

Yüksek Yağlı Diyet ve Akrilamidin Sıçanlarda Doku Oksidan ve Antioksidan Seviyelerine Etkisi

Effects of High-Fat Diet and Acrylamide on Tissue Oxidant and Antioxidant Levels in Rats

¹Ümmüğülsüm Can, ²Fatma Hümeýra Yerlikaya, ³Yeşim Yener, ⁴Serkan Çakır

¹Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, Konya

²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Konya

³Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü, Gölköy-Bolu

⁴Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü, Gölköy-Bolu

Özet

Akrilamid (ACR) dünya çapında yaygın olarak tüketilen gıdalarda meydana gelen organik bir kimyasaldır. ACR reaktif oksijen moleküllerinin oluşumuna ve antioksidanların azalmasına yol açar. Bu çalışmanın amacı; karaciğer (KC), beyin ve böbrek dokusu total oksidan durum (TOS), antioksidan durum (TAS) ve KC ve beyin dokusu okside LDL (ox-LDL) düzeylerini uzun süre ACR + standart diyet ve ACR + yüksek yağlı diyet verilen sıçanlarda kontroller ile karşılaştırarak incelenmesidir. Toplam 48 adet 5-6 haftalık Wistar ırkı erkek sıçanlar iki diyet grubuna ayrılmış ve bir grup %20 yüksek yağ içerikli diyet ile diğer grup ise %2.7 standart yağ içerikli diyet ile beslenmiştir. Her iki diyet grubundaki hayvanlar 0, 2, 10 ve 20 mg/kg/gün dozlarındaki ACR ile içme suları vasıtasıyla 28 gün boyunca muamele edilmiştir. Çalışma sonunda doku örneklerinde TAS, TOS ve ox-LDL analiz edilmiştir. ACR dozu yükseldikçe KC ve beyin ox-LDL/protein ve TOS/protein düzeyleri arttı. Ancak, 8 grup arasında KC dokusunda ox-LDL/protein (p=0.087) ve TOS/protein(p=0.751) düzeylerinde anlamlı fark yoktu. Beyin dokusunda ox-LDL/protein (p=0.808) seviyesinde anlamlı fark yok iken TOS/protein (p<0.001) seviyesinde anlamlı fark vardı. Böbrek dokusunda 8 grup arasında TOS/protein (p=0.052) seviyesinde anlamlı fark bulunamadı. Her üç dokuda ACR dozu yükseldikçe TAS/protein (p< 0.001) anlamlı olarak azaldığı tespit edildi. Sonuç olarak, 2, 10 ve 20 mg/kg dozlarında ACR + standart diyet ve ACR + yüksek yağlı diyet verilen sıçanlarda doku TOS ve ox-LDL seviyelerinde artış ve doku TAS seviyelerinde anlamlı azalma olduğunu göstermiştir. ACR oksidatif strese yol açmaktadır.

Anahtar kelimeler: Akrilamid, total antioksidan durum, total oksidan durum, okside-LDL, oksidatif stres.

Abstract

Acrylamide (ACR) is an organic chemical which occurs in foods extensively consumed in diets worldwide. ACR promotes the generation of reactive oxygen species and the depletion of antioxidants. The aim of this study was to investigate liver, brain and kidney of tissue total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and liver and brain of tissue oxidized LDL (ox-LDL) levels in long term ACR + standard diet and ACR + high-fat diet given rats, compared to control rats. Forty-eight male Wistar rats (5-6 weeks of aged) were segregated into two diet groups and fed with a high-fat diet (crude fat 20%) or standard diet (crude fat 2.7%) respectively; and animals in each diet groups were exposed to acrylamide at the dose of 0, 2, 10 and 20 mg/kg bw/day via drinking water for 28 days. At the end of the experiment tissue samples were analyzed for TAS, TOS and ox-LDL. ox-LDL and TOS levels were increased as doses of acrylamide were elevated in liver and brain tissue, no significant difference was present at levels of ox-LDL/protein (p=0.087) and TOS/protein (p=0.751) in liver tissue among eight groups. While no significant difference was observed at levels of ox-LDL/protein in brain tissue (p=0.808) among eight groups, TOS/protein levels in brain tissue (p<0.001) became significantly increased. No significant difference was present at levels of TOS/protein (p=0.052) in renal tissue among eight groups. As doses of acrylamide were increased, TAS/protein levels in brain, liver and renal tissue became decreased, and a significant difference was present at TAS/protein levels among the groups (p<0.001). Our findings showed that long term treatment with 2, 10 and 20 mg/kg doses of ACR + standard diet and ACR + high-fat diet treatment led to a significant depletion of tissue TAS levels and over production of tissue TOS and ox-LDL levels, consequently, to an increase in oxidative stress.

