

**T. C.
İSTANBUL BİLİM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**METABOLİK SENDROMLU SIÇANLARIN KARACİĞER ve
VİSERAL YAĞ DOKULARINDA 11 β HSD-1 ve PAI-1 GEN
EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ**

Biyolog Gökçe AKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ



İSTANBUL, 2012

**T. C.
İSTANBUL BİLİM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**METABOLİK SENDROMLU SIÇANLARIN KARACİĞER ve
VİSERAL YAĞ DOKULARINDA 11 β HSD-1 ve PAI-1 GEN
EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ**

Biyolog Gökçe AKAN

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Çavlan ÇİFTÇİ**

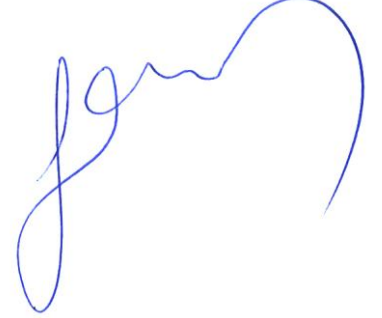
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL, 2012

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarda etik dışı hiçbir davranışımın olmadığını, tezimdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması sonucu elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlar için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Bio. Gökçe AKAN



*Canımdan çok sevdiğim aileme ve
Değerli Hocam Prof. Dr. Tuncay ALTUĞ'a...*

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. ÖZET.....	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER.....	4
4.1. METABOLİK SENDROM (MetS).....	4
4.1.1. Tanım	4
4.1.2. Tanı Kriterleri.....	4
4.1.2.1. WHO	5
4.1.2.2. EGİR.....	5
4.1.2.3. NCEP-ATPIII	6
4.1.2.4. AACE	7
4.1.2.5. IDF	8
4.1.2.6. Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği	9
4.2. MetS PREVALANSI.....	10
4.3. MetS ETİYOLOJİSİ	12
4.4. MetS PATOGENEZİ.....	12
4.4.1. İnsülin Direnci.....	12
4.4.2. Abdominal Obezite.....	14
4.4.3. Tip 2 Diyabetes Mellitus (T2DM).....	16
4.4.4. Hipertansiyon (HT)	16
4.4.5. Dislipidemi	17
4.4.6. Kardiyovasküler Hastalık (KVH).....	18
4.4.7. Non-alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH)	19
4.4.8. İnflamasyon	20
4.1.5.8.1. TNF α	21
4.1.5.8.2. IL-6.....	21
4.1.5.8.3. C-Reaktif Protein (CRP)	21
4.4.9. Nöroendokrin Anormallikler.....	22
4.5. YAĞ DOKUSUNUN MetS ÜZERİNE ETKİSİ.....	23
4.5.1. Leptin	25
4.5.2. Resistin	25

4.5.3. Adiponektin	25
4.5.4. Anjiyotensinojen.....	26
4.5.5. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1)	26
4.5.6. 11 Beta hidroksisteroid dehidrogenaz-1 (11 β HSD-1).....	28
4.6. DENEY HAYVANLARINDA MetS MODELLERİ.....	29
4.7. FRUKTOZ ve MetS.....	30
4.8. FRUKTOZ EMİLİMİ VE METABOLİZMASI	31
4.8.1. Fruktöz Emilimi	31
4.8.2. Fruktöz Metabolizması.....	31
4.9. FRUKTOZUN METS OLUŞUMUNDAKİ ROLÜ.....	32
4.9.1. Fruktöz ve Obezite	33
4.9.2. Fruktöz ve İnsülin Direnci.....	34
4.9.3. Fruktöz ve HT.....	34
5. MATERYAL VE YÖNTEM	35
5.1. MATERYAL VE LABORATUVAR EKİPMANLARI.....	35
5.1.1. Aletler.....	35
5.1.2. Kimyasallar, Enzimler ve Markırlar.....	36
5.1.3. Kullanılan Kitler	37
5.1.4. Çözeltilerin Bileşenleri ve Hazırlanışı.....	37
5.2. ÇALIŞMA GRUBU	38
5.2.1. Deney Grupları.....	39
5.3. KULLANILAN İNCELEME YÖNTEMLERİ	40
5.3.1. Perfüzyon İşlemi	40
5.4. KARACİĞER VE OMENTAL YAĞ DOKULARINDA YAPILAN İŞLEMLERİ	40
5.4.1. Dokuların Homojenizasyonu	41
5.4.2. Trizol Metodu ile RNA izolasyonu.....	41
5.4.3. RNA Miktarının Ölçülmesi.....	41
5.4.4. cDNA Sentezi.....	41
5.4.5. cDNA Kontrol PCR ve Jel Elektroferezi	42
5.4.6. QRT-PCR ile Genlerin Ekspresyon Analizleri.....	42
5.5. KARACİĞER VE OMENTAL YAĞ DOKULARININ HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ.....	43
5.5.1. Oil-Red Boyama	43

5.5.2. Hematoksilen-Eozin Boyama	44
5.6. SERUM ÖRNEKLERİNDEN YAPILAN BİYOKİMYASAL İNCELEMELER..	44
5.6.1. Rat İnsülin ELISA Testi	44
5.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	45
6. BULGULAR	46
6.1. ANTROPOMETRİK ÖLÇÜMLER	46
6.2. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER.....	48
6.3. HİSTOLOJİK İNCELEMELER.....	51
6.4. GEN EKSPRESYONLARI.....	52
7. TARTIŞMA	56
8. SONUÇ	60
9. TEŞEKKÜR	61
10. KAYNAKLAR.....	62

SİMGE VE KISALTMALAR

°C	: Santigrad Derece
µg	: Mikrogram
µu	: Mikro Ünite
11β HSD-1	: 11 Beta Hidroksisteroid Dehidrogenaz-1
AACE	: Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormonu
ADIPOQ	: Adiponektin
ADP	: Adenozin Difosfat
AHA	: Amerikan Kalp Cemiyeti
ALT	: Alanin Transaminaz
AMP	: Adenozin Monofosfat
AST	: Aspartat Transaminaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
BYD	: Beyaz Yağ Doku
CDC	: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
cm	: Santimetre
CRH	: Kortikotropin Salgılatıcı Hormon
CRP	: C-Reaktif Protein
dH₂O	: Distile Su
dk	: Dakika
dL	: Desilitre
DM	: Diyabetes Mellitus
EGIR	: Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu
ER	: Endoplazmik Retikulum
FIAF	: Açlık ile Uyarılmış Adipoz Faktör
GC	: Glikokortikoid
GCR	: Glikokortikoid Reseptör
GIR	: Glucose İnsülin Ratio
GLUT	: Glukoz taşıyıcısı
HCl	: Hidro klorik Asit
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
H-E	: Hematoksilen-Eozin

HOMA	: Homeostasis Model Assesment
HPA	: Hipotalamik Pitüiter Adrenal
hs-CRP	: Yüksek Duyarlılıklı C-Reaktif Protein
HT	: Hipertansiyon
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
kg	: Kilogram
KVH	: Kardiyovasküler Hastalık
KYD	: Kahverengi Yağ Dokusu
L	: Litre
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LEP	: Leptin
LEPR	: Leptin Reseptörü
LPL	: Lipoprotein Lipaz
m²	: Metre Kare
MetS	: Metabolik Sendrom
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mmHg	: Milimetre Civa
Na	: Sodyum
NAYKH	: Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
NCEP-ATP III	: Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Üçüncü Erişkin Tedavi Paneli
ng	: Nanogram
NO	: Nitrik oksit
NPY	: Nöropeptid Y
OD	: Optik Dansite
PAI-1	: Plazminojen Aktivatör İnhibitörü 1
PBS	: Fosfat Buffer Salin
PCOS	: Polikistik Over Sendromu
PPARγ	: Peroksizom Proliferatör-Aktivatör Reseptör Gamma
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
QRT-PZR	: Gerçek Zamanlı PZR

QUCKI	: Quantitative İnsülin Sensitivity Index
RAAS	: Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi
SOL-D	: Solüsyon D
SSS	: Santral Sinir Sistemi
SYA	: Serbest Yağ Asitleri
T2DM	: Tip 2 Diyabetes Mellitus
TAE	: Tris-Asetat-EDTA
TG	: Trigliserit
TGF- β	: Transforming Büyüme Faktörü- β
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
t-PA	: Doku Tipi Plazminojen Aktivatörünün
TURDEP	: Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması
U	: Ünite
u-PA	: Ürokinaz Tipi Plazminojen Aktivatörünü
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YFMŞ	: Yüksek Fruktozlu Mısır Şekeri
α-MSH	: Melanosit Sitümüle Edici Hormon Alfa

T.C. Bezmîâlem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulu tarafından 23.11.2011 tarih ve 2011/23 numaralı karar ile onaylanmıştır.

T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 16.03.2012 tarih ve 2012/sağ-005 proje numarasıyla desteklenmesine karar verilmiştir.

Araştırma Projesi No: TBG/0792011

1. ÖZET

Metabolik sendrom (MetS) başta gelişmiş ülkeler olmak üzere tüm dünyada prevalansı giderek artan bir sağlık sorunudur. Son yıllardaki epidemiyolojik ve biyokimyasal çalışmalar yüksek fruktoz tüketiminin MetS gelişiminde çok önemli bir faktörlerden biri olduğunu kanıtlar düzeyindedir. 11 β HSD-1 ve PAI-1 genlerinin varlığı ve yüksek oranda ekspresyonlarının gösterildiği son çalışmalar bu iki genin MetS patogeneğinde önemli rol oynadıklarını göstermektedir. 11 β HSD-1 inaktif kortizonu aktif kortizole çevirerek kortizol metabolizma disregülasyonundan ve MetS'un gelişiminden sorumlu olduğu bilinmektedir. etS'da PAI-1 gen ekspresyonu 11 β HSD-1 gen ekspresyonuna paralel olarak artmakta ve plazma PAI-1 aktivitesi yükselmektedir. PAI-1 aynı zamanda fibrinolitik aktivitenin en önemli belirteçlerinden biri olup kardiyovasküler hastalıkların ve bozuk fibrinolizin bağımsız risk faktörlerinden birini oluşturmaktadır.

Bu çalışmadaki amacımız sıçanlarda biyokimyasal ve genetik yaklaşımları kullanarak %20 fruktozun MetS gelişimine etkisini araştırmaktır. Sıçanlar iki gruba ayrılmıştır; MetS grubundaki sıçanlar (n=10) 15 hafta boyunca %20 fruktoz içeren su ile beslenmişler ve kontrol grubundaki sıçanlar ise (n=10) 15 hafta boyunca sadece suyla beslenmişlerdir. Her iki grupta da serumlarından glukoz, insülin, total kolestrol, LDL, HDL, VLDL, ALT, AST, CRP, kortizol seviyeleri ölçülmüştür. Karaciğer ve omental yağ dokularından 11 β HSD-1 ve PAI-1 gen ekspresyonu seviyeleri QRT-PZR ile her iki grupta araştırılmıştır.

Sonuç olarak MetS grubu sıçanlarda kontrol grubu sıçanlarına kıyasla glukoz, trigliserid, total kolesterol, LDL-kolesterol HDL- kolesterol VLDL, ALT, AST, CRP serum seviyeleri ve HOMA-IR değerleri anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$). Buna ilaveten karaciğer ve yağ dokularında 11 β HSD-1 ve PAI-1 genlerinin ekspresyonları kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Bu bulgular % 20 oranında fruktoz tüketen sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların biyokimyasal parametrelerin yanı sıra 11 β HSD-1 ve PAI-1 genlerinin ekspresyon düzeylerindeki de olduğunu göstermektedir ve bu değişiklikler % 20 oranında fruktoz tüketiminin MetS gelişmesine katkıda bulunduğunu kanıtlamaktadır.

2. SUMMARY

Metabolic Syndrome (MetS) is an important health issue worldwide, its prevalence is gradually increasing mainly in the developed countries. In recent years, epidemiological and biochemical studies prove that the high level consumption of fructose has been one of the important factors in the development of MetS. The recent studies demonstrating the presence and the increased level of expressions of 11 β HSD-1 and PAI-1 genes in MetS show that they both play an important role in the pathogenesis of MetS. 11 β HSD-1 is thought to be responsible for the cortisol metabolism dysregulation and MetS development via converting inactive cortisol into active cortisol. In parallel with the 11 β HSD-1 gene expression, PAI-1 gene expression as well as the plasma activity with PAI-1 were also increased in the MetS and PAI-1 is known to be one of the main determinant of fibrinolytic activity, it also forms one of the independent risk factor of deformed fibrinolysis and cardiovascular diseases.

The aim of this study was to investigate the effect of 20% fructose in the development of MetS in rats by the use of the biochemical and genetics approaches. The rats divided in two groups; MetS groups (n=10) rats were fed with water containing 20% fructose for 15 weeks and control groups (n=10) rats were fed with only water for 15 weeks. Serum levels of glucose, insulin, total cholesterol, LDL, HDL, VLDL, ALT, AST, CRP and cortisol were measured both groups. The gene expression levels of 11 β HSD-1 and PAI-1 from liver and omental adipose tissues were also investigated by QRT-PCR in both groups.

The results showed that, glucose, triglycerides, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, VLDL, ALT, AST, CRP serum levels and HOMA-IR were found significantly increased in MetS group compared with control group ($p < 0.05$). Furthermore, the mRNA levels of 11 β HSD-1 and PAI-1 genes were also found to be increased in the MetS group compared to control group in liver and omental adipose tissue.

These findings show that there are statistically significant differences in the biochemical parameters as well as the gene expression levels of 11 β HSD-1 and PAI-1 genes in MetS group and these changes prove the contributory role of the 20% fructose consumption to the development of MetS.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Metabolik sendrom (MetS), insülin direnciyle başlayan abdominal obezite, glukoz intoleransı veya diabetes mellitus, dislipidemi, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar gibi sistemik bozuklukların birbirine eklendiği 1988'den beri bilinen ölümcül bir endokrinopatidir. Kalıtımla gelen ve çevresel etkenlerle gelişen farklı bileşenleri olan, morbidite ve mortalitesi yüksek klinik bir tablodur ve son yıllarda en riskli on hastalıktan biri olarak kabul edilmiştir. Yapılan çalışmalara göre insülin direnci ve kompanse hiperinsülinemi MetS oluşturan kriterlerin altında yatan en önemli mekanizmadır ve MetS, kardiyovasküler hastalıklar için ciddi bir risk faktörüdür. Son yıllarda yüksek fruktoz içeren yiyecek ve içeceklerin tüketiminin artmasıyla MetS prevalansı da giderek artmaktadır. Yapılan çalışmalar da fruktoz tüketiminin MetS gelişiminde çok önemli bir faktör olduğunu kanıtlar düzeydedir. MetS patogenezinde viseral yağ dokusunda birçok adipokinlerin sekresyonu mevcuttur. Bu adipokinlerden olan, inaktif kortizonu kortizole çeviren 11 β HSD-1 ile fibrinoliz ve kardiyovasküler hastalıkların bağımsız risk faktörlerinden biri olan PAI-1'in son yıllarda yapılan çalışmalarda MetS patogenezinde önemli rol oynadığı ve viseral, subkutan yağ dokularında yüksek oranda eksprese olduğu gösterilmiştir.

MetS deney hayvanı modelinde transgenik hayvan modeli dışında yüksek fruktoz diyeti de kullanılan metodlardan biridir. Yapılan çalışmalar sonucunda yüksek fruktoz içeren besin ya da içme suyuna katılan yüksek dozda fruktoz alan sıçanlarda MetS gelişimi gözlenmektedir.

Çalışmamızda %20 oranında fruktoz içeren su ile beslenen sıçanların MetS geliştirme riskini hem biyokimyasal parametreler hem de karaciğer ve omental yağ dokularında 11 β HSD-1 ve PAI-1 genlerinin ekspresyonlarını inceleyerek araştırmayı amaçladık.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. METABOLİK SENDROM

4.1.1. Tanım

Metabolik sendrom (MetS); günümüzde oldukça sık görülen, yaşam standartlarında yükselme, modern yaşam biçiminin yani hareketsiz yaşam tarzının benimsenmesi ve beslenme alışkanlığındaki değişimler ile birlikte önemi giderek artan ve artacak olan genel bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. MetS, kalıtımla gelen ve çevresel etkenlerle gelişen farklı bileşenleri olan klinik bir tablodur. Tek boyutlu olmayıp pek çok faktörle ve hormonla ilişkili, çeşitli doku ve sistemleri etkileyen bir hastalıktır. Sıklıkla insülin direnci, abdominal obezite, hipertansiyon (HT), tip 2 diyabetes mellitus (T2DM), kardiyovasküler hastalık (KVH), dislipidemi, ateroskleroz, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH) gibi hastalık ve bozukluklar MetS'ye eşlik eder.

Günümüzde hala üzerinde araştırmaların büyük bir hızla devam ettiği MetS tanısı için temel bileşenler aynı olmakla birlikte değişik organizasyonlar tarafından farklı tanı kriterleri kullanılmaktadır.

4.1.2. Tanı Kriterleri

MetS tanısı için, son on yılda birçok farklı tanı kriteri oluşturulmuştur. Bunların en bilinenleri Dünya Sağlık Örgütü (WHO, World Health Organization), Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu (EGIR, European Group For Study of Insulin Resistance), Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Üçüncü Erişkin Tedavi Paneli (NCEP-ATP III, National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III), Uluslararası diyabet federasyonu (IDF International Diabetes Federation) ve Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği (AAACE, Amerikan Association of Clinical Endocrinologists) tarafından yapılan tanımlamalardır. Bununla birlikte, 2009 yılında Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği MetS Çalışma Grubu, MetS tanı kriterleri arasında insülin direncinin yer alması gerektiğini bildiren bir "Metabolik Sendrom Kılavuzu" yayınlamıştır.

4.1.2.1. WHO

MetS'un 1998'de WHO önerisi ile ilk tanımlanması yapılmıştır. Buna göre başlıca risk faktörü insülin direnci olarak dikkate alınmış ve tanı için insülin direnci yanında Tablo 1'de verilen faktörlerden en az ikisinin bulunması gerekmektedir. Bozulmuş glukoz toleransı (IGT, impaired glucose tolerance), bozulmuş açlık glukozu (IFG, impaired fasting glucose), T2DM ya da hiperinsülinemik/öglisemik koşullarda bozulmuş glukoz kullanımı insülin direncinin kanıtları olarak kabul edilmiştir (1).

Tablo 1: MetS tanı kriterleri (WHO-1998)

Aşağıdakilerden biri ile insülin direnci tanısı
➤ T2DM
➤ Bozulmuş açlık glukozu
➤ Bozulmuş glukoz toleransı
Aşağıdaki bulgulardan en az ikisinin insülin direncine eşlik etmesi
➤ Hipertansiyon ❖ Diastolik ≥ 90 mmHg ❖ Sistolik ≥ 140 mmHg
➤ Abdominal Obezite ❖ VKİ > 30 kg/m ² ❖ Bel-kalça oranı (Erkek > 0.90 , Kadın > 0.85)
➤ Dislipidemi ❖ HDL (Erkek < 35 mg/dL, Kadın < 40 mg/dL) ❖ Trigliserid ≥ 150 mg/dL
➤ Mikroalbuminüri ❖ > 20 mg/dk

4.1.3.2. EGIR

1999 yılında EGIR, WHO tanımlamasında değişiklik önermiştir. İnsülin direncinin gösterilmesi bu tanımlamada da zorunlu kılınmış fakat diyabet hastaları tanımlamanın dışında bırakılmıştır. WHO kriterlerinden farklı olarak obezitenin belirlenmesinde bel çevresi ölçümünü kullanmayı önermiştir. Yüksek insülin düzeyi ile birlikte iki risk faktörünün eşlik

etmesi (abdominal obezite, HT, yüksek trigliserid, düşük yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterol ve yüksek açlık glukozu) olarak tanımlanmıştır (Tablo 2) (2).

Tablo 2: MetS tanı kriterleri EGIR-1999)

➤ Hiperinsülinemi ❖ Açlıkta non-diyabetiklerden %25 fazla
Aşağıdaki bulgulardan en az ikisinin hiperinsülinemi tanısına eşlik etmesi
➤ Açlık plazma glukozu ❖ >110mg/dL
➤ Hipertansiyon ❖ Diyastolik \geq 90mmHg ❖ Sistolik \geq 140mmHg
➤ Dislipidemi ❖ HDL (Erkek<35 mg/dL, Kadın<40 mg/dL) ❖ Trigliserid \geq 150 mg/dL
➤ Bel çevresi ❖ Erkek>94 cm, Kadın>80 cm

4.1.3.3. NCEP-ATPIII

2001 yılına kadar tanımlanan tanı kriterlerin toplum taramaları için pratik olmamaları nedeni ile NCEP-ATP III, MetS'un tanımlanması için farklı tanı kriterleri sunmuştur. Bu kriterlere göre insülin direncinin gösterilmesini gerekmemektedir. NCEP-ATP III kriterleri tanı için risk faktörlerinden birini zorunlu kılmayıp, bunun yerine risk faktörlerinden en az üçünün varlığını temel almıştır (Tablo 3) (3).

Tablo 3: MetS tanı kriterleri (NCEP-ATPIII-2001)

Aşağıdaki bulgulardan üç veya daha fazlasının var olması	
➤ Abdominal Obezite	❖ Bel çevresi Erkek >102 cm ❖ Bel çevresi Kadın >88 cm
➤ Hipertrigliseridemi	❖ Trigliserid \geq 150 mg/dL
➤ Düşük HDL	❖ Erkek <40 mg/dL ❖ Kadın <50 mg/dL
➤ Hipertansiyon	❖ Diyastolik \geq 85mmHg ❖ Sistolik \geq 130mmHg
➤ Hiperglisemi	❖ Açlık plazma glukoza \geq 110mg/dL

4.1.3.4. AACE

2003 yılında AACE, MetS tanısı için farklı risk faktörlerinden oluşan ayrı bir tanımlama yapmış ve bu tanımlamada risk faktörlerinin sayısı belirtilmemiş ve yoruma açık bırakılmıştır (Tablo 4). İnsülin direnci AACE çalışma gurubu tarafından da önemli bir risk faktörü olarak ele alınmış ve bozulmuş glukoz toleransı veya bozulmuş açlık glukozu major risk faktörleri olarak kabul edilmiştir. Ancak diyabet hastalarını tanımlamanın dışında tutmuştur (4).

Tablo 4: MetS tanı kriterleri (AACE-2003)

Bozulmuş Açlık Glukozu ve/veya ➤ Bozulmuş Glukoz Toleransı
➤ Obezite ❖ VKİ $\geq 25 \text{kg/m}^2$
➤ Hipertrigliseridemi ❖ Trigliserid $\geq 150 \text{mg/dL}$
➤ Hipertansiyon ❖ Diyastolik $\geq 85 \text{mmHg}$ ❖ Sistolik $\geq 130 \text{mmHg}$
➤ Düşük HDL ❖ Erkek $< 40 \text{mg/dL}$ ❖ Kadın $< 50 \text{mg/dL}$
➤ Diğer risk faktörleri ❖ Ailede diyabet, HT, KVH öyküsü ❖ Polikistik over sendromu (PCOS) ❖ Sedanter yaşam tarzı, ileri yaş ❖ Diyabet veya KVH için yüksek riskli etnik gruba dahil olmak

4.1.3.5. IDF

Uluslararası diyabet federasyonu (IDF International Diabetes Federation) 2005'te daha önceki NCEP-ATPIII kriterlerini değerlendirmiş ve değişiklikler önermiştir. Abdominal obezitenin insülin direnciyle kuvvetle korele olduğu vurgulanarak tanı için zorunlu kılınmıştır. Açlık kan şekeri sınırını değiştirerek $\geq 100 \text{mg/dL}$ olması önerilmiş ve diyabet tanımlayıcı özellikler arasına alınmıştır (Tablo 5) (5).

Tablo 5: MetS tanı kriterleri (IDF-2005)

➤ Abdominal Obezite ❖ Bel çevresi Avrupalı erkeklerde ≥ 94 cm ❖ Bel çevresi Avrupalı kadınlarda ≥ 80 cm
Aşağıdaki bulgulardan en az ikisinin var olması
➤ Açlık plazma glukozu ❖ >100 mg/dL ➤ ve/veya T2DM
➤ Hipertansiyon ❖ Diyastolik ≥ 85 mmHg ❖ Sistolik ≥ 130 mmHg
➤ Hipertrigliseridemi ❖ Trigliserid ≥ 150 mg/dL
➤ Düşük HDL ❖ Erkek <40 mg/dL, ❖ Kadın <50 mg/dL

Ayrıca IDF abdominal obezitede etnik grupların farklılığına önem vermiş ve bel çevresinde her milletin kendi ortalama değerlerinin göz önüne alınarak değerlendirilmesi gerektiğini ileri sürmüştür.

IDF'ye göre etnik grupların bel çevresi değerleri:

- Euroloid'ler: Erkek 94 cm, Kadın 80 cm;
- Güney Asyalı: Erkek 90 cm, Kadın 80 cm;
- Çinli: Erkek 90 cm, Kadın 80 cm;
- Japon: Erkek 85 cm, Kadın 90 cm;
- Etnik Güney ve Santral Amerikalı, Sub-Saharan Afrikalılar, Doğu Akdeniz ve Orta Dogu toplumları için daha spesifik bilgi edilene kadar Avrupa kriterleri kullanılmasını önermişlerdir.

4.1.3.6. Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği

2009 yılında Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği MetS Çalışma Grubu, MetS tanı kriterleri arasında insülin direncinin yer alması gerektiğini bildiren bir "Metabolik Sendrom Kılavuzu" yayınlamış ve MetS tanı kriterleri arasında insülin direncinin yer alması

gerektiğini savunmuştur. Bu gerekçeyle; insulin direncini de içeren 1999-WHO MetS tanı kriterleriyle, insulin direncini içermeyen fakat daha sıkı metabolik eşik değerler hedefleyen 2001-NCEP ATP III tanı kriterlerinden oluşturulan yeni bir tanı kriteri hazırlamıştır (Tablo 6) (6).

