

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI

**METABOLİK SENDROMUN PATOFİZYOLOJİSİNDE SANTRAL
OKSİDATİF STRESİN ROLÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Bora PALABIYIK

Tez Danışmanı
Öğr. Gör. Dr. Bilgen BAŞGUT

ANKARA

Ağustos 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI

**METABOLİK SENDROMUN PATOFİZYOLOJİSİNDE SANTRAL
OKSİDATİF STRESİN ROLÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Bora PALABIYIK

Tez Danışmanı

Öğr. Gör. Dr. Bilgen BAŞGUT

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 02/2011-23 proje numarası ile desteklenmiştir.

G.Ü.ET-11.036 kod numaralı ve 172-16792 sayılı etik kurul izni alınmıştır.

ANKARA

Ağustos 2011

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	
İçindekiler	I
Şekiller	IV
Tablolar	VI
Kısaltmalar	VII
İngilizce Terimlerin karşılıkları	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Metabolik sendrom nedir?.....	4
2.2. Tarihçesi.....	5
2.3. Farklı tanımlamaları ve tanı kriterleri.....	6
2.3.1 NCEP ATP III Tanımı.....	7
2.3.2 AHA/NHLBL Tanımı.....	8
2.3.3 IDF Tanımı.....	9
2.3.4 WHO Tanımı.....	10
2.4. Prevalansı.....	12
2.4.1 Dünya'daki prevalansı.....	13
2.4.2 Türkiye'deki prevalansı.....	13
2.5. Risk Faktörleri.....	15
2.5.1 Metabolik Sendromun KVH oluşturma riski.....	16
2.5.2 Metabolik Sendromun Tip II Diyabet oluşturma riski.....	16

2.6. Patofizyolojisi.....	18
2.6.1 İnsülin rezistansı.....	18
2.6.2 Abdominal obezite.....	23
2.6.3 Hipertansiyon.....	24
2.6.4 Dislipidemi.....	26
2.7. Tedavi yaklaşımları.....	27
2.7.1 Yaşam tarzı değişikliği.....	27
2.7.2 İlaç tedavisi.....	28
2.8. Deneysel metabolik sendrom oluşturma modelleri.....	31
2.9. Metabolik sendromun santral mekanizması.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	
3.1. Gereçler.....	35
3.1.1 Kullanılan Deney Hayvanları Ve Diyet.....	35
3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler Ve Çözeltiler.....	36
3.1.3 Kullanılan Deney Araçları.....	37
3.2. Yöntemler.....	38
3.2.1 Sistolik kan basıncı ölçümü.....	38
3.2.2 Kan Glukoz, Trigliserit, HDL, Total Kolesterol ölçümleri.....	38
3.2.3 Oral glukoz tolerans testi (OGTT).....	39
3.2.4 Dokuların izolasyonu ve homojenizasyonu.....	39
3.2.5 Gerçek Zamanlı PCR süreci.....	40
3.2.6 İstatiksel analiz.....	46

4. BULGULAR	47
4.1 Ağırlık - Yem ve su tüketimi.....	47
4.2 Biyokimyasal Parametreler.....	50
4.2.1 Kan glukozu.....	50
4.2.2 Serum HDL.....	51
4.2.3 Serum trigliserit.....	52
4.3 Sistolik kan basıncı.....	53
4.4 Oral glukoz tolerans testi.....	54
4.5 Gerçek Zamanlı PCR Bulguları.....	56
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇ	64
7. ÖZET	65
8. SUMMARY	68
9. KAYNAKLAR	70
10. TEŞEKKÜR	88
11. ÖZGEÇMİŞ	89

ŞEKİLLER VE TABLOLAR

A) ŞEKİLLER

Şekil 1 : Metabolik sendromla ilişkili gelişebilen patolojik durumlar	4
Şekil 2 : Türkiye’de yaşa ve cinsiyete göre metabolik sendrom prevalansı (METSAR)	14
Şekil 3 : Metabolik sendromun patofizyolojisi	15
Şekil 4 : Yağ asidi aracılı insülin rezistansı için muhtemel mekanizma	21
Şekil 5 : Altı haftalık diyet süresi boyunca sıçanların yem tüketimi	48
Şekil 6 : Altı haftalık diyet süresi boyunca sıçanların su tüketimi	49
Şekil 7 : Kan glukoz düzeyleri üzerine yaş ve 6 haftalık %20 fruktoz diyetinin etkisi	50
Şekil 8 : Kan HDL düzeyleri üzerine yaş ve 6 haftalık fruktoz %20 diyetinin etkisi	51

Şekil 9 : Kan trigliserit düzeyleri üzerine yaşın ve 6 haftalık fruktoz diyetinin etkisi	52
Şekil 10 : Sistolik kan basıncı üzerine yaşın ve %20'lik fruktoz diyetinin etkisi	53
Şekil 11 : Oral glukoz yüklemesinden sonra oluşturulan kan glukoz zaman-grafiği	54
Şekil 12 : Oral glukoz yüklemesinden sonra oluşturulan kan glukoz zaman EAA grafiği	55
Şekil 13 : Hipotalamik NADPH oksidaz alt ünitelerinin (<i>gp91phox</i> , <i>p22phox</i> , <i>p47phox</i>) mRNA düzeyleri üzerine yaşın ve fruktoz diyetinin etkisi	57
Şekil 14 : Hipotalamik antioksidan mRNA (<i>CuZnSOD</i> , <i>MnSOD</i> , <i>Katalaz</i>) düzeyleri üzerine yaşın ve fruktoz diyetinin etkisi	58
Şekil 15 : Hipotalamik TH mRNA düzeyleri üzerine yaşın ve fruktoz diyetinin etkisi	59

B) TABLolar

Tablo I. Metabolik Sendrom NCEP-ATP III** Tanı Kriterleri (2001)	7
Tablo II. Uluslararası Diyabet Federasyonunun Metabolik Sendrom Tanımı(2005)	9
Tablo III. Dünya Sağlık Örgütü Metabolik Sendrom Kriterleri (1999)	10
Tablo IV. Metabolik sendromun tedavisi	31
Tablo V. Altı haftalık diyet süresi boyunca sıçanlarda ağırlık değişimi	48

KISALTMALAR

ACE : Anjiyotensin dönüştürücü enzim

ACEG : Amerikan Klinik Endokrinoloji Topluluğu

AHA/NHLBI : Amerikan Ulusal Kalp Sağlığı Topluluğu

CETP : Kolesterol esteri transfer proteini

EGIR : Avrupa İnsülin Rezistansı Çalışma Grubu

ET-1 : Endotelin-1

HDL : Yüksek dansiteli lipoproteinemi

IDF : Uluslararası Diyabet Federasyonu

LDL : Düşük dansiteli lipoproteinemi

MAPK : Mitojenle aktive edilmiş protein kinaz

MetS : Metabolik sendrom

METSAR : Metabolik sendrom araştırması

NO : Nitrik oksit

NASFLD : Alkolden bağımsız gelişen karaciğer yağlanması

NCEP-ATP III :Ulusal Kolesterol Eğitim Programı–Yetişkin tedavi paneli-III

NHANES : Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırma Anketi

O₂⁻ : Süperoksit anyonu

OGTT : Oral glukoz tolerans testi

PI3K : Fosfoinoziditid-3-kinaz

PCOS : Polikistik over sendromu

PCR : Polimeraz Zincirleme Tepkimesi

RAAS : Renin-anjiyotensin-aldesteron sistemi

ROT : Reaktif oksijen türleri

VLDL : Çok düşük dansiteli lipoproteinemi

WHO (=DSÖ) : Dünya Sağlık Örgütü

İngilizce Terimler İçin nerilen Türkçe Karşılıklar

Adipozite : Yağlanma

Adhezyon : Yapışkanlık

Ekspresyon : Dışa vurum, ortaya çıkarma

İnsidans : Ortaya çıkma, görülme sıklığı

İndüklemek : Tetiklemek

İrreversible : Geri dönüşümsüz

Komponent : Bileşen

Korelasyon : Değişkenler arasındaki ilişki

Kompensatuvar : Dengeleyici

Lipojenik : Yağda çözünebilen

Mortalite : Ölüm oranı / riski

Morbidite : Hastalık oranı / riski

Overload : Aşırı yükleme

Pleiotropik : Belirli bir genin birden çok fenotipik etkiye yol açması

Prevalans : Tekrarlanma sıklığı

Proses : Süreç

Relatif : Görelilik

Reversible : Geri dönüşümlü

Rezistans : Direnç

Rabdomiyoliz : İskelet kasındaki hasar sebebiyle gelişen bozulma ve fonksiyon kaybı durumudur.

Subkutan : Deri altı

Stimülasyon : Aktivasyon

Transport : Taşınma

Translokasyon : Yer değiştirme

Tolerabilite : Bir ilacın olası yan etkilerine organizmanın dayanma gücü

Viseral : İntra-abdominal, iç organları saran yağ

1. GİRİŞ

Metabolik sendrom, aşırı yemek yeme ve hareketsiz yaşam tarzının sonucu olarak ortaya çıkan abdominal obeziteden kaynaklanan; hipertansiyon, diyabet ve dislipideminin eşlik ettiği kompleks bir patolojidir. Metabolik sendromda tip II diyabet gelişmesine ve kardiyovasküler hastalık riskinin artmasına yol açan bir dizi risk faktörünün bir arada bulunması, buna bağlı morbidite ve mortalitenin artması hastalığın klinik yönden önemine işaret etmektedir. Bu nedenle metabolik sendromun patofizyolojisinin aydınlatılmasına yönelik çalışmalar yeni tedavi protokolleri ve profilaktik yaklaşımların geliştirilebilmesi için önemlidir¹.

Metabolik sendromun patofizyolojisinde sempatik nöral faktörlerin rol oynadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir^{2,3}. Enerji tüketimi, glukoz ve insülin düzeyleri ve kan basıncının homeostatik kontrolünde yer alan nöroadrenerjik mekanizmaların gerek metabolik gerekse kardiyovasküler fonksiyonlardaki anahtar rolü bilinmektedir⁴. Bununla birlikte metabolik sendromun komponentlerinden visceral obezite, kan basıncı artışı ve insülin rezistansında sempatik akışın arttığına gösterilmesi de metabolik sendromda sempatik aktivite artışı hipotezini desteklemektedir.^{10,11} Bunu kanıtlayan diğer çalışmalarda da metabolik sendromlu hastalarda üriner normetanefrin düzeyinin arttığı⁵ ve adrenerjik fonksiyonun belirteci olan plazma norepinefrinin düzeyinin hipokalorik diyet programı uygulanan metabolik sendromlu hastalarda %40 oranında azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca metabolik sendromlu hastalarda santral adrenerjik çıkışın arttığı⁶ ve kalori kısıtlaması diyeti ile sempatik sinir ateşleme hızının azaldığı ve sonuçta metabolik profilin iyileştiği saptanmıştır⁷. Metabolik sendromda sempatik sinir sistemi aktivitesinin

artışını destekleyen bu çalışmaların yanı sıra barorefleks disfonksiyonun da buna katkıda bulunduğu belirlenmiştir^{6,8}.

Son yıllarda yapılan çalışmalar metabolik sendromun gelişiminde oksidatif stresin rol oynadığı hipotezi üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu hastalığın önemli komponentlerinden hiperglisemi ve inflamasyonda reaktif okijen türleri (ROT) oluşumu ve NADPH oksidazın aşırı aktivasyonu sonucunda oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir⁹. Vücut kitle indeksi, kan basıncı ve trigliseritemi ile NO düzeyleri arasındaki negatif korelasyon ve metabolik rahatsızlıkları olan hastalarda düşük NO¹⁰ düzeyleri, bu prosese nitrit oksit biyoyararlanımındaki azalmanın eşlik ettiği bulgusunu¹¹ desteklemektedir. Bunun yanı sıra, metabolik sendromda oksidatif ve nitrozatif stresin belirteçlerinden olan okside olmuş plazma proteinlerinin² ve peroksitlerin düzeylerinin¹² arttığı ve total antioksidan aktivitenin azaldığı^{9,12,13} gösterilmiştir.

Metabolik sendromda yer alan patolojilerden obezite ile indüklenen hipertansiyonda da oksidatif stres artışının önemli patojenik mekanizmalar arasında yer aldığı bilinmesine^{14,15} rağmen, bu hastalıkta santral oksidatif stresin rolü ve yaşlanmayla birlikte bu prosesin nasıl etkilendiği incelenmemiştir. Bütün bu bilgiler doğrultusunda bu çalışmada yaşlanmayla birlikte metabolik sendromun patofizyolojisine santral oksidatif stresin katkısının araştırılması amaçlanmıştır.

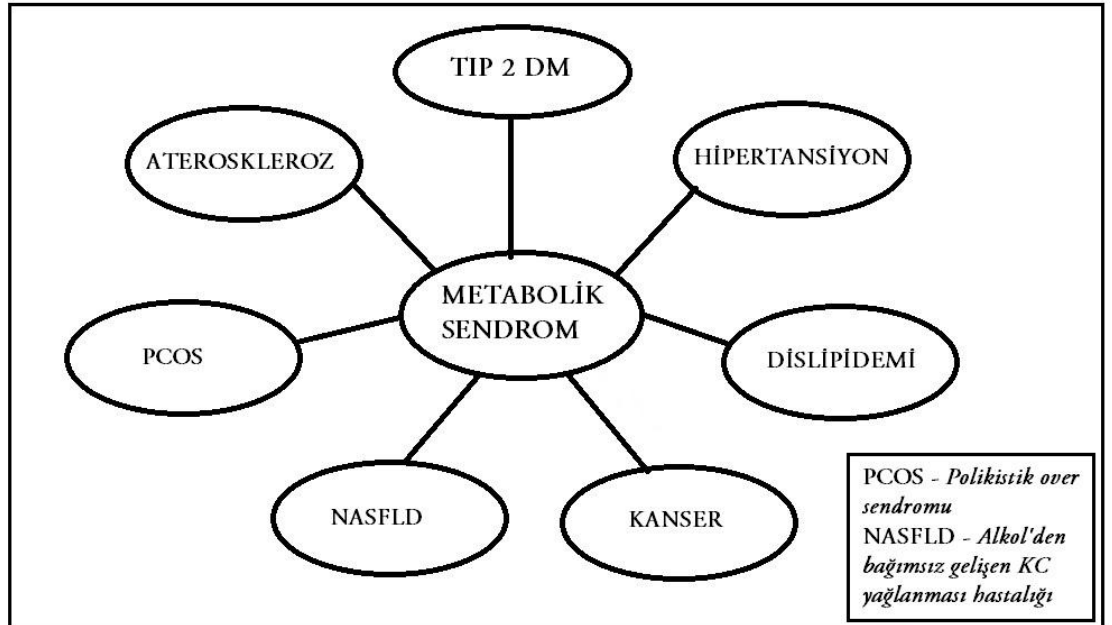
Metabolik sendrom gelişmesiyle diyet içeriğinin doğrudan ilişkili olduğu ve özellikle diyet içeriğindeki fruktozun obeziteyi tetiklemekle birlikte metabolik sendrom bozukluklarına eşlik ettiği bilinmektedir. Sıçanlarda yüksek fruktoz içerikli diyetle beslenmenin hipertansiyon, hipertrigliseritemi, hiperinsülinemi ve insulin rezistansına yol açtığına gösterilmesi ile bu yöntemin deneysel metabolik sendrom oluşturulmasında iyi bir model olduğu kanıtlanmıştır¹⁶. Aynı zamanda, geçmişte yapılan deneysel çalışmalarda yüksek fruktoz verilen hayvanların, yüksek sukroz verilen hayvanlara göre metabolik sendromu daha iyi taklit ettiği de gözlenmiştir^{17,18}. Bu tez çalışmasında da genç (4 aylık) ve yaşlı sıçanlarda (24 aylık) metabolik sendrom tablosunun oluşturulması için %20'lik fruktoz ile indüklenen metabolik sendrom modeli kullanılmıştır.

Bu çalışma sonucunda elde edilecek bulguların metabolik sendromun patofizyolojisi ile ilgili literatüre katkı sağlamakla birlikte, yaşa bağlı olarak gelişen metabolik sendromun önlenmesinde antioksidan tedavinin yararlı olup olmayacağı konusunda yeni çalışmaların tasarlanmasına olanak sağlayacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Metabolik sendrom nedir?

Metabolik sendrom; insülin rezistansı, hiperinsülinemi, dislipidemi (hipertrigliseritemi ve/veya hipo HDL-kolesterolemi), yüksek arteriyel kan basıncı ve obezite ile karakterize olan patofizyolojik bir durumdur. Bu hastalık, günümüze kadar insülin rezistansı sendromu, sendrom X, dismetabolik sendrom gibi bir çok farklı isimle adlandırılmıştır¹⁹; Tip II diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve böbrek fonksiyon bozukluklarının bu hastalığa eşlik etmesi sendromun çoklu bir patoloji olduğunun kanıtıdır. (Şekil 1)¹



Şekil 1 : Metabolik sendromla ilişkili gelişebilen patolojik durumlar ⁶⁹

Metabolik sendrom, modern yaşam tarzının bir sonucu olup, aşırı beslenme ve hareketsiz yaşantının etkileri sendromun başlıca sebeplerindendir. Bu hastalığın yaygınlaşmasının en önemli nedeninin ise son yıllarda batı ülkelerinde karbonhidrat tüketimindeki dramatik artış olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple, metabolik sendrom dünyada her geçen gün daha da önemli bir sorun haline gelmektedir²⁰.

Metabolik sendroma yol açan hipertansiyon, hiperglisemi, dislipidemi ve obezite gibi risk faktörleri bilinmesine rağmen, sendromun patofizyolojisi henüz aydınlatılamamıştır. Ancak çalışmalar metabolik sendromun, insülin rezistansı ve obezite ile bağlantılı olduğu yönündedir²¹. Obezite, metabolik sendromun önemli bir etkeni olmakla beraber, her obez kişi metabolik sendrom hastası olmayabilir, ayrıca her metabolik sendrom hastası da obez olmayabilir²².

2.2. Tarihçesi

İlk olarak 1920'lerin başında diyabetes mellitus ile hipertansiyon arasında ilişkiyi tanımlayan araştırmacılardan Kylin' in yaptığı çalışmada hipertansiyon, hiperglisemi ve gut arasındaki ilişki gösterilmiştir. 1940'ların sonunda Jean Vague tarafından santral adipozite, diyabet, ateroskleroz ve gut arasındaki ilişki rapor edilmiştir. Daha sonra 1967 yılında Avogaro ve arkadaşları metabolik sendromu tanımlamıştır. Margaret Albrink 'in, 1980 yılında yaptığı çalışmasında ise obezite, hipertrigliseritemi ve hipertansiyon arasındaki ilişki saptanmış ve bu çalışma sendrom için yeni ufuklar açmıştır²³. 1985 yılında Michaela Modan hiperinsülineminin, hipertansiyon, obezite ve glukoz toleransıya ilişkili olduğunu öne sürmüştür²⁴.