Key words: Acrylamide, total antioxidant status, total oxidant status, oxidized-LDL, oxidative stress.

GİRİŞ

Son yıllarda beslenme alışkanlıkları anlamlı olarak değişmiştir ve çipsleri akrilamid (ACR; acrylamide) içeren yiyecekler popüler hale gelmiştir (1). ACR beyaz, kokusuz ve kristal solid yapıda olup kızarmış çerez, patates, ekme ve kahvaltılı tahılları gibi ısı ile muamele edilen karbonhidrattan zengin yiyeceklerde bulunur (2). ACR 120° C'nin üzerinde uzun süre ısıya maruz kalmış yiyeceklerde redükte şekerlerin

karbonil grubu ve serbest asparajinin amino grubu arasında Maillard reaksiyonu ile oluşur (1,2). ACR, sıçanlarda ve insanlarda okside olarak glisidamide dönüşür. Her iki bileşik de glutatyon ile konjuge olarak, glisidamid ayrıca hidroliz ile detoksifiye olur. ACR in sitotoksik özellikleri hücrel redoks durumunu etkileyerek reaktif oksijen moleküllerinin (ROS; reactive oxygen species) oluşumuna yol açar (2,3). Deneysel araştırmalarda ACR alımının oksidatif strese yol açarak hayvan ve

insanlarda nörotoksik, genotoksik ve karsinojen etkilere yol açtığı gösterilmiştir (2,3).

Fizyolojik durumlarda ROS üretiminin etkileri antioksidanlar ile sınırlandırılarak organlara zararlı etkileri önlenir (4). Oksidatif stres vücutta oksidan ve antioksidan dengenin bozulması nedeni ile hücrelerde ROS artışı ve antioksidan seviyede azalma sonucu oluşur (3). Oksidatif hasar lipid, protein, karbonhidrat ve DNA gibi hücrenin yapısal makromoleküllerinde görülür (3). Oksidatif stres nörodejeneratif bozukluklar, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet ve inflamasyonda aktif rol oynar (2,3). ROS süperoksit anyon radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH) ve peroksil (LOO.) radikallerinden oluşmaktadır (3).

Antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve katalaz enzimleri ve enzim olmayan moleküllerden (GSH, ürik asit, melatonin, vitamin A, C ve E)'den oluşmaktadır (4). Total oksidan durum (TOS; total oxidant status) değişik oksidanların (H_2O_2 , lipid hidroperoksit, protein hidroperoksit, peroksinitrit gibi reaktif oksijen ve nitrojen örnekleri) kümülatif oksidatif etkisi ile ilişkilidir. Tüm antioksidanların birlikte aktivitelerinin ölçümü hastaların total antioksidan durumunu (TAS; total antioxidant status) saptamada kullanılır. Farklı oksidan ve antioksidan moleküllerinin ayrı ayrı ölçümü pratik değildir, zaman alıcıdır ve iş yoğunluğuna yol açar (4,5).

Reaktif oksijen moleküllerine maruz kaldığı zaman düşük dansiteli lipoprotein (LDL) partikülleri okside olabilmektedir (6). Okside LDL (ox-LDL) reseptörü, lektin benzeri ox-LDL reseptörüne (LOX-1) bağlanarak O_2^- üretim artışı ve çeşitli inflamatuvar yolların başlamasına yol açan birçok sinyal kaskadlarını aktifler (7). Yüksek seviyede ox-LDL değişik doku ve hücrelerde patofizyolojik durumlara yol açar (8).

Bugüne kadar, değişik dozlarda ACR + standart diyet (ACR+sD) ve ACR + yüksek yağlı diyet (ACR+yD)'in sıçanların karaciğer (KC) ve beyin dokularında ox-LDL, TAS ve TOS ve böbrek TAS ve TOS seviyeleri birlikte henüz incelenmemiştir. Bu çalışmada, 2, 10, 20 mg/kg/gün dozlarında ACR+sD ve ACR+yD verilen sıçanlarda KC, böbrek ve beyin dokularında oksidatif strese etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Kimyasallar

Akrilamid (Cas 79-06-1) Sigma'dan (Aldrich Chemical Company) temin edildi. Koksuz beyaz kristal halde olan test maddesinin kimyasal saflık derecesi >%99'dur. Test maddesi haftalık olarak hazırlanmış ve oda sıcaklığında depolanmıştır.

