



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

METABOLİK SENDROM/HİPOTALAMİK OBEZ HAYVAN
MODELİNDE NEUROMEDİN U'NUN GLİKOZ
METABOLİZMASI ÜZERİNE OLAN ETKİLERİN
ARAŞTIRILMASI

İsmail Hakkı AKBUDAK

Temmuz 2023
DENİZLİ

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**METABOLİK SENDROM/HİPOTALAMİK OBEZ HAYVAN
MODELİNDE NEUROMEDİN U'NUN GLİKOZ METABOLİZMASI
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİN ARAŞTIRILMASI**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

İsmail Hakkı AKBUDAK

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Vural KÜÇÜKATAY

Denizli, 2023

YAYIN BEYAN SAYFASI

Pamukkale üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği Uygulama Esasları Yönergesi Madde 24-(2) "Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora öğrencileri için: Doktora tez savunma sınavından önce, doktora bilim alanında kendisinin yazar olduğu uluslararası atıf indeksleri kapsamında yer alan bir dergide basılmış ya da basılmak üzere kesin kabulü yapılmış en az bir makalesi olan öğrenciler tez savunma sınavına alınır. Yüksek lisans tezinin yayın haline getirilmiş olması bu kapsamda değerlendirilmez. Bu ek koşulu yerine getirmeyen öğrenciler, tez savunmasına alınmazlar" gereğince yapılan yayın/yayınların listesi aşağıdadır (Tam metin/metinleri ekte sunulmuştur):

Ek-3. Detraining reverses exercise-induced improvement in blood pressure associated with decrements of oxidative stress in various tissues in spontaneously hypertensive rats. Kilic-Erkek O, Kilic-Toprak E, Caliskan S, Ekbic Y, **Akbudak IH**, Kucukatay V, Bor-Kucukatay M. Mol Cell Biochem. 2016 Jan;412(1-2):209-19. doi: 10.1007/s11010-015-2627-4. Epub 2015 Dec 26.

Ek-4. Increased erythrocyte aggregation and oxidative stress in patients with idiopathic interstitial pneumonia. Ugurlu E, Kilic-Toprak E, Altinisik G, Kilic-Erkek O, Cengiz B, Kucukatay V, Senol H, **Akbudak IH**, Ekbic Y, Bor-Kucukatay M. Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis. 2016 Dec 23;33(4):308-316.

Ek-5. Investigation of the effects of major ozone autohemotherapy application on erythrocyte deformability and aggregation. **Akbudak IH**, Kucukatay V, Kilic-Erkek O, Ozdemir Y, Bor-Kucukatay M. Clin Hemorheol Microcirc. 2018 Jun 9. doi: 10.3233/CH-180417.

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İsmail Hakkı AKBUDAK :

İmza :

ÖZET

METABOLİK SENDROM/HİPOTALAMİK OBEZ HAYVAN MODELİNDE NEUROMEDİN U'NUN GLİKOZ METABOLİZMASI ÜZERİNE OLAN ETKİLERİN ARAŞTIRILMASI

İsmail Hakkı AKBUDAK
Doktora Tezi, Fiziyojji Anabilimdalı
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Vural KÜÇÜKATAY

Temmuz 2023, 64 Sayfa

İnsulin sekresyonu ve karbonhidrat metabolizması üzerine olumsuz etkilere sahip, proksimal bağırsaklardan sekrete edildiği düşünölen hormonlara genel olarak dekretin adı verilmektedir. Bu güne kadar tanımlanan bir dekretin hormon tesbit edilmemişse de Neuromedin U (NMU)'nun olası bir aday olduğu ileri sürölmüştür. Çalışmamızda monosodyum glutamat (MSG) ile oluşturduğumuz metabolik sendrom/ hipotalamik obezite modelinde sistemik dolaşımdaki NMU düzeylerini ve Oral Glikoz Tolerans Testi'ne (OGTT) cevaben bu düzeylerin nasıl değiştiğini araştırmayı planladık. Ayrıca NMU'nun gastrointestinal sistemin proksimal ve distal kısımlarındaki ekspresyonunu inceleyerek, bu ekspresyonun MetS/HO modelinde olası değişikliğini araştırmayı planladık. Bu amaçla yenidoğan sıçanlara 10 gün boyunca, gün aşırı subkutan olarak MSG (4mg/g/vücut ağırlığı) enjeksiyonu, diğer bir grup yenidoğan sıçana ise aynı şekilde %0.9'luk izotonik enjeksiyonu yapılarak Kontrol (K) ve metabolik sendrom/hipotalamik obez (MetS/HO) grupları oluşturulmuştur. Bu işlemden sonra hayvanlar ad libitum olarak 5 ay boyunca beslenerek MetS/HO modelinin gelişmesi beklenmiş ve vücut ağırlıkları takip edilmiştir. Bu sürenin sonunda ise kan lipid profilleri, Lee indeksi, bazal ve OGTT'ye verilen glikoz, insulin ve NMU yanıtları ölçölmüştür. Bazal glikoz ve insulin değerlerinden HOMA-R skoru hesap edilmiştir. Sakrifikasyondan sonra perigonadal ve retroperitoneal yağları çıkartılarak abdominal obezite, dudedonum jejunum ve distal bağırsak çıkartılarak bağırsak NMU ekspresyonu değerlendirilmesi yapılmıştır. Sonuçlarımız obezitenin göstergesi olan Lee indeksinde anlamlı olmayan bir artışı, abdominal obezitede ise istatikselsel olarak önemli bir artışı göstermiştir. MetS/HO modeli hayvanlarda hiperglisemi ve hipoinsülinemi ile karakterize diyabete mellitus bulgusu saptanmıştır. OGTT'ye yanıt olarak kan şekerleri daha da artmış ve gerekli insulin yanıtını veremedikleri izlenmiştir. Lipid profilleri bozulmuş iken, bazal plazma NMU düzeyleri arasında bir fark bulunamamıştır. OGTT'ye verilen NMU yanıtları, bazal ve 30. dakikalarda gruplar arasında farklı değildirken 60. dakikada K grubunun MetS/HO grubuna göre anlamlı olarak düşük NMU yanıtı verdiği izlenmiştir. Gastrointesinal yolda NMU ekspresyonun ise her iki grupta benzer şekilde proksimalden distale doğru azaldığı tesbit edilmiştir. Sonuç olarak MetS/HO modelinde NMU'nun gerek plazma düzeyleri gerek Gastrointesinal kanal boyunca dağılımı açısından bariz farklar bulamadık. Sonuçlarımızın NMU'nu dekretin gibi fonksiyon görmediğini ileri süren yayınları teyit eder nitelikte olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Metabolik Sendrom, Neuromedin U, Dekretin, İnkretin, İnsülin Direnci

Bu Çalışma, PAÜ Bilimsel Araştırmalar projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 2021SABE014)

ABSTRACT**INVESTIGATION OF NEUROMEDİN U RESPONSE TO INCREASED BLOOD GLUCOSE IN RATS WITH EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME**

AKBUDAK, İsmail Hakkı
PhD Thesis in Physiology
Supervisor: Prof. Dr. Vural KÜÇÜKATAY (MD, PhD)

July 2023, 64 Pages

Hormones that have negative effects on insulin secretion and carbohydrate metabolism and are thought to be secreted from the proximal intestines are generally called incretin. Although no incretin hormone has been identified to date, Neuromedin U (NMU) has been suggested as a possible candidate. In our study, we planned to investigate the systemic circulation NMU levels in the metabolic syndrome/hypothalamic obesity model that we will create with monosodium glutamate (MSG) and how these levels change in response to the Oral Glucose Tolerance Test (OGTT). In the MetS/HO model, we also intended to investigate the potential alteration of NMU expression in the proximal and distal gastrointestinal tract. For this purpose, newborn rats were subcutaneously injected with MSG (4 mg/g/body weight) every other day for ten days, and another group of newborn rats was given the same treatment with 0.9% isotonic injection for the Control (C) and metabolic syndrome/hypothalamic obesity (MetS/HO) groups. Following this procedure, the animals were fed ad libitum for 5 months while the MetS/HO model was being developed. During this time, the body weight change was monitored. Blood lipid profiles, Lee's index, glucose, insulin, and NMU responses to basal and OGTT were assessed at the end of this period. The basal glucose and insulin readings were used to provide the HOMA-R score. After sacrifice, abdominal obesity was examined by removing perigonadal and retroperitoneal fats, and intestinal NMU expression was evaluated by removing the duodenum jejunum and distal intestine. Our results showed a non-significant increase in the Lee index, which is an indicator of obesity, and a statistically significant increase in abdominal obesity. Diabetes mellitus, defined by hyperglycemia and hypoinsulinemia, was identified in MetS/HO group rats. Blood sugar levels increased even more in response to the OGTT, and it was found that this group was unable to produce the necessary insulin response. Basal plasma NMU levels were not different from the control group, but the lipid profiles of the MetS/HO group were abnormal. Although there was no difference in the groups' NMU responses to OGTT at baseline or at 30 minutes, it was found that the K group provided a substantially lower NMU response after 60 minutes compared to the MetS/HO group. NMU expression in the gastrointestinal tract was similarly decreased from proximal to distal in both groups. In terms of plasma levels of NMU and the distribution of NMU expression throughout the Gastrointestinal tract, we did not observe any significant differences between the MetS/HO and C groups. We believe our findings support the literature indicating that the NMU does not function like incretin.

Keywords: Metabolic Syndrome, Neuromedin U, Incretin, Insulin Resistance

This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Unit through project numbers 2021SABE014.

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sűresince tecrűbelerinden yararlandıđım, tezimin sűrdűrűlmesi ve sonlandırılmasında bűyűk katkıları bulunan kendisini her konuda örnek aldıđım baőta tez danıőman hocam Prof.Dr.Vural KŪŪKATAY'a,

Tez çalıőmamda kullandıđım materyallerin temin edilmesinde ve analizlerinde her tűrlű desteđi sađlayan deđerli arkadaőlarım, Dr. Melek TUNÇ ATA Dr.Fatih ALTINTAŐ'a ve Fizyoloji Anabilim dalındaki tűm asistan arkadaőlarıma;

Bu sűrete desteđi ve sabrıyla yanımda olan eőim İlknur Hatice AKBUDAK'a ve deđerli dostlarıma en içten teőekkűrlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç.....	4
2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI	5
2.1 Metabolik Sendrom	5
2.1.1 Tanımı ve Tarihçesi	5
2.1.2. Metabolik Sendrom Sıklığı	5
2.1.3. Metabolik Sendromda Patogenez	6
2.1.3.1 Ön Bağırsak (Fore-gut) Hipotezi	6
2.1.3.2. Arka Bağırsak (Hind-gut) Hipotezi	7
2.1.3.3 İnkretin Etki	7
2.1.3.4 Dekretin	9
2.1.3.5 Leptin	9
2.1.3.6 Adinopektin	10
2.1.3.7 Serbest Yağ Asitleri.....	10
2.1.3.8 TNF- α	10
2.1.3.9 CRP	11
2.1.3.10 IL-6	11
2.1.4. MetS Bileşenleri	11
2.1.4.1 Abdominal Obezite.....	11
2.1.4.2 İnsülin Direnci	12
2.1.4.3 Hipertansiyon	13
2.1.4.4 Dislipidemi	13
2.1.4.5 Glukoz İntoleransı	14
2.1.5 Tanı Kriterleri	15
2.1.5.1 Sıçanlarda Tanı Kriterleri	15
2.1.6 Tedavi	15
2.2 Metabolik Sendrom Deneysel Hayvan Modelleri	17
2.3 GLP-1	18

2.3.1 GLP-1 Etkileri	19
2.3.1.1 GLP-1'in Pankreas Üzerine Etkisi	19
2.3.1.2 İnsülin Üzerindeki Etkileri	20
2.3.1.3 Glukagon Üzerindeki Etkileri	20
2.3.1.4 Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri	20
2.4 Neuromedin U 25 Tanımı ve Yapısı	21
2.4.1 Organ ve Doku Dağılımı	22
2.4.2 Reseptörleri	23
2.4.3 İşlevi	23
2.4.4 Fizyolojik Rollerini	23
2.4.4.1 Düz Kas Kontraksiyonu	24
2.4.4.2 Kan Basıncı	24
2.4.4.3 Glukoz Regülasyonu	25
2.4.4.4 Gastrik Boşalma	25
2.4.4.5 Stres	26
2.4.4.6 Beslenme ve Enerji Hemostazı	26
2.5 Hipotez	27
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	28
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇLAR	50
7. KAYNAKLAR	51
8. ÖZGEÇMİŞ	64
EKLER	
Ek-1 Etik Kurul Onay Belgesi	
Ek-2 Yayın Beyanı	
Ek-3 Yayın Beyanı	
Ek-4 Yayın Beyanı	

ŞEKİLLER DİZİNİ**Sayfa**

Şeki 2.1. NMU' nun Fizyolojik Rollerini	24
Şekil 4.1. K ve MetS/HO gruplarına ait haftalık vücut ağırlık ölçümleri.....	34
Şekil 4.2. K ve MetS/HO gruplarına ait Lee indeksi ölçümleri	35
Şekil 4.3 K ve MetS/HO gruplarına ait retroperitoneal yağ ölçümleri.....	36
Şekil 4.4 K ve MetS/HO gruplarına ait Perigonadal yağ ölçümleri.....	36
Şekil 4.5 K ve MetS/HO gruplarına ait Abdominal yağ ölçümleri.....	37
Şekil 4.6. K ve MetS/HO gruplarına ait Glukoz sonuçları.....	38
Şekil 4.7. K ve MetS/HO gruplarına ait insulin sonuçları.....	39
Şekil 4.8 K ve MetS/HO gruplarına ait HOMA-R sonuçları.....	40
Şekil 4.9. K ve MetS/HO gruplarına ait OGTT sonuçları	40
Şekil 4.10. K ve MetS/HO gruplarına ait lipid profil sonuçları	40
Şekil 4.11. K ve MetS/HO gruplarına ait OGTT ye NmU sonuçları	41
Şekil 4.12. MetS/HO gruplarına ait NMU gen ekspresyon sonuçları	42

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CDNA	Tamamlayıcı DNA
CRH	Kortikotropin serbestleştirici hormone
CRP	C Reaktif Protein
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ERK	Extracellular signal-regulated Kinaz
ERK1	Extracellular signal-regulated Kinaz 1
ERK2	Extracellular signal-regulated Kinaz 2
G protein	Bir protein ailesi
Gaq/11	G protein
GIP	Glukoz Bağımlı insulintropik peptit
GLP-1	Glukagona benzer peptit
Glut4	İnsuline duyarlı glukoz taşıyıcısı 4
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HOMA	Homeostasis Model Assesment
ICV	Intra serebro vasküler
IL-6	İnterlokın 6
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
K	Kontrol grubu
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
MetS	Metabolik sendrom

MetS/HO	Metabolik sendrom/hipotalamik obezite
mRNA	Mesajcı RNA
NMU	Neuromedin U
NMUR1	Neuromedin U reseptörü 1
NMUR2	Neuromedin U reseptörü
ObR	Leptin Reseptor
PYY	Peptit YY
PVN	Paraventricüler Çekirdek
SYA	Serbest Yağ asitleri
TNF Alfa	Tümör nekroz faktörü alfa
TG	Trigliserid
T2DM	Tip 2 Diabetes Mellitus
VKİ	Vücut kitle indeksi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Metabolik sendrom (MetS), glukoz intoleransı veya diabetes mellitus (DM), dislipidemi, hipertansiyon ve abdominal obezite gibi anormalliklerin bir kombinasyonu ile karakterizedir. Obezite ve onunla ilişkilendirilen durumlar (Tip 2 diyabet, metabolik sendrom) dünyada ülkelerin sağlık sistemlerini ciddi bir şekilde tehdit etmektedir (Buchwald vd., 2009). Obezitenin yol açtığı Tip 2 diyabet hastalığı tüm dünyada hızla yayılmaktadır (Rathmann vd., 2004). Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan olan ülkelerde epidemik hale gelmiş obezite ve MetS gibi durumlar, kardiovasküler hastalıklar ve tip 2 diyabet gibi hastalıklar için büyük risk faktörü oluşturmaktadır. (Buchwald vd., 2009). Obezite ise mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden biridir (Bray ve Bellanger, 2006). Genetik faktörlerin katkısı olsa dahi, günümüzde obezitenin artış sebebi olarak hayat tarzı ve çevresel faktörler olduğu düşünülmektedir (Cardon vd., 1994). Çalışmalarda, bu durumun 2040 yılına dek 640 milyon insanı etkileyeceğinin altı çizilmektedir (International Diabetes Federation, 2016). MetS'in en belirgin bileşenlerinden biri insülin direncidir. Bu kişilerde endojen ve ekzojen insüline karşı yanıtızsızlık vardır. Genetik ise direncin oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Genetik olarak insülin direnci oran bozulmuş glikoz intoleransı olanlarda %60'a, tip 2 DM'lu hastalarda %75'e çıkmaktadır. Sağlıklı bireylerde dahi %25 oranında bu genetik özellikler görülmektedir (Grundy, 2008).

Bağırsak ve yağ dokusunun sağlıklı bir metabolizma için gerekliliği giderek daha fazla öne çıkmaktadır. Buralardan salgılanan hormonların enerji dengesi ve metabolizmanın sağlıklı sürdürülebilmesi için gerekliliği bilinmektedir. Nitekim MetS'da International Diabetes Foundation tarafından belirlenen tanı kriterlerinden biri bel çevresinin kalın olmasıdır (Alberti vd., 2009). Bunun nedeni, karın bölgesindeki yağlanma metabolik sendrom için zemin oluşturmasıdır. Yağ dokusundan salgılanan leptin, rezistin, tümör nekrotize edici faktör-alfa (TNF-alfa), plazminojen aktivatör inhibitörü gibi mediatörler insülin direnci artışında başrolde oynamaktadırlar (Nieto-Vazquez vd., 2008). Oral yolla alınan glukozun diğer alımlara göre daha fazla insülin salgılamaktadır ve inkretin sebebi ile olduğu düşünülmektedir (Holst vd., 2016). İnkretinler ise sindirim siteminden

salgılanan insulintropik hormonlardır. Bu hormonlar içinde en önemlileri glikoz bağımlı insulintropik peptid (GIP) ve glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) olarak kabul edilmektedir (Holst vd., 2016).

Obezite, tip 2 diyabet ve MetS gibi bozuklukların tedavisi için çalışmalar yürütülüyor olmakla beraber, bu büyük problemin önlenmesine veya kürüne yönelik tedavi seçenekleri oldukça kısıtlıdır. Obezite ile mücadele cerrahi olan ve olmayan yöntemler olarak iki ana başlık altında sınıflandırılabilir. Çalışmalar, gastrointestinal sistem ameliyatlarının, ameliyatsız tedavi seçeneklerine göre kilo kaybında yaklaşık %60 oranında azalma ve glukoz toleransında %80 oranında iyileşme sağladığını göstermiştir (Brolin, 2002). Bu yükseklikteki başarı diğer yöntemlerde mevcut değildir. Bariatrik cerrahi (kilo verme cerrahisi) obezite tedavisinin yanı sıra obeziteye bağlı tip 2 diyabet, kalp hastalıkları, bazı kanserler, yüksek tansiyon, uyku apnesi bozuklukları gibi kırka yakın hastalıkta düzelme veya belirgin düzelme sağlar ve bu durumların getirdiği maliyette de belirgin azalma sağlar. Obezite cerrahisi ile kilo vermenin yanı sıra kan şekeri stabilizasyonu, tansiyonun düşmesi gibi etkiler ortaya çıkar ve bu etkiler kilo vermeden çok önce ortaya çıkar (Rubino, 2002). Bu nedenle mide-bağırsak sisteminde yapılan çeşitli cerrahi işlemler, sadece kilo vermeyi amaçlamadığı ve işlem sonucunda pek çok olumlu metabolik etki ortaya koyduğu için metabolik cerrahi olarak adlandırılmaktadır (Fändriks, 2017). Metabolik cerrahinin metabolik patolojilere karşı olumlu etkisinin aşağıda özetlenen iki mekanizma ile gerçekleştiği öne sürülmüştür.

Arka Bağırsak (Hind-gut) Hipotezi; besinlerin ince bağırsağın distal kısımlarına erken ulaşması esasına dayanır. Bu hipotez ile diyabet kontrolünün, besinlerin distal kaskadlara hızlı bir şekilde iletilmesinden kaynaklandığı ve böylece glikoz dengesini iyileştiren fizyolojik bir sinyal ürettiği ileri sürülmektedir. Bu etkinin potansiyel aracılığı GLP-1, GIP ve PYY'dir. Besinlerin hızla iletildiği uzak bağırsaktaki "L" hücreleri tarafından inkretin salgılanmasını uyardığı, böylece insülin salgılanmasını ve insülin duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir. (Campbell ve Drucker, 2013). İleal interpozisyon cerrahisi bu hipoteze dayanmaktadır. Daha önce yapılan insan ve kemirgen araştırmalarında diyabet modellerinde ileal interpozisyon ameliyatından sonra diyabetik glukoz dengesinde düzelme saptanmıştır (Depaula vd., 2008).

Daha basit bir anlatımla ya gıda ileuma ulaştırılır ya da metabolik cerrahi uygulamaları ile ileum gıdaya ulaştırılır. Gastrik bypass, biliopankreatik diversiyon (BPD) ve duodenal switch (DS) süreçleri devam ederken, besinler ön bağırsaktan baypas edilerek ileuma yönlendirilir; İleal interpozisyon ameliyatları ile ileum, sindirimin erken evrelerinde

görevlendirilmiş olur. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar, ameliyatların etkilerinin ince bağırsaktan salgılanan enterik hormonlara (inkretinler) bağlı olduğuna dikkat çekmiştir. En iyi bilinen inkretinler GLP-1 ve GIP'dir. İnkretinler sindirim fonksiyonu sırasında salınır ve insülinin etkisini artırır. Beta hücrelerinin uyarılması ve insülin salınımı, oral yolla çok daha efektif olarak gerçekleşir. Bu farka "inkretin etkisi" denir (Çelik, 2014).

Ön Bağırsak (Foregut) hipotezi: bu hipoteze göre "ince bağırsağın ilk kısmından besin atlanır, yani ilk kısım olan duodenum ve proksimal jejunumun devre dışı bırakılmasının ardından insülin direnci ve diyabete neden olabilecek sinyali engellenmektedir. Tip 2 DM, inkretin ve anti-inkretin aktivitesi olan bağırsak hormonları arasındaki denge değiştirilerek düzeltilebilir. Gastrik bypass veya biliopankreatik diversiyon gibi bariatrik prosedürler bu varsayıma dayanmaktadır (Celik vd., 2014). Hayvanlarda RYGB'den sonra glikoz homeostazının iyileştirilmesi, Rubino ve ark.'nın ön bağırsak hipotezine dayanıyordu. Çalışmalarında, duodenal-jejunal baypas ile obez olmayan bir Tip 2 DM hayvan modeli olan Goto-Kakizaki farelerinde diyabeti önemli ölçüde iyileştirdiler. Tersine, gastrojejunostomi ile diyabetin tedavi edilmediğini gözlemlədiler. İlginç bir şekilde yazarlar, DJB ile tedavi edilen sıçanlarda normal gastroduodenal yolu yeniden kurduklarında ancak gastrojejunostomiye sürdürdüklerinde glisemik dengenin geri geldiğini bulmuşlardır. Bu nedenle, proksimal bağırsağın besin akışından çıkarılmasının glikoz toleransını artıracak ve muhtemelen ön bağırsaktan salgılanan anti-inkretinin (dekretin) Tip 2 DM patofizyolojisinde rol oynayabileceğini düşünülmüştür (Rubino vd., 2006). Genel olarak dekretinin, açlıkla uyarılan ve insülin üretimini ve sekresyonunu baskılayan bir enteroendokrin hormon olduğu fikrine yol açmıştır.

Bugüne kadar net olarak tanımlanmış bir dekretin olmamışsa da son yıllarda gastrointestinal traktusta ve beyinde eksprese edilen bir peptid hormon olan neuromedin U (NMU)'nun Alfa ve ark. insülin sekresyonunu baskılayan "dekretin" için aday bir molekül olabileceğini sürülmüştür (Alfa vd., 2015). NMU ile ilgili literatürde bu hipotezi test eden az sayıda çalışmada zıt sonuçlar bulunmuştur. İn vitro izole perfüze sıçan ve insan pankreasında NMU'nun glikozla uyarılan insülin sekresyonu baskıladığı bulunmuşken (Alfa vd., 2015, Kaczmarek vd., 2006), in vivo yapılan birkaç çalışmada bu bulgu teyit edilememiş aksine NMU'nun dekretin değil incretin gibi etki ettiği gösterilmiştir (Peier vd., 2011). İn vivo yapılan çalışmaların sonuçları incretin olarak bilinen hormonların temel salınım yerinin sadece distal bağırsak olmadığı proksimal bağırsaktan da incretin etkili hormonların salınabileceği sonucunu doğurmuştur. İn vivo yapılan çalışmaları çoğu deneysel metabolik patoloji modelleri üzerinde gerçekleştirilmemiştir. Sadece bir çalışmada diyabetik sıçan modeli kullanılarak eksojen NMU verilmesinin bu

hayvanlardaki oral glikoz testine cevaben verilen kan şekeri artışını önemli oranda azalttığı bulunmuştur. Yine bu sonucun olası mekanizması yeterince aydınlatılamamıştır. Bu çelişkili sonuçların ve özellikle deneysel obezite ve tip 2 diyabet modelleri kullanılarak daha detaylı araştırılması gerekmektedir. Özellikle mide duodenum, jejunum ve proksimal ileum gibi sindirim sisteminin başlangıcında ifade edildiği düşünülen bu hormonun gerçekten inkretin etkilimi yoksa dekretin etkili bir hormon olduğunun bilinmesi hem cerrahi operasyonların yeniden gözden geçirilmesine, hem de obezite ve metabolik sendrom diyabet gibi obezite ile ilişkili patolojilerin daha iyi anlaşılmasına katkı sunabilir.