Bütün bu tanımlamalardan sonra Gerald Reaven, 1988 yılında Amerikan Diyabet Derneğinin toplantısında sunduğu “insülin rezistansının insan sağlığı üzerindeki rolü” başlıklı konferansında ve aynı yıl yayınladığı makalesinde, tip II diyabette ve kardiyovasküler hastalıklarda görülen insülin rezistansını ve kompensatuvar hiperinsülinemi gelişimi mekanizmalarını açıklayarak, bu anormalliğe “Sendrom X” adını vermiştir. Bu sendrom, aynı zamanda “insülin rezistansı sendromu” ve günümüzde olduğu gibi “Metabolik sendrom” olarak adlandırılmaktadır. Reaven çalışmasında Sendrom X’in, insülin rezistansı, hiperinsülinemi, hiperglisemi, dislipidemi ve hipertansiyonu içerdiğini öne sürmüştür. 1995 yılında ise aynı araştırmacı obeziteyi sendromun bileşenleri arasına eklemiş ve serbest yağ asitlerinin bu hastalıktaki önemine dikkat çekmiştir. Reaven’in sendromu adlandırmasından sonra sendrom, halk sağlığı alanındaki araştırmalar için önemli bir ilgi merkezi olmuştur¹.

2.3. Farklı tanımlamaları ve tanı kriterleri

Metabolik sendromun ilk kez 1988 yılında Gerald Reaven tarafından adlandırılmasından sonra dünya çapında birçok dernek ve sağlık örgütü tarafından çalışılmış ve tanımlaması yinelenmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO:DSÖ) 1999 yılında, Avrupa İnsülin Rezistansı Çalışma Grubu (EGIR) 1999 yılında, Ulusal Kolesterol Eğitim Programı – Yetişkin tedavi paneli III (NCEP-ATP III) 2001 yılında, Amerikan Klinik Endokrinoloji Topluluğu (ACE) 2002 yılında, Amerikan Ulusal Kalp Sağlığı Topluluğu (AHA/NHLBI) 2005 yılında, metabolik sendromu tanımlamış olup, tanımlamalar genel hatlarıyla aşağıda anlatılmıştır²⁵⁻²⁸.

2.3.1 NCEP ATP III Tanımı;

(National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III :
Ulusal Kolesterol Eğitim Programı – Yetişkin tedavi paneli III)

Metabolik sendrom tanımının 2001 yılında NCEP:ATPIII tarafından çoklu metabolik hastalık ve kardiyovasküler risk modeli olarak açıklanmasından sonra sendrom, bilimsel çevrelerde sıkça tartışılmaya başlanmıştır. Buna göre, aşağıdaki kriterlerden en az üç tanesinin bulunması tanı konulması için yeterlidir²⁷.

Tablo I. Metabolik Sendrom NCEP-ATP III** Tanı Kriterleri (2001)

Faktör	Kriter
1- Abdominal Obezite	Bel Çevresi: Kadınlarda >88 cm, Erkeklerde >102 cm
2- Hipertrigliseridemi	Açlık Trigliserid düzeyi ≥ 150 mg/dl
3- Düşük HDL- Kolesterol [†]	HDL- Kolesterol: Kadınlarda <50 mg/dl, Erkeklerde <40 mg/dl
4- Hiperglisemi	Açlık kan glukozu ≥ 110 mg/dl
5- Hipertansiyon	Kan basıncı $\geq 135/85$ mm/Hg

* Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Erişkin Tedavi Paneli III

2.3.2 AHA/NHLBL Tanımı;

(American Heart Association : Amerikan Ulusal Kalp Sağlığı Topluluğu)

AHA/NHLBL tarafından yapılan tanımlaya göre aşağıdaki kriterlerden 3 tanesinin bulunması metabolik sendrom tanısını koymak için yeterlidir²⁹.

- ❖ Bel çevresi
 - Erkek >40 inches(102 cm)
 - Kadın >35 inches(88 cm)
- ❖ Trigliserid >150 mg/dl veya hipertrigliseridemi tedavisi
- ❖ HDL kolesterol seviyesi
 - Erkek <40 mg/dl
 - Kadın <50 mg/dl veya düşük HDL-C tedavisi
- ❖ Kan basıncı >135/85 mmHg veya hipertansiyon tedavisi
- ❖ Açlık plazma glukozu >100 mg/dl veya hiperglisemi tedavisi

2.3.3 IDF Tanımı;

(International Diabetes Foundation : Uluslararası Diyabet Federasyonu)

IDF tarafından yapılan tanımlamaya göre aşağıda belirtilen kriterlerden 3 tanesi tanı konulması için yeterlidir. Fakat bu 3 kriterden biri mutlaka obezite olmalıdır³⁰.

Tablo II. Uluslararası Diyabet Federasyonunun Metabolik Sendrom Tanımı (2005)

Faktör	Kriter
1- Abdominal Obezite	Bel çevresi erkeklerde ≥ 94 cm, kadınlarda ≥ 80 cm (Europid)
<i>Abdominal obeziteye ek olarak aşağıdaki 4 faktörden ikisinin bulunması</i>	
2- Trigliserid düzeyi	≥ 150 mg/dl veya hipertrigliseridemi tedavisi altında olmak
3- HDL-Kolesterol düzeyi	< 40 mg/dl erkekler, < 50 mg/dl kadınlar veya tedavi altında olmak
4- Kan basıncı	Sistolik kan basıncı ≥ 130 mmHg veya diyastolik kan basıncı ≥ 85 mmHg
5- Açlık kan şekeri	AKŞ ≥ 100 mg/dl veya önceden Tip 2 diabetes mellitus tanısı konmuş olmak

2.3.4 WHO Tanımı;

(World Health Organization : Dünya Sağlık Örgütü)

Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımlasına göre aşağıdaki belirtilen kriterlerden aşağıda belirtilen kriterlerden 3 tanesi tanı konulması için yeterlidir. Fakat bu 3 kriterden biri mutlaka diyabetes mellitus olmalıdır²¹.

Tablo III. Dünya Sağlık Örgütü Metabolik Sendrom Kriterleri (1999)

Faktör	Kriter
1- Açlık kan şekeri	Tip 2 DM, Bozulmuş Açlık Glukozu (AKŞ:100-110mg/dl), Bozulmuş Glukoz Toleransı veya İnsülin Direnci
<i>Ek olarak aşağıdaki ölçütlerden en az iki tanesinin bulunması</i>	
2- Obezite	Bel/kalça oranı: Kadınlarda >0.85, Erkeklerde >0.90 veya Vücut Kitle İndeksi >30 kg/m ²
3- Hiperlipidemi	Açlık Trigliserid düzeyi ≥150 mg/dl HDL- Kolesterol: Kadınlarda <39 mg/dl, Erkeklerde <35 mg/dl
4- Hipertansiyon	>140/90 mmHg
5- Mikroalbuminemi	Üriner albümin atılım hızı >20µg/dakika veya Albümin /kreatinin oranı >20µg/g

Metabolik sendromun farklı sağlık örgütleri tarafından yapılmış tanımlamaları arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. Örnek olarak Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 'nün tanımlamasında mikroalbuminüri yer alırken, diğer tanımlamalarda bu bileşen yer almamaktadır²¹. Avrupa insülin rezistansı çalışma grubu (EGIR) ' nun tanımlamasında ise diyabetik hastalara iki sebeple yer verilmemiştir. Bu sebepler, diyabetik hastaların zaten bir sağlık koruma sisteminin takibinde olmaları ve uzun süredir diyabet hastası olan kişilerin, kullandıkları ilaçlar sayesinde insülin seviyelerinin zaten düşük seyrediyor olmasından dolayı insülin rezistansı seviyelerini etkilemiyor olmasıdır²⁵.

Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırma Anketi [(National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)] çalışmasının verilerinden yararlanılarak yapılan bir analizde, MS tanımı DSÖ kriterlerine göre yapılmış olan hastalar ile NCEP-ATP III raporuna göre yapılanlar arasında kardiyovasküler hastalık görölme prevalansı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu nedenle, daha kolay değerlendirilebildiği için NCEP-ATP III tanı ölçütlerinin klinik uygulamada, DSÖ tanı kriterlerinin ise bilimsel araştırmalarda kullanılabileceği önerilmiřtir³¹.

WHO, EGIR, IDF Reaven'in çalışmasında olduğu gibi insülin rezistansı merkezli tanımlamalar yapmışlardır. En geçerli tanımlama ise 2005 yılında Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) ' den ve Amerikan Ulusal Kalp Sağlığı Topluluğundan (AHA/NHLBI) tarafından yapılmıştır ve günümüzde daha yaygın kullanılmaktadır^{21,28,30}.

2.4. Prevalansı

Sendromun görülme sıklığı ülkeye, yöreye, cinsiyete, yaşa göre farklılıklar göstermektedir. Karbonhidratların özellikle de fruktoz ve sukroz gibi basit şeker ağırlıklı beslenmenin artmasıyla metabolik sendrom vakalarının hızla arttığı gözlenmektedir. Hazır gıdaların artması, özellikle karbonhidrat ağırlıklı beslenme ve hareketsiz yaşam bu artışın en büyük sorumlusu gösterilmektedir¹⁹.

Metabolik sendrom ilerlemiş yaş gruplarında beklendiği üzere, yaş ile paralel artış göstermektedir. Obezite ve yağlanma yaş ile birlikte sendromun prevalansını ciddi derecede arttırmaktadır. NHANES (The National Health and Nutrition Examination Survey) 'in prevalans çalışmasında metabolik sendrom görülme sıklığının kadınlarda erkeklere göre daha düşük olduğu ancak 60'lı yaşlarda kadınlardaki bu oranın erkeklerden daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu durum, metabolik sendrom prevalansının yaş ve cinsiyete bağlı değiştiğini açıkça ortaya koymaktadır. 65 yaş üstü erkek ve kadınlarda yapılan kardiyovasküler sağlık çalışmasında ise NHANES çalışmasını destekler şekilde kadınlarda, erkeklere oranla metabolik sendrom prevalansının daha yüksek olduğu gösterilmiştir^{31,32,33}.

2.4.1 Dünyadaki Prevalansı;

Fransa 'da yapılan bir çalışmada düşük HDL-kolesterolemi görülme oranının kadınlarda erkeklere oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca yine bu çalışmada arteriyel kan basıncında artışın görülme oranının Fransa' da (%44), Kuzey Amerika 'ya (%28) göre daha yüksek olduğu saptanmıştır³⁴.

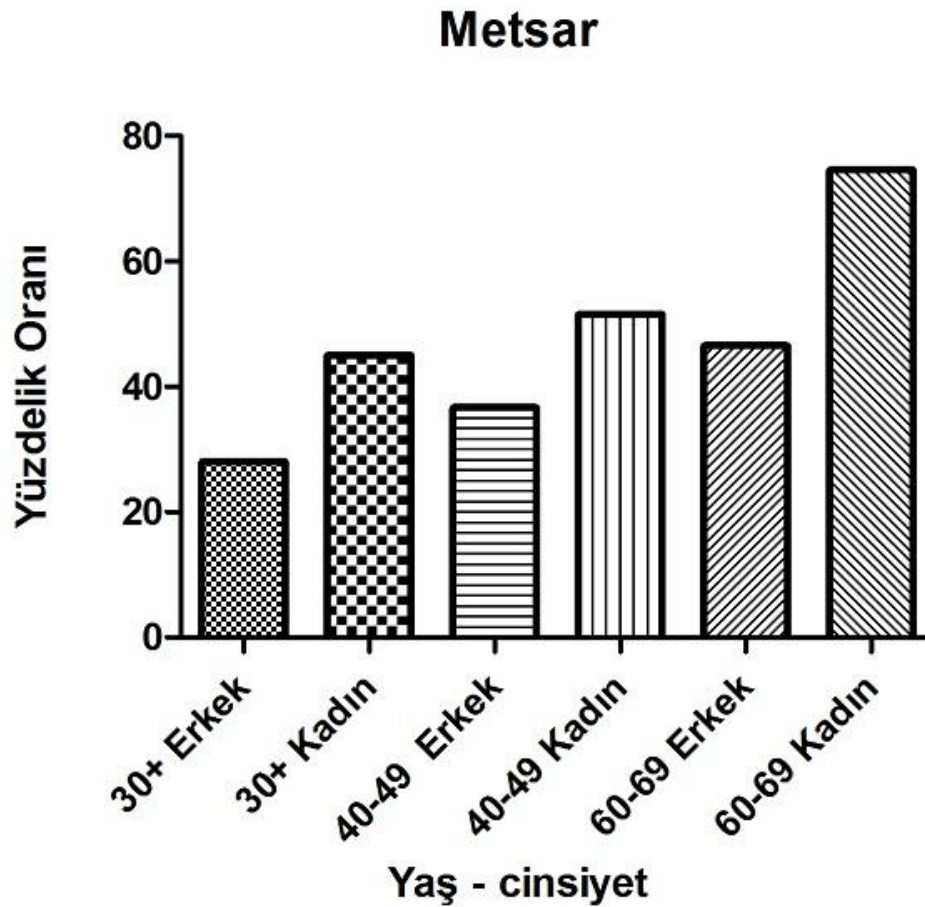
Amerika Birleşik Devletlerinde ise Metabolik sendrom prevalansı %23.7 olarak tespit edilmiştir. Metabolik sendrom sıklığı yaşla paralel olarak artış göstermektedir. Bu prevalans, 20-29 yaş grubunda %6.7 iken 60-69 yaş grubunda %43.5 seviyelerine yükselmektedir. ABD 'de adolesan yaş grubunda yapılmış başka bir çalışmada ise, metabolik sendrom prevalansının toplumun sosyo-ekonomik durumuna, sigara ve alkol kullanma alışkanlığına, eğitim seviyesine bağlı olarak değiştiği gözlemlenmiştir³⁵.

2.4.2 Türkiye'deki Prevalansı;

Türkiye Metabolik Sendrom Araştırması (Metsar) sonuçlarına göre: metabolik sendrom hastalığı en çok 60 - 69 yaş arası kadınlarda görülmektedir³⁶. Çocuklarda metabolik sendrom prevalansı kesin olarak bilinmemekle beraber obez çocuklar üzerinde yapılan bir çalışmada metabolik sendrom prevalansı %9 bulunmuştur. Diğer bir çalışmada, Tip 2 Diabetes Mellitus olan ebeveynlerin diyabetik olmayan çocukları 4-17 yaş arasında izlenmiş Metabolik Sendrom ile ilgili metabolik bozukluklardan

trunkal ve jeneralize obezitenin çocuklukta başladığı, genç erişkin dönemine doğru önce insülin direnci, sonra dislipidemi ve yüksek kan basıncı komponentleriyle gelişim gösterdiği rapor edilmiştir³⁶.

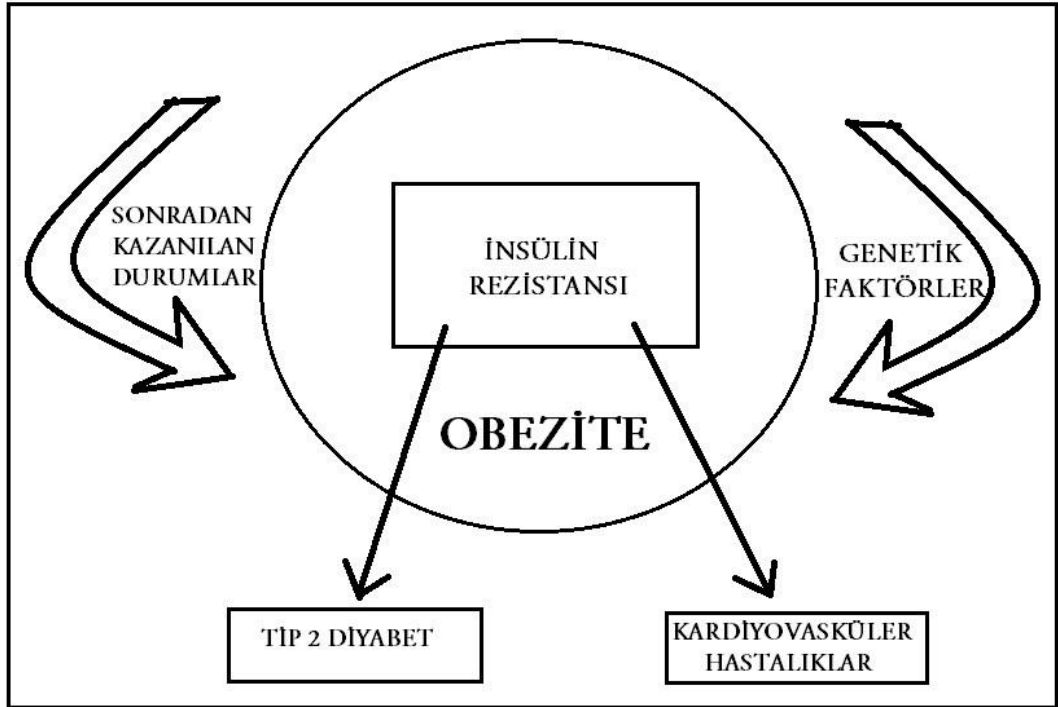
Ülkemizde Marmara Pediatrik Endokrin Grubu olarak çok merkezli yapılan bir çalışmada yaşları 2-18 arasındaki 131 (81 kız, 49 erkek) obez olguda Dünya Sağlık Örgütü ölçütlerine göre yapılan değerlendirmede metabolik sendrom sıklığı obez çocuklar ve ergenlerde %20 bulunmuştur. Çocuklardaki prevalansın obezite sıklığı ile paralel olduğu tahmin edilmektedir³⁷.



Şekil 2; Türkiye'de yaşa ve cinsiyete göre metabolik sendrom prevalansı Metsar (Metabolik Sendrom Araştırması) 2003 30

2.5. Risk Faktörleri

Metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet için bir haberci olup, özellikle kadın popülasyonlarında bu sekonder hastalık gelişimi sıklıkla görülmektedir. Metabolik sendrom sıklığının yaş ile artması diyabet ve diğer kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde yüksek risk faktörüdür³⁸.



Şekil 3 : Metabolik sendromun patofizyolojisi⁶⁹

2.5.1 Metabolik Sendromun Kardiyovasküler Hastalık Oluşturma Riski;

Metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıkların oluşumu açısından önemli bir risk faktörüdür. Son dönemde yapılan çalışmalarda metabolik sendrom hastalarının bir çoğunun kardiyovasküler hastalıklara da sahip olduğu veya kardiyovasküler hastalık gelişme risklerinin fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır³⁵. Metabolik sendrom gelişimi, özellikle aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkları tetiklemektedir. Sendromun komponentlerinden bir tanesi olan tip II diyabetin gelişimi kardiyovasküler hastalık riskini arttırmaktadır³⁹. Kardiyovasküler hastalıkları arttıran risk faktörlerinin aterojenik dislipidemi, artmış kan basıncı ve kan glukozu, protrombotik durumlar ve inflamasyon olduğu bilinmektedir. Metabolik sendrom, bu risk faktörlerini içerdiğinden metabolik sendrom hastaları, eş zamanlı olarak kardiyovasküler hastalıklar açısından risk altında bulunmaktadır. Diğer önemli kardiyovasküler risk faktörleri ise ilerlemiş yaş, sigara kullanımı ve artmış LDL oranı olarak sayılabilir^{40,41}.

2.5.2 Metabolik Sendromun Tip II Diyabet Oluşturma Riski;

Tip II diyabet hastalığının prevalansı son 30 yılda üç kat artmıştır. Sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde 20 milyondan fazla diyabet hastası vardır. Tip II diyabetin en önemli göstergesi, artmış kan glukozudur ve bu durum insülinin etkisinin ve yapım mekanizmasının bozulmasına yol açar. İnsülin rezistansı tip II diyabetin en önemli habercisidir. Metabolik sendrom kriterlerinden hiçbirini taşımayan bir kişiye kıyasla, kriterlerin 4 veya 5 tanesi mevcut olan kişilerde diyabet gelişme riski 25 kat fazladır³³.