Deney Hayvanları ve bakımları

Bu çalışmada, 5-6 haftalık 48 adet Wistar ırkı erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Sıçanlar 121°C'de otoklavlanabilen, polikarbonat malzemeden yapılmış kafeslerde barındırıldı. Kafes gövdesinin ebatları 425x266x175 mm olup taban alanı 800 cm²'dir ve her kafeste 5 hayvan olacak şekilde tutuldu. Hayvanlar kafeslere rastgele dağıtıldı ve yem ve su ad libitum olarak verildi. Deneyin uygulama süresi boyunca sıçanlar, 20±2°C sıcaklık, %50 bağıl neme sahip, sabah 7'den akşam 7'ye kadar olan 12 saat aydınlık –12 saat karanlık foto periyodlu ve saatte 15 kez havalandırılan laboratuvar koşullarında barındırıldı. Deney protokolü Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu (HAYEK) tarafından onaylanmış ve deneysel çalışmalar, deney hayvanları etik kurul yönergesine bağlı kalınarak yürütülmüştür.

Deney prosedürü

Çalışmada her grupta 6 adet sıçan olmak üzere toplam sekiz adet

Tablo 1. Hayvanlara uygulanan yemlerin kimyasal analizi

Parametre	Standart Yem	%20 Yağlı Yem
Protein	%20	%22
Selüloz	%6	%2.43
Kül	%5.2	%5.23
Yağ	%2.7	%20
Kalsiyum	%0.9	%1.1
Fosfor	%0.6	%0.58
Lisin	%0.95	%1.36
Metionin	%0.40	%0.45
Metionin + sistin	%0.66	%0.78
Sodyum	%0.14	%0.10
Metabolik Enerji	2600 kcal/kg	3185 kcal/kg

grup oluşturuldu. Bu gruplardan dördüne %20 yağ ve diğer dördüne de %2.7 yağ ihtiva eden standart yem verildi (Tablo 1). Her iki diyet grubundaki sıçanlar 0, 2, 10 veya 20 mg/kg/gün dozlarındaki akrilamid içme suları vasıtası ile 28 gün boyunca muamele edildi. 1. Grup %2.7 yağlı diet + 0 mg/kg/gün doz akrilamid, 2. Grup %2.7yağlı diet + 2 mg/kg/gün doz akrilamid, 3. Grup %2.7 yağlı diet + 10 mg/kg/gün doz akrilamid, 4. Grup %2.7 yağlı diet + 20 mg/kg/gün doz akrilamid, 5. Grup %20 yağlı diet + 0 mg/kg/gün doz akrilamid, 6. Grup %20 yağlı diet + 2 mg/kg/gün doz akrilamid, 7. Grup %20 yağlı diet + 10 mg/kg/gün doz akrilamid ve 8. Grup %20 yağlı diet + 20 mg/kg/gün doz akrilamid verildi. Son uygulamadan 24 saat sonra sıçanlar ketamin ve uygun bir sedatif ile anestezi altında iken servikal dislokasyon yöntemi ile öldürüldü. Karaciğer, böbrek ve beyinden alınan doku örnekleri sıvı azotta dondurularak analiz edilecek güne kadar -80°C'de muhafaza edildi. Karaciğer, böbrek ve beyin doku örnekleri, 1 mL soğuk fosfat tamponu (100 mM KH_2PO_4 - K_2HPO_4 , pH: 7.4) içinde homojenizatör (IKA T10 basic ultra-turrax) kullanılarak homojenize edildi. Homojenatlar 13000 x g ve +4°C'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra, elde edilen berrak süpernatantlarda ox-LDL, TAS, TOS ve total protein tayini yapıldı

Biyokimyasal analiz

TAS Ölçümü

TAS düzeyleri Architect C 8000 cihazı (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA) ile Rel Assay Diagnostic kiti kullanılarak ölçüldü. KC, beyin ve böbrek dokusunda TAS antioksidanlar ile daha stabil 2,2'-azino-bis (3-ethylbenz-tiazolin 6-sulfonik asit) (ABTS) radikal katyonun karakteristik renginin kaybolup renksizleşme temeline dayanan otomatize ölçüm metodu kullanılarak ölçüldü (9). Doku TAS seviyesi proteine karşı normalize edildi. Sonuçlar mMol Trolox ekival. / g olarak verildi.

