RESEARCH ARTICLE

Kalori kısıtlaması uygulanan farelerde biyokimyasal değerler

Özge Çakıcı¹, Firuze Kurtoglu^{1*}

¹Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya A.B.D, Konya, Türkiye

Geliş: 09.03.2017, Kabul: 04.05.2017

*vetkurtoglu@gmail.com

Biochemical values of male mice fed with restricted calorie diet

Eurasian J Vet Sci, 2017, 33, 3, 138-147

DOI:10.15312/EurasianJVetSci.2017.150

Öz

Amaç: Erkek farelerde (Swiss Albino) gerçekleştirilen bu çalışmada yem (kalori) kısıtlamasının kan lipid peroksidasyonu (LPO), protein karbonil (PC), HDL ve LDL kolesterol, trigliserit (TG), aspartat amino transferaz (AST) ve glikoz gibi temel biyokimyasal parametreler ile canlı ağırlık değerlerine olası etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmada hayvan materyali olarak 96 adet 6-8 aylık yaşta Swiss Albino erkek fare kullanılmış; deneme başlangıcında hayvanlar tartılarak canlı ağırlıkları homojen ve her kafeste 8 adet fare olacak şekilde 1.Kontrol, 2.Kalori kısıtlanmış (% 40) grup, 3.Kalori kısıtlanmış (% 60) grup olmak üzere 3 ayrı grup halinde barındırılmışlardır. Araştırma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deneysel Araştırma Ünitesinde 60 gün süreli yürütülmüştür. Denemede 10 günlük adaptasyon döneminden sonra deneme başında (1.gün) kalp içinden kan alınmış, aynı uygulamalar 30 ve 60. günlerde tekrarlanmıştır.

Bulgular: LPO ve PC değerleri 2. ve 3. gruplarda 30 ve 60. gün incelemelerinde devamlılık ifade eden düşüş göstermiş ($P<0.001$); kontrol grubunda ise farklılık ortaya çıkmamıştır. Lipid profili açısından bakıldığında çalışmada kalori kısıtlamalarının (2. ve 3. gruplar) trigliserit düzeylerinde hem gruplar arasında hem de her grupta kan alım dönemlerinde belirgin düşüşler sağladığı, bu düşüşlerin kontrol grubu ile kıyaslandığında 60. gün değerlerinde belirgin düzeye ulaştığı ($P<0.01$) görülmektedir. Düşük dansiteli lipoprotein (LDL) yönünden incelendiğinde de özellikle % 40 kısıtlama uygulanan 2. grubun en düşük LDL ve en yüksek HDL oranlarını gösterdiği tespit edilmiştir. Kan glikoz düzeyi değişimleri kontrol grubunda 60 gün boyunca değişim göstermez iken 2. ve 3. gruplarda kontrol grubuna oranla 30. ve 60. günlerde (P1) belirgin düşüş göstermiş, özellikle 3. grupta en düşük değerler elde edilmiştir.

Öneri: Elde edilen verilerden hareketle, kalori kısıtlamasının sürekli ve bir beslenme alışkanlığı halinde uygulanmasının yaşamsal parametrelerde ve biyokimyasal mekanizmalarda etkili olduğu, yaşlanma sürecini geciktirebileceği, belirgin bazı hastalıklara yakalanma insidansını azaltabileceği söylenebilir. Farklı yaş ve cinsiyet gibi faktörlerin etkilerinin ortaya konulması açısından laboratuvar hayvan modelleri ile daha uzun süreli ve farklı yaş ve cinsiyet grupları ile oluşturulacak çalışmaların konuya daha geniş katkılar sağlayacağı da açıktır.

Anahtar kelimeler: Kalori kısıtlaması, fare, biyokimyasal değerler.

Abstract

Aim: In this study, the effects of calorie restriction on basic biochemical parameters such as blood lipid peroxidation (LPO), protein carbonyl (PC), HDL and LDL cholesterol, triglycerides (TG), aspartate amino transferase (AST), glucose and body weight of male mice (Swiss Albino) were investigated

Materials and Methods: Ninety six Swiss Albino male mice that have 6-8 months of age and body weight close to by each other were used in the study. Before starting the experiment, all animals were weighed and distributed in groups according to homogeneity for their body weight. The research lasted for 60 days and conducted at Selçuk University, Faculty of Veterinary Medicine Experimental Animal Research Unit. Mice were divided into 3 groups in each subgroups be of 8 mice and were fed in standard mice cages These groups organized as follows; 1-Control; 2- Calorie restricted (40%); 3- Calorie restricted (60%). After the adaptation period of 10 days, at the beginning; 30; and 60 days blood samples were taken by cardiac puncture.

Results: LPO and PC values of 2nd and 3rd showed continuity declines ($P<0.001$) but such differences have not been shown in the control group as can be seen both P1 and P2 values. As lipid profile from the perspective of study; calorie restrictions (2nd and 3rd groups) decreased the triglyceride levels especially at 60.day both between groups as well as in each group among the periods of blood intake. The lowest low density lipoprotein (LDL) and highest high density lipoprotein (HDL) levels were obtained from 40% calorie restricted groups. While the plasma glucose levels were not change for 60 days in the control group; these levels reached at lowest in groups 2 and group 3 especially, at 30 and 60 days (P1).

Conclusion: Obtained from data, it can be said that, calorie restriction practices applied as nutritional habits regularly may be effective on the vital parameters and biochemical mechanisms and can delay the aging process, significantly reduce the incidence of some diseases of live organisms. For verifying the effects of different factors such as age and gender, studies created by using laboratory animal models with different age and sex for a longer time will contributed to this subject.

Keywords: Calorie restriction, mice, biochemical parameters

Giriş

Sağlıklı ve dengeli beslenme, canlı organizmada tüm metabolik aktivitenin düzenli bir şekilde sürdürebilmesi için kaçınılmaz bir olgudur. Dengesiz beslenme, toplum içerisinde sıklıkla enerji alınması ve harcanması arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olarak şekillenen ve gereksinim fazlası kaloringin depolanmasının sonucu ortaya çıkan obezite ile gündeme gelmektedir. Etiyolojisinde yüksek kalorili diyet alımları kadar hareket yetersizliği, genetik, stres, kronik ilaç kullanımı, metabolik hastalıklar gibi ikincil faktörler de rol oynamaktadır. Hızla gelişen teknolojiye bağlı olarak özellikle gelişmiş toplumlarda tempolu yaşam tarzının da etkisi ile gittikçe artan obezite oranı insan organizmasını olumsuz etkileyerek hiperlipidemi, koroner kalp hastalığı, diyabet hipertansiyon, safra kesesi fonksiyon bozuklukları gibi birçok hastalığın oluşumunda predizpoze riskler taşımaktadır. Son dönemlerde sözü edilen bu beslenme dengesizliklerine karşı toplumda bilinçli ya da bilinçsiz bir şekilde kalori kısıtlamasına gidilerek obezitenin önlenmesi gayretleri gündeme gelmektedir. Kontrollü ve dengeli yapıldığı takdirde kalori kısıtlamasının birçok hastalığa karşı koruyucu etkisi olduğu düşünülmekte; bunun yanı sıra yaşlanmanın gecikmesi ve yaşlanmaya bağlı çeşitli patolojilerin önlenmesi açısından da pozitif etkilerinin olduğu son yıllarda bu konuda giderek artan çalışmalarda ortaya konmaktadır.

