



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**GLUKAGON STİMÜLASYON TESTİ'NİN (GST)
HİPOTALAMO – PİTÜİTER ADRENAL (HPA) VE
GROWTH HORMON (GH) AKSINI UYARICI ETKİSİ
FİBROBLAST GROWTH FACTOR-21 (FGF-21)
ÜZERİNDEN Mİ GERÇEKLEŞİYOR?**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. İlyas AKKAR

KAYSERİ – 2020



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**GLUKAGON STİMÜLASYON TESTİ'NİN (GST)
HİPOTALAMO – PİTÜİTER ADRENAL (HPA) VE
GROWTH HORMON (GH) AKSINI UYARICI ETKİSİ
FİBROBLAST GROWTH FACTOR-21 (FGF-21)
ÜZERİNDEN Mİ GERÇEKLEŞİYOR?**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. İlyas AKKAR

**Danışman
Prof. Dr. Züleyha C. Ö. KARACA**

KAYSERİ – 2020

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince bilgisinden ve deneyimlerinden yararlandığım, tezimin planlanması ve yürütülmesinde destek ve yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Züleyha KARACA'ya,

Tez çalışmalarım boyunca tüm zorlukları kolaylaştıran ve her zaman desteğiyle yanımda olan, hayattaki en büyük varlığım, bir tanem sevgili canım eşim Sema AKKAR'a ve canım kızım Zeynep Şıfa AKKAR'a,

FGF21 analizinde katkılarından dolayı Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD öğretim üyesi Doç. Dr. Serpil TAHERİ ve GENKÖK çalışanlarına,

Tezin hazırlanması sırasında katkılarından dolayı Prof. Dr. Fatih TANRIVERDİ'ye ve Prof. Dr. Kürşad ÜNLÜHİZARCI'ya, bilgi ve tecrübeleri ile bizleri yetiştiren saygıdeğer hocalarımıza, endokrin test hemşiresi Ayşegül URAT'a, tezimde gönüllü olma özverisini gösteren değerli gönüllü kişiler'e ve arkadaşlarıma,

Eğitim hayatım boyunca hep yanımda olan, sevgi ve desteklerini esirgemeyen fedakâr anneme, babama ve kardeşlerime, teşekkür ederim.

Tezde kullanılan FGF21 kiti, glukagon preparatı ile gönüllülerin hipofiz fonksiyon ölçümleri Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kurulu tarafından desteklenmiştir. Bu finansal destekten dolayı teşekkür ederim. (PROJE NO: TTU-2019-9216)

Dr. İlyas AKKAR

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iii
TABLolar LİSTESİ.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT	vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Hipofiz Bezi Ve Salgılanan Hormonlar	3
2.2 Hipotalamo – Pitiüter – Adrenal Aks Ve Değerlendirilmesinde Kullanılan Testler	4
2.3. Glukagon Stimülasyon Testi	5
2.4. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF) – 21 ve Gen Ailesi	6
2.4.1. FGF21'in Metabolik Etkileri	8
2.5. Glukagon ile FGF21 İlişkisi.....	8
3. MATERYAL METOD	11
3.1. Gönüllülerin Dahil Edilme Kriterleri	11
3.2. Gönüllülerin Dışlama Kriterleri	12
3.3. Yöntem.....	12
3.3.1. Biyokimyasal ve Hormonal Değerlendirmede Kullanılan Yöntem ve Kitler .	14
3.4. İstatistiksel Analiz.....	15
4. BULGULAR.....	17
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇLAR	41
7. KAYNAKLAR	43
ONAY.....	57

KISALTMALAR

ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
AKŞ	: Açlık kan şekeri
d.k.	: Dakika
ELİSA	: Enzyme linked immunesorbent assay
ERÜTF	: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
FGF	: Fibroblast growth factör
FGF-21	: Fibroblast growth factör – 21
FSH	: Follikül stimüle edici hormon
GH	: Growth hormon (büyüme hormonu)
GST	: Glukagon stimülasyon testi
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HOMA – IR	: Homeostatic model assessment of insülin resistance
HPA	: Hipotalamo – pitüiter – adrenal
IGF-1	: İnsülin benzeri growth faktör - 1
i.m	: İntramüsküler
i.v	: İntravenöz
İTT	: İnsülin tolerans testi
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LH	: Lüteinize edici hormon
mg	: Miligram
PRL	: Prolaktin
ST4	: Serbest tiroksin
TG	: Trigliserit
TSH	: Tiroid stimüle edici hormon
VKİ	: Vücut kitle indeksi

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Bazal hipofiz hormonlarının referans aralığı	15
Tablo 2. Gönüllülerin demografik özellikleri ve bazal hormon düzeyleri.....	18
Tablo 3. Gönüllülerin demografik özellikleri	18
Tablo 4. Bazal kan değerleri ve hormonların karşılaştırılması	19
Tablo 5. Glukagon stimülasyon testine glukoz ve hormon yanıtları	19
Tablo 6. Glukagon öncesi ve sonrası değişim.....	20
Tablo 7. Normal kilolu ve obez grubun glukagon öncesi ve sonrası değişimi	20
Tablo 8. GST boyunca dakikalara göre korelasyon	24
Tablo 9. GST boyunca obez grubun anlamlı olan korelasyon ve R değerleri	24
Tablo 10. GST boyunca normal kilolu grubun anlamlı olan korelasyon ve R değerleri	25

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	HPA aks fonksiyonu ve dinamik testler	5
Şekil 2.	Çeşitli beslenme ve hücrel stresler, artmış serum FGF21 seviyesi ile ilişkilidir. Bu koşulların çoğu, doku seviyelerinde FGF21'in gelişimini gösterir.	7
Şekil 3.	FGF21 etki mekanizması.....	8
Şekil 4.	Büyüme hormonu ve FGF21 arasındaki sinyal bağlantıları.....	10
Şekil 5.	Bazal ve glukagon sonrası pik FGF21, GH, kortizol, glukoz ve insülin yanıtı	21
Şekil 6.	Glukagon öncesi ve sonrası normal kilolu ve obez gruplarda FGF21, GH, kortizol, glukoz, insülin yanıtı.....	22
Şekil 7.	Kortizol ve GH E.A.K.A ile korelasyon grafiği	26
Şekil 8.	GST boyunca pik FGF21, GH, kortizol olduğu dakikalar ve kişi sayısı	27
Şekil 9.	Glukagona kortizol yanıtı	28
Şekil 10.	Normal kilolu ve obez grupta glukagona kortizol yanıtı.....	28
Şekil 11.	Glukagona GH yanıtı.....	29
Şekil 12.	Normal kilolu ve obez grupta glukagona GH yanıtı.....	29
Şekil 13.	Glukagona FGF21 yanıtı	30
Şekil 14.	Normal kilolu ve obez grupta glukagona FGF21 yanıtı	30
Şekil 15.	Glukagona insülin yanıtı.....	31
Şekil 16.	Normal kilolu ve obez grupta glukagona insülin yanıtı	31
Şekil 17.	Glukagona glukoz yanıtı.....	32
Şekil 18.	Normal kilolu ve obez grupta glukagona glukoz yanıtı	32

GLUKAGON STİMÜLASYON TESTİ'NİN (GST) HİPOTALAMO – PİTÜİTER ADRENAL (HPA) VE GROWTH HORMON (GH) AKSINI UYARICI ETKİSİ FİBROBLAST GROWTH FACTOR-21 (FGF-21) ÜZERİNDEN Mİ GERÇEKLEŞİYOR?

ÖZET

Amaç: Hipofizer fonksiyon bozukluğu olan hastalarda hipotalamo- pitüiter –adrenal (HPA) aksı değerlendirilmede kullanılan glukagon stimülasyon testi (GST)'nin etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada HPA ve growth hormon (GH) aksını uyarıcı glukagonun bu uyarıcı yapmada fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF21) üzerinden etkisinin olup olmadığının ve obezlerde GST'ye özellikle GH yanıtının daha az olmasının varsa bu durumla ilişkisinin belirlenmesi amaçlandı.

Materyal ve metod: Çalışmaya VKİ'si <25 kg/m² (normal kilolu) 15 gönüllü (10 erkek, 5 kadın) ve VKİ'si >30 kg/m² (obez) 11 gönüllü (10 erkek, 1 kadın) olmak üzere toplam 26 sağlıklı birey alınmıştır. Gönüllülerden 8 saat açlık sonrası sabah bazal kan değerleri alındı sonrasında GST yapıldı. 1 mg glukagon intramüsküler (İ.M) yolla verildikten sonra 90, 120, 150, 180, 210 ve 240 dakika sonra plazma GH, FGF21, kortizol, insülin, glukoz ölçümü için kan örnekleri alındı.

Bulgular: Obez olan grupta LDL, total kolesterol, trigliserid yüksek iken HDL kolesterol düşük bulunmuştur. Normal kilolu grupta obez gruba göre pik GH, GH E.A.K.A değerleri daha yüksek en düşük glukoz değeri ise daha düşük bulundu. Bunun dışında kortizol, FGF21 ve insülin düzeyleri ne bazalde ne de GST sonrası obez ve normal kilolularda herhangi bir farklılık göstermedi. Glukagon yapıldıktan sonra FGF21, glukoz, insülin, kortizol ve GH değerlerinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi. Ancak yapılan korelasyon analizlerinde GST'ye GH ya da kortizol cevabıyla FGF21 arasında bir ilişki saptanmadı.

Sonuç: Glukagona cevap olarak FGF21 düzeylerinde artış görülmekte ancak bu artışın GST'ye GH ve kortizol cevaplarıyla herhangi bir ilişkisi bulunmamaktadır. GST'de normal kilolu grupta GH yanıtının daha belirgin olması hipogliseminin daha derin olmasına bağlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Glukagon stimülasyon testi, hipotalamo- pitüiter –adrenal aks, growth hormon, FGF21, obez, normal kilolu, kortizol

**DOES GLUCAGON STIMULATION TEST (GST) STIMULATE THE
HYPOTHALAMO - PITUITARY ADRENAL (HPA) AND THE GROWTH
HORMON (GH) AXIS VIA FIBROBLAST GROWTH FACTOR-21 (FGF-21)?**

ABSTRACT

Aim: In patients with pituitary dysfunction the mechanism of action of the glucagon stimulation test (GST) used to evaluate the hypothalamo-pituitary –adrenal (HPA) axis is not completely understood. In this study, we aimed to determine if glucagon which stimulates the HPA and growth hormone (GH) axis has an effect on fibroblast growth factor 21 (FGF21) and if GH's less response to GST in obese people is linked to this situation.

Materials and methods: A total of 26 healthy individuals, 15 volunteers (10 men, 5 women) with BMI <25 kg / m² (normal weight) and 11 volunteers (10 men, 1 woman) with BMI > 30 kg / m² (obese). Basal blood values were taken from the volunteers in the morning after 8 hours of fasting, and then GST was performed. After 1 mg glucagon intramuscularly (i.m) injection blood samples were taken to measure plasma level of GH, FGF21, cortisol, insulin and glucose in 90th, 120th, 150th, 180th, 210th and 240th minutes.

Results: In the obese group, LDL, total cholesterol and triglycerides were high, while HDL cholesterol was low. While the peak GH, GH A.U.C. values were higher, the lowest glucose value was found to be lower in the group with normal weight. Apart from that, cortisol, FGF21 and insulin levels did not differ either in basal blood level or after GST application in obese and normal weight. After glucagon application, FGF21, glucose, insulin, cortisol and GH values increased significantly. However, in the correlation analysis, no relationship was found between GH or cortisol response to GST with FGF21 response.

Conclusion: There is an increase in FGF21 levels in response to glucagon, but this increase has no relation with GH and cortisol responses to GST. The higher GH response to GST in normal weight group may at least partially explained by lower levels of glycemia.

Key words: Glucagon stimulation test, hypothalamo- pituitary-adrenal axis, growth hormone, FGF21, obese, normal weight, cortisol

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Hipotalamo-Pitüiter-Adrenal (HPA) aksın bütünlüğü strese karşı uygun kortizol yanıtının verilmesinde önemlidir. HPA aksın değerlendirilmesinde sık kullanılan testler, insülin tolerans testi (İTT), Adrenokortikotropik hormon (ACTH) testi ve glukagon stimülasyon testleridir (1-5). Glukagon, pankreas α -hücrelerinden hipoglisemiye cevap olarak salgılanır ve eşzamanlı olarak glikojen sentezini inhibe ederken, glikojenoliz ve glukoneogenezi artıran, insülinin etkisine karşı birincil hormondur (6). İntramusküler (i.m) ya da subkutan glukagon verilmesinin insanlarda growth hormon (GH) ve kortizol sekresyonunda artışa neden olduğu yıllardan beri bilinmektedir (7-9).

Glukagonun HPA ve GH aksını hipotalamo hipofizer düzeyde uyardığı düşünülmeyle beraber tam olarak nasıl etki ettiği bilinmemektedir (10,11). Glikoz ve lipid metabolizmasının temel bir düzenleyicisi olan glukagon ayrıca, kısmen fibroblast-büyüme faktörü 21 (FGF21) sekresyonu üzerinden kilo kaybını artırır (12).

FGF21, insanlarda üç peptid hormonu, yani FGF19, FGF21 ve FGF23 içeren FGF'lerin endokrin alt ailesinin bir üyesidir. FGF21, sadece çoklu organ enerji metabolizmasının koordinatörü değildir, aynı zamanda adaptif stres tepkilerini ortaya çıkarabilen bir stres hormondur. FGF21'in ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar ve metabolik sendrom gibi birçok metabolik bozukluğu hafifletebildiğine dair kanıtlar vardır. FGF21 vücut hemostazının düzenlenmesini sağlar ve böylece yaşam beklentisini artırır. FGF21'in aşırı ekspresyonunun farelerde yaşa bağlı değişiklikler ve yaşam beklentisiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (13). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, dolaşımdaki FGF21'in

ayrıca hipotalamusu hedef alabildiğini ve böylece HPA eksenini tarafından indüklenen stres reaksiyonlarını aktive edebileceğini ortaya koydu (13, 14).

Bu çalışmada GST'nin HPA ve GH aksını uyarıcı etkisinin FGF21 üzerinden olup olmadığının ortaya konması ve bu etkisinin obezitede glukagonun daha az uyarıcı etkisiyle ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hipofiz Bezi Ve Salgılanan Hormonlar

Hipofiz bezi beyin tabanında sfenoid kemiğin üst yüzeyindeki sella tursikada yer alır. Hipofiz bezi, hipofiz sapı ya da infundibulum aracılığıyla hipotalamusta median eminense bağlıdır. Hipofiz bezi dura tabakasıyla örtülüdür ve sella tursikanın üst kısmında dura tabakası, hipofiz sapı için süngerimsi diyafragma sellayı oluşturur (15). Hipofiz bezinin boyutu oldukça değişkendir. Yaklaşık olarak boyutu 15 x 10 x 6 mm ve 500-900 mg ağırlığındadır; gebelikte boyutları iki katına çıkabilir (16).

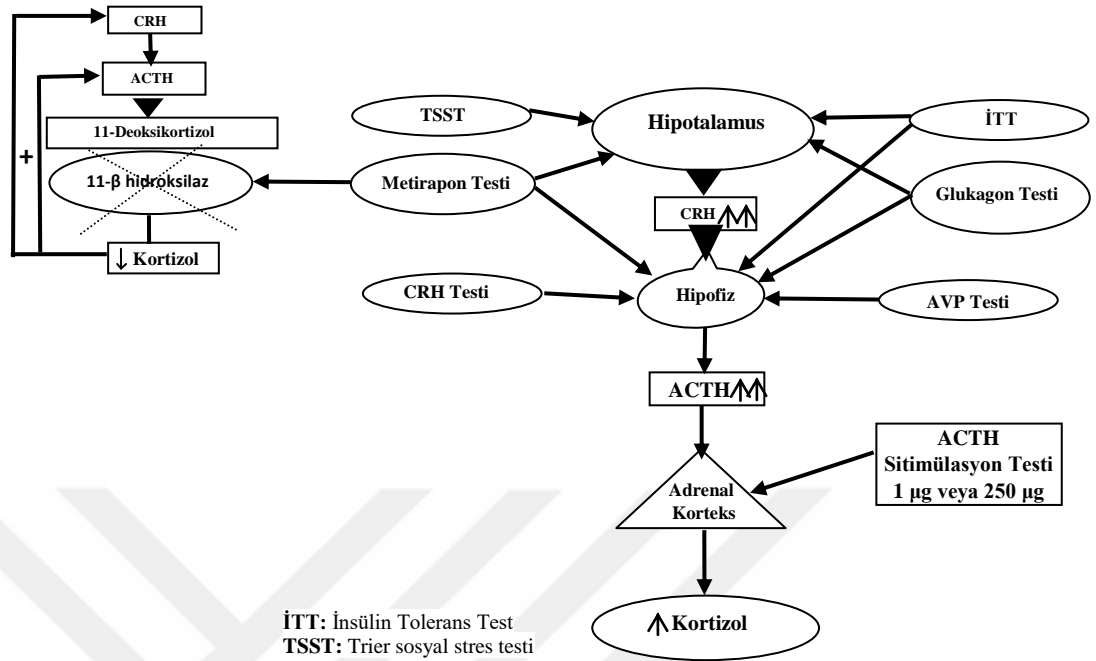
Hipofiz bezi anterior ve posterior olmak üzere iki lobdan oluşur. Anterior lob bezin %80'nini oluşturur ve buradan beş temel hormon salgılanır. Bunlar; adrenal bezleri uyaran ACTH, tiroid bezini uyaran tirod stimülan hormon (TSH), gonadları kontrol eden gonadotropinler (FSH ve LH), laktasyondan sorumlu prolaktin (PRL) ve temelde büyümeden ve ayrıca birçok metabolik olaydan sorumlu GH'dur. Anterior hipofiz bezi zengin vaskülarizasyonu olan bir dokudur ve hipotalamik-hipofizer portal sistem aracılığıyla hipotalamik salgılatıcı veya inhibitör faktörler anterior hipofize ulaşarak hormon salınımını kontrol ederler. Ayrıca hedef hücrelerden salınan hormonlar da feedback uyarılarla hipofiz ve hipotalamusa ulaşarak hormon salınımının regülasyonunda rol alırlar (17). Posterior lob, nörohipofiz olarak adlandırılan işlevsel bir birimdir ve hipotalamusun supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerinden; hipofiz sapını oluşturan nöronal aksonlardan ve median eminens veya arka lobtaki nöronal uçlardan oluşur. Arjinin vazopressin ve oksitosinin salgılanmasından sorumludur (18).