TOS Ölçümü

TOS düzeyleri Architect C 8000 cihazı (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA) ile Rel Assay Diagnostic kiti kullanılarak ölçüldü. KC, beyin ve böbrek dokusunda TOS yeni otomatize ölçüm metodu kullanılarak ölçüldü (10). Doku numunelerinde bulunan oksidanlar the ferröz iyon-o-dianisidin kompleksini ferrik iyon okside eder. Oksidasyon reaksiyon ortamında bol bulunan gliserol molekülleri ile artırılır. Ferrik iyon asidik ortamda ksilenol ile renkli kompleks yapar. Rengin yoğunluğu numunelerdeki oksidan moleküllerin total miktarı ile orantılı spektrofotometrik olarak ölçüldü. Ölçüm hidrojen peroksit ile kalibre edildi ve doku TOS seviyesi proteine karşı normalize edildi. Sonuçlar mikromolar H_2O_2 ekival/ g(μ Mol H_2O_2 ekival./g) olarak verildi.

ox-LDL Ölçümü

KC ve beyin ox-LDL analizi Mercodia ox-LDL ELISA Kit (Mercodia

Tablo 2. Karaciğer dokusu Ox-LDL/protein, TOS/protein ve TAS/protein düzeyleri

Grup	ox-LDL (ng / g)	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ ekival. / g)	TAS (mmol Trolox ekival. / g)
1. Grup	535.49 \pm 296. 69	6.59 \pm 1.06	0.104 \pm 0.063
2. Grup	525.87 \pm 181. 63	7.24 \pm 2.59	0.103 \pm 0.081
3. Grup	845.10 \pm 479. 43	7.34 \pm 0.98	0.037 \pm 0.039
4. Grup	830.60 \pm 288. 35	7.74 \pm 1.83	0.018 \pm 0.018
5. Grup	423.14 \pm 221. 64	6.33 \pm 0. 89	0.138 \pm 0.118
6. Grup	668.94 \pm 267. 83	6.59 \pm 0.48	0.020 \pm 0.030
7. Grup	854.34 \pm 139. 33	6.74 \pm 2.15	0.005 \pm 0.001
8. Grup	1040.17 \pm 759. 87	6.93 \pm 0.69	0.005 \pm 0.002
p Value	p = 0.087	p = 0.751	p < 0.001

¹Veriler ortalama değerleri \pm standart sapma (SD) ile birlikte verildi.

²TOS: Total oksidan durum; TAS: Total antioksidan durum; ox-LDL: Okside -düşük dansiteli lipoprotein.

AB, Sylveniusgatan 8A, SE-754 50 Uppsala, Sweden) kiti kullanılarak ölçüldü. Absorbans okuyucu ELx800 Absorbance Microplate Reader (Biotek, Winooski, VT, USA) ile 450 nm'de ölçüldü. ox-LDL ölçümü kantitatif sandviç enzim immunoassay tekniği ile yapıldı ve doku ox-LDL seviyesi proteine karşı normalize edildi. Sonuçlar ng/g olarak rapor edildi. Protein Architect C 8000 cihazı (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA) ile kolorimetrik yöntem kullanılarak ölçüldü.

İstatistiksel analiz

Bulguların istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 16.0 paket programı ile yapıldı. Çalışma grupları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edildi. Anlamli bulunan gruplar arasında çoklu karşılaştırma (post-hoc) testlerinden Tukey's HSD (Tukey's honestly significant difference) testi kullanıldı. Veriler ortalama değerleri \pm standart sapma (SD) ile birlikte verildi. Testlerin tümünde p < 0.05 anlamli olarak kabul edildi.

BULGULAR

Tüm grupların KC, beyin dokusunda ox-LDL, TAS ve TOS ve böbrek dokusunda TAS ve TOS seviyeleri Tablo 2, 2 ve 4'de gösterilmiştir. KC dokusunda ACR dozu yükseldikçe ox-LDL ve TOS düzeyleri artmakta birlikte 8 grup arasında ox-LDL/protein (p=0.087) ve TOS/protein (p=0.751) düzeylerinde anlamli fark yoktu. ACR dozu yükseldikçe TAS/protein düzeyleri azalmakta ve gruplar arası TAS/protein (p<0.001) düzeylerinde anlamli fark vardı. TAS/protein düzeylerinde 5. ile 6. (p=0.018), 5. ile 7. (p=0.005) ve 5. ile 8. gruplar arasında (p=0.002), anlamli fark vardı. TAS/protein düzeyleri ACR + yD verilen hayvanlarda ACR dozu yükseldikçe yD verilmiş fakat akrilamid verilmemiş yağlı kontrol (5. grup) ile karşılaştırılınca anlamli olarak düşük bulundu.