Diyabette ateroskleroz ve protrombotik olay görülme sıklığı artar. Bu da miyokard infarktüsü, inme ve periferik arter hastalığı risklerinde belirgin artışa yol açmaktadır. Diyabetli kişilerin %75'i kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle ölmektedir ve diyabetik hastalar bilinen koroner hastalıkları olmasa bile, koroner arter hastalığı olan bireylerle aynı kardiyovasküler riski taşırlar³³.

Birçok çalışma, metabolik sendromun tip II diyabet oluşturabildiğini göstermiştir³³. Hiperinsülinemi, diyabet insidansını en çok arttıran etkidir. Günümüzde rutin tanı yöntemi olarak pek kullanılmasa da oral glukoz tolerans testi, Tip II diyabet tanısı için altın standart testtir. İlk kez 1998'de DSÖ metabolik sendromun tanımlanması için bir takım kriterler belirlemiştir. Burada oral glukoz tolerans testi esas alınmıştır. Glukoz tolerans testi, insanlarda ve hayvanlarda insülin direnci ölçümü için kullanılan bir yöntemdir. Bu testte diyabeti olan hastalarda kan şekeri düzeyi çok yüksek seviyelere ulaşabilmekte ve beklenen hızlı düşüş gerçekleşmemektedir³⁵.

Tip 2 diyabet ve metabolik sendrom birlikte bulunduğunda kardiyovasküler hastalık riskini çok daha fazla arttığından, tip 2 diyabetli hastaların metabolik sendrom yönünden de değerlendirilmeleri ve her iki hastalığın erken ve etkin tedavisi büyük önem taşımaktadır³⁵.

2.6. Patofizyolojisi

2.6.1 İnsülin rezistansı

Metabolik sendromda ortaya çıkan hipertansiyonun ana nedeni birçok araştırmacıya göre insülin rezistansı olup, genellikle insülin rezistansı, hipertansiyon ve hiperinsülinemi ile birlikte seyretmektedir⁴².

İnsülin, pankreas tarafından hiperglisemiye yanıt verilebilmesi için üretilen ve glukozun farklı dokularca kullanımını tetikleyen hormondur. Glukozu kan dolaşımından ayıran başlıca dokular iskelet kasları, yağ dokusu ve karaciğerdir. İskelet kasları ve yağ dokusunda insülin, glukozdan glikojen oluşumunu tetiklerken, glikojenolizisi inhibe eder. Karaciğerde ise insülin, fazla miktarda glukozun kan dolaşımına akın etmesini engellemek adına hepatik glukoneogenezisi azaltır. İnsülin adipoz dokularda yağların yıkımını yani lipolizi inhibe ederken, glukoz alımını stimüle eder^{43,44}.

İnsülin spesifik reseptörüne bağlanarak sayısız biyolojik cevap oluşturur. İnsülin reseptörleri, insüline has kompleks hücresel yanıtları oluşturabilmeleri için hücre içindeki yüzeyleri fosforile ederek etkilerini gösterirler. İnsülin alfa alt ünitesine bağlanarak reseptörde konformasyonel değişiklik yapar. Tüm bu değişikliklerin net sonucu glukozun dokularca alımının artması, kan dolaşımındaki glukoz seviyesinin azalması, glukozun depo formu olan glikojen ve yağa dönüşmesidir⁴⁵.

İnsülin rezistansı, insülinin beta hücrelerinden salgılanmasına rağmen işlevini görememesi veya kendisinden beklenenden daha az yanıt alınması durumu şeklinde tanımlanabilir. İnsülin, insan vücudunda glukoz, yağ ve protein metabolizmasında etkili anabolik hormondur. Aynı zamanda hücre büyümesi ve farklılaşmasında, endotelial fonksiyonda etkilidir^{43,46}. İnsülin rezistansı, genetik ve sonradan kazanılmış durumlar sonucu oluşabilir. Nadir de olsa sonradan edinilen bu durumlar, insülin reseptörüne karşı antikor gelişmesi, insülin reseptörünü kodlayan gende mutasyon olması ve metabolik sendrom sonucu insülin rezistansının gelişmesidir^{44,47,48}.

Fizyolojik insülin sinyalleri, insülinin reseptörlerine bağlanmasını takiben oluşmaktadır. İnsülin, reseptörlerinin aktif bölgesindeki tirozini, fosfoinozid-3-kinaz(PI3K) ve mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAP) yollarının aktivasyonu ile fosforile etmektedir⁴⁹.

PI3K yolağı, insülinin metabolik etkilerinin çoğundan sorumludur;

i. Damar endotel hücrelerinde endotel kaynaklı Nitrik oksit (NO) sentezini aktive eder.

ii. Adipoz doku ve iskelet kaslarında hücre yüzeyinde bulunan insülin duyarlı glukoz taşıyıcısı GLUT4 'ü uyarır ve glukoz alımını artırır.

MAP kinaz yolağı ise Endotelin-1 (ET-1) üretimine aracılık eder, vazokonstriksiyon oluşturur. Vasküler hücre adhezyon

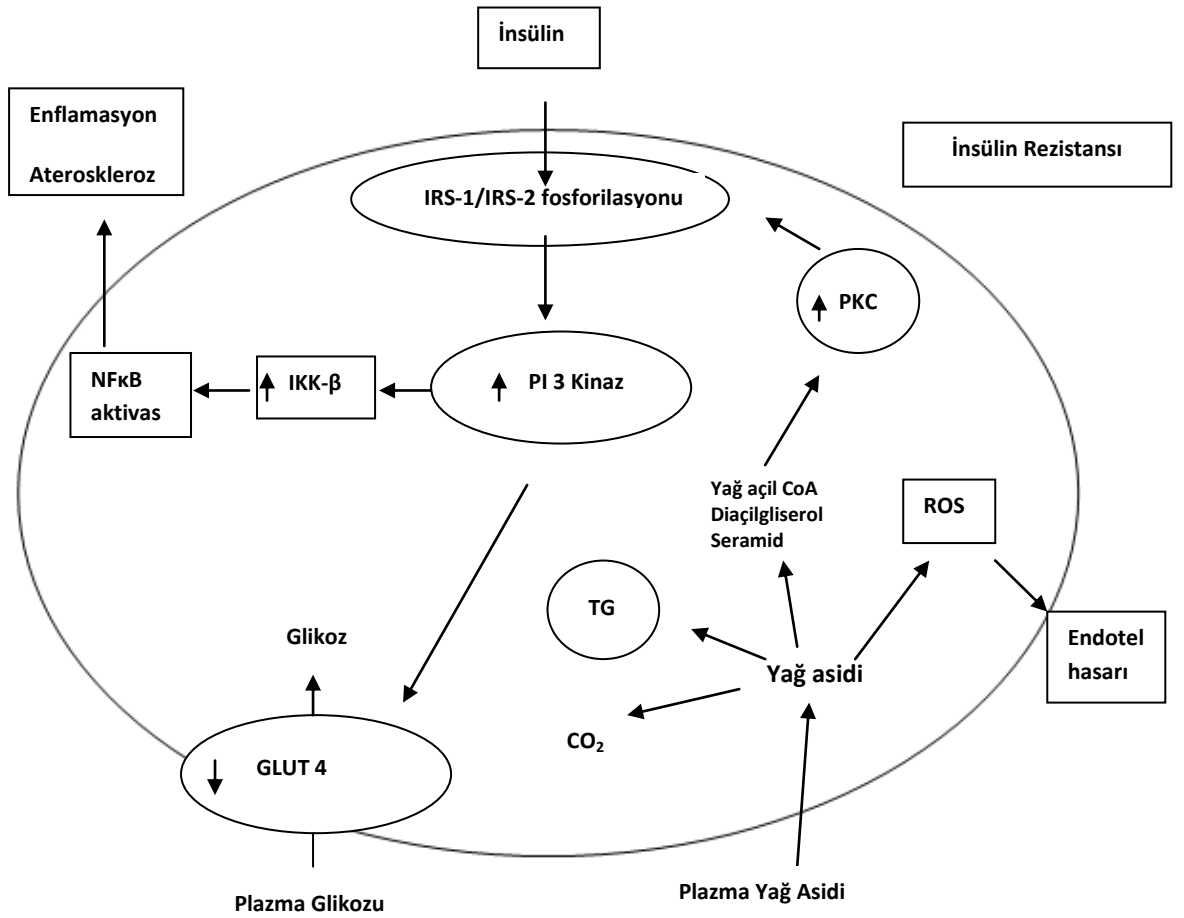
moleküllerinden VCAM-1 ve E-selektin ekspresyonunu artırır ve vasküler düz kas hücreleri üzerine mitojenik etki oluşturur⁵⁰.

İnsülin direnci geliştiğinde, PI3K yolağı etkilenmekte ancak MAP kinaz yolağı etkilenmemektedir. Bu durum, paralel çalışan bu 2 yolak arasındaki dengenin değişmesine yol açar. PI3K yolağı inhibisyonu ve endotel disfonksiyonu sebebiyle endotelial NO üretimi azalır. GLUT4 translokasyonundaki azalma sonucu iskelet kası ve adipoz dokuya glukoz alımı düşer. Buna karşılık, MAP kinaz yolağı etkilenmediğinden endotelin-1 (ET-1) üretimi ve damar düz kas hücreleri üzerine mitojenik stimülasyon devam eder. Bu şekilde insülin direnci, ateroskleroza sebep olabilecek vasküler anormalliklere yol açar^{51,52}.

Viseral yağlarda oluşan lipoliz sonucunda ortaya çıkan yağ asitlerinin insülin rezistansına yol açtığı düşünülmektedir^{53,54}. İzotop işaretlenmiş yağ dokularıyla yapılan çalışmalarda, yağ asitlerinin portal venden karaciğere ulaştığı, karaciğerde ve iskelet kaslarında insülin rezistansı oluşumuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir⁵⁵⁻⁵⁷.

Plazma serbest yağ asidi konsantrasyonunda yaklaşık 400 µmol/L (normal bazal konsantrasyon)' den 800 µmol/L (kısa dönem açlık değeri) 'ye akut bir yükseliş intramiyosellüler hücrelerde uzun zincirli yağ açıl-CoA ve diaçilgliserol gibi yağ asidi metabolitlerinin belirgin artışına neden olur. Bu metabolitler insülin reseptörü-1' in serin/treonin bölgesini fosforile eden ve insülinin fosfoinozimid 3-kinazın aktif hale gelmesini önleyen protein kinaz C' nin potent allosterik aktivatörleridir. Böylelikle insülinin aktif fosfoinozimid 3-kinaza karşı aktivitesi azalmış olur ve

sitoplazmadan glukoz transportuna ihtiyaç duyan hücre membranına glukoz transporter-4' ün translokasyonunu da içeren bir dizi olayda azalma meydana gelir. (Şekil.4)⁵⁸



Şekil 4.Yağ asidi aracılı insülin rezistansı için muhtemel mekanizma.

IRS; insülin reseptör substratı, PI 3 kinaz; fosfoinozitid 3-kinaz, PKC; protein kinaz C, TG; trigliserit, ROS; reaktif oksijen türleri, IKK-β; I-kappa β-kinaz, NFκB; nükleer faktör kapa B. Shulman' dan uyarlanmıştır.⁵⁸

İntrasellüler yağ asidi metabolizasyonu ile bağlantılı diğer faktörler insülin rezistansına katkıda bulunabilirler. Hasarlı iskelet kasının mitokondriyal fonksiyonu, Tip 2 diyabet için risk altında olan ve insülin rezistansı olan kişilerde tanımlanmıştır. Azalmış mitokondriyal yağ asidi oksidasyonu hücre içinde yağ asidinin birikimini arttırarak insülinin etkilerinin azalmasına yol açabilir. Ek olarak, hücre içinde aşırı yağ asidi birikimi reaktif oksijen türlerinin artmasına ve proinflamatuvar nükleer faktör κ -B yolağının aktivasyonuna böylelikle de insülin rezistansının gelişmesine neden olur^{54,55}.

Karaciğerde yağ asidi indüklü insülin rezistansından sorumlu hücrel olaylar, iskelet kaslarındaki kadar ayrıntılı çalışılmamıştır. Karaciğere giden serbest yağ asitlerindeki artış ve intrahepatik trigliseridlerin lipolizi ile açığa çıkan yağ asitleri hepatik glikoz üretimine neden olur. Karaciğerde serbest yağ asidi aracılı insülin rezistansı, protein C kinaz aktivasyonu ile bağlantılıdır⁵⁶.

2.6.2 Abdominal Obezite

Abdominal obezite, yaygın olarak metabolik sendromun ana bileşenlerinden birisi olarak sayılabilir. Muhtemelen birbirleriyle doğrudan ilişkili bir mekanizmaları vardır. Reaven⁵⁹, obezitenin insülin rezistansına sebep olurken, insülin rezistansının obeziteye yol açmadığına işaret etmiştir. Bununla birlikte, insülin rezistansı insanlarda %10-15 oranında aşırı kilo artışına yol açmaktadır⁶⁰.

İnsan vücudunda farklı bölgelerde bulunan yağ dokuları benzer özellikte değildir. Karın içi (visseral) yağların metabolik ve kardiyovasküler riskler üzerine negatif etkisi vardır. Subkutan yağlar ise metabolik ve kardiyovasküler açıdan zararsız olup aksine koruyucu rolleri de vardır. Visseral yağlarda insülin rezistansının gelişmesi yada etkisiz kalması, dislipidemi, hipertansiyon, hiperglisemi, metabolik sendromla²⁸ kaynaklı inflamasyonla bağlantılıdır. Adiposit disfonksiyonu⁶¹, immün disregülasyonu, inflamasyon, hipotalamo hipofiziyer adrenal disfonksiyon, viseral yağlanma dahilinde gelişen lokal glukokortikoid disregülasyonu, olası stres veya enerji dengesizliği kaynaklı oluşabilir²⁸.

Adiposit insülin direncinin genetik kökenli olmadığı ve bununla birlikte makrofaj infiltrasyonu, enflamasyon ve adipoz fonksiyonun azalmasına bağlı olarak adiposit hipertrofisi sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Abdominal obeziteyi sadece bir sebebe bağlamak zor olmakla beraber bel çevresi ve viseral yağlanma arasında doğrusal bir ilişki vardır⁶⁰. Ayrıca diyetle aşırı fruktoz alınması, adipoz doku yapımında rol oynayan adiponektin hormonunun miktarını arttırarak kilo artışına yol açar⁶⁷.

2.6.3 Hipertansiyon

İnsülin rezistansı ve hiperinsülinemi, sempatik sinir sistemini ve renin-anjiyotensin-aldosteron (RAAS) sistemini aktive ederek kan basıncını arttırmaktadır. RAAS aktivasyonu, sodyum tutulumu, hacim artışı ve renal-endotelial disfonksiyona neden olur. Hiperinsülinemi, RAAS sisteminin kalp ve kan damarlarındaki aktivasyonunu artırır. Anjiyotensinin ve pro-aterojenik etkilerinin oluşumunu tetikler. Aynı zamanda insülin direnci ile gelişen hiperinsülinemi, kalp ve damar hasarlarını geliştiren MAPK yolağını tetiklemektedir^{63,64}. Viseral adipoz dokulardaki RAAS (Renin- Anjiyotensin - Aldosteron Sistemi), subkutan yağ dokularındakine oranla daha kuvvetli bir sistemik etki ortaya çıkartır. Anjiyotensin II, anjiyotensin I reseptörleri üzerinden etki göstererek, insülinin kan damarlarındaki vazodilatör etkisini inhibe eder. Ayrıca fosfatidil-inozitol-3-kinaz ve protein kinaz beta aracılığıyla oluşturulan serbest oksijen ürünü, insülinin etkisini bloke eder. Dolayısıyla iskelet kaslarındaki glukoz alımı inhibe olur. Endotel hücrelerinde NO oluşumunu azalırken, düz kas hücrelerindeki vazokonstriksiyon artar. İskelet kaslarında GLUT4 inhibisyonu görülür^{63,64}.

Bir diğer mekanizma ise insülin rezistansının hipertansiyon oluşumuna, anjiyotensin I reseptörlerini aşırı aktive ederek vazokonstriksiyon ve hacim artışına yol açarak katkıda bulunması üzerinedir^{43,47}. İnsülin rezistansı, böbreklerden sodyum atılımını arttırarak önce hiperinsülinemiye, sonrasında da volüm artışına ve tuz kaynaklı hipertansiyona yol açar^{65,66}. Ayrıca insülin rezistansı direkt olarak kan basıncını arttırabilir. Çünkü insülin bir vazodilatördür ve hiperinsülinemi renal sodyum reabsorpsiyonunu artırır. İnsüline dirençli kişilerde insülinin vazodilatör etkileri azalır. Fakat böbrekler üzerindeki sodyum

reabsorbsiyonunu arttırıcı etkisi değişmez. Bu durum da kardiyometabolik sendromu olan hastalarda sodyum reabsorbsiyonunun artmasına neden olur⁶⁷⁻⁷².

Fruktoz, glukozdan hormonal etkileri bakımından farklı olup, fruktoz enjeksiyonunun insülin seviyesini ani olarak arttırmasının başlıca 2 sebebi vardır. İlki pankreasta fruktoz alımını limitleyen fruktoz taşıyıcısı GLUT5'in bulunmaması olup, ikincisi fruktozun, insülin sekresyonunu arttıran gastrik inhibitör peptid salınımını stimüle etmemesidir⁷³⁻⁷⁵.

Diyette yüksek oranda fruktoz alınması, insülin rezistansı ve hiperinsülinemi gelişimine sebep olur. Kanda artmış insüline yanıt olarak, SSS'nin aşırı aktivasyonu, katekolaminlerin miktarlarını arttırarak önce endotel disfonksiyona, sonrasında ise hipertansiyon gelişimine yol açar. SSS'nin aşırı aktive olması, insülin rezistansı bağlantılı gelişen vazokonstriksiyona neden olarak kan akışının azalmasına, glukozun insülin duyarlı (salınımını uyaran) dokulara geç ulaşmasına veya hiç ulaşmamasına yol açar⁷⁶.

İnsülin etkisindeki azalma, insülin rezistansına ve tokluk hiperinsülinemisine neden olur. İnsülin rezistansı ve gelişen kompensatuvar hiperinsülineminin hipertansiyonun patogenezi oluşturduğu düşünülmektedir¹⁻⁷⁷⁻⁷⁸. Aşırı fruktoz alımı, sempatik sinir sisteminin aktivasyonuna dolayısıyla Endotelin I, anjiyotensin II ve prostanoidler gibi vazokonstriktör maddelerin aşırı salınımına yol açar. Bu nedenle hipertansiyon gelişimi için başlıca sebeplerden birisidir. NO'in endotel bağımlı gevşeme yanıtlarının ve cinsiyet hormonlarının da hipertansiyon gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir⁶⁷.

2.6.4 Dislipidemi;

Metabolik sendromda görülen dislipidemi tablosu, artmış VLDL, düşük HDL ve düşük yoğunlukta LDL oranı ile karakterize olup, bu üçlemeye Aterojenik Lipoprotein Fenotipi denir. Bu tablo iskemik kalp hastalıkları için risk faktörüdür. Adipozitler, serbest yağ asitlerini serbest bırakarak karaciğere ve kaslara kan dolaşımı yoluyla ulaşmalarını sağlarlar. Karaciğerde az sayıda serbest yağ asidi okside olmuş durumdadır. Çoğunluğu trigliseritlere esterleşerek dönüşür. Bu yağ asitleri ve trigliseritler karaciğer ve adipoz doku arasında taşınırlar. Bu yolakta adipoz dokuya taşınma azalır, karaciğerde trigliserit birikimi artar. Bu duruma karaciğer yağlanması denilir⁴⁰.

