

Yüksek Sükroz Diyeti ile Beslenen Farelerde Cinsiyete Bağlı QT Uzaması

Gender Specific QT Prolongation in High-Sucrose Fed Mice

© Fırat Akat¹, © Leila Aryan^{2,3}, © Suatnur Şık², © Elif Azra Arnous¹, © Erkan Tuncay^{2,4}

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Ankara Üniversitesi, Kök Hücre Enstitüsü, Ankara, Türkiye

⁴Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Disiplinlerarası Sinir Bilimleri Bölümü, Ankara, Türkiye

Öz

Amaç: İnsülin direnci ve buna bağlı olarak gelişen metabolik sinyallerdeki azalmalar, kalp yetmezliğinin gelişmesinde önemli bir faktör olarak ortaya çıkmaktadır. Özellikle artan obezite, kardiyorenal metabolik sendrom ve yaşlanan nüfusumuzdaki epidemik artış nedeniyle daha fazla önem kazanmaktadır. Çalışmamızın amacını metabolik sendromun en önemli bileşeni olan insülin direncinde QT uzamasının cinsiyete bağlı karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi oluşturmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 8 haftalık Balb/c cinsi dişi ve erkek fareler kullanılmıştır. Fareler 14 hafta boyunca standart kemirgen yemi ve yüksek sükroz içeren (%32; w/v) musluk suyu ile beslenerek insülin direnci modeli oluşturulmuştur. Kontrol gruplarındaki hayvanlar ise standart kemirgen yemi ve musluk suyu ile beslenmiştir. Kontrol ve yüksek sükroz diyeti ile beslenen erkek ve dişi farelerde vücut ağırlıkları, açlık kan glikoz düzeyleri, oral glikoz tolerans testi kullanılarak insülin direnci, yem ve sıvı tüketimleri ile elektrokardiyografik (EKG) parametreleri ölçülmüştür.

Bulgular: Çalışmamızda 14 hafta boyunca içme suyu olarak %32'lik sükroz çözeltisi tüketen erkek farelerde açlık kan şekeri düzeyinin arttığı ve insülin direncinin geliştiği gözlenirken dişi farelerde bir değişim gözlenmemiştir. Elde edilen sonuçlarda hem dişi hem de erkek farelerde yem tüketimi deney süresince azalırken vücut ağırlıkları değişmemiştir. Haftalık sıvı tüketimleri ise erkek farelerde değişmezken dişilerde artmıştır. Aynı zamanda haftalık kalori alımının da sükroz gruplarında iki cinsiyette de kontrole göre anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir. EKG parametreleri incelendiğinde erkek farelerde kontrole göre bir değişim görülmezken, metabolik açıdan bozulma görülmeyen dişi farelerde QT uzaması gözlenmiştir.

Sonuç: Elde edilen sonuçlarda insülin direnci gözlenen erkek farelerde, EKG parametrelerinde bir değişim gözlenmezken metabolik açıdan bozulma görülmeyen dişi farelerde QT uzaması görülmesi, dişi farelerin metabolik değişim görülmezsizin şeker tüketimi nedeniyle gerçekleşen QT uzamasına karşı daha hassas olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Fare, cinsiyet farkı, metabolik sendrom, sükroz, insülin direnci, uzun-QT

Abstract

Objectives: The increase in insulin resistance and its impact on cardiac insulin metabolic signaling is becoming a significant contributor to heart failure, especially given the escalating rates of obesity, cardiorenal metabolic syndrome, and our aging population. Our study aims to comparatively evaluate the development of insulin resistance and the occurrence of QT lengthening depending on gender.

Materials and Methods: In our study, 8-week-old Balb/c female and male mice were used. An insulin resistant model was induced by feeding mice with standard rodent chow and tap water containing high sucrose (32%; w/v) for 14 weeks. Animals in the control groups were fed with standard rodent chow and tap water. Body weights, fasting blood glucose levels, insulin resistance using oral glucose tolerance test, food and water consumption, and electrocardiographic (ECG) parameters were measured in control and metabolic syndrome group male and female mice.

Results: The present study showed that fasting blood glucose levels were increased and insulin resistance was developed in male mice consuming 32% sucrose solution for 14 weeks, while no change was observed in female mice. According to the results, chow consumption was decreased both

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Erkan Tuncay

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 312 595 82 01 E-posta: etuncay@medicine.ankara.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0002-6675-2534

Geliş Tarihi/Received: 27.11.2023 Kabul Tarihi/Accepted: 11.06.2024



in male and female mice, while their body weight was not changed. Water consumption was not changed in males, while it increased in females. It was also observed that caloric intake increased significantly as a result of high-sucrose diet compared to control in both genders. No change was observed in ECG parameters of male mice, while QT was lengthened in female mice with insulin resistance, which did not show any metabolic deterioration.

Conclusion: Our results showed that no change in ECG parameters was observed in male mice with insulin resistance, while QT lengthening observed in female mice with sucrose feeding without metabolic deterioration, suggesting that female mice are more sensitive to QT lengthening induced by sugar independent of metabolic changes.

Keywords: Mouse, sex difference, metabolic syndrome, sucrose, insulin resistance, long-QT

Giriş

Metabolik sendrom (MetS), insülin direnci, abdominal obezite, dislipidemi ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalık (KVH) riskini artıran sistemik bozuklukların birbirine eklendiği bir hastalık kümesidir. MetS, Avrupa ve Amerika'daki nüfusun yaklaşık %24'ünü etkilerken (1), Türkiye genelinde 30 yaş ve üzerindeki nüfusta 9,2 milyon kişide tespit edilmiştir (2). MetS teşhisi için çeşitli yaklaşımlar (Tablo 1) olsa da temelde santral obezite, insülin direnci, dislipidemi ve hipertansiyon kriterlerinde uzlaşmaktadır.

MetS'te patofizyolojisinin en önemli bileşeni glikoz homeostazisinde meydana gelen bozulmadır. MetS kaynaklı birçok bozulma insülin hassasiyetinin kaybı nedeniyle gerçekleşir (4). Mevcut çalışmada insülin direncinin yüksek sükrözlu besleme ile oluşturulması planlanmıştır.

Uzun QT sendromu (UQTS), kalpte görülen bir iletim bozukluğu türüdür. "Uzun QT" ismi elektrokardiyografide (EKG) izlenen QT aralığında meydana gelen süre uzamasından gelmektedir (5). Ancak QT aralığı kalp hızından etkilendiğinden teşhis için kalp hızına göre düzeltilen düzeltilmiş QT (QTc) değeri kullanılır (6,7). UQTS düzensiz kalp atışına neden olarak bayılma, boğulma, nöbet veya ani ölümlere neden olabilir (8). UQTS egzersiz veya stres tarafından tetiklenebilir (Şekil 1) (9-11).

