

T.C.
İSTANBUL SABAHATTİN ZAİM ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI
BESLENME VE DİYETETİK BİLİM DALI

FARKLI BİSKÜVİ ÇEŞİTLERİNDE İLERİ GLİKASYON
SON ÜRÜNLERİNİN ÖNCÜLLERİNİN HPLC İLE
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tuğba YILMAZ

İstanbul
Şubat-2021

T.C.
İSTANBUL SABAHATTİN ZAİM ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI
BESLENME VE DİYETETİK BİLİM DALI

FARKLI BİSKÜVİ ÇEŞİTLERİNDE İLERİ GLİKASYON
SON ÜRÜNLERİNİN ÖNCÜLLERİNİN HPLC İLE
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tuğba YILMAZ

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mustafa YAMAN

İstanbul
Şubat-2021

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu çalışma, jürimiz tarafından Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Beslenme ve Diyetetik Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman Doç. Dr. Mustafa YAMAN

Üye Dr. Öğr. Üyesi Jale ÇATAK

Üye Doç. Dr. Zafer CEYLAN

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

İmza

Prof. Dr. Ali Güneş
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Yüksek lisans tezi olarak hazırladığım "**Farklı Bisküvi Çeşitlerinde İleri Glikasyon Son Ürünlerinin Öncüllerinin HPLC ile Belirlenmesi**" adlı çalışmanın öneri aşamasından sonuçlandığı aşamaya kadar geçen süreçte bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle uyduğumu, tez içindeki tüm bilgileri bilimsel ahlak ve gelenek çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığımı, bu çalışmamda doğrudan veya dolaylı olarak yaptığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu beyan ederim.



İmza
Tuğba Yılmaz

ÖN SÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, bu çalışmada destek olan tez danışmanım Doç. Dr. Mustafa Yaman'a; yaşamımın her anında bana destek olan bugünlere gelmemde büyük emekleri bulunan annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tuğba Yılmaz
İstanbul- 2021

ÖZET
FARKLI BİSKÜVİ ÇEŞİTLERİNDE İLERİ GLİKASYON SON
ÜRÜNLERİNİN ÖNCÜLLERİNİN HPLC İLE
BELİRLENMESİ

Tuğba YILMAZ
Yüksek Lisans, Beslenme ve Diyetetik
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mustafa YAMAN
Şubat-2021, 61 Sayfa

Glikoz, fruktoz, sakkaroz türündeki şekerler, bisküvi ve kraker çeşitlerinde önemli bir besin bileşenidir. Bisküvi ve kraker çeşitlerinin içeriğini oluşturan bu bileşenlerin miktarlarını bilmek önemlidir. Bu çalışmada farklı bisküvi ve kraker çeşitleri üzerinde şeker türlerinin metilgliksal (MGO) oluşumuna etkisi araştırıldı. Bu tezin amacı, farklı bisküvi ve kraker çeşitlerinin içeriğinde bulunan fruktoz, glikoz ve sakkarozun ileri glikasyon son ürünleri öncüllerinin oluşumuna etkisini tespit etmek ve değerlendirmektir. Ürünlerde ki ileri glikasyon son ürünleri öncüllerinin miktarları yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak belirlendi. Bisküvi ile kraker çeşitlerinde analiz edilen glikoz, fruktoz, sakkaroz miktarları sırasıyla, 67-6400 mg/100 g; 8- 1923 mg/100 g; 335- 24995 mg/100 g arasında değişmekteydi. Bisküvi ve kraker çeşitlerinde HPLC yöntemiyle analiz edilen gliksal (GO) ve metilgliksal (MGO) değerleri ortalama olarak $1014 \pm 40 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ tespit edilmiştir. Farklı bisküvi ve kraker çeşitlerindeki şeker türlerinin AGE oluşumunu önemli ölçüde etkilediği düşünülmektedir. Glikoz ve fruktoz miktarı düşük olan ürünler tüketmek AGE alımını azaltmak için önemli bir yöntem olabilir. Glikoz ve fruktoz içeriği düşük olan bisküvi ve krakerler çeşitlerinin tüketilmesinin insan sağlığına daha az olumsuz etkisi olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bisküvi, Kraker, Fruktoz, Glikoz, Sakkaroz, AGE

ABSTRACT
DETERMINATION OF THE PRECURSORS OF ADVANCED
GLYCATION END PRODUCTS IN DIFFERENT BISCUIT
VARIETIES BY HPLC

Tuğba YILMAZ
Master, Nutrition and Dietetics
Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Mustafa YAMAN
February -2021,61 Pages

Glucose, fructose, sucrose type sugars are an important nutritional component in biscuit and cracker varieties. It is important to know the amounts of these ingredients that make up the content of biscuit and cracker varieties. In this study, the effect of sugar types on the formation of methylglyoxal (MGO) was investigated on different types of biscuits and crackers. The aim of this thesis is to determine and evaluate the effect of fructose, glucose and sucrose in the content of different types of biscuits and crackers on the formation of advanced glycation end product precursors. The amounts of advanced glycation end product precursors in the products were determined using high performance liquid chromatography (HPLC). The amounts of glucose, fructose and sucrose analyzed in biscuit and cracker varieties were 67- 6400 mg / 100 g, respectively; 8- 1923 mg / 100 g; It ranged from 335 to 24995 mg / 100 g. glyoxal (GO) and methylglyoxal (MGO) values analyzed by HPLC method in biscuit and cracker varieties were found to be $1014 \pm 40 \mu\text{g} / 100 \text{ g}$ on average. It is thought that sugar types in different types of biscuits and crackers significantly affect the formation of AGE. Consuming products low in glucose and fructose can be an important method to reduce AGE intake. It is thought that consuming biscuits and crackers with low glucose and fructose content will have less negative effects on human health.

Keywords: Biscuit, Cracker, Fructose, Glucose, Sucrose, AGE

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	i
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ	ii
ÖN SÖZ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	ixx
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
SEMBOLLER LİSTESİ	xiii
BİRİNCİ BÖLÜM	
GİRİŞ	1
İKİNCİ BÖLÜM	
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitus (DM)	3
2.1.1. Diyabetin Tanımı ve Tarihçesi.....	3
2.1.2. Diyabet Epidemiyolojisi	4
2.1.3. Diyabetin Komplikasyonları.....	5
2.1.4. Diyabet Tanı ve Kriterleri	5
2.2. İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGE).....	6
2.2.1. Karakteristik Özellikleri	7
2.2.2. AGE'lerin Oluşum Mekanizmaları ve Metabolizmaları.....	8
2.3. Fruktoz Glikasyonu ve AGE Oluşumu	12

2.4. Gelişmiş Glikasyon Son Ürünleri İçin Reseptörler (RAGE)	14
2.5. Diyabetik Komplikasyonların Gelişiminde AGE'lerin ve RAGE'nin Rolü	15
2.5.1. Diyabetik Retinopatide AGE'ler	15
2.5.2. Diyabetik Kataraktta AGE'ler	15
2.5.3. Diyabetik Nefropatide AGE'ler.....	16
2.5.4. Diyabetik Nöropatide AGE'ler.....	16
2.5.5. Diyabetik Kardiyomiyopatide AGE'ler.....	16
2.5.6. Parkinson Hastalığı (PD)	16
2.6. AGE Tespit Teknikleri ve Yöntemleri.....	17
2.6.1. HPLC Dedektörleri	18
2.6.2. Floresan Spektroskopisi	18
2.6.3. LC-MS/MS ve GS-MS	18
2.6.4. Immunoassay Analizi (ELISA).....	19

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE METOT	21
3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	21
3.1.1. Gerekli Cihaz ve Malzemeler	21
3.1.2. AGE (Glioksal, Metilglioksal) Tayini	23

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI	26
4.1. Farklı Bisküvi ve Kraker Çeşitlerinin Etiket İçerikleri.....	26
4.2. Farklı Bisküvi Çeşitlerinde Fruktoz, Glikoz, Sakkaroz Miktarları	26
4.3. Farklı Bisküvi ve Kraker Çeşitlerinde GO ve MGO Miktarları	26
4.4. Farklı Bisküvi ve Kraker Çeşitlerinde Glikoz MGO Bulguları	30
4.5. Farklı Bisküvi ve Kraker Çeşitlerinde Fruktoz MGO Bulguları.....	30
4.6. Farklı Bisküvi ve Kraker Çeşitlerinde Sakkaroz MGO Bulguları	31

BEŞİNCİ BÖLÜM

TARTIŞMA VE DEĞERLENDİRME 32

SONUÇ..... 35

KAYNAKÇA 36

ÖZGEÇMİŞ..... 46



TABLO LİSTESİ

Tablo 4.1: Bisküvi ve kraker çeşitlerinin etiket içerikleri (Ürünlerin içerik bilgileri g/100 g).....	27
Tablo 4.2. Bisküvi ve kraker çeşitlerinin fruktoz, glikoz, sakkaroz miktarları	28
Tablo 4.3: Bisküvi ve kraker çeşitlerinde GO ve MGO değerleri.....	29



ŞEKİLLER LİSTESİ

İKİNCİ BÖLÜM

Şekil 2.2.1.1: Çapraz bağ oluşturan fluoresans AGE'ler (Crossline ve Pentozidin)	7
Şekil 2.2.1.2: Çapraz bağ oluşturan non-fluoresans AGE'ler (AFGP ve ALG (imidazon ve 3-deoksiglukozon-arjinin-imidazon)	8
Şekil 2.2.1.3: Çapraz bağ yapmayan non-fluoresans AGE'ler [Ne -karboksimetillizin (CML) ve Pirralin]	8
Şekil 2.2.1: AGE oluşumunda yer alan temel basamaklar	9
Şekil 2.2.2.1: Glikoksidasyonla AGE oluşumu	11
Şekil 2.3.1: Polyol yolu	13

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

Şekil 3.1.1.1: HPLC Sistemi	22
Şekil 3.1.1.2: Gliksal (GO) ve Metilgliksal (MGO) standart HPLC kromatogramı	23
Şekil 3.2.1.3: Gliksal (GO) ve Metilgliksal (MGO) örnek HPLC kromatogramı	23

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

Şekil 4.4.1: Bisküvi ve kraker çeşitlerinde glikoz ile MGO değerleri	30
Şekil 4.5.1 : Bisküvi ve kraker çeşitlerinde fruktoz ile MGO değerleri	31
Şekil 4.6.1 : Bisküvi ve kraker çeşitlerinde sakkaroz ile MGO değerleri	31

KISALTMALAR LİSTESİ

IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu

AGE: İleri Glikasyon Son Ürünleri

CML: Karboksimetillizin

RAGE: İleri Glikasyon Son Ürünleri Reseptörleri

sRAGE: Sekretuar RAGE

IGT: Bozulmuş Glukoz Toleransı

TURDEP: Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans

ADA: Amerikan Diyabet Derneği

GDM: Gebelik Diabetes Mellitus

IFG: Bozulmuş Açlık Glukozu

DKA: Diyabetik Ketoasidoz

OGTT: Oral Glukoz Tolerans Testi

HPLC: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

MGO: Metilglioksal

CEL: N-ε-Karboksi-Etil-Lisin

AFGP : Alkil Formil Glikozil Pirol

ALĠ: Arjinin Lizin İmidazol

NF-κB : Nükleer Faktör-κB

NAD: Nikotinamid Adenin Dinükleotid

SDH: Sorbitol Dehidrojenaz

GAP: Anyon Açığı

DHAP: Dihidroksi Aseton Fosfat

GO: Glioksal

DM: Diabetes Mellitus

ADMA: Asimetrik Dimetilarginin

PD: Parkinson Hastalığı

DAD : Diyot Dizisi Detektörü

ELISA: Immunoassay Analizi

UV: Ultraviyole Spektroskopisi

LC: Sıvı Kromatografisi

GC: Gaz Kromatografisi

MS: Kütle Spektroskopisi

RSD: Bağlı Standart Sapma

SEMBOLLER LİSTESİ

%	:Yüzde
g	:Gram
kg	:Kilogram
mg	:Miligram
ml	:Mililitre
Rpm	:Revolutions Per Minute (Dakikadaki devir sayısı)
μg	:Mikrogram
μm	:Mikrometre

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

Diyabetin yaygınlığı Dünya çapında giderek artmakta ve buna bağlı komplikasyonlar, insan sağlığı açısından küresel bir sorun oluşturmaktadır (GBD Disease vd., 1990-2016). Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) verilerine göre, 18 ile 99 yaş arasındaki diyabetik hastaların tahmini toplam sayısı yaklaşık 425 milyondur. Yaşlanma, şehirleşme, diyet ve fiziksel aktivitedeki değişiklikler nedeniyle yetişkin diyabet hastalarının sayısının önümüzdeki on yılda artmaya devam etmesi düşünülmekte ve yetişkin diyabet hastalarının sayısının 2045 yılına kadar 693 milyona çıkması beklenmektedir. Diyabet, pankreasın insülin üretmediği, insülin üretiminin yetersiz olduğu veya hücrelerin insülini etkin bir şekilde kullanamadığı metabolik hastalık olarak tanımlanmıştır (NH Cho vd., 2018; 271, 274, 277 ,281).

Gelişmiş glikasyon son ürünleri için reseptör (RAGE); ilk olarak diyabet, iltihaplanma, oksidatif stres, yaşlanma ve iskemi gibi çeşitli ortamlarda biriken AGE'leri bağlama yeteneğiyle tanımlanmıştır. Hiperglisemi ve insülin direnci, vücuttaki çeşitli doku ve organları etkileyerek, özellikle diyabet başta olmak üzere birçok sistem ve organın kronik komplikasyonlarına neden olmaktadır. Diyabette kronik hiperglisemi, amino grubu içeren molekülleri non-enzimatik reaksiyon ile ileri glikasyon son ürünlerin (AGE) oluşumuna neden olmaktadır (Vlassara 2005; 452 , 454, 456, 460). Farklı dokularda AGE oluşumu ve birikimi diyabetin makro ve mikro komplikasyonlarını oluşturmaktadır (Beisswenger vd., 1995; 825; Yamagishi vd., 1997; 8725). Karboksimetillizin (CML), pentozidin ve pirralinin yapıları çeşitli AGE'ler belirlenmiştir. AGE'ler Maillard reaksiyonu sonucu oluşan, karmaşık heterojen yapılardır (Giardino vd., 1994; 113, 115 ve Nessar 2005; 8). AGE'ler hasar oluşturucu etkilerini doğrudan veya spesifik RAGE üzerinden göstermektedirler. RAGE, hücresel oksidatif stres ve enflamatuvar etkilerini, transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kappa-B (NF-kappaB) aktivasyonu ile göstermektedir (Miyazaki vd., 2002; 259, 260 ve Bierhaus vd., 2009; 2253, 2400). AGE bileşenlerinden olan CML ve pentozidin RAGE'nin yüksek eğilime sahip olan ligandlarıdır (Kislinger vd., 1999; 31740,31743). Hücre yüzeyindeki RAGE yapısında yer alan ekstrasellüler,

hidrofobik transmembran ve sitoplazmik kuyruk alanları yer almaktadır. Bu yapının dışında, kesik RAGE izoformları bulunmaktadır. İzoformlardan birisinin yapısında transmembran bölgedeki C-terminal kısım bulunmamaktadır. Bu RAGE, ekstrasellüler bölgeye sekrete olduktan sonra dolaşıma girmekte ve bu nedenle sekretuar RAGE (sRAGE) olarak isimlendirilmektedir (Bierhaus vd., 2009; 2257, 2430). sRAGE dolaşımdaki AGE'leri bağlayabildiği için, hücre yüzeyinde RAGE'lerin aktivasyonunu ve AGE'lerin neden olduğu hasarı önleyebilmektedir. Bir araştırmada sRAGE'nin diyabetin geç komplikasyonlarını RAGE delesyonundan daha etkin bir şekilde önleyebildiği gösterilmiştir (Bierhaus vd., 2005; 878,881,886). Önümüzdeki yıllarda diyabet tedavisinin, RAGE ve onun ligandları olan AGE'lerin uzun süreli blokajını amaçlayan terapötik stratejilerin geliştirilmesi ile mümkün olacağı düşünülmektedir.

