



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**YÜKSEK FRUKTOZLA BESLENEN RATLARDA
KUERSETİNİN KARACİĞER FGF21
İFADELENMESİ VE PGC1 α DÜZEYİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

KARDELEN KOCAMAN

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KASIM 2019



**YÜKSEK FRUKTOZLA BESLENEN RATLARDA
KUERSETİNİN KARACİĞER FGF21 İFADELENMESİ VE
PGC1 α DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Kardelen KOCAMAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KASIM 2019

Kardelen KOCAMAN tarafından hazırlanan “YÜKSEK FRUKTOZLA BESLENEN RATLARDA KUERSETİNİN KARACİĞER FGF21 İFADELENMESİ VE PGC1 α DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİLERİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Canan YILMAZ

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Başkan: Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Üye: Doç. Dr. Fatih BAKIR

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Lokman Hekim Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Tez Savunma Tarihi: 26/11/2019

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.


Kardelen Kocaman

26/11/2019

YÜKSEK FRUKTOZLA BESLENEN RATLARDA KUERSETİNİN KARACİĞER FGF21 İFADELENMESİ VE PGC1 α DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Kardelen KOCAMAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kasım 2019

ÖZET

Fruktozun esas kaynağı günümüzde şekerli içecekler ve hazır gıdaların üretiminde tatlandırıcı olarak kullanılan yüksek fruktoz içeren mısır şurubudur. Metabolik Sendrom'un(MetS) tedavi hedeflerinin başında, insülin direncine neden olan risk faktörlerinin yaşam şekli değişiklikleri ile kontrol altına alınması ve sağlıklı beslenme gelmektedir. Kuersetinin ile yapılan çalışmalarda MetS ve komplikasyonlarının azaldığı, insülin duyarlılığının arttığı ve glukoz düzeylerinde iyileşme sağlandığı tespit edilmiştir. Glukoz homeostazisi, insülin duyarlılığı ve enerji homeostazisinin önemli bir metabolik regülatörü olan fibroblast growth factor 21 (FGF21) ve hücrel enerji metabolizmasının düzenlenmesinde merkezi bir rol oynayan peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 alpha'nın (PGC1 α) hepatik gen ekspresyonlarının artışının fruktoz diyeti uygulanan ratlarda fruktozun negatif etkilerini ortadan kaldırdığı rapor edilmiştir. Araştırmamızın temel amacı fruktoz diyetiyle beslenen ratlarda kuersetinin karaciğer FGF21 ve PGC1 α düzeyi ve ekspresyonu üzerine etkilerini, buna bağlı olarak MetS bileşenleri üzerindeki koruyucu ve tedavi edici rolünü incelemektir. Bu doğrultuda, sprague dawley türü 24 adet rat; kontrol, fruktoz, kuersetin, fruktoz+kuersetin olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. (n=6). 10 haftalık deney sürecinde, kuersetin günlük 15 mg/kg dozda ve oral gavaj yoluyla, fruktoz ise %20 oranında içme suyu içinde uygulanmıştır. Tüm grupların kan basınçları ve ağırlıkları ölçülüp kaydedilmiştir. 10. haftanın sonunda, kan ve karaciğer dokusu örnekleri alınmıştır. Elde edilen serumlarda, serum insülin, glukoz ve trigliserit, total kolesterol, HDL ve VLDL kolesterol seviyeleri tayin edilmiştir. İnsülin direnci HOMA-IR formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Karaciğer dokusu PGC1 α ve FGF21 düzeyleri ile PGC1 α ve FGF21 gen ifadesi tayin edilmiştir. Çalışmamızda fruktoz ile başarılı bir şekilde metabolik sendrom kriterleri oluşturulmuştur. Kuersetinin tek başına ve fruktozlu gruplara verilmesiyle olumlu etkileri gözlemlenmiş, metabolik sendrom kriterlerinde iyileşme sağladığı, ortaya konmuştur. Fruktoz ile oluşan azalmış karaciğer FGF21 ve PGC1 α düzeylerini ve mRNA ekspresyonlarını arttırdığı gözlenmiştir. Çalışmamızın sonuçları 10 haftalık 15 mg/kg kuersetin uygulamasının fruktoz aracılıklı MetS modelinde lipid ve karbonhidrat metabolizmasında yararlı olacağı ve bu dozda olan etkilerinin uzun süre kullanımda daha da etkili olabileceğini düşündürmektedir. Doz artırıldığında FGF21 ve PGC1 α mRNA indüksiyonu etkisiyle serum glukoz, trigliserid ve insülin direncinde pozitif etkilerinin görülebileceğini, olumlu etkileri nedeniyle tedavide kullanılabileceğini göstermektedir.

Bilim Kodu : 1010.1
Anahtar Kelimeler : Fruktoz, Kuersetin, FGF21, PGC1 α
Sayfa Adedi : 106
Danışman : Doç. Dr. Canan YILMAZ

THE EFFECTS OF QUERCETIN ON LIVER FGF21 EXPRESSION AND PGC1 α
LEVEL IN HIGH FRUCTOSE FED RATS

(M. Sc. Thesis)

Kardelen KOCAMAN

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

November 2019

ABSTRACT

The main source of fructose is high-fructose-containing corn syrup, which is now used as a sweetener in the production of sugary drinks and prepared foods. Metabolic Syndrome (MetS) is one of the main goals of the treatment of insulin resistance, risk factors that lead to the control of life style changes and healthy nutrition. In studies with quercetin, it was found that MetS and its complications decreased, insulin sensitivity increased and glucose levels improved. Fibroblast growth factor 21 (FGF21), an important metabolic regulator of glucose homeostasis, insulin sensitivity and energy homeostasis, and the increase in hepatic gene expression of peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 alpha (PGC1 α), which play a central role in the regulation of cellular energy metabolism. It has been reported that these genes eliminates the negative effects of the fructose in fructose-treated rats. The main aim of this study was to investigate the effects of quercetin on liver FGF21 and PGC1 α levels and expression and its protective and therapeutic role on MetS components in fructose-fed rats. Accordingly, 24 Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups (n = 6) as control, fructose, quercetin, fructose + quercetin. During the 10-week experimental period, quercetin was administered by oral gavage at a daily dose of 15 mg / kg, while fructose was administered in 20% drinking water. Blood pressures and weights of all groups were measured and recorded. At the end of the 10th week, blood and liver tissue samples were taken. Serum insulin, glucose and triglyceride, total cholesterol, HDL and VLDL cholesterol levels were determined. Insulin resistance was calculated using the HOMA-IR formula. Liver tissue PGC1 α and FGF21 levels and PGC1 α and FGF21 gene expression were determined. In our study, criteria for metabolic syndrome were successfully established with fructose. It has been observed that quercetin alone and in combination with fructose has positive effects and it has been shown to improve metabolic syndrome criteria. Fructose-induced decreased liver FGF21 and PGC1 α levels and mRNA expression was observed to increase. The results of our study suggest that the use of 15 mg / kg quercetin for 10 weeks will be beneficial in lipid and carbohydrate metabolism in the fructose-mediated MetS model and the effects of this dose may be more effective in long-term use. When the dose is increased, it shows that FGF21 and PGC1 α mRNA induction may have positive effects on serum glucose, triglyceride and insulin resistance and can be used in treatment because of its positive effects.

Science Code : 1010.1
Key Words : Fructose, Quercetin, FGF21, PGC1 α
Page Number : 106
Advisor : Assoc. Prof. Dr. Canan YILMAZ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışma sürecimin başlangıcından tamamlanmasına kadar her konuda bana yol gösteren, yoğun iş temposu arasında çok değerli vakitlerini ayırarak tezimin oluşturulmasında, yürütülmesinde ve değerlendirilmesinde bana destek ve yardımlarını esirgemeyen, akademik kariyerime başladığım günden beri tecrübeleriyle bana ışık tutan tez danışmanım kıymetli hocam Doç. Dr. Canan YILMAZ'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince olumlu ve yapıcı eleştirileriyle, mesleki bilgi ve tecrübelerinden yararlanmama fırsat veren Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı'ndaki tüm değerli hocalarıma,

Tezimin her aşamasında yardımlarıyla yanımda olan canım arkadaşım Arş. Gör. Dr. Belkıs NARLI'ya, tez çalışmamı yürütebilmek için destek veren Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı personeline, tezimin deneysel çalışmalarını gerçekleştirmemde bana yardımcı olan Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi (GÜDAM) personeline, laboratuvar çalışmalarına sağladığı katkılarından dolayı başta Prof. Dr. Sefa ÇELİK ve Öğr. Gör. Serkan ŞEN olmak üzere Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı personeline ve Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü hocası Doç. Dr. Ömer HAZMAN'a,

Tez çalışma sürecimin ilerlemesi için gerek duyduğum izin konusunda hoşgörü ve desteklerini esirgemeyen Lokman Hekim Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı'ndaki değerli hocalarım Prof. Dr. Metin YILDIRIMKAYA, Prof. Dr. Eşref Edip KEHA ve Doç. Dr. Fatih BAKIR'a; çalışmalarım boyunca manevi olarak beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan Lokman Hekim Üniversitesi Tıp Fakültesi'ndeki araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Son olarak, hayatımın her evresinde varlıklarıyla daima umut kaynağım olan ve her zaman olduğu gibi bu süreçte de stresimi, heyecanımı ve sevincimi paylaşan, sevgi ve hoşgörülerini esirgemeyen değerli annem Arzu KOCAMAN ve değerli babam İsrail KOCAMAN'a, ayrıca bu süreçteki en büyük motivasyon ve huzur kaynağım olan; desteğini, sevgisini ve bana olan güvenini hiç eksik etmeyen, varlığı ile yükümü hafifleten ömürlük yol arkadaşım İskender KALKAN'a SONSUZ TEŞEKKÜRLER...

Arş. Gör. Kardelen KOCAMAN

Kasım 2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Metabolik Sendrom Tanımı ve Tarihçesi.....	3
2.1.1. Metabolik sendromun epidemiyolojisi	3
2.1.2. Metabolik sendromun patofizyolojisi	5
2.1.3. Metabolik sendrom tanı kriterleri	5
2.2. Fruktoz ve Metabolik Sendrom.....	7
2.2.1. Fruktoz metabolizması	9
2.2.2. Fruktozun dislipidemi ve insülin direnci üzerine etkisi	11
2.2.3. Fruktozun hipertansif etkileri	13
2.2.4. Deneysel metabolik sendrom modeli oluşturmada rat soyunun ve fruktoz diyetinin önemi	14
2.3. Kuersetin ve Metabolik Sendrom	16
2.3.1. Kuersetinin yapısı ve diyetel kaynakları.....	17
2.3.2. Kuersetin ve kardiyovasküler hastalıklar	18
2.3.3. Kuersetin ve kanser	19
2.4. Fibroblast Büyüme Faktörleri	20

	Sayfa
2.4.1. Fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF21)	20
2.4.2. Fibroblast büyüme faktörü 21 sinyal mekanizması.....	20
2.4.3. Fibroblast büyüme faktörü 21 üretimi ve düzenlenmesi	21
2.5. Peroksizom Proliferatör Aktifleştirici Reseptör γ Koaktivatör-1 α (PGC1 α).....	34
2.5.1. PGC1 α ve glukoz metabolizması	35
2.5.2. PGC1 α ve tip 2 diyabet	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. Hayvanlar ve Diyet	41
3.2. Kimyasallar	41
3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	42
3.4. Yöntemler.....	42
3.4.1. Vücut ağırlığının tespiti ve sistolik kan basıncının ölçülmesi.....	42
3.4.2. Obezite indeksi	43
3.4.3. Serum glukoz ve lipid düzeylerinin belirlenmesi	44
3.4.4. Serum insulin ve HOMA-IR düzeylerinin belirlenmesi.....	44
3.4.5. Karaciğer doku örneklerinin homojenize edilmesi.....	45
3.4.6. Karaciğer doku homojenatlarında protein tayini	45
3.4.7. Karaciğer dokusu fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF21) düzeyleri ölçümü.....	47
3.4.8. Karaciğer dokusu peroksizom proliferatör aktifleştirici reseptör gama koaktivatör-1 α (PGC1 α) düzeyleri ölçümü.....	50
3.4.9. RNA izolasyonu ve real time RT-QPCR ile mRNA ekspresyon analizleri	53
3.5. İstatistiksel Analiz.....	55
4. BULGULAR	57
4.1. Vücut Ağırlıkları ve Sistolik Kan Basıncı Bulguları	57
4.2. Obezite İndeksi Bulguları	58

	Sayfa
4.3. Serum Lipit Profili Bulguları	58
4.4. Serum Glukoz, İnsülin ve HOMA-IR İndeksi Bulguları	64
4.5. Karaciğer Dokusu FGF21 ve PGC1 α Düzeyleri.....	66
4.5.1. Karaciğer dokusu FGF21 düzeyi bulguları	66
4.5.2. Karaciğer dokusu PGC1 α düzeyi bulguları	67
4.6. Real Time QRT-PCR mRNA Ekspresyon Düzeyleri	68
5. TARTIŞMA	71
6. SONUÇ	79
KAYNAKLAR	81
EKLER.....	101
EK-1. Etik Kurul Onayı	102
ÖZGEÇMİŞ	104

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Metabolik sendrom tanı ön koşulu ve tanı kriterleri (Arslan vd., 2009)	6
Çizelge 2.2. Fruktoz metabolizması.....	11
Çizelge 3.1. Deney grupları ve gruplara uygulanan işlemler.....	42
Çizelge 3.2. Doku protein tayini	46
Çizelge 3.3. FGF21 ELISA kiti içerisinde yer alan ölçüm materyalleri.....	48
Çizelge 3.4. Standart çözeltilerin hazırlanması.....	49
Çizelge 3.5. PGC1 α ELISA kiti içerisinde yer alan ölçüm materyalleri	51
Çizelge 3.6. Standart çözeltilerin hazırlanması.....	51
Çizelge 3.7. Amplifikasyon koşulları (Pineda vd., 2018 ; Zhang vd., 2007)	54
Çizelge 4.1. Grupların vücut ağırlıkları ve sistolik kan basınçları	57
Çizelge 4.2. Grupların obezite indeksi sonuçları	58
Çizelge 4.3. Serum trigliserit, total, LDL, HDL, VLDL kolesterol düzeyleri.....	59
Çizelge 4.4. Serum glukoz, insülin ve HOMA-IR düzeyleri	64
Çizelge 4.5. Karaciğer dokusu FGF21 ve PGC1 α düzeyleri	66
Çizelge 4.6. FGF21 ve PGC1 α mRNA düzeyleri (misli değişiklik*)	68

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Metabolik sendromun farklı ülkelerde yaş grupları ve cinsiyete göre dağılım	4
Şekil 2.2. Metabolik sendromun patofizyolojik yolları	5
Şekil 2.3. Fruktozun kimyasal yapısı	8
Şekil 2.4. Kuersetinin yapısı	17
Şekil 2.5. FGF21'in antidiyabetik etki gösterdiği mekanizmaların şematik genel görünümü.....	26
Şekil 2.6. Farelerde ve insanlarda fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF21) fizyolojisinin özeti	31
Şekil 3.1. İnsülin standart grafiği	45
Şekil 3.2. Doku protein standart grafiği	47
Şekil 3.3. Doku FGF21 standart grafiği	50
Şekil 3.4. Doku PGC1 α standart grafiği	53
Şekil 4.1. Grupların trigliserit düzeyleri	59
Şekil 4.2. Grupların LDL-kolesterol düzeyleri	60
Şekil 4.3. Grupların HDL-kolesterol düzeyleri.....	61
Şekil 4.4. Grupların VLDL-kolesterol düzeyleri	62
Şekil 4.5. Grupların total kolesterol düzeyleri	63
Şekil 4.6. Grupların serum glukoz düzeyleri	64
Şekil 4.7. Grupların serum insülin düzeyleri	65
Şekil 4.8. Grupların HOMA-IR düzeyleri	65
Şekil 4.9. Karaciğer FGF21 düzeyleri	66
Şekil 4.10. Karaciğer PGC1 α düzeyleri.....	67
Şekil 4.11. FGF21 mRNA ekspresyon düzeyleri.....	69
Şekil 4.12. PGC1 α mRNA ekspresyon düzeyleri	70

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Sıçanların vücut ağırlıklarının ölçülmesi.....	43
Resim 3.2. Sistolik kan basıncının ölçülmesi	43
Resim 3.3. Sıçanların burun ile anüs arası mesafe ölçümü.....	44

KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklamalar
ADA	American Diabetes Association
ADMA	Asimetrik Dimetilarginin
ADP	Adenozin Difosfat
AKT	Protein Kinaz B
ATP III	The Adult Treatment Panel III
ATP	Adenozin Trifosfat
BAT	Brown Adipose Tissue
CREB	cAMP Response Element Binding Protein
CRP	C-Reaktif Protein
Cys	Cysteine
DM	Diabetes Mellitus
ERK	The Extracellular Signal Regulated Kinase
FAD	Flavin Adenine Dinükleotid
FFA	Free Fatty Acids
FGF21	Fibroblast Growth Factor 21
FMN	Flavin Mononucleotide
GH	Growth Hormone
GLUT-4	Glucose Transporter Type 4
GSIS	Glucose Stimulated Insulin Secretion
HDL-C	High Density Lipoprotein Cholesterol
HFCS	High Fructose Corn Syrup
HOMA-IR	Homeostatic Model Assessment Insulin Resistance
HT	Hypertension
IDF	International Diabetes Federation
KAH	Koroner Arter Hastalığı
KBH	Kronik Böbrek Hastalığı
KC	Karaciğer

Kısaltmalar	Açıklamalar
KKH	Koroner Kalp Hastalığı
KO	Knockout
KVH	Kardiyovasküler Hastalıklar
LDL-C	Low Density Lipoprotein Cholesterol
LPL	Lipoprotein Lipase
MetS	Metabolik Sendrom
METSAR	Metabolik Sendrom Sıklığı Araştırması
NAD	Nicotinamide Adenine Dinucleotide
NADP	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NCEP	National Cholesterol Education Program
OGTT	Oral Glikoz Tolerans Testi
PEPCK	Phosphoenolpyruvate Carboxykinase
PGC1α	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma Coactivator-1 α
PPAR	Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör
SKB	Sistolik Kan Basıncı
SRF	Serum Response Factor
T1 DM	Tip 1 Diabetes Mellitus
T2 DM	Tip 2 Diabetes Mellitus
TEKHARF	Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri
TG	Trigliserit
Trp	Tryptophan
Tyr	Tyrosine
VFM	Visceral Fat Mass
VKİ	Vücut Kütle İndeksi
VLD-C	Very Low Density Lipoprotein Cholesterol
WAT	White Adipose Tissue
WHO	The World Health Organization

1. GİRİŞ

Metabolik sendrom başta insülin direnci olmak üzere abdominal obezite, glukoz intoleransı (tip 2 Diabetes Mellitus (DM), bozulmuş glukoz toleransı (IGT)), hiperglisemi, dislipidemi (yüksek trigliserid ve düşük HDL), hipertansiyon, koroner arter hastalığı (KAH) ile karakterize multi-faktoriyel bir hastalık olup; sendrom X, uygarlık sendromu ya da insülin direnci sendromu olarak da isimlendirilmektedir (Wang, 2011).

Genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimine bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülen MetS, dünyada giderek yaygınlaşan kardiyak ve metabolik komplikasyonları ile yüksek morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Bu sebeple tüm biyolojik sistemleri etkileyen ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir.

Metabolik sendromun başlıca sebebi tüketilen sofra şekeri (sükroz) ve yüksek fruktozlu mısır şurubundan aşırı fruktoz alımıdır. Fruktoz alımı; obezite, diyabet ve hipertansiyon ile yakından ilişkili olduğu gösterilmektedir. (Oda, 2012) İnsanlar ve deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalar, metabolik sendromun ana nedenlerinin ağırlıklı olarak fruktoz ve sükroz gibi basit şekerlerle beslenmek olduğunu göstermektedir. Fruktoz ağırlıklı beslenme; ağırlık artışına, glukoz intoleransı ve insülin direncine, hipertansiyona, metabolik dislipidemiye yol açmaktadır (Basciano, Federico, & Adeli, 2005; Havel, 2005; Hwang vd., 1987). Yüksek dozlarda fruktoz tüketimi daha yüksek kardiyometabolik risk endeksleriyle ilişkilendirilmektedir (Khan & Sievenpiper 2016).

Yenilebilir bitkilerde (meyveler, sebzeler ve otlar) ve bitki kaynaklı içeceklerde bulunan polifenol bileşiklere biyolojik etkinlikleri nedeniyle son zamanlarda yapılan araştırmalarda ilginin arttığı görülmektedir. Soğan, brokoli, çilek, kırmızı üzüm ve çay gibi sebze ve meyvelerde bulunan bitki kaynaklı bir flavonoid olan kuersetinin (3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavone) antienflamatuar ve antioksidan, antihipertansif, vazodilatör etkileri, antiobesite, antihiperkolesterolemik ve antiaterosklerotik metabolik etkileri olduğu bildirilmektedir (Boots, Haenen, & Bast, 2008; Erlund, 2004).

Literatür bilgilerinden yola çıkarak, ratlarda fruktoz uygulamasını takiben fruktoz aracılıklı metabolik sendrom modelinde, hastalığın patafizyolojisini ortaya koyarak kuersetin

uygulamasının adipositlerde güçlü bir glikoz alım aktivatörü olarak işlev gördüğü için glukoz homeostazisi, insülin duyarlılığı ve enerji homeostazının önemli metabolik bir regülatörü olan FGF21 ve hücresel enerji metabolizmasının düzenlenmesinde merkezi bir rol oynayan PGC1 α 'nın gen ekspresyonları üzerinden koruyucu ve tedavi edici etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Metabolik Sendrom Tanımı ve Tarihçesi

Dünya çapında en önemli halk sağlığı sorunlarından biri haline gelen metabolik sendrom; insülin direnci, abdominal obezite, aterojenik dislipidemi, hiperglisemi, tip II diyabet ve hipertansiyon dahil olmak üzere birbiriyle ilişkili kardiyovasküler risk faktörlerinin birlikte ortaya çıkması anlamına gelmektedir. Bu metabolik faktörler altta yatan mediyatörleri, mekanizmaları ve yolları paylaşmaktadırlar (Alberti, Zimmet & Shaw, 2005).

Metabolik sendrom fenotipi ilk olarak 1923 yılında İsveçli doktor Eskil Kylin tarafından bazı bireylerde hipertansiyon, hiperglisemi, ve hiperüriseminin birlikteliğinde tanımlanmıştır (Kylin, 1923). 1940'lı yıllarda Jean Vague, abdominal obezitenin, diyabete ve kardiyovasküler hastalığa yatkın olduğunu öne sürmüştür (Vague, 1947). 1982 yılında Kissebah ve ark. glukoz intoleransı, hipertrigliseridemi ve hiperinsülinemi için kadınlardaki üst vücut şişmanlığının önemli bir prognostik belirteç olduğunu bildirmiştir. (Kissebah vd., 1983) 1988 yılında Gerald Reaven; insülin direnci, yüksek plazma trigliseritleri, düşük HDL kolesterol seviyeleri, hiperinsülinemi ve hipertansiyon belirtileri olan kişilerde kardiyovasküler hastalık riskinin bulunduğunu ifade edebilmek için “sendrom X” tanımını önermiştir. (Reaven & Chen, 1988) Daha sonra, sendromun anahtar bileşenlerinden birinin abdominal obezite olduğuna karar verilmiştir ve sendromu tanımlamak için insülin direnci sendromu, Reaven sendromu, ölümcül dördü, dismetabolik sendrom ve kardiyometabolik sendrom gibi isimler de kullanılmıştır. 1988’de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından evrensel bir ifade önerilmiştir ve yukarıda belirtilen tüm risk faktörlerini kapsadığı için “metabolik sendrom” teriminin kullanımı kabul edilmiştir (Hannou, Haslam, McKeown & Herman, 2018).

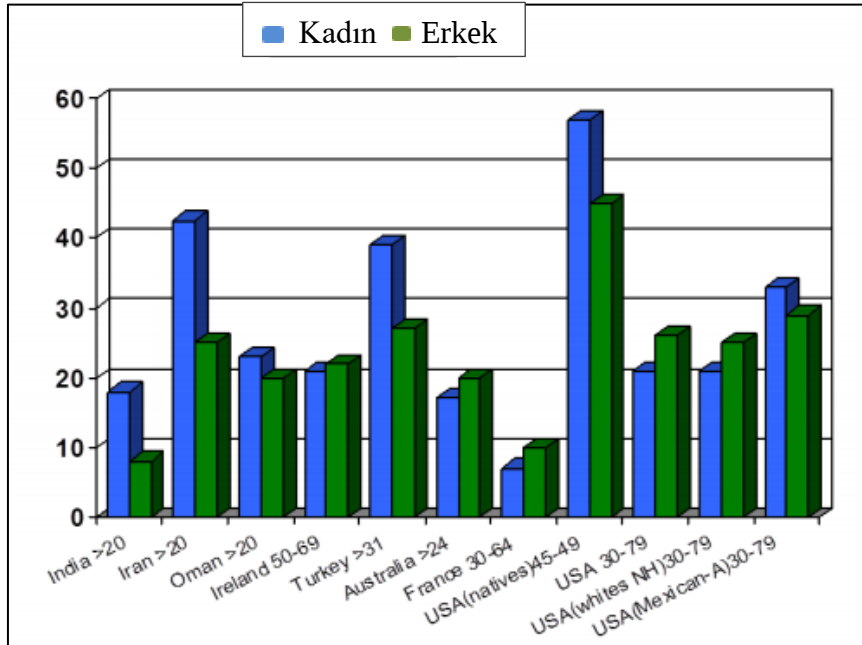
2.1.1. Metabolik sendromun epidemiyolojisi

Metabolik sendromun yaygınlığı tüm dünya ülkelerindeki insanları etkileyen önemli bir mortalite ve morbidite sebebi haline gelmiştir. Dünya çapındaki popülasyonlar arasında sendromun prevalansı karşılaştırıldığında tek tek bileşenlerinin görülme sıklığı popülasyonlar arası değiştiği gibi, metabolik sendromun kendisinin prevalansı da

değişmektedir. (Neill & Driscoll, 2015)(Şekil 2.1) Genetik faktörler, diyet, fiziksel aktivite seviyeleri, popülasyon yaşı ve cinsiyet yapısı, ırk/etnik köken, aşırı ve yetersiz beslenme düzeyleri ve vücut alışkanlıklarındaki farklılıklar, hem metabolik sendromun hem de bileşenlerinin prevalansını etkilemektedir (Saklayan, 2018).

Yaşın ilerlemesi ve vücut ağırlığının zamanla artmasıyla metabolik sendrom prevalansı yükselmektedir (Ford, Giles & Mokdad, 2004). İstatistiklere göre dünya nüfusunun yaklaşık beşte biri aşırı kiloludur, bu da gelecekteki Metabolik Sendrom prevalansı için risk faktörü olmaktadır (Onat vd., 2013).

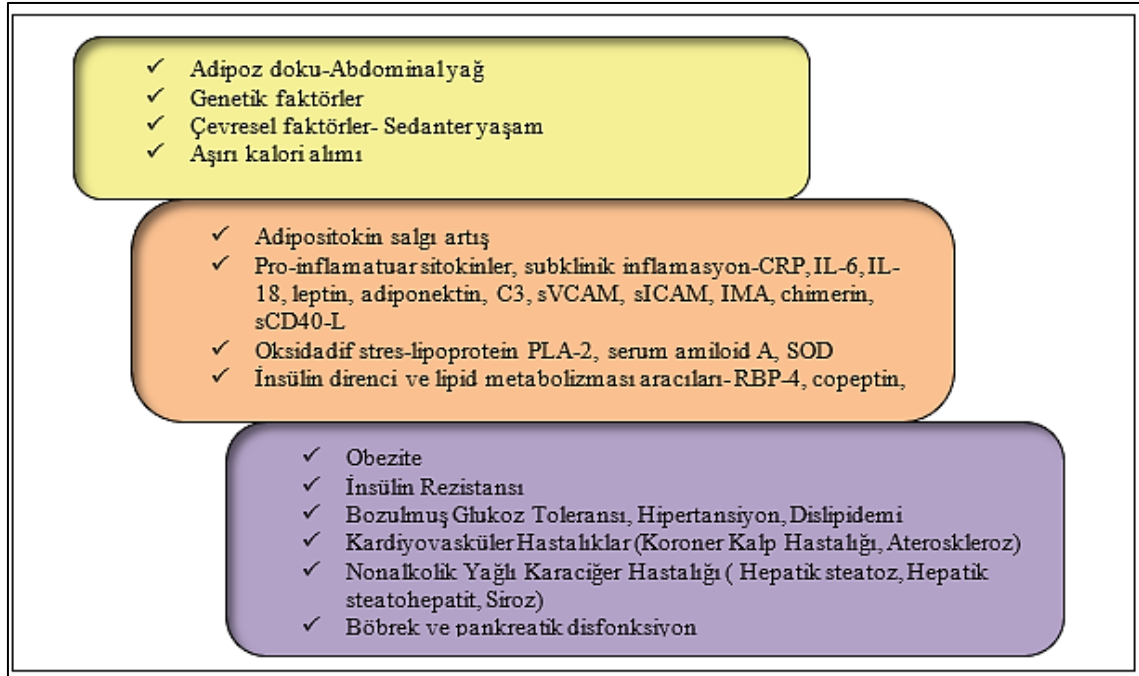
Türk Erişkinler Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması (TEKHARF) çalışması bulgularına bakıldığında MetS görülme sıklığı 3800 kişilik kohort bütününde % 49.9, kadında % 54.5 ve erkekte % 45.1 olarak açıklanmaktadır (Onat vd.,2013). TEK HARF 2017 çalışma kılavuzunda MetS prevalansının erkeklerde 40-49 yaş aralığında %44 oranında olduğu bildirilmektedir. Kadınlarda ise 30-39 aralığında %24 oranında prevalans gösterirken, 60-69 yaş aralığındaki bireylerde %56 oranına kadar çıktığı bildirilmektedir (Onat vd., 2017).



Şekil 2.1. Metabolik sendromun farklı ülkelerde yaş grupları ve cinsiyete göre dağılımı (Cameron, Shaw, & Zimmet, 2004)

2.1.2. Metabolik sendromun patofizyolojisi

Metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalık ve tip 2 diyabet riskini artıran birbiriyle ilişkili anormalliklerin (obezite, dislipidemi, hiperglisemi ve hipertansiyon) kümesini temsil etmektedir. (Alberti, Zimmet & Shaw, 2005) MetS, popülasyon daha fazla obez hale geldikçe prevalansta artış gösteren yaygın bir metabolik hastalıktır. MetS'in patogenezi, kardiyovasküler hastalıklara (CVD) yol açan son enflamasyon yoluna katkıda bulunan hem genetik hem de yüksek kalorili beslenme ve sedanter yaşam tarzı gibi kazanılmış faktörleri içermektedir (Rochlani, Pothineni, & Kovelamudi, 2017).



C3, kompleman 3; CRP, C-reaktif protein; IGF-1, İnsuline-benzer Büyüme Faktörü-1; IGFBP-3, İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3; IL-18, interlökin- 18; IL-6, interlökin-6; IMA, iskemi modifiye albumin; PLA-2, fosfolipaz A-2; RBP-4, retinol bağlayıcı protein-4; sCD40-L, çözünebilir CD40 ligand; sICAM-1, hücrelerarası adezyon molekülü-1; SOD, superoxide dismutase; sVCAM-1, çözünebilir vasküler hücre adezyon molekülü-1; ZAG, çinko- α 2-glikoprotein

Şekil 2.2. Metabolik sendromun patofizyolojik yolları (Tota-maharaj, Andrew, Blumenthal, & Blaha, 2010)

2.1.3. Metabolik sendrom tanı kriterleri

Tarihsel süreçte metabolik sendrom tanı kriterleri için farklı sınıflandırmalar yapılmıştır. 1988 yılında ilk kez, Reaven bazı kardiyovasküler risk faktörlerinin sıklıkla bir arada bulunduğunu belirtmiştir ve bu birlikteliği ifade etmek için “sendrom X” adını vermiştir (Reaven & Chen, 1988).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Ulusal Kolesterol Eğitim Programı-Erişkin Tedavi Paneli III (NCEP-ATP III), Uluslararası Diyabet Federasyonun (IDF), Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu (EGIR) ve Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği (TEMĐ) gibi çeşitli çalışma grupları tarafından MetS tanı kriterleri tanımlanmıştır (Alberti vd., 2009) (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Metabolik sendrom tanı ön koşulu ve tanı kriterleri (Arslan vd., 2009)

Çalışma Grupları	Tanı İçin Ön Koşul	Tanı Kriterleri
WHO (1999)	İnsülin rezistansı* kesin gerekli kriter ve bunu takip eden beş risk faktöründen ikisinin sağlanması gerekir.	- Hipertansiyon $\geq 140/90$ mmHg - TG ≥ 150 mg/dl ve/veya - Düşük HDL kolesterol HDL < 35 (erkek) HDL < 39 (kadın) - Bel-kalça oranı Erkeklerde > 0.90, Kadınlarda > 0.85 - BKİ > 30 kg/m² - Mikroalbuminüri
NCEP-ATP III (2005)	Mutlaka mevcut olması gereken risk faktörü yok. Beş risk faktöründen 3 tanesini sağlanması gerekmektedir.	- Hipertansiyon $\geq 130/85$ mmHg - TG ≥ 150 mg/dl - HDL < 40 (erkek) HDL < 50 (kadın) - Bel çevresi Erkeklerde ≥ 102 cm Kadınlarda ≥ 89 cm - Açlık glukozu ≥ 110 mg/dl
IDF (2005)	Abdominal Obezitenin mutlak mevcut olmalı ve dört risk faktöründen ikisinin olması gerekir.	- Hipertansiyon $\geq 130/85$ mmHg - TG ≥ 150 mg/dl - HDL < 40 (erkek) HDL < 50 (kadın) - Santral obezite Bel çevresi** Erkeklerde ≥ 94 cm Kadınlarda ≥ 80 cm - Açlık glukozu ≥ 110 mg/dl
EGIR (1999)	Hiperinsülinemi# kesin gerekli kriter ve bunu takip eden dört risk faktöründen ikisinin olması gerekir.	- Hipertansiyon $\geq 140/90$ mmHg - TG ≥ 177 mg/dl - HDL < 35 - Santral obezite Bel çevresi Erkeklerde ≥ 94 cm Kadınlarda ≥ 80 cm
TEMĐ (2009)	Bozulmuş glikoz intoleransı, insülin direnci ile birlikte risk faktörlerinden en az ikisi olmalı	- Hipertansiyon $\geq 130/85$ mmHg - TG ≥ 150 mg/dl - HDL < 40 (erkek) HDL < 50 (kadın) - Abdominal obezite BKİ > 30 kg/m² veya Bel çevresi Erkeklerde ≥ 94 cm Kadınlarda ≥ 80 cm

*: Bozulmuş glukoz toleransı, bozulmuş açlık glukozu, T2D veya insülin rezistansına dair diğer kanıtlar.

#: Plazma insülini > 75 . Percentile. Sadece T2D olmayan hastalarda geçerlidir.

** : Bel çevresi kriteri popülasyona özgüdür, değerler Avrupalı kadın ve erkek için

Türk Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışmasında 28 yaş ve üzerindeki 1683 erkek ve 1718 kadın ortalama 5.9 yıl süresince incelenmiş ve ATPIII tanımının klinik kullanım kolaylığı ve hasta popülasyonunu saptamak açısından daha uygun olduğu görülmüştür. TEKHARF modifikasyonunda bel çevresi erkeklerde ≥ 95 , kadınlarda ≥ 91 cm olarak düzenlenmiştir.

2.2. Fruktoz ve Metabolik Sendrom

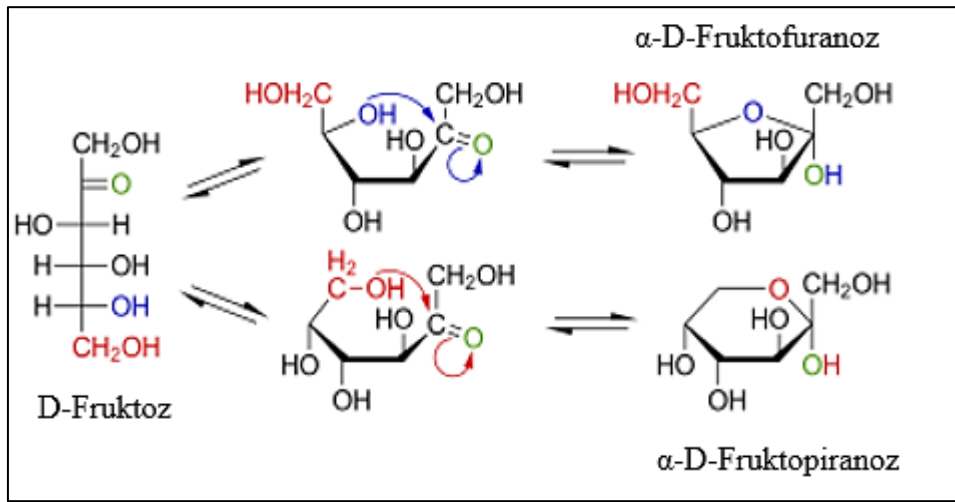
Metabolik Sendromun ana bileşenlerinden olan Tip 2 diabetes mellitus; hiperglisemi, insülin direnci ve insülin sekresyonunda bir bozulma ile karakterizedir. 19. yüzyılın sonlarında, William Osler, diyabeti; obez kişilerde ve gut hastalarında gelişmesi muhtemel nadir bir hastalık olarak nitelendirmiştir. Diyabet prevalansının ABD ve Avrupa'da her 100.000 nüfus için yaklaşık iki ila dokuz vaka olduğunu ve sonrasında daha yaygın olduğunu tahmin etmiştir. (Osler, 1895)

Amerika Birleşik Devletleri'nde önde gelen ölüm nedenlerinden biri olan diyabet dünya çapında 200 milyondan fazla insanı etkilemektedir. ABD'de yetişkinler arasında diyabet prevalansı yüzde 4,4 ila 17,9 arasında değişmektedir. (Rutledge vd., 2010) Tip 2 diyabetin etiyolojisinin belirlenmesi diyabetin önlenmesinde anahtar rol oynamaktadır. Obezite ve karın içi yağ birikimi insülin direncine neden olmaktadır. (Kahn & Flier, 2000) Çalışmalar obezite yokluğunda da tip 2 diyabet oranlarının yüksek olduğunu belgelemektedir. (Pan vd., 2004) Bu, obezitenin yanı sıra diğer risk faktörlerinin tip 2 diyabetin salgınında rol oynayabileceğini göstermektedir.

