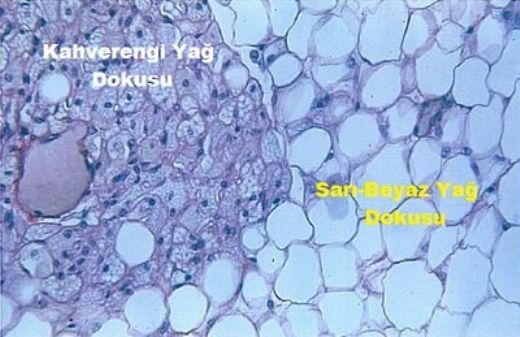
# 2.5.5. İrisin Hormonunun Beyaz Yağ Dokusunun Kahverengi Yağ Dokusuna Dönüşmesindeki Rolü

Beyaz yağ dokusu hücreleri, enerji ihtiyacını karşılamak için trigliseritleri depolar. Obez bireylerde deri altı, visseral ve diğer depolarda vücut boyunca yağ dokusu genişler. Yağ birikimi yaygın olarak kalp, böbrekler ve kan damarlarının adventisyasında olur. Çeşitli adipoz doku depoları ile farklı adipokin sekresyonu, organ fonksiyonunu ve sistemik metabolizmayı seçici olarak etkileyebilir (Ouchi ve ark, 2011). Yağ dokusunun deri altı ve visseral yerleşimi Şekil 13’ te gösterilmiştir.



Şekil 13. Yağ dokusunun deri altı ve visseral yerleşimi (Ouchi ve ark, 2011).

Kahverengi yağ dokusunda enerji elde edilmesi sırasında mitokondrilerde UCP1’lerle oksijen kullanımı arttırılarak, CO2 ve ısı üretilir. Ancak önceki yıllarda yapılan çalışmalarda insanlarda kahverengi yağ dokusunun bulunmadığı, bebeklikten sonra kaybolduğu, sadece küçük memeli canlılarda olduğu belirtilmekteydi (Heaton,1972; Lean, 1989). Bazı çalışmalarla soğuğa maruz kalan insanlarda supraklaviküler ve boyun bölgelerinde fonksiyonel kahverengi yağ dokusunun varlığı kanıtlandı (Nedergaard ve ark, 2007; van Marken Lichtenbelt ve ark, 2009). Hatta beyaz yağ dokusu hücrelerinde yüksek düzeyde UCP1 eksprese edildiğinde, kahverengi yağ hücrelerinin multiloküler görünüm kazandığı gösterilmiştir (Cousin ve ark, 1992). Beyaz ve kahverengi yağ dokusunun histolojik preparattaki görünümü Şekil 14’ te gösterilmiştir.



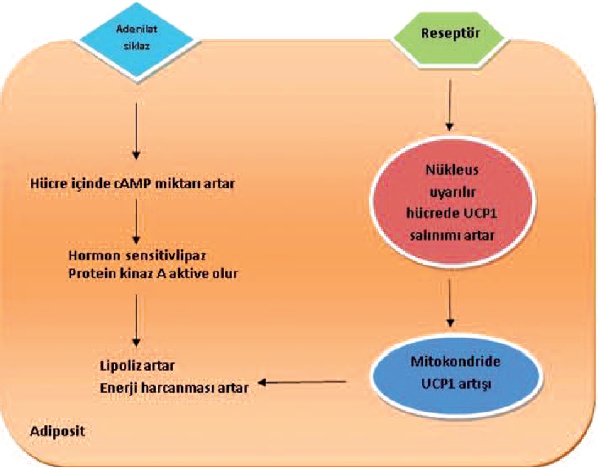
Şekil 14. Beyaz ve kahverengi yağ dokusunun histolojik preparattaki görünümü (WEB 4).

Böylece beyaz yağ doku hücrelerinde mitokondri sayısı artarak kahverengi yağ dokusuna dönüşüm sağlanmaktadır. Bazı araştırmacılar bu dönüşüm sonucu oluşan yeni yağ dokuyu, “bej yağ” dokusu olarak adlandırmaktadır. İrisinin keşfi ve subkütanöz adipositlerin kahverengileşmesi, bej yağ dokusu varlığını desteklemektedir (Ishibashi ve Seale, 2010).

Rekombinant irisin kullanılarak yapılan bir çalışmada fare adipositlerinde PGC-1α, UCP1 ve diğer kahverengi yağ dokusu hücre belirteçlerinin upregüle olduğu belirtilmiş olup, bu sonuçlar Boström ve ark (2012) sonuçlarını doğrulamıştır. Bu etkiyi p38 mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) ve hücre dışı sinyal düzenlenmiş kinazı (ERK) kapsayan bir sinyal yolunun aracılığı ile oluşturduğu düşünülmektedir (Zhang ve ark, 2013b). Beyaz yağ dokusunun kahverengi yağ dokusuna dönüşümü soğuğun etkisiyle olmaktadır (Cousin ve ark, 1992; Lim ve ark, 2012). Soğuğa maruziyet sonucu irisin salınımı (Boström ve ark, 2012) ve β-adrenerjik uyarı (Barbera ve ark, 2001; Collins ve Surwit, 2001) kahverengi yağ doku oluşumunu arttırır. Bu dönüşümü indüklediği bilinen birkaç peptit daha vardır.

Bu peptitler; PGC-1α ve UCP1 (Bordicchia ve ark, 2012) ekspresyonunu aktive eden fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF 21) (Hondares ve ark, 2010; Fisher ve ark, 2012; Lee ve ark, 2013) ve atriyal natriüretik (ANP ve BNP) peptitlerdir (Bordicchia ve ark, 2012).

Miyostatin (MSTN) ise bej yağ dokusu oluşumunu inhibe etmektedir (Shan ve ark, 2013; Zhang ve ark, 2012). MSTN knock out farelerle (Shan ve ark, 2013) ve MSTN inhibitörü kullanılarak yapılan çalışmalarda (Zhang ve ark, 2012) yağ hücrelerinin kahverengileşme süreci hızlanmaktadır. Ayrıca FNDC5 ekspresyonu da MSTN sinyalinden etkilenir, MSTN knock out farelerde FNDC5 upregülasyonu olur ve kahverengileşme artar (Shan ve ark, 2013). İrisinin adipositteki reseptörüne bağlandıktan sonraki etki mekanizması Şekil 15’ te gösterilmiştir.



Şekil 15. İrisin adipositteki reseptörüne bağlandıktan sonraki etki mekanizması (Xiong ve ark, 2015).

İrisin adipositteki reseptörüne bağlandıktan sonra iki yoldan etki edebilir

1. Adenilat siklaz aktivasyonu ile cAMP artışına sebep olur. Hücre içinde artan cAMP, hormon sensitif lipaz (HSL)/ protein kinaz A (PKA) aktivasyonu sağlar. Bu enzimlerin aktivasyonu sonucu hücrede lipoliz artar (İnci ve Aypak, 2016).

2. Hücrenin nükleusunu UCP1 ekspresyonunu arttırmak için uyarır. Mitokondrilerin yüzeyinde artan UCP1 pompaları elektron transport sisteminde ayırıcı gibi davranarak enerji harcanmasını artırır (İnci ve Aypak, 2016).

# 2.5.6. İrisin Hormonunun Egzersizle Düzenlenmesi

İrisin hormonu, Boström ve ark (2012) tarafından ilk keşfedildiğinde, ekspresyonunun egzersize bağlı olduğu rapor edilmiştir. İrisin düzeylerinin farelerde 3 haftalık serbest treadmill koşusuyla, sekiz yetişkin insanda ise 10 haftalık dayanıklılık egzersizi sonrasında artmış olduğunu belirtmişlerdir (Boström ve ark, 2012). FNDC5 ve PGC-1α mRNA ekspresyonlarını araştırmaya yönelik yapılan başka bir çalışma; ejeksiyon fraksiyonu ortalama %29,5 olan, 24 erkek sistolik kalp yetmezliği hastalarında yapılmıştır. Hastalar oksijen tüketimi (VO2) ve ventilatör ile ölçülen performans verimlilik (VE/VCO2) gibi aerobik performanslarına göre iki gruba ayrılmış olup, FNDC5 ve PGC-1α mRNA ekspresyonları musculus vastus lateraliste incelenmiştir. Yüksek VO2 ve VE/VCO2 grubunun m. vastus lateralislerinde daha yüksek FNDC5 ve PGC-1α mRNA ekspresyonu görülürken, düşük VO2 ve VE/VCO2 grubunun m. vastus lateralislerinde daha düşük FNDC5 ve PGC-1α mRNA ekspresyonu görüldüğü belirtilmiştir (Lecker ve ark, 2012). Başka bir çalışmada, prediyabetik ve fazla kilolu bireylerde 12 haftalık kombine ağır ve dayanıklılık egzersizini takiben iskelet kaslarında FNDC5 mRNA ekpresyonunun, normoglisemik ve normal kilolu bireylerden belirgin ve anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Norheim ve ark, 2013). Ancak diğer çalışmaların aksine Timmons ve ark (2012) sedanter genç erişkinlerle, egzersiz yapan genç erişkinlerin kas FNDC5 mRNA’ları arasında farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Hecksteden ve ark (2013), 6 ay süreyle aerobik egzersiz ve güçlü egzersiz yaptırılmış olan gruplarla, kontrol grupları arasında serum irisin düzeyleri bakımından fark olmadığını gözlemlemişlerdir. Bir diğer çalışmada, yetişkin genç erkeklerde 8 haftalık egzersiz programından sonra irisin sirkülasyonunda değişiklik olmadığı belirtilmiştir. Ancak bu çalışmada kısa süreli akut egzersiz yapmış küçük bir grupta irisin düzeylerinin yükseldiği gözlenmiş olup, bu sonuçlar araştırmacılara akut ya da kronik egzersizin irisin düzeyleri üzerine farklı etkiler yaptığını ve kronik egzersize adaptasyon sağlandığında irisin düzeyinde artış gözlenmediğini düşündürmüştür (Huh ve ark, 2012). Deney hayvanları ile yapılan çalışmaların sonuçları da insanlarla yapılan çalışmalarla benzer bulunmuştur. Örneğin, 16-20 hafta süre ile aerobik egzersiz yaptırılan sağlıklı domuzlarda FNDC5 ekspresyonunda ya da protein sentezinde artış olmadığı gözlemlenmiş, ancak ailesel hiperkolesterolemisi olan bir grupta irisin sirkülasyonu arttığı rapor edilmiştir. Bu sebeple araştırmacılar dislipideminin irisin sentezinde önemli olduğunu, egzersizin FNDC5’in hidrolizi sonucu irisin oluşmasında etkili olabileceğini rapor etmişlerdir (Fain ve ark, 2013).

# 2.5.7. İrisin Hormonunun Vücut Kitle İndeksi Üzerine Etkileri

İrisin hormonunun vücut kitle indeksi (VKİ) ve kilo alımı üzerine etkisini araştırmaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. VKİ aralığı 20-48 kg/m2 olan bireylerle yapılan bir çalışmada irisin hormonu ile VKİ arasında pozitif korelasyon olduğu belirtilmiştir (Huh ve ark, 2012). Anoreksiya nervoza, obezite hastaları ve normal kilolu olan bireylerle yapılan bir çalışmada, VKİ aralığı 9–85 kg/m2 olup, irisin ve VKİ arasında güçlü pozitif korelasyon olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, bu çalışmada irisin ile yağsız vücut kütlesi arasında da pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir (Stengel ve ark, 2013). Bu çalışmalarla benzer şekilde, irisin ve VKİ arasında pozitif korelasyon olduğunu belirten pek çok çalışma bulunmaktadır (Choi ve ark, 2013; Crujeiras ve ark, 2013; Hee ve ark, 2013; Liu ve ark, 2013). Ancak, normal kilolu ve obez erkeklerle yapılan başka bir çalışmada irisin ile VKİ arasında hiçbir ilişki saptamadığı belirtilmiştir (Pekkala ve ark, 2013). Moreno-Navarrete ve ark (2013) 29 morbid obez bireyle yapmış oldukları çalışmada, irisinin pleitropik bir miyokin olması sebebiyle, VKİ ile arasında negatif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Genel olarak, çoğu çalışmada irisin düzeylerinin artmış vücut ağırlığı ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. FNDC5 mRNA'sı hem kas hem de yağ dokuda eksprese edildiği için, irisin düzeylerindeki artışın , kas ya da yağ kitlesindeki artışa bağlı olup olmadığı henüz aydınlatılamamıştır (Hofmann ve ark, 2014).

# 

# 2.5.8. İrisin Hormonunun Glukoz Homeostazisi Üzerine Etkileri

Obezite ve obezitenin tetiklediği major hastalık olan tip 2 diyabette, irisin hormonunun regülasyonuyla ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır.

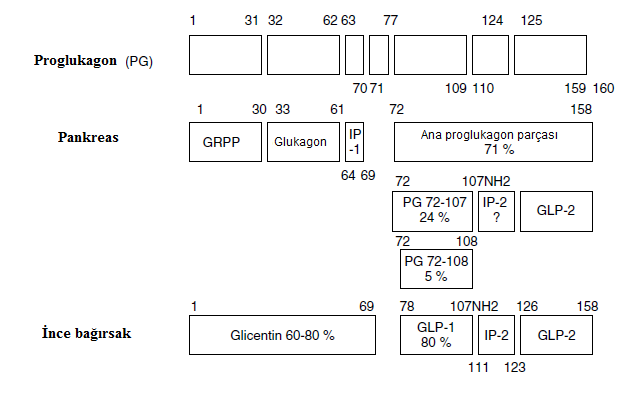
Yeni tanı almış tip 2 diyabet hastalarıyla, sağlıklı bireylerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, serum irisin seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir (Choi ve ark, 2013). Ayrıca, 2 saatlik plazma glukozunun, yaş, cinsiyet ve VKİ’den bağımsız olarak irisin seviyeleri ile negatif korelasyon gösterdiği belirtilmiştir. Bu çalışmada araştırmacılar azalmış irisin düzeylerinin yeni teşhis edilen tip 2 diyabetle ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir (Choi ve ark, 2013). Suudi Arabistan’da sağlıklı ve normal kilolu çocuklarda yapılan bir araştırmada, kız çocuklarda açlık kan şekeri ve HOMA-IR indeksi ile irisin seviyeleri arasında negatif korelasyon olduğu, ancak erkek çocuklarda böyle bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (Al-Daghri ve ark, 2013). Bazı çalışmalarda da plazma irisin düzeyinin tip 2 diyabet tanısı alan bireylerde sağlıklı bireylere göre önemli ölçüde düşük olduğu rapor edilmiştir (Liu ve ark, 2013; Moreno-Navarrete ve ark, 2013). Anne sütündeki irisin konsantrasyonu ile plazma irisin konsantrasyonunun karşılaştırıldığı bir çalışmada, anne sütünün daha yüksek konsantrasyonlarda irisin içerdiği görülmüştür. Aynı çalışmada, dolaşımdaki irisin konsantrasyonlarının gestasyonel diyabeti olup emziren annelerde, sağlıklı olup emziren annelerden daha düşük olduğu belirtilmiştir. Bu sebeple meme bezinin irisin hormonu için, iskelet kası ve yağ dokusu gibi major üretim yeri olabileceği rapor edilmiştir (Aydın ve ark, 2013b). Bütün araştırma sonuçları değerlendirildiğinde, irisin hormonunun, bozulmuş glukoz kontrolü olan ya da diyabeti olan bireylerde down regüle olduğu düşünülmektedir. Ancak bu nedensellik daha fazla araştırmaya ihtiyaç duymaktadır. Çünkü bazı çalışmalarda irisin hormonu ile glukoz homeostazisi arasında herhangi bir korelasyon tespit edilememiştir (Timmons ve ark, 2012; Pekkala ve ark, 2013). Kalori kısıtlaması uygulanan ratlarda, insülin duyarlılığı olan ratların dolaşımlarındaki irisin düzeylerinde görülen değişikliğin, insülinden bağımsız olduğu belirtilmiştir (Sharma ve ark, 2012). Bununla birlikte, obezite ve MS gibi hastalıklarda insülin ve leptin direnci geliştiği gibi, irisin direnci de gelişmiş olabileceği ileri sürülmektedir (Hee ve ark, 2013). Gestasyonel diyabeti olan gebeler ve sağlıklı gebelerle yapılan bir çalışmada, diyabetik gebelerin dolaşımdaki irisin düzeylerinin, sağlıklı gebelerden daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Ebert ve ark, 2013; Piya ve ark, 2014). Yapılan çalışmalar karşılaştırıldığında irisin seviyelerinde görülen farklılığın, kan glukoz düzeyine, insülin direnci veya tip 2 diyabet varlığına, etnik kökene, cinsiyete, kullanılan antikorlar ve test kitlerine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

# 

# 2.6. GLP-1 Hormonu

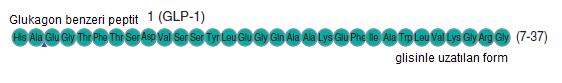
# 2.6.1. GLP-1 Hormonunun Kimyasal Özellikleri, Etki Mekanizması ve Metabolik Etkileri

Proglukagonun pankreasta işlenmesi ile ana proglukagon parçası (MPGF) ve glukagon oluşur. Preproglukagon geninin sentezlediği glukagon ile ilgili iki peptit tanımlanmıştır. Bunlar glukagon benzeri peptit 1 (GLP-1) ve glukagon benzeri peptit 2 (GLP-2) olarak isimlendirilmiştir (Bell ve ark, 1983; Bell 1986). Bu proteolitik süreç bağırsağın L hücrelerinde gerçekleşirse glisentin, GLP-1 ve GLP-2 oluşur (Holst, 1982; Orskov ve ark, 1986; Holst ve ark, 1987; Orskov ve Holst,1987; Orskov ve ark, 1987; Holst, 1991). Proglukagon molekülünün pankreas ve ince bağırsakta proteolizi Şekil 16’da gösterilmiştir.



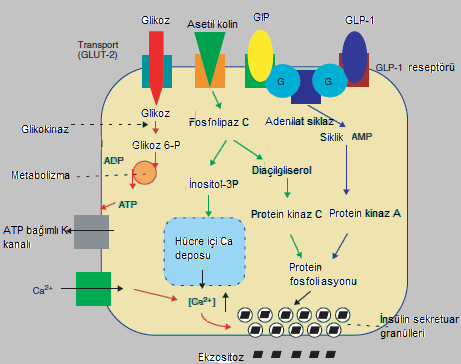
Şekil 16. Proglukagon molekülünün pankreas ve ince bağırsaktaki proteoliz süreci (Meier ve Nauck, 2005).

GLP-1 hormonunun glukoza bağımlı olarak insülin salınımını uyardığı belirlenmiştir. Bu hormon ratların pankreas adacık hücrelerinden izole edildikten sonra bir inkretin olarak adlandırılmıştır (Schmidt ve ark, 1985). Fizyolojik olarak iki farklı formda GLP-1 tanımlanmış olup, daha kısa olanı başlangıçta "kırpılmış GLP-1" (7–37 amid) olarak adlandırılmıştır (Drucker ve ark, 1987; Holst ve ark, 1987; Mojsov ve ark, 1987). Bu "kırpılmış GLP-1"in insülin sekresyonunu uyarma kapasitesinin diğer GLP-1 formlarından (1–37 amid) daha fazla olduğu belirtilmiştir (Bailey ve ark, 1987; Holst ve ark, 1987; Mojsov ve ark 1987). GLP-1 hormonunun aminoasit dizilimi Şekil 17’de gösterilmiştir.



Şekil 17. GLP-1 hormonunun aminoasit dizilimi (Meier ve Nauck, 2005).

GLP1'in (7-36 amid) inkretin hormon olarak fizyolojik etkisini doğrulamayı amaçlayan bir çalışmada, sağlıklı gönüllülerde intravenöz infüzyonu sonucu postprandiyal insülin seviyelerine bakılmıştır (Kreymann ve ark, 1987). Glukoz, asetil kolin, GIP ve GLP-1 hormonunun pankreas β adacık hücrelerine etkisi ve insülin salgılanması Şekil 18’de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 18. Glukoz, asetil kolin, GIP ve GLP-1’ in pankreas β adacık hücrelerine etkisi ve insülin salgılanması (Meier ve Nauck, 2005).

Glukoz hücre içine GLUT-2 kanalları ile girer ve hücre içinde glukoz metabolizması aktive olur. ATP/ADP oranının artmasına bağlı olarak, ATP'ye bağımlı K+ kanalları kapanır, voltaj bağımlı L-tipi Ca2+ kanallarından hücre içine kalsiyum girişi olur. GLP-1 hormonunun hücre zarında bulunan reseptörüne bağlanması ile adenilat siklaz aktivasyonu gerçekleşir ve hücre içinde cAMP sentezi başlar. cAMP, protein kinaz A enzimini stimüle eder. Protein kinaz A, proteinlerin fosforilasyonunu sağlar ve sekratuar granüllerde depolanan insülin hormonunun ekzositoz ile hücre dışına salınımı sağlanır. Böylece GLP-1, insülin salgılanmasını uyararak gliseminin önlenmesinde görev alır (Kreyman ve ark, 1987). GLP-1’in biyolojik etkilerini karakterize etmeye yönelik çok sayıda çalışma yapılmaktadır.