Tablo 6: MetS tanı kriterleri (Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği -2009)

Aşağıdaki bulgulardan en az biri
➤ Diyabetes Mellitus (DM)
➤ Bozulmuş glukoz toleransı
➤ İnsülin direnci
Aşağıdaki bulgulardan en az ikisi
➤ Hipertansiyon <ul style="list-style-type: none">❖ Diyastolik ≥ 85mmHg❖ Sistolik ≥ 130mmHg
➤ veya antihipertansif ilaç kullanıyor olmak
➤ Abdominal Obezite <ul style="list-style-type: none">❖ VKİ > 30kg/m²❖ Bel çevresi (Erkek > 94 cm, Kadın > 80 cm)
➤ Dislipidemi <ul style="list-style-type: none">❖ HDL (Erkek < 40 mg/dL, Kadın < 50 mg/dL)❖ Trigliserid ≥ 150 mg/dL

Yapılan çalışmalarda ile WHO tanımlamasının teşhis için daha iyi olduğu vurgulanmış ve bununla birlikte ATP III tanımlamasının klinik açıdan pratikte daha kolay uygulandığı savunulmuştur. Bu nedenle, daha kolay değerlendirilebildiği için NCEP-ATP III tanı ölçütlerinin klinik uygulamada, WHO tanı kriterlerinin ise bilimsel araştırmalarda kullanılabileceği önerilmiştir.

4.2. MetS PREVALANSI

MetS bir modern yaşam hastalığıdır; ve prevalansı yaşa, toplumlara, yerleşim bölgesine, kullanılan kriterlere ve yıllara göre değişiklik göstermektedir. Son yüzyıldaki teknolojik gelişmeler ve ekonomik durumdaki iyileşme; sedanter yaşam koşullarına ve yüksek kalori alımına neden olmaktadır. Bu durum MetS insidansının artışına ve epidemik olarak gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeleri tehdit etmesine yol açmıştır (7, 8). Son yıllarda da bu sendromla tanılandırılan olgu sayısı tüm dünyada hızla artmaktadır. Özellikle 60-70 yaş arası nüfusta sıklık %40 olarak verilmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde 1988-1994 ve 1999-2000 arasında yapılan istatistikî çalışmalarda MetS nüfus içindeki oranın %23.5 den %27 ye

yükseldiği bununda 55 milyon amerikalının bu sendrom tanısını aldığını vurgulamışlardır. Bu rakamın 2005 yılında 58 milyon olduğu ve gelişmekte olan toplumlarda 2020 yılında nüfusun %40'ının MetS etkileneceği öngörülmektedir (9).

MetS sıklığı bazı popülasyonlarda kadınlarda daha fazla iken bazı popülasyonlarda ise erkeklerde daha fazladır. Genel olarak tüm etnik yapılar ele alındığı zaman ise her iki cinsiyette de MetS sıklığının yaşla birlikte arttığını söylemek mümkündür (10). Yaşa göre sıklığa bakıldığı zaman 20-39 yaş grubu erkeklerde %10.7 kadınlarda %18 iken 60 yaş üzeri grup alındığı zaman bu oranlar sırasıyla %39.7 ve %46.1 olmaktadır. NCEP tanımlamasına uygun olarak en yüksek MetS sıklığı Meksikalı Amerikalı kadınlarda bulunurken, en düşük sıklık Afrikalı Amerikalı erkeklerde bulunmuştur (11).

Hareketsiz ortamlarda çalışan bireyleri tehdit eden MetS'un görülme sıklığı tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de artış göstermektedir. MetS prevalansı erişkinlerde ortalama % 22 olarak bildirilmektedir. Prevalans yaş ile artmakta, 20-29 yaş grubunda % 6.7, 60-69 yaş grubunda ise % 43.5 oranında görülmektedir. 2000 yılı itibariyle yapılan TEKHARF çalışmasına göre Türkiye genelinde 30 yaş ve üzerindeki 9.2 milyon kişide MetS mevcuttur ve KVH geliştiren bireylerin % 53'ü aynı zamanda MetS hastasıdır (6). MetS prevalansına cinsiyete göre bakıldığında ise, 30 yaş ve üzerindeki erkeklerde %28, kadınlarda %45 olarak tespit edilmiştir (12). Ülkemizde yapılan METSAR çalışmasına göre MetS sıklığı, kadınlarda, kırsal bölgede %41.1; kentsel bölgede %38.8; genelde %39.6; erkeklerde kırsal bölgede %26.9; kentsel bölgede %28.6; 40-49 yaş grubu erkeklerde %36.7, kadınlarda ise %51.6 olarak bulunmuştur. Sıklık, toplamda ise %33.9 olarak saptanmıştır (13).

1970'den günümüze çok önemli ancak henüz yeterince önemsenmeyen bir diyetel değişiklik yaşamımızı etkilemektedir. Bu değişiklik, yüksek miktarda fruktoz tüketimi ve yiyecek endüstrisinde çok yaygın olarak kullanılmaya başlayan bir tatlandırıcı olan yüksek fruktozlu mısır şurubunun kullanılmasıdır. Son 30 yılda fruktoz tüketimindeki bu artış, obezite ve MetS prevalansı ile yakın ilişki göstermektedir (14). Beşyüz okul çocuğuyla yapılan bir çalışmada şekerle tatlandırılmış içeceklerin her servis edilişinde vücut kitle indeksini (VKİ) 0.25 kg/m² arttırdığı sonucuna varılmıştır (14, 15).

4.3. MetS ETİYOLOJİSİ

MetS'un etyolojisine tam olarak karar verilmemiştir (16). Abdominal obezite, dislipidemi, yüksek kan basıncı, glukoz intoleransı, proinflamatuvar durumlar MetS'u belirleyen faktörlerdir (17, 18). Bu kadar geniş yelpazeye sahip olan esas patolojinin kaynağı hakkında yapılmış çalışmalar dikkatleri insülin direnci ve hiperinsülinemi üzerinde yoğunlaştırmaktadır. MetS'un temelinde, dokuların insüline yanıtında bir bozukluk olduğu, insülin direncine bağlı olarak pankreasın beta hücrelerinin fazla miktarda insülin salgıladığı ve sonuçta hiperinsülinemi geliştiği ortaya konulmuştur. HT, dislipidemi, obezite, T2DM ve aterosklerotik damar hastalığı da insülin direnci ve hiperinsülinemi temelinden gelişerek MetS'un komponentlerini oluştururlar (17). MetS'un tüm bileşenlerinin birbirleriyle ve insülin direnciyle olan ilişkilerini gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (16). İnsülin direnci olan kimselerin büyük çoğunluğunda abdominal obeziteye rastlanmaktadır (17). İnsülin direncinin visceral yağda artış ile daha sık meydana geldiğini vurgulayan çalışmalar olması ile birlikte, obez olmayan kişilerde de insülin direnci olması bu sendromda temel patofizyolojik mekanizmayı insülin direncinin oluşturduğunu düşündürmektedir. Bazı çalışmalarda kronik stres nedeniyle serum kortizollerini yükselen kişilerde abdominal obezite, insülin direnci ve lipid anormallikleri geliştirdiği gösterilmiştir (19).

4.4. MetS PATOGENEZİ

MetS, temelinde insülin direnci ile başlayan, abdominal obezite, T2DM, dislipidemi, HT, NAYKH ve KVH gibi sistemik bozuklukların birbirine eklendiğinde yüksek mortalite ve morbiditeyle sonuçlanan kompleks bir hastalıktır. Son yıllarda yapılan çalışmalar MetS gelişiminde, inflamasyon ve nöroendokrinolojik bozuklukların da etkili olduğunu göstermektedir.

4.4.1. İnsülin Direnci

İnsülin direnci, insüline normalde cevap veren yağ, karaciğer, iskelet kası, kalp kası gibi hedef organlarda insülinin sinyal yolunda yetersizlik olması ve biyolojik yanıtın alınması için daha fazla insülin gereksinimi olma hali olarak tanımlanmıştır. MetS patofizyolojisini en

iyi tanımladığı kabul edilen hipotez insülin direncidir. Araştırmacıların çoğunluğu MetS patogenezinde en ön sıraya obezite yerine insülin direncini yerleştirmektedir ve insülin direncinin direkt olarak diğer metabolik risk faktörlerini etkilediğini ifade etmektedirler (20, 21).

İnsülinin; büyüme, farklılaşma, DNA sentezi, gen transkripsiyonunun düzenlenmesi üzerine olan etkilerinin yanı sıra glukoneogenez ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz yapımını baskılar, iskelet kası ve diğer periferik dokulara glukoz transportunu sağlar, lipogenezi stimüle ederken lipolizi inhibe eder. İnsülin direncinde bu fonksiyonlar bozulur ve insülin direnci gelişimi sonucu hepatik glukoz çıkışı artar, glukozun periferik alımı azalır bu durum kompensatuvar hiperinsülinemiye yol açar, aynı zamanda insülin hareketinin en etkili yolağı yağ dokuda lipolizin inhibisyonunun olduğundan, insülin direnci oluştuğunda lipoliz inhibisyonunun kalkması nedeni ile yağ doku içindeki depolanmış triaçilgliserol moleküllerinin artan miktardaki lipolizi daha fazla yağ asidi oluşumuna yol açarak insülin direncinin fazlaşmasına neden olur (22). Serbest yağ asitleri (SYA) karaciğerde trigliserit (TG) birikmesini uyardığından karaciğerde TG miktarı da artar. Ayrıca karaciğerde lipoprotein lipaz (LPL) aktivitesinin artması HDL'nin yıkımını da hızlandırır (23).

İnsülin direnci etiyolojisini hedef doku defekti oluşturmaktadır. Özellikle abdominal obezite, inaktivite, karbonhidrat ağırlıklı diyet, hormonal faktörler, genetik ve yaşlılık ile dokularda insüline karşı bir direnç gelişmektedir. İnsülin direnci, MetS, T2DM ve KVH'lar gibi pek çok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır (24-26). Sağlıklı populasyonda % 25, bozulmuş glukoz toleransında % 60 ve T2DM'si olanlarda % 60-75 oranında insülin direnci görülür (6).

İnsülin direncinin hesaplanması için klinik pratikte en sık kullanılan yöntem HOMA (homeostasis model assesment) formülüdür. GIR (glucose insülin ratio) ve QUICKI (quantitative insülin sensitivity index) de insülin direncini değerlendirmede kullanılan diğer formüllerdir (27-29).

- $HOMA = [Açlık\ insülini\ (\mu u/mL) \times açlık\ plazma\ glukozu\ (mg/dL)] / 405$
- $GIR = Açlık\ plazma\ glukozu\ (mg/dL) / Açlık\ insülini\ (\mu u/mL)$
- $QUICKI = 1 / [\log\ açlık\ insülini\ (\mu u/mL) + \log\ açlık\ plazma\ glukozu\ (mg/dL)]$

Bu indeksler için eşik (cut off) değerleri toplumlara göre farklılık göstermektedir. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Türk toplumu için HOMA için eşik değerini 2.7

olarak bildirmiştir. Normal bireylerdeki HOMA değeri 2.7'den düşüktür, 2.7'nin üzerindeki değerler değişik derecelerde insülin direncini yansıtır (6).

4.4.2. Abdominal Obezite

Obezite, kalori alımı ve harcanması arasındaki farkla ortaya çıkmakta, vücutta harcanan enerjiden daha çok besin alındığında görülen fazladan yağ birikimi ile gelişmektedir. Obezite; nörolojik, endokrin, nutrisyonel, sosyoekonomik, psikolojik faktörlere, cinsiyete bağlı ve genetik yatkınlık, beslenme ve fiziksel aktivite ile metabolizmanın karşılıklı etkileşimi söz konusu olan çok yönlü bir hastalıktır (30). Obezite, yağ hücresi sayısındaki artış (hiperplazi) ve/veya hacmindeki büyüme (hipertrofi) ile karakterizedir (31). Son 10 yılda birçok ülkede prevalansı artış gösteren obezite, 1997-1998 yılları arasında ülkemizin farklı bölgelerinde (15 il-540 merkez) “Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans çalışması-I (TURDEP-I)” yapılmış ve 2002 yılında yayınlanmıştır. Çalışmaya katılan 24788 kişinin %22'sinde abdominal obezite tespit edilmiştir. TURDEP-II Çalışması'nın saha araştırması Ocak 2010-Haziran 2010 tarihleri arasında aynı merkezlerde tekrarlanmıştır. On iki yıllık süreçte kadınlarda kilo 6 kg, bel çevresi 6 cm, kalça çevresi 7 cm; erkeklerde ise kilo 8 kg, bel çevresi 7 cm, kalça çevresi 2 cm artmış olduğu bildirilmiştir. TURDEP-II'ye göre Türkiye'de obezite sıklığı %22'den %32'e yükselmiştir. Bu sonuç günümüzde erişkin yaşlardaki Türk toplumunun 2/3'ü kilolu veya obez olduğunu göstermektedir (32-34).

Obezite, lipid ve glukoz metabolizmasını, kan basıncı kontrolünü, trombolitik ve fibrinolitik sistemi ve inflamatuvar reaksiyonları etkiler ve HT, Tip 2 DM ve KVH gelişiminde, vücut yağ dokusu oranının artması önemli bir risk faktörüdür. Yüz binin üzerinde erkek ve kadının katılımıyla yapılan INTERSALT çalışmasında 10 kg'lık kilo artışıyla sistolik kan basıncında 3.0 mmHg'lık, diyastolik kan basıncında ise 2.3 mmHg'lık artış olduğu gösterilmiştir (35).

Obeziteye bağlı komplikasyonlar ile vücuttaki yağ dağılımı arasında ilişki mevcuttur. Obezite yağ dağılım bölgesine göre iki tipe ayrılmaktadır: yağ kalçada lokalize ise kadın tipi şişmanlık, (jinekoid, armut tipi şişmanlık), batında lokalize ise erkek tip şişmanlık (android, elma tipi, santral tip şişmanlık) ifadesi kullanılır. Kalça yağı metabolik olarak oldukça inaktiftir, fakat batın içi yağ metabolik olarak çok aktiftir. Obezite hem iç organlarda hem de

subkutan dokuda yağların artmasına bağlıdır. Özellikle kilo alımının tehlikeli olanı iç organlarda olan veya diğer bir ismiyle abdominal obezitedir (36, 37).

İnsülin direnci, MetS, T2DM ve KVH'lar ile santral adipozite arasında güçlü bir ilişki saptanmıştır. Santral adipoziteyi esas olarak, omentum ve mezenter yağ dokularını kapsayan visseral adipozite temsil eder ve viseral obeziteyi klinik olarak yansıtan abdominal obezitedir. Bunun en iyi göstergesi ise bel-kalça oranı ile bel çevresi ölçümüdür. Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği her obez hastanın MetS açısından taranmasını ve viseral adipozite göstergesi olarak VKİ yerine bel çevresi ölçümü kullanılmasını önermektedir (6). Bel çevresi genişliği insülin direncinin kesin bir göstergesi olmamakla beraber, insülin direncinin varlığı ve derecesi ile ilişkili bir antropometrik değişkendir. Obez kişilerin tümünde insülin direnci olmadığı gibi insülin direnci sadece obezlerde görülmemektedir (38).

Viseral yağ dokusunun artması ile insülin lipolitik aktiviteyi baskılayamamakta ve SYA'lerinin artmasına neden olmaktadır. Artan SYA'ların az bir kısmı yağ hücresinde tutulur ve trigliserite dönüştürülür; büyük bir kısmı ise albümine bağlanarak sirkülasyona taşınır. Bu SYA'ların büyük miktarı insülin direncinden dolayı yağ olarak depolanırken, bir kısmı iskelet kası tarafından enerji kaynağı olarak kullanılır ve diğer kısmı ise karaciğere taşınır. Karaciğerde SYA'ların çoğunluğu TG'e dönüştürülerek çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) trigliserit olarak salgılanır (39). Sonuç olarak plazmada insülin, VLDL ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyeleri yükselmektedir. Ayrıca adipoz dokudan salgılanan adipositokinlerin insülin direnci, HT ve ateroskleroz gelişiminde rol aldıkları ifade edilmektedir.

Farede yapılan bir çalışmada yağ dokusunda eksprese olan 1660 genden 297'sinin (%17.9) ekspresyonunun, viseral ve subkutanöz yağ dokusunda farklı olduğu gösterilmiştir. Glukoz homeostazı, insülin etkisi ve lipid metabolizmasına iştirak eden genlerden 20'sinin visseral yağda ekspresyonunun 3-7 kat, diğer 20 genin de subkutan yağ dokusunda ekspresyonunun 3-150 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (40). Adiponektin (ADIPOQ) geninin ekspresyonu viseral yağda 4 kat fazla bulunmuştur. İnsulin direncinde fonksiyon gören peroksizom proliferatör-aktivatör reseptör gama (PPAR γ) ve leptin (LEP) genleriyle, MetS gelişiminde fonksiyon gören anjiotensinojen ve plazminojen aktivatör inhibitörü 1 (PAI-1) genlerinin, viseral yağdaki ekspresyonları da farklılıklar göstermiştir. Viseral yağda gen ekspresyonu artan "yağ-derive-peptidlerin", insulin direnci, MetS ve T2DM gelişmesinde mediatör fonksiyon gördüğü rapor edilmiştir. Subkutan yağ dokusuyla kıyaslandığında daha fazla anjiotensin II, interlökin-6 (IL-6) ve PAI-1 üretilir, daha az LEP ve ADIPOQ sekrete

edilir. Apoptoz daha fazladır. Bütün bu özellikler visseral yağ artışı ile birlikte bulunan MetS gelişimine katkıda bulunur (41).

4.4.3. Tip 2 Diyabetes Mellitus (T2DM)

T2DM'un oluşmasında insülinin yetersiz salgılanması, dokularda insülin direncinin olması ve insülin sekresyonunda ki değişimlerden dolayı karaciğerden glukoz yapımının baskılanması ve bunun üzerine eklenen ilerleyici beta hücre yetmezliği sonucunda gelişir. T2DM başlıca nedenleri genetik, obezite, cins, ırk, düzensiz beslenme alışkanlığı ve egzersiz yetersizliğidir. T2DM hastalarının tümünde insülin direnci olmasa da, bozulmuş açlık glikozu ve bozulmuş glikoz toleransı varlığı MetS'un tanı kriterlerinin ilk basamağını karşılar (6).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda T2DM başlangıcı daha erken yaşlara ilerlemektedir. Türkiye'de 1998 yılında TURDEP-I çalışmasında T2DM 45-49 yaş grubunda başlamaktayken TURDEP-II çalışmasında 5 yaş daha erken başladığı bildirilmiştir. Günümüzde 40-44 yaş grubundan itibaren nüfusun en az %10'u T2DM'lidir (32).

4.4.4. Hipertansiyon (HT)

Arteriyel kan basıncının, indirek olarak sfigmomanometre ile ölçülmesi sonucunda belli bir değerin (ATP III kriterlerine göre >130/85 mmHg'nin) üstünde olması HT olarak tanımlanmaktadır (42).

MetS tanı kriterleri arasında yer alan HT aynı zamanda, MetS olgularında olmayanlara göre daha sıklıkla oluşmaktadır. MetS hastalarının yaklaşık 1/3 ünde hipertansiyon görülmektedir. HT sıklıkla dislipidemi, glukozun toleransı ve abdominal obezite ile birlikte (43).

MetS'da hipertansiyon gelişim mekanizması renal parametreler ve sempatik aktivite üzerinden oluşmaktadır. Obezite bağımlı HT'da anahtar rolü renal sodyum (Na) reabsorpsiyonu ve ekstrasellüler volüm artışı oynar. Obez olgularda renal Na atımı ve alım arasındaki denge alım lehine bozulunca tuz retansiyonu oluşur. Tuz retansiyonunda ise sempatik sinir sistemi ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS) aktivasyonu önemli bir role sahiptir (44).

Sempatik sinir sistemi ve RAAS aktivasyonu, insülin direnci ve hiperinsülinemi gelişiminde de önemlidir. Buna ek olarak insülinin böbreklerde Na ve su birikimini ve damardaki düz kas hücrelerinin poliferasyonunu arttırdığı ve insülin direnci ve hiperinsülineminin etkisi ile renal

Na atılımında azalma, sempatik sinir sistemi aktivasyonu ve vasküler fonksiyonlarda bozulma HT'un gelişiminde etkili olduğu bilinmektedir (45). MetS'da HT gelişiminde obezite, hiperinsülinemi ve insülin direncinin yanısıra dislipideminin, kronik inflamasyonun ve inflamatuvar sitokinlerin, oksidatif stresin ve mikroalbüminürinin de farklı ve karmaşık mekanizmalarla etkili oldukları söylenmektedir (46).

TURDEP-II raporunda ülkemizde hipertansiyon oranının yaklaşık %30 civarında olduğu bildirilmiştir (32).

4.4.5. Dislipidemi

MetS'da lipoprotein mekanizmaları etkilenecek aterojenik dislipidemi oluşur. "Lipid triadı" da denen düşük HDL, yüksek TG, artmış düşük partiküllü LDL aterojenik dislipidemi MetS olgularında yaygın olarak rastlanan kriterdir. MetS'lu hastalarda visceral obezite ve insülin direnci etkisi ile gelişen dislipidemi; anormal hepatik yağ birikimi (hepatik steatozis) MetS'un patofizyolojik özelliklerini yansıtır ve insülin direnci, obezite, glukoz intoleransı ve hipertansiyon ile yakından ilişkilidir (47, 48). İnsülin direnci varlığında LPL baskılandığı için VLDL sentezi ve dolaşıma geçişi artar ayrıca adipositler tarafından salınan SYA miktarında artış vardır. Bu artış, karaciğerin trigliseridden zengin VLDL partiküllerinin salınımının arttırmasına ve bu da kolesterol ester transfer protein adlı enzimin katalizlediği trigliseridden zengin HDL ve LDL partiküllerinin oluşumuna neden olur. Lipid partiküllerinde trigliserid miktarının artması metabolizmayı değiştirmektedir. Trigliseridden zengin HDL partikülleri daha hızlı hidroliz olurlar ve seviyeleri düşer. Trigliseridden zengin LDL partikülleri ise daha ileri lipolize uğrayarak küçük-yoğun LDL partiküllerine dönüşürler. Oluşan bu dislipidemi oldukça aterojenik olup, insülin direnci olan bireylerde artmış KVVH riskini açıklayabilir (49, 50).

Epidemiyolojik çalışmalar ve lipit çalışmaları göstermiştir ki KVVH ile en iyi korelasyonu HDL kolesterol düzeyi göstermektedir. HDL kolesterol düzeyi ile TG düzeyi arasında ters ilişki vardır, TG yüksek olanlarda HDL düşük saptanmaktadır. Trigliserit yüksekliği ve HDL düşüklüğü, obezite, sedanter yaşam, hiperglisemi, inflamasyon, protrombotik durum ile birliktelik gösterir.Yapılan meta analizlerde TG yüksekliği ve HDL düşüklüğünün aterosklerotik hastalıklar için bağımsız risk faktörü olduğu saptanmıştır (51).

4.4.6. Kardiyovaskular Hastalık (KVH)

MetS erken oluşan ateroskleroz için relatif değil, “mutlak” bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. MetS’un hem bir bütün olarak hem de komponentleri (insülin direnci, HDL düşüklüğü, hipertrigliseridemi, HT, abdominal obezite) tek tek veya birkaçı birleşerek KVH riskini artırmaktadır ve mortalite riski ile karşı karşıya bırakmaktadır (51).

İnsulin direnci ile birlikte olan MetS’un, KVH için risk faktörü olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. KVH olan bir popülasyonda yapılan çalışmada MetS oranı %51 bulunmuştur. Bir başka çalışmada 50 yaş üzerinde diyabeti olmayan MetS’lu şahıslarda KVH %13.9 iken, diyabetli MetS’lularda bu oran %19.2 bulunmuştur. 40 yaş üstünde ve KVH için 10 yıllık risk skoru %10 üzerinde olan 55 hastanın %60’ında MetS saptanmıştır. MetS dışı ve MetS olguları KVH geliştirme riski bakımından karşılaştırıldığında %30 ile %40 oranında MetS olgularının daha fazla KVH geliştirme riskine sahip oldukları saptanmıştır (52). Gelişmiş ülkelerde KVH sıklığı ile MetS arasında sıkı bir korelasyon vardır. MetS olgularında koroner kalp hastalığından ölüm 3 kat, KVH’lardan ölüm ise 1.8 kat daha sık görülmektedir (53).

KVH predispozisyon sağlayan hastalıklarda (Tip2DM ve MetS) çok güçlü inflamatuvar komponent bulunmaktadır. Genetik varyasyonlar, çevresel etkenler ve inflamasyon üreten doku (yağ dokusu) dahil olmak üzere birçok faktör, inflamasyon cevabını etkiler. Bu nedenle birçok çalışmada, farklı popülasyonlarda inflamatuvar markır olarak ölçülen C-reaktif protein (CRP), kardiyovasküler risk prediktörü olarak kabul edilmiştir.

Son yıllarda MetS epidemisi diye bir tanımlamadan da söz edilmeye başlanmıştır. Özellikle Amerikalıların bu konuda geniş toplumsal çalışmaları var olup 64.4 milyon vatandaşlarının KVH olduğunu ve bunlarında nerdeyse tamamına yakınında MetS olduğunu bildirmektedirler. Amerika da 2000 yılı istatistiklerine göre tüm ölümler arasında KVH’tan ölümler %38.5 ile birinci sırada yer alırken 2004 yılı fiyatları ile KVH yıllık maliyetini 368.4 milyar dolar olarak verilmektedir (54). Görüldüğü üzere KVH gerek sıklığı gerekse maliyeti bakımından çok ciddi bir sorun olarak karşımızda durmaktadır. KVH’lar yaşlı nüfusun hastalığı gibi görülmekle birlikte aslında rakamlar bunun tersini söylemektedir. Hasta popülasyonunun %50’si 65 yaş altındayken mortalite grubunun ise %15’i 65 yaş altındadır. Görülen o dur ki KVH yaşlılar değil gençlerin hastalığı olma yönünde hızla erken yaşlara doğru kaymaktadır. İşte bu noktada karşımıza çıkan en önemli faktörün toplumlarda şişmanlama eğiliminin hızla artıyor olmasıdır (55).

4.4.7. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAYKH)

NAYKH ilk olarak 1980 yılında Ludwig ve arkadaşları tarafından Mayo Kliniğinde patolojik olarak alkolün yol açtığı karaciğer yağlanmasına benzeyen, ancak alkol kullanmayan hastalarda gelişen bir karaciğer sorunu olarak belirtilmiştir (56).