Her ne kadar UQTS'nin kalıtsal özelliği baskın olsa da QT intervalinde meydana gelen uzama (QT uzaması) sonradan da ortaya çıkabilir. Elektrolit düzeyi anomalileri, yeme bozuklukları, koroner arter hastalıkları ve bradiaritmler QT uzamasına neden olabilir (12). Obezite ve obeziteye bağlı hastalıkların (diyabet, MetS, hipertansiyon vs.) QT uzamasına neden olduğu ve bu uzamanın kalpteki iyon kanallarının aktivitesinin değişmesi nedeniyle gerçekleştiği bildirilmiştir (13,14). Ancak metabolik değişimler ile QT uzaması arasındaki ilişki henüz tam anlamıyla açıklığa kavuşturulamamıştır. Kadınlarda ölçülen QT intervali, erkeklere göre uzundur (15). Ayrıca kadınlarda QT uzaması görülme sıklığı erkeklere göre fazladır (16). Araştırmacılar bu farklılığın nedeninin cinsiyet hormonlarının iyon kanalları üzerindeki etkileri olduğunu bildirmektedir (11).

Önemli bir toplum sağlığı problemi olan MetS ve MetS'e bağlı KVH gelişimine karşı koruyucu ve tedavi edici stratejilerin

geliştirilmesi için deney hayvanı modellerine ihtiyaç vardır. MetS modelleri genetik modeller, diyet ve ilaçla oluşturulan modeller olmak üzere üç başlık altında sınıflandırılabilir (17). Diyet ile oluşturulan modeller, hem hastalığın gelişimini daha iyi taklit etmeleri hem de maliyet olarak daha ucuz olmaları nedeniyle literatürde sıkça tercih edilmektedir.

Literatürde fareler ile yapılan çeşitli MetS model çalışmaları bulunmakla birlikte Balb/c cinsi farelerle yapılan oldukça

Tablo 1: Tıp dünyasının prestijli kuruluşlarının belirlediği metabolik sendrom tanı kriterleri [Conn ve ark.'dan (3) değiştirilerek alınmıştır]

Grup	Tanı Kriterleri
Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği (AACE)	Hekimin klinik görüşü ile birlikte verilen kriterlerin kombinasyonu gereklidir. <ul style="list-style-type: none"> • Santral obezite • Hipertansiyon • Glukoz intoleransı • Enflamasyon • Düşük HDL-C
Amerikan Kalp Birliği/ Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Yetişkin Tedavi Paneli III (AHA/NCEP ATP III)	Verilen kriterlerden üç tanesinin sağlanması gerekmektedir: <ul style="list-style-type: none"> • Santral obezite • Hipertansiyon • Yüksek açlık kan şekeri • Hipertrigliseridemi • Düşük HDL-C
Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu (EGIR)	Artmış plazma insülin düzeyi ve verilen kriterlerden ikisinin sağlanması gerekmektedir: <ul style="list-style-type: none"> • Santral obezite • Hipertansiyon • Yüksek açlık kan şekeri • Hipertrigliseridemi
Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF)	Santral obezite ve verilen kriterlerden ikisinin sağlanması gerekmektedir: <ul style="list-style-type: none"> • Hipertansiyon • Yüksek açlık kan şekeri • Hipertrigliseridemi • Düşük HDL-C
Dünya Sağlık Örgütü (WHO)	Glukoz intoleransı, diyabet veya insülin direncine ek olarak verilen kriterlerden ikisinin sağlanması gerekmektedir: <ul style="list-style-type: none"> • Santral obezite • Hipertansiyon • Hipertrigliseridemi • Mikroalbuminüri

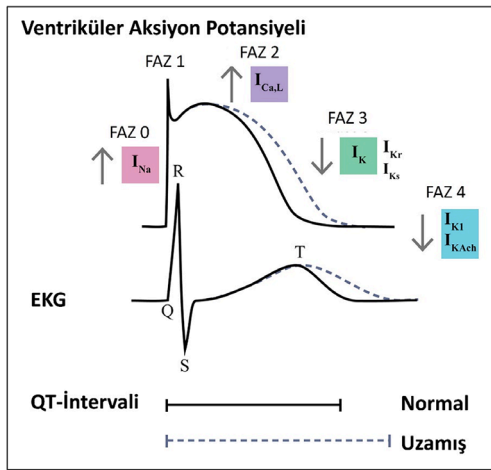
HDL-C: Çok yüksek iyi kolesterol

az sayıda çalışmaya rastlanmıştır (18,19). Mevcut çalışma Balb/c farelerde yüksek sükröz ile insülin direnci oluşturmayı hedeflemesi ve bu modelde QT uzamasının cinsiyete göre karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi açısından özgünlük taşımaktadır.

Gereç ve Yöntem

Grupların Oluşturulması ve Etik İzin

Çalışmamızda kullanılan deney hayvanları ve uygulanan deneysel protokoller için Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (AÜ-HADYEK) izin alınmıştır (karar no.: 2023-16-155, tarih: 13.09.2023).



Şekil 1: Ventriküler aksiyon potansiyelinin ve uzun QT'nin elektrofizyolojik temeli [Vink ve ark'dan (11) değiştirilerek alınmıştır]

↑: Hücre içine giriş ↓: Hücre dışına çıkış, EKG: Elektrokardiyografi

Tablo 2: Çalışmada kullanılan standart kemirgen yeminin (Korkutelim Yem, Antalya, Türkiye) ve hazırlanan sükröz solüsyonunun içeriği			
Standart Kemirgen Yeminin İçeriği		Sükröz Çözeltisinin İçeriği	
Madde	Yüzdesi (%)	Madde	Yüzdesi (%)
Karbonhidrat	48,80	Şeker (Sükröz)	32 (w/v)
Ham protein	23,50	Musluk suyu	
Ham selüloz	6,50		
Ham kül	4,91		
Ham yağ	3,00		
Lizin	1,30		
Fosfor	0,74		
Kalsiyum	0,62		
Metiyonin	0,43		
Sodyum	0,04		
Nem	10,16		
Enerji (kcal/100 g)	320,20	Enerji (kcal/100 mL)	126,08

Laboratuvara getirilen 8 haftalık, Balb/c cinsi, dişi ve erkek fareler, bir haftalık adaptasyonun ardından rastgele dört gruba ayrılmışlardır:

1. Kontrol grubu erkek fareler (K♂) (n=8),
2. Sükröz ile beslenen erkek fareler (S♂) (n=7),
3. Kontrol grubu dişi fareler (K♀) (n=5),
4. Sükröz ile beslenen dişi fareler (S♀) (n=8).

Hayvanlar deneyler süresince Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda sabit sıcaklık (21-23 °C) ve bağlı nemde (%40-45), 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü sağlanan hayvan odasında barındırılmıştır. Kontrol gruplarındaki hayvanların standart kemirgen yemi (Tablo 2) ve musluk suyuna ad libitum erişimleri sağlanırken, S♂ ve S♀ gruplarındaki hayvanlara standart sıçan yemi ile birlikte %32'lik (w/v) sükröz çözeltisi içme suyu olarak verilmiştir. Sükröz piyasada halihazırda bulunabilen pancardan üretilen aynı marka toz şekerin temini ile sağlanmıştır. Deney hayvanları sükröz çözeltisi ile 14 hafta boyunca beslenmiştir. Sükröz çözeltisi ve sadece musluk suyu içeren suluklar haftada iki kere değiştirilmek suretiyle, eşit hacimde tüm kafeslere verilmiştir. Özellikle şekerli suluklardaki bakteri üremesini engellemek için her suluk değişiminde tüm suluklar yıkanmıştır.

