

ÖNSÖZ

Metabolik sendrom toplumda oldukça yaygın olarak görülen bir hastalıklar grubudur. Metabolik sendromun her bir bileşeni kendi başına kardiyovasküler hastalık oluşturma riski taşımakta, bu bileşenlerin bir arada olma durumlarına göre de bu risk katlanarak artmaktadır. Dünyada bu sebeple gerçekleşen ölümler de dikkate alındığında metabolik sendromun tedavisi önem arz etmektedir. Biz de çalışmamızda metabolik sendrom modeli oluşturduğumuz sıçanlarda adropin tedavisinin, metabolik parametreler ve kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerini ortaya çıkarmayı amaçladık. Elde ettiğimiz bulgular adropinin deney hayvanlarına in vivo olarak verildiğinde iyileştirici yönde etkiler gösterdiğini ortaya çıkardı.

Doktora eğitimim sırasında yürüttüğüm bu proje akademik hayatımın başlangıcında bana çok önemli kazanımlar sağladı. Bu süreçte tecrübelerinden yararlandığım proje ekibindeki histolojik değerlendirmeleri yapan Dr. Öğr. Üyesi Saadet Özen Akarca Dizakar hocama ve tez danışmanım Prof. Dr. Çiğdem Özer hocama katkılarından dolayı teşekkür ediyorum.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalındaki doktora tezimi tamamlayabilmek için hazırladığımız bu proje 122S081 numarası ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir. Bu projede elde ettiğimiz bilgi ve tecrübe ileride yurtiçinde ve yurtdışında yapacağımız araştırmalara öncülük edecektir. Araştırma geliştirme ve bilim insanı destekleme programları ile TÜBİTAK tarafından sağlanan bu destekler, bilimsel problemler ile ilgili sahip olduğumuz fikirlerin uygulamaya geçmesinde önemli bir rol üstlenmektedir.

Arş. Gör. Dr. Ahmet Hulusi Yeşil

Ankara, 2023

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLO VE ŞEKİL LİSTELERİ.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	2
2.1 Metabolik Sendrom Bileşenleri.....	3
2.1.1 Abdominal obezite.....	3
2.1.2 İnsülin direnci.....	3
2.1.3 Dislipidemi.....	4
2.1.4 Hipertansiyon.....	4
2.2 Kardiyak Remodeling (Yeniden Yapılanma).....	4
2.3 Adropin.....	5
2.3.1 Adropin ve metabolik değişiklikler.....	5
2.3.2 Adropin ve kardiyovasküler bozukluklar.....	5
2.3.3 Adropin ve kardiyovasküler hastalıklar.....	5
2.4 Projenin Amacı ve Hedefleri.....	6
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	6
3.1 Deney Hayvanları ve Deney Protokolü.....	6
3.1.1 Deney hayvanları ve etik kurul.....	6
3.1.2 Deney protokolü.....	6
3.1.3 Deney grupları.....	7
3.2 Deney Hayvanlarında Yapılan Uygulamalar ve Laboratuvar Analizleri.....	8
3.2.1 Fruktozun hazırlanması.....	8
3.2.2 Adropin tedavisi.....	8
3.2.3 Kan basıncı ölçümü.....	9
3.2.4 İntraperitoneal glukoz tolerans testi.....	9
3.2.5 Biyokimyasal analizler.....	9
3.2.6 Kalp dokusu homojenizasyonu.....	9
3.2.7 Serum ve kalp dokusunda yapılacak analizler.....	9
3.3 Histolojik Değerlendirmeler.....	10
3.3.1 Işık mikroskopik yöntem.....	10
3.3.2 Hematoksilen-Eosin boyama protokolü.....	10
3.3.3 Masson's Trichrome boyama protokolü.....	10
3.4 İstatistiksel Analizler.....	11
4. BULGULAR.....	11
4.1 Metabolik Sendrom Parametreleri.....	11
4.2 Serum ve Kalp Dokusundaki İnflamatuar ve Trombotik Belirteçler.....	14
4.3 Kardiyak Remodeling.....	18
4.4 Aterosklerotik Değişiklikler.....	20
5. TARTIŞMA.....	22
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	25

TABLO VE ŞEKİL LİSTELERİ

Tablo 2.1. Metabolik sendrom tanı kriterleri.....	2
Tablo 4.1. Metabolik parametreler.....	12
Şekil 3.1. Deney protokolü.....	7
Şekil 3.2. Deney grupları.....	8
Şekil 4.1. İntraperitoneal glukoz tolerans testi.....	12
Şekil 4.2. İPGTT eğri altında kalan alan.....	13
Şekil 4.3. İPGTT 15. dakika glukoz değeri.....	13
Şekil 4.4. Kalp TNF- α değerleri.....	14
Şekil 4.5. Kalp IL-6 değerleri.....	15
Şekil 4.6. Kalp PAI-1 değerleri.....	15
Şekil 4.7. Serum TNF- α değerleri.....	16
Şekil 4.8. Serum IL-6 değerleri.....	16
Şekil 4.9. Serum PAI-1 değerleri.....	17
Şekil 4.10. Serum hs-CRP değerleri.....	17
Şekil 4.11. Deney gruplarına ait kalp kesitleri.....	19
Şekil 4.12. Transvers kalp kesitleri ve kardiyomyosit φ ap ölçümleri.....	20
Şekil 4.13. Masson's Trichrome ile boyanmış kalp kesitleri ve fibrotik alanların yüzdesi.....	20
Şekil 4.14. Deney gruplarına ait aort transvers kesitleri.....	21

ÖZET

Giriş ve Amaç: Metabolik sendrom, temelinde insülin direnci ve abdominal obezitenin yer aldığı hipertansiyon, dislipidemi ve glukoz intoleransının eşlik ettiği bir hastalık tablosudur. Metabolik sendromlu kişiler kardiyovasküler hastalıklar açısından yüksek risk taşımaktadır. Karaciğerden sentezlenen bir peptid olan adropin obezite, insülin direnci ve glukoz intoleransında iyileşmeye sebep olmaktadır. Adropin tedavisi ile endotel hücrelerinde proliferasyon, migrasyon ve nitrik oksit bulunurluğu artmaktadır. Kardiyovasküler sistem hastalıklarıyla ilgili klinik çalışmalarda ise serum adropin düzeyleri düşük çıkmaktadır. Biz de sıçanlarda adropin tedavisinin kardiyovasküler sistem ve metabolik parametreler üzerindeki etkilerini metabolik sendrom modeli oluşturduğumuz sıçanlarda inceledik.

