

Farelerde Yüksek Yağlı Diyetin Karaciğer Karbonik Anhidraz Aktivitesi Üzerine Etkisinin Araştırılması

Investigation of The Effect of High Fat Diet on Liver Carbonic Anhydrase Activity in Mice

Pınar Sarışın^{1,a}, İmran İnce-Akça^{2,b}, Ahmet Alver^{3,c,*}

¹Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Rize, Türkiye

²Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tokat, Türkiye

³Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Trabzon, Türkiye

*Sorumlu yazar e-posta: alver61@yahoo.com

^a<https://orcid.org/0009-0009-3841-662X>

^b<https://orcid.org/0000-0003-2232-3444>

^c<https://orcid.org/0000-0002-9617-6689>

ÖZET

Prokaryotlardan ökaryotlara kadar çok geniş bir dağılıma sahip olan karbonik anhidrazlar (CA, E.C.4.2.1.1, karbonat hidrolizaz), bikarbonatın (HCO₃⁻) dehidrasyon veya (CO₂) karbondioksitin hidrasyonunu dönüşümlü olarak katalizleyen, aktif bölgesinde prostetik grup olarak Zn²⁺ içeren metaloenzimlerdir. Bu enzimler CO₂ taşınması, dokularda elektrolit salgılanması, kemik resorpsiyonu, tümör oluşumu ve idrar asidifikasyonu gibi birçok fizyolojik süreçte görev almaktadır. Çalışmada yüksek yağlı diyetin *de novo* lipid sentezinin öncü bileşiği olan HCO₃⁻'i sentezleyen CA aktivitesi üzerine etkilerinin, fare karaciğerinde incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında, 16 adet erkek C57BL/6J ırkı fare Research Diets' ten alınan yüksek yağlı ve standart fare yemleri ile beslendi. Dört aylık beslenme periyodunun sonunda farelerin ağırlıkları ölçüldü ve dekapitasyon ile sakrifiye edildi. Karaciğer dokuları homojenize edildikten sonra CA aktiviteleri potansiyometrik metod ile ölçüldü. Standart diyet ile beslenen farelerin CA aktivitesi 0.87±0.26 U/mg protein olarak ölçülürken, Yüksek yağlı diyet grubundaki farelerde ise aktivite 0,60±0,15 U/mg protein olarak bulundu (p=0.038). Sonuç olarak, yüksek yağlı diyet kullanımının *de novo* lipid sentezinde öncü bileşiği sentezleyen CA aktivitesini fare karaciğerinde azalttığı ve bu azalışa metabolik ve hormonal değişikliklerin sebep olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer, Karbonik anhidraz, Yüksek yağlı diyet

ABSTRACT

Carbonic anhydrases (CA, E.C.4.2.1.1, carbonate hydrolase), which have a very wide distribution from prokaryotes to eukaryotes, are metalloenzymes containing Zn²⁺ as a prosthetic group in the active site that alternately catalyze the dehydration of bicarbonate (HCO₃⁻) or hydration of carbondioxide (CO₂). These enzymes are involved in many physiological processes such as transport of CO₂, electrolyte secretion in tissues, bone resorption, tumorigenesis and urinary acidification. In this study, it is aimed to investigate of the effect's high fat diet on the activity of CA, synthesized HCO₃⁻ that is the precursor of *de novo* lipid synthesis, in mice liver. Within the study, 16 male C57BL / 6J mice fed with high fat and standard mouse feed from Research Diets. At the end of the four-month feeding period, mice were weighed and sacrificed by decapitation. After the liver tissues were homogenized, CA activities were measured by potentiometric method. The activity of the standard diet fed mice was measured as 0.87±0.26 U/mg protein. For the rats in the high fat dietary group, the activity was 0.60±0.15 U/mg protein (p=0.038). As a result, it was concluded that the use of high-fat diet reduced activity of CA synthesized the precursor substance for *de novo* lipid synthesis in mice live and metabolic and hormonal changes may be caused this decrease.