Metabolik sendromun başlıca sebebi tüketilen sofrta şekeri (sükroz) ve yüksek fruktozlu mısır şurubundan aşırı fruktoz alımıdır. Fruktoz alımı; obezite, diyabet ve hipertansiyon ile yakından ilişkili olduğu gösterilmektedir. (Oda, 2012) İnsanlar ve deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalar, metabolik sendromun ana nedenlerinin ağırlıklı olarak fruktoz ve sükroz gibi basit şekerlerle beslenmek olduğunu göstermektedir. Fruktoz ağırlıklı beslenme; ağırlık artışına, glukoz intoleransı ve insülin direncine, hipertansiyona, metabolik dislipidemiye yol açmaktadır (Hwang vd., 1987; Basciano, Federico, & Adeli, 2005; Havel, 2005). Yüksek dozlarda fruktoz tüketimi daha yüksek kardiyometabolik risk endeksleriyle ilişkilendirilmektedir (Khan & Sievenpiper, 2016).

Fruktoz meyvelerde ve balda bulunan basit bir şekerdir (Arslan & Şanlıer, 2016). Karbon iskeletinin 1. pozisyonunda aldehit grubu içeren glukozdan farklı olarak, fruktozun 2. karbonunda bir keto grubu yerleşmiştir. Glukozun izomeri olan bu molekül $C_6H_{12}O_6$ formülüne sahiptir. Fruktoz karbon iskeletine bağlı olan karbonil grubunun pozisyonuyla glukozdan farklılık göstermektedir. Karbon iskeletinin 1. pozisyonunda aldehit grubu içeren glukozdan farklı olarak, fruktozun 2. karbonunda bir keto grubu yerleşmiştir.

Fruktoz 5'li halka yapısına sahiptir ve halkalı yapısında intramoleküler hemiasetal oluşumu görülmektedir. Döngüsel formunda Furanoz halkası olarak adlandırdığımız beş üyeli bir halka oluşturmaktadır (Şekil 2.3) (Tappy & Lê, 2010; Tran, Yuen, & McNeill, 2009).



Şekil 2.3. Fruktozun kimyasal yapısı

Fruktoz serbest halde bulunabildiği gibi, glukozla Glc(α 1-2)Fru biçiminde kondensasyon yaparak şeker kamışı ve şeker pancarından elde edilen sükrozun(sakkaroz) yapısına da katılabilir. Sindirim sonrasında, sükroz bağırsakta sükras enzimi ile parçalanırken açığa çıkan fruktoz ve glikoz tekrar absorbe edilmektedir. Sakkarozun yanı sıra, diğer ana fruktoz kaynağı, 1970'lerin başında ek bir tatlandırıcı olarak sunulan yüksek fruktozlu mısır şurubudur (HFCS) (Johnson vd., 2009). HFCS, çeşitli konsantrasyonlarda karıştırılmış fruktoz ve glikozdan oluşmaktadır, en yaygın olarak Küresel Halk Sağlığı Dergisi tarafından % 55 fruktoz ve % 45 glikozdan oluştuğu bilgisi paylaşılmaktadır. (Goran vd., 2013) Amerika Birleşik Devletleri'nde, HFCS ve sükroz diyetin başlıca fruktoz kaynaklarıdır, HFCS alkolsüz içecekler, hamur işleri, tatlılar ve çeşitli işlenmiş yiyeceklerde önemli bir bileşendir (Johnson vd., 2009; Johnson vd., 2007).

2.2.1. Fruktoz metabolizması

Kimyasal yapılarındaki benzerliklere rağmen, fruktoz ve glukoz tamamen farklı şekillerde metabolize edilmektedir ve farklı GLUT taşıyıcıları kullanmaktadırlar (Zhao & Keating, 2007). Karaciğerde; fruktoz, her ikisi de yan ürünlerindeki konsantrasyonların artmasıyla inhibe edilen glukokinaz / heksokinaz ve fosfosfruktokinaz ile katalize edilen, yüksek oranda düzenlenmiş iki glikoliz aşamasını atlamaktadır. Bunun yerine, fruktoz, fruktokinaz veya ketoheksokinaz (KHK) ile fruktoz-1-fosfata metabolize edilmektedir (Şekil 2.4). Fruktoz ayrıca heksokinaz ile metabolize edilebilmektedir; fakat fruktozun Km değeri glukozdan çok daha yüksek olduğu için minimum miktarda fruktoz bu yol ile metabolize edilmektedir. (Johnson vd., 2009) Fruktokinazın negatif geri besleme sistemi yoktur ve fosforilasyon işlemi için ATP kullanılmaktadır. Sonuç olarak, fruktoz metabolizmasının devam etmesi hücre içi fosfat tükenmesi, AMP deaminazın aktivasyonu ve hücresel düzeyde zararlı olan ürik asit oluşumu ile sonuçlanmaktadır (Johnson vd., 2009; Fox, Irving & Kelley, 1972; Maenpaa, Raivio & Kekomaki, 1968).

Fruktoz-1-fosfat, daha sonra, aldolaz B'nin etkisiyle dihidroksiaseton-fosfat ve D-gliseraldehite dönüştürülmektedir. D-gliseraldehit fosforile edildikten sonra piruvat oluşturmak üzere glikoliz yolunda akış yönünde devam etmektedir. Tüm organofosfatların enerjik reaksiyonlarından ikisi, fosfoglisarat ve piruvat kinazlar tarafından katalize edilen fruktoz metabolizması yolundadır. İki ATP molekülü ve serbest enerji, yaklaşık 12 kcal/mol serbest bırakılmaktadır (Bender, 2018). Fruktoz, karaciğerdeki glikoz metabolizmasının temel enzimi olan glukokinazın aktivitesini kontrol etmektedir. Fruktoz, karaciğer glikoz alımı ve glikojen sentezi için güçlü ve akut bir regülatördür. Katalitik miktarda fruktozun bir karbonhidratlı öğüne dahil edilmesi glukoz toleransını arttırmaktadır. Bu iyileşmeye temel olarak karaciğer glikoz alımında iyileşme ile sonuçlanan hepatik glukokinazın aktivasyonu aracılık etmektedir (Khitan & Kim, 2013).

Bir fruktoz degradasyonu ürünü olan ürik asit, KHK ekspresyonunu, transkripsiyon faktörü ChREBP'nin aktivasyonu yoluyla uyarmaktadır; bu, KHK'nın transkripsiyonel aktivasyonu ile, promotörü içerisinde spesifik bir sekansa bağlanma ile sonuçlanmaktadır.(Lanaspa vd., 2012) Ürik asit, hem in vivo hem de in vitro olarak endotel NO'yu inhibe etmektedir (Khosla vd., 2005) ve doğrudan adiposit fonksiyon bozukluğunu indüklemektedir (Sautin vd., 2007) Serum ürik asit fruktoz alımından sonra hızla artmaktadır, bu da 1 saat içinde 2mg/dL'ye

kadar yükselmektedir. Kontrolsüz fruktoz metabolizması, visceral adipoz birikimini artıran postprandial hipertrigliseridemi ile sonuçlanmaktadır. Visceral adipozite, serbest yağ asitlerinin karaciğere portal verilmesini artırarak hepatik trigliserit birikimine, protein kinaz C aktivasyonuna ve hepatik insülin direncine katkıda bulunmaktadır (Havel, 2008; Baggio vd., 1977; Stirpe vd., 1970; Perheentupa & Raivio, 1967).

Bir dizi başka furanoz şekeri de KHK substratları olarak işlev görebilmektedir (Christine P Diggle vd., 2009). KHK, iki izoform olarak ifade edilmektedir: KHK-C ve KHK-A. KHK-C, öncelikle karaciğer, böbrek, pankreas ve duodenumda ifade edilirken, KHK-A, yağ dokusu, kalp ve adrenal bezi de dahil olmak üzere daha yaygın olarak eksprese edilmektedir. KHK-A'nın kesin biyolojik işlevi bilinmemektedir. KHK-A, fruktoz için (7mmol / L) olarak KHK-C'ye (0.8 mmol/L) göre daha yüksek bir Km değerine sahiptir, bu da fizyolojik konsantrasyonlarda fruktozu zayıf bir şekilde fosforile ettiğini göstermektedir (Asipu, Hayward, Reilly, & Bonthron, 2003). Yapılan son çalışmalarda, her iki KHK izoformu bulunmayan farelerde adipozite ve metabolik sendromun önlendiği, ancak KHK-A bulunmayan farelerde bu önlemenin daha şiddetli olduğu tespit edilmiştir (Ishimoto & Lanaspa, 2012). Ayrıca sıçanlarda normal büyüme ve gelişme için KHK izoformunun gerekli olmadığı da gösterilmiştir (Diggle vd., 2010). Serum leptin, trigliserit ve açlık kan glukoz seviyeleri, dört haftalık yüksek fruktoz diyeti uygulanan insanlarda, nişasta bazlı diyet uygulanan kişilere göre daha yüksek bulunmuştur (Le vd., 2006).

sürece, kan şekeri seviyeleri sağlıklı aralıkta kalmaktadır (Korkmaz, 2012; Miller & Adeli, 2008).

Uzun süre fruktoz içerikli diyet uygulaması, hiperinsülinemi, insülin direnci ve glukoz dengesinde bozulma ile sonuçlanmaktadır. Denesel araştırmalarda kas, karaciğer ve yağ dokusunun yanı sıra, bağırsak ve kalpte de fruktoz nedeniyle insülinin etkisinin azaldığı gösterilmektedir (Borgman & McErlan, 2006; Le & Tappy, 2006).

Dislipidemi, kandaki lipit düzeyinin anormal olması durumunda ortaya çıkmaktadır. En yaygın dislipidemi formları şunları içermektedir:

- yüksek seviyeli düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL) veya kötü kolesterol
- düşük seviyeli yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL) veya iyi kolesterol
- yüksek trigliserit seviyeleri
- yüksek LDL ve trigliserit seviyelerini ifade eden yüksek kolesterol

Fruktoz tüketiminden kaynaklanan en erken metabolik bozulma; visceral adipoz birikimini artıran postprandial hipertrigliseridemidir. Visceral adipozite, serbest yağ asitlerinin karaciğere portal verilmesini artırarak hepatik trigliserit birikimine, protein kinaz C aktivasyonuna ve hepatik insülin direncine katkıda bulunmaktadır. İnsülin direnci ile, VLDL üretimi yeniden düzenlenmekte ve bu, sistemik serbest yağ asitleri ile birlikte, kaslara lipit iletimini arttırmaktadır. Fruktozun visceral adipozite ve serbest yağ asidi dağıtımından bağımsız olarak hepatik insülin direncini başlatması da mümkün olmaktadır (Stanhope & Havel, 2008).

Splanknik perfüzyon çalışmaları, trigliseritlerin hepatik üretiminin ekimolar glukoz konsantrasyonlarına kıyasla fruktoz ile çok daha fazla olduğunu göstermektedir (Wolfe & Ahuja, 1977). Glukozun aksine, fruktoz, hepatik metabolizması ve pankreas β hücrelerinde fruktoz taşıyıcı GLUT5'in ekspresyonunun düşük olması nedeniyle insülin sekresyonunu uyarmamaktadır (Sato vd., 1996). Fruktozla tatlandırılmış içeceklerin öğünlerle tüketilmesi, glukozla tatlandırılmış içeceklere kıyasla hızlı ve uzun süreli plazma trigliseritlerinin yükselmesine neden olmaktadır. İnsülin, leptin ve ghrelin, uzun süreli enerji dengesinin düzenlenmesi sırasında merkezi sinir sistemine anahtar sinyaller gönderme işlevi

gördüğünden, fruktoz oranı yüksek diyetlerin kronik tüketimi sırasında, dolaşımdaki insülin ve leptinin azalması, ghrelin konsantrasyonlarının artması kalori alımında artışa neden olmakta ve sonuçta kilo alımına ve obeziteye katkıda bulunmaktadır (Kimber L Stanhope & Havel, 2008).

2.2.3. Fruktozun hipertansif etkileri

Fruktoz kaynaklı hipertansiyon mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır. Araştırmalar, yüksek fruktoz alımına bağlı kan basıncındaki artışın, renin-anjiyotensin aldosteron sisteminin artan aktivitesine bağlı olmadığını göstermektedir (Hwang vd., 1989). İnsülin direnci ve hiperinsülinemisinin fruktoz kaynaklı hipertansiyonun patogenezinde önemli bir rol oynadığı varsayılmaktadır (Reaven & Chen, 1988).

Fruktoz, jejunumdaki GLUT5 glikoz taşıyıcı tarafından emilmektedir ve daha sonra portal dolaşım yoluyla karaciğere geçip, burada GLUT2 taşıyıcılar yoluyla hepatositlere alınıp, metabolize edilmektedir (Tappy & Anne, 2010). Absorbe edilen fruktozun çoğu karaciğerde katabolize edilmektedir ve periferik fruktoz konsantrasyonları açlık sırasında ve ayrıca oral veya intravenöz fruktoz yükünden ($31 \mu\text{M}$ - 2.0 mM) düşük olma eğilimindedir. Hem açlık hem de postprandiyal koşullar altında serum (venöz) fruktoz konsantrasyonlarının tipik olarak 1.0 mM 'den daha düşük olması ve postprandiyal şartlar, periferik dokuların fruktoza maruz bırakılmadığı anlamına gelmez, çünkü serum konsantrasyonu fruktozun bağırsaktan kana girmesi, karaciğerden ekstraksiyon, diğer dokularda alım ve glomerüler filtrasyon ile atılım arasındaki dengeyi yansıtmaktadır.

Fruktozun hipertansiyon gelişimine katkıda bulunduğu mekanizmalar, glikoz ve lipid homeostazı üzerindeki etkilerinden daha az karakterize edilir. Kemirgenlerde yüksek fruktoz beslenmesi, bir bağırsak anyon değiştiricisinin Slc26a6 (188) indüksiyonu yoluyla kısmen bağırsak tuzunun emilimini artırabilmektedir. Ayrıca, bu indüksiyon ve ilişkili hipertansiyon, GLUT5 nakavt farelerde (188) önlenmektedir. Bununla birlikte, bu sonuçlar, GLUT5 nakavt farelerin genelleştirilmiş malabsorpsiyona maruz kalmaları ve fruktoz ile tehdit edildiklerinde hasta olmaları nedeniyle değişim göstermektedir. Johnson ve arkadaşları fruktoz kaynaklı hiperüriseminin böbrek fonksiyonlarını bozabileceğini ve hipertansiyona katkıda bulunduğunu varsaymışlardır (189). Bununla birlikte, fruktoz-hipertansiyon ilişkisi henüz titizlikle çalışılmamıştır ve daha ileri araştırmalar yapılmalıdır.

2.2.4. Deneysel metabolik sendrom modeli oluşturmada rat soyunun ve fruktoz diyetinin önemi

Metabolik sendrom merkezi obezite, insülin direnci, yüksek kan basıncı, bozulmuş glukoz toleransı ve dislipidemi içermektedir (Simmons, Alberti, & Gale, 2010); bunlar kalp damar hastalığı ve tip 2 diyabet insidansını arttırdığı kabul edilen risk faktörleridir (Aschner, 2010). Sendromun tanımı; nedenleri ve prognozu anlamada yardımcı olabilirken, insanlarda sendromu tanımlamanın klinik yararı konusunda devam eden tartışmalar bulunmaktadır. İnsanlarda metabolik sendromun yaygın olarak ortaya çıkması, işaretlerin ilgili nedenlerini ve ilerlemesini incelemek için acil bir ihtiyaç olduğu anlamına gelmektedir. Bu çalışmalar, insanlarda görülen MetS'un tüm yönlerini yeterince taklit eden, özellikle obezite, diyabet, dislipidemi, hipertansiyon ve yağlı karaciğer hastalığı ve böbrek fonksiyon bozukluğu gibi tüm ana metabolik belirtileri gösteren canlı hayvan modellerini gerektirmektedir. Başka bir deyişle, insanlardaki hastalık durumunu taklit eden uygun deneysel hayvan modellerinin oluşturulması, MetS'in insandaki patofizyolojisinin değerlendirilmesinde çok önemlidir. Bu bağlamda, hayvan modelleri oluşturulurken kullanılacak modelin yararlılığı, uygunluğu, artıları ve eksilerini göz önünde bulundurmak gereklidir. Çok faktörlü yapısından dolayı, insanlarda MetS'nin patofizyolojisini en iyi temsil eden uygun bir deneysel model seçmek oldukça zordur. Sıçanlar ve fareler, MetS'nin araştırılmasında kullanılan en yaygın hayvan modelleridir. Kemirgenlerde MetS'i indüklemek için kullanılan çeşitli yaklaşımlardan bazıları diyet uygulaması, genetik modifikasyon ve ilaçlardır. Diyetin neden olduğu MetS modellerinde en yaygın kullanılan kemirgen türleri, Sprague-Dawley fareleri, Wistar fareleri, C57BL/6J fareleri ve Golden Syrian Hamster'ı içermektedir (S. Panchal & Brown, 2011).

Sánchez-Lozada ve ark., %10 oranında fruktozlu içme suyu uygulayarak yaptığı çalışmada sprague-dawley türü sıçanlarda 2. Haftada metabolik bozukluklar gözlemlenmiştir. Benzer şekilde; Roglans ve ark., aynı soy ratları kullandığı ve aynı oranda fruktozlu içme suyu uyguladığı çalışmada ilgili metabolik bozuklukları gözlemlenmiştir. Diğer yandan De Moura ise wistar türü sıçanları kullanarak benzer uygulama dozu ve şekliyle yaptığı araştırmanın 8. Haftasında herhangi bir metabolik sendrom belirtisi bulamamıştır (de Moura, Ribeiro, de Oliveira, Stevanato, & de Mello, 2008), bu durum, modelin doğru oluşturulmasında kullanılan sıçan soyunun önemli olduğunu göstermektedir. Yapılan bu çalışmalarda; içme suyuyla fruktoz verilmesi sonucu Sprague-Dawley soyu sıçanlarda MetS bulgularının

oluşturulduğu gözlenirken, Wistar türü sıçanlarda gayet sağlıklı bir biyokimya profili gözlenmiştir, bu sebeple metabolik sendrom modeli için bu soyun kullanışlı olmadığı belirtilmiştir (de Moura vd., 2008; Roglans vd., 2007; Sánchez-Lozada vd., 2007).

İnsan metabolik sendromu, genetik olarak programlanmış bir hastalıktan ziyade diyet dengesizliğinin bir sonucu olarak kabul edilmektedir. Bu sebeple MetS'in araştırılmasında bir takım diyet çalışmaları temel taş haline gelmiştir, çünkü diyet tüm vücut metabolizmasını ve regülasyonunu; hormonlar, glukoz metabolizması ve lipit metabolizması yollarına etki ederek etkilemektedir. Araştırmacılar, diğer diyetle MetS indüklemeye yöntemlerine kıyasla fruktoz aracılı metabolik sendrom modelinin insan hastalık durumunu daha yakından taklit ettiğini iddia etmiştir. Fruktoz metabolizması hakkındaki bilgiler, hayvan modellerinde MetS indüksiyonu için fruktoz beslemenin, glukoz veya nişasta ile karşılaştırıldığında üstünlüğünü ortaya koymaktadır. (Wong, Chin, Suhaimi, Fairus, & Soelaiman, 2016) Önceki araştırmalar, glukoz veya nişasta ile beslenmenin, MetS'yi indüklemeye fruktoz beslenmesi kadar etkili olmadığını göstermiştir (Johnson vd., 2007). Ek olarak, fruktozla beslenen fareler, nişasta kullanarak aynı kalorilerle beslenen farelere kıyasla daha fazla ağırlık kazanmışlardır (Jurgens vd., 2005). Hayvanlarda MetS'i indüklemek için içme suyunda düşük dozda fruktoz (% 10) yeterlidir. Sıçanlara %10 oranında fruktoz içeren içme suyunun verilmesi total kalorisinin % 48-57'lik fruktoz içeren diyetle eş değer etki oluşturmuştur. (Abdulla, Sattar, & Johns, 2011) Sanchez-Lozada ve ark. içme suyunda %10'luk fruktoz uygulamasının erkek Sprague-Dawley soyundaki sıçanlarda hipertansiyon ve hiperlipidemisinin indüklenmesinde, %60 oranında diyetle alınan yüksek fruktoz dozu ile aynı etkilere yol açtığını, ancak diyetle yüksek fruktoz dozunda yem verilmesine kıyasla daha az şiddetli olduğunu bulmuştur (Sánchez-Lozada vd., 2007).

Uygulanan fruktozun miktarı ve süresine bağlı olarak yüksek fruktoz ile beslenmenin sonuçları değişmektedir. Yapılan çalışmalara göre fruktozun verilme miktarı ve yöntemi; diyetle toplam kalorisinin % 60'ı, oral uygulamayla 8 mg/kg veya içme suyu ile %10-20 arasında; 4-8 hafta veya aylarca süren araştırmalar şeklindedir (Dai & McNeill, 1995). Seçilen içerikte yem temininin kolay olmaması ve saklama şartlarının sıkıntılı olması, MetS çalışmalarında içme suyu ile fruktoz uygulamasının daha çok tercih edilmesine sebep olmaktadır (Miller & Adeli, 2008; Rutledge & Adeli, 2007).

2.3. Kuersetin ve Metabolik Sendrom

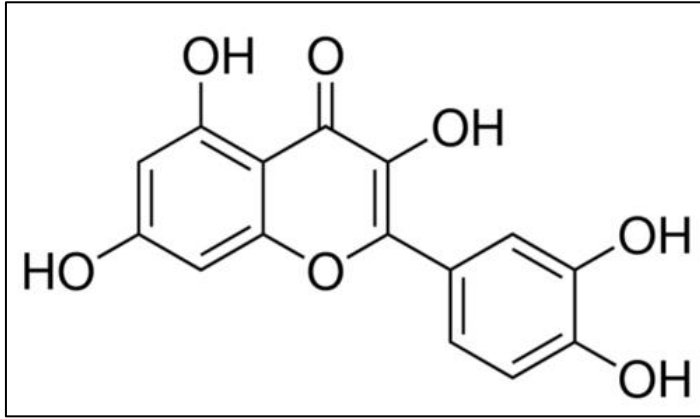
Yenilebilir bitkilerde (meyveler, sebzeler ve otlar) ve bitki kaynaklı içeceklerde bulunan polifenol bileşiklere biyolojik etkinlikleri nedeniyle son zamanlarda yapılan araştırmalarda ilginin arttığı görülmektedir. İnsanlarda tip-2 diyabet, kardiyovasküler hastalık, hipertansiyon ve inme gibi kronik hastalıklar için ana risk faktörleri olan obezite, hiperglisemi ve hiperkolesteroleminin hayvanlarda polifenol bileşikleri ile azaldığı yapılan çalışmalarla gösterilmektedir (Bose vd., 2008).

Daha önce yapılan bir çalışmada, dut yapraklarında majör olarak bulunan polifenol bileşiğinin (quercetin 3-(6)-malonylglucoside; Q3MG) antiaterojenik aktiviteleri; oksidatif modifikasyona bağlı olarak artan LDL direnci ile gösterilmektedir (Salvamani, Gunasekaran, Shaharuddin, Ahmad, & Shukor, 2014; Katsube, 2006) (Katsube, 2006; Salvamani vd., 2014).

Soğan, brokoli, çilek, kırmızı üzüm ve çay gibi sebze ve meyvelerde bulunan bitki kaynaklı bir flavonoid olan kuersetinin (3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavone) antienflamatuar ve antioksidan, antihipertansif, vazodilatör etkileri, antiobesite, antihiperkolesterolemik ve antiaterosklerotik metabolik etkileri olduğu bildirilmektedir (Boots vd., 2008; Erlund, 2004). Kuersetin, obezite gelişimini etkileyen adipokinesis ve lipolizde rol oynayan mitokondriyal yollar ile etki etmektedir (Leihner vd., 2016). Rivera ve ark. kuersetinin obez Zucker sıçanlarındaki etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada, kuersetin alan sıçanların kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kan basıncı, kolesterol seviyesi ve insülin dirençlerinin daha düşük çıktığı saptanmıştır. Daha yüksek dozlarda uygulanan kuersetinin ayrıca visceral yağ dokusunda bir anti-enflamatuar etki ürettiği gözlenmiştir (Rivera vd., 2012).

Metabolik sendrom geliştirilen sıçanlara yapılan kuersetin tedavisinin kardiyovasküler ve hepatik faktörlerde iyileşme gösterdiği ortaya çıkmıştır (S. Panchal, Poudyal, & Brown, 2012). Yapılan başka bir araştırmaya göre streptozosin aracılı diyabet oluşturulan sıçanlara kuersetin uygulaması sonucu glukoz metabolizmasında ve insülin direncinde olumlu etkiler gözlenmiştir, bu da bizlere kuersetinin diyabet tedavisinde alternatif bir yöntem olabileceğini düşündürmektedir (Vessal, Hemmati, & Vasei, 2003).

2.3.1. Kuersetinin yapısı ve diyetel kaynakları



Şekil 2.4. Kuersetinin yapısı

Kuersetin (3,3', 4', 5,7-pentahydroxyflavone) (Şekil 2.4), Meşe Ormanı anlamına gelen Latince “Quercetum” kelimesinden gelir, insan vücudunda üretilmeyen flavonoller sınıfına aittir. (Lakhanpal, 2007) Kuersetin heterosiklik bir piron halkasıyla birbirine bağlanmış iki benzen halkasından oluşan ortak bir flavon çekirdeğine sahiptir. Sarı renktedir ve sıcak suda zayıf çözünürken alkol ve lipidlerde oldukça iyi çözünmektedir. Kuersetin metabolik ve enflamatuvar bozuklukların tedavisinde en yaygın kullanılan biyoflavonoidlerden biri olduğu söylenmektedir (Baghel, Shrivastava, Baghel, Agrawal, & Rajput, 2016).

Flavonollerin başlıca diyet kaynakları coğrafyaya ve kültüre göre değişmektedir. İtalya'da baskın olan kırmızı şarapken, Japon ve Hollanda kültürlerinde çay ana flavonoid kaynağıdır. ABD, Finlandiya, Yunanistan ve eski Yugoslavya'da soğan ve elmalar, flavonollerin birincil diyet kaynağıdır (Bentz, 2009).

Kuersetin; meyvelerde (çoğunlukla narenciye), yeşil yapraklı sebzelerde ve birçok tohumda, karabuğdayda, fındıkta, brokolide, zeytinyağında, elmada, soğanda, yeşil çayda, kırmızı üzümde, kara kirazda, yaban mersininde ve kızılıçıkta en çok bulunan diyet flavonoidlerinden biridir (David, Arulmoli, & Parasuraman, 2016).

2.3.2. Kuersetin ve kardiyovasküler hastalıklar

Kardiyovasküler hastalıklar her yerde morbiditenin bir nedeni ve birçok ülkede mortaliteye katkıda bulunan bir faktör haline gelmektedir. (Parasuraman, Kumar, Kumar, & Emerson, 2010) Diyetin kardiyovasküler hastalık etiyolojisinde önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir. Rapor edilen meta-analiz çalışmaları, meyve ve sebze tüketimi ile inme oluşumu arasında ters bir ilişki olduğunu göstermektedir. Düzenli meyve ve sebze tüketimi alımı, felç ve koroner kalp hastalığı riskini azaltmaktadır (He, Nowson, & MacGregor, 2006; Dauchet vd., 2005).

Bitkiler; biyoflavonoidler, mineraller, vitamin ve diğerleri için metabolik ve enflamatuar bozukluklara karşı aktivite gösteren en zengin kaynaktır. Birçok flavonoid, antihipertansif, anti-aterosklerotik, antiplatelet aktivitesi ve endotel disfonksiyonuna karşı olumlu etkiler göstermektedir. Kuersetin gibi uzun yıllar boyunca mevcut olan flavonoidler, kardiyovasküler hastalıklar üzerinde olumlu bir etkisi olabilecek geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahiptir. Yunan kardiyologları tarafından kuersetin bakımından zengin kırmızı üzüm polifenol ekstresi tüketiminde koroner kalp hastalığı (KKH) olan otuz erkekte yapılan bir araştırmada, endotel sağlığının güçlü bir göstergesi olan majör arterlerin akış aracılı genişlemesinde bir artışa neden olduğu bulunmuştur (Lekakis vd., 2005).

Kuersetin, trombosit agregasyonunu inhibe etmekte ve endotel sağlığını iyileştirmektedir. Buna ek olarak, Koroner Arter Hastalığı'na (KAH) karşı korur ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) neden olduğu ölüm riskini azaltmaktadır. İzole arterlerde kan basıncının düşürülmesine yardımcı olan ve kalp hipertrofisinin gelişmesini önleyen önemli vazorelaxant özellikleri gösterdiği bilinmektedir. (R. Edwards vd., 2007) Kuersetin, LDL kolesterolüne zarar gelmesini önlemektedir. Yapılan araştırmalar, flavonoid içeren besin takviyeleri yüksek tüketenlerin, düşük kolesterol içerdiğini ortaya koymuştur. Çalışmada, kuersetin ve alkolsüz kırmızı şarap özü (kuersetin içeren) tüketen kişilerin LDL oksidasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur.(Chopra, Fitzsimons, Strain, Thurnham, & Howard, 2000) Günde 150 mg Kuersetin, 6 haftalık klinik çalışmada kalp hastalığı riski yüksek olan aşırı kilolu hastalarda sistolik kan basıncını ve plazma okside LDL seviyelerini azalttığı ortaya çıkmıştır (Egert vd., 2009).

Kuersetin, insan yağ hücrelerinin olgunlaşmasında yağ birikmesini önleyen ve aynı zamanda mevcut yağ hücrelerinde apoptozu tetikleyen özel bir yeteneğe sahiptir. (Ahn, Lee, Kim, Park, & Ha, 2008; Park vd., 2008) Ek olarak, kuersetin kandan glikoz alımını bloke etmektedir, yağ hücresi üretimini bloke etmektedir ve yağ hücresi nekrozunu arttırmaktadır (Yang vd., 2008; Strobel vd., 2005).

Yapılan araştırmalar; tahıllardan veya meyvelerden alınan diyet lif miktarının, KAH ölüm riskiyle ters orantılı olduğunu göstermektedir. Pereira ve ark., tahıllardan alınan 10 gram diyet lifinin KAH mortalite riskini % 29 oranında düşürdüğünü, meyvelerden alınan diyet lifinin ise KAH mortalite riskini % 35 oranında düşürdüğünü ortaya çıkarmıştır (Pereira vd., 2004).

2.3.3. Kuersetin ve kanser

Epidemiyolojik araştırmalar, daha fazla sebze ve meyveli diyetin kansere karşı koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Kuersetin; antiproliferatif, büyüme faktörü supresyonu ve antioksidan içeren potansiyel antikanser özelliklere sahiptir (Lamson & Brignall, 2000).

Kuersetin güçlü antikarsinogenik özelliklere sahiptir. Apoptoz indüktörü olarak katkıda bulunduğu bilinen kuersetin; beyin ve karaciğer, kolon ve diğer dokulardaki tümörlerin büyümesini azaltır ve malign hücrelerin yayılmasını önlemektedir. (Akan & Garip, 2013) Cruz-Correa ve ark. Ailesel Adenomatöz Polipozis (FAP) hastalarında kurkumin ve kuersetin ile kombinasyon tedavisi üzerinde çalışmışlardır. Hastalara ortalama 6 ay boyunca günde 3 kez oral olarak curcumin 480 mg ve kuersetin 20 mg uygulanmıştır. Çalışmanın sonunda, kurkumin ve kuersetin, minimum yan etki ile ileal ve rektal adenomların sayısını ve boyutunu azaltmıştır (Cruz-Correa vd., 2006).

Kuersetin, insan kolon kanseri Caco-2 hücrelerinde hücre görünürlük kaybı, ROS üretimi ve MicroRNA-21 (miR-21) yükselmesi gibi kimyasal kanserojen kaynaklı bir hücre dönüşümü olan heksavalent kromu (Cr[VI]) inhibe etmektedir. (Han, Song, & Zhang, 2016; Pratheeshkumar vd., 2016) Ayrıca, hem in vitro hem de in vivo kanser çalışmalarında kuersetin, prostat kanserine karşı yararlı bir etkiye sahip olduğu söylenmektedir (Yang vd., 2015).

2.4. Fibroblast Büyüme Faktörleri

Fibroblast büyüme faktörleri (FGF'ler), çeşitli organizmalarda bulunan geniş bir polipeptit büyüme faktörü ailesi olup, birçok biyolojik aktivitelere sahiptir. FGF ailesi, sekans benzerliklerine, biyokimyasal işlevlerine ve evrimsel gelişimlerine göre 7 alt aileye ayrılmış olup molekül kütleleri 17 ila 34 KDa arasında değişen 22 üyeden oluşmaktadır. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) familyası üyeleri, hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması, yenilenmesinin önemli düzenleyicileridir. Bilinen FGF ailesi üyelerinin, özellikle mitoz, doku onarımı, transformasyon ve anjiyogenez gibi olaylarda rol aldıkları gösterilmişse de, son çalışmalar, endokrin hormon benzeri düzenleyici etkilere de sahip olduklarını ortaya koymaktadır (Presta vd., 2017).

2.4.1. Fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF21)

Diyabet, obezite ve komplikasyonları üzerinde bir dizi yararlı etkinin uygulanması amacıyla birçok humoral faktör tanımlanmıştır. Özellikle ilgi çekici molekül; ağırlıklı olarak karaciğerde üretilen ve hayvan modellerinde hiperglisemi, insülin direnci, dislipidemi ve hepatosteatoz dahil olmak üzere obezite ile ilişkili metabolik hastalıkların çoğunu azalttığı gösterilmiş olan fibroblast büyüme faktörü FGF21'dir. FGF21'in gelecek vaat eden bir antidiyabetik hedef olabileceğini öne sürülmektedir (Tamer Coskun vd., 2008; Jing Xu vd., 2009).

2.4.2. Fibroblast büyüme faktörü 21 sinyal mekanizması

FGF ailesi, dizi homolojisi ve filogenisine dayanan yedi alt aileye bölünmüş yapısal olarak benzer 22 üyeden oluşur. FGF-15/19, FGF21 ve FGF-23 dahil FGF-19 alt familyasının üyelerinin, sırasıyla safra asidinin, karbonhidratların, lipidlerin, fosfat ve D vitamininin metabolik düzenlenmesinde önemli endokrin rolleri oynadığı belirlenmiştir (Fukumoto, 2008).

Dört tane FGF reseptörü (FGFR1 - FGFR4) vardır; FGFR1-FGFR3, farklı FGF bağlanma özelliklerine sahip olan iki izoform, b ve c (FGFR1c, 1b, 2b, 2c, 3b, 3c) üretirler (Turner & Grose, 2010). FGF21 temelde FGFR1 ile etki etmektedir (Yang vd., 2012; Suzuki vd., 2008).

Fonksiyonel FGF21 reseptörü FGFR ve β -klotho olmak üzere yapısal olarak iki bileşenden oluşmaktadır.(Kharitonkov, Dunbar, Bina, vd., 2008) FGF21'in hedef doku etki spesifitesi, FGF21'in reseptörleri ile etkileşmesinden kaynaklanmaktadır, bu da, FGF21 reseptörünün doğrudan bağlayıcı bir alt birimi olarak görev yapan ve onunla bir kompleks oluşturan β -Klotho'nun varlığını gerektirmektedir.(Kharitonkov, Dunbar, & Bina, 2008; Ogawa, Kurosu, & Yamamoto, 2007) β -Klotho, Klotho ailesinin bir tip 1 transmembran protein üyesidir; pankreasta, yağ dokusunda ve karaciğerde eksprese edildiği bilinmektedir (Ito, Kinoshita, & Shiraishi, 2000). FGF21 sinyalleşmesi için hem FGFR hem de β -klotho gereklidir.(Suzuki vd., 2008) Adipositlerde β -klotho'nun yıkılması, FGF21 kaynaklı sinyalleşmeyi ve eylemleri (Ogawa, Kurosu, Yamamoto, vd., 2007) azaltırken, β -klotho'nun tüm vücutta yıkılması FGF21'in büyüme ve metabolizma üzerindeki etkilerini yitirmesine neden olmaktadır. (Ding vd., 2012) FGF21'in FGF'lere ve β -klotho'ya bağlanması üzerine, monomerik FGFR proteinleri dimerize olur, bu da FGFR substrat 2'deki (FRS2) tirozin kalıntılarının otofosforilasyonunu ve fosforilasyonunu sağlar. Fosforile edilmiş FRS2 bir kenetlenme proteini görevi görür ve Grb2 / Sos ile bir kompleks oluşturur, bu da hücre dışı sinyal düzenlenmiş kinazı (ERK) ve Akt sinyal yollarını aktive etmektedir. (Yie vd., 2009; Kharitonkov vd., 2008; Kouhara vd., 1997) Bu da gelişmiş glikoz alımına yol açmaktadır (Micanovic, Raches, & Dunbar, 2009).

β -klotho, karaciğerde, beyaz (WAT) ve kahverengi yağ dokularında (BAT), pankreasta ve glikoz ve lipid homeostazını kritik bir şekilde modüle eden merkezi sinir sisteminde (CNS) çok miktarda bulunmaktadır (Ogawa, Kurosu, Yamamoto, vd., 2007; Ito, Kinoshita, Shiraishi, vd., 2000). Ek olarak, β -klotho plasenta (Dekker vd., 2014), insan göbek ven endotel hücreleri (Wang vd., 2014) ve endotel hücreleri gibi diğer dokularda yakın zamanda tespit edilmiştir (Yaqoob vd., 2014); FGF21'in bu dokulardaki lokal metabolizmayı düzenlediği öne sürülmektedir.

2.4.3. Fibroblast büyüme faktörü 21 üretimi ve düzenlenmesi

FGF21'in ifadenmesi çeşitli fizyolojik koşullar ile düzenlenebilmektedir; adaptasyon ve korumayı kolaylaştırabilecek stresli koşullar altında uyarılmaktadır. Ek olarak, çeşitli patolojik durumlarda FGF21'in farklı üretimi, obezite ile ilişkili metabolik bozukluklar için potansiyel bir biyolojik belirteç olarak kabul edilirken, FGF21'in ayrıca bazı antidiyabetik ajanların eylemlerine katıldığı görülmektedir (W. Y. So & Leung, 2016).