İnsülin rezistansının varlığı, adipoz dokuda lipolizi ve serbest yağ asitlerinin plazma konsantrasyonlarını artırır. Ve daha fazla serbest yağ asidi karaciğere ve kaslara taşınır. Aynı zamanda insülin, karaciğerde lipolizi doğrudan artırır. Artmış plazma glukoz konsantrasyonu, hepatik trigliserit sentezini gliserol'un karbon iskelet yapısını oluşturarak artırır. Bu değişiklikler karaciğerde VLDL ürününü oluşturur⁵⁰.

VLDL trigliseridi, CETP (kolesterol esteri transfer proteini) tarafından HDL ve LDL'ye dönüştürülür. Bu değişimin aşamaları, ateroskleroz oluşum aşamalarıyla ortaktır. Bir çok kolesterol esteri VLDL'ye dönüştükten sonra, karaciğerde lipoprotein lipaz tarafından hidroliz edilir. Bu CETP'nin istenilen bir etkisi olup, lipoliz sonucu oluşan yağ parçacıkları arter duvarına yapışır, buna pro-aterojenik etki denir^{40,41}.

2.7. Tedavi yaklaşımları

Metabolik sendromun bilinen net bir sebebi olmadığından, hastalığın kaynağını doğrudan tedavi etmek mümkün değildir. Metabolik sendromun oluşumunu geciktirmek için insülin direncinin gelişimini önlemek hedeflenmektedir. Yaşam tarzının iyileştirilmesini, kilo verilmesi, fiziksel aktivitenin artırılması, sağlıklı ve dengeli beslenme metabolik sendromun engellenmesi adına önemlidir¹⁹.

İlaçlı tedavide ise insülin duyarlılığını arttırmayı hedefleyen (tiazolidin, metformin vb.) bazı ilaçlar ve kilo vermeye yardımcı (orlistat, sibutramin, rimonabat) bazı ilaçlar kullanılmaktadır⁷⁹.

2.7.1 Yaşam tarzı değişikliği

Beslenme alışkanlığında değişiklik yapılarak kilo verilmesi, günlük fiziksel aktivitenin artırılması tedavide kabul edilen genel yaklaşım tarzıdır. Günlük diyetin yağ içeriğinin kısıtlanması önemlidir^{80,81}. Epidemiyolojik bulgular meyve ve sebzeden zengin, tahıl, ceviz, zeytinyağı içeren diyetle beslenmenin metabolik sendrom prevalansını azalttığını göstermektedir⁸².

Egzersiz: Daha fazla aktivite daha sağlıklı olmak anlamına gelmektedir. Fiziksel aktivitenin tipleri aerobik, kasları kuvvetlendirme, kemikleri kuvvetlendirme ve açma-germe (sıkılaştırma) 'dir. Günde 30-60 dk

arasında tempolu yürüyüş şeklindeki, orta dereceli egzersiz hekimler tarafından kilo kaybına da yardımcı olmak adına önerilmektedir⁸⁸.

Kilo verme: Genellikle metabolik sendromlu hastalar kilolu ve obezdirler. Bu tarz kişilerin %7-10 zayıflamaları insülin seviyelerini, kan basınçlarını ve diyabet olma risklerini azaltır⁴⁹.

Sağlıklı beslenme: Akdeniz tipi beslenme tercih edilebilir. Akdeniz tipi diyet (düşük karbonhidrat içerikli diyet), yüksek karbonhidratla beslenen diyetle göre kilo kaybı belirgin şekilde fazladır⁴⁹.

Sigaranın bırakılması: Sigara kalp hastalıklarını ve kalp krizini tetikleyen önemli bir faktör olup, metabolik sendrom hastasının sigarayı bırakması tedavi bütünlüğü açısından önemlidir⁴⁹.

2.7.2 İlaç tedavisi

Yaşam tarzı değişiklikleri tedavi için yeterli gelmemişse, tedaviyi yürüten hekim kan basıncını düşürmek için diüretikler, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerini tercih edebilir. Sağlıksız kolesterol seviyeleri kilo verilerek veya statin, nikotinic asit, fenofibrat türevi ilaçlarla düşürülür. Yüksek kan şekeri seviyeleri ise metformin, insülin enjeksiyonları veya iki yolla birden uygulanarak düşürülür. Düşük doz aspirin yüksek kalp hastalıkları riski olan kişilere uygulanır⁵⁴.

Klinik uygulamada yaşam tarzında yapılan iyileştirmeler kardiyovasküler risk faktörlerini ortadan kaldırmak konusunda tek başına yeterli değildir. İlaçla yapılan klinik tedavide hedef ana damarların korunması olup metformin ve glitazon gibi insülin duyarlılığını arttıran ilaçlar, tip 2 diyabetin tedavisinde kullanılmaktadırlar. Aterojenik dislipideminin tedavisinde ise statinlerle, fibratların kombine kullanımı gerekmektedir. Hipertansiyon tedavisinde ise ACE inhibitörleri ve anjiyotensin II reseptör blokörleri kullanılmaktadır. Ayrıca Moxodine türevi santral sempatolitik ajanlar insülin duyarlılığın artması hususunda tedaviye olumlu katkılar sağlamaktadır⁸³⁻⁸⁷.

Lipid bozukluğunu tedavi etmek için yaşam tarzı değişikliğine ek olarak kullanılan dört majör ilaç sınıfı vardır. Bunlar statinler olarak anılan HMG-CoA redüktaz inhibitörleri, safra asidi bağlayıcı reçineler, fibratlar ve nikotinik asittir. Bu ilaç sınıflarının plazma lipid değerleri üzerine etkinlikleri ve tolerabiliteleri farklılık göstermektedir. Bu gruplar arasında tolerabilite ve yan etkileri bakımından nikotinik asit ve safra asidi bağlayıcı ilaçlar zayıf kalmaktadır. Kolesterol düşürücü etkide statinler, trigliserid düşürücü etkide ise fibratlar ön plana çıkmaktadır⁸⁸. Birçok primer ve sekonder korunma çalışmalarında statinlerin kardiyak morbidite ve mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir⁸⁸.

Statinlerin doğrudan kardiyoprotektif etkileri de gözlenmektedir. Statinlerin pleiotropik etkileri adı verilen bu etkiler endotel fonksiyonu üzerine olan olumlu etkileri, nitrik oksitini biyoyararlanımını artırmaları, antioksidan özellikleri, aterosklerotik plakların stabilizasyonunu sağlamaları ve vasküler inflamasyonu azaltmaları şeklinde özetlenmektedir. Statinler genelde iyi tolere edilen güvenli ilaçlardır.

Standart dozlarda, kaslarda olan miyopati ve rabdomiyoliz, karaciğerde olan transaminaz yükselmesi gibi yan etkileri çok nadir olarak görülür. Halen devam etmekte olan araştırmalar, statinlerin gelecekte de dislipidemi tedavisinin ve kardiyovasküler risk azalmasının en önemli tedavi seçeneğini oluşturacağını göstermektedir^{59,60,88}.

Kan basıncı için hedef, basıncın 140/90 mmHg' nın altına düşürülmesidir. Antihipertansif ajanlar bu hedefe ulaşmakta yardımcı olabilirler. Yaşam tarzında bir değişiklik yapılabilirse bir sonraki aşama kan basıncının 130/80 mmHg' nın altına düşmesidir. Bunun yanı sıra bu şartlar diyabetik veya renal hastalığı olan kişiler için de spesifik hedeftir⁶¹. Tercih edilmesi gereken ilaçlar:

i. Rutin hipertansiyon tedavisinde olduğu gibi ilk tercih edilen grup diüretiklerdir. Ancak tiazid türevi diüretiklerin, dislipidemik ve hiperglisemik yan etkileri mevcuttur⁸⁹.

ii. Bir diğer ilaç grubu ise B-blokerlerdir. Fakat B-bloker kullanımına bağlı kilo alımı mutlaka göz önünde bulundurulması gereken olumsuzluktur⁸⁹.

iii. Bu durumda kullanılması en uygun ilaç grubu olarak Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) İnhibitörleri ve Anjiyotensin Reseptör Blokerleri olarak kabul edilmektedir. Bu ilaç grupları insülin duyarlılığını arttırıcı etkiye sahiptirler. Ayrıca kardiyoprotektif ve renoprotektif etkileri bulunduğu için tercih edilmektedir⁸⁹.

iv. Kalsiyum kanal blokerleri ve alfa reseptör antagonistleri de kullanılmaktadır⁸⁹.

Metabolik sendromun bileşenlerine yönelik tedavi yaklaşımları Tablo IV’de özetlenmiştir.

<u>Met.Send. Belirteci</u>	<u>Terapötik Yaşam Tarzı Değişikliği</u>	<u>Farmakolojik Tedaviler</u>
Santral Obezite	Kalori kısıtlaması Aerobik çalışması	Lipaz inhibitörleri (orlistat) Nöronal reuptake inhibitörleri (sibutramin)
Düşük LDL	Düşük saturasyonlu yağlarla beslenme Aerobik çalışması Düşük alkol tüketimi	Niyasin PPAR-alfa agonistler (fibratlar)
Yüksek Trigliserit	Karbonhidrat ve kalori kısıtlaması Aerobik çalışması	PPAR-alfa agonistler (fibratlar) Niyasin Omega III balık yağı
Düşük dansiteli LDL	Doymuş yağ alımı azaltılması Aerobik çalışması	HMGCoA reduktaz inh. (statinler) Niyasin PPAR-alfa agonistler (fibratlar)
İnsülin rezistansı Glukoz intoleransı	Karbonhidrat ve kalori kısıtlaması Aerobik çalışması	Metformin PPARγ agonistler (tiyazolidindionlar) Alpha glukozidaz inhibitörleri (akarboz)
Yüksek Kan Basıncı	Kalori kısıtlaması, düşük yağ ve tuz alımı Aerobik çalışması Düşük alkol tüketimi	Anti-hipertansif ajanlar (JNC-7)

Tablo IV. Metabolik sendromun tedavi yaklaşımı⁹⁰

2.8. Deneysel metabolik sendrom oluşturma modelleri

Metabolik sendromun hayvan modellemelerinde bu güne kadar fare, sıçan, primat, kedi ve köpek kullanılmıştır. Günümüzde ise yaygın olarak sıçan tercih edilmektedir. The Zucker Fatty, Wistar Ottawa Karlsburg W (WOKW) , Corpulent (JCR) , Prague Hereditary Hypertriglyceridemic (hHTG), Lyon Hypertensive (LH), Spontaneously Hypertensive Obese (SHROB) tercih edilen türleridir³⁵. En yaygın kullanılan deneysel metabolik sendrom oluşturma yöntemlerinden birisi de

yüksek oranda fruktoz içerikli diyet uygulamaktır. Bu yöntem sıçanlarda hipertansiyon, hipertrigliseridemi, hiperinsülinemi ve insülin rezistansı oluşumuna yol açmaktadır¹⁷.

Fruktozla yapılan metabolik sendrom deneysel olarak iki yolla yapılabilir. İlk yöntem deneyde kullanılan sıçanlara yemleri içerisinde %60'lık fruktoz verilmesiyle oluşturulan model olup, ikinci yöntemde ise sıçanların içme sularına % 10 – 20 oranında fruktoz eklenmektedir. Değişik yöntemlerin kullanılması, metabolik sendromun farklı bileşenlerinin değişen şiddetlerde ortaya çıkmasını sağlamaktadır^{27,28}.

Deneysel yöntemlerde glukoz yerine fruktoz tercih edilmesinin sebebi ise fruktozun glukozla göre daha lipojenik olması ve daha yüksek oranda trigliserit oluşumuna yol açmasıdır. Fruktoz iskelet kaslarında hücre içi trigliserit miktarlarını belirgin şekilde daha fazla arttırdığından insülin rezistansına yol açmaktadır. Ayrıca, yüksek fruktoz verilen sıçanlarda, yüksek sukroz verilenlere göre metabolik sendromun daha iyi taklit edildiği de gözlenmiştir⁹¹.

2.9. Metabolik sendromun santral mekanizması

Metabolik sendrom ve obezite, birbirleriyle ilişkili olarak kardiyovasküler hastalık ve ölüm riskini arttırmaktadır. Bu iki patolojik durum, oksidatif / antioksidatif durumu değiştirerek enflamasyona yol açar ve ateroskleroz gelişimine neden olur. Hiperglisemi ve inflamasyon, metabolik sendromun önemli bileşenlerinden olup, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu arttırarak, NADPH oksidaz enziminin aşırı

aktivasyonuna ve de oksidatif stresin artmasına yol açarlar. Bu yolak nitrik oksitin etkinliğini azaltırken hastayı hipertansif yapar^{79,92}. Ayrıca obezitede artmış yağ asidi oranları adipositlerde oksidatif stresi arttırmaktadır⁹³. Reaktif oksijen türlerinin miktarının obeziteyle orantılı olarak arttığı bilinmekte olup, ROS 'lar metabolik sendromun önemli bir kanıtıdır. ROS seviyesini düşürmenin en hızlı ve kolay yolu kilo vermektir².

En önemli ROS molekülü, NADPH-oksidaz tarafından üretilen süperoksit anyonu (O_2^-)'dur. Fizyolojik NO ürünü, süperoksit yapımını arttırmaktadır. Bu durum anti-oksidan enzimlerle dengelenmiştir. Endotelial disfonksiyon olması halinde; süperoksit üretimi, NO üretimini aşar. Süperoksit, peroksit nitrit üreten NO'ü okside eder ve karbonhidrat, lipit ve proteinlerin oksidasyonuna yol açan ROS oluşumunun kaskadını başlatır. Lipit peroksidasyonun son ürünü malondialdehit (MDA), 4-hidroksil nonenal (HNE) ve 4-oksi-2-nonenal (ONE) olup poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda elde edilir.

Oksidan aktivite olmaksızın okside olabilen plazma proteinleri (AOPP), özellikle albumin, nitrozatif stresin indikatörlerindedir. Metabolik sendromda AOPP seviyelerinde artış tespit edilmiştir. AOPP ditirozin ve AGE ile ilişkilidir ancak lipit peroksidasyonu ile ilişkili değildir. Protein modifikasyonu (S-nitrozasyonu ve metiyonin sülfoksidasyonu gibi) karbonilasyon gibi geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olabilir^{94,95}. Lizin, arjinin, prolin ve treonin yan zincirlerinin ROS tarafından direkt oksidasyonu, karbonhidrat ve lipitlerin oksidasyonundan elde edilen ketoaminler, ketoaldehitler, MDA, HNE ve ONE gibi reaktif karbonil türlerinin katkısı, protein nükleofilleri ile etkileşerek schiff bazı oluşturabilir. Bu ürünler diğer reaksiyonlarla (tautomerizasyon, oksidasyon, dehidratasyon) ve bazen ikinci aldehitin kondensasyonu ile stabil olarak

artmış lipoksidasyon son ürünleri (ALES)' nin üretimi amacıyla modifiye edilebilir⁹⁶⁻⁹⁹.

Hücrelerin fizyolojik koşullarda oksidatif hasarlardan kendilerini korudukları, enzimatik (superoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz) ve enzimatik olmayan (E ve C vitamini) anti-oksidan koruma mekanizmaları vardır. ROS miktarı, oksidan-anitoksidan dengeyi bozabilecek kadar arttığıında, pro-oksidatif durum gelişmektedir^{12,97}.

Metabolik sendromda total antioksidan durum (TAS)'daki belirgin artış, enzimatik aktivitelerde ve antioksidan özellikteki E,C vitamin seviyelerinde azalma ile sonuçlanır. Metabolik sendrom faktörleri arttıkça, TAS seviyeleri azalır, peroksitler ve diğer oksidatif stres belirteçleri artmaktadır⁹⁷.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

3.1.1 Kullanılan Deney Hayvanları Ve Diyet;

Bu çalışmanın deneysel protokolü G.Ü.ET-11.036 kod numara ve 172-16792 sayısıyla Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Deneylede 4 aylık (genç), 24 aylık (yaşlı) Wistar erkek sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar, Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı A.Ş.' den temin edilmiştir. Sıçanlar, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodunda ve sıcaklığı 21–24 °C olarak ayarlanmış bir ortamda 6 hafta boyunca standart sıçan yemi ile beslenmiştir. (Kuru madde: %88, protein:%23, selüloz:%7, ham kül:8, HCl'de çözülmeyen kül:%2, kalsiyum:%1.5, fosfor:%0.9, sodyum:0.7, tuz (NaCl):%1, metiyonin:0.3, lizin:1). İçme suyu olarak kontrol gruplarına çeşme suyu, fruktoz gruplarına çeşme suyunda çözülmüş %20 fruktoz verilmiştir. Hayvanların içtikleri suya ve yedikleri yeme kısıtlama getirilmemiştir.

Araştırmada genç ve yaşlı sıçanların gruplandırılması aşağıdaki şekilde planlanmıştır:

1. Genç kontrol grup (n=6)
2. Genç metabolik sendrom grubu (n=6)
3. Yaşlı kontrol grup (n=6)
4. Yaşlı metabolik sendrom grubu (n=6)

Diyet protokolüne başlanmadan önce kontrol ve fruktoz gruplarındaki sıçanların ağırlıkları ve kan basıncı değerleri ölçölmüş ve gruplar buna göre homojen olarak ayrılmıştır. Metabolik sendrom oluşturabilmek için 2. ve 4. gruptaki sıçanlar, %20 fruktoz içeren diyetle 6 hafta süre ile beslenmiştir. Fruktoz, sıçanların içme sularına katılarak verilmiştir. Diyet süresi boyunca sıçanların vücut ağırlıkları ve yem tüketimleri 2 haftada bir kez kontrol edilmiştir. Metabolik sendromun gelişiminin izlenebilmesi için 2 haftada bir kez tail-cuff yöntemiyle sıçanların kan basınçları ve kuyruktan alınan kanlarda glukoz, trigliserit, HDL ve total kolesterol düzeyleri ölçölmüştür. Diyet süresi sonunda sıçanlara oral glukoz tolerans testi uygulanmıştır. Ayrıca sıçanlar anesteziye edildikten sonra, Krebs çözeltisi ile perfüze edilmiştir. Perfüzyon sonunda çalışacağımız dokular çıkarılarak sıvı nitrojende dondurulduktan sonra, oksidatif stres belirteçlerinin mRNA ekspresyonlarını belirlemek için -80 derecede saklanmıştır.

3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler Ve Çözeltiler;

Deneylerde kullanılan saf fruktoz Pak-Takita Gıda San. AŞ. / İzmir 'den sağlanmıştır. Ölçüm kitleleri olarak Glukoz, HDL, Trigliserit, Total Kolesterol kitleleri Grup H.E.R. Sağlık Sistemleri San. Ve Tic. LTD. ŞTİ. / Ankara 'dan sağlanmıştır. PCR Oksidatif Stress Custom Panel Set, Genoviz Biyoteknoloji Ürünleri / İzmir' den sağlanmıştır. Diğer kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Merck firmasından sağlanmıştır. Sakrifikasyon sonrası doku perfüzyonu Krebs çözeltisi kullanılarak yapılmıştır.

Krebs Çözeltisinin Bileşimi (mM):

NaCl: 118, KCl: 4.73, KH₂PO₄: 1.2, MgSO₄:1.2, CaCl₂: 2.5, NaHCO₃: 25,
Glikoz: 11, EDTA: 0.026.