Gereç ve Yöntem: 28 adet yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçanlar Kontrol, Adropin, Metabolik Sendrom (MetS), Metabolik Sendrom+Adropin olmak üzere dört gruba ayrıldı. Metabolik sendrom oluşturulacak gruplardaki hayvanların içme suyuna 12 hafta süresince %20 oranında fruktoz eklendi. Çalışmanın son on gününde 2,1 µg/kg/gün dozunda intraperitoneal adropin uygulaması yapıldı. Vücut ağırlığı, bel çevresi, kan basıncı ve intraperitoneal glukoz tolerans testi ölçümleri gerçekleştirildi. Serumda insülin, yüksek duyarlıklı C-Reaktif Protein (hs-CRP), Tümör Nekrozis Faktör-α (TNF-α), İnterlökin-6 (IL-6) ve Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1); kalpte TNF-α, IL-6 ve PAI-1 düzeyleri tespit edildi. Histolojik olarak kalpte kardiyomyosit çapı ve perivasküler ve interstisyel fibrozis, aortada intima+media kalınlıkları ve aterosklerotik plak varlığı değerlendirildi.

Bulgular: MetS grubunda artan vücut ağırlığı, bel çevresi, beden kitle indeksi, insülin direnci, kan basıncı, intraperitoneal glukoz tolerans testinde eğri altında kalan alan, serum hs-CRP, TNF-α, IL-6, PAI-1 ve kalp TNF-α, IL-6, PAI-1 değerleri adropin tedavisiyle azaldı. Kardiyomyosit çapı ve kardiyak fibrozis yüzdesi MetS grubuyla karşılaştırıldığında adropin tedavisiyle azaldı. MetS grubunda aorta tunika media tabakasında elastik lamellerin organizasyonunda, düz kas yapısında düzensizlikler ve sitoplazmik vakuolizasyon izlenirken, adropin tunika intima ve media tabakaları üzerinde etki göstermedi.

Sonuç: Adropin tedavisi metabolik sendromda artan inflamasyon, kardiyak hipertrofi ve fibroziste iyileşmeye neden oldu. Adropin, metabolik sendrom parametreleri ve kardiyovasküler sistem bozukluklarında olumlu yönde etkiler gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Metabolik Sendrom, Adropin, İnflamasyon, Hipertrofi, Fibrozis

ABSTRACT

Introduction and Aim: Metabolic syndrome includes group of disorders that abdominal obesity, insulin resistance, dyslipidemia, glucose intolerance and hypertension. People with metabolic syndrome have an increased risk of cardiovascular diseases. Adropin, synthesized by the liver, causes healing of obesity, insulin resistance and glucose intolerance. Proliferation, migration and nitric oxide availability in endothelial cell increases with adropin treatment. Additionally, serum adropin values are low in clinical studies on cardiovascular diseases. In this study, we investigated the effect of adropin treatment on cardiovascular system and metabolic parameter in rats with metabolic syndrome.

Methods: 28 male adult Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups: Control, Adropin, Metabolic Syndrome (MetS) and Metabolic Syndrome+Adropin. %20 fructose was added to the drinking water of MetS groups rats. Adropin (2,1 µg/kg/day) was intraperitoneally administered in the last ten days of the study. Body weight, waist circumference, blood pressure and intraperitoneal glucose tolerance test measurements were performed. Insulin, high sensitive C-Reactive Protein (hs-CRP), Necrosis Factor- α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6) and Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) values in serum; TNF- α , IL-6 and PAI-1 values in heart tissue were determined. Cardiomyocyte diameter and perivascular and interstitial fibrosis in the heart; thickness of tunica intima+media and presence of atherosclerotic plaque in the aorta were evaluated histologically.

Results: Body weight, waist circumference, body mass index, insulin resistance, blood pressure, intraperitoneal glucose tolerance test area under curve, serum hs-CRP, TNF- α , IL-6, PAI-1 levels and heart TNF- α , IL-6, PAI-1 levels increased in MetS group. These increased values decreased by adropin treatment. Cardiomyocyte diameter and percentage of cardiac fibrosis decreased with adropin treatment comparing MetS group. Cytoplasmic vacuolization and disorganization of elastic lamellae and smooth muscle structure were noticed in aortic tunica media in MetS group. However, adropin did not affect tunica intima and media.

Conclusion: Adropin treatment ameliorated increased inflammation, cardiac hypertrophy and fibrosis in metabolic syndrome. Adropin showed positive effects on metabolic syndrome parameters and cardiovascular disorders.

Keywords: Metabolic Syndrome, Adropin, Inflammation, Hypertrophy, Fibrosis

1. GİRİŞ

Metabolik sendrom; abdominal obezite, insülin direnci, dislipidemi, glukoz intoleransı, ve hipertansiyonun bir arada görüldüğü bir hastalıklar grubudur. Sanayileşme ve teknolojinin günlük hayatımızda daha çok yer almasıyla birlikte ortaya çıkan yeme alışkanlıklarında ve fiziksel aktivitedeki değişiklikler hastalığın gelişmesinde önemli bir role sahiptir. Obezite, hipertansiyon, diabetes mellitus, alkolik olmayan karaciğer yağlanması ve metabolik sendrom gibi kronik hastalıklar gün geçtikçe toplumda daha sık görülmektedir. Bu durum kardiyovasküler hastalıklara yakalanma riskini artırmaktadır. 951.083 kişinin verileri kullanılarak yapılan bir meta-analiz çalışmasında; myokard enfarktüsü, inme ve kardiyovasküler hastalığa bağlı ölümler ile metabolik sendrom arasındaki ilişki ortaya çıkarılmıştır (Mottillo vd., 2010). Dünyadaki ölümlerin başlıca sebebinin kardiyovasküler hastalıklar olduğu gerçeğinden hareketle metabolik sendromun ve yol açtığı problemlerin tedavisi önem kazanmaktadır.