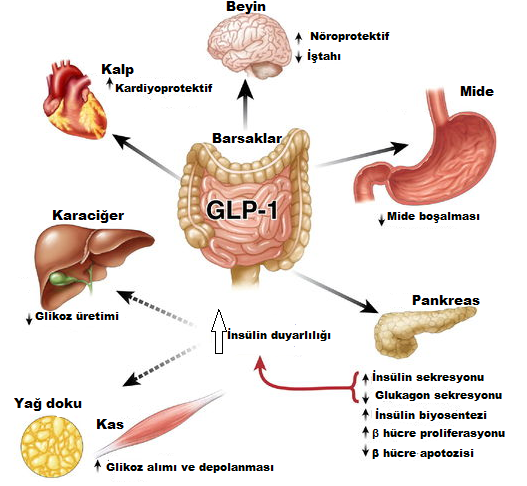
# 2.6.2. GLP-1 Hormonunun Sentezi, Sekresyonu ve Eliminasyonu

İnsan vücudunda yemek yemeği takiben, ince ve kalın bağırsaklar boyunca bulunan ve endokrin hücreler olan L- hücrelerinden GLP-1 salınımı gerçekleşmektedir (Eissele ve ark, 1992). L hücreleri ilk keşfedildiklerinde bağırsağın distalinde oldukları düşünülmüştür (Kauth ve Metz, 1987; Eissele ve ark, 1992). Duedonum ve jejenumdaki K hücrelerinden bir diğer inkretin olan glukoza bağımlı insülinotropik peptit (GIP) sentezinden temel olarak bu hücrelerin sorumlu oldukları belirtilmiştir (Buffa ve ark, 1975; Buchan ve ark, 1978). Ağızdan alınan glukozun GIP ve GLP-1 salınımını indüklediği ve bu hormonlar arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir (El-Ouaghlidi ve ark, 2002). L hücreleri bağırsak epitelindeki villusların apikalinde yerleşmiş olup, beslenme ile uyarılır ve içerdikleri yüksek miktardaki salgı granüllerini kan dolaşımına boşaltırlar (Eissele ve ark, 1992). GLP-1 salınımı için temel uyarı, besinlerle alınan zengin yağ ve karbonhidrat içeriğidir (Kreymann ve ark, 1987; Nauck ve ark, 1993a; Herrmann ve ark, 1995). Karbonhidratlardan en temel uyarıyı glukozun yaptığı belirtilmektedir (Herrmann ve ark, 1995; Kong ve ark, 1999). Besinlerle alınan yağın da GLP-1 salınımını uyardığı, tip 2 diyabeti olan hastalarda lipaz inhibitörü olarak orlistat uygulamasını takiben intraluminal yağ sindirimi olmadığı için inkretin hormonlarının sekresyonunun olmadığı bildirilmiştir (Feinle ve ark, 2003; Pilichiewicz ve ark, 2003). Total gastroktemi uygulanan hastalarda, besinlerin bağırsağı ve L-hücrelerini direkt uyarması sonucu GLP-1 salınımı çok fazla olmaktadır (Miholic ve ark, 1991; Miholic ve ark, 1993). Besin alımını takiben 5 ile 10 dakika içerisinde GLP-1 hormonunun plazma düzeyinde artmaya başlar (Nauck ve ark, 1993a; Hermann ve ark, 1995; Vilsboll ve ark, 2001). Ayrıca GLP-1 salınımında nöral uyarının da etkili olabileceği düşünülmektedir (Plaisanci ve ark, 1994). İleumda bulunan enterik sinir sistemi nörotransmitterlerinin GLP-1 salınımını uyardığı rapor edilmiştir (Hermann-Rinke ve ark, 1995; Schhirra ve ark 1996). Ayrıca rodentlerde GIP salgılanması sonucu, parakrin etkiyle L-hücrelerinden GLP-1 salınımı gerçekleştiği belirtilmektedir (Roberge ve Brubaker, 1993). Bu etkinin insanlarda görülmediği bidirilmiştir (Nauck ve ark, 1993b; Fieseler ve ark, 1995). İnsanlarda ve ratlarda L hücreleri ile yapılan çalışmalarda, GLP-1 salınımının kontrolünde muskarinik reseptörlerin de görevli olduğu belirtilmektedir (Anini ve ark, 2002; Anini ve Brubaker, 2003). Açlık durumunda total GLP-1 seviyeleri ((7–36 amit) ve N-terminal degrade ürünleri dahil) 5 ile 10 pmol/L aralığındayken karışık bir yemeği takiben bu seviye 25 pmol/L’ye yükselir (Vilsboll ve ark, 2001). Obez bireylerde sağlıklı bireylere kıyasla, karbonhidratlı yemek sonrası GLP-1 düzeyi artmazken, yağlı yemek sonrası GLP-1 salınımının uyarıldığı belirtilmiştir (Ranganath ve ark, 1996). Bu çalışmalar sonucunda GLP-1 düzeylerinin beslenme alışkanlıklarıyla değişiklik gösterebildiği bildirilmiştir (Turton ve ark, 1996; Flint ve ark, 1998).

# 

# 2.6.3. GLP-1 Hormonunun Pankreas β Adacık Hücrelerine Etkisi

GLP-1 hormonunun temelde etki ettiği hedef organlar pankreas, bağırsak ve merkezi sinir sistemidir. Ayrıca diğer bazı organ ve dokular üzerindeki etkileri bulunmakta olup, bu etkiler, yapılan çalışmalar ışığında aydınlatılmıştır. Geçmiş yıllarda GLP-1 hormonunun, β adacık hücrelerinin rejenerasyonu ve apoptozunda etkin rol alması büyük ilgi görmüştür. Tip 2 diyabet ilerleyen süreçte, β-hücre kütlesi kaybının artması ile karakterize olduğundan, artan apoptoz ve β hücrelerinde insülin salgılama kapasitesinde azalmanın GLP-1 hormonu ile tersine çevrilebileceği düşünülmüştür (Butler ve ark, 2003; Ritzel ve Butler, 2003). GLP-1 hormonunun fizyolojik etkileri Şekil 19’da şematik olarak özetlenmiştir.



Şekil 19. GLP-1 hormonunun fizyolojik etkileri (WEB 5).

Bu sebeple GLP-1 hormonunun etkilerini araştırmaya yönelik pek çok deneysel çalışma yapılmış olup, genel olarak GLP-1 hormonunun β hücrelerinin kaybını geciktirebildiği ve hatta apoptozunu inhibe ettiği söylenebilir (Farilla ve ark, 2002; Drucker, 2003, Hui ve ark, 2003; Li ve ark, 2003). Bu etkilerinin yanısıra β hücre proliferasyonuna neden olduğu (Xu ve ark, 1999; Perfetti ve ark, 2000; Buteau ve ark, 2001; Farilla ve ark, 2002; Egan ve ark, 2003) ve ekzokrin salgı kanalında prekürsör hücreleri indükleyerek diğer adacık hücrelerinin de neogenezine katkı sağladığı belirtilmiştir (Perfetti ve ark, 2000; Tourrel ve ark, 2001; Abraham ve ark, 2002). İnsanlarda β hücre çoğalması nadiren görülür (Tyrberg ve ark, 2001; Butler ve ark, 2003). Bu sebeple apoptozun inhibisyonu ve adacık neogenezinin uyarılması, gelecekte diyabetin tedavisi için önemli olacaktır. GLP-1 hormonunun adacık hücrelerinin upregülasyonunu da içeren döngüsündeki etkileri şöyle sıralanabilir; PDX-1 geninin ekspresyonunun regülasyonu, fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) aktivitesinde artış ve son olarak epidermal büyüme faktörü reseptörlerinin transaktivasyonudur (Buteau ve ark, 1999; Wang ve ark, 1999; Perfetti ve ark, 2000; Rafiq ve ark, 2000; Wang ve ark, 2001; Buteau ve ark, 2003). Ayrıca GLP-1 hormonu, glukozun algılanmasını, insülin salınımını, GLUT-1 ve heksokinaz sentez ve sekresyonu gibi β-hücresi bileşenlerini kodlayan genlerin transkripsiyonunu stimüle eder (Wang ve ark, 1995). Bu sebeple GLP-1'in diyabetin önlenmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

# 

# 2.6.4. GLP-1’in İnkretin Bir Hormon Olarak Etkileri

İnkretin hormonlar, bağırsaktan salınan, yemek yenilmesini takiben insülin sekresyonunu güçlendiren faktörler olarak tanımlanmaktadır (Creutzfeldt ve Ebert, 1985; Creutzfeldt ve Nauck, 1992). İnkretin aktiviteye sahip olduğu belirlenen ilk hormon GIP’tir (Brown ve Dryburgh, 1971; Dupre ve ark, 1973; Pederson ve ark, 1975; Brown ve Pederson, 1976; Pederson ve Brown, 1976; Pederson ve Brown, 1978; Brown, 1982,). GIP' nin inaktivasyonundan sonra kısmen korunmuş bir inkretin aktivitesinin gözlemlenmesi, başka inkretin hormonlarının varlığını düşündürmüştür (Ebert ve Creutzfeld, 1982; Ebert ve ark, 1983). Glukoz bağımlı insülin sekresyonunu indüklemesi nedeniyle GLP-1' in ikinci inkretin hormon olduğu bildirilmiştir (Kreymann ve ark, 1987). Bağırsakta üretilen inkretinlerin, gastrointestinal geçişi negatif geri bildirimlerle kontrol etmeleri “ileal fren” olarak adlandırılır (Grossman, 1974). GIP, sekretin/kolesistokinin, glukagon benzeri peptid 2 ve peptid YY de dahil olmak üzere bir dizi gastrointestinal peptidin ileal fren etkinliğinin olduğu belirtilmektedir (Ebert ve Creutzfeldt, 1980; Pappas ve ark, 1986; Li ve ark 1998, Wojdemann ve ark, 1999). İleumda GLP-1’in doz bağımlı olarak gastrik asit sekresyonu üzerinden inhibitör aktivite gösterdiği düşünülmektedir (Göke ve ark, 1991). GLP-1’ in gastrik boşalma ve antropilorik motiliteyi de inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca GLP-, parasempatik uyarıları inhibe ederek, midede asit üretimini azaltır ve gastrik boşalmayı geciktirir (Imeryuz ve ark, 1997; Wettergren ve ark, 1997). Gastrik boşalmanın gecikmesi tip 2 diyabetin iyileşmesine katkı sağlar (Nauck ve ark, 1997; Meier ve ark, 2003).

İnkretinlerin insülin salınımına etkileri, oral glukoz alımından ve aynı miktarda glukozun intravenöz infüzyonundan sonra insülin sekresyonunun ölçülmesiyle belirlenebilir (Perley ve Kipnis, 1967; Nauck ve ark, 1986b). İnkretin uyarımının postprandiyal insülin sekresyonuna katkısı, yemek kompozisyonuna bağlı olarak yaklaşık %20-60' tır (Nauck ve ark, 1986b; Shuster ve ark, 1988; Tillil ve ark, 1988). Azalmış inkretin etkisi tip 2 diyabetin fenotipik karakteristiğidir (Nauck ve ark, 1986b). Bazı deneysel çalışmalarda, GLP-1 antagonistlerinin insülin sekresyonuna etkisi değerlendirilmiştir (Kolligs ve ark, 1995; Wang ve ark, 1995). Tip 2 diyabetli hastalarla yapılan bir çalışmada, eksojen GLP-1 uygulanması sonucu, doza bağlı olarak gastrik boşalmanın yavaşladığı ve postprandiyal insülin düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir (Meier ve ark, 2003). Başka bir çalışmada, babunlara GLP-1 reseptör antagonisti olan eksendin-9 uygulanmasından sonrası, plazma glukoz düzeyinin arttığı ve insülin yanıtının geciktiği gösterilmiştir (D’Alessio ve ark, 1996).

# 

# 2.6.5. GLP-1 Hormonunun Vücut Kitle İndeksi Üzerine Etkileri

İnsanlarda ve farklı hayvan modellerinde GLP-1 uygulaması iştahı ve gıda alımını azaltmaktadır (Gutzwiller ve ark, 1997; Flint ve ark, 1998; Gutzwiller ve ark, 1999a, Gutzwiller ve ark, 1999b). Bu peptitin 6 hafta süre ile uygulanmasının kilo kaybına yol açtığı bildirilmiştir (Zander ve ark, 2002). GLP-1 antagonisti olan eksendin uygulanması sonucu besin tüketiminde artış olduğu bildirilmiştir (Turton ve ark, 1996; Donahey ve ark, 1998). Bununla birlikte, fonksiyonel olmayan GLP-1 reseptörüne sahip farelerde, GLP-1 hormonunun etkileri gözlenmemiş, yemek yeme ve kilo almada herhangi bir farklılık meydana gelmemiştir (Scrocchi ve ark, 1996). Beslenme davranışını düzenleyen diğer hormonlar, kusurlu GLP-1 etkisini telafi edebilirler (Meier ve ark, 2002). Ayrıca, postprandiyal GLP-1 sekresyonu, yeme davranışını sonlandırma sinyali olarak görev yapabilmektedir. GLP-1 hormonunun plazma seviyelerinin, yemekten sonra yaklaşık 10 dakika içerisinde yükselmeye başlaması bu hipotezi desteklemektedir (Kreymann ve ark, 1987; Nauck ve ark, 1993c; Vilsbøll ve ark, 2001). GLP-1’ in kısa süreli uygulanmasından sonra, iştahın azalması ve tokluk hissinin arttığı rapor edilmiştir (Flint ve ark, 1998; Gutzwiller ve ark, 1999b; Verdich ve ark, 2001). GLP-1'in tokluk hissi oluşturmasının sebebi, merkezi sinir sistemindeki reseptörlerle doğrudan etkileşim halinde olması ve mide boşalmasını geciktirmesidir (Meier ve ark, 2002).

# 

# 2.6.6. GLP-1 Hormonunun Metabolik Hastalıklardaki Tedavi Edici Potansiyeli

GLP-1 hormonunun kan glukoz düzeyini düşürmesi sebebiyle, obezite ve tip 2 diyabetin tedavisinde kullanılabileceği fikri oluşmuştur (Gutniak ve ark, 1992). Özellikle çocuklarda ve ergenlerde obezitenin ve tip 2 diyabetin artan prevalansı göz önüne alındığında, terapötik bir alternatif olarak GLP-1 veya türevlerinin kullanımı yararlı olabilecektir (Sinha ve ark, 2002). Ayrıca GLP-1’e ek olarak, peptit YY uygulanmasıyla obez bireylerde gıda alımının belirgin bir şekilde azaldığı bildirilmiştir (Batterham ve ark, 2003).

Tip 2 diyabetin fenotipik anormallikleri düşünüldüğünde, GLP-1'in terapötik kullanımının yararlı olacağı görülmektedir. Çünkü tip 2 diyabet, insülin sekresyonunda ya da pulsatil patlama kütlesindeki bozulma ile karakterizedir (Polonsky ve ark, 1988; Schmitz ve ark, 1997; Weyer ve ark, 1999; Pratley ve ark, 2001). GLP-1’in glukoza bağımlı insülin sekresyonunu uyardığı, (Kreymann ve ark, 1987; Gutniak ve ark, 1992; Nauck ve ark, 1993a; Nauck ve ark 1993b), ayrıca birinci faz insülin sekresyonunu düzelttiği (Rachman ve ark, 1996; Quddusi ve ark, 2003) ve tip 2 diyabette pulsatil patlama kitlesini arttırdığı bildirilmiştir (Porksen ve ark, 1998; Ritzel ve ark, 2001). Bununla birlikte tipik olarak hiperglukagonemisi olan tip 2 diyabetli hastalarda, GLP-1 uygulaması ile iyileşme görüldüğü gözlemlenmiştir (Gutniak ve ark, 1992; Nauck ve ark 1993). Bazı diyabetli hastalarda mide boşalması yavaşlarken (Horowitz ve ark, 1989), bazılarında hızlanmış olabilir (Horowitz ve ark, 1994; Horowitz ve ark, 2002). Mide boşalmasının yavaşlamasıyla besin alımı azalır ve GLP-1 postprandiyal olarak kan glukoz düzeyinin azalmasına sebep olur (Wettergren ve ark,1993; Nauck ve ark, 1997; Willms ve ark, 1996; Meier ve ark 2003). GLP-1'in sadece tip 2 diyabette değil, aynı zamanda obezitede de terapötik olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (Turton ve ark, 1996; Flint ve ark, 1998; Meier ve ark, 2002). Bir çalışmada GLP-1 uygulamasına bağlı olarak gıda alımının ortalama %12 azaldığı gösterilmiştir (Verdich ve ark, 2001). GLP-1'in deri altı uygulanması sonucu kilo kaybı gözlenmiştir (Zander ve ark, 2002). Bağırsak kaynaklı peptitlerin potansiyel etkilerinin aydınlatılması gelecekteki obezite tedavilerine katkı sağlayacaktır.

# 3. GEREÇ VE YÖNTEM

# 3.1. Gereç

# 3.1.1. Deney Hayvanı Materyali

Çalışmaya başlamadan önce Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan 64583101/2017/103 numaralı etik kurul onayı alınmıştır. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları ünitesinden yaklaşık 12 haftalık, ortalama 350 gr ağırlığında 42 adet erkek Sprague Dawley rat temin edilmiştir. Deney süresince bütün ratlar 425 x 265 x 180 mm boyutlarında şeffaf polikarbonat kafeslerde 22 C°’de ve bağıl nem oranı %40-60 olan, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda barındırılmıştır. Deney sürecinde çeşme suyu ve standart pelet yem *ad libitum* olarakverilmiştir. Ratlar her grupta 7 adet olacak şekilde rastgele 6 gruba ayrılmıştır. Deney grupları ve grupların beslenme planı Şekil 20’ de gösterilmiştir.

Şekil 20. Deney grupları ve grupların beslenme planı.

Ratların günlük bakımı her gün saat 09.00-12.00 arasında yapılmıştır. Bütün gruplardaki ratlar her hafta düzenli olarak tartılmış ve kiloları kaydedilmiştir. İçme sularına ilave edilen stevyanın dozu S-6 ve S-12 grupları için, sırasıyla 6 mg/kg ve 12 mg/kg olacak şekilde hesaplanmıştır. Deney hayvanlarının barındırıldığı kafesler ve ratların tartılmasına ait fotoğraflar Resim 3’te gösterilmiştir.



Resim 3. Deney hayvanlarının kafesleri ve ratların tartılması.

Gruplar (n=7); Kontrol grubu, S-6: 6 mg/kg stevya grubu, S-12: 12 mg/kg stevya grubu, F: %20’lik fruktoz, F-6: %20’lik fruktoz grubu + 6 mg/kg stevya, F-12: %20’lik fruktoz grubu + 12 mg/kg stevya olacak şekilde düzenlenmiştir (EFSA, 2010; Ozan ve ark, 2014; Bender, 2016). Bütün gruplardaki ratlara çeşme suyu ve normal pelet yem verilmiştir. S-6’daki ratların içme sularına 6 mg/kg, S-12’deki ratların içme suyuna 12 mg/kg, F’ deki ratların içme sularına %20 fruktoz, F-6’daki ratların içme suyuna %20 fruktoz ve 6 mg/kg stevya, F-12’deki ratların içme sularına %20 fruktoz ve 12 mg/kg stevya ilave edilmiştir (EFSA, 2010; Ozan ve ark, 2014; Bender, 2016).

Tablo 10. Çalışmada kullanılan standart rat yemi içeriği.

|  |  |
| --- | --- |
| **İçerik** | **Miktar (g/kg)** |
| Mısır | 500 |
| Buğday | 270 |
| Soya Küspesi (%48) | 140 |
| Tavuk Unu (%56) | 50 |
| Dikalsiyum Fosfat (%18) | 17 |
| Sodyum klorür | 2,5 |
| Sodyum bikarbonat | 2,5 |
| Mermer tozu | 8 |
| Vitamin premiks | 5 |
| Mineral premiks | 5 |
| Protein | %16 |
| Kalsiyum | %1,10 |
| Fosfor | %0,50 |

16 haftalık denemenin sonunda tüm gruplardaki ratlara ksilazin-ketamin ile anestezi uygulanmıştır. Anestezideki ratların Lee indekslerini hesaplamak için nazo-anal uzunluk ölçüldükten sonra, kalplerinden 5 ml kan alınmıştır. Elde edilen serum örneklerindeki glukoz, total protein, albümin, ALT, AST, LDH, üre, ürik asit, kreatin, total kolesterol, trigliserit, HDL-C, LDL-C düzeyleri ticari kitler ile spektrofotometrik olarak, irisin ve GLP-1 düzeyleri ise enzim bağlı immunosorbent analizi (ELISA) yöntemi ile yine ticari kit kullanılarak ölçülmüştür. Ayrıca değişik dozlarda stevya verilen ratların karaciğer, böbrek, beyin dokuları alınmış, hematoksilen eosin ile boyanıp histopatolojik incelemesi yapılarak doku hasarı belirlenmiştir.



Resim 4. Ratların nazo-anal uzunluğunun ölçülmesi.

# 3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan ELISA okuyucu (Optic Ivymen System, İspanya), santrifüj (Nüve NF800R, Türkiye), otoanalizör (Rayto Chemray 120) hassas terazi (Sartorius, Almanya) ve otomatik pipetler (2-20 μl, 20-200 μl, 5-50 μl, 100-1000 μl) kullanılmıştır.

# 

# 3.1.3. Kullanılan Kimyasallar

Bu çalışmada ratların serum örneklerinden açlık glukozu, üre, ürik asit, kreatinin, albumin, total protein, kolesterol, trigliserid, ALT, AST, LDH, HDL-C, LDL-C düzeyleri ölçümleri için ticari test kitleri (Archem, Türkiye) kullanılmıştır. Serum düzeylerinin ölçümü için rat spesifik ticari ELISA test kiti kullanılmıştır. Dokuların hazırlanması ve boyanması sırasında, %10’luk formalin, parafin, hematoksilen-eozin boyaları, %70, %95 ve %100’lük alkol kullanılmıştır. Ratların gruplarına uygun olarak günlük beslemede stevia tozu Sukrax Marka (Almanya) ve fruktoz Merck (104007.1000) marka (Amerika) kullanılmıştır.

# 

# 3.2. Yöntem

# 3.2.1. Haftalık vücut ağırlığı değişimleri, Lee indeks ve VKİ’nin belirlenmesi

Bütün gruplardaki ratlar her hafta düzenli olarak tartılmış ve vücut ağırlıkları kaydedilmiştir. Grupların Lee indeksi ve VKİ aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır.