2.2 Hipotalamo – Pitiüter – Adrenal Aks Ve Değerlendirilmesinde Kullanılan Testler

Organizma yaşamın içinde her zaman homeostazis denen denge durumunu sağlamaya ve korumaya çalışmaktadır. Denge durumunu etkileyen birçok stresörle her zaman karşılaşmaktayız. Stresle karşılaşınca hormonal olarak çeşitli sistemler aktive olmaktadır. Bu sistemlerden birisi fizyolojik olarak aktif olan HPA aksın aktivitesinin artırılmasıdır (19). Hipotalamusun kontrolünde hipofizden salgılanan ACTH adrenalden kortizol salınmasını sağlar (20).

HPA aksın bütünlüğü strese karşı uygun kortizol yanıtının verilmesinde önemlidir (1). HPA aksı değerlendirmede bazal kortizol ölçümü ilk basamaktır. ACTH'nın ölçümünde metodolojik ve uygun koşullarda alınıp (antikoagülanlı tüpe alınıp hemen serum ayrıştırılmalı ve soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılmalıdır) çalışılması konusunda sıkıntılar olduğu için bazal ACTH ölçümü tanısal amaçlı sık kullanılmamaktadır. Dehidroepiandrosteron / dehidroepiandrosteron sülfat (DHEA/DHEAS) ölçümü de rutinde kullanılmamaktadır (21). Normal serum kortizolü 5-20 µg/dl arasındadır. Bazal kortizol ölçümüne alternatif olarak idrar serbest kortizol ya da tükürük kortizol'ü ölçümü önerilmektedir (22, 23). Dolaşımdaki serbest kortizol toplam kortizol'ün % 1-3'ü kadardır. Son yıllarda artan şekilde özellikle tükürük kortizol'ü rutinde kullanılmaya başlamıştır.

Bazal değerlerin HPA aks değerlendirilmesinde yeterliliği sınırlı olduğu için genellikle dinamik testler tanı amaçlı kullanılmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. HPA aks fonksiyonu ve dinamik testler (21).

2.3. Glukagon Stimülasyon Testi

Glukagon, karaciğerden glikoz salınımını düzenleyerek normoglisemiyi sağlayan, pankreasın α adacık hücrelerinden sekrete edilen, 29 aminoasitli bir peptittir. Glukagonun i.m. uygulanmasının HPA aksı CRH kadar güçlü uyardığı bildirilmiştir. Glukagon, intravenöz verildiğinde ACTH ve kortizol salgılanmasını uyarmaz (24). GST, İTT'nin ciddi komplikasyonları olması, kontrendike olduğu durumların varlığı ve growth hormon salgılatan hormon (GHRH) gibi diğer alternatif testlerin ulaşılabilirliğinde sorun olması nedeniyle geliştirilmiştir. Ulaşılabilirliği, tekrarlanabilirliği, güvenli olması ve kontrendike olduğu durumların az olması nedeniyle iyi bir alternatif testtir (25). GST'nin GH ve ACTH rezervini göstermede kullanılabileceği ilk kez 1969 yılında bildirilmiştir (26). O zamandan sonra GST'nin ACTH ve GH sekrete ettirme potansiyelinin İTT'ye yakın olduğu ya da hafif düşük olduğunu, arginin ve klonidin gibi klasik ajanlara göre GH eksikliği olan ve olmayanları daha iyi ayırt ettiğini gösteren birçok çalışma mevcuttur (27, 28). GST'de kortizol pik yanıtı için genellikle 18.0 $\mu\text{g}/\text{dl}$ ve üstü değerler yeterli cevap kabul edilmiştir (8). Tanrıverdi ve ark. sağlıklı gönüllüler üzerinde yaptığı bir çalışmada GST'de yeterli kortizol cevabı için eşik değer 10.7 $\mu\text{g}/\text{dl}$ olarak bulunmuştur (29). Erciyes Üniversitesi

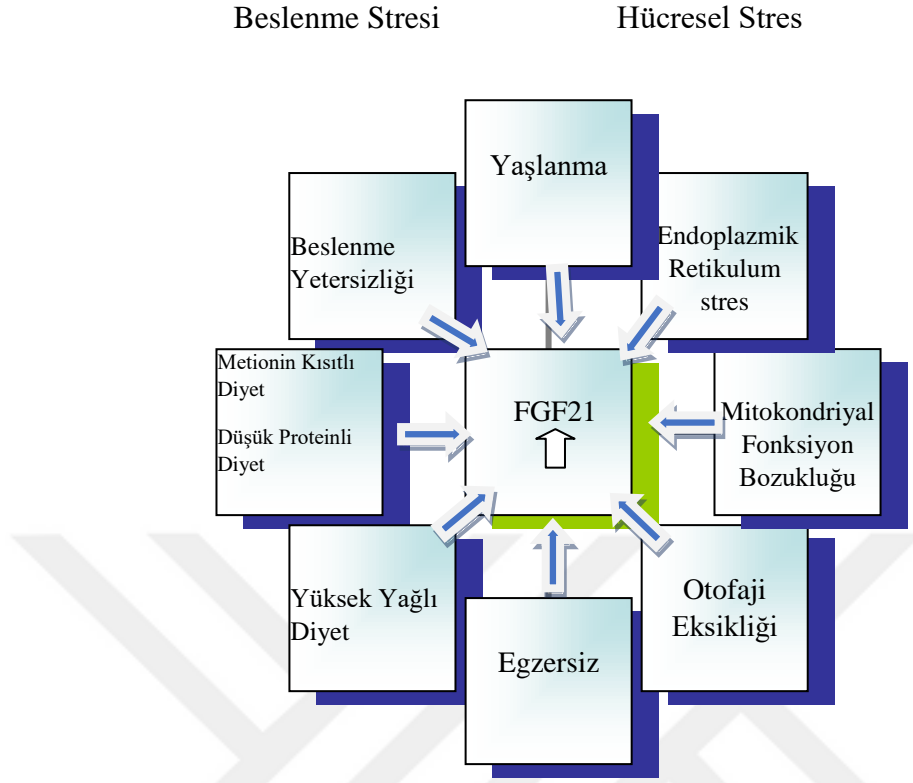
Tıp Fakültesi Endokrinoloji Kliniğinde sağlıklı popülasyonda yapılan bir çalışmada sağlıklı kişilerde GST'nin en düşük kortizol yanıtı 9.1 µg/dl, en düşük GH yanıtı ise 1,18 µg/L olarak bulunmuştur (30). Hamrahian ve ark. yaptığı bir çalışmada glukagonu sabit dozda (90 kg üzerindekiilere 1,5 mg 90 kg altındakilere 1 mg) verilmesi ve ağırlık temelli dozda (0,03 mg/kg) vererek yaptıkları çalışmada glukagon HPA aksını sabit doza göre daha efektif uyarmıştır (31).

GST genellikle iyi tolere edilir. Birkaç rölatif kontrendike olduğu durum vardır. 48 saatten uzun süren açlık, malnütrisyonu olanlarda uzamış hipoglisemiye yol açabileceğinden ve feokromositoma tanılı hastalarda hipertansif krize neden olabileceğinden rölatif kontrendikedir (32). Test sırasında gözlenen en sık yan etkiler bulantı-kusma ve baş ağrısıdır ve bu semptomların sıklığı %10-34 arasında değişmektedir (28, 33).

2.4. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF) – 21 ve Gen Ailesi

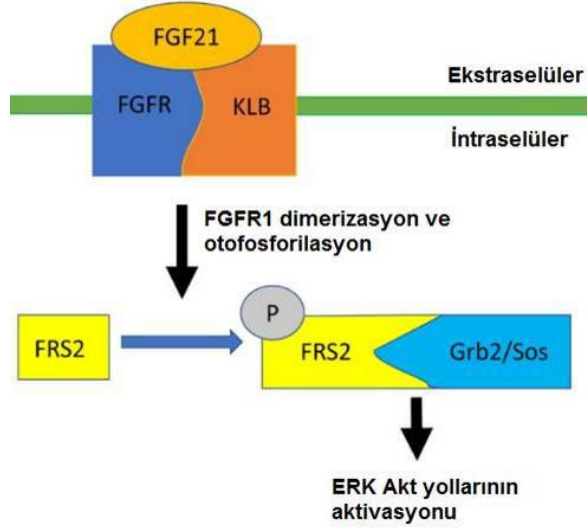
İnsan fibroblast büyüme faktörü-21(FGF21), 19.kromozomda bulunan FGF21 geni tarafından kodlanan 209 aminoasitlik bir proteinden türetilip dolaşıma verilen 181 aminoasitlik bir proteindir (34, 35). FGF21'in metabolizmayı düzenleyici etkileri ilk kez 2005 yılında Kharitonov ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (36). FGF21, insan fibroblast büyüme faktörü ailesine ait olan bir hormondur (37). FGF21 ekspresyonu başta karaciğer, beyaz ve kahverengi adipoz dokuda olmaktadır ancak pankreas, iskelet kası, kalp, böbrekler ve testislerde de az oranda ekspresyon olduğu görülmüştür (38, 39).

FGF21 terapötik etkilerini yağ doku, karaciğer, pankreas ve hipotalamusta gösteren bir proteindir (14, 40, 41). FGF21 transkripsiyonu, yağ asidi duyarlı peroksizom proliferatör reseptörler (PPARs) ve beslenme durumu (açlık ve yeniden besleme rejimleri) ile kontrol edilir. Açlık, ketojenik ve yüksek karbonhidrat diyetleri, serbest yağ asitleri ve nükleer reseptör agonistleri FGF21'in ana transkripsiyonel indükleyicileri olarak tanımlamıştır (42). FGF21 çeşitli fizyolojik koşullar ile salınımı düzenlenebilmektedir; adaptasyon ve korumayı kolaylaştırabilecek stres koşullarında salınımı uyarılmaktadır (43) (Şekil 2).



Şekil 2. Çeşitli beslenme ve hücresel stresler, artmış serum FGF21 seviyesi ile ilişkilidir. Bu koşulların çoğu, doku seviyelerinde FGF21'in gelişimini gösterir.

FGF21, insanlarda ve farelerde 24 saat içinde sirkadyen ritim sergiler. FGF21 düzeyleri gece yarısında yükselmeye başlar, sabah saatlerinde pik yapar ve öğleden sonra azalır (44-46). FGF21 hücresel seviyedeki etkilerini klasik 4 tane FGF reseptör (FGFR) 1-4 izotiplerinden oluşmuş hücre yüzey reseptörleri aracılığıyla göstermektedir (47). FGF21 temelde FGFR1 ile etki etmektedir (48). Fonksiyonel FGF21 reseptörü FGFR ve β -klotho olmak üzere yapısal olarak iki bileşenden oluşmaktadır (49). FGF21'in reseptör kompleksine bağlanması, FGFR1'in dimerizasyonuna, otofosforilasyonuna ve FGFR substrat 2 (FRS2)'nin fosforilasyonuna neden olur, bu daha sonra ekstraselüler sinyal regüle eden kinaz (ERK) ve Akt (serin/treonin kinazı) sinyal yollarını aktive etmek için büyüme faktörü reseptörüne bağlı protein 2(Grb2) / Ras guanin nükleotit değişim faktörü (Sos) ile bir kompleks oluşturur. ERK de çekirdekteki ve sitozoldeki hedef proteinleri fosforiller (50) (Şekil 3).



Şekil 3. FGF21 etki mekanizması

ERK: Extracellular signal regulated kinase, FGFR, fibroblast büyüme faktörü reseptörü, KLB: β klotho, FRS2: fibroblast büyüme faktörü reseptörü substratı 2, Grb2: büyüme faktörü reseptörüne bağlı protein 2, Sos: Ras guanin nükleotit değişim faktörü, Akt: serin/treonin kinazı

β -klotho, karaciğerde, beyaz (WAT) ve kahverengi yağ dokularında (BAT), pankreasta ve glikoz ve lipid homeostazını kritik bir şekilde modüle eden merkezi sinir sisteminde (SSS) çok miktarda bulunmaktadır (51).

2.4.1. FGF21'in Metabolik Etkileri

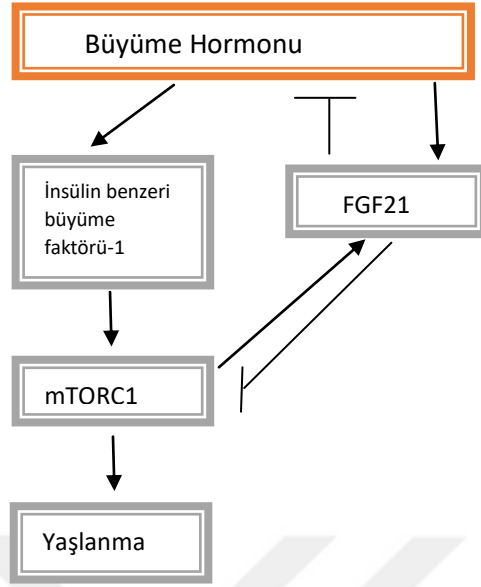
FGF21, glikoz ve lipid homeostazı üzerinde yararlı etkileri olan önemli bir enerji metabolizması düzenleyicisidir (52). FGF21' in enerji harcanmasını ve yağ kullanımını artırdığı ve bu duruma kilo kaybı, artmış vücut sıcaklığı ve oksijen tüketiminin eşlik ettiği bildirilmiştir (53, 54). FGF21'in ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar ve metabolik sendrom gibi birçok metabolik bozukluğu hafifletebildiğine dair kanıtlar vardır (55-58). FGF21 vücut homeostazının düzenlenmesini sağlar ve böylece yaşam beklentisini artırır (59).

2.5. Glukagon ile FGF21 İlişkisi

Glukagon glikoz ve lipid metabolizmasının temel bir düzenleyicisi kısmen, FGF21 sekresyonu üzerinden kilo kaybını artırır (12). Yapılan çalışmalar, glukagonun hepatik

FGF21 gen ekspresyonunu uyararak için insülinle etkileşime girdiğini göstermiştir. Transfeksiyon analizleri, FGF21 transkripsiyonunun glukagon artışı insülin indüksiyonunun, FGF21 geninde iki aktifleştirici transkripsiyon faktörü 4 (ATF4) bağlanma bölgesi tarafından sağlandığını göstermiştir. Glukagon artışı insülinin, ATF4 ekspresyonunu uyararak FGF21 transkripsiyonunu arttırdığını ve cAMP / PKA ve PI3K / Akt / mTORC1 aktivasyonunun, glukagon artışı insülinin ATF4 ekspresyonu üzerindeki etkisine aracılık ettiğini göstermiştir (60). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, dolaşımdaki FGF21'in ayrıca hipotalamusu hedef alabildiğini ve böylece HPA aksı tarafından indüklenen stres reaksiyonlarını aktive edebileceğini ortaya koymuştur (14, 55, 61, 62). 2014 yılında Liang ve ark. sistemik FGF21 uygulamasının, hipotalamik paraventricüler çekirdekte (PVN) ERK1 / 2-CREB sinyalini aktive ederek CRH üretimini uyardığını göstermiştir. Sonuç olarak HPA aksını uyararak adrenal korteksten kortizol salınımını sağlamıştır. Uzun süreli açlıkta hepatik PPARα aktivasyonunu FGF21'i artırarak HPA ekseninin stimülasyonu ile kortikosteron salınımını sağlayarak glikoz homeostazının kritik hormonal düzenleyicisi olarak gözükmektedir ve böylece artmış hepatik glukoneogenezise yol açmaktadır (63).

FGF21'in açlık nedeniyle uyarılması, PPARα'yı gerektirir (64). Büyüme hormonu, ön hipofiz bezinden salınır, büyüme ve metabolizma dahil olmak üzere çoklu fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde önemli rol oynar (65,66). FGF21 ve GH, lipid metabolizmasının iki önemli endokrin düzenleyicisidir. Her iki hormon da uzamış açlıkta uyarılır ve adipositler üzerindeki etkilerini göstererek lipolizi düzenler (67-69). Dolaşımdaki GH'nın, açlıkta salınımı uyarılır ve sirkadyen ritmi, FGF21 ile benzerdir (70, 71). FGF21'in somatotropik aksla yakın ilişkisi vardır, büyüme hormonu ve IGF-1'in sinyali yolağıyla etkileşim içindedir (72). GH karaciğerde IGF1 sekresyonunu uyarır (13). FGF-21'in, STAT5 sinyalini inhibe ederek karaciğerdeki GH sinyalini körleştirdiğini ve IGF-1 bağlayıcı protein 1 (IGFBP1) ve sitokin sinyal 2 (SOCS2) baskılayıcısının ifadesini arttırdığını göstermiştir. Daha sonra, FGF-21'in aşırı ekspresyonu, farelerin büyümesini azaltırken, ömürlerini uzatıldığı gösterilmiştir (73,74). GH ve IGF1 yaşamın düzenlenmesinde mTORC1 üzerinden yaşlanmayı artırır (75). Hepatik mTORC1, FGF21 yoluyla davranışı ve lipid metabolizmasını kontrol eder (76) (Şekil 4).



Şekil 4. Büyüme hormonu ve FGF21 arasındaki sinyal bağlantıları (13)

Glukagon FGF21 ekspresyonunu, aktive edilmiş glukokortikoid reseptörünün (GR) FGF21 geninin promotöründe kanonik olmayan GR bağlayıcı elemente bağlanması yoluyla uyarıldığını bildirmişlerdir (77). Chen ve ark. fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada farelere GH verilmesi ile FGF21'in arttığı gösterilmiştir (78).

3. MATERYAL METOD

Bu araştırma Haziran 2019 tarihinden itibaren, Kayseri ilinde bulunan Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesi Endokrin Polikliniği ve Dahiliye Polikliniğine başvuran 18 – 65 yaş arası bilinen herhangi bir hastalığı olmayan ve ilaç kullanmayan sağlıklı gönüllüler ve onların yakınları vücut kütle indeksi (VKİ) $>30 \text{ kg/m}^2$ (obez) 11 kişi ve kontrol grubu olarak da VKİ'si $<25 \text{ kg/m}^2$ (normal kilolu) 15 kişi ve toplamda 26 gönüllü kişi üzerinde yürütülecek tanımlayıcı nitelikte bir çalışmadır. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanan (tarih: 17.04.2019, karar no: 2019/263) ve Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenen (Proje no: TTU-2019-9216) bu çalışma, Temmuz 2019 ve Nisan 2020 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Gevher Nesibe Hastanesi Endokrinoloji kliniğinde yapıldı.