Sunulan bu tez çalışmasında 6-8 aylık yaştaki erkek farelerde (Swiss Albino) 60 gün süreli olarak % 40 ve % 60 oranlarında yem (kalori) kısıtlaması uygulanmış; kan lipid peroksidasyonu (LPO), protein karbonil (PC), HDL ve LDL kolesterol, trigliserit (TG), aspartat amino transferaz (AST) ve glikoz gibi temel biyokimyasal parametreler ile canlı ağırlık değerlerine etkileri araştırılarak elde edilen değerler ad libitum beslenen kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Materyal

Araştırmada Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneyel Araştırma ve Uygulama Merkezinde üretilen 6-8 aylık yaşta, canlı ağırlıkları birbirine yakın, toplam 96 adet erkek beyaz fare (Albino Swiss) kullanıldı. Hayvanlar deneme düzeninde açıklanan şekilde gruplandırılarak besin madde, vitamin ve mineral ihtiyaçlarını karşılayan ticari bir firmadan temin edilen standart fare yemi ile beslendiler. Çalışma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde ısı ayarlı odalarda yürütüldü. Deneme SÜVFEK (Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul) tarafından onay alınarak (No: 2012/010) gerçekleştirilmiştir.

Yöntem

Araştırmada Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneyel Araş-

tırma ve Uygulama Merkezinde üretilen 6-8 aylık yaşta, canlı ağırlıkları birbirine yakın, toplam 96 adet erkek beyaz fare (Albino Swiss) kullanıldı. Hayvanlar deneme düzeninde açıklanan şekilde gruplandırılarak besin madde, vitamin ve mineral ihtiyaçlarını karşılayan ticari bir firmadan temin edilen standart fare yemi ile beslendiler. Çalışma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde ısı ayarlı odalarda yürütüldü. Deneme SÜVFEK (Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul) tarafından onay alınarak (No: 2012/010) gerçekleştirilmiştir.

Canlı ağırlık tartımları yapılarak eşit sayıda ve mümkün olduğunca homojen canlı ağırlık ortalamasına göre 3 gruba ayrılan farelerden her bir gruptan 8'er adedinden deneme başlangıcı (1. gün) kan alımları intra kardiyak yöntemle yapıldı.

Bu amaçla farelere eter anestezisi uygulandı. Denemede Tablo 2.1 de belirtildiği gibi; 1. kontrol, 2. % 40 yem kısıtlaması uygulanan ve 3. % 60 yem kısıtlaması uygulanan grup olmak üzere 3 grup oluşturuldu.

Her bir grupta 4'er alt gruba bölünerek kafes başına düşen hayvan sayısı azaltıldı. Bu şekilde her bir kafese deneme başında 8 fare yerleştirildi.

Adaptasyon periyodu olarak ilk 10 günlük periyotta 2. ve 3. gruplar için sırası ile % 20 ve % 30 olarak başlatılan yem kısıtlaması kademeli olarak artırılarak % 40 ve % 60 oranlarına ulaşıldı.

Farelerin genel durumlarında herhangi bir olumsuzluk oluşmadığının gözlemlendiği bu adaptasyon periyodunu takiben 60 gün devam eden deneme periyoduna geçildi. Kalori kısıtlaması uygulamasında kontrol grubu dışında kalan deneme gruplarına (2. ve 3. gruplar) farelerin normal şartlarda ortalama günlük 5 g yem tüketimine sahip olduklarından (Poyraz 2000), % 40 ve % 60 oranlarında yem kısıtlaması için gereken günlük miktarlar kafes başına düşen hayvan sayısı da dikkate alınarak hesaplandı. Belirtilen oranlardaki kısıtlamaya karşılık gelen yem miktarları deneme gruplarında sabah ve akşam olmak üzere 2 öğün halinde bölünerek uygulandı. Fareler orijinal polietilen fare-rat kafeslerinde bakım ve beslenmeye tabi tutuldular. Altlık ve suluk temizlikleri ise haftalık olarak gerçekleştirildi. Deneme süresince farelerin barındırıldığı ortam sıcaklığı ise 25 °C olarak ayarlandı. Deneme başlangıcına ilaveten deneme ortasında (30.gün) ve sonunda (60. gün) olmak üzere iki kez daha kalp içi kan alımı gerçekleştirildi. Canlı ağırlık tartımları ise 15'er günlük aralıklarla gerçekleştirildi. Kan alımları sonrasında her fare için ölüm gerçekleştiğinden kan alımı yapılan fareler için herhangi bir ötenazi yöntemine başvurulmadı.

Kan örneklerinin alınması ve analizler

Araştırma başlangıcı (1.gün), ortası (30.gün) ve sonunda (60.

gün) eter anestezisi ile uyutulan farelerden kardiyak punksiyonla alınan kanlar, LPO, PC, glikoz, HDL-LDL kolesterol, trigliserit, parametreleri ile AST enzim analizleri için heparinli polietilen tüplere aktararak 3000 devirde +4 °C de 10 dakika santrifüj edildi ve plazmaları elde edildi; elde edilen bu plazmalar analize kadar -80°C'de saklandı.

Belirtilen biyokimyasal değerlerin belirlenmesinde spektrofotometrik yöntem ile çalışan ticari kitlerden (Oxis Research, Burlingame, CA 94010, Amerika) yararlanılarak mikropalak okuyucuda (Biotek ELx800 Amerika) absorban verileri elde edilerek, değerler hesaplandı.