Beyin dokusunda ACR dozu yükseldikçe ox-LDL düzeyleri artmakta

birlikte 8 grup arasında ox-LDL/protein (p=0.808) düzeylerinde anlamli fark yoktu. ACR dozu yükseldikçe TOS/protein (p<0.001) düzeyleri anlamli olarak arttığı ancak TAS/protein (p<0.001) düzeylerinin anlamli olarak azaldığı gözlemlendi. TOS/protein düzeylerinde 4. ile 1. grup (p=0.002), 4. ile 2. grup (p=0.001) ve 4. ile 3. grup (p=0.011) arasında anlamli fark vardı. TOS/protein düzeyleri, %2.7 yağlı diet + 20 mg/kg/gün doz akrilamid (4. grup) alan sıçanlarda grup 1., 2. ve 3. gruplara göre anlamli olarak yüksekti.

Böbrek dokusunda ACR dozu yükseldikçe TOS düzeyleri artmakta birlikte 8 grup arasında TOS/protein (p=0.052) düzeylerinde anlamli fark yoktu. ACR dozu yükseldikçe TAS/protein düzeyleri azalmakta ve gruplar arası TAS/protein (p<0.001) düzeylerinde anlamli fark vardı. TAS/protein düzeylerinde 4. ile 1. grup (p<0.001), 4. ile 2. grup (p<0.001) ve 4. ile 3. grup (p<0.001) arasında anlamli fark vardı. TAS/protein düzeyleri %2.7 yağlı diet + 20 mg/kg/gün doz akrilamid (4. grup) alan sıçanlarda grup 1., 2. ve 3. gruptan anlamli olarak yüksekti.

TARTIŞMA

Bu çalışmada farklı dozlarda ACR+sD ve ACR + yD'in sıçanlarda KC ve beyin ox-LDL ve TOS, böbrek TOS ve üç dokuda TAS değerlerini incendi. Doza bağlı olarak ACR sıçanlarda beyin ve KC dokularında ox-LDL ve TOS düzeyini ve böbrek dokusu TOS düzeyini artırmış, buna karşılık her üç dokuda da TAS düzeylerini azaltmış olarak bulundu. KC, böbrek ve beyin TAS düzeylerinde anlamli azalması ve beyin TOS düzeyinde anlamli artış ACR verilmesinin doz arttıkça oksidatif strese yol açtığı ve bu üç dokudan ilk etkilenen dokunun beyin olduğunu tespit edildi. Daha yüksek dozda ACR verilmesinin diğer iki dokuda da anlamli değişikliğe yol açacağını düşünmektedir.

Tablo 3. Beyin dokusu ox-LDL/protein, TOS/protein ve TAS/protein düzeyleri

Grup	ox-LDL (ng / g)	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ ekival. / g)	TAS (mmol Trolox ekival. / g)
1. Grup	500.66 \pm 421. 39	7.79 \pm 0.80	0.464 \pm 0.054
2. Grup	654.03 \pm 486. 03	8.01 \pm 1.12	0.443 \pm 0.029
3. Grup	876.88 \pm 444. 28	8.09 \pm 0.92	0.421 \pm 0.010
4. Grup	939.61 \pm 598. 46	11.26 \pm 1.10	0.395 \pm 0.025
5. Grup	536.25 \pm 333. 03	7.39 \pm 1.37	0.586 \pm 0.079
6. Grup	550.52 \pm 475. 72	7.90 \pm 0.69	0.556 \pm 0.033
7. Grup	573.76 \pm 406. 59	8.30 \pm 1.41	0.510 \pm 0.128
8. Grup	626.38 \pm 358. 57	8.80 \pm 1.42	0.497 \pm 0.059
p Value	p = 0.808	p < 0.001	p < 0.001

¹Veriler ortalama değerleri \pm standart sapma (SD) ile birlikte verildi.

²TOS: Total oksidan durum; TAS: Total antioksidan durum; ox-LDL: Okside -düşük dansiteli lipoprotein.

Tablo 4. Böbrek dokusu TOS/protein ve TAS/protein düzeyleri

Grup	TOS	TAS
	($\mu\text{Mol H}_2\text{O}_2$ ekival./g)	(mMol Trolox ekival. / g)
1. Grup	3.49 \pm 1.16	1.42 \pm 0.063
2. Grup	3.95 \pm 0.92	1.41 \pm 0.38
3. Grup	4.19 \pm 0.67	1.37 \pm 0.22
4. Grup	5.17 \pm 1.47	0.52 \pm 0.45
5. Grup	2.53 \pm 1.31	1.29 \pm 0.18
6. Grup	2.90 \pm 1.04	1.16 \pm 0.26
7. Grup	3.76 \pm 1.40	0.97 \pm 0.17
8. Grup	4.04 \pm 0.44	0.96 \pm 0.13
p Value	p = 0.052	p < 0.001

¹Veriler ortalama değerleri \pm standart sapma (SD) ile birlikte verildi.

²TOS: Total oksidan durum; TAS: Total antioksidan durum.