Karaciğer yağlanması, plazmada SYA'ı artışı ve lipoprotein sentezinde defekt sonucu oluşur. Plazmada artan yağ asitleri, kalp ve iskelet kası tarafından alınarak enerji oluşturmada kullanılırlar veya karaciğer tarafından alınarak endojen TG'ler ve bunlardan da VLDL'leri oluşturmada kullanılırlar fakat karaciğerde VLDL üretimi TG üretimi dengesizliği olduğunda TG'ler karaciğerde birikirler ve karaciğer yağlanması oluşur. Karaciğerdeki yağlanmanın fazla olması karaciğerin fonksiyonel ve yapısal değişikliklerin ortaya çıkmasına yol açar.

Normal karaciğerlerde lipitlerin miktarı, karaciğer ağırlığının %5'ini geçmez ve bunun içerisinde TG'ler, fosfolipitler, kolesterol ve kolesterol esterleri bulunur. Yağlanmış karaciğerde bir yandan genel olarak lipid miktarı artarken diğer yandan da TG birikiminin ön plana çıktığı görülür. Normalde TG'ler karaciğerdeki lipidlerin %15 kadarını oluştururken, yağlanmış karaciğerde bu oran %60'lara kadar yükselir. TG'ler karaciğerde yağ asitlerinden sentezlenir. Hepatositlerde sentezlenen TG, VLDL molekülü içerisinde dolaşıma geçer (57).

NAYKH; temel olarak MetS ile karakterize olan obezite, diyabet, dislipidemi ve insülin direnci gibi özellikler ile ilişkilidir. Hastalığın seyri; asemptomatik yüksek karaciğer enzim düzeylerinden karaciğer yetmezliği ve hepatoselüler karsinom gibi komplikasyonlarla birlikte siroza kadar farklılıklar gösterir (58-60).

NAYKH, batı dünyasında en yaygın kronik karaciğer sorunu olarak ortaya çıkmaktadır. Birçok çalışmada MetS ile NAYKH arasında önemli bağlantı gösterilmiştir. Hepatik steatozisli hastaların yarısından çoğunda MetS bulunmuştur. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ülkemizde NAYKH sıklığı kadınlarda %16.5 iken erkeklerde %23.7 olarak bulunmuştur ve santral obezitenin önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (61). NAYKH'nın prevalansı; T2DM ve TG yüksekliği olan hastalarda %50-55'e, obez bireylerde %75'e çıkmaktadır ve obez olan diyabetik bireylerin hemen tamamında mevcuttur. Obezite, diyabet ve MetS, NAYKH ve ilerlemiş fibrozisin risk faktörlerindedir (60-62). MetS yaygın bir problemdir ve obezite, diyabet, hiperlipidemi ve HT gibi metabolik problemlerde prevalansının yüksek olması nedeniyle büyük bir nüfus NAYKH gelişimi açısından risk altındadır (63).

4.4.8. İnflamasyon

MetS ve viseral obezite olgularında düşük derecede kronik inflamasyondan söz edilmektedir. Viseral obezitenin yol açtığı kronik inflamasyonun sorumlusu yağ dokusundan üretilen ve salgılanan adipokinler, sitokinler, kemokinler ve diğer faktörlerdir. İnflamasyon, HT ve dislipidemi sonucunda T2DM, KVH ve MetS riskini arttırmaktadır. Bu olgularda CRP, IL-6, Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve PAI-1 adipokinlerinin düzeyi yüksek olarak saptanmaktadır (64).

MetS bileşenleri ile ilgili yapılan yeni çalışmalar ışığında hiperürisemi, pıhtılaşmaya eğilim, subklinik inflamatuvar süreç ve adipoz dokunun infamatuar sürece katkısı gündeme gelmektedir (65-67). Bu durumun biyokimyasal olarak kanıtlanabilmesi için, son dönemde başta yüksek duyarlılıklı C-Reaktif Protein (hs-CRP) olmak üzere, PAI-1, IL-6, TNF- α , Açlık ile uyarılmış adipoz faktör (FIAF), APO A1, APO B, Resistin, Lep, AdipoQ gibi markırlar ile ilgili artan sayıda araştırmalar yapılmaktadır (68-72).

Yapılan çalışmalar sonucunda MetS, ateroskleroz, diyabet ve insulin direnci gelişiminde, düşük dereceli inflamasyonun rolüne yönelik birkaç hipotez öne sürülmüştür (73-78).

Bu hipotezler şunlardır:

1. IL-6, insulinin sinyal iletimini etkileyerek insulin reseptörüne bağlanmasını engellemektedir.
2. IL-6, Kortikosteroid bağlayıcı globulin düzeyini azaltır. Böylece dolaşımdaki serbest kortizol seviyesi artar, insulin direnci ve metabolik sendromun diğer komponentleri oluşur.
3. IL-6, Lipoprotein lipaz aktivitesini inhibe ederek esterleşmemiş yağ asitlerinin konsantrasyonunu artırır. Bunun sonucu olarak dislipidemi ve insulin direnci meydana gelir.
4. Adipoz dokudan IL-6 uyarısı ile TNF- α ve İnterlökin-1 (IL-1) gibi proinflamatuvar sitokinler salgılanır. TNF- α insulin aracılı glukoz kullanımını azaltır ve endotelial disfonksiyona yol açar.
5. Proinflamatuvar sitokinler muhtemelen CRP' in yaptığı gibi, direkt olarak ateroskleroza başlatırlar. Bununla birlikte nükleer faktör κ B' yi indükleyerek adezyon molekülleri ve PAI-1'in salınması ile trombozu başlatırlar.
6. CRP, aterosklerotik plak zemininde kompleman aktivasyonu ile mevcut inflamasyonu artırmaktadır.

4.4.8.1. TNF- α

TNF- α 'nın inflamasyon, septik şok, romatoid artrit, konakçı parazitler hastalıkları, obezite ve insülin rezistansı ile birlikte artışa geçtiği görülmüştür. TNF- α birçok immün fonksiyonlarının dışında reproduktif sistemi, anjiogenezi, lipid metabolizmasını, beyin gelişimini ve kemik metabolizmasını düzenler. Yağ dokusundaki makrofajlardan TNF- α 'nın salgılanmasındaki artış ile birlikte PAI-1 indüklenir. Obezite ile birlikte artan TNF- α konsantrasyonu insülin-reseptör fonksiyonunu bozar, glukoz taşıyıcıları (GLUT) mRNA sentezini inhibe eder ve ayrıca pankreas β hücrelerine toksik etki yaparak insülin direnci gelişimine yol açar (79).

4.4.8.2. IL-6

Büyük oranda visceral yağ dokusundan sentezlenen ve etkisini otokrin ve parakrin yolla yapan IL-6, obezite ile birlikte artış gösterir. IL-6'nın, KVH ve ateroskleroz ile ilişkili olduğu görülmüştür. IL-6; endotel adezyon moleküllerini artırır, insülin direncini geliştirir, CRP'yi indükler, anti-inflamatuar özellik gösterir, kortikotropin salgılatıcı hormonu (CRH) salınımını stimüle ederek adrenokortikotropik hormonun (ACTH) salınımını artırır. Ayrıca IL-6, TG sekresyonunu ve prokoagulan madde sentezini düzenler (79).

4.4.8.3. CRP

Birçok inflammatuar, infeksiyöz, malign hastalıkta artan insan CRP bir β - globülinidir. İn vivo ve in vitro çalışmalar CRP'nin konakçıda yabancı patojen ve hasarlı hücrelere spesifik olarak bağlanabilme yeteneğinin bulunduğunu ve kandaki humoral ve hücrel efektör sistemlerle etkileşerek, yabancı olarak algılanan hücreleri ortadan kaldırmayı başlatma ile ilgili olduğunu göstermiştir (80). CRP'nin özellikle IL-6 başta olmak üzere inflammatuar sitokinlere yanıt olarak hepatositlerce sentezlendiği bilinmektedir.

2003 yılında Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) ile Amerikan Kalp Cemiyeti (AHA) tarafından, CRP ölçümünün inflamasyonun sensitif bir göstergesi olduğu ve kardiyovasküler risk değerlendirmesinde diğer kanıtlanmış risk faktörlerine ilave edilebileceği açıklanmıştır (73).

Toplum incelemeleri sağlıklı insanda serum CRP konsantrasyonunun 0.2 mg/L veya daha az olduğunu göstermiştir. 1.0 mg/L'den daha düşük değerler klinik olarak anlamsız

kabul edilirken, bunun üzerindeki değerler klinik olarak önemli bir inflamasyonun göstergesidir. 0.2-1.0 mg/L arasındaki değerler küçük inflamasyonlarda görölmektedir (80).

4.4.9. Nöroendokrin Anormallikler

MetS, insülin direncinde ve abdominal obezitede görölen nöroendokrin anormallikler, artmış kortizol ve adrenal androjen sekresyonudur. Bu durum muhtemelen hipotalamik-pitüiter-adrenal (HPA) aks hiperaktivitesi nedeniyledir. HPA aks hiperaktivitesi ise santral glikokortikoid reseptörlerin feed-back inhibisyonundaki yetersizlik sonucu gelişmektedir. Bu durumdan moleküler genetik defektler sorumlu tutulmaktadır. Bu duruma sekonder olarak ise seks hormon sekresyonu inhibe olur ve sempatik sinir sistemi aktivasyonu ortaya çıkar.

Dolaşımdaki aşırı kortizol anti-insüliner etkileri nedeniyle (insüline bağlı olarak gelişen kas dokusunda glukojen sentetaz aktivasyonu, hepatik glukoz üretiminin inhibisyonu ve adipoz dokuda lipolizin inhibisyonu etkilerine zıt etki oluşturarak) insülin direnci gelişimine yol açar. Bu durum, dolaşımdaki SYA mobilizasyonunun artışı ile de birliktedir (81). Abdominal obeziteye bağlı olarak nöroendokrin regülasyonun bozulması (HPA aks aktivasyonu), başta insülin direnci gelişimine yol açmasının yanında seks hormon sekresyonundaki bozukluğa kadar pek çok zararlı sonucu da beraberinde getirmektedir (82-87).

Bazı araştırmacılar, artmış kortizol sekresyonu ile birlikte olan adrenal insidentalomanın, MetS'un klinik bir bulgusu olduğunu ileri sürmektedirler (88). HPA aksının feed-back regülasyonundaki bozulmanın, MetS'un oluşumunda anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. MetS'da oluşan kardiyovasküler risk faktörlerinin, HPA eksenin aktivasyonu ile yakından bağlantılı olduğu kabul edilerek yapılan bir çalışmada HPA eksen aktivitesi, obezite ve MetS arasındaki ilişki incelenmiştir. Kortizol ile sistolik ve diyastolik kan basıncı, açlık kan glukozu, insülin direnci, açlık TG konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Yüksek kortizol seviyesinin, obezitenin, KVVH üzerindeki etkilerini arttırdığı fikri desteklenmektedir (89).

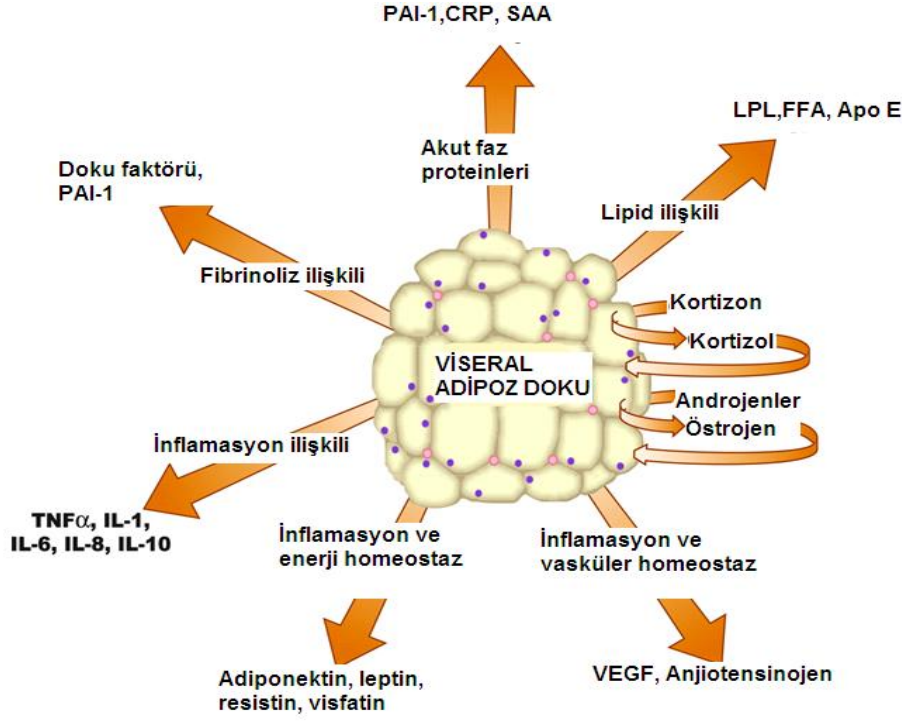
4.5. YAĞ DOKUSUNUN MetS ÜZERİNE ETKİSİ

Yağ dokusu büyüklüğü bakımından yaşam boyu, enerji ihtiyacı ve tüketimine bağlı, sürekli hacim değişkenliği gösteren özelleşmiş yağ dokusudur. Son yıllara kadar yağ dokusu, besin alımı sırasında yağın TG şeklinde depolandığı ve açlık sırasında yağ asitlerini bırakarak, enerji gereksinimini karşıladığı düşünülüyordu, fakat yapılan son çalışmalarda yağ dokusunun çeşitli hormonlar salgılayarak, inflamasyon, insülin direnci ve metabolik sendrom gibi rahatsızlıklara katkıda bulunduğu görülmüştür. Yağ dokusu; kahverengi yağ dokusu (KYD) ve beyaz yağ dokusu (BYD) olmak üzere iki alt tipi bulunmaktadır (79).

KYD'su termoregülasyonda görev almasıyla, hücrelerinde çok sayıda uncoupling protein-1 içeren mitokondrileriyle ve erişkinlerde çok az bulunmasıyla BYD'dan ayrı incelenmektedir. Beyaz yağ dokusu vücut ağırlığının %10-20'sini oluşturur, görevi ise trigliserid depolamak bunun yanı sıra adipokinler sentezleyerek metabolizmanın düzenlenmesine yardımcı olmaktadır. BYD'su, intraperitoneal alanda viseral (omental) yağ dokusu ve cilt altı alanında subkutan yağ dokusu olarak iki farklı alt tipi bulunmaktadır. BYD'sunun yerleşim yerleri yağ dokusu metabolizmasında farklılığa yol açar. Viseral yağ depolarının insülin direnci ve MetS gelişimi açısından cilt altı yağ dokusundan daha büyük bir risk taşıdığı düşünülmektedir (Şekil 1).

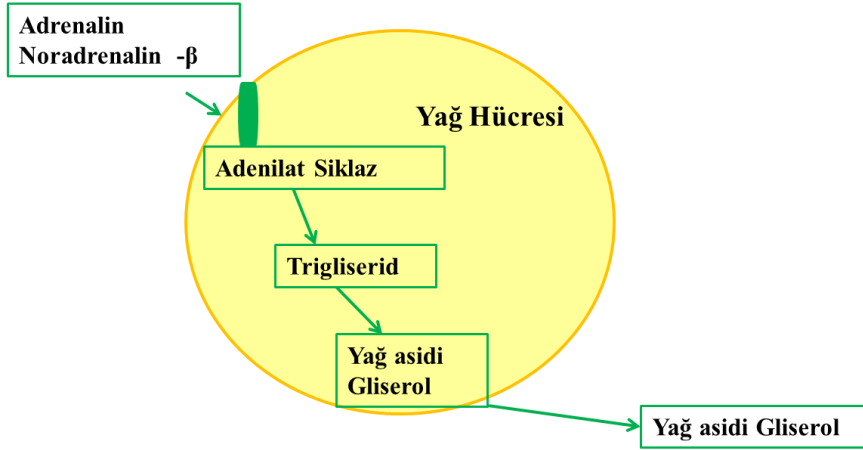
Yağ hücreleri adrenaline ve noradrenaline insüline daha duyarlı olup, adrenaline uyarıldıklarında lipolizi stimüle ederek yağ asidi ve gliserol salınımına neden olur (Şekil 2) (90). Bu yüzden cilt altı yağ dokusu ile kıyaslandığında yağ asitlerinin kaynağı olarak viseral yağ dokusu gösterilmektedir ve obez kişilerde SYA'leri düzeyleri de çok yüksektir. SYA'lerinin plazma konsantrasyonu katekolaminler, insülin ve adipokinler tarafından kontrol edilir (91). Yağ asitlerinin aşırı yükselmesi insülin sekresyonunu artırır ve pankreasta lipotoksikite ve β hücre apoptozisine yol açar. Diğer yandan artmış insülin sekresyonu ile insülin direnci oluşur. Ayrıca diabetik kardiyomyopati gelişiminde serbest yağ asitlerinin rolü olduğu ileri sürülmektedir (92). SYA'lerinin oksidatif stres ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimindeki rolü ile de vasküler fonksiyonların bozulması ve ani kardiyak ölüme de rolü olduğu vurgulanmaktadır (91). SYA metabolizması bozukluklarının düzeltilmesiyle metabolik sendromun bazı komponentlerinin önlenebileceği vurgulanmaktadır. Ayrıca viseral yağ dokusu esterleşmemiş yağ asitlerinin karaciğere direkt geçişi için portal dolaşıma girdiği

yerde lokalize MetS gelişimi açısından cilt altı yağ dokusuna göre daha fazla risk taşımaktadır (93, 94).



Şekil 1: Visceral yağ dokusunun MetS gelişimindeki moleküler etkileri.

Turgeon J L et al. Endocrine Reviews 2006;27:575-605



Şekil 2: Adrenalin ve noradrenalinin yağ hücresine etkisi ve lipolize neden olarak yağ asidi ve gliserol salınması.

BYD özellikle visceral yağ dokusu kompleks ve aktif bir endokrin doku olarak kabul edilmektedir. Bu dokudan birçok adipokinler salgılanmaktadır ki bu adipokinler insan metabolizması ve vasküler biyolojinin regülasyonunda önemli roller oynamaktadır. BYD'dan

salgılanan bu adipokinler (LEP, resistin, ADİPOQ, angiotensinojen, PAI-1, 11 beta hidrosisteroid dehidrogenaz-1 (11 β HSD-1) gibi) otokrin ve parakrin etkili iken bir kısımda dolaşıma katılarak bazı dokularda (karaciğer, kas, endotel) önemli etkiler yaparlar. Bu adipokinlerin üretimindeki regülasyonun bozulması obezite, insülin direnci, T2DM, hiperlipidemi, vasküler hastalık ve dolayısıyla MetS gelişiminde önemli rol oynar (95).

4.5.1. Leptin

LEP, yağ hücrelerinden salgılanan ve negatif feed back mekanizması ile hipotalamusa etki ederek besin alımını baskılayan ve enerji harcanmasını arttıran bir hormondur. LEP, leptin reseptörleri (LEPR) aracılığıyla Nöropeptid Y (NPY) sentez ve salgısını inhibe ve melanosit sitümüle edici hormon α (α -MSH) salgısını stimüle ederek besin alımını azaltır. Lep kas, karaciğer ve yağ hücresinde glikoneojenezi arttırırken glukojenolizi azaltarak glukoz metabolizmasına katılır. Plazma leptin seviyesi artarsa, besin alımı, lipogenez azalır ve enerji harcanması, lipoliz, insüline hassasiyet artar (90).

4.5.2. Resistin

Rezistin, obezite ve DM ile bağlantılı polipeptid yapıli hormondur. İnsanlardaki asıl kaynağı makrofajlar olan, yağlanmayla ve obezite ile artan rezistin, özellikle kemirgenlerde T2DM ve insülin direnci gelişiminde de etkilidir (79). Rezistinin vücut yağ kitlesini düzenleyici etkisinin olduğu düşünölmektedir. Rezistinin glukoz toleransını ve insüline hassasiyeti azaltıcı etkisi vardır (96).

4.5.3. Adiponektin

ADİPOQ yağ dokusunda en çok bulunan ve genetik olarak kodlanmış proteinlerdendir (97). Viseral yağ doku artışı ve obezite ile beraber plazma adiponektin seviyeleri düşmektedir. Glukoz, lipid ve enerji metabolizmasının homeostatik kontrolünde fonksiyon gösterir (96). Yapılan klinik çalışmalarda adiponektin düzeyinin obezite, DM ve KVH düşük olduğu tespit edilmiştir (96, 97). ADİPOQ PPAR- γ aktivitesini, insülin duyarlılığını artırır, insüline cevap olarak yükselir, glukoz alımı ile pozitif yönde ilişkili iken plazma adiponektin seviyesi, insülin, leptin düzeyi ve viseral yağ dokusu ile negatif yönde ilişkilidir (96). Son yıllarda

yapılan çalışmalarda, obeziteye bağlı adiponektin seviyelerindeki azalmanın, insülin direnci ve MetS gelişimi ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür (96).

4.5.4. Anjiyotensinojen

Anjiyotensinojen bir çok dokuda ekspresse olmasına karşın büyük oranda karaciğerde ekspresse edilir. Kan basıncı ve elektrolit homeostasında görevli olan anjiyotensin II'nin öncü maddesidir. Yağ hücresi membranında bulunan anjiyotensin II reseptörleri aracılığıyla preadipositlerin adipositlere farklılaşması, besin alımı sinyallerine cevap oluşturulması ve yağ hücrelerinin büyüklüğünün düzenlenmesini sağlar (90).

4.5.5. PAI-1

İnsanda 7. kromozomun kısa kolu (7q21), sıçanda 12. kromozomun kısa kolu (12q11) üzerinde bulunan ve 9 ekzon içeren PAI-1 (SERPINE1), serpin ailesinin üyesidir. Tek zincir glikoprotein yapısındadır, molekül ağırlığı 42.7kD'dur ve 379 amino asit içerir. PAI-1 damar duvarı (endotelial hücreler, düz kas hücreleri), makrofajlar, karaciğer ve yağ dokusu tarafından sentezlenir. Yağ hücrelerinden PAI-1 sentezi ve insülin aktivitesi transforming büyüme faktörü- β (TGF- β) tarafından bloke edilir (90).

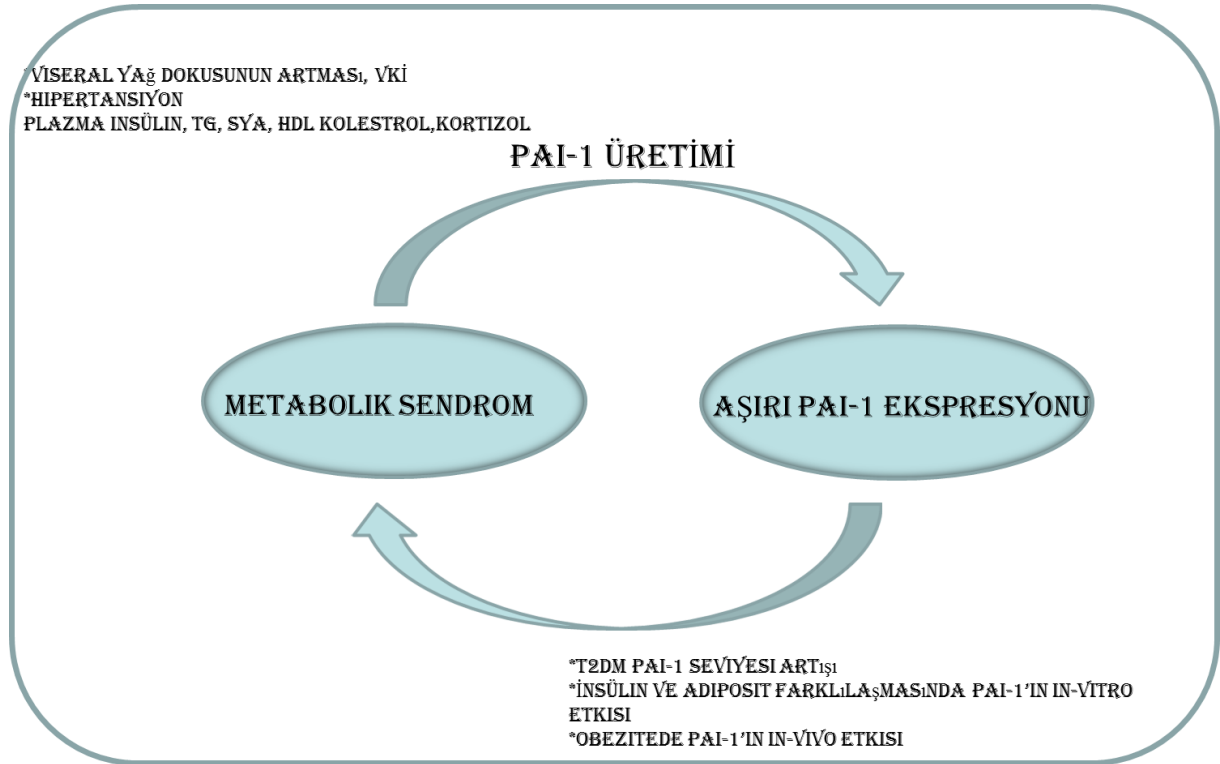
PAI-1, fibrinolitik aktivitenin temel belirleyicisidir. Plazmada plazminojen aktivasyonunun esas inhibe ederek endojen fibrinolitik sistemi düzenler ve trombüs oluşumunu regüle ederek vasküler homeostazda rol oynar. Endojen doku tipi plazminojen aktivatörünün (t-PA) ile bileşik oluşturan tek inhibitördür. Hem t-PA'yı hem de ürokinaz tipi plazminojen aktivatörünü (u-PA) hızla inaktive eder (98).

PAI -1 ile obezite ve MetS arasındaki bağlantı ilk olarak 1986 yılında kurulmuş ve daha sonra yapılan çalışmaların sonuçlarıyla plazmadaki yüksek PAI-1 düzeyi MetS'un gerçek bir bileşeni ve kardiyovasküler hastalıkların bağımsız risk faktörlerinden biri olarak kabul edilmiştir (98-100). MetS'da yüksek PAI-1 seviyesi VKİ, viseral yağ dokusu, tansiyon, plazma insülin seviyesi, TG, SYA ve HDL kolesterolü seviyeleriyle ilişkilendirilmiştir. Obez bireylerde yapılan araştırmalarda plazma PAI-1 seviyesinin viseral yağlanmayla beraber arttığı gösterilmiş ve özellikle plazmadaki PAI-1'in viseral yağ dokusu kaynaklı olduğu kanıtlanmıştır (101). Obez bireylerde yapılan farklı bir çalışmada ise viseral yağ dokusunun cilt altı yağ dokusuna göre 5 kat daha fazla PAI-1 ekspresse ettiği gösterilmiştir ve artmış PAI-1 ekspresyonu ise MetS ve KVH gelişme riski ile ilişkilendirilmektedir (102-105).

Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda PAI-1'in aterotromboz rolünü yanında adipositlerin farklılaşmasında, yağ dokusunun gelişiminde ve adipositlerdeki insülin sinyal kontrolünde etkisi olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, PAI-1 inhibitörlerinin aterotrombozun yanı sıra insülin direncinin patogenezinde de rol oynadığını düşündürmektedir (102, 106, 107). İnsülin direnci fare modelinde ise yağ dokusu ve karaciğer dokusunda PAI-1 gen ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (105-108). Ayrıca yapılan karaciğer yağlanması fare modellerinde plazma PAI-1 seviyelerinin yüksek bulunması ve bu düzeylerin karaciğer enzim seviyeleri ile ilişkisinin gösterilmesi karaciğerdeki yağlanmanın PAI-1 tarafından indüklediğini düşündürmektedir (109, 110).

Son yıllarda ise PAI-1 gen ekspresyonu MetS'de 11 β -HSD1 gen ekspresyonu ile paralel bir şekilde arttığı görülmüş ve PAI-1 geninin glukokortikoid ve kortizol metabolizması ile alakası üzerine durulmuştur. Yapılan insan adiposit hücre kültürlerinde deksametazon ve kortizolün PAI-1 sentezini indüklediği gösterilmiştir (Şekil 3) (111-114).

Yapılan bu çalışmalarla PAI-1 ekspresyonunun ve sekresyonunun insülin direnci, T2DM ve KVH gelişmesi olasılığını predikte eden bir özellik taşıyarak MetS bulgularıyla da pozitif korelasyon gösterdiği kanıtlanmıştır.



Şekil 3: PAI-1'in yüksek ekspresyonu ve MetS gelişimindeki rolü. *Marie-Christine Alessi et al.*

Arterioscler, Thromb Vasc Biol 2006, 26:2200-2207

4.5.6. 11 β HSD-1

11 Beta hidroksteroid dehidrogenaz (11 β HSD) enzimi 1953 yılında keşfedilmiş ve daha sonra Monder ve arkadaşları tarafında 1980 yılında sıçan karaciğerinden pürifiye edilen bu enzimin 1997 yılında White ve arkadaşları tarafından 11 β HSD enziminin iki alt tipi (11 β HSD-1 ve 11 β HSD-2) olduğu gösterilmiştir (115-117).

11 β HSD-1 insanda 1. kromozomun kısa kolunda (1q32), sıçanda ise 13. kromozomun kısa kolunda (13q27) bulunan 6 ekzon bölgesi bulunan molekül ağırlığı 34 kD ve 292 amino asit içeren bir enzimdir.

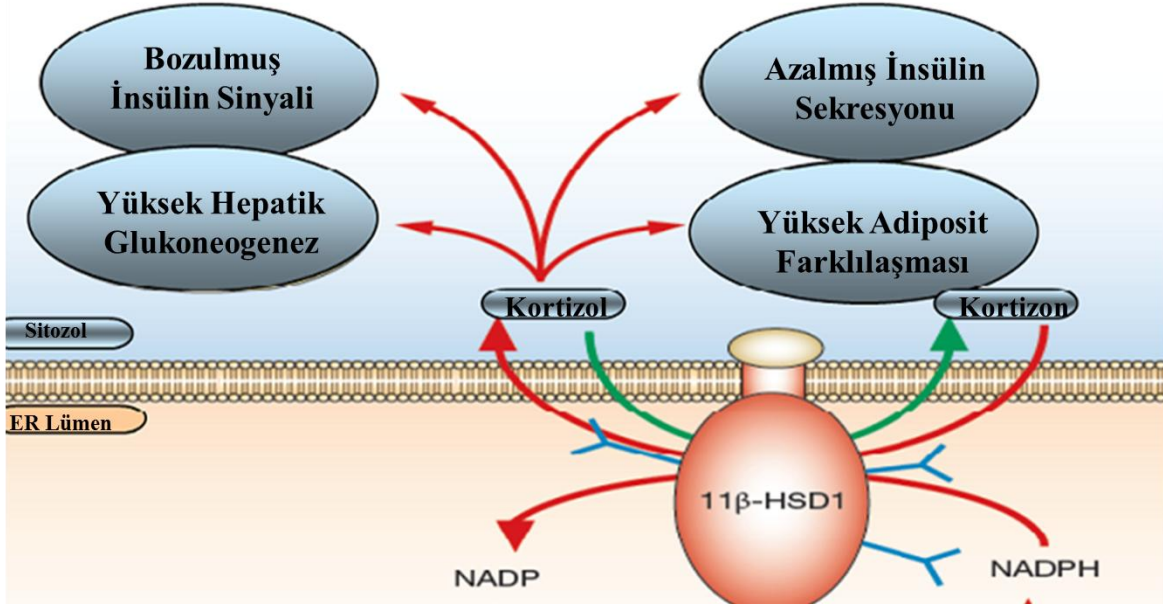
11 β HSD-1'in transkripsiyon doğrudan CCAAT / enhancer bağlayıcı protein (C / EBP) aile üyeleri tarafından düzenlenir ve endoplazmik retikulum lümeninde membrana bağlı bulunur (118). NADPH bağımlı olan bu enzim başta karaciğer ve yağ dokusunda yüksek oranda ekspresse olmak üzere, merkezi sinir sisteminde, glukokortikoid reseptörünün (GcR) bol olarak bulunduğu dokularda ve önemli metabolik dokularda ekspresse olmaktadır.

Görev olarak glikokortikoidlerin (GC) mekanizmasına etkiyen ve GC'lerin glukokortikoid reseptörlerine (GcR) ulaşmasını sağlayan en önemli faktör 11 β HSD-1 enzimleridir. Bu enzimler aynı zamanda inaktif kortizonu (insan 11-keto kortizon, sıçan ve fare 11-dehidrokortikosteron) aktif kortizole (insan kortizol, sıçan ve farede kortikosteron) çeviren çift yönlü bir enzimdir (114, 119).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda doku-spesifik kortizol metabolizma disregülasyonu renin-angiotensin sistemin ve kortizolün kortizona dönüşümü ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiş ve MetS'un gelişiminden sorumlu olduğunu düşündürmektedir (Şekil 4). Abdominal obezite de dolaşımdaki kortizol seviyeleri sürekli yüksek olmasa bile, hücre içi glukokortikoid seviyeleri ve aktivitesi artmaktadır. Özellikle viseral yağ dokusunda kortizol seviyesi ve aktivitesi 11 β HSD-1 tarafından belirlenir ve yağ dokusunda adipositlerin farklılaşmasında rol oynar (120). 11 β HSD-1 ile ilgili yapılan bir çalışmada iskelet kasında 11 β HSD-1 geninin ekspresyonunun insülin rezistansı ve tansiyon ile pozitif bir korelasyonu olduğu gösterilmiştir (121).

Farelerde yapılan bir çalışmada 11 β HSD-1'in yağ dokusundan over-ekspresyonu viseral obezite, insülin rezistansı, hiperglisemi ve hiperlipidemi geliştirmesine sebebiyet vermekte ve 11 β HSD-1 knockout farelerin ise MetS'a karşı bir koruyucu özellik geliştirdiği gösterilmektedir (122). Yapılan başka bir çalışmada transgenik fare modelinde 11 β -HSD1 geninin ekspresyonunu arttırarak (Ap2 geninin kontrolü altında) farelerin MetS'a (abdominal obezite, hipertansiyon, insülin direnci ve dislipidemi) benzer bir fenotip geliştirdiği

gözenmiştir (114). Yapılan bu çalışmalarla 11β HSD-1 enziminin insülin direnci, obezite ve diğer metabolik bozuklukların gelişmesinde önemli bir faktör olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle de 11β HSD-1 bloke edici ilaçları farmosotik endüstri için önemli bir hedeftir (123).



Şekil 4: 11β HSD-1'in kortizonu aktif kortizole çevrimi ve MetS patagonezindeki rolü. ER: Endoplazmik Retikulum
Jeremy W Tomlinson et al. Nature Endocrinoloji and Metabolism Review 2005.

4.6. DENEY HAYVANLARINDA MetS MODELLERİ

MetS'un prevalansında ki artışlar bilim insanlarını bu konuda dehşete düşürmekte ve hem MetS genetik alt yapısını keşfetmek hem yeni ilaçlar üretmek ve bu ilaçların deneme çalışmalarını yapabilmek için deney hayvanlarında MetS modelleri üzerinde daha fazla araştırma yapmaya yöneltmiştir. İnsanlarda görülen MetS'a benzerlik gösteren ve özellikle insülin direnci, abdominal obezite, T2DM, non-alkolik karaciğer yağlanması ve HT gibi majör bileşenlerin aynı anda geliştiği deneysel model oluşturmak istenmiştir. Fakat MetS çok faktörlü bir durum olduğundan deneysel modellerde bu patolojinin tümünü oluşturmakta oldukça zorlanılmıştır.

Şimdiye kadar MetS modeli oluşturmak için farklı deneysel çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan en çok kullanılan modellerin başında genetik olarak obez, diyabetik ve hipertansif

olan fare ve sıçanlar gelmektedir. Daha sonra alloksan ve streptozotosin gibi kimyasallar kullanılmış fakat tam olarak MetS bileşenlerinin tümü geliştirilememiştir (124). Kullanılan diğer bir model ise sıçan ve farelere yüksek fruktoz içeren diyetle beslenmektir. Ayrıca yüksek yağ ve yüksek karbonhidrat içeren diyetler kullanılarak da kemiricilerde MetS oluşturulabildiği bazı çalışmalarda gösterilmiştir (125, 126).

4.7. FRUKTOZ VE MetS

İnsan diyetinde önemli bir yer tutan ve bitkisel kaynaklı karbohidratların temel yapısını oluşturan glukoz ve fruktoz iki basit şekerdir. Fruktoz yapısal olarak glukoz ile aynı kimyasal formüle ($C_6H_{12}O_6$) sahiptir, ancak glukozda birinci karbondaki aldehid grubu yerine ikinci karbonunda keto grubu bulunduran bir monosakkarittir. Doğal olarak fruktoz (L-fruktoz formunda); bal, meyve ve sebzelerde bulunmaktadır. Fakat günümüzde fruktoz, paketlenmiş hazır yiyeceklerde, pastane ürünlerinde, meyve suları gibi daha birçok yiyecek ve içecek içerisinde bulunmakta ve fazla miktarda tüketilmektedir. Fruktoz yapay (D-fruktoz formunda) olarak yiyeceklerin içine ya sukroz (sakkaroz, %50 glikoz-%50 fruktoz) olarak ya da yüksek fruktozlu mısır şekeri (YFMS) olarak eklenmektedir. Fakat son kırk yılda hazır gıda üretiminde sukroz yerine daha yüksek fruktoz içeren YFMS kullanılmaktadır. Gıda üreticilerinin sukroz yerine YFMS'unun tercih etmesinin birçok sebebi bulunmaktadır. Fruktozun sukrozdan 100 kat daha güçlü bir tatlandırıcı olması, daha ucuz ve daha kolay ulaşılabilir olması bunlardan bazılarıdır.

Yüksek fruktoz içeren yiyeceklerin; fruktozun metabolizması nedeniyle doyma hissini geciktirmekte, daha çok tüketilmesine neden olmakta ve ikinci acıkma hissini öne çekme özelliğiyle vücuttaki birçok metabolik aktiviteyi etkilemekte ve kronik hastalıklar için gizli bir tehdit oluşturmaktadır (127).

4.8. FRUKTOZ EMİLİMİ VE METABOLİZMASI

4.8.1. Fruktoz Emilimi

Fruktozun sindirimi, absorpsiyonu ve metabolizması glikozdan farklıdır (128). Fruktozun absorpsiyonu ince bağırsaklarda ve böbreğin proksimal tübüllerinde, başlıca kolaylaştırılmış taşıyıcılar (GLUT) aracılığı ile gerçekleşmektedir. Fruktozun emiliminde görev yapan başlıca glikoz transporterler böbrekte proksimal tübüllerde ve ince bağırsaklarda yüksek oranda ekspresse olan, enterositlerin apikal ve bazal mebranında bulunan GLUT 5 ve GLUT 2'dir (8, 14).

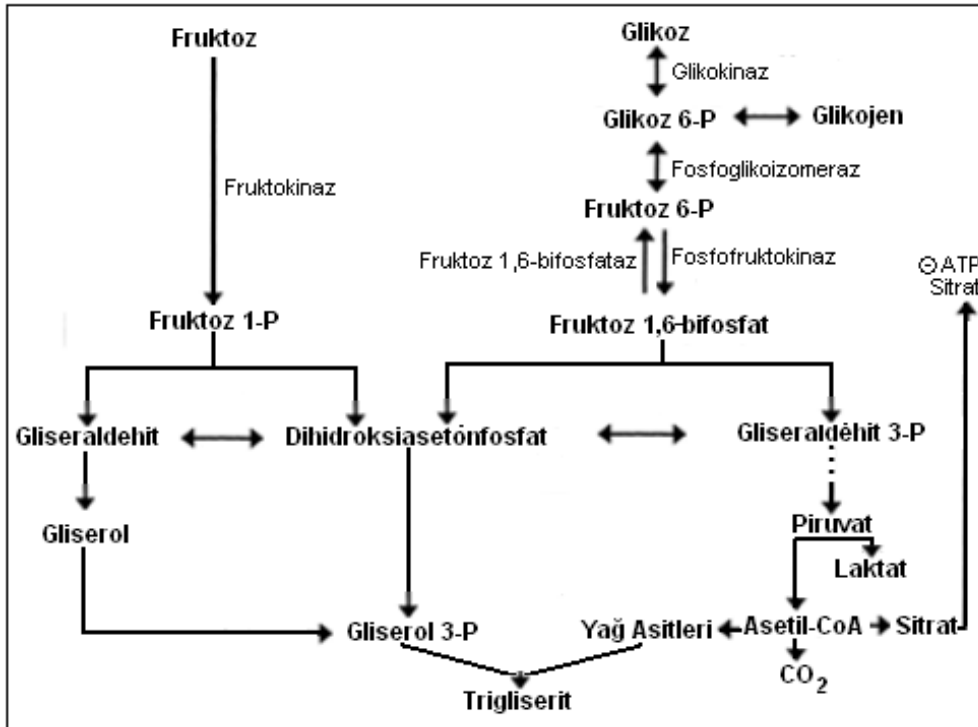
Fruktoz, GLUT 5 ile bağırsaklardan absorbe edilmekte ve daha sonra GLUT 2 aracılığı ile kan damarlarına difüze olarak portal sisteme geçmektedir. Glukozun aksine, bağırsaklardan fruktozun absorpsiyonu ATP hidrolizini gerektirmez ve sodyum absorpsiyonundan bağımsızdır (129). Karaciğer fruktoz için spesifik olan GLUT 5 taşıyıcısına sahiptir ve bağırsaklardan emilen ve geçen fruktozun büyük kısmı karaciğer tarafından yakalanır ve metabolize edilir. Bu da karaciğer tarafından aşırı fruktoz alımı ile sonuçlanmaktadır.

4.8.2. Fruktoz Metabolizması

Karaciğer, bağırsak, kas ve yağ dokusunda fruktoz metabolize edilebilmesine rağmen başlıca metabolizması karaciğerde gerçekleşir. Fruktozun transport ve metabolizması insüline bağımlı değildir, metabolizması hızlıdır ve böbrek eşik değeri düşüktür. Portal dolaşım yolu ile karaciğere ulaştırılan fruktozun karaciğerdeki metabolizması glukoz ile temel bir takım farklılıklar gösterir (Şekil 5).

Fruktoz karaciğerde fruktokinaz enzimi ile fosforile edilerek fruktoz-1-fosfata dönüştürülür. Bu molekülden gliseraldehit, dihidroksiaseton fosfat ve gliseraldehit-3-fosfat üretilir. Bu üç karbonlu moleküller daha sonra, glukoneogenez ile glukozu veya *de novo* TG sentezine yönlendirilir. Fruktoz metabolizmasının bu özelliği glukoz metabolizmasına tamamen zıttır (130). Glukozdan TG üretilmesi metabolik bazı süreçlerle kontrol altında tutulur. Bu mekanizmalar, glukozdan glikojen üretimi, üç karbonlu glikoliz ürünlerinden yağ asiti yerine glukoneogenez ile yeniden glukoz sentezlenmesi ve en önemlisi bu metabolik yolun hız kısıtlayıcı enzim olan fosfofruktokinaz enzimi ile kontrol edilmesidir. Fruktozdan

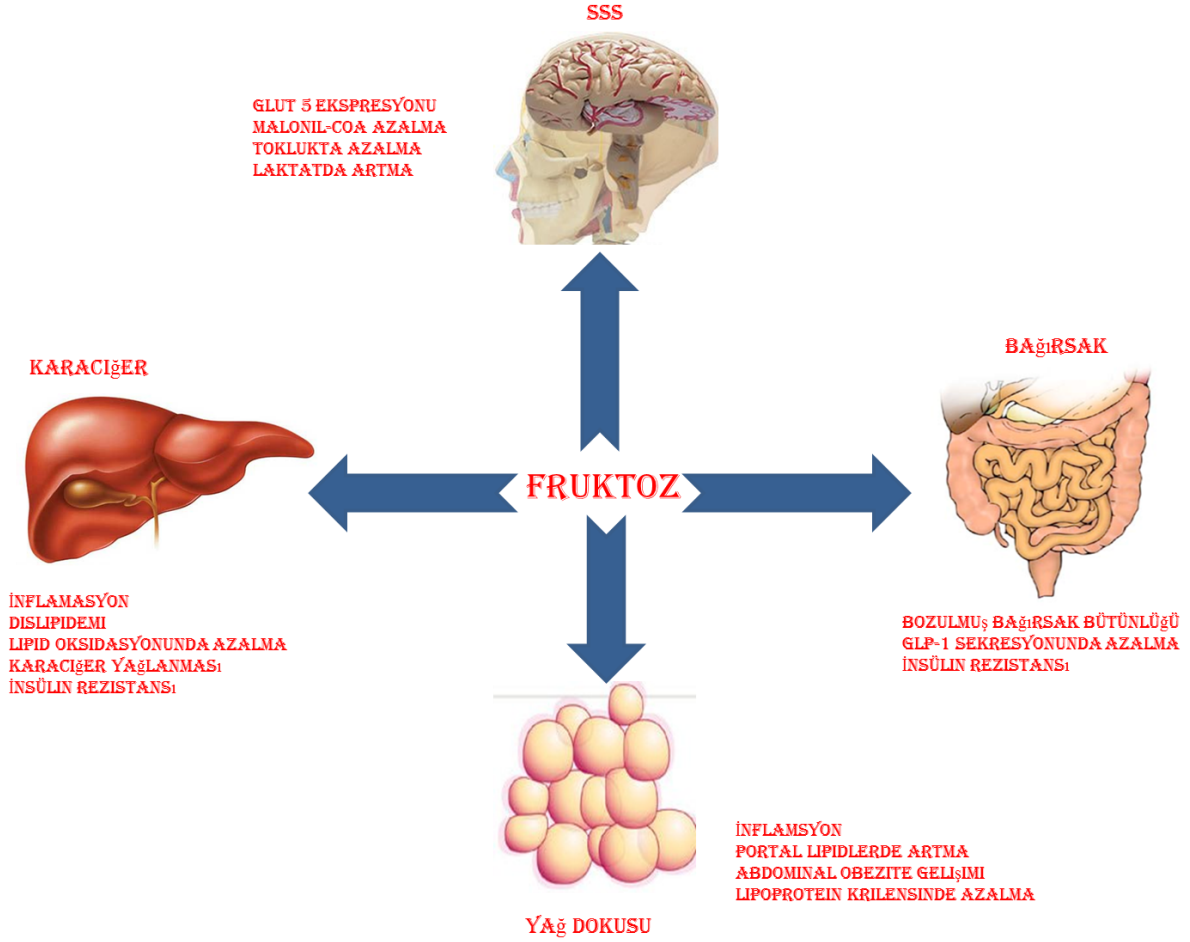
fruktoz-1-fosfatın oluşum basamağı, hız kısıtlayıcı fosfofruktokinaz enziminden bağımsızdır ve fruktoz kaynaklı ara metabolitler direkt olarak bu enzimden sonra gelen glikoliz basamaklarına dahil olur. Bu nedenle fruktoz kaynaklı üç karbonlu moleküller sonunda gliserol ve yağ asiti sentezi için kullanılır ve TG oluşumuna neden olur. Fruktoz metabolizmasının hız kısıtlayıcı fosfofruktokinaz basamağını pas geçmesi, temel anabolik hormon olan insulin ile düzenlenen glikojen ve yağ depolanmasının düzenini ve metabolizmayı bozar (94).



Şekil 5: Fruktoz metabolizması ve fruktoz metabolizması sonucu trigliserid oluşumu.

4.9. FRUKTOZUN METS OLUŞUMUNDAKİ ROLÜ

Son yıllardaki epidemiyolojik ve biyokimyasal çalışmalar yüksek fruktoz tüketiminin MetS gelişiminde çok önemli bir faktör olduğunu kanıtlar düzeydedir. Bu çalışmalarda fruktoz metabolizmasının obezite, insülin direnci, karaciğer yağlanması, infalamsasyon ve HT gelişiminde etkisinin olduğunu ve dolayısıyla MetS geliştirme riskini de arttırdığını düşündürmektedir (Şekil 6).



Şekil 6: Fruktozun MetS gelişimdeki etkileri. SSS: Santral Sinir Sistemi
<http://adameducation.com>

4.9.1. Fruktoz ve Obezite

Fruktoz karaciğerde metabolize edildiğinde üç karbonlu metabolitler gliserol ve yağ asidi sentez yollarına sapor ve esterleşerek TG oluşturur. Bu TG'ler karaciğer tarafından VLDL şeklinde paketlenir ve portal sisteme geçer. VLDL'ler kan akımı ile dolaştıkça TG'ler lipoprotein lipaz tarafından hidroliz edilir ve esterleşmemiş yağ asitleri ve monoasil gliseroller oluşur. Adipoz doku bu komponentleri dolaşımdan alır ve yeniden TG sentezler (14, 94). Fruktozdan fruktoz-1-fosfat oluşurken fosfofruktokinaz basamağı by-pass edildiği ve kontrol edilemediği aşırı fruktoz tüketimi serbest yağ asitleri düzeyinde bir artışa ve obeziteye özellikle de abdominal obeziteye yol açar. Ayrıca yüksek dozda fruktoz alımı sonucu artan SYA'leri hepatik yağ oksidasyonu artırır ve bu yağ asitlerinin karaciğerde birikmesi hem oksidatif strese hem de pro-inflamatur sitokinlerin transkripsiyonlarını artırarak inflamasyona sebebiyet vermektedir (131).

4.9.2. Fruktoz ve İnsülin Direnci

İnsülin sekresyonu β hücrelerinin membranlarındaki GLUT 2 taşıyıcı proteinler tarafından glukozun hücre içine alınması ile uyarılır. Glukozun aksine β hücreleri fruktozdan etkilenmez ve fruktoz taşıyıcı GLUT 5 membran proteinine sahip değildir. Bu nedenle besinlerle alınan fruktoz, insülin sekresyonunu etkilemez (132). Lep sekresyonunda arttıran insülinin, fruktoz tarafından salınımını etkilenmediği için leptin sekresyonunda baskılanır ve Lep proteinin salınımını inhibe ettiği grelin hormonu sekresyonu baskılanmaz (133). Bunun sonucunda merkezi sinir sistemi üzerine besin alımını durduran etki ortadan kalkmış olur ve doyumluk hissi oluşmaz ve daha çok tüketilir. Fruktoz kısa vadede insülin salgılanmasını uyarıcı olmamasına rağmen, uzun süreli fruktoz ile beslenmenin neden olduğu obezite, insülin direnci ve kompensatuar hiperinsülinemi indükler (134). Ayrıca, zaman içinde, esterlenmemiş yağ asidi artışı β hücre fonksiyonu üzerinde zararlı bir etkisi olduğu düşünülmektedir (135).

4.9.3. Fruktoz ve HT

Fruktozun metabolize edilmesi sırasında; fruktoz fruktokinaz tarafından fosforillenirken fosfat donörü olarak adenosin trifosfat (ATP) kullanır, bu da intrasellüler ATP azalmasına neden olur. adenosin monofosfat (AMP) deaminaz 1 kalan adenosin difosfatlardaki (ADP) fosfatları da toplar ve adenin bazı atık ürünü olarak ürik asit oluşur. Fruktoz alımından sonraki 30-60 dakika içerisinde ürik asit yalnızca hücre içerisinde değil aynı zamanda dolaşımda da artar ve bu da hipertansiyon gelişimine yol açar (136, 137). Ürik asit hem vasküler düz kas hücre çoğalmasını hem de kemotaktik ve inflamatuvar maddelerin salınımını harekete geçirir, monosit kemotaksisine sebep olur, endotelial hücre bölünmesini ve göçünü önler, adipositlerde oksitativ strese sebep olur, bu da adiponektin salınımının zayıflamasıyla sonuçlanır (137, 138). Ürik asit vasküler düz kaslardaki endotelial nitrik oksit sentazı inhibe eder ve nitrik oksit (NO) üretimi düşürmekte olup aynı zamanda endotelial fonksiyon bozukluğuyla güçlü biçimde bağlantılıdır. Endotelial nitrik oksitte bir azalma hipertansiyon ve insülin direnci dahil metabolik sendromun birçok komponentine zemin hazırlar (137, 138).