3.1.3 Kullanılan Deney Araçları;

Sistolik Kan Basıncı Ölçümü;

* Tail-Cuff, BIOPAC Systems, NIBP200A
(Kuyruktan kan basıncı ölçüm sistemi)

* Isınma kabini

Serum Glukoz – HDL – Trigliserit – Total Kolesterol Ölçümü;

* Cardiocheck P.A. Taşınabilir Tam Kan Test Sistemi

* Metabolik sendrom panel stripi (Glukoz, HDL,TG)

* Total Kolesterol Stripi

3.2. Yöntemler

3.2.1 *Sistolik Kan Basıncı Ölçümü;*

Tüm deney gruplarındaki sıçanların sistolik kan basınçları, deneyin başından diyet protokolünün sonuna kadar 2 haftada bir olmak üzere laboratuvarımızda bulunan kuyruktan kan basıncı ölçüm sistemi (Tail-Cuff, BIOPAC Systems, NIBP200A) kullanılarak ölçülmüştür.

Ölçümden önce, sıçanlar ısınma kabine alınarak ısıtılmıştır. (10-15 dakika). Sıçanların ısıtılmasının amacı; ısıtılan sıçanlarda, sistolik kan basıncı ve nabız sinyallerinin doğru ölçülebilmesi için düzenli ve sürekli kuyruk kan akışının sağlanmasıdır. Sıçanlar kuyruğu dışarıda kalacak şekilde vücutlarına uygun sıkıştırma kabine alındıktan sonra kuyruğa manşon ve sensör takılarak ölçümlere başlanmıştır. Bu işlemlere sıçanların koşullanması, hareketsiz ve sakin kalabilmesi için gerçek ölçümlerden bir gün önce 2-3 kez alıştırmaya yapılmıştır.

3.2.2 *Kan Glukoz, Trigliserit, HDL, Total Kolesterol ölçümleri;*

Deneyde kullandığımız tüm sıçanların, deneyin başından itibaren 2 haftada bir tüm kan parametreleri ölçülmüştür. Ölçüm öncesi sıçanları, rahat kan alınabilmesi için 10-15 dakika süreyle ısınma kabine alınarak ısıtılmıştır. Böylelikle kuyruktaki kan akışı arttırılmıştır. Sonrasında sıçanlar kuyruğu dışarıda kalacak şekilde vücutlarına uygun sıkıştırma kabine alınarak, kuyruklarının uç kısmına yakın bir bölgeye, steril bir

neşter yardımıyla küçük bir kesi atılarak 1-2 damla kan akışı sağlanmıştır. Kuyruktan alınan bu kanlar, metabolik sendrom ve kolesterol stripleri takılı Cardiocheck ölçüm cihazı üzerine damlatılarak arka arkaya ikişer defa ölçülmüştür. Yapılan ölçümler kaydedilerek ortalamaları alınmıştır. Sıçanların sakrifikasyonunun hemen ardından intrakardiyak olarak alınan kan örneklerinde de aynı ölçümler tekrarlanmıştır.

3.2.3 Oral glukoz tolerans testi (OGTT);

Oral glukoz tolerans testi uygulayacağımız sıçanların beden ağırlıkları ölçüldükten sonra, önceden hazırlanmış %30'lik glukoz çözeltisi 3g/kg dozda gastrik gavajla sıçanın midesine verilmiştir. Glukoz uygulamadan hemen önce (0.dakika) ve glukoz uygulandıktan 15, 30, 60 ve 120 dakika sonra kuyruktan alınan kanda glukoz değerleri ölçülüp kaydedilmiştir. Daha sonra zamana bağlı glukoz değerleri grafiğe aktarıldıktan sonra eğri altında kalan alanlar hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır.

3.2.4 Dokuların izolasyonu ve homojenizasyonu;

Diyet süresi sonunda, sıçanlar ketamin / ksilazinle (60 mg/kg; 10 mg/kg) anesteziye edildikten sonra, soğuk Krebs çözeltisi ile sol ventrikülden perfüze edilmiştir. Perfüzyon sırasında kanın uzaklaştırılması için sağ atriyum kesilmiştir. Perfüzyon sonunda beyinler çıkarılmış, hipotalamus izole edilmiş ve sıvı nitrojende dondurulduktan sonra, oksidatif stres belirteçleri (NADPH oksidaz alt üniteleri; gp91phox, p22phox, p47phox) ve bunlarla ilişkili olarak sempatik sinir aktivitesinin bir

belirteci olan TH, mRNA ekspresyonlarının belirlenmesi için -80 derecede saklanmıştır.

3.2.5 Gerçek Zamanlı PCR Süreci;

RNA İZOLASYONU

Bu çalışmada High Pure RNA Tissue Kit (Roche, REF: 12 033 674 001 LOT: 12447900) kullanılmıştır.

Kit içinde yer alan çözeltiler ve kullanım amaçları:

Lizis solüsyonu : Dokuların homojenisasyonunda kullanılmıştır.

DNase 1 :Rezidual genomik DNA'dan RNA saflaştırmak için kullanılmıştır.

Yıkama solüsyonu 1 :DNA veya RNA'yı parçalayan inhibitörleri uzaklaştırmak için kullanılmıştır.

Yıkama solüsyonu 2 : Örnek DNA'yı kalan safsızlıklardan temizlemek için kullanılmıştır.

PROTOKOL

1) Homojenizasyon: Hipotalamus dokuları 400µL lizis solüsyonu içinde sonikatör kullanılarak homojenize edilmiştir.

2) Homojenizasyon sonrası lizat 2 dk. max. hızda santrifüj edilmiştir. Supernatant alınmış ve diğer basamaklarda kullanılmıştır.

3) Supernatantın üzerine 200 µl absolü etanol eklenerek vortekslenmiştir.

4) Kitle temin edilen yüksek saflıkta filtreli tüpler toplama tüplerine yerleştirilmiştir. 3. Basamakta hazırlanan örneğin hepsi tüpün üstündeki rezervuara eklenmiştir.

5) 30 sn. 13000 g'de santrifüj edilmiştir. Tüpün çeperinin santrifüjden sonra kuru olması gerekir. Eğer ıslaksa santrifüj süresi uzatılmalıdır.

6) Filtreli tüp alttaki tüpten ayrılıp sıvı atılmış ve filtreli tüp tekrar toplama tüpüne yerleştirilmiştir.

7) Her bir izolasyon için 1,5 ml'lik steril ependorfa 90 µl DNase inkübasyon buffer (beyaz kapaklı şişe) ve 10 µl DNase 1 çalışma solüsyonu eklenerek karıştırılmıştır. Solüsyon filtreli tüpün üzerindeki rezervuara ilave edilmiştir. Tüpler oda sıcaklığında 15 dk. inkübe edilmiştir.

8) Filtreli tüpün üzerindeki rezervuara 500 µl yıkama solüsyonu 1 ilave edilmiştir. 8000 g'de 15 sn santrifüj edilmiştir. Filtreli tüp çıkarılıp alttaki tüpte bulunan sıvı dökülüp ve tekrar filtreli tüp yerleştirilmiştir.

9) Filtreli tüpün üzerindeki rezervuara 500 µl yıkama solüsyonu 2 ilave edilmiştir. 8000 g'de 15 sn santrifüj edilmiştir. Filtreli tp çıkarılıp alttaki tüpte bulunan sıvı dökülüp ve tekrar filtreli tüp yerleştirilmiştir.

10) Filtreli tüpe 300 µl yıkama solüsyonu 2 eklenmiş, 13000 g'de 2 dk. santrifüj edilmiştir.

11) Filtreli tp dikkatli bir şekilde alttaki tüpten ayrılmıştır. Altteki sıvı ile kesinlikle temas ettirilmemiştir.

12) 1,5 ml'lik steril ependorfa yerleştirilmiş, üzerine 100 µl elution buffer eklenip ve 8000 g'de 1 dk. santrifüj edilmiştir.

13) Ependorf RNA içeriği -80°C'de saklanmıştır.

Bu aşamadan sonra RNA miktar tayini yapılmış ve cDNA analizine geçilmiştir.

Yukarıdaki protokol sonunda elde edilen RNA rneklerinin RNA miktar tayini nanodrop kullanılarak yapılmıştır. Nanodrop cihazının ucuna 2 µl örnek damlatılarak RNA konsantrasyonları hesaplanmıştır.

cDNA SENTEZ PROTOKOLÜ

cDNA sentezinde "Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis" kiti kullanılmıştır. (Roche Marka CAT NO: 05 081 955 001 (50 RXN))

RNA miktar tayini sonucu elde edilen konsantrasyonlardan 1. Aşamada kullanılmak üzere, toplam hacim 10,4 µl ve RNA miktarları eşit olacak şekilde eklenmesi gereken RNA rneği ve su miktarları hesaplanmıştır.

1. AŞAMA

İçerik	Tek Reaksiyon İçin
Su	x µl
Total RNA	x µl
<u>Oligo DT</u>	<u>1 µl</u>
TOPLAM	11,4 µl

Hazırlanan RNA ve Oligo DT karışımı 65 °C 10 dk Thermal Cycler'da inkübe edilmiştir. 10 dakikanın sonunda ependorflar direkt buza yerleştirilmiş ve devamında 2. aşama uygulanmıştır.

2. AŞAMA

İçerik	Tek Reaksiyon İçin
• Yüksek saflıkta Ters Transkriptaz	
Reaksiyon çözeltisi (5X kons.)	4µl
• RNase inhibitör 40 U/µl	0,5 µl
• Deoksinükleotid karışımı, 10 mM each	2µl
• DTT	1µl
• Yüksek saflıkta Ters Transkriptaz	
<u>Reaksiyon çözeltisi (X kons.)</u>	<u>1,1µl</u>
TOPLAM HACİM	20 µl

Yukarıda belirtilen miktarlarda maddeler ependorf içine eklenerek 55 °C'de 30 dk, daha sonra 85 °C'de 5 dk Thermal Cycler'da inkübe edilmiştir.

PCR protokolü

Çalışmamızda her bir örnek için aşağıdaki tabloda belirtilen dizide primer probe karışımlar içerecek şekilde hazırlanmış plate (*Real time Custom panel 96-16+*, Roche LOT: 90004210 Config.no: 100011528) kullanılmıştır.

	1	2
A	Cybb <i>R. norvegicus</i>	X01117 <i>R. norvegicus</i> Reference Gene
B	Q99M65_RAT <i>R. norvegicus</i>	Actb <i>R. norvegicus</i> Reference Gene
C	Cyba <i>R. norvegicus</i>	G6pd <i>R. norvegicus</i> Reference Gene
D	Sod3 <i>R. norvegicus</i>	C+
E	Sod2 <i>R. norvegicus</i>	C+
F	Cat <i>R. norvegicus</i>	C+
G	Th <i>R. norvegicus</i>	C-
H	Agtr1b <i>R. norvegicus</i>	C-

	1	2
A	gp91phox	referans gen
B	p22phox	referans gen
C	p47phox	referans gen
D	MnSOD	C+
E	CuZNSOD	C+
F	Katalaz	C+
G	Tirozin Hid.	C-
H	AnjiyoTn Ib	C-

1. Plate üzerindeki her bir kuyucuğa;

7µl distile su + 10 µl enzim (LightCycler 480 probes master, Roche, LOT: 12203730, REF: 04 707 494 001) + 2 µl cDNA eklendi. Son kuyucuğa cDNA yerine RNA örneği eklendi. Plate yüklenmesi tamamlandıktan sonra üzeri sealer ile hava almayacak şekilde iyice kapatıldı.

2. Daha sonra plate 1300 rpm'de 10 sn. santrifüj edildi.

3. Plate PCR aletine koyularak aşağıdaki program uygulandı:

- **Preinkübasyon:** 95⁰C'de 10 dk.
- **Amplifikasyon** (45 döngü): 95⁰C'de 10 sn.+ 60⁰C'de 30 sn. + 72⁰C'de 1 sn. Bu aşamada 72⁰C'de tek bir okuma yapacak şekilde ayarlandı.
- **Soğutma:** 40⁰C'de 30 sn.

4. PCR tamamlandıktan sonra veri analiz edildi.

PCR plate'ine hedef genlerle birlikte 3 farklı referans gen yüklenmiş ve her bir örnekteki hedef gene ilişkin mRNA düzeyleri relatif olarak hedef genin ΔCt değerlerinin, 3 farklı referans genin ΔCt değerlerinin ortalamasına oranlanmasıyla hesaplanmıştır. Sonuçlar hedef gen / referans genler mRNA oranı şeklinde ifade edilmiştir.

3.2.6 İstatiksel analiz;

Bütün deneylerde istatistik analiz, Prism 5.0 GraphPad programı kullanılarak Student t-test ile eş olmayan gruplara arasındaki farkın anlamlılık testi kullanılarak yapılmıştır. P değeri 0.05'den küçük ise, bulgu anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Ağırlık - Yem ve su tüketimi

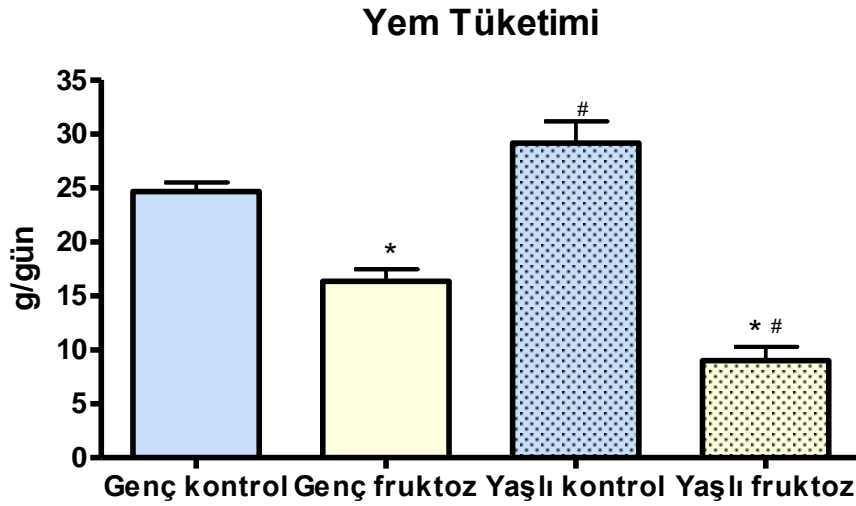
Deneye alınan genç ve yaşlı sıçanlar, diyet protokolüne başlanmadan önce kontrol ve fruktoz grupları arasında ağırlık açısından anlamlı bir fark olmayacak şekilde 2'ye ayrılmış, daha sonra deney protokolünün uygulanmasına geçilmiştir. Genç kontrol grubundaki sıçanların 6 hafta sonraki ağırlık artışları ($79,6 \pm 7,7$) yaşlı kontrol grubuna göre, büyüme profillerinden de beklendiği gibi anlamlı olarak fazladır. 6 haftalık %20 fruktoz diyetiyle beslenme her iki yaş grubunda da kontrol grubundaki sıçanlara göre %10 daha fazla artış sağlamış ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. (Tablo 5)

Günlük yem tüketiminin, yaşlı kontrol grubunda ($29,2 \pm 2,0$ gr/gün) genç kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu, fruktoz alımının ise her iki yaş grubunda da yem tüketimini anlamlı olarak azalttığı saptanmıştır. Fruktoz alan gruplarda ise yaşlı sıçanlarda ($9,0 \pm 1,3$ gr/gün) yem tüketiminin gençlere ($16,33 \pm 1,1$ g/gün) göre anlamlı olarak daha düşük olduğu bulgulanmıştır. (Şekil 5)

Günlük su tüketimi, yaşlı kontrol grubunda ($80,2 \pm 8,2$ ml/gün) gençlere ($39,2 \pm 1,1$ ml/gün) göre yem tüketimiyle paralel olarak anlamlı şekilde daha fazladır. Fruktoz alımıyla su tüketimi her iki yaş grubunda da kontrole göre artmış olmasına rağmen sadece genç gruptaki (GF $46,7 \pm 2,6$ ml/gün - YF $98,4 \pm 10,7$ ml/gün) artış istatistiksel olarak anlamlıdır. (Şekil 6)

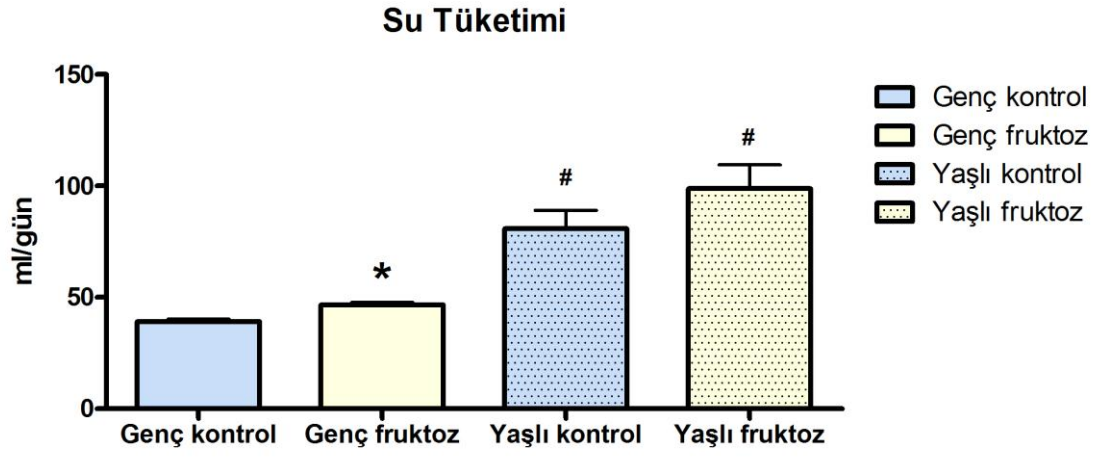
Deney grupları	Ağırlık (g)			N (denek sayısı)
	0.hafta	6. hafta	% artış	
Genç kontrol	216,0 ± 6,1	386,3 ± 11,4	79,6 ± 7,7	6
Genç fruktoz	202,2 ± 6,2	379,3 ± 25,2	89,4 ± 15,9	6
Yaşlı kontrol	520,2 ± 16,0	530,6 ± 16,8	2,0 ± 0,2	6
Yaşlı fruktoz	520,6 ± 17,4	564,5 ± 21,6	11,0 ± 7,3	4

Tablo 5: Altı haftalık diyet süresi boyunca sıçanlarda ağırlık değişimi



* p<0.05, kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı
p<0.05, genç gruba göre anlamlı olarak farklı

Şekil 5: Altı haftalık diyet süresi boyunca sıçanların yem tüketimi (n = 4- 6)