İKİNCİ BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus (DM)

2.1.1. Diyabetin Tanımı ve Tarihçesi

Diyabet, pankreastan salgılanan kan şekerinin kullanımını düzenleyen insülin hormonunun tamamen veya kısmen yetersizliği veya eksikliğinden oluşan hiperglisemi ile karakterize karbonhidrat, lipit ve protein metabolizmasının bozulduğu bir hastalık olarak bilinmektedir. Diyabete bağlı kronik hiperglisemi; göz, böbrek, sinirler, kalp ve damarlarda uzun dönem tahribata neden olmaktadır. Bu tahribatlar sonucunda nöropati, nefropati, kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi çeşitli komplikasyonlar oluşmaktadır (Al-Abed vd., 2000; 39, 41, 43, 45.). Diyabet hastalığının tarihçesinin, eski Mısır'da Ebers papirüslerinde poliüri (çok idrara çıkma) olarak bildirilmiştir. M. S. II. yüzyılda Kapadokyalı Aretaeus, hastalığın kolların ve bacakların eriyerek kana geçmesine neden olduğu boşalma anlamına gelen " diabetes " kelimesini kullanmıştır. İbn-i Sina (980- 1037) ilk kez diyabetik gangreni tanımlayarak diyabetin sinirsel olabileceğini açıklamıştır. Paracellus (1493- 1541) diyabetli hastalara açlık kürleri uygulamış, daha sonraki yıllarda da diyabet hastalığı ve tedavisi üzerine araştırmalar yapılmaya devam etmiştir. Thomas Willis 1675'te hastaların idrar ve kanlarında tatlılığı tekrar keşfettiğinde (ilk antik Hintliler tarafından bulunmuştur) "mellitus" (tatlı) kelimesini eklemiştir. Dobson 1776'da ilk kez kan ve idrarın tadının tatlı olmasını kandaki ve idrardaki fazla şekerin bulunduğunu ispatlamıştır (Aldhahi vd., 2003; 293, 295, 297, 298.). Claude Bernard 1813- 1878 yılları arasında hastalarda şeker oluşumunun arttığını ve merkezi sinir sisteminde hasara neden olduğunu bulmuştur. Diyabet tedavisinde, insülin kullanmaya 1921'den itibaren başlanmıştır. İlerleyen yıllarda şeker ayarını düzenleyen ilaçlar bulunmuş ve daha sonraki yıllarda da ürünler geliştirilmeye başlanmıştır. Diyabet oluşumu ve komplikasyonları ilerlerken oluşturduğu yan etkileri üzerine araştırmalar devam etmektedir (American Diabetes Association. 2006; 44,45,48.).

2.1.2. Diyabet Epidemiyolojisi

Diyabet dünyada en yaygın kronik hastalıklardan biridir ve azalan fiziksel aktivite ve artan obeziteye ek olarak yaşam şekli değişiklikleri ile diyabetli birey sayısı her geçen gün artmaya devam etmektedir (American Diabetes Association. 2007; 20: 1183, 1200). Altıncı Diyabet Atlası'na göre 2013 yılında dünya genelinde 382 milyon yetişkinin %8,3 'ünün diyabetli olduğu bildirilmiştir. Bu sayının 2035 yılında 592 milyona çıkabileceği ön görülmektedir. Bu durum 10 kişiden 1'inin diyabet olacağı anlamına gelmektedir (NH Cho vd., 2018 :275, 279). Diyabetli bireylerin yaklaşık yarısı (186 milyon) 40-59 yaş aralığındadır. İlerleyen yıllarda da artışın devam edeceği düşünülmektedir. Bu yaş grubundaki kişilerin 2035'te 264 milyona çıkması ön görülmektedir. Ülkemizde 1998 ve 2010 yılları arasında gerçekleştirilen TURDEP-I ve TURDEP-II diyabet çalışması verilerine göre diyabetli birey sayısı %7,2 'den %13,7'ye yükselmiştir. Batı ve kuzey bölgelerindeki diyabetli birey sayısı, doğu ve güney bölgelerine göre daha yüksek bulunmuştur (Satman vd., 2002 ;1551,1553,1556). Türkiye Hastalık Yüklü Çalışması 2004 verilerine göre diyabet, ölüm nedenlerinin erkeklerde %1,61, kadınlarda ise %2,94'ünü oluşturmaktadır (Başara vd., 2007; 5). Ülkemizde 2013 yılında diyabetik hasta sayısı ortalama 7 milyona yükselmiştir (Satman vd., 2013; 170). Vakaların yaklaşık %55'ine diyabet tanısı koyulmuştur. Diyabet teşhisi bulunan kişilerin %91'i tedavi edilmektedir. Toplam diyabet hastalarının %11'inde komplikasyon görülmemektedir. Bu sonuçlar ülkemizde diyabetin önemli bir sağlık sorunu olduğunu ortaya koymuştur (Satman vd., 2012; 76,78,82).

Amerikan Diyabet Derneği (ADA) kriterlerine göre diabetes mellitusun sınıflandırılması;

Tip 1 diabetes mellitus: Otoimmün, idiyopatik

Tip 2 diabetes mellitus

Diğer spesifik diyabet tipleri: Gebelik diabetes mellitusu (GDM) Bozulmuş glukoz toleransı (IGT) Bozulmuş açlık glukozu (IFG)

Tip 1 Diabetes Mellitus: Pankreasda langerhans adacıklarındaki β hücre kaybından dolayı insülin eksikliği söz konusudur. Bu bireyler insüline bağımlı bir hayat sürmektedir. Diyabetik popülasyonun %5-10'unun Tip 1 Diabetes Mellitus olduğu bilinmektedir (American Diabetes Association. 2006; 45,47,48).

Tip 2 Diabetes Mellitus: İnsüline bağımlı olmayan diyabet olarak tanımlanır. Diabetes mellitus hastalığı olan bireylerin %90'ını oluşturmaktadır (American Diabetes Association. 2006; 44).

Diabetes mellitusun diğer spesifik tipleri: Spesifik bir bozukluktan dolayı hiperglisemisi olan bireylerde görülmektedir. β hücre fonksiyonunda genetik defektler, insülin etkisinde görülen genetik defektler, endokrin hastalıklar bazı genetik sendromlar bunlar arasında yer almaktadır (American Diabetes Association. 2006;44).

Gebelik Diabetes Mellitusu (GDM): Gebelik döneminde başlayan ya da ilk kez gebelikte belirlenen glukoz tolerans bozukluğu olarak tanımlanmaktadır. Daha önce diyabetli olduğu bilinen gebeler bu sınıfta kabul edilmemektedir (American Diabetes Association. 2006; 44).

2.1.3. Diyabetin Komplikasyonları

2.1.3.1. Akut Komplikasyonlar

1. Diyabetik Ketoasidoz (DKA)
2. Hipergisemik hiperosmolar nonketotik koma
3. Hipoglisemi

2.1.3.2. Kronik Komplikasyonlar

1. Mikrovasküler: Retinopati, nöropati, nefropati
2. Makrovasküler: Hipertansiyon, periferik vasküler hastalıklar, koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalıklar
3. Diğer komplikasyonlar: Gastrointestinal (gastroparezi, diyare), genitoüriner (seksüel disfonksiyon), enfeksiyonlar, dermatolojik komplikasyonlar, katarakt, glokom (American Diabetes Association. 2006;29:43-48. , Diabetes Care. 2002;25:5-14.)

2.1.4. Diyabet Tanı ve Kriterleri

Diyabet tanısı için:

- Klasik diyabet semptomları (polidipsi, poliüri, kilo kaybı) varlığı ve rastgele bakılan plazma glukoz konsantrasyonu ≥ 200 mg/dl olması veya
- Açlık plazma glukoz düzeyi ≥ 126 mg/dl olması veya

Oral glukoz tolerans testinde (OGTT) 2. saatte plazma glukoz konsantrasyonu ≥ 200 mg/dl olması.

Bozulmuş Açlık Glukozu (IFG): 110-125 mg/dl arasındadır. Glukoz toleransı azalmış ve açlık glukoz konsantrasyonu normale diyabetik arasında kabul edilmektedir. Diyabet ve kardiyovasküler hastalık riskini artıran bir durum olmaktadır.

Bozulmuş Glukoz Toleransı (IGT): 2 saat OGTT plazma glukozu 140-199 mg/dl arasındadır. Diyabet tanısı için açlık glukozu gerekenden daha düşük ancak oral glukoz tolerans testi (OGTT) plazma glukoz değerleri normal ile diyabetik arasında gözlenmektedir (American Diabetes Association. 2006;29:44,47. , Diabetes Care. 2002;25:5,7,11.).

2.2. İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGE)

İleri glikasyon son ürünleri ilk kez 1912 yılında Fransız kimyacı Louis Maillard tarafından tanımlanmıştır (Maillard, 1912; 66). Louis Maillard, şeker ve amino asit karışımlarının ısıtıldığında kahverengi bir bileşik oluşturduklarını izlemleyerek glukozun oksidasyonunu ortaya koymuştur. “Maillard reaksiyonu” adı verilen reaksiyon sonucu oluşan bileşikler ileri glikasyon son ürünleri (AGE) olarak tanımlanmaktadır (Ahmed, 2005: 2; Kalousova vd., 2004; 18,20).

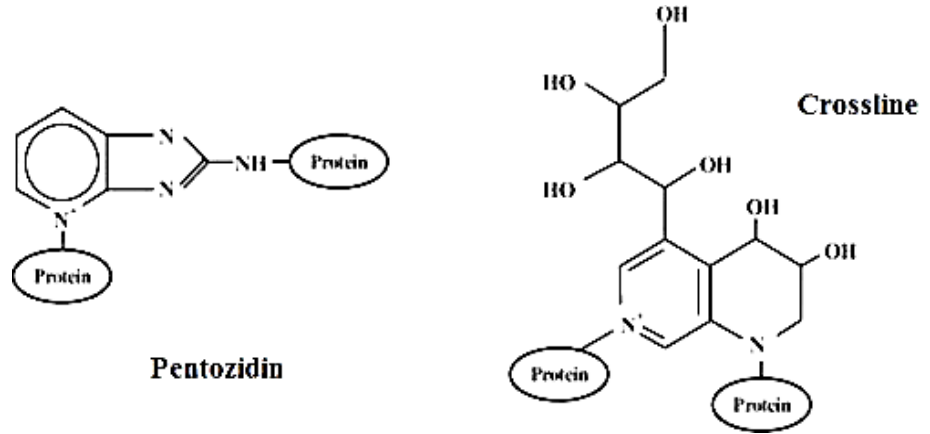
Bu reaksiyon üç ana aşamaya ayrılmıştır: erken, orta ve geç. Erken aşamada, glikoz (veya fruktoz, pentozlar, galaktoz, mannoz, ksilüloz gibi diğer indirgeyici şekerler), stabil olmayan bir bileşik oluşturmak için biyolojik aminlerin serbest bir amino grubu ile reaksiyona girmekte, daha stabil bir ürüne yeniden düzenlenmeye maruz kalan Schiff bazı amadori ürünü ortaya çıkmaktadır (Monnier vd., 1996; 20,22,24,26). Orta aşamada, amadori ürünü dehidrasyon, oksidasyon ve diğer kimyasal reaksiyonlar yoluyla glioksal (GO), metilglioksal (MGO) ve deoksiglukozlar gibi çeşitli reaktif dikarbonil bileşiklerine bozunur. Glikasyonun geç safhasında, oksidasyon, dehidrasyon ve siklizasyon reaksiyonları yoluyla geri döndürülemez bileşik olan AGE'ler oluşmaktadır (Monnier vd., 1996; 25,26).

2.2.1. Karakteristik Özellikleri

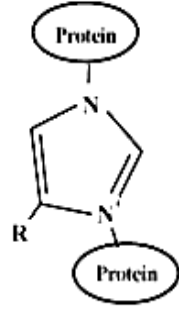
AGE'ler plazma ve dokularda proteinleri değiştirebilen kompleks heterojen moleküllerdir. Tüm AGE türleri belirlenmemiş ancak oluşum mekanizmaları tespit edilmiştir. Bundan dolayı çoğu model AGE'ler olarak belirlenmiştir (Ahmed , 2005; 2. ; Kalousova vd., 2004; 20 ; Rojas vd., 2004; 715,716). İnsan yapısında bulunan glukozun Maillard reaksiyonunun diğer şekerlere kıyasla daha az olması, Maillard reaksiyonunun yavaş olmasına sebep olmaktadır. Bu yavaş oluşumu değerlendirerek AGE'lerin yalnız kollajen ve lens proteinleri gibi ekstrasellüler proteinlerde biriktikleri düşünülse de günümüzde kısa ömürlü intrasellüler büyüme faktörlerinde de oluştukları kanıtlanmıştır (Jürgen vd., 2005; 645-648 ve Thomas vd., 2005; 562, 566,569).

En iyi bilinen AGE'ler;

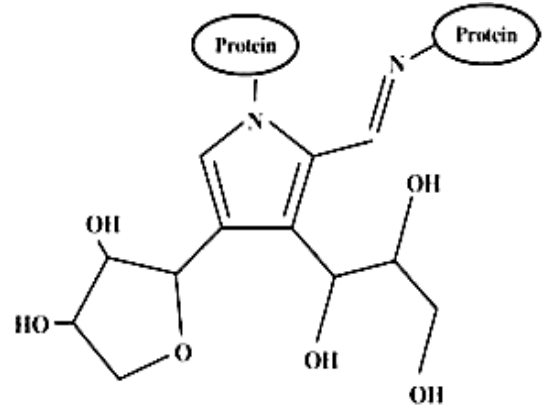
- 1- Çapraz bağ oluşturan fluoresans AGE'ler (Crossline ve Pentozidin gibi) (Şekil 2.2.1.1)
- 2- Çapraz bağ oluşturan non-fluoresans AGE'ler (AFGP ve ALG (imidazolon ve 3-deoksiglukozon-arjinin-imidazolon gibi) (Şekil 2.2.1.2)
- 3- Çapraz bağ yapmayan non-fluoresans AGE'ler (Nε -karboksimetillizin (CML) ve Pirralin gibi) (Şekil 2.2.1.3)



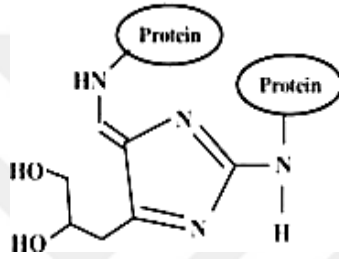
Şekil 2.2.1.1: Çapraz bağ oluşturan fluoresans AGE'ler (Crossline ve Pentozidin) (Jürgen vd., 2005)



İmidazolium dilizin

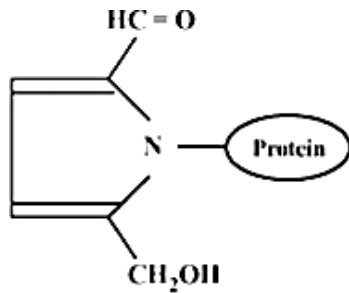


Alkil formil glikozil pirrol (AGFP)

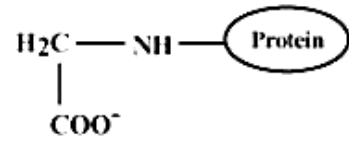


Arjinin-lizin imidazol (ALI)

Şekil 2.2.1.2: Çapraz bağ oluşturan non-fluoresans AGE'ler (AFGP ve ALİ (imidazolon ve 3-deoksiglukozon-arjinin-imidazolon) (Jürgen vd., 2005)



Pirallin



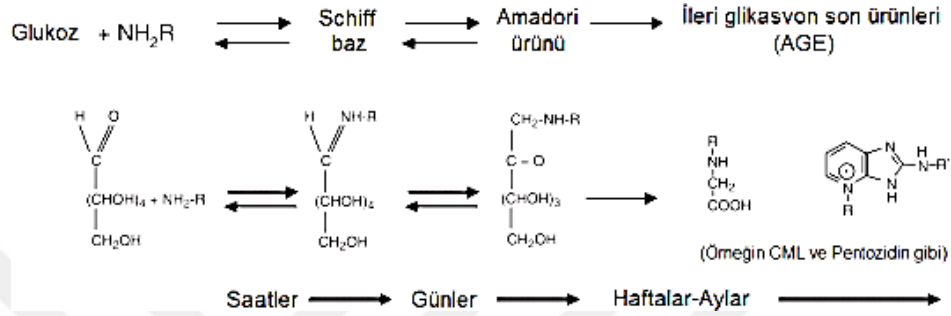
Karboksimetillizin (CML)

Şekil 2.2.1.3: Çapraz bağ yapmayan non-fluoresans AGE'ler (Nε - karboksimetillizin (CML) ve Pirralin) (Jürgen vd., 2005)

2.2.2. AGE'lerin Oluşum Mekanizmaları ve Metabolizmaları

AGE'ler, klasik Maillard reaksiyonu sonucunda oluştukları için 'Maillard ürünleri' olarak da adlandırılırlar. Oluşumları oksidatif ve karbonil stres durumlarında artar

(Rolo vd., 2006;167,168). Ayrıca besinler ekzojen AGE kaynakları olarak bilinmektedir. AGE'ler, aldehyd redüktazlar tarafından yok edilerek, makrofajlarla parçalanarak, boşaltım yoluyla vücuttan atılmakta ya da dokularda birikmektedirler. Karaciğer fonksiyonlarının değişimi durumunda olduğu gibi böbrek fonksiyonlarının azalması, AGE seviyelerinin artmasına neden olmaktadır (Kalousova vd., 2004;21. ; Lapolla vd., 2005; 242. ;Rellier vd., 1999;1573. ,Williams vd., 2004; 443).