Keywords: Carbonic anhydrase, High fat diet, Liver

GİRİŞ

Karbonik anhidraz (CA, E.C.4.2.1.1, karbonat hidrolizaz), tüm canlılarda yaygın olarak bulunan, aktif bölgesinde prostetik grup olarak Zn^{2+} içeren, monomerik yapıya sahip bir metaloenzimdir. CA, bikarbonatın (HCO_3^-) dehidrasyon reaksiyonunu veya CO_2 'in hidrasyonunu dönüşümlü olarak katalizler. Bu enzim ilk olarak memeli eritrositlerden 1933 yılında saflaştırılmıştır.^{1,2} CA, yukarıda bahsedilen reaksiyonun yanında karbosilik, sülfonik, karbonik ve fosforik esterlerin, aldehytlerin, piruvatın hidroliz reaksiyonunu da katalizler. Ancak bunların fizyolojik önemi tam olarak ortaya konulamamıştır.³ CA katalizlediği bu reaksiyon ile CO_2 ve bikarbonatın akciğer ve dokular arasında taşınmasında, pH regülasyonunda, dokularda elektrolit salgılanmasında, birçok biyosentez reaksiyonlarında (lipogenez, glukoneogenez vs.), kalsifikasyon, kemik resorpsiyonu, tümör oluşumu, idrar asidifikasyonu gibi birçok fizyolojik ve patolojik süreçlerde yer almaktadır.^{4,5}

CA, prokaryotlardan ökaryotlara kadar oldukça geniş bir dağılıma sahip olmakla beraber, α , β , γ , δ , ϵ , η karbonik anhidrazlar olmak üzere 6 adet birbirinden farklı ve bağımsız gen ailesine sahiptir. Karbonik anhidrazın en fazla bilinen ve aydınlanmış olan sınıfı alfa ailesidir. Alfa ailesinin 16 adet izoenzimi bulunmaktadır. Bunların 13 tanesi aktif izoform (CA I-VA, VB, VI, VII, IX ve XII-XV) ve 3 tanesi inaktif izoformdan (VIII, X, XI) oluşur. CA I, II, III, VII ve XIII sitozolde, CA IV, IX, XII, XIV, XV hücre membranında, CA-VI salgısal, CA-VA ve VB mitokondride bulunur.⁶

Karaciğer yakıt metabolizmasında, sindirimde ve yabancı maddelerin detoksifikasyonu ve eliminasyonunda merkezi ve kritik biyokimyasal rolü olan bir organdır. Sindirim sisteminden gelen kanın tamamı ilk olarak karaciğerden geçer. Burada besinlerin sindiriminden kaynaklanan ürünler işlenir, dönüştürülür ve depolanır. Karaciğer proteinlerin, karbohidratların ve lipidlerin metabolizmasında merkezi role sahiptir.⁷ Karaciğerde *de novo* yağ asidi sentezi için gerekli olan bikarbonatı sağlayan sitozolik CA'lar (CA I, CA II) ve mitokondriyal CA V bol miktarda bulunmaktadır. Ayrıca yakıt metabolizması ile ilişkisi tam gösterilmemiş olmakla beraber CA III enzimi de erkek ve dişi rodentlerin karaciğerinde bulunmaktadır. Yine hepatositlerin membranlarında CA IV enzimi de bulunmaktadır. Bu enzimin hepatositik plazma membranlarında bikarbonat taşınması ile ilgilidir.^{8,9,10}

Bu çalışmada yüksek yağlı diyet kullanımının *de novo* lipid sentezinde öncü bileşiği sentezleyen CA aktivitesi üzerine etkilerinin fare karaciğerinde araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEM

Deney Hayvanları

Yapılan deneylerin tamamı, Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan deneyleri yerel etik kurulunun 2010/39 protokol no'lu etik kurul onayı ile sakrifiye edilmiş hayvanların karaciğerlerinde yapılmıştır. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen C57BL/6J ırkı 16 adet, 4-5 haftalık, 10-15 g ağırlığında erkek farelerden alınan karaciğer dokusu örnekleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan yemler (D12550J ve D12492) Research Diets'ten satın alınmıştır.