Akrilamid, tip 2 alkenler olarak bilinen geniş bir kimyasal sınıfın üyesidir (11) ve nükleofiller ile reaksiyon veren çift bağlar içeren doymamış amid bileşimidir. ACR tüm dokulara ve özellikle KC'ye alınarak GST/GSH sistemi ile konjuge olarak akrilamid-GSH kompleksini oluşturur. Kalan ACR sitokrom P450 enzim sistemi ile okside olarak glisidamide dönüşür (3). Deneysel çalışmalar ACR'in serbest oksijen radikallerin oluşumunu artırdığını ancak GSH ve GST aktivite seviyelerini azalttığını göstermektedir (3). Elektrofil olarak ACR biyolojik makromoleküllerde (enzim, DNA, protein gibi) elektrodan zengin (nükleofilik) kalıntılar ile kovalent bağlar yaparak sitotoksikite ve oksidatif strese yol açar (11). ACR'in primer hedefi proteinlerdir, DNA'ya daha zayıf bağlanır. Glisidamidin primer hedefi ise DNA'dır (12).

Oksidatif stres sonucu oluşan ROS üretimi aşırı arttığı zaman antioksidanlar ROS'un sitotoksik etkilerini ve oksidatif hasarı önleyemez (4). ROS ve lipid peroksidasyonu membran, proteinler ve DNA'yı etkileyerek hepatositlerde direkt hasara neden olur ve KC'de kronik inflamasyon ve apoptozis ile fibrozise neden olur (5). ACR, sinyal yollarını bozarak santral ve periferik sinir sinapslarında presinaptik nörotransmitterlerin salınımını azaltarak sinir iletimini azaltır (11,13). ACR'nin nörotoksik etkileri ataksi, iskelet kas zayıflığı, kognitif bozukluklar ve ekstremitte uyuşukluğudur. ACR'nin nörotoksitesite serebellar purkinje hücre ölümü ve periferik ve santral sinir sisteminde sinir ucu ve distal aksonlarda dejenerasyon ile ilgilidir (11).

Literatürde ACR uygulanmasından sonra farklı oksidatif stres markörleri ile yapılan çalışmalar bu çalışmanın bulgularını desteklemektedir. Yapılan bir çalışmada prenatal veya perinatal verilen ACR sıçanların serebellum gelişiminde tiobarbiturik asid reaktif maddeler (TBARS) artmış, total tiyoller, SOD, GSHPx aktivitesi azalmış olarak bulunmuştur (16).

Srivastava ve ark. yaptığı bir çalışmada 0, 25, 75 ve 100 mg/kg ACR verilen sıçanların KC'inde doza bağlı olarak lipid peroksidasyonunu artmış ve GSH seviyesini ve GST aktivitesi azalmış bulundu. Beyin dokusunda ise yalnızca GSH seviyesi azalmıştı (15). Yousef ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise 0.5, 5, 25, 50, 250 ve 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dozlarında ACR verilen sıçanlarda plazma, KC, testis beyin ve böbrekte TBARS ve oksidatif stres artmış bulundu (16). ACR uygulanan (40 mg/kg) sıçanların sinir dokusunda malondialdehid (MDA) seviyesi artmış ve GSH seviyesi azalmış olarak bulundu (p<0.05). ACR bağlı nörotoksitesitenin artmış lipid peroksidasyonu ve azalmış antioksidan kapasitesi ile ilişkili olduğu düşünüldü (17). Park ve ark. yaptığı bir çalışmada ise ACR verilen farelerde hücre içi ROS'u artmış ve hipokampus'da hücrelerin yeni oluşum sayısında anlamlı azalış bulundu. ACR'nin santral sinir sisteminde etkisi sinir progenitor hücre ölümü ve bozulmuş nörojenese

bağlandı (18). Altinoz ve ark. yaptığı çalışmada KC MDA seviyesi anlamlı olarak artmış ve GST aktivitesi ve GSH seviyesi azalmış olarak saptandı (3). 75-125 mg/kg dozlarında ACR alan fare KC hücrelerinde yüksek DNA hasarı saptandı (19).