* Vücut kitle indeksi (VKİ)= vücut ağırlığı (gr)/vücut uzunluğu2 (cm2)
* Lee indeksi= vücut ağırlığının küp kökü (gr)/vücut uzunluğu (cm)

# 3.2.2. Rutin Biyokimyasal Analizlerin Yapılması

Rutin biyokimyasal analizler, ticari Archem (Türkiye) kitleri kullanılarak otoanalizörde (Rayto Chemray 120) yapılmıştır.

# 3.2.3. İrisin ve GLP-1 Hormonunun ELISA Yöntemi ile Analizlerinin Yapılması

# 3.2.3.1. ELISA yöntemi

Biyolojik örneklerdeki hedef antijenin miktarının tayininde, özgün antikorlar kullanılabilir. Bu immünolojik yöntemlerden en çok kullanılanı ELISA’ dır.

ELISA yöntemi, nanogram düzeyinde protein varlığını ve miktarını hızlı bir şekilde tayin edebilmektedir. ELISA’da özgün antikorlar, pleyt olarak adlandırılan ve üzerinde kuyucuklar bulunan plastik bir taşıyıcı zemine bağlanır. Serum, plazma, hücre kültürü ya da doku homojenatı gibi analiz için hazırlanan örnekler kuyucuklara ilave edilir, eğer antijen varsa antikor tarafından tanınır ve antijen antikor kompleksi oluşur. Ardından kuyucuklar yıkanır ve bağlanmamış proteinler uzaklaştırılır. İkincil antikor, ortama eklenerek birinci antikordan farklı bir epitopa bağlanması sağlanır. İkincil antikora, bir enzim bağlanarak renksiz ya da floresan olmayan substrat, renkli ya da floresan hale dönüştürülür. Ortamdaki rengin ya da floresan maddenin yoğunluğu ölçülerek her örnekteki antijen miktarı saptanır. ELISA sonrasında pleyt okutulup, her kuyucuktaki bağlı antijen miktarı hesaplanır (Hames ve Hooper, 2005). Kuyucuklardaki antikora hedef proteinlerin bağlanması Şekil 21’ de gösterilmiştir.

****

Şekil 21. ELISA yönteminde antijen/ antikor reaksiyonu (WEB 6).

Serum irisin (Sun Red, Çin) ve GLP-1 (Sun Red, Çin) analizleri için ticari ELISA kitleri kullanılmıştır. Testin standart grafiği Şekil 22 ve 23’ te verildiği gibidir.

Şekil 22. İrisin standart grafiği.

Şekil 23. GLP-1 standart grafiği.

# 3.2.4. ELISA Yöntemi ile İrisin ve GLP-1 Analizi Prosedürü

Standart çözeltilerin hazırlanması Tablo 11 ve Tablo 12’de gösterilmiştir.

**Tablo 11.** İrisin için standartların hazırlanması.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 48 ng/ml | Standart 5 | 120 μl Orijinal standart + 120 μl Standart dilüent |
| 24 ng/ml | Standart 4 | 120 μl Standart 5 + 120 μl Standart dilüent |
| 12 ng/ml | Standart 3 | 120 μl Standart 4 + 120 μl Standart dilüent |
| 6 ng/ml | Standart 2 | 120 μl Standart 3 + 120 μl Standart dilüent |
| 3 ng/ml | Standart 1 | 120 μl Standart 2 + 120 μl Standart dilüent |

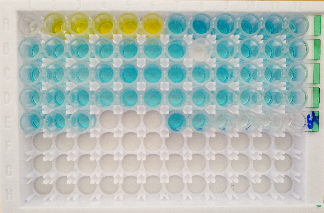
**Tablo 12.** GLP-1 için standartların hazırlanması.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 32 μg/ml | Standart 5 | 120 μl Orijinal standart + 120 μl Standart dilüent |
| 16 μg/ml | Standart 4 | 120 μl Standart 5 + 120 μl Standart dilüent |
| 8 μg/ml | Standart 3 | 120 μl Standart 4 + 120 μl Standart dilüent |
| 4 μg/ml | Standart 2 | 120 μl Standart 3 + 120 μl Standart dilüent |
| 2 μg/ml | Standart 1 | 120 μl Standart 2 + 120 μl Standart dilüent |

# 

# 3.2.5. ELISA Testi Prosedürünün Uygulanış Basamakları

1. Kör kuyucuğuna; streptavidin-HRP, kromojen A ve kromojen B koyulur.
2. Standart kuyucuklarına; 50 μl standart ve 50 μl streptovidin- HRP pipetlenir.
3. Test kuyucuklarına; 40 μl serum,10 μl irisin/GLP-1 antikoru, 50 μl streptovidin- HRP ilave edilir.
4. Pipetleme işlemi sonrasında kuyucukların üstü membranla örtülür, hafif çalkalamalı olacak şekilde 60 dakika 37°C’de inkübe edilir.
5. Bir saatin sonunda kuyucuklardaki sıvı dikkatli bir şekilde dökülür. 30 kez sulandırılmış yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama yapılır.
6. Yıkamayı takiben tüm kuyucuklara sırasıyla 50 μl kromojen A ve 50 μl kromojen B ilave edilir.
7. Işıktan koruyarak, hafif çalkalamalı olacak şekilde 10 dakika 37°C’de inkübe edilir.
8. İnkübasyonu takiben tüm kuyucuklara 50 μl stop solüsyonu eklenir. Mavi olan renk hızla sarıya döner. 15 dakika içinde 450 nm’de okuma yapılır. İrisin analizine ait pleytin fotoğrafı Resim 5’te gösterilmiştir.



Resim 5. İrisin analizine ait pleytin fotoğrafı.

# 3.3. Histopatolojik Analizler

Histopatolojik analizler için her bir ratın karaciğer, böbrek ve beyin dokusundan alınan doku örnekleri 12-24 saat %10’luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edilmiştir. Trimlenerek doku takip kasetlerine alınan dokular, 6-8 saat akan çeşme suyu ile yıkanarak, doku takip cihazında takip edilmiş ve parafinde bloklanmıştır. Parafine gömülen dokular mikrotom ile 4-5 μm kalınlığında kesilip, kesitler normal lamlara alınmıştır. Lamlara alınan kesitler, hematoksilen-eozin boyama yöntemi ile boyanmıştır. Doku kesitleri, hematoksilen boya çözeltisine daldırılıp, 4 dakika bekletilmiş, sonrasında, akan çeşme suyu altında 2 dakika yıkamış ve asit alkol solüsyonuna daldırılarak diferansiye edilmiştir. Preparatlar hızlı bir şekilde çeşme suyuna sokularak diferansiyasyon durdurulmuştur. Daha sonra lamlar dilüe edilmiş amonyaklı suda bekletilerek dokuların mavi renk alması sağlanmıştır. Lam sepeti bu sefer eozin boyasına daldırılıp, 1 dakika bekletilmiştir. Bu işlemden sonra lamlar çeşme suyunda yıkanarak boyama işlemi bitirilmiştir. Son olarak boyanmış olan lamlar %70, %95 ve %100’lük alkolden geçirilerek dehidre edilmiş ve etüvde kurumaya bırakılmıştır. Kesitler, ışık mikroskobunda incelenerek, mikroskobik dijital fotoğrafları çekilmiştir.

# 

# 3.4. İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 22 (Statistical Package for the Social Sciences 22) paket programı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak yapılmıştır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram) ve analitik yöntemler (Shapiro-Wilk testi) kullanılarak incelenmiştir. Varyansların homojenitesi ise Levene Testi ile belirlenmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğuna göre One-Way ANOVA yapılmıştır. Varyans homojenitesinin olmadığı ve normal dağılıma uymayan durumlarda Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. Lee indeksi ve VKİ Genel Doğrusal Model Prosedürü kullanılarak yapılmıştır. Tanımlayıcı analizler, normal dağılan değişkenler için ortalama ve standart hata kullanılarak verilmiştir. P<0,05 önemli olarak kabul edilmiştir (Hayran ve Hayran, 2011).

# 4. BULGULAR

# 4.1. Haftalık Vücut Ağırlığı Değişimleri

Toplam 16 hafta boyunca beslenen ratların vücut ağırlıkları bütün gruplarda eş zamanlı olacak şekilde belirlenmiştir. Deneyin sonunda Lee indeksini belirlemek için ratların nazo-anal uzunluğu (cm) ölçüldü. Bu indeks, vücut ağırlığının küp kökü (g) ile ratların nazo-anal uzunluğu (cm) arasındaki oranın 10 ile çarpımına karşılık gelmektedir (Macedo ve ark. 2012).

16 haftalık ölçümlerin sonucunda tüm gruplarda canlı ağırık ortalamalarının arttığı gözlenmiştir. Elde edilen veriler karşılaştırıldığında, gruplar arasında 1, 2 ve 3. haftaların dışında gözlemlenen farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Tablo 13 ve 14).

Tablo 13. Canlı ağırlık ortalamaları.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  | | **Canlı ağırlık Ortalamaları (g)** | | | | | | | |
|  |  | | **Haftalar** | | | | | | | |
| **İncelenen Faktörler** | **N** | **1. Hafta** | | **2. Hafta** | **3. Hafta** | **4. Hafta** | **5. Hafta** | **6. Hafta** | **7. Hafta** | **8. Hafta** |
| K | 7 | 317,28 | | 337,71 | 352,71 | 390,00b | 422,42a | 435,14a | 410,14abc | 423,57b |
| S-6 | 7 | 328,57 | | 347,00 | 369,57 | 393,71ab | 420,71a | 429,00a | 402,57bc | 414,85b |
| S-12 | 7 | 339,40 | | 374,40 | 403,00 | 401,00ab | 417,00a | 437,80a | 427,00abc | 463,80ab |
| F | 7 | 336,00 | | 365,42 | 379,00 | 432,00ab | 447,57a | 461,14a | 453,28ab | 504,71a |
| F-6 | 7 | 338,85 | | 359,28 | 397,14 | 439,14a | 406,28ab | 469,85a | 462,28a | 496,85a |
| F-12 | 7 | 322,85 | | 339,14 | 358,71 | 399,85ab | 354,00b | 323,00b | 379,57c | 419,57b |
| Genel ortalama (µ) | 42 | 332,02 | | 352,80 | 375,37 | 409,70 | 411,05 | 425,40 | 422,25 | 453,40 |
| S1 |  | 4,82 | | 5,13 | 5,78 | 5,21 | 6,87 | 9,63 | 6,85 | 7,96 |
| **P** |  | 0,075ÖD | | 0,261 ÖD | 0,071 ÖD | 0,008\*\* | 0,001\*\*\* | 0,000\*\*\* | 0,000\*\*\* | 0,000\*\*\* |

a, b, c: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir (P<0,05). ÖD: Önemli değil, \*: P<0,05, \*\*: P<0,01, \*\*\*: P<0,001.

Tablo 14. Canlı ağırlık ortalamaları.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  | **Canlı ağırlık Ortalamaları (g)** | | | | | | | |
|  |  | **Haftalar** | | | | | | | |
| **İncelenen Faktörler** | **N** | **9. Hafta** | **10. Hafta** | **11. Hafta** | **12. Hafta** | **13. Hafta** | **14. Hafta** | **15. Hafta** | **16. Hafta** |
| K | 7 | 462,14ab | 488,00abc | 487,42ab | 503,14abc | 513,14ab | 527,28ab | 528,71ab | 529,28bc |
| S-6 | 7 | 456,00ab | 462,85c | 458,14b | 453,71c | 463,14b | 478,71b | 483,85b | 486,14c |
| S-12 | 7 | 483,80ab | 502,60abc | 515,00ab | 520,60abc | 533,60ab | 536,60ab | 539,80ab | 538,20bc |
| F | 7 | 501,14ab | 534,00ab | 520,71ab | 545,57ab | 569,14a | 583,28a | 606,14a | 609,42ab |
| F-6 | 7 | 512,00a | 541,14a | 546,85a | 567,71a | 564,57a | 592,28a | 609,28a | 624,00a |
| F-12 | 7 | 440,28b | 475,42bc | 476,42b | 493,14bc | 494,00ab | 528,14ab | 540,00ab | 554,42abc |
| Genel ortalama (µ) | 42 | 475,50 | 500,57 | 500,05 | 513,65 | 522,40 | 541,27 | 551,87 | 557,85 |
| S1 |  | 6,82 | 7,30 | 7,74 | 8,86 | 9,19 | 9,53 | 10,26 | 10,64 |
| **P** |  | 0,006\*\* | 0,002\*\* | 0,003\*\* | 0,001\*\*\* | 0,001\*\*\* | 0,001\*\*\* | 0,000\*\*\* | 0,000\*\*\* |

a, b, c: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir (P<0,05). ÖD: Önemli değil, \*: P<0,05, \*\*: P<0,01, \*\*\*: P<0,001.

Kontrol grubuna kıyasla bütün gruplarda Lee indeksi ve VKİ’nin düştüğü gözlenmiştir. Lee indeksi sonuçlarına göre, K grubu ile F-12 grubu arasındaki farkın anlamlı olduğu, VKİ için anlamlı olmadığı görülmüştür (Tablo 15).

Tablo 15. Lee indeksi ve VKİ sonuçları.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **İncelenen Faktörler** | **N** | **Lee indeksi (g/cm)** | **VKİ (g/cm2)** |
| K | 7 | 0,311±0,004a | 0,785±0,029 |
| S-6 | 7 | 0,300±0,003ab | 0,711±0,022 |
| S-12 | 7 | 0,307±0,005ab | 0,772±0,040 |
| F | 7 | 0,299±0,003ab | 0,761±0,026 |
| F-6 | 7 | 0,299±0,001ab | 0,764±0,010 |
| F-12 | 7 | 0,293±0,004b | 0,708±0,030 |
| Genel | 42 | 0,301±0,001 | 0,749±0,011 |
| **P** |  | 0,044\* | 0,223ÖD |

a, b, c: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir (P<0,05). ÖD: Önemli değil,

\*: P<0,05, \*\*:P<0,01, \*\*\*: P<0,001.

# 4.2. Biyokimyasal Parametreler

16 haftalık denemenin sonunda elde edilen serum örneklerinde glukoz, total protein, albümin, ALT, AST, LDH, üre, ürik asit, kreatin, total kolesterol, trigliserit, HDL-C, LDL-C düzeyleri ticari kitler ile spektrofotometrik olarak, irisin ve GLP-1 düzeyleri ELISA yöntemi ile ticari kit kullanılarak analiz edilmiştir.

K grubu ile F grubu karşılaştırıldığında; F grubundaki ratlarda serum glukoz, trigliserit, kolesterol düzeylerinde ve vücut ağırlıklarında artış olduğu görülmüştür. Ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Bütün deney grupları K grubu ile karşılaştırılmış ve aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olup olmadığı belirlenmiştir. Serum glukoz düzeyinin K grubuna kıyasla S-6 ve S-12 gruplarında azaldığı, F, F-6 ve F-12 gruplarında arttığı görülmüş olup, S-6 ve S-12 gruplarıyla F-12 grubu arasındaki farkın anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Serum üre düzeyleri açısından K grubu ile S-12, F, F-6 ve F-12 grupların arasında görülen farkın ve serum AST ve ALT düzeyleri açısından, K grubu ile F, F-6 ve F-12 grupları arasında görülen farkın anlamlı olduğu görülmüştür. Ayrıca AST düzeyleri açısından S-12 grubu ile F, F-6 ve F-12 grupları arasında görülen farkın da anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Serum LDH düzeyleri açısından F-6 grubu ile K, S-6 ve S-12 grupları arasında görülen farkın, serum total protein düzeyleri bakımından S-12 grubu ile F-6 ve F-12 grupları arasında görülen farkın, serum albümin düzeyleri açısından, S-12 grubu ile S-6, F, F-6 ve F-12 grupları arasında görülen farkınerum HDL-C düzeyleri açısından K grubu ile F-6 grubu arasında görülen farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 16).

Tablo 16. K, S-6, S-12, F, F-6 ve F-12 gruplarına ait rutin biyokimyasal parametreler.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Parametreler**  **(x)** | **K** | **S-6** | **S-12** | **F** | **F-6** | **F-12** | **P** |
| Glukoz (mg/dL) | 229,14±6,78abc | 179,14±13,07c | 199,40±16,12bc | 248,28±14,17ab | 256,28±8,41ab | 271,14±23,87a | 0,001\*\*\* |
| Üre (g/dl) | 14,14±0,45bc | 16,42±0,61ab | 17,00±0,94a | 11,71±0,86c | 13,00±0,53c | 12,00±0,48c | 0,000\*\*\* |
| Kreatin (g/dl) | 0,31±0,01 | 0,36±0,02 | 0,37±0,02 | 0,35±0,01 | 0,36±0,00 | 0,32±0,01 | 0,080ÖD |
| Ürik Asit (mg/dl) | 1,21±0,09 | 1,44±0,07 | 1,62±0,08 | 1,40±0,08 | 1,77±0,20 | 1,67±0,15 | 0,051ÖD |
| AST (IU/L) | 126,14±2,32a | 100,14±4,67ab | 94,20±5,65ab | 87,28±11,23b | 84,00±8,58b | 92,85±8,50b | 0,005\*\* |
| ALT (IU/L) | 32,14±1,60a | 31,00±1,73ab | 26,00±1,14bc | 20,28±1,26c | 21,42±0,36c | 21,14±1,38c | 0,000\*\*\* |
| LDH (IU/L) | 948,42±60,24a | 967,28±115,26a | 912,80±122,26a | 722,85±124,00ab | 489,00±48,93b | 766,71±82,58ab | 0,008\*\* |
| Total Protein (g/dl) | 5,27±0,09ab | 5,40±0,07ab | 5,02±0,19b | 5,30±0,05ab | 5,50±0,06a | 5,50±0,10a | 0,026\* |
| Albümin (g/dl) | 3,95±0,06bc | 4,20±0,07ab | 3,80±0,15c | 4,22±0,04ab | 4,32±0,05a | 4,37±0,07a | 0,000\*\*\* |
| Kolesterol (mg/dL) | 63,14±2,48 | 65,00±5,11 | 79,80±10,85 | 65,42±1,99 | 75,42±2,30 | 68,42±0,99 | 0,082ÖD |
| Trigliserit (mg/dL) | 89,14±10,66 | 87,14±6,37 | 108,20±13,30 | 97,42±7,50 | 98,28±2,71 | 100,85±13,20 | 0,683ÖD |
| HDL-C (mg/dL) | 36,42±1,61b | 40,42±4,08ab | 43,60±6,03ab | 40,57±1,67ab | 49,85±1,79a | 45,28±1,30ab | 0,034\* |
| LDL-C (mg/dL) | 15,71±0,68 | 14,14±1,22 | 18,00±6,04 | 14,14±0,85 | 16,71±1,14 | 12,85±0,85 | 0,550ÖD |

a, b, c: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir (P<0,05). ÖD: Önemli değil, \*: P<0,05, \*\*:P<0,01, \*\*\*: P<0,001.

# 4.3. Serum İrisin ve GLP-1 Düzeyleri

Sağlıklı ratlardan oluşan K grubunun serum irisin düzeyleri ile diğer gruplar kıyaslandığında, F-6 grubunda irisin düzeyinin azaldığı belirlenirken, diğer gruplarda arttığı tespit edilmiştir. Serum GLP-1 düzeyleri bakımından K grubuna göre, S-6, S-12 ve F grubunu düzeylerinde azalma görülürken, F-6 ve F-12 gruplarında artış olduğu görülmüştür. Gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Tablo 17).

Tablo 17. K, S-6, S-12, F, F-6 ve F-12 gruplarına ait irisin ve GLP-1 sonuçları.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Parametreler**  **(x)** | **İrisin (ng/ml)** | **GLP-1 (μg/ml)** |
| K | 31,631,67 | 12,612,07 |
| S-6 | 35,771,96 | 11,102,48 |
| S-12 | 32,904,84 | 9,782,63 |
| F | 32,522,35 | 9,892,53 |
| F-6 | 30,071,60 | 13,700,74 |
| F-12 | 33,002,79 | 13,071,82 |
| **P** | 0,742ÖD | 0,676ÖD |

# ÖD: Önemli değil

# 4.4. Karaciğer, Böbrek ve Beyin Dokularında Görülen Histopatolojik Değişiklikler

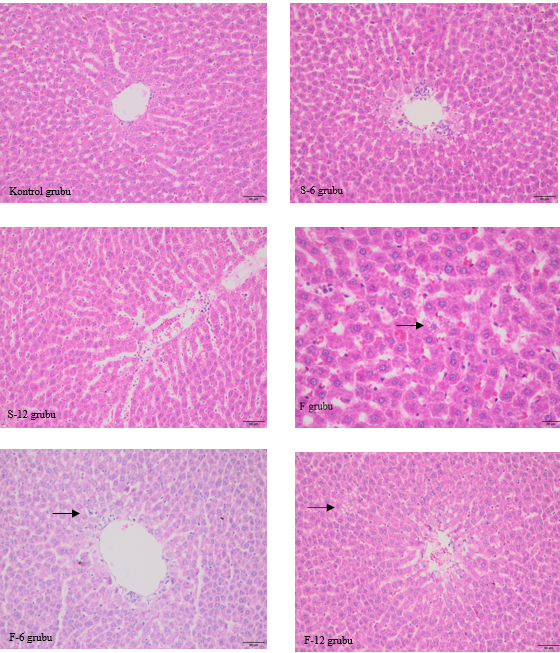
Hematoksilen-eozin ile boyanan karaciğer kesitleri incelendiğinde; F grubundaki 7 rattan birinde orta şiddette, diğer ratlarda ise hafif şiddette steatohepatitis tablosu görülmüştür. Hafif şiddette yağlanma görülen ratlarda; yağlanmanın sentrilobuler alanlarla sınırlı olduğu, orta şiddette yağlanma görülenlerde ise yağlanmanın sentrilobuler alanlardan başlayıp midzonal alanlara doğru yayıldığı tespit edilmiştir. Yağlanma görülen alanlarda tek tük yangısal hücre infiltrasyonları göze çarpmıştır. Bütün grupların karaciğer dokusunda gözlemlenen hasar, Tablo 18’de skorlanmıştır.