Şekil 2.2.1: AGE oluşumunda yer alan temel basamaklar (Williams vd., 2004)

Organizmadaki AGE konsantrasyonunu belirleyen başlıca mekanizmalar şunlardır:

- Nonenzimatik glikasyon (Maillard reaksiyonu)
- Oksidatif stres
- Karbonil stres
- Besinler
- Resiklasyon

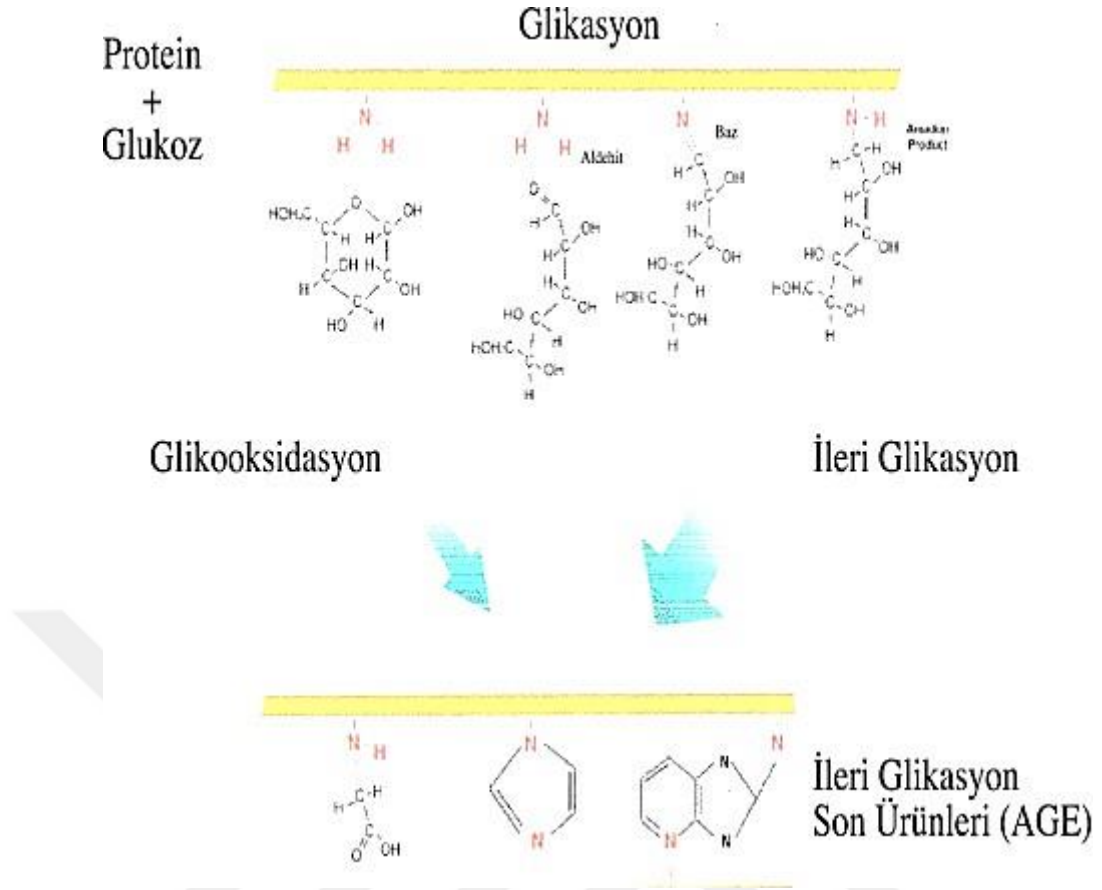
2.2.2.1. Nonenzimatik Glikasyon (Maillard Reaksiyonu)

AGE'ler, enzimatik olmayan Maillard reaksiyonu sonucu meydana gelmektedir. Reaksiyon, protein, lipid ve nükleik asitlerin serbest amino grupları ile redükleyici şekerlerin okso gruplarında kovalent bağlanma ile Schiff baz oluşturarak başlamaktadır. Bu reaksiyon saatler süren işlem sonucu oluşmaktadır. Dayanıksız Schiff baz oluştuğunda yeniden düzenlenerek daha kararlı Amadori ürününe dönüşmektedir. Amadori ürünlerinde en iyi bilinen, glikolize hemoglobin ve fruktozaminidir. Diyabetik hastalarda hemoglobin ve fruktozamin dolaşımında bulunan glikolize proteinlerin dominant şeklidir (Kalousova vd., 2004;22. ; Jürgen vd., 2005;

647. ; Lapolla vd., 2005; 243.; Williams 2004;442.; Khalifah vd., 2005; 798). En son aşama, haftalar ya da aylar süren glukoz derişiminden bağımsız gerçekleşmekte ve kondensasyon, dehidratasyon, fragmentasyon ve halkalaşma reaksiyonları ile AGE seviyeleri yükselmektedir (Kalousova vd.,2004;22. ve Rojas vd.,2004; 76: 717). Diabetes mellitusda büyük bir öneme sahip olan bu düzeneğe ‘Hodge yolu’ adı verilmiştir (Kalousova vd.,2004;23. ve Khalifah vd., 2005;799).

2.2.2.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, reaktif oksijen ve azot metabolitleri ya da serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengesizlik sonucunda serbest radikal düzeylerinin artması ile oluşmaktadır. Hiperglisemi ve üremide oksidatif stres yükselerek AGE oluşumunun artmasına neden olmaktadır (Kalousova vd., 2004;24. ve Hunjoo vd., 1999;148). AGE oluşumu, Amadori ürününün dışında glukozun otooksidasyonu ve reaktif karbonil bileşikleri de başlatabilmektedir (Wolff ve Namiki yolu) (Kalousova vd.,2004;24. ve Khalifah vd., 2005;1043:800). Wolff yolunda, reaksiyon amino gruplarıyla glukoz arasında değil, glukozun ya da glikozillenmiş proteinlerin otooksidasyonu sonucu oluşan küçük aldehidler arasında oluşmaktadır (Wolff vd., 1987;244). Schiff baz, Namiki yolunda GO ve MGO gibi aktif olmayan karbonil bileşiklere ayrılmaktadır. Bu bileşikler öncülleri olan indirgeyici şekerlerden daha yüksek reaktivite gösterip, proteinlerin amino grupları ile reaksiyona girerek AGE oluşumuna neden olmaktadır (Khalifah vd., 2005;800. ve Baynes , 2002;31). Yağ asitlerinin lipoksidasyonu ile aktif olmayan karbonil bileşikleri de AGE oluşumuna yol açar (Şekil 2.2.2.2.1). Glikasyon ve oksidasyon oluşum olasılığından dolayı artan ürünler glikooksidasyon ürünleri olarak tanımlanmaktadır (Kalousova vd., 2004;24. ve Lapolla vd., 2005;243).



Şekil 2.2.2.2.1: Glikooksidasyonla AGE oluşumu (Kalousova vd., 2004)

2.2.2.3. Karbonil Stres

Son dönemlerde, üremi durumunda artış gösteren karbonil stres ön plana çıkmıştır. Karbonil stres, karbonil bileşiklerinin birikimi olarak tanımlanmıştır (Miyata, vd., 2000; 122). Karbonil gruplarının aşırı üretimi ya da detoksifikasyonun azalmasından dolayı bu birikim reaktif oluşmaktadır (Kalousova vd., 2004;25. ve Ahmed vd., 2007;236). Reaktif karbonil bileşikler, oksidatif ya da nonoksidatif olarak karbonhidrat, lipid ve amino asitlere türevlenebilirler. Enzimler aracılığıyla böbrekler tarafından vücuttan uzaklaştırılırlar. GO ve glikolaldehid, şeker otooksidasyonu ile oluşabilir. Nonoksidatif yol olarak Fruktoz-3-fosfat ve trioz fosfatların bozunması ile 3- deoksiglukozon ve MGO oluşmaktadır. Bazı amino asitler GO, MGO ve glikolaldehid oluşumunu sağlamaktadır (Kalousova vd., 2004;25. ve Hirohito vd., 2002; 154).

2.2.2.4. Besinler

Besinler AGE'lerin diğer bir kaynağıdır. AGE'ler için 'glikotoksin' tanımı buradan gelmektedir. AGE'lerin %10'luk kısmının dolaşıma katıldığı ve ortalama % 30'unun boşaltım sistemi ile vücuttan uzaklaştırıldığı kabul edilmektedir (Kalousova vd., 2004;25. ve Thornalley, 2005;1516). Araştırmacılar besinlerden oluşan AGE'lerin *in vitro* antioksidan özelliklere sahip olduğunu düşünmektedirler. Sindirim sistemde kullanılan AGE'lerin antioksidan aktivitelerinin dolaşıma katıldıktan sonra devam edip etmediği henüz netleşmemiştir (Kalousova vd., 2004;25. ;Uribarri vd., 2003;728.;Vlassara vd., 2002;1559).

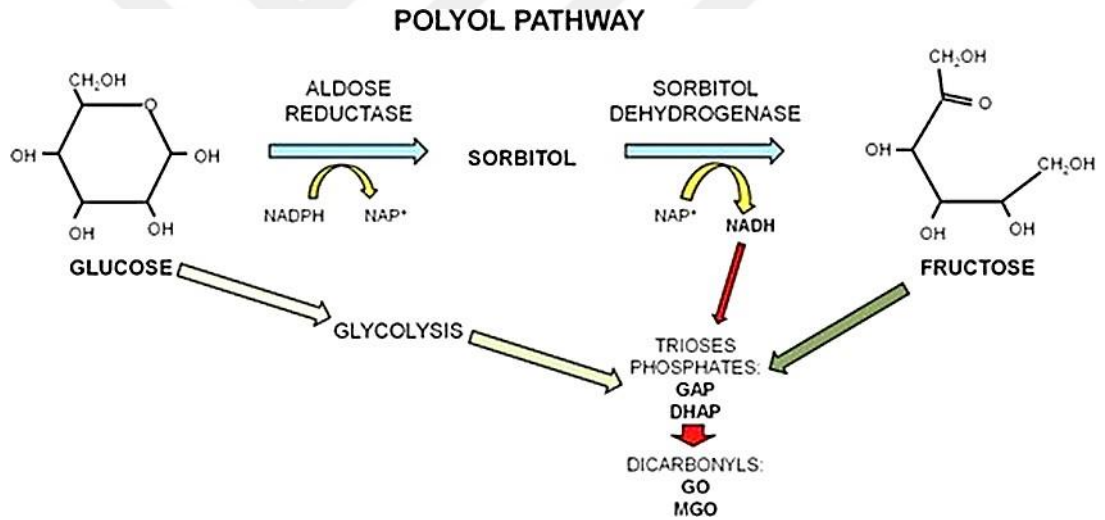
2.2.2.5. Resiklasyon

AGE'ler farklı hücrelerdeki spesifik reseptörler ile hücre içine alınır ve peptidlere parçalanmaktadır. Daha sonra dolaşıma katılarak ve böbrekler aracılığı ile vücuttan uzaklaştırılmaktadır (Vlassara, 1997;20). AGE'lerin renal fonksiyon bozukluğunda vücuttan atılımları azalmakta ve AGE peptidleri farklı proteinlerle reaksiyon oluşturarak 'ikinci nesil AGE' oluşumuna neden olmaktadır. Bu durum 'resiklasyon' olarak tanımlanmaktadır (Vlassara, 1997;20). Serbest AGE'lerin ve AGE peptidlerinin renal glomerülden süzülerek proksimal tübülde yeniden emildiği düşünülmektedir. AGE'ler bu durumda parçalanmakta ve idrar ile vücuttan atılmaktadır (Kalousova, vd., 2004;27).

2.3. Fruktoz Glikasyonu ve AGE Oluşumu

Gıda kimyagerleri tarafından onlarca yıldır iyi bilinmesine rağmen, fizyolojik sıcaklık ve basınçlarda fruktoz ile Maillard reaksiyonu sadece 1980'lerde incelenmeye başlanmıştır. İlk alışmalar, fruktozun proteinler üzerindeki potansiyel zararlı etkilerinin glikozunkinden çok daha güçlü olduğu gerçeğini ortaya koymaya yardımcı olmuştur. Doku kültürü koşullarının yanı sıra çok çeşitli *in vitro* model proteinler kullanılmıştır (Suárez vd., 1989; 780.; Oimomi vd., 1989; 3. ;Levi vd.,2003; 52.; Gugliucci, 1994;588). Çeşitli endojen bileşiklerin, bu glikasyonu inhibe ettiği gösterilmektedir (Jakas vd., 2008; 90. ve Hinton vd., 2006; 42). D-glikoz veya D-fruktoz ile bir proteinin N-terminal amino-asidi ve / veya ε-amino grupları arasındaki reaksiyon, Schiff bazı eklentilerini oluşturmaktadır. Glikoz söz

konusu olduğunda, Schiff bazı daha kararlı bir katkı sağlamak için Amadori yeniden düzenlemesine tabi tutulur. Fruktoz ile reaksiyon benzerdir, ancak reaksiyon Heyns yeniden düzenleme ürünü olarak adlandırılmakta (heksozun karbon 1 yerine karbon 2 ile) ve 2 ürünün oluşmasıyla sonuçlanmaktadır (Suárez vd., 1989; 780 , McPherson vd., 1988; 12). Bu erken glikasyon ürünleri, geri dönüşü olmayan çapraz bağlı floresan türevleri veya AGE'ler üretmek için daha fazla yeniden düzenleme, dehidrasyon ve yoğunlaşma reaksiyonlarına maruz kalmaktadır. CML, Amadori ürünlerinin bozulmasından kaynaklanır. CML, pentosidin, çapraz çizgiler ve glukosepan gibi çeşitli glikozdan türetilmiş AGE'ler karakterize edilmiştir. Glikoz ve fruktoz AGE'leri (*N*- karboksimetillizin, karboksietil-lisin ve pentosidin) arasında, aşağıda gösterildiği gibi örtüşme vardır. Fruktoza özgü AGE'ler iyi karakterize edilmemiştir.



Şekil 2.3.1: Polyol yolu (Kawasaki vd., 2002)

Fruktozun hücre içi glikasyon ajanı olarak katkısı ilk olarak polyol yolağının bir sonucu olarak öne sürülmüştür.