Açlıkta ve toklukta FGF21

FGF21, öncelikli olarak karaciğer tarafından üretilmektedir; hepatik FGF21'in ekspresyonu ve dolaşımdaki seviyeleri beslenme durumuna bağlı değişmektedir. Açlık, peroksizom proliferasyonlu reseptör alfa (PPAR α) tarafından büyük ölçüde düzenlenen, hepatik ve dolaşımdaki FGF21'i indüklemektedir (Badman vd., 2007; Lundasen, Hunt, Nilsson, Sanyal, Angelin, vd., 2007). PPAR tepki elemanları (PPRE'ler), hem farede hem de insanda FGF21 gen promotörlerinde tanımlanmıştır (Lundasen, Hunt, Nilsson, Sanyal, Angelin, vd., 2007). Açlık kaynaklı lipolizden salınan serbest yağ asitleri (FFA'lar), sırasıyla FGF21 transkripsiyonunu indükleyen hepatik PPAR α 'yı aktive eder. PPAR α agonistlerinin (yani fenofibrat ve Wy-14,643), farede ve insan primer hepatositlerinde FGF21'in mRNA ifadesini kuvvetle indüklediği gösterilmiştir. (Badman vd., 2007; Lundasen, Hunt, Nilsson, Sanyal, Angelin, vd., 2007) Diğer yandan PPAR α null farelerde hem açlık hem de fenofibrat kaynaklı FGF21 ifadenmesi olmamıştır. (Badman vd., 2007) Bu sonuçlar, PPAR α 'yı hepatik FGF21 ekspresyonunun anahtar bir düzenleyicisi olarak açıklamaktadır.

Ek olarak, birçok başka çalışma, hepatik FGF21 ekspresyonunun açlığa tepki olarak artan çeşitli hormonlar tarafından kontrol edildiğini göstermektedir. Bunların arasında, glukagon (Berglund vd., 2010), glukokortikoidler (Patel vd., 2015) ve büyüme hormonu (GH) (Yu vd., 2012; Chen vd., 2011), hepatik FGF21 ekspresyonunu belirgin şekilde uyarabilir. Bu hormonların aynı zamanda açlık sırasında lipolizin uyarılması yoluyla FFA salımını tetiklediği iyi bilinmektedir, (Sakharova vd., 2008) bu, FGF21 ekspresyonunu doğrudan veya dolaylı olarak FFA-PPAR α yolu ile indükleyebileceklerini göstermektedir. Sonuç olarak, FGF21 üretiminin düzenlenmesinde çoklu açlık kaynaklı hormonların işbirliği, FGF21'in açlığa uyum sağlamadaki kritik rolünü ortaya koymaktadır.

FGF21 ifadesinin beslenmedeki düzenlenmesi nispeten tartışmalıdır. Önceki çalışmalar hepatik FGF21'in farelerde yeniden beslenerek hızlı bir şekilde baskılandığını tespit ederken (Badman vd., 2007; Inagaki vd., 2007), başka bir çalışmada yeniden beslenmenin sıçanlarda hepatik mRNA ve dolaşımdaki FGF21 seviyelerini arttırdığını göstermektedir (Sanchez, Palou, & Pico, 2009). Önceki bir çalışma, hepatik FGF21'in yenidoğan farelerde PPAR α 'ya bağımlı bir şekilde süt veya lipit alımıyla indüklendiğini, açlık durumunda yetişkinlerde meydana gelen düzenlemenin aksine FGF21 ekspresyonunu azalttığını keşfetti. İndüklenmiş hepatik FGF21'in süt alımının başlamasına yanıt olarak BAT termojenezinin yenidoğan

aktivasyonuna katkıda bulunan önemli bir sinyal olduğu ve bu nedenle farklı gelişim aşamalarında FGF21'in farklı rollerinin bulunduğu öne sürülmüştür. (Hondares vd., 2010) Klinik olarak dolaşımdaki FGF21 uzun süre aç kalma ve fenofibrat tedavisi ile arttırılmıştır, ancak yeniden beslemeden etkilenmez (Christodoulides, Dyson, Sprecher, Tsintzas, & Karpe, 2009; Galman vd., 2008). Şaşırtıcı bir şekilde, Uebanso ve arkadaşları insan FGF21 gen transkripsiyonunun hem açlık hem de besleme sinyalleri tarafından indüklenebildiğini buldu; Bu çalışma, insan FGF21'in açlık ve aşırı beslenmeyi içeren beslenme krizinde, beslenme stresine uyumda rol oynayabilecek şekilde düzenlenmiş olduğunu göstermektedir. (Uebanso vd., 2011) Hepatik FGF21, açlıkla indüklenen FFA salınımı veya FFA alımı ile aktive edilebilen büyük ölçüde PPARa tarafından düzenlendiğinden, yeniden besleme sırasında FGF21 ekspresyonu ile ilgili tutarsız sonuçlar, farklı çalışmalarda gıda bileşenlerinde farklılık nedeniyle olabilmektedir. FGF21 ekspresyonunun beslenme sırasında nasıl düzenlendiğinin kesin mekanizması/mechanizmaları ve gıda bileşenlerinin katkısı daha fazla araştırmayı gerekli kılmaktadır.

Diyetler ve FGF21

Yapılan araştırmalar; FGF21 ekspresyonunun diyetlerle ilişkili olduğunu önermektedir. Bağımsız çalışmalardan elde edilen bulgular, FGF21'in kemirgenlerin ketogeneze katılımını göstermektedir. Hepatik ve dolaşımdaki FGF21, ketojenik diyet (düşük karbonhidrat, yüksek yağ) ile indüklenirken, FGF21 gen azalması veya silinmesi olan fareler, belirgin bir şekilde bozulmuş ketogenez ve hepatik steatoz ile ketojenik bir diyetle cevap verememektedir. (Badman, Koester, Flier, Kharitonov, & Maratos-Flier, 2009; Badman vd., 2007) Aksine, hepatik FGF21'i aşırı eksprese eden transgenik fareler yüksek ketogenez sergilemektedirler. Ayrıca, PPARa nakavt fareleri, ketogeneze PPARa-FGF21 eksenini doğrulayan bir bulgu olan kısmen FGF21 ile kurtarılabilen bozulmuş keton sentezi ve hepatosteoasis sergilemektedir (Inagaki vd., 2007). Diğer yandan, FGF21'in ketogeneze düzenleyici rolü, Hotta ve arkadaşlarının 24 saatlik açlıktan sonra FGF21 nakavt farelerinde artan ketogenezi gösterdiği çalışmasıyla hala tartışmalıdır. (Christodoulides vd., 2009) Özellikle, klinik araştırmalar dolaşımdaki FGF21 seviyelerinin insanlarda ketojenik diyetten etkilenmediğini bildirmiştir (Christodoulides vd., 2009). Bu çalışmalar, en azından insanlarda FGF21 ile ketogenez arasındaki zayıf etki ilişkisini göstermektedir. Ek olarak, düşük protein diyetinin FGF21 üretimini arttırdığı bildirilmektedir. Hepatik FGF21 ekspresyonu, farelerde azalmış protein alımından kısa bir

süre sonra artarken, serum FGF21 seviyeleri, insanlarda 28 günlük bir düşük protein diyetinden sonra çarpıcı şekilde yükselmektedir. FGF21 üretimindeki artışlar ökaryotik başlangıç faktörü 2a'nın (eIF2 α) (Laeger vd., 2014) artmış fosforilasyonu ile ilişkilidir; bu çalışma FGF21'in düşük protein kullanılabilirliği sırasında metabolizmayı koordine etmeye yardımcı olabilecek düşük protein alımının endokrin bir sinyali olarak hareket ettiğini ortaya koymaktadır.

Peroksizom proliferatör aktive reseptör (PPAR)

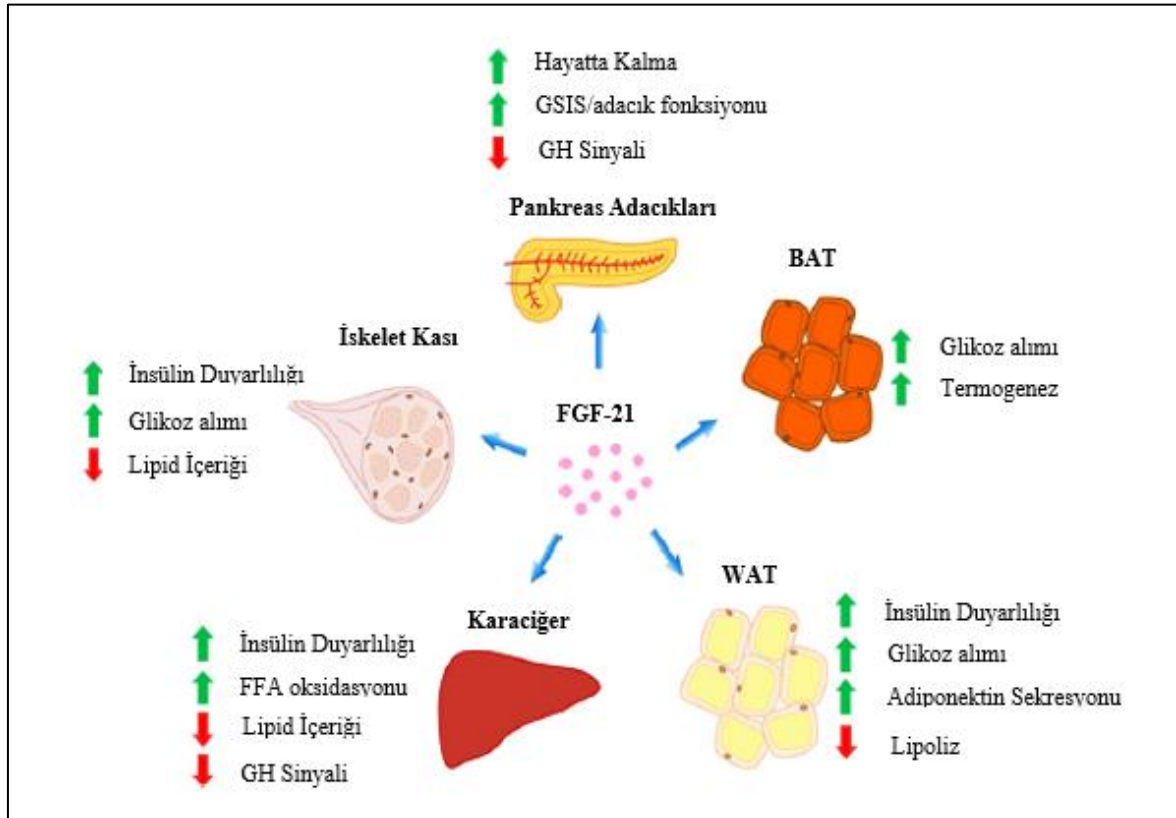
Son on yılda, PPAR α ve PPAR γ , Tip 2 diyabetes mellitus (T2DM) ve kardiyovasküler hastalıklar gibi metabolik sendrom bileşenlerin tedavisi için farmakolojik hedefler olarak ortaya çıkmıştır. Fibratlar gibi PPAR α agonistleri, dislipidemi tedavisinde yıllardır kullanılmaktadır. PPAR α agonistleri, lipid ve lipoprotein metabolizmasında yer alan genlerin ekspresyonunu pozitif olarak düzenlemekte, insülin duyarlılığını ve adacık fonksiyonunu iyileştirmekte, (Lalloyer vd., 2006) aynı zamanda insanlarda glikoz metabolizmasını geliştirmektedir (Ferrari vd., 1977).

PPAR α 'nın hepatik FGF21'in ana düzenleyicisi olduğu iyi bilinmektedir. (Badman vd., 2007) İnsanlarda, obezite veya T2DM olan hastalar, PPAR α agonisti ile kronik tedaviden sonra dolaşımdaki FGF21 seviyelerinde yükselmenin yanı sıra, hiperglisemi ve dislipidemide iyileşme göstermektedir (Ong vd., 2012; Christodoulides vd., 2009). FGF21, glikoz ve lipid metabolizmasını güçlü bir şekilde düzenlediğinden, FGF21'in, PPAR α agonistlerinin metabolik bozuklukların tedavisindeki etkilerinin aracısı olarak hareket ettiği söylenebilir.

Tiyazolidindiyon (TZD) gibi PPAR γ agonisti, yaygın olarak kullanılan antidiyabetik ilacın başka bir türüdür. Belirgin bir şekilde, rosiglitazonun fare ve insan adipositlerinde (Zhang vd., 2008). FGF21 gen ekspresyonunu indüklediği, ayrıca FGF21'in zayıf veya tip 2 diyabetik farelerde serum FGF21'de anlamlı bir artışa neden olduğu ve TZD'nin antidiyabetik aktivitelerinde olası bir rol oynadığı bildirilmektedir. (Muisse vd., 2008) Bu hipoteze paralel olarak, önceki bir çalışma, FGF21 nakavt farelerinin, adipoz PPAR γ sinyallerine ve rosiglitazonun hem yararlı hem de zararlı etkilerine karşı direnç gösterdiğini açıklamaktadır (Dutchak vd., 2012).

FGF21'in antidiyabetik potansiyeli

Çok sayıda çalışma, FGF21'in T2DM, obezite ve bunlarla ilgili komplikasyonların tedavisi için potansiyel bir terapötik ajan olduğunu göstermektedir. Kharitonenkova ve ark. FGF21'in antidiyabetik özelliklerini bildiren ilk kişilerdir. (Kharitonenkova, Shiyanova, Koester, vd., 2005)Yaptıkları çalışmalar; FGF21 verilmesinin plazma glukozunu ve trigliseritleri normal seviyelere düşürmekte olduğunu, hem ob/ob hem db/db farelerde glikoz klirensini ve insülin duyarlılığını arttırdığını göstermektedir. Ayrıca FGF21'i aşırı eksprese eden transgenik fareler de diyetle bağlı obeziteye karşı dirençli davranarak benzer etkiler göstermektedir. (Kharitonenkova & Shanafelt, 2008; Kharitonenkova, Shiyanova, Koester, vd., 2005). FGF21 tedavisi diyetle indüklenen obezite modeli oluşturulan (DIO) farelerde (Xu, Lloyd, Hale, Stanislaus, Chen, Sivits, Vonderfecht, Hecht, Li, Lindberg, Chen, Jung, Zhang, Ko, Kim, vd., 2009; Coskun vd., 2008) hepatik steatozu tersine çevirmektedir ve WAT'ta hepatik lipid oksidasyonu ve lipoliz üzerindeki etkileriyle paralel olarak, bir ketojenik diyetle beslenen FGF21 nakavt fareleri, hafif şişmanlık ve artmış hepatik yağ birikimi sergilemektedir. Ayrıca, FGF21 uygulaması, insan dışı primatlarda lipoprotein profillerini ve dolaşımdaki kardiyovasküler risk belirteçlerinin seviyelerini arttırmaktadır. (Leone, Weinheimer, & Kelly, 1999) FGF21, çeşitli organlarda fonksiyonları teşvik ederek antidiyabetik etkiler ortaya koymaktadır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. FGF21'in antidiyabetik etki gösterdiği mekanizmaların şematik genel görünümü

FGF21, glukoz alımını uyarır ve iskelet kası içindeki lipit içeriğini azaltır. FGF21, yağ asidi oksidasyonunu teşvik eder, lipit içeriğini azaltır ve karaciğerde GH sinyalini inhibe eder. FGF21, lipolizi zayıflatır, ancak WAT'da glukoz alımını ve adiponektin salgılanmasını indükler. FGF21, BAT'ta glikoz alımını ve termojenezi uyarır. Bu etkiler periferik insülin duyarlılığını artırır. Öte yandan, FGF21 normal insülin sekresyonunu, adacık hücresi büyümesini ve β hücre sağkalımını, GSIS'i ve pankreas adacıklarında GH sinyalinin inhibisyonunu artırarak işlevini sürdürmeye yardımcı olur. BAT, kahverengi yağ dokusu; FGF21, fibroblast büyüme faktörü 21; GH, büyüme hormonu; GSIS, glukoz ile uyarılan insülin sekresyonu; WAT, beyaz yağ dokusu (So & Leung, 2016).

Karaciğerde FGF21 fonksiyonları

Açlık ve ketojenik diyet, karaciğerdeki FGF21 salınımını arttırmaktadır ve yağ asidi oksidasyonunda anahtar rol oynamaktadır. FGF21 serum düzeyleri açlıkta, fibrat tedavisinde, Tip II Diabetes Mellitus ve obezitede yükselmektedir. (Cariello & Moschetta, 2014) FGF21, yağ asidi oksidasyonunu, ketogenezi, glukoneogenezin indüklenmesini ve lipogenezin baskılanmasını içeren karaciğer metabolizması üzerinde çarpıcı etkilere sahiptir (Markan vd., 2014; Hotta, Nakamura, Konishi, Murata, & Takagi, 2009) . FGF21'in bu metabolik etkilerle tutarlı olarak hepatik gen ekspresyonu değişmektedir.

FGF21'den yoksun fareler, ketojenik bir diyetle atipik bir tepki göstermektedirler. Kilo vermek yerine kilo almaktadırlar; enerji harcama oranları düşmektedir ve bozulmuş yağ asidi oksidasyonu ile tutarlı olarak yağlı karaciğer geliştirmektedirler (Badman, Koester, Flier, Kharitonov, & Maratos-Flier, 2009). Genetik obezite veya DIO'dan kaynaklanan yağlı karaciğer, yağ asitleri tarafından PPARa indüksiyonunun bir sonucu olarak, artmış hepatik ekspresyon ve FGF21 serum seviyeleri ile ilişkilidir. Peroksizom proliferatör-aktive reseptör- α PPARa, hem ketojenik diyetin tüketilmesi durumunda hem de açlık durumunda (Badman vd., 2007; Lundasen, Hunt, Nilsson, Sanyal, & Angelin, 2007) yağ asitleri tarafından aktive edilmektedir ve yağ asidi oksidasyonuna ve ketoza aracılık eden birçok enzimin transkripsiyonunu düzenlemektedir (Badman vd., 2007).

Yağ asidi oksidasyonu

PPARa'nın, anahtar genlerin ekspresyonunun modülasyonu yoluyla yağ asidi oksidasyonunun ana regülatörü olduğu gösterilmektedir; (Leone vd., 1999; Kersten vd., 1999) bir PPARa hedef geni olan FGF21, ketojenik diyetin tüketimi ve açlık gibi karaciğer yağ asidi oksidasyonunun artması gerektiren durumlar sırasında PPARa'nın etkilerine aracılık etmektedir. FGF21 KO veya hepatik FGF21'in adenoviral yıkımı, ketojenik diyetle beslendikten sonra farelerde hepatosteatoz gelişmesine yol açmaktadır, (Patel vd., 2015; Yu vd., 2012; Berglund vd., 2010; Badman, Koester, Flier, Kharitonov, & Maratos-Flier, 2009; Badman vd., 2007) bu da FGF21'in hepatik lipid oksidasyonunun ve trigliserit normal aktivasyonu için vazgeçilmez olduğunu göstermektedir. Ek olarak, DIO farelerinde kronik FGF21 uygulaması, yağ oksidasyonunun artırılması ve hepatik de novo lipogenezinin (Xu vd., 2009) baskılanması yoluyla hepatosteatozu ve hipertrigliseridemi'yi tersine çevirmektedir. Ayrıca, dolaşımdaki FGF21 ve yağ asidi oksidasyonu seviyeleri sodyum butiratla muamele edilmiş farelerde (dislipidemiye ve obeziteye karşı koruyucu etkileri olan gıdalarda bulunan bir yağ asidi türevi) yükseltilmektedir, FGF21 eylemlerinin ortadan kaldırılmasıyla butiratın faydalı etkileri azalmaktadır, (Kersten vd., 1999) bu da FGF21'in besin kaynaklı yağ asidi oksidasyonuna dahil olduğunu göstermektedir.

Aşırı hepatik lipidin, enflamatuar sinyaller, hücrel modifikasyonlar ve protein kinaz Cε'un diasilgliserol aktivasyonu yoluyla hepatik insülin direncine ve T2DM'ye neden olduğu bilinmektedir. (Perry, Samuel, Petersen, & Shulman, 2014) Camporez ve ark. FGF21 uygulamasının, trigliseritler, sitosolik ve membran diasilgliserol içeren hepatik lipid ara maddelerinin indirgenmesi yoluyla düzenli yemek veya yüksek yağlı bir diyetle beslenen farelerde, hem hepatik hem de periferik insülin duyarlılığını geliştirdiğini göstermektedir. Azalan hepatik diasilgliserol içeriği, protein kinaz Cε aktivasyonunda bir azalmaya ve insülinle uyarılmış AKT2 fosforilasyonunda eş zamanlı bir artışa neden olmaktadır. (Camporez vd., 2013) Hepatik lipid metabolizması üzerindeki doğrudan etkilerinin yanı sıra, FGF21, GH sinyalleme ile etkileşime girerek hepatik lipid klirensini ve insülin duyarlılığını destekleyebilir. GH, karaciğerde ve iskelet kasında trigliserit alımını ve depolanmasını indüklemektedir (Oscarsson, Ottosson, & Eden, 1999; Hansen vd., 1986) ve ayrıca insülinin etkilerini antagonize ettiğinden karaciğerde, adipoz dokuda ve kasta insülin direncine yol açtığı iyi bilinmektedir (Rizza, Mandarino, & Gerich, 1982). Inagaki ve ark., FGF21'in gerçekten de karaciğerdeki GH sinyalini inhibe ettiğini ve bunun FGF21'in lipid metabolizması üzerindeki etkisine alternatif bir yol sağladığını göstermiştir (Inagaki vd.,

2008). Bununla birlikte, GH sinyalinin düzenlenmesinin FGF21'in lipid metabolizması ve T2DM üzerindeki yararlı etkilerine katkıda bulunup bulunmadığı henüz belirlenmemiştir.

Hepatik glikoz çıkışı

Karaciğer, glikojenez yoluyla glukoz alımı ve glikoneogenez ve glikojeneoliz yoluyla glukoz çıkışı arasındaki dengenin korunmasını sağlayarak glukoz homeostazını kritik şekilde düzenlemektedir (Nordlie, Foster, & Lange, 1999). Hepatik glukoz çıkışının düzensizliği, T2DM'deki hiperglisemi ile yakından ilişkilidir. Daha önceki çalışmalarda FGF21'in hepatic glukoz üretimini baskıladığı ve farelerde glikoz metabolizmasında iyileşmeye yol açtığı görülmüştür (Berglund vd., 2009). Bunun yanında, sıçan H4IIE hepatoma hücre hattını kullanan in vitro çalışmalar, FGF21'in, Glukoz-6-fosfataz (G6Paz) ve fosfoenolpiruvat karboksiaz (PEPCK) gibi glukoneojenik genlerin downregülasyonu yoluyla hepatic glukoz çıkışını inhibe ettiğini göstermektedir (Kong vd., 2013).

Her ne kadar FGF21 hepatic glukoz üretimini inhibe etse de, önceki çalışmalar aynı zamanda FGF21'in bir glikoneogenez uyarımı yoluyla açlık sırasında kan glukozunun korunmasına yardımcı olduğunu göstermektedir. İlginç bir şekilde, FGF21'in açlık sırasında PPARa aracılı glukoneogenezde yer aldığı bulunmuştur. FGF21, G6Paz ve PEPCK'nın ekspresyonunu kontrol eden bir transkripsiyonel koaktivatör olan PGC1 α 'nın hepatic ekspresyonunu indüklemektedir (Potthoff vd., 2009; Yoon vd., 2001). Ek olarak, açlık kaynaklı FGF21 hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) aks yoluyla kortikosteron salınımını uyarak ve böylece hepatic glukoneogenezini teşvik eden bir beyin-karaciğer eksenini vasıtasıyla açlık glukoneogenezini indükleyebilir. FGF21 KO farelerinde bozulmuş HPA aks aktivasyonu ve düşük kortikosteron salınımı, kusurlu hepatic glukoneogeneze yol açabilmektedir (Liang vd., 2014). Ayrıca FGF21 ve glukokortikoidlerin birbirlerinin üretimini ileri beslemeli bir döngüde düzenledikleri, bu da uzun süreli açlık sırasında glukoneogenezin sürekli aktivasyonuna izin verecek şekilde HPA aksı üzerinde negatif geri beslemenin atlanması için bir mekanizma sağlayabildiği bildirilmektedir (Patel vd., 2015). FGF21 uygulaması hepatic glukoz çıkışını azaltabilmektedir, ancak aynı zamanda açlık sırasında glukoneogenezini uyatabilmektedir, bu da FGF21'in normal ve açlık koşulları altında glukoneogenezini farklı şekilde düzenlediğini göstermektedir. Bu bulgulara rağmen, FGF21'in hepatic glukoz alımını ve salımını kontrol eden diğer mekanizmaların yanı sıra glikojenez

ve glikojenolizi düzenleyip düzenlemediği belirsizdir bu sebeple daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Adipoz dokuda FGF21 fonksiyonları

Glikoz alımının uyarılması

FGF21'in, hem fare 3T3-L1 adipositlerinde hem de insan primer adipositlerinde insülininden bağımsız bir şekilde glukoz taşıyıcı-1 (GLUT1) ekspresyonunun indüksiyonu yoluyla glukoz alımını ve kullanımını uyardığı gösterilmiştir. (Kharitonov, Shiyanova, Koester, Ford, vd., 2005) Bu açıdan, GLUT1 ve GLUT4 adipoz dokusunda ifade edilmektedir; GLUT4 translokasyonuna neden olan insülinin aksine, FGF21, esas olarak, GLUT1 gen transkripsiyonunun bir aktivasyonu yoluyla etki etmektedir. (Shepherd & Kahn, 1999) Mekanizma temelli bir çalışma, FGF21'in ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) 1/2 yolunu uyardığını ve böylece adipositlerdeki transkripsiyon faktörlerini, serum tepki faktörünü (SRF) ve Ets benzeri protein-1'i (Elk-1) fosforile ederek aktive ettiğini göstermektedir. Aktive edilmiş SRF ve Elk-1 sinerjistik olarak çalışmaktadır ve GLUT1 promotör bölgesindeki serum yanıt elementine ve E-26 motiflerine bağlanmakta, böylece GLUT1'in transkripsiyonunu desteklemektedir (Ge vd., 2011).

FGF21 tedavileri ayrıca farelerin kahverengi ve beyaz yağ dokusunda, ayrıca insan adipoz kök hücre kaynaklı (hASC) adipositlerde insülin aracılı glikoz alımını arttırırken, (Camporez vd., 2013) FGF21 ve insülin ile kombine tedaviler glikoz alımında sinerjistik bir iyileşme ile sonuçlanmaktadır (Lee vd., 2014). FGF21'in varlığı, aynı ölçüde glukoz alımının elde edilmesi için gerekli olan insülin konsantrasyonunu da düşürmektedir, bu da FGF21'in hASC adipositlerinde insülin duyarlılığını arttırdığını göstermektedir (Lee vd., 2014). Bu veriler, FGF21 ile periferel dokularda glikoz alımının teşvik edilmesinin, hiperglisemik durumda glikoz klirensi için hızlı ve etkili bir yol sağladığını göstermektedir.

Lipolizin engellenmesi

Lipoliz sonucu salınan FFA'lar, düşük glikoz mevcudiyeti durumunda vücut dokularının çoğu için önemli bir alternatif yakıt sağlamaktadır. Lipolizden üretilen FFA'lar hepatik PPARa sinyalinin aktive etmekte ve FGF21 ekspresyonunu arttırmaktadır. (Badman vd., 2007; Inagaki vd., 2007; Lundasen, Hunt, Nilsson, Sanyal, Angelin, vd., 2007) FGF21'in

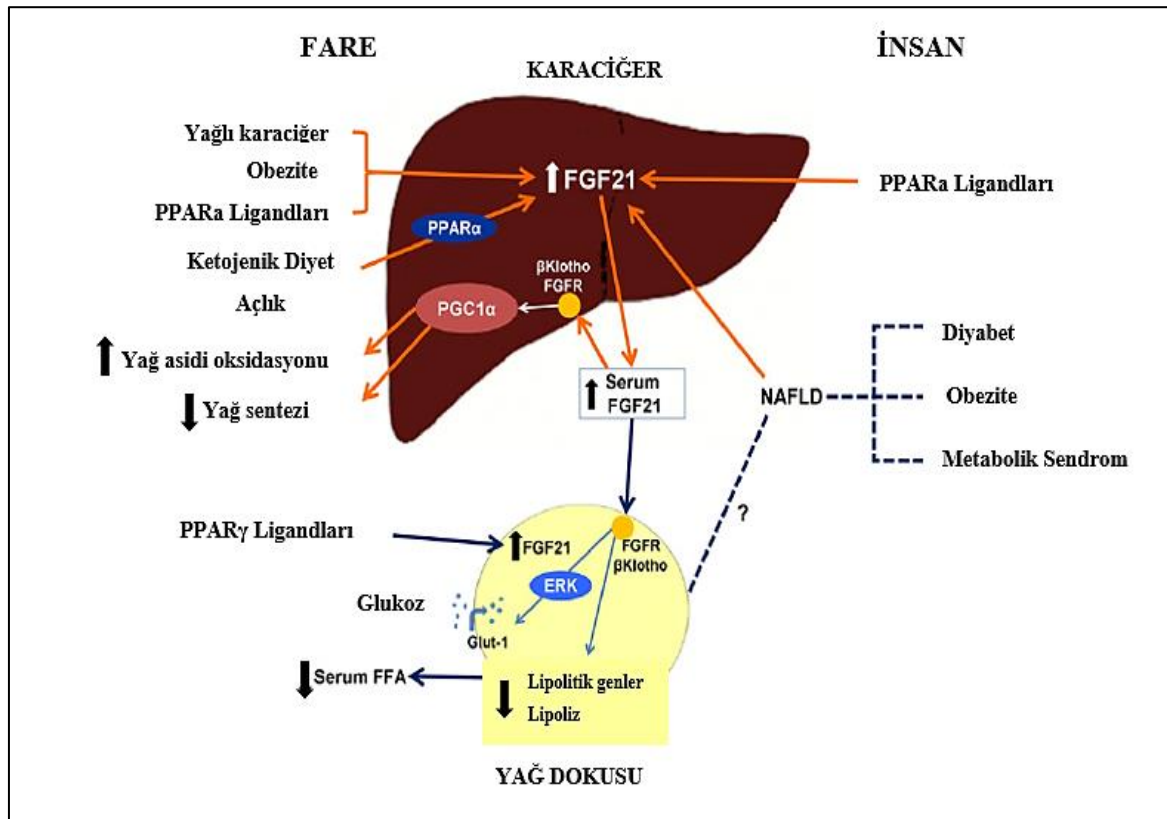
lipoliz üzerindeki rolü bildirilen bazı çelişkili verilerle belirsizliğini korumaktadır. Yapılan bir çalışma, FGF21'in WAT'ta lipaz ekspresyonunu artırarak lipolizi indüklediğini göstermektedir (Inagaki vd., 2007). Bununla birlikte, daha yeni çalışmalar, FGF21'in lipoliz üzerindeki inhibitör etkilerini göstermektedir. Örneğin, insan adipositlerinin veya 3T3-L1 adipositlerinin FGF21 ile kronik tedavisi, noradrenalinin neden olduğu lipid damlacıkları ile ilişkili fosfoprotein Perilipin (PLIN)'in down regülasyonu yoluyla belirgin bir lipoliz zayıflamasına yol açmaktadır (Arner vd., 2008). Benzer şekilde, tek bir FGF21 enjeksiyonu, in vivo plazma FFA seviyelerinde akut bir azalmaya yol açarken, adipositlerdeki in vitro FGF21 tedavisi, toplam lipaz aktivitesini azaltarak lipolizi inhibe etmektedir (Li vd., 2009). Ayrıca, FGF21 nakavt içeren fareler, ketojenik bir diyetle beslendiklerinde dolaşımdaki yüksek oranda esterlenmiş olmayan yağ asidi seviyelerini göstermektedirler. Kan dolaşımındaki trigliserit ve yağ asidi seviyelerini düşürerek, FGF21'in antilipolitik etkileri insülin duyarlılığını arttırmada önemli bir mekanizma olarak işlev görebilir.

Yakın zamanda yapılan bir in vivo çalışma, yağ dokusunda lipoliz düzenlemesinde FGF21 ve GH'nin rolleri hakkındaki tartışmayı aydınlatmaktadır (Chen vd., 2011). Açlık kaynaklı GH salınımı, WAT'dan lipolizi ve FFA salınımı arttırırken; (Vijayakumar, Novosyadlyy, Wu, Yakar, & LeRoith, 2010) burada açlık ile FGF21'deki eşzamanlı artış, adipositlerdeki GH kaynaklı lipolizi bloke etmek için negatif bir geri besleme düzenleyicisi olarak işlev görebilir (Chen vd., 2011). FGF21'in aç kalma sırasında lipoliz üzerindeki inhibitör etkisi, ayrıca bir FGF21 KO fare çalışması ile de desteklenmektedir; (Hotta vd., 2009) bununla birlikte, FGF21, bu çalışma tarafından önerildiği gibi tokluk durumunda lipoliz üzerinde uyarıcı bir etkiye sahip olabilir. Bu kanıtlar ışığında, FGF21'in lipolizdeki düzenleyici rolü çeşitli fizyolojik durumlar arasında farklılık gösterebilmektedir ve ilgili mekanizmaların ileri araştırmalarla netleştirilmesi gerekmektedir.

Kahverengi yağ dokusunda (BAT) termojenez

Bir ısı üretim süreci olan termojenez, kemirgenler ve insan yenidoğanların BAT'larında meydana gelmektedir. Bazı çalışmalar, FGF21'in BAT'deki termojenezin kritik bir regülatörü olduğunu ve WAT oranını arttırdığını göstermektedir. FGF21'in aşırı ekspresyonu veya terapötik uygulaması, enerji harcamasını arttırmaktadır ancak farelerde vücut ağırlığını azaltmaktadır (Xu, Lloyd, Hale, Stanislaus, Chen, Sivits, Vonderfecht, Hecht, Li, Lindberg, Chen, Jung, Zhang, Ko, Kim, vd., 2009; Tamer Coskun vd., 2008).

FGF21 ile tedavi edilen yenidoğan farelerinin vücut sıcaklığında ve mitokondriyal oksidasyon ile BAT termojenik aktivasyonunda yer alan gen/protein ifadesinde artış göstermektedir (Hondares vd., 2010). Diğer yandan, FGF21 KO fareleri, WAT'ın azalmış kahverengileşmesi ile birlikte kronik soğuk maruziyetine uyum sağlamada zayıf davranmaktadır (Fisher vd., 2012). Chau ve ark. FGF21'in adipoz mitokondriyal oksidatif kapasite üzerindeki uyarıcı etkilerinin sırayla AMPK-SIRT1-PGC1 α yolunu aktive eden serin/treonin kinaz 11 (STK11 / LKB1) gerektirdiğini söylemektedir (Chau, Gao, Yang, Wu, & Gromada, 2010). BAT'ın, WAT'a kıyasla nispeten yüksek bir FGF21 seviyesini ifade ettiği bulunmuştur. FGF21 ekspresyonu, cAMP ve MAPK yollarının indüksiyonu yoluyla β -adrenerjik stimülasyon ya da soğukta maruz kalmayla BAT'ta indüklenebilmektedir. İndüklenmiş FGF21, BAT'deki termojenezi daha da arttırmaktadır, böylece hipotermiye karşı sağlam bir savunma sağlamaktadır (Chartoumpakis vd., 2011; Hondares vd., 2011). Termojenez yoluyla artan enerji harcamasının kilo kaybının elde edilmesinde çok etkili olduğu kanıtlanmış olduğundan, FGF21'in BAT aktivasyonu üzerindeki yararlı etkileri, obezite ile ilişkili insülin direnci ve diyabetin FGF21 ile indüklenen iyileşmesini açıklamaktadır.



Şekil 2.6. Farelerde ve insanlarda fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF21) fizyolojisinin özeti

Farelerde, PPAR bağı FGF21 artışına ve serum FGF21 konsantrasyonlarında artışa neden olmaktadır. Karaciğerde FGF21 ekspresyonu ayrıca farelerde yağlı karaciğer hastalığı, obezite ve PPARa ligandları tarafından da indüklenir. Fenofibrat gibi PPARa ligandları ayrıca insan hepatositlerinde FGF21 haberci RNA ekspresyonunu da arttırır. FGF21, fare karaciğerinde ve adipoz dokusunda bKlotho varlığında FGF reseptörü (FGFR) ile etkileşime girer. Bu etkileşim, yağ asidi oksidasyonunun up-regülasyonuna ve karaciğerde lipid sentezinin down-regülasyonuna bağlı olarak bir PPARc koaktivatör protein-1 α (PGC1 α) 'ya yol açar. Fare adipoz dokusunda, PPARc ligandlarının varlığı, FGF21'in üretilmesine yol açar ve FGF21'in kısa vadeli etkisi, lipolitik genlerin ekspresyonunun azalmasına neden olur ve dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin (FFA) düşük konsantrasyonlarına yol açar. FGF21 ile indüklenen hücre dışı sinyal düzenlenmiş kinaz-1'in (ERK) fosforilasyonu, fare 3T3-L1 adipositlerinde ve primer insan adipositlerinde glukoz taşıyıcı-1 (Glut-1) aktivasyonuna ve glukoz alımına yol açar. İnsanlarda serum FGF21 konsantrasyonları diyabet, obezite, metabolik sendrom ve alkolsüz yağlı karaciğer hastalığında (NAFLD) daha yüksektir. Bu etkiye, artan FGF21 karaciğer ekspresyonu aracılık edebilir.

Pankreas adacıklarında FGF21 fonksiyonları

Adacık fonksiyonunda gelişme ve sağkalım

FGF21'in, insülin sekresyonunu ve adacık hücresi büyümesini pozitif olarak düzenlediği ve böylece diyabetik koşullar altında glukoz homeostazını iyileştirmeyi kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Bu bağlamda, FGF21, diyabetik db/db fare adacıklarında hem adacık insülin içeriğini hem de glikoz ile uyarılan insülin sekresyonunu (GSIS) arttırmaktadır (Wente vd., 2006). Ayrıca, FGF21, sıçan adacıkları ve INS-1E hücrelerinde ERK1/2 ve Akt sinyal yollarının aktivasyonu ile palmitik asitler ve sitokinlerin neden olduğu bozulmuş GSIS ve apoptoza karşı korumaktadır (Wente vd., 2006). Bu doğrudan etkilerin yanı sıra, FGF21 ayrıca plazma glikoz ve trigliserit seviyelerini azaltmaktadır (Coskun vd., 2008; Xu vd., 2009; Kharitonov, Shiyanova, Koester, vd., 2005). FGF21 ile gluktoksisite ve lipotoksisitede azalma; uzun süreli tedaviden sonra db/db farelerde artan adacık ve β hücre sayılarına katkıda bulunur, çünkü FGF21'in kendisi doğrudan mitojenliği tetiklememektedir (Wente vd., 2006; Kharitonov, Shiyanova, Koester, vd., 2005).