5. MATERYAL VE YÖNTEM

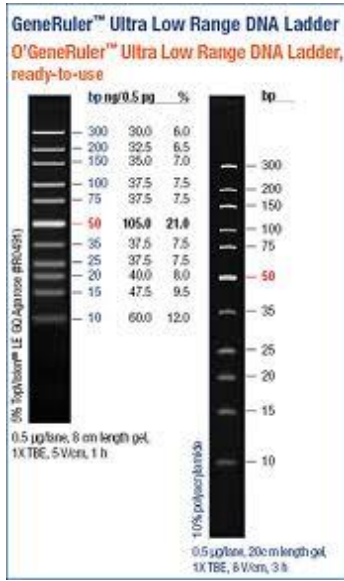
5.1. MATERYAL VE LABORATUVAR EKİPMANLARI

5.1.1. Aletler

MagNALyser	RocheAppliedSeince
QRT-PCR	RocheAppliedSeinceLightCycler® 480 II
Santrifüjler	BeckmanCoulter
Mikroskop	Leica
Krayostat	Leica
Biyokimya Otoanalizatör	Cobas® Integra 400 plus
ELISA Reader	Medispec ESR 200
PCR	Techne 512 ThermoCyclerThermoScientific
Spektrofotometre	PicodropMicrolitrSpectrophotometer
Elektroforez Ekipmanları	ThermoScientific
Jel Sistemi	ThermoScientific
Görüntüleme Sistemi	Gel Logic 1500 ImagingSystem
Jel Fotoğraf Sistemi	Kodak MolecularImaging Software
Pipetler	ThermoScientific
Vorteks	Nüve
Distile Su Cihazı	Nüve
Hassas Terazı	Radwag
Mikrodalga	Arçelik
Buzdolapları (-20 C°, -80 C°, +4 C°)	Arçelik, SANYO, Regal

5.1.2. Kimyasallar, Enzimler ve Markırlar

D-Fruktoz	Merck
PBS (10X)	Roche
Heparin	Sigma
Oil-Red Boyası	ScyTek
Hematoksilen-Eozin Boyası	DDK
Hidroklorik Asit	Merck
Sodyum Sitrat	Merck
Sarcasyl	Amresco
GuanidiumThiocyanate	Serva
β Mercapto Etanol	Biomatik
TriPureTrizol	Roche
Etanol	Merck
İzopropanol	Multicell
Kloroform	Merck
RNaseFree dH ₂ O	Multicell
Oligo-DT	Fermentas
5X Reaksiyon Tamponu	Fermentas
dNTP	Fermentas
RNase İnhibitör	Fermentas
Reverse Transcriptase	Fermentas
Agaroz	Multicell
Bromfenol Mavisi	Fermentas
EtidiyumBromid	ApliChem
Glasiyal Asidik Asit	Carlo ErbaReagenti
Trisbaz	Multicell
EDTA	Multicell
Primerler	Integrated DNA Technologies, Inc XX IDT
SybrGreen	Roche
MgCl ₂	Fermentas, Roche
10X PZR Tamponu	Fermentas
Taqpolimeraz	Fermentas,Roche
DNA Moleküler Ağırlık Standartı	Fermentas



5.1.3. Kullanılan Kitler

Homojenizasyon için MagNA Lyser Green Beads kit, cDNA sentez için Fermentas Revert™ First Strand cDNA Sentez kit, ekspresyon çalışmaları için Roche Light Cycler® 480 Sybr Green I Master kit kullanıldı. ELISA çalışması için Cayman marka Rat İnsülin ELISA kit kullanıldı.

5.1.4. Çözeltilerin Bileşenleri ve Hazırlanışı

1) Etidiyum Bromid

Etidiyum bromid konsantrasyonu 10mg/ml olacak şekilde dH₂O ile sulandırıldı.

2) EDTA (0.5 M, pH 8.0)

93.05 gr EDTA üzerine 500 ml dH₂O ile tamamlandı ve pH8.0'e ayarlandı.

3) TAE (Tris-Asetat-EDTA) Çözeltisi (500 ml, 5X)

242 gr Trisbaz, 57.1 ml Glasiyal Asetik Asit üzerine 100 ml EDTA ilavesiyle hazırlandı.

4) Heparin

50 mg tartılarak 1 ml dH₂O çözündürüldü.

5) PBS

10X olan PBS 1/10 oranında sulandırılarak 1X PBS yapıldı.

6) Perfüzyon Solüsyonu

1X PBS içerisine 5U/ml heparin konularak hazırlandı.

7) Sodyum Sitrat (0.75 M)

15.78 gr Sodyum sitrat üzerine 150 ml dH₂O ile tamamlandı.

8) Sarcosyl (%10)

10 gr sarcosyl üzerine 100 ml dH₂O ile tamamlandı.

9) SOL-D

25 gr Guanidiumthiocyanate, 5 ml 0.75 M Sodyum Sitrat, 2.5 ml %10 Sarcosyl üzerine 17.5ml dH₂O ile tamamlanır. +4°C'de saklandı. Kullanılacağı zaman 9.9 ml SOL-D üzerine 0.1 ml β Mercapto etanol eklenerek karanlıkta saklandı.

10) Asit Alkol

99 ml %80'lik alkol üzerine 1 ml HCl ilvesiyle hazırlandı.

5.2. ÇALIŞMA GRUBU

Çalışmamızda ortalama 250 g ağırlığında erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Bölümünden temin edildi. Çalışmada kullanılan pellet halindeki yemlerin içeriği Tablo 7'de görülmektedir. Sıçanlar 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlıkta (18-21°C sıcaklıkta ve 48-55 nem) uygun şartlarda barındırıldı.

Tablo 7: Çalışmada kullanılan hazır yemlerin içerikleri

İçerik (g/kg)	
Ham Protein	% 20
Ham Selüloz	6.3
Ham Kül	7
Ham Yağ	2.9
Calcium	0.9
Total Fosfor	0.54
Lysine	0,96
Methionin	0.36
Meth.+cys	0.66
Sodium	0,10
Linoleik Asit	1.06
Metabolik Enerji KCal/Kg	2650

5.2.1. Deney Grupları

Deney hayvanları 2 gruba ayrıldı ve aşağıda belirtilen biçimde beslendiler.

Deney Grubu 1 (MetS grubu n=10)

Sıçanlar 15 hafta boyunca ad-libidum olarak pellet yem ile beslendi ve 15 hafta boyunca içme suyu olarak %20 D-Fruktoz içeren çeşme suyu verildi.

Deney Grubu 2 (Kontrol grubu n=10)

Sıçanlar 15 hafta boyunca ad-libidum olarak pellet yem ile beslendi ve 15 hafta boyunca içme suyu olarak çeşme suyu verildi.

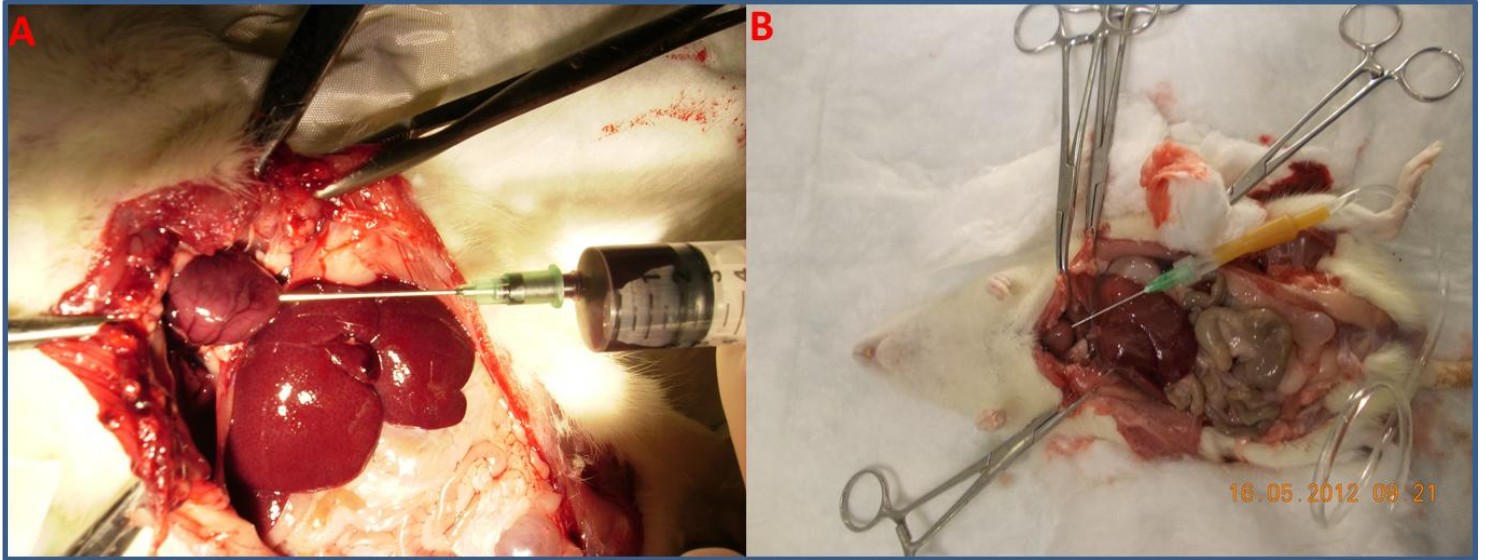
Sıçanları deney gruplarına dahil etmeden önce ketamin/ksilazin anestezisi altında kuyruk veninden 1 ml kan alındı.

15 haftalık beslenme süresi bitiminde sıçanlar ketamin/ksilazin (sırasıyla 35 mg/kg ve 5mg/kg vücut ağırlığı) anestezisi altında kalplerinden 5 ml kan alındı ve total perfüzyon işlemi yapıldı (Şekil 7A). Kuru tüplere alınan kanlardan 1500 x g'de santrifuj edilerek ayrılan serumlar glikoz, insulin, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL ve TG düzeyleri ile alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), CRP ve kortizol aktiviteleri tayinleri için kullanıldı.

5.3. KULLANILAN İNCELEME YÖNTEMLERİ

5.3.1. Perfüzyon İşlemi

Yüksek anestezi altında olan hayvanların cerrahi müdahale ile tüm batin açılarak kalbin sol ventrikülüne kabul takılarak gerçekleştirildi (Şekil 7B). Takılan kanül ile perfüzyon solüsyonu (hayvana ≈ 90 cm yukarısında sabitlenerek) verildi. Solüsyon vermeye başlandığında ‘femur’ atar damarı kesilerek vücuttaki kanın dışarı akması sağlandı. Tüm vücuttaki kan temizlenene kadar solüsyon verilmeye devam edildi (139). Perfüzyon işlemi ile kanın vücuttan tamamen uzaklaştırdıktan sonra karaciğer ve omental yağ dokuları hızla çıkarıldı ve sıvı azot içinde dondurularak aşağıdaki yöntemler için kullanılabilecek -80° C’de muhafaza edildi.



Şekil 7: Perfüzyon işlemi öncesi sıçan kalbinden kan alımı (A). Sıçan perfüzyon işlemi (B).

5.4. KARACİĞER VE OMENTAL YAĞ DOKULARINDA YAPILAN İŞLEMLER

Perfüzyon işlemi sonrası alınan ve sıvı azotta dondurularak -80° C bekletilen karaciğer ve omental yağ dokuları homojenize edildikten sonra Trizol metodu ile RNA izolasyonu gerçekleştirildi. RNA’lardan c-DNA sentez kiti kullanılarak c-DNA’ları yapıldı. c-DNA’ların kontrol polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yapılarak çalıştığı görüldü. Yapılan c-DNA

örnekleri Gerçek zamanlı PZR (QRT-PZR) yapılarak *housekeeping* gen olarak β -Actin ve hedef genler olarak 11 β HSD-1 ve PAI-1 genlerinin ekspresyonlarına bakıldı.

5.4.1. Dokuların Homojenizasyonu

Karaciğer ve omental yağ dokuları (\approx 30 mg) 500 μ l SOL-D solüsyonu içerisinde homojenizasyon için MagNALyser Gren Beads kiti kullanılarak MagNA Lyser aletinde 7000xg 50 saniye homojenize edildi.

5.4.2. Trizol Metodu ile RNA izolasyonu

500 μ l SOL-D içerisinde homojenat üzerine 2 ml Trizol, 400 μ l kloroform eklendi ve 2-3 dk. oda sıcaklığında inkübe edildi. Örnekler 4000 rpm +4°C'de 45 dk. santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan faz ayrımı görüldü ve aköz faz olan RNA'nın içinde bulunduğu faz toplandı. Aköz faz üzerine 500 μ l izopropanol eklendi ve 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası örnekler 14000 rpm +4°C'de 10 dk. santrifüj edildi. Pellet oluşumu gözlemlendi ve pellet üzerine 1 ml %75 etanol eklenerek 10000 rpm +4°C'de 10 dk. santrifüj edildi. Oluşan pellet oda sıcaklığında 10 dk. kurutulmaya bırakıldı. Kuruyan pellet üzerine 100 μ l RNase free dH₂O eklenerek, konsantrasyonları ölçüldü ve -80 °C'de muhafaza edildi.

5.4.3. RNA Miktarının Ölçülmesi

İzole edilen RNA'nın konsantrasyonu ve saflığı Picodrop Microlitre Spectrophotometer Version 3.0 ile ölçüldü. Her bir ölçümde 1 μ l RNA örneği, blank solüsyonu olarak da RNase free dH₂O kullanıldı. İzole edilen RNA örneklerinin konsantrasyonu 260 nm optik dansitesinden (OD), saflığı ise 260 nm / 280 nm dalga boyundaki OD oranından tespit edildi.

5.4.4. cDNA Sentezi

RNA'lar konsantrasyonlarına göre 200 ng olacak şekilde alındı üzerlerine 11 μ l'ye kadar deiyonize dH₂O ile tamamlandı. Örneklerin üzerine 1 μ l Oligo-DT ilave edilerek 65°C'de 5 dk. PZR cihazında inkübe edildi. İnkübe edilen örneklerin herbirinin üzerlerine 4 μ l 5X

reaksiyon tamponu, 2µl 10µM dNTP, 1µl RNase inhibitör ve 1µl reverte transcriptase enzimi eklenerek 1 saat 42°C, 5 dk. 70°C’de inkübe edildi.

5.4.5 cDNA Kontrol PZR ve Jel Elektroferezi

Sentezlenen cDNA örnekleri öncelikle kalitelerinin kontrolü için *housekeeping* bir gen olan Cyclophilin geni PZR yöntemi ile amplifiye edildi. Standart 25 µl’ lik PZR karışımı (14.85 µl dH₂O, 1.5 MgCl₂, 2 µl dNTP, 2.5 µl 10X PZR tamponu, 1 µl ileri primer, 1 µl geri primer ve 0.5 µl Taq polymeraz) 0.5 ml’ lik ince duvarlı PZR tüplerinde hazırlandı. Örnekler 1/5 oranında deiyonize dH₂O ile sulandırıldı. PZR karışımından 23 µl ve 1/5 oranında dilüe edilen cDNA örneklerinden 2 µl eklenerek PZR’ı gerçekleştirildi. PZR koşulları: başlangıç denatürasyonu 95°C 3 dk 1 döngü, amplifikasyon 95°C 45 sn., 56°C 30 sn, 72°C 30 sn. olacak şekilde 40 döngü olarak gerçekleştirilip sonlanma basamağı olarak 72°C’de 10 dk. bekletildi.

PZR’ı yapılan örnekler %2’lik agoroz jelde (2 gr agoroz 100 ml 1XTAE ile hazırlandı.) 90 voltta 1 saat yürütülerek görüntülendi.

5.4.6. QRT-PZR ile Genlerin Ekspresyon Analizleri

11β HSD-1, PAI-1 ve *housekeeping* gen olarak β-Actin genlerinin ekspresyon çalışmaları Light Cycler 480 II cihazı ve Light Cycler 480 Sybr Green kit ile uygun primerler (Tablo 8) (140-142) kullanılarak amplifiye edildi. QRT-PZR karışımı hazırlanarak (5.4 µl dH₂O, 0.6 MgCl₂, 10µl Sybr Green PZR karışımı, 1 µl ileri primer, 1 µl geri primer) 18 µl plate’in her bir kuyucuğuna konuldu üzerlerine 1/5 oranında dilüe edilen cDNA’lardan 2µl ilave edildi. QRT-PZR koşulları (Şekil 8) gösterilmektedir. Deney sonuçları *AbsQuant/2nd DerivativeMax*, *TmColling* programlarında incelenerek örneklerin ekspresyona başladıkları siklusları (Cp değerleri) not edildi.

Tablo 8: RT-PCR ve QRT-PZR’da kullanılan primer dizileri.

	İleri primer	Geri primer
Cyclophilin	5'-TAT CTG CAC TGC CAA GACTGA- 3'	5'- CTT CTT GCT GGT CTT GCC ATT- 3'
β-Actin	5'-AGAGGGAAATCGTGCGTGACA-3'	5'-CGATAGTGATGACCTGACCGTCA-3'
11β-HSD1	5'-TCCTCCATGGCTGGGAAAA-3'	5'-AAGAACCCATCCAGAGCAAACCT-3'
PAI-1	5'-TTCCTCCACAGCCATTCTAGTCT-3'	5'-GAAAGGATCGGTCTAAAACCATCTC-3'

Programs							
Program Name	denaturasyon						
Cycles	1	Analysis Mode	None				
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:10:00	4.40		0	0	0
Program Name	Program						
Cycles	45	Analysis Mode	Quantification				
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:10	4.40		0	0	0
56	None	00:00:15	2.20		58	0.5	0
72	Single	00:00:30	4.40		0	0	0
Program Name	Melting						
Cycles	1	Analysis Mode	Melting Curves				
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:01:00	4.40		0	0	0
65	None	00:01:00	2.20		0	0	0
97	Continuous		0.19	3	0	0	0
Program Name	cooling						
Cycles	1	Analysis Mode	None				
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)

Şekil 8: QRT-PZR deney protokolü

5.5. KARACİĞER VE OMENTAL YAĞ DOKULARININ HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

MetS ve kontrol grubu sıçanların omental yağ ve karaciğer dokularından kryostat yardımıyla 7 mikronluk kesitler alınarak Oil-Red ve Hematoksilen-Eozin boyasıyla boyanarak preparatlar hazırlandı ve ışık mikroskobu ile incelendi.

5.5.1. Oil-Red Boyama

Lama alınan omental yağ ve karaciğer kesitleri %70'lik alkolde birkaç saniye bekletildikten sonra, ağzı kapalı bir şale içerisinde oil-red boyası ile 30 dk. bekletildi. %70'lik alkolde tekrar süratle yıkandıktan sonra çeşme suyunda yıkanır. Hematoksilen boyası ile 3 dakika zıt boyama işlemi yapılır ve suda yıkanır. Bu işlemlerden sonra asit alkolde differansiye edilen preparatlar tekrar yıkanarak gliser jeli ve lamel ile kapıtılarak incelendi.

5.5.2. Hematoksilen-Eozin Boyama

Lama alınan ometal yağ ve karaciğer kesitleri alkol serilerinden (%100, %96, %90, %70 sırasıyla) hızlıca geçirildikten sonra saf suyla yıkandıktan sonra, ağzı kapalı bir şale içerisinde hematoksilen boyası ile 30 dk. bekletildi. Kesitler çeşme suyunda iyice yıkanıp boyanın fazlası akıtılarak asit alkolde differansiye edildi. Kesitler çeşme suyunda 15 dk. bekletilerek iyice morarmaları sağlanarak eozin boyasında 5 dk bekletilir ve saf suda yıkandı. Alkol serilerinden tekrar hızlıca geçirilerek gliser jeli ve lamel ile kapatıldı.

5.6. SERUM ÖRNEKLERİNDEN YAPILAN BİYOKİMYASAL İNCELEMELER

MetS ve kontrol grubu sıçanlarından fruktoz öncesi ve 15 hafta fruktoz alımı sonunda alınan serum örneklerinden glikoz, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol ve TG düzeyleri ile ALT, AST, CRP ve kortizol aktiviteleri COBAS® INTEGRA 400 plus otoanalizöründe ölçüldü. İnsülin ölçümü için rat insülin ELISA kiti kullanılarak ölçüm yapıldı. Ayrıca HOMA değerleri hesaplandı. Bunun için Açlık insülini ($\mu\text{u/mL}$) x açlık plazma glukoza (mg/dL) / 405 formülü kullanıldı.

5.3.6.1. Rat İnsülin ELISA Testi

Çalışmada plazma insulin düzeyleri ELISA yöntemiyle Cayman marka (Kat.No: A05105) ticari insulin rat ELISA kiti kullanılarak ölçüldü. Kit ile beraber gelen plate kuyucuklarına 50 μl sırasıyla blank, non-spesifik binding, maksimum binding, kontrol, ve belli bir oranda dilue edilen standartlar (S1 10 ng/mL, S2 5 ng/mL, S3 2.5 ng/mL, S4 1.25 ng/mL, S5 0.63 ng/mL, S6 0.31 ng/mL, S7 0.16 ng/mL, S8 0.08 ng/mL) ve serum örnekleri ilave edildi. Yapılan pipetleme işleminden sonra kuyucuklara sırasıyla kit içerisinde çıkan AChE tracer ve rat insülin antiserumdan 50 μl pipetlenerek plate +4°C'de 20 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası plate yıkama solüsyonu ile 5 sefer iyice yıkandıktan sonra her bir kuyucuğa kitin içerisinde çıkan Ellman's Reagent solüsyondan 200 μl ilave edilerek plate karanlıkta oda sıcaklığında inkübe edildi ve 405-450 nm dalga boyundaki absorbans ölçümüyle ELISA okuyucu ile okundu. Ölçülen absorbans farkı, plazma insulin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. 10, 5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.31, 0.16 ve 0.08 rat insulin

standartları ile çizilen standart eğri grafiğinden çalışılan örneklerin insulin konsantrasyonları hesaplandı.

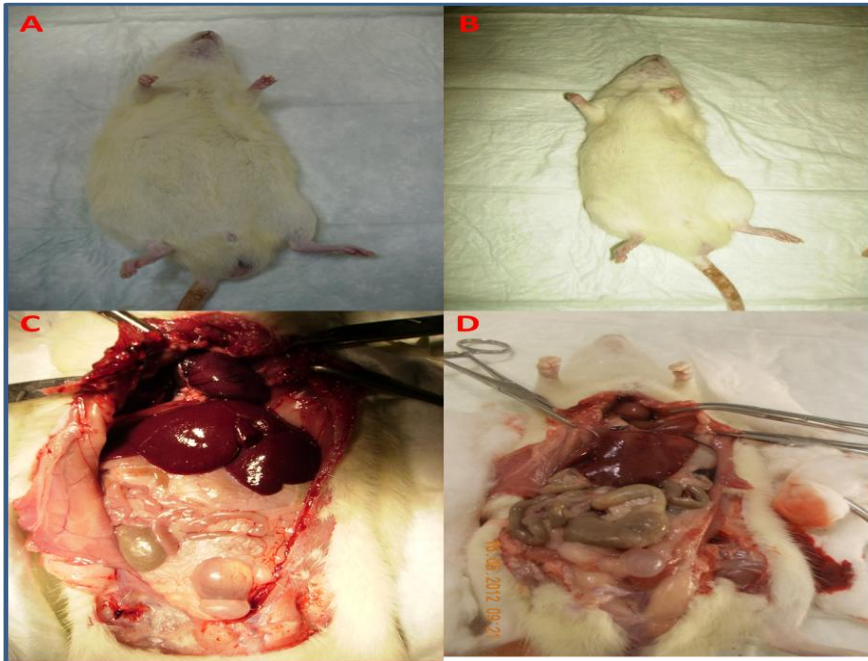
5.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatiksel analiz SPSS 15.0 programında yapılmıştır. MetS ve kontrol grubu sıçanların kilo, bel kalınlığı, deri kalınlığı ve biyokimyasal parametreleri ortalamaları ''*Student's t test*'', gen ekspresyonları ortalamaları ''*ANOVA*'' testleri kullanılarak yapıldı. Gruplar arası anlamlılıkların saptanması için ise ''*Mann-Whitney U test*'' kullanıldı; *P* değeri 0.005'in altında olması ($p < 0.005$) istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

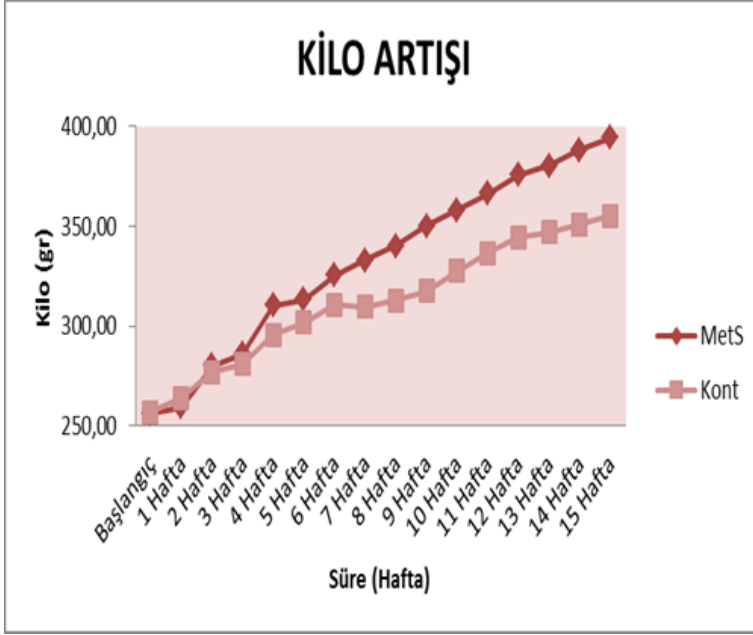
6. BULGULAR

6.1. ANTROPOMETRİK ÖLÇÜMLER

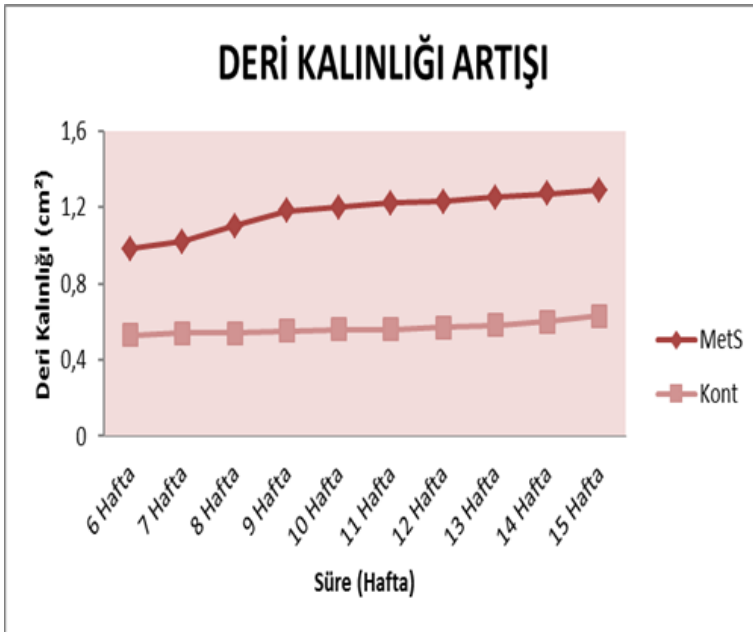
Çalışmamıza dahil edilen 20 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan fruktoz diyeti öncesi yaşları, kiloları ve kuyruk ven'inden alınan kanlardan elde edilen serum örneklerinden otoanalizator ve ELISA testleri ile biyokimyasal parametrelerine bakılarak birbirine uygun şekilde kontrol ve MetS gruplarına dağıtılarak çalışmaya dahil edildi (Tablo 9). Çalışmamızda kontrol ve deney grubundaki sıçanlarda 15 haftalık dönem sonundaki sakrifikasyon edilmek için kesildiğinde kontrol ve MetS grubu sıçanlar arasında vücut yağlanmasında önemli farkların olduğu görüldü (Şekil 9) ve kilo artışlarının kontrol, MetS grubunda sırasıyla %38.6 ve % 53.9 olarak hesaplandı. Buna göre, fruktoz ile beslenen grupta kilo artışının kontrol gruplarına göre anlamlı artış gösterdiği saptandı ($p<0.001$) (Şekil 10). Aynı zamanda yaptığımız bel çevresi ölçümü ve deri kalınlığı ölçümleri artışlarının kontrol gruplarına göre anlamlı artış gösterdiği saptandı ($p<0.001$) (Şekil 11, Şekil 12). MetS grubundaki sıçanların 15 haftalık süre içerisinde fruktozlu su tüketimleri kontrol grubunun normal su tüketimi ile karşılaştırıldığında, MetS grubundaki sıçanların kontrol grubu sıçanlara göre yaklaşık 2 kat fazla su tükettikleri gözlemlendi (MetS grubu ortalama 58.25 ml kontrol grubu ortalama 28.1 ml).