1.1 Amaç

Metabolik sendrom ve diyabet gibi obezite ile yakından ilişkili patolojilerde NMU'nun olası rolü literatürde yeterince çalışılmamıştır. Çalışmamız monosodyum glutamat (MSG) ile geliştirdiğimiz hipotalamik metabolik sendrom/obezite modelinde sistemik dolaşımdaki NMU düzeylerini ve NMU'nun gastrointestinal sistemin proksimal ve distal kısımlarındaki ekspresyonu kontrol grubu ile karşılaştırarak incelemek amacıyla planlanmıştır. Ayrıca çalışmamızda metabolik sendromlu sıçanlarda bazal NMU düzeylerine ek olarak oral glukoz testi (OGTT) sonrası 0, 30 ve 60. dakikalarda gastrointestinal sistemin besin alımına verdiği NMU yanıtını kontrol grubu ile karşılaştırarak incelemeyi amaçladık.

2. KURUMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Metabolik Sendrom

2.1.1. Tanımı ve Tarihçesi

MetS, diyabet ve kardiyovasküler hastalığa yol açan, etyopatogenezi bilinmeyen bir endokrinopatidir. Visseral adipozite, lipid profili bozukluğu, endotel disfonksiyonu, arteriyel hipertansiyon, kronik stres, insülin direnci, hiper pıhtılaşma MetS'yi oluşturan parametrelerdir (Kaur, 2014).

MetS bir teşhis olmaktan ziyade bir tanım olarak öne sürülmüştür (Shaw vd., 2003). MetS'in kökenleri, 1920'lerde İsveçli bir doktor olan Kylin'in hipertansiyon, hiperglisemi ve bunların bağırsakla ilişkisini göstermesiyle ortaya çıktı (Kylin, 1947). 1947'de Vague, visseral obezitenin kardiyovasküler hastalık ve Tip 2 DM'de bulunan metabolik anormallikler ile ilişkili olduğunu açıkladı (Vague, 1996). Daha sonra 1965'te Avogaro ve Crepaldi tarafından; hipertansiyon, yüksek kan şekeri ve obeziteyi içeren bir sendrom olarak tanımlanmıştır (Avogaro vd., 1965). MetS 1988'de Reaven tarafından "diyabet ve kardiyovasküler hastalık için bir grup risk faktörü" olarak tanımlandı ve buna "Sendrom X" adını verdi (Reaven, 1988). 1989'da Kaplan (Kaplan, 1989), üst vücut obezitesi, glukoz intoleransı, hipertrigliseridemi ve hipertansiyonun kombinasyonu için sendromu "Fatal Quad" olarak yeniden adlandırdı ve 1992'de tanım "İnsülin direnci sendromu" olarak değiştirildi (Haffner vd., 1992).

2.1.2. Metabolik Sendrom Sıklığı

Dünya çapında MetS prevalansı bölgeye, kentsel veya kırsal ortama, cinsiyete, yaşa, ırka, etnik kökene ve sendromun tanımına göre değişir (Desroches vd., 2007). Yetişkinlerde MetS prevalansının ortalama %22 olduğu bildirilmiştir. Prevalansı yaşla birlikte artmakta ve 20-29 yaş grubunda %6,7, 60-69 yaş grubunda ise %43,5'dir. Türk Yetişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışmasına göre, 2000 yılı

itibariyle Türkiye genelinde 30 yaş ve üstü 9,2 milyon kişinin MeT geçirdiği iddia edilmektedir. Ülkemizde MetS prevalansı erkeklerde %28, kadınlarda ise %40'a ulaşmaktadır (Kozan vd., 2007).

2.1.3. Metabolik Sendromda Patogenez

Metabolik sendrom, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşiminden kaynaklanan kronik bir inflamatuvar durumdur. İnsülin direnci, viseral adipozite, aterosklerotik dislipidemi, endotel disfonksiyonu, kalıtsal gen duyarlılığı, hipertansiyon, hiper pıhtılaşma durumu ve kronik stres sendromu çeşitli faktörlerdir (Kaur, 2014). Tüm MetS bileşenlerinin etyopatogenezini açıklayabilecek tek bir genetik, enfeksiyöz veya çevresel faktör henüz tanımlanmamıştır. Poligenik bir yatkınlık olmakla birlikte hareketsiz yaşam tarzı ve yüksek kalorili beslenme sendromun seyrini ağırlaştırmaktadır (Ford vd., 2003). MetS'lerin ayrı bileşenlerinin ayrı patolojileri mi yoksa ortak bir patogenetik mekanizmayı mı temsil ettiği hala tartışılmaktadır. MetS'lerin altta yatan patofizyolojisi için, en yaygın olanı yağ asidi akışı ve insülin direnci olan birkaç hipotez vardır. Visseral adipozitenin ayrıca MetS'lerde yer alan anormalliklerin ana tetikleyicisi olduğu düşünülmektedir (Matsuzawa vd., 2011). Diğer potansiyel mekanizmalar, kronik düşük dereceli iltihaplanma ve oksidatif stresi içerir (Reaven., 1988). Önerilen tüm mekanizmalar arasında insülin direnci, nörohormonal aktivasyon ve kronik inflamasyon, MeT'lerin kardiyovasküler hastalığa ve hastalığın ilerlemesine ilerlemesinde ana faktörler gibi görünmektedir (McCracken vd., 2018).

2.1.3.1. Ön bağırsak (Fore-gut) Hipotezi

Bu hipoteze göre: ince bağırsağın ilk kısmından besin atlanır, yani ilk kısım devre dışı kalır. İnce bağırsağın başlangıç kısmı olan duodenum ve proksimal jejunumun devre dışı bırakılmasının insülin direncine ve diyabete neden olabilecek sinyali engelleyebileceği ileri sürülmektedir. Tip 2 DM, inkretin ve anti-inkretin aktivitesi olan bağırsak hormonları arasındaki denge değiştirilerek düzeltilebilir. Gastrik bypass veya biliopankreatik diversiyon gibi bariatrik işlemler bu varsayımına dayanmaktadır (Çelik vd., 2014). Hayvanlarda RYGB'den sonra glikoz homeostazının iyileştirilmesi, Rubino ve ark.'nın ön bağırsak hipotezine dayanıyordu. Çalışmalarında, duodenal-jejunal baypas ile obez olmayan bir Tip 2 DM hayvan modeli olan Goto-Kakizaki farelerinde diyabeti önemli ölçüde iyileştirdiler. Tersine, proksimal bağırsaktan besin akışını dışlamadan gastrojejunostomi ile diyabetin tedavi edilmediğini gözlemlediler. İlginç bir şekilde

yazarlar, duodenojejunal baypas (DJB) ile tedavi edilen sıçanlarda normal gastroduodenal yolu yeniden kurduklarında ancak gastrojejunostomiye koruduklarında glisemik dengenin geri geldiğini bulmuşlardır. Bu nedenle yazarlar, proksimal bağırsağın besin akışından çıkarılmasının glikoz toleransını iyileştireceğini ve farazi bir ön bağırsak sinyalinin Tip 2 DM'nin patofizyolojisine dahil olabileceğini öne sürdüler (Rubino vd., 2006).

2.1.3.2. Arka Bağırsak (Hind-gut) Hipotezi

Arka bağırsak hipotezi, besinlerin ince bağırsağın uzak kısımlarına ulaşmasının beklenmesine dayanır. Bu hipotez ile diyabet kontrolünün, besinlerin distal kaskadlara hızlı bir şekilde iletilmesinden kaynaklandığı ve böylece glikoz dengesini iyileştiren fizyolojik bir sinyal ürettiği ileri sürülmektedir. Bu etkinin potansiyel araçları GLP-1, GIP ve PYY'dir. Besinlerin hızla iletildiği uzak bağırsaktaki "L" hücrelerinin inkretin salgılanmasını uyardığı, böylece insülin salgılanmasını ve insülin duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir (Campbell ve Drucker, 2013). İleal interpozisyon cerrahisi bu hipoteze dayanmaktadır. Önceki çalışmalar, insan ve kemirgen diyabet modellerinde ileal interpozisyon ameliyatından sonra diyabetik glukoz homeostazında iyileşme olduğunu göstermiştir (Depaula vd., 2008). Daha basit bir anlatımla ya gıda ileuma ulaştırılır ya da metabolik cerrahi uygulamaları ile ileum gıdaya ulaştırılır. Gastrik bypass, biliopankreatik diversiyon (BPD) ve duodenal switch (DS) işlemleri ile besinler ön bağırsaktan baypas edilerek ileuma yönlendirilir; ileal interpozisyon ameliyatları ile ileum, sindirimin erken evrelerinde gıdaya benzetilebilir. Şimdiye kadar belgelenen ameliyatların etkilerinin ince bağırsaktan salgılanan enterik hormonlara (inkretinler) bağlı olduğuna dikkat çekilmiştir. En iyi bilinen incretinler GLP-1 ve GIP'dir. Incretinler sindirim fonksiyonu sırasında salınır ve insülinin etkisini artırır. Beta hücrelerinin uyarılması ve insülin salınımı, intravenöz glikoz uygulamasından ziyade oral olarak gerçekleşir. Bu farka "incretin etkisi" denir (Çelik, 2014).

2.1.3.3. İnkretin Etki

Yaklaşık 100 yıl önce, Moore ve ark. (Moore vd., 1906), duodenumun bir pankreas salgısı ürettiği bağırsak özlerini enjekte ederek diyabeti iyileştirmeye çalışmıştır. Bu gelişmeyi takiben Zunz ve Labarre, bağırsağın pankreas endokrin sekresyonunu artırabilen hümoral aktivitesini tanımlamak için "incretin" terimini

kullandılar (Zunz vd., 1929). 1932 yılında Le Barre tarafından yemekten sonra insülin salgılanmasını düzenleyen bağırsak tarafından salgılanan hormon (INsulin'in bağırsak salgılanması) için kullanılmıştır. Bir hormonun inkretin olarak tanımlanabilmesi için; gastrointestinal kökenli bir hormon olmalı, yemeklerden sonra insülin salgılanmasını artırarak kan şekerini düşürmeli, mide boşalmasını azaltarak ve glukagon salınımını engelleyerek besin emilim hızını yavaşlatmalıdır (La Barre, 1932). Inkretin'in klinik etkileri 1964'te gösterildi, bunu 1971'de GIP ve 1985'te GLP-1 izledi. İnsanlarda, incretinlerin tanımlanması, 1970'lerde GIP'nin saflaştırılmasına ve karakterizasyonuna kadar belirsiz kaldı. İlk tanımlanan incretin olan GIP'in glukozu bağımlı insülin sekresyonunun güçlü bir uyarıcısı olduğu gösterilmiş olmasına rağmen, immünadsorpsiyon yoluyla bağırsak ekstraktlarından uzaklaştırılması inkretinin etkisini ortadan kaldırmadı, bu da inkretin'e benzer ek peptitlerin varlığını düşündürdü (Ebert vd., 1983). Proglukagon geninin karakterizasyonundan sonra inkretin aktivitesine sahip ikinci bir peptit tanımlandı. Proglukagon geninde glukagon tarafından kodlanan bir peptit olan GLP-1'in hem prelinik hem de insan çalışmalarında glikoza bağımlı insülin sekresyonunu güçlü bir şekilde uyardığı gösterilmiştir (Drucker vd., 1987). Inkretin etkisi, sağlıklı bireylerde, intravenöz olarak uygulanan glukozu benzer kan glukoz seviyelerine neden olmasına rağmen, oral glukozun insülin sekresyonunda artışa neden olmasıdır. Inkretin etkisi, bağırsaktan türetilen sinyallerin endokrin pankreas, yani entero-ada eksenini ile etkileşimini ifade eder. Incretin etkisinin büyüklüğü (oral glukozu verilen toplam insülin salgılama tepkilerinin %65'i), tek başına eşdeğer hiperglisemi ile görülen minör stimülasyonun normal oral glukoz toleransını sürdürmek için yeterli olmayacağını göstermektedir.

Tip 2 DM hastalarında inkretinin kusurlu etkisinin, bağırsaktan türetilen inkretin hormonları GIP ve GLP-1'in pankreatik β -hücreleri üzerindeki insülinotropik etkisinin azalmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (Nauck vd., 1986). Glikoz homeostazını sürdürmede inkretin etkisinin önemi açıkça gösterilmiştir ve inkretin bazlı tedaviler, Tip 2 DM için en umut verici yeni tedaviler arasındadır. Çalışmalar, obez hastalarda normal glukoz tolerans testine yanıt olarak incretin etkisinin azaldığını bildirmiştir (Muscelli vd., 2008). Çalışmalar vücut ağırlığı ile GLP-1 arasında ters bir ilişki olduğunu göstermiş (Carr vd., 2010) ve Tip 2 DM'li hastalarda incretinlerin etkisinin önemli ölçüde azaldığı iddia edilmiştir. Bu etkinin azaltılması, gıda alımına verilen insülin yanıtının uygunsuz bir şekilde azalmasına neden olur (Bagger vd., 2011).

2.1.3.4. Dekretin

İnkretinlerin beslenme sırasında insülin sekresyonunu arttıran mekanizması tam olarak gösterilmiş olmakla birlikte; inkretinlere zıt etki gösteren dekretin adı verilen hormonların etkileri kesin olarak açıklanamamıştır. Yapılan iştah araştırmalarında, uzun süreli açlığın insülin sekresyonunda olumsuz değişikliklere, bozulmuş glukoz toleransına, kısmi insülin eksikliklerine ve açlık diyabetine neden olduğu belirlenmiştir (Hofmeister vd., 1890, Unger vd., 1963, Cahill vd., 1966, Fink vd., 1974, Lilavivathana vd., 1978, Fery vd., 1989). Dolaşımdaki glikozdaki artış, beta hücre depolarizasyonunu ve insülin salgılanmasını uyarır (Roarsman ve Braun, 2013). Açlık hormonlarının insülin sekresyonunu baskıladığı bulunmuştur (Lilavivathana vd., 1978, Unger vd., 1961, Ensinnck vd., 1997). Enteroendokrin hormonları "dekretin" in hipoglisemiyi önlemek için insülin salınımını sınırlayabileceğini öne sürdü. Bu kavram, pankreas β -hücrelerinden insülin salgılanmasını baskılayan bir G proteinini tanımlayan son çalışmalarla da desteklenmektedir (Wang vd., 2011).

Besin kısıtlamasından sonra hormonların salınması, G proteinine bağlı reseptöre beta hücrelerinden GSIS'yi zayıflatması için sinyal verebilir. Özellikleri enteroendokrin yapı tarafından üretilir, açlık ve karbonhidrat eksikliği nedeniyle hareket eder, insülin üretimini ve insülin üreten hücrelerin salgılanmasını baskılar. Bununla birlikte, incretinler gibi, salgılanmanın insülin salgılanması üzerindeki etkisi, salgı için bir uyarıcı mevcut olduğunda beslenme sırasında ortaya çıkar. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda Neuromedin U adı verilen bağırsak-beyin peptidinin dekretin etkisine sahip olduğu tahmin edilmektedir. Ancak bu etki tam olarak kanıtlanmıştır.

2.1.3.5. Leptin

Esas olarak yağ dokusunda sentezlenir (Hoggard vd., 1997, Sinha, 1997). Tokluk ve enerji alımının düzenlenmesinde görev alan bir adipokindir (Hutley vd., 2005). Plazma leptin seviyeleri kilo alımında artar ve zayıflama sırasında azalır. Plazma konsantrasyonları vücut yağ dokusuyla orantılı olarak değişir. Bu nedenle kadınlarda vücut yağ dokusu ve leptin miktarı erkeklere göre daha fazladır (Ostlund vd., 1996). Leptin reseptörü (ObR'ler) merkezi sinir sisteminde ve periferik sinir sisteminde tespit edilmiştir (Fei vd., 1997). Leptin reseptörleri esas olarak merkezi sinir sisteminde hipotalamusta ve beyin sapında bulunur ve bu reseptörler aracılığıyla gönderilen sinyaller tokluğu, enerji harcamasını ve nöroendokrin fonksiyonları kontrol eder. Fazla kilolu ve obez insanların çoğu, iştahı bastırmayan yüksek leptin seviyelerine, leptin

direncine sahiptir. Leptin direncinin obezitede anahtar bir patoloji olduğu düşünülmektedir (Hutley vd., 2005).

2.1.3.6. Adiponektin

Lipid ve glikoz metabolizmasını düzenler, insülin duyarlılığını artırır, vücut ağırlığını düzenler ve kronik iltihaplanmaya karşı korur. Oruç tutmanın besin alımında aktif hale gelmesine rağmen enerji dengesi üzerinde etkisi vardır (Goldstein ve Scalia, 2004). Kaslara glikoz taşınmasını artırır ve yağ asidi oksidasyonunu artırır (Eckel vd., 2005). GLUT4'ün iskelet kasına translokasyonunu artırarak glikoz sentezini artırır ve glikojen sentezini azaltır (Ceddia vd., 2005). Üstelik, KAH'lı hastalarda adiponektin düzeyinin düşük olduğu bildirilmiştir (Pischon vd., 2004). Ayrıca, düşük düzeyin insülin direnci, hiperinsülinemi ve Tip 2 DM geliştirme olasılığı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Fumeron vd., 2004). Sıçan çalışmasında; Sükroz-yağ diyetiyle beslenen sıçanlara adiponektin uygulandıktan sonra, farelerde vücut ağırlığında azalma ve yağ asitleri ve trigliserit düzeylerinde azalma gözlemlendi (Yang vd., 2012).

2.1.3.7. Serbest Yağ Asitleri

Vücudun üst kısmındaki deri altı adipositleri, dolaşımdaki SYA'nin çoğunu oluşturur. Karaciğer ve kastaki yüksek SYA konsantrasyonları, postinsülin reseptörleri üzerinde etki ederek insülin direnci oluşumu ile ilişkilidir. SYA konsantrasyonları vücut yağ kütlesi ile orantılıdır. Dahili visseral adipositler, lipolitik ajanlarla ilişkili olarak çalışır. Ayrıca, iskelet kasının yüksek seviyelerde SYA'ya akut olarak maruz kalması, insülin aracılı glukoz alımını inhibe ederek insülin direncine neden olurken, pankreasta kronik olarak yüksek SYA konsantrasyonları pankreas beta hücre fonksiyonunu bozar (Boden vd., 2001). Yapılan çalışmalarda karaciğerde yağ birikimi olan olgularda SYA'nin yağ birikiminde etkili olduğu belirlenmiş ve hastalarda splanik SYA düzeylerinin de yüksek olduğu saptanmıştır. (Miles vd., 2005). SYA fibrinojen ve PAI-1 üretimini artırır.

2.1.3.8. TNF α

Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), monositler ve makrofajlar tarafından sentezlenir. 2-1-2 amino asit yapısında bir sitokindir. Adipositlerdeki parankimin aracısıdır. Otoimmün hastalıklarda iltihaplanmayı başlatmada etkilidir. TNFR1 ve TNFR2

olmak üzere iki reseptörü vardır. Metabolik sendromla ilgili önceki çalışmalar, insülin direncinin gelişiminde sitokinlerin artan serbest yağ asitleri plazma konsantrasyonları ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Obez kişilerde yapılan çalışmada yağ dokularında TNF alfa ekspresyonlarının yüksek seviyelerde olduğu belirlendi. Obez sıçanlarda yapılan bir çalışmada, adipoz dokudan aşırı TNF alfa ekspresyonunun vücut ağırlığı artışı ve hiperinsülinemi ile ilişkili olduğu bulundu (Hotasmigil vd., 1995). TNF alfa uygulamasının, adiposit ve miyosit hücrelerinde GLUT 4 seviyesini düşürdüğü belirlenmiştir (Stephens vd., 1991). Başka bir çalışmada, insanlara ve sıçanlara TNF alfanın in vitro uygulanması, plazma trigliseritlerinde ve LDL'de artışa neden olmuştur (Grunfeld ve Feingold, 1991).

2.1.3.9. CRP

Artan dolaşımdaki CRP (C-reaktif protein) konsantrasyonlarının, artmış metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Çalışmalar obezite, insülin direnci, hipoglisemi, kilo alımı ve CRP arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir. (Timpson vd., 2005, Deepa vd., 2006). CRP'nin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte MetS'de proinflamatuvar süreci başlatmada etkili olduğu bilinmektedir. (Rattazzi vd., 2003)

2.1.3.10. IL-6

İnsanlarda hem yağ dokusu hem de iskelet kası tarafından üretilen inflamatuvar bir sitokindir. IL-6 reseptörünün hipotalamusta iştah ve enerji alımı üzerindeki etkisi belirlendi. (Stenlof vd., 2003). Artan dolaşımdaki IL-6 konsantrasyonlarının obezite, glikoz intoleransı ve insülin direnci ile ilişkili olduğu bilinmektedir.

2.1.4. MetS Bileşenleri

2.1.4.1 Abdominal Obezite

Günümüzde karın bel çevresi kalınlığının artması nedeniyle obezite dünya genelinde önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Metabolik sendromda merkezi klinik bulgulardan biridir. Metabolik sendrom proinflamatuvar bir süreç olarak ilerler (Ritchie vd., 2007). Başka bir çalışmada karın yağ depolarının periferik (gluteal, deri altı yağ dokusu) yağ depolarına göre insülin direnci, tip 2 diabetes mellitus, kardiyovasküler

hastalık oluşumu ile daha fazla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Kissebah vd., 1994). Yağ dokusunda lokal inflamasyona neden olarak obezite oluşumu ile ilişkili genel sistemik inflamasyonu yayar. Adipositokinler obezite oluşumunda etkilidir ve insülin duyarlılığı (Saleem vd., 2009), oksidatif stres (Tsimikas vd., 2009), enerji metabolizması ve inflamatuvar yanıtta (Jacobs vd., 2009) sorumludur.

Vücut yağındaki dağılım, insülin duyarlılığının kritik bir belirleyicisidir. Obezite tipik olarak insülin direnci ile ilişkilendirilirken, vücut yağ dağılımındaki farklılıklar nedeniyle insülin duyarlılığı zayıf kişilerde de değişiklik gösterir (Fujimoto vd., 2000, Kahn, 2003). İnsülin direnci gelişiminin, yağ dokusundan dolaşıma salınan artmış SYA'dan kaynaklandığı düşünülmektedir. SYA'daki bu artış, insülin aracılı glikoz alımını inhibe ederek kasta insülin duyarlılığını azaltırken, karaciğerde glikoz ile trigliserid üretimini ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) sekresyonunu artırır. Sonuç olarak, glikozun glikojene dönüşümü azalır ve lipid birikimi artar. Öte yandan, insülin önemli bir antilipolitik hormondur ve insülin direnci durumunda yağ dokusunda lipoliz miktarının artması daha fazla yağ asidi üretir. Bu koşullar, bireylerin metabolik olarak obez olmasına rağmen normal kiloda olmasına neden olur. Bunlar tipik olarak, özellikle karın bölgesinde daha fazla miktarda iç organ yağ dokusuna sahip bireylerdir (Alberti vd., 1998).

2.1.4.2. İnsülin Direnci

Polipeptit bir hormon olan insülin, pankreasın Langerhans adacıklarındaki β -hücreleri tarafından salgılanır. Etkisini karaciğer, iskelet kası ve adiposit gibi ana hedef dokularda bulunan reseptörleri aracılığıyla gösterir. İnsülin reseptörleri, insülinin bağlandığı iki α alt birimi ve iki β biriminden oluşan membran glikoproteinleridir. İnsülin reseptöre bağlandığında, çok sayıda sinyal yolu aktive edilir. İnsülin bu sinyal yollarının aktivasyonu ile metabolik fonksiyonları düzenler, büyümeyi ve çoğalmayı uyarıcı etkiler gösterir (Başaran vd., 2015). MetS patofizyolojisini açıklamak için kabul edilen hipotezlerden biri insülin direncidir. Bu nedenle MetS, insülin direnci sendromu olarak da bilinir. İnsülin direnci, hiperinsülinemiye yol açan öglisemiye sürdürmek için gerekli olan insülin etkisindeki bir kusur olarak tanımlanır. İnsülin tarafından hedeflenen ana dokular göz önüne alındığında, iskelet kasındaki insülin direncinin glikojen sentezinde ve glikoz taşınmasında bir azalmaya yol açtığı, karaciğerdeki insülin direncinin ise insülin sinyal iletiminin etkinliğinde bir azalmaya yol açtığı görülmektedir. Kesin mekanizmalar tam olarak doğrulanmamıştır ve bu alandaki araştırmalar devam etmektedir (Eckel vd., 2005).

Bu dirence karşı koymak ve öglisemi sağlaması için hiperinsülinemi oluşturur. İnsülin direnci genellikle hiperinsülinemi ile ilişkilendirilirken, hiperglisemi her zaman insülin direncine eşlik etmeyebilir. Hiperglisemi, insülin direncinin ileri evrelerinde ortaya çıkar (Pyorala vd., 2000). Abdominal obezitenin (visseral adipozite) insülin direncinin ana nedeni olduğu düşünülmektedir. Öte yandan, dolaşımdaki SYA'daki artışın MeT's patogeneğinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Abdominal obezite ile hücreler tarafından insülinle uyarılan glikoz alımı azalır, esterleşmemiş yağ asidi yağ dokusundan anormal şekilde salınır, kas hücreleri ve karaciğerde adipozite oluşur ve bu etkiler insülin direnci ve dislipidemi oluşumunu kolaylaştırır (Huang, 2009). Dolaşımdaki SYA'daki artışın metabolizma üzerinde birçok etkisi vardır; FFA'lar kaslara glikoz alımını azaltır. Karaciğerde glukoneogenezi ve lipogenezi destekler. Yüksek FFA seviyelerine akut iskelet kası maruziyeti, insülin kaynaklı glikoz alımını inhibe ederek insülin direncini indükler. Pankreasın yüksek SYA'ya kronik olarak maruz kalması pankreatik beta hücre fonksiyonunu bozar. FFA'lar ayrıca pankreatik beta hücreleri için lipotoksiktir ve bozulmuş insülin sekresyonuna neden olur. Tüm bunların sonucunda insülin salgılanması azalır (Boden vd., 2001).

2.1.4.3. Hipertansiyon

İnsülin direnci ve yüksek tansiyonun sıklıkla bir arada görüldüğü bilinmektedir. İnsülin damar direnci üzerinde önemli etkilere sahiptir. Sağlıklı bireylerde insülinin hipertansif ve hipotansif etkileri dengededir. Hipertansif etkisi, sempatik aktiviteyi artırarak ve böbrekte su ve sodyum retansiyonunu uyararak ortaya çıkar. Hipotansif etkinin, dirençli damarlar üzerindeki vazodilatör etkiden kaynaklandığı düşünülmektedir. İnsülin direnci varlığında periferik vazodilatör etkiye direnç gelişir ve vazodilatör etki azalır. Çalışmalar, insülin direnci olan kişilerde insülin endotel hücresi tarafından nitrik oksit (NO) üretimini uyaran PI3K yolunda kusurlar olduğunu göstermiştir (Resnick vd., 1993). Bu da hipertansiyon gelişimine katkıda bulunur (Juhan-Vague vd., 2003).