F-6 grubundaki ratların beşinde hafif şiddette yağlanma olduğu görülmüştür. Geri kalan ratların karaciğerinde herhangi bir histopatolojik değişikliğe rastlanmamıştır. F-12 grubundaki ratların dördünde hafif şiddette yağlanma olduğu görülmüştür. Geri kalan ratların karaciğerinde herhangi bir histopatolojik değişikliğe rastlanmamıştır. F-6 grubundaki ratların dördünde hafif şiddette yağlanma belirlenmiştir. F-12 grubundaki ratların dördünde hafif şiddette yağlanma görülürken, diğer ratların karaciğerinde herhangi bir histopatolojik değişikliğe rastlanmamıştır. Resim 6’da, bütün gruplardaki ratların, karaciğer dokusu preparatlarının fotoğrafları verilmiştir.

Tablo 18. Karaciğer Dokularında Belirlenen Hasarın Skorlanması.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Rat numaraları** |  |  | **Gruplar** |  |  |  |
|  | **K** | **S-6** | **S-12** | **F** | **F-6** | **F-12** |
| 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 4 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |

Tüm gruplara ait böbrek ve beyin dokusu kesitleri değerlendirildiğinde herhangi bir histopatolojik değişikliğe rastlanmadığı görülmüştür.



Resim 6. Ratların karaciğer dokularına ait hematoksilen-eozin preparatları.

# 5. TARTIŞMA

Tarih boyunca, insanoğlunun beslenme alışkanlıklarında önemli değişiklikler meydana gelmiştir. Antropolojik kaynaklara göre, Paleolitik dönemde avcı-toplayıcı bir beslenme tarzı benimsenirken, Neolitik dönemde yerleşik hayata geçişle beraber tarım ürünlerine dayalı bir beslenme şekli benimsenmiştir. Sanayi devrimiyle beraber insanların, kentsel yaşantısında yemek yemeğe ayırabildikleri zamanın azalması fast-food kültürünün giderek yaygınlaşmasına neden olmuştur. Toplumsal gelişmeyle birlikte hayatımıza giren yüksek kalorili beslenme alışkanlığı, metabolik sendrom olarak adlandırılan, insülin direnciyle başlayan ve abdominal obezite, glukoz intoleransı, diabetes mellitus, dislipidemi, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı gibi sistemik bozuklukların birbirine eklendiği ölümcül bir endokrinopatiye sebep olmaktadır (Bonomini ve ark, 2015). Metabolik sendromun temel nedeninin obezite veya enerji dengesizliği olduğu anlaşılmıştır. Pozitif kalori dengesinin metabolik sendromun altında yatan temel sebep olduğu ileri sürülmüştür. Bu sebeple kalorinin kısıtlanması, devam eden obezitenin varlığında bile, çoğu metabolik risk faktörünü tersine çevirmektedir (Ikramuddin ve Buchwald, 2011). Kısacası metabolik sendromun primer nedeninin aşırı ve yüksek kalorili beslenme şekli olduğu düşünülmektedir (Grundy, 2015). Bu nedenle, hastalara yapılacak birincil müdahale, yaşam tarzı değişiklikleri olmalıdır. Bu değişiklikler; kalorinin kısıtlaması, gıdaların iyileştirilmesi, sağlıklı besinlerin tercih edilmesi ve fiziksel aktivitenin arttırılmasıdır (Grundy, 2016).

İşlenmiş ve paketlenmiş gıdaların beyinde bağımlılık benzeri davranışlara neden olduğu, özellikle yağlı, tuzlu ve şekerli besinlerde bu etkinin daha belirgin olarak gözlemlendiği belirtilmektedir (Avena, 2011). Bu tip besinlere duyulan bağımlılık, günümüz yiyecek endüstrisinin ve reklamların tüketim konusunda besin maddelerini daha da çekici hale getirmesinin bir sonucu oluşan ‘örtük isteme’ (implicit wanting) kavramı ile açıklanmaktadır (Blundell ve Finlayson, 2011).

Şekerli besinlerin tüketiminin artmasındaki en önemli nedenin okul kantinlerinde, marketlerde, restoranlarda satılan fast-food tipi hazır gıdaların daha fazla tüketilmesi olduğu düşünülmektedir (Campbell ve ark, 2007). Şeker ve yağca zengin bir diyet, singulat korteks, hipokampus, nükleus akkumbens ve lokus seruleustan dopamin salınımını arttırmaktadır. Ayrıca bu besinler, hipotalamusun arkuat çekirdeğinde yer alan endojen bir opioid olan dinorfinin gen ekspresyonunu da arttırmaktadır (Levine ve ark, 2003). Opioid ve dopaminerjik sistemin aktive olması sonucu yemekten daha fazla haz alınır (Davis ve ark, 2009). Şekerli besinlere olan bağımlılıkla ilgili yapılan bir çalışmada, ratlara 1 ay boyunca günde 12 saat yüksek şeker içeren solüsyon verilmiştir. Günün belirli zamanlarında şekerli solüsyonun kesilmesine bağlı olarak ratlarda, madde bağımlılığı sonucu görülen çekilme, anksiyete ve yoksunluk belirtilerinin oluştuğu rapor edilmiştir (Avena ve ark, 2008).

Hazır gıdaların üretiminde bazı avantajları sebebiyle en yaygın olarak tercih edilen tatlandırıcı, yüksek fruktozlu mısır şurubudur. Fruktozun gıda endüstrisinde kullanım avantajları; glukoz gibi tokluk hissi oluşturmaması ve bunun sonucunda daha çok tüketilmesi, osmotik olarak kararlı olması, renginin ve tadının geliştirilebilmesi, donma noktasının düşük olması, yiyeceklere ve meşrubatlara uygulanabilen hem fiziksel hem fonksiyonel özelliklere katkı sağlaması, pek çok ürün ile kolayca karışabilmesi, raf ömrünün uzun, maliyetinin az olması ve sukrozdan daha güçlü bir tatlandırıcı olmasıdır (Bulut ve Mir, 2011).

Günlük 50 gramın üzerinde fruktoz tüketildiğinde, vücutta insülin salınımının uyarılmamasına bağlı olarak, enerji harcaması ve besin alımı dengesi bozulmakta, uzun dönemde ise yağ dokusunda kütle artışı gözlenmektedir. Vücutta yağlanmanın artmasıyla insülinin reseptöre bağlanma aktivitesi azalır, yüksek insülin yanıtı oluşur ve insülin direnci gelişir. İnsülin direncine bağlı olarak da metabolik sendrom oluşur. Yüksek fruktoz içeren diyetle beslenen Sprague-Dawley ve Wistar ratlarda deneysel metabolik sendrom 2 hafta içinde indüklenebilmektedir (Basciano ve ark, 2005).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2018 yılında Türkiye’deki ölüm nedenlerini istatistiklerini açıklamışlardır. Ölümlerin %38,4’ünün dolaşım sistemi hastalıklarından, %19,7’sinin iyi ve kötü huylu tümörlerden, %12,5’inin solunum sistemi hastalıklarından, %4,9’unun sinir sistemi ve duyu organları hastalıklarından, %4,8’inin endokrin ve metabolik hastalıklarından, %4,5’inin ise fiziksel yaralanma ve zehirlenmelerden kaynaklandığını rapor etmişlerdir. Toplamda 161 bin 920 kişinin hayatını kaybettiği dolaşım sistemi hastalığı kaynaklı ölümlerin %39,7' sine iskemik kalp hastalığının, %22,4' üne de serebrovasküler hastalıkların neden olduğunu bildirmişlerdir. İllere göre ölüm nedenleri incelendiğinde; 2018 yılında dolaşım sistemi hastalıklarına bağlı ölümlerin oranının en yüksek olduğu ilk beş il sırasıyla; %48 ile Çorum, %47,2 ile Denizli, %46,7 ile Adana, %46,2 ile Çanakkale ve Afyonkarahisar olmuştur. Metabolik sendrom ve bileşeni olan hastalıklara bağlı olarak gelişen kardiyovasküler hastalıklar ölüm nedenlerinin başında gelmektedir (WEB 7). Bu sebeple metabolik sendromun erken tanınıp önlenmesi önem taşımaktadır.

Çalışmamızda serum glukoz değerleri açısından, bütün gruplar karşılaştırılmış, S-6 grubu ile F, F-6 ve F-12 grupları arasında görülen farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir. Serum glukoz düzeyleri açısından S-12 grubu ile F-12 grupları arasında görülen farkın da önemli olduğu belirlenmiştir. Serum glukoz düzeylerinin ortalamasının, tüm gruplar içinde F-12 grubundaki ratların en yüksek, S-6 grubunda ise en düşük değere sahip olduğu görülmüştür. K grubu ile S-6 ve S-12 gruplarının serum glukoz düzeyleri karşılaştırıldığında, K grubuna kıyasla, S-6 ve S-12 grubunda bulunan ratların serum glukoz düzeylerinin azaldığı, gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür. Serum glukoz düzeylerindeki bu azalmanın, stevyanın antidiyabetik etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Birçok araştırmada stevya kullanımının kan glukoz düzeyini düşürücü etkisi olduğu ve bu sebeple diyabet tedavisinde kullanılabileceği rapor edilmiştir (Curi ve ark, 1986; Jeppesen ve ark, 2002; Mishra, 2011; Elnaga ve ark, 2016). Çalışmamızda da K grubuna kıyasla, S-6 ve S-12 gruplarında kan glukoz düzeylerinin düştüğü görülürken, fruktozla beslenen ratlarda stevyanın bu etkisi görülmemiştir. Bu sebeple metabolik sendromlu hastaların stevya kullanırken dikkatli olmaları önerilmelidir. Serum üre düzeyleri açısından K grubu ile S-12 grubu arasında görülen farkın anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca serum üre düzeyleri bakımından S-6 ve S-12 grupları ile F, F-6 ve F-12 grupları arasında görülen fark da önemli bulunmuştur. Serum AST ve ALT düzeyleri açısından, K grubu ile F, F-6 ve F-12 grupları arasında görülen farkın anlamlı olduğu görülmüştür. Ayrıca AST düzeyleri açısından S-12 grubu ile F, F-6 ve F-12 grupları arasında görülen farkın anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Serum AST ve ALT düzeyleri K grubunda, diğer gruplara kıyasla en yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Serum AST düzeyleri açısından F-6 grubu, serum ALT düzeyleri açısından ise F grubunun en düşük düzeylere sahip olduğu belirlenmiştir. K grubu dışındaki bütün grupların karaciğer dokularında hafif ve orta düzeyde yağlanma tespit edilmiştir. Karaciğer dokusunda oluşan hücresel hasara bağlı olarak enzim düzeylerinin düşmüş olduğu düşünülmektedir. Serum LDH düzeyleri açısından F-6 grubu ile K, S-6 ve S-12 grupları arasında görülen farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir. Serum LDH düzeylerinin S-6 grubunda en yüksek, F-6 grubunda ise en düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Serum total protein düzeyleri bakımından S-12 grubu ile F-6 ve F-12 grupları arasında görülen farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir. Serum total protein düzeylerinin, S-12 grubunda en düşük, F-6 ve F-12 gruplarında en yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Serum albümin düzeylerine göre, S-12 grubu ile S-6, F, F-6 ve F-12 grupları arasında görülen farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir. Serum albümin düzeyleri bakımından S-12 grubunun en düşük, F-12 grubunun en yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Serum HDL-C düzeyleri açısından K grubu ile F-6 grubu arasında görülen farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Elnaga ve arkadaşları (2016) yapmış oldukları çalışmada stevya kullanımının, serum HDL-C düzeyini arttırdığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızın verileri de Elnaga ve arkadaşları (2016)’nın verilerine benzemektedir. Fruktoz ile beslenen F grubundaki ratların karaciğerlerinde metabolize olan yüksek fruktoz, trigliserit olarak depo edildiğinden, serum trigliserit düzeylerinde de artış görülmüştür. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ayrıca F grubunun serum AST, ALT ve LDH düzeylerinin artması beklenirken, karaciğerde oluşan hücresel hasara bağlı olarak enzim düzeylerinde azalma gözlenmiştir. F grubuna kıyasla, F-6 ve F-12 gruplarındaki ratların serum trigliserit ve kolesterol düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen arttığı, bu gruplardaki ratlara verilen yüksek doz stevyanın trigliserit ve kolesterol düzeylerini düşürmediği gözlenmiştir. Serum albümin düzeyleri bakımından, F-12 grubu albümin düzeyinin diğer gruplara kıyasla en yüksek, S-12 grubunun en düşük olduğu görülmüştür. Bu sebeple F-12 grubundaki ratlarda yüksek doz steya kullanımına bağlı olarak dehidratasyon şekillendiği düşünülmüştür. Gruplar serum kolesterol düzeyleri bakımından kıyaslandığında, kolestrol düzeyi en yüksek olan grubun S-12 grubu olduğu tespit edilmiştir. F-6 grubunun serum kolesterol değerinin, F-12 grubundan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, stevyanın kolesterol düşürücü etkisinin bir göstergesi olabileceği düşünülmüştür.

S-6, S-12, F ve F-12 gruplarındaki ratların serum irisin düzeylerinin K grubuna kıyasla arttığı görülmüştür. Ancak gruplar arasındaki bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. S-6, S-12, F ve F-12 gruplarındaki ratların, serum irisin düzeylerinin artması sonucu ayırıcı bir protein olan UCP1 artmaktadır. UCP1, elektron transport sisteminde protonların hücre içerisine geri taşınmasını sağlayarak proton gradiyentini bozmaktadır. Bunun sonucunda ATP sentezi inhibe edilmektedir. Hücrede solunumun uyarılması ile oksijen kullanımı hızlanmaktadır. Hücrelerde serbestleşen enerji, ısı şeklinde yayılarak vücut ısısı arttırılmaktadır. Uyarılan termogenez sonucu, bu gruplardaki ratların canlı ağırlıklarında artış olmaması beklenmekteydi. Ancak çalışmamızda S-6, S-12 ve F gruplarındaki ratların GLP-1 düzeylerinin azalmasına bağlı olarak, bu gruplarda iştah artmış ve fazla miktarda yem tüketimine bağlı olarak canlı ağırlıklarda artış gözlenmiştir. Çünkü azalan GLP-1 hormonu düzeyleri insülin sekresyonunun azalmasına ve glukagon sekresyonunun baskılanmasına ve mide boşalmasının hızlanmasına sebep olduğu için ratların iştahının arttığı ve kilo alımının gerçekleştiği düşünülmektedir. GLP-1 düzeyleri bakımından, F-6 grubu, diğer gruplara kıyasla en yüksek seviyeye sahiptir. Ancak bu gruptaki ratlarda irisin düzeyleri diğer gruplara kıyasla en düşük seviyede olduğu için canlı ağırlıkta artış gözlenmiştir. Analizi yapılan irisin ve GLP-1 hormonları bakımından, gruplar arasında gözlemlenen farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Canlı ağırlık ortalamaları karşılaştırıldığında gruplar arasında gözlenen farkın, 1, 2 ve 3. haftalar hariç anlamlı olduğu ve deney boyunca kilo alımının devam ettiği belirlenmiştir. Ayrıca grupların VKİ değerleri karşılaştırıldığında görülen farkın anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Buna rağmen, tüm grupların canlı ağırlıklarında artış görülmüştür. K grubu ile F-6 grubu arasındaki farkın 4. haftada anlamlı olduğu görülmüştür. K grubu ile F-12 grubundaki ratların 5 ve 6. haftalarda canlı ağırlıkları karşılaştırıldığında, gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu tespit edilmiştir. F grubundaki ratlarla, F-12 grubundaki ratlar karşılaştırıldığında, 5, 6,7 ve 8. haftalarda F-12 grubu daha az kilo aldığı görülmüş ve gözlenen bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Ancak devam eden haftalarda canlı ağırlık bakımından F grubu ile F-12 grubu arasında görülen farkın istatistiksel olarak anlamlı olmaması, stevya kullanımının kilo kontrolünde etkili olmadığını düşündürmüştür. Çalışmamızdan farklı olarak Anton ve arkadaşları (2010) stevyanın metabolik sendromulu ya da obez bireylerde kilo kontrolü için kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Uzun yıllardır tatlandırıcı olarak kullanılan stevyanın, metabolik sendrom, obezite ve tip 2 diyabette tedavi edici ajan olarak kullanımına dair yeterli klinik veri bulunmamaktadır. Bugüne kadar yapılmış olan insan ve hayvan çalışmalarında, steviosit ve steviosit bileşiklerinin, insülin sekresyonunu ve duyarlılığınını düzenleyerek glukozun plazmadan uzaklaşmasını sağladığı ve böylece plazma glukozunu düşürücü etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca stevya, intestinal glukoz emilimini ve karaciğerdeki glukoz sentezi sırasındaki birçok anahtar enzim aktivitesini düzenleyerek glukoz oluşumunu ve plazmaya glukoz alımını inhibe ettiği rapor edilmiştir (Chatsudhipong ve Muanprast, 2009). Stevyanın tanımlanmış bu etkileri plazma glukoz düzeylerine bağlı olduğu, yalnızca plazma glukoz düzeyleri arttığında görüldüğü, bu nedenle sağlıklı bireylerde kullanımının güvenli olduğu bildirilmiştir (Chatsudhipong ve Muanprast, 2009).

Curi ve ark (1986), stevya yapraklarından hazırlanan sulu özütün 16 sağlıklı bireyde glukoz tolerans testi üzerine olan etkisini araştırmışlardır. 5 gram yaprakla hazırlanan sulu özüt, bireylere 3 gün boyunca 6 saatte bir verilmiştir. Deneklere uygulama öncesi ve sonrasında glukoz tolerans testi yapılmıştır. Çalışma sonucunda glukoz toleransında artış ve plazma glukoz düzeylerinde anlamlı bir azalma görülmüştür.

Jeppesen ve ark (2002) tarafından, obez olmayan tip 2 diyabetli ratlarda steviosit ve steviolün antihiperglisemik etkisinin olup olmadığı araştırılmış, çalışma sonucunda steviosit ve steviolün antihiperglisemik, insulinotropik, glukagonostatik etkileri olduğu görülmüş ve stevyanın tip 2 diyabetliler için antidiyabetik ilaç olma potansiyeli olabileceği düşünülmüştür. Diğer yandan steviositin kan basıncını ve kan glukozunu düşürücü etkisi olmadığına dair çalışmalar da mevcuttur (Geuns ark, 2007; Barriocanal ve ark, 2008). Geuns ve ark (2007), sağlıklı 10 bireye 3 gün boyunca günde 3 defa 250 mg’lık %97 saflıkta steviosit tabletleri verilmiştir. Uygulamadan önce ve 3. günün sonunda kan basıncı ölçülmüş ve biyokimyasal analizleri yapılmıştır. Her iki ölçüm değerleri karşılaştırıldığında, kan basıncı ve glukoz değerleri ile diğer biyokimyasal parametreler ve 24 saatlik üriner hacim ile idrarla atılan elektrolitler için anlamlı bir farkın görülmediği rapor edilmiştir.

Barriocanal ve ark (2008) yürüttüğü çalışmada, steviol glikozidlerinin kan glukozu ve kan basıncı üzerine olan etkileri değerlendirilmiştir. Gönüllü bireylerle 3 ana çalışma grubu oluşturulmuştur. 1. grup; tip 1 diyabetli hastalar, 2. grup tip 2 diyabetli hastalar, 3. grup ise kan basıncı normal olan ve şeker hastası olmayan sağlıklı bireylerdir. Her grup kendi içinde 2 gruba ayrılmıştır. Bu alt gruplardan birine 3 ay boyunca oral tablet olarak, 750 mg/kg steviosit verilmiştir. Diğerine ise plasebo tedavisi uygulanmıştır. 3 ay süren bu uygulamalar sonucunda yapılan kontrollerde kan glukozunda ve kan basıncında azalma görülmemiştir. Oral olarak alınan steviositin iyi tolere edildiği ve farmakolojik etkisinin görülmediği bildirilmiştir. Ortaya çıkan bu sonucun nedeni tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte, steviositin sadece çok yüksek olan kan basıncını ve kan şekerini düşürücü etkisi olabileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda denekler arasında HDL kolesterol, LDL kolesterol, total trigliserit, ALT, AST, CPK, kreatinin, Na, K değerleri açısından fark görülmediği rapor edilmiştir.

Chan ve ark (2000) yaptıkları çalışmada, hipertansiyonu bulunan denekler 2 gruba ayrılmış, bir gruba plasebo tedavisi verilirken, diğer gruba günlük 750 mg steviosit verilmiştir. Üç ay sonra steviosit kullanan grubun, sistolik ve diyastolik kan basınçlarının anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. Stevyanın antihipertansif etki mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte, bu etkiyi plazma hacmini değiştirerek yaptığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda serum glukoz düzeylerinin S-6 ve S-12 gruplarındaki ratlarda, kontrol grubuna kıyasla düşmüş olduğu, bu açıdan Curi ve ark (1986), Jeppesen ve ark (2002), Mishra (2011) ve Elnaga ve ark (2016) yapmış oldukları çalışmalarla benzer olduğu görülmüştür.

Nordentoft ve ark (2008) yaptıkları bir çalışmada, steviosit ve steviolün metabolik bir bileşiği olan izosteviolün, KKAy farelerindeki metabolik etkileri ve insülin düzenleyici genlerin, gen ekspresyonu üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 5 haftalık diyabetli 20 adet KKAy faresi 2 gruba ayrılmış, 9 haftalık süre ile bir gruba standart yemleme yapılmış, diğer gruba standart yemlemenin yanında 20 mg/kg dozda izosteviol verilmiştir. Ek kontrol grubu olarak da 10 adet normal C57BL faresi kullanılmıştır. Çalışma başlangıcı ve sonucunda kan örnekleri alınarak analiz edilmiştir. İzosteviol verilen farelerde lipid profilinin düzeldiği, insülin düzenleyici transkripsiyon faktörleri ve β-hücre gen ekspresyonunu arttığı, böylece glukoz homeostazının düzenlendiği, insülin duyarlılığının arttığı, plazma trigliserit düzeylerinin azalmasıyla birlikte diyabetik farelerde kilo kaybı meydana geldiği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise, stevya kullanımının kilo alımını tamamıyla engellemediği ve fruktozla beslenen ratlarda kan şekerini düşürmediği tespit edilmiştir.