Metabolik Parametrelerin Takibi

Hayvanlar laboratuvara alınır alınmaz vücut ağırlığı ve açlık kan şekeri düzeyleri ölçülmüştür. Deneye dahil edilen hayvanların başlangıç ağırlıkları ve açlık kan glikoz düzeyleri gruplar arasında fark olmamasına özen gösterilmiştir (p>0,05). Tüm hayvanların sıvı tüketimleri haftada iki kez, yem tüketimleri ise haftada bir kez ölçülerek kayıt altına alınmıştır.

Birinci ayın sonunda hayvanların insülin hassasiyetinin tayini için oral glikoz tolerans testi (OGTT) uygulanmıştır (20). OGTT testi için 6 saat boyunca aç bırakılan hayvanlara 2 g/kg dozunda glikoz çözeltisi [D(+)-Glucose, Merck Millipore Cat.No: 108337; musluk suyunda çözüldü] gavaj yoluyla verilmiştir. Hayvanların gavaj öncesi, gavajı takiben 15, 30, 60 ve 120. dakikalardaki kan glikoz düzeyleri ölçülmüştür. Elde edilen değerlerle kan şekeri-zaman grafikleri çizilerek, eğriler ve eğrilerin altında kalan alan gruplar arasında karşılaştırılmıştır. OGTT ölçümleri protokol sonuna kadar her ay ölçülerek kayıt altına alınmıştır.

Kan glikoz düzeyi kuyruğun uç kısmından yapılan ufak bir kesiyle açığa çıkartılan venöz kan kullanılarak ölçülmüştür. İlk damla doku kalıntılarını uzaklaştırmak için silinmiş, ikinci damlada kan glikoz düzeyi ölçümü glikometre (VitalPlus 2 Blood Glucose Monitoring System) ile gerçekleştirilmiştir.

EKG Ölçümleri

EKG ölçümleri sakrifikasyondan bir hafta önce gerçekleştirilmiştir. Fareler hafif sedasyon altında (Ketamin 50 mg/kg; Ksilazin 10 mg/kg) toprak izolasyonu yapılmış Faraday kafesine alınmıştır. Sağ kol, sol kol ve sol bacağa yerleştirilmek üzere 2 aktif ve 1 toprak olarak görev yapan iğne elektrotlar kullanılarak EKG kayıtları BIOPAC MP35 (Biopac Systems Inc. Kaliforniya, ABD) sistemiyle çevrimiçi olarak kaydedilmiştir. Deney boyunca hafif sedasyon altında olan hayvanlarda hipotermi gelişimini engellemek için aynı sistemin ısıtıcı ünitesi kullanılmıştır. Elde edilen EKG traselerinden, QRS kompleksinin dalga boyu, QRS süresi, P ve T dalgalarının dalga boyu, PR, RR ve QT intervalleri ölçülmüştür. Elde edilen QT intervali değerleri Bazett'in formülü (Formül 1) kullanılarak düzeltilmiş ve QT (QTc) olarak sunulmuştur.

Formül 1: Bazett'in QT intervali düzeltme formülü (6,7).

$$QTc = QT / \sqrt{RR}$$

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için Graph Pad Prism (Prism 8) programı kullanılmıştır. Tüm veri setlerine Shapiro-Wilk testi uygulanarak veri setinin normal dağılım gösterip göstermediği anlaşılmıştır. Denek sayısının da yeterli olması nedeniyle verilerin parametrik test varsayımlarını sağladığı kabul edilmiş, kontrol ve sükröz grubu karşılaştırmaları Bağımsız örneklerde t-testi ile yapılmıştır. Kan şekeri ve vücut ağırlığı gibi tekrarlı olarak takip edilen parametreler için Repeated Measures ANOVA ile analiz yapılmıştır. Veriler ortalama \pm standart sapma halinde sunuldu ve istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

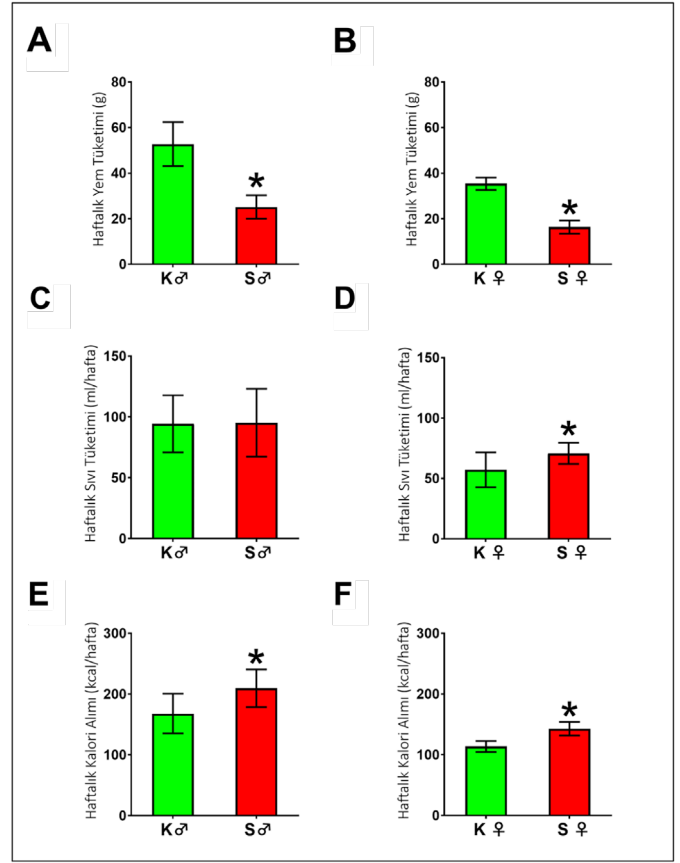
Yem, Sıvı Tüketimi ve Toplam Kalori Alımı

Hayvanların yem, sıvı tüketimi ve toplam kalori alımı değerleri Şekil 2'de sunulmuştur. Haftalık yem tüketimi hem erkek hem de dişi sükröz gruplarında kontrole göre anlamlı düzeyde azalma göstermiştir (sırasıyla $p < 0,0001$; $p < 0,0001$). Erkek farelerde sıvı tüketimi gruplar arasında fark göstermezken ($p = 0,9252$), dişi farelerde sükröz grubunda sıvı tüketimi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olarak bulunmuştur ($p = 0,002$). Tablo 2'de verilen içeriklere göre hesaplanan toplam kalori alımı değerleri karşılaştırıldığında hem dişi hem de erkek farelerde sükröz gruplarının kontrole göre daha fazla kalori aldıkları anlaşılmıştır (sırasıyla $p = 0,0035$; $p < 0,0001$).