Son çalışma pankreas adacıklarının yüksek glukoz konsantrasyonlarına maruz kalmasının, T2DM'de FGF21 direncini indüklediğini, bunun içinde pankreas adacıklarının T2DM'nin yaşa bağlı olarak FGF21'e dirençli hale geldiğini göstermektedir (So vd., 2013). Öte yandan, FGF21 KO farelerinde FGF21 sinyalinin kaybı, bozuk adacık morfolojisine ve GSIS'nin bozulmasına yol açmaktadır, ayrıca FGF21'in normal adacık fonksiyonunun sürdürülmesinde kilit rol oynadığı fikrini desteklemektedir (So, Cheng, Xu, Lam, & Leung, 2015).

FGF21 ve PPAR γ

PPAR γ 'nın pankreas adacıklarında ifade edildiği ve Glut2 ve Pdx1 gibi adacık fonksiyonunda kritik olarak rol oynayan çeşitli genlerin transkripsiyonunu düzenlediği bulunmuştur. Çalışmalarla elde edilen bulgular, adacık fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynayan pankreas adacıklarında FGF21 sinyalleri ile PPAR γ arasında karşılıklı bir ilişki olduğuna işaret etmektedir (Gupta vd., 2008; Im vd., 2005; Dubois vd., 2000). Bu bağlamda, rosiglitazonun PPAR γ aktivasyonu, yüksek glukoz veya diyabetin indüklediği β -klotho baskısını ve adacıklardaki bozulmuş FGF21 sinyalini tersine çevirmektedir ve bu etkiler PPAR γ antagonizması tarafından bloke edilmektedir (So vd., 2013). Bu gözlem, PPAR γ 'nin β -klotho ifadesinin düzenlenmesi yoluyla adacık FGF21 sinyalini düzenlediğini göstermektedir. Başka bir çalışmada, FGF21 normal fare adacıklarında PPAR γ ekspresyonunu arttırırken, FGF21 KO fare adacıklarında PPAR γ indirgenmiştir. (So vd., 2015) Birlikte ele alındığında, bu veriler adacıklardaki FGF21 ve PPAR γ arasındaki düzenleyici bir döngüye işaret etmektedir, burada PPAR γ aktivasyonu FGF21 sinyalini teşvik ederken; gelişmiş FGF21 sinyalleri, PPAR γ ekspresyonunu düzenlemektedir. Diyabet veya yüksek glukoz maruz kalma sonucu ortaya çıkan PPAR γ regülasyonu FGF21 sinyalini bozmaktadır ve FGF21 direncinin geliştirilmesi PPAR γ 'nin inaktivasyonuna yol açmaktadır (So vd., 2013).

Pankreas adacıklarında GH sinyalinin engellenmesi

Büyüme Hormonu (GH), insülinin etkilerini antagonize etmekte ve karaciğer, adipoz, kas gibi periferik dokularda insülin direncine yol açmaktadır (Rizza vd., 1982). GH-uyarılmış β -hücre proliferasyonu ve adacıklardaki insülin sentezi, insülin direnci ile ilişkili telafi edici tepkiler olarak kabul edilmektedir (Araujo, Oliveira, & Saad, 2013). GH'nin adacık insülin

sekresyonu üzerindeki ikili etkileri daha önce bildirilmiştir, burada GH, insülin sekresyonunu doğrudan stimüle etmektedir, ancak adacıklardaki glikoza yanıtı bastırmaktadır (Kawabe & Morgan, 1983). FGF21 ve pankreas adacıklarındaki GH sinyalleri arasındaki etkileşim ortaya çıkarılmıştır. Son çalışmalar, FGF21'in GH sinyal yolunu inhibe ettiğini, GH kaynaklı β -hücre proliferasyonunun, insülin ekspresyonunun ve GSIS'in bozulmasının tersine döndüğünü göstermektedir (So vd., 2015). Aynı zamanda, FGF21 eksikliği, insülin direncine, hiperinsülinemiye, artan adacık GH duyarlılığına, adacık hiperplazisine ve bozulmuş GSIS'e neden olmaktadır; bu gözlemlerin bazıları, GH'nin pankreas adacıkları üzerinde iyi bilinen etkileridir (Nielsen, Svensson, Galsgaard, Moldrup, & Billestrup, 1999). Öte yandan, FGF21 KO fare adacıklarındaki gelişmiş insülin ekspresyonu ve bozulmuş GSIS, GH sinyalinin blokajı ile kısmen tersine çevrilebilmektedir (So vd., 2015). Bu sonuçlar, FGF21'in, aşırı GH sinyalleme üzerindeki inhibe edici etkisiyle adacıklardaki normal insülin üretimini ve GSIS'yi kontrol ettiğini, böylece glukoz tehdidi üzerine insülin sekresyonunu korurken hiperinsülinemiye önlediğini göstermektedir.

2.5. Peroksizom Proliferatör Aktifleştirici Reseptör γ Koaktivatör-1 α (PGC1 α)

Peroksizom Proliferatör Aktifleştirici Reseptör γ Koaktivatör-1 α (PGC1 α), uyarılabilir termojenez, mitokondriyal biyogenez, glikoz/yağ asidi metabolizması, iskelet kasında lif tipi değişimi ve kalp gelişimi dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik tepkilerde yer alan geniş bir dizi transkripsiyon faktörü ile etkileşime giren bir transkripsiyonel koaktivatördür. Bir transkripsiyon koaktivatörü, bir genin transkripsiyon faktörleriyle etkileşerek transkripsiyon olasılığını artıran ancak sekansa spesifik bir şekilde DNA'ya bağlanmayan bir protein veya protein kompleksi olarak tanımlanmaktadır (Puigserver & Spiegelman, 2003).

PPAR'lar (PPAR- α , PPAR- δ ve PPAR- γ), tümü PGC1 α tarafından transkripsiyonel koaktivasyona tabi tutulan nispeten büyük bir nükleer reseptör ailesinin üyeleridir. PPAR- γ adipogenez ve farklılaşma için gereklidir (Lowell, 1999). PPAR- α ve PPAR- δ ise yağ asidi oksidasyonunun kontrolünde önemli rol oynamaktadır (Van Raalte, Li, Pritchard, & Wasan, 2004). Ek olarak, PPAR- γ diyabetik hastalarda insülin duyarlılığını arttırmada yaygın olarak kullanılan ilaç olan tiazolidindionların (TZD) hedefidir (Rangwala & Lazar, 2004).

PGC1 α geni, farelerde kromozom 5 üzerinde, insanlarda kromozom 4 üzerinde bulunmaktadır. Bu gen 797 (fare) veya 798 amino asit (insan) içeren bir proteini kodlamaktadır. PGC1 α iki varsayılan nükleer lokalizasyon sinyaline sahiptir ve hücre çekirdeğinde bulunur. Mitokondrinin bol olduğu ve oksidatif metabolizmanın aktif olduğu, kahverengi yağ dokusu (BAT), kalp ve iskelet kası gibi dokularda yüksek seviyelerde eksprese edilmektedir. PGC1 α ekspresyonu ayrıca beyin ve böbrekte de yüksektir fakat ekspresyon seviyesi karaciğerde düşük ve beyaz adipoz dokuda (WAT) çok düşüktür (Finck & Kelly, 2006).

2.5.1. PGC1 α ve glukoz metabolizması

Plazma glukoz homeostazının korunması, memeli organizmalarının hayatta kalması için hayati öneme sahiptir, dolayısıyla glikoz seviyeleri, besin koşullarına ve hormonal sinyallere cevap olarak sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. İnsülin, karaciğerde glikoz üretimini inhibe ederek ve iskelet kası ile beyaz yağ dokusuna glikoz atılmasını teşvik ederek plazma glikoz seviyesini baskılamaktadır. Buna karşılık, glukagon ve glukokortikoidler, karaciğerde glikojenolizin aktivasyonuna ek olarak, glikoneogenez aktivasyonu ve karaciğerde glikoz kullanımının azaltılmasıyla glikoz seviyelerini arttırmaktadır. Toklukta, PGC1 α , karaciğerde çok düşük seviyelerde eksprese edilmektedir (Herzig vd., 2001). Bununla birlikte, açlık, sırasıyla hepatik glukoneogenez ve yağ asidi oksidatif metabolizmasını uyaran güçlü bir PGC1 α ifadesi artışı üretmektedir (Yoon vd., 2001). Açlık sırasında, PGC1 α 'nın ifadesi, cAMP yolunun ve CREB transkripsiyon faktörünün uyarılması yoluyla glukagon ve katekolaminler tarafından aktive edilmektedir. Daha sonra PGC1 α , hepatik nükleer faktör-4, glukokortikoid reseptörü ve fox proteini O1 (FOXO1) gibi çeşitli transkripsiyon faktörlerini koaktif etmektedir. Bu transkripsiyon faktörleri, fosfoenolpiruvat karboksiaz (PEPCK) ve glukoz-6-fosfataz (G-6-Pase) gibi anahtar glukoneojenik enzimleri kodlayan genlerin promoter bölgelerine bağlanmaktadır (H. Liang & Ward, 2006).

Doku kültürü çalışmaları, primer hepatositlerde PGC1 α 'nın aşırı ekspresyonunun anahtar glukoneojenik genlerin ekspresyonunu ilerletmek için yeterli olduğunu ortaya koymuştur (Yoon vd., 2001). PGC1 α ekspresyonunun fare karaciğerinde kısa süreli RNA'ya müdahale ederek nakavt edilmesi, PEPCK ve G-6-Pase ekspresyonunu önemli ölçüde azaltmıştır (Koo vd., 2004). PGC1 α 'nın hepatik glukoneogenez kontrolündeki ana rolü, PGC1 α eksikliği olan

fare modelindeki çalışmalar ile daha da güçlendirilmiştir (Leone vd., 2005). PGC1 α nakavt farenin bir straini, bozulmuş glukoneojenik gen ekspresyonu ve hepatik glukoz üretimine cevap olarak açlık hipoglisemi sergilemektedir (Leone vd., 2005; Lin vd., 2004). Glikoneogenezde yer alan PGC1 α hedef genlerinin ifadesi, PGC1 α eksik farelerin diğer straininde değişmemiş olmasına rağmen, hepatik glukoz üretimi, azalan yağ asidi beta oksidasyonuna ve trikarboksilik asit siklusu akışına indirgenmiştir (Burgess vd., 2006). Kısa süreli açlıktan sonra, bir PGC-1 α eksikliği olan farede, azalmış mitokondriyal yağ asidi oksidasyon kapasitesinin bir kombinasyonuna ve artan bir lipojenik gen ekspresyonuna bağlı olarak hepatik steatoz geliştiği gözlenmiştir (Leone vd., 2005). Açlık ayrıca, PGC-1 α ile birlikte aktif hale getirildiğinde, hepatik yağ asidi oksidasyonunda yer alan genlerin ekspresyonuyla sonuçlanan PPAR α ekspresyonunu da indüklemektedir. Besin yoksunluğu koşulları altında tarif edilen gen ekspresyonu değişiklikleri, yakıt kullanımında glikoz kullanımından yağ asidi oksidasyonuna bir geçişe neden olmaktadır ve bu, merkezi sinir sistemi tarafından kullanım için glukozun korunmasına katkıda bulunmaktadır (Herzig vd., 2001; Yoon vd., 2001).

Beslenme koşulları altında, iskelet kası glukoz bertarafı için önemli bir bölgedir. İskelet kası, hücre zarında bulunan glikoz taşıyıcıları (GLUT) kullanarak glikoz alır. İki tip iskelet kası GLUT vardır: yapıcı, insüline duyarlı GLUT1 ve GLUT3 ve insüline duyarlı GLUT4. PGC1 α 'nın kültürlenmiş kas hücrelerinde ve iskelet kasında GLUT 4'ün ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Baar vd., 2002; Michael vd., 2001). Miyosit arttırıcı faktör ailesi 2 (MEF2C)'nin kültürlenmiş kas hücrelerinde PGC1 α ile indüklenen GLUT4 ekspresyonuna aracılık ettiği gösterilmiş olmasına rağmen (Michael vd., 2001), MEF2A izoformunun diğer şartlar altında GLUT4 artışından sorumlu olduğu görünmektedir (Baar vd., 2003; Mora & Pessin, 2000). Şaşırtıcı bir şekilde, PGC1 α 'nın, in vivo olarak iskelet kası içindeki glikoz alımını arttırdığı, ancak iskelet kası hücrelerine artan bir glikoz alımını indüklediği görülmemiştir (Michael vd., 2001). Ek olarak, GLUT4 ekspresyonunun bir kas seçici PGC1 α transgenik fare modelinde aşağı regüle edildiği bildirilmiştir (Miura, Kai, Ono, & Ezaki, 2003). İnsülinin ayrıca GLUT4'ün insüline duyarlı dokuların hücre zarına alınmasını teşvik ettiği tespit edilmiştir. PGC1 α promotor aktivitesinin insülin tarafından inhibe edildiğini yani insülinin PGC1 α 'nın ekspresyonu üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğunu gösteren bazı kanıtlar vardır (Herzig vd., 2001). Aynı zamanda, hepatik PGC1 α ekspresyon seviyelerinin insülin yetersizliği gösteren hayvan modellerinde arttırıldığı bildirilmiştir (Yoon vd., 2001). Öte yandan, PGC1 α 'nın insülinin işlevini baskılama etkisini gösteren

kanıtlar bulunmaktadır. Bu etki için mekanizma, FOXO1 transkripsiyon faktörünü içermektedir. İnsülin sinyal yolunun aktivasyonu, FOXO1'in fosforilasyonuna neden olmakta, çekirdeğe translokasyonunu inhibe etmekte ve bozulmaya karşı duyarlılığını arttırmaktadır. PGC1 α , FOXO1'in glukoneojenik genlerin promotor bölgelerine bağlanmasını gerektirdiğinden, bu insülin etkisinin, PGC1 α etkisi üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğu düşünülmektedir (Puigserver vd., 2003).

2.5.2. PGC1 α ve tip 2 diyabet

İnsülin direnci; iskelet kasında glikoz atılması ve karaciğer tarafından glukoz üretiminin baskılanması gibi durumlarda insülinin biyolojik etkilerinin beklenenden daha az olduğu zaman oluşmaktadır (H. Liang & Ward, 2006). İnsülin seviyesi bu insüline dirençli durumu aşmak için yeterli olmadığında, Tip 2 diyabet meydana gelmektedir. Bu bağlamda, mitokondriyal disfonksiyonun insülin direncinin ve Tip 2 diyabetin patogenezinde rol oynadığını gösteren kanıtlar artmaktadır. Örneğin, Tip 2 diyabetik hastalarda, hem mitokondriyal oksidatif enzimlerin hem de mitokondri kompleksi I'in aktivitelerinin azaldığı bildirilmiştir (Kelley, He, Menshikova, & Ritov, 2002).

Hem obezite hem de mitokondriyal disfonksiyon, insülin direncinin gelişimi için risk faktörleridir, obez bireylerin, tehlikeli bir biyoenerjetik kapasite sergileyen daha küçük mitokondrilere sahip oldukları bildirilmiştir. İnsülin direnci yaşla birlikte de gelişmektedir ve bu durumda, mitokondriyal yağ asidi oksidasyonu yolağında potansiyel olarak önemli bir hata bulunmuştur. Yağ asit oksidasyon oranında bir azalma olduğu görülmekte ve bu durum yaşlı hastalarda hücre içi trigliseritlerin genç kontrol grubuna kıyasla birikmesine neden olmaktadır. Ayrıca, trigliseritlerin birikmesi, iskelet kası ve karaciğerde insülin direncinin gelişimi ile doğrudan ilişkilidir (Petersen vd., 2003). Bu nedenle, spesifik bir mitokondriyal disfonksiyon türü, yani azalmış yağ asidi oksidasyonu, hem yaşlanma hem de obezitede insülin direncinin gelişiminde önemli bir rol oynayabilmektedir. (Petersen vd., 2003) Trigliseritlerin, pankreas β -hücrelerinde de birikebilmektedir ve bu, glikoz bertarafı sorununu daha da artıracak olan insülin sekresyonunun azalmasına neden olmaktadır (Unger, 1995). Yukarıda belirtildiği gibi, hücre içi trigliseritlerin birikmesi, mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna bağlı yağ asidi oksidasyonundaki bir eksikliğin sonucu olabilmektedir. Sonuç olarak, insülin direncinin nedeni, Tip 2 diyabetin etiyolojisinin anlaşılmasında önemli bir

mekanizma olan trigliseritlerin birikmesinden çok mitokondriyal fonksiyon bozukluğundan kaynaklanmaktadır.

PGC1 α fonksiyonu, insülin duyarlılığı ve Tip 2 diyabet arasında yakın bir ilişki olduğu, bu durumun PGC1 α 'nın mitokondri biyogenezindeki ve glikoz/yağ asidi metabolizmasındaki ana rolleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu hipotezi destekleyen kanıtlar çeşitli çalışmalarda bulunmuştur. Örneğin, PGC-1 α ekspresyonunun Tip 2 diyabetik deneklerin kaslarında aşağı regüle edildiği gözlenmiştir (Petersen, Dufour, Befroy, Garcia, & Shulman, 2004; Mootha vd., 2003). Ek olarak, düşük PGC1 α aktivitesini ifade eden PGC1 α geninin (Gly482Ser) ortak bir polimorfizmi, Tip 2 diyabet riskinin artmasıyla bağlantılı bulunmuştur (Muller, Bogardus, Pedersen, & Baier, 2003 ; Hara vd., 2002). Bu gözlemler, düşük seviyelerde veya PGC-1 α 'nın zayıflamış aktivitesinin, insülin direnci ve Tip 2 diyabet gelişimi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu bağlamda, önemli bir antidiyabetik ilaç sınıfı olan TZD'ler, PGC1 α 'nın aktivasyonu ile çakışan insülin duyarlılığını da arttırmaktadır. TZD'lerin etkilerine, PGC-1 α 'nın mitokondri biyogenezini aktive etme ve mitokondriyal fonksiyonu artırma kabiliyeti aracılık etmektedir (Wilson-Fritch vd., 2004). PGC1 α , yağ asidi oksidatif metabolizmasını destekleyerek kas lifi tipinin daha oksidatif tip I ve IIa liflerine dönüşümünü uyarmaktadır (Lin vd., 2002). Yağ asidi oksidatif metabolizmasının teşvik edilmesinin, kasta yağ birikiminin azalmasına yol açması beklenmektedir, bu da, insülin duyarlılığını arttırmaktadır çünkü trigliserit birikimi ile insülin direnci arasında yakın bir ilişki vardır (Petersen vd., 2003). Artan insülin duyarlılığının bir tezahürü, insüline duyarlı dokular tarafından artan glukoz alımıdır. PGC1 α 'nın iskelet kası içindeki insüline duyarlı GLUT4 ekspresyonunu aktive ettiği bildirilmiştir (Baar vd., 2002; Michael vd., 2001). Birlikte ele alındığında sunulan kanıtlar, PGC1 α 'nın insülin direncini ve Tip 2 diabetes mellitusun önlenmesindeki rolünü desteklemektedir.

Bununla birlikte, tip 2 diyabet gözlenen insan kasında PGC1 α ekspresyonunda azalma bildirilmektedir bunun aksine, PGC1 α ekspresyonunun, hem Tip 1 hem de Tip 2 diyabetik fare modellerinin karaciğerinde arttığı belirtilmektedir (Puigserver & Spiegelman, 2003). Ayrıca, PGC-1 α 'nın karaciğerde insülin sinyal yolunu inhibe ettiği (Koo vd., 2004). kültürlenmiş myotüplerde glikoz kullanımını inhibe ettiği (Wende, Huss, Schaeffer, Giguere, & Kelly, 2005) ve farelerde b-hücresi enerji metabolizmasını ve insülin salımını baskıladığı gösterilmektedir (Yoon vd., 2003). Artan hepatik PGC1 α ekspresyonunun

hepatik glukoz çıkışı uyarması beklenmektedir ve PGC-1 α 'nın insülin sinyali ve salgılanması üzerindeki inhibe edici etkisiyle birleştiğinde, kombine etkiler, hiperglisemik duruma, bir prodiabet etkisine katkıda bulunacaktır. PGC-1 α 'nın bu prodiabetik etkisi, PGC-1 α eksikliği olan fare modellerinde geliştirilmiş insülin duyarlılığının gelişimi ile desteklenmektedir (Leone vd., 2005; Koo vd., 2004; Lin vd., 2004). Ayrıca, başka bir rapor, mitokondriyal fonksiyondaki ciddi bozulmalara rağmen, PGC1 α ifadesinin insüline dirençli deneklerde normal olduğunu göstermektedir (Morino vd., 2005).

İndüklenebilir bir transkripsiyon koaktivatörü olarak PGC-1 α , metabolik olarak aktif dokularda zenginleşmektedir. Uyarlanabilir termojenez, iskelet kası, glukoz/yağ asidi metabolizması ve kalp gelişimi ile yakından ilgilidir. Bu çeşitli biyolojik tepkiler arasında, ortak bir etki mekanizması, mitokondri biyojenezinin uyarılmasına eşlik eden oksidatif metabolizmanın desteklenmesidir. Ayrıca, PGC1 α 'nın obezite, diyabet ve kardiyomiyopati gibi bozukluklarda rol oynadığına dair kanıtlar artmaktadır. PGC1 α 'nın bu kadar önemli biyolojik süreçlere dahil olması nedeniyle, etki mekanizmalarının anlaşılması ve bu bozuklukların tedavisi için farmakolojik müdahalelerin tasarımı amacıyla bir hedef haline gelmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız için Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan onay alınmıştır. Etik kurul no: G.Ü.ET-19.016 (EK-1). Ayrıca bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi 01/2019-19 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Çalışmalar, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM), Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Afyon Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Hayvanlar ve Diyet

Deneysel olarak MetS modeli oluşturmak üzere Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM)'nden 24 adet, her biri 220 ± 15 g ağırlığında yetişkin erkek Sprague-Dawley (de Moura vd., 2009; Sánchez-Lozada vd., 2007) türü ratlar temin edilmiştir. Deney hayvanları her kafeste 6 adet olacak şekilde rastgele yerleştirilmiştir. Hayvanlar deneyler boyunca 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsünde, sıcaklığın $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 'ye ayarlandığı bir ortamda tutulmuştur. 10 hafta boyunca tüm deney hayvanlarına; % 88 kuru madde, % 23 protein, % 7 selüloz, % 8 ham kül, % 2 HCl'de çözülmeyen kül, % 1,5 kalsiyum, % 0,9 fosfor, % 0,7 sodyum, % 1 tuz, % 0,3 metiyonin ve % 1 lizin içeren standart sıçan yemi verilmiştir. Tüm gruplara içme suyu olarak çeşme suyu verilmiştir, hayvanların su ve yem tüketimine kısıtlama getirilmemiştir (de Moura vd., 2009).

3.2. Kimyasallar

Bu çalışmada Sigma marka kuersetin ($\geq 95\%$) ve Merck (Darmstadt, Germany) marka D-fruktoz ($\geq 99\%$) kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan diğer kimyasallar ise Sigma veya Merck marka kullanılmıştır.

3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızda deney hayvanları her biri 6'şar hayvandan oluşan; kontrol, fruktoz, kuersetin, fruktoz+ kuersetin olmak üzere 4 adet deney grubuna ayrılmıştır ve 10 hafta (75 gün) boyunca aşağıdaki çizelgede belirtilen işlemler uygulanmıştır:

Çizelge 3.1. Deney grupları ve gruplara uygulanan işlemler

DENEY GRUPLARI	DENEY GRUPLARINA UYGULANAN İŞLEMLER
GRUP 1: (n=6) (KONTROL)	Kontrol grubundaki deney hayvanlarına ilk günden itibaren 10 hafta boyunca vücut ağırlıklarıyla orantılı olarak % 0,2'lik hazırlanmış Dimetil Sülfoksit (DMSO) çözeltisi ve içmeleri için çeşme suyu gavaj yoluyla verilmiştir.
GRUP 2: (n=6) (FRUKTOZ)	Fruktoz grubundaki deney hayvanlarına ilk günden itibaren 10 hafta boyunca D-fruktozun çeşme suyu içerisinde % 20 oranında çözülmesiyle hazırlanan fruktoz çözeltisi içme suyu olarak verilmiştir (Rodrigo Ferreira De Moura vd., 2009; Nakagawa vd., 2006). Fruktoz çözeltisi her gün taze olarak hazırlanmıştır ve ayrıca, her gün vücut ağırlıklarıyla orantılı olarak %0,2 'lik (DMSO) çözeltisi oral gavaj yoluyla uygulanmıştır.
GRUP 3: (n=6) (KUERSETİN)	Kuersetin grubundaki deney hayvanlarına ilk günden itibaren 10 hafta boyunca oral gavaj yoluyla 15 mg/kg dozda kuersetin çözeltisi vücut ağırlıklarıyla orantılı olarak verilmiştir. Kuersetin çözeltisi % 0,2'lik DMSO içerisinde her gün taze olarak çözülmesiyle hazırlanmıştır. Kuersetin dozunun belirlenmesinde referans olarak daha önce antioksidan, antidiyabetik ve karaciğer koruyucu etkisi bakımından anlamlı sonuçlar elde edilen çalışmalardan yararlanılmıştır (Vessal vd., 2003).
GRUP 4: (n=6) (FRUKTOZ+KUERSETİN)	Fruktoz + Kuersetin grubundaki deney hayvanlarına ilk günden itibaren 10 hafta boyunca hem fruktoz grubuyla aynı dozda ve şekilde fruktozlu içme suyu verilmiştir, hem de kuersetin grubuyla aynı dozda ve şekilde kuersetin uygulanmıştır.

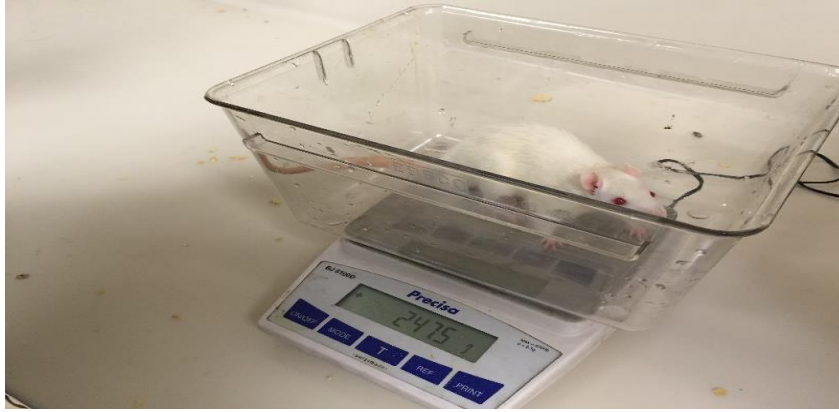
10 haftalık sürenin sonunda, deney hayvanları ketamin-ksilazin anestezisi altında, intarkardiyak kan alınarak feda edilmiştir. Ardından karaciğerleri alınıp sıvı azotta dondurulmuştur ve elde edilen serum numuneleri ile birlikte -80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.4. Yöntemler

3.4.1. Vücut ağırlığının tespiti ve sistolik kan basıncının ölçülmesi

Hayvanların vücut ağırlıkları; deneye başlarken, her haftanın sonunda ve hayvanlar feda edilmeden hemen önce ölçülmüştür. Hayvanların sistolik kan basınçları ise; kuyruktan Tail-Cuff, BIOPAC Systems ile deneyin başlangıcında, 1. ayın sonunda ve hayvanlar feda edilmeden önce ölçülmüştür. Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde gerçekleştirilen ölçümlerde, ölçümden hemen önce

sıçanlar ısınma kabinine alınmıştır, sürekli ve düzenli kuyruk kan akışı oluşabilmesi amacıyla 10-15 dk boyunca vücut ile kuyruk ısılarının 32-33°C'ye ulaşması sağlanmıştır. Hayvanlar kuyrukları dışarıda olacak şekilde uygun sıkıştırma kabinine alındıktan sonra manşon ve sensör kuyruğa takılarak ölçümler yapılmıştır (Krege, Hodgins, Hagaman, & Smithies, 1995) (Resim 3.1, Resim 3.2).



Resim 3.1. Sıçanların vücut ağırlıklarının ölçülmesi



Resim 3.2. Sistolik kan basıncının ölçülmesi

3.4.2. Obezite indeksi

Her bir deney hayvanının “Lee İndeksi” deneyin 10. haftası tamamlandıktan sonra aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanmıştır. 0.3 referans değerine eşit veya 0.3’den daha az değere sahip sıçanlarınki normal kabul edilirken, 0.3’den büyük değere sahip olan sıçanlar obez olarak sınıflandırılmıştır (Bernardis & Patterson, 1968) (Resim 3.3).

$$\sqrt[3]{VA} \times \frac{10}{\text{Burun-Anüs mesafesi(mm)}} \leq 0,30 \text{ normal}$$

$$> 0,30 \text{ obez}$$



Resim 3.3. Sıçanların burun ile anüs arası mesafe ölçümü

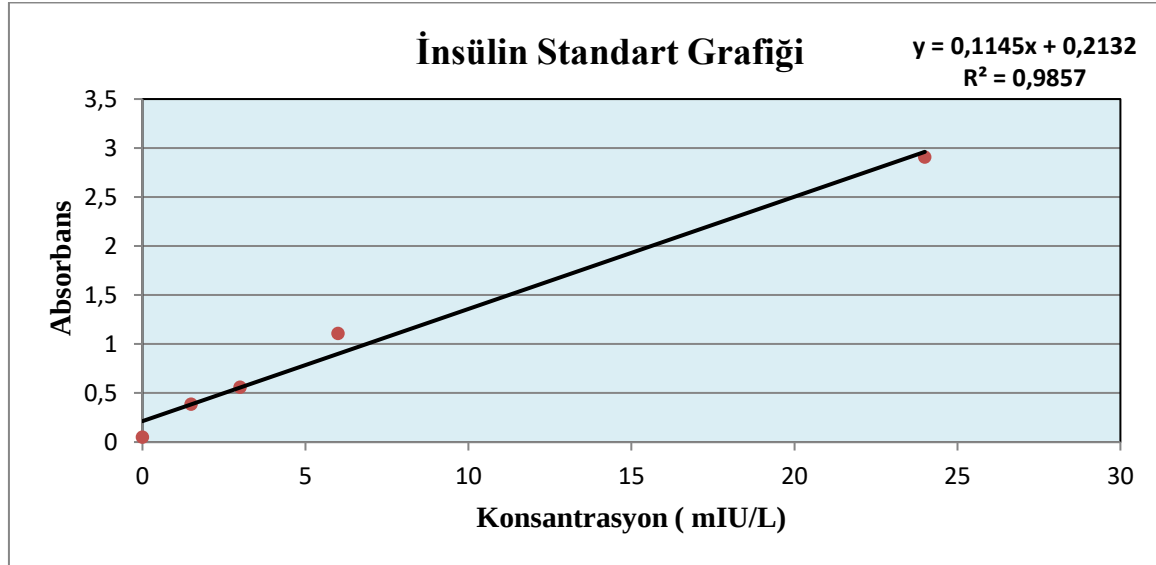
3.4.3. Serum glukoz ve lipid düzeylerinin belirlenmesi

Hayvanlar feda edilirken kan örnekleri intrakardiyak yolla alınmıştır ve serumları elde edilmiştir. Daha sonra Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya Laboratuvarı'nda Beckmann AU5800 biyokimya otoanalizöründe enzimatik analiz kitleri kullanılarak; glukoz, trigliserit, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol ve VLDL kolesterolü içeren lipid profil düzeyleri tayin edilmiştir.

3.4.4. Serum insülin ve HOMA-IR düzeylerinin belirlenmesi

Serum insülin seviyelerinin (Millipore, USA) tayininde sandviç enzim immunoassay prensibine uygun olarak ELISA kitleri kullanılmıştır. Sandviç enzim immunoassay prensibine göre numunelerdeki ölçüm yapılacak madde monoklonal antikorlarla kaplı reaksiyon plağına bağlanırken, bu maddeye de HRP enzimiyle işaretli 2. bir monoklonal antikor bağlanmaktadır. Enzim ile eklenen kromojenik solüsyon arasında oluşan etkileşim sonucu renk oluşmaktadır, ölçülmek istenen maddenin konsantrasyonu oluşan rengin şiddeti ile doğru orantılıdır. Serum insülin seviyeleri için standart kalibrasyon grafiği

oluşturulmuştur ve örneklerin insülin konsantrasyonunu hesaplamakta kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. İnsülin standart grafiği

İnsülin direnci düzeyi olan HOMA-IR değeri;

$$\frac{\text{insülin (mU/L)} \times \text{glukoz (mmol/L)}}{22.5}$$

matematiksel formülüne göre hesaplanmıştır (Ferreira, Oliveira, & França, 2007).

3.4.5. Karaciğer doku örneklerinin homojenize edilmesi

Karaciğer doku örnekleri 1/10 oranında 50 mM Tris-HCl (pH=7.4) tamponunda, buz içinde homojenize edilmiştir. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde 15.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilip, süpernatantlardan total doku protein tayini yapılmıştır (Lowry, Rosebrough, Farr, Randall, 1951).

3.4.6. Karaciğer doku homojenatlarında protein tayini

Karaciğer doku örneklerinde total protein tayini Oliver H. Lowry ve ark. tarafından bildirilen Lowry yöntemine göre gerçekleştirildi. Bu yöntem; alkali ortamda bakır iyonunun (Cu^{+2})

proteinlerdeki peptid bağları ile bir kompleks oluşturması sonucunda Cu^{+1} 'e indirgenmesi esasına dayanmaktadır. İndirgenmiş bakır ve proteinlerin yan zincirinde yer alan Sistein (Cys), Tirozin (Tyr) ve Triptofan (Trp) aminoasitleri Folin-Fenol reaktifini indirgeyerek renk oluşumuna sebep olmaktadır. Oluşan rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve 750 nm'de spektrofotometrik yöntemlerle ölçülmektedir (Lowry vd., 1951).

Kullanılan Reaktifler

A reaktifi: %2'lik Na_2CO_3 içinde 0,1 N'lik NaOH

B1 reaktifi: %2'lik Na-K tartarat

B2 reaktifi: %1'lik CuSO_4

Folin ciocalteu's fenol

Standart: 1 mg/ml bovine serum albumin (BSA) kullanılmıştır.

C solüsyonu: 1 ml B₁ + 0,1 ml B₂ + 33 ml A solüsyonu

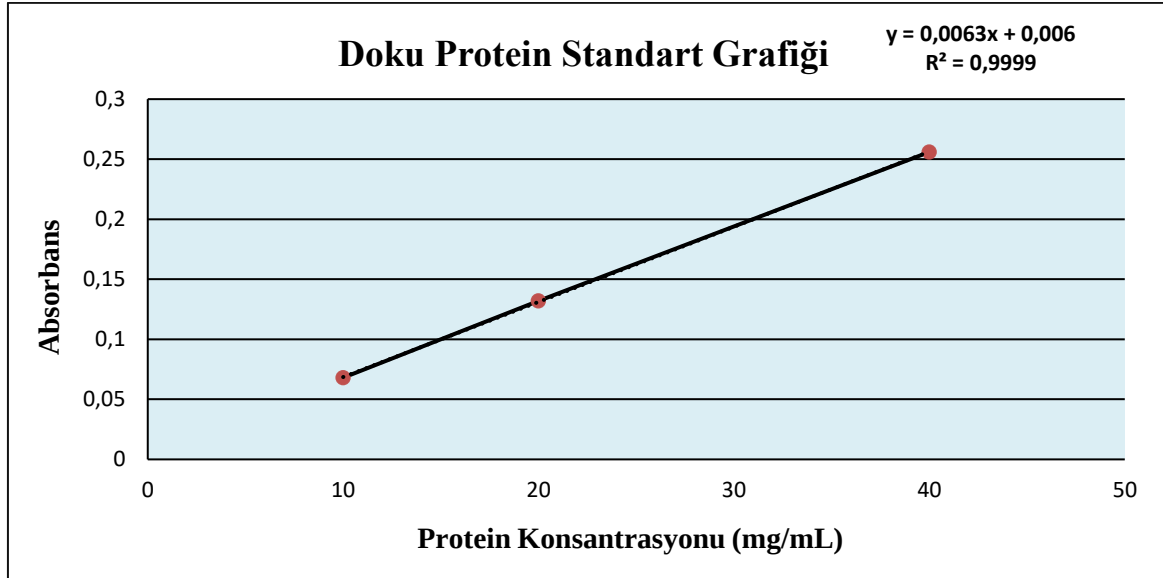
Folin reaktifi: 1 hacim Folin ciocalteu's fenol + 1 hacim distile su

Deneyin yapılışı

Çizelge 3.2. Doku protein tayini

Tüpler	BSA	Numune	Distile su	C solüsyonu
Kör	-	-	100 µl	2 ml
Standart-1	10 µl	-	90 µl	2 ml
Standart-2	20 µl	-	80 µl	2 ml
Standart-3	40 µl	-	60 µl	2 ml
Numune	-	10 µl	90 µl	2 ml

Deney tüpleri vortekslendikten sonra, 20 dakika bekletilmiştir. Daha sonra deney tüplerine 200 µl folin reaktifi eklenerek iyice vortekslenip, 1 saat karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Tüpler 750 nm'de köre karşı okunmuştur (Lowry, Rosebrough, Farr, Randall, 1951).



Şekil 3.2. Doku protein standart grafiği

Hesaplama

$$\text{Protein miktarı} : \frac{\text{Numune Abs}}{\text{Standart Abs}} \times \text{standart konsantrasyonu.}$$

Sonuçlar mg/ml cinsinden hesaplanmıştır (Şekil 3.2).

3.4.7. Karaciğer dokusu fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF21) düzeyleri ölçümü

Çalışmamızda, metabolik sendrom oluşturulan ratlarda etkisinin incelenmesi için karaciğer doku FGF21 düzeyleri Cusabio Rat- (YLA1377RA) (CSB-EL008627RA) kantitatif ELISA test kiti kullanılarak ölçülmüştür.

Kit prensibi

Bu kit, Rat serumu, plazması, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarda Fibroblast Büyüme Faktörü 21 (FGF21)'nin in vitro kantitatif ölçümü için Biotin çift antikorlu sandviç teknolojisine dayanan enzim bağımlı immünoassay (ELISA) tekniğini kullanır.

Fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF21) monoklonal antikorlu ile önceden kaplanmış kuyucuklara standartlar ile numuneler pipetlenir, fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF21) ilave edilir ve inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrasında streptavidin-HRP ile kompleks oluşturması için biotinle etiketlenmiş anti-FGF21 antikorları da kuyucuklara eklenir. İnkübasyon ve yıkamadan sonra bağlanmamış enzimler ortamdan uzaklaştırılır. Substrat A ve B solüsyonları eklendikten sonra çözelti rengi maviye döner. Son olarak reaksiyonu durdurmak için durdurucu solüsyon (stop solution) eklenir ve içerisindeki asidin etkisiyle çözelti renginin sarıya döndüğü gözlemlenir. Oluşan rengin absorbansı 450 nm’de ölçülür. Çözeltinin renk şiddetiyle ve rat fibroblast büyüme faktörü 21 konsantrasyonu (FGF21) pozitif olarak ilişkilidir.

Çizelge 3.3. FGF21 ELISA kiti içerisinde yer alan ölçüm materyalleri

REAKTİFLER	MİKTAR
Antikor kaplı mikrolaka	1 adet (96 kuyucuklu)
Standart dilüsyon solüsyonu	1 x 3 ml
Standart Solüsyonu (1600 pg/ml)	1 x 0.5 ml
Substratlar (Kromojen A,B)	2 x 6 ml
Streptavidin-HRP	1 x 6 ml
Biotin ile etiketli anti-FGF21 antikorlu	1 x 1 ml
Yıkama tamponu (30 x konsantre)	1 x 20 ml
Durdurma solüsyonu	1 x 6 ml

Reaktiflerin hazırlanması

Standart çözeltilerin hazırlanması

- 7 adet boş endorff tüpe 120 µl standart dilüsyon solüsyonu pipetlendi.
- Stok standart çözeltiden 120 µl alınarak ilk tüpe aktarıldı, böylece 1:2 oranında seyreltme yapılarak 800 pg/ml konsantrasyonuna sahip standart çözelti elde edildi.
- Diğer tüpler için de aynı oranda seyreltme işlemi tekrarlandı.

Standart çözeltilerin hazırlanmasında uygulanan işlemler çizelge içerisinde belirtilmiştir:

Çizelge 3.4. Standart çözeltilerin hazırlanması

STANDARTLAR	HAZIRLANIŞI
800 pg/ml	120µl 1600 pg/ml'lik standart +120µl Standart dilüent
400 pg/ml	120µl 800 pg/ml'lik standart +120µl Standart dilüent
200 pg/ml	120µl 400 pg/ml'lik standart +120µl Standart dilüent
100 pg/ml	120µl 200 pg/ml'lik standart +120µl Standart dilüent
50 pg/ml	120µl 100 pg/ml'lik standart +120µl Standart dilüent

Yıkama tamponunun hazırlanması

Kit içeriğindeki mevcut yıkama tamponu 30 kat konsantre olup çalışma anında 1 hacim yıkama tamponu ve 29 hacim distile su kullanılarak 30 kat seyreltilmiştir. Kuyucuk başına harcanması gereken miktar hesaplanarak gerekli miktarda tampon hazırlanmıştır.

*Deney Prosedürü**Örnek enjeksiyonu*

- *Blank well:* Yalnızca Kromojen A ve B çözeltileri eklendi.
- *Standart solüsyon kuyucuğu:* 50µl standart solüsyonu ve 50µl streptavidin-HRP eklendi.
- *Test edilecek örnek kuyucuğu:* 40µl doku homojenatı ve daha sonra 10µl FGF21 antikoru ile 50µl streptavidin-HRP eklendi. Ardından plaka üzeri yapışkanlı membran ile kapatıldı. Karıştırmak için hafifçe çalkalanıp, 60 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi.

Yıkama

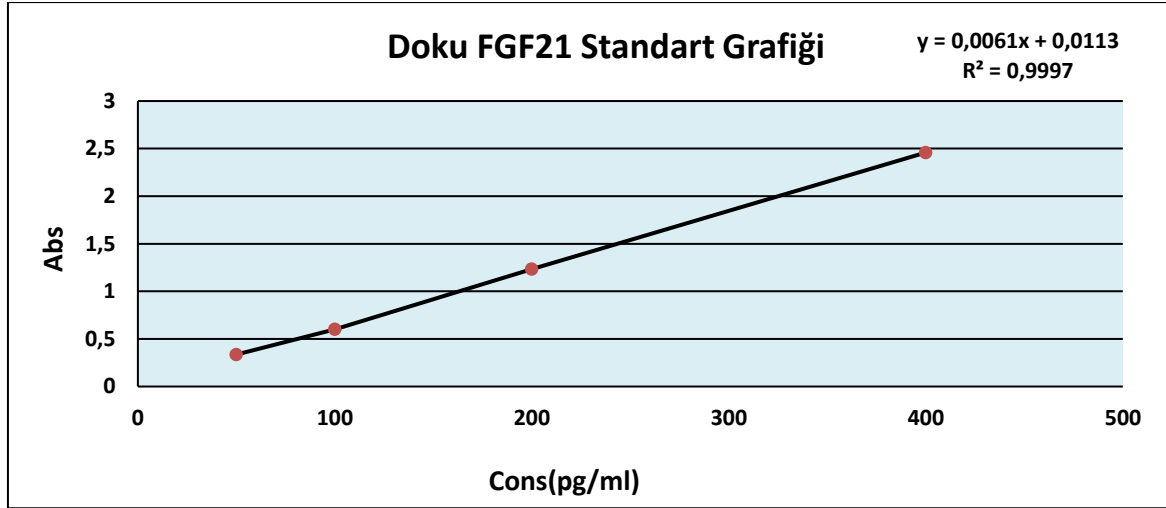
İnkübasyon süresi sonunda plakanın üzerindeki membranı dikkatlice çıkarıldı, tüm kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı. Hazırlanan yıkama tamponu ile otomatik plaka yıkama cihazında yıkandı. Ardından bu işlem beş kez tekrarlandı.

Renk gelişimi

Her kuyucuğa önce 50µl kromojen A substrat çözeltisi, daha sonra her birine 50µl kromojen B substrat çözeltisi eklendi. Karıştırmak için hafifçe çalkalandıktan sonra renk gelişimi için 10 dakika boyunca karanlıkta 37 °C'de inkübe edildi.

Reaksiyonu durdurma

Reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa 50µl durdurma solüsyonu eklendi. Mavi rengin durdurma solüsyonuyla birlikte anında sarıya dönüşü gözlemlendi. Ardından 10 dakika içerisinde 450 nm’de absorbans değerlerinin okuması gerçekleştirildi.



Şekil 3.3. Doku FGF21 standart grafiği

Sonuçlar pg/mg protein cinsinden verilmiştir (Şekil 3.3).

3.4.8. Karaciğer dokusu peroksizom proliferatör aktiveleştirici reseptör gama koaktivatör-1α (PGC1α) düzeyleri ölçümü

Çalışmamızda, metabolik sendrom oluşturulan ratlarda etkisinin incelenmesi için karaciğer doku PGC1α düzeyleri Cusabio Rat PGC1α (YLA0090RA) (CSB-EL008627RA) kantitatif ELISA test kiti kullanılarak ölçüldü.

Kit Prensipli

Bu kit, Rat serumu, plazması, doku homojenatları ve diğer biyolojik sıvılarda PGC1α’nın in vitro kantitatif ölçümü için Biotin çift antikoru sandviç teknolojisine dayanan enzim bağımlı immünoassay (ELISA) tekniğini kullanır.

PGC1α monoklonal antikoru ile önceden kaplanmış kuyucuklara standartlar ile numuneler pipetlenir, PGC1α ilave edilir ve inkübasyona bırakılır. Inkübasyon sonrasında streptavidin-

HRP ile kompleks oluşturması için biotinle etiketlenmiş anti-PGC1 α antikorları da kuyucuklara eklenir. İnkübasyon ve yıkamadan sonra bağlanmamış enzimler ortamdan uzaklaştırılır. Substrat A ve B solüsyonları eklendikten sonra çözeltili rengi maviye döner. Son olarak reaksiyonu durdurmak için durdurucu solüsyon (stop solution) eklenir ve içerisindeki asidin etkisiyle çözeltili renginin sarıya döndüğü gözlemlenir. Oluşan rengin absorbansı 450 nm’de ölçölür. Çözeltinin renk şiddetiyle ve Rat PGC1 α konsantrasyonu pozitif olarak ilişkilidir.

Çizelge 3.5. PGC1 α ELISA kiti içerisinde yer alan ölçüm materyalleri

REAKTİFLER	MİKTAR
Antikor kaplı mikrolaka	1 adet (96 kuyucuklu)
Standart dilüsyon solüsyonu	1 x 3 mL
Standart Solüsyonu (32 ng/ml)	1 x 0.5 mL
Substratlar (Kromojen A,B)	2 x 6 mL
Streptavidin-HRP	1 x 6 mL
Biotin ile etiketli anti-PGC1 α antikoru	1 x 1 mL
Yıkama tamponu (30 x konsantre)	1 x 20 mL
Durdurma solüsyonu	1 x 6 mL

Reaktiflerin hazırlanması

Standart Çözeltilerin Hazırlanması

- 7 adet boş endorf tüpe 120 μ L standart dilüsyon solüsyonu pipetlendi.
- Stok standart çözeltiden 120 μ L alınarak ilk tüpe aktarıldı, böylece 1:2 oranında seyreltme yapılarak 16 ng/ml konsantrasyonuna sahip standart çözelti elde edildi.
- Diğer tüpler için de aynı oranda seyreltme işlemi tekrarlandı.

Standart çözeltilerin hazırlanmasında uygulanan işlemler çizelge içerisinde belirtilmiştir:

Çizelge 3.6. Standart çözeltilerin hazırlanması

STANDARTLAR	HAZIRLANIşI
16 ng/ml	120 μ L 32 ng/ml’lik Standart +120 μ L Standart dilüent
8 ng/ml	120 μ L 16 ng/ml’lik Standart +120 μ L Standart dilüent
4 ng/ml	120 μ L 8 ng/ml’lik Standart +120 μ L Standart dilüent
2 ng/ml	120 μ L 4 ng/ml’lik Standart +120 μ L Standart dilüent
1 ng/ml	120 μ L 2 ng/ml’lik Standart +120 μ L Standart dilüent

Yıkama tamponunun hazırlanması

Kit içeriğindeki mevcut yıkama tamponu 30 kat konsantre olup çalışma anında 1 hacim yıkama tamponu ve 29 hacim distile su kullanılarak 30 kat seyreltildi. Kuyucuk başına harcanması gereken miktar hesaplanarak gerekli miktarda tampon hazırlandı.

Deney Prosedürü

Örnek enjeksiyonu

- *Blank well:* Yalnızca Kromojen A ve B çözeltileri eklendi.
- *Standart solüsyon kuyucuğu:* 50µl standart solüsyonu ve 50µl streptavidin-HRP eklendi.
- *Test edilecek örnek kuyucuğu:* 40µl doku homojenatı ve daha sonra 10µl PGC1α antikoru ile 50µl streptavidin-HRP eklendi. Ardından plaka üzeri yapışkanlı membran ile kapatıldı. Karıştırmak için hafifçe çalkalanıp, 60 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi.

Yıkama

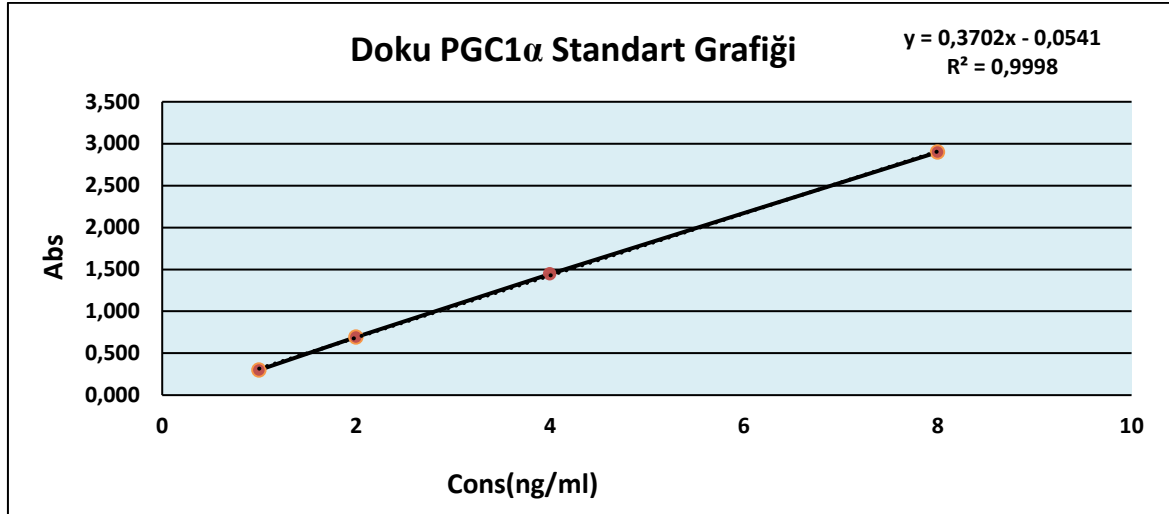
İnkübasyon süresi sonunda plakanın üzerindeki membranı dikkatlice çıkarıldı, tüm kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı. Hazırlanan yıkama tamponu ile otomatik plaka yıkama cihazında yıkandı. Ardından bu işlem beş kez tekrarlandı.

Renk gelişimi

Her kuyucuğa önce 50µl kromojen A substrat çözeltisi, daha sonra her birine 50µl kromojen B substrat çözeltisi eklendi. Karıştırmak için hafifçe çalkalandıktan sonra renk gelişimi için 10 dakika boyunca karanlıkta 37 °C'de inkübe edildi.

Reaksiyonu durdurma

Reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa 50µl durdurma solüsyonu eklendi. Mavi rengin durdurma solüsyonuyla birlikte anında sarıya dönüşü gözlemlendi. Ardından 10 dakika içerisinde 450 nm'de absorbans değerlerinin okuması gerçekleştirildi.



Şekil 3.4. Doku PGC1α standart grafiği

Sonuçlar ng/mg protein cinsinden verilmiştir (Şekil 3.4).

3.4.9. RNA izolasyonu ve real time RT-QPCR ile mRNA ekspresyon analizleri

Reverz Transkripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi uygulanarak yapılacak olan transkripsiyon analizlerinde kullanılmak üzere total RNA, ticari kit ile hazırlandı. Kontrol grubu ve diğer gruplardan deney sonunda alınan doku örneklerinin üzerine 1 mL RNA izolasyon kiti konuldu ve 2 saatlik inkübasyon sonucu total RNA hazırlanıp miktar ve saflık ölçümü spektrofotometrede (OD 260 nm ve 280 nm’de) yapıldı. RNA / DNA oranı 1.7 ve üzeri olanlar çalışmada kullanıldı. Ek olarak, her bir izolattan 2.5 µg alınarak %1’lik agarozda yürütülüp, total RNA’nın varlığı UV lamba altında gözlemlendi.

Her bir örneğin RNA’sından 1 µg PCR reaksiyonunda kalıp olarak kullanılmak üzere alındı, ilk olarak reverz transkriptaz (RT) ile komplementari DNA (cDNA) sentezi yapıldı. Ardından, her bir örneğin cDNA’sından 1 µl alınıp üzerine SYBR green master mix ve bir çift primer yani oligonükleotid eklendi. Primerler her bir transkripsiyon analizi için spesifiktir. Literatür bilgileri kapsamında belirtilen baz dizilerinin sentezi yaptırıldı. Elde edilen diziler reaksiyonda yaklaşık 100 ng düzeyinde kullanıldı. Amplifikasyon işlemi; denatürasyon, primer yapışması ve zincir uzatma olarak üç aşamadan oluşmaktadır. Bu işlemlerden sonra elde edilen amplifikasyon eğrilerine ait döngü eşiği (Ct) değerleri

kullanılarak, hedef genlerin mRNA ekspresyon düzeylerinin nisbi değişimleri $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metodu yardımıyla hesaplandı (PFAFFL, 2001).

Bu hesaplamada;

$$\Delta\Delta C_t = (C_{thedef\ gen} - C_{tGAPDH})_{denek\ grubu} - (C_{thedef\ gen} - C_{tGAPDH})_{kontrol\ grubu}$$

formülü kullanıldı. Her gen için hesaplanan değer $2^{-\Delta\Delta C_t}$ formülünde yerine konulup mRNA ekspresyon düzeyi misli olarak azalma ya da artış şeklinde belirlendi. GAPDH geni endojen kontrol olarak kullanıldı ve her bir örneğe ait GAPDH gen düzeyi baz alınarak diğer genlerin ekspresyon düzeylerinde normalizasyon uygulandı. Yapılan çalışmalarda gruplardan 5'er örnek rastgele seçildi ve bunların 3 tekrarı yapıp ortalamaları alındı.

Real Time PCR sisteminin çalışma prensibine göre SYBR green boyası çift iplikçikli DNA parçasına bağlanıp elektriksel impuls ile birlikte floresan ışıma yapmaktadır ve bu ışıma sistemi lazer dedektörü tarafından alınıp, bilgisayar ortamında grafik formatına çevrilmektedir. Ölçülen floresans şiddeti PCR ürününün miktarı ile doğru orantılıdır (PFAFFL MW, 2001).

Çizelge 3.7. Amplifikasyon koşulları (Pineda vd., 2018 ; Zhang vd., 2007)

GAPDH	FGF21	PGC1 α
95°C'de 10 dk'lık 1 siklus	95°C'de 10 dk'lık 1 siklus	95°C'de 5 dk'lık 1 siklus
94°C'de 1 dk'lık 35 siklus	94°C'de 30 sn'lik 40 siklus	95°C'de 1 dk'lık 40 siklus
54°C'de 1 dk'lık 35 siklus	54°C'de 45 sn'lik 40 siklus	60°C'de 1 dk'lık 40 siklus
72°C'de 1 dk'lık 35 siklus	72°C'de 1 dk'lık 40 siklus	72°C'de 1 dk'lık 40 siklus

PCR çalışmaları ile ekspresyon düzeyi belirlenen genler:

FGF21: Forward primer: 5'-CAAATCCTGGGTGTCAAAGC-3';

Reverse primer: 5'-GCCTCAGACTGGTACACATTG-3'. (Pineda vd., 2018)

PGC1 α : Forward primer: 5'-AGGTCCCCAGGCAGTAGAT-3' (sense)

Reverse primer: 5'-CGTGCTCATTGGCTTCATA-3' (antisense) (Zhang vd., 2007)

3.5. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizlerinde IBM Corporation SPSS Statistics 22.0 paket programı kullanılmıştır. Tüm grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi ve fark bulunan parametrelerin ikili grupta karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Sonuçlar tüm çizelge ve şekillerde ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

4.1. Vücut Ağırlıkları ve Sistolik Kan Basıncı Bulguları

Deney başlangıcından itibaren deneyin sonuna kadar her hafta ağırlıkları ölçülen sıçanların başlangıç ve 10. haftanın sonundaki ortalama ağırlıkları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1.Grupların vücut ağırlıkları ve sistolik kan basınçları

Deney Grupları	Vücut Ağırlığı (g)		Sistolik Kan Basıncı (mmHg)		
	Başlangıç	10.Hafta	Başlangıç	5.Hafta	10.Hafta
Kontrol	200 $\pm$ 8	249 $\pm$ 8 ^d	125 $\pm$ 5,1	115 $\pm$ 7	119 $\pm$ 2
Fruktoz	223 $\pm$ 11 ^a	288 $\pm$ 23 ^{a,d}	121 $\pm$ 7,8	139 $\pm$ 5 ^{a,d}	181 $\pm$ 1 ^{a,d,e}
Kuersetin	230 $\pm$ 7 ^a	287 $\pm$ 16 ^{a,d}	125 $\pm$ 2,8	124 $\pm$ 2 ^{a,b}	124 $\pm$ 4 ^b
Fruktoz+Kuersetin	210 $\pm$ 12 ^c	275 $\pm$ 25 ^d	125 $\pm$ 2,1	132 $\pm$ 6 ^{a,b,c,d}	159 $\pm$ 1 ^{a,b,c,d,e}

a : kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$

b : fruktoz grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$

c : kuersetin grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$

d : başlangıç değeriyle karşılaştırıldığında $p<0.05$

e : 5.haftanın değeriyle karşılaştırıldığında $p<0.05$

Tüm grupların başlangıç ve deney sonundaki vücut ağırlıkları kıyas edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Grupların birbirleriyle karşılaştırılmaları sonucunda; fruktoz ve kuersetin uygulanan grupların değerleri başlangıç değerlerine ve kontrol grubunun değerlerine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çalışma başlangıcında, 5. haftanın ve 10. haftanın sonunda olmak üzere 3 kez hayvanların sistolik kan basınçları ölçülmüştür. Tüm grupların ilk, 5.hafta ve 10. Haftanın sonundaki sistolik kan basıncı ortalamaları kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). Grupların sistolik kan basınçları tek tek karşılaştırıldığında 5. ve 10. haftanın sonunda fruktoz grubunda ve fruktoz+kuersetin grubunda başlangıç değerine göre artış gözlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.1).

5. hafta sonunda gruplar arasında sistolik kan basınçları değerlendirildiğinde tüm grupların değerleri kontrol grubundan yüksek, fruktoz grubunun değerinin ise en yüksek olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

10. hafta sonunda gruplar arasında sistolik kan basınçları değerlendirildiğinde fruktoz grubunun diğer gruplardan anlamlı derecede yüksek olduğu, Fruktoz ve Fruktoz+kuersetin gruplarında ise kuersetin grubundan yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çalışmada vücut ağırlığında ve sistolik kan basıncında en yüksek değerin fruktoz uygulanan grupta olduğu tespit edilmiştir. Kuersetin grubunda vücut ağırlığında bir fark yokken kan basıncı değerinde gözlemlenen düşüş anlamlıdır. Fruktoz eşliğinde kuersetin uygulanan grubun vücut ağırlığında bir fark yokken kan basıncı değerinde düşüş gözlenmiştir. Kuersetin vücut ağırlığı düşüşünde etkili olmamakla birlikte kan basıncında etkilidir.

4.2. Obezite İndeksi Bulguları

Çizelge 4.2. Grupların obezite indeksi sonuçları

Gruplar	Lee İndeks (mm) 10. hafta
Kontrol	0,29±0,007
Fruktoz	0,31±0,007 ^a
Kuersetin	0,30±0,002 ^b
Fruktoz+Kuersetin	0,29±0,021 ^{b,c}

^ap<0.05, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında

^bp<0.05, fruktoz grubuyla karşılaştırıldığında

^cp<0.05, kuersetin grubuyla karşılaştırıldığında

Lee indeks değerleri 0.300'e eşit ya da daha az olan bir değer yaşamın ilk üç ayı için normal olarak değerlendirilirken 0.300'den yüksek değere sahip olan sıçanlar obez olarak sınıflandırılmıştır (Çizelge 4.2).

Sonuçlarımıza göre 10 hafta sonunda fruktoz grubunun lee indeks değerlerinin, diğer gruplar ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir (p<0,05). Fruktoz+kuersetin grubunun indeksi, fruktoz ve kuersetin grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (Çizelge 4.2).

4.3. Serum Lipit Profili Bulguları

Grupların serum lipit profilleri Çizelge 4.3 te sunulmuştur.

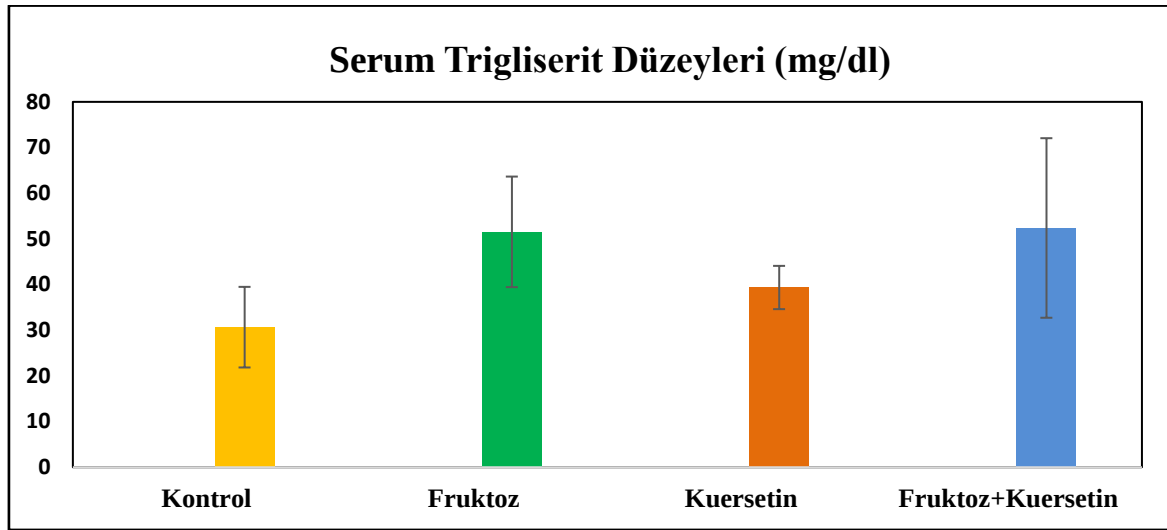
Çizelge 4.3. Serum trigliserit, total, LDL, HDL, VLDL kolesterol düzeyleri

Deney Grupları	Trigliserit (mg/dl)	Total Kolesterol (mg/dl)	LDL- Kolesterol (mg/dl)	HDL- Kolesterol (mg/dl)	VLDL- Kolesterol (mg/dl)
Kontrol n=6	30±8	49±7	12±2	40±4	6±1
Fruktoz n=6	51±12 ^a	54±2	10±1	42±2	10±2 ^a
Kuersetin n=6	39±4 ^b	52±9	13±2 ^b	47±1	7±1 ^b
Fruktoz+kuersetin n=6	52±19 ^a	45±5 ^b	8±1 ^{a,c}	37±2	10±4 ^a

a : kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$

b : fruktoz grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$

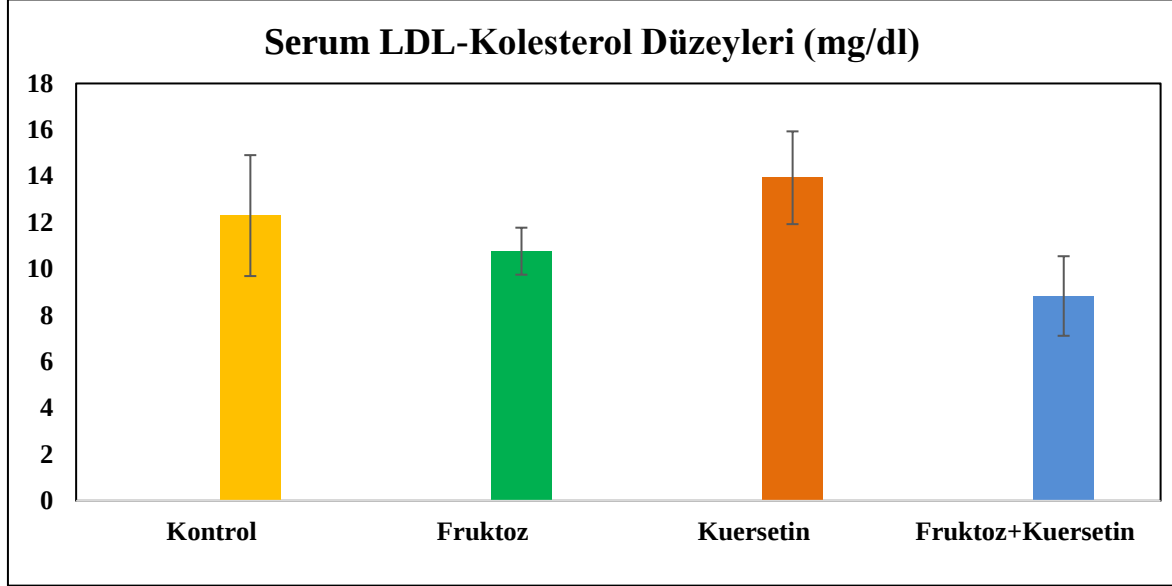
c : kuersetin grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$



Şekil 4.1. Grupların trigliserit düzeyleri

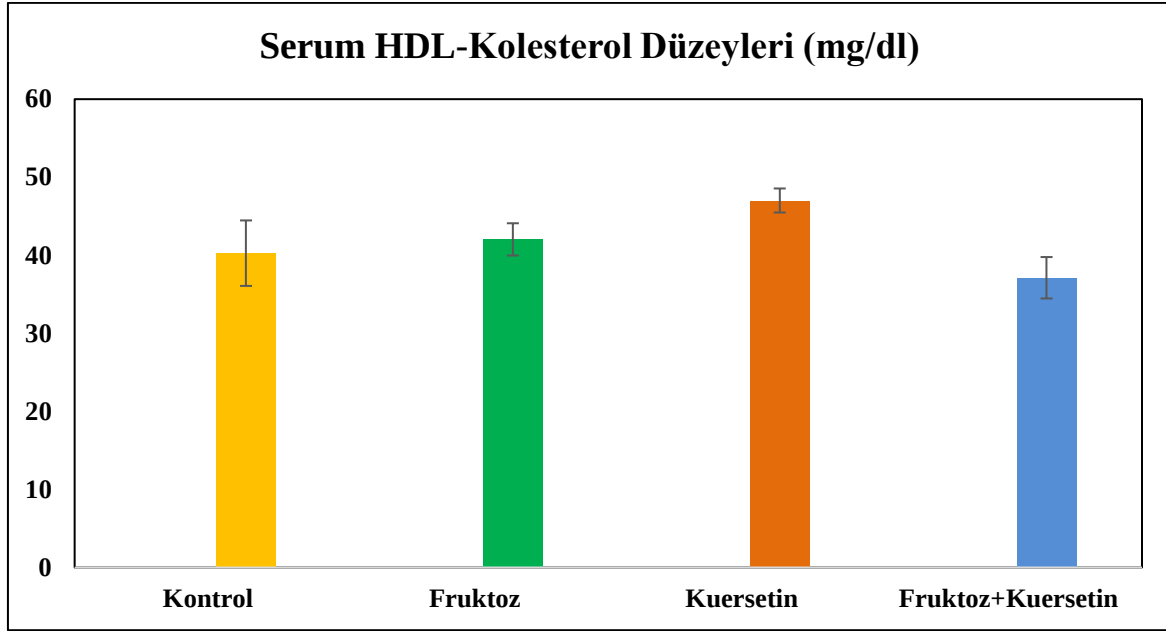
Grupların trigliserit düzeyleri değerlendirildiğinde fruktoz, kuersetin ve fruktoz+kuersetin gruplarında kontrol grubundan çok daha yüksek değerler elde edilmiştir. Kontrol grubunu fruktoz alan grupla karşılaştırdığımızda trigliserit düzeylerinde artma görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.006$; $p<0,05$). Kontrol grubunu kuersetin alan grupla kıyasladığımızda trigliserit düzeylerinde artma görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.055$; $p>0,05$). Kontrol grubunu fruktoz+kuersetin alan grup ile karşılaştırdığımızda trigliserit düzeylerinde artma görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.037$; $p<0,05$). Fruktoz grubu ile kuersetin grubu arasında da anlamlı istatistiksel fark tespit edilmiştir. Kuersetin grubu kontrol grubundan daha yüksek ancak fruktoz grubundan daha düşük trigliserid düzeyine sahiptir ($p=0,025$; $p<0,05$). Fruktoz grubu ile fruktoz+kuersetin grubu arasında ($p=0,749$; $p>0,05$) ve kuersetin grubu ile

fruktoz+kuersetin grubu arasında anlamlı istatistiksel fark tespit edilmemiştir ($p=0,262$; $p>0,05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.1).



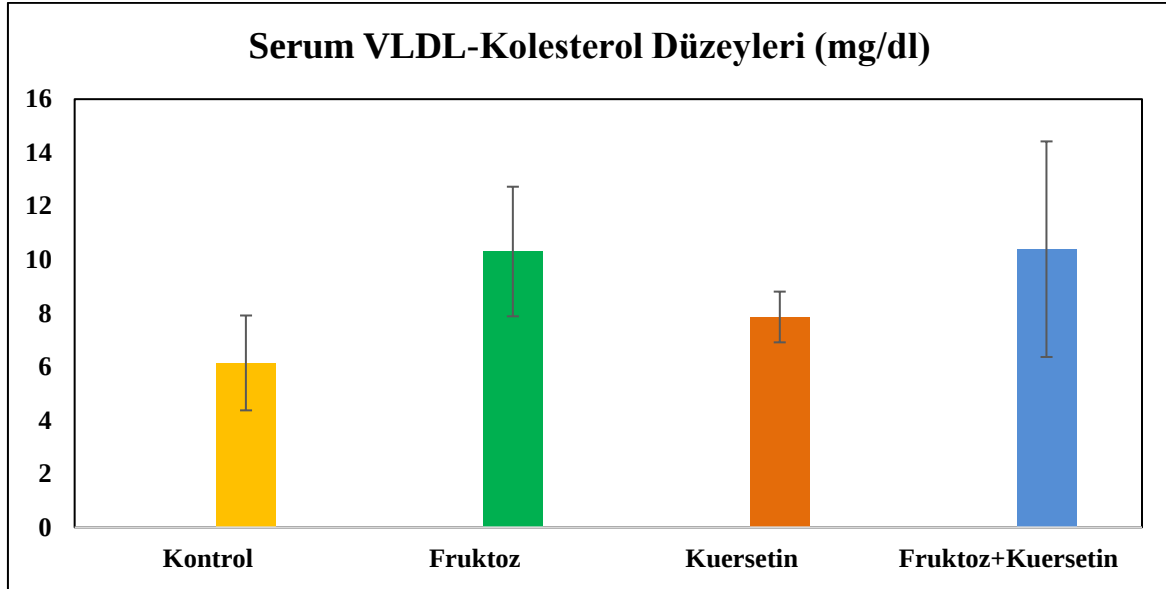
Şekil 4.2. Grupların LDL-kolesterol düzeyleri

Grupların LDL-kolesterol düzeyleri değerlendirildiğinde kontrole göre kuersetin grubunda artış, fruktoz ve fruktoz+kuersetin grubunda ise azalma görülmüştür. Kontrol grubunu fruktoz alan grupla karşılaştırdığımızda LDL-kolesterol düzeylerinde azalma görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,199$; $p>0,05$). Kontrol grubunu kuersetin alan grupla kıyasladığımızda LDL-Kolesterol düzeylerinde artma görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,631$; $p>0,05$). Kontrol grubunu fruktoz+kuersetin grubu ile karşılaştırdığımızda LDL-Kolesterol düzeylerinde azalma görülmüş istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0.025$; $p<0,05$). Fruktoz grubu ile kuersetin grubu arasında da anlamlı istatistiksel fark tespit edilmiştir ($p=0,004$; $p<0,05$). Fruktozlu grup ile fruktoz+kuersetin grubu arasında ($p=0,054$; $p>0,05$). ve kuersetin ile fruktoz+kuersetin grubu arasında anlamlı istatistiksel fark tespit edilmiştir ($p=0,004$; $p<0,05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.2).



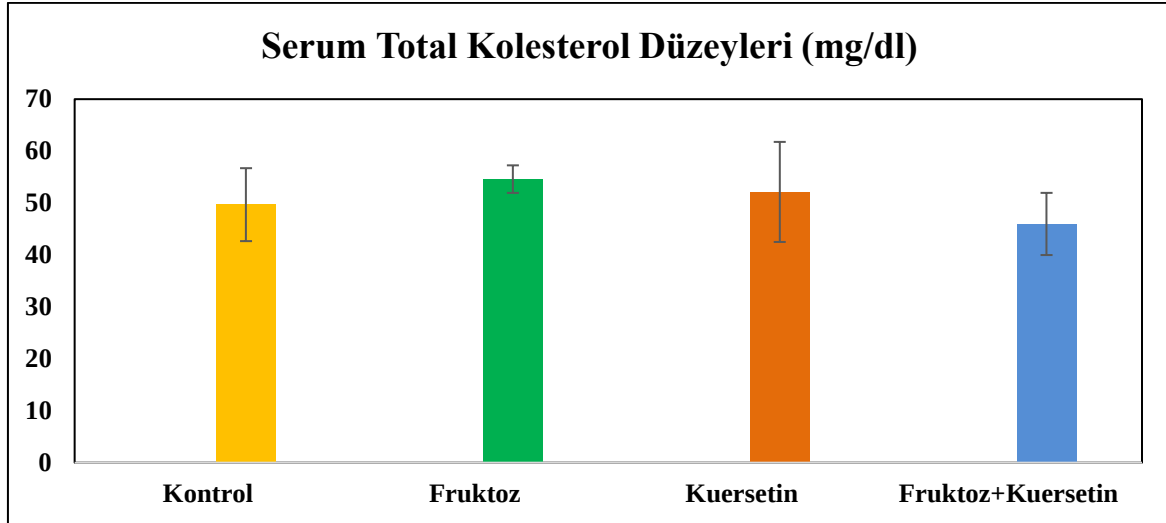
Şekil 4.3. Grupların HDL-kolesterol düzeyleri

Grupların HDL-kolesterol düzeyleri değerlendirildiğinde kontrole göre fruktoz ve kuersetin gruplarında artış, fruktoz+kuersetin grubunda ise azalma görülmüştür. Kontrol grubunu fruktoz alan grupla karşılaştırdığımızda HDL-kolesterol düzeylerinde artma görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,423$; $p>0,05$). Kontrol grubunu kuersetin alan grupla kıyasladığımızda HDL-Kolesterol düzeylerinde artma görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,010$; $p<0,05$). Kontrol grubunu fruktoz+kuersetin alan grup ile karşılaştırdığımızda HDL-Kolesterol düzeylerinde azalma görülmüş istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,150$; $p>0,05$). Fruktoz grubu ile kuersetin grubu arasında ($p=0,004$; $p<0,05$), fruktoz+kuersetin grubu arasında ($p=0,016$; $p<0,05$) da istatistiksel fark tespit edilmiştir. Kuersetin grubu fruktoz+kuersetin grubu arasında da anlamlı istatistiksel fark tespit edilmiştir ($p=0,004$; $p<0,05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.3).