Lipit peroksidasyonunun belirlenmesinde geleneksel olarak günümüze kadar çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA)'nın oksidasyon ürünleri olan MDA ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) gibi aldehitlerin ölçümü esas alınmaktaydı. MDA ve benzer aldehitlerin oldukça dayanıksız olmaları, reaksiyonlar esnasında değişik geçiş metal iyonlarına göre farklı reaksiyon vermeleri gibi nedenlerle güvenilir sonuçlar alınmamaktadır. Örneğin kolesterol ve oleik asit gibi hücrel lipitlerden şekillenen hidroperoksitlerin yıkılımları ile MDA ve 4-HNE gibi ürünler şekillenmez, buna bağlı olarak MDA ölçümleri beklenenin altında sonuçlar verebilirken, kan pıhtılaşması (tromboksan sentaz aktivitesi) ve trombosit aktivitesi esnasında bile ng/ml düzeylerinde şekillenebilen MDA, yüksek konsantrasyonlarda ölçülebilir (Pryor ve Porter 1990). Belirtilen bu nedenlerle günümüzde artık sadece lipitlerden oluşan peroksidasyonun tanımlanması ve tayini esas alınmakta ve bu amaçla LPO değerleri kullanılmaktadır. Çalışmada örneklerin LPO değerleri, test kitleri (Cayman Chemical Company, Michigan 48108, Amerika) kullanılarak spektrofotometrik olarak (Shimadzu- UV 2100 Japonya) 500 nm de elde edilen absorbanların standart eğri grafiğine uyarlanması ile belirlendi.

Farklı etkilere organizmada ortaya çıkan proteinlerin oksidasyonu kovalent modifikasyon sonucu şekillenir ve oksidasyon sonucunda protein karbonil deriveleri şekillenir. Özellikle prolin, arjinin, lizin ve treonin karbonil deriveleri kimyasal olarak stabil olup protein oksidasyonunun belirteçleri olarak değerlendirilebilirler. Çalışmada protein karbonil düzeyleri plazmada OxiSelect Protein Karbonil Spektrofotometrik Assay (Cell Biolabs, Inc. San Diego, CA 92126, Amerika) test kitleri ile gerçekleştirilmiştir. Testte temel prensip dinitrofenilhidrazinin (DNPH) protein karbonil derivelerinin karbonil grubu ile reaksiyona girmesi ile şekillenen protein hidrazonların spektrofotometrik olarak 375 nm de ölçülmesidir.

HDL-LDL kolesterol, trigliserit, glikoz değerleri ile AST enzim parametreleri ise yine spektrofotometrik yöntem ile (Biotek ELx800 USA) test kitleri (Spinreact, İspanya) kullanılarak mikro plak okuyucularda elde edilen absorbanlar yardımı ile belirlendi.

İstatistik analizleri

İncelenen parametreler açısından gruplar ve kan alım periyotları arası farklılıkların tespiti için ayrı ayrı tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) gerçekleştirildi. Saptanan farklılıkların önem düzeyleri ise Duncan Multiple Range testine göre belirlendi (SPSS 21).

Bulgular

Çalışmada elde edilen verilerin varyans analizi ve Duncan testi sonuçları ile gruplar arasında elde edilen istatistiksel sonuçlar tablolar halinde sunulmuştur. Denemede her bir parametre için 1., 30. ve 60. gün değerleri elde edilmiş, deneme grupları (1., 2. ve 3. gruplar) ile kan alım periyotları arasındaki değerlerin karşılaştırılması için varyans analizi uygulanmıştır.

Tablolar incelendiğinde; özellikle 1. gün değerlerinde bütün parametreler yönünden gruplar arasında farklılık saptanmamış olması, deneme başlangıcında gruplara rastgele dağıtılmış olan aynı yaştaki ve canlı ağırlık yönünden homojen olan farelerin metabolik yönden farklı seyir göstermedikleri ve deneme süresince elde edilen değişikliklerde bireysel farklılıkların etkisinin olmadığı şeklinde değerlendirilmiştir.

Deneme süresince ad libitum yem tüketen kontrol grubu açısından incelendiğinde de 1., 30. ve 60. gün değerlerinde HDL hariç diğer parametrelerde herhangi bir farklılık şekillenmediği görülmektedir. Buna karşın % 40 kısıtlama uygulanan 2. grup değerlerinde ise tüm parametrelerde dönemler arasında oldukça anlamlı değişiklikler izlenmiştir; benzer farklılıklar %60 kısıtlama uygulanan 3. grupta da AST ve glikoz dışında kalan parametrelerde de gözlenmiştir.

Gruplar arası farklılık (P1) değerlerine göre HDL hariç diğer tüm parametrelerde 60 gün değerlerinin belirgin farklılıklar oluşturduğu görülmüş; sadece AST ve glikoz değerlerindeki farklılığın 60. gün ile sınırlı kaldığı gözlenmiştir. Genel bir ifade ile de deneme sonu (60. gün) itibarı ile tüm kan değerlerinde deneme başlangıcına göre pozitif anlamda değişiklikler saptanmıştır.

Canlı ağırlık değişimleri (Tablo 8) incelendiğinde gruplar arasında tüm tartım dönemlerinde azalan bir canlı ağırlık seyrinin olduğu ve deneme sonunda kontrol ve deneme gruplarındaki farklılıkların en belirgin düzeyine ulaştığı görülmektedir.

Tartışma

Negatif ve pozitif enerji dengesi açısından bakıldığında alınan ve harcanan kaloringin mümkün olduğunca dengeli olması arzu edilir. Kalori kısıtlaması ifadesi esasında bu dengenin korunması anlamına gelirken günümüzde çoğu kez günlük

çok az kalori alınması ile “açlık” kavramına yakın bir uygulama olarak algılanmakta, lipidlerin ve hatta proteinlerin normal ötesi ve hızlı yıkımı hedeflenerek bir bakıma negatif enerji dengesi oluşturulmaktadır. Ancak normalin dışına taşan beslenme rejimleri, enerji eldesi açısından karbohidrat-lipit-protein katabolik dengesini olumsuz yönde değiştirerek metabolik, hormonal bozukluklara ve sonuçta kalıcı birtakım hastalıklara neden olurlar.

Dengeli uygulandığı taktirde ise özellikle yaşlanma ve yaşlanma süreci ile ilişkili hastalıkların önlenemeleri, kaliteli yaşam süresinin uzatılabilmesi açısından kalori kısıtlaması basit, ucuz ve belki de en etkili tedavileri oluşturabilecektir.

Sunulan çalışmada LPO ve PC değerleri 2. ve 3. gruplarda 30 ve 60. gün incelemelerinde devamlılık ifade eden düşüş göstermiş ($P<0.001$); kontrol grubunda grup içi ve gruplar arası değerlerden anlaşıldığı gibi farklılıkların ortaya çıkmaması; diğer bir ifade ile 2. ve 3. gruplar için elde edilen anlamlı P1 ve P2 değerleri kalori kısıtlamasının incelenen bu değerlere etkisinin net olduğunu açıklayabilmektedir.

Lipid profili açısından bakıldığında çalışmada kalori kısıtlamalarının (2. ve 3. gruplar) trigliserit düzeylerinde hem gruplar arasında hem de her grupta kan alım dönemlerinde belirgin düşüşler sağladığı, bu düşüşlerin kontrol grubu ile kıyaslandığında 60. gün değerlerinde belirgin düzeye ulaştığı ($P<0.01$) görülmektedir.