Hayvan Takip Parametreleri

Vücut Ağırlıkları

Hayvanların vücut ağırlıkları deney protokolü boyunca haftalık olarak takip edilmiştir (Şekil 3). Hayvanların başlangıç



Şekil 2: Hayvanların yem, sıvı tüketimleri ve toplam kalori alımları. Tüketim ve kalori alımı değerleri hayvan başına ve haftalık olarak hesaplanmıştır. A) Erkek farelerde yem tüketimi, B) Dişi farelerde yem tüketimi, C) Erkek farelerde sıvı tüketimi, D) Dişi farelerde sıvı tüketimi, E) Erkek farelerde haftalık kalori alımı, F) Dişi farelerde haftalık kalori alımı değerleri (Ort. \pm SS; *: $p < 0,05$ vs. Kontrol)

Ort.: Ortalama, SS: Standart sapma, K: Kontrol, S: Sükröz

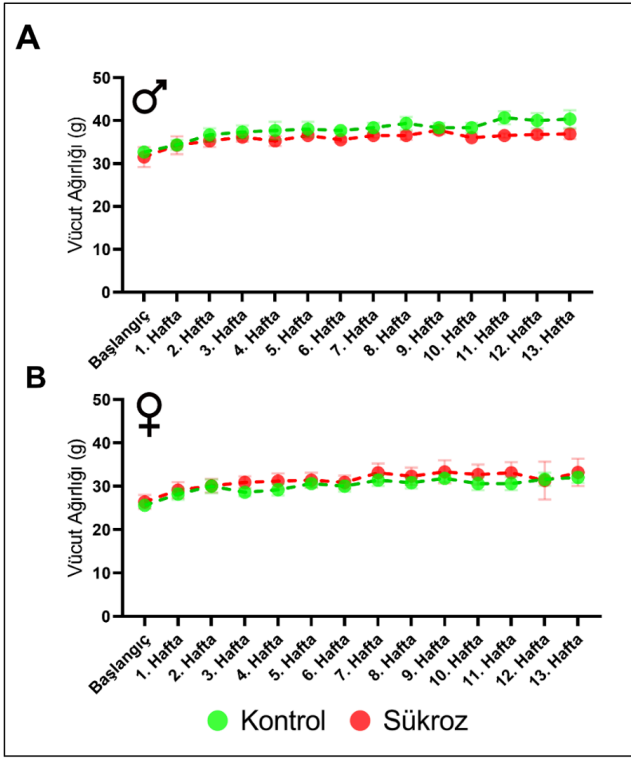
ağırlıklarında gruplar arasında fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Deney boyunca haftalık yapılan ölçümlerde her iki cinsiyette de gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Açlık Kan Glikozu

Hayvanların açlık kan glikozu düzeyleri aylık olarak takip edilmiştir (Şekil 4). Sükröz ile beslenen erkek farelerin kan glikoz düzeyleri, erkek kontrollere göre yüksek seyretmiştir. Aradaki bu fark dördüncü ayda istatistiksel açıdan anlamlılık kazanmıştır ($p = 0,0004$). Dişi farelerde ise kan glikozu düzeyleri deney boyunca gruplar arasında fark göstermemiştir ($p > 0,05$).

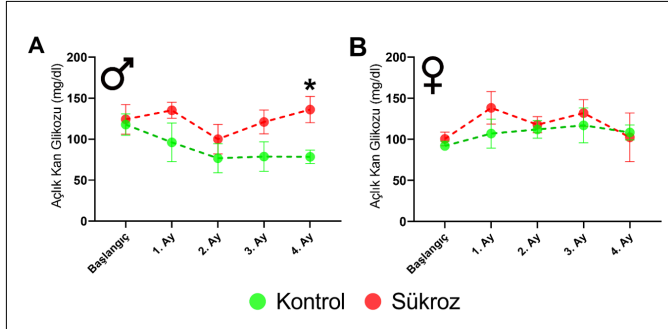
OGTT

OGTT ölçümü aylık olarak yapılmış ve Şekil 5'te verilmiştir. Erkek farelerde ilk ölçümden itibaren kontrol ve sükröz grupları arasında anlamlı farklılık gözlenmiştir. Birinci ölçümde 30., 60. ve 90. dakikalarda; ikinci ölçümde 15., 30. ve 60. dakikalarda; üçüncü ölçümde ise 0., 15., 30. ve 120. dakikalarda istatistiksel



Şekil 3: Hayvanların haftalık vücut ağırlığı ortalamaları. A) Erkek farelerin ağırlık ortalamaları, B) Dişi farelerin ağırlık ortalamaları (Ort. ± SS)

Ort.: Ortalama, SS: Standart sapma



Şekil 4: Hayvanların açlık kan glikozu düzeyleri (6 saatlik açlık sonrasında ölçülmüştür). A) Erkek farelerin açlık kan glikozu düzeyleri, B) Dişi farelerin açlık kan glikozu düzeyleri (*: p<0,05 vs. Kontrol; Ort. ± SS)

Ort.: Ortalama, SS: Standart sapma

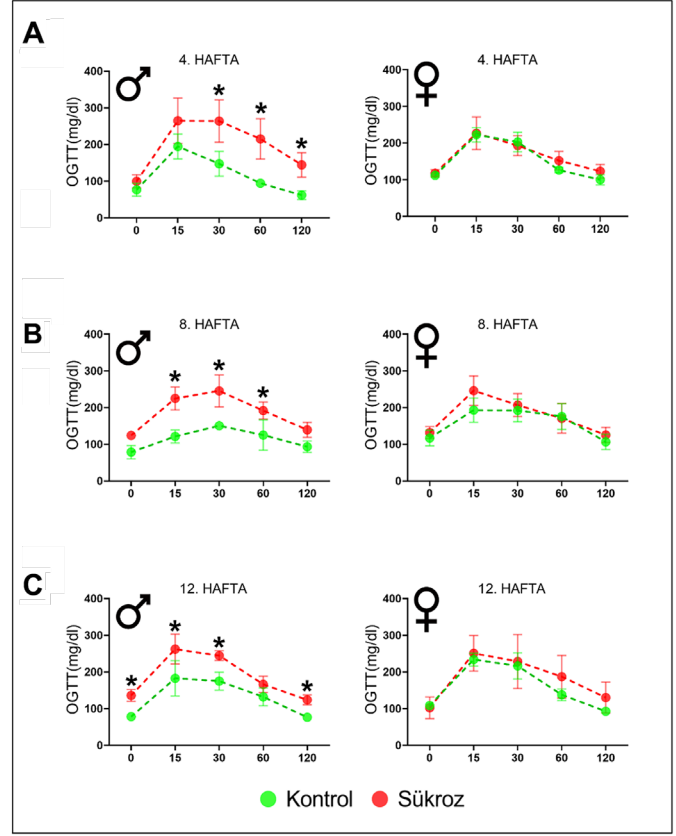
olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0,05). Dişi farelerde ise hiçbir ölçümde eğriler arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (p>0,05).