Mishra (2011), 15 diyabetik hasta ile 45 gün süren bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada denekler 15 gün süre diyabet ilaçlarını alırken, her gün açlık ve tokluk kan şekerleri ölçülmüştür. Takip eden 15 günde ise diyabet ilaçları verilmeden, yine her gün açlık ve tokluk kan şekerleri ölçülmüştür. Daha sonraki 15 gün ise yine diyabet ilaçları verilmeden çaylarına günde 3 kez stevya yaprağı tozu ilave edilerek, açlık ve tokluk kan şekerleri ölçülmüştür. Stevya yaprağı tozunun açlık ve tokluk kan şekerini düşürdüğü ve gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu rapor edilmiştir. Mishra’nın bu verileri ile, çalışmamızda elde edilen verilerin benzer olduğu görülmüştür.

Gregersen ve ark (2004) tarafından, tip 2 diyabetli hastalarda steviosidin akut etkilerini incelenmiştir. Oniki tip 2 diyabetli hasta eşleştirilmiş çaprazlama çalışmasına dahil edilmiştir. Standart bir yemek olarak ya 1 g stevioside ya da 1 g mısır nişastası (kontrol) ile desteklenmiştir. Bireylerin kan örnekleri, yemekten 30 dakika önce ve yemekten 240 dakika sonra alınmıştır. Kontrol grubu ile steviosit alanlar karşılaştırıldığında, steviositin glukoz yanıt eğrisini %18 oranında azalttığı belirtilmiştir. İnsülinogenik indeks (AUCi, insülin/AUCi, glukoz) açısından değerlendirildiğinde, kontrol grubunun insülinogenik indeksinin steviosit alanlarınkine göre artmış olduğu rapor edilmiştir. Steviositin, glukagon seviyelerini düşürdüğü, GLP-1 ve glukoza bağımlı insülinotropik polipeptid eğrilerini önemli ölçüde değiştirmediği bildirilmiştir. Bu çalışmada, steviositin tip 2 diyabetik hastalarda postprandiyal kan glukoz seviyelerini düşürdüğü, buna bağlı olarak glukoz metabolizması üzerinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da bu çalışma ile benzer olarak sadece stevya verilen gruplarda kan glukoz düzeyi düşmüş, serum GLP-1 düzeylerinde anlamlı bir değişme görülmemiştir. Ancak bizim çalışmamızda fruktozla beslenen ratlarda kan glukoz düzeylerinin arttığı görülmüştür.

Elnaga ve ark (2016), farklı dozlarda (25, 250, 500 ve 1000 mg / kg / gün) stevya uyguladıkları dişi ratlarda; stevyanın kilo alımına, hematolojik ve biyokimyasal parametrelere etkilerini değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tatlandırıcı olarak stevya verilen gruplarda kilo alımı ve yemden yararlanma oranlarında belirgin bir iyileşme görülmüştür. Stevyanın kilo kaybına, kan glukoz, kreatin, LDH, toplam kolesterol, trigliserit ve LDL düzeylerinde azalmaya, HDL düzeylerinde artışa ve ALT, AST düzeylerinde azalmaya sebep olduğu rapor edilmiştir. Histopatolojik incelemede ise stevya verilen ratların karaciğer dokularında hepatositlerin normal görünümde olduğu, fibrozis ya da inflamasyon görülmediği bildirilmiştir. Bu çalışmanın aksine, çalışmamızda tüm gruplarda kilo artışı gözlenmiştir. Histopatolojik preparatların incelenmesi sonucu elde ettiğimiz verilerin de Elnaga ve ark (2016) rapor ettikleri verilerden farklı olduğu görülmüştür. Bu sebeple stevya kullanımının etkilerinin araştırılmasına yönelik daha fazla çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Ilic ve ark (2017), Han: NMRI farelerinde düşük doz steviosidin antidiyabetik etkilerini araştırmışlar, bu amaçla farelere oral olarak 20 mg/kg dozda steviosit çözeltisi vermişlerdir. Stevyanın antidiyabetik etkinliği oral glukoz tolerans testi ve adrenalin testi ile belirlenmiştir. Ayrıca oluşturulan iki grubun birine alloksan uygulanmasından önce steviosit verilirken, diğerine alloksan uygulamasını takiben 10 gün boyunca steviosit verilmiştir. Steviosit tedavisinden sonra yapılan oral glikoz tolerans testi sonucu kan şekerinin artmadığı, adrenalin testinde ise arttırdığı rapor edilmiştir. Steviositle önceden tedavi edilen ve sonra alloksan uygulanan grupla sadece alloksan uygulanan grup arasında istatistiksel olarak önemli fark olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda da sadece stevya alan ratlarda kan glukoz düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür.

# 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ratlarda kabul edilebilir limitlerin üzerinde stevya kullanımının, irisin ve GLP-1 düzeyleri üzerine olan etkisi incelenmiş, ayrıca karaciğer, böbrek ve beyin dokusunda hasar oluşturup oluşturmadığı araştırılmıştır.

Stevyanın metabolik etkilerinin aydınlatılması; şekerin fazla kullanımının zararlarını bilen, tatlandırıcı kullanımı konusunda bir tercih yapmak isteyen ya da sentetik tatlandırıcı kullanmak istemeyen bilinçli tüketiciler ve diyabetli bireyler için özellikle çok önemlidir. Çünkü ülkemizde yapılan araştırmalar, diyabetin ülke nüfusumuzun %13,7’ sinde görüldüğünü ve yaklaşık 7,5 milyon insanı etkilediğini göstermektedir. Stevyanın tatlandırıcı olarak kullanımı Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği’ne uygundur. Biyokimyasal verilerimiz değerlendirildiğinde, uzun süreli ve yüksek dozda stevya kullanımının irisin ve GLP-1 düzeylerini etkilemediği görülmüştür. Stevya verilen gruplardaki bazı ratlarda, yüksek doz stevya kullanımına bağlı olarak, hafif şiddette karaciğer yağlanması tespit edilmiştir. Bu sebeple stevya kullanırken doz aşımına dikkat edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Ülkemizde 2012 yılından beri yetiştirilen stevya, tablet ya da kristalize form halinde kullanıma sunulmaktadır. Stevyanın stabil ve kolay çözünme özelliği sayesinde bu formları çok çeşitli içecek ve yiyeceklerde kullanılabilmektedir. Alternatif olarak, taze ya da kurutulmuş şekilde de kullanılabilen stevya yaprakları, düşük kalorili ve şekersiz tatlılar için önümüzdeki yıllarda daha da popüler olacak gibi gözükmektedir. Ancak gıda şirketleri stevyanın veya steviositlerin bazı sentetik sürümlerini kullanmaya başlamışlardır. İçerisinde %1’den daha az stevya içeren, eritriol ya da başka dolgu maddeleri içeren ürünler stevyanın yararlı etkilerini göremememize sebep olabilir, hatta ürünü zararlı bir hale getirebilir. Doğal stevya tüketimi sadece metabolik sendromlu, obez ya da hipertansif hastalarda değil toplum genelinde yaygınlaştırılmalıdır. Stevya, şeker kullanmak istemeyen ve doğal beslenme taraftarı olan bireyler için iyi bir alternatif olup, özellikle obezite ile mücadele eden ve şekere hayır diyemeyen tatlı bağımlıları için şimdilik en iyi seçenek gibi görünmektedir.

Kontrolsüz stevya kullanımının hayati organlarımızdan olan karaciğere zararlı olacağı görülmüştür.

Stevyanın diğer organlara verebileceği zararlar da göz önünde bulundurularak daha uzun süreli ve kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır.

# KAYNAKLAR

**Abou-Arab EA, Abou-Arab AA, Abu-Salem MF.** Physicochemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant*. African Journal of Food Science* 2010, 4, 269–281.

**Abou-Arab EA, Abu-Salem FM.** Evaluation of bioactive compounds of Stevia rebaudiana leaves and callus. *African Journal of Food Science* 2010, 4, 627–634.

**Abraham EJ, Leech CA, Lin JC, Zulewski H, Habener JF.** Insulinotropic hormone glucagon like peptide-1 differentiation of human pancreatic islet-derived progenitor cells into insulinproducing cells. *Endocrinology* 2002, 143, 3152–3161.

**Al-Daghri NM, Alkharfy KM, Rahman S, Amer OE, Vinodson B, Sabico S, Pika MK, Harte AL, McTernan PG, Alokail MS, Chrousos GP.** Irisin as a predictor of glucose metabolism in children: sexually dimorphic effects. *European Journal of Clinical Investigation* 2013, 44 (2), 119-124.

**Amzad-Hossain M, Siddique A, Mizanur-Rahman S, Amzad-Hossain M.** Chemical composition of the essential oils of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *Asian Journal of Traditional Medicines* 2010, 5, 56–61.

**Anini Y, Brubaker PL.** Muscarinic receptors control glucagon like peptide 1 secretion by human endocrine L cells. *Endocrinology* 2003, 144, 3244–3250.

**Anini Y, Hansotia T, Brubaker PL.** Muscarinic receptors control postprandial release of glucagon-like peptide-1: *in vivo* and *in vitro* studies in rats. *Endocrinology* 2002, 143, 2420–2426.

**Anton S, Martin C, Han H, Coulon S, Cefalu W, Geiselman P, Wiliamson DA.** Effects of Stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite* 2010, 55, 37–43.

**Aranda-Gonzalez I, Barbosa ME, Toraya-Avile´s R, Segura-Campos M, Moguel-Ordon˜ez Y, Betancur-Ancona D.** Safety assessment of Stevia rebaudiana Bertoni grown in southeastern Mexico as food sweetener. *Nutrition Hospitalaria* 2014, 30, 594–601.

**Arslan M.** Metabolik Sendrom: Tanım, Patogenezi, Tanı Kriterleri ve Bileşenleri. *Turkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Science* 2006, 2 (3), 1-7.

**Arslan S, Şanlıer N.** Fruktoz ve Sağlık. *Mersin Universitesi Saglık Bilimleri Dergisi* 2016, 9 (3), 150-158.

**Atteh J, Onagbesan O, Tona K, Buyse J, Decuypere E, Geuns J.** Potential use of *Stevia rebaudiana* in animal feeds. *Archivos de zootecnia*, 2011, 60 (229), 133-136.

**Avena NM, Gold MS**. Food and addiction-sugars, fats and hedonic overeating. *Addiction* 2011, 106, 1214-1215.

**Avena NM, Rada P, Hoebel BG.** Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience & Biobehavioral Review* 2008, 32, 20-39.

**Aydin S, Aydin S, Kuloglu T, Yilmaz M, Kalayci M, Sahin I, Çiçek D.** Alterations of irisin concentrations in saliva and serum of obese and normal-weight subjects, before and after 45 min of a Turkish bath or running. *Peptides* 2013a, 50, 13–8.

**Aydin S, Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, Celik A, Yilmaz M, Kalaycı M, Şahin İ, Güngör O, Gürel A, Ogetürk M, Dabak O.** Cardiac, skeletal muscle and serum irisin responses to with or without water exercise in young and old male rats: cardiac muscle produces more irisin than skeletal muscle. *Peptides* 2013c, 52, 68–73.

**Aydin S, Kuloglu T, Aydin S.** Copeptin, adropin and irisin concentrations in breast milk and plasma of healthy women and those with gestational diabetes mellitus. *Peptides* 2013b, 47, 66–70.

**Aydin S.** Three new players in energy regulation: Preptin, adropin and irisin.*Peptides* 2014, 56, 94-110.

**Aze Y, Toyoda K, lmaida K, Hayashi S, lmazawa T, Hayashi Y, Takahashi M.** Subchronic oral toxicity study of stevioside in F344 rats. *Eisei Shikenjo Hokoku Bulletin of National Institute of Hygienic Sciences* 1991, 109, 48-54.

**Bailey CJ, Flatt PR.** Glucagon-like peptide-1 and the enteroinsular axis in obese hyperglycaemic (ob/ob) mice. *Life Sciences* 1987, 40, 521–525.

**Barbera MJ, Schluter A, Pedraza N, Iglesias R, Villarroya F, Giralt M.** Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activates transcription of the brown fat uncoupling protein-1 gene. A link between regulation of the thermogenic and lipid oxidation pathways in the brown fat cell. *Journal of Biological Chemistry* 2001, 276, 1486–93.

**Barriocanal L, Palacios M, Benitez G, Benitez S, Jimenez J, Jimenez N, Rojas V.** Apparent lack of pharmacological effect of steviol glycosides used as sweeteners in humans, a pilot study of repeated exposures in some normatensive and hypotensive individuals and in type 1 and type 2 diabetics. Regulatory. *Toxicology and Pharmacology* 2008, 51, 37–41.

**Basciano H, Federico L, Adeli K.** Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutrition & Metabolism* 2005, 2 (5), 1-14.

**Batterham RL, Cohen MA, Ellis SM, Le Roux CW, Withers D, Frost GS, Ghatei MA, Bloom SR.** Inhibition of foodintake in obese subjects by peptide YY 3–36. *The* *New England Journal of Medicine* 2003, 349, 941–948.

**Baysal A**, **Bozkurt N, Pekcan G.** Diyet El Kitabı. In: Hatipoğlu Yayınevi (4. Baskı), Ankara, 2002, s 39-64.

**Bell GI, Santerre RF, Mullenbach GT.** Hamster preproglucagon gene contains the sequence of glucagon and two related peptides. *Nature* 1983, 302, 716–718.

**Bell GI.** The glucagon super family: precursor structure and gene organization. *Peptides* 1986, **7** (1), 27–36.

**Bender C, Graziano S, Zimmermann BF.** Study of Stevia rebaudiana Bertoni antioxidant activities and cellular properties. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2015, 66 (5), 553–558.

**Bender C.** Springer international publishing Switteners references series in phytochemistry. 2016, Doi:10.1007/978-3-319-26478-3\_6-1.

**Bernal J, Mendiola J, Ibanez E, et Cifuentes A.** Advanced analysis of nutraceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2011, 55, 758–774.

**Blundell JE, Finlayson G.** Food addiction not helpful: the hedonic component implicit wanting is important. *Addiction* 2011, 106, 1216-1218.

**Bonomini F, Rodella LF, Rezzani R.** Metabolic Syndrome, Aging and Involvement of Oxidative Stress. *Aging and Disease* 2015, 6 (2), 109-120.

**Bordicchia M, Liu D, Amri EZ, Ailhaud G, Dessi-Fulgheri P, Zhang C, Takahashi N, Sarzani R, Collins S.** Cardiac natriuretic peptides act via p38 MAPK to induce the brown fat thermogenic program in mouse and human adipocytes. *The* *Journal of Clinical Investigation* 2012, 122, 1022–36.

**Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Boström EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H,Cinti S, Hojlund K, Gygi SP, Spiegelman BM.** A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012, 481, 463–8.

**Boztepe Ü**. Metabolik Sendromun Değişen Yüzü, 6. Ulusal Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Kongresi, s 15-17, 2-6 Haziran 2004, Antalya.

**Brandle J, Telmer P.** Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry* 2007, 68, 1855–1863.

**Brandle JE, Starratt AN, Gijzen M.** Stevia rebaudiana: Its agricultural, biological, and chemical properties. *Canadian Journal of Plant Science* 1998, 78 (4), 527-536.

**Braz de Oliveira AJ, Correia Goncalves RA, Cantuaria Chierrito TP, Muller dos Santos M, Mera de Souza L, Gorin PAJ, Sassaki GM, Iacomini M.** Structure and degree of polymerisation of fructo oligosaccharides present in roots and leaves of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *Food Chemistry* 2011, 129, 305–311.

**Brown JC, Dryburgh JR.** A gastric inhibitory polypeptide II. The complete amino acid sequence. *Canadian Journal of Biochemistry* 1971, 49, 867–872.

**Brown JC, Pederson RA.** GI hormones and insulin secretion. *Endocrinology. Proc Vth International Congress Endocrinology* 1976, 2, 568–570.

**Brown JC.** Gastric Inhibitory Polypeptide, Springer-Verlag: Heidelberg, Berlin, 1982, s 34-35.

**Buchan AMJ, Polak JM, Capella C, Solcia E, Pearse AGE.** Electron immunocytochemical evidence of the K cell localisation of gastric inhibitory polypeptide (GIP) in man. *Histochemistry* 1978, 56, 37–44.

**Buffa B, Polak JM, Pearse AGE, Solcia E, Grimelius L, Capella C.** Identification of the intestinal cell storing gastric inhibitory polypeptide. *Histochemistry* 1975, 43, 249–255.

**Bulut İK, Mir S.** Fruktoz ve böbrek hastalıkları. *Cumhuriyet Tıp Dergisi* 2011, 33, 499-507.

**Buteau J, Foisy S, Joly E, Prentki M.** Glucagon-like peptide 1 induces pancreatic beta-cell proliferation via transactivation of the epidermal growth factor receptor. *Diabetes* 2003, 52, 124–132.

**Buteau J, Foisy S, Rhodes CJ, Carpenter L, Biden TJ, Prentki M.** Protein kinase Czeta activation mediates glucagonlike peptide-1-induced pancreatic beta-cell proliferation. *Diabetes* 2001, 50, 2237–2243.

**Buteau J, Roduit R, Susini S, Prentki M.** Glucagon-like peptide- 1 promotes DNA synthesis, activates phosphatidylinositol 3-kinase and increases transcription factor pancreatic and duodenal homeobox gene 1 (PDX-1) DNA binding activity in beta (INS-1)-cells. *Diabetologia* 1999, 42, 856–864.

**Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC.** Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosisin humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003, 52, 102–110.

**Campbell KJ, Crawford DA, Salmon J, Carver A, Garnett SP, Baur LA.** Associations between the home food environment and obesity-promoting eating behaviors in adolescence. *Obesity* 2007, 15, 719-730.

**Carrera-Lanestosa A, Moguel-Ordonez Y, Segura-Campos M.** Stevia rebaudiana Bertoni: A Natural Alternative for Treating Diseases Associated with Metabolic Syndrome. *Journal of Medicinal Food* 2017, 20 (10), 933–943.

**Chambe PC, Harvey DE, Ferrier DE.** Lippincott’s Illustrated Reviews Biyokimya 3. baskı, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 2007, 384-387.

**Chan P, Tomlinson B, Chen YJ, Liu JC, Hsieh MH, Cheng JT.** A double blind placebo- controlled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2000, 50, 215-220.

**Chatsudthipong V, Muanprasat C**. Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacology et Therapeutics* 2009, 121, 41–54.

**Choi YK, Kim MK, Bae KH, Seo HA, Jeong JY, Lee WK, Kim JG, Lee IK, Park GK.** Serum irisin levels innew-onset type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practise* 2013, 100, 96–101.

**Collins S, Surwit RS.** The beta-adrenergic receptors and the control of adipose tissue metabolism and thermogenesis. *Recent Progress in Hormone Research* 2001, 56, 309–28.

**Coniglio RI, Ferraris R, Prieto A, Va´squez LA, Garro S, Tripodi MA.** Relationship between the metabolic syndrome and the insulin resistance in adults with type 2 diabetes risk. *Acta Bioquı´m Clı´n Latinoam* 2013, 47, 25–35.

**Cousin B, Cinti S, Morroni M, Raimbault S, Ricquier D, Penicaud L, Casteilla L.** Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization. *Journal of Cell Science* 1992, 103 (4), 931–42.

**Cozma AI, Sievenpiper JL.** The Role of Fructose, Sucrose, and High-fructose Corn Syrup in Diabetes. *European Endocrinology* 2013, 9, 128–38.

**Creutzfeldt W, Ebert R.** New developments in the incretin concept. *Diabetologia* 1985, 28, 565–573.

**Creutzfeldt W, Nauck M.** Gut hormones and diabetes mellitus. *Diabetes/Metabolism Reviews* 1992, 8, 149–177.

**Crujeiras AB, Pardo M, Arturo RR, Santiago NC, Zulet MA, Martinez JA, Casanueva FF.** Longitudinal variation of circulating irisin after an energy restriction-inducedweight loss and following weight regain in obese men and women. *American Journal of Human Biology* 2013, 26 (2), 198-207.

**Curi R, Alvarez M, Bazotte RB.** Effect of Stevia rebaudiana on glucose tolerance in normal adult humans. *Brazilian Journal of Medical Biology Research* 1986, 19 (6), 771–774.

**Curry LL, Roberts A, Brown N.** Rebaudioside A: two-generation reproductive toxicity study in rats. *Food and Chemical Toxicology* 2008, 46 (7), S21-S30.

**Curry LL, Roberts A.** Subchronic toxicity of rebaudioside A. *Food and Chemical Toxicology* 2008, 46 (7), S11-S20.

**D’Alessio D, Vogel R, Prigeon R, Laschansky E,** **Koerker D,** **Eng J, Ensinck JW.** Elimination of the action of glucagon-like peptide 1 causes an impairment of glucose tolerance after nutrient ingestion by healthy baboons. *The* *Journal Clinical* *Investigation* 1996, 97, 133–138.

**Davis CA, Levitan RD, Reid C, Carter JC, Kaplan AS, Patte KA, King N, Curtis C, Kennedy JL.** Dopamine for “wanting” and opioids for “liking”: a comparison of obese adults with and without binge eating. *Obesity* 2009, 17, 1220-1225.

**Donahey JCK, van Dijk G, Woods SC, Seeley RJ.** Intraventricular GLP-1 reduces short- but not long-term food intake or body weight in lean and obese rats. *Brain Research* 1998, 229, 75–83.

**Drucker DJ, Philippe J, Mojsov S, Chick WL, Habener JF.** Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line. *Proceedding of National Academy* of *Science of United States of America* 1987, 84, 3434–3438.