Düşük dansiteli lipoprotein (LDL) yönünden incelendiğinde de özellikle % 40 kısıtlama uygulanan 2. grubun en düşük LDL oranlarını gösterdiği, 3. grupta da kontrole oranla ($P<0.001$) düşüş olduğu tespit edilmiştir. Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) değerlerinde de 2. grup değerleri en belirgin ($P<0.001$) yükselmeyi göstermiştir.

Scrofano ve ark (1998), kontrol ve % 50 kalori kısıtlaması uyguladığı 13 haftalık farelerde total kolesterol düzeylerini sırası ile 166 ve 78 mg/dl olarak tespit etmiş, kontrol grubundaki değerin kalori kısıtlanmış gruba oranla % 71 oranında yüksek olduğu görülürken kontrol grubundaki bu oranın deneme grubuna göre % 23 oranında yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 1. Çalışmadan elde edilen LPO değerleri

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P1
LPO(μ M)	1.gün	3,15 $\pm$ 0,14	2,77 $\pm$ 0,13 ^A	3,07 $\pm$ 0,15 ^A	0,155
	30.gün	2,92 $\pm$ 0,08 ^a	1,76 $\pm$ 0,07b ^B	1,61 $\pm$ 0,07b ^B	0,000
	60.gün	2,84 $\pm$ 0,14 ^a	1,51 $\pm$ 0,05b ^B	1,28 $\pm$ 0,12b ^C	0,000
	P ₂	0,218	0,000	0,000	

P₁ Gruplar arası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-C)

Tablo 2. Çalışma gruplarında PC değerleri

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P1
PC(nmol/l)	1.gün	5,66 $\pm$ 0,30	5,13 $\pm$ 0,34 ^A	5,07 $\pm$ 0,21 ^A	0,306
	30.gün	4,88 $\pm$ 0,32a	3,97 $\pm$ 0,15b ^B	2,95 $\pm$ 0,14c ^B	0,000
	60.gün	4,86 $\pm$ 0,19a	1,93 $\pm$ 0,14b ^C	1,55 $\pm$ 0,14b ^C	0,000
	P ₂	0,109	0,000	0,000	

P₁ Gruplar arası değişimler (a-c); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-C)

Tablo 3. Çalışma gruplarında glikoz değerleri

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P1
Glikoz (mg/dl)	1.gün	102,37 $\pm$ 3,13	98,37 $\pm$ 3,57 ^A	93,50 $\pm$ 4,22	0,253
	30.gün	101,27 $\pm$ 2,81a 106,	91,18 $\pm$ 2,04b ^{AB}	93,64 $\pm$ 2,65ab	0,024
	60.gün	18 $\pm$ 2,40a	88,54 $\pm$ 2,76b ^B	88,28 $\pm$ 2,88b	0,000
	P ₂	0,403	0,061	0,471	

P₁ Gruplar arası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-B)

Tablo 4. Çalışma gruplarında AST değerleri

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P ₁
AST (IU/L)	1.gün	80,62±4,50A	72,62±1,87AB	71,00±3,35	0,127
	30.gün	77,18±3,21AB	78,27±3,79A	72,45±2,64	0,455
	60.gün	72,45±0,97aB	64,63±2,08bB	67,86±2,79ab	0,015
	P ₂	0,181	0,006	0,553	

P₁ Gruplar arası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-B)

Tablo 5. Çalışma gruplarında HDL değerleri

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P ₁
HDL (mg/dl)	1.gün	28,69±1,49 ^B	26,51±1,71 ^B	30,80±1,77 ^B	0,215
	30.gün	33,41±1,237 ^{bA}	38,91±0,97 ^{aA}	35,92±1,14 ^{abA}	0,007
	60.gün	35,88±1,08 ^{abA}	39,02±1,16 ^{aA}	34,17±1,45 ^{bAB}	0,034
	P ₂	0,002	0,000	0,049	

P₁ Gruplar arası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-B)

Tablo 6. Çalışma gruplarında LDL değerleri

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P ₁
LDL (mg/dl)	1.gün	40,35±1,42	40,53±1,40 ^A	39,14±0,99 ^A	0,714
	30.gün	38,16±0,95a	34,43±1,08 ^{bB}	36,63±1,06 ^{abAB}	0,033
	60.gün	37,51±0,94a	31,37±0,65 ^{bC}	34,23±1,69 ^{bB}	0,000
	P ₂	0,197	0,000	0,049	

P₁ Gruplar arası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-C)

Tablo 7 . Çalışma gruplarında trigliserit değerleri

Parametre	Dönem	1.grup (Kontrol)	2.grup	3.grup	P ₁
Trigliserit (mg/dl)	1.gün	174,37 ± 6,29	179,37 ± 5,99 ^A	179,50±6,20 ^A	0,801
	30.gün	183,18 ± 5,80	182,09 ± 5,08 ^A	170,54±3,65 ^{AB}	0,220
	60.gün	186,18 ± 5,48a	162,72 ± 5,78 ^{bB}	158,85±5,57 ^{bB}	0,003
	P ₂	0,387	0,038	0,040	

P₁ Gruplar arası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-B)

Tablo 8. Çalışma gruplarında dönemlere göre canlı ağırlık değerleri

Dönem (Gün)	1. grup (Kontrol)	2. grup	3.grup	P ₁
1	27,76±1,22b	28,69±0,84 ^{abAB}	30,89±0,72 ^{aA}	0,061
15	26,62±0,88ab	28,23±0,74 ^{aA}	24,90±1,10 ^{bB}	0,051
30	27,89±0,76a	25,65±0,96 ^{aB}	23,07±0,62 ^{bBC}	0,000
45	27,00±1,43a	22,59±0,77 ^{bC}	23,57±1,61 ^{abBC}	0,047
60	32,34± 0,60a	21,21±0,54 ^{bC}	20,42±0,39 ^{bC}	0,000
P ₂	0,078	0,000	0,000	

P₁ Gruplar arası değişimler (a-b); P₂ Grup içinde kan alım dönemlerine göre değişimler (A-C)

Fontana ve ark (2004), kalori kısıtlamasının aterosklerozis insidansına etkileri amacı ile 6 yıl gibi uzun süreli olarak insanlar üzerinde sürdürdüğü çalışmada, kalori kısıtlanmış deney grubundaki bireylerde vücut kitle indeksi, trigliserit, C reaktif protein (CRP), LDL,

açlık kan glikozu, insulin duyarlılığı ve serum lipoprotein değerlerinin, Amerikan diyeti ile beslenen kontrol grubu bireylerine oranla belirgin ölçüde düşük, HDL düzeylerinin ise bir o kadar yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır.