Şekil 4.4. Grupların VLDL-kolesterol düzeyleri

Grupların VLDL-kolesterol düzeyleri değerlendirildiğinde fruktoz, kuersetin ve fruktoz+kuersetin gruplarında kontrol grubundan çok daha yüksek değerler elde edilmiştir. Kontrol grubunu fruktoz alan grupla karşılaştırdığımızda VLDL-kolesterol düzeylerinde artma görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,006$; $p<0,05$). Kontrol grubunu kuersetin alan grupla kıyasladığımızda VLDL-Kolesterol düzeylerinde artma görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,078$; $p>0,05$). Kontrol grubunu fruktoz+kuersetin alan grup (grup 4) ile karşılaştırdığımızda VLDL-Kolesterol düzeylerinde artma görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,045$; $p<0,05$). Fruktoz grubu ile kuersetin grubu arasında da anlamlı istatistiksel fark tespit edilmiştir ($p=0,025$; $p<0,05$). Fruktoz grubu ile fruktoz+kuersetin grubu arasında ($p=0,749$; $p>0,05$) ve kuersetin grubu ile fruktoz+kuersetin grubu arasında ($p=0,337$; $p>0,05$) anlamlı istatistiksel fark tespit edilmemiştir (Çizelge 4.3, Şekil 4.4).



Şekil 4.5. Grupların total kolesterol düzeyleri

Grupların total kolesterol düzeyleri değerlendirildiğinde kontrole göre fruktoz ve kuersetin gruplarında artış görülmüş, fruktoz+kuersetin grubunda ise azalma görülmüştür. Kontrol grubunu fruktoz alan grupla karşılaştırdığımızda total kolesterol düzeylerinde artma görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.262$; $p>0,05$). Kontrol grubunu kuersetin alan grupla kıyasladığımızda total kolesterol düzeylerinde artma görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,749$; $p>0,05$). Kontrol grubunu fruktoz+kuersetin alan grup ile karşılaştırdığımızda total kolesterol düzeylerinde azalma görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.423$; $p>0,05$). Fruktoz grubu ile kuersetin grubu arasında da anlamlı istatistiksel fark tespit edilmemiştir ($p=1$; $p>0,05$). Fruktoz grubu ile fruktoz+kuersetin grubu arasında ise anlamlı istatistiksel fark tespit edilmiştir ($p=0,006$; $p<0,05$). Kuersetin ile fruktoz+kuersetin grubu arasında da anlamlı istatistiksel fark tespit edilmemiştir ($p=0,109$; $p>0,05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.5).

4.4. Serum Glukoz, İnsülin ve HOMA-IR İndeksi Bulguları

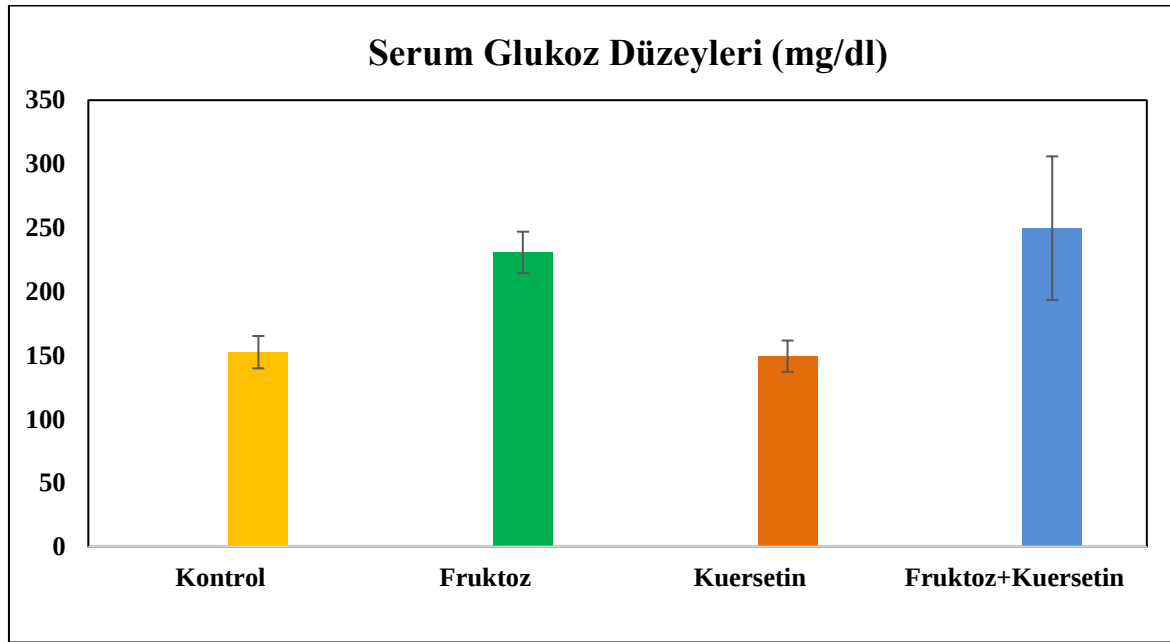
Çizelge 4.4. Serum glukoz, insülin ve HOMA-IR düzeyleri

Deney Grupları	Glukoz (mg/dl)	İnsülin (mU/L)	HOMA-IR
Kontrol n=6	152±12	5,85±1,11	2,19±0,38
Fruktoz n=6	230±16 ^a	9,16±0,29 ^a	5,21±0,47 ^a
Kuersetin n=6	149±12 ^b	6,38±1,40 ^b	2,37±0,61 ^b
Fruktoz+kuersetin n=6	249±56 ^{a,b}	6,35±1,27 ^b	3,92±1,22 ^a

a : kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$

b : fruktoz grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$

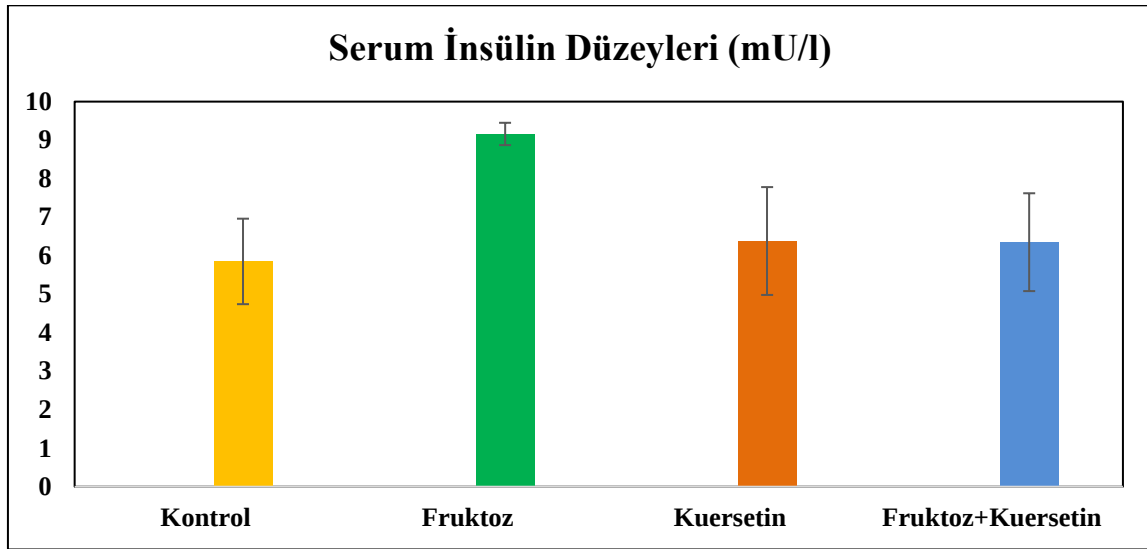
c : kuersetin grubuyla karşılaştırıldığında $p<0.05$



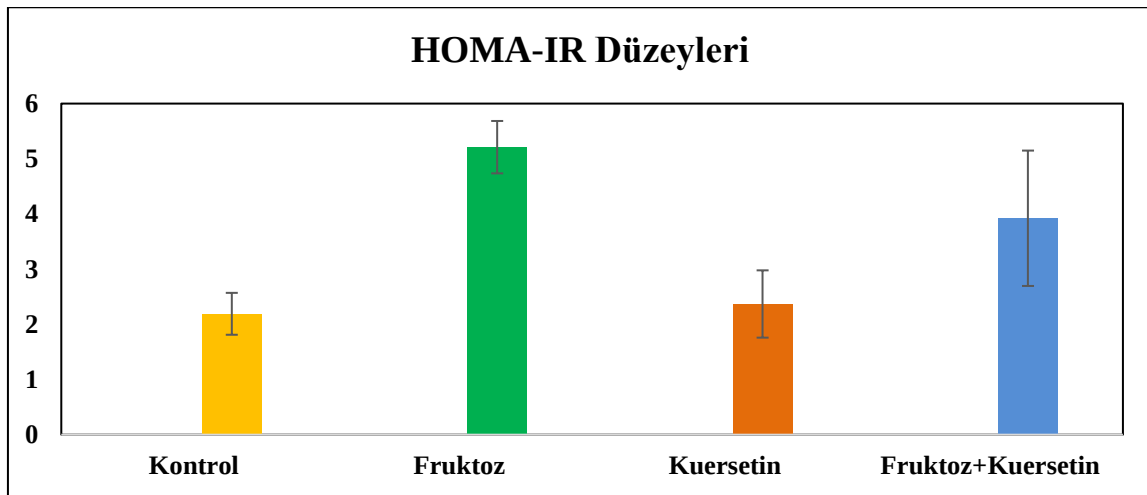
Şekil 4 6. Grupların serum glukoz düzeyleri

Glukoz düzeyleri değerlendirildiğinde fruktoz ve fruktoz eşliğinde kuersetinin uygulanan grupların kontrol grubundan yüksek, yalnızca kuersetin uygulanan grubun değerleri ise düşük bulunmuştur. Kontrol grubunu fruktoz alan grupla karşılaştırdığımızda glukoz düzeylerinde artma görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0.004$; $p>0,05$). Kontrol grubunu kuersetin alan grupla karşılaştırdığımızda glukoz düzeylerinde azalma görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.470$; $p>0,05$). Kontrol grubunu fruktoz+kuersetin alan grupla karşılaştırdığımızda glukoz düzeylerinde

artma görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0.004$; $p>0.05$). Fruktoz grubu ile kuersetin grubu arasında da anlamlı istatistiksel fark tespit edilmiştir ($p=0.004$; $p<0.05$). Fruktoz grubu ile fruktoz+kuersetin grubu arasında ise anlamlı istatistiksel fark tespit edilmemiştir ($p=0.748$; $p>0.05$). Fruktoz grubu ile fruktoz+kuersetin grubu arasında da anlamlı istatistiksel fark bulunmuştur ($p=0.004$; $p<0.05$) (Çizelge 4.4, Şekil 4.6).



Şekil 4.7. Grupların serum insülin düzeyleri



Şekil 4.8. Grupların HOMA-IR düzeyleri

İnsülin ve HOMA-IR düzeyleri değerlendirildiğinde fruktoz grubu diğer gruplar ile kıyaslandığında yüksek değerler elde edilmiştir. Fruktoz ve fruktoz+kuersetin gruplarının HOMA-IR değerleri kontrol grubundan yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.7, 4.8).

4.5. Karaciğer Dokusu FGF21 ve PGC1 α Düzeyleri

Çizelge 4.5. Karaciğer dokusu FGF21 ve PGC1 α düzeyleri

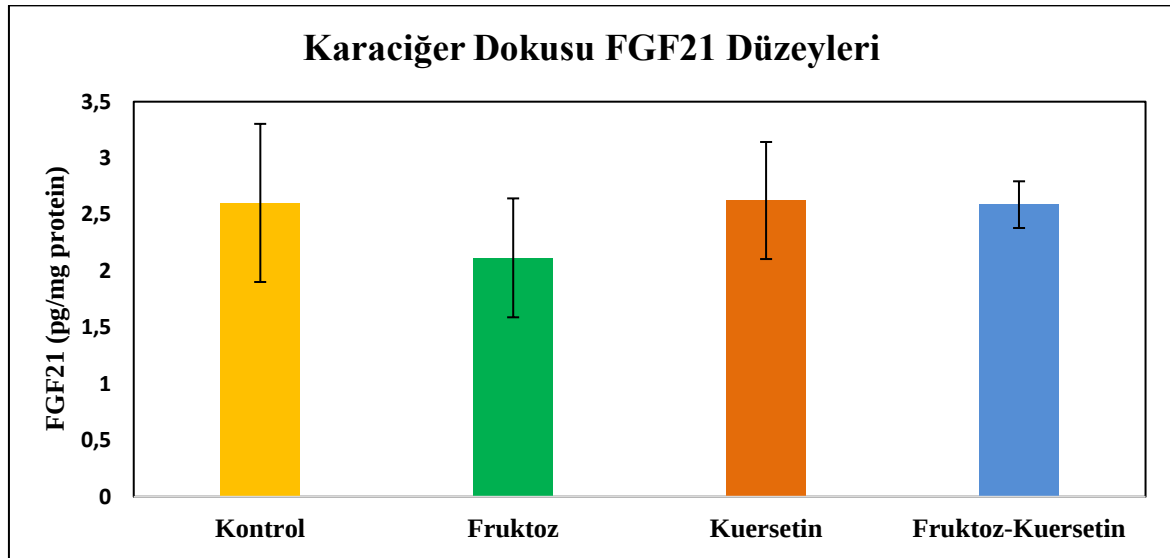
Deney Grupları	FGF21 (pg/mg protein)	PGC1 α (ng/mg protein)
Kontrol n=6	2,60 $\pm$ 0,70	43,71 $\pm$ 3,85
Fruktoz n=6	2,11 $\pm$ 0,52	38,93 $\pm$ 8,01
Kuersetin n=6	2,62 $\pm$ 0,51 ^b	59,37 $\pm$ 12,04 ^{a,b}
Fruktoz+kuersetin n=6	2,58 $\pm$ 0,20	57,69 $\pm$ 6,09 ^{a,b}

a : kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

b : fruktoz grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

c : kuersetin grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$

4.5.1. Karaciğer dokusu FGF21 düzeyi bulguları



Şekil 4.9. Karaciğer FGF21 düzeyleri (Ortalama $\pm$ Standart Hata)

Kontrol ve fruktoz grupları karşılaştırıldığında karaciğer dokusu FGF21 düzeyinin fruktoz grubunda kontrole göre azaldığı gözlenmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p:0,337$; $p > 0,05$), (Çizelge 4.5, Şekil 4.9).

Kontrol ve kuersetin uygulanan grup karşılaştırıldığında karaciğer dokusu FGF21 düzeyinin kuersetin grubunda kontrole göre çok az miktarda arttığı gözlenmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p:0,749$; $p > 0,05$) (Çizelge 4.5, Şekil 4.9).

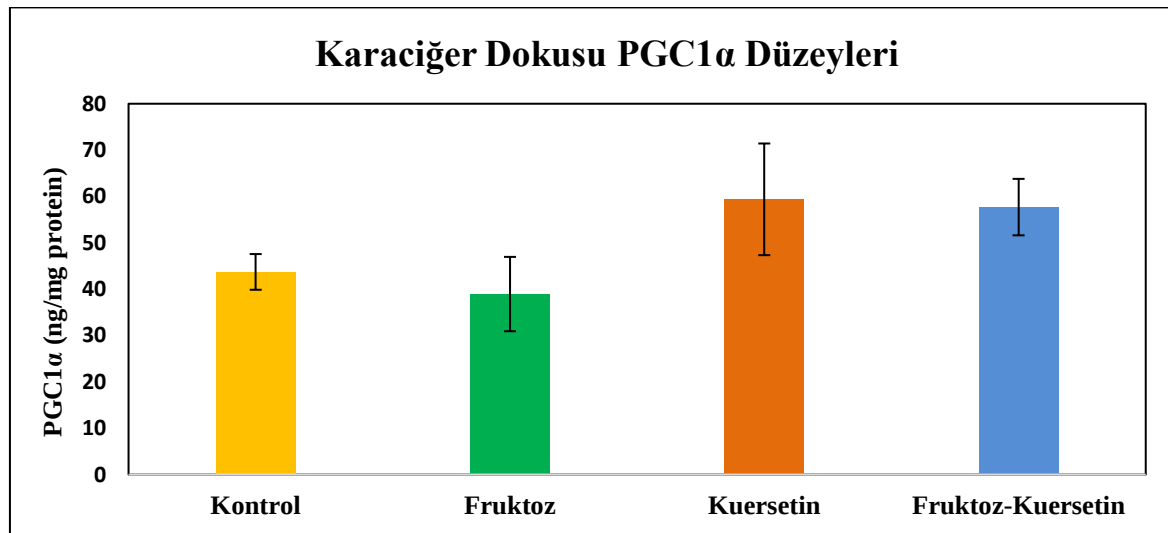
Kontrol grubunu fruktoz+kuersetin uygulanan grup ile karşılaştırdığımızda karaciğer dokusu FGF21 düzeyinin fruktoz+kuersetin alan grupta çok az miktarda azalmış olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,749$; $p>0,05$) (Çizelge 4.5, Şekil 4.9).

Fruktoz grubu ile kuersetin alan grup kıyaslandığında aralarında anlamlı istatistiksel fark tespit edilmiştir ($p=0,037$; $p<0,05$). Kuersetin grubunda daha yüksek FGF21 düzeyleri saptanmıştır (Çizelge 4.5, Şekil 4.9).

Fruktoz+kuersetin alan grubun karaciğer dokusu FGF21 düzeyleri fruktoz grubundan daha yüksek bulunmuştur fakat anlamlı istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir ($p=0,128$; $p>0,05$) (Çizelge 4.5, Şekil 4.9).

Kuersetin grubu ile fruktoz+kuersetin grubu kıyaslandığında anlamlı istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir ($p=1$; $p<0,05$) (Çizelge 4.5, Şekil 4.9).

4.5.2. Karaciğer dokusu PGC1 α düzeyi bulguları



Şekil 4.10. Karaciğer PGC1 α düzeyleri (Ortalama $\pm$ Standart Hata)

Kontrol ve fruktoz grupları karşılaştırıldığında karaciğer dokusu PGC1 α düzeyinin fruktoz grubunda kontrole göre azaldığı gözlenmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,2$; $p>0,05$) (Çizelge 4.5, Şekil 4.10).

Kontrol ve kuersetin uygulanan grup karşılaştırıldığında karaciğer dokusu PGC1 α düzeyinin kuersetin grubunda kontrole göre artış gösterdiği gözlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p:0,01; p<0,05) (Çizelge 4.5, Şekil 4.10).

Kontrol grubunu fruktoz+kuersetin uygulanan grup ile karşılaştırdığımızda karaciğer dokusu PGC1 α düzeyi fruktoz+kuersetin alan grupta artış göstermiş olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p:0,04; p<0,05) (Çizelge 4.5, Şekil 4.10).

Fruktoz grubu ile kuersetin alan grup kıyaslandığında aralarında anlamlı istatistiksel fark tespit edilmiştir (p=0,025; p<0,05). Kuersetin grubunda daha yüksek PGC1 α düzeyleri saptanmıştır, (Çizelge 4.5) (Şekil 4.10).

Fruktoz+kuersetin alan grubun karaciğer dokusu PGC1 α düzeyleri fruktoz grubundan daha yüksek bulunmuştur ve anlamlı istatistiksel bir fark tespit edilmiştir (p=0,004; p<0,05) , (Çizelge 4.5) (Şekil 4.10).

Kuersetin grubu ile fruktoz+kuersetin grubu kıyaslandığında anlamlı istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir (p=0,749; p>0,05) (Çizelge 4.5, Şekil 4.10).

4.6. Real Time QRT-PCR mRNA Ekspresyon Düzeyleri

Çizelge 4.6. FGF21 ve PGC1 α mRNA düzeyleri (misli değişiklik*)

Deney Grupları	FGF21 mRNA Düzeyleri			PGC1 α mRNA Düzeyleri		
Fruktoz	-1,53 ^a			-1,23 ^a		
Kuersetin	1,60 ^a	1,75 ^b		1,58 ^a	1,77 ^b	
Fruktoz+Kuersetin	-0,22 ^a	1,31 ^b	-1,48 ^c	0,82 ^a	1,5 ^b	-1,23 ^c

a: Kontrol grubuna göre misli değişiklikler uyarılma (+) ve baskılanma (-) olarak ifade edilmiştir.

b: Fruktoz grubuna göre misli değişiklikler uyarılma (+) ve baskılanma (-) olarak ifade edilmiştir.

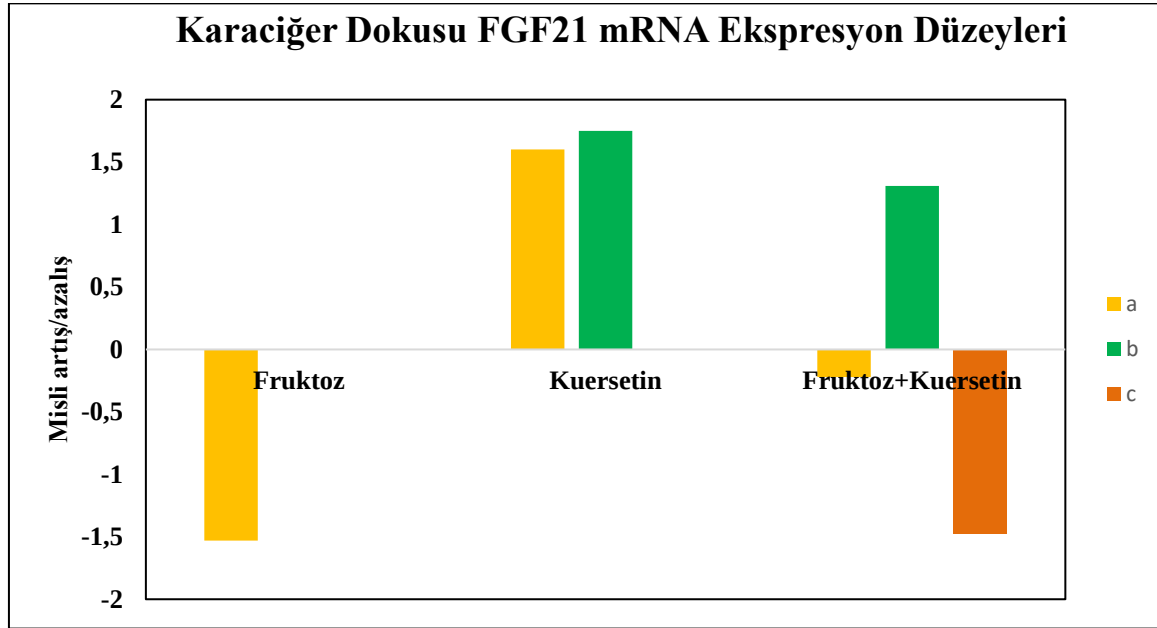
c: Kuersetin grubuna göre misli değişiklikler uyarılma (+) ve baskılanma (-) olarak ifade edilmiştir.

MetS bileşenleri üzerinde koruyucu ve tedavi edici rolü olduğu literatür verilerince belirtilen FGF21 ve PGC1 α 'nın karaciğer dokusu mRNA ekspresyon düzeyleri; fruktoz grubunda kontrol grubuna göre FGF21 1,53 kat; PGC1 α 1,23 kat azalmıştır.

Kuersetin grubunda kontrol grubuna göre FGF21'in mRNA ekspresyon düzeyi 1,6 misli, fruktoz grubuna göre FGF21'in mRNA ekspresyon düzeyi 1,75 misli artmıştır. Kuersetin

grubuyla kontrol grubu karşılaştırıldığında PGC1 α 'nın mRNA ekspresyon düzeyi 1,58 misli, fruktoz grubuyla kıyaslandığında PGC1 α 'nın mRNA ekspresyon düzeyi 1,77 misli artış göstermiştir.

Fruktoz+kuersetin uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla FGF21'in mRNA ekspresyon düzeyi 0,22 misli azalırken, PGC1 α 'nın mRNA ekspresyon düzeyi 0,82 misli artmıştır. Fruktoz+kuersetin uygulanan grupta fruktoz grubuna göre FGF21'in mRNA ekspresyon düzeyi 1,31 misli, PGC1 α 'nın mRNA ekspresyon düzeyi 1,5 misli artmıştır. Fruktoz+kuersetin uygulanan grupta; kuersetin grubuna kıyasla FGF21'in mRNA ekspresyon düzeyi 1,48 misli, PGC1 α 'nın mRNA ekspresyon düzeyi 1,23 misli azalmıştır (Çizelge 4.6) (Şekil 4.11, Şekil 4.12).

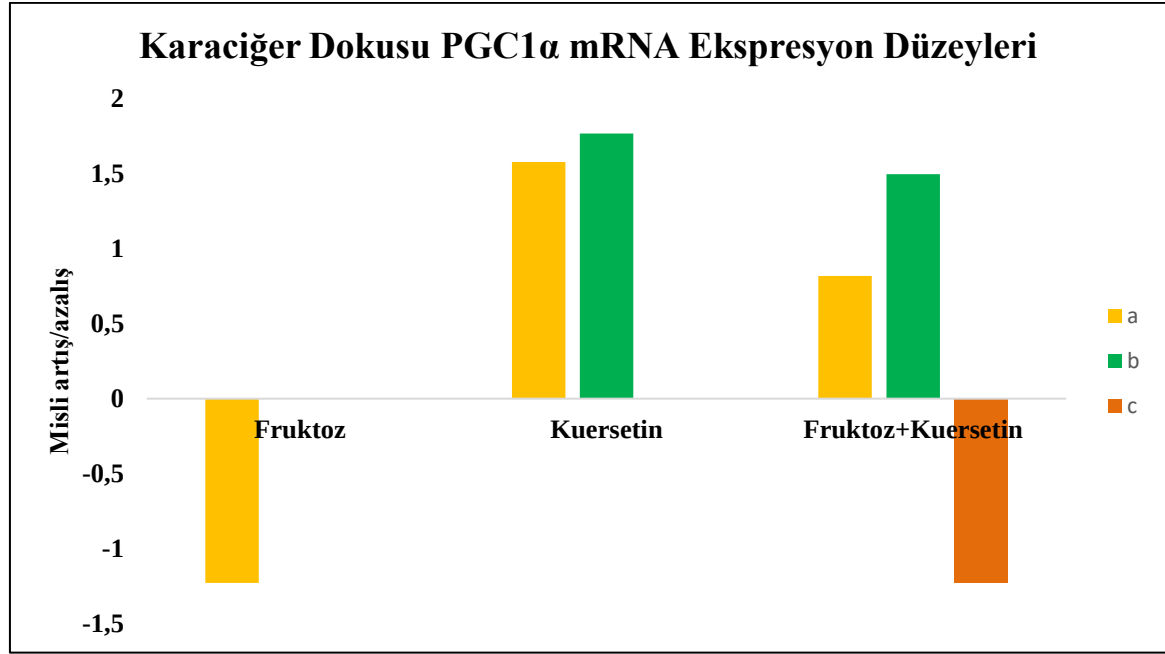


a: Kontrol grubuna göre misli değişiklikler uyarılma (+) ve baskılanma (-) olarak ifade edilmiştir.

b: Fruktoz grubuna göre misli değişiklikler uyarılma (+) ve baskılanma (-) olarak ifade edilmiştir.

c: Kuersetin grubuna göre misli değişiklikler uyarılma (+) ve baskılanma (-) olarak ifade edilmiştir.

Şekil 4.11. FGF21 mRNA ekspresyon düzeyleri



a: Kontrol grubuna göre misli değişiklikler uyarılma (+) ve baskılanma (-) olarak ifade edilmiştir.

b: Fruktoz grubuna göre misli değişiklikler uyarılma (+) ve baskılanma (-) olarak ifade edilmiştir.

c: Kuersetin grubuna göre misli değişiklikler uyarılma (+) ve baskılanma (-) olarak ifade edilmiştir.

Şekil 4.12. PGC1 α mRNA ekspresyon düzeyleri

5. TARTIŞMA

Hayvan ve insan deneysel modellerinde yüksek fruktozla beslenme yoluya MetS oluşturulabildiğinin gösterilmesi çevresel faktörlerin ciddiyle üzerinde durulması gerektiğinin kanıtıdır. Yapılan araştırmalar; içme suyuyla birlikte fruktoz (%5-30) verilmesinin MetS geliştirdiğini göstermektedir (İbrahim, Chivandi, Mojiminiyi, & Erlwanger, 2017; Zhao vd., 2009; Kizhner & Werman, 2002) (Barros vd., 2007; Veerapur vd., 2010).

Yüksek fruktozlu diyetiyle MetS modeli oluşturulduğunda, sendromun tüm bileşenleri görülmektedir ve bu bileşenler insan modelindeki klinik ve laboratuvar tablosu ile benzerlik göstermektedir. Diğer yandan sıçanlarda ortaya çıkan metabolik değişiklikler çalışma planından kaynaklı farklılıklara sahiptir. Kullanılan ratın soyu (Sprague-Dawley ya da Wistar), fruktozun verilme şekli (oral ya da yem ile birlikte), hayvanın yaşı (genç/yaşlı) ve fruktozun dozu ile uygulama süresinin ilişkili olduğu belirtilmiştir (De Moura vd., 2009; Sánchez-Lozada vd., 2007; Girard vd., 2006).

Çalışmamızda fruktoz aracılı MetS oluşumuna daha duyarlı olduğu bilinen Sprague-Dawley sıçan soyu kullanılarak (Roglans vd., 2007), yöntem kısmında izah edildiği üzere 10 hafta boyunca hayvanların içme sularına % 20lik fruktoz eklenmiş ve bu sürenin sonunda MetS kriterlerinin başarıyla oluşturduğumuzun kanıtları verilmiştir. Hipertrigliseridemi başta olmak üzere bozulmuş lipid profili, hiperglisemi, hipertansiyon, obezite, insülin direnci geliştiği fruktozlu gruplarda kanıtlanmıştır.

Literatürde MetS’da görülen fonksiyonel değişikliklerin önlenmesinde ve iyileştirilmesinde kuersetinin önemine vurgu yapılmaktadır. Yapılan araştırmaya göre spontan hipertansif sıçanlarda beş hafta süreyle günde tek doz kuersetin verilmesi sistolik kan basıncını önemli oranda düşürmüştür (Perez-Vizcaino, Duarte, Jimenez, Santos-Buelga, & Osuna, 2009). İnsanlar üzerinde yapılan bir araştırmaya göre 8 haftalık kuersetin uygulamasının endotel üzerinde etki gösterdiği ve bununla orantılı olarak anti-hipertansif etki gösterdiği belirtilmiştir (Edwards vd., 2007). Mostardo ve ark. yaptıkları çalışmada, sıçanlara yüksek miktarda fruktoz uygulamasının MetS gelişmesine neden olduğunu (Mostardo vd., 2012), ayrıca düşük miktarda kuersetin uygulamasının kan basıncını azalttığını ve anti-hipertansif

etkinin endotel bozukluğu üzerindeki etkiyle pozitif ilişkili olduğunu göstermişlerdir (Rivera vd., 2012). Çalışmamızın sonuçları da bu bilgilerle paraleldir. Grupların sistolik kan basınçları tek tek karşılaştırıldığında 5. ve 10. haftanın sonunda fruktoz grubunda ve fruktoz+kuersetin grubunda başlangıç değerine göre artış gözlenmiştir. Çalışmada vücut ağırlığında ve sistolik kan basıncında en yüksek değerin fruktoz uygulanan grupta olduğu tespit edilmiştir. Kuersetin grubunda vücut ağırlığında bir fark yokken kan basıncı değerinde gözlemlenen düşüş anlamlıdır. Fruktoz eşliğinde kuersetin uygulanan grubun vücut ağırlığında bir fark yokken kan basıncı değerinde düşüş gözlenmiştir. Kuersetin vücut ağırlığı düşüşünde etkili olmamakla birlikte kan basıncında etkilidir (Çizelge 4.1).

Çalışmamızın bulgularındaki obezite göstergesi olan lee indeks verilerine bakıldığında fruktoz uygulaması ile sıçanların vücut ağırlıkları artmıştır ve obezite gelişimi gözlenmiştir. Kuersetin verilmesinin fruktoz ile indüklenmiş obeziteyi iyileştirdiği görülmektedir. Kim ve ark., diyet polifenol bileşiği olan kuersetin içeren gıdalarla beslenmenin vücut yağ kitlesini azalttığını göstermişlerdir (Kim vd., 2012). Bizim yaptığımız çalışmada da kuersetin tek başına kullanıldığında benzer olarak hayvanların vücut ağırlığı azalmıştır fakat fruktoz ile birlikte kuersetin uygulamasının vücut ağırlığını düşürmediği görülmüştür (Çizelge 4.1) (Çizelge 4.2). Rivera ve ark., kuersetinin vücut ağırlığına etkisinin verilen miktara bağımlı olarak değişiklik gösterdiğini, yüksek dozlarda verilen kuersetin vücut ağırlığını azaltabilirken, düşük dozlarda ise etkisiz kalabileceğini rapor etmişlerdir (Rivera vd., 2012).

Fruktoz aracılı metabolik sendrom modelinde, 50 mg/kg/gün olarak kuersetin uygulaması serum trigliserit düzeyini önemli oranda azaltmıştır (Abo-Youssef, 2015). Ek olarak, sağlıklı ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada kuersetin uygulamasının rat karaciğer dokusunda hem yağ asit sentezini hem de trigliserit düzeylerini düşürdüğü rapor edilmiştir (Ganoni, Paglialonga, & Siculella, 2009).

Çalışmamızda trigliserit miktarının fruktoz etkisiyle istatistiksel olarak anlamlı arttığı tespit edilmiştir. Total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol miktarındaki artışın ise anlamlı olmadığı görülmüştür. Sonuçlarımızdaki lipid profilindeki değişiklikler literatürdeki bazı çalışmalarla benzerdir (Egert vd., 2009; de Moura, Ribeiro, de Oliveira, Stevanato, & de Mello, 2008). Fruktoz+kuersetin grubunda trigliserit seviyesinin yükseldiği gözlenmiştir. Fruktozun yanında kuersetin kaynaklı trigliserid artışı olduğunu da söyleyebiliriz. Sun ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada, kuersetin uygulamasının kısa süreli yüksek yağlı diyetle

beslenmiş ratlarda karaciğer yağlanmasını azalttığı, oksidatif stresi iyileştirdiği, ve glukoz ile lipit metabolizmasını regüle ettiği raporlanmıştır (Sun, Yamasaki, Katsube, & Shiwaku, 2015). Literatür verilerinde fruktoz ile birlikte kuersetin uygulaması yapılan çalışmaların bulgularında çelişkiler bulunmaktadır. Kuersetinin farklı dozlarda uygulanması bu çelişkilere sebep olabilir. Diğer taraftan Panchal ve ark. (2012), mısır şurubuyla besledikleri sıçanlara kuersetin uygulaması sonucunda trigliserid düzeylerinin arttığını rapor etmişlerdir. Kuersetin uygulaması etkisiyle lipoliz görüldüğü ve kuersetin tarafından bu yağların dokularda depolanmasının engellendiği savunulmuştur (Panchal, Poudyal, & Brown, 2012). Araştırmamızın sonuçları da bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda kuersetin tek başına uygulandığında total kolesterolde değişim gözlenmezken, HDL ve LDL kolesterolü arttırdığı fakat VLDL kolesterolü düşürdüğü gözlenmiştir. Diğer yandan fruktoz ve kuersetinin birlikte verilmesi total kolesterol ve LDL kolesterolü azaltmış, HDL ve VLDL kolesterol düzeyleri üzerinde etkisinin olmamıştır (Çizelge 4.3).

Abo-Youssef ve ark., 14 haftalık fruktoz diyeti uygulanan ratların farklı dozlarda kuersetin verilmesiyle total kolesterollerinin düştüğünü göstermişlerdir (Abo-Youssef, 2015). Rivera ve ark., MetS modelinde farklı dozlarda kuersetin uygulamasının total kolesterolü düşürdüğünü rapor etmişlerdir (Rivera vd., 2012). Bu sonuçlar çalışmamızla benzerdir. Literatür bilgilerinde çalışmamızda uyguladığımız doz ve sürede kuersetin uygulamasının HDL, LDL ve VLDL kolesterol üzerine etkisiyle ilgili çalışmalar bulunmamaktadır.

Çalışmamızda fruktoz diyeti ile oluşturulan MetS modelinde, serum insülin ve serum glukoz ölçülmüştür ayrıca insülin direnci testi (HOMA-IR) hesaplanarak kuersetinin olası tedavi edici etkileri araştırılmıştır. Fruktozun serum glukoz ve serum insülin düzeylerinde artışa sebep olduğu görülmüştür. HOMA-IR değerleri de normalden yüksek çıkarak insülin direnci oluşumu gösterilmiştir (Çizelge 4.4). Literatürde paylaşılan fruktoz aracılı MetS modellerinde de bu parametrelerde çalışmamızla benzer değişimlere rastlanmıştır (Kantar, Türközkan, Bircan, & Paşaoğlu, 2015; Abo-Youssef, 2015; S. Panchal vd., 2012; Stanhope & Havel, 2009; Miller & Adeli, 2008).

Kuersetin ve fruktoz grubu kıyaslandığında, serum glukoz düzeylerinin, insülin düzeylerinin ve HOMA-IR değerlerinin kuersetin alan grupta azaldığı ve kontrol grubu değerlerine

yakınlaştığı saptanmıştır (Çizelge 4.4). Vessal ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada, sağlıklı ratlara kuersetin verilmesiyle ratların plazma glukoz düzeylerinin değişmediğini göstermişlerdir (Vessal vd., 2003).

Çalışmamızda kontrol ve kuersetin grupları karşılaştırıldığında değerler arası anlamlı bir fark bulunmamıştır. Kuersetinin fruktoz ile birlikte uygulanması insülin düzeylerini anlamlı olarak düşürmüştür, glukoz düzeylerini bir miktar yükseltmiştir ve insülin direnci üzerine çok etkili olmamıştır (Çizelge 4.4). Abo-Youssef (2015), kuersetin uygulamasının glukoz transporter-II aracılığıyla enterositlere glukoz geçişini azalttığını ve etki mekanizmasının kaslarda GLUT-4 aktivitesini artırma şeklinde olduğunu savunmuştur. Yaptığı çalışmada, diyabet modeli oluşturduğu ratlara 14 hafta süreyle 50 mg/kg/gün şeklinde kuersetin uygulaması yapmış ve insülin düzeyleri ile HOMA-IR değerlerinin azaldığını rapor etmiştir (Abo-Youssef, 2015).