Vücutta en yüksek konsantrasyonda bulunan ana glikozlaştırıcı şeker glikozdur. Bununla birlikte fruktoz, glikozun aldoz redüktaz ve sorbitol dehidrojenazın ardışık etkisiyle fruktoza dönüştürüldüğü polyol yolu ile hiperglisemi koşullarında üretilebilmektedir. Sorbitol dehidrojenaz (SDH) ile sorbitol oksidasyonu, NADH verir ve GAP-dehidrojenaz aktivitesine kontrast oluşturabilen NADH / NAD⁺ oranında bir artışa neden olarak trioz fosfatların birikmesine yol

açmaktadır (Şekil 2.3.1). Aşırı glikozun fruktoza bu dönüşümü, diyabetik hastaların dokularında fruktoz seviyelerinde bir artışa neden olmaktadır (Kawasaki vd., 2002, 354). Yüksek fruktoz seviyelerini AGE üretimine bağlayan ikinci bir yön hem etkili glikasyon ajanları hem de dikarbonil bileşikleri olan GO ve MGO öncülleri olan GAP ve DHAP'nin hızlı oluşumunu ve birikimini uyandıran kendine özgü fruktoz metabolizması ile ilgilidir (Hamada vd., 1996, 540).

2.4. Gelişmiş Glikasyon Son Ürünleri İçin Reseptörler (RAGE)

AGE'lerin hücrel reseptörleri ile etkileşimi, diyabetik komplikasyonların patogeneğinde önemli bir role sahiptir (Han vd., 2013; 310). RAGE immünoglobülin çeşitlerinden olan proteindir. İlgili geninin altıncı kromozom üzerinde major histokompabilite kompleksi II ve III arasında yerleştiği saptanmıştır. Yapılan klonlama çalışmalarıyla üç boyutlu yapısı ve fonksiyonel özellikleri ortaya çıkarılmıştır (Rojas vd., 2004;718. ve Jürgen vd., 2005; 648). Ekstrasellüler alan bir N-terminal V-tipi bölge ve iki C tipi bölge (C ve C') olmak üzere üç immünoglobülin benzeri bölge içermektedir. Asıl ligand bağlayan bölge V bölgesidir. Ancak C ve C' bölgeleri doğrudan ligand bağlayamazlar da ligandlarıyla etkileşimleri sırasında V-bölgesinin stabilizasyonunda önemli rol oynarlar (Rojas vd., 2004; 718; Jürgen vd., 2005; 648; Schmidt vd., 2000;100). RAGE'nin bir tane transmembran boşluk bölgesi ve 43 adet amino asite sahip sitozolik kuyruk bölgesi bulunmaktadır. Sitozolik kuyruk, sinyal çeşitlerinden yoksundur ancak RAGE bağımlı hücrel durumlarda önemli rol alır. Kuyruk kısmı eksik RAGE'lerin, yabancı tip RAGE'ler olduğunda bile sinyal inhibisyonu ile oluştuğu izlenmiştir. Sitozolik kuyrukların ligand bağlanmasının toplanarak sitozolik sinyal kompleksleri ile birleşmesini sağlayan bir bölge oluşturdukları tespit edilmiştir (Jürgen vd., 2005; 648. ve Schmidt vd., 2000;100). RAGE'lerin doğal ekspresyonları periferel kan mononükleer hücreler, endotel hücreler, vasküler yumuşak kas hücreleri ve astrositler ve periferel sinirler gibi sinir dokuları ile akciğerler ve iskelet kas sisteminde bulunmuştur (Kislinger vd., 1999; 31740). AGE'ler sadece RAGE'lerin V bölgesine bağlanır ve reseptörler ile hücrel aktivasyonun inflamasyonuna neden olmaktadır (Schmidt vd.,1995; 1398. ve Hofmann vd.,1999; 890).

2.5. Diyabetik Komplikasyonların Gelişiminde AGE'lerin ve RAGE'nin Rolü

DM, insülin eksikliği ve/veya insülin direnci sebebiyle hiperglisemi ile karakterize bir endokrin hastalıdır. Diyabetik hastalar nefropati, retinopati, kararakt, nöropati ve kardiyomiyopati gibi uzun sürede ortaya çıkan komplikasyonlara yatkındır. Hücre içine glukoz alımının insülininden bağımsız olduğu sistemlerde (sinir sistemi, kalp, böbrekler ve küçük kan damarları) komplikasyonların geliştiği saptanmıştır. Bu hücrelerde hiperglisemi süresince, intrasellüler glukoz konsantrasyonu çok yüksektir. Sonuç olarak hiperglisemi protein glikasyonunu artırarak AGE oluşumuna ve dolayısıyla diyabet komplikasyonların gelişimine sebep olmaktadır (UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group.1998; 352: 837-853).

2.5.1. Diyabetik Retinopatide AGE'ler

Retinopati, diyabetin mikrovasküler komplikasyonudur ve kişilerde körlüğün önde gelen nedenidir. Kan damarlarının çoğalması, anjiyogenez, vasküler tıkanma, retinal kaynaklı perisit kaybı ile karakterizedir. Kapiller bazal membranın kalınlaşması ve gözün retinasını etkileyen enfarktü, kılcal damarlar, mikroanevrizmalar, kanamalar retinal kapiller geçirgenliği artırmaktadır (Grandhee, 1991;11649). RAGE blokajının potansiyel klinik uygulaması, RAGE'nin yukarı regülasyonu retinal Müller glia hücreleri tarafından proinflamatuvar yanıtla neden olduğu için diyabetik retinopatinin azalmış ilerlemesini içermektedir (Guerciolini, 1997; 15). AGE'ler, diyabetik retinopatinin ilerlemesinde önemli bir rol oynar. Ayrıca çeşitli retina hücrelerinin işlev bozukluğuna ve ölümüne neden olurlar (Guo vd., 2008; 1700).

2.5.2. Diyabetik Katarakta AGE'ler

AGE'ler lens saydamlığının kaybına neden olup, katarakt gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (Kislinger vd., 1999; 31741). Göz merceği proteininin glikasyonu, körlüğün önde gelen nedeni olan diyabetik kataraktan sorumlu mekanizmalardan biri olarak tespit edilmiştir (Krauss vd.,2000; 2284). Bazı raporlar, AGE'lerin lenste birikerek , görme bozukluğu ve katarakta neden olduğunu göstermiştir. Lenslerde AGE'ler yapısal proteinlerde geri dönüşü olmayan değişiklikleri indükler, bu da lens proteini agregasyonuna ve ışığı yayan ve görüşü engelleyen yüksek moleküler ağırlıklı agregaların oluşumuna neden olmaktadır (Hori vd., 1995; 25752).

2.5.3. Diyabetik Nefropatide AGE'ler

Diyabetik nefropati, proteinüri ve retinopati gibi diğer uç organ komplikasyonlarının eşlik ettiği glomerüler filtrasyon hızında progresif bir düşüş olarak ifade edilmektedir (Li vd., 2004; 1390). AGE-RAGE ekseninin diyabetik nefropatide önemli rol oynadığı tespit edilmiştir (Lu vd., 2004; 11767). Pravastatinin, RAGE ekspresyonunun baskılanması yoluyla AGE'lerin neden olduğu apoptozu ve asimetrik dimetilarginin (ADMA) oluşum tübüler hücrelerini inhibe ederek diyabetik nefropatide tübüler hasar üzerinde faydalı etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur (Lu vd., 2004; 11767).

2.5.4. Diyabetik Nöropatide AGE'ler

Diyabetik nöropati, hem otonomik hem de periferik sinirleri etkileyen bir komplikasyondur. Nöropatili diyabetik hastalar, asemptomatik tendon refleks kaybından şiddetli ağrılı nöropatiye kadar değişen çeşitli semptomlar ve fiziksel bulgular ortaya koyar (Nakamura vd., 1997; 227). Reaktif dikarboniller tarafından AGE'lerin oluşumunun, duyuşal nöron hasarının patogenezinde önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir (Nessar A. 2005; 14.). Fizyolojik konsantrasyondaki glikolaldehidin (AGE'lerin bir öncüsü), diyabetik nöropatinin patogenezine ve gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Nettleton vd., 2005; 430).

2.5.5. Diyabetik Kardiyomiyopatide AGE'ler

Diyabetik kardiyomiyopati, diyastolik disfonksiyona yol açan ve diyabette yüksek kalp yetmezliği insidansına sahip olan miyoselüler hipertrofi ve miyokardiyal fibroz ile ilişkilidir. Diyastolik disfonksiyon, tip 2 diyabetli hastaların %50-60'ında görülmektedir. Çoğunlukla mikroalbuminüri diyabetik hastalarda mevcuttur. Zamanla sistolik disfonksiyona doğru ilerler. Diyastolik disfonksiyon, HbA1c seviyeleri ile karakterizedir ve bunun en olası nedeni miyokarda AGE'lerin birikmesidir (Pugliese, 2001; 2473). Yapılan çalışmada, deneysel hayvan diyabet modellerinde aminoguanidinin kardiyak hipertrofi ve arteriyel sertleşmeyi önlemede etkili olduğu ve diyabetik kardiyomiyopatide AGE'lerin patojenik rolünü vurguladığı tespit edilmiştir (Rahbar vd., 1969; 700).

2.5.6. Parkinson Hastalığı (PD)

Diyabetik komplikasyonlara ek olarak, AGE'lerin yaşa bağlı nörodejenerasyona katkıda bulunduğu da bilinmektedir (Münch G, 2012; 1225). PD hastalarında Lewy

cisimciklerinin çevresinde glikasyon aracılı AGE oluşumu bildirilmiştir (Castellani vd.,1996; 198). Lewy cisimcikleri, PD hastalarında subkortikal nöronlardaki intrasitoplazmik inklüzyonların kümeleridir (Trojanowski vd., 1998; 832). Tesadüfi Lewy cisimciği hastalığı vakalarında, AGE'ler yeni oluşan Lewy cisimciklerinde görülür ve bu da AGE'lerin PD öncesi bireylerde Lewy cisimciği oluşumunu tetiklemede kritik bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Münch, 2012; 1221).

2.6. AGE Tespit Teknikleri ve Yöntemleri

Gıdalar karmaşık matrislerdir. Gıdalarda bulunan proteinler veya yağ türevlerinden farklı yollarla ve farklı bileşenlerle AGE oluşmaktadır. Dolayısıyla gıdalardaki diyetsel AGE'leri ölçmek için uygun analitik prosedürlere ihtiyaç vardır. Genel olarak, farklı türdeki AGE'lerin fiziksel özelliklerinin de farklı olduğu bilinmektedir. Bu sebeple, her farklı AGE için uygun bir ekstraksiyon yöntemine sahip olmanın zor olduğu bilinmektedir. AGE'ler, proteinler veya polipeptidlerle serbest durumda veya birleşik halde bulunmaktadır. Genel olarak, AGE'ler güçlü polariteye ve iyi derecede su çözünürlüğüne sahiptir. Bundan dolayı, serbest halli AGE'lerin tespit edilmesinde, su genellikle çözücü olarak kullanılmaktadır. Tespit işleminde, proteinler önce çöktürülür, yağlar süpernatanttan çıkarılır ve katı faz ekstraksiyonu sonrasında, numunelerdeki AGE'ler tespit edilmektedir. Genel olarak, diyetsel AGE'lerin tespit edilme yöntemleri aletli analizlere ve immünolojik (immunoassay özel protein belirleyici test) testlere ayrılmaktadır. Aletli analizler arasında, diyot dizisi detektörü (DAD), floresan detektörü (FLD) ve kütle spektrometrisi (MS) ve tandem kütle spektrometrisi de dahil olmak üzere çeşitli detektörlerle birleştirilen gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yer almaktadır. (MS / MS). İmmünoanaliz öncelikle enzime bağlı immünosorban (ELISA) analizidir (Wei vd., 2018.).

Diyetteki AGE'lerin kesin tespiti matrikse bağlıdır. Çalışma protokolleri farklı gıda türleri arasında farklılık gösterse de hassasiyet ve doğruluk, kullanılan tespit yöntemine bağlı olarak aynı tip matriste farklılıklar göstermektedir. Bunun sebebi hesaplama için kullanılan farklı nicelleştirme temelidir. ELISA protokolleri temel olarak spesifik AGE'lerin eşdeğerlerini ifade ederken, kromatografik yaklaşımlar konsantrasyonları vermektedir. Birinden diğerine dönüşüm zordur ve çoğu zaman kesin olmayan değerlerle ortaya konmaktadır. Sağlam ve güvenli bir yöntemin kurulmasının, diyabet gibi sağlıklı patolojik fenotiplere karşı beklenebilecek

fizyolojik konsantrasyonların, farklı gıda matrislerini karşılaştırmak için bir kilometre taşı olacağı kabul edilmektedir (Nowotny vd.,2018).

2.6.1. HPLC Dedektörleri

HPLC önemli bir kromatografik teknik olarak bilinmektedir. Yöntemde, sıvı bir mobil faz olarak kullanılmaktadır. Farklı polaritelere sahip tek bir çözücü veya farklı oranlarda karışık bir çözücü, yüksek basınçlı bir sistem kullanılarak sabit bir faza sahip bir sütuna pompalanmaktadır. Kolondaki bileşenler ayrılmakta ve daha sonra numunelerin analizini gerçekleştiren dedektörler tarafından test edilmektedir (Wei vd., 2018).

2.6.2. Floresan Spektroskopisi

Floresan spektroskopisi kullanan AGE'lerin ölçülmesinde, yüksek voltajlı civa lambası veya ksenon lamba tarafından yayılan UV ve mavi-mor ışık, filtreler yoluyla örnek hücrelerine ışınlanarak, numunelerde floresan maddelerin yayılmasına neden olmaktadır. Floresan yansıtıldıktan sonra, fotodetektör tarafından kabul edilmekte ve daha sonra grafik veya dijital biçimde görüntülenmektedir. Floresans spektroskopisinin kullanımı kolaydır ve yüksek hassasiyete sahiptir, ancak özgüllüğün olmaması sebebiyle, bu yöntem belirli bir AGE'den ziyade bir tür AGE'yi algılayabilir (Wei vd., 2018.).

2.6.3. LC-MS/MS ve GS-MS

LC-MS / MS (Sıvı kromatografisi – Kütle kromatografisi) yöntemi çoğunlukla CML ve CEL ölçümünde kullanılmaktadır. LC sistemi, numuneleri ayırmayı amaçlamaktadır ve sistemin amacı, ayrılmış örnekleri iyonize ve analiz etmektir. LC-MS / MS tekniği, UV veya floresandan daha hassastır ve türevlendirmeye ihtiyaç duymaz. MS / MS saptaması, seçilen bir ana iyonun spesifik bağ iyonlarına parçalandığı çoklu reaksiyonunun gözlemlenmesidir. İdeal olarak, kütle geçişi ve tutma süresi bir bileşiğe özgüdür, bu sebeple LC-MS / MS doğru miktar tayini için daha uygun görülmektedir (Poulsen vd., 2013; 25).

Nicel testler için, örnek ön işleme ve test sırasında matris etkisini ve kaybı hesaplamak için normal olarak standartlar eklenmelidir.

LC'de olduğu gibi sıvı yerine GC, mobil faz olarak gazı kullanılmaktadır. Numuneler gaz fazında hızlı bir şekilde transfer edildiğinden, numune bileşenleri hareketli faz ile sabit faz arasında anında dengelenebilmekte ve durağan faz olarak seçilebilen birçok madde vardır. Bu nedenle GC, ayırma ve analiz için yüksek verimliliğe sahiptir. Bununla birlikte, GC-MS'nin kullanımı, analizden önce gerekli bir adım olarak türetme gerektirir. GC-MS, süt ve et dahil olmak üzere farklı gıda örneklerinde CML miktarını belirlemek için kullanılabilir (Nowotny vd., 2018).