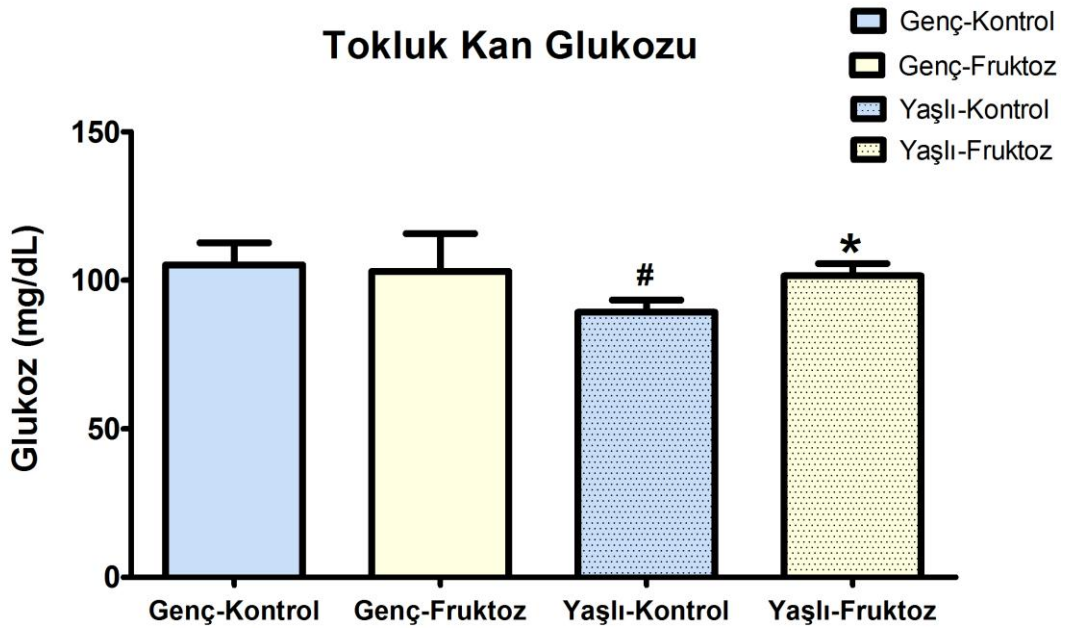
$p < 0.05$, genç gruba göre anlamlı olarak farklı
* $p < 0.05$, kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı

Şekil 6: Altı haftalık diyet süresi boyunca sıçanların su tüketimi (n=4-6)

4.2 Biyokimyasal Parametreler;

4.2.1 Kan Glukozu

Altı haftalık diyet protokolü sonunda kuyruktan alınan kanlarda, glukoz ölçüm stripleri kullanılarak yapılan tokluk ölçümleri sonucunda, kandaki glukoz düzeylerinin yaşlı kontrol grubunda ($83,8 \pm 7,5$ mg/dl) gençlere ($105,2 \pm 2,5$ mg/dl) göre anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır. Fruktoz diyeti sadece yaşlı sıçanlarda (YF $101,5 \pm 4,1$ mg/dl) tokluk kan glukoz düzeyini anlamlı olarak arttırmıştır. (Şekil 7)



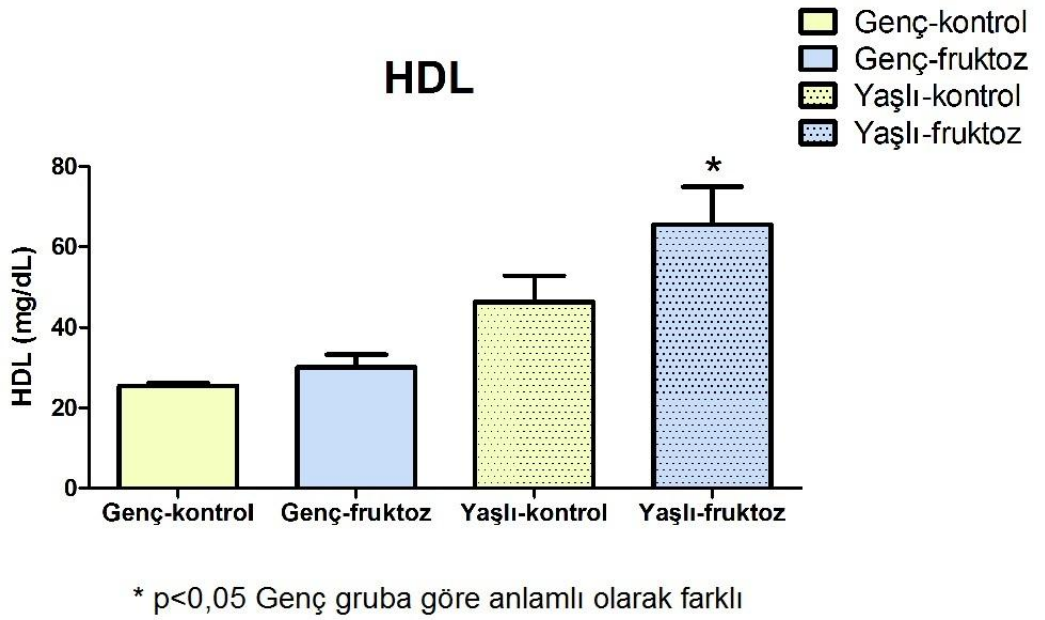
* $p < 0.05$ kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı

$p < 0.05$ genç grubuna göre anlamlı olarak farklı

Şekil 7: Kan glukoz düzeyleri üzerine yaşın ve 6 haftalık %20 fruktoz diyetinin etkisi

4.2.2 HDL Düzeyleri

Kandaki HDL düzeyi ise fruktoz alımıyla birlikte her iki yaş grubunda da anlamlı olarak değişmemişken, gerek kontrol gerekse de fruktoz grubunda yaşlanmayla birlikte anlamlı olarak artmıştır. (Şekil 8)

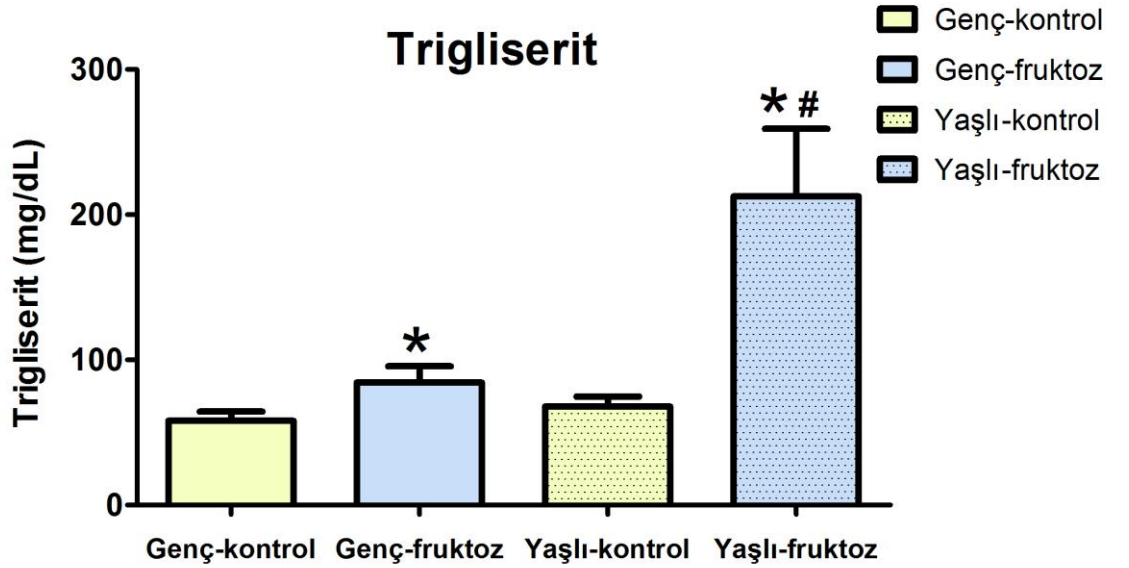


Şekil 8: Kan HDL düzeyleri üzerine yaşın ve 6 haftalık fruktoz %20 diyetinin etkisi (n=4-6)

4.2.3 Trigliserit Düzeyleri;

Trigliserit düzeyleri açısından genç ve yaşlı kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak fruktoz diyeti her iki yaş grubunda da trigliserit düzeyini kontrole göre anlamlı olarak arttırmıştır. Yaşlı fruktoz grubundaki trigliserit artışı genç gruptakine göre dramatik olarak anlamlı düzeyde fazladır. (Şekil 9)

(Genç Kontrol $58 \pm 6,4$ mg/dl ; Genç Fruktoz $84,25 \pm 11,3$ mg/dl
Yaşlı Kontrol $67,7 \pm 7,0$ mg/dl ; Yaşlı Fruktoz $212,5 \pm 46,6$ mg/dl)



* $p < 0.05$ kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı
$p < 0.05$ genç gruba göre anlamlı olarak farklı

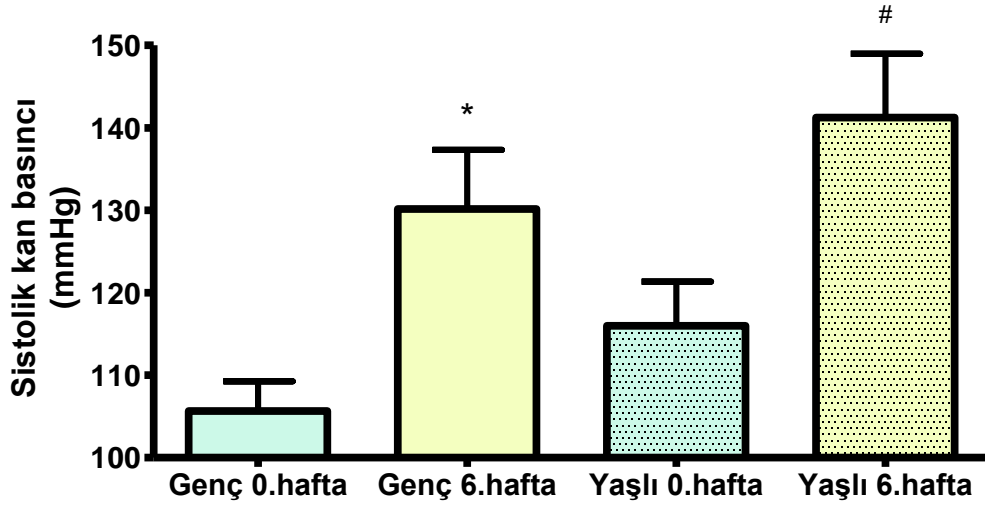
Şekil 9: Kan trigliserit düzeyleri üzerine yaşın ve 6 haftalık fruktoz diyetinin etkisi

4.3 Sistolik kan basıncı

Sistolik kan basınçlarının, 6 haftalık deney süresinde Yaşlı ve Genç kontrol gruplarında başlangıca göre anlamlı olarak değişmediği, Yaşlı ve Genç fruktoz gruplarında ise 6. haftanın sonunda, başlangıç değerlerine göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır (Şekil 10).

(**Genç Fruktoz** 0.Hafta $105,7 \pm 3,6$ mm Hg ; 6.Hafta $130,2 \pm 7,2$ mm Hg
Yaşlı Fruktoz 0.Hafta $116,0 \pm 5,3$ mm Hg ; 6.Hafta $141,3 \pm 7,7$ mm Hg)

Kan Basıncı Grafiği



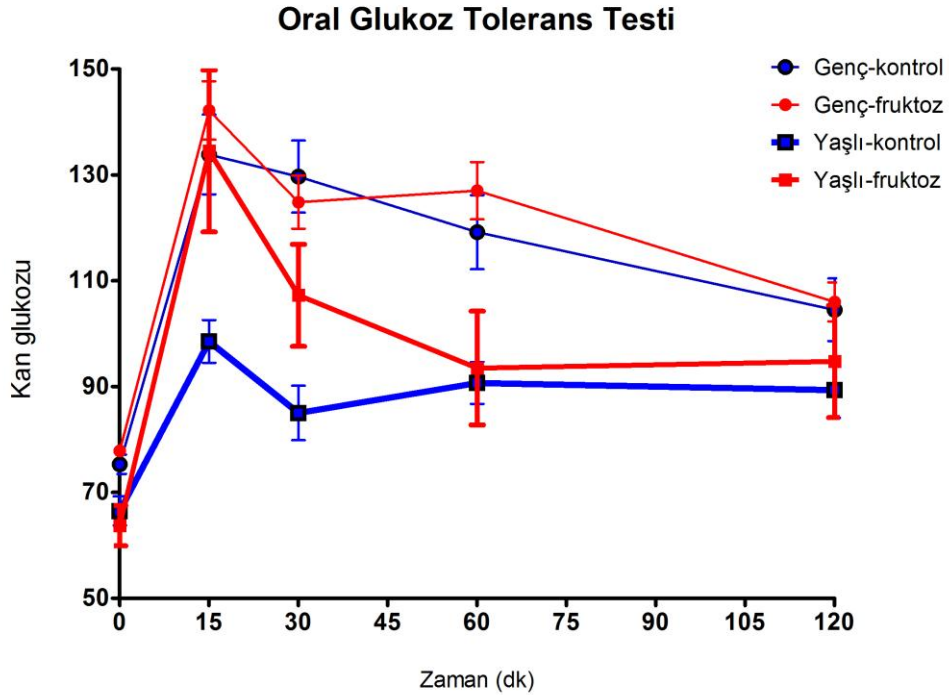
* $p < 0.05$ Genç 0. haftaya göre anlamlı olarak farklı

$p < 0.05$ Yaşlı 0. haftaya göre anlamlı olarak farklı

Şekil 10: Sistolik kan basıncı üzerine yaşın ve 6 haftalık %20 fruktoz diyetinin etkisi (n=4-6)

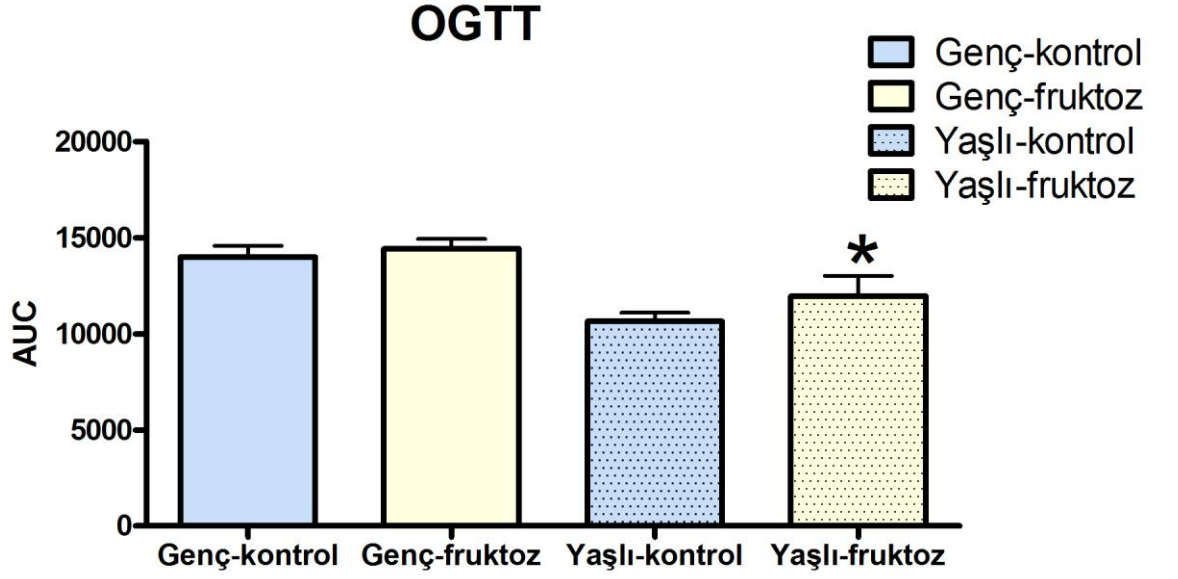
4.4 Oral Glukoz Tolerans Testi;

Sakrifikasyondan 2 gün önce yapılan oral glukoz tolerans testi sonucunda, her iki yaş grubunda da fruktoz alımı, glukoz yüklemesine karşı kan glukozunun zamansal değişimi eğrisinde eğri altında kalan alanı arttırken, bu artış yalnızca yaşlı sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bununla birlikte yaşlı kontrol ve fruktoz grubuna ait eğri altındaki alanın genç gruplara göre anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır. (Şekil 11,12)



Şekil 11: Oral glukoz yüklemesinden sonra oluşturulan kan glukoz zaman-grafiği (n=4-6)

(Genç Kontrol $13174 \pm 400,3$; Genç Fruktoz $14420 \pm 507,2$
Yaşlı Kontrol $10045 \pm 316,3$; Yaşlı Fruktoz $12768 \pm 944,6$)



* $p < 0.05$ genç gruba göre anlamlı olarak farklı

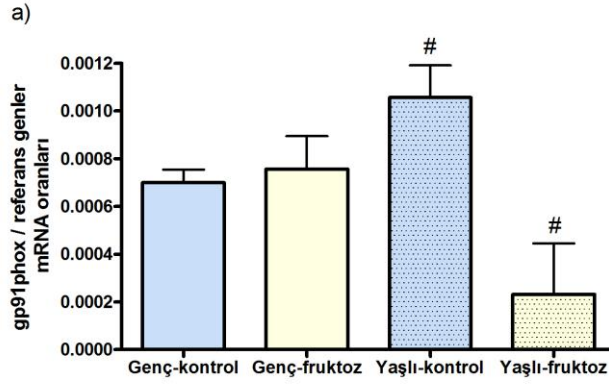
Şekil 12: Oral glukoz yüklemesinden sonra oluşturulan kan-glukoz-zaman grafiğinden hesaplanan eğri altında kalan alanlar (n=4-6)

4.5 Gerçek Zamanlı PCR Bulguları;

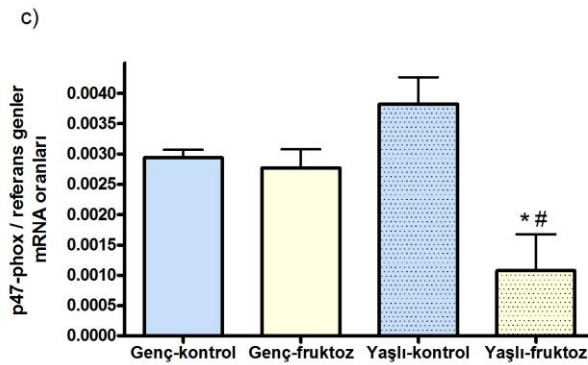
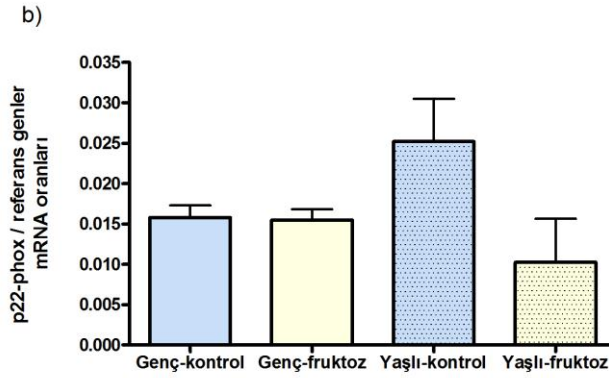
Hipotalamusta oksidatif stres belirteçleri olarak değerlendirilen NADPH oksidaz alt üniteleri gp91phox, p22phox ve p47phox mRNA düzeyleri yaşlı kontrol grubu sıçanlarda gençlere göre anlamlı olarak artmıştır. Fruktoz diyeti, gençlerde mRNA düzeylerini değiştirmezken, yaşlı sıçanlarda NADPH oksidaz alt ünitelerine mRNA düzeyi anlamlı olarak azalmıştır. (Şekil 13)