Karaciğer ve beyinden sentezlenen bir peptid olan adropin; diyetle ilgili obezite, insülin direnci ve glukoz toleransında iyileşmeye sebep olmaktadır (K. G. Kumar vd., 2008). Karaciğerde glukoz metabolizmasının insülin ile bağlantılı hücre içi sinyal yollarında görev almaktadır (Gao vd., 2019). Adropin ile dislipidemi arasındaki ilişkinin varlığı literatürdeki klinik öncesi ve klinik çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır (Akçılar vd., 2016; Ganesh Kumar vd., 2012; Ghoshal vd., 2018). Endotel disfonksiyonuna bağlı olarak oluşan aterosklerotik plaklar damarlarda tıkanıklığa neden olmaktadır. Koroner arter hastalığının şiddeti arttıkça serum adropin değerleri de ters orantılı şekilde azalmaktadır (L. P. Zhao vd., 2016). Tip 2 diyabet, metabolik sendrom ve akut myokard enfarktüsü hastalarda yapılan çalışmalarda serum adropin değerleri düşük bulunmuştur (S. Chen vd., 2017; Yosae vd., 2017; Yu vd., 2014).

Adropin, metabolik homeostazis ve kardiyovasküler fonksiyon arasındaki ilişki çeşitli deney modelleri ile test edilmiştir. Literatürdeki in vitro çalışmalar bize hücre düzeyinde bilgiler sunmakta iken in vivo çalışmalarda seçilen denekler tam olarak metabolik sendrom kriterlerini karşılayamamaktadır. İnsan çalışmaları ise retrospektif olarak planlanmıştır. Bu eksikliklerden dolayı metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalıklarla adropin arasındaki ilişkinin bütüncül olarak ele alındığı in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır. Biz de bu çalışmada deney hayvanlarının içme suyuna fruktoz ekleyerek oluşturduğumuz metabolik sendrom modelinde, adropin tedavisinin metabolik parametreler ve kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerini araştırmayı hedefledik.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Metabolik sendromun 2007-2012 yılları arasındaki ABD Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırması (NHANES) verileri kullanılarak hesaplanan prevalansı %34,2'dir (Moore vd., 2019). Türkiye'de 4259 kişiyle yapılmış bir saha çalışmasında katılımcıların %33,9'unun metabolik sendrom tanı kriterlerini karşıladıkları ortaya çıkarılmıştır (Kozan vd., 2006). Metabolik sendrom bileşenlerinin sayısı ve her birinin neden olduğu komplikasyonlar düşünüldüğünde toplumu etkileme oranının çok daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir. Metabolik sendrom tanısında 1998 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 2001 yılında ABD Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP)-ATP III, 2005 yılında Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) ve 2005 yılında revize edilen NCEP-ATP III tarafından belirlenen kriterler Tablo 2.1'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Metabolik sendrom tanı kriterleri

	WHO (1998)	NCEP ATP III (2001)	IDF (2005)	NCEP ATP III (2005)
Zorunlu kriter	İnsülin direnci	Yok	Santral obezite	Yok
Tanı kriterleri	İnsülin direnci ya da diyabete ek olarak aşağıdaki kriterlerden 2'sinin varlığı	Aşağıdaki kriterlerden 3'ünün varlığı	Obeziteye ek olarak aşağıdaki kriterlerden 2'sinin varlığı	Aşağıdaki kriterlerden 3'ünün varlığı
1	Bel/kalça oranı >0,90 (E), >0,85 (K) ya da BKİ >30 kg/m ²	Bel çevresi ≥102 cm (E), ≥88 cm (K),	Bel çevresi ≥94 cm (E), ≥80 cm (K),	Bel çevresi ≥102 cm (E), ≥88 cm (K),
2	TG ≥150 mg/dL	TG ≥150 mg/dL	TG ≥150 mg/dL	TG ≥150 mg/dL
3	HDL-K <35 mg/dL (E), <40 mg/dL (K)	HDL-K <40 mg/dL (E), <50 mg/dL (K)	HDL-K <40 mg/dL (E), <50 mg/dL (K)	HDL-K <40 mg/dL (E), <50 mg/dL (K)
4	KB ≥140/90 mmHg	KB ≥130/85 mmHg	KB ≥130/85 mmHg	KB ≥130/85 mmHg
5	Mikroalbuminüri	KŞ ≥110 mg/dL	KŞ ≥100 mg/dL	KŞ ≥100 mg/dL

BKİ: Beden Kitle İndeksi, K: Kadın, E: Erkek, TG: Trigliserit, KB: Kan Basıncı, KŞ: Kan Şekeri

NCEP ATP III programına göre Tablo 2.1'deki kriterlerden üçüne sahip olan kişiye metabolik sendrom tanısı konulabilmektedir. Metabolik sendrom kardiyovasküler hastalıklara yakalanma riskini iki kat artırmaktadır (Geetha vd., 2015). Kardiyovasküler hastalık riskini ölçmede kullanılan yöntemler ile karşılaştırıldığında, NCEP-ATP III kriterleri kullanılarak tanı konulan kişilerin kardiyovasküler riskleri daha kolay hesaplanabilmektedir (Huang, 2009).

2.1 Metabolik Sendrom Bileşenleri

2.1.1 Abdominal obezite

Beden kitle indeksinin 25 kg/m^2 üzerinde olması fazla kiloluluk, 30 kg/m^2 üzerinde olması obezite olarak adlandırılmaktadır. Abdominal obezite visseral beyaz yağ dokunun karın bölgesinde iç organların etrafında artması sonucu oluşmaktadır. Bel çevresinin Amerikalı erkeklerde 102 cm, kadınlarda 88 cm; Avrupalı erkeklerde 94 cm, kadınlarda 80 cm olması metabolik sendrom tanı kriterlerindeki sınır değerleri oluşturmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklardan koroner kalp hastalığı, myokard enfarktüsü, hipertansiyon ve ani kardiyak ölümler ile abdominal obezite arasında anlamlı bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur (Dolinsky vd., 2022).