2.1.4.4. Dislipidemi

Dislipidemi, aterosjenik lipoproteinlerin yapısındaki bozulmalarla karakterizedir. Genel olarak, VLDL üretimi, karaciğere SYA akışının artmasıyla artar. Fizyolojik koşullar altında insülin, VLDL'nin sistemik dolaşıma sekresyonunu inhibe eder. İnsülin direnci ve karaciğerin SYA'ya maruz kalması nedeniyle hepatik trigliserit sentezi artar. Bu nedenle hipertrigliseridemi, insülin direncinin durumunu yansıtır ve MetS teşhisi için önemli

kriterlerden biridir (Lewis vd., 1996). MetS'da trigliseritler ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) yüksek, HDL kolesterol düşüktür. İnsülin direnci ilerledikçe trigliserit seviyeleri yükselir ve HDL düşer (Huang, 2009). İnsülin direnci, çeşitli şekillerde aterojenik dislipidemiye yol açar. İlk olarak, insülin normalde adipositlerde lipolizi baskılar, bu nedenle bozulmuş insülin sinyali, artan lipoliz ve SYA seviyelerine neden olur. İnsülin, lipoprotein lipazın aktivitesini ve hızını sınırlar ve VLDL'nin klirensini düzenler. Bu anormallikler artan oksidatif stres ve endotel disfonksiyonu ile ilişkilidir, böylece makrovasküler aterosklerotik hastalığın proinflamatuvar doğasını güçlendirir (Lewis vd., 1996).

2.1.4.5. Glikoz İntoleransı

Bozulmuş glikoz toleransı, insülin direnci ile ilişkili olan hipergliseminin prediyabetik aşamasıdır (McGraw ve Lee, 2007). Bozulmuş glikoz toleransı (IGT), bozulmuş açlık glikozu (IFG) ve DM koşullarını içerir. Bu koşullara sahip kişilerde DM ve KVH geliştirme riski artar (Qiao vd., 2001). Glukoz intoleransını belirlemek için oral yoldan 75 gr glukoz verilir ve oral glukoz tolerans testi (OGTT) yapılır. İnsanlarda, testten 2 saat sonra ölçülen kan şekeri seviyesinin 140-199 mg/dl olması durumunda glukoz intoleransı teşhisi konur.

IFG ve IGT, beta hücre disfonksiyonu ile ilişkili insülin direnci durumlarıdır (Eckel vd., 2005). Başlangıçta, glikoz seviyelerini normal aralıkta tutan insülin sekresyonunda telafi edici bir artış vardır. Zamanla beta hücreleri değişir ve insülin salgılanması glikoz homeostazını koruyamaz ve glikoz intoleransı oluşur (Grundy, 2006). Glukoz intoleransı olan bireylerde fizyolojik koşullar altında pulsatil insülin sekresyonu bozulur ve beta hücrelerinin glukoz düzeylerindeki değişiklikleri algılama ve yanıt verme yeteneği bozulur (Eckel vd., 2005). Aşırı kilolu veya obez kişilerde hepatik yağ oksidasyonunda artış görülür. İnsülin direncinde azalmış plazma lipoprotein lipaz aktivitesi, artmış plazma TG, HDL degradasyonu ve artmış hepatik glukoneogenez (McGraw ve Lee, 2007) sonucunda karaciğer ve iskelet kaslarında glukoz intoleransına yatkınlık oluşur (Nathan vd., 2007). Ayrıca insülin direncinde serbest yağ asitlerinin plazma konsantrasyonunda artış gözlenir ve serbest yağ asitlerindeki artış da karaciğerde TG artışını uyarır (Gelmez vd., 2012).

2.1.5. Tanı Kriterleri

Metabolik sendromda farklı tanı kriterleri tanımlanmıştır. Bu tanı kriterlerinde yaygın olarak kullanılan değerler insülin direnci, bel çevresi yağ oranı, hipertansiyon, dislipidemi (yüksek trigliserit, düşük HDL) değerleridir. Uluslararası Diyabet Federasyonu'na (IDF) göre abdominal obezite ve aşağıdaki iki kritere sahip bir birey metabolik sendrom olarak tanımlanmıştır: yüksek açlık kan şekeri (≥ 100 mg/dL), hipertansiyon ($\geq 85/130$ mm/Hg), düşük HDL kolesterol seviyeleri (erkeklerde < 40 mg/dL; kadınlarda < 50 mg/dL), yüksek trigliserit seviyeleri (≥ 150 mg/dL). 1999 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tanımına göre, bozulmuş açlık glukozu, insülin direncinin veya bozulmuş glukoz toleransının ve aşağıdaki kriterlerden ikisinin varlığını gerektirir: kan basıncı ($140/90$ mmHg), dislipidemi: trigliseritler (TG) ($\geq 1,695$ mmol/L) ve HDL-C kolesterol $\leq 0,9$ mmol/L (erkek) $\leq 1,0$ mmol/L (dişi), merkezi obezite: yaşam boyu erkeklerde $> 0,90$, kadınlarda $> 0,85$ veya vücut kitle indeksi > 30 kg/m Mikroalbuminüri: idrar albümin atılım hızı ≥ 20 μ g/dak veya albümin-kreatinin oranı ≥ 30 mg/g.

2.1.5.1. Sıçanlarda Tanı Kriterleri

MetS için sıçanlarda tanı kriterleri net değildir. Ancak bir çalışmada (Espitia-Bautista vd., 2017) sıçanlarda MetS tanımlanması için MetS kriterlerinden üç veya üçten fazlasının görülmesi gerektiği şeklinde tanımlandı. Bu kriterler: obezite (vücut ağırlığının yüzde 10 üzerinde artış), hiperinsülinemi (> 6 ng/dl), glikoz tolerans testinde (GTT) son noktadaki eğrinin (120 dakika sonra) bazal seviyelerden istatistiksel olarak daha yüksek olması, abdominal yağda artış (vücut ağırlığının yüzde 3 ünde artış), kolesterol seviyesinin artması (> 175 mg/dl), hipertrigliseridemi (> 150 mg/dl) şeklinde görülmektedir.

2.1.6. Tedavi

MetS erken tedavi edilmesi gereken bir hastalıktır. MetS'lu hastaların klinik olarak tanımlanması ve tedavi planlanması sonraki hastalık risklerini azaltmak için çok önemlidir (Wong, 2005). MetS için en uygun tedavi, kilo kaybı, düzenli egzersiz, diyet, sağlıklı beslenme ve sigarayı bırakma gibi yaşam tarzı değişiklikleridir. Yaşam tarzı değişiklikleri ile risk faktörleri yeterince azaltılamayan hastalarda ilaç tedavisi düşünülür, ancak bazen daha spesifik risk faktörlerini kontrol altına almak için bariatrik cerrahi yapılır

(Deen, 2004). Kilo vermek için; kalori kısıtlaması, artan fiziksel aktivite ve onaylanmış kilo azaltıcı ilaçların kullanılması önerilir. Bazı araştırmacılar (Grundy vd., 2005) ilk 6 ay ile 1 yıl arasında vücut ağırlığının %10'u kadar kilo vermeyi ve ardından VKİ'yi 25'in altına düşürmeyi ana hedef olarak önermektedir. Fiziksel aktivitenin MetS üzerinde birçok yararlı etkisi vardır. Kalori dengesini olumlu etkilemesinin yanı sıra kardiyovasküler hastalık riskini azaltır (Lakka vd., 2007). Bu nedenle düzenli bir fiziksel aktivite programı başlatmak MetS yönetimi için çok önemlidir (Haslam vd., 2005).

MetS'un klinik yönetimi zordur, çünkü mevcut yaklaşım her bir hastalığı ayrı ayrı tedavi etmektedir, çünkü arka planda esasen insülin direnci olan sendromun tamamını önlemek veya tedavi etmek için henüz bilinen bir yöntem/ilaç yoktur (Reaven, 1988). MetS'da farmasötik tedavide; antihipertansifler, statinler ve metformin kullanılır ve MetS bileşenleri ayrı ayrı tedavi edilir. İnsülin direnci ve diyabet tedavisinde metformin, tiazolidinedionlar veya glitazonlar kullanılmaktadır. Statinler ve fibratlar dislipidemi ve obezite için kullanılır. Öte yandan, nutrasötikler olarak da adlandırılan bazı doğal bileşikler ve diyet elementlerinin MetS tedavisinde yararlı olduğu kanıtlanmıştır. MetS için tek bir ilaç tedavisi yoktur ve şu anda mevcut farmakoterapi ve ilişkili komorbiditeler, polifarmasi ve düşük uyum nedeniyle hastalar için uzun süreli ilaç kullanımını gerektirmektedir. Bu nedenle, doğal olarak oluşan bileşiklerin MetS riski ve progresyonun azaltılması, uzun vadeli kardiyovasküler sonuçlar ve uzun vadeli uyum üzerindeki etkileri bilinmemektedir (Rochlani vd., 2017). Kardiyovasküler hastalık, hipertansiyon ve polikistik over sendromu gibi MetS bileşenlerinin tedavisi genellikle insülin direnci, obezite ve dislipideminin tedavisi ile yakından ilişkilidir. Neden insülin direnci MetS'un ana nedenidir (Dik, 2013).

Sonuç olarak, MetS ana tedavisinin beslenme ve yaşam tarzı değişiklikleri olduğu açıklanmış olsa da; hastaların büyük çoğunluğunda istenilen sonuçlara ulaşılamamaktadır (Kaplan vd., 2012). Diyabet gelişimini engellemeye yönelik "Diyabet Önleme Programı" gibi çalışmalara rağmen hastaların VKİ değerlerinde ortalama %2,4 azalma sağlandı. Tüm bu yaklaşımların başarı oranlarının %2 ile %20 arasında değiştiği bilinmektedir (Norris vd., 2005). Bahsi geçen patolojilerin farmakolojik tedavisine yönelik çalışmalar devam etse de medikal tedavide birkaç ilacın bir arada ve uzun süre kullanılması gerekliliği tedaviye uyumu ve sonuç almayı zorlaştırmaktadır. İlaç tedavisinde kullanılan az sayıdaki kimyasal ve hormonal ajanların obezite ve buna bağlı hastalıkların tedavisinde etkili olmadığı, morbid obezite tedavisinde etkinliğinin çok düşük olduğu gözlemlenmiştir (Zimmet vd., 2003).

2.2. Metabolik Sendrom Deneysel Hayvan Modelleri

Hayvanlarda obezitenin uyarılması, nöroendokrin, diyet veya genetik faktörlerle sağlanabilir. Kemirgen ve insan genomları arasındaki yakın benzerlik, bu hayvan modellerini obeziteyi incelemek için önemli bir araç haline getirmektedir. Hayvanlar, kısa sürede cevap almamızı sağlar çünkü bir farenin 10 günlük ömrü, insanlarda vücut ağırlığındaki değişimler kıyaslandığında yaklaşık 1 yıla tekabül etmektedir (Von Diemen vd., 2006). Literatürde sıçanlarda obeziteye neden olan bazı modeller vardır. Bunlardan biri diyet indüksiyon modelleme yöntemidir. Bu yöntem fruktoz, sükroz ve doymuş yağ açısından zengin diyetlerden oluşur. Sıçanlarda fruktoz, fruktoz ile MetS modelini üretti; karaciğerde hiperglisemi, hiperinsülinemi, insülin direnci, obezite, HT ve hipertrigliseridemi ve aşırı VLDL üretimine neden olur (Miller ve Adeli, 2008). Fruktoz MetS modelini oluşturmak için deney hayvanlarının rejimlerine toplam enerjinin %60-70'ini oluşturacak şekilde fruktoz veya içme sularına %10-20 fruktoz eklenebilir (Kaplan ve Mir, 2011). Sakaroz kaynaklı MetS modeli, sıçanlarda insülin direnci, obezite, HT üretirken, TG ve anjiyotensin II'nin plazma seviyelerinde artış gözlenir (Coelho vd., 2010). Albino erkek Wistar sıçanlarında sükroz kaynaklı bir MetS modeli oluşturmak için 8 hafta boyunca %60-70 kcal sükroz veya nişasta içeren bir diyet beslenmelidir (Von Diemen vd., 2006). Yüksek yağlı bir diyetle indüklenen MetS modelleri, vücut ağırlığında, plazma insülininde, TG ve serbest yağ asidi seviyelerinde ve karaciğerde TG birikiminde bir artış gösterir. Bu değişiklikler sonucunda sistolik kan basıncında artış, kardiyak hipertrofi, albüminüri, böbreklerde lipid birikimi ve endotel disfonksiyonu görülür (Gelmez vd., 2012). Literatürdeki diğer bir yöntem ise monosodyum glutamat (MSG) veya direkt elektrik uygulaması ile ventromedial hipotalamik çekirdeğin (VMH) hasara uğratılarak deney hayvanı modeli oluşturulması esasına dayanmaktadır (Von Diemen vd., 2006). İlk olarak Olney (1969) tarafından açıklanan MSG kaynaklı obezite modeli, MetS ile ilgili özellikler sergiler. Yeni doğan sıçanlara MSG uygulanması, hipotalamusun kavisi çekirdeğine ve medyan çıkıntısına zarar verir (Olney, 1969) ve ön hipofizin somatosomları tarafından salgılanan büyüme hormonunun (GHRH) salgılanmasını azaltır. Yetişkinlikte, MSG fareleri büyüme geriliği, obezite, artan yağ birikimi, dislipidemi, hiperleptinemi, hiperinsülinemi ve insülin direnci sergiler (Hernández Bautista vd., 2019). Neonatal sıçanlara monosodyum glutamatın uygulanması, hipotalamik ve ventromedial kavisi çekirdeklerin harabiyetine neden olarak, enerji emilimi ve harcaması arasındaki kontrol eksikliği nedeniyle obezitenin gelişmesine neden olmuştur. Bu hipotalamik hasarın obeziteye neden olduğu kesin mekanizma bilinmemektedir, ancak bilinen şey, bunun artan gıda alımından kaynaklanmadığıdır. Yenidoğan döneminde tek doz MSG ile MSG obezite gelişmemesine rağmen hipotalamik dopaminde azalmaya neden oldu.

Monosodyum glutamat kullanımından sonra ince bağırsak ve adrenal bez enzimatik aktivitesinin obezitenin indüklenmesi üzerindeki etkisi incelenmiştir (Guimarães vd., 2002). MSG, azalmış hipofaji, obezite, yumurtalık ağırlığı, geç ergenlik ve yüksek serum kortikosteroid seviyeleri dahil olmak üzere hipotalamik-hipofiz eksen kontrolünün olmamasıyla ilgili doza bağlı değişiklikler göstermiştir. Adrenal bezin MSG enjekte edilen sıçanlarda ortaya çıkan yüksek serum leptin seviyelerine kronik olarak maruz kalmasının, leptinin adrenal bez üzerinde uyguladığı inhibitör düzenleyici etkinin kaybına yol açtığına dair kanıtlar vardır. Bu nedenle MSG, yetişkin farelerde glukokortikoidlerdeki artıştan kısmen sorumludur (Perelló vd., 2003). MSG, yenidoğan döneminde ve 4-10 gün arasında değişen dönemlerde, sıçan vücut ağırlığı başına 2-4 mg/g arasında değişen dozlarda deri altı veya intraperitoneal olarak uygulanabilir ve bu da obezite ile sonuçlanır. Monosodyum glutamat günlük tüketilen birçok gıdada bulunan bir madde olduğu için etkileri üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bir yayında, bu sıçanlarda standart yemek, 100 g/kg monosodyum glutamat ilave edilen standart bir diyet, yüksek lifli bir diyet ve 100 g/kg monosodyum glutamat ile yüksek lifli bir diyet verildi. Bu çalışmada MSG, obezite olmadığında gıda alımını artırmış, oksidatif stres ile ilişkili metabolik bozuklukların yanı sıra glikoz, triasilgliserol, insülin ve leptin düzeylerini artırmıştır (Dinzi vd., 2005).

Günümüzde diyetteki MSG miktarı, MetS salgınlarına paralel olarak dünya çapında artmaktadır (Hernández Bautista vd., 2019). MSG ile oluşturulan MetS/HO, deneysel modelde obezite ve diğer ilgili anormallikler arasındaki ilişkiyi yansıtır. Bahsedilen tüm bu değişiklikler nedeniyle çalışmamızda MSG ile oluşturulan MetS/HO modeli kullanılmıştır.

2.3. GLP-1

GLP-1, bağırsak epitelindeki L hücreleri, beyin sapındaki nöronlar ve pankreatik α hücrelerinde proglukagon (GCG) geni tarafından eksprese edilen 29 amino asitten oluşan bir peptid hormondur. İncretin hormonlarının (GIP ve GLP-1) etkileri, postprandiyal insülin yanıtının (glikoz yükünün derecesine bağlı olarak) %60-70'ini oluşturur (Elrick vd., 1964, Creutzfeldt, 1979). Bu hormonlar incretin aktivitesinin yaklaşık %90'undan sorumludur (sırasıyla %20 ve %80). Düşük bazal plazma konsantrasyonlarına sahiptirler ve gıda alımından sonra insülin sekresyonunu artırmak için kabul edilebilir bir

hiperglisemi derecesinde salgılanırken, düşük glukoz konsantrasyonlarında etkisizdirler (Muscelli vd., 2008).

Sağlıklı insanların periferik venöz kanında, toplam GLP-1'in (bozulmamış peptit + birincil metabolit) plazma konsantrasyonları normalde 20 pmol/l'den azdır. GLP-1, normal glukoz toleransı için gereklidir ve oral gıda alımına yanıt olarak salgılanır. Plazma GLP-1 konsantrasyonlarının yemek yendikten birkaç dakika sonra artmasıyla, GLP-1'in bir hormon gibi davranarak bağırsaktan dolaşım yoluyla endokrin pankreasa bilgi aktardığı düşünülmektedir. GLP-1'in faydalarına rağmen, bu peptit proteaz dipeptidil peptidaz-IV (DPP-IV) tarafından hızla parçalandığından, etki süresi sınırlıdır. GLP-1'in yaklaşık %1'i bağırsaktan ayrılmadan önce enzimatik olarak parçalanır (Vilsboll vd., 2003), böylece başlangıçta salınan GLP-1'in yalnızca %10'u dolaşıma ulaşır. Yani klirensi yüksek olduğu için kanda 1,5-3 dakika gibi kısa bir ömre sahiptir.

İnaktif GLP-1'in (1-37) glukoz metabolizması üzerinde etkisi yoktur, aktif GLP-1 (7-37) ise güçlü insülinotropizm gösterir. GLP-1'in etkilerini G protein aracılı reseptörler aracılığıyla gösterir. GLP-1 vücutta pankreas, bağırsak, mide, merkezi sinir sistemi, kalp, hipofiz, akciğer ve böbrek gibi birçok dokuda eksprese edilir (Kieffer vd., 1999). GLP-1; Pankreas adacık hücrelerinin dışında yer alan bu reseptörler aracılığıyla mide boşalmasını, mide salgısını ve ekzokrin pankreas salgısını baskılamaya yanı sıra kalbi koruyucu ve nöroprotektif etkiler oluşturur. GLP-1, glukoz bağımlı insülin sekresyonunu uyarma, glukagon sekresyonunu baskılama, mide boşalmasını ve gıda alımını inhibe etme üzerindeki birleşik etkileri nedeniyle kan glukoz seviyesini düzenler.

Tip 2 DM'li hastalarda insülin salgılanmasının %10-40'ını inkretinler oluştururken, normal glukoz toleransı olanlarda bu oran %50-70'tir (Cho vd., 2012). Azalmış etkinin Tip 2 DM gelişimiyle mi yoksa azalmış beta hücre kütlesi ve/veya işlevinin etkisiyle mi ilgili olduğu tartışılmaktadır (Meier vd., 2010).

2.3.1 GLP-1'in Etkileri

2.3.1.1. GLP-1'in pankreas üzerine etkisi

GLP-1 için hedef pankreatik adacık hücreleridir, ayrıca gastrointestinal sekresyon, gastrik motilite ve pankreas üzerine etkileri vardır. GLP-1 ayrıca gıda alımını, vücut ağırlığını etkiler ve kalp üzerinde doğrudan etkileri vardır (Holst vd., 2013).

2.3.1.2. İnsülin Üzerindeki Etkileri

Glikoz toleransını korumanın temel bir özelliği, endokrin pankreas tarafından hızlı ve doğru insülin salgılanmasıdır. GLP-1'in ana etkisi, kan şekerini düşürmek için insülin sekresyonunu uyarmaktır (Nadkarni vd., 2014). Yapılan araştırmalar, GLP-1'in gastrik boşalmayı ve bağırsak motilitesini geciktirdiğini, böylece besinlerin mideden ince bağırsağa geçişini yavaşlattığını ve plazma glukoz düzeylerinde yemekle ilişkili artışları azalttığını göstermektedir (Wettergren vd., 1993).

Pankreas beta hücreleri adenilat siklaz ile birleşerek cAMP üretir ve GLP-1R'yi yüksek seviyelerde eksprese edilir. GLP-1'in glikoza bağlı insülinotropik aktivitesine, β -hücrelerinde bulunan GLP-1 reseptörü aracılık eder. Hayvan deneylerinde GLP-1 reseptör blokajı yapıldığında glukoz intoleransı ve hiperglisemi meydana gelmiştir (Clemmensen vd., 2013). GLP-1'in reseptöre bağlanması, cAMP oluşumuna yol açan adenilat siklaz aktivasyonuna neden olur. GLP-1'in insülinotropik etkisiyle yemek sonrası insülin sekresyonunu azalttığı ve glukoz toleransını bozduğu gösterilmiştir. GLP-1R $-/-$ fareleri ayrıca glukoz intoleransı ve bozulmuş glukozla uyarılan insülin sekresyonu gösterir (Scrocchi vd., 1996).

2.3.1.3. Glukagon Üzerindeki Etkileri

Artan insüline karşıt olarak, glukagon sekresyonu azalmaktadır. Bu etkilerini, GLP-1 reseptörleri ile pankreas α hücreleri üzerine doğrudan etki yoluyla veya GLP-1 aracılı insülin ve/veya somatostatin sekresyonunun uyarılması yolu ile gerçekleştirir. GLP-1 ile uyarılan glukagon salgılanmasının inhibisyon aralarında tamamen açıklığa kavuşturulmamıştır. İnsülininin genellikle glukagon salgısını önleyici olduğu Yedi ve α hücreleri çevresindeki lokal insülin salgınının yükselmesi, parakrin bir etki ile glukagon salgısını engelleyebilir. şekilde, GLP-1, düşük glikoz sınırlamaları ve ölçülemez insülin sekresyonu ile perfüze edilmiş izole sıçan penceresindeki glukagon sekresyonunu kuvvetle inhibe eder (De Heer vd., 2005).

2.3.1.4. Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri

GLP-1, gastrointestinal sekresyon ve motilitenin inhibisyonu da yapmaktadır (Nauck vd., 1997). Böylece, tokluk hissinin meydana gelmesinin yanında, besinlerin

gastrik salınımını geciktirmesiyle de, glikozun emilimi yavaşlayarak, tutulması gereken olarak gerekli olacak insülin tüketiminin ortadan kalkmasına neden olmaktadır (Perfetti vd., 2000). İntravenöz GLP-1 infüzyonu, sağlıklı insan deneklerde (Nauck vd., 1997) ve Tip 2 DM'li hastalarda (Meier vd., 2004) doza bağlı bir şekilde mide boşalmasını geciktirmektedir. GLP-1 ayrıca gastrin salınımı ve yemek alımına cevap olarak salgılanan gastrik asit salgısını düzenlemektedir (Wettergren vd., 1997). GLP-1'in asit salgılaması üzerindeki inhibitör etkisi, GLP-1 ile paralel olarak L-hücrelerinden salınan PYY'nin inhibe edici etkilerine de katkıda bulunur. Birlikte iki peptid, ileumda emilmemiş besinlerin varlığı ile ortaya çıkan üst gastrointestinal işleyişin endokrin inhibisyonu gibi "ileal fren grubu" muhtemel aracılığı olduğunu gösterir (Read vd., 1994).

2.4. Neuromedin U 25 Tanımı Ve Yapısı

Düz kas kasılması, kan basıncının düzenlenmesi, kemik büyümesi, iştahın düzenlenmesi ve endokrin salınımı üzerinde etkisi olan bir nöropeptittir. NMU, bir beyin bağırsağı peptidi olarak tanımlanmıştır. NMU, orijinal olarak domuzdan türetilen ve uterus düz kasını kastığı için NMU olarak adlandırılan bir nöropeptiddir (Kangawa vd., 1983). İnsanlarda ve sıçanlarda 174 amino asit içerir. Salgılanmasından sorumlu 34 amino asit sinyal peptidi içerir. C-terminali, molekülün biyolojik olarak aktif kısmıdır. Peptidin N-terminal sekansı türler arasında büyük farklılıklar gösterse de, NMU'nun C-terminal bölgesi büyük ölçüde korunmuştur (Brighton vd., 2004). Bu koruma derecesi, karboksil terminal dizisinin biyolojik aktivitesi, C terminalinin protranslasyonel amidasyonu ve ayrıca hücre içi Ca²⁺ akışı ve kas kasılması için önemlidir (Minamino vd., 1985, Funes vd., 2012). Bu peptid ailesi, nöromedinler B ve C (bombesin benzeri), K (nörokinin B) ve L (nörokinin A, madde K veya nörokinin), N (nörotensin benzeri) ve içerir. Bu nöromedinler, başta sinir sistemi olmak üzere birçok dokuda bulunur. Yapılan çalışmalarda Neuromedin U ilk olarak domuz düz kasında keşfedilmiş, daha sonra farelerden elde edilen NMU ile saflaştırılarak DNA yapısını belirlemek için sekanslanmıştır (Conlon vd., 1988, Minamino vd., 1988), kurbağa (Domin vd., 1989), tavşan (Kage vd., 1991), köpek ve tavuk (O'Harte vd., 1991, Domin vd., 1992). NMU 9, tavukların bağırsaklarında tespit edilmiş ve izole edilmiştir. (O'Harte vd., 1991) Köpeklerde NMU 8 tespit edildi ve NMU25'in C terminali keşfedildi.