Antioksidan enzimlerden Cu-Zn SOD mRNA düzeyleri, sadece yaşlı fruktoz grubunda, yaşlı kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Diğer gruplar arasında Cu-Zn SOD ve buna paralel olarak MnSOD mRNA düzeylerindeki artışa zıt olarak yaşlı sıçanlarda fruktozla beslenme hipotalamusta Mn SOD düzeylerini anlamlı olarak azalmıştır. Bir diğer antioksidan enzim olan katalaz mRNA düzeyi ise standart yemle beslenen sıçanlarda fruktoz gruplarına göre anlamlı olarak azalmıştır. Bunun yanı sıra her iki yaş grubunda da fruktoz diyeti katalaz mRNA düzeylerini arttırmış, ancak sadece yaşlı gruptaki farklılık anlamlı bulunmuştur. (Şekil 14)

Santral sempatik çıkışın göstergesi olan TH mRNA düzeyinin ise yaşlı kontrol grubunda gençlere ve yaşlı fruktoz grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır. (Şekil15)

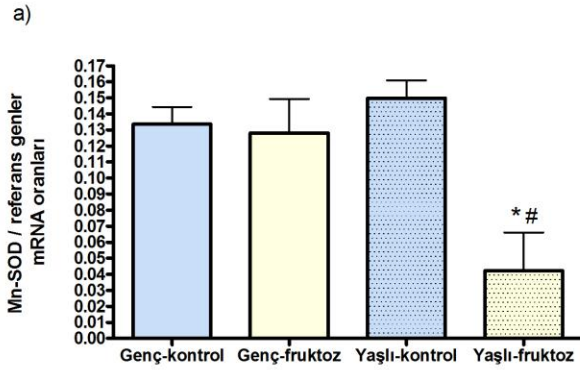


$p < 0,05$ Genç gruba göre anlamlı olarak farklı

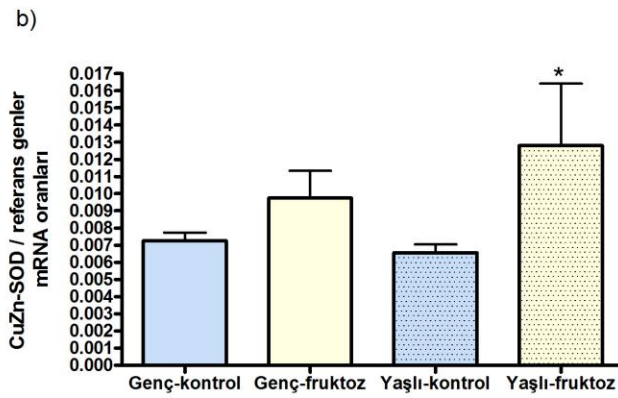


* $p < 0,05$ kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı
$p < 0,05$ genç grubuna göre anlamlı olarak farklı

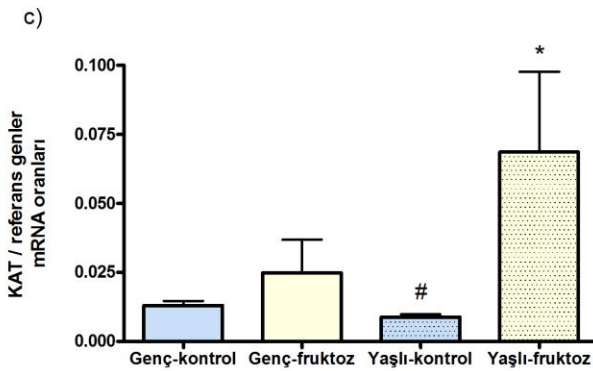
Şekil 13: Hipotalamik NADPH oksidaz alt ünitelerinin (gp91phox, p22phox, p47phox) mRNA düzeyleri üzerine yaştın ve fruktoz diyetinin etkisi (n=4-6)



* $p < 0,05$ kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı
 # $p < 0,05$ genç grubuna göre anlamlı olarak farklı

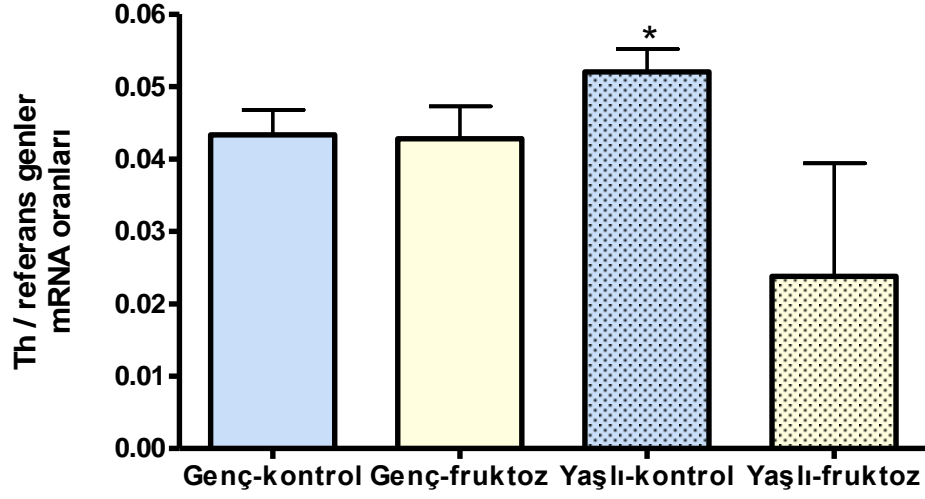


* $p < 0,05$ kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı



* $p < 0,05$ kontrol grubuna göre anlamlı farklı
 # $p < 0,05$ genç gruba göre anlamlı farklı

Şekil 14: Hipotalamik antioksidan mRNA (CuZnSOD, MnSOD, Katalaz) düzeyleri üzerine yaşın ve fruktoz diyetinin etkisi



* $p < 0,05$ Genç-kontrol ve yaşlı-fruktoz gruplarından farklı.

Şekil 15: Hipotalamik Tirozin Hidroksilaz (TH) mRNA düzeyleri üzerine yaşın ve fruktoz diyetinin etkisi

5. TARTIŞMA

Metabolik sendrom insülin rezistansı, hiperinsülinemi, dislipidemi, hipertansiyon ve obezite ile karakterize olan patofizyolojik bir durumdur¹. Bu hastalığın günümüzün modern yaşam tarzından kaynaklanan aşırı yemek ve hareketsizlik sonucu ortaya çıktığı, özellikle diyet içeriğindeki fruktozun obeziteyle birlikte metabolik sendromdaki diğer hastalıkları tetiklediği bilinmektedir³. Ayrıca, yaşlanma ile birlikte hipertansiyon ve obezite riskini artması ve yaşlı bireylerde metabolik sendrom insidansının yüksek olması yaşın bu hastalık için önemli bir risk faktörü olduğunun göstergesidir. Bu kompleks patofizyolojik durum başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere bir çok hastalık için risk faktörüdür ve metabolik sendromlu hastalarda kardiyovasküler hastalıklara bağlı morbidite ve mortalitenin artması hastalığın klinik yönden önemine işaret etmektedir. Bu nedenle MS'in patofizyolojisinin aydınlatılmasına yönelik çalışmalar spesifik tedavi protokolü olmayan bu hastalıkta yeni tedavi ve profilaksi yaklaşımları geliştirilebilmesi açısından değerlidir.

Metabolik sendromun patofizyolojisinde sempatik aktivite artışı, barorefleks disfonksiyonu ve periferik oksidatif stres artışının rol oynadığı bir çok çalışmada gösterilmiştir. Metabolik sendromda yer alan patolojilerden obezite ile indüklenen hipertansiyonda da santral oksidatif stres artışının önemli patojenik mekanizmalar arasında yer aldığı bilinmesine rağmen, bu hastalıkta santral oksidatif stresin rolü, sempatik çıkışla ilişkisi ve yaşlanmayla birlikte bu prosesin nasıl etkilendiği incelenmemiştir.

Bütün bu bilgiler doğrultusunda bu tez çalışmasında da, yaşlanmayla birlikte metabolik sendromun patofizyolojisine santral oksidatif stresin katkısının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla genç (4 aylık) ve yaşlı (24 aylık) sıçanlar ağırlık ve kan basınçları homojen olacak şekilde 2 gruba ayrılmıştır. 6 hafta boyunca bir grup, standart yemin yanı sıra normal içme suyuyla beslenirken (kontrol) diğer grup standart yemle birlikte %20 fruktoz ilave edilmiş içme suyuyla beslenmiştir. Diyet protokolüne başlamadan önce ve diyet protokolü boyunca sıçanların ağırlık, yem-su tüketimi takipleri, kan basıncı ölçümleri ve kandaki biyokimyasal metabolik parametrelerin (glukoz, trigliserit, HDL) düzenli olarak yapılmıştır. Sonuçlar diyet sonundaki değerler baz alınarak verilmiştir. Diyet protokolü tamamlandıktan sonra sakrifiye edilen sıçanlardan izole edilen hipotalamus dokularında gerçek zamanlı PCR tekniği kullanılarak oksidatif stresin değerlendirilmesi amacıyla NADPH oksidaz alt ünitelerinden gp91 phox, p22 phox ve p47 phox ; antioksidaz enzimlerden Cu-Zn SOD, Mn SOD ve katalaz mRNA değerleri ; sempatik çıkışın değerlendirilmesi amacıyla TH mRNA düzeyleri ölçülmüştür.

Çalışmamızda yaşlanmayla birlikte kan basıncının anlamlı olarak arttığı, buna sempatik sinir sistemi aktivitesi belirteçlerinden olan hipotalamik TH düzeylerindeki artışın eşlik ettiği saptanmıştır. Bununla birlikte yaşlanmanın hipotalamik NADPH oksidaz aktivitelere ilişkin (gp91 phox, p22 phox ve p47 phox) mRNA düzeylerini arttırdığı saptanmıştır. Bu bulgular, literatürde yaşlı hipertansiyonunda sempatik sinir sistemi aktivitesi, anjiyotensin sinyali ve oksidatif stres artışının rol oynadığını gösteren ve aralarındaki ilişkiyi tanımlayan çalışmaların bulgularıyla uyumludur.^{100,101,102}

Yaşlanmanın metabolik parametreleri üzerindeki etkisine baktığımızda, çalışmamızda yaşlanmayla birlikte plazma glukoz düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı, HDL düzeylerinin anlamlı olarak arttığı ancak TG düzeylerinin değişmediği gösterilmiştir. Daha önce literatürde yapılan bir çok çalışmada yaşlanmayla birlikte plazma glukoz düzeyinin değişmediği gösterilmiş olmasına rağmen , bizim çalışmamızdaki farklılık bu çalışmalarda kullanılan sıçan türleri arasındaki farklılıktan veya yaş farkından ileri gelebilir ^{102,103,104,105} . Bunun yanı sıra diğer metabolik bulgularımız daha önce yapılan yaşla birlikte TG düzeylerinin değişmediğini ve HDL düzeyinin arttığını gösteren çalışma bulgularıyla uyumludur.¹⁰⁶

Fruktoz diyetiyle beslenme, çalışmamızda yaşlı sıçanlarda kan glukoz düzeyini ve TG düzeyini gençlere göre daha belirgin olarak arttırmasına rağmen, yaşlılarda kan basıncındaki artışın gençlere göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Böylece çalışmamızda yaşlı sıçanların özellikle metabolik parametreler açısından metabolik sendroma daha yatkın olduğu, Fruktoz ile indüklenen kan basıncı artışına ise gençlerin daha duyarlı olduğu ortaya konmuştur.

Fruktoz diyetiyle beslenme gençlerde santral oksidatif stres belirteçlerini, TH mRNA düzeylerini etkilemezken, yaşlılarda santral oksidan/antioksidan dengesi değişirmiş ve santral sempatik çıkışı muhtemelen periferik sempatik aktivitenin aşırı artışına kompensatuar olarak azaltmıştır.

Bütün bu bulgular; yaşlılarda metabolik sendroma yatkınlığa santral mekanizmaların aracılık edebileceğini, gençlerde ise santralden çok periferel mekanizmaların metabolik sendrom gelişimine aracılık edebileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ

Fruktoz diyetiyle beslenme, çalışmamızda yaşlı sıçanlarda kan glukoz düzeyini ve TG düzeyini gençlere göre daha belirgin olarak arttırmasına rağmen, yaşlılarda kan basıncındaki artışın gençlere göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Böylece yaşlı sıçanların çalışmamızda özellikle metabolik parametreler açısından metabolik sendroma daha yatkın olduğu, Fruktoz ile indüklenen kan basıncı artışına ise gençlerin daha duyarlı olduğu ortaya konmuştur.

Fruktoz diyetiyle beslenme gençlerde santral oksidatif stres belirteçlerini, TH mRNA düzeylerini etkilemezken, yaşlılarda santral oksidan/antioksidan dengeneyi değiştirmiş ve santral sempatik çıkışı muhtemelen periferel sempatik aktivitenin aşırı artışına kompensatuvar olarak azaltmıştır.

Bütün bu bulgular; yaşlılarda metabolik sendroma yatkınlığa santral mekanizmaların aracılık edebileceğini, gençlerde ise santralden çok periferel mekanizmaların metabolik sendrom gelişimine aracılık edebileceğini düşündürmektedir.

7. ÖZET

Metabolik sendromun patofizyolojisinde santral oksidatif stresin rolü

Metabolik sendrom, aşırı yemek yeme ve hareketsiz yaşam tarzının sonucu olarak ortaya çıkan abdominal obeziteden kaynaklanan; hipertansiyon, diyabet ve dislipideminin eşlik ettiği kompleks bir patolojidir. Bu hastalığın patofizyolojisinde yer alan metabolik bozuklukların her biri ateroskleroz gelişimi için risk faktörüdür. Bu nedenle metabolik sendromun, kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi arttırdığı bilinmektedir. Bu kompleks hastalığın patofizyolojisini aydınlatmaya yönelik bir çok çalışma olmasına karşın son yıllarda yapılan çalışmalar antioksidan/oksidan dengenin bozulmasına bağlı olarak periferik oksidatif stres artışı üzerine odaklanmıştır.

Yaşlanma ile birlikte hipertansiyon ve obezite riski artmaktadır ve yaşlı bireylerde metabolik sendrom insidansının yüksek olduğu bilinmektedir. Yaşla birlikte gelişen hipertansiyonun ve obezitenin patofizyolojisine santral sempatik aktivasyonun ve oksidatif stres artışının eşlik ettiğini gösteren bir çok kanıt bulunmaktadır. Ancak, yaşlanma ile birlikte metabolik sendromun gelişmesinde yer alan santral mekanizmalar açık değildir.

Bu çalışmanın amacı; metabolik sendromun patofizyolojisinde santral oksidatif stresin rolünün ve yaşın etkisinin araştırılmasıdır. Bu amaçla, fruktozla indüklenen metabolik sendrom oluşturulmuş sıçanların hipotalamuslarında oksidatif stres belirteçleri (NADPH oksidaz altüniteleri-p47, gp91, p22) ve antioksidan enzimlerin mRNA düzeyleri ölçülmüş ve değerlendirilmiştir.

Genç (4 aylık) ve yaşlı (24 aylık) sıçanlar ağırlık ve kan basınçları homojen olacak şekilde 2 gruba ayrılmıştır. 6 hafta boyunca bir grup, standart yemin yanı sıra normal içme suyuyla beslenirken (kontrol) diğer grup standart yemle birlikte %20 fruktoz ilave edilmiş içme suyuyla beslenmiştir. Diyet protokolü tamamlandıktan sonra sakrifiye edilen sıçanlardan izole edilen hipotalamus dokularında gerçek zamanlı PCR tekniği kullanılarak oksidatif stresin değerlendirilmesi amacıyla NADPH oksidaz alt ünitelerinden gp91 phox, p22 phox ve p47 phox; antioksidaz enzimlerden Cu-Zn SOD, Mn SOD ve katalaz mRNA değerleri ; sempatik çıkışın değerlendirilmesi amacıyla TH mRNA düzeyleri ölçülmüştür.

Çalışmamızda yaşlanmayla birlikte kan basıncının anlamlı olarak arttığı, buna sempatik sinir sistemi aktivitesi belirteçlerinden olan hipotalamik TH düzeylerindeki artışın eşlik ettiği saptanmıştır. Bununla birlikte yaşlanmanın hipotalamik NADPH oksidaz aktivitelerine ilişkin (gp91 phox, p22 phox ve p47 phox) mRNA düzeylerini arttırdığı saptanmıştır. çalışmamızda yaşlanmayla birlikte plazma glukoz düzeylerinin anlamlı

olarak azaldığı, HDL düzeylerinin anlamlı olarak arttığı ancak TG düzeylerinin değişmediği gösterilmiştir.

Bütün bu bulgular; yaşlılarda metabolik sendroma yatkınlığa santral mekanizmaların aracılık edebileceğini, gençlerde ise santralden çok periferel mekanizmaların metabolik sendrom gelişimine aracılık edebileceğini düşündürmektedir.

8. SUMMARY

The role of central oxidative stress in pathophysiology of metabolic syndrome

Metabolic syndrome is a complex pathology associated with hypertension, diabetes and dyslipidemia, and caused by over ingestion and sedentary lifestyle results in abdominal obesity. Each metabolic disorders which contribute to pathophysiology of this disease are risk factors for development of atherosclerosis. Although there is a lot of study for clarify to pathophysiology of metabolic syndrome, in recent studies are focused on peripherally increased oxidative stress due to risk of imbalance in antioxidant/oxidant status.

It's well known that risk of hypertension and obesity increase with age and incidence of metabolic syndrome is higher in elderly. Central sympathetic activation play an important role in age related hypertension and obesity. A lot of evidence showed that oxidative stress is accompanied by this activation. However, the central mechanisms of age associated metabolic syndrome is not clear yet.

The aim of the study is to investigate the role of central oxidative stress and effects of age in the pathophysiology of metabolic syndrome. For this purpose, we will measure and evaluate mRNA levels of oxidative stress markers (NADPH oxidase-17 subunits- p47, gp91, p22) and antioxidant enzymes (Cu-ZnSOD, MnSOD and catalase) in the hypothalamus and brainstem from rats with fructose-induced metabolic syndrome.

Animals were separated into two groups randomly: young (4 months), old (24 months). One group of rats was fed with standard rat chow and tap water (control), another group was fed with standard rat chow and water including 20% fructose for 6 weeks. After the experimental protocol, rats were sacrificed and hypothalamus tissues were isolated. The mRNA levels of NADPH subunits: gp91 phox, p22 phox and p47 phox; antioxidant enzymes: Cu-Zn SOD, Mn SOD and catalase; TH were measured by real-time PCR.

In present study, we found that the blood pressures and hypothalamic TH levels of old rats are increased. In addition hypothalamic NADPH oxidase associated mRNA levels (gp91 phox, p22 phox and p47 phox) increased with aging. The plasma glucose levels decreased with age while HDL levels increased. However TG levels did not change in old groups.

These results suggest that central mechanisms might mediate predisposition of metabolic syndrome in the elderly. Although in young rats peripheral mechanisms rather than central ones play an important role in development of metabolic syndrome.

9. KAYNAKLAR

1) **Reaven GM.** Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37: 1595–1607, 1988.

2) **Meaney E, Vela A, Samaniego V, Meaney A, Asbun J, Zempoalteca JC, et al.** Metformin, arterial function, intima-media thickness and nitrooxidation in metabolic syndrome: the Mefisto Study. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 35:895-903, 2008.

3) **Dalle-Donne I, Aldini G, Carini M, Colombo R, Rossi R, Milzani A.** Protein carbonylation, cellular dysfunction and disease progression. *J Cell Mol Med* 2:389-406, 2006.10

4) **Sayre LM, Lin D, Yuan Q, Zhu X, Tang X.** Protein adducts generated from products of lipid oxidation: focus on HNE and ONE. *Drug Metab Rev* ,38:651-75, 2006.