Yağ dokunun yağ depolama dışında endokrin ve immünolojik görevleri de vardır. Yağ dokuda en çok bulunan immün hücreler olan makrofajlardan; obezite, insülin direnci veya metabolik sendrom varlığında dolaşıma çıkan TNF- α 'nın, glukoz homeostazisi ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde; insülin direncinin ortaya çıkmasında rolü vardır (Sethi ve Hotamisligil, 1999). Obezite ve metabolik sendrom varlığında yağ dokudan salınan IL-6, TNF- α ile birlikte pro-inflamatuar süreçlerde rol almaktadır. Yağ dokudan salınan IL-6, kan dolaşımındaki IL-6'nın %35'ini oluşturmaktadır. Yağ hücrelerinde lipolize ve yağ asidi oksidasyonuna sebep olmaktadır (Torres vd., 2018). Protrombotik etki gösteren Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1) yüksekliği kardiyovasküler hastalık oluşma riski ile ilişkilidir. Obeziteye bağlı olarak artan PAI-1'in önemli bölümü yağ doku kaynaklıdır. Yağ dokudaki PAI-1 ekspresyonu TNF- α ve IL-6'nın etkisiyle artmaktadır (Ren vd., 2022).

2.1.2 İnsülin direnci

İnsülin, tirozin kinaz özelliği taşıyan reseptörü aracılığıyla hücre içindeki IRS-PI3K-Akt yolağını aktive ederek karaciğer, iskelet kası ve yağ hücrelerindeki metabolik etkilerini göstermektedir. İnsülin reseptöründeki yanıtızsızlık sonucu insülinin hücre içindeki etkilerinin ortaya çıkamaması durumu insülin direnci olarak adlandırılmaktadır. PAI-1 ve proinflamatuar sitokin yükseklikleri insülin direnci ile ilişkilidir (Eckel vd., 2005). Obezitedeki inflamasyon düzeyi arttıkça insülin direnci de artmaktadır. Karaciğerde insülin sinyalinin bozulduğu durumlarda glukoz hücre içinden kan dolaşımına çıkmakta, kan şekeri seviyeleri yükselmektedir. Karaciğerden kaynaklanan VLDL formundaki trigliseritler dolaşımda artmaktadır. İskelet kasında insülin direnci varlığında GLUT4'ler hücre zarına yerleşmemekte böylece kan dolaşımındaki glukoz hücre içine girememektedir. İnsülin yağ dokuda lipoprotein lipaz aktivasyonu ile yağ asitlerinin hücre içine alınmasına, hormon duyarlı lipaz inhibisyonu ile da lipolizin engellenmesine sebep olmaktadır. Sonuçta insülin

direncine bağlı olarak glukoz ve yağ asitleri dolaşımında artmaktadır. Yüksek serbest yağ asidi düzeyleri de insülin direncine neden olarak tabloyu ağırlaştırmaktadır (Cornier vd., 2008).

2.1.3 Dislipidemi

Serbest yağ asitleri hidrofobik yapıları nedeniyle albümine bağlı olarak taşınmaktadırlar. Trigliserit, kolesterol, kolesterol esterleri, fosfolipidler ve yağda çözünen vitaminler ise kanda lipoprotein formunda taşınırlar. İnsanlarda trigliseritin 150 mg/dL'nin üzerinde; HDL-kolesterolün ise erkeklerde 40 mg/dL'nin, kadınlarda 50 mg/dL'nin altında olması metabolik sendromda tanı kriteri olarak kullanılmaktadır. LDL-kolesterolün kan dolaşımında yüksek olması ateroskleroz gelişimini tetiklemekte ve kardiyovasküler hastalıklar açısından risk oluşturmaktadır (Niepolski ve Grzegorzewska, 2016).

2.1.4 Hipertansiyon

Metabolik sendromda sistolik kan basıncının 130 mmHg, diyastolik kan basıncının 85 mmHg üzerinde olması tanı kriteri olarak kullanılmaktadır. Hipertansiyon gelişiminde yağ dokudan salınan leptin, TNF- α , IL-6, anjiyotensinojen ve serbest yağ asitleri rol almaktadır. Kan basıncı değerleri ile visseral obezite ve insülin direnci arasında güçlü bir ilişki mevcuttur. (Yanai vd., 2008). İnsülin direncinden hücre içi PI3K-Akt yolağı etkilenirken MAP kinaz yolağı etkilenmez. PI3K-Akt yolağındaki bozukluk endotelial NO sentezinin azalmasına ve endotelial disfonksiyon gelişmesine yol açar. ET-1 üretimi MAP kinaz yolu etkilenmediği için normal şekilde devam eder. Buna bağlı olarak damarlarda NO'nin azalıp ET-1'in artması vazokonstriksiyon ve hipertansiyon gelişimini tetiklemektedir (Huang, 2009).

2.2 Kardiyak Remodeling (Yeniden Yapılanma)

Kalpte bir hasar sonrasında ortaya çıkan moleküler, hücrel ve interstisyel değişikliklere bağlı olarak görülen boyut, şekil ve fonksiyondaki son durum kardiyak remodeling olarak adlandırılmaktadır. Myokardiyal enfarktüs, hipertansiyon, aortik stenoz ve myokardit gibi kardiyak olaylar sonrasında kalpte ortaya çıkmaktadır. Kardiyomyosit uzaması, ventrikül duvarında incelmeye, inflamasyon, nekrozis, skar oluşumu, infarkt alanında genişleme, myosit hipertrofisi ve interstisyel alanda kollajen birikmesi kardiyak remodeling sırasında gerçekleşen olaylardan bazılarıdır (Cohn vd., 2000). Metabolik sendromda adipositokinlerde, sempatik sistemde, renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminde, inflamasyonda ve oksidatif strese artış sonucunda; myokard metabolizmasında, kardiyak outputta ve damar direncinde değişiklikler görülmektedir (Tune vd., 2017). Metabolik sendrom modeli oluşturulan deney hayvanlarında kardiyovasküler sistemde disfonksiyon, sol ventrikül hipertrofisi, inflamasyon,

oksidatif stres, fibrozis, apoptoziste artış ve ateroskleroz ortaya çıkmaktadır (Cheng vd., 2021; Chou vd., 2018; El-Bassossy vd., 2014; Farah vd., 2016; Mostarda vd., 2012).