Kalori kısıtlamasının % 60 oranında uygulanarak farelerde atherosklerozis gelişiminin incelendiği bir diğer çalışmada (Guo ve ark 2002) da kolesterol değerlerinde herhangi bir değişiklik gözlenmez iken trigliserit ve LPO değerlerinin diyetleri kısıtlanmış grupta ad libitum beslenenlere oranla düşük olduğu, LPO ve oksidize LDL oranlarındaki düşüklüğün atherosklerozis insidansını da azalttığı sonucuna varılmıştır.

Sunulan tez çalışmasında kan glikoz düzeyi değişimleri kontrol grubunda 60 gün boyunca değişim göstermez iken 2. ve 3. gruplarda kontrol grubuna oranla 30. ve 60. günlerde (P1) belirgin düşüş göstermiş, özellikle 3. grupta en düşük değerler elde edilmiştir. Grup 2 de ise bu düşüş deneme başı ve deneme sonu periyodu (P2) dikkate alındığında hem daha anlamlı (P<0,001) hem de daha ritmik bir seyir göstermiştir.

Kalori kısıtlamasının özellikle glikoz metabolizması, kan glikoz düzeyleri, diyabet-kalori ilişkisi, glikozile hemoglobin oluşumu, insulin direnci gibi konular ile direkt ilişkileri gerek insanlar (Weindruch ve ark 2001, Heilbronn ve Ravussin 2003) gerekse laboratuvar hayvan modelleri ile yürütülen çalışmalarla (Scrofano ve ark 1998, Weindruch ve ark 2001, Hagopian ve ark 2003, Yu 2005) geniş ölçüde ele alınmış; kalori kısıtlamasının glikoz düzeylerine etkilerinin özellikle ilerleyen yaş periyotlarında belirgin olduğu, yaşlanma ile artan ve özellikle diyabet olgularında belirgin düzeyde oluşan glikolize protein (glikozile hemoglobin gibi) konsantrasyonlarının düzenli ve sürekli uygulanan kısıtlanmış kalori alımları ile azaldığı, doku hasarlarının (katarakt, kılcal damar çatlamaları, epitelyum doku bütünlüğü-yara oluşumu) önlenildiği belirtilmiştir. Yüksek kan glikoz konsantrasyonlarında ise non enzimatik olarak ilerleyen bu glikasyon artmakta, proteinlerle çapraz bağlanmalar şekillenmektedir (Weindruch ve ark 2001).

Glikoz değerleri yönünden ise aynı çalışmada (Scrofano ve ark 1998), 4.5 ve 13 haftalık yaştaki erkek farelerde düşüşün kontrol grubuna göre yaklaşık % 50 oranında gerçekleştiği, 23 haftalıklerde ise belirgin bir düşüş şekillenmediği; dişilerde ise hiçbir yaş grubunda farklılık oluşmadığı belirtilmiştir. Glikozile hemoglobin düzeylerindeki düşüş, 4.5 haftalık yaştakilerde kontrol grubuna göre %50 oranında gerçekleşirken, 13 ve 23 haftalık yaştaki kontrol gruplarının glikozile Hb düzeyleri daha düşük olduğundan kalori kısıtlaması

gruplarına oranla fark daha düşük olarak tespit edilmiştir. Van Liew ve ark (1993) ise erkek farelerde benzer glikoz ve glikozile Hb değerlerinde benzer düşüşe karşın, (Scrofano ve ark 1998) a benzer şekilde dişilerde herhangi bir azalma şekillenmediğini bildirmişlerdir. Kalori kısıtlamasının metabolik ve klinik yansımaları esasında mitokondrial elektron sızıntılarının değişimi ile şekillenmektedir. Özellikle azalan oksidatif reaksiyon zincirleri ve serbest radikal üretimi, anti-oksidan savunma artışı, mitokondrial elektron sızıntılarının sınırlanması, biyomoleküler oksidasyonları da kısıtlar.

Guo ve ark (2002), % 60 kalori kısıtlaması uyguladıkları fare modellerinde LDL oksidasyonu, aortta aterosklerotik plak oluşumu, süperoksit ve hidrojen peroksit (H₂O₂) üretimi ile trigliserit ve LPO değerlerini araştırmışlar, kalorileri kısıtlanmış grupta incelenen tüm değerlerde kontrol grubuna oranla belirgin ve anlamlı düşüşler tespit etmişler; HDL değerlerinin ise kontrol gruplarından daha yüksek olduğu sonucunu elde etmişlerdir.

Xia ve ark (1994) da, % 40 kalori kısıtlaması uygulanmış olan rat modellerinin karaciğer, beyin korteksi, kalp ve böbrek dokularında LPO değerlerinin düşüş, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerinin ise beklendiği gibi artış gösterdiğini belirtmişler; barsak dokusunda ise belirtilen parametrelerde gruplar arasında farkın oluşmadığını tespit etmişlerdir.

Kalori kısıtlama uygulamaları ile yürütülen çalışmalarda antioksidan enzim aktivitelerindeki artış kalori kısıtlamasının hücre zarı yıkımını önlemesi, gen ekspresyonunu düzenlemesi, DNA zincir mutasyonlarını ve oksidasyonlarını dolayısı ile protein sentezinin düzenlenmesi mekanizmalarına dayandırılmıştır (Weindruch 2001, Merry 2002, Hagopian 2005).

Benzer şekilde farklı haftalık yaştaki (4, 10, 22 ve 26) fare modelleri ile % 40 kalori kısıtlaması uygulanarak yürütülen çalışma (Rebrin ve ark 2003) sonuçları, glutasyon (GSH) ve okside glutasyon (GSSG) değerlerinin kalori kısıtlaması yapılan gruplarda değişiklik gösterdiğini; özellikle okside glutasyon değerlerinin düştüğünü ve antioksidan savunmanın kısıtlanmış kalori uygulamaları ile desteklendiğini ortaya koymuştur.

Yapılan bir diğer çalışmada (Hagopian 2005), 3-15 yıl süreyle 18 gönüllü denekte kalori kısıtlaması uygulanmış, kalori kısıtlaması süresince alınan besin miktarı kontrol grubunda 1976-3537 kcal/gün, diğer grupta ise 1112-1958 kcal/gün olarak uygulanmıştır. Deney uygulanan grupta biyokimyasal parametreler incelenmiş; kan basıncı, LDL, total kolesterol, insülin, glukoz, trigliserid seviyeleri azalmıştır. Bunun yanında ateroskleroz belirtici olan CRP'nin seviyesindeki düşüş kalori kısıtlamasının ateroskleroz riskini azalttığı fikrini desteklemiştir.

Canlı ağırlık değerleri sunulan çalışmada kalori kısıtlamalarının etkilerini yansıtmış, kontrol grubunda deneme başlangıcında ortalama 28 g olan canlı ağırlık değeri, 60 gün sonunda her ne kadar farklılık oluşturmada da ($P>0.05$), farelerin yaş ve hormonal olarak gelişim göstermelerine bağlı olduğu düşünülen kısmi artışlar göstererek 32 g ortalama değerine (% 14) ulaşmıştır.