2.4.1. Organ ve Doku Dağılımı

NMU vücudumuzda yaygın olarak dağılmıştır. NMU'nun dağılımını tespit etmek için, NMU benzeri immünoreaktiviteyi (NMU-LI) tespit etmek için RIA ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılır ve dağılımları türler arasında farklılık gösterir. Sıçanlarda öncelikle hipofiz ve gastrointestinal sistemde bulunduğu saptanmıştır (Domin vd., 1987, Steel vd., 1988). Periferik sinir sisteminde, en yüksek NMU konsantrasyonu enterik sinir sisteminde bulunur (Honzawa vd., 1990). Gastrointestinal sistem boyunca ince bağırsağın duodenum ve jejunumunda özellikle yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Ballesta vd., 1988). Çalışmalarda pankreas ve karaciğerde NMU saptanmamıştır (Domin vd., 1987). Merkezi sinir sisteminde periferik sinir sistemine göre daha küçük bir NMU dağılımı gözlenir (Budhijara ve Chuck, 2009). Beyinde bazı duyuşal, motor ve işitsel işlevlerin olduğu bölgelerde bulunur. Adrenokortikotropik hormonlu kortikotropinlerde, sıçanlarda, insan hipofiz bezinde, özellikle ön hipofiz bezinde NMU saptanmıştır. Sıçanlarda, NMU mRNA'ları esas olarak ventromedial hipotalamik bölgelerde (yanal kavisli çekirdek, medyan eminens), beyin sapı ve vagus sinirinde tespit edilmiştir (Howard vd., 2000). NMU'nun insan merkezi sinir sisteminde dağılımı; sn cDNA'nın blot analizi ile kanıtlanmıştır (Hedrick vd., 1988). RT-PCR yöntemi ile NMU raportör mRNA; hipotalamus ve medüller pons ve omurilik düşük seviyelerde tespit edilmiştir (Funes vd., 2002). NMU seviyeleri beyinde çoğunlukla hipotalamus, talamus, suffiria nigra ve locus coeruleus'ta yükselir. NMU seviyeleri striatum, medulla oblongata, singulat girus ve medial frontal girusta en düşüktür (Domin vd., 1986). NMU hücre gövdeleri ağırlıklı olarak retrokaudal kısımda kavisli nekleusta bulunur (Ballesta vd., 1988). Omurilikte, arka kök boynuzunda NMU konsantrasyonu ön kök boynuzundan daha yüksektir. Bu bilgi, NMU'nun omurilikte duyuşal işlevlerde daha aktif rol oynadığını düşündürmektedir (Domin vd., 1986). NMU ayrıca genitoüriner sistemde (üretra, vas deferens, fallop tüpleri), lenfositlerde ve dalağın endotel hücrelerinde de bulunmuştur (Bishop vd., 1988). Dolaşımdaki serum ve plazma NMU düzeylerinin düşük olduğu belirlenmiştir (Takayama vd., 2016). Bu bilgilere dayanarak, NMU peptidinin hormonal bir etkiden ziyade lokal olarak etkili bir nöropeptit veya nöromodülatör etki sergilediği düşünölmektedir (Bechtold vd., 2009).

2.4.2. Reseptörleri

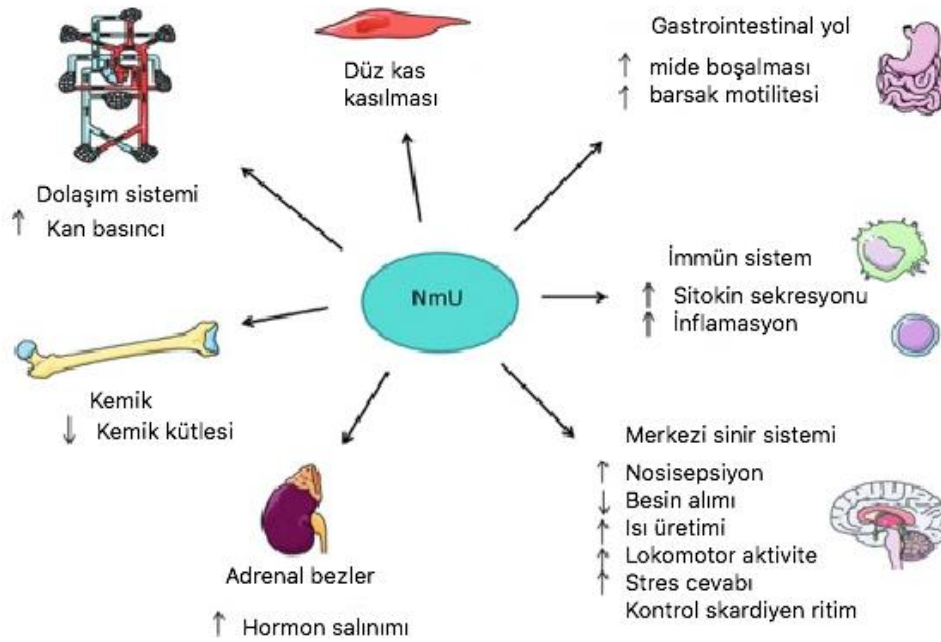
Şimdiye kadar, insanlarda NMU için iki reseptör tanımlanmıştır. NMUR1 (GPRR66 ve FM3 olarak da adlandırılır) ve diğer reseptörü NMUR2 (TGR1 ve FM4) olarak da bilinir. Bu reseptörler sınıf A G protein eşli reseptörlerden tanımlanmıştır ve 7 transmembran domainleri vardır. Doku dağılımı hakkında tartışmalar var. NMUR1'in genellikle periferde, NMUR2'nin ise merkezi sinir sisteminde eksprese edildiği bilinmektedir. NMUR1 esas olarak vücudumuzun ince bağırsağı ve midesinde bulunur. NMUR2 beyinde, özellikle *suffia nigra*, *medulla oblongata*, *pons* retiküler oluşumu, omurilik ve *talamusun* yanı sıra *hipokampus*, *hipotalamus* ve *serebral kortekste* tespit edilmiştir (Shan vd., 2000). NMU, NMUR1 ve NMUR2 reseptörlerinden bağımsız olarak hareket eder. Her iki reseptör de farklı model dağılımına sahip sınıf A G proteinlerine bağlı reseptörlerin örnekleridir (Andrew vd., 2000).

2.4.3. İşlevi

NMU'nun NMUR1 ve NMUR2 reseptörlerine bağlanmasıyla aktive edilen bu, kalsiyum mobilizasyonu, fosfoinositid (veya PI) sinyali ve cAMP üretiminin inhibisyonu yoluyla hücre içi sinyal transdüksiyonuna yol açar (Ketteter vd., 2009). Bu fizyolojik mekanizma, reseptörler Ga proteinlerine, özellikle *Gaq/11* ve *Gai* alt birimlerine bağlandığında ortaya çıkar (Brighton vd., 2003). NMU'nun mediatörleri tam olarak tanımlanmamış olsa da hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) yolunu aktive eder (Brighton vd., 2003). NMUR1 ve NMUR2, insanlarda ve kemirgenlerde nanomolar aralıkta hücre içi Ca^{2+} sinyal iletimine aracılık eder. NMUR1 için bu etkinin fosfonoid asit hidrolizi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Raddatz vd., 2000, Szekeres vd., 2000). Hem NMUR1 hem de NMUR2'nin fosfolipaz A2 ve Ca^{2+} 'ye bağlı aktivasyonu, aroknoid salınımını uyarır. Önceki çalışmalarda, sinyal iletim reseptörlerinin aktivasyonu genellikle Ca^{2+} ve fosfoinositid sinyal yolları tarafından sağlanır. Ayrıca, her iki reseptör için aktivasyon, mitojenle aktive olan protein kinazlar ERK1 ve ERK2 tarafından sağlanmaktadır (Brighton vd., 2003).

2.4.4. Fizyolojik Roller

NMU nun başlıca düz kas kontraksiyonu, enerji hemostazı, beslenme, kan şekerinin düzenlenmesi, kan basıncı ve akımının düzenlenmesi üzerindeki etkileri gibi birçok fizyolojik rolü gösterilmiştir.



Şekil 2.1. NMU 'nun Fizyolojik Rollerini. (Vanesa vd., 2015).

2.4.4.1. Düz Kas Konstraksiyonu

NMU'nun çeşitli doku ve tiplerde düz kas kasılması oluşturduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. NMU 25 ilk olarak domuz rahim kasının kasılma etkisinden tanımlandı (Minamino vd., 1985). NMU'nun kasılma etkisi dokularda türe özgüdür. Örneğin, NMU'nun sıçanların ve kobayların ince bağırsaklarındaki düz kas kasılması üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı belirlendi. NMU'nun sürüngenlerde bağırsak hareketliliğini düzenlemede etkili olduğu ve ince bağırsakta düz kas kasılmasına neden olduğu bulundu. NMU'nun ratlarda sirküler düz kas üzerinde kontraktil etki oluşturduğu belirlendi. NMU insanlarda ileumdan düz kasa lokalizedir, özellikle uzunlamasına kaslarda kasılmaya neden olur ve atrofin ve tetrodoksine dirençlidir. Üretra ve mesane kaslarının in vitro in vivo olarak kasıldığı belirlenmiştir (Domin vd., 1991). NMU'nun midenin ileum ve kolonunda kontraktil bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

2.4.4.2. Kan Basıncı

İntramiyokardiyal NMU, arter, fri, kapillerlerin düz kas tabakasında yer aldığı belirlendi. NMU, insan arter damarları üzerinde damar genişletici bir etki gösterir (Mithcell

vd., 2009). Obez bireylerde yağ dokusundan salgılanan NMU tam olarak kanıtlanamasa da kan basıncını yükseltebilir. Sıçanlara intravenöz NMU uygulaması kan basıncını arttırdı (Minamino vd., 1985). Anestezi altında köpeklere intravenöz NMU uygulaması kan basıncını kısa ve hafif bir şekilde yükseltmiştir (Westfall vd., 2001).

2.4.4.3. Glikoz Regülasyonu

NMU, insülin granüllerinde bulunur ve doğrudan glukoz regülasyonunda yer alır. İnsan pankreatik adacık beta hücrelerinde NMUR1 mRNA'nın immünreaktivitesinde belirlendi (Alfa vd., 2015). NMU ayrıca insan üst bağırsağının hücreleri tarafından endokrin olarak salgılanır. NMU, insan pankreas adacıklarında insülin salgılanmasını dekretin mekanizmasıyla baskılar (Alfa vd., 2015). NMU, hem insanlarda hem de kemirgenlerde bağırsak submukozasında ve miyenterik pleksusta bol miktarda eksprese edilir (Domin vd., 1987, Mitchell vd., 2009). NMU, vagus siniri ve vagal afferentler tarafından insülin sekresyonunu baskılar. NMU, ön bağırsaktaki enteroendokrin hücreler tarafından bol miktarda üretilir ve metabolizmayı düzenlemede CNS dışında önemli işlevlere sahiptir. Pankreatik P hücrelerinde NMU ve NMUR1 ekspresyonunun, gastrointestinal sistemdeki glikozun düzenlenmesinde etkili olduğu belirlenmiştir (Zhang vd., 2017). Bir deneyde, NMU'nun mutant farelerde yağlanmayı ve hiperinsülinizmi arttırdığı bulundu ve NMU transgenik farelerin zayıf ve hipofajik olduğu bulundu (Hanada vd., 2004). NMU'nun insülin duyarlılığı ve yağ dokusu kütlesi ile ilişkili olduğu ve arttırdığı bulunmuştur (Hanada vd., 2004). Ca²⁺ girişi, glikozla uyarılan insülin sekresyonunun (GSIS) düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. NMU, beta hücreleri içindeki kalsiyum akışını baskılar. Ca²⁺ akışının baskılanması ile endoplazmik stres ve mitokondriyal disfonksiyon meydana gelir. NMU verilmesinin OGTT sırasında plazma glukoz yükselmesini engelleyebileceği ve oral glukoz tolerans testinde düzelmeye neden olduğu belirlendi.

2.4.4.4. Gastrik Boşalma

Gastrik boşalma ve gastrik asit sekresyonu gıda alımı ve enerji dengesi ile ilişkilidir. NMU, gıda alımını azaltan anorektik bir nöropeptittir. (Duggan ve Booth, 1990). NMU, gıda alımına yanıt olarak gastrik boşalmayı geciktirmek için salgılanır. Enteroendokrin hücreler tarafından salgılanmasından sorumludur ve kolesistokin, proksimal bağırsaktan salgılanan peptitlerin salgılanmasına benzer. NMU reseptörleri

midede gastrointestinal sistemde bulunur. İntraserebral NMU uygulamasıyla gastrik boşalmayı geciktirir.

2.4.4.5. Stres

Hipotalamusun paraventricüler çekirdekleri kortikotropin salgılayan hormon (CRH) salgılar. CRH, ACTH salgılanması için uyarır. ACTH adrenal bezlerden kortizol salgılanmasına neden olur (Brighton vd., 2004). PVN, hipotalamus-hipofiz-adrenal eksen ve stres düzenlemesinin merkezidir. NMU PVN'de yüksek konsantrasyonlarda mevcut olduğu bulunmuştur. Stres tepkisinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. NMU, strese yanıt olarak hipotalamik-hipofiz-adrenal ekseninde CRH'ye eşlik eder. NMU'nun etkileri, anti-CRH antikoları veya CRH antagonistleri tarafından inhibe edilir ve tersine, anti-NMU antikoları ile uygulama, hipotalamik çekirdeklerden salınan CRH'yi inhibe eder. NMU reseptörü, stres tepkisini etkilemez. NMUR2 reseptörü olmayan fareler, vahşi tip farelere kıyasla stres tepkisinde farklılık göstermedi (Zeng vd., 200d).

2.4.4.6. Beslenme ve Enerji Hemostazı

NMU, beyin-bağırsak bariyerini geçerek beslenmeyi etkileyen anorektik etkiye sahip bir nöropeptittir. NMU antiserumu ile tedavi edilen sıçanlarda gıda alımı ve davranışı arttı. Farklı bir çalışmada NMU'lu fareler hiperfajik ve obez olarak görülmüştür (Hanada vd., 2004). NMU'nun ICV uygulaması, NMU sıçanlarında yağ kütlesini ve gıda alımını azalttı (Hanada vd., 2004). Açlık hipotalamusunda NMU konsantrasyonunun azaldığı gözlemlendi. Yine burada elde edilen sonuçlar NMU'nun besinsel etkisinin önemini göstermektedir. Başka bir çalışma, NMUR2 ekspresyonu, yalnızca fareler yüksek yağlı bir diyetle beslendiğinde farelerde gıda alımında değişikliklere yol açtığını göstermektedir (Benzon vd., 2014). NMU'nun periferik uygulaması gıda alımını azaltmıştır, vücut ısısını ve metabolizmayı arttırmıştır. Bu sonuçlar aynı zamanda NMUR1 reseptöründen de etkilenmiştir (Jethwa vd., 2006). NMU, enerjik hemostazı düzenler ve sıçanlarda lokomotor aktiviteyi artırır. Sıçanlarda NMU ICV uygulamasından sonra lokomotor aktivite, vücut ısısı, ısı üretimi ve oksijen tüketimi artmıştır (Howard vd., 2000). NMU'nun anorektik etkisinin leptin hormonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Leptin, yağ dokusundan salgılanan, metabolizma, beslenme ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde rol oynayan bir protein hormonudur (Steel vd., 1988). Hipotalamus yoluyla NMU salgılanması üzerinde etkisi vardır. Leptin reseptörlerinden yoksun Zucker fareleri, hiperfajik çekirdek traktus solitarius'ta düşük NMU seviyelerine sahipti. Farklı bir

çalışmada leptin eksikliği olan farelerde mRNA konsantrasyonu düşük bulunmuştur (Howard vd., 2000). Leptin hormonunun beslenme üzerine NMU ile dolaylı ilişkisi vardır (Hanada vd., 2004). Bu nedenle NMU ve geliştirdiği ilaçların obeziteye tam çözüm olabilmesi için birçok yeni çalışmaya ihtiyaç vardır.

2.5. Hipotez

Metabolik sendromlu sıçanlarda bazal plazma Neuromedin U düzeyleri değişebilir. Bu değişiklik metabolik sendrom bulguları ile ilintilidir.

Deneyel metabolik sendrom/hipotalamik obezite modelind NMU'nun gastrointestinal yoldaki ekspresyon düzeyleri kontrol grubundan farklıdır.

MetS/HO'de OGTT sonrası 0, 30 ve 60. dakikalarda kan glizkozuna cevaben gastrointestinal sistemin NMU yanıtı bozulmuştur.



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırmamız Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı ve Pamukkale Üniversitesi Deneysel Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu'ndan 60 adet Wistar Albino sıçan kullanımı için ve çalışmanın yapılmasında etik açıdan sakınca olmadığına dair onay alındı (PAUHADYEK-2021/11). Tüm çalışma boyunca deney hayvanları çalışma etiğine sadık kalınmıştır.

3.1. Deneysel Hayvanlarının Çiftleştirilmesi

Çalışmada kullanılacak deneysel hayvanı olan Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar, deneysel hayvanları biriminde her grup için gerekli hayvan sayısının temini adına çiftleştirilmeye bırakılmıştır. 5 günlük östrus döngüsü boyunca dişilerle bırakılan erkek sıçanlar 5. gün sonunda dişilerden ayrılmıştır. Gebelik süresi 21 gün olan sıçanlar ortalama doğum tarihlerinden 1 hafta öncesinden gebelikleri kontrol edilerek ayrı kafeslere alınmış ve doğumları beklenmiştir.

3.2. Deneysel Hayvanlarının Hazırlanması

Doğum sonrası elde edilen yavru sıçanlar altları plastik, üst kısımları tel olan, su ve besinlere kolaylıkla ulaşabilecek şekilde düzenlenmiş kafesler içerisine konulmuştur. Hayvanların 21 günlük anne sütü alımlarına izin verilmiş ve bu süre sonunda erkek sıçanlar ayrı kafeslere alınarak pelet yem ile beslenmiştir. Hayvanlar yem ve su alımında serbest bırakılmıştır. Hayvanların tamamı çalışma süresi boyunca oda sıcaklığında (ortalama 220) %50 nem ortamında 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsü bulunan

odalarda bakıma alınmıştır. Hayvanlara yapılan tüm işlemler hijyenik kurallara uygun olarak veteriner hekim kontrolünde gerçekleştirilmiştir.

3.3. Deney Gruplarının oluşturulması

Çalışmanın deney grupları aşağıdaki gibi oluşturulmuştur;

- 1- **Kontrol grubu (K)** (Herhangi bir müdahalenin yapılmadığı grup) (**n=15, 5 aylık**)
- 2- **Metabolik sendrom grubu (MetS/HO)** (Metabolik sendrom oluşturulan grup) (**n=15, 5 aylık**)

Temel olarak 2 çalışma grubu belirlenmiştir. Bunlar K ve MetS/HO gruplarıdır.

3.4. Metabolik Sendrom/Hipotalamik Obezite (MetS/HO) Oluşturulması

Isı ve ışık kontrollü odalarda çiftleştirilerek hamile sıçanlardan elde edilen erkek yavrulara MSG (Sigma, SLBT4270) 0. 2. 4. 6. 8. ve 10. gün (4mg/g/vücut ağırlığı) deri altından enjekte edilmiştir. K gruplarında kullanılacak hayvanlar için bu zaman çizelgesi boyunca %0.9'luk izotonik enjeksiyonu yapılmıştır. Hayvanlar 21. gün sütten kesilerek standart sıçan yemi ile beslenerek, MetS/HO'nin oluşması için 5 ay boyunca bekletildi ve hayvanlara haftalık vücut ağırlık takibi yapılmıştır.

3.5. Parametrelerin ölçümü:

Deney süresini tamamlayan hayvanlarda aşağıdaki parametreler ölçülmüştür.

3.5.1. Vücut ağırlığı

21. günden itibaren tüm gruplardaki hayvanların 5 aylık süre boyunca kadar haftalık vücut ağırlıkları tartılmış ve sonuçlar kayıt edilmiştir.

3.5.2. Lee indeksi

Vücut ağırlığının küpkökünün, hayvanın sırt üstü pozisyonda burun ucu ile anüsü arasındaki mesafenin caliper aracılığıyla ölçümü yapılarak belirlenen nazoanal uzunluğuna bölünmesi ile hesap edilmiştir.

3.5.3. Açlık kan glikozu ölçümü

Bu test için 12 saatlik açlığı takiben sıçanların lateral kuyruk venine yerleştirilen kanül ile alınan kan örneklerinden parmak ucu kan ölçüm cihazı (ACCU-CHEK Performa Nano) ile ölçüm yapılmıştır.

3.5.4. Plazma insülin düzeyi nin ölçümü

Plazma insülin seviyesi 0, 30, 60 dakikalarda lateral kuyruk venine yerleştirilen kanül ile alınan kan örneklerinden elde edilen plazmadan ELISA kiti (Elabscience, E-EL-R2466) kullanılarak ölçülmüştür.

3.5.5. HOMA-IR

İnsülin direncinin varlığını tespit etmek için HOMA-IR ölçümü yapılmıştır. HOMAIR skoru = Açlık insülin düzeyi (mU/ml) x açlık kan şekeri (mmol) / 22,5 formülü kullanılarak hesap edilmiştir.

3.5.6. OGTT (Oral Glikoz Tolerans Testi) ve OGTT'ye yanıt olarak verilen insülin yanıtının ölçülmesi

Bu test için 12 saatlik açlığı takiben sıçanlara vücut ağırlığı başına 2 mg/g dozda oral olarak glikoz oral gavaj yoluyla verilmiş ve 0, 30, 60. dakikalarda lateral kuyruk venine yerleştirilen kanül ile alınan kan örneklerinden parmak ucu kan ölçüm ihazı

(ACCU-CHEK Performa Nano) ile ölçüm yapılmıştır. Yine aynı kan örneklerinde aynı zaman dönemlerinde (0, 30 ve 60. Dakikalarda) plazma insülin seviyesi ELISA kiti (Elabscience, E-EL-R2466) kullanılarak ölçülmüştür.

3.5.7. Total kolesterol, Trigliserit, HDL, LDL düzeyleri

12 saatlik açlık sonrası sıçanların kuyruk veninden alınan kan plazmasından ELISA kiti (Elabscience, E-BC-K238,109; YL Biont, YLA0495RA, YLA0444RA) kullanılarak ölçülmüştür.

3.5.8. Retroperitoneal, peritoneal ve total abdominal yağ ölçümü:

Abdominal obezitenin tesbiti için retroperitoneal ve perigonadal yağ kitlesi deneyin sonunda alınarak tartılmış ve 100 gr doku başına ifade edilmiştir.

3.5.9. Plazma NMU düzeylerinin ölçümü

Sistemik dolaşımdaki Plazma NMU konsantrasyonu 0, 30, 60. dakikalarda lateral kuyruk vene yerleştirilen kanül ile alınan kan örneklerinden elde edilen plazmadan ELISA kiti (BTLab, E0719Ra) kullanılarak hesaplanmıştır.

3.6. Gastrointestinal yol farklı segmentlerinde (Duedonum, jejunum ve distal bağırsak) NMU mRNA düzeyinin belirlenmesi

Deneyin sonunda duedonum, jejunum ve distal bağırsak segmentleri alınarak immünohistokimya yöntemleri kullanılarak tayin edilmiştir. Her gruptan 3 adet bağırsak (duedonum, jejunum ve distal bağırsak) kullanılarak RT-PCR (Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemiyle gen ekspresyon düzeyleri incelenmiştir.

RT-PCR: Tüm gruplarda yapılacak RT-PCR deneyleri ile metabolik sendrom modelinde bağırsaktaki Neuromedin U mRNA ekspresyon seviyelerindeki değişimleri incelenmesi amaçlanmıştır. Sonuçlar kontrol verilerine göre karşılaştırılıp değerlendirilmiştir.

Total RNA İzolasyonu: Hibrizol Total RNA Mini Kit ile üreticinin talimatları doğrultusunda RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Üretici firmanın önerdiği protokole göre yapılan RNA izolasyon prosedürüne göre; her bir gruba ait 50 – 100 mg doku örneği 500 µl lizis solüsyonu ile homojenizatör cihazında homojenize edilmiştir. Her tüpün üzerine 500 µl %70 etanol eklenerek karıştırılmıştır. Karışım RNA bağlayıcı kolonlara alınmıştır. Oda sıcaklığında 30 sn 12000 x g'de santrifüj edilmiş, Kolonun altında biriken sıvı atılmıştır. Kolonun üzerine 700 µl düşük sertlikteki yıkama solüsyonu konulmuş ve 30 sn 12000 x g'de santrifüj edilmiştir. Kolonun altında biriken yıkama solüsyonu tekrar atılarak üzerine 80 µl RNase free DNase I eklenmiş ve oda sıcaklığında 15 dk bekletilmiştir. Ardından 700 µl yüksek sertlikteki yıkama solüsyonu eklenerek 30 sn 12000 x g'de santrifüj edilmiştir. Kolonun altında biriken sıvı boşaltıldıktan sonra 700 µl düşük sertlikteki yıkama solüsyonu konulmuş ve 1 dk 12000 x g'de santrifüj edilmiştir. Kolon 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine alınarak üzerine 80 µl elüsyon çözeltisi eklenerek 1 dk bekletilmiştir. Son olarak 12000 x g'de 2 dk santrifüj edilerek RNA elde edilmiş ve -80 C'de saklanmıştır. İzole edilen RNA'nın konsantrasyonu ve saflığının ölçümü Nanodrop (Thermo Fisher Scientific) cihazı ile tesbit edilmiştir. Saflık oranı 1,8-2,0 arasında olan RNA örnekleri RT-PCR analizlerinde kullanılmıştır.

cDNA Sentezi: cDNA sentezi için ABM Reverse Transcription Kit kullanılmıştır.

PCR: PCR analizi için, NCBI veri tabanında kayıtlı olan *Rattus norvegicus*'da tanımlanan Neuromedin U mRNA gen dizilimleri baz alınarak gene özgü primerler dizayn edilmiştir. Elde edilen cDNA'lardan bu genlerin ekspresyonları SYBR Green metoduna göre analiz edilmiştir. beta aktin referans gen olarak kullanılmıştır. PCR reaksiyonu, Jena bioscience SYBR Green PCR Kit protokolüne göre 96 kuyucuklu mikroplaka okuyabilen PicoReal 96 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific) cihazında gerçekleştirilmiştir. Her deney güvenilirliği sağlamak adına 3 kez tekrarlanmış, hedef genlerdeki rölatif değişiklikler $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü ile hesaplanmıştır.