2.6.4. Immunoassay Analizi (ELISA)

Temel immunoassay analiz yöntemi, bir nesneyi tanımlamak için antikoları ve renk değişimini kullanan bir yöntem olan enzim bağlantılı immünosorbent analiz (ELISA) olarak adlandırılmaktadır. Antijenler bir katı yüzeye kaplanır, spesifik antikolar daha sonra yüzeyin üzerine uygulanmakta, böylece antijenlere bağlanabilir ve bu da enzimlerle iletişim kurmak için antikolarla yol göstermektedir. Son olarak, enzim substratını içeren nesne eklenmektedir. Sonraki reaksiyon, genellikle substratta bir renk değişikliği olmak üzere saptanabilir bir sinyal üretmektedir. Enzimlerin yüksek katalitik etkinliği nedeniyle, bağışıklık tepkisi sonuçları dolaylı olarak büyütülmekte, böylece yöntem yüksek bir duyarlılığa ulaşılmaktadır (Wei vd., 2018).

Genel olarak, HPLC ve GC-MS, yüksek hassasiyet ve kolay kullanım avantajına sahiptir, ancak GC-MS kullanıldığında, örneklerin türevlendirilmeleri gerekir ve bu durum türevlerin kararsızlığına sebep olmaktadır. Yüksek duyarlılık ve seçiciliğin kombinasyonu, AGE'lerin tespiti için uygun olan floresan spektroskopisini sağlarken, dezavantaj, çözücü üzerindeki katı gerekliliklerdir. Buna ek olarak, hassaslığı etkileyen bazı çevresel faktörler floresan kirliliğine kolayca neden olmaktadır (Gomez vd., 2018; 15).

LC-MS / MS için, yüksek hassasiyet ve kullanım kolaylığı nedeniyle popülerlik kazanır. Ama örnek ön işleme ve test sırasında numune kaybına neden olabilmektedir. LC-MS / MS ile karşılaştırıldığında, UPLC-MS / MS yöntemi seçicilik, geri kazanım, tekrarlanabilirlik açısından daha iyi bir performansla sahiptir ve analiz süresi döngüsü büyük ölçüde kısaltılmıştır. Ancak numune hazırlamadaki yüksek maliyet popülaritesini sınırlamaktadır. Öte yandan, ELISA, spesifik antikoların seçilmesini gerektirir ve sonuçların ifadesi, cihaz analiziyle doğrudan bir şekilde karşılaştırılmaz. Bu durum, ELISA yönteminin tek AGE'lere özgü olmamasına, tüm Maillard reaksiyon ürünlerinin hedeflenmesinden kaynaklanabilir.

Buna karşın tespit hızı nispeten hızlıdır, çok sayıda numunenin taranması için kullanılabilir (Uribarri vd., 2015; 465).

Çeşitli AGE'ler gıda ürünlerinde tanımlanmış ve ölçülmüştür. Bununla birlikte, günümüzde diyet AGE içeriğinin tahmin edilmesiyle ilgili hala kısıtlamalar bulunmaktadır. Çok sayıda gıdada farklı AGE'ler ile ilgili mevcut veriler sınırlıdır. Benzer gıda maddeleri beslenme profillerinde sıklıkla farklılık gösterir. Mevcut veri tabanındaki karşılaştırılabilirlik zorlaşmaktadır (Nowotny vd., 2018).



ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Haziran 2019' da İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi AR-GE laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında toplamda 25 farklı bisküvi ve krakerin şeker bileşenleri ve ileri glikasyon son ürünü öncülleri miktarı analiz edilmiştir. Bu çalışma da şeker analizleri HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Analizde kullanılan tüm bisküvi ve kraker çeşitleri İstanbul'da bulunan yerel marketlerden alınmıştır.

Çalışmada kullanılan malzemeler, kimyasallar ve metot aşağıda yer almaktadır.

3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Çalışmamızda glyoxal , methylgloxal , glikoz , fruktoz , sükroz , hidroklorik asit , asetonitril , sodyum hidroksit , 4-nitro-1,2-feniladamin , sodyum asetat , metanol , saf su , asetik asit kimyasalları kullanılmıştır.

3.1.1. Gerekli Cihaz ve Malzemeler

HPLC: UFLC-Shimadzu 20 AT

Analitik ters fazlı kolon: Agilent, Eclipse XCD-C18, 5 µm, 4,6x150 mm

Analitik terazi: Radwag – AS 220.R2 (0,0001 g hassasiyetle)

Manyetik karıştırıcı: IsolabLaborgeröteGmbH

Çalkalamalı su banyosu: Memmert

pH metre: HANNA HI/2211PH/ORP Meter

Ultrasonik su banyosu: Selectaultrasons H-D

Otoklav: SelectaPresoclave – II

Otomatik pipet (100/1000µl-5/50µl- 2/200µl: Axypet- autoclavable

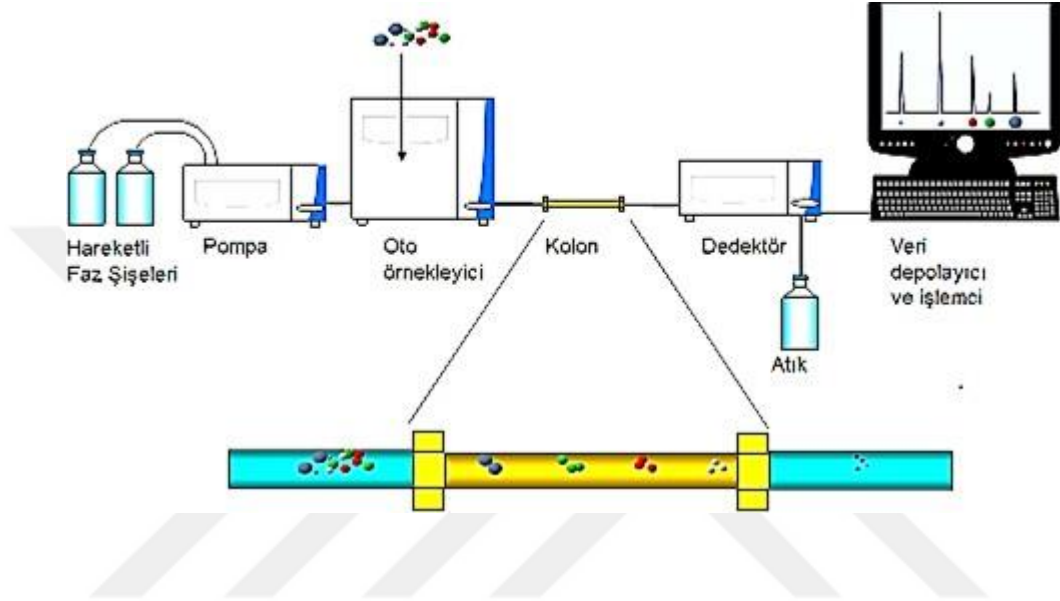
0, 22 µm CA filtre: Chromafil CA-45/25

Santrifüj: Hitachi CR22N

Su destilasyon cihazı: Direct-Q 3 UV ultrapure (type1)

HPLC koşulları

Mobil Faz: 1 L'lik balon jöjeye 11 g potasyum dihidrojen fosfat ve 0,5 g oktansülfonik asit sodyum tuzu monohidrat, 1,8 g orto-fosforik asit tartılarak hacim 940 ml'ye deiyonize suyla tamamlandı. Ultrasonik su banyosunda 20 dakika tutuldu, üzerine 60 ml asetonitril ilave edildi, manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve pH 2,85'e orto-fosforik asitle ayarlanarak 0,22 µm filtreden süzöldü.



Şekil 3.1.1.1: HPLC Sistemi (Wei vd., 2018)

Kolon Sonrası Türevlendirme Sistemi: 2. HPLC pompası, sodyum bisülfid, akış hızı 0,2 ml/dakika.

Kolon: Zorbax C-18 (4.6 mm × 150mm)

Mobil faz: Metanol/Su/Asetonitril (42/56/2) karışımında oluşur.

Dedektör: HPLC-UV

Dalga Boyu: 255 nm

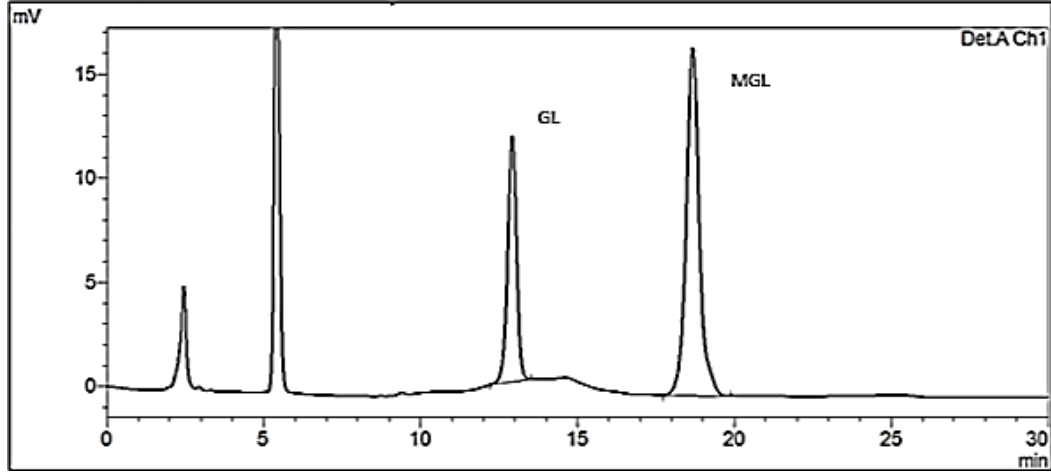
Enjeksiyon Hacmi: 10 µl

Akış Hızı: 1 ml/dakika

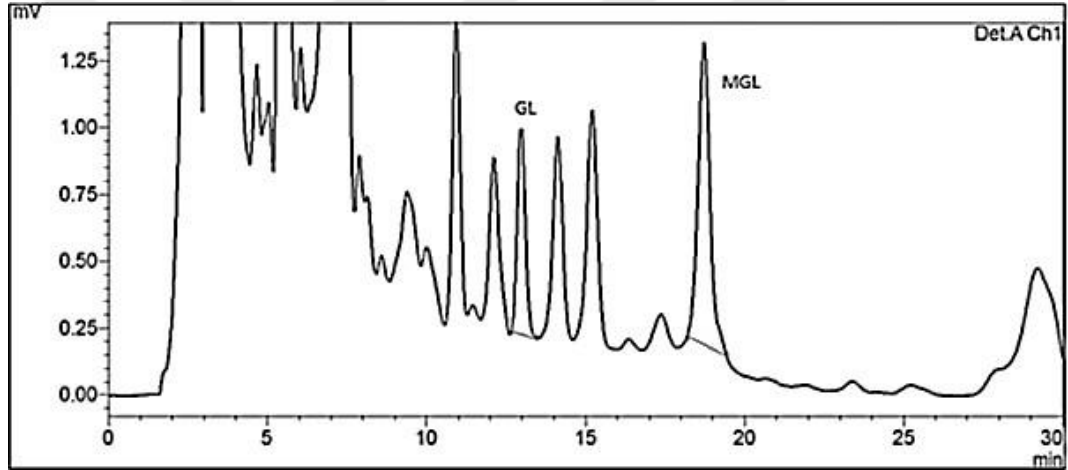
Kolon Sıcaklığı: 25°C

Analiz Süresi: 40 dakika

Örnek kromatogramlar aşağıda verilmiştir.



Şekil 3.1.1.2: Glioksal (GO) ve Metilglioksal (MGO) standart HPLC kromatogramı



Şekil 3.2.1.3: Glioksal (GO) ve Metilglioksal (MGO) örnek HPLC kromatogramı

3.1.2. AGE (Glioksal, Metilglioksal) Tayini

Hazırlanması ve Analiz

Sodyum Asetat Tampon (0,5 M): 41,01 g hassas terazi ile tartıldı. 1 L'lik balon jøjeye eklenerek hacim deiyonize suyla tamamlandı. Asetik Asit eklenerek pH metre ile pH'ı 3'e ayarlandı.

4 Nitro-1,2-Fenildiamin Çözeltisi: 50 mg 4-Nitro-1,2-Fenildiamin 100 ml metanol ile balon jøjede çözdürülür.

Hidroklorik Asit Çözeltisi (0,1 N): 1 L'lik balon joje içine 8,28 ml hidroklorik asit eklenir, deiyonize su ile hacimine tamamlandı.

Metanol: Su: Asetonitril (42/56/2) karışımı: 1000 ml'lik balon joje içine 420 ml metanol, 560 ml deiyonize su ve 20 ml asetonitril konuldu.

Bir reaktif olarak 4-nitro-1, 2-fenilendiamin çözeltisi 50 mg 4-nitro-1,2-fenildiamin 100 ml metanol ile balonjojede çözdürülür. HPLC ile glikol, glioksal, metilglioksal ve dimetil glioksal önkol türevlendirme, ayrılması ve tayini için analitik bir prosedür geliştirilmiştir. HPLC elüsyonu, Zorbex C-18 kolonundan yapıldı ve 255 nm'de fotodiyot array ile tespit edildi. İzokratik elüsyon ve ayırıştırma, 0,9 ml/ dk akış hızında metonal-su-asetonitril (42: 56: 2 h / h / h) ile elde edildi. Kalibrasyon eğrilerinin doğrusallığı, bileşiklerin her biri için 41-75 mg / ml içindeki tespit limiti (LOD) ile 0,2-1,0 mg / ml ile elde edildi. Metot, farklı bisküvi çeşitlerine (form, yulaf, kepek, tam buğday, bebe bisküvisi, petit pure, kraker) eş zamanlı olarak glioksal, metilglioksal ve dimetil glioksal tayini için kullanıldı. Sonuçlar %0,6- 2,5 içinde bağıl standart sapma (RSD) ile elde edildi.

Örneğin Hazırlanması

25 tane farklı içeriğe sahip bisküvi, kraker çeşitlerinden 5 g numune alınarak, blenderda 20-30 saniye arasında öğütüldü. Öğütülen örneklerden 5 g hassas terazi ile tartıldı ve 50 mililitrelik falkon tüplere alındı. Falkon tüplere 25 ml metanol ilave edildi. Ultra turrax kullanılarak homojen duruma getirildi. Örnekler 15000 rpm'de 5 dakika santrifirüj edildi. Süpernatandan 0,5 ml pipetle alınarak cam tüplere aktarıldı. Üzerlerine, hazırlanan sodyum asetat çözeltisinden 2 ml pipetle alınarak ilave edildi. Daha sonra 0,5 ml 4-nitro-1,2 fenildiamin çözeltisinden eklendi. Örnekler 70°C'de 20 dakika su banyosunda bekletildi. Su banyosundan sonra 0,45 mikronluk selüloz asetat filtreden geçirildi ve HPLC'ye verildi. Örnek hazırlamada oksidasyona neden olabilecek ortam koşullarından (yüksek sıcaklık, UV ışık vb.) sakınmak gerekir.

3.1.2.1. Şeker Tayini

25 tane farklı içeriğe sahip bisküvi, çubuk kraker blenderda 20-30 saniye arasında öğütüldü. Öğütülen örneklerden 5 g hassas terazi ile tartıldı. 5 g katı kıvamdaki

örnekler, 50 ml'lik falkon tüp içine alındı ve üzerine 50 ml saf su ilave edildi. Ultraturax'ta 1 dakika tutularak homojen hale getirilir. Numune 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. 0,45 mikronluk selüloz asetat filtreden geçirildi ve HPLC'ye verildi.



DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada 25 farklı bisküvi ve kraker çeşitleri değerlendirmeye alınmıştır.

4.1. Farklı Bisküvi ve Kraker Çeşitlerinin Etiket İçerikleri

Çalışmada kullanılan farklı bisküvi ve kraker çeşitlerinin etiket içerikleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

4.2. Farklı Bisküvi Çeşitlerinde Fruktoz, Glikoz, Sakkaroz Miktarları

Farklı Bisküvi ve kraker çeşitlerinde fruktoz, glikoz, sakkaroz miktarları sırası ile 1,92- 0,01 g/100 g, 6,38-0 g/100 g, 24,91- 0,33 g/ 100 g arasında değişmektedir. Çalışmada değerlendirmeye alınan bisküvi ve kraker çeşitleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

4.3. Farklı Bisküvi ve Kraker Çeşitlerinde GO ve MGO Miktarları

Analizi yapılan farklı bisküvi ve kraker çeşitlerindeki GO ve MGO miktarları sırası ile 76,7- 1,0 g/100 g ve 1010,6- 39,9 g/100 g arasında değerlere sahip olduğu bulunmuştur. Değerlendirmeye alınan bisküvi ve kraker çeşitleri Tablo 4.3’te gösterilmiştir.