Deneme gruplarında da 60 günlük süre sonunda belirgin ($P<0.001$) canlı ağırlık düşüşleri şekillenmiştir. Grup 2 de % 40 oranında uygulanan kalori kısıtlaması ile canlı ağırlık ortalamalarında % 25, grup 3 te ise % 33 lere kadar varan canlı ağırlık kaybı gözlenmiş; özellikle 3. gruptaki farelerin ileri kilo kaybına rağmen metabolik olarak büyük adaptasyon gösterdikleri, yaşamsal tehdit oluşturacak genel durum bozuklukları göstermedikleri tespit edilmiştir. Ancak metabolik düzen açısından daha çok % 40 kalori kısıtlamasının yaşamsal ve metabolik standartlarda bir profil sergilediği dikkat çekmiştir. Yılmaz (2007), ratlar üzerinde yaptığı bir çalışmada normal ve obez ratlara besin kısıtlaması uygulamıştır. Başlangıçta ortalama 250 g ağırlığında olan normal ratlar ve ortalama 400 g ağırlığında olan obez ratları % 60 oranında azaltılmış diyet ile 10 hafta boyunca beslemiş; hem obez hem de normal grupta çalışma sonunda anlamlı ($p<0.05$) kilo kaybı olduğunu bildirmiş ve her iki gruptaki ratlarda ortalama % 20 oranında kilo kaybı şekillenmiştir.

Luvizotto ve ark (2010), % 25 oranında kalorik kısıtlama uyguladıkları ratlarda ise 23 haftalık deneme süresi sonunda % 13 oranında canlı ağırlık azalması belirlemişler ancak yaptıkları karkas incelemeleri sonucunda protein ve yağ yüzdelere göre kalori kısıtlaması grubunun en az yağ yüzdesine (% 8,5) sahip olduğunu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada kontrol grubundaki yağ yüzdesi ise % 14 olarak tespit edilmiştir.

Öneriler

Swiss Albino erkek farelerde 60 gün süreli olarak % 40 ve % 60 oranların uygulanan kalori kısıtlamasının LP, PC, trigliserit, LDL ve HDL kolesterol ve glikoz düzeyleri ile canlı ağırlık değerlerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada incelenen tüm biyokimyasal parametrelerde her iki kalori kısıtlama uygulamasının düzenleyici etkiler oluşturduğu ve literatür verileri ile uyum gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle kalori kısıtlamasının lipid ve protein molekülleri üzerindeki oksidatif yıkım düzeylerini ifade eden LP ve PC değerlerinde belirgin düşüşler oluşturmada dikkat çekicidir.

Elde edilen verilerden hareketle, kalori kısıtlamasının sürekli ve bir beslenme alışkanlığı halinde uygulanmasının yaşamsal parametrelerde ve biyokimyasal mekanizmalarda etkili olduğu, yaşlanma sürecini geciktirebileceği, belirgin bazı hastalıklara yakalanma insidansını azaltabileceği söylenebilir. Literatür bildirişlerine göre kalori kısıtlamasının farklı yaş ve cinsiyetlerdeki etkilerinin aynı olamayacağı görüşlerin-

den hareketle laboratuvar hayvan modelleri ile daha uzun süreli ve farklı yaş ve cinsiyet grupları ile oluşturulacak çalışmaların konuya daha geniş katkılar sağlayacağı da açıktır.

Teşekkür

Bu makale, Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 11202012 nolu Y. Lisans tez projesi çalışmasından özetlenerek sunulmuştur.

Kaynaklar

- Agarwal S, Sharma S, Agarwal V, Roy N, 2005. Caloric restriction augments ROS defence in *S. Cerevisiae*, by a Sir2- independent mechanism. *Free Radic. Res*, 39, 55-62.
- Akman C, Zhao Q, Liu X, Holmes GL, 2004. Effect of food deprivation during early development on cognition and neurogenesis in therat. *Epilepsy and Behavior*, 5, 446-454.
- Alvers AL, Fishwick LK, Wood MS, Hu D, Chung HS, Dunn Jr WA, Aris JP, 2009. Autophagy and amino acid homeostasis are required for chronological longevity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Aging Cell*, 8, 353-369.
- Aruoma OI, 1994. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidant. *Food Chem Toxic*, 32, 671-683.
- Başpınar N, Kurtoğlu F. Vitaminler. Birinci Baskı, S.Ü. Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi. Konya. 2003.
- Brookes PS, Land JM, Clark JB, Heales SJR, 1998. Peroxynitrite and brain mitochondria: evidence for increased proton leak. *J Neurochem*, 70, 2195-2202.
- Brownlee M, 1992. Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care*, 15, 1835.
- Cao SX, Dhahbi JM, Mote PL, Spindler SR, 2001. Genimic profiling of short and long term calorie restriction effects in the liver of aging mice. *Proc Natl Acad Sci*, 98, 10630-10635.
- Cartee GD, Dean DJ, 1994. Glucose transport with brief dietary restriction. Heterogenous responses in muscles, *Am J Physiol*, 266, E946-E952.
- Chacon F, Cano P, Jimenez V, Cardinali DP, Marcos A, Esquifino AI, 2004. 24-hour changes in circulating prolactin, follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, and testosterone in young male rat subjected to calorie restriction. *Chronobiol Int*, 21, 393-404.
- Chaney SG, Principles of Nutrition I-II. In: Devlin Thomas M, Editor. *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations* 4th ed. New York: Von Hoffmann Press; 997; pp. 1087-1137
- Choi JH, Yu BP, 1995. Brain synaptosomal ageing: free radicals and membrane fluidity. *Free Radic Biol. Med*, 18, 133-139.
- Coomes MW, 1997. In: Devlin Thomas M, Editor. *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations* 4th ed. New York: Von Hoffmann Press; pp. 445-456.
- Cunha FM, Demasi M, Kowaltowski AJ, 2011. Aging and calorie restriction modulate yeast redoxstate, oxidized protein removal, and the ubiquitin-proteasome system, *Free Radi-*