EKG Parametreler

EKG analizinden elde edilen atriyum ile ilgili parametreler Şekil 6 ve 7'de verilmiştir.

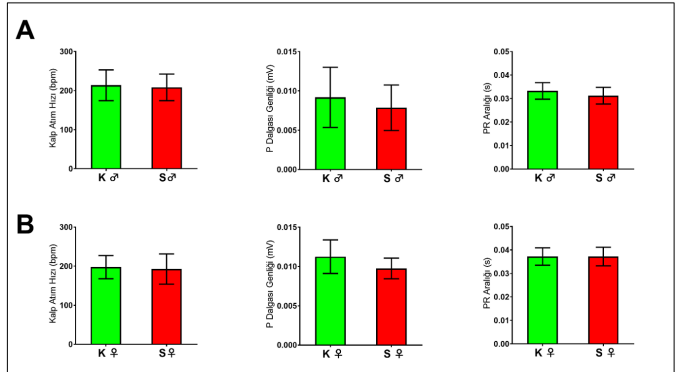
Atriyal Parametreler

Atriyumun elektriksel özelliklerini değerlendirmek amacıyla kalp atım hızı, P dalgası genliği ve PR aralığı parametreleri



Şekil 5: Oral glikoz tolerans testi sonuçları. A) Birinci ölçüm sonuçları. Sırasıyla erkek ve dişi fareler. B) İkinci ölçüm sonuçları. Sırasıyla erkek ve dişi fareler. C) Üçüncü ölçüm sonuçları. Sırasıyla erkek ve dişi fareler (*: p<0,05 vs. Kontrol; Ort. ± SS)

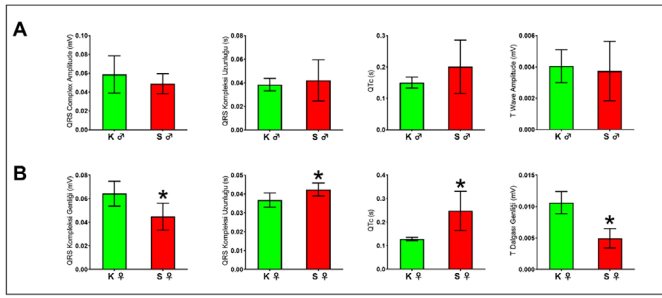
Ort.: Ortalama, SS: Standart sapma



Şekil 6: Dişi ve erkek hayvanların EKG kayıtlarının analizinden elde edilen atriyum ile ilgili parametreler. A) Erkek hayvanların sırasıyla kalp atım hızları (bpm), P dalgası genlikleri (mV) ve PR aralığı (s) değerleri. B) Dişi hayvanların sırasıyla kalp atım hızları (bpm), P dalgası genlikleri (mV) ve PR aralığı (s) değerleri (*: p<0,05 vs. Kontrol; Ort. ± SS)

EKG: Elektrokardiyografi, Ort.: Ortalama, SS: Standart sapma

incelenmiştir. Hem erkek hem de dişi hayvanlar her üç atriyal parametre (kalp atım hızı, P dalgası genliği ve PR aralığı) için de kontrol ve sükroz grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farka rastlanmamıştır (p>0,05). Her iki cinsiyet için



Şekil 7: Dişi ve erkek hayvanların EKG kayıtlarının analizinden elde edilen ventrikül ile ilgili parametreler. A) Erkek hayvanların sırasıyla QRS kompleksi genlikleri (mV), QRS kompleksi uzunlukları (s), QTc (s) değerleri ve T dalgası genlikleri (mV). B) Dişi hayvanların sırasıyla QRS kompleksi genlikleri (mV), QRS kompleksi uzunlukları (s), QTc (s) değerleri ve T dalgası genlikleri (mV) (*: $p < 0,05$ vs. Kontrol; Ort. \pm SS)

EKG: Elektrokardiyografi, Ort.: Ortalama, SS: Standart sapma

üç atriyal parametrede (kalp atım hızı, P dalgası genişliği ve PR aralığı) sükroz ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Ventriküler Parametreler

Erkek hayvanların tüm ventriküler parametreleri kontrol ve sükroz grupları arasında fark göstermezken ($p > 0,05$). Dişi hayvanlarda sükroz grubunda kontrol hayvanlarına kıyasla QRS kompleksi genişliğinin azaldığı ($p = 0,027$), QRS kompleksi uzunluğunun arttığı ($p = 0,0407$), QTc değerinin uzadığı ($p = 0,0286$) ve T dalgası genişliğinin azaldığı ($p = 0,0007$) belirlenmiştir.

Tartışma

Çalışmamızda elde edilen veriler 14 hafta boyunca içme suyu olarak %32'lik sükroz çözeltisi tüketen erkek farelerde Mets'nin en önemli bileşenlerinden olan insülin direncinin geliştiğini açıkça göstermektedir. İnsülin direnci ilk ayın sonunda gelişmiş ve çalışma boyunca varlığını korumuştur. Dişi farelerden elde edilen veriler 14 hafta boyunca insülin direncinin gelişmediğine işaret etmektedir. İnsülin direnci gelişimine rağmen erkek farelerin EKG parametrelerinde kontrole göre bir değişim görülmezken, metabolik açıdan bozulma görülmeyen dişi farelerde sükroz grubunda uzamış QTc değerlerine rastlanmıştır.

Hayvanların yem ve içecek tüketimleri çalışma boyunca düzenli olarak takip edilmiş elde edilen veriler ile toplam kalori alımları hesaplanmıştır. Sükroz alan hayvanların yem tüketimi her iki cinsiyette de kontrole göre anlamlı düzeyde azalmıştır. Kemirgenlerde yeme/içme davranışı toplam kalori alımı üzerinden kontrol edilmektedir. Sükroz alan hayvanlar yem tüketimini azaltarak toplam kalori alımını dengede tutmaya çalışmaktadır. Literatürde şeker alan hayvanlarda yem tüketiminin azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (21-23). Elde ettiğimiz sonuçların bu çalışmalar ile uyumlu olduğu

görülmektedir. Hayvanların yem tüketimini azaltarak toplam kalori alımındaki değişimi engellediğini de gösteren çalışmalar mevcuttur (21). Ancak çalışmamızda toplam kalori alımı hem dişi hem de erkek farelerde sükroz gruplarında artış göstermiştir. Çalışmamızda sıvı tüketimleri de takip edilmiş erkek farelerin kontrol grubu kadar sıvı tükettikleri dişilerin ise kontrol hayvanlarına göre daha fazla sıvı tükettikleri gözlenmiştir. Sükroz grubundaki hayvanların en az kontrol hayvanları kadar sıvı tükettiklerini gözlemlemek önemlidir. Çünkü hayvanlar yüksek şekerli çözeltileri içmekte problem yaşayabilmektedir (24). Laboratuvarımızda daha önce yapılmış çalışmalarda musluk suyu ve değişik konsantrasyonlardaki şekerli su çözeltileri hayvanlara aynı anda sunulmuş ve tüketimleri takip edilmiştir. Hayvanların tüketebildiği en yüksek konsantrasyonun %32'lik sükroz çözeltisi olduğu tespit edilmiştir (veriler sunulmamıştır). Ek olarak hayvanların şeker çözeltisini düzenli ve yeterli miktarda tüketmesi için dikkat edilecek en önemli unsur çözeltinin sık aralıklarla hazırlanması ve sulukların titizlikle yıkanmasıdır. Şekerli su içerisinde üreyen bakteriler suyun tadını değiştirerek hayvanların içmesini engelleyebilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda suluklar haftada iki kere değiştirilerek temizlenmiştir.