Tablo 4.1: Bisküvi ve kraker çeşitlerinin etiket içerikleri (Ürünlerin içerik bilgileri g/100 g)

Ürün İsimleri	Yağ	Doymuş Yağ	Karbonhidrat	Şeker	Lif	Protein	Tuz
Form limonlu lifli bisküvi	12,5	6,7	77,2	10,0	5,1	6,4	0,2
Form karışık meyveli kepekli bisküvi	12,0	6,6	73,8	4,6	8,1	6,8	0,9
Form kırmızı meyveli kakaolu bisküvi	15,8	8,2	65,4	17,3	4,9	7,5	0,2
Form çörekotlu / kinoalı kraker	10,8	4,5	63,7	3,2	3,4	4,0	0,8
Form kepekli bisküvi (tam çavdarlı -ekşi mayalı)	9,8	4,6	56,0	6,5	11,0	16,0	1,8
Light bisküvi	9,6	4,4	64,0	0,7	11,5	8,7	0,6
Klasik bisküvi 1	19,1	9,3	62,0	18,2	5,0	7,4	1,3
Yulaflı bisküvi 1	21,3	10,0	59,9	18,5	4,5	6,8	1,2
Karamelli bisküvi	20,0	9,5	70,0	26,0	ND	5,3	0,6
Tam buğdaylı bisküvi	22,2	16,8	61,1	27,6	5,2	8,0	0,9
Tam buğday unlu bisküvi	16,9	9,2	65,8	21,8	5,0	6,2	0,9
Tam yulaflı bisküvi	19,0	10,6	62,6	20,4	5,7	9,8	0,7
Çok Tahıllı Çıtır Çubuk Kraker (Zeytinyağı/Kinoa/Ekşi Mayalı Yağ %50 Azaltılmış)	8,0	3,5	64,3	9,2	6,5	10,9	7,5
Haylayf	16,0	7,7	71,0	24,0	ND	7,5	0,8
Klasik Bisküvi 2	11,4	5,7	757,0	24,5	2,5	5,7	0,7
Klasik Bisküvi 3	14,2	7,0	72,6	20,8	2,4	5,6	0,7
Yulaflı Bisküvi 2	20,5	10,9	68,4	21,0	5,2	7,3	0,9
Kakaolu Bisküvi 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Kakaolu Bisküvi 2	15,8	8,4	73,5	22,8	4,0	6,7	0,7
İnce Kepekli Grisini	7,3	2,9	71,9	3,9	5,6	9,7	2,6
Çok Tahıllı Çıtır Kraker (Keten Tohumu- Haşhaş %40 Yağ Azaltılmış)	9,3	4,5	64,9	9,0	5,9	9,9	1,7
Çubuk Kraker	6,3	2,4	75,0	0,0	2,6	10,0	4,3
Bebe Bisküvisi 1	14,6	6,9	71,7	23,0	2,8	5,4	1,1
Bebe Bisküvisi 2	13,1	5,9	77,3	25,2	6,3	4,2	0,1
Bebe Bisküvisi 3	14,0	7,5	73,6	26,4	2,0	4,7	0,4

Tablo 4.2. Bisküvi ve kraker çeşitlerinin fruktoz, glikoz, sakkaroz miktarları

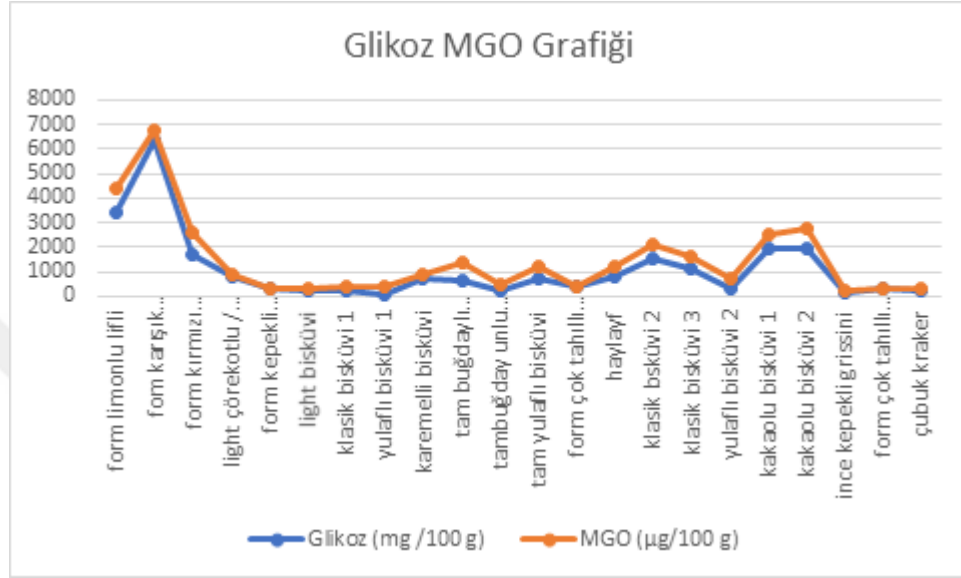
Ürün İsimleri	Fruktoz (g/100 g)	Glikoz (g/100 g)	Sükroz (g/100 g)
Form limonlu lifli bisküvi	0,49±0,02	3,38±0,15	8,70±0,39
Form karışık meyveli kepekli bisküvi	0,47±0,02	6,38±0,29	0,68±0,03
Form kırmızı meyveli kakaolu bisküvi	1,32±0,06	1,71±0,08	12,83±0,58
Form çörekotlu / kinoalı kraker	0,53±0,02	0,77±0,04	0,96±0,04
Form kepekli bisküvi (tam çavdarlı -ekşi mayalı)	0,60±0,03	0,27±0,01	2,18±0,10
Light bisküvi	0,44±0,02	0,26±0,01	0,00±0,00
Klasik bisküvi 1	0,44±0,02	0,21±0,01	17,15±0,78
Yulaflı bisküvi 1	0,33±0,02	0,07±0,00	18,91±0,86
Karamelli bisküvi	0,34±0,02	0,69±0,03	19,60±0,89
Tam buğdaylı bisküvi	0,66±0,03	0,66±0,03	18,84±0,85
Tam buğday unlu bisküvi	0,49±0,02	0,23±0,01	16,40±0,74
Tam yulaflı bisküvi	0,67±0,03	0,72±0,03	17,44±0,79
Çok Tahıllı Çıtır Çubuk Kraker (Zeytinyağı /Kinoa/Ekşi Mayalı Yağ %50 Azaltılmış)	0,28±0,01	0,35±0,02	1,44±0,07
Haylaf	0,92±0,04	0,79±0,04	20,79±0,94
Klasik Bisküvi 2	1,46±0,07	1,51±0,07	16,52±0,75
Klasik Bisküvi 3	1,12±0,05	1,16±0,05	18,68±0,85
Yulaflı Bisküvi 2	0,48±0,02	0,33±0,01	17,49±0,79
Kakaolu Bisküvi 1	1,81±0,08	1,94±0,09	14,90±0,67
Kakaolu Bisküvi 2	1,92±0,09	1,96±0,09	14,54±0,66
İnce Kepekli Grisini	0,08±0,00	0,14±0,01	3,93±0,18
Çok Tahıllı Çıtır Kraker (Keten Tohumu- Haşhaş %40 Yağ Azaltılmış)	0,19±0,01	0,26±0,01	1,39±0,06
Çubuk Kraker	0,08±0,00	0,20±0,01	0,33±0,02
Bebe Bisküvisi 1	0,07±0,00	0,00±0,00	22,99±1,04
Bebe Bisküvisi 2	0,01±0,00	0,00±0,00	18,18±0,82
Bebe Bisküvisi 3	0,04±0,00	0,00±0,00	24,91±1,13

Tablo 4.3: Bisküvi ve kraker çeşitlerinde GO ve MGO değerleri

	Ürün İsimleri	GO ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	MGO ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)
1	Form limonlu lifli bisküvi	33,9 \pm 1,5	1010,6 \pm 45,7
2	Form karışık meyveli kepekli bisküvi	34,9 \pm 1,6	348,8 \pm 15,8
3	Form kırmızı meyveli kakaolu bisküvi	57,8 \pm 2,6	902,0 \pm 40,8
4	Form çörekotlu / kinoalı kraker	4,0 \pm 0,2	102,7 \pm 4,6
5	Form kepekli bisküvi (tam çavdarlı -ekşi mayalı)	1,0 \pm 0,0	45,8 \pm 2,1
6	Light bisküvi	5,0 \pm 0,2	65,8 \pm 3,0
7	Klasik bisküvi 1	12,0 \pm 0,5	208,3 \pm 9,4
8	Yulafli bisküvi 1	15,9 \pm 0,7	278,1 \pm 12,6
9	Karamelli bisküvi	19,9,9	169,4 \pm 7,7
10	Tam buğdaylı bisküvi	76,7 \pm 3,5	684,7 \pm 31,0
11	Tam buğday unlu bisküvi	14,0 \pm 0,6	201,3 \pm 9,1
12	Tam yulafli bisküvi	38,9 \pm 1,8	452,5 \pm 20,5
13	Çok Tahıllı Çıtır Çubuk Kraker (Zeytinyağı/Kinoa/Ekşi Mayalı Yağ %50 Azaltılmış)	5,0 \pm 0,2	72,8 \pm 3,3
14	Haylayf	25,9 \pm 1,2	425,6 \pm 19,3
15	Klasik Bisküvi 2	24,9 \pm 1,1	563,1 \pm 25,5
16	Klasik Bisküvi 3	20,9 \pm 0,9	449,5 \pm 20,3
17	Yulafli Bisküvi 2	21,9 \pm 1,0	378,7 \pm 17,1
18	Kakaolu Bisküvi 1	29,9 \pm 1,4	544,2 \pm 24,6
19	Kakaolu Bisküvi 2	50,8 \pm 2,3	765,4 \pm 34,6
20	İnce Kepekli Grisini	11,0 \pm 0,5	60,8 \pm 2,8
21	Çok Tahıllı Çıtır Kraker (Keten Tohumu- Haşhaş %40 Yağ Azaltılmış)	9,0 \pm 0,4	70,8 \pm 3,2
22	Çubuk Kraker	30,9 \pm 1,4	97,7 \pm 4,4
23	Bebe Bisküvisi 1	29,9 \pm 1,4	230,2 \pm 10,4
24	Bebe Bisküvisi 2	11,0 \pm 0,5	69,8 \pm 3,2
25	Bebe Bisküvisi 3	26,9 \pm 1,2	39,9 \pm 1,8

4.4. Farklı Bisküvi ve Kraker Çeşitlerinde Glikoz MGO Bulguları

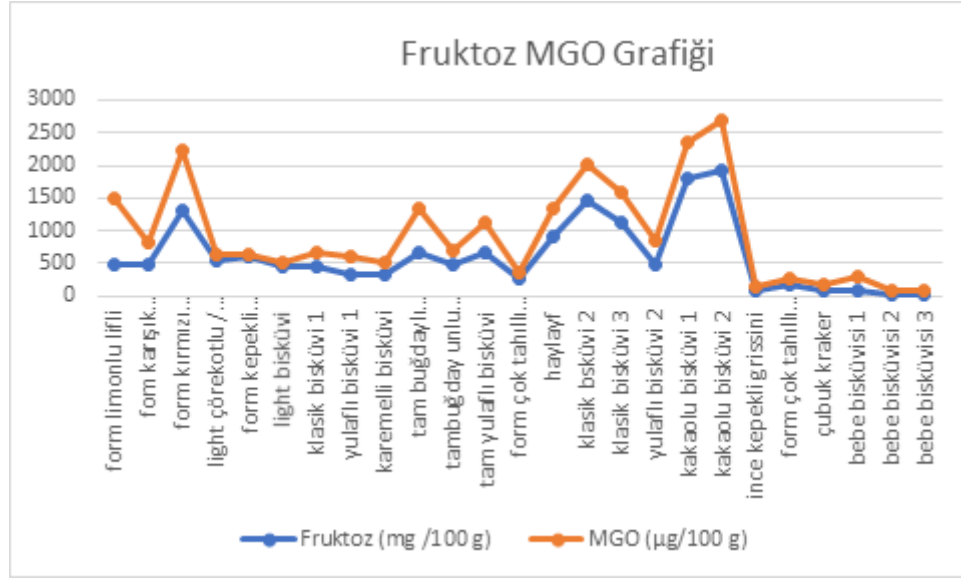
Bulunan verilere göre farklı bisküvi ve kraker çeşitlerinde glikoz AGE içerikleri Şekil 4.4’de gösterilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi farklı bisküvi ve kraker çeşitlerinde glikoz miktarları 6400 ± 67 mg/100 g arasında tespit edilmiştir. MGO değerleride 1014 ± 40 µg/ 100 g bulunmuştur.



Şekil 4.4.1: Bisküvi ve kraker çeşitlerinde glikoz ile MGO değerleri

4.5. Farklı Bisküvi ve Kraker Çeşitlerinde Fruktoz MGO Bulguları

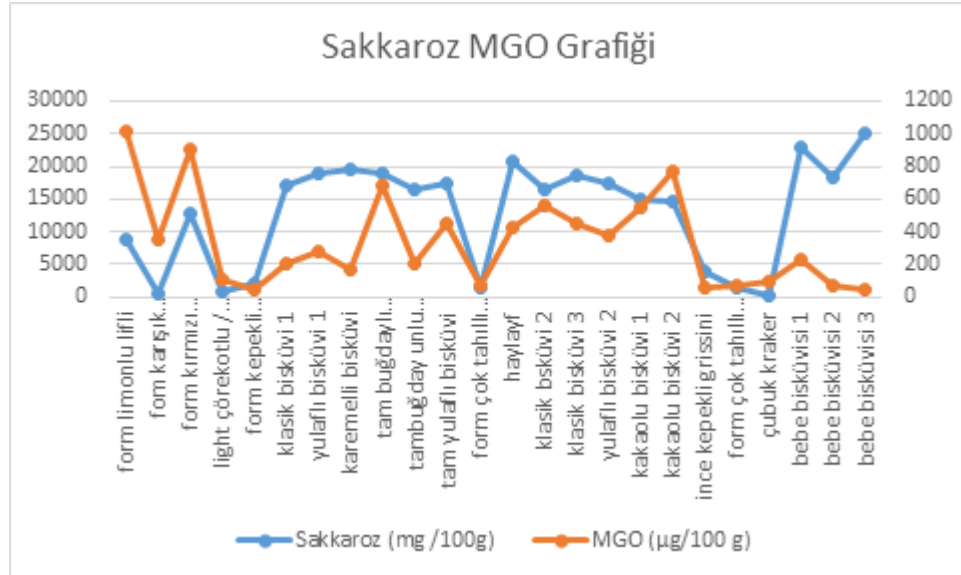
Şekil 4.5.1’de gösterilen fruktoz MGO değerlerine baktığımızda ise fruktoz içeriği en yüksek kakaolu bisküvi 2 olduğu tespit edilmiş ve aynı zamanda MGO değerinde fruktoz değeri ile yükseldiği bulunmuştur.



Şekil 4.5.11: Bisküvi ve kraker çeşitlerinde fruktoz ile MGO değerleri

4.6. Farklı Bisküvi ve Kraker Çeşitlerinde Sakkaroz MGO Bulguları

Sakkaroz baktığımızda, farklı bisküvi ve kraker çeşitlerindeki değeri 24995 ± 335 mg/100 g olduğu bulunmuştur. MGO değeri ise sakkaroz ile paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.6.12: Bisküvi ve kraker çeşitlerinde sakkaroz ile MGO değerleri

BEŞİNCİ BÖLÜM

TARTIŞMA VE DEĞERLENDİRME

Bu çalışmada, farklı bisküvi ve kraker çeşitlerinin glikoz, fruktoz, sükroz değerleri ile GO ve MGO değerleri araştırılmıştır. Çalışmanın amacı, toplumda atıştırmalık olarak sıklıkla tüketilen bisküvi ve krakerlerin şeker türleri ile AGE öncülleri miktarını belirleyerek insan sağlığında olumsuz etkisini azaltacak atıştırmalıkların tercih edilmesinin sağlanmasıdır.