Çalışmaya dahil edilen tüm fareler, 15 gün süreyle, kalorininin %70'ini karbohidrattan, %20'sini proteinden, %10'unu yağdan sağlandığı standart fare yemi (D12550J) ile beslendi. Yem ve su *ad libitum* olarak verildi. On beş gün sonra fareler rastgele her grupta 8 adet fare olacak şekilde 2 gruba ayrıldı ve tartım işlemleri gerçekleştirildi.

I. Grup (Kontrol grubu): Kalorisi % 70 karbohidrat, % 20 protein, %10 yağ'dan oluşan standart fare yemi (D12550J) ile beslendi.

II. Grup (Obez grup): Kalorisi %60 yağ, %20 karbohidrat, %20 protein'den oluşan yüksek kalorili yem (D12492) ile beslendi. Farelerin kullandığı yemler D12550J ve D12492 yemlerin içeriği tablo 1 ve tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 1. Standart yemin içeriği

| D12550J kodlu standart sıçan yemi içeriği | g (%) | K. kalori (%) |
|---|-------|---------------|
| Protein | 19.2 | 20 |
| Karbohidrat | 67.3 | 70 |
| Yağ | 4.3 | 10 |
| Toplam kalori | 3.83 | 100 |

Tablo 2. Yüksek kalorili sıçan yeminin içeriği

| D12492 kodlu standart sıçan yemi içeriği | g (%) | K. Kalori (%) |
|--|-------|---------------|
| Protein | 26 | 20 |
| Karbohidrat | 26 | 20 |
| Yağ | 35 | 60 |
| Toplam kalori | 5.24 | 100 |

Toplam dört aylık beslenme periyodunun sonunda, farelerin tartımı gerçekleştirildi ve saat 09:00-10:00 arasında dekapitasyon ile sakrifiye edildi. Alınan serum ve karaciğer dokuları ependorflara konularak analiz sürelerine kadar -80°C'de saklandı.

Karaciğer dokusunda karbonik anhidraz aktivitesinin ölçümü

Karaciğer dokusunda yaklaşık 40 mg alınarak, doku buz içinde bekleyen 500 µL Tris HCl tamponuna (50mM Tris HCl içeren tampon, pH:7.5) konuldu. Dokular buz içinde 10 s süre ile el homojenizatörü ile homojenize edildi. Homojenize doku +4°C'de, 12000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Pellet kısmı uzaklaştırılıp kalan süpernatant ikinci kez 12000 rpm'de +4°C'de santrifüj edildi. Pellet kısmı uzaklaştırılıp, süpernatant kısmında enzim ve protein ölçümü yapıldı.

Karbonik anhidraz hidrataz aktivitesi Wilbur-Anderson metodu ile potansiyometrik olarak ölçüldü.¹¹ Bu yöntem, 20 mM Tris-Baz tamponunun 0°C'de, pH'nın 8.3'ten 6.3'e düştüğü ana kadar geçen zamanın ölçülmesi esasına dayanır. Enzim katalizsiz sürenin (kör) yarısını veren CA aktivitesi, 1 Enzim ünitesi (1 Enzim ünitesi: Wilbur-Anderson ünitesi) olarak kabul edildi. $EU = t_0 - t_c / t_c$ formülü kullanılarak enzim aktivitesi hesaplandı (t_c : Enzimatik Reaksiyonların pH Değişim Süresi (saniye), t_0 : Enzimatik Olmayan Reaksiyonlardaki pH Değişim Süresi, EU: Enzim Ünitesi (Wilbur-Anderson ünitesi). Sonuçlar EU/mg protein olarak ifade edildi. Ölçüm yönteminin %CV değeri %5.7 olarak bulundu.