- cal Biology and Medicine, 51, 664-670.
- Cutler RG, Davis BJ, Ingram DK, Roth GS, 1992. Plasma concentrations of glucose, insulin and percent glycosylated hemoglobin are unaltered by food restriction in rhesus and squirrel monkeys. *J Gerontol Biol Sci*, 47, B9-B12.
- Dixit R, Coleman JB, Mattson B, Balam GC, Kenan KP, Louis MO, 2006. The effects of uncontrolled excess caloric intake and moderate to marked caloric restriction (CR) on obesity, spontaneous disease and cancers in Sprague Dowley rats. *Neurology*, 67, 1208-1214.
- Drew B, Phaneuf S, Dirks A, Selman C, Gredilla R, Lezza A, Barja G, Leeuwenburgh C, 2003. Effects of aging and caloric restriction on mitochondrial energy production in gastrocnemius muscle and heart. *Am J Physiol*, 284, R474-R480.
- Fabrizio P, Gattazzo C, Battistella L, Wei C, Cheng M, Mc Grew K, Longo VD, 2005. Sir2 blocks extreme life span extension. *Cell*, 123, 655-667.
- Fernandes G, 1994. Dietary lipids and risk of autoimmune disease. *Clin Immunol Immunopathol*, 2, 193-197.
- Fontana L, Meyer TE, Klein S, Holloszy JO, 2004. Long-term caloric restriction is highly effective in reducing the risk for in atherosclerosis humans. *Proc Natl Acad Sci*, 101, 659-666.
- Forster MJ, Lal H, 1999. Estimating age-related changes in psychomotor function: influence of practice and of level of caloric intake in different genotypes. *Neurobiol Aging*, 20, 167-76.
- Goldberg AA, Bourque SD, Kyryakov P, Gregg C, Boukh-Viner T, Beach A, Burstein MT, Machkalyan G, Richard V, Ramperasad S, Cyr D, Milijevic S, Titorenko V, 2009. Effect of caloric restriction on the metabolic history of chronologically aging yeast. *Exp Gerontol*, 44, 555-571.
- Guo Z, Raymundo FM, Yang H, Ikeno Y, Nelson J, Diaz V, Richardson A, Reddick R, 2002. Dietary restriction reduces atherosclerosis and oxidative stress in the aorta of apolipoprotein E-deficient mice. *Mechanisms of Ageing and Development*, 123, 1121-1131.
- Guthrow CE, Morris MA, Day JF, Thorpe SR, Baynes JW, 1979. Enhanced nonenzymatic glucosylation of human serum albumin in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci*, 76, 4258-4261.
- Gutteridge JMC, Halliwell B, 1993. Transition metal ions and antioxidant proteins in extracellular fluids In: *Atmospheric Oxidation and Antioxidant* Ed. Schott G. Amsterdam, pp. 71-95.
- Hagen TM, Yowe DL, Bartholomew JC, 1997. Mitochondrial decay in hepatocytes from old rats: membrane potential declines, heterogeneity and oxidants increase. *Proc Natl Acad Sci* 94, 3064-3069.
- Hagopian K, Ramsey JJ, Weindruch R, 2003. Caloric restriction increases gluconeogenic and transaminase enzyme activities in Mouse liver. *Exp Gerontol*, 38, 267-278.
- Hagopian K, Ramsey JJ, Weindruch R, 2005. Fructose metabolizing enzymes from Mouse liver: influence of age and caloric restriction. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1721, 37-43.
- Hagopian K, 2005. Krebs cycle enzymes from livers of old mice are differentially regulated by caloric restriction. *Physiol and Behavior*, 85, 581-592.
- Harris RA, Crabb DW, 1997. *Metabolic Interrelationships In: Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, Ed. . Devlin Thomas M, 4th ed. New York: Von Hoffmann Press; p.525-547.
- Heilbronn LK, Ravussin E, 2003. Calorie restriction and aging: review of the literature and implications for studies in humans. *Ann J Clin Nutr*, 78, 361-369.
- Hopfer U. *Digestion and Absorption of Basic Nutritional Constituents*, 1997. In: *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, Ed. Devlin Thomas M, 4th ed. New York: Von Hoffmann Press; pp. 1056-1083
- Ingram DK, Weindruch R, Spangler EL, Freeman JR, Walford RL, 1987. Dietary restriction benefits learning and motor performance of aged mice. *J Gerontol*, 42, 78-81.
- Kargin F, Fidancı UR, 2000. Serbest oksijen radikaller ve oksidatif hasar. *Türk Veteriner Hekimliği Dergisi*, 3, 26-28.
- Kim JD, McCarter RJM, Yu BP, 1996. Influence of age, exercise and dietary restriction on oxidative stress in rats. *Ageing Clin Exp Res*, 8, 123-129.
- Lane MA, Ball SS, Ingram DK, Tilmont EM, Cutler RG, Roth GS, 1995. Diet restriction in rhesus monkeys lowers fasting and glucose-stimulated glucoregulatory end points. *Am J Physiol*, 268, E941-E948.
- Lane MA, Black A, Hand YA, Tilmont EM, Ingram DK, Roth GS, 2001. Caloric restriction in primates, *Ann N Y Acad Sci*, 928, 287-295.
- Lee AT, Cerami A, 1992. Role of glycation in aging. *Ann NY Acad Sci*, 663, 63-70.
- Lee J, Yu BP, Herlihy JT, 1999. Modulation of cardiac mitochondrial membrane fluidity by age and calorie intake. *Free Radic Biol Med*, 26, 260-265.
- Lee CK, Allison DB, Brand J, Weindruch R, Prolla TA, 2002. Transcriptional profiles associated with aging and middle age-onset caloric restriction in mouse hearts. *Proc Natl Acad Sci*, 99, 14988-14993.
- Lewis SEM, Goldspink DF, Phillips JG, Merry BJ, Holehan AM, 1985. The effects of aging and chronic dietary restriction on whole body growth and protein turnover in the rat. *Exp Gerontol*, 20, 253-263.
- Longo VD, Fontana L, 2009. Calorie restriction and cancer prevention: metabolic and molecular mechanisms. *Trends in Pharmacol Sci*, 2, 31-37.
- Luvizotto AM, Sandro JC, Sibio MT, Nascimento AF, Lima-Leopoldo AS, Padovani CR, Cicogna AC, Nogueira CR, 2010. Administration of physiologic levels of triiodothyronine increases leptin expression in calorie-restricted obese rats, but does not influence weight loss. *Met.Clin.and Exp*, 59, 1-6.
- Lysons TJ, 1993. Glycation and oxidation; a role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Cardiol*, 71, 26B.
- Maalouf M, Rho JM, Mattson MP, 2009. The neuroprotective properties of calorie restriction, the ketogenic diet and ketone bodies. *Brain Res Rev*, 59, 293-315.
- Markovic TP, Jenkins AB, Campbell LV, Furler SM, Kraegen EW, Chisholm DJ, 1998. The determinants of glycemic res-