Hayvanların ağırlıkları hem dişi hem de erkek fareler için kontrol ve sükroz grupları arasında fark göstermeden seyretmiştir. Literatürde şekerle besleme sonrası ağırlıkların değişmediğini gösteren çalışmalar vardır (23,25). Sonuçlarımız bu çalışmalarla uyumlu olmakla birlikte, literatürde şeker ile besleme sonrası şeker alan grupta ağırlık artışı bildiren çalışmalara da rastlanmıştır (21,22,26). Ek olarak, verilerimizin toplam kalori alımının sükroz grubunda arttığına işaret etmesi ancak sükroz grubunda ağırlık artışının görülmemesi çelişkili bir durum oluşturmaktadır. Bu çelişkili durumu iki şekilde açıklamak mümkündür. Literatürde artmış şeker alımının lokomotor aktiviteyi artırdığına dair bulgular mevcuttur (27). Şekere bağlı lokomotor aktivite artışı ekstra enerji alımını dengelemiş olabilir. Ancak çalışmamızda lokomotor aktivitenin ölçülmemiş olması nedeniyle bu konuda net bir yorum yapılamamaktadır. İkinci olarak, hayvanların toplam ağırlıkları değişmese de yağ/kas ağırlığı oranlarında bir değişim meydana gelmiş olabilir. Mets'de yağ kitlesinin arttığı bilinmektedir (28), ek olarak deney hayvanı modellerinde de çeşitli yollarla yağ kitlesi ölçülerek kontrol hayvanları ile karşılaştırılmış ve artışı gösterilmiştir (21,22). Çalışmamızda yağ kitlesinin ölçülmemiş olması çalışmamızın bir diğer kısıtlılığını oluşturmaktadır.

OGTT ve açlık kan şekeri düzeyleri insülin direncinin en önemli göstergelerindedir (20). Dişi farelerden oluşan sükroz gruplarında hem OGTT hem de kan şekeri düzeyleri çalışma boyunca kontrol grubuna göre fark göstermemiştir. Horton ve ark. (29) Wistar cinsi dişi sıçanlarla yaptıkları çalışmada sıçanları %68 sükroz içeren yem ile beslemişler ancak metabolik parametrelerde bozulma tespit etmemişlerdir. Pettersson ve

ark. (30) dişi ve erkek C57Bl/6 farelerle yaptıkları çalışmada fareleri yüksek yağlı diyetle beslemişler ve dişi farelerin MetS geliştirmediklerini bildirmişlerdir. Literatürde Balb/c cinsi farelerin dişileri ile yapılan bir sükröz besleme çalışmasına rastlanmamıştır. Çalışmamız bu yönüyle özgünlük taşımaktadır. Erkek farelerde ise ilk aydan itibaren OGTT eğrileri sükröz ve kontrol arasında fark göstermiş, deney boyunca bu fark korunmuştur. Ek olarak açlık kan şekeri düzeyleri dördüncü ayda yapılan ölçümde sükröz grubunda daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, erkek farelerde sükröz alımı ile birlikte insülin direncinin hızlı ve geri dönüşsüz bir şekilde geliştiğini göstermektedir. Literatürde şeker ile beslenen kemirgenlerde benzer sonuçlar bildiren çalışmalara rastlanmaktadır (25). Ayrıca erkek Balb/c farelerde de benzer sonuçlar bildiren az sayıda çalışma bulunmaktadır (18,19). Sonuçlarımız genel olarak ele alındığında, dişi farelerin erkek farelere kıyasla sükrözün zararlı metabolik etkilerine karşı daha dirençli olduklarını söylemek mümkündür. Öte yandan elde edilen sonuçlar MetS tanısı koyduracak kadar parametreyi kapsamamaktadır. Tam bir MetS modeli geliştirildiğinin ispatı için hayvanların lipid profilleri, kan basınçları, insülin düzeyleri ve vücut kompozisyonları ölçülerek değerlendirilmelidir. Bu haliyle çalışmamızı MetS modeli olarak değil bir insülin direnci modeli olarak sınıflandırmak daha doğru olacaktır.

EKG parametreler atriyal ve ventriküler parametreler olarak ikiye ayrılarak sunulmuştur. Atriyal parametreler hem dişi hem de erkek farelerde kontrol ve sükröz grupları arasında fark göstermemiştir. Ventriküler parametreler ise erkek farelerde kontrol ve sükröz arasında fark göstermezken dişilerde tüm ventriküler parametrelerde anlamlı değişimler görülmüştür. Çalışmamızda erkek farelerdeki QTc değerleri sükröz grubunda daha yüksek bulunmuştur ancak gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir. Dişi farelerde QTc değerleri sükröz grubunda kontrole göre anlamlı derecede uzundur. Literatürde cinsiyetin QTc ve UQTS üzerindeki etkilerini farklı açılardan inceleyen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Yetişkin erkeklerin QTc değerleri kadınlara göre daha kısadır (31). Puberte öncesi bu fark gözlenmediği için farkın temelinde cinsiyet hormonlarının olduğu düşünülmektedir (32). Ancak mekanizmanın bütünü henüz açıklığa kavuşturulmamıştır. Testosteronun ICa_L akımını azalttığı ve aynı anda potasyum kanal akımlarını da artırarak QTc süresini kısalttığı hem hayvan modelleri hem de insan çalışmalarında gösterilmiştir (33). Kadınlardaki progesteron düzeyinin QTc süresini kısaltıcı etki yaptığı bildirilmiştir. Hatta bu etki nedeniyle menstrüel döngü süresince QTc süresi değişkenlik göstermektedir (34,35). Endojen östrojenin etkileri ile ilgili çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Hayvan modellerinde östrojenin QTc'yi uzattığı gösterilmiş ancak bu sonuçlar insan verisi ile desteklenmiştir. Östrojenin potasyum akımını azaltarak QTc süresini uzattığı düşünülmektedir (36-38). Çalışmamızda dişi farelerin menstrüel döngüleri takip edilememiş olması ve