**Drucker DJ.** Glucagon-like peptides: regulators of cell proliferation, differentiation, and apoptosis. *Molecular Endocrinology* 2003, 17, 161–171.

**Dun SL, Lyu RM, Chen YH, Chang JK, Luo JJ, Dun NJ.** Irisin immunoreactivity in neural and nonneural cells of the rodent. *Neuroscience* 2013, 240, 155–62.

**Dupre J, Ross SA, Watson D, Brown JC.** Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man. *Journal of Clinical* *Endocrinology Metabolism* 1973, 37, 826–828.

**Ebert R, Creutzfeldt W.** Gastric inhibitory polypeptide. *Clinical Gastroenterology* 1980, 9, 679-698.

**Ebert R, Creutzfeldt W.** Influence of gastric inhibitory polypeptide antiserum on glucose-induced insulin secretion in rats. *Endocrinology* 1982, 111, 1601–1606.

**Ebert R, Unger H, Creutzfeldt W.** Preservation of incretin activity after removal of gastric inhibitory polypeptide (GIP) from rat gut extracts by immunoadsorption. *Diabetologia* 1983, 24, 449–454.

**Ebert T, Stepan H, Schrey S, Kralisch S, Hindricks J, Hopf L,** **Platz** **M, Lossner** **U, Jessnitzer** **B, Drewlo** **S, Blüher** **M, Stumvoll** **M, Fasshauer M.** Serum levelsof irisin in gestational diabetes mellitus during pregnancy and after delivery. *Cytokine* 2013, 65 (2), 153–8.

**Eckel RH, Grundy SM, Zimme PZ.** The metabolic syndrome. *Lancet* 2005, 365, 1415–1428.

**EFSA.** Panel on Food Additivers Nutriens Sources (ANS). Scientific opinion on safety on glycosides for the proposed uses as a food additive. *ESFA Journal* 2010, 8 (4), 1537.

**Egan JM, Bulotta A, Hui H, Perfetti R.** GLP-1 receptor agonists are growth and differentiation factors for pancreatic islet betacells. *Diabetes Metabolism Research and Reviews* 2003, 19, 115–123.

**Eissele R, Göke R, Willemer S, Harthus HP, Vermeer H, Arnold R, Göke B.** Glucagon-like peptide-1 cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rat, pig and man. *European Journal of Clinical Investigation* 1992, 22, 283–291.

**Elnaga NIEA, Massoud MI, Yousef MI, Mohamed HHA.** Effect of stevia sweetener consumption as non-caloric sweetening on body weight gain and biochemical’s parameters in overweight female rats. *Annals of Agricultural Science* 2016, 61, 1, 155–163.

**El-Ouaghlidi A, Meier JJ, Gabrys B, et al.** Unchanged, but correlated secretion of the incretin hormones GIP and GLP- 1 after oral glucose in first degree relatives of type 2 diabetic patients and healthy subjects (abstract). *Diabetologia* 2002, 45 (1), A674.

**Fain JN, Company JM, Booth FW, Laughlin MH, Padilla J, Jenkins NT, Bahouth SW, Sacks HS.** Exercise training does not increase muscle FNDC5 protein or mRNA expression in pigs. *Metabolism* 2013, 62, 1503–11.

**Farilla L, Hui H, Bertolotto C, Kang E, Bulotta A, Di Mario U, Perfetti R.**Glucagon-like peptide-1 promotes islet cell growth and inhibits apoptosis in Zucker diabetic rats. *Endocrinology* 2002, 143, 4397–4408.

**Feinle C, O’Donovan D, Doran S, Andrews JM, Wishart J, Chapman I, Horowitz M.** Effects of fat digestion on appetite, APD motility, and gut hormones in response to duodenal fat infusion in humans. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and* *Liver Physiology* 2003, 284, G798–G807.

**Feinman RD, Fine EJ.** Fructose in perspective. *Nutrition and Metabolism* 2013, 10 (1), 10-45.

**Ferrer-Martinez A, Ruiz-Lozano P, Chien KR.** Mouse PeP: a novel peroxiso-mal protein linked to myoblast differentiation and development. *Developmantal Dynamics* 2002, 224, 154–67.

**Fieseler P, Bridenbaugh S, Nustede R, Martell J, Orskov C, Holst JJ, Nauck MA.** Physiological augmentation of amino acid induced insulin secretion by GIP and GLP-I but not by CCK-8. *American Journal of Physiology* 1995, 268, E949–E955.

**Fisher FM, Kleiner S, Douris N, Fox EC, Mepani RJ, Verdeguer F, Wu J, Kharitonenkov A, Flier JS, Maratos-Flier E, Spiegelman BM.** FGF21 regulates PGC-1 alpha and browning of white adipose tissues in adaptive thermogenesis. *Genes Development* 2012, 26, 271–81.

**Flint A, Raben A, Astrup A, Holst JJ.** Glucagon-like peptide-1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *The Journal of Clinical Investigation* 1998, 101, 515–520.

**Galvan-Melendez MF, Calderon-Salinas JV, Intriago-Ortega MP, Torres-Castorena A.** Oxidative stress in patients with different clinical expression of metabolic syndrome. *Medicana Interna de Mexico* 2014, 30, 651–659.

**Gardana C, Scaglianti M, Simonetti P.** Evaluation of steviol and its glycosides in *Stevia rebaudiana* leaves and commercial sweetener by ultra high performance liquid chromatography mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2010, 1217, 1463–1470.

**Gardana C, Simonetti P, Canzi E, Zanchi R, Pietta PG.** Metabolism of stevioside and rebaudioside A from Stevia rebaudiana extracts by human microflora. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003, 51, 22, 6618-6622

**Gasmalla MAA, Yang R, Musa A, Hua X, Zhang W.** Physico-chemical Assessment and Rebauidioside A. Productively of Natural Sweeteners (Stevia rebaudiana Bertoni). *Journal of Food and Nutrition Research* 2014,2 (5), 209-214.

**Geuns JM, Buyse J, Vankeirsbilck A, Temme EH.** Metabolism of stevioside by healthy subjects. *Experimental Biology and Medicine* 2007, 232, 164-173.

**Geuns JMC, Augustijns P, Mols R, Buyse JG, Driessen B.** Metabolism of stevioside in pigs and intestinal absorption characteristics of Stevioside, Rebaudioside A and Steviol. *Food and Chemical Toxicology* 41, 11, 2003a, 1599-1607.

**Geuns JMC, Malheiros RD, Moraes VMB, Decuypere EMP, Compernolle F, Buyse JG,** Metabolism of stevioside by chickens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003b, 51, 1095–1101.

**Geuns, J.** Stevioside. *Phytochemistry* 2003, 64, 913–921.

**Ghanta S, Banerjee A, Poddar A, Chattopadhyay S.** Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of Stevia rebaudiana (Bertoni) Bertoni, a natural sweetener. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007, 55, 10962–10967.

**Gogia A, Agarwa PK.** Metabolic syndrome. *Indian Journal of Medical Sciences* 2006, 60, 72–81.

**Goyal S, Samsheret GRK, Goyal RK.** Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2010, 61, 1–10.

**Göke R, Fehmann H-C, Göke B.** Glucagon-like peptide-1 (7–36) amide is a new incretin/enterogastrone candidate. *European Journal of Clinical Investigation* 1991, 21, 135–144.

**Görpe U.** Metabolik Sendrom. C.Ü. Cerrahpasa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Egitimi Etkinlikleri. Diabetes Mellitus Sempozyumu, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 1997; s 47- 51.

**Gregersen S, Jeppesen PB, Holst JJ, Hermansen K.** Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism* 2004, 53 (1), 73-76.

**Grossman MI.** Candidate hormones of the gut. 13. Enterogastrone. *Gastroenterology* 1974, 67, 745–746.

**Grundy SM.** Adipose tissue and metabolic syndrome: too much, too little, or neither. *European Journal of Clinical Investigation* 2015, 45, 1209–1217.

**Grundy SM.** Metabolic syndrome update. *Trends in cardiovascular medicine* 2016,26, 364-373.

**Gupta R, Yadav V, Rastogi M.** A review on importance of natural sweetener, a zero calorie plant-Stevia-having medicinal and commercial importance. *International Journal of Food and Nutritional Sciences* 2014, 3, 89–94.

**Gutniak MK, Holst JJ, Ørskov C, Ahren B, Efendic S.** Antidiabetogenic effect of glucagon like peptide-1 (7–36) amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine* 1992, 326, 1316–1322.

**Gutzwiller J-P, Drewe J, Göke B, Schmidt H, Rohrer B, Lareida J, Beglinger C.** Glucagon-like peptide-1 promotes satiety and reduces food intake in patients with diabetes mellitus type 2. *American Journal of Physiology (Regulatory Integrative and Comparative Physiology)* 1999a, 276, R1541–R1544.

**Gutzwiller J-P, Göke B, Drewe J, Hildebrand P, Ketterer S, Handschin D, Winterhalder R, Conen D, Beglinger C*.*** Glucagon-like peptide-1: a potent regulator of food intake in humans. *Gut* 1999b, 44, 81–86.

**Gutzwiller JP, Göke B, Drewe J, Ketterer S, Handschin D, Hildebrand P.** Glucagon-like peptide- 1 is a physiologic regulator of food intake in humans. *Gastroenterology* 1997, 112, 1153.

**Hames D, Hooper N.** BIOS Instant Notes 3.Baskı Biyokimya. In: Tutar Y, Geçkil H, Karataş M (eds), Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi Yayın no:55, Ankara, 2010; s 69-74

**Hayran M, Hayran M.** Sağlık Araştırmaları İçin Temel İstatistik (1. Basım). In: Art Ofset Matbaacılık Yayıncılık Organizasyon. Ankara, 2011,s 95

**Heaton JM.** The distribution of brown adipose tissue in the human. *Journal of Anatomy* 1972, 112, 35–9.

**Hecksteden A, Wegmann M, Steffen A, Kraushaar J, Morsch A, Ruppenthal S, Kaestner L, Meyer T.** Irisin and exercise training in humans – results from a randomized con-trolled training trial. *BMC Medicine* 2013, 11, 235.

**Hee Park K, Zaichenko L, Brinkoetter M, Thakkar B, Sahin Efe A, Joung KE,** **Tsoukas MA,** **Geladari EV, Huh JY, Dincer F, Davis CR, Crowell JA, Mantzoro CS.** Circulating irisin in relation to insulin resistance and the metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2013, 98, 4899–907.

**Herrmann C, Göke R, Richter G, Fehmann HC, Arnold R, Göke B.** Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrients. *Digestion* 1995, 56, 117–126.

**Herrmann- Rinke C, Vöge A, Hess M, Göke B.** Regulation of glucagon-like peptide-1 secretion from rat ileum by neurotransmitters and peptides. *Journal of Endocrinology* 1995, 147, 25–31.

**Hofmann T, Elbelt U, Stengel A.** Irisin as a muscle-derived hormone stimulating thermogenesis – A critical update. *Peptides* 2014, 54, 89–100.

**Holst JJ, Ørskov C, Vagn-Nielsen O, Schwartz TW.** Truncated glucagon-like peptide 1, an insulin-releasing hormone from the distal gut. *FEBS Letters* 1987, 211, 169–174.

**Holst JJ.** Degradation of pancreatic peptides: glucagon. In: Henriksen JH (eds). Degradation of Bioactive Substances, Physiology and Pathophysiology, CRC press, Inc: Boca Raton, 1991, s 167–180.

**Holst JJ.** Evidence that enteroglucagon (II) is identical with the C-terminal sequence (residues 33–69) of glicentin. *Biochemical Journal* 1982, 207, 381–388.

**Hondares E, Rosell M, Gonzalez FJ, Giralt M, Iglesias R, Villarroya F**. Hepatic FGF21 expression is induced at birth via PPAR alpha in response to milk intake and contributes to thermogenic activation of neonatal brown fat. *Cell Metabolism* 2010, 11, 206–12.

**Horowitz M, Fraser R**. Disordered gastric motor function indiabetes mellitus. *Diabetologia* 1994, 37, 543–551.

**Horowitz M, Harding PE, Maddox AF, Wishart JM, Akkermans LMA, Chatterton BE, Shearman DJC.** Gastric and oesophageal emptying in patients with type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1989, 32, 151–159.

**Horowitz M, O’Donovan D, Jones KL, Feinle C, Rayner CK, Samsom M.** Gastric emptying in diabetes: clinical significance and treatment. *Diabetic Medicine* 2002, 19, 177–194.

**Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, Mantzoros CS.** FNDC5 and irisin in humans. I: Predictors of circulating concentrations in serum and plasma. II: mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism* 2012, 61, 1725–38.

**Hui H, Nourparvar A, Zhao X, Perfetti R.** Glucagon-like peptide-1 inhibits apoptosis of insulin-secreting cells via a cyclic 5 adenosine monophosphate-dependent protein kinase A- and a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway. *Endocrinology* 2003, 144, 1444–1455.

**Hutapea AM, Toskulkao C, Buddhasukh D, Wilairat P, Glinsukon T.** Digestion of stevioside, a natural sweetener, by various digestive enzymes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* 1997, *23*, 177-186.

**Ikramuddin S, Buchwald H.** How bariatric and metabolic operations control metabolic syndrome. *British Journal of Surgery* 2011, 98, 1339–1341.

**Ilic V, Vukmirovic S, Stilinovic N, Capob I, Arsenovic M, Boris Milijaševic B.** Insight into anti diabetic effect of low dose of stevioside. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2017, 90, 216–221.

**Imeryuz N, Yegen BC, Bozkurt A, Coskun T, Villanueva Penacarrillo ML, Ulusoy NB.** Glucagon like peptide-1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms. *American Journal of Physiology (Gastroenterol Liver)* 1997, 273, G920–G927.

**Ishibashi J, Seale P.** Medicine Beige can be slimming. *Science* 2010, 328, 1113-1114.

**Ishi-Iwamoto E, Brache A.** Stevioside is not metabolized in the isolated perfused rat liver. *Research Communication in Molecular Pathology and Pharmacology* 1995, 87, 167-175.

**İnanç L, Çınar İ.** Alternatif Doğal Tatlandırıcı: Stevya. *GIDA* 2009, 34 (6), 411-415.

**İnci A, Aypak SÜ.** İrisin ve Metabolik Etkileri. *Turkiye Klinikleri Journal of Endocrinology* 2016, 11(1), 15-21.

**Jang HJ, Kokrashvili Z, Theodorakis MJ, Carlson OD, Kim BJ, Zhou J, Kim HH, Xu X, Chan SL, Juhaszova M, Bernier M, Mosinger B, Margolskee RF, Egan JM.** Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1*. Proceedings of the National Academy of Sciences United States of America.* 2007, 104 (38), 15069–15074.

**Jaworska K, Krynitsky AJ, Rader JI.** Simultaneous analysis of steviol and steviol glycosides by liquid chromatography with ultraviolet detection on a mixed-mode column: application to Stevia plant material and Stevia containing dietary supplements. *Journal of AOAC International* 2012, 95, 1588-1596.

**JECFA.** Steviol glycosides. In: *6Efh JECFA-Chemical and Technical Assessment (CTA).* (Sixty-eighth meeting held June 17-26, 2008). (Prepared by Harriet Wallin and revised by Paul M. Kuznesof PhD). Geneva, Switz.: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). http://www. fao.orglfileadminltemplateslagnslpdfljecfalctai681Steviol g lycosides. pdf. 2007(a) (Erişim tarihi: 21.12. 2018)

**JECFA.** Steviol glycosides. In: *Compendium of Food Additive Specifications* (Addendum 12): 63rd Meeting, June 8-17, 2004, Geneva, Switz. (FAO Food and Nutrition Paper, no 52). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), pp. 47-49. ftp://ftp.fao.orgleslesn/jecfaladdendum 12.pdf. (Erişim tarihi: 18.12. 2018)

**JECFA.** Steviol glycosides. In: *Compendium of Food Additive Specifications.* Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 69th Meeting, June 17-26, 2008, Rome, Italy. (FAOIJECFA Monographs no. 5). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) *I* World Health Organization (WHO), pp. 75. 2008 (Erişim tarihi: 16.11. 2018)

**JECFA.** Steviol glycosides. In: *Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants.* Sixty-eighth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), June 19-28, 2007, Geneva, Switz. (WHO Technical Report Series no 947). Geneva, Switz.: World Health Organization (WHO), pp. 50-54, 78. http://whglibdoc.who.int/publicationsl200719789241209472 eng.pdf. 2007 (b) (Erişim tarihi: 16.11. 2018)

**JECFA.** Stevioside. In: *Joint FAOIWHO Expert Committee on Food Additives-Fifty First Meeting: Summary and Conclusions,* June 9-18, 1998. Geneva, Switz.: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) *I* World Health Organization (WHO). http://www.leffingwell.com1Summary%20and%20Conclusions%20of%20the%20 Fiftyfirst%20Meeting. pdf. (Erişim tarihi: 18.12. 2018)

**Jeppesen PB, Gregersen S, Alstrup KK, Hermansen K.** Stevioside induces antihyperglycaemic, insulinotropic and glucagonostatic effects *in vivo*: Studies in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Phytomedicine* 2002,9, 9-14.

**Jones JM.** Dietary Sweeteners Containing Fructose: Overview of a Workshop on the State of the Science. *The Journal of Nutrition* 2009, 139, 1210–1213.

**Karaköse H, Jaiswal R, Kuhnert N.** Characterisation and quantification of hydrocinnamate derivatives in Stevia rebaudiana leaves by LC-MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2011, 59, 10143–10150.

**Kaushik R, Pradeep N, Vamshi V, Geetha M, Usha A.** Nutrient composition of cultivated Stevia leaves and the influence of polyphenols and plant pigments on sensory and antioxidant properties of leaf extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 2010, 47, 27–33.

**Kauth T, Metz J.** Immunohistochemical localization of glucagon-like peptide 1. Use of poly- and monoclonal antibodies. *Histochemistry* 1987, 86, 509–515.

**Kelmer Bracht A, Alvarez M, Bracht A.** Effects of Stevia rebaudiana natural products on rat liver mitochondria. *Biochemical Pharmacology* 1985, 34 (6), 873–882.

**Khiraoui A, Bakha M, Amchra F, Ourouadi S, Boulli A, Al-Faiz C, Hasib A.** Nutritional and biochemical properties of natural sweeteners of six cultivars of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves grown in Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science* 2017, 8 (3), 1015-1022.

**Khiraoui1 A, Hasib A, Al Faiz C, Amchra FZ, Bakha M, Boulli A.** Stevia Rebaudiana Bertoni (Honey Leaf): A Magnificent Natural Bio-sweetener, Biochemical Composition, Nutritional and Therapeutic Values. *Journal of Natural Sciences Research* 2017, 7(14), 75-85.

**Kim I, Yang M, Lee O, Kang S.** The antioxidant activity and the bioactive compound content of Stevia rebaudiana water extracts. *LWT – Food Science and Technology* 2011, 44, 1328–1332.

**Kinghorn A, Soejarto D.** Current status of stevioside as a sweetening agent for human use. In Wagner H, Hikino H, Farnsworth N (eds.)Economics and medicinal plant research London, Academic Press, 1985, s 1–52.

**Kochikyan V, Markosyan A, Abelyan L, Balayan A, Abelyan, V.** Combined enzymatic modification of stevioside and rebaudioside A. *Applied Biochemistry and Microbiology*2006,42, 31–37.

**Kolb N, Herrera JL, Ferreyra DJ, Uliana RF.** Analysis of sweet diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*: improved HPLC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2001,49 (10), 4538-4541.

**Kolligs F, Fehmann HC, Göke R, Göke B.** Reduction of theincretin effect in rats by the glucagon-like peptide 1 receptor antagonist exendin (9–39) amide. *Diabetes* 1995, 44, 16–19.

**Kong MF, Chapman I, Goble E,** **Wishart J,** **Wittert G,** **Morris** **H, Horowitz M.** Effects of oral fructose and glucose on plasma GLP-1 and appetite in normal subjects. *Peptides* 1999, 20, 545–551.

**Kovylyaeva GI, Bakaleinik GA, Strobykina IY, Gubskaya VI, Sharipova RR, Al’Fonsov VA, Kataev VE, Tolstikov AG.** Glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Chemistry of Natural Compounds* 2007,43(1), 81-85.

**Koyama E, Kitazawa K, Ohori Y, lzawa O, Kakegawa K, Fujino A, Ui M.** In vitro metabolism of the glycosidic sweeteners, stevia mixture and enzymatically modified stevia in human intestinal microflora. *Food and Chernical Toxicology* 2003, 41(3), 359-374.

**Koyama E, Kitazawa K, Ohori Y, Sakai N, Izawa O, Kakegawa K, Fujino A, Ui M.** Intestinal degradation, absorption, and hepatic metabolism of the glycosidic sweeteners, Stevia mixture. In: Proceedings second IUPA-International Symposium on Sweeteners, Hiroshima, 2001, 12.

**Kozak M.** Context effects and inefficient initiation at non-AUG codons in eucaryotic cell free translation systems. *Molecular and Cellular Biology* 1989, 9, 5073–5080.

**Kozak M.** Downstream secondary structure facilitates recognition of initiator codons by eukaryotic ribosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences The United States of America* 1990,87, 8301–8305.

**Kreymann B, Williams G, Ghatei MA, Bloom SR.** Glucagon-like peptide-1 (7–36): a physiological incretin inman. *Lancet* 1987, 2, 1300 1304.

**Kylin E.** Studien uberdas Hypertonie-hyperglykamie-hyperurikamie syndrome. *Zentralblatt fur innere medizin* 1923, 44, 105-127.

**Lavini A, Riccardi M, Pulvento C, De Luca S, Scamosci M, d'Andria R.** Yield, Quality and Water Consumption of Stevia rebaudiana Bertoni Grown under Different Irrigation Regimes in Southern Italy. *Italian Journal of Agronomy* 2008,2, 9.