3.7. İstatistik Analiz

Veriler SPSS 25.0 paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart hata olarak ifade edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıklarının karşılaştırılmasında Bağımsız gruplarda t testi kullanılmıştır. Parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıklarının

karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Çoklu grup karşılaştırmalarında ANOVA testi kullanılmıştır. Post Hoc olarak Tukey testi ile değerlendirilmiştir. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

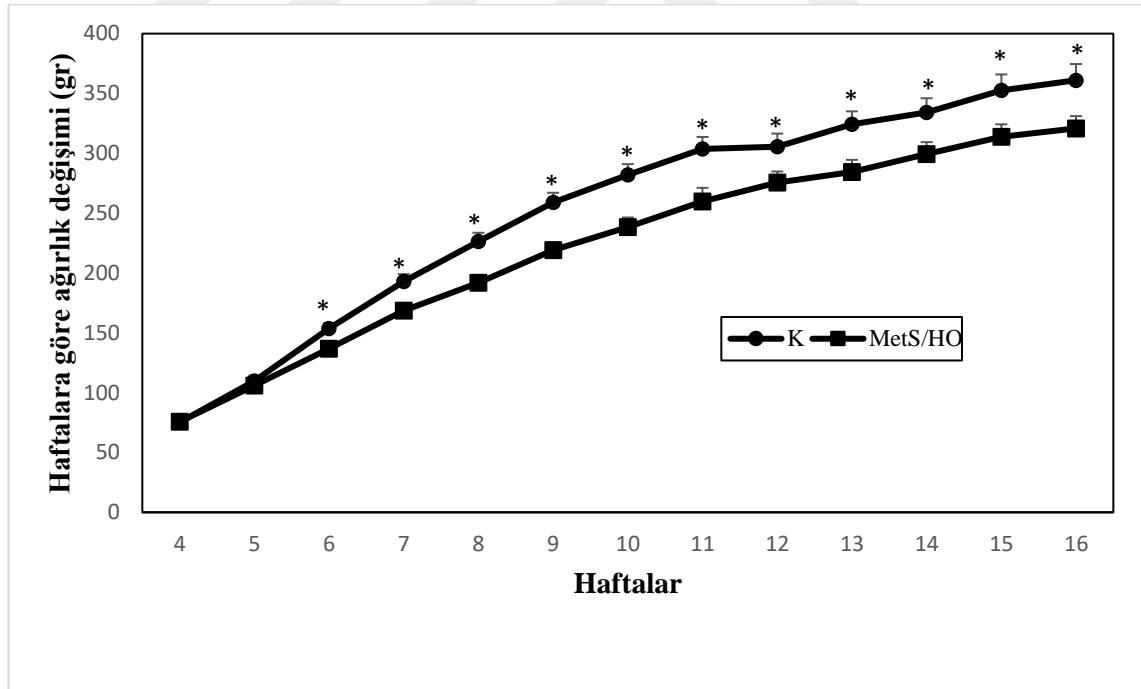


4. BULGULAR

4.1. Metabolik Sendrom/Hipotalamik Obezite Bulguları

4.1.1. Vücut Ağırlığı

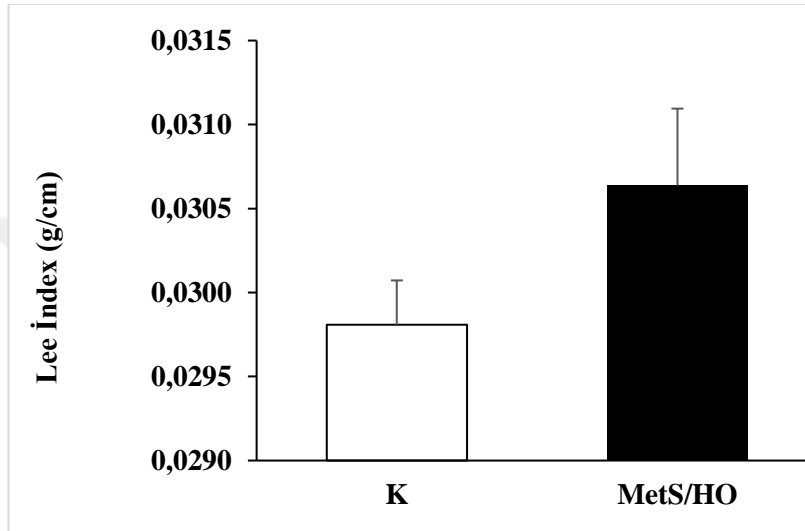
MetS/HO oluşması için beklenen 5 aylık süre boyunca K ve MetS/HO grubundaki hayvanların ağırlıkları 4. haftadan itibaren 5 aylık olana kadar tartılarak haftalık vücut ağırlık değişimleri izlenmiştir. MetS/HO grubu hayvanlarının 6. haftadan itibaren K grubuna göre ağırlıklarının istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde ($p=0,0001$) düşük olduğu tesbit edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. K ve MetS/HO gruplarına ait haftalık vücut ağırlık ölçümleri *: K grubu ile MetS/HO grubu arasındaki anlamlılığı ifade eder ($p=0,0001$) K: kontrol, MetS/HO: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez

4.1.2. Lee İndeksi

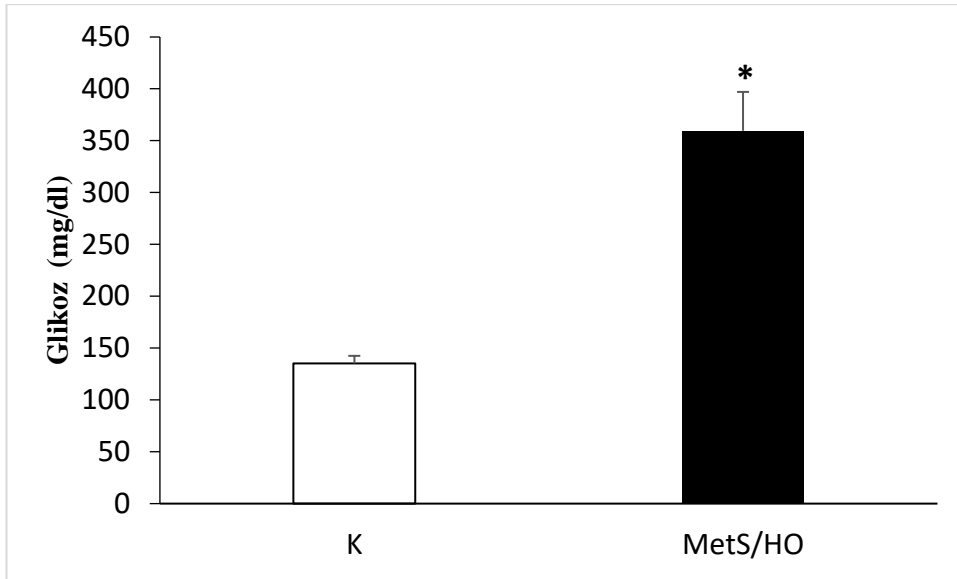
Kemirgenlerde obezitenin göstergesi adına kullanılan Lee indeksi, vücut ağırlığının küp kökünün nazoanal uzunluğa bölünmesi ile hesap edilmektedir. K ve MetS/HO grubuna ait nazoanal ölçüm, hayvanların burun ucu ile anüs arasındaki mesafenin ölçümü ile tayin edilmiştir. K ve MetS/HO gruplarında yapılan Lee indeksi ölçüm sonuçlarına göre, MetS/HO grubu hayvanların Lee indeksinin K grubuna göre büyük fakat anlamlı derecede yüksek olmadığı görülmüştür (0,222) (Şekil 4.2)



Şekil 4.2. K ve MetS/HO gruplarına ait Lee indeksi ölçümleri K: kontrol, MetS/HO: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez

4.1.3. Açlık Kan Glikoz düzeyleri

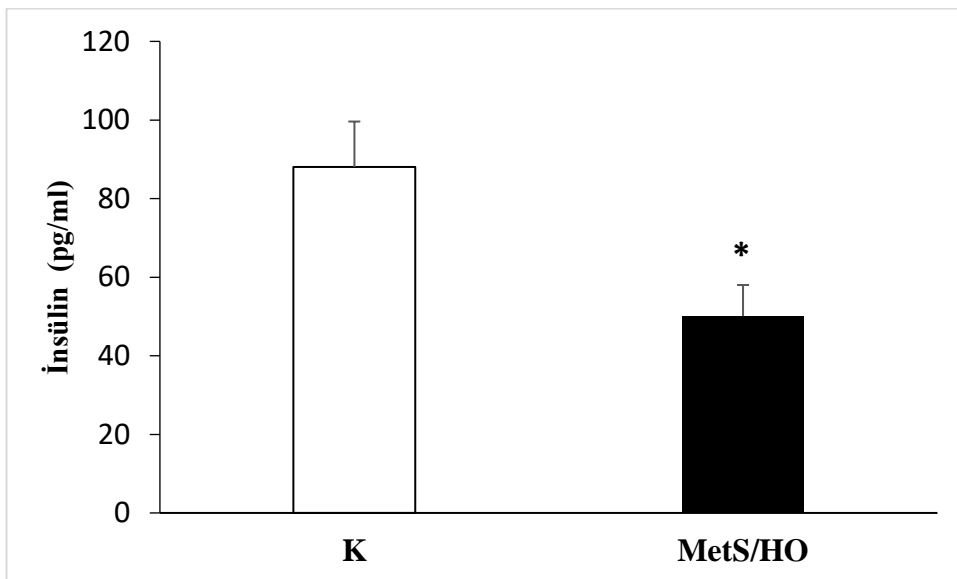
MetS/HO ve K grubu hayvanları arasında açlık kan glikoz sonuçları karşılaştırıldığında MetS/HO grubunda K grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir ($p=0,0001$) (Şekil 4.3)



Şekil 4.3: K ve MetS/HO gruplarına ait Glukoz sonuçları *: K grubu ile MetS/HO grubu arasındaki anlamlılığı ifade eder ($p=0,0001$) K: kontrol, MetS/HO: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez ($n= 15$ kontrol, $n= 10$ Mets/HO)

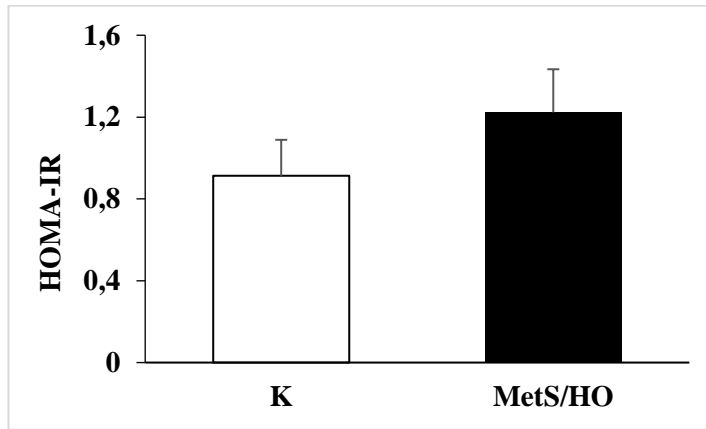
4.1.4. Açlık Kan İnsülin düzeyleri ve HOMA-R skoru

MetS/HO ve K grubu hayvanları arasında açlık kan insülin sonuçları karşılaştırıldığında MetS/HO grubunda K grubuna göre önemli oranda düşük olduğu gözlenmiştir ($p=0,01$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: K ve MetS/HO gruplarına ait insülin sonuçları *: K grubu ile MetS/HO grubu arasındaki anlamlılığı ifade eder ($p=0,01$) K: kontrol, MetS/HO: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez ($n= 10$ kontrol, $n= 10$ Mets/HO)

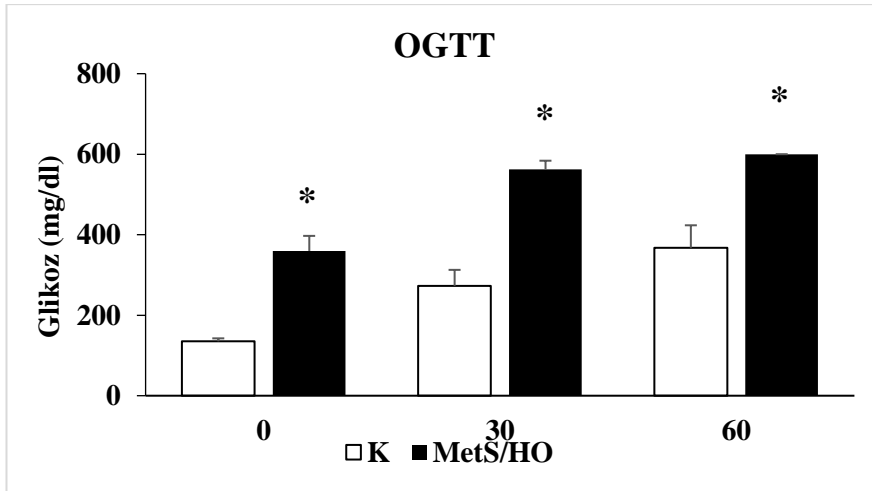
İnsülin direncinin bir göstergesi olan HOMA-IR skor sonuçları değerlendirildiğinde, MetS/HO grubunun K grubuna göre HOMA-IR skorunda bir artış eğilimi varsada bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p=0,3$) (Şekil 4.5).



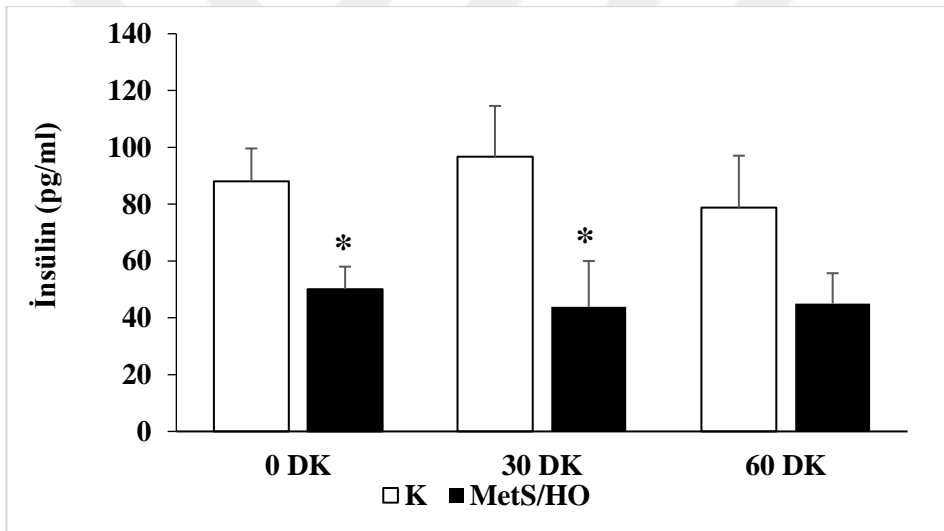
Şekil 4.5: K ve MetS/HO gruplarına ait HOMA-R sonuçları K: kontrol, MetS/HO: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez (n= 10 kontrol, n= 10 Mets/HO)

4.1.6. OGTT (Oral Glikoz Tolerans Testi) ve OGTT'ye yanıt olarak verilen insulin düzeyleri

OGTT testinin 2 grup arasında değerlendirilmesi sonucunda 0, 30 ve 60 dakikalarda kan glikozunun, MetS/HO grubunda kontrol grubuna göre ölçüm yapılan tüm zaman dilimlerinde istatistiksel olarak önemli oranda yüksek olduğu bulunmuştur (Şekil 4.6a). Artmış kan şekerine cevaben verilen insulin yanıtının ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli oranda düşük olduğu izlenmiştir (şekil4.6b).



Şekil 4.6a: K ve MeTs gruplarına ait OGTT verilen kan glikoz yanıt sonuçları *: K grubu ile MeTs grubu arasındaki anlamlılığı ifade eder ($p=0,0001$) K: kontrol, MeTs: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez (0. dakika için $n= 15$ kontrol, $n= 10$ Mets/HO, 30. dakika için $n= 13$ kontrol, $n= 10$ Mets/HO, 60. dakika için $n= 13$ kontrol, $n= 10$ Mets/HO)

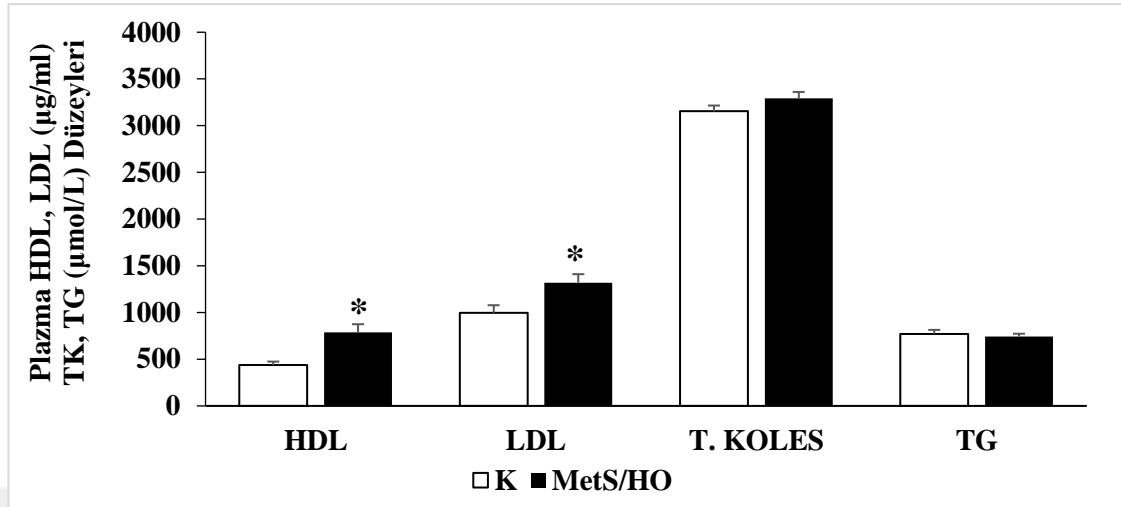


Şekil 4.6b: K ve MeTs gruplarına ait OGTT verilen insulin yanıt sonuçları *: K grubu ile MeTs grubu arasındaki anlamlılığı ifade eder ($p=0,0001$) K: kontrol, MeTs: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez (0. dakika için $n= 10$ kontrol, $n= 10$ Mets/HO, 30. dakika için $n= 10$ kontrol, $n= 9$ Mets/HO, 60. dakika için $n= 9$ kontrol, $n= 8$ Mets/HO)

4.1.7. Lipid Profili sonuçları

Çalışmamızda MetS/HO ve K gruplarına ait HDL, LDL, TG ve TK ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde MetS/HO grubunda HDL seviyesinin K grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu ($p=0,003$), MetS/HO grubunda LDL seviyesinin K grubuna göre anlamlı

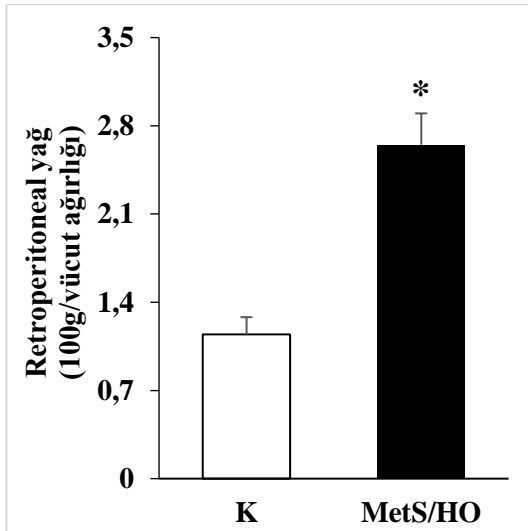
olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p=0,01$). TG ve TK ölçümlerinde ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Şekil 4.7).



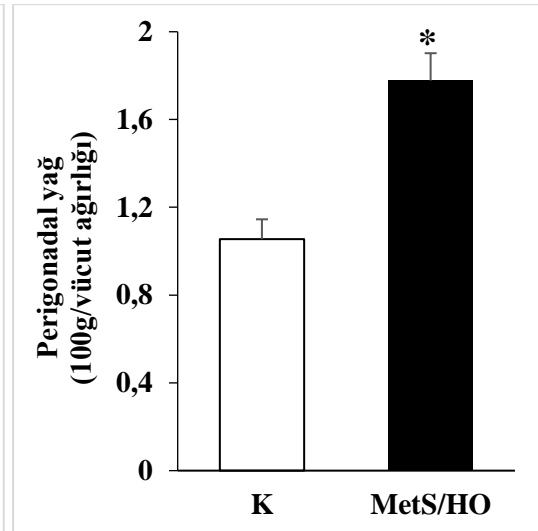
Şekil 4.7: K ve MetS/HO gruplarına ait lipid profil sonuçları *: K grubu ile MetS/HO grubu arasındaki anlamlılığı ifade eder ($p=0,01$). K: kontrol, MetS/HO: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez ($n= 10$ kontrol, $n= 9$ Mets/HO)

4.1.8. Abdominal Obezite

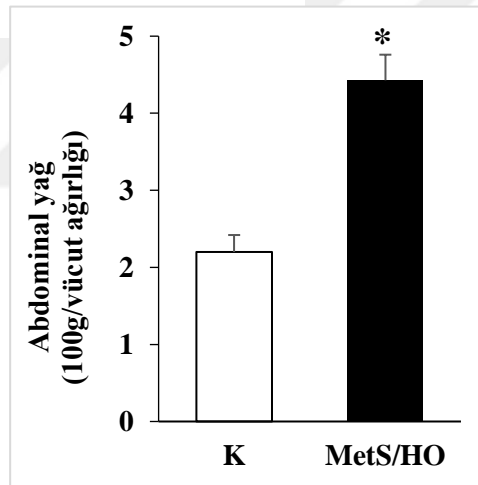
Abdominal obezitenin tayini adına hayvanların retroperitoneal, perigonadal ve total abdominal yağ tartımları sonucuna göre MetS/HO grubunda retroperitoneal (Şekil 4.8), perigonadal (Şekil 4.9) ve total yağ miktarının (Şekil 4.10) K grubuna göre istatistiksel olarak önemli oranda arttığı gözlenmiştir ($p=0,0001$).



Şekil 4.8: K ve MeTs gruplarına ait retroperitoneal yağ ölçümleri *: K grubu ile MeTs grubu arasındaki anlamlılığı ifade eder ($p=0,0001$) K: kontrol, MeTs: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez (n= 15 kontrol, n= 10 MeTs/HO)



Şekil 4.9: K ve MeTs gruplarına ait Perigonadal yağ ölçümleri *: K grubu ile MeTs grubu arasındaki anlamlılığı ifade eder ($p=0,0001$) K: kontrol, MeTs: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez (n= 15 kontrol, n= 10 MeTs/HO)

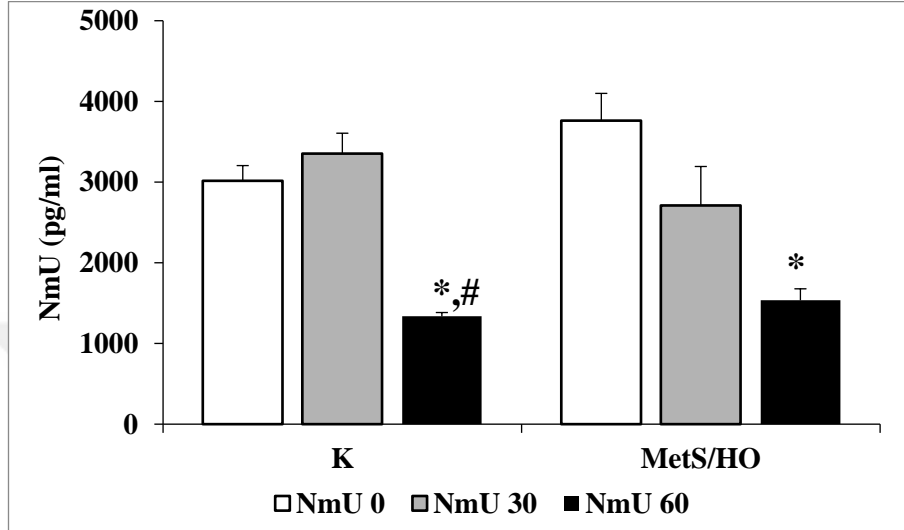


Şekil 4.10: K ve MeTs gruplarına ait Abdominal yağ ölçümleri *: K grubu ile MeTs grubu arasındaki anlamlılığı ifade eder ($p=0,0001$) K: kontrol, MeTs: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez (n= 15 kontrol, n= 10 MeTs/HO)

4.1.9. OGTT ye verilen Neuromedin U yanıtı

Çalışmamızda MetS/HO ve K gruplarına ait OGTT ye NMU yanıtı incelenmiştir. Her iki grupta bazal, 30 ve 60. dakikalardaki plazma NMU düzeyleri arasında bir fark bulunamamıştır. Gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında glikoza yanıt olarak 30. dakikada bazal değerlere göre istatistiksel açıdan önemli bir değişiklik olmadığı

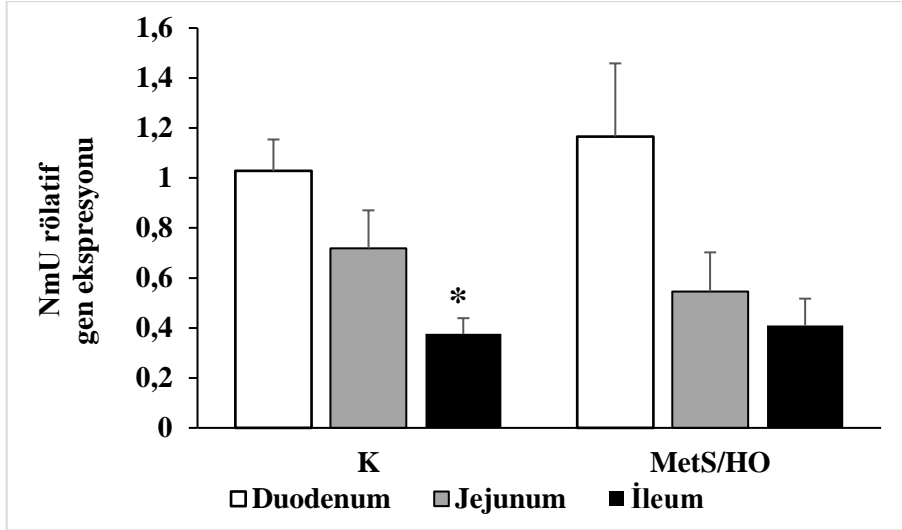
bulunmuştur. 60. dakikada hem K hem de MetS/HO grubunda plazma NMU düzeyleri bazal düzeye göre istatistiksel olarak önemli oranda baskılanmıştır. Bu baskılanmanın kontrol grubunda 60. dakikada 30. dakikaya göre de anlamlı olduğu bulunmuşken, MetS/HO grubunda 30 ve 60. dakikalarda arasında anlamlı fark bulunamamıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11: K ve MetS/HO gruplarına ait OGTT ye yanıt olarak verilen NMU sonuçları. *: K ve MetS/HO gruplarının bazal NMU düzeyleri arasındaki fark ($p=0,0001$). #: K grubunda 30 ve 60. dakikalar arasındaki fark ($p=0,0001$). K: kontrol, MetS/HO: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez (0. dakika için $n=10$ kontrol, $n=9$ MetS/HO, 30. dakika için $n=10$ kontrol, $n=7$ MetS/HO, 60. dakika için $n=9$ kontrol, $n=7$ MetS/HO)

4.1.10. Duedonum, jejunum ve distal bağırsak NMU Rölatif gen ekspresyonu sonuçları

Gastrointestinal yol boyunca proksimalden distale doğru gidildikçe NMU protein ekspresyon düzeyinin her iki grupta azaldığı izlenmiştir. Bu azalma sadece kontrol grubunda distal ileumda istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine indiği gözlenmiştir. MetS/HO grubunda ise kontrol grubuna benzer bir azalma kalıbı izlense de, yol boyunca azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.12).