3.1. Gönüllülerin Dahil Edilme Kriterleri

Bu çalışmaya VKİ'si $>30 \text{ kg/m}^2$ (obez) 11 kişi ve VKİ'si $<25 \text{ kg/m}^2$ (normal kilolu) 15 kişi dahil edildi. Birinci gruptaki kişiler Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesi Endokrin Polikliniği ve Dahiliye Polikliniğine başvuran VKİ'si $>30 \text{ kg/m}^2$ olan herhangi bir kronik hastalığı olmayan ve ilaç kullanmayan 18- 65 yaş arasındaki sağlıklı gönüllü kişiler idi. İkinci gruptaki VKİ'si $<25 \text{ kg/m}^2$ olan sağlıklı gönüllüler ise hastane personelleri ve hasta yakınlarından alındı.

Birinci Grubun Dahil Edilme Kriterleri

- I. VKİ'si $>30 \text{ kg/m}^2$ (obez) olan
- II. 18-65 yaş arası sağlıklı bireyler

İkinci Grubun Dahil Edilme Kriterleri

- I. VKİ'si $<25 \text{ kg/m}^2$ (normal kilolu) olan
- II. 18-65 yaş arası sağlıklı bireyler

3.2. Gönüllülerin Dışlama Kriterleri

- I. Bilinen herhangi bir kronik hastalığı (Diyabetes mellitus, kronik böbrek hastalığı, konjenital kalp hastalığı, tiroid hastalıkları, hipofiz hastalıkları vb.) bulunması
- II. Bilinen herhangi bir ilaç kullanması

3.3. Yöntem

Çalışmaya katılan tüm sağlıklı gönüllülerin her birine yapılacak testler, bu testte kullanılacak glukagon ve olabilecek yan etkiler hakkında bilgi verildi. Bütün gönüllülerde testlerin uygulanabilmesi için gönüllü onam formu şeklinde yazılı izin belgesi alındı. Gönüllülerden isim, soyisim, dosya numarası, yaşı ve cinsiyeti takip formuna kaydedildi. Gönüllü kişilerden kilo, boy ölçümleri alındı. VKİ kg/m^2 formülü ile hesaplandı. 18,5-24,9 arası: normal kilolu ve 30-39,9 arası: obez olarak değerlendirildi. Kişilerin bel çevreleri arkus kostaryum ve spina iliaka anterior superior arası mesafenin orta noktasından ölçüldü. Boy ve kilo ölçümleri tüm ölçümlerde aynı tartı ve mezura kullanılarak yapıldı.

Sağlıklı gönüllülerin test öncesi hipofiz hormonlarını değerlendirmek için önce sabah saat 08.00'de bazal hipofiz hormonları ve bunların hedef hormonları sT4, TSH, kortizol, ACTH, prolaktin, GH, IGF-1, FSH, LH, kadın hastalarda estradiol (E2), erkek hastalarda total testosteron, açlık glukoz ve insülin düzeylerinin ölçümü için 5 cc kan alındı. Sonra GST için glukagon (1 mg glukagon: GlucaGen® hypokit, Novo Nordisk, Danimarka) i.m olarak yapıldıktan sonra 0.,90.,120.,150.,180.,210.,240. dakikalarda GH, kortizol, insülin, glukoz ve FGF21 için her seferinde 2,5 cc olmak üzere toplam 20 cc kan alındı ve test bitiminde GH, kortizol, insülin ve glukoz kanların biyokimyasal

değerlendirilmesi Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında yapıldı. FGF21 için alınan örnekler santrifüj edilerek plazma kısmı eppendorf tüplerine konularak derin dondurucuda -80 derecede saklandı.

Serum FGF21 düzeyleri ELISA (EnzymeLinked ImmunoSorbent Assay) yöntemiyle çalışıldı. Alınan kan örnekleri Sigma 2-16K1 santrifüj cihazında 3000rpm de 20 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası kan örneklerinin üstte kalan serum kısmı 2µl lik eppendorf tüplere alınmıştır. Serum örneklerinden 40 µl alınmış ve 96'lık plate içine dağıtılmıştır.

Serum örnekleri dağıtıldıktan sonra aşağıdaki gibi standartlar hazırlanmıştır.

1. Standartlar dikkatle beş farklı tüpe seyreltilmiştir.

960 ng/L **S5** : 120 µl standart + 120 µl Standart dilüent

480 ng/L **S4** : 120 µl S5 + 120 µl Standart dilüent

240 ng/L **S3** : 120 µl S4 + 120 µl Standart dilüent

120 ng/L **S2** : 120 µl S3 + 120 µl Standart dilüent

60 ng/L **S1** :120 µl S2 + 120 µl Standart dilüent

Her kuyucuk üzerine 10 µl biyotin antibody eklenmiştir. Daha sonra her kuyucuğa 50 µl streptavidin-HRP eklenmiştir. Hazırlanan standartlar plate üzerine kendi kuyularına yüklenmiştir. Plate şeffaf kapatıcı membran ile kapatılmış ve 1 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda plate üzerine önceden hazırlanan 200 µl wash buffer (yıkama tamponu) dağıtılmıştır. Plate 1-2 dk bekletilmiş ve sonra ters çevrilecek yıkama tamponu dökülmüştür. Kuyucuklar bu şekilde 5 kez yıkanmıştır. Yıkama işlemi bittikten sonra plate kuyularında kalan yıkama solüsyonu pipet yardımıyla temizlenmiştir. Daha sonra her bir kuyuya 50 µl Chromogen A ve 50 µl Chromogen B eklenmiş ve plate üzeri şeffaf kapatıcı ile kapatılmıştır. Sonrasında 10 dk 37°C'de karanlıkta bekletilmiştir. Bu süre sonunda etüvden çıkan plate üzerine her bir kuyuya 50 µl stop solüsyonu eklenmiş ve reaksiyon durdurulmuştur. Stop solüsyon eklendikten sonra 15 dk içinde 450 nm' de ölçüm yapılmıştır.

Testler için intramuskuler olarak yapılacak olan glukagon insan vücudunda normalde bulunan bir hormondur ve insan sağlığı için herhangi bir zarar teşkil etmemektedir. Glukagonun en önemli yan etkileri bulantı ve kusmadır. Test esnasında da sağlıklı gönüllü 4 kişide bulantı ve 2 kişide baş ağrısı gibi yan etkiler görüldü. Test hemşiresi tarafından mayi replasmanı ile müdahale edilmiştir.

3.3.1. Biyokimyasal ve Hormonal Değerlendirmede Kullanılan Yöntem ve Kitler

Hasta ve gönüllülerden alınan serum örneklerinde; AST, ALT, GGT, kreatinin, lipid paneli, glukoz, Roche marka Cobas c702 otoanalizörde, uygun ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Serum LDL-K düzeyleri, Friedewald formülü ile hesaplandı: $LDL-K = TK - [HDL-K + TG/5]$

HOMA skoru aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı: $HOMA = (açlık\ kan\ şekeri \times insülin\ düzeyi) / 405$

Serum FSH, LH, östradiol, total testosteron, prolaktin, growth hormon, IGF-1, kortizol, insülin, serbest T4 ve TSH düzeyleri Roche Cobas C8000 serisinden e602 modülünde ECLIA (Elektro kemiluminesans immünoanaliz) yöntemiyle ticari kitler kullanılarak çalışıldı. Hormonlar, ticari kitler ve intra ve inter assay varyasyon katsayıları sırasıyla; sT4 (Roche Diagnostik, Mannheim, Germany, %1.8, %2.6), TSH (Roche Diagnostik, Mannheim, Germany, %2.7, %3.2), PRL (Roche Diagnostik, Mannheim, Germany, %0.8, %1.8), FSH (Roche Diagnostik, Mannheim, Germany, %2.6, %3.6), LH (Roche Diagnostik, Mannheim, Germany, %1.2, %2.0), T.Testosteron (Roche Diagnostik, Mannheim, Germany, %2.8, %3.2), Estradiol (Roche Diagnostik, Mannheim, Germany, %3.5, %4.5), İnsülin (Roche Diagnostik, Mannheim, Germany, %0.9, %1.2), kortizol (Roche Diagnostik, Mannheim, Germany, %1.7), GH (Roche Diagnostik, Mannheim, Germany, %4.2, %6.6), IGF-1 (Roche Diagnostik, Mannheim, Germany, %5.4, %7.7).

Tablo 1. Bazal hipofiz hormonlarının referans aralığı

HORMON	REFERANS ARALIĞI
TSH	0,27-4,2 µIU/ml
sT4	0,93-1,97 ng/dl
Kortizol	6,24-18µg/dl
ACTH	0-46 pg/ml
Prolaktin	4,04-15,2 ng/ml
GH	0-2,47 ng/ml
IGF-1	117-329 ng/ml
FSH	3,5-12,5 mIU/ml; foliküler faz 4,7-21,5 mIU/ml; midsiklus 1,7-7,7 mIU/ml; luteal faz 25,8-134,8 mIU/ml; postmenopozal 1.9-18.9 mIU/ml; erkek
LH	2,4-12,6 mIU/ml; foliküler faz 14-96 mIU/ml; midsiklus 1-11,4 mIU/ml; luteal faz 7,7-59 mIU/ml; postmenopozal 1,7-8,6 mIU/ml; erkek
Estradiol (E2)	12,4-233 pg/ml; foliküler faz 41-398 pg/ml; midsiklus 22,3-341 pg/ml; luteal faz 5-44 pg/ml; postmenopozal
Total Testosteron	280-800 ng/dl

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 22.0 programı ve TURCOSA Analitik istatistiksel programı kullanılarak yapıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodlar (ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum, yüzde) kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve varyans homojenliğini kontrol etmek içinde Levene istatistiğinden yararlandı. Tanımlayıcı analizler normal dağılmayan değişkenler için ortanca ve

minimum, maksimum kullanıldı. Normal dağılım gösteren değişkenler için ortalama ve standart sapma kullanıldı. Normal dağılım gösteren nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Student-t testi, normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Nicel değişkenler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde dağılımlarına göre Pearson korelasyon analizi ve Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Paired T Testi ile glukagonun kortizol, GH, FGF21, insülin ve glukoz üzerine etkisine bakıldı. Ki kare testi ile iki grup arasında pik değerlerin oluştuğu zamanlara göre farklılık olup olmadığına bakıldı. Analizler % 95 güven aralığında yapıldı ve anlamlılık derecesi $p < 0.05$ kabul edildi.

Korelasyon katsayısı (r), 0,00- 0,24: zayıf, 0,25-0,49: orta, 0,50-0,74: güçlü, 0,75-1,00: çok güçlü bir ilişki olarak değerlendirildi (79, 80).

Etki büyüklüğü ise; $d = \frac{\text{Ölçüm ortalamaları arasındaki fark}}{\text{Fark puanlarının standart sapması}}$ veya $d = \frac{t}{\sqrt{N}}$ şeklinde hesaplandı.

$d > 1$ ise çok büyük etki, $0,8 < d < 1$ ise büyük etki, $0,5 < d < 0,8$ ise orta etki, $0,2 < d < 0,5$ ise küçük etki olarak değerlendirildi (81, 82).

4. BULGULAR

Çalışmaya VKİ'si $<25 \text{ kg/m}^2$ (normal kilolu) 15 gönüllü (10 erkek, 5 kadın) ve VKİ'si $>30 \text{ kg/m}^2$ (obez) (11 gönüllü 10 erkek, 1 kadın) olmak üzere toplam 26 sağlıklı birey alınmıştır. Çalışmaya alınan gönüllülerin yaş ortalaması 26.3 ± 3.6 yıl idi. Gönüllülerin demografik özellikleri ve bazal hormon düzeyleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Gönüllü iki grupta da bazal hormon değerlerinin normal sınırlar içerisinde olduğu görülmüştür.

Obez olan grupta bel çevresi, vücut ağırlığı ve VKİ değerleri normal kilolulara göre daha yüksek bulundu (Tablo 3). Yaş, boy, Homa IR açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 3).

Obez olan grupta LDL, total kolesterol, trigliserid yüksek iken HDL kolesterol düşük bulunmuştur. AKŞ, bazal GH, bazal kortizol, insülin, bazal FGF21, IGF-1 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Bütün gönüllülerin IGF-1 düzeyleri yaş ve cinsiyetine göre normal aralıkta saptandı (Tablo 4).

Tablo 2. Gönüllülerin demografik özellikleri ve bazal hormon düzeyleri

No	Yaş (Yıl)	Ci ns	VKİ (kg/m ²)	ST4 (pg/ml)	TSH (µIU/ml)	PRL (ng/ml)	FSH (mIU/ml)	LH (mIU/ml)	TT / E2 (ng/dl/pg/ml)	Kort (µg/dl)	IGF-1 (ng/ml)
1	33	E	23.00	1.31	1.89	13.60	8.19	7.09	514.00	11.29	159.00
2	24	E	19.75	1.51	2.19	7.19	2.89	2.86	374.50	12.30	192.00
3	21	E	23.40	1.24	3.63	11.91	2.89	5.20	430.10	14.83	208.00
4	23	E	22.80	1.48	2.03	15.50	4.85	5.65	370.40	12.12	207.50
5	30	E	23.70	1.54	2.29	19.50	3.89	9.47	433.70	17.10	127.00
6	24	E	24.40	1.27	1.02	5.73	2.54	3.36	539.00	5.81	275.70
7	24	E	24.28	1.12	2.21	9.15	8.86	9.92	600.00	10.96	242.00
8	23	E	24.20	1.77	1.48	16.48	2.49	8.36	603.50	10.06	240.50
9	29	E	24.90	1.34	1.46	11.61	12.85	8.25	267.50	14.68	123.20
10	28	E	24.70	1.39	2.50	16.28	3.06	2.69	632.50	15.10	168.20
11	23	K	21.28	1.04	1.79	11.20	5.40	7.81	46.40	15.50	163.00
12	25	K	20.80	1.14	1.44	20.58	5.86	23.5	336.10	12.83	191.00
13	23	K	18.00	1.65	2.10	14.37	8.36	8.36	39.20	20.60	224.00
14	23	K	24.00	1.21	1.88	25.5	11.89	50.2	276.20	19.05	183.20
15	25	K	23.00	1.24	0.75	22.50	3.31	5.72	38.30	14.20	255.40
16	29	E	30.44	1.29	3.14	9.42	1.85	5.57	564.00	18.10	169.00
17	30	E	31.00	1.28	2.66	12.68	5.94	3.84	474.00	12.70	177.00
18	29	E	31.09	1.36	3.1	8.81	1.55	4.57	460.40	16.20	130.00
19	31	E	31.7	1.36	1.77	16.99	4.13	7.95	550.00	17.23	185.20
20	27	E	32.60	1.36	1.16	10.82	1.66	6.38	970.00	11.21	183.10
21	25	E	30.60	1.39	1.24	9.13	2.66	5.45	788.00	8.73	288.00
22	35	E	32.40	1.20	1.76	11.03	3.08	3.88	227.00	12.71	192.70
23	26	E	35.00	1.25	2.95	11.04	4.24	5.48	223.10	10.95	161.30
24	29	E	35.49	1.44	1.57	11.37	3.57	6.63	356.90	10.30	162.80
25	23	E	31.02	1.04	3.84	28.00	32.3	17.9	405.90	18.6	265.80
26	23	K	31.30	1.29	1.22	17.11	5.13	17.4	53.5	10.90	193.00

Tablo 3. Gönüllülerin demografik özellikleri

	Normal Kilolu (15 Gönüllü)	Obez (11Gönüllü)	
Yaş (yıl)	25.2 ± 3.29 *	27.9 ± 3.59*	p=0.058
Bel çevresi (cm)	80.13 ± 7.33*	106.9 ± 9.04*	p=<0.001
Boy (cm)	174 (169.0-176.5)	172 (168.0-172.5)	p=0.297
Vücut ağırlığı (kg)	72 (62.0-74.5)	92 (89-105.5)	p=<0.001
Homa IR	1.72 (1.08-1.97)	1.39 (0.81-2.65)	p=0.938
VKİ Değer (kg/m ²)	23.4 (22.3-24.2)	31.3 (31.01-32.5)	p=<0.001

Değerler ortanca (%25 - %75) olarak verilmiştir, * ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

Tablo 4. Bazal kan değerleri ve hormonların karşılaştırılması

	Normal Kilolu	Obez	
Açlık Kan Şekeri (mg/dl)	71.46 ± 7.8*	71.18 ± 3.81*	p=0.913
Trigliserid (mg/dl)	73 (66.0-115.5)	182 (142.0-200.5)	p=0.015
Total kolesterol (mg/dl)	153.60 ± 33.4*	183.72 ± 36.6*	p=0.039
HDL (mg/dl)	48 (41.5-56.5)	38 (33.0-44.8)	p=0.014
LDL (mg/dl)	87.35 ± 24.98*	107.64 ± 22.3*	p=0.043
İnsülin (µU/ml)	9,7 (5.9-10.7)	7.83 (4.8-15.0)	p=0.959
Bazal GH (µg/l)	0.10 (0.04-0.31)	0.05 (0.03-0.11)	p=0.182
Bazal Kortizol (µg/dl)	13.76 ± 3.67*	13.42 ± 3.47*	p=0.813
Bazal FGF 21 (pg/ml)	1079,28 (938.5-1149.5)	886,28 (491.0-1097.4)	p=0.287
ACTH (pg/ml)	17.93 ± 7.48*	28.69 ± 16.53*	p=0.035
IGF-1 (ng/ml)	197.3±45.1*	192.1±45.9*	p=0.721

Değerler ortanca (%25 - %75) olarak verilmiştir, * ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

Obez grupta pik GH, GH E.A.K.A değerleri normal kilolu gruba göre daha düşük iken en düşük glukoz değeri daha yüksek saptandı. Bazal GH, pik kortizol, kortizol E.A.K.A, bazal kortizol, insülin, insülin E.A.K.A, glukoz, pik glukoz, glukoz E.A.K.A, FGF21, FGF21 E.A.K.A, pik FGF21, en yüksek insülin değerleri arasında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 5).