Serum glukoz, TAG ve insülin ölçümü

Deneyde kullanılan farelerden elde edilen serum örneklerinde glukoz ve triaçilgliserol (TAG) ölçümleri Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya laboratuvarındaki otoanalizatörlerde gerçekleştirildi. İnsülin değerleri ise üretici firmanın önerdiği protokole göre ticari ELISA kiti (Ultra Sensitive Mouse ELISA, Crystal Chem. USA) kullanılarak belirlendi.

İstatistiksel analiz

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edildi. İkili karşılaştırmalar Mann-

Whitney U testi ile yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

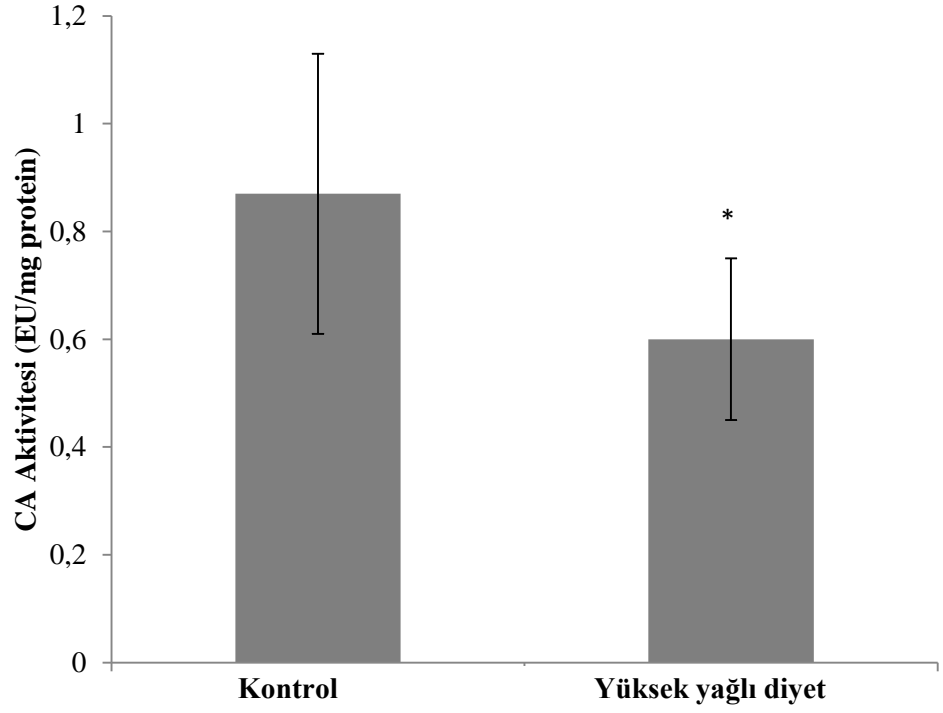
Dört aylık besleme periyodunun sonunda, farelerde gözlenen ağırlık, serum glukoz, TAG, insülin değerleri Tablo 3'te verilmiştir. Farelerin son ağırlıkları yüksek yağlı diyetle beslenenlerde, kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p < 0.0001$). Açlık serum glukoz değerleri kontrol grubunda, yüksek yağlı diyetle beslenen farelere göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük bulundu ($p = 0.049$). Kontrol farelerin serum TAG değerleriyle yüksek yağ içerikli diyetle beslenen farelerin TAG değerleri karşılaştırıldığında obez grupta istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($p = 0.015$). Serum insülin düzeyleri karşılaştırıldığında, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde insülin değerinin, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi ($p = 0.017$). Sonuçlar beraber değerlendirildiğinde, yüksek yağlı diyet kullanımının, farelerde hiperglisemik, hiperinsülinemik ve hipertrigliseridemik bir obez durumu tetiklediği görülmektedir.