Bisküvi, ağırlıklı olarak buğday unu, şeker ve tereyağı ile fırında yapılan bir atıştırmalıktır. Uzun raf ömrü, yeme kolaylığı ve insanların tatlı tadı tercih etmesi nedeniyle dünya gıda endüstrisinin önemli bir parçasıdır (Filipcev vd., 2011; 166).

Bisküvi pişirilirken meydana gelen Maillard reaksiyonu, bisküviye arzu edilen renk ve tadı vermesinin yanı sıra akrilamid gibi istenmeyen kimyasalların oluşuma neden olmaktadır (Becalski vd., 2003; 804). AGE'ler çeşitli öncülerden oluşabilmektedir. AGE oluşumu genellikle endojen olmakla birlikte ekzojen kaynaklı da olabilmektedir (Nicholl vd., 1998; 1030). Isıl işlem, lezzeti artırabilme, raf ömrünü uzatabilme gibi özellikleri sayesinde dünya gıda endüstrisinin önemli bir parçası haline gelmiştir. Protein ve karbonhidrat içeriği yüksek kuru karışımlar gibi ticari olarak işlenmiş birçok gıda, ısıl işlem ve depolama süresince AGE oluşturmaya devam etmektedir.

Bisküvilerin bileşimi incelendiğinde, en düşük MGO ve akrilamid seviyelerinin, sakkaroz, glikoz veya sodyum bikarbonat gibi bileşenler içeren bisküvilerde bulunduğunu göstermektedir. En yüksek MGO ve akrilamid seviyeli bisküviler, özellikle glikoz veya sodyum bikarbonat yerine amonyum bikarbonat veya fruktoz ile hazırlanmış olanlardır. Benzer sonuçlar, diğer yayınlanmış çalışmalarda model sistemlerle açıklanmıştır. Kalousova vd., pişirme ajanı amonyum bikarbonatın sodyum bikarbonat ile karşılaştırıldığında daha fazla dikarbonil bileşiğinin oluşumunu ve fruktoz varlığında bu oluşumu daha da fazla teşvik ettiğini göstermiştir (Kalousova vd., 2004; 21).

Çalışmamızda, bisküvi ve kraker çeşitlerinde sırasıyla ortalama fruktoz miktarı 1923 ± 8 mg/100 g olarak; glikoz miktarı 6400 ± 67 mg/100 g olarak; sakkaroz miktarı ise

24995 ± 335 mg/100 g olarak bulunmuştur. Bisküvi ve krakerlerde bebe bisküvisi 3 en yüksek sakkaroz miktarına sahip iken MGO değerinin en düşük olduğu gözlemlenmektedir. Şeker türleri içinde en düşük fruktoz miktarı yer alır iken glikoz ve sakkarozla göre en yüksek MGO değerine sahip olduğu bulunmuştur.

Roiter vd., yaptığı çalışmada, genel olarak bisküvi formülasyonu, ekmek türevlerine göre daha karmaşıktır ve maillard reaksiyonu, karamelizasyon veya lipid oksidasyonu yoluyla bu dikarbonillerin öncüleri olan indirgeyici şekerler ve doymamış yağlar gibi bileşenler içermektedir. Buna karşılık, ekmek türevleri esas olarak buğday unu, kabartma tozu, tuz ve sudan oluşur, bu nedenle dikarbonil seviyelerinin daha düşük olması beklenmektedir. Veriler incelendiğinde, yedi bisküvi örneğinin diğerlerine kıyasla daha yüksek MGO içeriğine sahip olduğu, bunların tümü 52,2 mg / kg'ın üzerinde ve 81,4 mg / kg'a kadar MGO değerlerine sahip olduğu görülebilir. Bileşen olarak amonyum bikarbonat ve fruktoz içeren bisküvilerin daha fazla MGO oluşturduğu, böylece amonyum bikarbonat ve fruktozun bu dikarbonil bileşiklerinin oluşumunu hızlandırdığı görülmüştür (Roiter vd., 1972; 14). Bu göre, bisküvi formülasyonunda kullanılan bileşenlerden, fruktozun daha fazla MGO oluşumuna neden olduğu görülmektedir.

Mary Story vd., (1996) çalışmasına göre; işleme aşamasında AGE oluşumunu hızlandıran tereyağı, yağ, yumurta ve şeker gibi gıda katkı maddelerinin eklenmesinden dolayı cips, kraker ve bisküvi gibi kuru ısıda işlenmiş gıdalarda en yüksek d-AGE seviyeleri tespit edilmiştir (Story vd., 1996; 125). Degen ve ark. (Degen vd., 2012; 7071), kurabiyelerde 1,8-68 mg / 100 g MGO bulmuşlardır. Arribas-Lorenzo ve Morales (2010), ticari kurabiyelerdeki GO ve MGO seviyelerini incelemişler ve sırasıyla 4,8 ile 26,0 mg / kg ve 3,7 ile 81,4 mg / kg arasında bulmuşlardır (Arribas vd., 2010; 2966). Uribarri ve vd., (2015) çalışmasına göre, ticari krakerlerdeki MGO içeriği 4,170 nmol / kg'dır (Uribarri vd., 2015; 471). Cipsler ve krakerler arasındaki GO ve MGO seviyelerini karşılaştırdığımızda, krakerler cipslerden daha yüksek miktarda GO ve MGO içermektedir. Gıdalardaki d-AGE seviyesi, artan akrilamid (Tareke vd., 2002; 5000), heterosiklik aromatik aminler (Skog 1998; 890) ve 5 hidroksimetilfurfural (Janowski vd., 2000; 805) seviyesiyle ilişkilidir. Murkovic (2004), patates cipslerinde diğer gıda gruplarına göre daha yüksek miktarda akrilamid (1500 µg / g'nin üzerinde) bulmuştur (Murkovic, 2004;165). GO ve MGO içerikleri, pişirme süresi ve akrilamid içeriği ile doğrudan

ilişkiliyken, bisküvilerde 5-hidroksimetilfural ile bir ilişki yoktur (Arribas, 2010; 2968). Kraker ve cips gibi ısıl işlem görmüş ürünler yüksek miktarda akrilamid içermektedir. Krakerler, cipslerden daha yüksek miktarda akrilamid içerir (J.A. vd., 2007; 348). Cips ve krakerleri karşılaştırdığımızda krakerler genellikle daha yüksek miktarlarda GO ve MGO içermektedir.

Kraker çeşitlerindeki şeker bileşenleri miktarı sırasıyla; glikoz 200 ± 144 mg/100 g, fruktoz 82 ± 79 mg/100 g iken bisküvilerdeki glikoz 6400 ± 67 mg/100 g , fruktoz 1923 ± 8 mg/100 g'dır. Elde edilen sonuçlara göre, kraker çeşitlerindeki glikoz ve fruktoz değerlerinin, bisküvilere oranla daha düşük olduğu bulunmuştur. Bisküviler ve krakerler arasındaki MGO seviyelerini karşılaştırdığımızda, krakerlerin ortalama MGO seviyesi 61 ± 98 µg/100 g iken bisküvilerin 1014 ± 40 µg/100 g'dır. Bu durumda MGO seviyelerini incelediğimizde bisküvilerin krakerlere oranla daha yüksek MGO içeriğine sahip olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak; çalışmamızdaki 25 farklı bisküvi ve kraker çeşitlerinin AGE öncülleri miktarları literatürde yer alan verilerle paralellik göstermektedir.

SONUÇ

Atıştırmalık grubunda yer alan, yüksek miktarda glikoz ve fruktoz içeren bisküvi ve krakerlerin tüketilmesi sonucu; başta diyabet hastalığı olmak üzere kronik hastalıkların oluşumunu bildiren dair birden fazla çalışma bulunmaktadır. Dolayısıyla bisküvi ve kraker çeşitlerinde glikoz ve fruktoz içeriği yüksek olanların tüketilmemesi gerektiği düşünülmektedir.

Bu çalışmada farklı bisküvi ve kraker eşitleri üzerinde şeker türlerinin MGO oluşumuna etkisi araştırıldı. Çalışmamızın amacı farklı bisküvi ve kraker çeşitlerinin içeriğinde bulunan fruktoz, glikoz ve sakkarozun ileri glikasyon son ürünleri öncüllerinin oluşumuna etkisini tespit etmek ve değerlendirmektir.

Çalışmamızda farklı bisküvi ve kraker eşitlerinde MGO değerleri ortalama olarak $1014 \pm 40 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ olarak bulunmuştur. şeker türlerinden sakkarozun miktarı bebe bisküvisi 3'te $24995 \text{ mg}/100 \text{ g}$ olarak bulunmuştur. Fruktoz ve glikoz açısından baktığımızda ise sırasıyla kakaolu bisküvi $21923 \text{ mg}/100 \text{ g}$, form karışık bisküvide $6400 \text{ mg}/100 \text{ g}$ ile en yüksek değere sahip oldukları görülmüştür. Fruktoz miktarının yüksek olduğu bisküvi ve kraker çeşitlerinin tüketiminin diyabet ve kronik hastalıkların oluşumunda daha etkili olduğu çalışmalar da mevcuttur.

Glikoz ve fruktoz miktarı düşük olan ürünler tüketmek AGE alımını azaltmak için önemli bir yöntem olabilir. Glikoz ve fruktoz içeriği düşük olan bisküvi ve kraker çeşitlerinin tüketilmesinin insan sağlığına daha az olumsuz etkisi olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Ahmed N. (2005). Advanced Glycation End Products-Role In Pathology Of Diabetic Complications. *Diabetes Research and Clinical Practice.*;(67):2-3.
- Ahmed N. ve Thornalley P. J. (2007). Advanced Glycation Endproducts:What is Their Relevance to Diabetic Complications? *Diabetes, Obesity and Metabolism*, (9):233-245.
- Al-Abed Y. ve Bucala R. (2000). Structure of A Synth Tic Glucose Derived Advanced Glycation end Product That is immunologically Cross-Reactive With its Naturally Occurring Counterparts. *Bioconjug Chem*, (11): 39-45.
- Aldhahi W. ve Hamdy O. (2003). Adipokines, inflammation and the endothelium in diabetes; *Curr diab Rep*, 3: 293-298.
- American Diabetes Association. (2006). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 29:43-48 (Diyabet Komplikasyonları ve Tanı Kriterleri)
- American Diabetes Association.(2007). Report of The Expert Committee on The Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 20: 1183-1201.
- Arribas-Lorenzo, G. ve Morales, F. J. (2010). Analysis, Distribution, and Dietary Exposure of Glyoxal and Methylglyoxal in Cookies and Their Relationship With Other Heat-Induced Contaminants, *J Agric Food Chem*, 58 (5) 2966–2972.
- Başara, B., Dirimeşe, V., Özkan, E. ve Varol, Ö. (2007). Türkiye Hastalık Yüğü Çalışması 2004, 1. Baskı, Ankara, Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, 4-6.
- Baynes J. W. (2002). Pyridoxamine, a Versatile Inhibitor of Advanced Glycation and Lipoxidation Reactions. *International Congress Series*, 1245:31-35
- Becalski, A., Lau, B. P. Y., Lewis, D. ve Seaman, S. W. (2003). Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling. *J Agric Food Chem*, 51, 802-808.

- Beisswenger, P. J., Makita, Z., Curphey, T. J., Moore, L., Jean, S., Brinck-Johnsen, T. ve ark. (1995). Formation of Immunochemical Advanced Glycosylation end Products Precedes And Correlates With Early Manifestations of Renal and Retinal Disease in Diabetes. *Diabetes*, 44: 824-829.
- Bierhaus A. ve Nawroth P.P. (2009). Multiple Levels Of Regulation Determine The Role of The Receptor For Age (Rage) As Common Soil in Inflammation, Immune Responses and Diabetes Mellitus and its Complications. *Diabetologia*, 52, 2251-2563.
- Bierhaus, A., Humpert, P.M., Morcos, M., Wendt, T., Chavakis, T., Arnold, B. ve ark. (2005). Understanding RAGE, The Receptor For Advanced Glycation end Products. *J Mol Med*, 83: 876-886.
- Castellani, R., Smith, M. A., Richey P. L. ve Perry G. (1996). Glyxidation and Oxidative Stress in Parkinson's Disease and Common Lewy Body Disease. *Brain Res*, 737, 195-200.
- Cho, N. H., Shaw, J. E., Karuranga, S. ve ark. (2018). "IDF Diabetes Atlas: Global diabetes prevalence estimates for 2017 and estimates for 2045,". *Diabetes Research and Clinical Practice*, 138, 271–281.
- Degen, J., Hellwig, M. ve Henle, T. (2012). 1, 2-Dicarbonyl Compounds in Commonly Consumed Foods, *J Agric Food Chem*, 60 (28), 7071–7079.
- Filipcev, B., Simurina, O., Sakac, M., Sedej, I., Jovanov, P., Pestoric, M. ve Solarov, M. B.(2011). Feasibility of Use of Buckwheat Flour As An Ingredient in Ginger Nut Cookie Formulation. *Food Chemistry*, 125, 164–170.
- GBD Disease, I. Injury and C. Prevalence, "Global, regional and national incidence, prevalence and years of disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: A systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2016," *The Lancet*, vol. 390, no. 10100, pages 1211--1259, 2017.
- Giardino, I., Edelstein, D. ve Brownlee, M. (1994). Nonenzymatic Glycosylation in Vitro and in Bovine Endothelial Cells Alters Basic Fibroblast Growth Factor Activity. A Model For Intracellular Glycosylation in Diabetes. *J Clin Invest*, 94: 110-117.

- Gomez Ojeda A., Jaramilloortiz, S., Wrobel, K., Wrobel, K., Barbosasabanero, G., Luevanocontreras, C., De, M. L. M., Uribarri, J., Del, M. C. ve Garaysevilla, M. E. (2018). Comparative Evaluation of Three Different ELISA Assays and HPLC-ESI-ITMS/MS For The Analysis of N-Carboxymethyl Lysine in Food Samples. *Food Chemistry*, 243:11-18.
- Grandhee, S. K. ve Monnier, V.M. (1991). Mechanism of Formation of The Maillard Protein Cross-Link Pentosidine. Glucose, Fructose, and Ascorbate As Pentosidine Precursors. *J Biol Chem*, 266: 11649-11653.
- Guerciolini R. (1997). Mode of Action of Orlistat. *Int J Obes*, 21: 12-23.
- Gugliucci A. (1994). Enhanced Glycation of Rat Liver Histone Octamers: An In Vitro Study. *Biochem Biophys Res Commun*, 203: 588–93.
- Guo, Z. J., Niu, H.X., Hou, F.F., Zhang, L., Fu, N., Nagai, R. ve ark.(2008). Advanced Oxidation end Products Activate Vascular Endothelial Cells Via RAGE-Mediated Signaling Pathway. *Antioxd Redox Signal*, 10: 1699-1712.
- Hamada, Y., Araki, N., Koh, N., Nakamura, J., Horiuchi, S. & Hotta, N. (1996) Rapid Formation of Advanced Glycation end Products by Intermediate Metabolites of The Glycolytic Pathway and The Polyol Pathway; *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 228, 539-543.
- Han, D., Yamamoto, Y., Munesue, S., Motoyoshi, S., Saito, H., Win, M.T., Watanabe, T., Tsuneyama, K. ve Yamamoto, H. (2013). Diabetes. *Gene Cells*, 18: 302-314.
- Hinton, D. J. ve Ames, J. M. (2006). Site Specificity of Glycation and Carboxymethylation of Bovine Serum Albumin by Fructose. *Amino Acids*, 30: 425-34.
- Hirohito, W., Sonoo, I., Kaoru, A. ve Fumitaka, H. (2002). Formation and Determination of Dicarbonyls and An Age Cross-Link, Pyrropyridine in Glycated Proteins And in vivo. *International Congress Series*, 1245:153-156
- Hofmann, M. A., Drury, S., Fu, C., Qu, W., Taguchi, A., Lu, Y., Avila, C., Kambham, N., Bierhaus, A., Nawroth, P., Neurath, M. F., Slattery, T., Beach, D., McClary, J., Nagashima, M., Morser, J., Stern, D. ve Schmidt, A.M. (1999).