Şekil 4.12: K ve MetS/HO gruplarına ait gastrointestinal system boyunca NMU gen ekspresyon sonuçları
 *: Duodenum ve distal ileum arasındaki fark ($p=0,001$). K: kontrol, MetS/HO: Metabolik sendrom/Hipotalamik Obez, D: duodenum, J: jejunum, Dİ: distal ileum. (n= 5 kontrol, n= 5 Mets/HO)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, MSG verilerek oluşturulan metabolik sendrom/hipotalamik obezite (MetS/HO) deneysel modelinde, NMU'nun bazal düzeylerinin ve artan kan glikozuna cevaben ortaya çıkan yanıtının ne olduğunu ve kontrol sıçanları ile karşılaştırarak nasıl değiştiğini tesbit etmektir. Ayrıca çalışma, OGTT yanıtının olası değişikliğinin, NMU'nun gastrointestinal yol boyunca ifadesindeki bir değişikliğe bağlı olup olmayacağını araştırmak amacıyla planlanmıştır. Çalışmamızın sonuçlarında MetS/HO modelinin başarılı bir şekilde oluşturulduğu gözlenmiştir. Bazal NMU plazma düzeylerinin kontrolden farklı olmadığı bulunmuştur. MetS/HO grubu hayvanlarda istatistiksel olarak farklı bulunmasa da 30. dakikada artan kan şekere verilen NMU yanıtının kontrol grubuna göre azaldığı, 60. dakikada ise kontrol grubunda izlenen istatistiksel anlamlı azalma yanıtının ortadan kalktığı tesbit edilmiştir.

MetS/HO; glikoz intoleransı, artmış bel çevresi, dislipidemi (yüksek TG, düşük HDL kolesterol), insülin direnci ve hipertansiyon gibi çeşitli faktörleri içine alan bir endokrinopatidir. Biz çalışmamızda hayvanlar için de geçerli olan bu kriterleri kullanarak, bel çevresi adına retroperitoneal ve perigonadal yağ miktarını, dislipidemi için plazma TK, TG, HDL ve LDL parametrelerini, obezite indeksini belirlemek için hayvanların nazoanal uzunluk ve vücut ağırlığını kullanarak Lee indeksini, insülin direnci için ise HOMA-IR skorunu kullanarak modelimizin MetS/HO kriterlerini sağlayıp sağlamadığını göstermeye çalıştık.

Çalışmamızda 5 aylık süre sonunda haftalık olarak ölçülen vücut ağırlığı sonuçları MetS/HO grubu hayvanlarında K grubuna göre ağırlık artışında anlamlı bir azalma gözlemledik. Çalışmamızla uyumlu olarak bu modelin kullanıldığı pek çok çalışmada MetS/HO grubu hayvanların vücut ağırlıklarının kontrole göre anlamlı olarak azaldığını gözlemlenmiştir (Rosa vd., 2016, Castrogiovanni vd., 2015, Franca vd., 2019). Obezite parametresi olarak araştırmamızda Lee indeksi kullanılmıştır. Lee indeksi, kemirgenlerde obezite değerlendirmesi için kullanılan bir parametredir (Rogers vd., 1980). Sonuçlarımız, MSG verilen sıçanların Lee indeksinde kontrole göre bir artış olduğunu göstereceği bu artışın istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmadığı tespit

edilmiştir. Denek sayısının artırılması ile bu parametrenin literatürdeki anlamlılık düzeyine ulaşan Lee indeksi bulunmuş diğer çalışmalar (Caponi vd., 2013, Leguisamo vd., 2012, Lehnen vd., 2013, Gaspar vd., 2016) ile uyumlu hale geleceği düşünülmüştür.

Hem vücut ağırlığı hem Lee indeks sonuçları değerlendirildiğinde MetS/HO grubu hayvanlarda obezite indekslerinin artmasına rağmen büyüme performansının düştüğü gözlenmiştir. Bu bulgu literatürdeki diğer çalışmalar ile uyumludur (Caponi vd., 2013, Leguisamo vd., 2012, Lehnen vd., 2013, Gaspar vd., 2016). Bu durum neonatal dönemde MSG'ye maruz kalmanın bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Neonatal dönemde henüz kan beyin bariyeri yeterince olgunlaşmadığından, MSG beyin dokusuna ulaşarak hipotalamusta özellikle arkuat çekirdekdeki nöronlarda toksik etki oluşturmaktadır (Olney, 1969). Bu nükleusun hasarlanması büyüme hormonu salgılayan hormon (GHRH) salınımının azalmasına oda ön hipofizden büyüme hormonu (GH) salgısının bozulmasına neden olmaktadır (Maiter vd., 1991). Bu nedenle, MSG verilen hayvanlar kontrol grubuna göre daha küçük ve zayıf kalmaktadırlar. Ayrıca bu sonucun bir diğer sebebi arkuat çekirdeğin, merkezi sinir sisteminin beslenmesinin düzenlenmesi ile ilgili bir yapısı olmasından kaynaklanabilir. MSG verilen hayvanların, hipofajik olduğu ve hipotalamik bölgelerde NPY konsantrasyonlarında bir azalma ile karakterize olduğu daha önceki çalışmalarda ortaya konmuştur (Andreazzi vd., 2009, Collison vd., 2012, Husarova vd., 2013).

MSG verilerek oluşturulan bu modelde literatür de genellikle metabolik olarak hayvanların hiperinsülinemik, normoglisemik olduğu ve bu açıdan prediyabetik MetS'li hayvan modeli olarak kullanılabilirliği ileri sürülmüştür (Olney, 1969). Çalışmamızda bu genel bulgulara uymayan veriler elde edilmiştir. MetS/HO grubununun açlık kan glikoz değerlerini kontrol grubuna kıyasla önemli oranda artmış, bazal insulin değerlerini ise yine bu grupta kontrole göre istatistiksel olarak önemli oranda düşük bulunmuştur. Bu zıt sonuçlara rağmen bulgularımızla uyumlu araştırma sonuçları da literatürde vardır. Örneğin Yenidoğan erkek Wistar sıçanlarına MSG (4 g/kg/gün), kontrol sıçanlarına % 1,25 salin (1 mL/kg/gün), deri altından verilmiş 8 hafta sonra, MSG sıçanları, sağlıklı sıçanlara göre 2 kat daha yüksek serum açlık glikoz seviyesi göstermiştir (Franca vd., 2014). Yine aynı modelle yapılan bir çalışmada MSG verilen grupta kontrole göre baskılanmış bazal insülin düzeyi tesbit edilmiştir (Yin vd., 2013). Bu bulguların sebebi bu modelde pankreas rezervlerinin tükenmesine bağlı olabilir. Nitekim yapılan çalışmalarda, diyetle alınan MSG'nin günlük tüketiminin, yenidoğan farelerde MSG enjeksiyonunu takiben gözlemlenene (Nakayama vd., 2003, Yin vd., 2013). benzer şekilde yetişkin farelerde de pankreas β -hücresi kütlelerini azalttığını rapor edilmiştir (Boonnate vd., 2015). Bu sebeple artan kan glikozuna beta hücrelerinin rezervlerindeki olası bir azalma

insülin yanıtındaki azalmanın sebebi olmuş olabilir. MSG ile indüklenen β -hücre kaybının mekanizması belirsizliğini korumaktadır, ancak β -hücrelerinde MSG tarafından arttırılan oksidatif stresi olası bir mekanizma olarak ileriye sürülmüştür (Boonnate vd., 2015, Di Cairano vd., 2011).

Çalışmamızda MSG verilen hayvanlarda insülin direncini belirlemek için HOMA-IR skoru hesap edilmiştir. MetS/HO grubunun HOMA-IR skorunun K grubuna göre artış yönünde bir seyir izleği görülsede bu artış istatistiksel olarak önemliliğe ulaşmamıştır. Literatürde aynı modelle yapılmış çalışmaların büyük kısmında insulin direncinin bir göstergesi olan HOMA-IR skorunun artış olduğu bildirilmiştir. Örneğin, yenidoğan Wistar sıçanlarına yaşamın ilk 5 günü boyunca MSG uygulamış, 2 aylık deney süreci sonrasında Wistar sıçanlarında insülin direnci geliştiğini gözlemlemişlerdir (Sanches vd., 2016). Diğer bir çalışmada aynı yöntemle 7 gün boyunca günde bir kez yenidoğan Wistar sıçanlarına enjekte edilen MSG'nin, 6 aylık süre sonunda sağlıklı sıçanlara kıyasla, tipik bir MetS hayvan modelinde olduğu gibi insülin direnci geliştirdiği gösterilmiştir (Liu vd., 2011). Çalışmamızın HOMA-IR sonuçları, MSG uygulamasının insülin direncini sağlıklı kontrol ile karşılaştırıldığında değiştirmediyini bulan çalışmayı desteklemektedir (Rosa vd., 2016).

OGTT sonuçlarına göre 30. ve 60. dakikalarda her iki grupta da kan şekerinde artış saptanmış ise de istatistiksel oranda önemli artışlar MetS/HO modelinde izlenmiştir. OGTT'ye yanıt olarak verilen insulin cevabının bazal insulin düzeylerinde olduğu gibi 30. ve 60. dakikalarda da MetS/HO grubunda baskılanmış olduğu bulunmuştur. Kontrol grubunda ise bazal, 30. ve 60. dakikalarda insülin yanıtında herhangi bir değişiklik izlenmemiştir. MetS/HO modelinde daha belirgin olmakla beraber kontrol grubunda da artmış kan glikozuna yanıt verebilirlikte azalmanın, özellikle anestezinin etkisiyle ortaya çıkmış olabileceği düşünülmüştür. Anesteziklerin kan şekeri regülasyonunu bozduğu ve anestezisi altındaki deney hayvanının yüksek kan glikoz değerlerine sahip olduğu literatürde belirtilmiştir (Windelov vd., 2016). Bu bulgu anestetiklerin ATP sensitif K kanallarını aktive ederek, β -hücrelerinden insülin salınımını inhibe etmesine bağlı olarak ortaya çıkan hiperglisemi ve hipoinsülinemi sonuçları ile uyumludur (Zuurber vd., 2008).

Çalışmamızda MSG verilen 5 aylık MetS/HO grubunun lipid profil sonuçları incelendiğinde HDL düzeylerinin yüksek, TK ve TG düzeylerinin değişmemiş, LDL düzeylerinin ise K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli oranda artmış olduğunu bulduk. Literatürde bu model ile yapılan çalışmalarda lipid profili sonuçları oldukça karışık ve çelişkilidir. Örneğin Chen ve ark. yaptığı çalışmada 6 aylık süre sonunda MSG verilen grupta verilmeyene göre TG düzeyi anlamlı olarak artmış, TK ve

HDL düzeylerinde anlamlı bir değişim olmadığı bulunmuştur (Chen vd., 2013). Yenidoğan erkek Wistar sıçanlarında yapılan başka bir çalışmada MSG'nin (4 g/kg/gün) doğumdan 2. günden 10. güne kadar enjekte edilmesi ile 2 aylık süre sonunda serum TK ve TG düzeylerinin anlamlı olarak arttırdığını bulmuşlardır (Franca vd., 2014). Tüm bu çalışmaların sonucunda lipid profili yansıtan parametrelerdeki (LDL, VLDL, HDL, TG, TK) farklı sonuçlar, uygulanan MSG'nin dozu, enjeksiyon sayısı, uygulanma şekline ve beklenen süreye bağlı olarak değişiyor olabileceğini düşünmekteyiz. Bizim alışmamızda LDL, VLDL, HDL, TG ve TK seviyelerinin en az birinde anlamlı değişimler gözlenen MSG'nin dislipidemi oluşturduğunu gösteren diğer çalışmalarla uyumludur (Leguisamo vd., 2012, Sanches vd., 2016).

Yenidoğan dönemde MSG verilen sıçanlarla yapılan çalışmaların ortak noktası hayvanlar zayıf kalırken abdominal obezite sergilemeleridir. Metabolik obezite olarak tanımlanan bu durum, hayvanların abdominal bölgelerinin aşırı yağlanması ile karakterize bir durumdur. Çalışmamızda da MetS/HO grubu hayvanlarının abdominal obezite incelemesi için perigonadal ve retroperitoneal yağları alınarak kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlarımız literatürle uyumlu olarak MetS/HO grubunun abdominal yağlarının anlamlı olarak artmış olduğunu göstermiştir. Çalışmamızla uyumlu olarak SHR Wistar–Kyoto sıçanlarına yaşamın ilk gününden başlayarak 9 gün boyunca MSG enjeksiyonu yaparak, epididimal beyaz yağ ağırlığının artmış olduğu göstermişlerdir (Lehnen vd., 2013). Bir diğer çalışmada doğumun 2-10. günleri arasında her iki günde bir yenidoğan yavrulara enjekte edilen MSG'nin 90 günlük süre sonunda bu hayvanlarda visseral adipoz doku kütlesini önemli oranda arttırdığı bulunmuştur (Castrogiovanni vd., 2015). Sonuçlarımızla uyumlu diğer çalışmalarda da MSG'nin yenidoğan uygulamasının retroperitoneal, epididimal ve mezenterik yağ miktarını arttırarak MSG sıçanların sağlıklı sıçanlara kıyasla visseral obezitenin önemli oranda artmış olduğu gösterilmiştir (Liu vd., 2011, Sanches vd., 2016, Guimaraes vd., 2017, Shen vd., 2012).

MSG'nin enjeksiyonu ile arkuat çekirdek hasarı, hayvanlarda enerji dengesi ve yağ metabolizmasını etkilemektedir (Brosnan vd., 2014). MSG uygulamasının neden olduğu lipojenik-lipolitik dengesizlik sonucu yağ dokusunda aşırı yağ birikimine neden olduğu bildirilmiştir (Dolnikoff vd., 2001). Bizim alışmamızda da MSG'nin yenidoğan dönemde verilmesi ile nöroendokrin bozulmaya yanıt olarak, karın içi adipoz dokusunda adiposit alanını arttırmış ve tipik obezite modelini ortaya çıkarmıştır.

MeT, T2DM ve obezite gibi hastalıkların prevalansı küresel olarak önemli ölçüde artmakta önemli halk sağlığı sorunları haline gelmektedir (Cornier vd., 2008). Diyet, egzersiz ve ilaçların başarı oranlarının düşük olması, bu patofizyolojik durumların

tedavisinde yeni tedavi yaklaşımlarını zorunlu kılmaktadır (Saleem vd., 2009, Chang vd., 2014). İnkretin terimi genellikle gıda alımına yanıt olarak insülin salgılanmasını artırmak için bağırsaktan salgılandığı bilinen hormonlar için kullanılır (La Barre, 1932).

İnkretinlerin, oral glukoz alımına yanıt olarak insülin sekresyonunun yaklaşık %70'inden sorumlu olduğu bilinmektedir. Bu yüksek oran inkretinleri, özellikle T2DM gibi önemli bir metabolik hastalıkta önemli bir terapötik araç haline getirmiştir (Vilsboll ve Holst, 2004). Bu hastalıklarla ilgili yapılan çalışmalarda inkretin etkinin bozulduğunun/azaldığının gözlenmesi inkretinleri artırma hedefi alan metabolik cerrahileri ön plana çıkarmaktadır. Metabolik cerrahi yöntemler, enerji metabolizması üzerine olan olumlu etkileri olan inkretin hormon (GLP-1 ve GIP) düzeylerini artırması nedeniyle günümüzde klasik tedavi yöntemlerine göre gittikçe daha çok tercih edilebilir hale gelmeye başlamıştır. Metabolik cerrahi işlemlerinin glikoz metabolizması üzerine olan olumlu etkileri iki hipotez ile açıklanmaya çalışılmıştır. Bunlarda ilki arka bağırsak hipotezi olarak bilinir. Bu hipotez doğrultusunda yapılan metabolik cerrahilerde besinler direk arka bağırsağa yönlendirilerek inkretin hormonların düzeyi artırılır. Bu şekilde glikoz metabolizması üzerine olumlu etkilerin ortaya çıktığı pek çok araştırma ile ortaya konmuştur. İkincisi ise ön bağırsak hipotezidir. Bu hipoteze göre dekretin adı verilen ve henüz tam olarak tesbit edilememiş ve ön bağırsaktan salınan anti-inkretin hormonlar vardır. Genel olarak dekretinin, açlıkla uyarılan ve insülin üretimini ve sekresyonunu baskılayan bir enteroendokrin hormon olduğu fikrine yol açmıştır. Bu yüzden besinler proksimal barsağı pas geçirilir ve bu hormonların etkisi önlenerek glikoz metabolizması düzeltilmeye çalışılır. Gastrik bypass veya biliopankreatik diversiyon gibi bariatrik prosedürler bu varsayıma dayanmaktadır (Celik vd., 2014). Bugüne kadar net olarak tanımlanmış bir dekretin olmamışsa da son yıllarda gastrointestinal traktusta ve beyinde eksprese edilen bir peptid hormon olan neuromedin U (NMU)'nun (Alfa vd., 2015) insülin sekresyonunu baskılayan "dekretin" için aday bir molekül olabileceğini sürülmüştür.

Dekretin olarak adlandırılan ve ön bağırsaktan salındığı düşünülen insülin sinyal regülasyonu ve glukoz metabolizması üzerinde olumsuz etkileri olan hormon veya benzeri proteinlerin etkileri metabolik sendrom, obezite gibi durumlarda yeterince araştırılmış durumda değildir. Bu çalışma, metabolik sendromlu/Hipotalamik Obezite modeli oluşturulmuş sıçanlarda dekretin olabileceği ileri sürülen bazal NMU'u düzeyini kontrol sıçanlarla karşılaştırarak belirlemek ve oral glukoz testine yanıt olarak plazmada NMU değişiminin ne olduğunu araştırmak amacıyla planlanmıştır. Ayrıca bağırsak NMU ifadesinin bu gibi durumlarda olası değişikliği çalışmamızın konularından biridir.

Araştırmamızın sonuçları bazal NMU düzeylerinin kontrol ve MetS/HO grubu sıçanlarda birbirinden farklı olmadığını göstermiştir. OGTT'ye yanıt olarak 30. dakikada yine bu gruplar arasında bir fark gözlenmemişken 60. dakikada NMU düzeyinin bazal düzeye göre her iki grupta istatistiksel olarak önemli oranda baskılandığı gözlenmiştir. Bu baskılanmanın kontrol grubunda MetS/HO grubuna göre istatistiksel olarak daha fazla olduğu gözlenmiştir. Neuromedin U (NMU), NMU hem merkezi sinir sisteminde hem de periferik dokularda yaygın olarak eksprese edilen bir protein olduğu bilinmektedir. (Domin vd., 1986). Son zamanlarda, NMU'nun proksimal bağırsak endokrin hücrelerinde eksprese edildiği ve bir dekretin mekanizmasıyla insan adacıklarından insülin salgılanmasını baskıladığı gösterilmiştir (Alfa vd., 2015). Yine çalışmalar, NMU'nun izole sıçan adacıklarından ve perfüze sıçan pankreasından insülin salgılanmasını azalttığını göstermiştir (Kaczmarek vd., 2016). Bu çalışmaların aksine hem in vivo hem de in vivo NMU'nun glukoz homestazı üzerine etkisinin olmadığı ve dekretin olarak işlev görmediği yönünde bulgular bulunmaktadır (Kuhre vd., 2019). Araştırmamıza benzer bir çalışmada, normal ve NMU knockout hayvanlar üzerinde glukoz tolerans testi yapılmış ve NMU geni susturulmuş hayvanlarda insülin seviyeleri çalışılmıştır. Beklenenin aksine NMU ile susturulan hayvanlarda insülin seviyesi yükselmemiş ve NMU yokluğunda insülin seviyesi artmadığı için NMU'nun dekretin hormonu gibi işlev görmediği sonucuna varılmıştır (Ensho vd., 2019). NMU'nun glukoz metabolizması üzerine etkisinin olmadığını gösteren çalışmalarda, NMU'nun plazma düzeyi ölçülmemiş ve kana direkt glukoz verilerek glukoz tolerans testi yapılmıştır. Glukozun oral yerine doğrudan kan dolaşımına uygulanması, dekretinin tanımı için doğru bir uygulama yöntemi değildir. Dekretin özelliğine sahip bir hormonun kanda yükselip çalışabilmesi için ağızdan alınması ve bağırsak proksimaliyle buluşması gerekir.

Biz araştırmamızda glikozu intravenöz yerine oral olarak verdik ve 60. dakikada istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gördük. Bu azalmanın kontrol grubunda oldukça belirgin olması artan kan glikozuna cevaben insulin baskılanmasının azalmasına yönelik bir yanıt olabileceği düşünülmüştür. Nitekim her iki zaman diliminde de kontrol grubu sıçanların kan glikozu MetS/HO grubu sıçanlara göre daha düşük bulunmuştur. MetS/HO modeli sıçanlarda ise 60. Dakikada baskılanma kontrol grubuna nazaran daha düşük olması bu grup sıçanların artmış kan glikozuna azalmış NMU yanıtı verilmesinde kısmen bir bozukluk olduğunu düşündürmüştür. Araştırmalar genel dolaşımdaki NMU'nun hızlı bir şekilde parçalandığını bildirdiğinden (Takayama vd., 2016), genel dolaşımdan ölçtüğümüz plazma NMU düzeyi sonuçlarımız bu bulgumuzu yorumlamayı güçleştirmektedir.

Her iki grup sıçanların bağırsağı boyunca NMU ifadesini araştırdığımızda, NMU mRNA seviyelerinin proksimal bağırsakta (duodenum ve jejunum) distal barsağa göre fazla olduğunu bulduk. Bu sonuç gastrointestinal sistemin proksimal kısmının, NMU ekspresyonu ve salgılanmasının ana bölgesi olduğunu gösteren çalışmalarını teyit etmiştir (Augood vd., 1988, Alfa vd., 2015, Kowalski vd., 2005, Nakashima vd., 2010, Szekeres vd., 2000). MetS/HO modelinde bu ifade kalıbının değişip değişmediği literatürde henüz bilinmemektedir. Bu yüzden, bu grup hayvanlarda da proksimal (duodenum, jejunum) ve distal bağırsak örneklerinde NMU ekspresyonu inceledik. MetS/HO modelinde proksimalden distale azalma kalıbının kontrol grubuna benzer ancak, farklı olmadığını bulduk. Öte yandan kontrol grubunda proksimal (duodenum) ve distal bağırsak NMU mRNA ifadesinde önemli bir fark izlenirken MetS/HO modelinde bu farkın ortadan kalktığını gözledik. Bu açıdan daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, literatürdeki birçok MSG ile oluşturulan metabolik sendrom/Hipotalamik obezite modeli ile yapılmış çalışmalardan farklı olarak artmış kan glikoz ve azalmış insulin düzeyi ile karakterize diyabet oluştuğunu gözledik. Ayrıca kısmende olsa lipid profillerini bozulmuş bulduk. Lee indeksinde hafif artışa rağmen, abdominal obezitenin istatistiksel olarak önemli bir artışını izledik. Bazal ve 30. dakikada OGGT'ye verilen plazma NMU yanıtı arasında bir fark yokken, 60. dakikada K grubunun MetS/HO grubuna göre anlamlı olarak düşük NMU yanıtı verdiği izlenmiştir. NMU ekspresyonu ise her iki grupta benzer şekilde gastrointestinal yolda proksimalden distale doğru azaldığını tesbit ettik. MetS/HO modelinde K grubuna göre NMU'nun gerek plazma düzeyleri gerek gastrointestinal kanal boyunca ekspresyonu açısından belirgin farklar bulamadık. Özetle, sonuçlarımız NMU'nu dekretin gibi fonksiyon görmediğini ileri süren yayınlar ile paralellik göstermiştir.

6. SONUÇLAR

1-Çalışmamızın sonuçları metabolik sendrom/Hipotalamik obeziteden daha çok tip 2 diyabet modelinin oluşturduğu göstermiştir. Çalışmamızın sonucunda MetS/HO grubu hayvanlarında literatürle uyumlu olarak ağırlık artışında istatistiksel olarak kontrole göre anlamlı azalma ve Lee endeksinde artış saptanmıştır.

2-Her iki grup arasında plazma lipid düzeyleri birbirleri arasında yakın değerler seyretmiş ise de MetS/HO grubunda LDL ve HLDL düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artışlar saptanmıştır.

3- Bazal ve 30. dakikada OGGT'ye verilen plazma NMU yanıtı arasında iki grup arasında bir fark yokken, 60. dakikada MetS/HO grubunun kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük plazma NMU yanıtı verdiği izlenmiştir.

4- NMU ekspresyonu bulgularımız ise her iki grupta benzer şekilde gastrointestinal yolda proksimalden distale doğru azaldığını tesbit ettik.