**Lean ME.** Brown adipose tissue in humans. *Proceedings of Nutrition Society* 1989, 48, 243–56.

**Lecker SH, Zavin A, Cao P, Arena R, Allsup K, Daniels KM, Joseph J, Schulze PC, Forman DE.** Expression of the irisin precursor FNDC5 in skeletal muscle correlates with aerobic exercise performance in patients with heart failure. *Circulation Heart Failure* 2012, 5, 812–8.

**Lee P, Werner CD, Kebebew E, Celi FS**. Functional thermogenic beige adipoge-nesis is inducible in human neck fat. *International Journal of Obesity* 2014, 38, 170–176.

**Levine AS, Kotz CM, Gosnell BA.** Sugars and fats: the neurobiology of preference. *The Journal of Nutrition* 2003, 133, 831-834.

**Li G, Wang R, Quampah AJ, Rong Z, Shi C, Wu J.** Calibration and prediction of amino acids in stevia leaf powder using near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2011, 59 (24), 13065-13071.

**Li P, Chang TM, Chey WY.** Secretin inhibits gastric acid secretion via a vagal afferent pathway in rats. *American Journal of Physiology* *(Gastrointest Liver Physiol)* 1998, 275, G22–G28.

**Li Y, Hansotia T, Yusta B, Ris F, Halban PA, Drucker DJ.** Glucagon-like peptide-1 receptor signalling modulates beta cell apoptosis. *Journal of Biological Chemistry* 2003, 278, 471–478.

**Lim S, Honek J, Xue Y, Seki T, Cao Z, Andersson P, Yang X, Hosaka K, Cao Y.** Cold induced activation of brown adipose tissue and adipose angiogenesis in mice. *Nature Protocols* 2012, 7, 606–15.

**Liu JJ, Wong MD, Toy WC, Tan CS, Liu S, Ng XW, Tavintharan S, Sum CF, Lim SC.** Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Complications* 2013, 27, 365–9.

**Mace OJ, Affleck J, Patel N, Kellett GL.** Sweet taste receptors in rat small intestine stimulate glucose absorption through apical GLUT 2. The *Journal of Physiology* 2007, 582 (1), 379–392.

**Macedo IC, Medeiros LF, Oliveira C, Oliveira CM, Rozisky JR, Scarabelot VL, Souza A, Silva FR, Santos VS, Cioato SG, Caumo W, Torres ILS.** Cafeteria diet induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. *Peptides* 2012, 38 (1), 189-196.

**Majchrzak D, Ipsen A, Koenig J.** Sucrose-replacement by rebaudioside a in a model beverage. *Journal of Food Science and Technology* 2015, 52, 6031–6036.

**Maki KC, Curry LL, Carakostas MC, Tarka SM, Reeves MS, Farmer MV, McKenney JM, Toth PD, Schwartz SL, Lubin BC, Dicklin MR, Boileau AC, Bisognano JD.** The hemodynamic effects of rebaudioside A in healthy adults with normal and low-normal blood pressure. *Food and Chernical Toxicology* 2008a, 46 (7), S40-S46.

**Maki KC, Curry LL, Reeves MS, Toth PD, McKenney JM, Farmer MV, Schwartz SL, Lubin BC, Boileau AC,** **Dicklin MR,** **Carakostas MC, Tarka SM.** Chronic consumption of rebaudioside A, a steviol glycoside, in men and women with type 2 diabetes mellitus. *Food and Chernical Toxicology* 2008b, 46 (7), S47-S53.

**Malik VS, Popkin BM, Bray GA**, Sugar-Sweetened Beverages, Obesity, Type 2 Diabetes Mellitus, and Cardiovascular Disease Risk. *Circulation* 2010, 121, 1356-1364.

**Marcinek K, Krejpcio Z.** Stevia rebaudiana Bertoni: Health promoting properties and therapeutic application. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 2016, 11, 3–8.

**Margolskee RF, Dyer J, Kokrashvili Z, Salmon KSH, Ilegems E, Daly K, Maillet EL, Ninomiya Y, Mosinger B, Shirazi-Beechey SP.** T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na+ glucose cotransporter 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007, 104 (38), 15075–15080.

**Mediesse-Kengne F, Woguia AL, Fogue P, Atogho-Tiedeu B, Simo G, Boudjeko T.** Antioxidant properties of cell wall polysaccharides of Stevia rebaudiana leaves. *Journal of Coastal Life Medicine* 2014, 2 (12), 962–9.

**Meier JJ, Gallwitz B, Salmen S, Goetze O, Holst JJ,Schmidt WE, Nauck MA.** Normalization of glucose concentrations and deceleration of gastric emptying after solid meals during intravenous glucagon-like peptide 1 in patients with type 2 diabetes. *The* *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003, 88, 2719–2725.

**Meier JJ, Gallwitz B, Schmidt WE, Nauck MA.** Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) as a regulator of food intake and bodyweight: therapeutic perspectives. *European Journal of Pharmacology* 2002, 440, 269–279.

**Meier JJ, Nauck MA.** Glucagon-like peptide 1(GLP-1) in biology and pathology *Diabetes Metabolism Research and Reviews* 2005, 21, 91–117.

**Miholic J, Ørskov C, Holst JJ, Kotzerke J, Meyer HJ.** Emptying of the gastric substitute, glucagon-like peptide-1 (GLP-1), and reactive hypoglycemia after total gastrectomy. *Digestive diseases and sciences* 1991, 36, 1361–1370.

**Miholic J, Ørskov C, Holst JJ, Kotzerke J, Pichlmayr R.** Postprandial release of glucagon-like peptide-1, pancreatic glucagon, and insulin after esophageal resection. *Digestion* 1993, 54, 73–78.

**Mishra N.** An Analysis of antidiabetic activity of Stevia rebaudiana extract on diabetic patient. *Journal of Natural Sciences Research* 2011, 1, 3, 1-9.

**Mishra P, Singh R, Kumar U, Prakash V.** *Stevia rebaudiana* – A magical sweetener. *Global Journal of Biotecnology et Biochemistry* 2010, 5, 62–74.

**Mohammad M, Mohammad U, Sher M, Habib A, Iqbal, A.** In vitro clonal propagation and biochemical analysis of field established *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Pakistan Journal of Botany*, 2007, 39, 2467– 2474.

**Mojsov S, Weir GC, Habener JF.** Insulinotropin: glucagon-like peptide I (7–37) co-encoded in the glucagon gene is a potent stimulator of insulin release in the perfused rat pancreas. *The* *Journal of Clinical* *Investigation* 1987, 79, 616–619.

**Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serrano M, Guerra E, Pardo G, Tinahones F, Ricart W, Fernandez-Real JM.** Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2013, 98, E769–78.

**Nakayama K, Kasahara D, Yamamoto F.** Absorption, distribution, metabolism and excretion of stevioside in rats. *Journal of Food Hygiene and Safety Japan* 1986, 27, 1–8.

**National Survey of Health and Nutrition.** National Results. National Institute of Public Health [In Spanish], Mexico, 2012.

**Nauck M, Stockmann F, Ebert R, Creutzfeldt W.** Reduced incretin effect in type 2 (non insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1986b, 29, 46–54.

**Nauck MA, Bartels E, Ørskov C, Ebert R, Creutzfeldt W.** Additive insulinotropic effects of exogenous synthetic humangastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1-(7–36) amide infused at near-physiological insulinotropichormone and glucose concentrations. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1993a, 76, 912–917.

**Nauck MA, Heimesaat MM, Ørskov C, Holst JJ, Ebert R, Creutzfeldt W.** Preserved incretin activity of glucagon-likepeptide 1 (7–36 amide) but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Investigation* 1993b, 91, 301–307.

**Nauck MA, Homberger E, Siegel EG, Allen RC, Eaton RP, Ebert R,Creutzfeldt W.** Incretin effects ofincreasing glucose loads in man calculated from venous insulinand C-peptide responses. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1986a, 63, 492–498.

**Nauck MA, Kleine N, Ørskov C, Holst JJ, Willms B, Creutzfeldt W.** Normalization of fasting hyperglycaemia byexogenous glucagon-like peptide 1 (7–36 amide) in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1993c, 36, 741–744.

**Nauck MA, Niedereichholz U, Ettler R, Holst JJ, Orskov C, Ritzel R, Schmiegel WH.** Glucagon-likepeptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs itsinsulinotropic effects in healthy humans. *American Journal of Physiology (Endocrinology and Metabolism)* 1997, 273, E981–E988.

**Nauck MA.** Is glucagon-like peptide 1 an incretin hormone? *Diabetologia* 1999, 42, 373–379.

**Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B.** Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism.* 2007, 293, E444–52.

**Neilson EG.** The Fructose. *National Journal of American Society of Nephrology* 2007, 18, 2619 –2622.

**Nikiforov AI, Eapen AK.** A 90-day oral (dietary) toxicity study of rebaudioside A in Sprague-Dawley rats. *lnternational Journal of Toxicology* 2008, 27 (1), 65-80.

**Nikiforov AI, Rihner MO, Eapen AK, Thomas JA.** Metabolism and Toxicity Studies Supporting the Safety of Rebaudioside D. *International Journal of Toxicology* 2013, 32 (4) 261-273.

**Nordentoft I, Jeppesen PB, Hong J, Abudula R, Hermansen K.** Isoesteviol increases insulin sensitivity and changes gene expression of key insulin regulatory genes and transcription factors in islets of the diabetic KKAy mouse. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2008,10, 939–949.

**Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, Gulseth HL, Birkeland KI, Jensen J, Drevon AC.** The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 alpha, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS Journal* 2014, 281, 739–749.

**Ørskov C, Holst JJ, Seier-Poulsen S, Kirkegaard P.** Pancreatic and intestinal processing of proglucagon in man. *Diabetologia* 1987, 30, 874–881.

**Ørskov C, Holst JJ.** Radio immunoassays for glucagon-like peptides 1 and 2 (GLP-1 and GLP-2). *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 1987, 47, 165–174.

**Ørskov C, Knuhtsen S, Baldissera FG, Poulsen SS, Nielsen OV, Holst JJ.** Glucagon-like peptides GLP-1 and GLP-2, predicted products of the glucagon gene, are secreted separately from pig small intestine but not pancreas. *Endocrinology* 1986, 119, 1467–1475.

**Ouchi N, Parker LJ, Lugus JJ, Walsh K.** Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews Immunology* 2011, 11, 85–97.

**Ozan G, Kaya N, Yılmaz OF, Erdem E, Ozan E.** Yüksek fruktoz diyeti ile metabolik sendrom oluşturulan ratların testis dokusunda ghrelin dağılımına oleuropeinin etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 2014, 28 (3), 127-133.

**Öztürk Ö**. Dünya Mitolojisi. In: Nika yayınları, Ankara, 2016.

**Pappas TN, Debas HT, Taylor IL.** Enterogastrone-like effect of peptide YY is vagally mediated in the dog. *Journal of Clinical Investigation* 1986, 77, 49–53.

**Pederson RA, Brown JC.** Interaction of gastric inhibitory polypeptide, glucose, and arginine on insulin and glucagon secreton from the perfused rat pancreas. *Endocrinology* 1978, 103, 610–615.

**Pederson RA, Brown JC.** The insulinotropic action of gastric inhibitory polypeptide in the perfused rat pancreas. *Endocrinology* 1976, 99, 780–785.

**Pederson RA, Schubert HE, Brown JC.** Gastric inhibitory polypeptide. Its physiologic release and insulinotropic action in the dog. *Diabetes* 1975, 24, 1050–1056.

**Pekkala S, Wiklund PK, Hulmi JJ, Ahtiainen JP, Horttanainen M, Pollanen E, Makela KA, Kainulainen H, Hakkinen K, Nyman K, Alen M, Herzig K-H, Cheng S.** Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulatedby exercise and related to health. *The Journal of Physiology* 2013, 591, 5393–400.

**Pepino MY.** Metabolic effects of non-nutritive sweeteners. *Physiology & Behavior* 2015, 152, 450–455.

**Perfetti R, Zhou J, Doyle ME, Egan JM.** Glucagon-like peptide- 1 induces cell proliferation and pancreatic-duodenum homeobox-1 expression and increases endocrine cell mass in the pancreas of old, glucose-intolerant rats. *Endocrinology* 2000, 141, 4600–4605.

**Perley MJ, Kipnis DM.** Plasma insulin responses to oral and intravenous glucose: studies in normal and diabetic subjects. *Journal of* *Clinical Investigation* 1967, 46, 1954–1962.

**Pilichiewicz A, O’Donovan D, Feinle C,** **Lei** **Y, Wishart JM, Bryant L, Meyer JH, Horowitz M, Jones KL.** Effect of lipase inhibition on gastric emptying of, and the glycemic and incretin responses to, an oil/aqueous drink in type 2 diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003, 88, 3829–3834.

**Piya MK, Harte AL, Sivakumar K, Tripathi G, Voyias PD, James S, Sabico S, Al-Daghri NM, Saravanan P, Barber TM, Kumar S, Vatish M, McTernan PG.** The identification of irisin in human cerebrospinal fluid: influence of adiposity, metabolic markers and gestational diabetes. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 2014, 306, 512-518.

**Plaisancie P, Bernard C, Chayvialle JA, Cuber JC.** Regulation of glucagon-like peptide-1-(7-36) amide secretion by intestinal neurotransmitters and hormones in the isolated vascularly perfused rat colon. *Endocrinology* 1994, 135, 2398–2403.

**Pol J, Hohnova B, Hyotylainen T.** Characterization of *Stevia rebaudiana* by comprehensive twodimensional liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography* A 2007, 1150, 85–92.

**Polonsky KS, Given BD, Hirsch LJ, Tillil H, Shapiro ET, Beebe C, Frank BH, Galloway JA, Cauter EV.** Abnormal patterns of insulin secretion in non-insulin dependent diabetes mellitus. *The* *New England Journal of Medicine* 1988, 318, 1231–1239.

**Pomaret M, Lavieille R.** Le principe asaveur sucree du Kaahee´ (Stevia rebaudiana Bertoni). Quelques proprie´te´s physiologiques du Stevioside. *Bulletin de la Société de chimie biologique* 1931, 13, 1248–1252.

**Pørksen N, Grofte B, Nyholm B, Holst JJ, Pincus SM, Veldhuis JD, Schmitz O, Butler PC.** Glucagon-like peptide 1 increases mass but not frequency or orderliness of pulsatile insulin secretion. *Diabetes* 1998, 47, 45–49.

**Pratley RE, Weyer C.** The role of impaired early insülin secretion in the pathogenesis of type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 2001, 44, 929–945.

**Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM**. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell* 1998, 92, 829–39.

**Quddusi S, Vahl TP, Hanson K, Prigeon RL, D’Alessio DA.** Differential effects of acute and extended infusions of glucagon like peptide-1 on first- and second-phase insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *Diabetes Care* 2003, 26, 791–798.

**Rachman J, Gribble FM, Barrow BA, Levy JC, Buchanan KD, Turner RC.** Normalization of insulin responses to glucose by over night infusion of glucagon-like peptide 1 (7–36) amide inpatients with NIDDM. *Diabetes* 1996, 45, 1524–1530.

**Rafiq I, da Silva Xavier G, Hooper S, Rutter GA.** Glucose stimulated preproinsulin gene expression and nuclear translocation of pancreatic duodenum homeobox-1 require activation of phosphatidylinositol 3-kinase but not p38 MAPK/SAPK2. *Journal of Biological Chemistry* 2000, 275, 15 977–15 984.

**Ranganath LR, Beety LM, Morgan LM, Wright JW, Howland R, Marks V.** Attenuated GLP-1 secretion in obesity: cause or consequence? *Gut* 1996, 38, 916–919.

**Raschke S, Elsen M, Gassenhuber H, Sommerfeld M, Schwahn U, Brockmann B, Jung R, Wisloff U, Tjonna AE, Raastad T, Hallen J, Norheim F, Drevon CA, Romacho T, Eckerdt K, Eckel J.** Evidence against a beneficial effect of irisin in humans. *PLoS ONE* 2013, 8, e73680.

**Reaven GM**. Banting lecture the role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988, 37, 1595-1607.

**Ritzel R, Schulte M, Porksen N, Nauck MS, Holst JJ, Juh C, Marz W, Schmitz O, Schmiegel WH, Nauck MA.** Glucagon-like peptide 1 increases secretory burst mass of pulsatile insulin secretion inpatients with type 2 diabetes and impaired glucose tolerance. *Diabetes* 2001, 50, 776–784.

**Ritzel RA, Butler PC.** Replication increases beta-cell vulnerability to human islet amyloid polypeptide-induced apoptosis. *Diabetes* 2003, 52, 1701–1708.

**Roberge JN, Brubaker PL.** Regulation of intestinal proglucagon derived peptide secretion by glucose-dependent insulinotropic peptide in a novel enteroendocrine loop. *Endocrinology* 1993, 133, 233–240.

**Roberts A, Renwick AG.** Comparative toxicokinetics and metabolism of rebaudioside A, stevioside, and steviol in rats. *Food and Chemical Toxicology* 2008, 46 (7), S31-S39.

**Roberts MD, Bayless DS, Company JM, Jenkins NT, Padilla J, Childs TE, Martin JS, Dalbo** **VJ, Booth** **FW, Rector** **RS, Laughlin MH.** Elevated skeletal muscle irisin precursor FNDC5 mRNA in obese OLETF rats. *Metabolism* 2013, 62, 1052–1056.

**Roca-Rivada A, Castelao C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Crujeiras AB, Seoane LM, Casanueva FF, Pardo M.** FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PLoS ONE* 2013, 8, e60563.

**Salvador-Reyes R, Sotelo-Herrera M, Paucar-Menacho L.** Study of Stevia (S. rebaudiana Bertoni) as a natural sweetener and its use in benefit of the health. *Scientia agropecuaria* 2014, 5, 157–163.

**Savita S, Sheela K, Sunanda S, Shankar A, Ramakrishna P.** *Stevia rebaudiana*– A functional component for food industry. *Journal of Human Ecology*, 2004, 15, 261–264.

**Schmidt WE, Siegel EG, Creutzfeldt W.** Glucagon-like peptide 1 but not glucagon-like peptide 2 stimulates insulin release from isolated rat pancreatic islets. *Diabetologia* 1985,28, 704–707.

**Schmitz O, Pørksen N, Nyholm B, Skjaerbaek C, Butler PC, Veldhuis JD, Pincus SM.** Disorderly and nonstationary insulin secretion in relatives of patients with NIDDM. *American Journal of Physiology (Endocrinology and Metabolism)* 1997, 272, E218–E226.

**Schumacher MA, Chinnam N, Ohashi T, Shah RS, Erickson HP.** The Structure of Irisin Reveals a Novel Inter subunit -Sheet Fibronectin Type III (FNIII) Dimer Implications For Receptor Activation. *The Journal Of Biological Chemistry* 2013, 288, 47, 33738 –33744.

**Scrocchi LA, Brown TJ, MaClusky N, Brubaker PL, Auerbach AB, Joyner AL, Drucker DJ.** Glucose intolerance but normal satiety in mice with a null mutation in the glucagon like peptide 1 receptor gene. *Nature Medicine* 1996, 2, 1254–1258.

**Segura-Campos M, Barbosa-Martín E, Matus-Basto Á, Cabrera-Amaro D, Murguía-Olmedo M, Moguel Ordoñez Y, Betancur-Ancona D.** Comparison of chemical and functional properties of Stevia rebaudiana (Bertoni) varieties cultivated in Mexican Southeast. *American Journal of Plant Sciences* 2014,5 (3), 286.

**Serio L.** La *Stevia rebaudiana*, une alternative au sucre. *Phytothérapie* 2010, 8, 26–32.

**Shan T, Liang X, Bi P, Kuang S.** Myostatin knock out drives browning of white adipose tissue through activating the AMPK-PGC1 alpha FNDC5 pathway in muscle. *The FASEB Journal* 2013, 27, 1981–1989.

**Sharma N, Castorena CM, Cartee GD.** Greater insulin sensitivity in calorie restricted rats occurs with unaltered circulating levels of several important myokines and cytokines. *Nutrition and Metabolism* 2012, 9, 90.

**Shuster LT, Go VLW, Rizza RA, O’Brien PC, Service FJ.** Incretin effect due to increased secretion and decreased clearance of insulin in normal humans. *Diabetes* 1988, 37, 200–203.

**Sinha R, Fisch G, Teague B, Tamborlane WV, Banyas B, Allen K, Savoye M, Rieger V, Taksali S, Barbetta G, Sherwin RS, Caprio S.** Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. *New England Journal of Medicine* 2002, 346, 802–810.

**Soejarto D.** Botany of Stevia and *Stevia rebaudiana*. In: Kinghorn A (eds), Stevia: The genus Stevia, London, New York, Taylor and Francis, 2002, s 18–39.

**Soffritti M, Belpoggi F, Tibaldi E, Esposti DD, Lauriola M.** Life span exposure to low doses of aspartame beginning during prenatal life increases cancer effects in rats. *Environmental Health Perspectives* 2007, 115, 1293–1297.

**Sözbilir NB, Bayşu N.** Biyokimya. In: Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2008, s 101-500.

**Stanhope KL, Havel PJ.** Fructose consumption: recent results and their potential implications. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2010, 1190, 15-24.

**Stengel A, Hofmann T, Goebel-Stengel M, Elbelt U, Kobelt P, Klapp BF**. Circulating levels of irisin in patients with anorexia nervosa and different stages of obesity correlation with body mass index. *Peptides* 2013, 39, 125–30.

**Swick AG, Orena S, O’Connor A.** Irisin levels correlate with energy expenditure in a subgroup of humans with energy expenditure greater than predicted by fat free mass. *Metabolism* 2013, 62, 1070–3.

**Tadhani M, Subhash R.** Preliminary studies on *Stevia rebaudiana* leaves: Proximal composition, mineral analysis and phytochemical screening*. Journal of Medical Sciences* 2006, 6, 321–326.

**Tadhani MB, Patel VH, Subhash R.** In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *Journal of Food Composition and Analysis* 2007, 20 (3), 323-329.

**Teufel A, Malik N, Mukhopadhyay M, Westphal H.** FRCP1 and FRCP2, two novel fibronectin type III repeat containing genes. *Gene* 2002, 297, 79–83.