Tablo 3. Deney gruplarında ağırlık ve serum parametrelerinin değerleri

| | Kontrol (Standart diyet) | Obez (Yüksek yağlı diyet) |
|-----------------------|---|--|
| Başlangıç ağırlık (g) | 16.5 ± 1.1 | 17.2 ± 0.8 |
| Son ağırlık (g) | 26.6±2 | 35.4±6* |
| Glukoz (mg/dL) | 132±34 | 162±32* |
| Trigliserit (mg/ml) | 84±14 | 105±17* |
| İnsülin (mg/dL) | 4.06±2.1 | 9.34±6* |

*Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

Karaciğer dokusunda yapılan CA aktivite ölçümlerinde standart diyet ile beslenen farelerdeki CA aktivitesi 0.87 ± 0.26 U/mg protein olarak ölçülmüştür. Yüksek yağlı diyet grubundaki farelerde ise aktivite 0.60 ± 0.15 U/mg protein olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p = 0.038$). Elde edilen sonuçlar şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Deney gruplarındaki CA aktivitesi (*p=0.038)

TARTIŞMA

Karaciğer *de novo* yağ sentezinin merkezi organıdır. *De novo* yağ asitlerinin sentezinde, asetil CoA karboksilaz enziminin katalizlediği, asetil CoA'nın bikarbonat ile birleştirildiği basamak sentezin kontrol noktasıdır. Sentez bikarbonat sağlandığı sürece devam etmektedir. Bikarbonat da karaciğerde bulunan CA izoenzimlerince sağlanır. Karaciğerde çeşitli CA izoenzimleri bulunmakla beraber, *de novo* lipit sentezinde özellikle CA II, CA VA, CA VB ve kısmen CA I'in katkısı bulunmaktadır. Diğer izoenzimlerin bikarbonat taşınması, proton tedariki ve pH regülasyonu gibi rolleri vardır. Ancak bu izoenzimler için net bir fonksiyon tanımlanması oldukça zordur.^{12,13}

Karbonik anhidraz izoenzimleri tarafından katalizlenen reaksiyonlar ile prüvat karboksilaz, asetil-CoA Karboksilaz ve Karbamoil fosfat sentetaz I ve II'ye bikarbonat sağlanır. *De novo* lipogeneze yeterli substratı sağlamak için asetil gruplarının mitokondriden sitozole taşınması gerekir. Fakat mitokondri membranının asetil-CoA'ya geçirgenliği yoktur. Bu taşınma asetil-CoA'nın okzaloasetatla birleşerek sitrat oluşturması ile gerçekleşir. Pirüvat, bikarbonat ile pirüvat karboksilaz enzimi sayesinde karboksillenerek okzalata dönüşür. Bu olay için gerekli olan bikarbonat karbonik anhidraz

izoenzimi olan CA VA veya VB tarafından sağlanır. Okzalatın asetil-CoA ile reaksiyonu sonucunda oluşan Sitrat, trikarboksilik asit taşıyıcıları ile sitozole taşınır. Burada sitrat ATP sitrat liyaz tarafından asetilCoA'ya dönüştürülür (Reaksiyon sonunda oluşan okzalat dekarboksilasyon sonucu pirüvata dönüşerek pirüvat taşıyıcıları ile mitokondriye taşınır). Asetil-CoA *de novo* lipogenez için sitozolde kullanılır. Asetil-CoA, asetil-CoA karboksilaz ve bikarbonat ile malonil-CoA'ya dönüşür. Bu olay için gereken bikarbonat CA II izoenzimi ile CO₂'nin bikarbonata dönüşümü ile sağlanır. Bu reaksiyonlarla yağ zinciri uzatılır. Sonuç olarak karbonik anhidraz izoenzimlerinin birkaçı yağ asitleri biyosentezinde rol alır. Bu izoenzimler: mitokondride CA VA ve VB izoenzimleri (prüvat karboksilaz için yeterli substrat sağlar) ve sitozoldeki CA II izoenzimidir (asetil-CoA Karboksilaz için gereken substratı sağlar).¹⁴