- ponses to diet restriction and weight loss in obesity and NIDDM. *Diabetes Care*, 21, 687-694.
- Masoro EJ, Katz MS, McMahan CA, 1989. Evidence for the glycation theory of aging from the food-restricted rodent model. *J Gerontol Biol Sci*, 44, B20-B22.
- McVerry BA, Fisher C, Hopp A, Huehns ER, 1980. Production of pseudodiabetic renal glomerular changes in mice after repeated injections of glucosylated proteins. *Lancet*, 738-740.
- Merry BJ, 2002. Molecular mechanism linking calorie restriction and longevity. *The Int J of Biochem and Cell Biol*, 34, 1340-1354.
- Merry BJ, 2005. Dietary restriction in rodents- delayed or retarded ageing? *Mech Ageing Dev*, 126, 951-959.
- Niki E, 1993. Lipid peroxidation and its inhibition In: *Atmospheric Oxidation and Antioxidants*, Ed. Scott G, Amsterdam. pp. 1-26.
- Oliveira GA, Tahara EB, Gombert AK, Barros MH, Kowaltowski AJ, 2008. Increased aerobic metabolism is essential for the beneficial effects of caloric restriction on yeast life span. *J Bioenerg Biomembr*, 40, 381-388.
- Öz N, Kurtoğlu F, 2002. Serbest radikaller ile antioksidan sistemler ve hastalıklarla ilişkileri. *J of Konya Vet Cont and Res Inst*, 13, 21-31.
- Pitsikas N, Carli M, Fidecka S, Algeri S, 1990. Effect of life-long hypocaloric diet on age-related changes in motor and cognitive behavior in a rat population. *Neurobiol Aging*, 11, 417-423.
- Pryor WA, Porter NA, 1990. Suggested mechanism for the production of 4-hydroxy-2- nonenal, from the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *Free Rad Biol Med*, 8, 541-543.
- Rebrin I, Kamzalov S, Sohal RS, 2003. Effects of age and caloric restriction on glutathione redoxstate in mice. *Free Rad Biol.Med*, 6, 626-635.
- Reiser K, Mcgee C, Rucker R, McDonald R, 1995. Effect of aging and caloric restriction on extracellular-matrix biosynthesis in a model of injury repair in rats. *J of Gerontol Series A- Biol Sci.and Med Sci*, 50, B40-B47.
- Redman LM, Ravussin E, 2009. Endocrine alterations in response to calorie restriction in humans. *Molecular and Cell Endocrinol*, 299, 129-136.
- Rolfe DFS, Brown GC, 1997. Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals. *Physiol Rev*, 77, 731-758.
- Schwartz NB, 1997. In: *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*. Ed. Devlin Thomas M, 4th ed. New York: Von Hoffmann Press; pp. 335-352
- Scrofano MM, Hodge JJ, Nowell TR, Gong X, Smith DE, Perrone G, Asmundsson G, Dallal G, Gindlesky B, Mura CV, Taylor A, 1998. The effects of aging and calorie restriction on plasma nutrient levels in male and female Emory mice. *Mech Ageing Dev*, 105, 31-44.
- Selman C, Phillips T, Staib JL, Duncan JS, Leeuwenburgh JR, 2005. Energy expenditure of calorically restricted rats is higher than predicted from their altered body composition. *Mech Ageing Dev*, 126, 783-793.
- Sharma PK, Agrawal V, Roy N, 2011. Mitochondria-mediated hormetic response in life span extension of calorie-restricted *Saccharomyces cerevisiae*. *Age*, 33, 143-154.
- Smith MA, Taneda S, Richey PL, 1994. Advanced Maillard reaction end products are associated with Alzheimer disease pathology. *Proc Natl Acad Sci*, 91, 5710-5714.
- Sohal RS, Weindruch R. 1996. Oxidative stress, caloric restriction and aging. *Science*, 273, 59-63.
- Speakman JR, Mitchell SE, 2011. Caloric restriction. *Molec Aspects of Med*, 32, 159-221.
- Spindler SR, 2001. Caloric restriction enhances the expression of key metabolic enzymes associated with protein renewal during aging. *Acad Sci*, 928, 296-304.
- Sprott RL, 1997. Diet and calorie restriction. *Exp Gerontology*, 32, 205-214.
- SPSS for Windows version 21 SPSS Inc. (Statistical Package for the Social Sciences. Chicago, IL, United States). 2012.
- Stein O, Dabach Y, Halperin G, Naim MB, Stein Y, 2003. Calorie restriction in mice does not affect LDL reverse cholesterol transport in vivo. *Biochem and Biophys Res Com*, 308, 29-34.
- Stewart J, Mitchell J, Kalant N, 1989. The effects of life-long food restriction on spatial memory in young and aged Fischer 344 rats measured in the eight-arm radial and the Morris water mazes. *Neurobiol Aging*, 10, 669-675.
- Troyer DA, Venkatraman JT, Fernandes G, 1998. Effects of calorie restriction and ω -3 dietary fat on aging in short- and long-lived rodents. *Age*, 21, 175-182.
- Van Liew JB, Davis PJ, Davis FB, Bernardis LL, Deziel MR, Marinucci LN, Kumar D, 1993. Effects of aging, diet, and sex on plasma glucose, fructosamine, and lipid concentrations in barrier-raised Fischer 344 rats. *J Gerontol Biol Sci*, 48, B184-B190.
- Vlassara H, Striker LJ, Teichberg S, Fuh H, Li YM, Steffes M, 1994. Advanced glycation end products induce glomerular sclerosis and albuminuria in normal rats. *Proc Natl Acad Sci*, 91, 11704-11708.
- Weindruch R, Keenan KP, Carney JM, Fernandes G, Feuers RJ, Halter JB, Ramsey JJ, Richardson A, Roth GS, Spindler SR, 2001. Caloric Restriction Mimetics: Metabolic Interventions. *J of Gerontol, SERIES A*, 56, 20-33.
- Weindruch R, Sohal RS, 1997. Caloric intake and aging. *The New England J of Med*, 337, 986-994.
- Wickens AP, 2001. Ageing and the free radical theory. *Resp Physiol*, 128, 379-391.
- Xia E, Rao G, Van Remmen H, 1994. Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fischer 344 rats are altered by food restriction. *J Nutr*, 125, 195-201.
- Yang MH, Schaich KM, 1996. Factors affecting DNA damage caused by lipid hydroperoxides and aldehydes. *Free Radic Biol Med*, 20, 225-236.
- Yılmaz N, 2007. Ratlarda Kalori kısıtlamasının NMDA reseptör subünit konsantrasyonları üzerine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Dergisi, 21-22.

Yu BP, Suescun EA, Yang SY, 1992. Effect of age related lipid peroxidation on membrane fluidity and phospholipase A2 modulation by dietary restriction. *Mech Ageing Dev*, 65, 17-33.

Yu BP, 2005. Membrane alteration as a basis of aging and the

protective effects of calorie restriction. *Mech of Aging Dev*, 126, 1003-1010.

Ziyadeh FN, Cohen MP, 1993. Effects of glycated albumin on mesangial cells: evidence for a role in diabetic nephropathy. *Mol Cell Biochem*, 125, 19-25.