Tablo 5. Glukagon stimülasyon testine glukoz ve hormon yanıtları

	Normal kilolu	Obez	
Bazal GH (ng/dl)	0.10 (0.04-0.31)	0.05 (0.03-0.11)	p=0.182
Pik GH (ng/dl)	7.04 ± 5.66*	2.89 ± 2.65*	p=0.034
GH E.A.K.A (ng/dl)	373.80(173.6-895.2)	169.20(33.0-253.9)	p=0.027
Bazal Kortizol (µg/dl)	13.76± 3.67*	13.42 ± 3.47*	p=0.813
Pik Kortizol (µg/dl)	16.11±5.95*	16.47±5.34*	p=0.874
Kortizol E.A.K.A (µg/dl)	2521.14±762.29*	2643.75±890.32*	p=0.709
Bazal FGF21 (pg/ml)	1079,28 (938.5-1149.5)	886,28 (491.9-1097.4)	p=0.287
FGF21 E.A.K.A (pg/ml)	267645.30 (241437.0-288389.1)	236513.70(111393.6-267013.1)	p=0.223
Pik FGF21 (pg/ml)	1156.00 (1061.5-1285.4)	1058.00 (575.5-1176.5)	p=0.287
Glukoz (mg/dl)	71.46 ± 7.82*	71.18 ± 3.81*	p=0.913
Pik Glukoz (mg/dl)	97.13± 22.58*	100.36 ± 19.58*	p=0.707
En Düşük Glukoz (mg/dl)	53.03±10.3*	60.07±6.2*	p=0.039
Glukoz E.A.K.A (mg/dl)	17669±2485.22*	18459.54±1757.00*	p=0.377
İnsülin (µU/ml)	9,7 (5.9-10.7)	7.83 (4.89-15.0)	p=0.959
En Yüksek İnsülin (µU/ml)	18.70 (11.5-38.2)	32.57 (23.2-47.3)	p=0.392
İnsülin E.A.K.A (µU/ml)	2704.09±1369.68*	3544.82±1854.08*	p=0.195

Değerler ortanca (%25 - %75) olarak verilmiştir, * ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

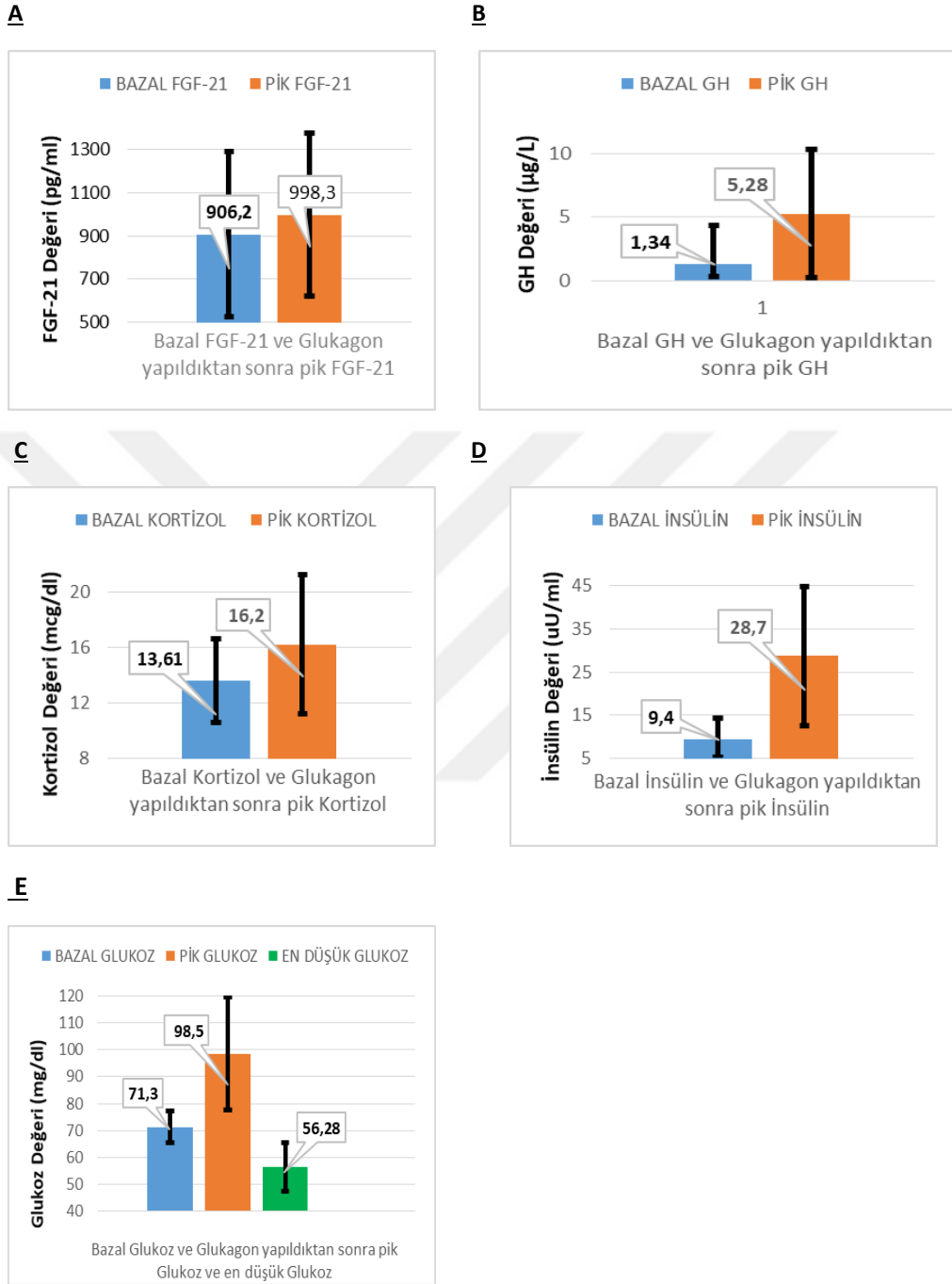
Glukagon yapıldıktan sonra FGF21, glukoz, insülin, kortizol ve GH değerleri anlamlı olarak artmıştır. Glukoz değerlerinde glisemik dalgalanma görülmüştür ve en düşük glukoz değeri tablo ve grafiklerde gösterilmiştir (Şekil 5A,B,C,D,E) (Tablo: 6, 7).

Tablo 6. Glukagon öncesi ve sonrası değişim

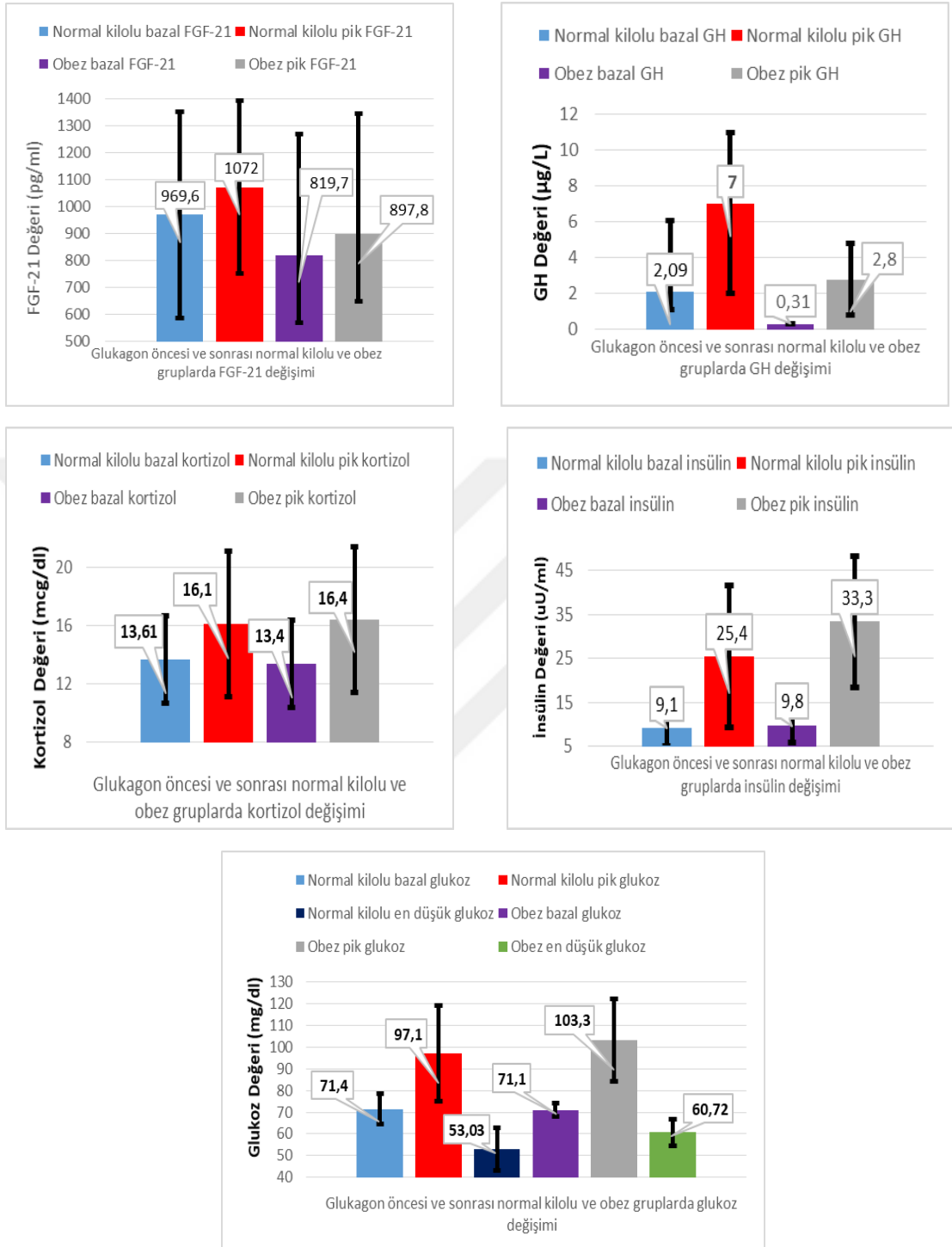
Glukagon Öncesi	Glukagon Sonrası	Delta Değeri	T Değeri
FGF21 0.dk	Pik FGF21		
906,2±382,7	998,3±376,5	0,24	< 0.001
GH 0.dk	Pik GH		
1,34±3,6	5,28±5,01	0,89	< 0.001
Kortizol 0.dk	Pik kortizol		
13,61±3,5	16,20±5,5	0,56	0,006
Glukoz 0.dk	Pik glukoz		
71,3±6,3	98,5±21,0	1,75	< 0.001
Glukoz 0.dk	En düşük glukoz		
71,3±6,3	56,28±9,5	1,86	< 0.001
İnsülin 0.dk	Pik insülin		
9,4±5,6	28,7±16,6	1,54	< 0.001

Tablo 7. Normal kilolu ve obez grubun glukagon öncesi ve sonrası değişimi

Glukagon Öncesi	Glukagon Sonrası	Delta Değeri	T Değeri
Normal kilolu FGF21	Normal kilolu pik FGF21		
969,6±325,0	1072,0±309,0	0,46	0.001
Obez FGF21	Obez pik FGF21		
819,7±451,7	897,0±448,5	0,17	0.021
Normal kilolu GH	Normal kilolu pik GH		
2,09±4,7	7,0±5,6	2,6	0.002
Obez GH	Obez pik GH		
0,31±0,7	2,8±2,6	0,15	0,003
Normal kilolu kortizol 0.dk	Normal kilolu pik kortizol		
13,7±3,6	16,1±5,9	0,49	0,042
Obez kortizol 0.dk	Obez pik kortizol		
13,4±3,4	16,4±5,3	0,60	0,077
Normal kilolu glukoz 0.dk	Normal kilolu pik glukoz		
71,4±7,8	97,1±22,5	1,52	< 0.001
Normal kilolu glukoz 0.dk	Normal kilolu en düşük glukoz		
71,4±7,8	53,03±10,37	2,00	< 0.001
Obez glukoz 0.dk	Obez pik glukoz		
71,1±3,8	100,3±19,5	2,07	< 0.001
Obez glukoz 0.dk	Obez en düşük glukoz		
71,1±3,8	60,72±6,2	2,03	< 0.001
Normal kilolu insülin 0.dk	Normal kilolu pik insülin		
9,1±5,0	25,4±15,2	1,44	< 0.001
Obez insülin 0.dk	Obez pik insülin		
9,8±7,0	33,3±18,1	1,80	0.001



Şekil 5. Bazal ve glukagon sonrası pik FGF21, GH, kortizol, glukoz ve insülin yanıtı



Şekil 6. Glukagon öncesi ve sonrası normal kilolu ve obez gruplarda FGF21, GH, kortizol, glukoz, insülin yanıtı

Korelasyon Analizleri

Gönüllü iki grubun FGF21 ile yaş, kilo, trigliserit, total kolesterol, LDL, HDL, ACTH, glukoz, insülin, Homa IR, IGF-1, AST, ALT, GGT, serbest T4, TSH, kreatinin, GFR, değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

VKİ ile bazal kortizol, FGF21, GH, IGF-1, insülin, glukoz arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. VKİ ile pik GH arasında negatif yönlü korelasyon saptandı ($p=0.007$). VKİ ile pik FGF21, pik kortizol, pik insülin, pik glukoz ve en düşük glukoz arasında korelasyon saptanmadı.

Vücut ağırlığı ile bazal kortizol, FGF21, GH, IGF-1, insülin, glukoz arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Vücut ağırlığı ile pik GH arasında negatif yönlü korelasyon saptandı ($p<0.001$). Vücut ağırlığı ile pik FGF21, pik kortizol, pik insülin, pik glukoz ve en düşük glukoz arasında korelasyon saptanmadı.

En düşük glukoz ile bazal FGF21, GH, IGF-1, insülin, kortizol, pik FGF21, pik GH, pik kortizol ve pik insülin arasında korelasyon saptanmadı.

GST boyunca bakılan parametrelerin korelasyonları insülin ve glukoz 0.dk, 90.dk ve 120. dakikalarda, kortizol ve glukoz 150.dk ve 240. dakikada, kortizol ve GH 180. dakikada ve pik düzeyleri arasında pozitif yönlü anlamlı bir korelasyon saptandı. FGF21 ve insülin arasında 180. dakikada, GH ve FGF21 arasında 240. dakikada negatif yönlü anlamlı bir korelasyon saptandı. FGF21 90. dk, 120.dk, 150.dk, 180.dk, 210.dk, 240. dakikaları ile GH 240.dk arasında negatif yönlü korelasyon saptandı. FGF21 ile kortizol arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı (Tablo 8).

Obez olan grupta glukoz 90.dk, 120.dk, ile sırasıyla insülin 90.dk, 120.dakikalar arasında, glukoz 150.dk, 180.dk, 210.dk ile sırasıyla kortizol 150.dk, 180.dk, 210.dakikalar arasında, GH 120.dk ile kortizol 120.dakikalar arasında, GH 180.dk ile insülin 180.dakikalar arasında pozitif yönlü anlamlı korelasyonlar saptandı (Tablo 9).

Normal kilolu grupta FGF21 0.dk ile yaş ve GH 240.dakikalar arasında, FGF21 90.dk, 120.dk, 150.dk, 180.dk, 210.dk, 240.dakikalar ile glukoz 90.dk, GH 210.dk, GH

240.dakikalar arasında, pik FGF21 ile pik glukoz arasında negatif yönlü anlamlı korelasyon saptandı. Pik GH ile pik kortizol arasında, kortizol 0.dk ile GH 0.dakikalar arasında, kortizol 180.dk ile GH 180.dakikalar arasında, insülin 90.dk ile glukoz 90.dakikalar arasında pozitif yönlü anlamlı korelasyon saptandı (Tablo 10).

Tablo 8. GST boyunca dakikalara göre korelasyon

1. Parametre	2. Parametre	P	R
VKI	Pik GH	p=0.007	r=-0.51
Vücut ağırlığı	Pik GH	p<0.001	r=-0.70
İnsülin 0. dk	Glukoz 0.dk	p =0.027	r= 0,43
İnsülin 90. dk	Glukoz 90.dk	p =0.003	r= 0,56
İnsülin 120. dk	Glukoz 120.dk	p =0.029	r= 0,42
Kortizol 150. dk	Glukoz 150.dk	p =0.04	r= 0,40
Kortizol 240. dk	Glukoz 240.dk	p =0.020	r= 0,45
Kortizol 180. dk	GH 180.dk	p =0.005	r= 0,52
Pik Kortizol	Pik GH	p =0.002	r= 0,57
FGF21 180. dk	İnsülin 180. dk	p =0.045	r= -0,39
FGF21 90. dk	GH 240.dk	p =0.044	r= -0,39
FGF21 120. dk	GH 240.dk	p =0.036	r= -0,41
FGF21 150. dk	GH 240.dk	p =0.026	r= -0,43
FGF21 180. dk	GH 240.dk	p =0.018	r= -0,46
FGF21 210. dk	GH 240.dk	p =0.022	r= -0,44
FGF21 240. dk	GH 240.dk	p =0.035	r= -0,41

Tablo 9. GST boyunca obez grubun anlamlı olan korelasyon ve R değerleri

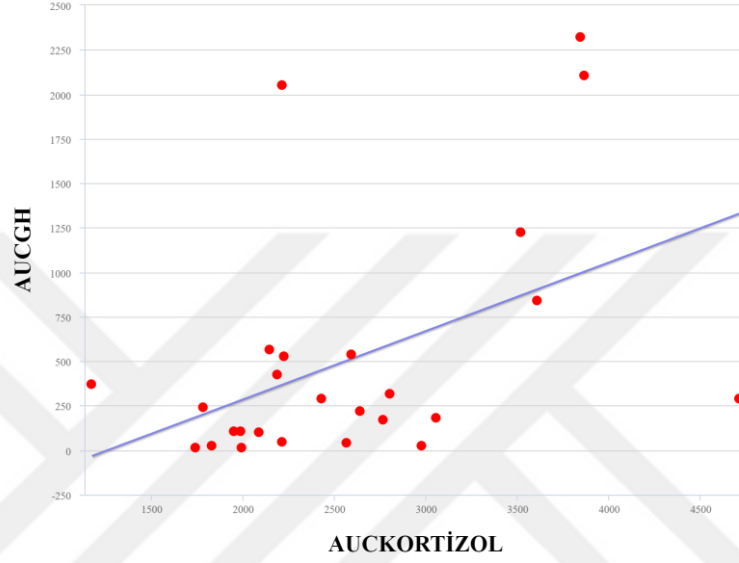
1. Parametre	2. Parametre	P	R
Glukoz 90.dk	İnsülin 90. dk	p =0,046	r= 0,61
Glukoz 120.dk	İnsülin 120. dk	p =0,023	r= 0,67
Glukoz 150.dk	Kortizol 150. dk	p =0,010	r= 0,73
Glukoz 180.dk	Kortizol 180. dk	p =0,048	r= 0,60
Glukoz 210.dk	Kortizol 210. dk	p =0,012	r= 0,72
GH 120.dk	Kortizol 120. dk	p =0,017	r= 0,69
GH 180.dk	İnsülin 180. dk	p =0,014	r= 0,71

Tablo 10. GST boyunca normal kilolu grubun anlamlı olan korelasyon ve R değerleri

1. Parametre	2. Parametre	P	R
FGF21 0. dk	Yaş	p =0,038	r= -0,53
FGF21 0. dk	GH 240.dk	p =0,010	r= -0,63
FGF21 90. dk	Glukoz 90.dk	p =0,037	r= -0,54
FGF21 90. dk	GH 240.dk	p =0,030	r= -0,55
FGF21 90. dk	GH 210.dk	p =0,004	r= -0,69
FGF21 120. dk	Glukoz 90.dk	p =0,039	r= -0,55
FGF21 120. dk	GH 210.dk	p =0,033	r= -0,55
FGF21 120. dk	GH 240.dk	p =0,003	r= -0,71
FGF21 150. dk	Glukoz 90.dk	p =0,033	r= -0,53
FGF21 150. dk	GH 210.dk	p =0,035	r= -0,54
FGF21 150. dk	GH 240.dk	p =0,004	r= -0,70
FGF21 180. dk	Glukoz 90.dk	p =0,014	r= -0,61
FGF21 180. dk	GH 210.dk	p =0,025	r= -0,57
FGF21 180. dk	GH 240.dk	p =0,002	r= -0,73
FGF21 210. dk	Glukoz 90.dk	p =0,026	r= -0,57
FGF21 210. dk	Glukoz 120.dk	p =0,034	r= -0,54
FGF21 210. dk	GH 210.dk	p =0,013	r= -0,62
FGF21 210. dk	GH 240.dk	p =0,001	r= -0,74
FGF21 240. dk	Glukoz 90.dk	p =0,038	r= -0,53
FGF21 240. dk	GH 210.dk	p =0,022	r= -0,58
FGF21 240. dk	GH 240.dk	p =0,003	r= -0,71
Pik FGF21	Pik Glukoz	p =0,018	r= -0,59
Pik GH	Pik Kortizol	p =0,001	r= 0,74
Kortizol 0. dk	GH 0.dk	p =0,041	r= 0,53
Kortizol 180. dk	GH 180.dk	p =0,007	r= 0,66
İnsülin 90. dk	Glukoz 90.dk	p =0,047	r= 0,51

Aşağıdaki grafikte GST’de eğri altında kalan alanların (E.A.K.A) kortizol ile GH korelasyonuna bakılmıştır. Kortizol E.A.K.A ile GH E.A.K.A arasında pozitif yönlü anlamlı korelasyon saptandı (Şekil 7).