**Tillil H, Shapiro ET, Miller A, Karrison T, Frank BH, Galloway JA, Rubenstein AH, Polonsky KS.** Dose dependent effects of oral and intravenous glucose on insulin secretion and clearance in normal humans. *American Journal of Physiology (Endocrinology and Metabolism)* 1988, 254, E349–E357.

**Timmons JA, Baar K, Davidsen PK, Atherton PJ.** Is irisin a human exercise gene? *Nature* 2012, 488, E9–10, discussion E-1.

**Tourrel C, Bailbe D, Meile MJ, Kergoat M, Portha B.** Glucagon like peptide-1 and exendin-4 stimulate beta cell neogenesis in streptozotocin treated newborn rats resulting in persistently improved glucose homeostasis at adult age. *Diabetes* 2001, 50, 1562–1570.

**Toyoda K, Matsui H, Shoda T, Uneyama C, Takada K, Takahashi M.** Assessment of the carcinogenicity of stevioside in F344 rats. *Food and Chemical Toxicology* 1997, 35 (6), 597-603.

**Turgut K, Ucar E, Tutuncu B, Ozyigit Y.** *Stevia rebaudiana* Bertoni could be an alternative crop in the Mediterranean region of Turkey. In: Geuns JMC, Ceunen S (eds), Stevia Growth in Knowledge and Taste, Proceedings of the 8th EUSTAS Stevia Symposium, 2015, Almanya, s 43-52.

**Turton MD, D O’Shea, Gunn I, Beak SA, Edwards CMB, Meeran K, Choi SJ, Taylor GM, Heath MM, Lambert PD, Wilding JPH, Smith DM, Ghatei MA, Herbert J, Bloom SR.** A role for glucagon like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature* 1996, 379, 69–72.

**Tyrberg B, Ustinov J, Otonkoski T, Andersson A.** Stimulated endocrine cell proliferation and differentiation in transplanted human pancreatic islets: effects of the ob gene and compensatory growth of the implantation organ. *Diabetes* 2001, 50, 301–307.

**van Marken Lichtenbelt WD, Vanhommerig JW, Smulders NM, Drossaerts JM, Kemerink GJ, Bouvy ND, Schrauwen P, Teule GJJ.** Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *The New England Journal of Medicine* 2009, 360, 1500–1508.

**Vaško L, Vašková J, Fejerčáková A, Mojžišová G, Poráčová J.** Comparison of some antioxidant properties of plant extracts from from *Origanum vulgare, Salvia officinalis, Eleutherococcus senticosus* and *Stevia rebaudiana*. *In Vitro Cellular Developmental and Biology Animal* 2014, 50, 614–622.

**Verdich C, Flint A, Gutzwiller JP, Naslund E, Beglinger C, Hellström PM, Long SJ, Morgan LM, Holst JJ, Astrup A.** A meta-analysis of the effects of glucagon-like peptide-1 (7–36) amide on ad libidum energy intake in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001, 86, 4382–4389.

**Vilsbøll T, Agersø H, Krarup T, Holst JJ**. Similar elimination rates of glucagon-like peptide-1 in obese type 2 diabetic patients and healthy subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003, 88, 220–224.

**Vilsbøll T, Krarup T, Deacon CF, Madsbad S, Holst JJ.** Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2001, 50, 609–613.

**Wang X, Cahill CM, Pineyro MA, Zhou J, Doyle ME, Egan JM.** Glucagon-like peptide-1 regulates the beta cell transcription factor, PDX-1, in insulinoma cells. *Endocrinology* 1999, 140, 4904–4907.

**Wang X, Zhou J, Doyle ME, Egan JM.** Glucagon like peptide-1 causes pancreatic duodenal homeobox-1 protein translocation from the cytoplasm to the nucleus of pancreatic beta cells by a cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A-dependent mechanism. *Endocrinology* 2001, 142, 1820–1827.

**Wang Z, Wang RM, Owji AA, Smith DM, Ghatei MA, Bloom SR.** Glucagon-like peptide-1 is a physiological incretinin rat. *Journal of Clinical Investigation* 1995, 95, 417–421.

**WEB\_1.** https://www.google.com.tr/maps/place/Brezilya/@-7.3628019,-103.1779226, 2.99z/data=!4m5!3m4!1s0x9c59c7ebcc28cf:0x295a1506f2293e63!8m2!3d-14.235004!4d-51.92528 (Erişim Tarihi: 06.06.2019)

**WEB \_2.** http://www.thehindu.com/news/cities/bangalore/stevia-the-leafy-green-sweetener/ article3352919.ece (Erişim Tarihi: 12.06.2019)

**WEB\_3.** https://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/ NoticeInventory/ucm519307.pdf (Erişim tarihi: 4.10.2018)

**WEB­\_4.**  https://www.doku.gen.tr/adipoz-doku.html (Erişim tarihi: 12/10/2018)

**WEB\_5.** http://www.medbio.info/horn/PDF%20files/Carbohydrate%20Metabolism%20 anuar% 202012.pdf (Erişim tarihi: 4.10.2018)

**WEB \_6.** http://www.mitosciences.com/microplate-sandwich-elisa-kits.html (Erişim tarihi 01.05.19)

**WEB \_7.** http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=30626. (Erişim tarihi 20.07.19)

**Wen MS, Wang CY, Lin SL, Hung KC.** Decrease in irisin in patients with chronic kidney disease. *PLoS ONE* 2013, 8, e64025.

**Wenz T, Rossi SG, Rotundo RL, Spiegelman BM, Moraes CT.** Increased muscle PGC-1α expression protects from sarcopenia and metabolic disease during aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America* 2009, 106, 20405–10.

**Wettergren A, Schjoldager B, Mortensen PE, Myhre J, Christiansen J, Holst JJ.** Truncated GLP-1 (proglucagon 78- 107-amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man. *Digestive Diseases of Sciences* 1993, 38, 665–673.

**Wettergren A, Wojdemann M, Meisner S, Stadil F, Holst JJ.** The inhibitory effect of glucagon like peptide-1 (GLP-1) 7–36 amide on gastric acid secretion in humans depends on an intact vagal innervation. *Gut* 1997, 40, 597–601.

**Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE.** The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in thepathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Investigation* 1999, 104, 787–794.

**Wheeler A, Boileau AC, Winkler PC, Compton JC, Prakash I, Jiang X, Mandarino DA.** Pharmacokinetics of rebaudioside A and stevioside after single oral doses in healthy men. *Food and Chemical Toxicology* 2008, 46, S54–S60.

**Whitehouse CR, Boullata J, McCauley LA.** The potential toxicity of artificial sweeteners. *Journal of the American Association of Occupational Health Nurses* 2008, 56, 251–259.

**Williams LD, Burdock GA.** Genotoxicity studies on a high-purity rebaudioside A preparation. *Food and Chemical Toxicology* 2009, 47 (8), 1831-1836.

**Willms B, Werner J, Holst JJ, Ørskov C, Creutzfeldt W, Nauck MA.** Gastric emptying, glucose responses, and insulin secretion after a liquid testmeal: effects of exogenous glucagon like peptide-1 (GLP-1)- (7–36) amide in type 2 (noninsulin dependent) diabetic patients. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996, 81, 327–332.

**Wingard RE, Brown JP, Enderlin F, Dale J, Hale R, Seitz CT.** Intestinal degradation and absorption of the glycosidic sweeteners stevioside and rebaudioside A. *Experientia* 1980, 36, 519-520.

**Wojdemann M, Wettergren A, Hartmann B, Hilsted L, Holst JJ.** Inhibition of sham feding stimulated human gastric acid secretion by glucagon-like peptide-2. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999, 84, 2513–2517.

**Wolf A.** A short history of beverages and how our body treats them. *Obesity reviews: an official journal of the International Association for the Study of Obesity* 2008, 9 (2), 151-164.

**Woods SC.** Central control of body weight and appetite. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2008, 93 (11), S37-50.

**World Health Organization (WHO).** Declaration of Alma Ata. International Conference on Primary Health Care, Alma-Ata, US.1978.

**Wölwer-Rieck U.** The leaves of Stevia rebaudiana (Bertoni), their constituents and the analyses thereof: a review. *Journal of agricultural and food chemistry* 2012, 60 (4), 886-895.

**Xiong XQ, Chen D, Sun HJ, Ding L, Wang JJ, Chen Q, Li Y-H, Zhou Y-B, Han Y, Zhang F, Gao XY, Kang YM, Zhu GQ.** FNDC5 overexpression and irisin ameliorate glucose/lipid metabolic derangements and enhance lipolysis in obesity. *Biochimica et Biophysica Acta* 2015, 1852 (9), 1867-75.

**Xu G, Stoffers DA, Habener JF, Bonner-Weir S.** Exendin-4 stimulates both beta-cell replication and neogenesis, resulting in increased b-cell mass and improved glucose tolerance in diabetic rats. *Diabetes* 1999, 48, 2270–2276.

**Yadav SK, Guleria P.** Steviol glycosides from Stevia: biosynthesis pathway review and their application in foods and medicine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2012, 52 (11), 988–998.

**Yücesan B, Büyükgöçmen R, Mohammed A, Sameeullah M, Altuğ C, Gürel S, Gürel E.** An efficient regeneration system and Steviol glycoside analysis of *Stevia rebaudiana* Bertoni, a source of natural high intensity sweetener. *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant* 2016a, 52, 330–337.

**Yücesan B, Mohammed A, Büyükgöcmen R¸ Altuğ C, Kavas Ö, Gürel S, Gürel E.** In vitro and ex vitro propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni with high Rebaudioside-A content-A commercial scale application. *Scientia Horticulturae* 2016b, 203, 20–28.

**Zander M, Madsbad S, Madsen JL, Holst JJ.** Effect of 6-week course of glucagon-like peptide 1 on glycaemic control, insülin sensitivity, and beta-cell function in type 2 diabetes: a paralel Group study. *Lancet* 2002, 359, 824–830.

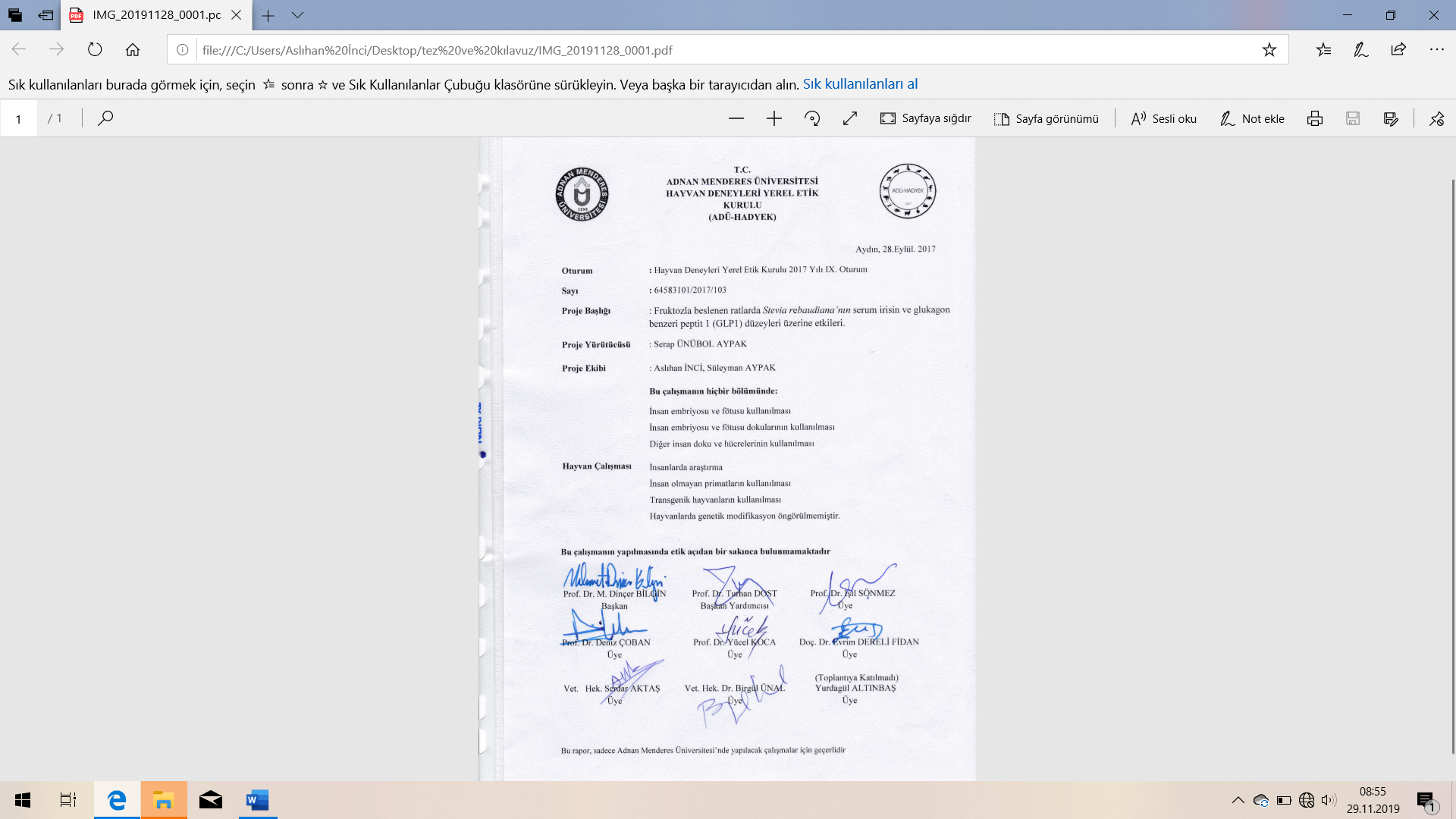
**Zhang C, McFarlane C, Lokireddy S, Masuda S, Ge X, Gluckman PD, Sharma M, Kambadur R.** Inhibition of myostatin protects against diet-induced obesity by enhancing fatty acid oxidation and promoting a brown adipose phenotype in mice. *Diabetologia* 2012, 55, 183–93.

**Zhang HJ, Zhang XF, Ma ZM, Pan LL, Chen Z, Han HW, Zhuang XJ, Lu Y, Li XJ, Yang SY, Li XY.** Irisin is inversely associated with intrahepatic triglyceride contents in obese adults. *Journal of Hepatology* 2013a, 59, 557–62.

**Zhang Y, Li R, Meng Y, Li S, Donelan W, Zhao Y, Qi L, Zhang M, Wang X, Cui T, Yang LJ, Tang D.** Irisin stimulates browning of white adipocytes through mitogen-activated protein kinase p38 MAP Kinase and ERK MAP kinase signaling. *Diabetes* 2013b, 63 (2), 514–25.

# EKLER

**Ek 1.** Etik Kurul Raporu,



# ÖZGEÇMİŞ

**Soyadı, Adı :** İNCİ, Aslıhan

**Uyruk :** T. C.

**Doğum yeri ve tarihi :** Bursa, 18. 02. 1983

**Telefon :** 0 505 525 20 32

**E-mail :** aslihansenyuz@yahoo.com

**Yabancı Dil :** İngilizce

**EĞİTİM**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Derece** | **Kurum** | **Mezuniyet tarihi** |
| Doktora | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi | Devam Ediyor |
| Y. Lisans | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi | 05. 01. 2015 |
| Lisans | Hacettepe Üniversitesi | 13. 06. 2005 |

**BURSLAR ve ÖDÜLLER:**

1. Doç. Dr. Serap ÜNÜBOL AYPAK’ın yürütücüsü olduğu, Kasım 2017- Mayıs 2019 tarihleri arasında gerçekleştirilen, 117S796 numaralı, “Diyetlerine Tatlandırıcı İlave Edilen Ratlarda Bazı Peptid ve Hormon Düzeylerinin Araştırılması” isimli TÜBİTAK projesinde 14 ay süre ile burs aldım.
2. 29 Ocak 2018- 02 Şubat 2018 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD tarafından TÜBİTAK desteği ile gerçekleştirilen “Laboratuvar Uygulamalarında Moleküler Tekniklerin Yeri ve Kullanım Kursu” na TÜBİTAK bursu alarak katıldım.

**İŞ DENEYİMİ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Yıl** | **Yer/Kurum** | **Ünvan** |
| 2001 | Yalova Devlet Hastanesi | Stajyer |
| 2003 | GATA Hastanesi | Stajyer |
| 2009 | Meram Tıp Fakültesi | TPN Ünitesi |
| 2010 | Konya Eğitim Araştırma Hastanesi | TPN Ünitesi |
| 2014/2015 | Aydın Reşha Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi | Biyoloji Öğretmeni |
| 2018/2019 | Adnan Menderes Üniversitesi Vet. Fak | Bursiyer |

**AKADEMİK YAYINLAR**

**1. MAKALELER**

1. **İnci A**,Ünübol Aypak S.İrisin ve Metabolik Etkileri. *Turkiye Klinikleri Journal of Endocrinology* 2016, 11(1), 15-21.
2. **İnci A**, Ünübol Aypak S, Güven G. Aydın İlinde Üretilen İnek Sütlerinde Bazı Ağır Metal Düzeylerinin Araştırılması. *GIDA* 2017, 42(3), 229-234.
3. Ünübol Aypak S ve **İnci A**. Başarısız Tedavinin Olası Sorumlusu: P Glikoproteinler. *Bozok Tıp Dergisi* 2017, 7(3), 81-88.
4. Ünübol Aypak S, **İnci A**,Bakirci S, Dereli Fidan E, Soysal M.Comparision of the antioxidant activıity and hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey taken from hives and markets. *GIDA* 2019, 44 (1), 86-92.

**2. PROJELER**

1. **Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi**
2. Coşkun A, Kandemir A, Ünübol Aypak S, İpek E, **İnci A**, Aktaş S, Tunca R. “Parasetamol intoksikasyonuna bağlı karaciğer hasarını önlemede arbutinin rolü” (Devam ediyor)
3. Ünübol Aypak S, Ünübol M, Coşkun A, **İnci A**, Aktaş S, İpek E, Ulutaş PA, TuncaR. “DSS ile deneysel kolit oluşturulan ratlarda D vitamini ve kefirin etkilerinin araştırılması”(Devam ediyor)
4. Ünübol Aypak S, **İnci A.** “Fruktoz ile beslenen ratlarda *Stevia rebaudiana*’nın irisin ve GLP-1 düzeyleri üzerine etkileri”(Devam ediyor)
5. **TÜBİTAK**
6. Ünübol Aypak S, Ünübol M, Tunca R, **İnci A.** “Diyetlerine tatlandırıcı ilave edilen ratlarda bazı peptid ve hormon düzeylerinin araştırılması” **2019.**
7. **ARAŞTIRMALAR**
8. Ünübol Aypak S, **İnci A**, Aktaş S, Tunca R.“İsoproterenol ile miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratlarda serum irisin ve H-FABP düzeylerinin araştırılması”
9. Ünübol M, Ünübol Aypak S, **İnci A.** “Fonksiyonel olmayan adrenal insidentolomalar ile yağ dokusundan sentezlenen irisin arasındaki ilişkinin araştırılması”
10. Keleş G, Ünübol Aypak S, Akgül Yıldız F, Turgut S, Yele HC, **İnci A**.“Gliserolün süt keçilerinde performans, biyokimyasal parametreler, rumen fermentasyonu, süt yağ asidi kompozisyonu ile dişi çebiç ve toklularda yem tercihi üzerine etkileri”
11. Ünübol Aypak S, **İnci A**.“Streptozosin ile diyabet oluşturulan ratlarda *Stevia r*e*baudiana*’nın irisin ve glukagon benzeri peptit 1 (GLP1) düzeyleri üzerine etkileri”
12. Ünübol Aypak S, Erdoğan H, Erel VK, Yılmaz EM, **İnci A**. “Deneysel olarak sepsis oluşturulmuş ratlarda etanercept uygulanmasının bazı sitokinler üzerine etkilerinin araştırılması”

**3. BİLDİRİLER**

**A) Uluslarası Kongrelerde Sunulan Bildiriler**

1. Ünübol Aypak S, **İnci A**, Bakırcı S, Fidan Dereli E, Soysal M.“Aydın İlinde Direkt Kovanlardan Alınan Ballar ile Marketlerde Satışa Sunulan Balların HMF Düzeylerinin Karşılaştırılması”, I. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi Sözlü Bildiri, 29 Haziran -1 Temmuz 2017. AYDIN
2. Ünübol Aypak S, **İnci A.** “Sentetik Tatlandırıcıların Metabolik Etkileri ve İnsülin Direnci ile İlişkisi”, I. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi Sözlü Bildiri, 29 Haziran- 1 Temmuz 2017. AYDIN
3. Ünübol Aypak S, Tunca R, **İnci A**, İpek E, Aktaş S, Dereli Fidan E. “The investigation of decreasing serum irisin levels in experimental myocardial infarction-induced rats”, I. Uluslararası Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi Sözlü Bildiri, 12-15 Nisan 2018. HATAY.
4. **İnci A**, Ünübol Aypak S. **“**Investigation Of The Effects Of *Stevıa Rebaudiana* On Some Biochemical Parameters In Rats With Metabolic Syndrome”, Akdeniz Veteriner Hekimliği Kongresi 7. REEV MED Kurulu Sözlü Bildiri, 13-14 Aralık 2018. KIRIKKALE.
5. Bayar İ, **İnci A**, Ünübol Aypak S, Bildik A. **“**Fatty acid compositions in the muscle tissues of two freshwater fish species from Büyük Menderes River (Aydın)”, Akdeniz Veteriner Hekimliği Kongresi 7. REEV MED Kurulu Sözlü Bildiri, 13-14 Aralık 2018. KIRIKKALE.

**B) Ulusal Kongrelerde Sunulan Bildiriler**

1. **İnci A,** Ünübol Aypak S, Güven G. “Aydın İlinde Üretilen İnek Sütlerinde Bazı Ağır Metal Düzeylerinin Araştırılması”, 7. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 28-30 Mayıs 2015, SAMSUN.