7. KAYNAKLAR

Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Cleeman JI, Donata TK mes WP, Loria CM, Smith SC Jr. Harmonizing the metabolic syndrome; a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. **Circulation** 2009;120: 1640-5.

Alberti KG, Zimmeti PZ. "Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation,". **Diabet Med** 1998;15(7): 539–553.

Alfa RW, Park S, Skelley Kr ,Gu X, Kockel L, Wang J, Liu Y, Powers AC, Kim SK. Suppression of insülin production and secretion by a decretin hormone. **Cell Metab** 2015; 21 (2): 323-334.

Andreazzi AE, Scomparin DX, Mesquita FP, Balbo SL, Gravena C, De Oliveira JC, Rinaldi W, Garcia RM, Grassioli S, Mathias PC. Swimming exercise at weaning improves glycemic control and inhibits the onset of monosodium L-glutamate-obesity in mice. **J Endocrinol** 2009; 201 (3); 351–359.

Andrew D, Howard Scoot D, Ruing W, Theodore N, Mellin A. Identification of receptors for neuromedin u and its role in feeding. **Nature** 2000; 406: 70-74.

Augood SJ, Keast JR, Emson PC. Distribution and characterisation of neuromedin U-like immunoreactivity in rat brain and intestine and in Guinea pig intestine. **Regul Pept** 1988; 20: 281–292.

Avogaro P, Crepaldi G. Essential hyperlipidemia, obesity and diabetes. **Diabetologia** 1965; 137.

Bagger JI, Knop FK, Lund A, Vestergaard H, Holst JJ, Vilsbøll T. Impaired regulation of the incretin effect in patients with type 2 diabetes. **J Clin Endocrinol Metab** 2011; 96: 737–45.

Ballesta J, Carlei F, Bishop AE, Steel JH, Gibson SJ, Fahey M, Hennessey R, Domin J, Bloom SR, Polak JM. Occurrence and developmental pattern of neuromedin U-immunoreactive nerves in the gastrointestinal-tract and brain of the rat. **Neuroscience** 1988; 25 :797–816.

Başaran Y, Kutlu M. Kinetics of Insulin Receptor, Insulin Resistance and Type 2 Diabetes Mellitus. **Turkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics** 2015; 8 (2):1-8.

Bechtold DA, Ivanov TR, Luckman SM. Appetite modifying actions of pro-neuromedin U-derived peptides. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 2009; 297: 545–51.

Benzon CR, Johson SB, Mccue DL, Lı D,Green TA, Hommel JD. Neuromedin U receptor 2 Knockdown in the paraventricular nucleus modifies behavioral responses

to obesogenic high-fat food and leads to increased body weight. *Neuroscience* 2014; 31: 258-270.

Bishop AE, Ballesta J, Carlei F, Steel JH, Gibson SJ, Domin J. The Distribution and development of new brain and gut peptide, Neuromedin U. *J Pathol* 1988; 154: 99-100.

Boden G, Lebed B, Schatz M, Homko C, Lemieux S. Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects. *Diabetes* 2001; 50 (7): 1612–1617.

Boonnate P, Waraasawapati S, Hipkhaeo W, Pethlert S, Sharma A, Selmi C, Prasongwattana V, Cha'on U. Monosodium Glutamate Dietary Consumption Decreases Pancreatic β -Cell Mass in Adult Wistar Rats. *PLoS One* 2015 29; 10 (6): e0131595.

Bray G, Bellanger T. Epidemiology, trends and morbidities of obesity and the metabolic syndrome. *Endocrine* 2006; 29: 109-117.

Brighton PJ, Szekeres PG, Aiyar N, Willars GB. Characterisation of signalling by recombinant human neuromedin-U receptors. *Br J Pharmacol* 2003;140: 75.

Brighton PJ, Szekeres PG, Willars GB. Neuromedin U and its receptors: Structure, Function and Physiological Roles. *Pharmacol Rev* 2004;56(2)231-248

Brolin RE. Bariatric Surgery and longterm control of morbid obesity. *JAMA* 2002; 288 (22): 2793-2796.

Brosnan JT, Drewnowski A, Friedman MI. Is there a relationship between dietary MSG and obesity in animals or humans? *Amino Acids* 2014; 46: 2075–2087.

Buchwald H, Estok R, Banel D, Jensen M. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery; systematic review and meta- analysis. *Am J Med* 2009; 122: 248-265.

Budhiraja S, Chucgh A. Neuromedin U:physiology, and therapeutic potential. *Fundam Clin Pharmacol* 2019; 23: 149-1.

Cahill GF Jr, Herrera MG, Morgan AP, Soeldner JS, Steinke J, Levy PL, Reichard GA Jr, Kipnis DM. Hormone-fuel interrelationships during fasting. *J Clin Invest* 1966; 45: 1751-1769.

Campbell JE, Drucker DJ. Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action. *Cell Metab* 2013; 17: 819-837.

Caponi PW, Lehnen AM, Pinto GH, Borges J, Markoski M, Machado UF, Schaan BD .Aerobic exercise training induces metabolic benefits in rats with metabolic syndrome independent of dietary changes. *Clinics* 2013; 68 (7): 1010-7.

Cardon L, Carmelli D, Fabsitz R, Reed T. Genetic and environmental correlations between obesity and body fat distribution in adult male twins. *Hum Biol* 1994; 465-479.

Carr RD, Larsen MO, Jelic K, Lindgren O, Vikman J, Holst JJ, Deacon CF, Ahrén B. Secretion and dipeptidyl peptidase-4-mediated metabolism of incretin hormones after a mixed meal or glucose ingestion in obese compared to lean, nondiabetic men. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 872–878.

Castrogiovanni D, Ongaro, Zuburfa G, Giovambattista A, Spinedi E. Oral Metformin Treatment Counteracts Adipoinular Axis Dysfunction in Hypothalamic Obese Rats. *Int Sch Res Notices* 2015; 5: 284042.

Ceddia RB, Somwar R, Bikopoulos G, Sweeney G. Globular adiponectin increases GLUT4 translocation and glucose uptake but reduces glycogen synthesis in rat skeletal muscle cells. *Diabetologia* 2005;48 (1): 132-9.

Celik A, Ugale S. Functional restriction and a new balance between proximal and distal gut: the tools of the real metabolic surgery. *Obes Surg* 2014; 24 (10): 1742- 1743.

Chang SH, Stoll CR, Song J, Varela JE, Eagon CJ, Colditz GA. The effectiveness and risks of bariatric surgery: an updated systematic review and meta-analysis, 2003–2012. *JAMA Surg* 2014; 149 (3): 275–287.

Clemmensen C, Smajilovic S, Smith EP, Woods SC, Bräuner-Osborne H, Seeley RJ, D'Alessio DA, Ryan KK. Oral L-arginine stimulates GLP-1 secretion to improve glucose tolerance in male mice. *Endocrinology* 2013; 154: 3978-3983.

Coelho MS, Lopes KL, Freitas R de A, de Oliveira-Sales EB, Bergamaschi CT, Campos RR, Casarini DE, Carmona AK, Araújo M da S, Heimann JC, Dolnikoff MS. High sucrose intake in rats is associated with increased ACE2 and angiotensin-(1-7) levels in the adipose tissue. *Regul Pept* 2010; 162 (1–3): 61–7.

Collison KS, Makhoul NJ, Zaidi MZ, Al-Rabiah R, Inglis A, Andres BL, Ubungen R, Shoukri M, Al-Mohanna FA. Interactive effects of neonatal exposure to monosodium glutamate and aspartame on glucose homeostasis. *Nutr Metab (Lond)* 2012; 9 (1): 58.

Conlon JM, Domin J, Thim L, Dimarzo V, Morris HR, Bloom SR. Primary structure of neuromedin-U from the rat. *J Neurochem* 1988; 51: 988–991.

Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC, Steig AJ, Stob NR, Van Pelt RE, Wang H, Eckel RH. The metabolic syndrome. *Endocr Rev* 2008; 29 (7): 777-822.

Creutzfeldt W. The incretin concept today. *Diabetologia* 1979; 16: 75–85.

De Heer J, Hoy M, Holst JJ. GLP-1, but not GIP, inhibits glucagon secretion via somatostatin in the perfused rat pancreas. *Diabetologia* 2005; 48 1: 64.

Deen D. Metabolic syndrome: time for action. *Am Fam Physician* 2004; 69 (12): 2875–2887.

Deepa R, Velmurugan K, Arvind K, Siviram P, Sientay C. Serum levels of interleukin 6, C-reactive protein, vascular cell adhesion molecule 1, and monocyte chemotactic protein 1 in relation to insulin resistance and glucose intolerance-the Chennai Urban Rural Epidemiology Study (CURES). *Metabolism* 2006; 55 (9): 1232–123.

DePaula AL, Macedo AL, Rassi N, Machado CA, Schraibman V, Silva LQ, Halpern A. Laparoscopic treatment of type 2 diabetes mellitus for patients with a body mass index less than 35. *Surg Endosc* 2008; 22: 706-716.

Desroches S, Lamarche B. The evolving definitions and increasing prevalence of the metabolic syndrome. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007; 32 (1):23–32.

Di Cairano ES, Davalli AM, Perego L, Sala S, Sacchi VF, La Rosa S. The glial glutamate transporter 1 (GLT1) is expressed by pancreatic beta-cells and prevents glutamate-induced beta-cell death. *J Biol Chem* 2011; 286 (16): 14007–18.

Dik B. Metabolik Sendromun Tedavisi. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg* 2013; 8 (3): 259-269.

Diniz YS, Faine LA, Galhardi CM, Rodrigues HG, Ebaid GX, Burneiko RC, Cicogna AC, Novelli ELB. Monosodium glutamate in standard and high-fiber diets: Metabolic syndrome and oxidative stress in rats. **Nutrition** 2005; 21 (6): 749–755.

Dolnikoff M, Martin-Hidalgo A, Machado U, Lima F, Herrera E. Decreased lipolysis and enhanced glycerol and glucose utilization by adipose tissue prior to development of obesity in monosodium glutamate (MSG) treated-rats. **Int J Obes** 2001; 25: 426–433.

Domin J, Benito-Orfila MA, Nandha KA, Aitken A, Bloom SR. The purification and sequence-analysis of an avian neuromedin-U. **Regul Pept** 1992; 41 (1): 1–8.

Domin J, Ghatei MA, Chohan P, Bloom SR. Characterization of neuromedin-U like immunoreactivity in rat, porcine guinea-pig and human-tissue extracts using a specific radioimmunoassay. **Biochem Biophys Res Commun** 1986;140: 1127–1134.

Domin J, Ghatei MA, Chohan P, Bloom SR. Neuromedin U – A study of its distribution in the rat. **Peptides** 1987; 8:779–784.

Domin J, Yiangou Y, Spokes R, Aitken A, Parmar K, Chrysanthou BJ, Bloom SR. The purification and characterization of amphibian neuromedin-U. **J Biol Chem** 1989; 264 (35): 20881-20885.

Drucker DJ, Philippe J, Mojsov S, Chick WL, Habener JF. Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line. **Proc Natl Acad Sci U S A** 1987; 84 (10): 3434 –3438

Duggan JP, Booth DA. Obesity, overeating and rapid gastric emptying in rats with ventromedial hypothalamic lesions. **Science** 1980; 231:609–611.

Ebert R, Unger H, Creutzfeldt W. Preservation of incretin activity after removal of gastric inhibitory polypeptide (GIP) from rat gut extracts by immunoadsorption. **Diabetologia** 1983; 449-454.

Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. Metabolic Syndrome. **Lancet** 2005; 16-22, 365 (9468):1415-28.

Elrick H, Stimmler L, Hlad CJ Jr, Arai Y. Plasma insulin response to oral and intravenous glucose administration. **J Clin Endocrinol Metab** 1964; 24 (10), 1076–1082.

Ensho T, Muruyama K, Qattali AW, Yasuda M, Uemura R. Comparison of glucose tolerance between wild-type and mice and mice with double knockout of neuromedin U and neuromedin S. **J Vet Med Sci** 2019; 81 (9): 1305-1312.

Ensinck JW, Vogel RE, Laschansky EC, Koerker DJ, Prigeon RL, Kahn SE, D'Alessio DA. Endogenous somatostatin-28 modulates postprandial insulin secretion. Immunoneutralization studies in baboons. **J Clin Invest** 1997; 100: 2295-2302.

Espitia-Bautista E, Velasco-Ramos M, Osnaya R, Buijs RM. Social Jet-Lag Potentiates Obesity and Metabolic Syndrome when combined with cafeteria diet in rats. **Metabolism** 2017; 72: 83-93.

Fändriks L. Roles of the gut in the metabolic syndrome: an overview. **J Intern Med** 2017; 281 (4): 319-336.

Fei H, Okano HJ, Li C, Lee GH, Zhao C, Darnell RC. Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors in mouse brain and other tissues. **Proc Natl Acad Sci USA** 1997; 24 (13): 7001-5.

Fery F, D'Attellis NP, Balasse EO. Mechanisms of starvation diabetes: a study with double tracer and indirect calorimetry. *Diabetes Metab Rev* 1989; 5 (3): 247-270.

Fink G, Gutman RA, Cresto JC, Selawry Lavine R, Recant L. Glucose-induced insulin release patterns: effect of starvation. *Diabetologia* 1974; 10: 421-425.

Ford ES, Mokdad AH, Giles WH, Brown DW. The metabolic syndrome and antioxidant concentrations. *Diabetes* 2003; 52 (9): 2346-2352.

França LM, Coêlho CFF, Freitas LNC, Souza ILS, Chagas VT, Debbas V, de Lima TM, de Souza HP, Laurindo FRM, Paes AMA. Syzygium cumini Leaf Extract Reverts Hypertriglyceridemia via Downregulation of the Hepatic XBP-1s/PDI/MTP Axis in Monosodium L-Glutamate-Induced Obese Rats. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 21: 9417498.

Franca LM, Costa Freitas LN, Chagas VT, Ferreira Coêlho CF, Barroso WA, Costa GC, Silva LA, Debbas V, Martins Laurindo FR, Paes AMA. Mechanisms underlying hypertriglyceridemia in rats with monosodium L-glutamate-induced obesity: Evidence of XBP-1/PDI/MTP axis activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 443: 725-30.

Fujimoto WY, Bergstrom RW, Boyko EJ, Chen KW, Kahn SE, Leonetti DL, McNeely MJ, Newell LL, Shofer JB, Tsunehara CH, Wahl PW. Preventing diabetes applying pathophysiological and epidemiological evidence. *Br J Nutr* 2000; 84 (Suppl. 2), 173-176.

Fumeron F, Aubert R, Siddiq A, Wilpart E, Marre M. Adiponectin gene polymorphisms and adiponectin levels are independently associated with the development of hyperglycemia during a 3-year period: the epidemiologic data on the insulin resistance syndrome prospective study. *Diabetes* 2004; 53 (4): 1150-1157.

Funes S, Hedrick JA, Yang S, Shan L, Bayne M, Monsma FJ, Gustafson EJ. Cloning and characterization of murine neuromedin U receptors. *Peptides* 2002; 23 (9): 1607-1615.

Gaspar RS, Benevides ROA, Fontelles JLL, Vale CC, França LM, Barros PTS, Paes AMA. Reproductive alterations in hyperinsulinemic but normoandrogenic MSG obese female rats. *J Endocrinol* 2016; 229 (2): 61-72.

Gelmez Y, Kasapoğlu P, Adaş Ç, Tahralı İ, Gazioğlu-Bilgiç S, Çevik A, Deniz G. Metabolik Sendromda Deneysel Hayvan Modelleri. *Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi* 2012; 2 (4): 14-21.

Goldstein BJ, Scalia R. Adiponectin: A novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89 (6): 2263-2268.

Grundy SM, Smith SC, Spertus JA, Costa F. American Heart Association National Heart, Lung and blood institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 25: 112 (17): 2735-52.

Grundy SM. Metabolic Syndrome Pandemic. *Arterioscler Thromb Vas Biol* 2008; 28 (4): 629-36.

Grundy SM. Metabolic syndrome: connecting and reconciling cardiovascular and diabetes worlds. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47 (6): 1093-1100.

Grunfeld C, Feingold KR. The role of cytokines, interferon alpha and tumor necrosis factor in the depletion of hypertriglyceridemia and. **Alls J Nutr** 1992; 122 (3): 749-53.

Guimaraes ED, de Caires Júnior LC, Musso CM, Macedo de Almeida M, Gonçalves CF, Pettersen KG, Paes ST, González Garcia RM, de Freitas Mathias PC, Torrezan R, Mourao-Júnior CA, Andreazzi AE. Altered behavior of adult obese rats by monosodium l- glutamate neonatal treatment is related to hypercorticosteronemia and activation of hypothalamic ERK1 and ERK2. **Nutr Neurosci** 2017; 20 (3): 153–160.

Guimarães RB, Telles MM, Coelho VBO, Mori RCT, Nascimento CMO, Ribeiro EB. Adrenalectomy abolishes the food-induced hypothalamic serotonin release in both normal and monosodium glutamate-obese rats. **Brain Res Bull** 2002; 58 (4): 363–369.

Haffner SM, Valdez RA., Hazuda HP, Mitchell, BD, Morales PA, Stern MP. Prospective analysis of the insulin- resistance syndrome (Syndrome X). **Diabetes** 1992; 41 (6): 715–722.

Hanada R, Teranishi H, Pearson JT, Kurokawa M, Hosoda H, Fukushima N, Fukue Y, Serino R, Fujihara H, Ueta Y, Ikawa M, Okabe M, Murakami N, Shirai M, Yoshimatsu H, Kangawa K, Kojima M. Neuromedin U has a novel anorexigenic effect independent of the leptin signaling pathway **Nat Med** 2004; 10 (10): 1067-73.

Haslam DW, James WPT. Obesity. **The Lancet** 2005; 366 (9492): 1197–1209

Hedrick JA, Morse K, Shan L, Qiao X, Pang L, Wang S. Identification of a human gastrointestinal tract and immune system receptor for the peptide neuromedin U. **Mol Pharmacol** 2000; 58 (4): 870 –875.

Hernández Bautista RJ, Mahmoud AM, Königsberg M, López Díaz Guerrero NE. Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. **Biomed Pharmacother** 2019; 111: 503-516.

Hofmeister F. Ueber Resorption und Assimilation der Nährstoffe. **Arch Für Exp Pathol Und Pharmakologie** 1890; 26: 355-370.

Hoggard N, Avci L, Duncan JS, Williams LM, Trayhurn P, Mercer JG. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in mouse fetus and placenta. **Proc Natl Acad Sci ABD A**. 1997; 30; 94 (20): 11073-8.

Holst JJ, Gribble F, Horowitz M, Rayner CK. Roles of the gut in glucose homeostasis. **Diabetes Care** 2016; 39 (6): 884-892.

Holst JJ, Hartmann C, Pedersen J. GLP 1/2, Enteroglucagon, Glicentin, and Oxyntomodulin. **Handbook of Biologically Active Peptides 2nd Ed**. 2013; 1241-1260.

Honzowa M, Sudoh T, Minamino K, Matsuo H. Neuromedin U-like immunoreactivity in rat intestine: Regional distribution and immunohistochemical study. **Neuropeptides** 1990; 15 (1): 1-9.

Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. **J Clin Invest** 199; 95 (5): 2409-15.

Howard AD, Wang R, Pong SS, Mellin TN, Strack A, Guan XM, Zeng Z, Williams Jr DL, Feighner SD, Nunes CN, Murphy B, Stair JN, Yu N, Jiang Q, Clements MK, Tan CP, McKee KK, Hreniuk DL, McDonald TP, Lynch KR, Evans JF, Austin CP, Caskey CT, Van

der Ploeg LH, Liu Q. Identification of receptors for neuromedin U and its role in feeding. **Nature**, 2000; 406 (6791): 70-4.

Howard AD, Wang RP, Pong SS, Mellin TN, Strack A, Guan XM, Zeng ZZ, Williams DL, Feighner SD, Nunes CN. Identification of receptors for neuromedin U and its role in feeding. **Nature** 2000; 406: 70–74.

Huang PL. A comprehensive definition for metabolic syndrome. **Dis Model Mech** 2009; 2: 231-237.

Husarova V, Ostatnikova D. Monosodium glutamate toxic effects and their implications for human intake: a review. **J Med Res** 2013; (2013); 12.

Hutley LA, Prins JB. Fat as an endocrine organ: relationship to the metabolic syndrome. **Am J Med Sci** 2005; 330 (6):280–289.

International Diabetes Federation: The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. 2012-09-16

Jacobs M, Van Greevenbroek MMJ, Van Der Kallen CJH. Low-grade inflammation can partly explain the association between the metabolic syndrome and either coronary artery disease or severity of peripheral arterial disease: the CODAM study. **Eur J Invest** 2009; 39 (6): 437–444.

Jethwa PH, Smith KL, Small CJ, Abbott CR, Darch SJ, Murphy KG. Neuromedin U partially mediates leptin-induced hypothalamo-pituitary adrenal (HPA) stimulation and has a physiological role in the regulation of the HPA axis in the rat. **Endocrinology** 2006; 147: 2886 –2892.

Juhan-Vague I, Alessi MC, Mavri A, Morange PE. Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk. **J Thromb Haemost** 2003; 1 (7): 1575–1579.

Kaczmarek P, Kaczmarek PI, Malendowicz LK, Pruszyńska EO, Wojciechowicz T, Szczepankiewicz D, Szkudelski T, Nowak KW. Neuromedin U receptor 1 expression in the rat endocrine pancreas and evidence suggesting neuromedin U suppressive effect on insulin secretion from isolated rat pancreatic islets. **Int J Mol Med** 2016; 18 (5): 951-955.

Kage R, O'Harte F, Thim L, Conlon JM. Rabbit neuromedin U-25: lack of conservation of a post-translational processing site. **Regul Pept** 1991; 33:191–198.

Kahn SE. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes. **Diabetologia** 2003; 46, 3–19.

Kangawa K, Minamino N, Fukuda A, Matsuo H . Neuromedin-K - a novel mammalian tachykinin identified in porcine spinal-cord. **Biochem Biophys Res Commun** 1983; 114: 533–540.

Kaplan Bulut İ, Mir S. Derleme-Review Fruktoz ve böbrek hastalıkları Fructose and kidney diseases. **Cumhur Med J** 2011; 33 (4): 499-507.

Kaplan LM, Seeley RJ, Harris JL. Myths associated with obesity and bariatric surgery. **Bariatric Times** 2012; 9: 5-7

Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. **Arch Intern Med** 1989; 149 (7): 1514–1520.

Kaur J. Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. **Cardiol Res Pract** 2014;1-21.

Ketteter KI, Kong B, Korc M, Giese NA, Bauer A. Neuromedin U is overexpressed in pancreatic cancer and increases invasiveness via the hepatocyte growth factor C-met pathway. **Cancer Lett** 2009; 8: 277 (1): 72-81.

Kieffer TJ, McIntosh CHS, Pederson RA. Degradation of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and truncated glucagon-like peptide 1 in vitro and in vivo by dipeptidyl peptidase IV. **Endocrinology** 1995; 136: 3585–3596.

Kissebah AH, Krakower GR. Regional adiposity and morbidity. **Physiol Rev** 1994; 74 (4): 761-811.

Kowalski TJ, Spar BD, Markowitz L, Maguire M, Golovko A, Yang S, Farley C, Cook JA, Tetzloff G, Hoos L, Del Vecchio RA, Kazdoba TM, McCool MF, Hwa JJ, Hyde LA, Davis H, Vassileva G, Hedrick JA, Gustafson EL. Transgenic overexpression of neuromedin U promotes leanness and hypophagia in mice. **J Endocrinol** 2005; 185, 151–16410.

Kozan O, Oguz A, Abaci A, Erol C, Ongen Z, Temizhan A, Celik S. Prevalence of the metabolic syndrome among Turkish adults. **Eur J Clin Nutr** 2007; 61: 548-553.

Kuhre RE, Ghiasi SM, Gabe MB, Hartmann B, Holst JJ. Neuromedin u does not act as a incretin in rats. **Cell Metab** 2019; 5:29 (3): 719-726.

Kylin E. Studien ueber das Hypertonie-Hyperglyca "mie-Hyperurika" miesyndrom, Zentralblatt fuer Innere Medizin. **Obes Res** 1947; 4 (2): 201–203.

La Barre J. Sur les possibilites d'un traitement du diabete par l'incetine. **Bull Acad R Med Belg** 1932; 12: 620–634.

Lakka TA, Laaksonen DE. Physical activity in prevention and treatment of the metabolic syndrome. **Appl Physiol Nutr Metab** 2007; 32: 76–88.

Leguisamo NM, Lehnen AM, Machado UF, Okamoto MM, Markoski M, Pinto GH, Schaan BD. GLUT4 content decreases along with insulin resistance and high levels of inflammatory markers in rats with metabolic syndrome. **Cardiovasc Diabetol** 2012; 16: 11:100.

Lehnen AM, Leguisamo NM, Casali KR, Schaan BD. Progressive cardiovascular autonomic dysfunction in rats with evolving metabolic syndrome. **Auton Neurosci** 2013; 176 (1-2): 64-69.

Lewis GF, Steiner G. Acute effects of insulin in the control of VLDL production in humans: implications for the insulin-resistant state. **Diabetes Care** 1996; 9 (4): 390–393.

Lilavivathana U, Campbell RG, Brodows RG. Control of insulin secretion during fasting in man. **Metabolism** 1978; 27: 815-821.

Liu L, Jiang Z, Huang X, Liu J, Zhang J, Xiao J, Bao Q, Wen J, Zhang S, Zhu D, Zhang P, Zhang L. Disappearance of sexual dimorphism in triptolide metabolism in monosodium glutamate treated neonatal rats. **Arzneimittel Forschung** 2011; 61 (2): 98-103.

Maiter D, Underwood LE, Martin JB, Koenig JI. Neonatal treatment with monosodium glutamate: effects of prolonged growth hormone (GH)-releasing hormone deficiency on pulsatile GH secretion and growth in female rats. **Endocrinology** 1991; 128 (2): 1100-1106.