2.3 Adropin

Karaciğerden salınan peptidlerin enerji metabolizmasının düzenlenmesinde önemli etkileri vardır. Enho (energy homeostasis associated gene) geni aracılığıyla karaciğer ve beyinde sentezlenen bir peptid olan adropin Latince yağ yakan anlamındadır. Diyet içeriği ve vücudun enerji durumuna göre karaciğer Enho ekspresyonu değişmektedir. Sistemik adropin tedavisi ya da transgenik farelerdeki aşırı adropin geni ekspresyonu; obezite, insülin direnci ve glukoz toleransında düzelmeye neden olmaktadır (K. G. Kumar vd., 2008).

2.3.1 Adropin ve metabolik değişiklikler

Adropin, karaciğerden dolaşıma glukoz çıkışı azaltmakta, insülin duyarlılığında iyileşmeye sebep olmaktadır (Thapa vd., 2019). İskelet kasında glukoz oksidasyonundaki piruvat dehidrojenaz enzimini aktive edip, yağ asidi oksidasyonundaki karnitin palmitoiltransferaz-1B enzimini baskılamaktadır (Gao vd., 2014). Adropin geni baskılanmış farelerde serum glukoz ve trigliserit değerleri yüksek çıkmaktadır (Ganesh Kumar vd., 2012). 750 kişilik klinik bir çalışmada ise plazma adropin konsantrasyonları yüksek olanların, ldl-kolesterol değerlerinin düşük olduğu tespit edilmiştir (Ghoshal vd., 2018).

2.3.2 Adropin ve kardiyovasküler bozukluklar

Metabolik sendromda endotel disfonksiyon ile birlikte proinflatuar ve protrombotik süreçler ortaya çıkmaktadır. Adropin, endotel hücrelerinde proliferasyon ve migrasyonda artışa, geçirgenlikte ise azalmaya neden olmaktadır. NO bulunurluğunu PI3K-Akt yolu üzerinden artırmaktadır (Lovren vd., 2010). Adropin geni susturulmuş deney hayvanlarında eNOS fosforilasyonunda azalma olduğu görülmüştür (S. Chen vd., 2017). Adropin ateroskleroz gelişim sürecinde, makrofaj fenotipini pro-inflatuardan anti-inflatuara dönüştürmektedir (Sato vd., 2018). Koroner arter hastalığının şiddeti ile serum adropin değerleri arasında negatif korelasyon mevcuttur (L. P. Zhao vd., 2016).

2.3.3 Adropin ve kardiyovasküler hastalıklar

Serum adropin değerlerinin incelendiği Tip 2 diyabetli ve hipertansif hastaların yer aldığı çalışmalarda adropin seviyelerinin düşük olduğu tespit edilmiştir. Serum glukoz ve HbA1c değerleri ile adropin değerleri arasında negatif korelasyon mevcuttur (S. Chen vd., 2017; Gu vd., 2015). Koroner kalp hastalığı, stabil koroner arter hastalığı ve myokard enfarktüsü olan hastalarda yapılan çalışmalarda serum adropin değerlerinin düşük olduğu tespit edilmiştir.

Hastalığın şiddeti arttıkça adropin seviyeleri azalmaktadır (Han vd., 2019; Yu vd., 2014; L. P. Zhao vd., 2015, 2016).

Metabolik sendrom tanı kriterlerini taşıyan insanlarda yapılan çalışmalarda da serum adropin değerleri düşük bulunmuştur (Yin vd., 2020; Yosae vd., 2017). Mevcut metabolik risk sayısı arttıkça adropindeki düşüş belirginleşmektedir (Butler vd., 2012).

2.4 Projenin Amacı ve Hedefleri

Adropinin farklı parametreler üzerindeki birbirinden bağımsız etkileri hücresel düzeyde ya da hayvan ve insan çalışmalarında çeşitli metodlar kullanılarak ortaya çıkarılmıştır. Biz de 12 hafta boyunca sıçanların içme sularına %20 oranında fruktoz ekleyerek oluşturduğumuz metabolik sendrom modelinde, bütüncül bir yaklaşımla adropin tedavisinin metabolik parametreler ve kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerini inceledik.

Projemizin Hedefleri:

- 1- Deneklerin içme sularına 12 hafta boyunca %20 oranında fruktoz ekleyerek metabolik sendrom modeli oluşturduk.
- 2- Adropin tedavisinin deneklerdeki kilo alımına, kan basıncına, lipid profiline, glukoz ve insülin metabolizmasına olan etkilerini inceledik.
- 3- Adropin tedavisinin kalp dokusundaki ve dolaşım sistemindeki antiinflamatuvar ve antitrombotik etkilerini gözlemledik.
- 4- Adropinin dolaşım sistemindeki ateroskleroza olan etkisini araştırdık.
- 5- Adropinin kardiyak remodeling üzerine olan etkisini inceledik.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanları ve Deney Protokolü