Yüksek yağlı diyet alımı beyinde lipid peroksidasyonunu artırarak ROS üretimine yol açar. Bu toksik ürünler hücre stres, toksisite ve sinyal kaskadlarını hızla bozarak hücre enzimatik aktivite ve plazma membranlarında hasar oluşturur. Yüksek yağlı diyet alanlarda beyin nitrik oksid (NO) seviyesini azalmış, beyin MDA seviyesini artmış bulundu (20). ox-LDLreseptörü LOX-1'e bağlanarak endotel ve damar düz kas hücrelerinde birçok sinyal yollarını başlatır. Önceki çalışmalar oksidatif stres varlığı ile ilişkili inme hastalarının serebral iskemik lezyonları ve artmış ox-LDL seviyesi arasında anlamlı ilişki göstermişlerdir. İlaveten kültür serebral endotel hücrelerinde yüksek dozda ox-LDL kan-beyin bariyeri permeabilitesini artırır ve ödem oluşumuna yol açarak inme, şiddetli epilepsi ve felç gibi durumlar ile ilgili nörolojik semptomlara neden olur. ox-LDL nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) oksidazı aktifleyerek O₂⁻ üretimine yol açar ve serebrovasküler olaylarda önemli rol oynar. O₂⁻ ve peroksinitrit vasküler tonus ve miyojenik reaktiviteyi etkileyerek serebral kan akımı ve serebrovasküler rezistansının kontrolünde önemlidir (7). Son çalışmalar ox-LDL'nin strial nöronlara girerek hücre ölümüne yol açtığını göstermişlerdir (6). ox-LDL pro-inflamatuar, immunogenik ve sitotoksik etkiler ile aterosklerotik yağ hücre gelişiminde anahtar rol alır. KC ox-LDL'in diğer dokulara zararlı etkilerini önler, fakat ox-LDL'nin yüksek konsantrasyonlarda Kupfer hücre lizozomların içinde birikerek inflamatuvar cevabı başlatır ve birçok inflamatuvar mediatör ve sinyal moleküllerinin salınımına yol açarak KC'in fonksiyonlarını da bozar (21). Patates cipsi verilen bireylerde ox-LDL'yi (p<0.01) anlamlı olarak artmış ve monosit, lenfosit ve granülositler ile ROS üretimi (p<0.001) artmış bulunmuştur (1).

Uetake ve ark. yaptıkları çalışmada yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde kupfer ve sinüzoidal endotel hücrelerinde oksidatif stres artmış bulunmuştur (22). Yüksek yağlı diyetin böbrekfonksiyonlarını etkileyerek MDA seviyesini artırdığı saptandı (23).

Bu çalışmada, beyin ve KC dokusunda ACR+sD ve ACR+yD alan sıçanlarda doz arttıkça ox-LDL ve TOS düzeyi artmakta ve TAS düzeyi azalmaktadır. Beyin ox-LDL, TOS ve KC TOS düzeyi ACR+yD alanlarda ACR+sD alanlara göre daha az yükselmekte ve TAS düzeyi daha az düşmektedir. Böbrek dokusunda TOS düzeyi ACR+yD alanlarda ACR+sD alanlara göre daha az yükselmekte ve TAS düzeyi daha az düşmektedir.

Kızarmış patates gibi birçok yiyecek ile ACR ve yüksek yağ alımı genellikle birliktedir. Bu çalışmada KC, beyin ve böbrek dokusunda ACR

ve yüksek yağlı diyetin oksidatif stres üzerine etkisini incelendi. Zhang ve ark.'larının yaptıkları çalışmada ACR+sD alan farelerin testislerinde apoptotik hücre yüzdesi kontrollerden anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Buna karşın ACR+yD alan farelerde anlamlı fark bulunamamıştır. Bu sonuçlara göre apoptozun ACR yalnız alındığı zaman oluştuğu düşünülmüştür ve yüksek yağlı diyetin ACR toksisitesini önlediği ileri sürülmüştür. Sonuç olarak ACR'in fare testislerinde apoptoza yol açtığı ve yüksek yağlı diyetin bu etkiyi tersine çevirmiş olduğu ileri sürülmüştür (24).