cinsiyet hormonu düzeylerinin ölçülememesi çalışmamızın önemli kısıtlılıklarından birisini oluşturmaktadır. Elde edilen sonuçlar dişilerin kardiyak ileti sisteminin metabolik bozulma olmaksızın bağımsız olarak şeker tüketiminden olumsuz etkilendiğini düşündürmektedir. Yüksek şeker alımı vücuda iki yolla zarar verir. Karbonhidrattan zengin beslenme insülin direnci, MetS veya diyabet gibi patolojilere neden olur. Bu patolojileri kalp üzerindeki olumsuz etkileri bilinmektedir. Ancak dişi farelerde herhangi bir metabolik bozulma olmaksızın QT uzaması görülmesi paradoksal bir duruma işaret etmektedir. Bu noktada şeker alımının vücuda zarar verdiği ikinci yolu tanımlamak gerekmektedir. Şekerler özellikle de früktoz molekülü metabolik hasar yaratmadan da sadece vücuttaki varlığı ile hücre ve dokulara zarar verebilir. Şekerler glikasyon dediğimiz bozulma reaksiyonlarına neden olur. Glikasyon reaksiyonu hem hücresel proteinlerin yapılarını bozar hem de açığa çıkan ileri glikasyon ürünlerinin etkileri ile hücresel hasara yol açar (39). İn vitro ortamda sadece şeker moleküllerinin tek başına zararlı etkilerinin gösteren çalışmalara rastlamak mümkündür (40-42). Benzer sonuçlar laboratuvarımızda H9c2 hücreleri hiperglisemik ortamda kültüre edilerek gösterilmiştir (43). Buradan hareketle dişi farelerde gözlenen QT uzamasının şekerin metabolik etkilerinden bağımsız olarak kardiyak elektrofizyolojik parametrelere direkt olarak etki etmesi ile ilişkili olduğu düşünülebilir. Erkek farelerde benzer bir fenotipin görülmemesi dişilerin şekerlerin kalp üzerindeki zararlı etkilerine karşı daha hassas olduğuna işaret edebilir. Elbette çalışmamızın kısıtlı verileri sunulan hipotezleri kesin olarak doğrulayacak seviyede değildir. Ancak ilerleyen çalışmalarda dişi erkek farkının altında nedenlerin, şeker moleküllerinin direkt etkilerinin izole organ ve hücre kültürü sistemlerinde incelenmesinin yararlı olabileceğine işaret etmektedir.

UQTS genetik bileşeni nedeniyle günümüze kadar kanal aktivitesinde değişmelere neden olan mutasyonlar düzleminde incelenegelmiştir. Ancak QT uzaması metabolik bozulmaların ya da beslenmeye bağlı çeşitli değişikliklerin kardiyak parametrelerde yarattığı sessiz değişimin bir habercisi olarak kullanılabilir. Ramirez ve ark. (44) acil servise başvuran hastaların EKG kayıtları üzerinde yaptıkları geniş kapsamlı çalışmada diyabet tanısı almış hastaların QTc değerlerinin diğerlerine göre anlamlı düzeyde uzun olduğunu bildirmişlerdir. Hatta diyabette görülen ani ölümlerin bu uzama ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Ancak QT uzamasını potansiyelinin anlaşılabilmesi için özellikle iyon kanalları somutunda çok sayıda yeni çalışma yapılması gerektiği açıktır.

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamızda şeker moleküllerinin direkt etkilerinin izole organ ve hücre kültürü sistemlerinde izlenmemiş olması şekerin direkt etkisi hakkında spekülasyon yapmayı zorlaştırmaktadır. Her ne kadar EKG ölçümleri kalbin elektrofizyolojik özellikleri

hakkında bilgi verse de kardiyomiyosit düzeyinde gerçekleşen elektrofizyolojik değişimlerin izlenmesi için patch-clamp gibi ileri yöntemlerin kullanılması gerekmektedir. Çalışmamız kapsamında bu ölçümler gerçekleştirilememiştir.

SONUÇ

Çalışmamızda diyabet veya insülin direnci tanısı konulmamış dişi farelerde şeker ile beslenmeye bağlı QT uzaması beslenmenin de QTc değeri üzerinde etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde ketojenik diyet (yüksek protein, düşük karbonhidrat) ile beslenen kişilerde de QT intervali uzaması bildiren çalışmalara rastlamak mümkündür (45,46). İlerleyen çalışmalarda farklı diyet modellerinin kalbin elektriksel sistemi üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması hatta bu etkilerin hücre düzeyinde yarattığı akım ve kanal yoğunluğu temelinde değerlendirilmesinin yararı açıktır. Araştırmamız bu çalışmalara öncülük etmesi ve beslenme-kardiyak elektrofizyoloji aksının kurulması konusunda yapılacak araştırmalar için model önermesi bakımında özgünlük ve önem taşımaktadır.

Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışmamızda kullanılan deney hayvanları ve uygulanan deneysel protokoller için Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (AÜ-HADYEK) izin alınmıştır (karar no.: 2023-16-155, tarih: 13.09.2023).

Hasta Onayı: Hayvan deneyi çalışması olduğu için hasta onayına gerek yoktur.

Yazarlık Katkıları

Konsept: F.A., L.A., S.Ş., E.A.A., E.T., Dizayn: F.A., E.T., Veri Toplama veya İşleme: F.A., L.A., S.Ş., E.A.A., E.T., Analiz veya Yorumlama: F.A., L.A., S.Ş., E.A.A., E.T., Literatür Arama: F.A., E.T., Yazan: F.A., E.T.

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek: Bu çalışma TÜBİTAK SBAG-222S502 no'lu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Beltrán-Sánchez H, Harhay MO, Harhay MM, et al. Prevalence and trends of metabolic syndrome in the adult U.S. population, 1999-2010. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62:697-703.
- Onat A, Can G, Yüksel H, et al., TEKHARF 2017 Tıp dünyasının kronik hastalıklara yaklaşımına öncülük. İstanbul: Logos Yayıncılık. 2017:104-19.
- Conn PM. *Animal models for the study of human disease.* Academic Press. 2017.
- Han TS, Lean ME. A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *JRSM Cardiovasc Dis.* 2016;5:2048004016633371.
- Shah SR, Park K, Alweis R. Long QT Syndrome: A Comprehensive Review of the Literature and Current Evidence. *Curr Probl Cardiol.* 2019;44:92-106.
- Bazett H. An Analysis of the Time Relationships of Electrocardiograms. *Annals of Noninvasive Electrocardiology.* 1997;2:177-194.