Yukarıda da bahsedildiği gibi karaciğerde çeşitli CA izoenzimleri bulunmaktadır. Bunların katalitik aktiviteleri birbirinden farklı olmakla beraber hepsinin hidrataz aktivitesi vardır.^{1,2} Çalışmada potansiyometrik olarak ölçtüğümüz hidrataz aktivitesine hangi izoenzimin ne kadar katkı verdiğini net olarak söylemek mümkün değildir. Ancak CA izoenzimlerinin doku

dağılımları ve lokalizasyonları göz önüne alındığında, CA II'nin katkısının yüksek olması muhtemeldir.

Çalışmamızda dört ay süre ile yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde karaciğer total CA aktivitesinin normal diyet ile beslenen farelere göre daha düşük olduğunu bulduk (p=0.038, şekil 1). Karaciğerde *de novo* lipit sentezi tokluk safhasında, karbohidratlar ve lipitler bol iken sentezlenir ve diğer dokuların kullanımı için perifer dokulara taşınır. Yüksek yağlı diyet ile beslenmeye bağlı olarak vücuda bol miktarda yağ asidi ve lipit karakterli bileşikler alındığı için lipitlerin *de novo* sentezinin baskılanmasına bağlı olarak CA aktivitesi de baskılanmış olabilir. Ayrıca, çalışmamızda kullandığımız yüksek yağlı diyet ile beslenen fareler hiperglisemik, hiperinsülinemik ve hipertrigliseridemik bir metabolik durumda bulunduğu için (tablo 3) gelişen insülin direnci de CA aktivitesinde azalmaya sebep olabilir. Benzer şekilde deneysel olarak hayvanlarda oluşturulan diyabet modellerinde de CA aktivitesi kontrollere göre daha düşük bulunmuştur. Özellikle bu düşüşün CA III izoenziminde daha belirgin olduğu belirtilmiştir.¹⁴

Rodentlerde, CA izoenzimlerinin karaciğerde sentezi hormonlar tarafından da kontrol edilmektedir. CA II sentezi fare karaciğerinde testosteron tarafından azaltılırken, östrojen tarafından artırılır. Bu regülasyon CA III izoenzimi için tam tersi şekilde gerçekleşmektedir. Testosteron tarafından artırılırken östrojen tarafından azaltılır. Dolayısıyla bu enzimlerin sentez seviyeleri erkek ve dişi fare karaciğerlerinde farklıdır. Cinsiyet nedeniyle sentez farkı CA III için yaklaşık 10-20 kat iken CA II için 3 kat kadardır. Fakat hem dişi hem erkek farelerin karaciğerlerinde total karbonik anhidraz aktivitesi aynıdır. Bu durum fare karaciğerinde CA II ve CAIII izoenzimlerinin total karbonik anhidraz aktivitesini sabit tutmak için bir çeşit feedback mekanizması sergileyebileceklerini göstermektedir.¹ Tablo 3 incelendiğinde yüksek yağlı diyet kullanan farelerin obez oldukları net olarak görülmektedir. CA izoenzimlerinin seviyeleri üzerine obezitenin de etkileri olduğu görülmektedir. Karaciğerde gözlenen CA aktivitesi değişiklikleri yağ dokusundan salgılanan (leptin gibi) adipokinlerin karaciğere olan etkisinin bir sonucu olabilir.¹⁵

SONUÇ

Sonuç olarak, yüksek yağlı diyet kullanımının *de novo* lipit sentezinde öncü bileşiği sentezleyen CA aktivitesini fare karaciğerinde azalttığı bu azalışa,

metabolik ve hormonal değişikliklerin sebep olabileceği kanaatine varıldı.