RAGE Mediates A New Proinflammatory Axis: A Central Cell Surface Receptor For S100 / Calgranulin Polypeptides. *Cell*, 97: 889-901.

Hori, O., Brett, J., Slattery, T., Cao, R., Zhang, J., Chen, J. X. ve ark. (1995). The Receptor For Advanced Glycation End Products (RAGE) is Cellular Binding Site For Amphoterin. Mediation of Neurite Outgrowth and Co-Expression of RAGE and Amphoterin in The Developing Nervous System. *J Biol Chem*, 270: 25752-25761.

Hunjoo H. ve Kyung H. K.(1999). Pathogenesis of Diabetic Nephropathy: The Role of Oxidative Stress and Protein Kinase C. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 45:147-151

Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet*. 1998; 352: 837-853

Jakas, A., Katic, A., Bionda, N. ve Horvat, S. (2008). Glycation of A Lysine-Containing Tetrapeptide With D-Glucose and D-Fructose - The Effect of Different Reaction Conditions On The Formation of Amadori / Heys Products, *Carbohydr Res*, 343: 2475-80.

Janzowski, C., Glaab, V., Samimi, E., Schlatter, J. ve Eisenbrand, G. (2000). 5-Hydroxymethylfurfural: Assessment of Mutagenicity, DNA-Damaging Potential and Reactivity Towards Cellular Glutathione. *Food Chem. Toxicol*, 38: 801–809.

Kalousova, M., Zima, T., Tesar, V., Stipek, S. ve Sulkova, S. (2004). Advanced Glycation End Products in Clinical Nephrology. *Kidney Blood Press Res.*, 27(1), 18-28

Kawasaki, T., Akanuma, H. ve Yamanouchi, T. (2002). Increased Fructose Concentrations in Blood And Urine in Patients With Diabetes. *Diabetes Care*, 25, 353–357.

Khalifah, R.G., Chen, Y. ve Wassenberg, J. J. (2005). Post-Amadori AGE Inhibition As A Therapeutic Target For Diabetic Complications. A Rational Approach To

Second Generation Amadorin Design. *BioStratum Incorporated*, 1043:793-806

Kislinger, T., Fu, C., Huberi, B., Qu, W., Taguchi, A., Yan, S ve ark. (1999). N-(carboxymethyl)Lysine Adducts of Proteins Are Ligand For Receptor For Advanced Glycation End Products That Activate Cell Signaling Pathways And Modulate Gene Expression. *J Biol Chem.*, 274: 31740-31749.

Krauss, R.M., Eckel, R.H., Howard, B., Appel, L.J., Daniels, S.R., Deckelbaum, R.J. ve ark. (2000). AHA Dietary Guidelines: Revision 2000: A Statement For Healthcare Professionals From The Nutrition Committee of The American Heart Association. *Circulation.*, 102: 2284-2299.

Lapolla, A., Fedele, D. ve Traldi, P. (2005). Glyco-Oxidation in Diabetes And Related Diseases. *Clinica Chimica Acta.*, 357:236-250

Levi B. ve Werman M.J. (2003). Fructose and Related Phosphate Derivatives Cause DNA Damage and Apoptosis in L5178Y Mouse Lymphoma Cells. *J Nutr Biochem*, 14: 49--60.

Li, J.H., Wang, W., Huang, X.R., Oldfield, M., Schmidt, A.M., Cooper, M.E. ve ark. (2004). Advanced Glycation End Products Induce Tubular Epithelial-Myofibroblast Transisitonm Through The RAGE-ERK1/2 MAP Kinase Signaling Pathway. *Am J Pathol*, 164: 1389-1397.

Lu, C., He, J.C., Cai, W., Liu, H., Zhu, L., Vlassara, H.(2004). Advanced Glycation Endproduct (AGE) Receptor 1 is A Negative Regulator of The Inflammatory Response To Age in Mesangial Cells. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 101: 11767-11772

M. Murkovic, (2004). Acrylamide in Austrian Foods. *J Biochem Biophys Methods*, 61 (1-2) 161-167.

Story, M., Hayes, M. ve Kalina, B. (1996). Availability of Foods in High Schools: is There Cause For Concern? *J Am Diet Assoc*, 96, 123-126.

Maillard L.C. (1912). Action Des Acides Amines Sur Les Sucres; Formation Des Melaniodines Par Voie Methodique. *Acad Sci*, 154:66-68.

McPherson, J.D., Shilton, B.H. ve Walton, D.J. (1988). The Role of Fructose in Glycation and Crosslinking of Proteins. *Biochemistry*, 27: 1901-1907.

- Miyata, T., Krokawa, K. ve Van Ypersele de Strihou, C. (2000). Relevance of Oxidative and Carbonyl Stres To Long Term Uremic Complications. *Kidney Int*, 58:120-125
- Miyazaki, A., Nakayama, H. ve Horiuchi, S. (2002). Scavenger Receptors That Recognize Advanced Glycation end Products. *Trends Cardiovasc Med*, 12: 258-262.
- Monnier, V.M., Nagaraj, R.H., Portero-Otin, M., Glomb, M., Elgawish, A.H., D.R., Sat. ve Friedlander, M.A. (1996). Structure and Pathological Role of Advanced Maillard Reaction Products. *Nephrol Dial Transplant.*, 11 (Appendix 5): 20--26.
- Münch, G., Westcott, B., Menini, T. ve Gugliucci, A. (2012). Advanced Glycation end Products and Their Pathogenic Roles in Neurological Disorders. *Amino acids*, 42, 1221-1236.
- Nakamura, K., Nakazava, Y. ve İenaga, K. (1997). Acid-Stable Fluorescent Advanced Glycation End Products: Vesperlysine A, B and C Are Formed As Cross-Linked Products in The Maillarda Reaction Between Lysine or Protein With Glucose. *Biochem Biophys Res commun*, 232: 227-230.
- Nessar A. (2005). Advanced Glycation Endproducts-Role in Pathology of Diabetic Complications. *Diabetes Research and Clini hain Polyunsaturated Fatty Acids in Type 2 Diabetes: A Review. J Am Diet Assoc*, 105:428-440.
- Nicholl, I.D. ve Bucala, R. (1998). Advanced Glycation end Products and Smoking. *Cell Mole Bio*, 44, 1025-33.
- Nowotny, K., Schroter, D., Schreiner, M. ve Grune, T. (2018). Dietary Advanced Glycation End Products And Their Relevance For Human Health. *Ageing Research Reviews*.
- Oimomi, M., Sakai, M., Ohara, T., Igaki, N., Nakamichi, T., Hata, F. ve Baba, S. (1989) Acceleration of Fructose-Mediated Collagen Glycation. *J Int Med Res*, 17: 249-53.
- Poulsen, M.W., Hedegaard, R.V., Andersen, J.M., et al. (2013). Advanced glycation endproducts in food and their effects on health. Food and chemical

toxicology: an international journal published for the British Industrial.
Biological Research Association, 60: 10-37.

- Pugliese, G., Pricci, F., Ğacobini, C., Leto, G., Amadio, L., Barsotti, P. ve ark. (2001). Accelerated Diabetic Glomerulopathy in Galectin-3/AGE Receptor 3 Knockout Mice. *Faseb J, 15*: 2471-2479.
- Rahbar, S., Blumenfeld, O. ve Ranney, H.M. (1969). Studies of an Unusual Hemoglobin in Patients With Diabetes Mellitus. *Biochem Biophys Res Commun, 36*: 838- 8
- Rellier, N., Lopez, D.R., Lecomte, M. ve Legarde, M. (1999) Wiernsperger N. In vitro and in vivo Alterations of Enzymatic Glycosylation in Diabetes. *Life Sciences., 64*:1571-1583
- Roiter, I. M. ve Borovikova, L. A. (1972). Level of volatile carbonyl compounds in bread during the addition of enzyme preparations. *Khlebopek. Konditer. Promst., 14-15*
- Rojas A. ve Morales M.A. (2004). Advanced glycation and endothelial functions: A link towards vascular complications in diabetes. *Life Sciences, 76*: 715-730
- Rolo, A.P. ve Palmeira C.M. (2006). Diabetes and Mitochondrial Function: Role of Hyperglycemia and Oxidative Stress. *Toxicology and Applied Pharmacology, 212*: 167-168
- Rufian-Henares, J.A., Arribas-Lorenzo, G. ve Morales, F. J.(2007). Acrylamide Content of Selected Spanish Foods: Survey of Biscuits and Bread Derivatives, *Food Addit Cont, 24* (4), 343–350.
- Satman, I., Imamoglu, S., Yilmaz, C., ADİYABETİRE Study Group (2012). A Patient-Based Study Onthe Adherence of Physicians to Guidelines Forthe Management of Type 2 Diabetes in Turkey. *Diabetes Research and Clinical Practice, 98*: 75-82.
- Satman, I., Yılmaz, T., Şengul, A., Salman, S., Salman, F., Uygur, S., Baştar, İ., Tutuncu, Y., Sargın, M., Dinccağ, N., Karşıdağ, K., Kalaca, S., Ozcan, C., King, H. ve the TURDEP Group (2002), Population-Based Study Ofdiabetes And Risk Characteristics in Turkey: Resultsof The Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP). *Diabetes Care, 25*:1551-1556.

- Satman, İ., Ömer, B., Tutuncu, Y., Kalaca, S., Gedik, S., Dinccağ, N., Karşıdağ, K., Genç, S., Telci, A., Canbaz, B., Türker, F., Yılmaz, T., Çakır, B. ve Tuomilehto, J. (2013). Twelve-Year Trends in The Prevalance and Risk Factors of Diabetes and Prediabetes in Turkish Adults. *European Journal of Epidemiology*, 28:169- 180.
- Schmidt, A.M., Hori, O., Chen, J.X., Li, J.F., Crandall, J., Zhang, J., Cao, R., Yan, S.D., Brett, J. ve Stern, D.(1995). VCAM-1 in Cultured Human Endothelial Cells And Mice. Potential Mechanism For Accelerated Diabetes Vasculopathy. *J Clin Invest*, 96: 1395--1403.
- Schmidt, A.M., Yan, S.D., Yan, S.F. ve Stern, D.M. (2000). The Biology of The Receptor For Advanced Glycation end Products and its Ligands. *Biochimica et Biophysica Acta*,1498 :99-111
- Skog, K. I., Johansson, M.A. ve Jagerstad, M. I. (1998). Carcinogenic Heterocyclic Amines in Model Systems And Cooked Foods: A Review On Formation. Occurrence And Intake;*Food Chem. Toxicol*, 36 ,879–896.
- Suárez, G., Rajaram, R., Oronsky, A.L. ve Gawinowicz, M.A. (1989). Non-enzymatic Glycation of Bovine Serum Albumin by Fructose (Fructosation). Comparison With The Maillard Reaction Initiated by Glucose. *B J iol Chem*, 264: 3674-9.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S. & Tornqvist, M. (2002). Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs. *J Agric Food Chem*, (50):4998–5006.
- The Expert Commitee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Commitee on the Diagnosis and Classsification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2002;25:5-14 (diyabet komplikasyonları ve tanı kriterleri)
- Thomas, M.C., Forbes, J.M. ve Cooper, M.E. (2005). Advanced Glycation end Products and Diabetic Nephropathy. *American Journal of Therapeutics.*, 12: 562-572
- Thornalley P.J. (2005). Glycation free adduct accumulation in *renal disease*: the new AGE. *Pediatr Nephrol*, 20:1515-1522

- Trojanowski, J.Q., Goedert, M., Iwatsubo, T. ve Lee, V.M.Y. (1998). Deadly attractions: Abnormal protein accumulation and neuron death in Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Cell Death is Different*, 5, 832–837.
- Uribarri, J., Del Castillo, M. D., Mp, D. L. M., Filip, R., Gugliucci, A., Luevanocontreras, C., Maciascervantes, M. H., Markowicz Bastos, D. H., Medrano, A. ve Menini, T. (2015). Dietary Advanced Glycation End Products And Their Role in Health And Disease. *Advances in Nutrition*, 6(4), 461-473.
- Uribarri, J., Peppia, M., Cai, V., Goldberg, T., Lu, M., He, C. ve Vlassara, H. (2003). Restriction of Dietary Glycotoxins Reduces Excessive AGEs in Renal Failure Patients. *J Am Soc Nephrol*, 14:728-731
- Vlassara H. (1997). Recent Progress in Advanced Glycation end Products And Diabetic Complicaitons. *Diabetes*, 46:19-25
- Vlassara H.(2005). Advanced Glycation in Health and Disease: Role of The Modern Environment. *Ann N Y Acad Sci*, 1043: 452-460.
- Vlassara, H., Cai, W., Cranall, J., Goldberg, T., Oberstein, R., Dardaine, V., Peppia, M. ve Rayfield, E.J. (2002). Inflammatory Mediators Are Induced by Dietary Glycotoxins,A Major Risk Factor For Diabetic Angiopathy. *Proc Natl Acad Sci*, 99:15596-15601
- Wei, Q., Liu, T. ve Sun, D. (2018). Advanced Glycation End-Products (Ages) İn Foods And Their Detecting Techniques And Methods: A Review. *Trends İn Food Science & Technology*.
- Williams M.E. (2004). Clinical Studies of Advanced Glycation end Product Inhibitors and Diabetic Kidney Disease. *Current Diabetes Reports*, 4:441-446
- Wolff S.P. ve Dean R.T. (1987). Glucose Autoxidation and Protein Modification. The Potential Role of 'autoxidaitve glycosylation' in Diabetes. *Biochem J*, 245:243-250
- Yamagishi, S., Yonekura, H., Yamamoto, Y., Katsuno, K., Sato, F., Mita, I. ve ark. (1997). Advanced glycation end products-driven angiogenesis in vitro. Induction of the growth and tube formation of human microvascular

endothelial cells through autocrine vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem*, 272: 8723- 8730.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tuğba YILMAZ

Derece	Bölüm / Program	Üniversite	Yıl
Ön Lisans	Gıda Teknolojisi	Süleyman Demirel Üniversitesi	2006-2008
Lisans	Gıda Mühendis	Celal Bayar Üniversitesi	2008-2011
Lisans	Beslenme ve Diyetetik	İstanbul Arel Üniversitesi	2011-2013
Ön Lisans	Sağlık Kurumları İşletmeciliği	Anadolu Üniversitesi	2014-2017
Y. Lisans	Beslenme ve Diyetetik (Tezli)	İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi	2018-2021

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler:

1.Doç. Dr. Mustafa YAMAN Sena Nur TANYILDIZ Hatice YILDIRIM Tuğba YILMAZ Sedanur GÜLCEMAL Zehra SAĞLIK Esra SERDAR Edanur KURT Araştırmacı Ömer Faruk MIZRAK , Determination Of The Bioaccessibility Of Glyoxal And Methylglyoxal Compounds In Biscuits, Bread, Coffee And Cookies Using In Vitro Gastrointestinal Digestive System, 2nd International Congress Of Multidisciplinary Studies In Medical Sciences February 13-14, 2021 / Ankara

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

1. Tuğba Yılmaz, Psikolojik Bozukluklar İle Beyin İlişkisinde Mikrobiyotanın Rolü,
7. Ulusal Sağlıklı Yaşam Sempozyumu
- 2.Tuğba Yılmaz, Beta Glukanın Sağlık Üzerine Etkisi, 8. Ulusal Sağlıklı Yaşam Kongresi
- 3.Tuğba Yılmaz, Resveratrolün Sağlık Üzerine Etkisi, 8. Ulusal Sağlıklı Yaşam Kongresi