- Dahlberg P, Diamant UB, Gilljam T, et al. QT correction using Bazett's formula remains preferable in long QT syndrome type 1 and 2. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2021;26:e12804.
- Syndrome NWT. Genetic and Rare Diseases Information Center (GARD)-An NCATS Program. 2022.
- Roden DM. Long-QT Syndrome. *New England Journal of Medicine.* 2008;358:169-176.
- Splawski I, Shen J, Timothy KW, et al. Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes. KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1, and KCNE2. *Circulation.* 2000;102:1178-1185.
- Vink AS, Clur SB, Wilde AAM, et al. Effect of age and gender on the QTc-interval in healthy individuals and patients with long-QT syndrome. *Trends Cardiovasc Med.* 2018;28:64-75.
- Schwartz PJ, Periti M, Malliani A. The long Q-T syndrome. *Am Heart J.* 1975;89:378-390.
- Aromolaran AS, Boutjdir M. Cardiac Ion Channel Regulation in Obesity and the Metabolic Syndrome: Relevance to Long QT Syndrome and Atrial Fibrillation. *Front Physiol.* 2017;8:431.
- Scherer PE, Hill JA. Obesity, Diabetes, and Cardiovascular Diseases: A Compendium. *Circ Res.* 2016;118:1703-1705.
- Surawicz B, Parikh SR. Prevalence of male and female patterns of early ventricular repolarization in the normal ECG of males and females from childhood to old age. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:1870-1876.
- Curtis AB, Narasimha D. Arrhythmias in women. *Clin Cardiol.* 2012;35:166-171.
- Wong SK, Chin KY, Suhaimi FH, et al. Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutr Metab (Lond).* 2016;13:65.
- Apryatin SA, Mzhel'skaya KV, Trusov NV, et al. Biochemical and Morphological Parameters of Inbred/Outbred Lines and DBCB Tetrahybrid Mouse in High-Sugar In Vivo Model of Metabolic Syndrome. *Bull Exp Biol Med.* 2018;166:96-101.
- Santoso P, Amelia A, Rahayu R. Jicama (*Pachyrhizus erosus*) fiber prevents excessive blood glucose and body weight increase without affecting food intake in mice fed with high-sugar diet. *J Adv Vet Anim Res.* 2019;6:222-230.
- King AJG Daniels, M Kennard. *Animal Models of Diabetes: Methods and Protocols.* 2020: Springer.
- Jürgens H, Haass W, Castañeda TR, et al. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obes Res.* 2005;13:1146-1156.
- Aguilera AA, Diaz GH, Barcelata ML, et al. Effects of fish oil on hypertension, plasma lipids, and tumor necrosis factor-alpha in rats with sucrose-induced metabolic syndrome. *J Nutr Biochem.* 2004;15:350-357.
- Shahraki MR, Harati M, Shahraki AR. Prevention of high fructose-induced metabolic syndrome in male wistar rats by aqueous extract of Tamarindus indica seed. *Acta Med Iran.* 2011;49:277-283.
- Spector AC, Smith JC. A detailed analysis of sucrose drinking in the rat. *Physiol Behav.* 1984;33:127-136.
- Oron-Herman M, Kamari Y, Grossman E, et al. Metabolic syndrome: comparison of the two commonly used animal models. *Am J Hypertens.* 2008;21:1018-1022.
- Mamikutty N, Thent ZC, Sapri SR, et al. The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats. *Biomed Res Int.* 2014;2014:263897.
- Sheludiakova A, Rooney K, Boakes RA. Metabolic and behavioural effects of sucrose and fructose/glucose drinks in the rat. *Eur J Nutr.* 2012;51:445-454.
- Elks CM, Francis J. Central adiposity, systemic inflammation, and the metabolic syndrome. *Curr Hypertens Rep.* 2010;12:99-104.
- Horton TJ, Gayles EC, Prach PA, et al. Female rats do not develop sucrose-induced insulin resistance. *Am J Physiol.* 1997;272:R1571-6.
- Pettersson US, Waldén TB, Carlsson PO, et al. Female mice are protected against high-fat diet induced metabolic syndrome and increase the regulatory T cell population in adipose tissue. *PLoS One.* 2012;7:e46057.
- Nakagawa M, Ooie T, Ou B, et al. Gender differences in autonomic modulation of ventricular repolarization in humans. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2005;16:278-284.

32. Stramba-Badiale M, Spagnolo D, Bosi G, et al. Are gender differences in QTc present at birth? MISNES Investigators. Multicenter Italian Study on Neonatal Electrocardiography and Sudden Infant Death Syndrome. *Am J Cardiol.* 1995;75:1277-1278.
33. Sedlak T, Shufelt C, Iribarren C, Merz CN. Sex hormones and the QT interval: a review. *J Womens Health (Larchmt).* 2012;21:933-941.
34. Nakagawa M, Ooie T, Takahashi N, et al. Influence of menstrual cycle on QT interval dynamics. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2006;29:607-613.
35. Rodriguez I, Kilborn MJ, Liu XK, et al. Drug-induced QT prolongation in women during the menstrual cycle. *JAMA.* 2001;285:1322-1326.
36. Saito T, Ciobotaru A, Bopassa JC, et al. Estrogen contributes to gender differences in mouse ventricular repolarization. *Circ Res.* 2009;105:343-352.
37. De Leo V, la Marca A, Agricola E, et al. Resting ECG is modified after oophorectomy and regresses with estrogen replacement therapy in premenopausal women. *Maturitas.* 2000;36:43-47.
38. Saba S, Link MS, Homoud MK, et al. Effect of low estrogen states in healthy women on dispersion of ventricular repolarization. *Am J Cardiol.* 2001;87:354-356.
39. Singh R, Barden A, Mori T, et al. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia.* 2001;44:129-146.
40. Semchshyn HM, Miedzobrodzki J, Bayliak MM, et al. Fructose compared with glucose is more a potent glycoxidation agent in vitro, but not under carbohydrate-induced stress in vivo: potential role of antioxidant and antiglycation enzymes. *Carbohydr Res.* 2014;384:61-69.
41. Grasselli E, Baldini F, Vecchione G, et al. Excess fructose and fatty acids trigger a model of non-alcoholic fatty liver disease progression in vitro: Protective effect of the flavonoid silybin. *Int J Mol Med.* 2019;44:705-712.
42. Midorikawa K, Kobayashi K, Kato S, et al. Oxidative DNA damage: Induction by fructose, in vitro, and its enhancement by hydrogen peroxide. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2024;893:503719.
43. Tuncay E, Bitirim VC, Durak A, et al. Hyperglycemia-Induced Changes in ZIP7 and ZnT7 Expression Cause Zn²⁺ Release From the Sarco(endo)plasmic Reticulum and Mediate ER Stress in the Heart. *Diabetes.* 2017;66:1346-1358.
44. Ramirez AH, Schildcrout JS, Blakemore DL, et al. Modulators of normal electrocardiographic intervals identified in a large electronic medical record. *Heart Rhythm.* 2011;8:271-277.
45. Isner JM, Sours HE, Paris AL, et al. Sudden, unexpected death in avid dieters using the liquid-protein-modified-fast diet. Observations in 17 patients and the role of the prolonged QT interval. *Circulation.* 1979;60:1401-1412.
46. Lantigua RA, Amatruda JM, Biddle TL, et al. Cardiac arrhythmias associated with a liquid protein diet for the treatment of obesity. *N Engl J Med.* 1980;303:735-738.