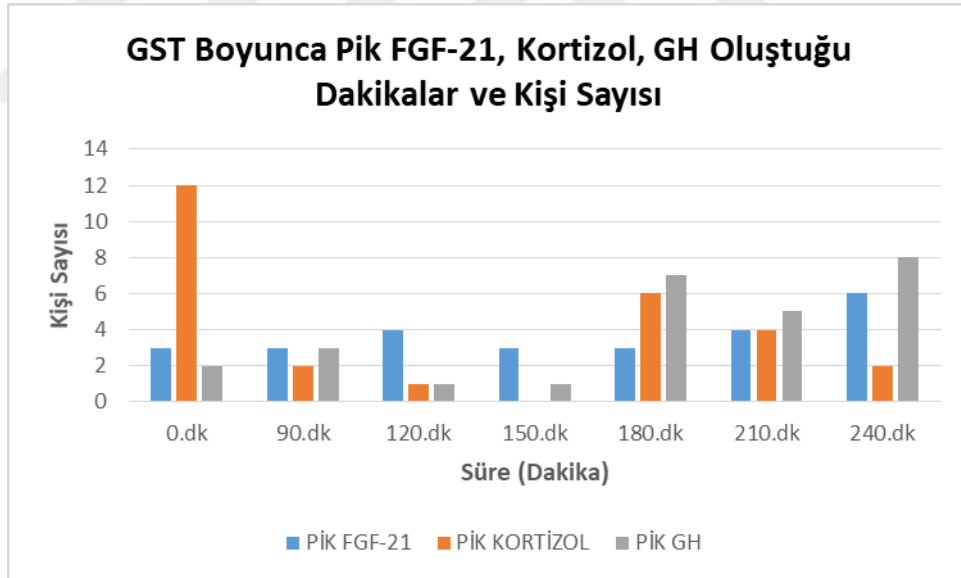
$$r = 0.46 \quad p = 0.018$$



Şekil 7. Kortizol ve GH E.A.K.A ile korelasyon grafiği

GST Boyunca Pik Kortizol, Pik GH, Pik FGF21'in Oluştuğu Dakikalar ve Kişi Sayısı

Glukagon testinde gönüllülerin 12'sinde (%46) 0. dk'da, 2'sinde (%7) 90. dk'da, 1'inde (%3) 120. dk'da, 6'sında (%23) 180. dk'da, 4'ünde (%15) 210. dk'da, 2'sinde (%7) 240. dk'da pik kortizol cevapları elde edildi. Glukagon testinde gönüllülerin 2'sinde (%7) 0. dk'da, 3'ünde (%11,5) 90. dk'da, 1'inde (%3) 120. dk'da, 1'inde (%3) 150. dk'da, 7'sinde (%26) 180. dk'da, 5'inde (%19) 210. dk'da, 8'inde (%30) 240. dk'da pik GH cevapları elde edildi. Glukagon testinde gönüllülerin 3'ünde (%11,5) 0. dk'da, 3'ünde (%11,5) 90. dk'da, 4'ünde (%15) 120. dk'da, 3'ünde (%11,5) 150. dk'da, 3'ünde (%11,5) 180. dk'da, 4'ünde (%15) 210. dk'da, 6'sında (%23) 240. dk'da pik FGF21 cevapları elde edildi (Şekil 8).

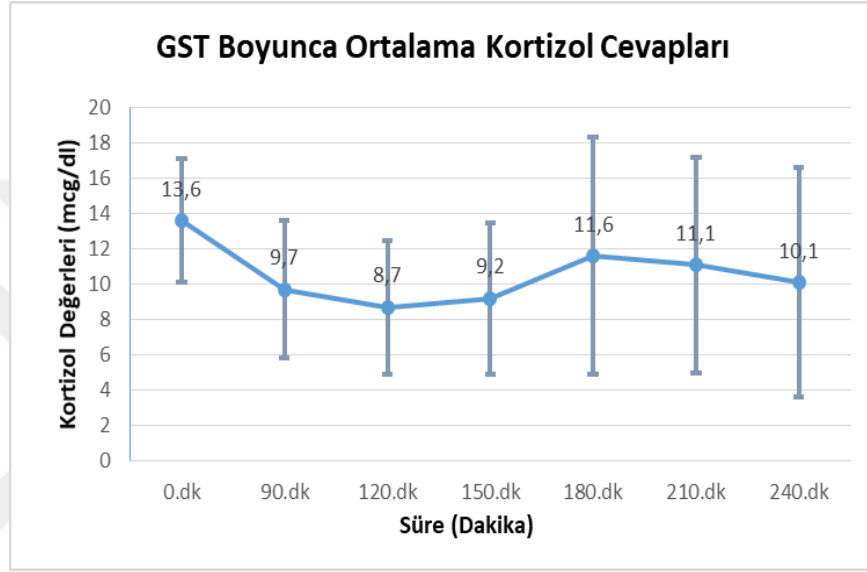


Şekil 8. GST boyunca pik FGF21, GH, kortizol oluştuğu dakikalar ve kişi sayısı

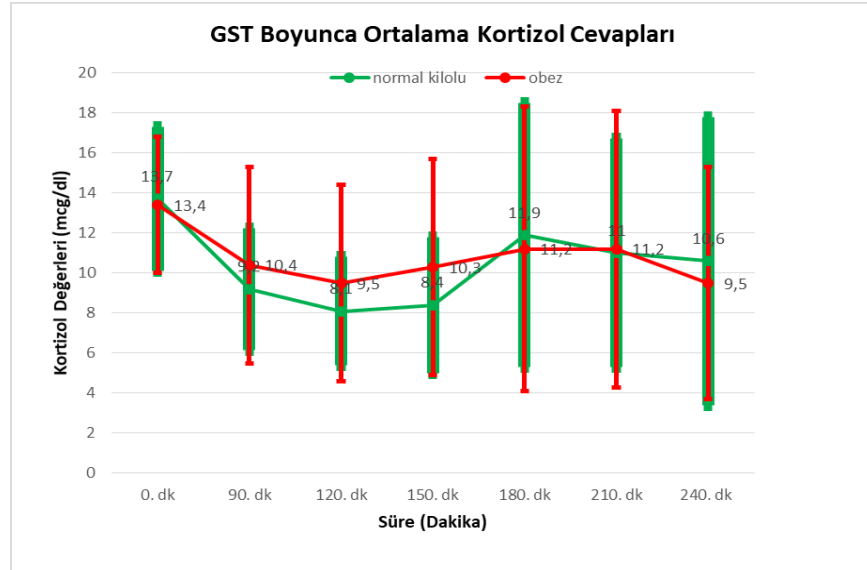
Ki kare testi ile normal kilolu ve obez grubu arasında pik GH, pik FGF21, pik kortizol oluşum zamanı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

GST Boyunca Dakikalara Göre Ortalama Kortizol, GH, FGF21, İnsülin, Glukoz Cevapları

GST boyunca ortalama kortizol değerleri grafikte gösterilmiştir. GST boyunca ortalama kortizol cevapları bazalde ve 180.dakikada her iki grupta da diğer dakikalara göre yüksek bulundu (Şekil 9, 10).

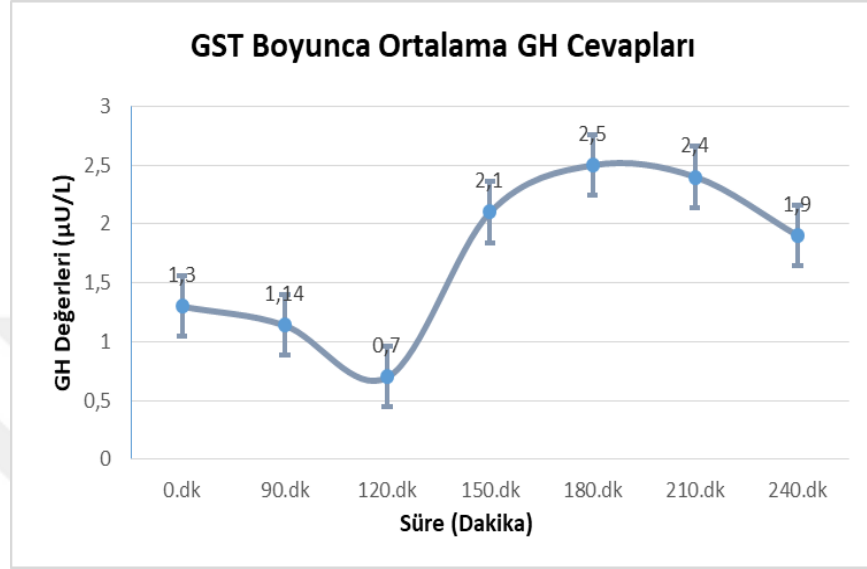


Şekil 9. Glukagona kortizol yanıtı

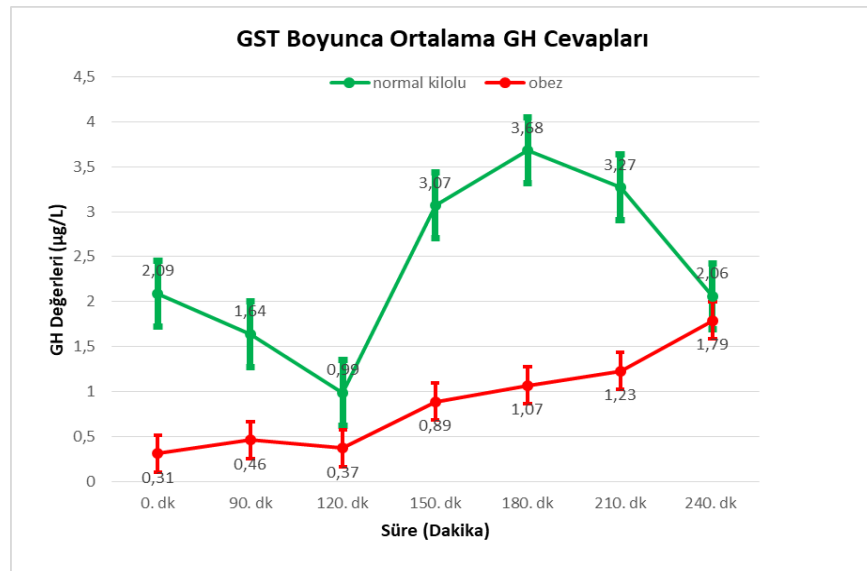


Şekil 10. Normal kilolu ve obez grupta glukagona kortizol yanıtı

GST boyunca ortalama GH cevabı normal kilolularda 180.dakikada obez olan grupta 240.dakikada diğer dakikalara göre daha yüksek bulundu. Bütün dakikalarda normal kilolularda obezlere göre daha yüksekti (Şekil 11, 12).

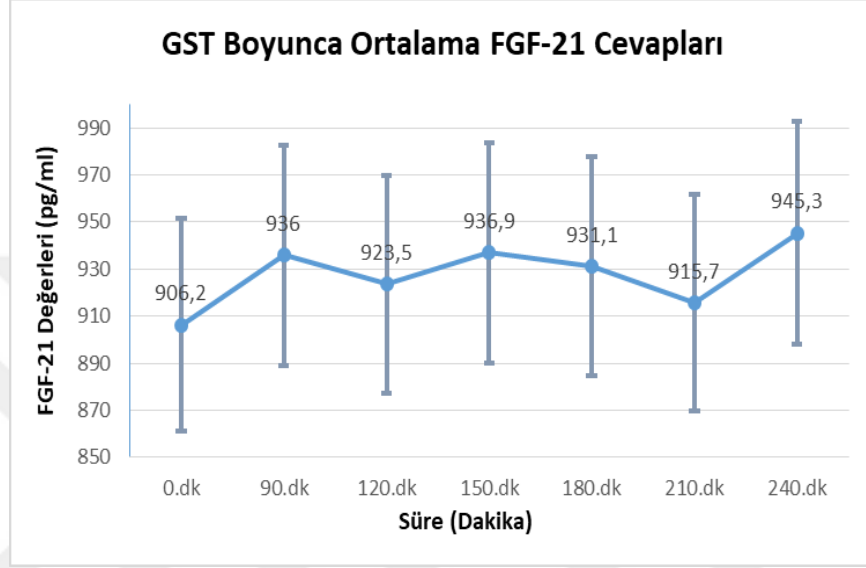


Şekil 11. Glukagona GH yanıtı

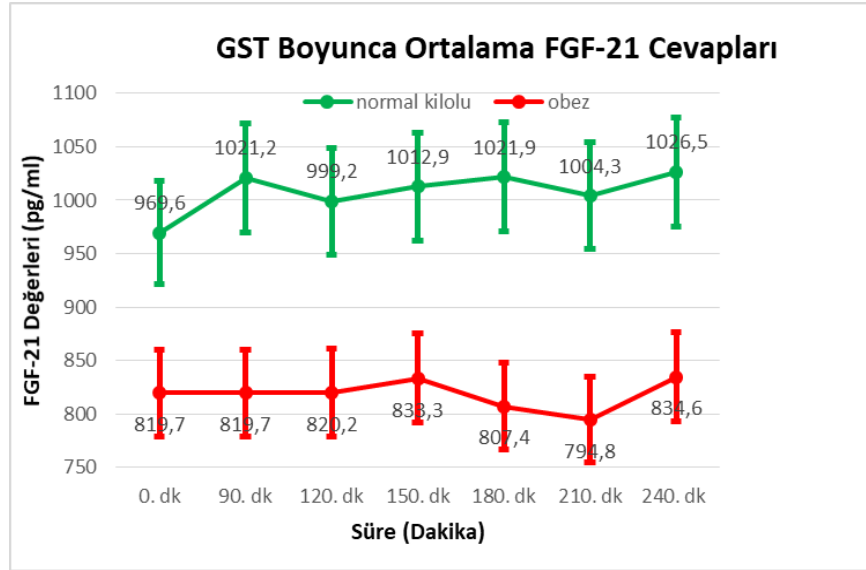


Şekil 12. Normal kilolu ve obez grupta glukagona GH yanıtı

GST boyunca ortalama FGF21 cevabı normal kilolularda obez gruba göre daha yüksek bulundu. 240. dakikada da FGF21 cevabı diğer dakikalara göre daha yüksek bulundu (Şekil 13, 14).

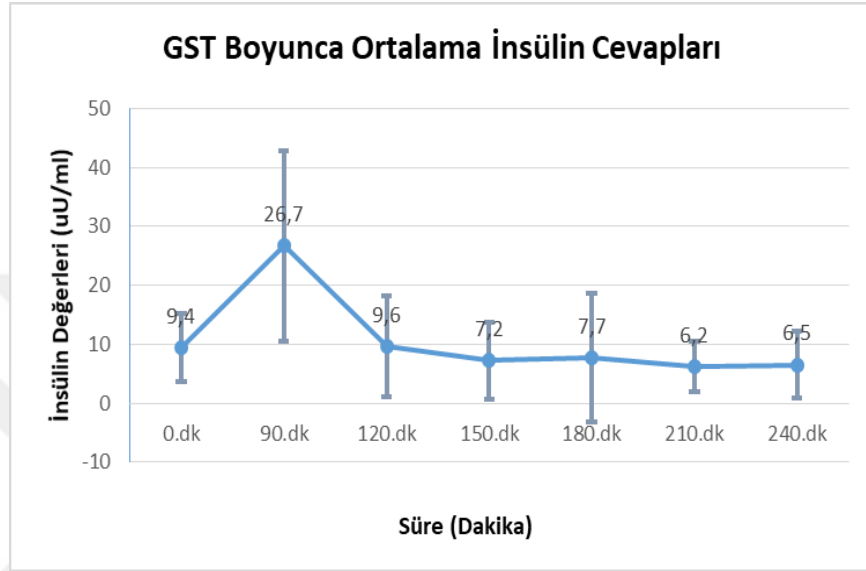


Şekil 13. Glukagona FGF21 yanıtı

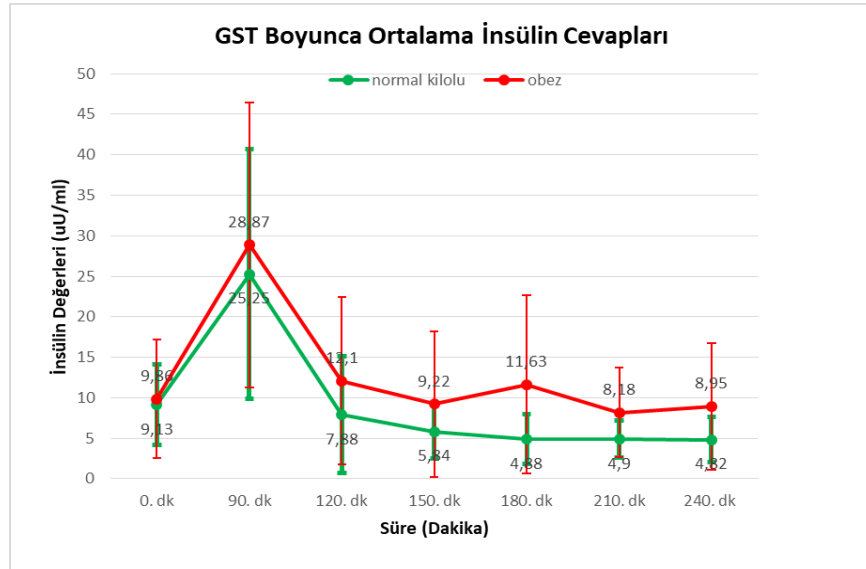


Şekil 14. Normal kilolu ve obez grupta glukagona FGF21 yanıtı

GST boyunca ortalama İnsülin cevabı 90. dakikada her iki grupta da yüksek bulundu. Bütün dakikalarda obez olan grupta insülin değeri daha yüksek bulunmuştur (Şekil 15, 16).