Sonuç olarak bu çalışmanın bulguları göstermiştir ki doza bağlı olarak ACR sıçanlarda beyin ve KC dokularında ox-LDL ve TOS düzeyi artması, böbrek dokusu TOS düzeyi artması buna karşılık her üç dokuda da TAS düzeyleri azalması oksidatif stres varlığını göstermektedir. Yüksek yağlı diyetin ACR'in toksik etkisini azalttığı düşünülmüştür. Daha yüksek dozda ACR seviyeleri ile yüksek yağlı diyet çalışmalarına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Naruszewicz M, Zapolska-Downar D, Kośmider A, et al. Chronic intake of potato chips in humans increases the production of reactive oxygen radicals by leukocytes and increases plasma C-reactive protein: A pilot study. *Am J Clin Nutr* 2009;89(3):773-7.
2. Chen W, Feng L, Shen Y, et al. Myricitrin inhibits acrylamide-mediated cytotoxicity in human Caco-2 cells by preventing oxidative stress. *Biomed Res Int* 2013;2013:724183.
3. Altinoz E, Turkoz Y, Vardi N. The protective effect of N-acetylcysteine against acrylamide toxicity in liver and small and large intestine tissues. *Bratisl Lek Listy* 2015;116(4):252-8.
4. Akoglu G, Metin A, Kilinc F, et al. Total serum oxidant/antioxidant status and arylesterase activity in recurrent aphthous stomatitis. *Ann Dermatol* 2013;25(3):273-7.
5. Başkol M, Dolbun Seçkin K, Başkol G. Advanced oxidation protein products, total thiol levels and total oxidant/antioxidant status in patients with nash. *Turk J Gastroenterol* 2014;25 Suppl 1:32-7.
6. Chroeter H, Spencer JP, Rice-Evans C, et al. Flavonoids protect neurons from oxidized low-density-lipoprotein-induced apoptosis involving c-Jun N-terminal kinase (JNK), c-Jun and caspase-3. *Biochem J* 2001;358(Pt 3):547-57.
7. Schreurs MP, Cipolla MJ. Cerebro vascular dysfunction and blood-brain barrier permeability induced by oxidized LDL are prevented by apocynin and magnesium sulfate in female rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2014;63(1):33-9.
8. Lin YL, Chang HC, Chen TL, et al. Resveratrol protects against oxidized LDL-induced breakage of the blood-brain barrier by lessening disruption of tight junctions and apoptotic insults to mouse cerebrovascular endothelial cells. *J Nutr* 2010;140(12):2187-92.
9. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more sensitive ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004; 37: 277-85.
10. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38: 1103-11.
11. LoPachin RM, Gavin T. Molecular mechanism of acrylamide neurotoxicity: lessons learned from organic chemistry. *Environ Health Perspect* 2012;120(12):1650-7.
12. Carere A. Genotoxicity and carcinogenicity of acrylamide: a critical review. *Ann Ist Super Sanita* 2006;42(2):144-55.
13. LoPachin RM, Barber DS, Gavin T. Molecular mechanisms of the conjugated alpha, beta-unsaturated carbonyl derivatives: relevance to neurotoxicity and neurodegenerative diseases. *Toxicol Sci* 2008;104(2):235-49.
14. Allam A, El-Ghareeb AA, Abdul-Hamid M et al: Prenatal and perinatal acrylamide disrupts the development of cerebellum in rat: Biochemical and morphological studies. *Toxicol Ind Health* 2011;27 (4): 291-306.
15. Srivastava SP, Das M, Seth PK. Enhancement of lipid peroxidation in rat liver on acute exposure to styrene and acrylamide a consequence of glutathione depletion. *Chem Biol Interact* 1983;45(3):373-80.
16. Yousef MI, El-Demerdash FM. Acrylamide-induced oxidative stress and biochemical perturbations in rats. *Toxicology* 2006;219(1-3):133-41.
17. Zhu YJ, Zeng T, Zhu YB, et al. Effects of acrylamide on the nervous tissue antioxidant system and sciatic nerve electrophysiology in the rat. *Neurochem Res* 2008;33(11):2310-7.
18. Park HR, Kim MS, Kim SJ, et al. Acrylamide induces cell death in neural progenitor cells and impairs hippocampal neurogenesis. *Toxicol Lett* 2010;193(1):86-93.
19. Klaunig JE, Kamendulis LM: Mechanisms of acrylamide induced rodent carcinogenesis. *Adv Exp Med Biol* 2005;561:49-62.
20. Amin KA, Kamel HH, Abd Eltawab MA. The relation of high fat diet, metabolic disturbances and brain oxidative dysfunction: modulation by hydroxy citric acid. *Lipids Health Dis* 2011;10:74.
21. Bieghs V, Walenbergh SM, Hendrikx T, et al. Trapping of oxidized LDL in lysosomes of Kupffer cells is a trigger for hepatic inflammation. *Liver Int* 2013;33(7):1056-61.
22. Uetake Y, Ikeda H, Irie R, et al. High-salt in addition to high-fat diet may enhance inflammation and fibrosis in liver steatosis induced by oxidative stress and dyslipidemia in mice. *Lipids Health Dis* 2015;14:6.
23. Amin KA, Kamel HH, Abd Eltawab MA. Protective effect of Garcinia against renal oxidative stress and biomarkers induced by high fat and sucrose diet. *Lipids Health Dis* 2011;10:6.
24. Zhang X, Chen F, Huang Z. Apoptosis induced by acrylamide is suppressed in a 21.5% fat diet through caspase-3-independent pathway in mice testis. *Toxicol Mech Methods* 2009;19(3):219-24.