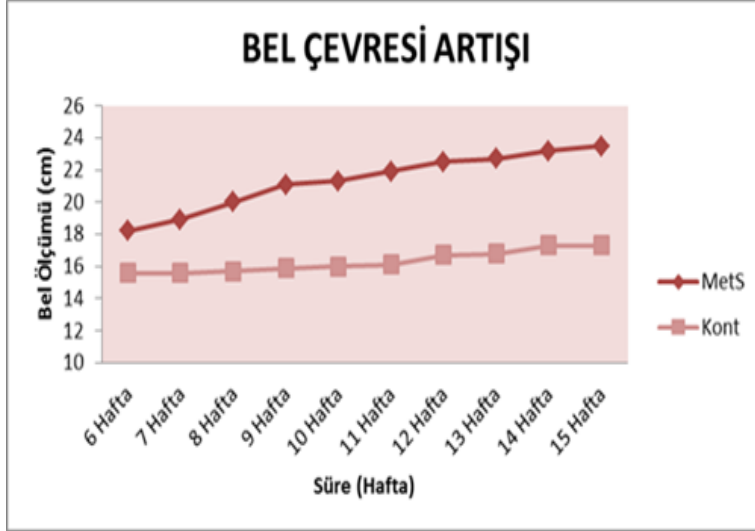
Şekil 9: 15 haftalık süreç sonrasında MetS grubu sıçanı (A) , kontrol grubu sıçanı (B) ve MetS grubu sıçanı yağ birikimi (C), kontrol grubu sıçanı yağ birikimi (D).



Şekil 10: 15 haftalık süreçte MetS grubu ve kontrol (kont) grubu sıçanlarının kilo alma grafiği.



Şekil 11: 15 haftalık süreçte MetS grubu ve kontrol (kont) grubu sıçanlarının deri kalınlığı grafiği.



Şekil 12: 15 haftalık süreçte MetS grubu ve kontrol (kont) grubu sıçanlarının bel çevresi grafiği.

6.2 BİYOKİMYASAL PARAMETRELER

Çalışmaya dahil edilen sıçanlardan 15 haftalık fruktoz diyeti sonrasında alınan kanlardan elde edilen serum örneklerinden otoanalizör ve ELISA testleri sonrasında elde edilen sonuçlar kontrol grubu ile MetS grubu sıçanları arasında anlamlı farkların olduğunu göstermektedir (Tablo 10). Gruplar arasında insülin değerleri arasında anlamlı bir fark olmamakla birlikte glukoz değerleri ve HOMA-IR değerlerini arasında önemli farkların olduğu gösterilmektedir ve (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.05$). Lipid profili (kolesterol, TG, LDL, VLDL) bakımından incelendiğinde iki grup arasındaki farklar oldukça yüksek olmakla birlikte HDL kolesterol MetS grubunda kontrol grubuna kıyasla düşük ve istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). MetS'un son yıllarda tanısında kullanılan ve bir inflamasyon makırı olan CRP ve buna ek olarak kortizolün MetS grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.05$). Karaciğer enzimleri olan ALT ve AST sonuçları iki grup arasında kıyaslandığında; AST değerinin anlamlı bir fark olduğu ($p<0.001$), ALT değerinin istatiki bir anlamlılık olmamasına rağmen 1.6 kat artmış olduğu gösterilmektedir.

Tablo 9: Fruktoz diyetine başlamadan önce gruplar arası antropometrik ölçümler ve biyokimyasal parametreler.

(Ort±SE)	Kontrol Grubu (n=10)	MetS Grubu (n=10)	P Değeri
Başlangıç Kilo (gr)	257±2.13	256±3.63	N.S
Başlangıç Deri Kalınlığı (cm ²)	0.43±0.01	0.44±0.01	N.S
Başlangıç Bel Çevresi (cm)	14.6±0.16	14.5±0.16	N.S
ALT (U/L)	38.2±2.87	37±3.43	N.S
AST (U/L)	58.8±1.63	56±5.84	N.S
Glukoz (mg/dL)	92.7±3.15	92.8±6.35	N.S
İnsülin (ng/ml)	3.86±0.56	3.83±1.04	N.S
HOMA-IR	21.88±3.40	19.55±4.86	N.S
Total Kolesterol (mg/dL)	80.5±2.54	81.8±4.74	N.S
Trigliserid (mg/dL)	35.3±1.25	37.7±5.29	N.S
HDL (mg/dL)	74.7±1.46	79.3±2.62	N.S
LDL (mg/dL)	5.08±0.61	5.54±0.88	N.S
VLDL (mg/dL)	5.5±0.37	5.9±0.69	N.S
Kortizol (µg/dL)	2.6±0.09	2.59±0.1	N.S

Ort: Ortalama, SE: Standart Error İstatistiksel anlamlılıklar *Student T test* yapılarak bulunmuştur.

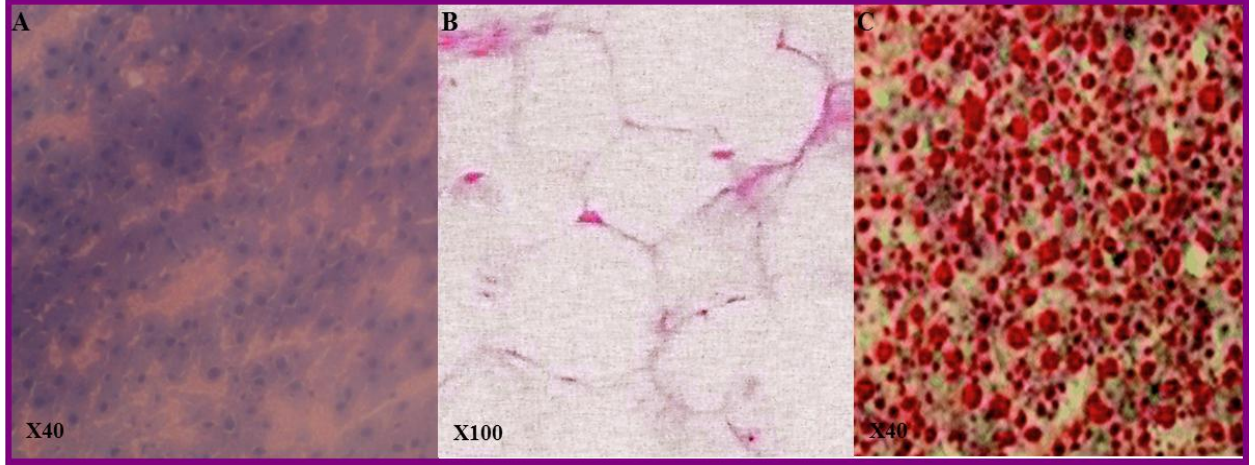
Tablo 10: 15 haftalık fruktoz diyeti sonunda gruplar arası antropometrik ölçümler ve biyokimyasal parametreler.

(Ort±SE)	Kontrol Grubu (n=10)	MetS Grubu (n=10)	P Değeri
Kilo (gr)	355±1.92	394.1±5.03	0.000
Deri Kalınlığı (cm²)	0.57±0.01	1.47±0.04	0.000
Bel Çevresi (cm)	17.3±0.15	23.5±0.34	0.000
ALT (U/L)	84.9±7.35	140.7±71.66	0.280
AST (U/L)	105.4±1.82	241.1±96.72	0.003
Glukoz (mg/dL)	286.9±11.07	467.8±22.63	0.000
İnsülin (ng/ml)	2.76±0.4	3.69±0.72	0.813
HOMA-IR	45.85±7.38	107.3±23.9	0.010
Total Kolesterol (mg/dL)	98.2±2.43	134.8±7.14	0.000
CRP (mg/dL)	0.006±0.001	0.03±0.005	0.000
Trigliserid (mg/dL)	86.9±6.32	176.9±2.63	0.000
HDL (mg/dL)	79.7±2.08	45.8 ±1.89	0.000
LDL (mg/dL)	7.06±0.73	16.26±2.13	0.000
VLDL (mg/dL)	15.9±0.93	30.8±1.32	0.000
Kortizol (µg/dL)	5.31±0.51	7.24±0.43	0.015

Ort: Ortalama, SE: Standart Error İstatistiksel anlamlılıklar *Student T test* yapılarak bulunmuştur.

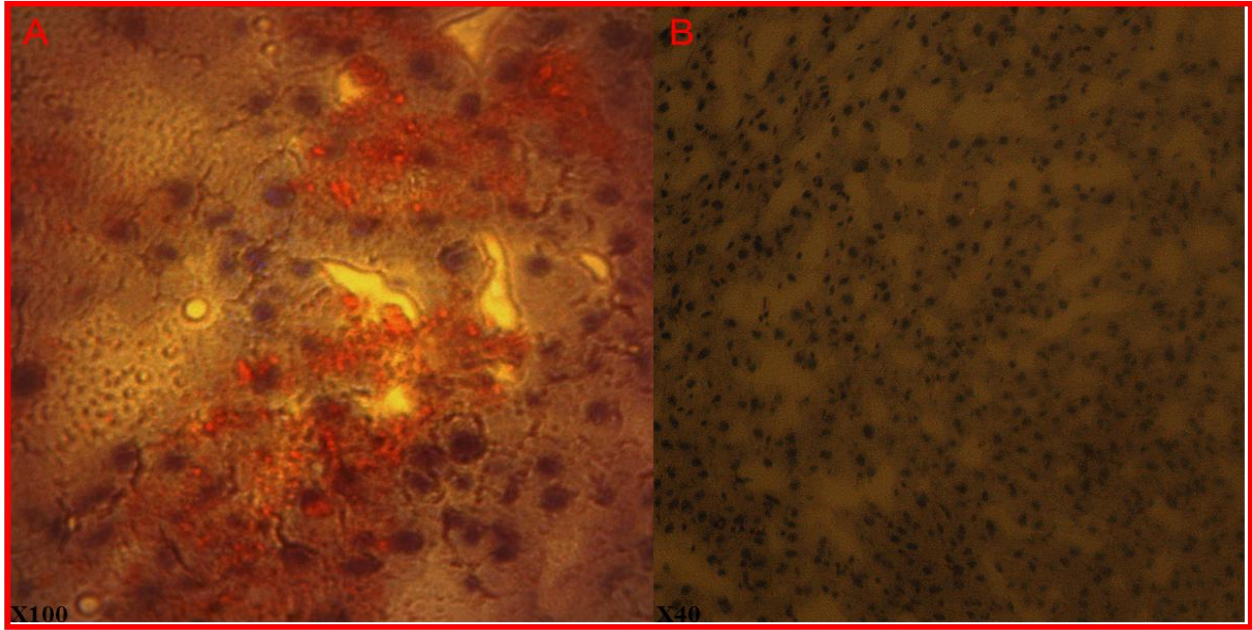
6.3. HİSTOLOJİK İNCELEMELER

Omental yağ dokusundan ve karaciğer dokusundan alınan kesitler Oil-Red yağ boyası ve Hematoksilen-Eozin (H-E) boyası ile boyandıktan sonra histolojik olarak incelendi. Yağ dokusu kesitlerinde H-E boyası ile yağ hücreleri ise Oil-Red boyasıyla yağ birikimleri görülerek fotoğraflandı (Şekil 13).



Şekil 13: Alınan kesitler ve doku boyamaları sonucunda: karaciğer dokusu H-E boyaması (A), yağ dokusu H-E boyaması (B), yağ dokusu Oil-Red boyaması (C).

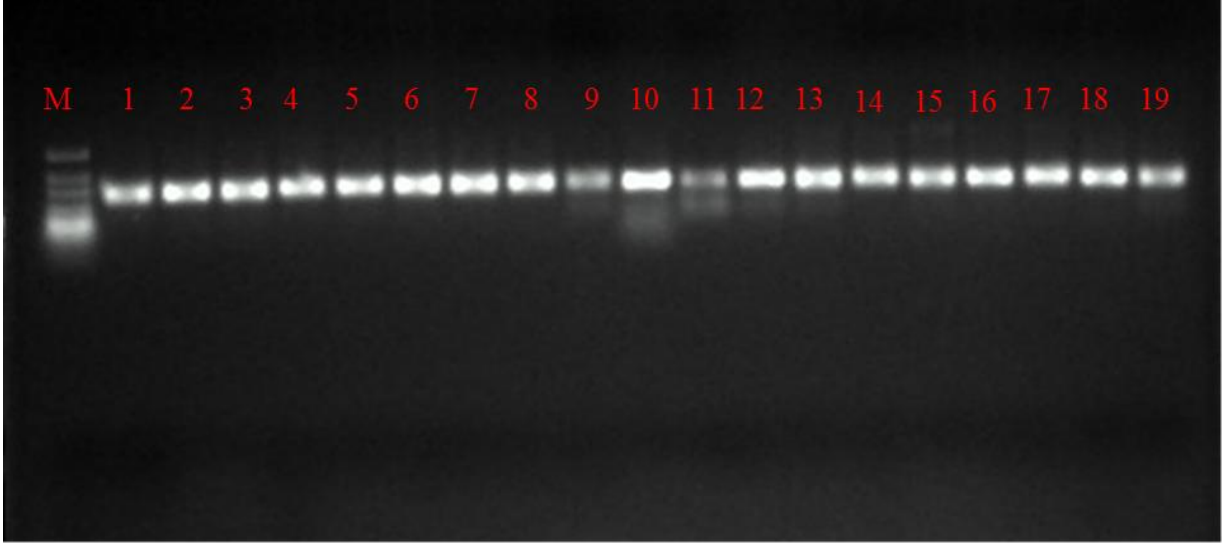
Karaciğer dokusu kesitlerinde H-E boyasıyla hepatositler, Oil-Red boyasıyla ise karaciğerde oluşan yağlanma görüldü. Kontrol ve MetS grubu sıçanlarında Oil-Red boyasıyla boyanan karaciğer kesitleri karşılaştırıldığında MetS grubu sıçanların karaciğerlerinde yüksek düzeyde yağlanma olduğu görüldü (Şekil 14).



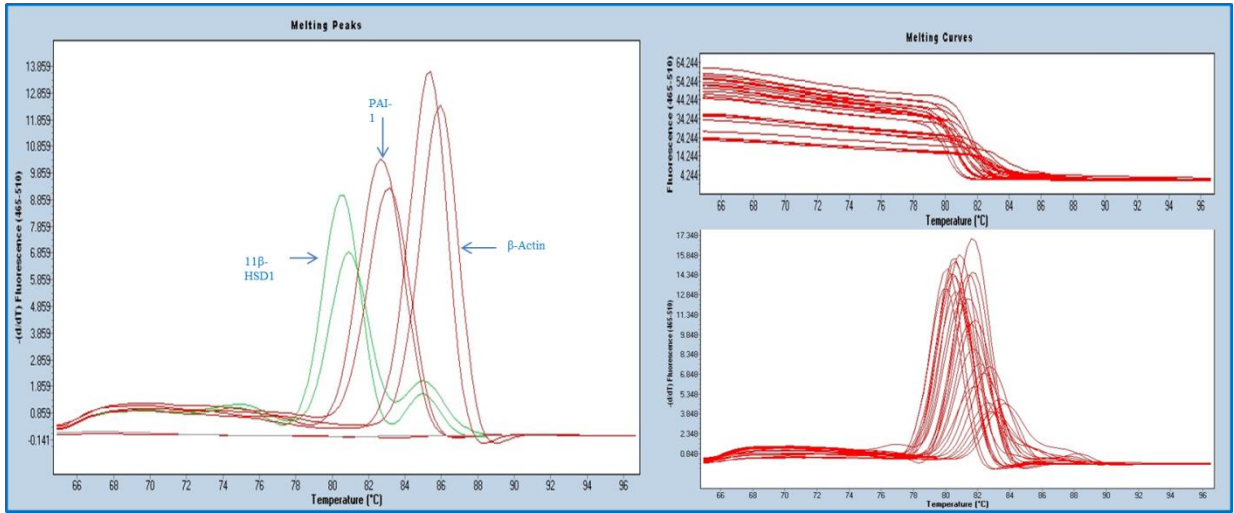
Şekil 14: Karaciğerden alınan kesitlerin Oil-Red boyası ile boyamaları sonucu: MetS grubu karaciğer (A), kontrol grubu karaciğer (B).

6.4. GEN EKSPRESYONLARI

Karaciğer ve omental yağ dokularından alınan parçalarla RNA izole edildi ve c-DNA sentezi yapılarak kontrol PZR'ı ile örneklerin çalıştığı agoroz jelde görüntülendi (Şekil 15). Bu örneklerden PAI-1 ve 11β HSD-1 genlerinin QRT-PZR ile kantitatif ekspresyon çalışması yapıldı (Şekil 16). Yapılan QRT-PZR çalışması sonucunda bu genlerin ekspresyonlarının kontrol grubu dokuları ile MetS grubu dokuları arasında önemli farklar bulundu.

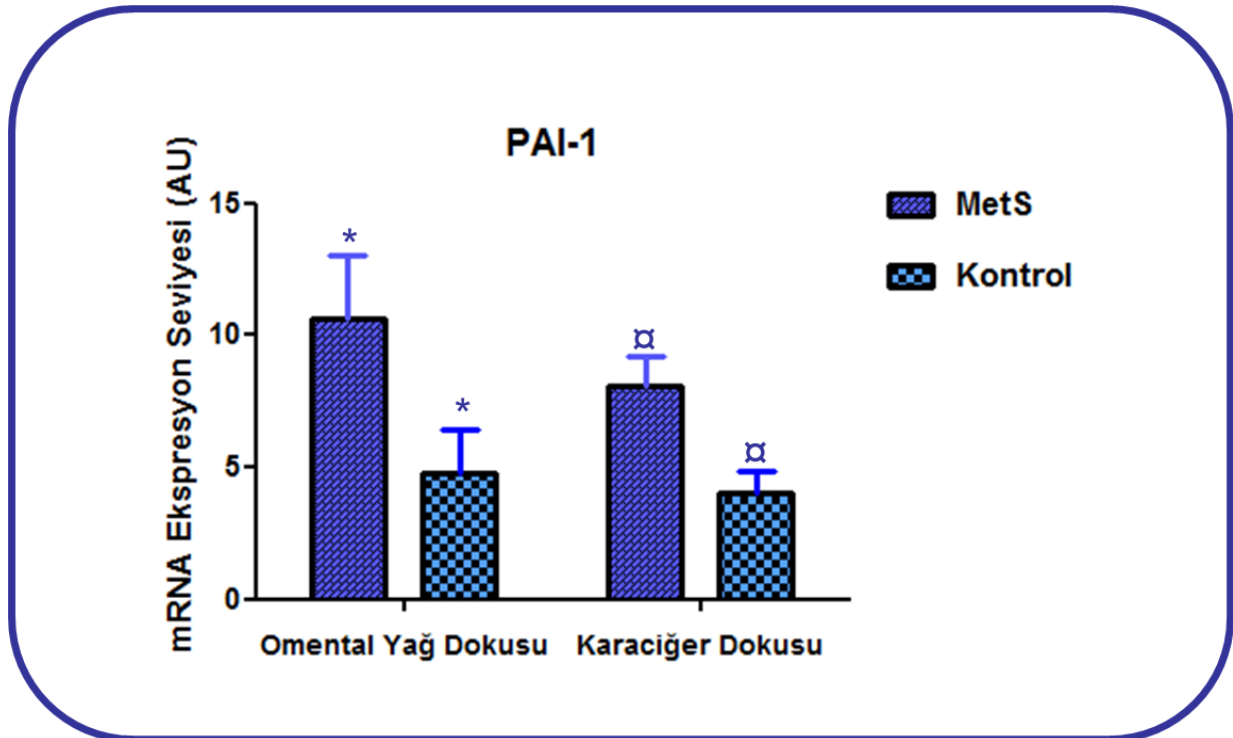


Şekil 15: MetS ve kontrol grubu sıçanların izole edilen RNA'larından yapılan c-DNA'lerin kontrol PZR'ı %2'lik Agoroz jel elektroferez görüntüsü (M: markır).



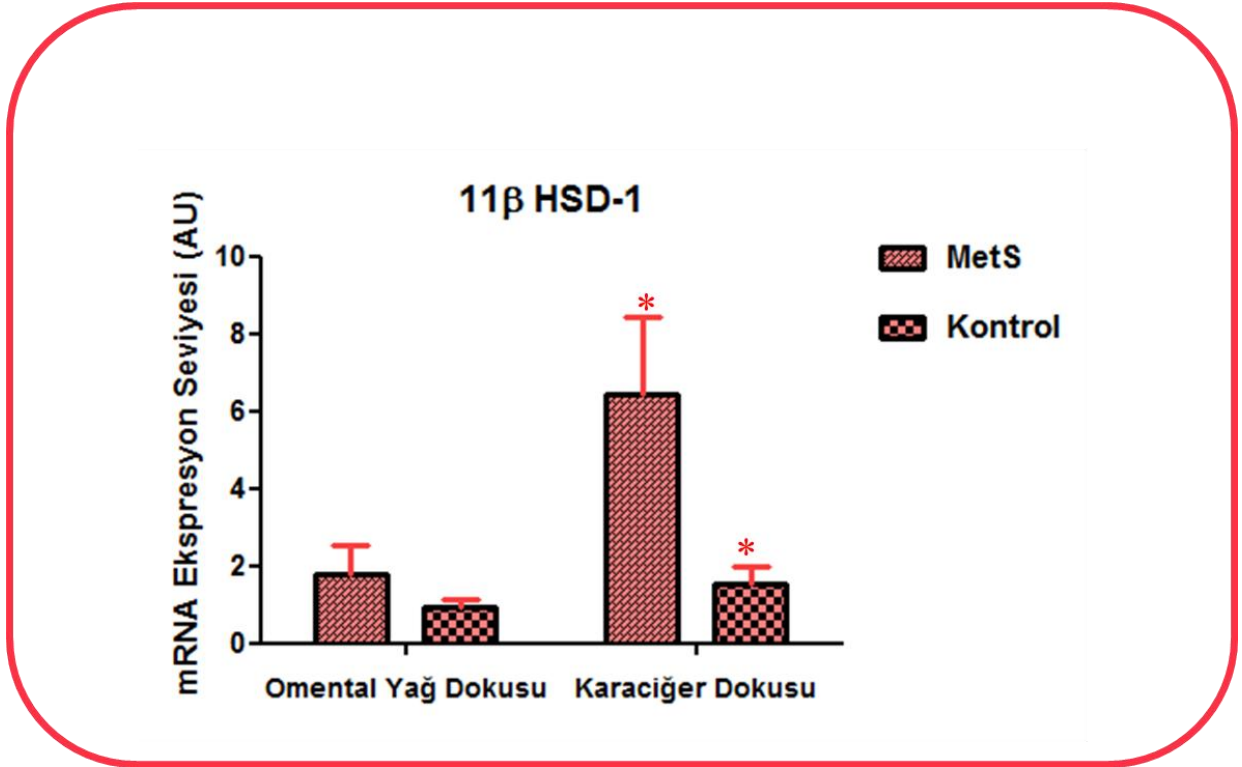
Şekil 16: MetS ve kontrol grubu karaciğer ve omental yağ dokularının QRT-PZR ile 11β HSD-1, PAI-1 ve β-Actin gen ekspresyonları

Omental yağ dokusundaki PAI-1 gen ekspresyonu MetS grubunun kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 2.5 kat arttığı, karaciğer dokusundaki PAI-1 gen ekspresyonu ise MetS grubunun kontrol grubuna göre 2 kat arttığı görülmektedir (sırasıyla $p=0.013$, $p=0.008$) (Şekil 17).



Şekil 17: MetS ve kontrol grubu sıçanların omental yağ dokusu ve karaciğer dokuların PAI-1 gen ekspresyonları. AU: Arbitary Unit. Gruplar arasındaki anlamlılıklar: * $p=0.013$ ve □ $p=0.008$

Omental yağ dokusundaki 11β HSD-1 gen ekspresyonu MetS grubunun kontrol grubuna kıyasla istatistiki olarak anlamlı olmamakla birlikte 2 kat arttığı, karaciğer dokusundaki 11β HSD-1 gen ekspresyonu ise MetS grubunun kontrol grubuna göre yaklaşık 4.5 kat arttığı görülmektedir (sırasıyla $p=0.262$, $p=0.002$) (Şekil 18).



Şekil 18: MetS ve kontrol grubu sıçanların omental yağ dokusu ve karaciğer dokusunun 11β HSD-1 gen ekspresyonları.

AU: Arbitary Unit. * gruplar arasındaki anlamlılıklar $p < 0.05$.