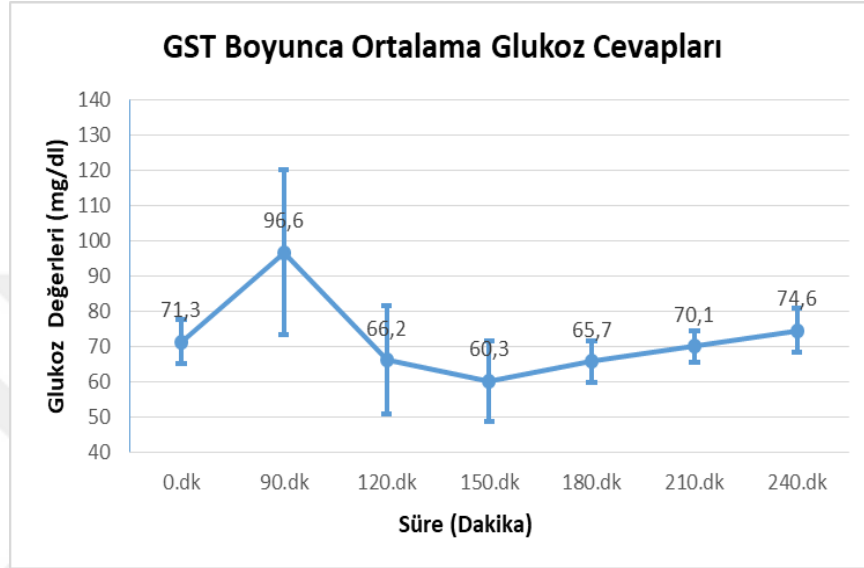


Şekil 15. Glukagona insülin yanıtı

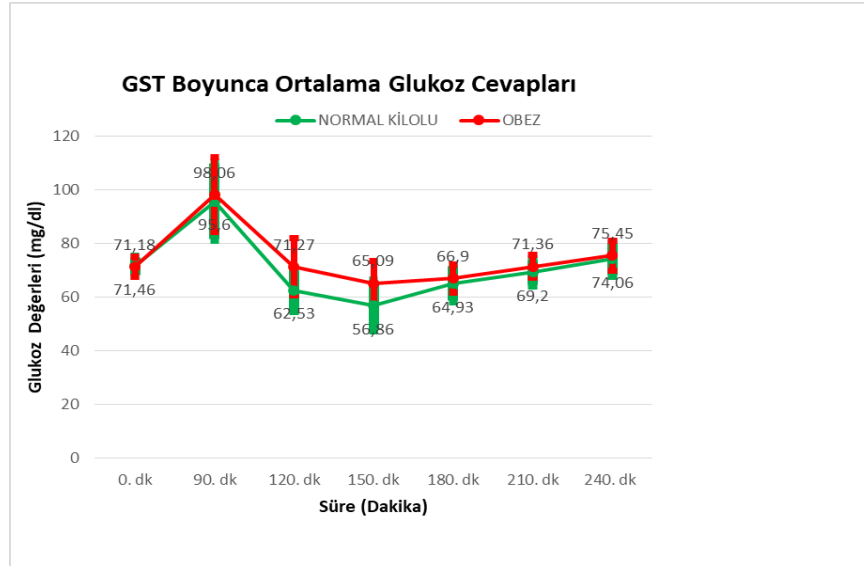


Şekil 16. Normal kilolu ve obez grupta glukagona insülin yanıtı

GST boyunca ortalama glukoz cevabı 90.dakikada diğer dakikalara göre daha yüksek bulundu. Obez olan grupta bütün dakikalarda ortalama glukoz değeri normal kilolulardan yüksek bulundu (Şekil 17, 18).



Şekil 17. Glukagona glukoz yanıtı



Şekil 18. Normal kilolu ve obez grupta glukagona glukoz yanıtı

5. TARTIŞMA

Glukagonun HPA ve GH-IGF-1 akslarını uyardığı uzun yıllardır bilinmektedir (83). GST'nin güvenli, kolay ve ulaşılabilir olması, kortizol ve GH rezervini aynı anda değerlendirmeye olanak sağlaması İTT'ye alternatif olarak kullanılacak bir test olmasını sağlamaktadır (84). Glukagonun GH ve kortizol sekresyonunu hangi mekanizmalarla uyardığı tam olarak bilinmemektedir (85).

FGF21 çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda yer alan, 209 amino asitten oluşan, birden fazla fenotipik etkiye sahip (pleiotropik) bir düzenleyicidir. Esas olarak karaciğerde olmak üzere pankreas, yağ dokusu, iskelet kası gibi metabolik olarak aktif dokularda üretilir. Ortaya çıkan deneysel ve klinik verilerde, FGF21'in kilo kaybı, insülin duyarlılığı, glikoz ve lipid metabolizması üzerinde fizyolojik etkileri olan güçlü bir endokrin düzenleyici olduğu görülmüştür (50, 86, 87). FGF21 somatotropik eksen ve HPA aksı ile birçok hormonal sistemin aktivitesini sağlayarak stres yanıtlarını ve metabolizmayı düzenler (13).

Bu çalışmada HPA ve GH aksını uyaran glukagonun bu uyarıyı yapmada FGF21 üzerinden etkisinin olup olmadığının ortaya konması ve bu etkisinin obezitede glukagonun GH aksını daha az uyarıcı etkisiyle ilişkisinin belirlenmesi amaçlandı.

Çalışmamızda obez grupta normal kilolu gruba göre beklenildiği gibi bel çevresi, vücut ağırlığı ve VKİ değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Obez olan grupta LDL, total kolesterol, trigliserid değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak

yüksek bulunmuştur. Obez olgularımızdaki HDL-K düzeyleri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. VKİ'nin artması TG, LDL ve total kolesterol düzeylerinde artışa HDL-kolesterol düzeylerinde azalmaya neden olmaktadır (88-90). Sonuç olarak artmış VKİ'nin dislipidemiden dolayı metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalık riskini artırabileceği düşünülebilir.

Çalışmamızda obez ve normal kilolu iki grup arasında glukoz, bazal GH, bazal kortizol, insülin, bazal FGF21, IGF-1 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Wilson ve ark. hipofiz hastalığı olan obez 26 hasta ve non-obez 16 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada bazal GH, kortizol, glukoz değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermişlerdir (91).

Bu çalışmada obez grupta pik GH, GH E.A.K.A değerleri normal kilolu gruba göre daha düşük bulundu. VKİ ve vücut ağırlığı ile pik GH arasında negatif korelasyon olduğu saptandı. Gomez ve ark. yaptığı çalışmada VKİ ile pik GH arasında negatif korelasyon olduğunu göstermişlerdir (92). Obezite daha düşük GH düzeyleriyle ilişkilidir (93-96). Bu sonuçlar GST'de GH değerlendirirken VKİ'nin de dikkate alınması gerektiğini ve VKİ arttıkça GH yanıtının azalacağını göstermektedir.

GST'de normal kilolu grupta GH en düşük olarak 0,93 µg/L, ortalama olarak 7.04 ± 5.66 µg/L bulunmuştur. Ülkemizde yapılan çalışmada GST'de GH kesim değerinin 1,18 µg/L üzeri olması durumunda testin tanısal gücünün belirgin bir şekilde arttığı gösterilmiştir (29,30). Dichtel ve ark. yaptığı çalışmada obez ve aşırı kilolu kişilerde GST'nin etki değerinin daha iyi olması için GH kesim değeri 1 µg/L olarak kabul etmişlerdir (97). Bizim çalışmamızda normal kilolu grupta 1 µg/L olarak kabul edildiği zaman sensitivitesi %93 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar GST'de normal kilolu kişilerde GH kesim değerinin 1 µg/L olarak kabul edilmesi, obezlerde daha düşük GH kesim değerleri kullanılmasını gerekebileceğini ortaya koymaktadır. Literatürde en azından bildiğimiz kadarıyla VKİ'ye özgü bir GH kesim değerine rastlanmamıştır.

Normal kilolu grupta glukagona en düşük pik kortizol yanıtı 12,12 µg/dl olarak bulundu. Obez olan grupta ise en düşük pik kortizol yanıtı 10,30 µg/dl olarak ölçüldü. Hamrahian ve ark. yaptığı çalışmada GST'de kortizol kesim değerinin 9 µg/dl ve üzeri

olması durumunda testin tanısal gücünün yeterli olduğu önerilmiştir (31). Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Kliniğinde sağlıklı popülasyonda yapılan bir çalışmada GST’de yeterli kortizol cevabı için eşik değer 9,1 µg/dl olarak bulunmuştur (30). Dolayısıyla gönüllülerin hiç birinde kortizol eksikliği saptanmamıştır.

Glukagon yapıldıktan sonra GH, FGF21, kortizol, glukoz, insülin değerleri anlamlı olarak artmaktadır. Normal kilolu grupta glukagonun FGF21, GH ve kortizol uyarıcı etkisi daha belirginken obez grupta glukoz ve insülini daha fazla artırmıştır. Cyphert ve ark. yaptıkları çalışmada glukagonun translasyonel ve posttranslasyonel bir mekanizma ile hepatik FGF21 sekresyonunu arttırdığını göstermişlerdir (98). Glukagonun HPA ve GH aksını uyarıcı etkisinin hipoglisemi üzerinden mi olduğu tartışılan bir durumdur (85). Serum glukoz düzeyinin 50 mg/dl veya altına düşmesi hipoglisemi olarak kabul edilir (99). Çalışmamızda en düşük glukoz değerleri 2 gönüllüde 40 mg/dl’nin altında, 3 gönüllüde 40-50 mg/dl arasında, 9 gönüllüde 50-60 mg/dl arasında, 12 gönüllüde 60-70 mg/dl arasında saptandı. Sonuç olarak 50 mg/dl hipoglisemi için eşik değer olarak kabul edildiği takdirde 5 gönüllüde hipoglisemi gelişmiştir, kalan 21 gönüllüde glukoz seviyesi 50 mg/dl’nin üzerinde olduğu için hipoglisemi olarak kabul edilmemiştir. GST’de hipoglisemi nadir olarak bildirilmektedir (26,100). Ancak kan glukoz değeri başlangıca göre artmakta ve sonra azalmaktadır. Obez grupta glukoz ve insülin daha fazla artmakta ve sonradan görülen hipoglisemi de obezlerde daha az olmaktadır. Bu da normal kilolu grupta GST’ye pik GH yanıtının ve GH E.A.K.A değerlerinin daha yüksek olmasına sebep olan faktörlerden biri olabilir. Fakat korelasyon analizlerinde kan glukozu ve GH arasında böyle bir ilişki saptanmamıştır. Kortizol, FGF21 değerleri obez ve normal kilolu gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. Ancak obezlerde glukoz ve kortizol yanıtı arasında pozitif yönlü anlamlı korelasyonlar saptanmıştır. Bu bulgular da kortizolün uyarılmasında kan glukozunun etkisinden ziyade kortizolün hiperglisemi yapıcı etkisiyle ve bu etkinin obezlerde daha belirgin olmasıyla izah edilebilir.

Çalışmamızda bazal FGF21 düzeyi normal kilolu grupta ortalama: 969,6 (198,7-1288,5) pg/ml arasında, obez grupta ortalama: 819,7 (134,2–1427,5) pg/ml arasında saptanmış olup, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Jezdimirovic ve ark. yaptığı 21 obez ve 21 normal ağırlıkta 42 kişi üzerinde yaptıkları çalışmada serum FGF21

ortalama düzeyleri, obez grupta $184,80 \pm 99,20$ pg/ml, normal kilolu grupta $153,70 \pm 90,70$ pg/ml bulundu. VKİ ile FGF21 düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını göstermişlerdir (101). Zhang ve ark. 232 kişi (105 VKİ < 25 kg / m^2 , 98 VKİ $25-29.9$ kg / m^2 , 29 VKİ ≥ 30 kg / m^2) ile yaptığı bir çalışmada ise aşırı şişman ve obez 127 kişinin FGF21 düzeylerini ortalama $291,8$ ($144,5-512,0$) ng/ml, normal kilolu 105 kişinin FGF21 düzeylerini ortalama $208,7$ ($94,4-325,7$) ng/ml olarak bulmuşlardır. Aşırı şişman ve obez bireylerde normal kilolu gruba göre FGF21 seviyelerini anlamlı olarak yüksek olduğunu göstermişlerdir (102). Mraz ve ark. normal kilolu 32 kişinin FGF21 düzeyini 213 ± 23 pg/ml, obez 26 kişinin FGF21 düzeyini 323 ± 35 pg/ml olarak bulmuşlardır. Obez bireylerde istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Buna dayanarak obezlerde serum FGF21 düzeyinin yüksek olması visseral yağlı dokuda FGF21 mRNA ekspresyonunu artmasıyla ilişkili olduğu öne sürmüşlerdir (103). Fazeli ve ark. 23 kişi (11 kişi Anoreksiya nervoza, 12 normal kiloda sağlıklı gönüllü) üzerinde yaptıkları çalışmada vücut yağ yüzdesi ve insülin direncinin etkisinden bağımsız olarak FGF21 düzeyinin Anoreksiya nervozalı kişilerde daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (104). Bizim çalışmamızda ise normal kilolu grupta FGF21 düzeyi her dakikada hafifçe yüksek olup bu farklılık anlamlı bulunmadı. Çalışmamızda normal kilolu grupta yaş ile FGF21 düzeyi arasında negatif yönlü korelasyon saptandı. Yapılan çalışmalarda yaşlandıkça FGF21 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (59, 67, 73). Anlamlı fark olmamakla beraber normal kilolularda yaş ortalamasının biraz daha düşük olması ve normal kilolu grupta FGF21 ile yaş arasında negatif yönlü korelasyon olması VKİ'den ziyade yaşın FGF21 düzeyleri üzerinde daha etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda FGF21 düzeyi ile vücut ağırlığı, VKİ, lipid düzeyleri, glukoz, insülin, Homa IR, AST, ALT, GGT, kreatinin, GFR, IGF-1, serbest T4, TSH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı. Lin ve ark. 240 kişi (200 kronik böbrek yetmezliği hastası ve 40 sağlıklı gönüllü kontrol grubu) üzerinde yaptığı çalışmada böbrek yetmezliğinin şiddeti arttıkça serum FGF21 düzeyinin de arttığını göstermişlerdir (105). FGF21'in temel eliminasyon yolunun renal olduğu düşünülmektedir (106). Sonuç olarak böbrek yetmezliği olmadıkça GFR FGF21 düzeylerini etkilememektedir. Galman ve ark. sağlıklı popülasyonunda yaptığı bir çalışmada serum FGF21 konsantrasyonlarının 250 katlık bir aralıkta değiştiğini ve yaş,

cinsiyet, vücut kitle indeksi, serum lipidleri veya plazma glikozu ile ilgili olmadığını göstermiştir (107). Kralisch ve ark. Almanya’da yaptığı çalışmada serum FGF21 seviyeleri ile yaş, obezite parametreleri (ağırlık, VKİ, yağ kütlesi, bel çevresi, kalça çevresi), insülin, glikoz, HOMA-IR, dislipidemi (total kolesterol, LDL-kolesterol ve TG), ALT, AST, GGT arasında anlamlı korelasyonlar göstermişlerdir. Buna dayanarak serum FGF21 düzeylerinin metabolik sendrom ve hepatosellüler fonksiyon ile ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir (108). Dolaşımdaki FGF21 seviyeleri; farklı dokulardan üretilmesi ve salgılanması, hepatosellüler fonksiyon, serbest yağ asitleri, obezite, metabolik stres ve FGF21 direnci gibi birçok durumdan etkilendiği gösterilmiştir (55). Tynismaa ve ark. yaptığı çalışmada genetik faktörlerinde dolaşımdaki FGF21 seviyesine etki ettiğini göstermişlerdir (109). FGF21’in normal düzeylerinde de oldukça geniş bir varyasyon dikkati çekmektedir (110,111). Mevcut çalışmamızda ise FGF21 ile VKİ, lipid düzeyleri, karaciğer ya da böbrek fonksiyon testleri arasında bir ilişki bulunmadığı gibi GST’ye FGF21 cevabı ile glukoz ve insülin cevabı arasında da bir ilişki saptanmadı. FGF21, hepatik glukoz salınımını azaltarak kan glukoz düzeyinin normal aralıklarda tutulmasına katkı sağlamaktadır (112). Normal kilolu grupta pik FGF21 ve pik glukoz arasında negatif yönlü anlamlı korelasyon saptandı. Pik FGF21’i daha yüksek olan normal kilolu grupta pik glukoz değeri daha düşük bulunmuştur. Bu durum FGF21’in hepatik glukoz salınımını azaltması ile ilişkili olabilir. Lee ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada oral glukoz tolerans testinde glukoz ve FGF21 değişimi bakılmış ve aralarında anlamlı korelasyon görülmemiştir (113). Çalışmamızda GST sırasında insülin ve glukoz 0.dk, 90.dk ve 120. dakikalarda, kortizol ve glukoz 150.dk ve 240. dakikada, kortizol ve GH 180. dakikada ve pik düzeyleri arasında pozitif yönlü anlamlı korelasyonlar saptandı. Glukagon uygulamasından 90 dakika sonra kan glukozu ve insülin artmakta sonra azalıp tekrar artarak bazal seviyeye ulaşmaktadır. En düşük glukoz düzeyi normal kilolu kişilerde obezlere göre daha düşük bulunmuştur. Almanyada Arafat ve ark. yaptığı bir çalışmada glukagonun FGF21 üzerine etkisine, bu etkide insülin ve glukoz değişimine bakılmış, insülin ve glukoz ile ilişkisi olmadığı gösterilmiştir. Kan glukoz seviyesinin başlangıçta arttığı sonradan azaldığı ve bazal seviyeye geldiği görülmüştür (114). En düşük glukoz ile bazal FGF21, GH, IGF-1, insülin, kortizol, pik FGF21, pik GH, pik kortizol ve pik insülin arasında korelasyon saptanmadı. Bu sonuçlar glukagonun HPA ve GH aksını uyarıcı etkisinin hipoglisemiyle doğrudan ilgisinin olmadığını göstermektedir. Glukagon sonrası GH ve

kortizol en yüksek düzeylerine genellikle 180.dakikada ulaşmaktadır (115). Pik kortizol ve pik GH arasında anlamlı korelasyon olması glukagonun kortizol ve GH'ü eş zamanlı bir şekilde uyardığını düşündürmekle beraber obezlerde muhtemelen glisemik dalgalanmanın daha az olması sebebiyle GH cevabı artışı 240.dakikaya kadar devam etmektedir.