Authorship contribution statement

Concept and design: İİA, AA

Acquisition of data: PS, İİA

Analysis and interpretation of data: PS, İİA

Drafting of the manuscript: PS, İİA, AA

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: PS, İİA, AA

Statistical analysis: PS, İİA

Declaration of competing interest

None of the authors have potential conflicts of interest to be disclosed.

Ethical approval

This study was approved by the Local Animal Research Ethics Committee of Karadeniz Technical University (Protocol no: 2010/39) and performed according to the animal research reporting of *in vivo* experiments (ARRIVE) guidelines.

Availability of data and materials

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Funding

No financial support was received for this research.

KAYNAKLAR

1. Frost SC. Carbonic Anhydrase: Mechanism, Regulation, Links to Disease, and Industrial Applications. Springer; 2014.
2. Senturk A, Alver A, Karkucak M, Küçük M, Ahmadi Rendi T. Oxidative modification of carbonic anhydrase by peroxynitrite trigger immune response in mice and rheumatic disease patients. Am J Med Sci. 2023;366(6):438-448. doi:10.1016/j.amjms.2023.09.002
3. Pocker Y, Sarkanen S. Oxonase and esterase activities of erythrocyte carbonic anhydrase. Biochemistry. 1978;17(6):1110-1118. doi:10.1021/bi00599a027
4. Alver A, Şentürk A, Çakırbay H, et al. Carbonic anhydrase II autoantibody and oxidative stress in rheumatoid arthritis. Clin Biochem. 2011;44(17-18):1385-1389. doi:10.1016/j.clinbiochem.2011.09.014
5. Saleem M, Saeed A, Khan A, et al. Benzamide sulfonamide derivatives: potent inhibitors of carbonic anhydrase-II. Medicinal Chemistry Research. 2016;25(3): 438-448.
6. Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors: an editorial. Expert Opin Ther Pat. 2013;23(6):677-679. doi:10.1517/13543776.2013.778246
7. Burtis CA, Bruns DE. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier Health Sciences; 2014.

8. Dodgson SJ. Why are there carbonic anhydrases in the liver?. *Biochem Cell Biol.* 1991;69(12):761-763. doi:10.1139/o91-116
9. King RW, Garg LC, Huckson J, Maren TH. The isolation and partial characterization of sulfonamide-resistant carbonic anhydrases from the liver of the male rat. *Mol Pharmacol.* 1974;10(2):335-343.
10. Ronchi VP, Conde RD, Guillemot JC, Sanllorenti PM. The mouse liver content of carbonic anhydrase III and glutathione S-transferases A3 and P1 depend on dietary supply of methionine and cysteine. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004;36(10):1993-2004. doi:10.1016/j.biocel.2004.02.019
11. Wilbur KM, Anderson NG. Electrometric and colorimetric determination of carbonic anhydrase. *J Biol Chem.* 1948;176(1):147-154.
12. Wang B. *Drug design of zinc-enzyme inhibitors: functional, structural, and disease applications.* John Wiley & Sons; 2009.
13. Hazen SA, Waheed A, Sly WS, LaNoue KF, Lynch CJ. Differentiation-dependent expression of CA V and the role of carbonic anhydrase isozymes in pyruvate carboxylation in adipocytes. *FASEB J.* 1996;10(4):481-490. doi:10.1096/fasebj.10.4.8647347
14. Ibrahim SI, Ameh DA, Atawodi SE, Umar IA. Carbonic anhydrase: a new therapeutic target for managing diabetes. *J Metabolic Syndr.* 2016;5(196):2167-0943.
15. Alver A, Uçar F, Keha EE, Kalay E, Ovali E. Effects of leptin and insulin on CA III expression in rat adipose tissue. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2004;19(3):279-281. doi:10.1080/14756360410001720445

To Cite: Sarişın P, İnce-Akça İ, Alver A. Investigation of The Effect of High Fat Diet on Liver Carbonic Anhydrase Activity in Mice. *Farabi Med J.* 2024;3(3):79-84. doi:10.59518/farabimedj.1545667