3.1.1 Deney hayvanları ve etik kurul

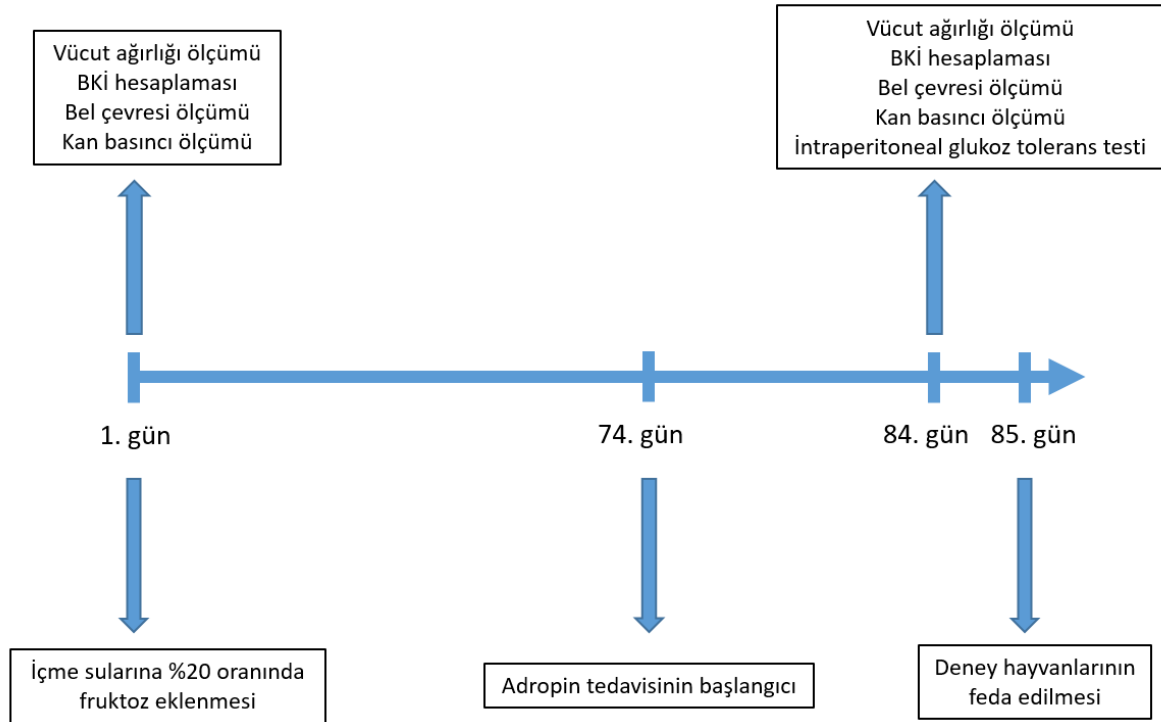
Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan G.Ü.ET-22.056 kod numaralı etik kurul izni alınarak çalışmaya başlandı. Hayvan deneyleri Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde yapıldı. 28 adet 250-300 gram ağırlığındaki erkek sprague dawley sıçanlar deney süresince 12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsünde, 20-22 °C ortam sıcaklığında tutuldular. Standart yem ve içme suyuyla beslendiler.

3.1.2 Deney protokolü

Metabolik sendrom gruplarında sıçanların içme sularına 12 hafta boyunca %20 oranında fruktoz eklendi (Abdulla vd., 2010; S. R. Kumar vd., 2021). Çalışmanın bitimine son 10 gün kala adropin tedavisi uygulandı. Çalışmanın başında ve sonunda sıçanların vücut ağırlıkları, bel çevreleri, kan basınçları ölçüldü; beden kitle indeksleri (BKİ) g/cm^2 formülü kullanılarak hesaplandı. İntraperitoneal glukoz tolerans testi hayvanlar feda edilmeden bir gün önce yapıldı.

45 mg/kg/i.m. ketamin ve 5 mg/kg/i.m. ksilazin anestezisi altında intrakardiyak kan alımı ile feda edilen hayvanların serum lipid profili analizi yapıldı, insülin ve yüksek duyarlılıklı C-reaktif protein (hs-CRP) değerleri ölçüldü. Serumda ve kalp dokusunda Tümör Nekrozis Faktör- α (TNF- α), İnterlökin-6 (IL-6) ve Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1) düzeyleri tespit edildi.

Histolojik olarak Hematoksilen-Eosin ve Masson's Trichrome boyamaları sonrası aortada intima+media kalınlığı ve aterosklerotik plak varlığı; kalpte ise kardiyomyosit çapı, perivasküler ve interstisyel fibrozis değerlendirildi.