Normal kilolularda FGF21 90. dk, 120.dk, 150.dk, 180.dk, 210.dk, 240. dakikaları ile GH 240.dk arasında negatif yönlü korelasyon saptandı ancak diğer dakikalarla arasında bir korelasyon saptanmadı. FGF21 artışı 90. dakikadan itibaren ortaya çıkarken GH 150. dakikadan itibaren artmakta ve 180. dakikaya kadar devam etmektedir. Bu bulgularla glukagonun önce FGF21 sonra GH düzeylerini artırdığı ancak GH uyarıcı etkisinin FGF21 üzerinden olmadığı söylenebilir. Literatürde GH'nın FGF21 üzerine etkisini değerlendiren az sayıda deneysel çalışmalar vardır. Chen ve ark. farelere tek doz bolus GH verilmesinin karaciğerde FGF21 mRNA ve protein ekspresyonunu artırdığını ve ardından serum FGF21 düzeylerini yükselttiğini göstermişlerdir. Bir lipoliz inhibitörü olan niasin verilmesi ise bu etkiyi ortadan kaldırmaktadır. Hepatosit veya karaciğerin GH ile direk inkübasyonu ise FGF21 ekspresyonu üzerine etkili bulunmamıştır (78). GH eksikliğinin FGF21 üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada 9 hasta ve 8 sağlıklı gönüllüde bazal FGF21 düzeyleri benzer bulunmuş. Ancak tek bir doz bolus GH enjeksiyonu sonrasında da GH eksikliği olan hastalara bir yıl boyunca GH replasmanı yapıp IGF-I düzeyleri arttıktan sonra da FGF21 düzeyinin değişmediği gösterilmiştir (116). Öte yandan FGF21'in de GH üzerine etkisi olabileceğine işaret eden deneysel çalışmalardan elde edilmiş veriler bulunmaktadır. Farelerde açlıkla beraber artan FGF21 düzeyinin; GH direncine yol açtığı ve farelerde büyümeyi durdurduğu gösterilmiştir (117). İnağaki ve ark. fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada farelere bir veya üç gün boyunca rekombinant FGF21 enjekte etmişler ve belirgin şekilde büyümeyi inhibe ettiğini göstermişlerdir (74).

Çalışmamızda GST boyunca pik GH ve pik kortizolün olduğu dakikalar ve kişi sayılarına bakıldığında genel olarak 180.dakika ve sonrasında pik olduğu görüldü. Normal kilolu ve obez gruplar arasında pik GH ve pik kortizol oluşum zamanı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ancak obez grupta GH artışının daha uzun süre devam ettiği gözlemlendi. Bazı çalışmalarda GST'nin basitleştirilerek 3 saatlik bir test

olarak yapılması önerilmektedir (28,33). Ancak bu çalışmada pik GH gönüllülerin %50'sinde (13 kişi), pik kortizol gönüllülerin %23'ünde (6 kişi) 180.dakikadan sonra oluştu. Bu da özellikle GH cevabı açısından testin 4 saate uzatılmasını gerekli kılmaktadır. Hamrahian ve ark. da yaptıkları çalışmada GST'de bazı hastalarda pik değerlerin 240.dakikada oluştuğunu göstermişlerdir (31).

Çalışmamızda GH normal kilolu grupta daha yüksek iken insülin ve glukoz obez olan grupta daha yüksekti. Glukoz ve insülin 90.dakikada pik yaparken aynı dakikalarda FGF21, GH, kortizol'de belirgin artış görülmemiştir. Hojman ve ark. insan iskelet kasından insülin infüzyonunun FGF21 ekspresyonunu uyardığını ve dolaşımdaki FGF-21 seviyelerinde artışa neden olduğunu göstermişlerdir (118). Mai ve ark. 14 sağlıklı erkek üzerinde yaptıkları çalışmada rastgele seçilen kişilere lipid heparin infüzyonu ve salin heparin infüzyonu 180 dakika boyunca sabit bir hızda vermişlerdir. Başlangıçta serbest yağ asitleri, glukoz, insülin ve FGF21 düzeyleri farksızken, lipid infüzyonu alan grupta serbest yağ asitleri seviyesinin arttığını, heparin infüzyonu alan grupta serbest yağ asitlerinin değişmediğini göstermişlerdir. Glukoz ve insülin seviyesinin ise değişmediği görülmüştür. Heparin infüzyonu alan grupta ise FGF21 seviyesi artmazken lipid infüzyonu olan grupta anlamlı artış görülmüştür. Bu çalışmada insülininden bağımsız olarak serbest yağ asitlerinin değişimi ile FGF21 seviyesinin arttığı gösterilmiştir (119).

Galman ve ark. yaptıkları çalışmada sağlıklı bireylerde 25,5 saat boyunca 90 dakikalık aralıklarla serum FGF21 seviyeleri incelemiş ve başlangıç FGF21 değeri ile kıyaslandığında 25,5 saatlik süre boyunca herhangi bir önemli değişiklik olmadığını göstermişlerdir (107). Danimarkada yapılan başka bir çalışmada i.v glukagon infüzyonu sırasında 360 dakika boyunca FGF21 düzeyi bakılmış infüzyonla FGF21 düzeyinin azaldığı gösterilmiştir (120). Bu çalışmada ise i.v yol kullanılmamış olup glukagon i.m yolla verilmiş ve FGF21 düzeylerini hem normal kilolu ve hem de obez grupta anlamlı olarak artırmıştır. Ghigo ve ark. yaptığı çalışmada i.v glukagon yapılıncaya kortizol ve GH'nun artmadığını göstermişlerdir (100). Çalışmamızda FGF21 ile kortizolün anlamlı korelasyonu gösterilememiştir. Genel olarak grafiklerde de görüldüğü gibi kortizol düzeyinde dalgalanma mevcut iken FGF21 düzeyinde önce hafifçe artma sonra bir plato söz konusudur.

Çalışmamızda obez olan grupta GH aksının yeterince uyarılmadığı kişilerde de FGF21 düzeyinin anlamlı olarak arttığı görüldü. Glukagon GH aksını normal kilolu ve obez grupta benzer şekilde uyarmamasına rağmen FGF21 düzeyleri glukagon yapıldıktan sonra iki grupta da benzer artmaktadır. Sonuç olarak çalışmamızda literatürde ilk defa glukagonun HPA ve GH aksını uyarmasında ve obezitede GH’u daha az uyarıcı etkisi ile FGF21’in ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir.



6. SONUÇLAR

1. Çalışmamızda obez olan grupta LDL, total kolesterol, trigliserid değerleri yüksek HDL değeri düşük bulunmuştur. VKİ değeri arttıkça lipid değerinin artışı görülmüştür.
2. Çalışmamızda obez ve normal kilolu iki grup arasında glukoz, bazal GH, bazal kortizol, insülin, bazal FGF21, IGF-1 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.
3. GST'de normal kilolu grupta pik GH anlamlı olarak yüksek olup, VKİ arttıkça pik GH yanıtı azalmaktadır.
4. GST'de kortizol, insülin, glukoz ve FGF21 değerleri iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi.
5. Çalışmamızda bazal FGF21 düzeyi normal kilolu grupta ortalama: 969,6 (198,7-1288,5) pg/ml arasında, obez grupta ortalama: 819,7 (134,2-1427,5) pg/ml arasında saptanmış olup, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Bireyler arasında FGF21 düzeylerinin geniş bir varyasyon gösterdiği görüldü.
6. GST'de kortizol ve GH yanıtı korelasyon göstermektedir.
7. Glukagon yapıldıktan sonra GH, FGF21, kortizol, glukoz, insülin değerleri anlamlı olarak artmaktadır.

8. Glukagon sonrası GH ve kortizol en yüksek değerini genellikle 180.dakikada oluşturduğu görülmüştür
9. Çalışmamızda GST sırasında glukoz 90.dakikada artmakta sonra azalmaktadır. Bu durum glisemik dalgalanmayla HPA aksını uyarabileceği teorisini desteklemektedir.
10. Çalışmamızda GST'de normal kilolu grupta GH en düşük olarak 0,93 $\mu\text{g/L}$, ortalama olarak $7.04 \pm 5.66 \mu\text{g/L}$ bulunmuştur. 1 $\mu\text{g/L}$ kabul edildiği zaman sensitivitesi %93 olarak bulunmuştur.
11. Çalışmamızda en düşük kortizol 10,3 $\mu\text{g/dl}$ ve ortalama olarak $16,2 \pm 5,5 \mu\text{g/dl}$ olarak bulundu.
12. Sonuç olarak çalışmamızda literatürde ilk defa glukagonun HPA ve GH aksını uyarmasında ve obezitede GH'u daha az uyarıcı etkisi ile FGF21'in ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Grinspoon SK, Biler BMK. Laboratory assessment of adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994; 79: 923-931.
2. Hout WM, Arafah BM, Salazar R, Selman W. Evaluation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis immediately after pituitary adenectomy: is perioperative steroid therapy necessary? *J Clin Endocrinol Metab.* 1988; 66: 1208-1212.
3. Cunningham SK, Moore A, McKenna TJ. Normal cortisol response to corticotropin in patients with secondary adrenal failure. *Arc Int Med.* 1983; 143: 2276-2279.
4. Watts NB, Tindall GT. Rapid assessment of corticotropin reserve after pituitary surgery. *J Am Med Assoc.* 1988; 259: 708-711.
5. Vignati F, Berselli ME, Loli P. Early postoperative evaluation in patients with Cushing's disease: usefulness of ovine corticotropin-releasing hormone test in the prediction of recurrence of disease. *Eur J Endocrinol.* 1994; 130: 235-241.
6. Habegger KM, Heppner KM, Geary N, Bartness TJ, DiMarchi R, Tschöp MH: The metabolic actions of glucagon revisited. *Nat Rev Endocrinol* 2010;6:689-697.
7. Spathis GS, Bloom SR, Jeffcoate WJ, Millar JG, Kurtz A, Pyasena MR, Smith JA, Nabarro JD. Subcutaneous glucagon as a test of the ability of the pituitary to secrete GH and ACTH. *Clin Endocrinol.* 1974;3: 175- 186.
8. Rao RH, Spathis GS. Intramuscular glucagon as a provocative stimulus for the assessment of pituitary function: stimulus for the assessment of pituitary function: growth hormone and cortisol responses. *Metabolism.* 1987; 36: 658-663.
9. Orme SM, Price A, Weetman AP, Ross RJ. Comparison of the diagnostic utility of the simplified and standard i.m. glucagon stimulation test. *Clin Endocrinol.* 1998; 49: 773-778.

10. Goodwin PM, Capildeo R, Harrop JS, Marks V, Rose FC. The metabolic and hormonal response to glucagon. Part 1. Normal subjects. *J Neurol Sci.* 1976; 27(3): 373–380.
11. Lewandowski KC, Lewinski A, Skowronska-Jozwiak E, Stasiak M, Horzelski W, Brabant G. Copeptin under glucagon stimulation. *Endocrine.* 2016; 52: 344-351.
12. Kim T, Nason S, Holleman C, Pepin M, Wilson L, Berryhill TF, ... & Drucker DJ. Glucagon receptor signaling regulates energy metabolism via hepatic farnesoid X receptor and fibroblast growth factor 21. *Diabetes*, 2018; 67(9), 1773-1782.
13. Salminen A, Kaarniranta K, & Kauppinen A. Regulation of longevity by FGF21: Interaction between energy metabolism and stress responses. *Ageing Research Reviews*, 2017; 37, 79-93.
14. Bookout AL, de Groot MH, Owen BM, Lee S, Gautron L, Lawrence HL, Ding X, Elmquist JK, Takahashi JS, Mangelsdorf DJ, & Kliewer SA. FGF21 regulates metabolism and circadian behavior by acting on the nervous system. *Nature medicine*, 2013; 19(9), 1147–1152.
15. Standring S. *The Anatomical Basis of Clinical Practice. Gray's Anatomy.* 39 ed. Edinburgh: Elsevier. 2005;pp. 381-383.
16. Gardner GD, Shoback D, Greenspan's [7] basic and clinical endocrinology. 2013;sf. 65-68.
17. Gardner DG., & Greenspan FS. (Eds.). *Basic & clinical endocrinology.* Lange Medical Books/McGraw-Hill 2004.
18. Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, & Stanton BM. *Nelson textbook of pediatrics e-book.* Elsevier Health Sciences 2007.
19. Gold PW, Goodwin FK, Chrousos GP. Clinical and biochemical manifestations of depression. Relation to the neurobiology of stress (1). *N Engl J Med.* 1988; 319 (6): 348-353.

20. Vale W, Spiess J, Rivier C, Rivier J. Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and betaendorphin. *Science*. 1981; 213 (4514): 1394-1397.
21. Tanriverdi F, Karaca Z, Unluhizarci K, Kelestimur F. The hypothalamopituitary- adrenal axis in chronic fatigue syndrome and fibromyalgia syndrome. *Stress* 2007; 10: 13-25.
22. Cleare AJ, Blair D, Chambers S, Wessely S. Urinary free cortisol in chronic fatigue syndrome. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 641-643.
23. Gaab J, Huster D, Peisen R et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity in chronic fatigue syndrome and health under psychological, physiological, and pharmacological stimulation. *Psychosom Med* 2002; 64: 951-962.
24. Arvat E, Maccagno B, Ramunni J et al. Glucagon is an ACTH secretagogue as effective as hCRH after intramuscular administration while it is ineffective when given intravenously in normal subjects. *Pituitary* 2000; 3: 169-173.
25. Yuen KC, Biller BM, Molitch ME, Cook DM. Clinical review: Is lack of recombinant growth hormone (GH)-releasing hormone in the United States a setback or time to consider glucagon testing for adult GH deficiency? *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94 (8): 2702-2707.
26. Mitchell ML, Byrne MJ, Silver J. Growth-hormone release by glucagon. *Lancet* 1969; 1: 289-290.
27. Conceicao FL, da Costa e Silva A, Leal Costa AJ, Vaisman M. Glucagon stimulation test for the diagnosis of GH deficiency in adults. *J Endocrinol Invest*. 2003; 26 (11): 1065-1070.
28. Berg C, Meinel T, Lahner H, et al. Diagnostic utility of the glucagon stimulation test in comparison to the insulin tolerance test in patients following pituitary surgery. *Eur J Endocrinol*. 2010; 162 (3): 477-482.
29. Tanriverdi F, Unluhizarci K, Coksevim B et al. Kickboxing sport as a new cause of traumatic brain injury-mediated hypopituitarism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 66: 360-366.

30. Karaca Z, Lale A, Tanriverdi F, et al. The comparison of low and standard dose ACTH and glucagon stimulation tests in the evaluation of hypothalamo-pituitary-adrenal axis in healthy adults. *Pituitary*. 2011; 14 (2): 134-140.
31. Hamrahian AH, Yuen KC, Gordon MB, Pulaski-Liebert KJ, Bena J, & Biller BM. Revised GH and cortisol cut-points for the glucagon stimulation test in the evaluation of GH and hypothalamic-pituitary-adrenal axes in adults: results from a prospective randomized multicenter study. *Pituitary*, 2016; 19(3), 332-341.
32. Giuffrida FM, Berger K, Monte L, et al. Relationship between GH response and glycemic fluctuations in the glucagon stimulation test. *Growth Horm IGF Res*. 2009; 19 (1): 77-81.
33. Leong KS, Walker AB, Martin I, et al. An audit of 500 subcutaneous glucagon stimulation tests to assess growth hormone and ACTH secretion in patients with hypothalamic-pituitary disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001; 54 (4): 463-468.
34. Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M & Itoh N. Identification of a novel FGF, FGF21, preferentially expressed in the liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 2000; 1492 203–206.
35. Barraco GM, Luciano R, Semeraro M, Prieto-Hontoria PL, & Manco M. Recently discovered adipokines and cardio-metabolic comorbidities in childhood obesity. *International journal of molecular sciences*, 2014; 15(11), 19760-19776.
36. Kharitonov A, Shiyanova TL, Koester A, Ford AM, Micanovic R, Galbreath EJ, Sandusky GE, Hammond LJ, Moyers JS, Owens RA, Gromada J, Brozinick JT, Hawkins ED, Wroblewski VJ, Li DS, Mehrbod F, Jaskunas SR, Shanafelt AB. FGF21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest* 2005;115:1627–1635.
37. Long YC & Kharitonov A. Hormone-like fibroblast growth factors and metabolic regulation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011; 1812 791–795.
38. Giralt M, Gavalda-Navarro A, Villarroya F. Fibroblast growth factor21 energy balance and obesity. *Mol Cell Endocrinol*. 2015;418 Pt 1:66-73.