- Matsuzawa Y, Funahashi T, Nakamura T. The concept of metabolic syndrome: contribution of visceral fat accumulation and its molecular mechanism. *J Atheroscler Thromb* 2011; 18 (8): 629–639.
- McCracken E, Monaghan M, Sreenivasan S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Clin Dermatol* 2018; 36, 14–20.
- McGraw K, Lee J. Glucose intolerance Insulin Resistance and Polycystic Ovarian Syndrome. *Wolters Kluwer Health Adis (ESP)* 2007, s.223-239.
- Meier JJ, Nauck MA, Kranz D, Holst JJ, Deacon CF, Gaeckler D, Schmidt WE, Gallwitz B. Secretion, degradation, and elimination of glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide in patients with chronic renal insufficiency and healthy control subjects. *Diabetes* 2004; 53: 654-662.
- Meier JJ, Nauck MA. Is the diminished incretin effect in type 2 diabetes just an epiphenomenon of impaired β -cell function? *Diabetes* 2010; 59: 1117–1125.
- Miles JM, Jensen MD. Counterpoint: visceral adiposity is not causally related to insulin resistance. *Diabetes Care* 2005; 28 (9): 2326–2328.
- Miller A, Adeli K. Dietary fructose and the metabolic syndrome. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24 (2): 204-9.
- Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. Neuromedin-U-8 and neuromedinU-25 - novel uterus stimulating and hypertensive peptides identified in porcine spinal-cord. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;130: 1078–1085.
- Minamino N, Sudoh T, Kangawa K, Matsuo H. Neuromedins—novel smooth-muscle stimulating peptides identified in porcine spinal-cord. *Peptides* 1985; 6:245–248.
- Mitchell JD, Maguire JJ, Davenport AP. Emerging pharmacology and physiology of neuromedin U and the structurally related peptide neuromedin S. *Br J Pharmacol* 2009; 158: 87–103.
- Mitchell JD, Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Expression and vasoconstrictor function of anorexigenic peptides neuromedin U-25 and S in the human cardiovascular system. *Cardiovasc Res* 2009; 81: 353– 361.
- Moore B, Edie ES, Abram JH. On the treatment of diabetes mellitus by acid extract of duodenal mucous membrane. *Biochem J* 1906; 1: 28-38.
- Muscelli E, Mari A, Casolaro A, Camastra S, Seghieri G, Gastaldelli A, Holst JJ, Ferrannini E. Separate impact of obesity and glucose tolerance on the incretin effect in normal subjects and type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2008; 57:1340–8.
- Nadkarni P, Chepurny OG, Holz GG. Regulation of Glucose Homeostasis by GLP-1. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2014; 21: 23-65.
- Nakashima Y, Ida T, Sato T, Nakamura Y, Takahashi T, Mori K, Miyazato M, Kangawa K, Kusukawa J, Kojima M. Neuromedin U is necessary for normal gastrointestinal motility and is regulated by serotonin. *Ann NY Acad Sci* 2010; 1200: 104–111.
- Nakayama D, Magami Y, Azuma T, Inokuchi H, Furukawa M, Ohyashiki J, et al. Turnover of acinar and islet cells in the pancreas of monosodium glutamate-treated obese mice. *Obes Res* 2003; 11 (1): 87–94.

Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, Heine RJ, Henry RR, Pratley R, Zinman B, Kahn R. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: Implications for care. **Diabetes Care** 2007; 30 (3): 753-759.

Nauck MA, Niedereichholz U, Ettl R, Holst JJ, Orskov C, Ritzel R, Schmiegel WH. Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 1997; 273 (5): 981–988.

Nauck MA, Stockmann F, Ebert R, Creutzfeldt W. Reduced incretin effect in Type2 (non-insulin-dependent) diabetes. **Diabetologia** 1986; 29 (1): 46-52

Nieto-Vazquez I, Fernández-Veledo S, Krämer DK, Vila-Bedmar R, Garcia-Guerra L, Lorenzo M. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. **Arch Physiol Biochem** 2008;114 (3): 183-94.

Norris SL, Zhang X, Avenell A, Gregg E, Brown TJ, Schmid CH, Lau J. Long-term nonpharmacologic weight loss interventions for adults with type 2 diabetes. **Cochrane Database Syst Rev** 2005; 18: CD004095.

O'Harte F, Bockman CS, Abel PW, Conlon JM. Isolation, structural characterization and pharmacological activity of dog neuromedin-U. **Peptides** 1991; 12: 11–15

Olney JW. Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. **Science** 1969; 164 (3880): 719–721.

Ostlund RE, Yang JW, Klein S, Gingerich R. Relationship between plasma leptin concentration and body fat, sex, diet, age and metabolic variables. **J Clin Endocrinol Metab** 1996; 81 (11): 3909-13.

Peier, A. M., Desai, K., Hubert, J., Du, X., Yang, L., Qian, Y., Kosinski, J. R., Metzger, J. M., Poci, A., Nawrocki, A. R., Langdon, R. B. And Marsh, D. J. 2011. Effects of peripherally administered neuromedin U on energy and glucose homeostasis. **Endocrinology** 152: 2644–2654.

Perelló M, Gaillard RC, Chisari A, Spinedi E. Adrenal enucleation in MSG-damaged hyperleptinemic male rats transiently restores adrenal sensitivity to leptin. **Neuroendocrinology** 2003; 78 (3): 176–184.

Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. **JAMA** 2004; 291(14): 1730–1737.

Pyorala M, Miettinen H, Halonen P, Laakso M, Pyorala K. Insulin resistance syndrome predicts the risk of coronary heart disease and stroke in healthy middle-aged men: the 22-year follow-up results of the Helsinki Policemen Study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** 2000; 20: 538–544.

Qiao Q, Larsen S, Borch-Johnsen K, Nissinen A, Pekkanen J, Tuomilehto J, Jousilahti P, Lindstrøm J, Pyörälä M, Pyorala K, Balkau B, Eschwege E, Gallus G, Garancini MP, Bouter LM, Dekker JM, Heine RJ, Nijpels G, Stehouwer CDA, Feskens EJM, Kromhout D, Peltonen M, Pajak A, Eriksson J. Glucose tolerance and cardiovascular mortality. Comparison of fasting and 2-hour diagnostic criteria. **Arch Intern Med** 2001; 161 (3): 397–405.

Raddatz R, Wilson AE, Artymyshyn R, Bonini JA, Borowsky B, Boteju LW, et al. Identification and characterization of two neuromedin U receptors differentially expressed in peripheral tissues and the central nervous system. **J Biol Chem** 2000; 275: 32452–32459.

- Rathmann W, Giani G, Wild SH. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care** 2004; 27 (10): 2568–2569.
- Rattazzi M, Puato M, Faggini E, Bertipaglia B, Zambon A, Pauletto P. C-reactive protein and interleukin-6 in vascular disease: culprits or passive bystanders? **J Hypertens** 2003; 21: 1787–803.
- Read N, French S, Cunningham K. The role of the gut in regulation food intake in man. **Nutr Rev** 1994; 52 (1): 1–10
- Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes** 1988; 37 (12): 1595–1607.
- Resnick LM. Ionic basis of hypertension, insulin resistance, vascular disease, and related disorders. The mechanism of “syndrome X”. **Am J Hypertens** 1993;6 (4): 123- 34.
- Ritchie SA, Connenl JM. The link between abdominal obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. **Nutr Metab Cardio Vasc Dis** 2007; 17 (4):319–326.
- Roarsman MJ, Braun PM. Regulation of insulin secretion in human pancreatic islets. **Annu Rev Physiol** 2013; 75: 155-179.
- Rochlani Y, Pothineni NV, Kovelamudi S, Mehta JL. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. **Ther Adv Cardiovasc Dis** 2017; 11 (8) 215–225.
- Rogers P, Webb GP. Estimation of body fat in normal and obese mice. **Br J Nutr** 1980; 43 (1): 83-86.
- Rosa DD, Grześkowiak LM, Ferreira C, Fonseca ACM, Reis SA, Dias MM, Siqueira NP, Silva LL, Neves CA, Oliveira LL, Machado ABF, Peluzio MCG. Kefir reduces insulin resistance and inflammatory cytokine expression in an animal model of metabolic syndrome. **Food Funct** 2016; 7 (8): 3390-401.
- Rubino F, Forgione A, Cummings DE, Vix M, Gnuli D, Mingrone G, Castagneto M, Marescaux J. The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. **Ann Surg** 2006; 244 (5): 741-749.
- Rubino F, Gagner M. Weight Loss and Plasma Ghrelin Levels. **N Engl J Med** 2002; 24; 347 (17):1391-81.
- Saleem U, Khaleghi M, Morgenthaler NG. Plasma carboxy-terminal provasopressin (copeptin): a novel marker of insulin resistance and metabolic syndrome. **J Clin Endocrinol Metab** 2009; 94 (7): 2558–2564.
- Sanches JR, França LM, Chagas VT, Gaspar RS, Dos Santos KA, Gonçalves LM, Sloboda DM, Holloway AC, Dutra RP, Carneiro EM, Cappelli APG, Paes AMA. Polyphenol-Rich Extract of Syzygium cumini Leaf Dually Improves Peripheral Insulin Sensitivity and Pancreatic Islet Function in Monosodium L-Glutamate-Induced Obese Rats. **Front Pharmacol** 2016; 10: 7:48.
- Scrocchi LA, Brown TJ, Maclusky N, Brubaker PL, Auerbach AB, Joyner AL, Drucker DJ. Glucose intolerance but normal satiety in mice with a null mutation in the glucagonlike peptide 1 receptor gene. **Nat Med** 1996; 2: 1254–1258.

Shan L, Qiao X, Crona JH, Behan J, Wang S, Laz T et al. Identification of a novel neuromedin U receptor subtype expressed in the central nervous system. **J Biol Chem** 2000; 275: 39482–6

Shaw JE, Chisholm DJ. Epidemiology and prevention of type 2 diabetes and the metabolic syndrome. **Med J Aust** 2003; 179 (7): 379–383.

Shen, JZ, Ma LN, Han Y, Liu JX, Yang WQ, Chen L, Liu Y, Hu Y, Jin MW. Pentamethylquercetin generates beneficial effects in monosodium glutamate-induced obese mice and C2C12 myotubes by activating AMP-activated protein kinase. **Diabetologia** 2012; 55: 1836–1846.

Sinha MK. Human leptin: adipose tissue hormone. **Eur J Endocrinol** 1997; 136 (5): 461-4.

Steel JH, Vannoorden S, Ballesta J, Gibson SJ, Ghatei MA, Burrin J, Leonhardt U, Domin J, Bloom SR, Polak JM. Localization of 7B2, neuromedin-B, and neuromedin-U in specific cell-types of rat, mouse, and human pituitary, in rat hypothalamus and in 30 human pituitary and extrapituitary tumors. **Endocrinology** 1988; 122: 270–282.

Stenlöf K, Wernstedt I, Fjällman T, Wallenius V, Wallenius K, Jansson JO. Interleukin-6 levels in the central nervous system are negatively correlated with fat mass in overweight/obese subjects. **J Clin Endocrinol Metab** 2003; 88 (9) :4379-83.

Stephens JM, Pekala PH, Carter BZ, Malter JS. Tumor necrosis factor alpha-induced glucose transporter (GLUT-1) mRNA stabilization in 3T3-L1 preadipocytes. Regulation by the adenosine-uridine binding factor. **J Biol Chem** 1992; 267 (12): 8336-41.

Szekeres PG, Muir AI, Spinage LD, Miller JE, Butler SI, Smith A, Rennie GI, Murdock PR, Fitzgerald LR, Wu HI, McMillan LJ, Guerrero S, Vawter L, Elshourbagy NA, Mooney JL, Bergsma DJ, Wilson S, Chambers JK. Neuromedin U is a potent agonist at the orphan G protein-coupled receptor FM3. **J Biol Chem** 2000; 275: 20247–20250.

Takayama, K., Taguchi, A., Yakushiji, F., and Hayashi, Y. (2016) Identification of a degrading enzyme in human serum that hydrolyzes a C-terminal core sequence of neuromedin U. **Biopolymers** 2016; 4; 106 (4):440-5.

Timpson NJ, Lawlor DA, Harbord RM, Gaunt TR, Palmer LJ, Hattersley AT, Ibrahim S, Lowe GD, Rumley A, Davey Smith G. C-reactive protein and its role in metabolic syndrome: mendelian randomisation study. **Lancet** 2005; 3; (9501): 1954-1959.

Tsimikas S, Willeit J, Knoflach M. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, ferritin levels, metabolic syndrome, and 10-year cardiovascular and non-cardiovascular mortality: results from the Bruneck study. **Eur Heart J** 2009; 30 (1): 107–115.

Unger RH, Eisentraut AM, Madison LL. The effects of total starvation upon the levels of circulating glucagon and insulin in man. **J Clin Invest** 1961;40: 1280-1289.

Vague J. Sexual differentiation. A determinant factor of the forms of obesity. 1947. **Obesity Research** 1996; 4 (2): 201–203.

Vanesa VG, O'Driscoll L. NMU: multifunctional neuropeptide with pleiotropic roles. **Clin Chem** 2015; 6 (3).

Vilsboll T, Agersø H, Krarup T, Holst JJ. Similar elimination rates of glucagon-like peptide-1 in obese type 2 diabetic patients and healthy subjects. **J Clin Endocrinol Metab** 2003; 88 (1), 220–224.

Viltsboll T, Holst JJ. Incretins, insulin secretion and type 2 diabetes mellitus. **Diabetologia** 2004 ;47 (3):357-366.

Von Diemen V, Trindade EN, Trindade MRM. Experimental model to induce obesity in rats. **Acta Cir Bras** 2006; 21 (6): 425–429.

Wang Y, Park S, Bajpayee NS, Nagaoka Y, Boulay G, Birnbaumer L, Jiang M. Augmented glucose-induced insulin release in mice lacking G(o2), but not G(o1) or G(i) proteins. **Proc Natl Acad Sci USA** 2011; 108: 1693-1698.

Westfall TD, McCafferty GP, Pullen M, Gruver S, Sulpizio AC, Aiyar VN, Disa J, Contino LC, Mannan IJ, Hieble JP. Characterisation of neuromedin U effects in canine smooth-muscle. **J Pharmacol Exp Ther** 2001; 301:987–992.

Wettergren A, Schjoldager B, Mortensen P, Petersen H, Orskov C, Holst JJ. Effect of GLP-1 on gastric motility and gastric and pancreatic secretion in man. **Digestion** 1993; 54: 384–385.

Wettergren A, Wojdemann M, Meisner S, Stadil F, Holst JJ. The inhibitory effect of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 7–36 amide on gastric acid secretion in humans depends on an intact vagal innervation. **Gut** 1997, 40 (5): 597–601.

Windelov JA, Pedersen J. Use of anesthesia dramatically alters the oral glucose tolerance and insulin secretion in C57Bl/6 mice. **Physiol Rep** 2016; 4 (11).

Wong ND. Intensified screening and treatment of the metabolic syndrome for cardiovascular risk reduction. **Prev Cardiol** 2005; 8 (1): 47–54.

Yang ZH, Miyahara H, Takeo J, Katayama M. Diet high in fat and sucrose induces rapid onset of obesity-related metabolic syndrome partly through rapid response of genes involved in lipogenesis, insulin signalling and inflammation in mice. **Diabetol Metab Syndr** 2012; 4 (1): 32.

Yin GS, Lin SD, Xu DC, Sun RQ, Lin K, Lin CJ. Handle Region Peptide Ameliorating Insulin Resistance but Not beta Cell Functions in Male Rats Neonatally Treated with Sodium L-Glutamate. **Int J Endocrinol** 2013; 2013: 493828

Zeng H, Gragerov A, Hohmann JG, Pavlova MN, Schimpf BA, Xu H. Neuromedin U receptor 2-deficient mice display differential responses in sensory perception, stress, and feeding. **Mol Cell Biol** 2006; 26: 9352– 9363.

Zhang W, Sakoda H, Miura A, Shimizu K, Mori K, Miyazato M, Takayama K, Hayashi Y, Nakazato M. Neuromedin U suppresses glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic β cells. **Biochem Biophys Res Commun** 2017; 493 (1): 677-683.

Zimmet P, Shaw J, Alberti KG. Preventing Type 2 diabetes and the dysmetabolic syndrome in the real world: a realistic view. **Diabet Med** 2003; 20:693-702.

Zunz E, Labarre J. Contributions à l'étude des variations physiologiques de la secretion interne du pancréas: relations entre les sécrétions externe et interne du pancréas. **Arch Int Physiol Biochim** 1929; 31: 20-44.

Zurbier CJ, Keijzers PJ, Koeman A, Van Wezel HB, Hollmann MW. Anesthesia's effects on plasma glucose and insulin and cardiac hexokinase at similar hemodynamics and without major surgical stress in fed rats. **Anesth Analg** 2008; 106: 135–142.

8. ÖZGEÇMİŞ



9. EKLER



Ek-1. Etik Kurul Onay Belgesi

Evrak Tutarın ve Sayısı: 16.02.2021-E.18867



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Etik Kurulu

Sayı : E-60758568-020-18867
Konu : Başvurunuz Hk.

Sayın Prof. Dr. Vural KÜÇÜKATAY

İlgi : 12/02/2021 tarihli dilekçeniz. 10.150.1.120
106831
17.04.2023

"Metabolik Sendrom / Hipotalamik Obez Hayvan Modelinde Neuromedin U⁴ nun Glikoz Metabolizması Üzerine Olan Etkilerin Araştırılması" (PAUHDEK-2021/11) konulu çalışmanız 15.02.2021 tarih ve 2021/02 sayılı toplantımızda görüşülmüş olup

Yapılan görüşmelerden sonra, söz konusu çalışmanın Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğuna ve 30 adet sıçan kullanılarak yapılmasına oy birliği ile karar verildi.

Prof. Dr. Gülçin METE
Başkan

Belge Doğrulama Kodu: BE8V6ZDFT Pin Kodu: 87032

Belge Takip Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/pau-ebys>

Adres: Tıp Fakültesi Dekanlığı Kimik/İzmir

Telefon 0 (025) 8 Faks:0 (258) 296 17 65

e-Posta:hadek@pau.edu.tr Elektronik Ağ: <http://www.pau.edu.tr>

Keşif Adresi: pau.rektoriye@hs01.kep.tr

Bilgi için: Selda BAKIR
Unvanı: Bilgisayar İşletmeni



Detraining reverses exercise-induced improvement in blood pressure associated with decrements of oxidative stress in various tissues in spontaneously hypertensive rats

Ozgen Kilic-Erkek¹ · Emine Kilic-Toprak² · Sadettin Caliskan¹ · Yusuf Ekbiç¹ · İsmail Hakki Akbudak³ · Vural Kucukatay¹ · Melek Bor-Kucukatay¹

Received: 17 September 2015 / Accepted: 15 December 2015 / Published online: 26 December 2015
© Springer Science+Business Media New York 2015

Abstract This study aimed to investigate the effects of moderate intensity swimming exercise (10 weeks) followed by detraining (for five and 10 weeks) on oxidative stress levels of heart, lung, kidney, and liver tissues and systolic blood pressure (SBP) of spontaneously hypertensive rats (SHR). SHR and control rats were randomized into sedentary, exercised, detrained (5 weeks) and late-detrained (10 weeks) groups. Corresponding sedentary rats were grouped as time 1-2-3. Exercise of 60 min, 5 days/week/10 weeks was applied. Detraining rats underwent the same training protocol and then discontinued training during next 5, 10 weeks. SBP was measured by tail-cuff

method. Tissue total oxidant/antioxidant status was measured using a commercial kit and oxidative stress index (OSI) was calculated. Exercise training slightly decreased tissue OSI of SHR and reduced SBP of both groups. Tissue OSI of SHR were higher than WKY and aging resulted in increment of oxidants in groups. detraining yielded time-dependent increments in oxidative stress of all tissues and SBP of both rat groups. Although short-term cessations may be tolerated, our results emphasize the importance of exercising as a way of life for cardiovascular well-being in hypertensives or in individuals who are genetically under risk of hypertension.

Keywords Swimming · Physical inactivity · Hypertension · Total oxidant-antioxidant status · Tissue oxidative stress



¹ Faculty of Medicine, Department of Physiology, Pamukkale University, Kinikli, 20070 Denizli, Turkey

² Denizli Health Services Vocational High School, Department of Physiotherapy, Pamukkale University, Kinikli, Denizli, Turkey

³ Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey

Introduction

Hypertension (HT) is one of the most important modifiable risk factors for cardiovascular, cerebrovascular, and renal diseases, contributing to morbidity and mortality worldwide [1]. Many factors have been associated with the development and maintenance of HT as well as HT-induced organ damage. There has recently been enough evidence that oxidative stress is involved in the pathophysiology of various forms of HT [2]. Reactive oxygen species (ROS) were suggested to play an important role in HT-related alterations through their effects on cellular functions such as inactivation of nitric oxide (NO), regulation of cell growth and differentiation, modulation of synthesis and degradation of extracellular matrix (ECM) proteins and activation of many kinases and of pro-inflammatory genes [3]. SHR, which are normotensive at

INCREASED ERYTHROCYTE AGGREGATION AND OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH IDIOPATHIC INTERSTITIAL PNEUMONIA

Erhan Ugurlu¹, Emine Kilic-Toprak², Goksel Altinisik¹, Ozgen Kilic-Erkek², Betul Cengiz¹, Vural Kucukatay², Hande Seno³, Ismail Hakki Akbudak⁴, Yusuf Ekbic², Melek Bor-Kucukatay²

¹ Pamukkale University, Faculty of Medicine, Department of Chest Disease, Kinikli, Denizli, Turkey; ² Pamukkale University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, Kinikli, Denizli, Turkey; ³ Pamukkale University, Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, Kinikli, Denizli, Turkey; ⁴ Erciyes University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Kayseri, Turkey

ABSTRACT. *Background:* Hemorheological properties are important determinants of tissue oxygenation. Although hemorheological alterations in various lung diseases have been well-defined, no information is available about the effects of idiopathic interstitial pneumonia (IIP) on hemorheological parameters. *Objectives:* The aim of this study was to investigate hemorheological parameters (erythrocyte deformability, aggregation, and plasma viscosity -PV) and associated oxidative stress indices in patients with IIP. *Methods:* The study enrolled 31 patients (9 Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), 10 non-specific Interstitial Pneumonia (NSIP), 12 Cryptogenic Organising Pneumonia (COP) and 33 healthy controls. Erythrocyte deformability and aggregation were measured by an ektacytometer. PV was determined by a cone-plate rotational viscometer and oxidative stress via a commercial kit. *Results:* Erythrocyte aggregation, total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI) of IIP patients were higher than controls whereas erythrocyte deformability, PV and total antioxidant status (TAS) were unaltered. *Conclusions:* Increment of oxidative stress in IIP seems to depend on enhancement of oxidants, rather than alteration of antioxidants. The issue that, elevated erythrocyte aggregation may further impair tissue oxygenation by disturbing microcirculation in IIP, may be considered in the follow up and development of new treatment protocols for this disease. (*Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2016; 33: 308-316)

KEY WORDS: idiopathic interstitial pneumonia; erythrocyte deformability; erythrocyte aggregation; viscosity, oxidative stress.

Glossary of abbreviations

AI: Aggregation Index
AIP: Acute Interstitial Pneumonia

Received: 10 December 2015
Accepted after revision: 14 March 2016
Correspondence: Emine Kilic-Toprak
Pamukkale University, Denizli Health Services
Vocational High School, Department of Physiotherapy and
Faculty of Medicine, Department of Physiology,
Kinikli, 20070 Denizli, Turkey

CCP: Chronic Cor Pulmonale
COP: Cryptogenic Organising Pneumonia
COPD: Chronic Obstructive Pulmonary Disease
CRP: C-Reaktif Protein
DIP: Desquamative Interstitial Pneumonia
DL_{CO}: Carbon Monoxide Diffusion Capacity Of The Lung
EI: Elongation Index
FEV₁: Forced Expiratory Volume In The First Second
FVC: Forced Vital Capacity,
Hb: Hemoglobin
Hct: Hematocrit
IG A: Immunoglobulin A
IG G: Immunoglobulin G
IG M: Immunoglobulin M

Investigation of the effects of major ozone autohemotherapy application on erythrocyte deformability and aggregation

Ismail Hakki Akbudak^{a,*}, Vural Kucukatay^b, Ozgen Kilic-Erkek^b,
Yasin Ozdemir^b and Melek Bor-Kucukatay^b

^a*Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Pamukkale University, Denizli, Turkey*

^b*Department of Physiology, Faculty of Medicine, Pamukkale University, Denizli, Turkey*

Abstract.

BACKGROUND: Ozone is used intensively worldwide in treatment and research of various pathologies due to its healing effects.

OBJECTIVE: The aim of this study is to investigate the effect of major ozone autohemotherapy on erythrocyte deformability and aggregation.

METHODS: 10 and 50 µg/ml doses of ozone was applied for 20 minute to venous blood samples obtained from 10 healthy male volunteers. Erythrocyte aggregation, deformability were measured by an ektacytometer. Total oxidant status, total antioxidant status were measured via a commercial kit. The oxidative stress index was calculated.

RESULTS: Ozone at 10 and 50 µg/ml doses did not alter erythrocyte aggregation. 50 µg/ml ozone increased red blood cell (RBC) deformability measured at 0.53 Pa. Compared with the Control value, there was a significant increase in TOS, TAS for the doses of 10 and 50 µg/ml. The increase in TAS was found to be more significant at 10 µg/ml dose. The most obvious increase in OSI value was observed at 50 µg/ml.

CONCLUSION: Our results demonstrate that although 10 µg/ml ozone has no effect on hemorheology, 50 µg/ml ozone concentration has positive effects on RBC deformability, thus circulation at 0.53 Pa corresponding to the shear stress encountered during venous circulation.

Keywords: Ozone therapy, RBC deformability, erythrocyte aggregation, oxidative stress

1. Introduction

Ozone (O₃), consisting of three oxygen atoms, is a colorless gas that is heavier than air [1]. Currently, it is extensively used for several purposes in textile and food industries [2]. The O₃ used in these fields is obtained from atmosphere and termed as technical O₃. Medical O₃ is a compound obtained from pure oxygen [3]. The use of medical O₃ dates back to 18th century when it was initially used as a disinfectant [4]. Over time, the O₃ has appeared as a modality of alternative medicine employed in the treatment of many diseases [5]. In parallel to increasing use, many publications regarding use and effects of O₃ therapy in the treatment of several diseases have contributed to scientific literature in recent years [6, 7]. O₃ concentrations ranging from 10 to 80 µg/mL are commonly used in scientific literature. Usage of O₃ at <5–10 µg/mL or >80 µg/mL concentrations isn't recommended since former is immediately

*Corresponding author: Ismail Hakki Akbudak, Pamukkale University, Faculty of Medicine, Department of Internal