7. TARTIŞMA

Son yıllarda MetS'un prevalansındaki artışlar bilim insanlarını bu konuda daha fazla araştırma yapmaya yöneltmiştir. Bu nedenle insanlarda görülen MetS'a benzerlik gösteren ve özellikle insülin direnci, abdominal obezite, T2DM, NAYKH ve HT gibi majör bileşenlerin geliştiği deneysel modellere gereksinim duyulmuştur. Bu amaçla 3 farklı model kullanılmaktadır (143). Birinci modelde genetik olarak obez ve/veya diabetik olan fare ve sıçanlar (*Zucker diabetic fatty rats*, *Otsuka Long–Evans Tokushima fatty rats*, *db/db mice*, *ob/ob mice*, *11 β -HSD-1 over-eksprese rats*, vs.) kullanılmaktadır (114, 124, 143, 144). İkinci modelde alloksan ve streptozotosin gibi kimyasal maddeler kullanılarak MetS oluşturulmak istenmiş, ancak bu modelde MetS'un bileşeni olan obezite ve hipertansiyon bulguları oluşturulamamıştır (143). MetS oluşturmak için en yaygın kullanılan yöntem ise deney hayvanlarını fruktozca zengin bir diyetle beslemektir (145-148). Bazı çalışmalar fruktozu yeme karıştırarak verirken (149-151) sınırlı sayıda çalışmada ise fruktoz içme suyunda kullanılmaktadır (152-155). Çalışmalarda fruktoz kaynağı olarak sukroz, yüksek fruktoz içeren mısır şurubu ve kristal halde fruktoz kullanılmaktadır (156-158). Ayrıca yüksek yağ ve yüksek karbonhidrat içeren diyetler kullanılarak da kemiricilerde MetS oluşturulabildiği bazı çalışmalarda gösterilmiştir (125, 126).

Deneysel MetS modeli oluşturmada kullanılan fruktoz yemin dışında içme suyuna da karıştırılmaktadır. İçme suyundaki fruktoz oranı çalışmalarda farklı oranlarda kullanılmaktadır. Bu oranlar; %60 (159), çoğunlukla %10 (152, 155, 160-162) oranında ve son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda ise içme suyuna katılan fruktoz %20 oranındadır (153, 154, 158, 163). Literatürler incelendiğinde %10 oranında fruktoz içeren içme suyu ile yapılan bu çalışmalarda sıçanlarda HT ve insülin rezistansı geliştirmekle birlikte çalışma süresi uzatılmasına rağmen abdominal obezite gelişimi görülmemektedir (160-162).

%20 oranında fruktoz içeren içme suyu ile yapılan çalışmalarda ise kullanma süresinin değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Bazı araştırmacılar incelemelerini 10 gün (164), 4 hafta (165), 8 hafta (154, 158) sonra yapmışlardır. Bu çalışmalar sonucunda 10 günlük %20 fruktoz kullanımında hiperglisemi, 4 hafta fruktoz kullanımı sonucunda hiperinsülinemi ve hiperglisemi, 8 haftalık fruktoz kullanımı sonucunda ise deney hayvanlarında hipertansiyon, hiperglisemi ve hiperinsülinemi geliştiği görülmüş; fakat bazı çalışmalarda hipertrigliseridemi

(154) ve abdominal obezite gelişimi görülmemiştir (158, 165). Bu da sürenin daha fazla uzatılması gerektiğini düşündürmektedir.

Bu bilgilerin ışığında bizim çalışmamızda % 20 oranında fruktoz içeren suyla 15 hafta süre ile beslenen sıçanlarda MetS bulgularının gelişmesi beklendi ve bulgularımıza göre; kilo, bel çevresi ve deri kalınlıkları farklılıkları kontrol grubuna göre artarak abdominal obezite gelişimi gözlemlendi. Daha önce %20 oranında fruktozla 8 hafta süreyle yapılan diğer bir çalışma ile veriler karşılaştırıldığında kontrol grubu ile kilo farkının daha çok olduğu ve abdominal obezitenin daha belirgin hale geldiğini görülmüştür (154). YFMŞ ile yapılan farklı bir çalışmada sıçanlar 6 ay boyunca YFMŞ tüketmeleriyle gelişen abdominal obezite geliştirmiş ve bulgularımızla paralel bir sonuç gözlenmiştir (166). Fruktozla yapılan başka bir çalışmada 8 hafta süreyle; fruktozu hem %60 oranında yeme katarak ve %10 içme suyuna katarak oluşturulan gruplar arasında kilo artışında bir farklılık bulunamamıştır (167). Yapılan bu çalışmalarda görülen 8 haftalık fruktoz kullanımının MetS'un bir bileşeni olan abdominal obezitenin gelişimi için yeterli olmadığı görülmekteydi.

Çalışmamız sonucunda sıçanların serumunda glukoz, TG, total kolesterol, LDL-kolesterol HDL- kolesterol, ve VLDL düzeylerinde anlamlı bir artışa yol açmakla beraber insülin düzeyleri artmakta fakat istatistiki olarak bir anlamlılık görülmemektedir. HOMA-IR değeri ise MetS grubu sıçanları, kontrol grubu sıçanlarıyla kıyaslandığında anlamlı olarak yükseldiği görüldü. Bu farklar sıçanların hiperglisemi, dislipidemi, hipertrigliseridemi ve insülin direnci geliştirdiğini göstermekteydi. Biyokimyasal parametre bulgularımız son yıllarda yapılan sınırlı sayıdaki %20 oranında fruktozla beslenen sıçanlarda yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında gruplar arası farkların arttığını, hipergliseminin gelişmesi için 4 hafta, insülin direnci gelişmesi için ise 8 hafta yeterli olacağını fakat dislipidemi ve trigliseridemi geliştirmesi için en az 15 hafta veya daha uzun bir süre %20 oranında fruktoz kullanımının gerektirdiği gösterdi (153, 154, 158, 163).

Bizim çalışmamızda sıçanlara %20 fruktoz ile 15 hafta süreyle uygulanması sonucunda serumda ALT ve AST aktivitelerinde de bir artış oluşturuldu. Karaciğerin histopatolojik incelemesinde mikro ve makroveziküler bir yağlanma gözlemlendi. Böylelikle sıçanlarda %20 oranında içme suyuna ilave edilen fruktozun 15 haftalık kullanımı sonucu hem karaciğer enzimleri yüksekliği ile hemde histopatolojik olarak bir yağlanmanın olduğu görüldü. Fruktoz ile yapılan ve karaciğerdeki harabiyeti araştıran bir çalışmada %10 oranında fruktoz ile %20 oranında fruktozlu içme suyu 10 gün süreyle uygulanan sıçanlarda %20

oranında fruktoz kullanan sıçanların karaciğer yağlanması geliştirmesi diğer gruba göre daha fazla olduğu göstermekle beraber bu sonuç bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir (164).

Çalışmamızda 15 hafta boyunca uygulanan %20 oranında fruktoz bu sıçanların serumlarında kontrol grupları ile karşılaştırıldığında CRP ve kortizol seviyelerinde anlamlı bir artışa neden olmaktadır. CRP seviyesindeki bu fark daha önce yapılmış insan çalışmalarıyla paralellik göstermektedir (168-170) ve fruktozun MetS'un patogenezinde yer alan inflamasyona proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonlarını artırarak neden olduğunu göstermektedir (171). Kortizol seviyesi ise; yapılan bazı insan çalışmalarında MetS'da kortizol seviyesinin yüksek olduğu rapor edilirken (172, 173) bazı çalışmalar bunun tam aksini göstermektedir (174). Fakat uzun süreli fruktoz tüketimi Cushing sendromunun MetS ile benzer bir olgusu olabilecek ve halen cevap arayan sorulardan biri olan kortizol yüksekliğine neden olmaktadır.

MetS genetiği ile ilgili yapılan insan çalışmalarında 11 β HSD-1 geninin ekspresyonu hem yağ dokularında hem de karaciğer dokularında yüksek bulunmuş ve MetS'un gelişmesinde etkili olduğu görülmüştür (175-181). Aynı zamanda 11 β HSD-1 geninin ekspresyonunu artırarak transgenik haline getirilen farelerin MetS geliştirdiği daha önceki bir yayında gösterilmiş, bu da 11 β HSD-1 geninin MetS patogenezinde rol oynayan önemli bir bulgu olduğunu kanıtlamıştır (114). Bizde 15 hafta boyunca içme sularına %20 oranında fruktoz katılan sıçanların karaciğer ve omental yağ dokularında 11 β HSD-1 geninin ekspresyonlarının kontrol gruplarına göre anlamlı bir şekilde arttığını gösterdik. Trans ve doymuş yağ asitleri içeren özel bir diyet beslenerek MetS geliştiren bir fare çalışmasında 11 β HSD-1 geninin ekspresyonunun retroperitoneal yağ dokusunda ekspresyonun önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir ve dolayısıyla bu sonuç bizim bulgularımızı destekler yapıdadır (119).

Son yıllarda MetS tanısı için kullanılan klinik bulgulara yüksek PAI-1 serum seviyesi de katılmıştır (182-185). PAI-1 geni ve MetS ile yapılan araştırmalarda yüksek serum seviyesi dışında yağ dokusunda ki yüksek ekspresyonu da göze çarpan sonuçlar arasındadır (183-188). Çalışmamıza gelince uzun süreli fruktoz kullanımı sonucunda MetS geliştiren sıçanların karaciğer ve omental yağ dokularında PAI-1 geni ekspresyon bulguları kontrol grubu sıçanlarına göre istatistiki olarak anlamlı şekilde arttığı gösterildi. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar ile beraber sıçanların (insülin rezistansı ve obez *Zucker*) karaciğer, yağ dokuları ve

adiposit hücre kültürlerinde yüksek PAI-1 gen ekspresyonu rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda doğan sonuçlar bizim bulgularımızla aynı doğrultudadır (189, 190).

8. SONUÇ

Sonuç olarak, 15 hafta süreyle %20 fruktoz içeren su ve standart sıçan yemiyle beslediğimiz sıçanların, normal çeşme suyu ve standart sıçan yemi ile beslediğimiz kontrol grubu sıçanlarına göre;

- Kilo, bel çevresi, deri kalınlığı anlamlı olarak artmış olup abdominal obezitenin geliştiğini,
- Serum glukoz seviyeleri anlamlı oranda artarak hipergliseminin geliştiğini,
- Serum insülin seviyeleri artarak HOMA-IR değerleri arasındaki farklar insülin rezistansının geliştiğini,
- Serum trigliserid, total kolesterol, LDL-kolesterol HDL-kolesterol ve VLDL seviyelerinin anlamlı olarak artması hipertrigliseridemi ve dislipideminin geliştiğini,
- Serum ALT ve AST seviyelerinin artışı ve karaciğerin histopatolojik olarak incelenmesinde mikro ve makroveziküler bir yağlanmanın bulunması NAYKH geliştiğini,
- Serum CRP seviyesinin artışı inflamasyonun geliştiğini işaret etmektedir.

Böylece MetS'u oluşturan tüm klinik kriterlerin yaptığımız çalışma ile sağlanmış olduğu gözlenmektedir.

- En önemlisi MetS'un patogeneğinde yer alan 11 β HSD-1 ve PAI-1 genlerinin ekspresyonları karaciğer ve yağ dokularında fruktoz kullanan sıçanlarının kontrol grubu sıçanlara göre anlamlı olarak artmaktadır.

Bu bulgular genetik olarak da MetS'un geliştiğini göstermektedir.

Tüm bu sonuçların ışığında 15 hafta %20 fruktoz içeren içme suyu kullanan sıçanların klinik ve moleküler seviyede MetS geliştirdiği kanıtlanmıştır.

9. TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında bilimsel desteği, katkıları, güler yüzü ve anlayışından dolayı danışmanım Sn. Prof. Dr. Çavlan ÇİFTÇİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Lisans ve Yüksek Lisans eğitimim boyunca bana her zaman yakın ilgi ve güler yüzüyle her türlü bilimsel desteği sağlayıp, beni bilimsel düşünme ve araştırmaya nasıl yaklaşmam gerektiği konusunda yol gösteren, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum yakın bir zaman içerisinde kaybettiğimiz sevgili hocam Sn. Prof. Dr. Tuncay ALTUĞ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Gerek tez aşamalarında bilgilerinden ve tecrübelerinden yararlandığım, desteğini benden esirgemeyen, her zaman yanımda olan, kendisi ile çalışmaktan büyük mutluluk ve onur duyduğum, bir bilim insanının nasıl olması gerektiğini bana öğreten ve bana olan inancını hiçbirzaman kaybetmeyen hocam Sn. Dr. Fatmahan ATALAR'a teşekkürü bir borç bilirim.

Hayvan deneylerinde bilgilerini benimle paylaşan, yardım eden, bana hertürlü desteği sağlayan ve en başta dostluğu için Sn. Uzm. Vet. Hek. Öznur İNAN'a ve tüm Bezmi Alem Vakıf Üniversitesi Araştırma Merkezi çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Tez aşamasındaki biyokimyasal çalışmaların yapılması ve anlamlandırılmasında benden yardımlarını esirgemeyen Sn. Doç. Dr. Uzay GÖRMÜŞ'e, Sn. Yalçın SEYHAN'a ve patoloji kesitlerini incelenmesi ve değerlendirilmesinde yardımcı olan Sn. Prof. Dr. Ayhan BİLİR'e çok teşekkür ederim.

Gelişimimdeki bilimsel katkılardan dolayı tüm hocalarım; Sn. Doç. Dr. Elif ÖZKÖK'e, Sn. Dr. Sema BİLGİÇ GAZİOĞLU'na ve Prof. Dr. Bedia AĞAÇHAN'a çok teşekkür ederim.

Her türlü yardımına koşan Enstitü Sekreterimiz İlknur KARAOSMANOĞLU'na, yardımları için Türkan SARIOĞLU'na dostluklarından dolayı sevgili arkadaşım, Adil ÇOLAK'a ve yüksek lisans arkadaşım İlknur TİMAÇ'a teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca her an yanımda olan desteğini benden hiç esirgemeyen sevgili aileme çok teşekkür ederim.

10. KAYNAKLAR

1. Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*. 2004; 109(3): 433-8.
2. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European group for the study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med* 1999; 16(5): 442-3.
3. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunninghake DB, Pasternak RC, Smith SC Jr, Stone NJ; National Heart, Lung and Blood Institute; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* 2004; 110(2): 227-39.
4. Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, Hellman R, Jellinger PS, Kendall D, Krauss RM, Neufeld ND, Petak SM, Rodbard HW, Seibel JA, Smith DA, Wilson PW. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract* 2003; 9(3): 237-52.
5. Alberti G. IDF consensus on the Metabolic Syndrome: Definition and Treatment, presented at 1 st International Congress on Prediabetes and the Metabolic Syndrome, Berlin, 2005: 1-7. Available on-line: <http://www.idf.org/webcast>.
6. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Metabolik sendrom kılavuzu. BAYT Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın ve Tanıtım, Kızılay, Ankara, 2009.
7. Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabet Med* 1997; 14 (Suppl 5): S1-S85.
8. Soleimani M. Dietary fructose, salt absorption and hypertension in metabolic syndrome: towards a new paradigm. *Acta Physiol* 2011; 201: 55-62
9. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes Care* 2004; 27: 2444-9.

10. Reynolds K, PHD, MPH; Jiang HE, MD, PHD. Epidemiology of the Metabolic Syndrome. *Am J Med Sci* 2005; 330(6): 273–279.
11. Hu G, Qiao Q, Tuomilehto J, et al. Prevalence of the metabolic syndrome and its relation to all-cause and cardiovascular mortality in nondiabetic European men and women. *Arch Intern Med* 2004; 164: 1066–76.
12. Onat A, Ceyhan K, Basar O, Erer B, Toprak S, Sansoy V. Metabolic syndrome: major impact on coronary risk in a population with low cholesterol levels--a prospective and cross-sectional evaluation. *Atherosclerosis* 2002; 165(2): 285-92.
13. Metabolik Sendrom Araştırma Grubu (METSAR) sonuçları. (2004). XX.Ulusal Kardiyoloji Kongresi. Antalya.
14. Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev* 2005; 63:133-57.
15. Ludwig DS, Gortmaker SL. Programming obesity in childhood. *Lancet*. 2004 ;364:226-227.
16. Özata M, Yöner A. (Editörler). *Endokrinoloji Metabolizma ve Diabet*. 1. baskı. İstanbul Medical Yayıncılık; 2006: 550-63.
17. Erol Ç (editör). *Klinik Kardiyoloji*. Ankara MN Medikal ve Nobel Tıp Kitap Sarayı; 2004: 20-5.
18. Erol Ç, Biberöđlu K, Atalar E (çevri editörleri). *Türkçe çevri. Current Kardiyoloji Tanı ve Tedavi*. 2. baskı. Ankara Güneş Kitabevi; 2006: 23-4.
19. Hark L., Deen D Jr. Taking a nutrition history: a practical approach for family physicians. *Am Fam Physician*, 1999; 59:1521-8,1531-2.
20. Reaven G.M. Banting Lecture. Role of Insulin Resistance in Human Disease. *Diabetes*, 1988; 37:1595-1607.
21. Ferrannini E., Haffner SM., Mitchell BD., and Stern MP. Hyperinsulinaemia: the key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia*, 1991; 34: 416–422,
22. Jensen MD, Caruso M, Heiling V, Miles JM. Insulin regulation of lipolysis in nondiabetic and IDDM subjects *Diabetes*. 1989; 38: 1595-601.
23. DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Reviews*, 1998; 5: 177-269.
24. Genuth S, Brownlee MA. Kuller LH, Samols E, Saudek CD, Sherwin R Consensus Development Conference on Insulin Resistance. *Diabetes Care* 1998, 21(2)310.

25. Festa A, D'Agostino R, Hales CN, Mykanen L, Haffner SM. Heart rate in relation to insulin sensitivity and insulin secretion in nondiabetic subject. *Diabetes care* 2000, 23: 624-628
26. Svenson H. Insulin and atheroma 20 yrs. perspective *Diabetes Care* 1990; 631-654
27. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follman DA, Sullivan G, Quon MJ. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2402-2410.
28. Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2964-2968.
29. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-419.
30. Guyton AC, Hall JE. (2007). *Tıbbi Fizyoloji* (65. ve 67. bölümler). 11. basım. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.
31. Tammelin T, Laitinen J, Näyhä S. Change in the level of physical activity from adolescence into adulthood and obesity at the age of 31 years. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28(6): 775-82.
32. http://www.istanbul.edu.tr/itf/attachments/021_turdep.2.sonuclarinin.aciklamasi.pdf
33. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, Bastar I, Tütüncü Y, Sargin M, Dinççag N, Karsidag K, Kalaça S, Ozcan C, King H. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey. *Diabet Care* 2002; 25: 1551-1556.
34. Devaraj S, Rosenson RS, Jialal I. Metabolic syndrome: an appraisal of the proinflammatory and procoagulant status. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004; 33(2): 431-53.
35. Dyer AR, Elliot P. The INTERSALT study: relations of body mass index to blood pressure. INTERSALT Co-operative Research Group. *J Hum Hypertens*. 1989; 3(5): 299-308.
36. Hayashi T, Boyko EJ, Leonetti DL, et al. Visceral adiposity and the risk of impaired glucose tolerance: a prospective study among Japanese Americans. *Diabetes Care*. 2003; 26:650-655.
37. Tracy RP. Is visceral adiposity the "enemy within"? *Arterioscler Thromb Vase Biol* 2001;21:881-883.

38. Ferrannini E, Natali A, Bell P, Cavallo-Perin P, Lalic N, Mingrone G. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. *J Clin Invest* 1997; 100(5): 1166-73.
39. Ginsberg HN., Stahlenhoef AF. The Metabolic Syndrome: Targeting Dyslipidemia to Reduce Coronary Risk. *J Cardiovasc Risk*, 2003; 10: 121-128.
40. Atzmon G, Yang XM, Muzumdar R, Ma XH, Gabriely I, Barzilai N. Differential gene expression between visceral and subcutaneous fat depots. *Horm Metab Res* 2002; 34(11-12): 622-8.
41. Ryan AS, Berman DM, Nicklas BJ, Sinha M, Gingerich RL, Meneilly GS, et al. Plasma adiponectin and leptin levels, body composition, and glucose utilization in adult women with wide ranges of age and obesity. *Diabetes Care* 2003; 26: 2383-2388.
42. Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA. *Fizyoloji*. 11.baskı./Türkçe çeviri. Güneş Tıp Kitabevleri. Ankara 2007.
43. Brook RD, Julius S. Autonomic imbalance, hypertension and cardiovascular risk. *Am J Hypertens* 2000; 13(6): 112-22.
44. Engeli S, Sharma AM. The renin-angiotensin system and natriuretic peptides in obesity-associated hypertension. *J Mol Med* 2001; 79: 21–9.
45. Ferrannini. Insulin resistance and essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 1987; 317-350.
46. Morse SA, Zhang R, Thakur V, Reisin E. Hypertension and the metabolic syndrome. *Am J Med Sci.* 2005 Dec; 330(6): 303-10.
47. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology.* 2004 Dec; 40(6): 1387-95.
48. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology.* 2006 Feb; 43(2 Suppl 1): S99-S112.
49. Kendall DM, Harmel AP. The metabolic syndrome, type 2 diabetes, and cardiovascular disease: understanding the role of insulin resistance. *Am J Manag Care* 2002; 8(20): 635-53.
50. Ginsberg HN. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2000; 106(4): 453-58.
51. Ginsberg HN., Stahlenhoef AF. The Metabolic Syndrome: Targeting Dyslipidemia to Reduce Coronary Risk. *J Cardiovasc Risk*, 2003; 10: 121-128.

52. Malik S, Wong ND, Franklin SS, et al. Impact of the metabolic syndrome on mortality from coronary heart disease, cardiovascular disease, and all causes in United States adults. *Circulation* 2004; 110: 1245–50.
53. Govindarajan G, Wwhaley-Cconnell A, Mmaryann Mmugo M, Ccraig Sstump C, Sowers J. The Cardiometabolic Syndrome as a Cardiovascular Risk Factor. *Am J Med Sci* 2005; 330(6): 311–318.
54. Tracy RP. Inflammation, the metabolic syndrome and cardiovascular risk. *Int J Clin Pract Suppl* 2003; 134: 10-7
55. American Heart Association. Heart Disease and Stroke Statistics — 2005 Update. Dallas, TX: American Heart Association
56. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; 55(7): 434-8.
57. Gastroenterolojide Klinik Yaklaşım. Yurdakul İ, Şentürk H, Tuncer MM, Göksoy E. (editörler). 1.baskı. İstanbul Deomed Medikal Yayıncılık; 2004: 171-80
58. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, Melchionda N, Rizzetto M. Nonalcoholic Fatty Liver, Steatohepatitis and the Metabolic Syndrome. *Hepatology* 2003; 37(4): 917-23.
59. Tarantino G, Saldalamacchia G, Conca P, Arena A. Non-alcoholic fatty liver disease: further expression of the metabolic syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22(3): 293-303.
60. Adams LA, Angulo P, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. *CMAJ* 2005; 172(7): 899-905.
61. Çelebi S, Atasever H, Mengüçük D, Açık Y, Bahçecioğlu H. Elazığ kent toplumunda nonalkolik yağlı karaciğerin epidemiyolojik özellikleri. *Akademi Gastroenteroloji Dergisi* 2006; 5(1): 41-6.
62. Gastroenteroloji. Özden A, Şahin B, Yılmaz U, Soykan İ (editörler). 1. baskı. Türk Gastroenteroloji Vakfı; 2002: 593-604.
63. Akbar DH, Kawther AH. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome: what we know and what we don't know. *Med Sci Monit* 2006; 12(1): 23-6.
64. Yudkin JS. Adipose tissue, insulin action and vascular disease: inflammatory signals. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003;27 Suppl 3: S25.
65. Lewis MR, Tracy RP, The Role of the Immune System in the Insulin Resistance Syndrome *Current Diabetes Reports* 2002; 2: 96–9.

66. Waki H, Tontonoz P, Endocrine Functions of Adipose Tissue *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2007; 2: 315-6.
67. Undurti N. Das, Metabolic Syndrome X: An Inflammatory Condition *Current Hypertension Reports* 2004; 6: 66–73.
68. Turkoglu Ç. [Editorial] Metabolik sendrom ve Koroner Kalp Hastalığı *Anadolu Kardiyol Derg.* 2004; 4 :17-8.
69. Yang WS , Chuang LM, Human genetics of adiponectin in the metabolic syndrome *J Mol Med* 2006; 84: 112–21.
70. Alegria Ezquerro E et al. Obesity, Metabolic Syndrome, and Diabetes: Cardiovascular Implications and Therapy *Rev Esp Cardiol.* 2008; 61(7): 752-64.
71. You T, Nicklas BJ Effects of Exercise on Adipokines and the Metabolic Syndrome *Current Diabetes Reports* 2008; 8: 7-11.
72. Hamid YH, Rose CS, Urhammer SA, Glümer C, Kristiansen OP, et al Variations of the interleukin-6 promoter are associated with features of the metabolic syndrome in Caucasian Danes *Diabetologia* 2005; 48: 251–60.
73. Pearson T, Mensah AG, Alexander WR, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease *Circulation* 2003; 107: 499- 511.
74. Ridker M., Hennekens CH., Buring JE., C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women *N Engl J Med* 2000; 342: 836-43.
75. Timpson NJ et al. C-reactive-protein and it's role in metabolic syndrome mendelian randomisation study *Lancet* 2005; 366: 1954-9.
76. Florez H. et al. C-reactive protein is elevated in obese patients with the metabolic syndrome *Diabetes Research and Clinical Practise* 2006; 71: 92–100.
77. S.Lim et al. C-reactive protein level as an independent risk factor of metabolic syndrome in the Korean population & CRP as risk factor of metabolic syndrome *Diabetes Research and Clinical Practice* 2005; 70: 126–33.
78. Grundy SM: Inflammation, hypertension, and the metabolic syndrome. *JAMA* 2003; 290 (22): 3000-2.
79. Berköz M, Yalın S. Yağ dokusunun immünolojik ve inflamatuvar fonksiyonları. *Mersin Univ. Sağlık Bilim Derg*, 1(1); 2008.
80. Keskin S, Sayalı E, Temeloğlu E, Ekizoğlu İ. Obezite ve inflamasyon. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005, 25.