Şekil 3.1. Deney protokolü

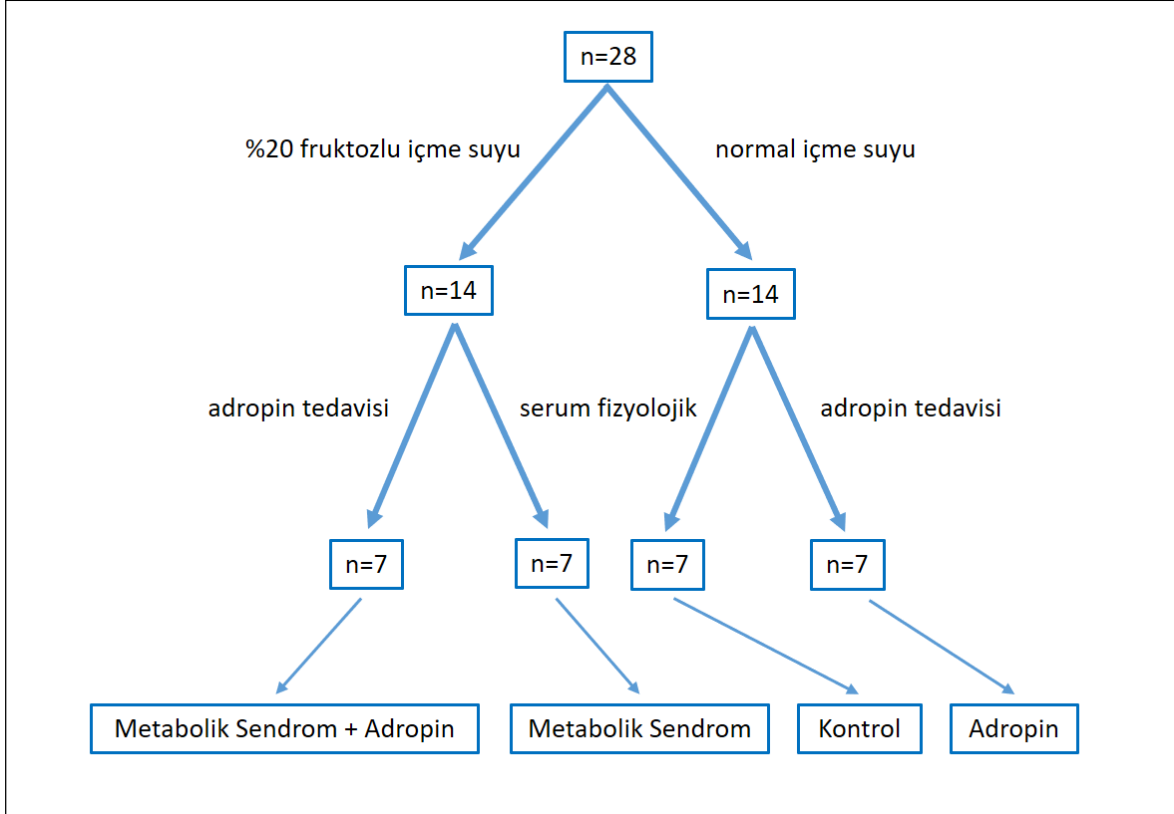
3.1.3 Deney grupları

Kontrol: 12 hafta normal içme suyu + Son 10 gün Serum Fizyolojik enjeksiyonu

Adropin: 12 hafta normal içme suyu + Son 10 gün Adropin tedavisi (2,1 $\mu\text{g/kg/gün/i.p.}$)

Metabolik Sendrom: 12 hafta %20 fruktozlu içme suyu + Son 10 gün Serum Fizyolojik enjeksiyonu

Metabolik Sendrom+Adropin: 12 hafta %20 fruktozlu içme suyu + Son 10 gün Adropin tedavisi (2,1 µg/kg/gün/i.p.)



Şekil 3.2. Deney grupları

3.2 Deney Hayvanlarında Yapılan Uygulamalar ve Laboratuvar Analizleri

3.2.1 Fruktozun hazırlanması

% 99,5'un üzerinde saflığı olan toz formundaki D-Fruktoz (BioShop Canada) (CAS Numarası: 57-48-7) 100 ml çeşme suyuna 20 gram fruktoz olacak şekilde tartılarak hazırlandı. Günlük taze olarak deney hayvanlarına sunuldu. İlk günlerde fruktozlu suya alışmaları için normal çeşme sulu suluklar da kafeslerde yer aldı.

3.2.2 Adropin tedavisi

Adropin³⁴⁻⁷⁶ (Phoenix Pharmaceuticals, Inc.) %0,9 serum fizyolojik ile çözülerek günlük kullanılacak miktarlara göre tüplere alındı. Hazırlanan dozlar kullanılacak güne kadar -20°C soğutucuda saklandı. Çalışmanın bitimine son on gün kala Adropin ve Metabolik

Sendrom+Adropin gruplarına 10 gün boyunca 2,1 µg/kg/gün dozunda intraperitoneal adropin tedavisi uygulandı (Akçılar vd., 2016; K. G. Kumar vd., 2008).

3.2.3 Kan basıncı ölçümü

Kuyruklarını saran özel bir manşon aracılığıyla sıçanların kan basıncı ölçüldü. Deney alıştırmaya döneminin ardından, bilinçli sıçanlarda, sessiz bir ortamda gerçekleştirildi. Ölçümden önce nabızları kontrol edildi. Yapılan ölçümler Biopack Analiz Sistemleri kullanılarak değerlendirildi (Abdulla vd., 2010).

3.2.4 İntraperitoneal glukoz tolerans testi

Sekiz saatlik açlık sonrası sıçanların kuyruğundan Lifecek Kan Şekeri Ölçüm Cihazı ile kan şekerleri ölçüldü. Bu değer 0. dakika değeri olarak kaydedilip, 1 g/kg dozundaki glukoz intraperitoneal olarak enjekte edildi. 15, 30, 60 ve 120. dakikadaki glukoz değerleri ölçüldü. Zamana bağlı glukoz değişimini gösteren grafikte eğri altında kalan alan hesaplandı (Madani vd., 2012).

3.2.5 Biyokimyasal analizler

Deney hayvanlarından intrakardiyak olarak alınan kan 3000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Serum total kolesterol, trigliserit, hdl-kolesterol değerleri enzimatik yöntemle biyokimya otoanalizörü kullanılarak ölçüldü. Serum ldl-kolesterol değerleri Friedewald formülü ($LDL-K = Total\ kolesterol - (HDL-K + Trigliserit / 5)$) kullanılarak hesaplandı. Deney hayvanlarından alınan dokular sıvı azotta dondurularak -80°C soğutucuda deneysel çalışmalar yapılınca kadar saklandı.

3.2.6 Kalp dokusu homojenizasyonu

Sol ventrikül izole edilerek tartıldı ve bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrıldı. Tüpe alınan doku parçalarının üzerine 1:9 oranında +4 °C Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltilisi (PBS) (pH 7,4) eklendi. Tüpler buz içerisindeyken sonikatör kullanılarak homojenizasyon gerçekleştirildi. +4 °C, 5000xg'de 5 dakika santrifüjün ardından süpernatantlar ELİSA ölçümleri için tüplere alındı.

3.2.7 Serum ve kalp dokusunda yapılacak analizler

Serum insülin ve hs-CRP değerleri Bioassay Technology Laboratory marka elisa kit kullanılarak ölçüldü. İnsülin direnci HOMA-IR formülü ile hesaplandı $\{[insülin\ (mU/L) \times glukoz\ (mmol/L)] / 22,5\}$ (Pérez-Torres vd., 2016). Serumda ve kalp dokusunda TNF-α, IL-6 ve PAI-1 değerleri Bioassay Technology Laboratory marka elisa kitleri ile tespit edildi.

3.3 Histolojik Değerlendirmeler

Hematoksilen-Eosin ve Masson's Trichrome boyamaları sonrası aortada intima+media kalınlıkları ve aterosklerotik plak varlığı; kalpte ise kardiyomyosit çapı, perivasküler ve interstisyel fibrozis değerlendirildi.

3.3.1 Işık mikroskopik yöntem

Deney gruplarına ait aorta ve kalp doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Tespit işleminin ardından 24 saat akarsuda yıkandı ve fazla suyun uzaklaştırılması için artan derecelerde etil alkol serilerinden geçirildi. Ksilolde şeffaflandırılıp, parafine gömülerek ışık mikroskopik incelemeler için parafin bloklardan mikrotom ile 4µm kalınlığında kesitler alındı.