Roslan ve ark. (2017), diyabet oluşturulmuş ratlara 10, 25 ve 50 mg/kg/gün şeklinde 28 gün boyunca kuersetin uygulaması yapmış ve diyabetik ratlarda deney başlangıcında kontrol grubuna kıyasla çok düşük olan insulin seviyelerinin, kuersetin verilmesi sonucunda artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar doğrultusunda kuersetin uygulamasının diyabet oluşturulan sıçanlar üzerinde tedavi edici etki gösterdiğini rapor etmişlerdir (Roslan, Giribabu, Karim, & Salleh, 2017). Bulgularımızın literatürden farklı olmasının sebebinin kuersetin uygulamamızdaki doz ve süre farklılığı ve sıçan soyundaki farklılıktan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Araştırmamızda fruktoz aracılı MetS modeli oluşturulup, kuersetin uygulamasının glukoz ve lipid metabolizmasındaki etkilerinin mekanizması karaciğer dokusunda incelenmiştir. FGF21 ve PGC1 α mRNA ifadenmesi üzerine kuersetinin iyileştirici etkisi olup olmayacağı incelenmiştir. Kuersetin hem tek başına hem de fruktozla birlikte uygulanmıştır.

FGF21'in T2D, obezite, karaciğer steatozu ve diğer metabolik bozuklukların tedavisinde potansiyel yeni bir hepatik hormon olarak tanınmasından sonra, fizyolojik ve patofizyolojik koşullar altında üretiminin altında yatan mekanizmaları araştırmak için çalışmalar yapılmaktadır. Hayvan modellerinde hiperglisemi, insülin direnci, dislipidemi ve hepatosteatoz dahil olmak üzere obezite ile ilişkili metabolik hastalıkların çoğunu azalttığı gösterilmiş (Liang vd., 2014; Camporez vd., 2013). olan FGF21, MetS için bir biyobelirteç

ve önlenmesinde ve tedavisinde için bir yolgösterici olarak görev yapabileceğini düşünmekteyiz.

Kemirgenlerde FGF21'deki artışların, glukoz homeostazını iyileştirdiği hepatik lipidi azalttığı, tüm vücut enerji tüketimini arttırdığı ve vücut ağırlığını azalttığı gösterilmiştir (Xu vd., 2009). Açlık ve ketojenik diyetin, karaciğerdeki FGF21 salınımını arttırdığı rapor edilmiştir (Liang vd., 2014;Kharitonov, Shiyanova, Koester, vd., 2005).

Çalışmamızda karaciğer dokusu FGF21 düzeyi kontrol grubuna göre ve fruktoz verilen grupta azalmış bulunmuş buna paralel olarak FGF21 mRNA ekspresyon düzeyleri de fruktoz grubunda 1,53 kat azalmış olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6).

Sadece kuersetin uygulanan grupta, kontrol grubuna göre karaciğer FGF21 düzeyi anlamlı artış göstermemekle birlikte, FGF21 mRNA ekspresyon düzeyi 1,6 kat artmış bulunmuştur. Tek başına kuersetin verilmesi FGF21 ifadenmesini artırsa da dokudaki miktarında bir artış sağlamamaktadır (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6).

Fruktoz ve kuersetinin birlikte uygulandığı grupta FGF21'in dokudaki miktarı kontrol grubuna benzer bulunmuştur. FGF21 mRNA ekspresyon düzeyi ise kontrol grubuna göre 0.22 kat düşük tespit edilmiştir. Bu düşüklük gerçekte ifadenmede bir azalma değil, fruktozun karaciğer dokusunda FGF miktarında ve mRNA ekspresyonunda yaptığı azalmanın, birlikte verilen kuersetin tarafından toparlanmış ve yükseltilmiş olduğunun göstergesidir. Fruktoz +kuersetin grubunda FGF21 mRNA ekspresyon düzeyi, fruktoz grubuna göre 1.33 kat artmış olarak tespit edilmiştir. Sonuçta karaciğer FGF21 düzeyleri ekspresyonun artırılmasıyla kontrol grubundaki FGF21 seviyelerine yaklaşmıştır (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6).

Literatür bilgilerine paralel olarak deney sonuçlarımıza göre sıçanlarda oluşturduğumuz fruktoz aracılı MetS modelinde fruktoz grubunda karaciğer dokusu FGF21 düzeylerinde azalma görülmektedir. Diyetle kuersetin verilmesinin yararlı metabolik etkileri, hayvan modellerinde ve klinik çalışmalarda gösterilmiştir. Daha önce yapılan birçok araştırmada, diyetle kuersetinin, antienflamatuar, antioksidan, antihipertansif, vazodilatör etkileri, antiobesite, antihiperkolesterolemik ve antiaterosklerotik etkileri olduğu bildirilmektedir (Boots vd., 2008; Erlund, 2004). Metabolik sendrom geliştirilen sıçanlara yapılan kuersetin

tedavisinin kardiyovasküler ve hepatik faktörlerde iyileşme gösterdiği ortaya çıkmıştır (S. Panchal vd., 2012). Yapılan başka bir araştırmaya göre streptozosin aracılı diyabet oluşturulan sıçanlara kuersetin uygulaması sonucu glukoz metabolizmasında ve insulin direncinde olumlu etkiler gözlenmiştir (Vessal vd., 2003).

Bu bilgiler ışığında kuersetinin diyabet tedavisinde alternatif bir yöntem olabileceğini düşünerek çalışmamızda diyet polifenol bileşiği olan kuersetinin fruktoz diyeti uygulanan sıçanlarda hepatik FGF21 üretimi üzerindeki uyarıcı etkisini gösterdik. Çalışmamızda fruktozun, karaciğer dokusunda FGF21 mRNA ekspresyonunu baskıladığı tespit edilmiştir. Çalışmamız, fruktoz ile oluşan derin mRNA ekspresyon baskılanışının kuersetin uygulaması ile olumlu yönde düzeldiğinin, artırıldığının göstergesidir.

FGF21'in hepatik metabolizma üzerindeki etkilerini açıklamak için WT ve FGF21-TG farelerinin karaciğerinde mikrodizi çalışmaları yapılmıştır. FGF21-TG karaciğerinde en güçlü şekilde indüklenen genler arasında, karaciğerde glikoneogenezi ve yağ asidi oksidasyonunu koordine etmek için çok önemli olan bir transkripsiyonel koaktivatörü kodlayan PGC1 α geni olduğu görülmüştür. Gerçek zamanlı kantitatif PCR (QPCR) ile PGC1 α mRNA'sının WT karaciğerine kıyasla FGF21-TG karaciğerinde 5 kat indüklendiği doğrulanmıştır. PGC1 α , anahtar glukoneojenik enzimleri şifreleyen glukoz-6-fosfataz (G6pase) ve fosfoenolpiruvat karboksiaz (Pepck) 'ı ve ATP sentaz (Atp5b), sitokrom c (Cytc) ve isotür (ispita (15)' in hidrojen asitinin hedef kitlesini hedeflemektedir. Mitokondriyal oksidatif fosforilasyon ve TCA döngü akışında yer alan proteinleri kodlayan Idh3a), FGF21-TG karaciğerinde önemli ölçüde indüklenmiştir (Şekil 2.6).

İndüklenebilir bir transkripsiyon koaktivatörü olarak PGC1 α , metabolik olarak aktif dokularda fazla eksprese edilir. Uyarlanabilir termojenez, glukoz/yağ asidi metabolizması ve kalp gelişimi ile yakından ilgilidir (Leone vd., 2005; Puigserver & Spiegelman, 2003). Mitokondri biyojenezinin uyarılmasına ve oksidatif metabolizmanın desteklenmesine aracılık etmektedir. Ayrıca, PGC1 α 'nın obezite, diyabet ve kardiyomiyopati gibi bozukluklarda rol oynadığına dair kanıtlar artmaktadır. PGC1 α 'nın bu kadar önemli biyolojik süreçlere dahil olması nedeniyle, etki mekanizmalarını bu bozuklukların tedavisi için bir hedef haline gelmiştir (Liang & Ward, 2006).

Karaciğerde, açlık durumunda PGC-1 α 'nın uyarılması; yağ asidi oksidasyonu, trikarboksilik asit (TCA) siklusu akışı, mitokondriyal oksidatif fosforilasyon ve glukoneogeneze yer alan genlerin transkripsiyonunu uyarmaktadır. Buna göre, bu metabolik işlemler, PGC1 α fonksiyonunun karaciğerde bozulduğu farelerde bozulmaktadır.

Toklukta, PGC1 α , karaciğerde çok düşük seviyelerde eksprese edilmektedir (Herzig vd., 2001). Bununla birlikte, açlık, sırasıyla hepatik glukoneogenezi ve yağ asidi oksidatif metabolizmasını uyaran güçlü bir PGC1 α ifadesi artışı üretmektedir (Yoon vd., 2001). PGC1 α promotor aktivitesinin insülin tarafından inhibe edildiğini yani insülinin PGC1 α 'nın ekspresyonu üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğunu gösteren kanıtlar vardır (Herzig vd., 2001). Aynı zamanda, hepatik PGC1 α ekspresyon seviyelerinin insülin yetersizliği gösteren hayvan modellerinde arttırıldığı bildirilmiştir (Yoon vd., 2001).

Çalışmamızda karaciğer dokusu PGC1 α düzeyinde kontrol grubuna göre ve fruktoz verilen grupta anlamlı olmayan azalma bulunmuş, buna paralel olarak PGC1 α mRNA ekspresyon düzeyleri de fruktoz grubunda 1,23 kat azalmış olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda fruktozun, karaciğer dokusunda PGC1 α mRNA ekspresyonlarını baskıladığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6).

Sadece kuersetin uygulanan grupta, kontrol ve fruktoz grubuna göre karaciğer PGC1 α düzeyi anlamlı artış göstermiş, ek olarak PGC1 α mRNA ekspresyon düzeyi de kontrol grubuna göre 1,58 kat artmış bulunmuştur. Tek başına kuersetin verilmesiyle PGC1 α ifadenmesinde ve de dokudaki miktarında istatistiki açıdan anlamlı derecede artış sağlanmıştır (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6).

Fruktoz ve kuersetinin birlikte uygulandığı grupta PGC1 α 'ın dokudaki miktarı kontrol ve fruktoz grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. PGC1 α mRNA ekspresyon düzeyi ise kontrol grubuyla kıyaslandığında 0,82 kat artmıştır. Bu artış gerçekte ifadenmede daha ciddi bir artıştır. Fruktozun karaciğer dokusunda PGC1 α miktarında ve mRNA ekspresyonunda yaptığı derin azalmanın, birlikte verilen kuersetin tarafından sadece toparlanması değil, aynı zamanda olumlu yönde arttırıldığının göstergesidir. Fruktoz+ kuersetin grubunun PGC1 α mRNA ekspresyon düzeyi fruktoz grubu ile kıyaslandığında 1,5 kat arttığı gözlenmiştir (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6).

Araştırmalar, FGF21 üretiminin uyarılmasının hepatik FGF21 gen transkripsiyonu için anahtar bir uyarıcı olan nükleer reseptör PPARa'nın aktivasyonunu içerdiğini ortaya koymaktadır (Lundasen, Hunt, Nilsson, Sanyal, & Angelin, 2007). Bu çalışma fruktoz ile beslenen ratlarda FGFR1 ve bKlotho ekspresyonunun azalmasının ve PPARa//FGF21//PGC1 α ekseninin aktivasyonunun azaltılmasını içeren fruktozun neden olduğu FGF21 direncinin, uzun süreli kuersetin verilmesi ile aşılabildiğini göstermektedir. Sonuçlarımız literatür bilgilerine paralellik göstermektedir. Ancak çalışmamız kuersetin ve PGC1 α ile ilgili yapılmış ilk araştırmalardan biridir. Literatürde benzer çalışmalara rastlanamamıştır.

Bu çalışmada, fruktoz, kuersetin ve fruktozla birlikte kuersetin uygulamasına, karaciğerde FGF21 ve PGC1 α mRNA ekspresyonunun paralel şekilde benzer yanıtlar verdiğini göstermeye çalıştık. Fruktoz verilmesiyle baskılanan FGF21 ve PGC1 α ifadenmesinin, kuersetin verilerek birlikte artırıldığını ortaya koyduk. Çalışmamızdaki kuersetin uygulamasının PPAR α yolağında yer alan FGF21 üzerinden PGC1 α ifadenmesini artırdığını ve metabolik sendrom bileşenleri üzerinde olumlu etkilerini bu yolla gerçekleştirdiğini söyleyebiliriz. Ancak bu etkilerin tam kanıtlanması için ileri ve daha geniş çalışmaların yapılması, tüm PPAR α yolağının ve diğer dokulardaki etkilerinin ortaya konarak araştırılması gerekmektedir. Bulduğumuz sonuçlar bu yönüyle yapılacak başka araştırmalardaki verilerin yorumlanmasında destekleyici olacaktır.

6. SONUÇ

Araştırmamızda %20 lik fruktoz uygulaması sonucu MetS modeli ratlarda başarı ile oluşturulmuş ve yeterli kriterler sağlanmıştır. 15 mg/kg dozda uygulanan kuersetinin karaciğer dokusunda FGF21 ve PGC1 α düzeyi ve mRNA ifadenmesi üzerine muhtemel olumlu etkileri araştırılmıştır. MetS modelinde fruktoz uygulaması ile FGF21 ve PGC1 α mRNA ifadenmesindeki azalışın, lipid ve glukoz metabolizmasındaki bozulmanın nedenlerinden biri olabileceği, kuersetinin ise bu dozda iyileştirici etki sağlayıp sağlayamayacağı incelenmiştir. Bu doğrultuda kuersetin tek başına ve de fruktoz eşliğinde kullanılmıştır.

10 haftanın sonunda kanbasıncının fruktoz uygulaması ile ciddi derecede arttığı, kuersetin tedavisi ile azalma kaydedilmiştir.

Modelimizde serum trigliserit düzeylerinin fruktozla istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği, ancak kuersetinin fruktozla verildiğinde trigliserit seviyesini olumsuz etkilediği, total kolesterol ve LDL-kolesterolü azalttığı, ancak HDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol düzeylerini değiştirmedeği tespit edilmiştir.

Fruktozla beslenen sıçanlarda MetS modelinde, serum insülin, glukoz seviyesi ve insülin ve HOMA-IR değerlerinin yükseldiği ortaya konmuştur. Kuersetinin fruktoz ile birlikte uygulanması insülin düzeylerini anlamlı olarak düşürmüştür, glukoz düzeylerini bir miktar yükseltmiştir ve insülin direnci üzerine çok etkili olmamıştır.

Fruktozlu beslenme sonrası sıçanların obez olduğu belirtilmiştir. Kuersetin verilmesinin fruktoz sebebiyle görülen bu artışı düşürdüğü, ancak bu dozlarda obesiteyi iyileştirmede etkin olmadığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda fruktoz, karaciğer FGF21 ve PGC1 α düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde azaltmış, aynı zamanda mRNA ekspresyonlarını da baskılamıştır. Kuersetin hem tek başına hem de fruktoz ile birlikte uygulandığında karaciğer FGF21 ve PGC1 α düzeylerini yükseltmiş, aynı zamanda mRNA ekspresyonlarını da artırmıştır.

Çalışmamızın sonuçları 10 haftalık 15 mg/kg kuersetin uygulamasının fruktoz aracılıklı MetS modelinde lipid ve karbonhidrat metabolizmasında yararlı olacağı ve bu dozda olan etkilerinin uzun süre kullanımda daha da etkili olabileceğini düşündürmektedir. Doz artırıldığında FGF21 ve PGC1 α mRNA indüksiyonu etkisiyle serum glukoz, trigliserid ve insülin direncinde pozitif etkilerinin görülebileceğini, olumlu etkileri nedeniyle tedavide kullanılabileceğini göstermektedir.

Yapılacak kuersetin uygulaması çalışmalarında farklı süre ve dozlarda, MetS bileşenlerinin oluşmasındaki mekanizmaların açığa çıkarılması, ayrıca olası antioksidan ilaçların bu bileşenler üzerine etkilerinin aydınlatılmasına yoğunlaşılması gerekmektedir. Metabolik sendrom tedavisinde umut verici bir molekül olan kuersetinin etki mekanizmaları hakkında kapsamlı projelerin transkriptomik, proteomik ve metabolomik çalışmaları ile desteklenmesi ile MetS patogenezi ve tedavisinde ciddi adımlar atılabileceğine inanmaktayız.

KAYNAKLAR

- Abdulla, M. H., Sattar, M. A., & Johns, E. J. (2011). The relation between fructose induced metabolic syndrome and altered renal haemodynamic and excretory function in the rat. *International Journal of Nephrology*, 2011, 1–17.
- Abo-Youssef, A. M. (2015). Protective effect of rosiglitazone, quercetin, and their combination on fructose-induced metabolic syndrome in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 47(6), 620.
- Ahn, J., Lee, H., Kim, S., Park, J., & Ha, T. (2008). The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 373, 545–549.
- Akan, Z., & Garip, A. (2013). Antioxidants may protect cancer cells from apoptosis signals and enhance cell viability. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14, 4611–614.
- Alberti, K. G. M., Zimmet, P., & Shaw, J. (2005). The metabolic syndrome a new worldwide definition. *The Lancet*, 366(9491), 1059–1062.
- Alberti, K. G. M. M., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., Smith, S. C. (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International. *Circulation*, 120(16), 1640–1645.
- Altan Onat, Günay Can, H. Y., Evin Ademoğlu, N. E.-Ü., & Ayşem Kaya, S. A. (2017). *Tekharf 2017, Tıp Dünyasının Kronik Hastalıklara Yaklaşımına Öncülük*.
- Araujo, T., Oliveira, A., & Saad, M. (2013). Insulin-resistance-associated compensatory mechanisms of pancreatic beta cells: A current opinion. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 4, 146.
- Arner, P., Pettersson, A., Mitchell, P., Dunbar, J., Kharitonov, A., & Ryden, M. (2008). FGF21 attenuates lipolysis in human adipocytes – A possible link to improved insulin sensitivity. *FEBS Letters*, 582, 1725–1730.
- Arslan, M., Atmaca, A., Ayvaz, G., Beyhan, Z., Bolu, E., Can, S., Tanacı, N. (2009). Metabolik sendrom kilavuzu. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*.
- Arslan, S., & Şanlıer, N. (2016). Derleme Fruktöz ve Sağlık. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 9(3), 150–158.
- Aschner, P. (2010). Metabolic syndrome as a risk factor for diabetes. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 8(3), 407–412.
- Asipu, A., Hayward, B. E., Reilly, J. O., & Bonthron, D. T. (2003). Properties of Normal and Mutant Recombinant Human Ketohexokinases and Implications for the Pathogenesis of Essential Fructosuria. *Diabetes*, 52(9), 2426–2432.

- Baar, K., Song, Z., Semenkovich, C., Jones, T., Han, D., Nolte, L., Holloszy, J. (2003). Skeletal muscle overexpression of nuclear respiratory factor 1 increases glucose transport capacity. *FASEB Journal*, 17, 1666–1673.
- Baar, K., Wende, A., Jones, T., Marison, M., Nolte, L., Chen, M., Holloszy, J. (2002). Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. *FASEB Journal*, 16, 1879–1886.
- Badman, M., Koester, A., Flier, J., Kharitonov, A., & Maratos-Flier, E. (2009). Fibroblast growth factor 21-deficient mice demonstrate impaired adaptation to ketosis. *Endocrinology*, 150, 4931–4940.
- Badman, M., Koester, A., Flier, J., Kharitonov, A., & Maratos-Flier, E. (2009). Fibroblast growth factor 21-deficient mice demonstrate impaired adaptation to ketosis. *Endocrinology*, 150, 4931–4940.
- Badman, M., Koester, A., Flier, J., Kharitonov, A., & Maratos-Flier, E. (2009). Fibroblast growth factor 21-deficient mice demonstrate impaired adaptation to ketosis. *Endocrinology*, 150, 4931–4940.
- Badman, M., Pissios, P., Kennedy, A., Koukos, G., Flier, J., & Maratos-Flier, E. (2007a). Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPAR α and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell Metabolism*, 5, 426–437.
- Badman, M., Pissios, P., Kennedy, A., Koukos, G., Flier, J., & Maratos-Flier, E. (2007b). Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPAR α and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell Metabolism*, 5, 426–437.
- Baggio, B., Favaro, S., Antonello, A., Camerin, E., Todesco, S., & Borsatti, A. (1977). Fructose-induced Hyperuricemia in Essential Hypertension. *Metabolism*, 26(11), 1219-1223.
- Baghel, S. S., Shrivastava, N., Baghel, R. S., Agrawal, P., & Rajput, S. (2016). A review of quercetin : Antioxidant and anticancer properties A REVIEW OF QUERCETIN : ANTIOXIDANT AND ANTICANCER. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 146–160.
- Barros, C. M. M., Lessa, R. Q., Grechi, M. P., Mouço, T. L., Souza, M. D. G. C., Wiernsperger, N., & Bouskela, E. (2007). Substitution of drinking water by fructose solution induces hyperinsulinemia and hyperglycemia in hamsters. *Clinics*, 62(3), 327–334.
- Basciano, H., Federico, L., & Adeli, K. (2005). Fructose , insulin resistance , and metabolic dyslipidemia. *Nutrition & Metabolism*, 2(1), 5.
- Bentz, A. B. (2009). A Review of Quercetin: Chemistry, Antioxidant Properties, and Bioavailability. *Journal of Young Investigators*.
- Berglund, E., Kang, L., Lee-Young, R., Hasenour, C., Lustig, D., Lynes, S., Wasserman, D. (2010). Glucagon and lipid interactions in the regulation of hepatic AMPK signaling and expression of PPAR α and FGF21 transcripts in vivo. *The American Journal of Physiology Endocrinology*, 299, E607-614.

- Berglund, E., Kang, L., Lee-Young, R., Hasenour, C., Lustig, D., Lynes, S., Wasserman, D. (2010). Glucagon and lipid interactions in the regulation of hepatic AMPK signaling and expression of PPARalpha and FGF21 transcripts in vivo. *The American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 299, 607–614.
- Berglund, E., Li, C., Bina, H., Lynes, S., Michael, M., Shanafelt, A., & Kharitononkov, A., Wasserman, D. (2009). Fibroblast growth factor 21 controls glycemia via regulation of hepatic glucose flux and insulin sensitivity. *Endocrinology*, 150, 4084–4093.
- Bernardis, L. L., & Patterson, B. D. (1968). Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *Journal of Endocrinology*, 40(4), 527–528.
- Boots, A. W., Haenen, G. R. M. M., & Bast, A. (2008). Health effects of quercetin : From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*, 585(2), 325–337.
- Borgman, M., & McErlan, E. (2006). What is the metabolic syndrome? Prediabetes and cardiovascular risk. *The Journal of Cardiovascular Nursing*, 21(4), 285–290.
- Bose, M., Lambert, J. D., Ju, J., Reuhl, K. R., Sue, A., & Yang, C. S. (2008). The Major Green Tea Polyphenol, (–) Epigallocatechin-3-Gallate, Inhibits Obesity, Metabolic Syndrome, and Fatty Liver Disease in High-Fat Fed Mice. *The Journal of nutrition*, 138(9), 1677–1683.
- Burgess, S., Leone, T., Wende, A., Croce, M., Chen, Z., Sherry, A., & Malloy CR, and F. B. (2006). Diminished hepatic gluconeogenesis via defects in tricarboxylic acid cycle flux in peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1a (PGC1 α)-deficient mice. *Journal of Biological Chemistry*, 281, 19000–19008.
- Cameron, A. J., Shaw, J. E., & Zimmet, P. Z. (2004). The Metabolic Syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 33, 351–375.
- Camporez, J., Jornayvaz, F., Petersen, M., Pesta, D., Guigni, B., Serr, J., Shulman, G. (2013). Cellular mechanisms by which FGF21 improves insulin sensitivity in male mice. *Endocrinology*, 154, 3099–3109.
- Cariello, M., & Moschetta, A. (2014). Fibroblast growth factor 21: a new liver safeguard. *Hepatology*, 60(3), 792–794.
- Chartoumpekis, D., Habeos, I., Ziros, P., Psyrogiannis, A., Kyriazopoulou, V., & Papavassiliou, A. (2011). Brown adipose tissue responds to cold and adrenergic stimulation by induction of FGF21. *Molecular Medicine*, 17, 736–740.
- Chau, M., Gao, J., Yang, Q., Wu, Z., & Gromada, J. (2010). Fibroblast growth factor 21 regulates energy metabolism by activating the AMPK-SIRT1-PGC-1alpha pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 12553–12558.

- Chen, W., Hoo, R., Konishi, M., Itoh, N., Lee, P., Ye, H., Xu, A. (2011). Growth hormone induces hepatic production of fibroblast growth factor 21 through a mechanism dependent on lipolysis in adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 286, 34559–4566.
- Chopra, M., Fitzsimons, P., Strain, J., Thurnham, D., & Howard, A. (2000). Nonalcoholic red wine extract and quercetin inhibit LDL oxidation without affecting plasma antioxidant vitamin and carotenoid concentrations. *Clinical Chemistry*, 46(8), 1162–1170.
- Christodoulides, C., Dyson, P., Sprecher, D., Tsintzas, K., & Karpe, F. (2009). Circulating fibroblast growth factor 21 is induced by peroxisome proliferator-activated receptor agonists but not ketosis in man. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94, 3594–3601.
- Coskun, T., Bina, H., Schneider, M., Dunbar, J., Hu, C., Chen, Y., Kharitononkov, A. (2008). Fibroblast growth factor 21 corrects obesity in mice. *Endocrinology*, 149, 6018–6027.
- Coskun, Tamer, Bina, H. A., Schneider, M. A., Dunbar, J. D., Hu, C. C., Chen, Y., Kharitononkov, A. (2008). Fibroblast growth factor 21 corrects obesity in mice. *Endocrinology*, 149(12), 6018–6027.
- Cruz-Correa, M., Shoskes, D., Sanchez, P., Zhao, R., Hyland, L., Wexner, S., & Al, E. (2006). Combination treatment with curcumin and quercetin of adenomas in familial adenomatous polyposis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 4, 1035–1038.
- Dai, S., & McNeill, J. H. (1995). Fructose-induced hypertension in rats is concentration and duration dependent. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 33(2), 101–107.
- Dauchet, L., Amouyel, P., & Dallongeville, J. (2005). Fruit and vegetable consumption and risk of stroke: A meta-analysis of cohort studies. *Neurology*, 65, 1193–1197.
- David A. Bender, Victor W Rodwell, Peter J. Kennelly, Kathleen M. Botham, P. A. W. (2018). *Harper's Illustrated Biochemistry 31st Edition*.
- David, A. V. A., Arulmoli, R., & Parasuraman, S. (2016). Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacognosy Reviews*, 10(20), 84–89.
- de Moura, R. F., Ribeiro, C., de Oliveira, J. A., Stevanato, E., & de Mello, M. A. R. (2008). Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. *British Journal of Nutrition*, 101(8), 1178–1184.
- de Moura, R.F., Ribeiro, C., de Oliveira, J. A., Stevanato, E., & de Mello, M. A. R. (2009). Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. *British Journal of Nutrition*, 101(8), 1178–1184.

- Dekker, M., Barrett, H., Kubala, M., Scholz Romero, K., Denny, K., Woodruff, T., ... Callaway, L. (2014). Increased placental expression of fibroblast growth factor 21 in gestational diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99, 591–598.
- Diggle, C P, Shires, M., Mcrae, C., Crellin, D., Fisher, J., Carr, I. M., Both, B. D. T. (2010). Both isoforms of ketohexokinase are dispensable for normal growth and development. *Physiol Genomics*, 42(4), 235–243.
- Diggle, Christine P, Shires, M., Leitch, D., Brooke, D., Carr, I. M., Markham, A. F., Bonthron, D. T. (2009). Ketohexokinase : Expression and Localization of the Principal Fructose-metabolizing Enzyme The Journal of Histochemistry & Cytochemistry. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 57(8), 763–774.
- Ding, X., Boney-Montoya, J., Owen, B., Bookout, A., Coate, K., Mangelsdorf, D., & Kliewer, S. (2012). betaKlotho is required for fibroblast growth factor 21 effects on growth and metabolism. *Cell Metabolism*, 16, 387–393.
- Dubois, M., Pattou, F., Kerr-Conte, J., Gmyr, V., Vandewalle, B., Desreumaux, P., Lefebvre, J. (2000). Expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) in normal human pancreatic islet cells. *Diabetologia*, 43, 1165–1169.
- Dutchak, P., Katafuchi, T., Bookout, A., Choi, J., Yu, R., Mangelsdorf, D., & Kliewer, S. (2012). Fibroblast growth factor-21 regulates PPARgamma activity and the antidiabetic actions of thiazolidinediones. *Cell*, 148, 556–567.
- Edwards, R. L., Lyon, T., Litwin, S. E., Rabovsky, A., Symons, J. D., & Jalili, T. (2007). Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. *The Journal of Nutrition*, 137(11), 2405–2411.
- Edwards, R., Lyon, T., Litwin, S., Rabovsky, A., Symons, J., & Jalili, T. (2007). Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. *Journal of Nutrition*, 137, 2405–2411.
- Egert, S., Bosy-Westphal, A., Seiberl, J., Kürbitz, C., Settler, U., Plachta-Danielzik, S., & Al, E. (2009). Quercetin reduces systolic blood pressure and plasma oxidised low-density lipoprotein concentrations in overweight subjects with a high-cardiovascular disease risk phenotype: A double-blinded, placebo-controlled cross-over study. *British Journal of Nutrition.*, 102, 1065–1074.
- Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin , hesperetin , and naringenin . Dietary sources , bioactivities , bioavailability , and epidemiology. *Nutrition Research*, 24(10), 851–874.
- F. Stirpe, E. Della Corte, E. Bonetti, A. Abbondanza, A. A., & Stefano, and F. De. (1970). Fructose-induced hyperuricaemia. *The Lancet*, 2(7686), 1310–1311.
- Ferrari, C., Frezzati, S., Romussi, M., Bertazzoni, A., Testori, G., Antonini, S., & Paracchi, A. (1977). Effects of short-term clofibrate administration on glucose tolerance and insulin secretion in patients with chemical diabetes or hypertriglyceridemia. *Metabolism*, 26, 129–139.

- Ferreira, A. P., Oliveira, C. E., & França, N. M. (2007). Metabolic syndrome and risk factors for cardiovascular disease in obese children: the relationship with insulin resistance (HOMA-IR). *Jornal de Pediatria*, 83(1), 21–26.
- Finck, B., & Kelly, D. (2006). PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease. *Journal of Clinical Investigation*, 116, 615–622.
- Fisher, F., Kleiner, S., Douris, N., Fox, E., Mepani, R., Verdeguer, F., Spiegelman, B. (2012). FGF21 regulates PGC-1 α and browning of white adipose tissues in adaptive thermogenesis. *Genes & Development*, 26, 271–281.
- Ford Earl S., Giles Wayne H., M. A. H. (2004). Increasing Prevalence of the Metabolic Syndrome Among U.S. Adults. *Diabetes Care*, 27(10), 2444–2449.
- Fox, Irving H., Kelley, W. N. (1972). Studies on the Mechanism of Fructose-induced Hyperuricemia in Man. *Metabolism*, 21(8), 713–721.
- Fukumoto, S. (2008). Actions and mode of actions of FGF19 subfamily members. *Endocrine Journal*, 55, 23–31.
- Galman, C., Lundasen, T., Kharitononkov, A., Bina, H., Eriksson, M., Hafstrom, I., Rudling, M. (2008). The circulating metabolic regulator FGF21 is induced by prolonged fasting and PPAR α activation in man. *Cell Metabolism*, 8, 169–174.
- Ganoni, G. V., Paglialonga, G., & Siculella, L. (2009). Quercetin inhibits fatty acid and triacylglycerol synthesis in rat-liver cells. *European Journal of Clinical Investigation*, 39(9), 761–768.
- Ge, X., Chen, C., Hui, X., Wang, Y., Lam, K., & Xu, A. (2011). Fibroblast growth factor 21 induces glucose transporter-1 expression through activation of the serum response factor/Ets-like protein-1 in adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 286, 34533–34541.
- Girard, A., Madani, S., Boukourt, F., Cherkaoui-Malki, M., Belleville, J., & Prost, J. (2006). Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition*, 22(7), 758–766.
- Goran, M. I., Uliaszek, S. J., Ventura, E. E., Goran, M. I., Uliaszek, S. J., & Ventura, E. E. (2013). High fructose corn syrup and diabetes prevalence: A global perspective. *Global Public Health*, 8(1), 55–64.
- Gupta, D., Jetton, T., Mortensen, R., Duan, S., Peshavaria, M., & Leahy, J. (2008). In vivo and in vitro studies of a functional peroxisome proliferator-activated receptor gamma response element in the mouse pdx-1 promoter. *Journal of Biological Chemistry*, 283, 32462–32470.
- Han, M., Song, Y., & Zhang, X. (2016). Quercetin suppresses the migration and invasion in human colon cancer caco-2 cells through regulating toll-like receptor 4/nuclear factor-kappa B pathway. *Pharmacognosy Magazine*, 12(2), 237–244.
- Hannou, S. A., Haslam, D. E., McKeown, N. M., & Herman, M. A. (2018). Fructose metabolism and metabolic disease. *Journal of Clinical Investigation*, 128(2), 545–555.

- Hansen, I., Tsalikian, E., Beaufre, B., Gerich, J., Haymond, M., & Rizza, R. (1986). Insulin resistance in acromegaly: Defects in both hepatic and extrahepatic insulin action. *American Journal of Physiology*, 250, 269–273.
- Hara, K., Tobe, K., Okada, T., Kadowaki, H., Akanuma, Y., Ito, C., Kadowaki, T. (2002). A genetic variation in the PGC-1 gene could confer insulin resistance and susceptibility to Type II diabetes. *Diabetologia*, 45, 740–743.
- Havel, P. J. (2005). Dietary Fructose: Implications for Dysregulation of Energy Homeostasis and Lipid / Carbohydrate Metabolism. *Nutrition Reviews*, 63(5), 133–157.
- He, F., Nowson, C., & MacGregor, G. (2006). Fruit and vegetable consumption and stroke: Meta-analysis of cohort studies. *Lancet*, 367, 320–326.
- Herzig, S., Long, F., Jhala, U., Hedrick, S., Quinn, R., Bauer, A., Montminy, M. (2001). CREB regulates hepatic gluconeogenesis through the coactivator PGC-1. *Nature*, 413, 179–183.
- Hondares, E., Iglesias, R., Giralt, A., Gonzalez, F., Giralt, M., Mampel, T., & Villarroya, F. (2011). Thermogenic activation induces FGF21 expression and release in brown adipose tissue. *Journal of Biological Chemistry*, 286, 12983–12990.
- Hondares, E., Rosell, M., Gonzalez, F., Giralt, M., Iglesias, R., & Villarroya, F. (2010). Hepatic FGF21 expression is induced at birth via PPARalpha in response to milk intake and contributes to thermogenic activation of neonatal brown fat. *Cell Metabolism*, 11, 206–212.
- Hotta, Y., Nakamura, H., Konishi, M., Murata, Y., & Takagi, H. (2009). Fibroblast growth factor 21 regulates lipolysis in white adipose tissue but is not required for ketogenesis and triglyceride clearance in liver. *Endocrinology*, 150, 4625–4633.
- Hwang, I.-S., Huang, W.-C., Wu, J.-N., LR, S., & Reaven, G. (1989). Effect of fructose induced hypertension on the renin-angiotensin-aldosterone system and atrial natriuretic factor. *American Journal of Hypertension*, 2, 424–427.
- I-Shun Hwang, Helen Ho, Brian B. Hoffman, A. G. M. R. (1987). Fructose-Induced Insulin Resistance and Hypertension in Rats. *Hypertension*, 10, 512–516.
- Ibrahim, K. G., Chivandi, E., Mojiminiyi, F. B. O., & Erlwanger, K. H. (2017). The response of male and female rats to a high-fructose diet during adolescence following early administration of Hibiscus sabdariffa aqueous calyx extracts. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 1–10.
- Im, S., Kim, J., Kim, T., Song, X., Kim, S., Kim, H., & Ahn, Y. (2005). Identification and characterization of peroxisome proliferator response element in the mouse GLUT2 promoter. *Experimental & Molecular Medicine*, 37, 101–110.
- Inagaki, T., Dutchak, P., Zhao, G., Ding, X., Gautron, L., Parameswara, V., Klier, S. (2007). Endocrine regulation of the fasting response by PPARalpha-mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell Metabolism*, 5, 415–425.

- Inagaki, T., Lin, V., Goetz, R., Mohammadi, M., Mangelsdorf, D., & Kliewer, S. (2008). Inhibition of growth hormone signaling by the fasting-induced hormone FGF21. *Cell Metabolism*, 8, 77–83.
- Ito, S., Kinoshita, S., & Shiraishi, N. (2000). Molecular cloning and expression analyses of mouse betaklotho, which encodes a novel Klotho family protein. *Mechanisms of Development*, 98, 115–119.
- Ito, S., Kinoshita, S., Shiraishi, N., Nakagawa, S., Sekine, S., Fujimori, T., & Nabeshima, Y. (2000). Molecular cloning and expression analyses of mouse betaklotho, which encodes a novel Klotho family protein. *Mechanisms of Development*, 98, 115–119.
- J. Perheentupa and K. Raivio. (1967). Fructose-induced hyperuricaemia. *The Lancet*, 2(7515), 528–531.
- J.Havel, K. L. S. (2008). Fructose consumption: potential mechanisms for its effects to increase visceral adiposity and induce dyslipidemia and insulin resistance. *Current Opinion in Lipidology*, 19(1), 16–24.
- Johnson, R. J., Perez-pozo, S. E., Sautin, Y. Y., Manitius, J., Sanchez-lozada, L. G., Feig, D. I., Roncal, C. (2009). Hypothesis : Could Excessive Fructose Intake and Uric Acid Cause Type 2 Diabetes ? *Endocrine Review.*, 30(1), 96–116.
- Johnson, Richard, Segal, M. S., Nakagawa, T., & Feig, D. (2007). Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease1-3. *American Journal of Clinical Nutrition*, 86(4), 899–906.
- Johnson, RJ., Segal, M., Sautin, Y., Nakagawa, T., Feig, D., & Kang, D. (2007). Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 86, 899–906.
- Jurgens, H., Haass, W., Castaneda, T., Schurmann, A., Koebnick, C., & Dombrowski, F. (2005). Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obes Research*, 13, 1146–1156.
- Kahn, B. and Flier, J. (2000). Obesity and insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, 106(4), 473–481.
- Kantar, Ş., Türközkan, N., Bircan, F. S., & Paşaoğlu, Ö. T. (2015). Beneficial effects of melatonin on serum nitric oxide, homocysteine, and ADMA levels in fructose-fed rats. *Pharmaceutical Biology*, 53(7), 1035–1041.
- Katsube, T. (2006). Food Chemistry Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L .) leaves isolated based on LDL antioxidant activity. *Food Chemistry*, 97, 25–31.
- Kawabe, T., & Morgan, C. (1983). Multiple effects of growth hormone on insulin release from isolated pancreatic islets. *Metabolism*, 32, 728–731.