39. Erickson A, Moreau R. The regulation of FGF21 gene expression by metabolic factors and nutrients. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2016;30(1).
40. Sarruf DA, Thaler JP, Morton GJ, German J, Fischer JD, Ogimoto K, et al. Fibroblast growth factor 21 action in the brain increases energy expenditure and insulin sensitivity in obese rats. *Diabetes.* 2010;59(7):1817-24.
41. Xu J, Stanislaus S, Chinookoswong N, Lau YY, Hager T, Patel J, et al. Acute glucose-lowering and insulin-sensitizing action of FGF21 in insulin-resistant Mouse models--association with liver and adipose tissue effects. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism.* 2009;297(5):E1105-14.
42. Degirolamo C, Sabba C, Moschetta A. Therapeutic potential of the endocrine fibroblast growth factors FGF19, FGF21 and FGF23. *Nature Reviews Drug Discovery* 2016;15:51–69.
43. So WY, & Leung PS. Fibroblast growth factor 21 as an emerging therapeutic target for type 2 diabetes mellitus. *Medicinal research reviews,* 2016;36(4), 672-704.
44. Andersen B, Beck-Nielsen H, Hojlund K. Plasma FGF21 displays a circadian rhythm during a 72-h fast in healthy female volunteers. *Clinical endocrinology.* 2011;75(4):514-9.
45. Yu H, Xia F, Lam KS, Wang Y, Bao Y, Zhang J, et al. Circadian rhythm of circulating fibroblast growth factor 21 is related to diurnal changes in fatty acids in humans. *Clinical chemistry.* 2011;57(5):691-700.
46. Oishi K, Uchida D, Ishida NN. Circadian expression of FGF21 is induced by PPAR α activation in the mouse liver. *FEBS Lett* 2008;582:3639–42
47. Zhang X, Ibrahimi OA, Olsen SK, Umemori H, Mohammadi M, Ornitz DM. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. The complete mammalian FGF family. *The Journal of biological chemistry.* 2006;281(23):15694-700.
48. Yang C, Jin C, Li X, Wang F, McKeehan W, & Luo Y. Differential specificity of endocrine FGF19 and FGF21 to FGFR1 and FGFR4 in complex with KLB. *Public Library of Science One,* 2012; 7(e33870).

49. Kharitononkov A, Dunbar J, & Bina H. FGF21/FGF21 receptor interaction and activation is determined by betaKlotho. *Journal of Cellular Physiology*, 2008; 215, 1–7.
50. Beenken A, Mohammadi M. The FGF family: biology, pathophysiology and therapy.. *Nat Rev Drug Discov*. 2008;8:235–53.
51. Ogawa Y, Kurosu H, & Yamamoto M. BetaKlotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007;104, 7432–7437.
52. Yuan D, Wu BJ, Henry A, Rye KA, Ong KL. Role of fibroblast growth factor 21 in gestational diabetes mellitus: A mini-review. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2019;90(1):47-55.
53. Coskun T, Bina HA, Schneider MA, Dunbar JD, Hu CC, Chen Y, et al. Fibroblast growth factor 21 corrects obesity in mice. *Endocrinology*. 2008;149(12):6018-27.
54. Xu J, Lloyd DJ, Hale C, Stanislaus S, Chen M, Sivits G, et al. Fibroblast growth factor 21 reverses hepatic steatosis, increases energy expenditure, and improves insulin sensitivity in diet-induced obese mice. *Diabetes*. 2009;58(1):250-9.
55. Woo YC, Xu A, Wang Y, Lam KS. Fibroblast growth factor 21 as an emerging metabolic regulator: clinical perspectives. *Clin. Endocrinol (Oxf)*. 2013; 78, 489–496.
56. Kim KH, Lee MS. FGF21 as a mediator of adaptive responses to stress and metabolic benefits of anti-diabetic drugs. *J. Endocrinol*. 2015; 226, R1–R16.
57. Planavila A, Redondo-Angulo I, Ribas F, Garrabou G, Casademont J, Giralt M, Villarroya F. Fibroblast growth factor 21 protects the heart from oxidative stress. *Cardiovasc. Res*. 2015;106, 19–31.
58. Jin L, Lin Z, Xu A. Fibroblast growth factor 21 protects against atherosclerosis via fine-tuning the multiorgan crosstalk. *Diabetes Metab. J*. 2016; 40, 22–31.

59. Youm YH, Horvath TL, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA, Dixit VD. Prolongevity hormone FGF21 protects against immune senescence by delaying age-related thymic involution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2016; 113, 1026–1031.
60. Alonge KM, Meares GP, & Hillgartner FB. Glucagon and insulin cooperatively stimulate fibroblast growth factor 21 gene transcription by increasing the expression of activating transcription factor 4. *Journal of Biological Chemistry*, 2017; 292(13), 5239-5252.
61. Patel R, Bookout AL, Magomedova L, Owen BM, Consiglio GP, Shimizu M, Zhang Y, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA, Cummins CL. Glucocorticoids regulate the metabolic hormone FGF21 in a feed-forward loop. *Mol. Endocrinol.* 2015; 29, 213–223.
62. Sa-Nguanmoo P, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. Potential roles of fibroblast growth factor 21 in the brain. *Metab. Brain Dis.* 2016;31, 239–248.
63. Liang Q, Zhong L, Zhang J, Wang Y, Bornstein SR, Triggle CR, Ding H, Lam KS, Xu A. FGF21 maintains glucose homeostasis by mediating the cross talk between liver and brain during prolonged fasting. *Diabetes.* 2014;63:4064–75.
64. Lundasen T, Angelin Bo, Rudling M, Hunt M, Sanyal S, Alexson S. PPAR α is a key regulator of hepatic FGF21. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;360 437–40.
65. Herrington J, Smit LS, Schwartz J, & Carter-Su C. The role of STAT proteins in growth hormone signaling. *Oncogene*, 2000;19(21), 2585-2597.
66. LeRoith D, & Yakar S. Mechanisms of disease: metabolic effects of growth hormone and insulin-like growth factor 1. *Nature clinical practice Endocrinology & metabolism*, 2007;3(3), 302-310.
67. Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, Ding X, Gautron L, Parameswara V, Li Y, Goetz R, Mohammadi M, Esser V, Elmquist JK, Gerard RD, Burgess SC, Hammer RE, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA. Endocrine regulation of the fasting response by PPAR α -mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell Metab.* 2007;5, 415–425.

68. Arner P, Pettersson A, Mitchell PJ, Dunbar JD, Kharitonov A, & Rydén M. FGF21 attenuates lipolysis in human adipocytes—a possible link to improved insulin sensitivity. *FEBS letters*, 2008;582(12), 1725-1730.
69. Vijayakumar A, Novosyadlyy R, Wu Y, Yakar S, & LeRoith D. Biological effects of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. *Growth Hormone & IGF Research*, 2010;20(1), 1-7.
70. Weitzman ED. Circadian rhythms and episodic hormone secretion in man. *Annual review of medicine*, 1976; 27(1), 225-243.
71. Friend K, Iranmanesh A, Login IS, & Veldhuis JD. Pyridostigmine treatment selectively amplifies the mass of GH secreted per burst without altering GH burst frequency, half-life, basal GH secretion or the orderliness of GH release. *European journal of endocrinology*, 1997; 137(4), 377-386.
72. Bartke A, Sun LY, Longo V. Somatotrophic signaling: trade-offs between growth, reproductive development, and longevity. *Physiol. Rev.* 2013; 93, 571–598.
73. Zhang Y, Xie Y, Berglund ED, Coate KC, He TT, Katafuchi T, Xiao G, Pothoff MJ, Wei W, Wan Y, Yu RT, Evans RM, Kliewer SA, Mangelsdorf DJ. The starvation hormone, fibroblast growth factor-21, extends lifespan in mice. *Elife* 1, 2012;e00065.
74. Inagaki T, Lin VY, Goetz R, Mohammadi M, Mangelsdorf DJ, & Kliewer SA. Inhibition of growth hormone signaling by the fasting-induced hormone FGF21. *Cell metabolism*, 2008;8(1), 77–83.
75. Johnson SC, Rabinovitch PS, Kaeberlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature* 2013;493, 338–345.
76. Cornu M, Oppliger W, Albert V, Robitaille AM, Trapani F, Quagliata L, Fuhrer T, Sauer U, Terracciano L, & Hall MN. Hepatic mTORC1 controls locomotor activity, body temperature, and lipid metabolism through FGF21. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014;111(32), 11592–11599.

77. Owen BM, Ding X, Morgan DA, Coate KC, Bookout AL, Rahmouni K, Kliewer SA, Mangelsdorf DJ. FGF21 acts centrally to induce sympathetic nerve activity, energy expenditure, and weight loss. *Cell Metab.* 2014;20, 670–677.
78. Chen W, Hoo RLC, Konishi M, Itoh N, Lee PC, Ye HY, ... & Xu A. Growth hormone induces hepatic production of fibroblast growth factor 21 through a mechanism dependent on lipolysis in adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 2011; 286(40), 34559-34566.
79. Dunn G, Everitt B, *Clinical Biostatistics*, London, 1995, 50-52.
80. Aksakoğlu G, *Sağlıkta Araştırma Teknikleri ve Analiz Yöntemleri*, İzmir, 2001, 308.
81. Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences* (2. baskı). Hillsdale, NJ: Erlbaum. 1988.
82. Leech NL, Barrett KC ve Morgan GA. *SPSS for intermediate statistics: Use and interpretation* (3.baskı). NJ: Lawrence Erlbaum Associates. 2008.
83. Andler W, Biro G, Bernasconi S, Giovanelli GA. Comparative study of serum growth hormone and plasma cortisol levels in stimulation tests with insulin and propranolol-glucagon. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1975; 80: 70-80.
84. Boguszewski CL. Glucagon stimulation test: has its time come?. *Endocrine* 2017;57,361-363
85. Giuffrida FM, Berger K, Monte L, Oliveira CH, Hoff AO, Maciel RM, & Vieira JGH. Relationship between GH response and glycemic fluctuations in the glucagon stimulation test. *Growth Hormone & IGF Research*, 2009;19(1), 77-81.
86. Planavila A, Redondo I, Hondares E, Vinciguerra M, Munts C, Iglesias R. Fibroblast growth factor 21 protects against cardiac hypertrophy in mice. *Nat Commun.* 2013;4:2019.
87. Babaknejad N, Nayeri H, Hemmati R, Bahrami S, Esmailzadeh A. An Overview of FGF19 and FGF21: The Therapeutic Role in the Treatment of the Metabolic Disorders and Obesity. *Hormone and metabolic research* =

Hormonund Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme. 2018;50(6):441-52.

88. Shamai L, Lurix E, Shen M, Novaro GM, Szomstein S, Rosental R, et al. Association of body mass index and lipid profiles: evaluation of a broad spectrum of body mass index patients including the morbidly obese. *Obes Surg* 2011;21:42-7.
89. Costa LAD, Arora P, Bailo BG, Karmali M, El-Soheymy A, Badawi A, The association between obesity, cardiometabolic disease biomarkers, and innate immunity-related inflammation in Canadian adults, *Diabetes Metabolic Syndrome Obesity*. 2012; 5: 347–355.
90. Bays HE, Toth PP, Kris-Etherton PM, Abate N, Aronne LJ, Brown WV, ... & Samuel VT. Obesity, adiposity, and dyslipidemia: a consensus statement from the National Lipid Association. *Journal of clinical lipidology*, 2013;7(4), 304-383.
91. Wilson JR, Utz AL, & Devin JK. Effects of gender, body weight, and blood glucose dynamics on the growth hormone response to the glucagon stimulation test in patients with pituitary disease. *Growth Hormone & IGF Research*, 2016; 26, 24-31.
92. Gomez JM, Espadero RM, Escobar-Jimenez F, et al. Growth hormone release after glucagon as a reliable test of growth hormone assessment in adults. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;56:329–334.
93. Pijl H, Langendonk JG, Burggraaf J, et al. Altered neuroregulation of GH secretion in viscerally obese premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:5509–5515.
94. Utz AL, Yamamoto A, Sluss P, Breu J, Miller KK. Androgens may mediate a relative preservation of IGF-I levels in overweight and obese women despite reduced growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:4033–4040.
95. Makimura H, Stanley T, Mun D, You SM, Grinspoon S. The effects of central adiposity on growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone-

- arginine stimulation testing in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:4254–4260.
96. Beck P, Koumans JH, Winterling CA, Stein MF, Daughaday WH, Kipnis DM. Studies of insulin and growth hormone secretion in human obesity. *J Lab Clin Med.* 1964;64:654–667.
 97. Dichtel LE, Yuen KC, Bredella MA, Gerweck AV, Russell BM, Riccio AD, ... & Miller KK. Overweight/obese adults with pituitary disorders require lower peak growth hormone cutoff values on glucagon stimulation testing to avoid overdiagnosis of growth hormone deficiency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2014;99(12), 4712-4719.
 98. Cyphert HA, Alonge KM, Ippagunta SM and Hillgartner FB. Glucagon stimulates hepatic FGF21 secretion through a PKA- and EPAC-dependent posttranscriptional mechanism. *PLoS ONE* 2014;9, e94996.
 99. Field JB. Hypoglycemia: definition, clinical presentations, classification, and laboratory tests. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 1989;18(1), 27-43.
 100. Ghigo E, Bartolotta E, Imperiale E et al. Glucagon stimulates GH secretion after intramuscular but not intravenous administration. Evidence against the assumption that glucagon per se has a GH-releasing activity. *J Endocrinol Invest* 1994; 17: 849-854.
 101. Jezdimirovic T, Stajer V, & Ostojic V SM. Cardiovascular autonomic reflex tests and serum FGF21 levels in overweight and normal-weight men and women. *Archives of physiology and biochemistry*, 2019;1-5.
 102. Zhang X, Yeung DC, Karpisek M, et al. Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes* 2008;57:1246–53.
 103. Mraz M, Bartlova M, Lacinova Z. et al. Serum concentrations and tissue expression of a novel endocrine regulator fibroblast growth factor-21 in patients with type 2 diabetes and obesity. *Clinical endocrinology (Oxford)*, 2009;71, 369–375.

104. Fazeli PK, Misra M, Goldstein M, Miller KK, & Klibanski A. Fibroblast growth factor-21 may mediate growth hormone resistance in anorexia nervosa. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 2010;95(1), 369–374.
105. Lin Z, Zhou Z, Liu Y, Gong Q, Yan X, Xiao J, ... & Li X. Circulating FGF21 levels are progressively increased from the early to end stages of chronic kidney diseases and are associated with renal function in Chinese. *PLoS one*, 2011;6(4), e18398.
106. Hindricks J, Ebert T, Bachmann A, Kralisch S, Lössner U, Kratzsch J, ... & Bast I. Serum levels of fibroblast growth factor-21 are increased in chronic and acute renal dysfunction. *Clinical endocrinology*, 2014;80(6), 918-924.
107. Galman C, Lundasen T, Kharitonov A, et al. The circulating metabolic regulator FGF21 is induced by prolonged fasting and PPARalpha activation in man. *Cell Metab* 2008;8:169–74.
108. Kralisch S, Tönjes A, Krause K, Richter J, Lossner U, Kovacs P, ... & Fasshauer M. Fibroblast growth factor-21 serum concentrations are associated with metabolic and hepatic markers in humans. *J Endocrinol*, 2013; 216(2), 135-143.
109. Tynismaa H, Raivio T, Hakkarainen A, Ortega-Alonso A, Lundbom N, Kaprio J, ... & Pietiläinen KH. Liver fat but not other adiposity measures influence circulating FGF21 levels in healthy young adult twins. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2011;96(2), E351-E355.
110. Christodoulides C, Dyson P, Sprecher D, Tsintzas K, & Karpe F. Circulating fibroblast growth factor 21 is induced by peroxisome proliferator-activated receptor agonists but not ketosis in man. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2009;94(9), 3594-3601.
111. Badman MK, Pissios P, Kennedy AR, Koukos G, Flier JS, Maratos-Flier E. Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPARalpha and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell metabolism*. 2007;5(6):426-37.

112. Emanuelli B, Vienberg SG, Smyth G, Cheng C, Stanford KI, Arumugam M, Michael MD, Adams AC, Kharitononkov A, Kahn CR. Interplay between FGF21 and insulin action in the liver regulates metabolism. *J Clin Invest* 2014;(124):515–27.
113. Lee SY, Burns SF, Ng KK, Stensel DJ, Zhong L, Tan FH, ... & Yap EP. Fibroblast Growth Factor 21 Mediates the Associations between Exercise, Aging, and Glucose Regulation. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 2020;52(2), 370-380.
114. Arafat AM, Kaczmarek P, Skrzypski M, Pruszyńska-Oszmalek E, Kołodziejcki P, Szczepankiewicz D, ... & Nowak KW. Glucagon increases circulating fibroblast growth factor 21 independently of endogenous insulin levels: a novel mechanism of glucagon-stimulated lipolysis?. *Diabetologia*, 2013;56(3), 588-597.
115. Littley MD, Gibson S, White A, Shalet SM. Comparison of the ACTH and cortisol responses to provocative testing with glucagon and insulin hypoglycemia in normal subjects. *Clin Endocrinol*. 1989; 31: 527-533.
116. Lundberg J, Höybye C, Krusenstjerna-Hafström T, Bina HA, Kharitononkov A, Angelin B, & Rudling M. Influence of growth hormone on circulating fibroblast growth factor 21 levels in humans. *Journal of internal medicine*, 2013; 274(3), 227-232.
117. Potthoff MJ, Inagaki T, Satapati S, Ding X, He T, Goetz R. FGF21 induces PGC-1 α and regulates carbohydrate and fatty acid metabolism during the adaptive starvation response. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106 10853–8.
118. Hojman P, Pedersen M, Nielsen AR, Krogh-Madsen R, Yfanti C, Akerstrom T, Nielsen S, & Pedersen BK. Fibroblast growth factor-21 is induced in human skeletal muscles by hyperinsulinemia. *Diabetes*, 2009; 58(12), 2797–2801.
119. Mai K, Bobbert T, Groth C, Assmann A, Meinus S, Kraatz J, ... & Spranger J. Physiological modulation of circulating FGF21: relevance of free fatty acids and insulin. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2010;299(1), E126-E130.

120. Hansen JS, Clemmesen JO, Secher NH, Hoene M, Drescher A, Weigert C, ... & Plomgaard P. Glucagon-to-insulin ratio is pivotal for splanchnic regulation of FGF21 in humans. *Molecular metabolism*, 2015; 4(8), 551-560.



T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr. İlyas AKKAR'a ait ‘‘ Glukagon stimülasyon testi'nin (GST) hipotalamo – pitüiter adrenal (HPA) ve growth hormon (GH) aksını uyarıcı etkisi fibroblast growth factor-21 (FGF-21) üzerinden mi gerçekleşiyor? ‘‘ adlı uzmanlık tezi, aşağıdaki jüri tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:

28.10.2020

İmza

Başkan : Prof. Dr. Kürşat ÜNLÜHIZARCI

Üye : Prof. Dr. Züleyha KARACA

Üye : Doç. Dr. Yasin ŞİMŞEK