5) **Davi` G, Ciabattoni G, Consoli A, Mezzetti A, Falco A, Santarone S, et al.** In vivo formation of 8-iso-prostaglandin f2alpha and platelet activation in diabetes mellitus: effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation. *Circulation*, 99(2):224-9, 1999 Jan 19.

6) **Namikoshi T, Tomita N, Satoh M, Haruna Y, Kobayashi S, Komai N, et al.** Olmesartan ameliorates renovascular injury and oxidative stress in Zucker obese rats enhanced by dietary protein. *Am J Hypertens*, 20:1085-91, 2007.

7) **Chander PN, Gealekman O, Brodsky SV, Elitok S, Tojo A, Crabtree M, et al.** Nephropathy in Zucker diabetic fat rat is associated with oxidative and nitrosative stress: prevention by chronic therapy with a peroxynitrite scavenger Ebselen. *J Am Soc Nephrol*, 15:2391-403, 2004.

8) **Abdilla N, Tormo MC, Fabia MJ, Chaves FJ, Saez G, Redon J.** Impact of the components of metabolic syndrome on oxidative stress and enzymatic antioxidant activity in essential hypertension. *J Hum Hypertens*, 21:68-75, 2007.

9) **Demircan N, Gurel A, Armuctu F, Unalacak M, Aktunc, Atmaca H.** The evaluation of serum cystatin C, malonildialdehyde and total antioxidant status in patients with metabolic syndrome. *Med Sci Monit*, 14:97-101, 2008.

10) **Sun YX, Hu SJ, Zhang XH, Sun J, Zhu CH, Zhang ZJ.** Plasma levels of vWF and NO in patients with metabolic syndrome and their relationship with metabolic disorders. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 35:315-8, 2006.

- 11) **Barbato JE, Zuckerbraun BS, Overhaus M, Raman KG, Tzeng E.** Nitric oxide modulates vascular inflammation and intimal hyperplasia in insulin resistance and the metabolic syndrome. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 289:228-36, 2005.
- 12) **Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Celik H, Guzel S, Selek S, et al.** DNA damage in metabolic syndrome and its association with antioxidative and oxidative measurements. *Int J Clin Pract*, 60:1187-93, 2006. 11
- 13) **Ford ES, Mokdad AH, Giles WH, Brown DW.** The metabolic syndrome and antioxidant concentrations. *Diabetes*, 52: 2346-52, 2003
- 14) **Dobrian AD, Davies MJ, Schriver SD, Lauterio TJ, Prewitt RL.** Oxidative stress in a rat model of obesity-induced hypertension. *Hypertension*, 37:554 –560, 2001.
- 15) **Smith AD, Brands MW, Wang MH, Dorrance AM.** Obesity-induced hypertension develops in young rats independently of the renin-angiotensin-aldosterone system. *Exp Biol Med (Maywood)*, 231: 282–287, 2006.
- 16) **Elliott SS, Keim NL, Stern JS, Teff K, Havel PJ.** Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr* 76: 911–922, 2002.

17) **Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM.** Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 10: 512–516, 1987.

18) **Laura G. Sa´nchez-Lozada, Edilia Tapia, Adriana Jimenez, Pablo Bautista, Magdalena Cristobal, Tom´as Nepomuceno, Virgilia Soto, Carmen ´vila-Casado, Takahiko Nakagawa, Richard J. Johnson, Jaime Herrera-Acosta, and Martha Franco.** Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 292: F423–F429, 2007.

19) **Balkau B, Valensi P, Eschwege E, Slama G.** A review of the metabolic syndrome 33: (2007) 405-413

20) **Ando K, Fujita T.** Metabolic syndrome and oxidative stress 47 (2009) 213–218

21) **World Health Organisation.** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO consultation. 1999.

22) **Canpion J, Milagro FI, Martinez JA.** Individuality and epigenetics in obesity. *Obez Rev.* 2009;10:383-92.

23) **Sarafidis PA, Nilsson PM.** The metabolic syndrome: A glance at its history. *J hypertens* 2006;24:621-626.

24) **Reaven GM.** The fourth musketeer - from Alexandre Dumas to Claude Bernard. *Diabetologia* 1995;38:3–13.

25) **Balkau B, Charles MA.** Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med* 1999;16:442–3.

26) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the **National Cholesterol Education Program (NCEP)** expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486–97.

27) **Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y,** et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract* 2003;9:237–52

28) **Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA**, et al. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome. An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005;112:2735–52.

29) **Despres JP** Abdominal obesity as important component of insulin-resistance syndrome. *Nutrition* 1993;9:452–459

30) **International Diabetes Federation**. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome (http://www.idf.org/webdata/docs/Metac_syndrome_def.pdf)

31) **Park YW, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR, Heymsfield SB** The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *Arch Intern Me* 2003;163:427–436

32) **Flegal KM, Carroll MD, Kuczmarski RJ, Johnson CL** Overweight and obesity in the United States: prevalence and trends, 1960–1994. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998;22:39–47

33) **Mokdad AH, Bowman BA, Ford ES, Vinicor F, Marks JS, Koplan JP** The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *JAMA* 2001;286:1195–1200

34) **Wolf Maier K, Cooper RS, Banegas JR, Giampaoli S, Hense HW, Joffres M**, et al. Hypertension prevalence and blood pressure levels in 6 European countries, Canada, and the United States. JAMA 2003;289: 2363–9

35) **Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC , Steig AJ, Stob NR, Pelt R, Wang H , Eckel M**. The Metabolic Syndrome 29(7):777–822

36) **Kozan Ö, Oğuz A, Erol Ç, Şenocak M, Öngen Z, Çelik Ş**, et al. Türkiye Metabolik Sendrom Sıklığı Araştırması (Metsar): Amaç ve Protokol. MN-Kardiyoloji Dergisi 2003;10(4): 251-258.

37) **Çizmecioğlu F, Özcan A, Kalaça S, Hatun Ş**. Çocukluk çağında metabolik sendrom sıklığı ve risk faktörleri. IX. Ulusal Pediatrik Endokrinoloji ve Diyabet Kongresi 27-30 Eylül 2004, Malatya. Kongre kitapçığı, s. 307.

38) **McNeill AM, Rosamond WD, Girman CJ**, et al. The metabolic syndrome and 11-year risk of incident cardiovascular disease in the Atherosclerosis Risk in Communities study. Diabetes Care 2005; 28:385–390.

39) **National Cholesterol Education Program** Third report of the (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Final Report. *Circulation* 2002;106:3143–3421

40) **Miranda P, DeFronzo R, Califf R, MD, Guyton J.** Metabolic syndrome: Definition, pathophysiology, and mechanisms 10.1016/j.ahj.2004.07.013

41) **Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P,** et al. Relation of high TG-low HDL cholesterol and LDL cholesterol to the incidence of ischemic heart disease. An 8-year follow-up in the Copenhagen Male Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:1114 - 20.

42) **Jonk AM, Houben, AJ, de Jongh RT, Serne EH, Schaper NC And Stehouwer CD.** Microvascular dysfunction in obesity: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension. *Physiology (Bethesda)* 2007;22, 252-260.

43) **Reaven GM.** Insulin resistance, compensatory hyperinsulinemia, and coronary heart disease: syndrome X revisited. In *Handbook of Physiology, Section 7 The Endocrine System, Vol. II The Endocrine Pancreas and Regulation of Metabolism.* LS Jefferson, AD Cherrington, (eds). New York, Oxford University Press, 2001, pp. 1169-1197.

44) **Flakoll PJ, Jensen MD, Cherrington AD.** Physiological action of insulin. In *Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text*. D LeRoith, SI Taylor, JM Olefasky (eds). Philadelphia, Lippincott, Williams and Wilkins, 2004, pp. 165-181.

45) **Kim, J. A., Montagnani, M., Koh, K. K. and Quon, M. J.** Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* 2006;113, 1888-1904.

46) **Reaven GM.** Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev* 1995; 75: 473-486.

47) **Reaven GM.** Insulin resistance and its consequences. In *Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text*. D LeRoith, SI Taylor, JM Olefasky (eds). Philadelphia, Lippincott, Williams and Wilkins, 2004, pp. 899-915.

48) **Low Wang C, Goalstone ML, Draznin B.** Molecular mechanisms of insulin resistance that impact cardiovascular biology. *Diabetes* 2004; 53: 2735-2740.

- 49) **Gupta A, Gupta V.** Metabolic syndrome: What are the risks for humans? Department of Physiology, Chhatrapati Sahuji Maharaj Medical University, Lucknow, India. 2010; 4(5):204-212.
- 50) **Paul L. Huang:** A comprehensive definition for metabolic syndrome, *Disease Models & Mechanisms* 2, 231-237 2009doi:10.1242/dmm.001180
- 51) **Eckel RH.** Lipoprotein Lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N Eng J Med* 1989; 320: 1060-68.
- 52) **Jensen MD, Caruso M, Heiling V, Miles JM.** Insulin regulation of lipolysis in nondiabetic and IDDM subjects *Diabetes*. 1989; 38: 1595-601.
- 53) **Abate N, Garg A, Peshock RM,** et al. Relationship of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men with NIDDM. *Diabetes*. 1996;45:1684–1693.
- 54) **Pouliot MC, Despres JP, Nadeau A,** et al. Visceral obesity in men. Associations with glucose tolerance, plasma insulin, and lipoprotein levels. *Diabetes*. 1992;41:826– 834.

55) **Ross R, Aru J, Freeman J**, et al. Abdominal adiposity and insulin resistance in obese men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;282:E657–E663.

56) **Nielsen S, Guo Z, Johnson CM**, et al. Splanchnic lipolysis in human obesity. *J Clin Invest.* 2004;113:1582–1588.

57) **Havel RJ, Kane JP, Balasse EO**, et al. Splanchnic metabolism of free fatty acids and production of triglycerides of very low density lipoproteins in normotriglyceridemic and hypertriglyceridemic humans. *J Clin Invest.* 1970;49: 2017–2035.

58) **Shulman GI.** Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000;106:171–176.

59) **Baykan M.** Hiperlipidemise statinler. *Türkiye Klinikleri Kardiyoloji* 2006;2/7:57 65.

60) **The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group.** Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med* 1998; 339:1349-57.

61) **Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo Jr J, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright Jr JT, Roccella EJ**, National Heart Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003;289:2560–2572

62) **Tran TL, Yuen VG, McNeill JH**. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension *Mol Cell Biochem* 2009;332:145-159

63) **Sowers JR, Fronlich ED**. Insulin and insulin resistance: impact on blood pressure and cardiovascular disease. *Med Clin North Am* 2004; 88: 63-82.

64) **Rahmouni K, Correia MLG, Haynes WG, Mark AL**. Obesity-associated hypertension- new insights into mechanisms. *Hypertension* 2005; 45: 9-14.

65) **Fujita, T**. Insulin resistance and salt-sensitive hypertension in metabolic syndrome. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2007;22:3102–3107;

66) **Fujita, T.** Aldosterone in salt-sensitive hypertension and metabolic syndrome. *J. Mol. Med.* 2008;86:729–734;.

67) **Ferrannini E, Buzzigoli G, Bonadonna R,** et al. Insulin resistance in essential hypertension. *N Engl J Med.* 1987;317:350–357.

68) **Tripathy D, Mohanty P, Dhindsa S,** et al. Elevation of free fatty acids induces inflammation and impairs vascular reactivity in healthy subjects. *Diabetes.* 2003;52:2882–2887.

69) **Steinberg HO, Brechtel G, Johnson A,** et al. Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J Clin Invest.* 1994;94:1172–1179.

70) **DeFronzo RA, Cooke CR, Andres R,** et al. The effect of insulin on renal handling of sodium, potassium, calcium, and phosphate in man. *J Clin Invest.* 1975;55: 845–855.

71) **Tooke JE, Hannemann MM.** Adverse endothelial function and the insulin resistance syndrome. *J Intern Med.* 2000; 247:425–431.

72) **Barbato A, Cappuccio FP, Folkerd EJ,** et al. Metabolic syndrome and renal sodium handling in three ethnic groups living in England. *Diabetologia.* 2004;47:40–46.

73) **Cury DL** Effects of mannose and fructose on the synthesis and secretion of insulin. *Pancreas* 1989;4:2-9

74) **Ganda OP, Soeldner JS, Gleason RE, Cleator IG, Reynolds C.** Metabolic effects on glucose, mannose, galactose, and fructose in man. *J.Clin Endocrinol Metab* 1979;49:616-212

75) **Teff KL, Elliot SS, Tschop M, Keiffer TJ, Rader D, Heinman M, Townsend RR, Keim NL, D'Allesio D, Havel PJ.** Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerids in women. *J.Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2963-2972

76) **Rattigen S, Clark MG, Barrett EJ.** Acute vasoconstriction-induced insulin resistance in rat muscle in vivo. *Diabetes* 1999;48:564-569

77) **DeFronzo RA** Insulin resistance, hyperinsulinemia, and coronary artery disease: a complex metabolic web. *J.Cardiovasc Pharmacol* 20(Suppl 11) 1992;S1-S16

78) **Bhanot S, McNeill JH.** Insulin and hypertension: a casual relationship? *Cardiovasc Res* 1996;212-221

79) **Guerrero-Romero F, Rodriguez-Mora`n M.** Hypomagnesemia, oxidative stress, inflammation and metabolic syndrome. *Diabetes Metab Res Rev* 2006;22:471e6.

80) **King RA, Rotter JI, Motulsky AG.** *The Genetic Basis of Common Disease.* Oxford University Press; New York: 2002.

81) **Muoio DM, Newgard CB.** Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2008;9:193–205. [PubMed: 18200017]

82) **Orho-Melander M,** et al. A common missense variant in the glucokinase regulatory protein gene (GCKR) is associated with increased plasma triglyceride and c-reactive protein but lower fasting glucose concentrations. *Diabetes* Aug;2008 410.2337/db08-0516

83) **Grundy SM.** Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 629-636.

84) **Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ.** The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2006; 33: 351-375.

85) **Alberti KG, Zimmet P, Shaw J.** The metabolic syndrome – a new worldwide definition. IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. *Lancet* 2005; 366: 1059-1062.

86) **Ascaso J, Gonzalez Santos P, Hernandez MA,** et al. Management of dyslipidemia in the metabolic syndrome: recommendations of the Spanish HDL-Forum. *Am J Cardiovasc Drugs* 2007; 7: 39-42.

87) **Bakris GL.** Current perspectives on hypertension and metabolic syndrome. *J Manag Care Pharm* 2007; 13: S3-S5.

88) **Türk Kardiyoloji Derneği;** Koroner kalp hastalığı koruma ve tedavi kılavuzu. 2002.

89) **Hallfrisch J.** Metabolic effects of dietary fructose. *FASEB* 1990;J 4: 2652–2660.

90) **Mehta N, Reilly P.** Mechanisms of the metabolic syndrome. DOI 10.1016 2004.09.010

91) **Vincent, H. K.; Taylor, A. G.** Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int. J. Obes.* 2006;30:400–418;.

92) **Hopps E, Noto D, Caimi G, Averna M.** A novel component of the metabolic syndrome: The oxidative stress 2010;20, 72e77

93) **Furukawa S, Fujita K, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al.** Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004;114:1752e61.

94) **Dalle-Donne I, Aldini G, Carini M, Colombo R, Rossi R, Milzani A.** Protein carbonylation, cellular dysfunction and disease progression. *J Cell Mol Med* 2006;2:389e406.

95) **Sayre LM, Lin D, Yuan Q, Zhu X, Tang X.** Protein adducts generated from products of lipid oxidation: focus on HNE and ONE. *Drug Metab Rev* 2006;38:651e75.

96) **Aldini G, Dalle-Donne I, Facino RM, Milzani A, Carini M.** Intervention strategies to inhibit protein carbonylation by lipoxidation-derived reactive carbonyls. *Med Res Rev* 2007;27: 817e68.

97) **Reaven GM.** The metabolic syndrome: requiescat in pace. *Clin Chem* 2005; 51:931–938.

98) **Virtanen K, Iozzo P, Hallsten K, et al.** Increased fat mass compensates for insulin resistance in abdominal obesity and type2 diabetes:a positron-emitting tomography study.*Diabetes* 2005;54:2720-26

99) **Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr.** Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112:1796–1808.

100) **Erdos B., Cudykier I., Woods M, Basgut B, Whidden M.A., Tawil R, Cardounel A.J., Tumer N.** (2010). “Hypertensive effects of central angiotensin II infusion and restraint stress are reduced with age.” *Journal of Hypertension*, **28**(6):1298-1306.

101) **Basgut B, Woods M.E., Cudykier I., Whidden M.A., Rodriguez M., Erdos B., Tumer N. (2009).** “The role of central AT1 receptors in age related changes of hypothalamic redox signaling and adrenomedullary tyrosine hydroxylase expression.” *Experimental Biology*, New Orleans, Louisiana, U.S.A. 18 April-22 April 2009, *FASEB Journal*, Apr. Vol. 23 (Meeting Abstracts), (606.8).

102) **Erdos B, Kirichenko N, Whidden M, Basgut B, Woods M, Cudykier I, Tawil R, Scarpace PJ, Tumer N.** Effect of age on high-fat diet-induced hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011 July; 301(1):H164-72

10. TEŞEKKÜR

Başta değerli tez danışmanım; *Öğr.Gör.Dr.Bilgen BAŞGUT* olmak üzere;

Değerli hocalarım; *Prof.Dr. Nurettin ABACIOĞLU*

Prof.Dr. Tanju ÖZÇELİKAY

Prof.Dr. Fatma AKAR

Prof.Dr. Mustafa ARK

Doç.Dr. Nilüfer TURAN

Yrd.Doç.Dr. Orhan ULUDAĞ

Değerli arkadaşlarım; *Uzm.Ecz. Sevtap HAN*

Uzm.Ecz. Aysun ÖZDEMİR

Ecz. Nur Banu UZUN

Ecz. Onur Gökhan YILDIRIM

Ecz. Merve AYDIN

Vet. Hekim Ayşe DEMİREL

Ve hayattaki en kıymetli varlığım sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Saygılarımla;

Ecz. Bora PALABIYIK

11. ÖZGEÇMİŞ

Ecz. Bora PALABIYIK

Kütahya - 06.01.1981

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi

İş tel: 312 305 12 82 (123) Gsm: 506 460 00 77

eczborahotmail.com

EĞİTİM :

2009-2011 : Gazi Üni.Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD(Yüksek Lisans)

1998-2002 : Gazi Üni. Eczacılık Fakültesi (Lisans)

1994-1998 : Kütahya Süper Lisesi

İŞ DENEYİMLERİ :

2009 – Hacettepe Tıp Fak Hast.

2009 – Acıbadem Maslak Hastanesi

2008 -- Acıbadem Bursa Hastanesi

2004 - 2007 – Bora Eczanesi / Kütahya

EĞİTİM VE SEMİNERLER :

- Türk Eczacılar Birliği Eğitim Akademisi Eğitimleri (2008-2009);
(Endokrin Hastalıkları, Klinik Eczacılık,
Enfeksiyon Hastalıkları, Dermokozmetik)
- Simeks (Pyxis ilaç otomasyon sistemi eğitimi 2009)
- Tübitak / Tüside Eğitim Merkezi 2010 (Kişisel gelişim eğitimi)
- TFD 2011 Kuşaklar arası etkileşim semineri Sarıkamış
- International Symposium NACDD 2011 Ankara

ÜYE OLUNAN DERNEK VE ODALAR : Türk Eczacılar Birliği, Ankara
Eczacı Odası