81. Bjorntorp P. Neuroendocrine perturbations as a cause of insulin resistance. *Diabetes Metab Res Rev* 1999, 15 (6): 427-41.
82. Genuth S, Brownlee MA, Kuller LH, Samols E, Saudek CD, Shervin R. Consensus Development Conference on Insulin Resistance *Diabetes Care* 1998; 21(2): 310.
83. Roith LD, Zick Y. Recent advances in our understanding of insulin action and insulin resistance. *Diabetes Care* 2001; 24: 588- 597.
84. Ebina L, Ellis L, Jarnagin K, Edery M, Graf L, Clauser E, Ou JH, Masiarz F, Kan YW, Goldfine JW. The Human IRcDNA The structural basis for hormone-activated transmembrane signaling. *Cell* 1985, 40: 747-758.
85. Hubbard SR, Wei L, Ellis L, Hendrickson WA. Crystal structure of the tyrosine kinase domain of the Human IR. *Nature* 1994, 372: 746- 754.
86. Hubbard SR. Crystal structure of the activated insulin receptor tyrosinekinase in complex with peptide substrate and ATP analog. *EMBO J.* 1997 Sep15; 16(18): 5572-81.
87. Vicennati V, Pasqual R. Abnormalities of the hypothalamic pituitary-adrenal axis in nondepressed women with abdominal obesity and relations with insulin resistance: evidence for a central and peripheral alteration. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(11): 4093-4098.
88. Cavagnini F, Croci M, Putignano P, Petroni ML, Invitti C. Glucocorticoids and neuroendocrine function. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000 Jun; 24 Suppl 2: S77-9. Review.
89. Charmandari E, Kino T, Souvatzoglu E, Chrousos GP. Pediatric stress: hormonal mediators and human development. *Horm Res* 2003; 59(4): 161-79.
90. Ergün A. Yağ dokusu ve yağ hücresi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005, 25.
91. Wyne KL. Free fatty acids and type 2 diabetes mellitus. *Am J Med* 2003;115 Suppl 8A: 29S–36S.
92. Chiu HC, Kovacs A, Blanton RM, et al. Transgenic expression of fatty acid transport protein 1 in the heart causes lipotoxic cardiomyopathy. *Circ Res* 2005; 96: 225–33.
93. Kahn BB. Alterations in glucose transporter expressions and function in diabetes: mechanisms for insulin resistance. *J Cell Biochem* 1992; 48: 122-128.
94. Rutledge AC, Adele K. Fructose and the metabolic syndrome: Pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutr Rev* 2007; 65: 13-23.
95. Undurti N. Das, M.D. Pathophysiology of metabolic syndrome X and its links to the perinatal. *Nutrition* 2005; 762–773.

96. Ahabab S, Yenigün M. Yağ dokusu hormonlarına; genel bir bakış. Haseki Tıp Bülteni 2011; 49: 96-8
97. Altunkaynak BZB, Özbek E. Yağ dokusu endokrin bir organ mıdır? Dicle Tıp Dergisi, 2005.
98. Juhan-Vague I, Alessi MC, Mavri A, Morange PE. Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk. J Thromb Haemost. 2003.
99. Vague P, Juhan-Vague I, Aillaud MF, Badier C, Viard R, Alessi MC, Collen D. Correlation between blood fibrinolytic activity, plasminogen activator inhibitor level, plasma insulin level, and relative body weight in normal and obese subjects. Metabolism. 1986 Mar;35(3):250-3.
100. Juhan-Vague I, Alessi MC, Vague P. Increased plasma plasminogen activator inhibitor 1 levels. A possible link between insulin resistance and atherothrombosis. Diabetologia. 1991 Jul; 34(7): 457-62. Review.
101. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. Nature. 2002 Dec 19-26; 420(6917): 868-74.
102. Bastelica D, Morange P, Berthet B, Borghi H, Lacroix O, Grino M, Juhan-Vague I, Alessi MC. Stromal cells are the main plasminogen activator inhibitor-1 producing cells in human fat: evidence of differences between visceral and subcutaneous deposits. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2002; 22: 173–178
103. Vague P, Juhan-Vague I, Chabert V, Alessi MC, Atlan C. Fat distribution and plasminogen activator inhibitor activity in nondiabetic obese women. Metabolism. 1989; 38: 913–915.
104. Cigolini M, Targher G, Bergamo Andreis IA, Tonoli M, Agostino G, De Sandre G. Visceral fat accumulation and its relation to plasma hemostatic factors in healthy men. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1996; 16: 368 –374.
105. Shimomura I, Funahashi T, Takahashi M, Maeda K, Kotani K, Nakamura T, Yamashita S, Miura M, Fukuda Y, Takemura K, Tokunaga K, Matsuzawa Y. Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. Nat Med. 1996; 2: 800 – 803.
106. Crandall DL, Quinet EM, Morgan GA, Busler DE, McHendry-Rinde B, Kral JG. Synthesis and secretion of plasminogen activator inhibitor-1 by human preadipocytes. J Clin Endocrinol Metab. 1999; 84: 3222–3227.

- 107.** Wang B, Jenkins JR, Trayhurn P. Expression and secretion of inflammation-related adipokines by human adipocytes differentiated in culture: integrated response to TNF- α . *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005; 288: E731–E740.
- 108.** Samad F, Loskutoff DJ. The fat mouse: a powerful genetic model to study elevated plasminogen activator inhibitor 1 in obesity/NIDDM. *Thromb Haemost* 1997; 78: 652–5.
- 109.** Cigolini M, Targher G, Agostino G, Tonoli M, Muggeo M, De Sandre G. Liver steatosis and its relation to plasma haemostatic factors in apparently healthy men – role of the metabolic syndrome. *Thromb Haemost* 1996; 76: 69–73.
- 110.** Bruckert E, Ankri A, Giral P, Turpin G. Relationship between plasma plasminogen activator inhibitor 1 and hepatic enzyme concentrations in hyperlipidemic patients. *Thromb Haemost* 1994; 72: 434–7.
- 111.** Morange PE, Aubert J, Peiretti F, Lijnen HR, Vague P, Verdier M, Negrel R, Juhan-Vague I, Alessi MC. Glucocorticoids and insulin promote plasminogen activator inhibitor 1 production by human adipose tissue. *Diabetes.* 1999; 48: 890 – 895.
- 112.** Halleux CM, Declerck PJ, Tran SL, Detry R, Brichard SM. Hormonal control of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression and production in human adipose tissue: stimulation by glucocorticoids and inhibition by catecholamines. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84: 4097– 4105.
- 113.** Kotelevtsev Y, Holmes MC, Burchell A, Houston PM, Schmoll D, Jamieson P, Best R, Brown R, Edwards CR, Seckl JR, Mullins JJ. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 knockout mice Show attenuated glucocorticoid-inducible responses and resist hyperglycemia on obesity or stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94: 14924 –14929.
- 114.** Masuzaki H, Paterson J, Shinyama H, Morton NM, Mullins JJ, Seckl JR, Flier JS. A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science.* 2001; 294: 2166 –2170.
- 115.** Amelung D., Huebener HJ., Roka L., Meyerheim G. Conversion of cortisone to compound F. *J Clin Endocrinol Metab* 1953; 13: 1125
- 116.** Edwards CRW, Stewart PM, Burt D, Brett L, McIntyre MA, Sutanto WS, de Kloet ER, Monder C Localisation of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-tissue specific protector of the mineralocorticoid receptor. *Lancet* ii: 1988; 986–989.
- 117.** Moisan MP., Seckl JR., Brett LP., Monder C., Agarwal AK., White PC., Edwards CRW. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase Messenger ribonucleic acid expression,

- bioactivity and immuno reactivity in rat cerebellum. *J Neuroendocrinol* 1990; 853–858.
- 118.** Williams LJ, Lyons V, MaLeod I, Rajan V, Darlington GJ, Poli V, Seckl JR, Chapman KE: C/EBP regulates hepatic transcription of 11 β - Hydroxysteroid dehydrogenase type 1. A novel mechanism for cross-talk between the C/EBP and glucocorticoids signaling pathways. *J Biol Chem* 2000; 275:30232-30239
- 119.** Vara Prasad SS, Jeya Kumar SS, Kumar PU, Qadri SS, Vajreswari A. Dietary fatty acid composition alters 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene expression in rat retroperitoneal white adipose tissue. *Lipids Health Dis.* 2010 Oct 8; 9: 111.
- 120.** Seckl JR, Morton NM, Chapman KE, Walker BR. Glucocorticoids and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in adipose tissue. *Recent Prog Horm Res.* 2004; 59: 359-93.
- 121.** Alberti L, Girola A, Gilardini L, Conti A, Cattaldo S, Micheletto G, Invitti C. Type 2 diabetes and metabolic syndrome are associated with increased expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 in obese subjects. *Int J Obes (Lond).* 2007 Dec; 31(12): 1826-31.
- 122.** Hermanowski-Vosatka A, Balkovec JM, Cheng K, Chen HY, Hernandez M, Koo GC, Le Grand CB, Li Z, Metzger JM, Mundt SS, Noonan H, Nunes CN, Olson SH, Pikounis B, Ren N, Robertson N, Schaeffer JM, Shah K, Springer MS, Strack AM, Strowski M, Wu K, Wu T, Xiao J, Zhang BB, Wright SD, Thieringer R. 11beta-HSD1 inhibition ameliorates metabolic syndrome and prevents progression of atherosclerosis in mice. *J Exp Med.* 2005 Aug 15; 202(4): 517-27.
- 123.** Seckl, J.R. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases: changing glucocorticoid action. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2004; 4, 597–602.
- 124.** Aleixandre de Artiñano A, Miguel Castro M. Experimental rat models to study the metabolic syndrome. *Br J Nutr.* 2009 Nov; 102(9): 1246-53.
- 125.** Panchal SK, Poudyal H, Iyer A, Nazer R, Alam MA, Diwan V, Kauter K, Sernia C, Campbell F, Ward L, Gobe G, Fenning A, Brown L. High-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2011; 57: 611-624.
- 126.** Poudyal H, Panchal S, Brown L. Comparison of purple carrot juice and β -carotene in a high-carbohydrate, high-fat diet-fed rat model of the metabolic syndrome. *Br J Nutr* 2010; 104: 1322-32.

- 127.** Wolf A, Bray GA, Popkin BM. A short history of beverages and how our body treats them. *Obes Rev.* 2008; 9(2): 151-64
- 128.** Elliott, S.S., Keim, N.L., Stern, J.S., Teff, K., Havel, P.J. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J. Clin Nutr.* 2002 76: 911–922.
- 129.** Rizkalla, S.W. Health implications of fructose consumption: A review of recent data. *Nutrition & Metabolism* 2010 7: 1-17.
- 130.** Mayes PA. Intermediary metabolism of fructose. *Am J Clin Nutr.* 1993; 58(5 Suppl): 754S-65S.
- 131.** Roglans N, Vilà L, Farré M, Alegret M, Sánchez RM, Vázquez-Carrera M, Laguna JC. Impairment of hepatic Stat-3 activation and reduction of PPARalpha activity in fructose-fed rats. *Hepatology.* 2007 Mar; 45(3): 778-88.
- 132.** Curry DL. Effects of mannose and fructose on the synthesis and secretion of insulin. *Pancreas.* 1989; 4(1): 2-9.
- 133.** Parker, K., Salas, M., Nwosu, V.C. High fructose corn syrup: Production, uses and public health concerns. *Biotechnology and Molecular Biology Review.* 2010; 71 – 78.
- 134.** Hipkiss AR. Could carnosine or related structures suppress Alzheimer's disease? *J Alzheimer's Dis* 2007; 11: 229–240.
- 135.** Schalkwijk CG, Stehouwer CD, van Hinsbergh VW. Fructose-mediated nonenzymatic glycation: sweet coupling or bad modification. *Diabetes Metab Res* 2004; 20: 369-382.
- 136.** Lim JS, Mietus-Synder M, Valente A, Schwartz J-M, Lustig RH. The reole of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 251-264.
- 137.** Bulut İK, Mir S. Fruktöz ve böbrek hastalıkları. *Cumhuriyet Med J* 2011; 33: 499-507.
- 138.** Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, Nakagawa T, Feig DI, Kang DH, Gersch MS, Benner S, Sánchez-Lozada LG. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 899-906.
- 139.** Takasato Y, Rapoport SI, Smith QR. An in situ brain perfusion technique to study cerebrovascular transport in the rat. *Am J Physiol.* 1984 Sep; 247(3 Pt2): H484-93.
- 140.** Batista TM, Tomiyoshi LM, Dias AC, Roma LP, Módulo CM, Malki LT, Filho EB, Deminice R, Jordão AA Jr, Cunha DA, Rocha EM. Age-dependent changes in rat

lacrimal gland anti-oxidant and vesicular related protein expression profiles. *Mol Vis.* 2012; 18: 194-202.

- 141.** Klötting N, Blüher M, Klötting I. The polygenetically inherited metabolic syndrome of WOKW rats is associated with insulin resistance and altered gene expression in adipose tissue. *Diabetes Metab Res Rev.* 2006 Mar-Apr; 22(2): 146-54.
- 142.** Serrano R, Barrenetxe J, Orbe J, Rodríguez JA, Gallardo N, Martínez C, Andrés A, Páramo JA. Tissue-specific PAI-1 gene expression and glycosylation pattern in insulin-resistant old rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009 Nov; 297(5): R1563-9.
- 143.** Panchal SK, Brown L. Rodent models for metabolic syndrome research. *J Biomed Biotechnol.* 2011; 2011: 351982.
- 144.** Johnson FK, Johnson RA, Durante W, Jackson KE, Stevenson BK and Peyton KJ. Metabolic syndrome increases endogenous carbon monoxide production to promote hypertension and endothelial dysfunction in obese Zucker rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol* 2006; 290: 601-608.
- 145.** Paško P, Bartoń H, Zagrodzki P, Gorinstein S. Effect of amaranth seeds (*Amaranthus cruentus*) in the diet on some biochemical parameters and essential trace elements in blood of high fructose-fed rats. *Nat Prod Res* 2011; 25: 844-849.
- 146.** Pasko P, Barton H, Zagrodzki P, Izewska A, Krosniak M, Gawlik M, Gawlik M, Gorinstein S. Effect of diet supplemented with quinoa seeds on oxidative status in plasma and selected tissues of high fructose-fed rats. *Plant Foods Hum Nutr* 2010; 65: 146-151.
- 147.** Singh I, Singh PK, Bhansali S, Shafiq N, Malhotra S, Pandhi P, Pal Singh A. Effects of three different doses of a fruit extract of *Terminalia chebula* on metabolic components of metabolic syndrome, in a rat model. *Phytother Res* 2010; 24: 107-112.
- 148.** Zagrodzki P, Joniec A, Gawlik M, Gawlik M, Krosniak M, Folta M, Barton H, Pasko P, Chlopicka J, Zachwieja Z. High fructose model of oxidative stress and metabolic disturbances in rats. Part I. Antioxidant status of rats' tissues. *Bull Vet Inst Pulawy* 2007; 51: 407-412.
- 149.** Kannappan S, Jayaraman T, Rajasekar P, Ravichandran MK, Anuradha CV. Cinnamon bark extract improves glucose metabolism and lipid profile in the fructose-fed rat. *Singapore Med J* 2006; 47: 858-863.

- 150.** Olatunji LA, Soladoye AO. Increased magnesium intake prevents hyperlipidemia and insulin resistance and reduces lipid peroxidation in fructose-fed rats. *Pathophysiology* 2007; 14: 11-15.
- 151.** Oron-Herman M, Kamari Y, Grossman E, Yeger G, Peleg E, Shabtay Z, Shamiss A, Sharabi Y. Metabolic syndrome: comparison of the two commonly used animal models. *Am J Hypertens* 2008; 21: 1018-1022.
- 152.** Armutcu F, Coskun O, Gürel A, Kanter M, Can M, Ucar F, Unalacak M. Thymosin alpha 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats. *Clin Biochem* 2005; 38: 540-7.
- 153.** Barbosa CR, Albuquerque EM, Faria EC, Oliveira HC, Castilho LN. Opposite lipemic response of Wistar rats and C57BL/6 mice to dietary glucose or fructose supplementation. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40: 323-331.
- 154.** Abdulla MH, Sattar MA, Abdullah NA, Hye Khan MA, Anand Swarup KR, Johns EJ. The contribution of α 1B-adrenoceptor subtype in the renal vasculature of fructose-fed Sprague-Dawley rats. *Eur J Nutr.* 2011 Jun; 50(4): 251-60.
- 155.** Vazquez-Prieto MA, Renna NF, Diez ER, Cacciamani V, Lembo C, Miatello RM. Effect of red wine on adipocytokine expression and vascular alterations in fructose-fed rats. *Am J Hypertens.* 2011 Feb; 24(2): 234-40.
- 156.** Busserolles J, Mazur A, Gueux E, Rock E, Rayssiguier Y. Metabolic syndrome in the rat: females are protected against the pro-oxidant effect of a high sucrose diet. *Exp Biol Med* 2002; 227:837-842.
- 157.** Angelopoulos TJ, Lowndes J, Zukley L, Melanson KJ, Nguyen V, Huffman A, Rippe JM. The effect of high-fructose corn syrup consumption on triglycerides and uric acid. *J Nutr.* 2009 Jun; 139(6): 1242S-1245S.
- 158.** Turkozkan N, Bircan F.S, Pasaoglu O.T, Kantar S, Diker S, Anadol E, Kaya E.E. Metabolic Syndrome Model in Rats.3rd East Mediterranean ICLAS Symposium. June 13-15, PB-020 page 6.
- 159.** P. S. K. Wong and E. J. Johns, "Effect of acute saline volume loading on renal sympathetic nerve activity in anaesthetised fructose-fed and fat-fed rats," *Journal of the Autonomic Nervous System*, vol. 75, no. 1, pp. 60–69, 1999.
- 160.** L. G. S´anchez-Lozada, E. Tapia, A. Jim´enez et al., "Fructose induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats," *American Journal of Physiology*, vol. 292, no. 1, pp. F423–F429, 2007.

- 161.** X. Xu, C. X. Zhao, L. Wang et al., “Increased CYP2J3 expression reduces insulin resistance in fructose-treated rats and db/db mice,” *Diabetes*, vol. 59, no. 4, pp. 997–1005, 2010.
- 162.** H. Bar-On and Y. Stein, “Effect of glucose and fructose administration on lipid metabolism in the rat,” *Journal of Nutrition*, vol. 94, no. 1, pp. 95–105, 1968.
- 163.** Mayer MA, Höcht C, Gironacci M, Opezzo JA, Taira CA, Fernández BE, Puyó AM. Hypothalamic angiotensinergic-noradrenergic systems interaction in fructose induced hypertension. *Regul Pept.* 2008 Feb 7; 146(1-3): 38-45.
- 164.** Armutcu F, Kanter M, Gurel A, Unalacak M. Excessive dietary fructose is responsible for lipid peroxidation and steatosis in rat liver tissues. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2007, 27.
- 165.** Motoyama CS, Pinto MJ, Lira FS, Ribeiro EB, do Nascimento CM, Oyama LM. Gum Guar fiber associated with fructose reduces serum triacylglycerol but did not improve the glucose tolerance in rats. *Diabetol Metab Syndr.* 2010 Oct 27; 2: 61.
- 166.** Bocarsly ME, Powell ES, Avena NM, Hoebel BG. High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: increased body weight, body fat and triglyceride levels. *Pharmacol Biochem Behav.* 2010 Nov; 97(1): 101-6.
- 167.** Abdullah MM, Riediger NN, Chen Q, Zhao Z, Azordegan N, Xu Z, Fischer G, Othman RA, Pierce GN, Tappia PS, Zou J, Moghadasian MH. Effects of long-term consumption of a high-fructose diet on conventional cardiovascular risk factors in Sprague-Dawley rats. *Mol Cell Biochem.* 2009 Jul; 327(1-2): 247-56.
- 168.** Horiuchi M, Mogi M. C-reactive protein beyond biomarker of inflammation in metabolic syndrome. *Hypertension.* 2011 Apr; 57(4): 672-3.
- 169.** Pravenec M, Kajiya T, Zidek V, Landa V, Mlejnek P, Simáková M, Silhavý J, Malínská H, Oliyarnyk O, Kazdová L, Fan J, Wang J, Kurtz TW. Effects of human C-reactive protein on pathogenesis of features of the metabolic syndrome. *Hypertension.* 2011 Apr; 57(4): 731-7.
- 170.** Devaraj S, Singh U, Jialal I. Human C-reactive protein and the metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol.* 2009 Jun; 20(3): 182-9.
- 171.** Abid A, Taha O, Nseir W, Farah R, Grosovski M, Assy N. Soft drink consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome. *J Hepatol.* 2009 Nov; 51(5): 918-24.

- 172.** Weigensberg MJ, Toledo-Corral CM, Goran MI. Association between the metabolic syndrome and serum cortisol in overweight Latino youth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Apr; 93(4): 1372-8.
- 173.** Anagnostis P, Athyros VG, Tziomalos K, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Clinical review: The pathogenetic role of cortisol in the metabolic syndrome: a hypothesis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Aug; 94(8): 2692-701.
- 174.** DeSantis AS, DiezRoux AV, Hajat A, Golden SH, Jenny NS, Sanchez BN, Shea S, Seeman TE. Associations of salivary cortisol levels with metabolic syndrome and its components: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Nov; 96(11): 3483-92.
- 175.** Konopelska S, Kienitz T, Hughes B, Pirlich M, Bauditz J, Lochs H, Strasburger CJ, Stewart PM, Quinkler M. Hepatic 11beta-HSD1 mRNA expression in fatty liver and nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009 Apr; 70(4): 554-60.
- 176.** Baudrand R, Carvajal CA, Riquelme A, Morales M, Solis N, Pizarro M, Escalona A, Boza C, Pérez G, Domínguez A, Arrese M, Fardella CE. Overexpression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in hepatic and visceral adipose tissue is associated with metabolic disorders in morbidly obese patients. *Obes Surg.* 2010 Jan; 20(1): 77-83.
- 177.** Baudrand R, Domínguez JM, Carvajal CA, Riquelme A, Campino C, Macchiavello S, Bozinovic M, Morales M, Pizarro M, Solis N, Escalona A, Boza C, Arrese M, Fardella CE. Overexpression of hepatic 5 α -reductase and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in visceral adipose tissue is associated with hyperinsulinemia in morbidly obese patients. *Metabolism.* 2011 Dec; 60(12): 1775-80.
- 178.** Morton NM. Obesity and corticosteroids: 11beta-hydroxysteroid type 1 as a cause and therapeutic target in metabolic disease. *Mol Cell Endocrinol.* 2010 Mar 25; 316(2): 154-64.
- 179.** Atalar F, Vural B, Ciftci C, Demirkan A, Duman BS, Cagatay P, Gunay D, Sagbas E, Akpinar B, Ozbek U, Buyukdevrim AS. "11 β -HSD Type 1 is Responsible for Low Plasma HDL-Cholesterol and Abdominal Obesity in Metabolic Syndrome Patients", the FEBS Journal, 273, 203, 2006.
- 180.** Atalar F, Gormez S, Caynak B, Akan G, Gunay D, Duran C, Akpinar B, Ozbek U, Buyukdevrim AS and Yazıcı Z. The role of mediastinal adipose tissue 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and glucocorticoid receptor expressions in the development of coronary atherosclerosis in obese patients with coronary artery

disease; correlation with fatty acid content-a case control study. *Cardiovascular Diabetology* 2012.

- 181.** Atalar F, Vural B, Ciftci C, Demirkan A, Akan G, Susleyici DB, Gunay D, Akpinar B, Sagbas E, Ozbek U, Buyukdevrim AS. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene expression is increased in ascending aorta tissue of metabolic syndrome patients with coronary artery disease. 2012.
- 182.** Mertens I, Verrijken A, Michiels JJ, Van der Planken M, Ruige JB, Van Gaal LF. Among inflammation and coagulation markers, PAI-1 is a true component of the metabolic syndrome. *Int J Obes (Lond)*. 2006 Aug; 30(8): 1308-14.
- 183.** Alessi MC, Juhan-Vague I. PAI-1 and the metabolic syndrome: links, causes, and consequences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Oct; 26(10): 2200-7.
- 184.** Belalcazar LM, Ballantyne CM, Lang W, Haffner SM, Rushing J, Schwenke DC, Pi-Sunyer FX, Tracy RP; Look Action for Health in Diabetes Research Group Metabolic factors, adipose tissue, and plasminogen activator inhibitor-1 levels in type 2 diabetes: findings from the look AHEAD study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011 Jul; 31(7): 1689-95.
- 185.** Bouchard L, Vohl MC, Lebel S, Hould FS, Marceau P, Bergeron J, Pérusse L, Mauriège P. Contribution of genetic and metabolic syndrome to omental adipose tissue PAI-1 gene mRNA and plasma levels in obesity. *Obes Surg*. 2010 Apr; 20(4): 492-9.
- 186.** Xu XJ, Gauthier MS, Hess DT, Apovian CM, Cacicedo JM, Gokce N, Farb M, Valentine RJ, Ruderman NB. Insulin sensitive and resistant obesity in humans: AMPK activity, oxidative stress, and depot-specific changes in gene expression in adipose tissue. *J Lipid Res*. 2012 Apr; 53(4): 792-801.
- 187.** Sobel BE, Woodcock-Mitchell J, Schneider DJ, Holt RE, Marutsuka K, Gold H. Increased plasminogen activator inhibitor type 1 in coronary artery atherectomy specimens from type 2 diabetic compared with nondiabetic patients: a potential factor predisposing to thrombosis and its persistence. *Circulation*. 1998 Jun 9; 97(22): 2213-21.
- 188.** Pandolfi A, Cetrullo D, Polishuck R, Alberta MM, Calafiore A, Pellegrini G, Vitacolonna E, Capani F, Consoli A. Plasminogen activator inhibitor type 1 is increased in the arterial wall of type II diabetic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Aug; 21(8): 1378-82.

- 189.** Ikeda Y, Hama S, Kajimoto K, Okuno T, Tsuchiya H, Kogure K. Quantitative comparison of adipocytokine gene expression during adipocyte maturation in non-obese and obese rats. *Biol Pharm Bull.* 2011; 34(6): 865-70.
- 190.** Serrano R, Barrenetxe J, Orbe J, Rodríguez JA, Gallardo N, Martínez C, Andrés A, Páramo JA. Tissue-specific PAI-1 gene expression and glycosylation pattern in insulin-resistant old rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009 Nov; 297(5): R1563-9.