- Kelley, D., He, J., Menshikova, E., & Ritov, V. (2002). Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes*, 51, 2944–2950.
- Kersten, S., Seydoux, J., Peters, J., Gonzalez, F., Desvergne, B., & Wahli, W. (1999). Peroxisome proliferator-activated receptor α mediates the adaptive response to fasting. *Journal of Clinical Investigation*, 103, 1489–1498.
- Khan, S. (2016). Controversies about sugars: results from systematic reviews and meta-analyses on obesity, cardiometabolic disease and diabetes. *European Journal of Nutrition*, 55, 25–43.
- Kharitonkov, A., Dunbar, J., & Bina, H. (2008). FGF21/FGF21 receptor interaction and activation is determined by betaKlotho. *Journal of Cellular Physiology*, 215, 1–7.
- Kharitonkov, A., Dunbar, J., Bina, H., Bright, S., Moyers, J., Zhang, C., Shanafelt, A. (2008). FGF21/FGF21 receptor interaction and activation is determined by betaKlotho. *Journal of Cellular Physiology*, 215, 1–7.
- Kharitonkov, A., & Shanafelt, A. (2008). Fibroblast growth factor-21 as a therapeutic agent for metabolic diseases. *BioDrugs*, 22, 37–44.
- Kharitonkov, A., Shiyanova, T., Koester, A., Ford, A., Micanovic, R., Galbreath, E., Sandusky, G., Shanafelt, A. (2005). FGF21 as a novel metabolic regulator. *Journal of Clinical Investigation*, 115, 1627–1635.
- Kharitonkov, A., Shiyanova, T., Koester, A., Ford, A., Micanovic, R., Galbreath, E., Shanafelt, A. (2005). FGF21 as a novel metabolic regulator. *Journal of Clinical Investigation*, 115, 1627–1635.
- Khitan, Z., & Kim, D. H. (2013). Fructose : A Key Factor in the Development of Metabolic Syndrome and Hypertension. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2013.
- Kim, O. Y., Lee, S. M., Do, H., Moon, J., Lee, K. H., Cha, Y. J., & Shin, M. J. (2012). Influence of Quercetin-rich Onion Peel Extracts on Adipokine Expression in the Visceral Adipose Tissue of Rats. *Phytotherapy Research*, 26(3), 432–437.
- Kissebah, A. H., Vydelin, N., Murray, R., Evans, D. J., Hartz, A. J., Kalkhoff, R. K., & Adams, P. W. (1983). Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. *Obstetrical and Gynecological Survey*, 38(1), 41–44.
- Kizhner, T., & Werman, M. J. (2002). Long-term fructose intake: biochemical consequences and altered renal histology in the male rat. 51(12), 1538–1547.
- Kong, L., Feng, W., Wright, M., Chen, Y., Dallas-yang, Q., Zhou, Y., & Berger, J. (2013). FGF21 suppresses hepatic glucose production through the activation of atypical protein kinase Ciota/lambda. *European Journal of Pharmacology*, 702, 302–308.
- Koo, S., Satoh, H., Herzig, S., Lee, C., Hedrick, S., Kulkarni, R., Montminy, M. (2004). PGC-1 promotes insulin resistance in liver through PPAR- α -dependent induction of TRB-3. *Nature Medicine*, 10, 530–534.

- Korkmaz, A. (2012). Science for everyone; fructose and human metabolism. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 11(1), 1–4.
- Kouhara, H., Hadari, Y., Spivak-Kroizman, T., Schilling, J., Bar-Sagi, D., Lax, I., & Schlessinger, J. (1997). A lipidanchored Grb2-binding protein that links FGF-receptor activation to the Ras/MAPK signaling pathway. *Cell*, 89, 693–702.
- Krege, J. H., Hodgin, J. B., Hagaman, J. R., & Smithies, O. (1995). A noninvasive computerized tail-cuff system for measuring blood pressure in mice. *Hypertension*, 25(5), 1111–1115.
- Kylin, E. (1923). Studien über das Hypertonie-Hyperglyka ‘mie-Hyperurika’ miesyndrom. *Zentralbl Inn Med*, 44, 105–127.
- Laeger, T., Henagan, T., Albarado, D., Redman, L., Bray, G., Noland, R., Morrison, C. (2014). FGF21 is an endocrine signal of protein restriction. *Journal of Clinical Investigation*, 124, 3913–3922.
- Lakhanpal P, R. D. (2007). Quercetin: A versatile flavonoid. *International Journal of Medical Sciences*, 2, 22–37.
- Lalloyer, F., Vandewalle, B., Percevault, F., Torpier, G., Kerr-Conte, J., Oosterveer, M., Staels, B. (2006). Peroxisome proliferator-activated receptor alpha improves pancreatic adaptation to insulin resistance in obese mice and reduces lipotoxicity in human islets. *Diabetes*, 55, 1605–1613.
- Lamson, D., & Brignall, M. (2000). Antioxidants and cancer, part 3: Quercetin. *Altern Medicine Review*, 5, 196–208.
- Lanaspa, M. A., Sanchez-lozada, L. G., Cicerchi, C., Li, N., Roncal, C. A., Ishimoto, T., Johnson, R. J. (2012). Uric Acid Stimulates Fructokinase and Accelerates Fructose Metabolism in the Development of Fatty Liver. *Public Library of Science One*, 7(10).
- Le, K. A., & Tappy, L. (2006). Metabolic effects of fructose. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 9(4), 469–475.
- Le, K., Faeh, D., Stettler, R., Ith, M., Kreis, R., Vermathen, P., Ravussin, E. (2006). A 4-wk high-fructose diet alters lipid metabolism without affecting insulin sensitivity or ectopic lipids in healthy humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(6), 1374–1379.
- Lee, D., Li, D., Yan, Q., Zhu, Y., Goodwin, B., Calle, R., Talukdar, S. (2014). Fibroblast growth factor 21 improves insulin sensitivity and synergizes with insulin in human adipose stem cell-derived (hASC) adipocytes. *Public Library of Science One*, 9, 111767.
- Leiherer, A., Stoemmer, K., Muendlein, A., Saely, C. H., Kinz, E., Brandtner, E. M., Drexel, H. (2016). *Quercetin Impacts Expression of Metabolism- and Obesity-Associated Genes in SGBS Adipocytes*. 1–12.

- Lekakis, J., Rallidis, L., Andreadou, I., Vamvakou, G., Kazantzoglou, G., Magiatis, P., & Al, E. (2005). Polyphenolic compounds from red grapes acutely improve endothelial function in patients with coronary heart disease. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*, 12, 596–600.
- Leone, T., Lehman, J., Finck, B., Schaeffer, P., Wende, A., Boudina, S., Kelly, D. (2005). PGC-1 α deficiency causes multisystem energy metabolic derangements: muscle dysfunction, abnormal weight control and hepatic steatosis. *Public Library of Science Biology*, 3, 101.
- Leone, T., Weinheimer, C., & Kelly, D. (1999). A critical role for the peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) in the cellular fasting response: The PPAR α -null mouse as a model of fatty acid oxidation disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96, 7473–7478.
- Li, X., Ge, H., Weizmann, J., Hecht, R., Li, Y., Veniant, M., Li, Y. (2009). Inhibition of lipolysis may contribute to the acute regulation of plasma FFA and glucose by FGF21 in ob/ob mice. *FEBS Letter*, 583, 3230–3234.
- Liang, H., & Ward, W. F. (2006). PGC1 α : a key regulator of energy metabolism. *Advances in Physiology Education*, 3900, 145–151.
- Liang, Q., Zhong, L., Zhang, J., Wang, Y., Bornstein, S., Triggie, C., Xu, A. (2014). FGF21 maintains glucose homeostasis by mediating the cross talk between liver and brain during prolonged fasting. *Diabetes*, 63, 4064–4075.
- Lin, J., Wu, H., Tarr, P., Zhang, C., Wu, Z., Boss, O., Spiegelman. (2002). Transcriptional co-activator PGC-1 α drives the formation of slow-twitch muscle fibres. *Nature*, 418, 797–801.
- Lin, J., Wu, P., Tarr, P., Lindenberg, K., St Pierre, J., Zhang, C., Spiegelman, B. (2004). Defects in adaptive energy metabolism with CNS-linked hyperactivity in PGC-1 α null mice. *Cell*, 119, 121–135.
- Lowell, B. (1999). PPAR γ : an essential regulator of adipogenesis and modulator of fat cell function. *Cell*, (99), 239–242.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, L. A., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275.
- Lundasen, T., Hunt, M., Nilsson, L., Sanyal, S., & Angelin, B. (2007). PPAR α is a key regulator of hepatic FGF21. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 360, 437–440.
- Lundasen, T., Hunt, M., Nilsson, L., Sanyal, S., Angelin, B., Alexson, S., & Rudling, M. (2007). PPAR α is a key regulator of hepatic FGF21. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 360, 437–440.
- Maenpaa, P. H., Raivio, K. O. & Kekomaki, M. P. (1968). Liver Adenine Nucleotides : Fructose-Induced Depletion and Its Effect on Protein Synthesis. *Science*, 161(3847), 1253–1254.

- Markan, K., Naber, M., Ameka, M., Anderegg, M., Mangelsdorf, D., & Al., E. (2014). Circulating FGF21 is liver derived and enhances glucose uptake during refeeding and overfeeding. *Diabetes*, 63, 4057–4063.
- Micanovic, R., Raches, D., & Dunbar, J. (2009). Different roles of N- and C- termini in the functional activity of FGF21. *Journal of Cellular Physiology*, 219, 227–234.
- Michael, L., Wu, Z., Cheatham, R., Puigserver, P., Adelmant, G., Lehman, J., Spiegelman, B. (2001). Restoration of insulin-sensitive glucose transporter (GLUT4) gene expression in muscle cells by the transcriptional coactivator PGC-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 3820–3825.
- Miller, A., & Adeli, K. (2008). Dietary fructose and the metabolic syndrome. *Current Opinion in Gastroenterology*, 24(2), 204–209.
- Miura, S., Kai, Y., Ono, M., & Ezaki, O. (2003). Overexpression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha down-regulates GLUT4 mRNA in skeletal muscles. *Journal of Biological Chemistry*, 278, 31385–31390.
- Mootha, V., Lindgren, C., Eriksson, K., Subramanian, A., Sihag, S., Lehar, J., LC. (2003). PGC-1alpha-responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nature Genetics*, 34, 267–273.
- Mora, S., & Pessin, J. (2000). The MEF2A isoform is required for striated muscle-specific expression of the insulin-responsive GLUT4 glucose transporter. *Journal of Biological Chemistry*, 275, 16323–16328.
- Morino, K., Petersen, K., Dufour, S., Befroy, D., Frattini, J., Shatzkes, N., Shulman, G. (2005). Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents. *Journal of Clinical Investigation*, 115, 3587–3593.
- Mostarda, C., Moraes-Silva, I., Salemi, V., Machi, J., Rodrigues, B., & De Angelis, K. (2012). Exercise training prevents diastolic dysfunction induced by metabolic syndrome in rats. *Clinics*, 67, 815–820.
- Moura, Rodrigo Ferreira De, Ribeiro, C., Oliveira, J. A. De, Stevanato, E., Alice, M., & Mello, R. De. (2009). Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. *British Journal of Nutrition*, 101, 1178–1184.
- Muise, E., Azzolina, B., Kuo, D., El-Sherbeini, M., Tan, Y., Yuan, X., Berger, J. (2008). Adipose fibroblast growth factor 21 is up-regulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma and altered metabolic states. *Mol Pharmacol*, 74, 403–412.
- Muller, Y., Bogardus, C., Pedersen, O., & Baier, L. (2003). A Gly482Ser missense mutation in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 is associated with altered lipid oxidation and early insulin secretion in Pima Indians. *Diabetes*, 52, 895–898.
- Nakagawa, T., Hu, H., Zharikov, S., Tuttle, K. R., Short, R. A., Glushakova, O., Johnson, R. J. (2006). A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *The American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 290, 625–631.

- Neill, S. O., & Driscoll, L. O. (2015). *Metabolic syndrome : a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies*. 16(1), 1–12.
- Nielsen, J., Svensson, C., Galsgaard, E., Moldrup, A., & Billestrup, N. (1999). Beta cell proliferation and growth factors. *Journal of Molecular Medicine*, 77, 62–66.
- Nordlie, R., Foster, J., & Lange, A. (1999). Regulation of glucose production by the liver. *Annual Review of Nutrition*, 19, 379–406.
- Oda, E. (2012). Metabolic syndrome: Its history, mechanisms, and limitations. *Acta Diabetologica*, 49(2), 89–95.
- Ogawa, Y., Kurosu, H., & Yamamoto, M. (2007). BetaKlotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 7432–7437.
- Ogawa, Y., Kurosu, H., Yamamoto, M., Nandi, A., Rosenblatt, K., Goetz, R., Kuro-o, M. (2007). BetaKlotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 7432–7437.
- Onat, A., Yüksel, M., Köroğlu, B., Gümrükçüoğlu, H. A., Aydın, M., Çakmak, H. A., and Can, G. (2013). TEKHARF 2013: Genel ve koroner mortalite ile metabolik sendrom prevalansı eğilimleri. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 41(5), 373–378.
- Ong, K., Rye, K., O’Connell, R., Jenkins, A., Brown, C., Xu, A., ... Keech, A. (2012). Long-term fenofibrate therapy increases fibroblast growth factor 21 and retinol-binding protein 4 in subjects with type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97, 4701–4708.
- Oscarsson, J., Ottosson, M., & Eden, S. (1999). Effects of growth hormone on lipoprotein lipase and hepatic lipase. *Journal of Endocrinological Investigation*, 22, 2–9.
- Osler, W. (1895). *The Principles and Practice of Medicine*.
- Pan, W., Flegal, K. M., Chang, H., Yeh, W., Yeh, C., & Lee, W. (2004). Body mass index and obesity-related metabolic disorders in Taiwanese and US whites and blacks : implications for definitions of overweight and obesity for Asians 1 – 3. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(1), 31–39.
- Panchal, S., & Brown, L. (2011). Rodent models for metabolic syndrome research. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011, 351982.
- Panchal, S. K., Poudyal, H., & Brown, L. (2012). Quercetin ameliorates cardiovascular, hepatic, and metabolic changes in diet-induced metabolic syndrome in rats. *The Journal of Nutrition*, 142(6), 1026–1032.
- Panchal, S., Poudyal, H., & Brown, L. (2012). Quercetin ameliorates cardiovascular, hepatic, and metabolic changes in diet-induced metabolic syndrome in rats. *Journal of Nutrition*, 142(6), 1026–1032.

- Parasuraman, S., Kumar, E., Kumar, A., & Emerson, S. (2010). Free radical scavenging property and diuretic effect of triglize, a polyherbal formulation in experimental models. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics*, 1, 38–41.
- Park, H., Yang, J., Ambati, S., Della-Fera, M., Hausman, D., Rayalam, S., & Al, E. (2008). Combined effects of genistein, quercetin, and resveratrol in human and 3T3-L1 adipocytes. *Journal of Medicinal Food*, 11, 773–783.
- Patel, R., Bookout, A., Magomedova, L., Owen, B., Consiglio, G., Shimizu, M., Cummins, C. (2015). Glucocorticoids regulate the metabolic hormone FGF21 in a feedforward loop. *Molecular Endocrinology*, 29, 213–223.
- Pereira, M., O'Reilly, E., Augustsson, K., Fraser, G., Goldbourt, U., Heitmann, B., & Al, E. (2004). Dietary fiber and risk of coronary heart disease: A pooled analysis of cohort studies. *archives of internal medicine*, 164, 370–376.
- Perez-Vizcaino, F., Duarte, J., Jimenez, R., Santos-Buelga, C., & Osuna, A. (2009). Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. *Pharmacological Reports*, 61(1), 67–75.
- Perry, R., Samuel, V., Petersen, K., & Shulman, G. (2014). The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 510, 84–91.
- Petersen, K., Befroy, D., Dufour, S., Dziura, J., Ariyan, C., Rothman, D., Shulman, G. (2003). Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science*, 300, 1140–1142.
- Petersen, K., Dufour, S., Befroy, D., Garcia, R., & Shulman, G. (2004). Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine*, 350, 664–671.
- PFAFFL MW. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*, 29(9).
- Pineda, C., Rios, R., Raya, A. I., Rodriguez, M., Aguilera-Tejero, E., & Lopez, I. (2018). Hypocaloric diet prevents the decrease in FGF21 elicited by high phosphorus intake. *Nutrients*, 10(10), 1–11.
- Pothoff, M., Inagaki, T., Satapati, S., Ding, X., He, T., Goetz, R., Burgess, S. (2009). FGF21 induces PGC-1alpha and regulates carbohydrate and fatty acid metabolism during the adaptive starvation response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 10853– 10858.
- Pratheeshkumar, P., Son, Y., Divya, S., Wang, L., Turcios, L., Roy, R., & Al, E. (2016). Quercetin inhibits Cr (VI)-induced malignant cell transformation by targeting miR-21-PDCD4 signaling pathway. *Oncotarget, Ahead of p*.
- Presta, M., Chiodelli, P., Giacomini, A., Rusnati, M., & Ronca, R. (2017). Fibroblast growth factors (FGFs) in cancer: FGF traps as a new therapeutic approach. *Pharmacology and Therapeutics*, 179, 171–187.

- Puigserver, P., Rhee, J., Donovan, J., Walkey, C., Yoon, J., Oriente, F., Spiegelman, B. (2003). Insulin-regulated hepatic gluconeogenesis through FOXO1-PGC-1 α interaction. *Nature*, 423, 550–555.
- Puigserver, P., & Spiegelman, B. (2003). Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α (PGC-1 α): transcriptional coactivator and metabolic regulator. *Endocrine Review*, 24, 78–90.
- Rangwala, S., & Lazar, M. (2004). Peroxisome proliferator-activated receptor γ in diabetes and metabolism. *Trends in Pharmacology Sciences*, 25, 331–336.
- Reaven, G. M., & Chen, Y. D I. (1988). Role of insulin in regulation of lipoprotein metabolism in diabetes. *Diabetes/Metabolism Reviews*, 4(7), 639–652.
- Rivera, L., Morón, R., Sánchez, M., Zarzuelo, A., & Galisteo, M. (2012). Quercetin Ameliorates Metabolic Syndrome and Improves the Inflammatory Status in Obese Zucker Rats. *Obesity*, 16, 2081–2087.
- Rizza, R., Mandarino, L., & Gerich, J. (1982). Effects of growth hormone on insulin action in man. Mechanisms of insulin resistance, impaired suppression of glucose production, and impaired stimulation of glucose utilization. *Diabetes*, 31, 663–669.
- Rochlani, Y., Pothineni, N. V., & Kovelamudi, S. (2017). Metabolic syndrome : pathophysiology , management , and modulation by natural compounds. *Ther Adv Cardiovasc Dis*, 11(8), 215–225.
- Roglans, N., Vilà, L., Farré, M., Alegret, M., Sánchez, R. M., Vázquez-Carrera, M., & Laguna, J. C. (2007). Impairment of hepatic Stat-3 activation and reduction of PPAR α activity in fructose-fed rats. *Hepatology*, 45(3), 778–788.
- Roslan, J., Giribabu, N., Karim, K., & Salleh, N. (2017). Quercetin ameliorates oxidative stress, inflammation and apoptosis in the heart of streptozotocin-nicotinamide-induced adult male diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 86, 570–582.
- Rutledge, A. C., & Adeli, K. (2007). Fructose and the metabolic syndrom Pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutrition Reviews*, 65(6), 13–23.
- Rutledge, T. F., & Boyd, M. F. (2010). Morbidity and Mortality Weekly Report Prevalence of Selected Risk Behaviors and Chronic Diseases and Conditions — Steps Communities ,United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 59(8), 1–37.
- Sakharova, A., Horowitz, J., Surya, S., Goldenberg, N., Harber, M., Symons, K., & Barkan, A. (2008). Role of growth hormone in regulating lipolysis, proteolysis, and hepatic glucose production during fasting. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93, 2755–2759.
- Saklayen, M. G. (2018). *The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome*. 9, 1–8.
- Salvamani, S., Gunasekaran, B., Shaharuddin, N. A., Ahmad, S. A., & Shukor, M. Y. (2014). Antiatherosclerotic Effects of Plant Flavonoids. *BioMed Research International*, 2014.

- Sánchez-Lozada, L. G., Tapia, E., Jiménez, A., Bautista, P., Cristóbal, M. Nepomuceno, T., & Herrera-Acosta, J. (2007). Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *American Journal Of Physiology-Renal Physiology*, 292(1), 423–429.
- Sanchez, J., Palou, A., & Pico, C. (2009). Response to carbohydrate and fat refeeding in the expression of genes involved in nutrient partitioning and metabolism: striking effects on fibroblast growth factor-21 induction. *Endocrinology*, 150, 5341–5350.
- Sato, Y., Ito, T., Udaka, N., Kanisawa, M., Noguchi, Y., Cushman, S. W., & Satoh, S. (1996). Immunohistochemical localization of facilitated-diffusion glucose transporters in rat pancreatic islets. *Tissue and Cell*, 28(6), 637–643.
- Sautin, Y. Y., Nakagawa, T., Zharikov, S., Johnson, R. J., & Cell, J. P. (2007). Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes : NADPH oxidase-mediated oxidative / nitrosative stress. *The American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 0224, 584–596.
- Shepherd, P., & Kahn, B. (1999). Glucose transporters and insulin action—implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine*, 341, 248–257.
- Simmons, R. K., Alberti, K. G. M. M., & Gale, E. A. M. (2010). “The metabolic syndrome: useful concept or clinical tool? Report of a WHO expert consultation. *Diabetologia*, 53(4), 600–605.
- So, W., Cheng, Q., Chen, L., Evans-Molina, C., Xu, A., Lam, K., & Leung, P. (2013). High glucose represses beta-klotho expression and impairs fibroblast growth factor 21 action in mouse pancreatic islets: involvement of peroxisome proliferator-activated receptor gamma signaling. *Diabetes*, 62, 3751–3759.
- So, W., Cheng, Q., Xu, A., Lam, K., & Leung, P. (2015). Loss of fibroblast growth factor 21 action induces insulin resistance, pancreatic islet hyperplasia and dysfunction in mice. *Cell Death & Disease*, 6, 1707.
- So, W. Y., & Leung, P. S. (2016). Fibroblast Growth Factor 21 As an Emerging Therapeutic Target for Type 2 Diabetes Mellitus. *Medicinal Research Reviews*, 36(4), 672–704.
- Stanhope, K. L., & Havel, P. J. (2009). Fructose consumption: considerations for future research on its effects on adipose distribution, lipid metabolism, and insulin sensitivity in humans. *The Journal of Nutrition*, 139(6), 1236 – 1241.
- Stanhope, Kimber L, & Havel, P. J. (2008). Fructose consumption : potential mechanisms for its effects to increase visceral adiposity and induce dyslipidemia and insulin resistance. *Current Opinion in Lipidology*, 19, 16–24.
- Strobel, P., Allard, C., Perez-Acle, T., Calderon, R., Aldunate, R., & Leighton, F. (2005). Myricetin, quercetin and catechin-gallate inhibit glucose uptake in isolated rat adipocytes. *Biochemical Journal*, 386(3), 471–478.

- Sun, X., Yamasaki, M., Katsube, T., & Shiwaku, K. (2015). Effects of quercetin derivatives from mulberry leaves: Improved gene expression related hepatic lipid and glucose metabolism in short-term high-fat fed mice. *Nutrition Research and Practice*, 9(2), 137–143.
- Suzuki, M., Uehara, Y., Motomura-Matsuzaka, K., Oki, J., Koyama, Y., Kimura, M., Imamura, T. (2008). BetaKlotho is required for fibroblast growth factor (FGF) 21 signaling through FGF receptor (FGFR) 1c and FGFR3c. *Molecular Endocrinology*, 22, 1006–1014.
- T. Ishimoto, M. A. Lanasa, M. T. L. et al. (2012). Opposing effects of fructokinase C and A isoforms on fructose-induced metabolic syndrome in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(11), 4320–4325.
- Tappy, L., and Lê, K. A. (2010). Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiological Reviews*, 90(1), 23–46.
- Tappy, L., & Anne, K. (2010). Metabolic Effects of Fructose and the Worldwide Increase in Obesity. *Physiological Reviews*, 90, 23–46.
- Tota-maharaj, R., Andrew, P., Blumenthal, R. S., & Blaha, M. J. (2010). A practical approach to the metabolic syndrome : review of current concepts and management. *Current Opinion in Cardiology*, 25, 502–512.
- Tran, L.T., Yuen, V.G., McNeill, J. H. (2009). The fructose-fed rat: A review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 332(1–2), 145–159.
- Turner, N., & Grose, R. (2010). Fibroblast growth factor signalling: From development to cancer. *Nature Reviews Cancer*, 10, 116–129.
- Uday M. Khosla, Sergey Zharikov, Jennifer L. Finch, Takahiko Nakagawa, Carlos Roncal, Wei Mu, Karina Krotova, Edward R. Block, Sharma Prabhakar, A. R. J. J. (2005). Hyperuricemia induces endothelial dysfunction. *Kidney International*, 67, 1739–1742.
- Uebanso, T., Taketani, Y., Yamamoto, H., Amo, K., Ominami, H., Arai, H., Takeda, E. (2011). Paradoxical regulation of human FGF21 by both fasting and feeding signals: Is FGF21 a nutritional adaptation factor? *Public Library of Science One*, 6, e22976.
- Unger, R. (1995). Lipotoxicity in the pathogenesis of obesity-dependent NIDDM. Genetic and clinical implications. *Diabetes*, 44, 863–870.
- Vague, J. (1947). La differenciation sexuelle, facteur determinant des formes de l'obésité. *La Presse médicale*, 53, 339–340.
- van Raalte, D., Li, M., Pritchard, P., & Wasan, K. (2004). Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-alpha: a pharmacological target with a promising future. *Pharmaceutical Research*, 21, 1531–1538.

- Veerapur, V. P., Prabhakar, K. R., Thippeswamy, B. S., Bansal, P., Srinivasan, K. K., & Unnikrishnan, M. K. (2010). Antidiabetic effect of *Dodonaea viscosa* (L). Lacq. aerial parts in high fructose-fed insulin resistant rats: A mechanism based study. *Indian Journal of Experimental Biology*, 48, 800–810.
- Vessal, M., Hemmati, M., & Vasei, M. (2003). Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 135(3), 357–364.
- Vijayakumar, A., Novosyadlyy, R., Wu, Y., Yakar, S., & LeRoith, D. (2010). Biological effects of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. *Growth Hormone IGF Research*, 20, 1–7.
- Wang, M. (Ed). (2011). *Metabolic Syndrome : Underlying Mechanisms and Drug Therapies*. Spain: John Wiley & Sons.
- Wang, X., Song, S., Xiao, H., Gao, P., Li, X., & Si, L. (2014). Fibroblast growth factor 21 protects against high glucose induced cellular damage and dysfunction of endothelial nitric-oxide synthase in endothelial cells. *Cell Physiol Biochem*, 34, 658–671.
- Wende, A., Huss, J., Schaeffer, P., Giguere, V., & Kelly, D. (2005). PGC-1 α coactivates PDK4 gene expression via the orphan nuclear receptor ERR α : a mechanism for transcriptional control of muscle glucose metabolism. *Mol Cell Biol*, 25, 10684–10694.
- Wente, W., Efanov, A., Brenner, M., Kharitononkov, A., Koster, A., Sandusky, G., Gromada, J. (2006). Fibroblast growth factor-21 improves pancreatic beta-cell function and survival by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Akt signaling pathways. *Diabetes*, 55, 2470–2478.
- Wilson-Fritch, L., Nicoloso, S., Chouinard, M., Lazar, M., Chui, P., Leszyk, J., Corvera, S. (2004). Mitochondrial remodeling in adipose tissue associated with obesity and treatment with rosiglitazone. *Journal of Clinical Investigation*, 114, 1281–1289.
- Wolfe, B. M. and Ahuja, S. P. (1977). Effects of intravenously administered fructose and glucose on splanchnic secretion of plasma triglycerides in hypertriglyceridemic men. *Metabolism*, 26(9), 963–978.
- Wong, S. K., Chin, K.-Y., Suhaimi, F. H., Fairus, A., & Soelaiman, I.-N. (2016). Animal Models of Metabolic Syndrome. *Nutrition & Metabolism*, 221–243.
- Xu, J., Lloyd, D., Hale, C., Stanislaus, S., Chen, M., Sivits, G., Kim, J. (2009). Fibroblast growth factor 21 reverses hepatic steatosis, increases energy expenditure, and improves insulin sensitivity in diet-induced obese mice. *Diabetes*, 58, 250–259.
- Xu, J., Lloyd, D., Hale, C., Stanislaus, S., Chen, M., Sivits, G., Veniant, M. (2009). Fibroblast growth factor 21 reverses hepatic steatosis, increases energy expenditure, and improves insulin sensitivity in diet-induced obese mice. *Diabetes*, 58, 250–259.
- Xu, Jing, Lloyd, D. J., Hale, C., Stanislaus, S., Chen, M., Sivits, G., Véniant, M. M. (2009). Fibroblast growth factor 21 reverses hepatic steatosis, increases energy expenditure, and improves insulin sensitivity in diet-induced obese mice. *Diabetes*, 58(1), 250–259.

- Yang, C., Jin, C., Li, X., Wang, F., McKeehan, W., & Luo, Y. (2012). Differential specificity of endocrine FGF19 and FGF21 to FGFR1 and FGFR4 in complex with KLB. *Public Library of Science One*, 7(e33870).
- Yang, F., Song, L., Wang, H., Wang, J., Xu, Z., & Xing, N. (2015). Quercetin in prostate cancer: Chemotherapeutic and chemopreventive effects, mechanisms and clinical application potential. *Oncology Reports*, 33, 2659–2668.
- Yang, J., Della-Fera, M., Rayalam, S., Ambati, S., Hartzell, D., Park, H., & Al, E. (2008). Enhanced inhibition of adipogenesis and induction of apoptosis in 3T3-L1 adipocytes with combinations of resveratrol and quercetin. *Life Sciences*, 82, 1032–1039.
- Yaqoob, U., Jagavelu, K., Shergill, U., de Assuncao, T., Cao, S., & Shah, V. (2014). FGF21 promotes endothelial cell angiogenesis through a dynamin-2 and Rab5 dependent pathway. *Public Library of Science One*, 9, e98130.
- Yie, J., Hecht, R., Patel, J., Stevens, J., Wang, W., Hawkins, N., Xu, J. (2009). FGF21 Nand C-termini play different roles in receptor interaction and activation. *FEBS Letter*, 583, 19–24.
- Yoon, J., Puigserver, P., Chen, G., Donovan, J., Wu, Z., Rhee, J., Spiegelman, B. (2001). Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1. *Nature*, 413, 131–138.
- Yoon, J., Xu, G., Deeney, J., Yang, S., Rhee, J., Puigserver, P., Spiegelman, B. (2003). Suppression of beta cell energy metabolism and insulin release by PGC-1alpha. *Developmental Cell*, 5, 73–83.
- Yu, J., Zhao, L., Wang, A., Eleswarapu, S., Ge, X., Chen, D., & Jiang, H. (2012). Growth hormone stimulates transcription of the fibroblast growth factor 21 gene in the liver through the signal transducer and activator of transcription 5. *Endocrinology*, 153, 750–758.
- Zhang, X., Yeung, D., Karpisek, M., Stejskal, D., Zhou, Z., Liu, F., Xu, A. (2008). Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes*, 57, 1246–1253.
- Zhang, Y., Liu, C., Zhu, L., Jiang, X., Chen, X., Qi, X., Zhang, C. Y. (2007). PGC1 α inhibits oleic acid induced proliferation and migration of rat vascular smooth muscle cells. *Public Library of Science One*, 2(11).
- Zhao, F.Q. and Keating, A. F. (2007). Functional properties and genomics of glucose transporters. *Current Genomics*, 8(2), 113–128.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 14/03/2019-E.34147



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
 Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Doç. Dr. Canan YILMAZ DEMİRTAŞ
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Canan YILMAZ DEMİRTAŞ, Kardelen KOCAMAN, Belkıs NARLI, Serkan ŞEN'den oluşan G.Ü.ET-19.016 kod numaralı ve "*Türksek Fruktöz Diyeti ile Beslenen Ratlarda Kuersetinin Karaciğer FGF21 Ekspresyonu ve PGC1A Düzeyi Üzerine Etkileri*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-19.016 and entitled "*The Effects of Quercetin on Liver FGF21 Expression and PGC1A Level in Rats With High Fruktöz Diet*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics CommitteeA regulations.

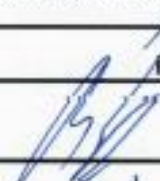
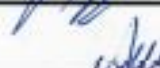
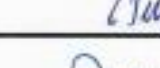
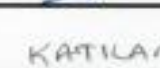
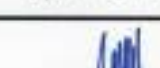
With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Rat Sprague Dowley
 Hayvan Sayısı :24

Ek: 1 Liste

EK-1. (devam) Etik Kurulu Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ	
TOPLANTI TARİHİ : 08/03/2019	TOPLANTI SAYISI : 02
ADI-SOYADI	İMZA
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)	
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU	
Prof.Dr.Tuncay PEKER	
Prof.Dr.Fatma AKAR	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIACIK	
Prof.Dr.Mazit Orhan ULUDAĞ	
Doç.Dr.Süleyman YEŞİL	KATILAMADI
Doç.Dr.Emre BARIŞ	
Doç.Dr.İpek BÜNTAR	
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : KOCAMAN, Kardelen
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 17/10/1994
 Medeni Hali : Bekar
 Telefon : 0531 454 39 53
 e-mail : kocamankardelenn@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	ODTÜ / Kimya Mühendisliği Bölümü	2017
Lise	Tekirdağ Anadolu Lisesi	2012

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2018-devam ediyor	Lokman Hekim Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Seminerler ve Kurslar

1. The 44th FEBS Congress: "From Molecules to Living Systems", Krakow, Polonya, Kongre, Poster Sunum, 6-11.07.2019 (Uluslararası)
2. Serum Protein Elektroforezi – Agaroze Jel Elektroforezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Seminer, 08.05.2019 (Ulusal)
3. Bilim Günleri Sempozyumu, Lokman Hekim Üniversitesi Tıp Fakültesi, 02-03.05.2019 (Ulusal)
4. 2. Sinirbilim Günü, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Neocortex Kulübü, Sertifika, 26.04.2019 (Ulusal)

5. Kök Hücre Zirvesi, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sertifika, 06.04.2019 (Ulusal)
6. Uygulamalı Hücre Kültürü ve Sitotoksikite Analizleri, Hacettepe Üniversitesi Teknokent Maia Sağlık Ltd. Şti. Ar-Ge Laboratuvarı, Sertifika, 23-24.03.2019 (Ulusal)
7. Eğitimcilerin Eğitimi 1: Sunum ve Soru Hazırlama Teknikleri, Lokman Hekim Üniversitesi, Sertifika, 6-13.03.2019 (Ulusal)
8. Bağlanma Kinetiği ve Afinite Analizi, Bağlanma Kinetiği ve Afinite Analizi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Seminer, 20.02.2019 (Ulusal)
9. Avrupa Birliği Projeleri ve Proje Hazırlama Süreci Eğitimi, Hacettepe Teknokent Teknoloji Transfer Merkezi, Seminer, 31.01.2019 (Uluslararası)
10. Düünden Bugüne Biyokimya Bilimi ile Geleceği İnşa Etmek, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Seminer, 16.01.2019 (Ulusal)
11. Blotlama Yöntemleri, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Seminer, 16.01.2019 (Ulusal)
12. Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Öğrenci Kongresi, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, 19-21.10.2018 (Ulusal)
13. Mikrobiyota ve Fekal Transplantasyon Sempozyumu, Mikrobiyota ve Fekal Transplantasyon Sempozyumu, GATA TIP, Seminer, 06.10.2018 (Ulusal)
14. "FEBS Workshop on Molecular Life Sciences: Training Tomorrow's Scientists" Çalıştayı, İzmir Ekonomi Üniversitesi, Çalıştayı, 5-7.09.2018, (Uluslararası)
15. Metabolik Sendrom ve Yağ Dokusu İnflamasyonu, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Konuşmalarım (Sözlü Sunum), 09.05.2018 (Ulusal)
16. Cushing Sendromu, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Seminer, 02.05.2018 (Ulusal)
17. TBD-BD Preanalitik Evre Sempozyumu, TBD-BD Preanalitik Evre Günleri, Poster Sunum, Kayseri, 28-29.04.2018, (Ulusal)
18. Akupunktur, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Seminer, 28.03.2018 (Ulusal)
19. Makroskopik ve Mikroskopik İdrar İncelemesi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Seminer, 21.02.2018 (Ulusal)
20. Yeni Nesil İmmünoloji Testleri Çalıştayı (Workshop for Next Generation Immunology Diagnostic Tests), Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çalıştayı, 24-25.10.2017, (Uluslararası)

21. 1.Gazi Tıp Biyokimya Günleri, Obeziteye Multidisipliner Yaklaşım, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sertifika, 23-24.10.2017, (Ulusal)
22. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi(GÜDAM),14-22.11.2017, (Uluslararası)
23. ELA909 - SChE Certificate Program: “Basics of Laboratory Safety”, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, 8-15.03.2016, (Uluslararası)

Bilimsel ve Mesleki Kuruluşlara Üyelikler

Türk Biyokimya Derneği, TBD, Üye, 2018

Yayın ve Bildiriler

Kocaman K., Narlı B., Demirtaş-Yılmaz C. *İn Vitro Oluşturulan Hemolizin Serum Nitrik Oksit Düzeyleri Üzerine Etkisi* (Poster Sunum). TBD-BD Preanalitik Evre Sempozyumu, Kayseri, Nisan 28-29, 2018 (Ulusal).

Özer D., Kocaman K., Narlı B., Demirtaş-Yılmaz C. *The Effect Of Quercetin On Oxidative Stress Parameters In The Fructose Induced Experimental Metabolic Syndrome Model* (Poster Sunum). The 44th FEBS Congress: “From Molecules to Living Systems”, Krakow-Polonya, 6-11.07.2019 (Uluslararası)

Hobiler

Seyahat etmek, tenis oynamak, fotoğrafçılık.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