3.3.2 Hematoksilen-Eosin boyama protokolü

Rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafin bloklardan elde edilen 4 µm kalınlığındaki kesitler, deparafinizasyon işlemi için 37°C'lik etüvde bir gece bırakıldıktan sonra deparafinizasyonun devamında etüv ısısı 57°C'ye çıkarılarak 1 saat bekletildi. Deparafinizasyon işlemini tamamlamak için kesitler 3 kez 20'şer dakika ksilolde bekletildi. Rehidratasyon işlemi için azalan etil alkol serilerinde 10'ar dakika tutuldu. Kesitler havada kurutma işlemi tamamlandıktan sonra, 10 dakika akan musluk suyu ile yıkanıp alkolden uzaklaştırıldı. Yıkama işleminin ardından 10 dakika Harris hematoksilen boya solüsyonunda tutulan kesitler daha sonra akan musluk suyu altında 10 dakika, glasiyel asetik asit ile alkol karışımı olan solüsyona alınarak akan musluk suyu altında tekrar 10 dakika yıkandı. Daha sonra 10 dakika Eosin boya solüsyonunda bekletilerek, tekrar akan musluk suyu ile yıkandı. Yıkamanın ardından dehidratasyon işlemi için artan etil alkol serilerinden hızlıca geçirildi. Ksilolde bekletilip lamalar entellan ile kapatıldı. Hazırlanan kesitlerden, ZEISS Axiolab 5 (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskopunda elde edilen görüntüler, Zen Blue 3.4 programında değerlendirildi. Hematoksilen-Eosin boyama sonrası aortada tunica intima+media kalınlığı (Do Espírito Santo Nery vd., 2021), kalp dokusunda kardiyomyosit çapı (W. Zhao vd., 2015) ImageJ (National Institutes of Health (NIH), Bethesda MD, USA) programı ile ölçüldü.

3.3.3 Masson's Trichrome boyama protokolü

Deney gruplarına ait kalp dokularından alınan 4 µm kalınlığındaki kesitlere Masson's Trichrome boyama kiti uygulandı (Atom Scientific). Boyama sonrasında kapama mediumu ile kapatılan kesitler ZEISS Axiolab 5 (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskopunda

incelenerek elde edilen görüntüler, Zen Blue 3.4 programında değerlendirilerek ImageJ programı ile kardiyak fibrozis yüzdesi hesaplandı (Mayyas vd., 2019).

3.4 İstatistiksel Analizler

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. İstatistiksel analizler için SPSS 15.0 programı kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis, ikili grup karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. $p<0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Metabolik Sendrom Parametreleri

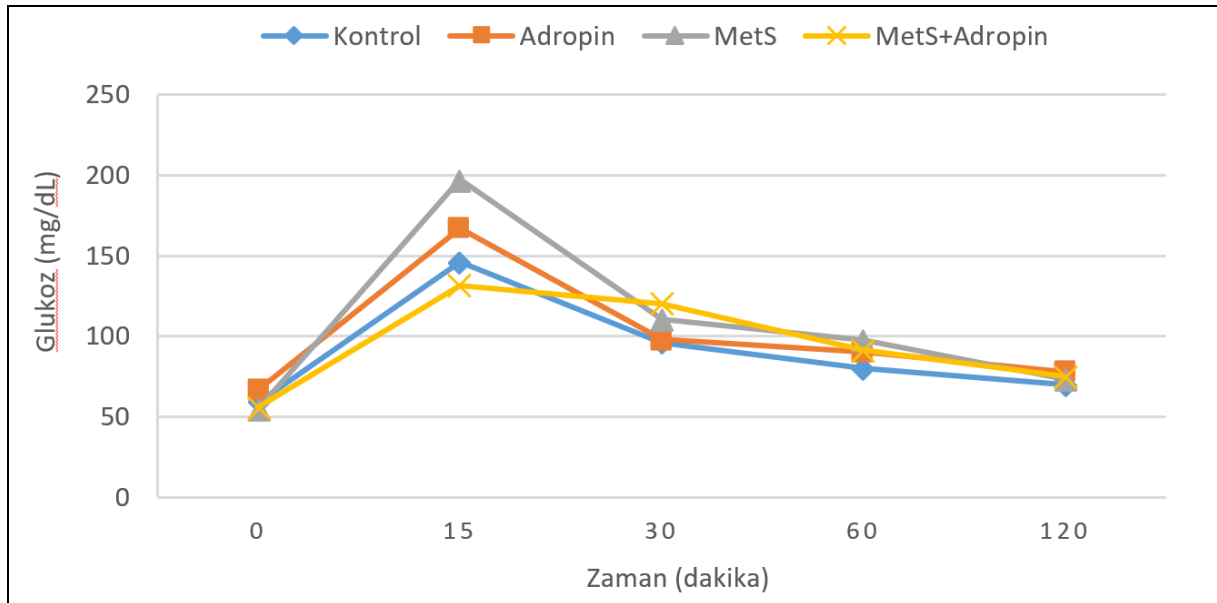
Metabolik sendrom (MetS) grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında vücut ağırlığı, bel çevresi ve beden kitle indeksinde artış tespit edildi ($p<0,05$). Yükselen bu değerler adropin tedavisine bağlı olarak düştü ($p<0,05$). 8 saatlik açlığı takiben ölçülen plazma glukoz değerlerinde gruplar arasında fark tespit edilemedi. Serum insülin ve insülin direnci (HOMA-IR indeksi) MetS grubunda artarken adropin tedavisi grubunda azaldı ($p<0,05$). Total kolesterol, Trigliserit, VLDL-kolesterol ve LDL-kolesterol değerleri MetS grubunda kontrole karşılaştırıldığında yüksek bulundu ($p<0,05$). Adropin tedavisi grubunda ise anlamlı bir değişiklik tespit edilemedi. MetS grubunda HDL-kolesterol kontrole göre değişim göstermezken, Trigliserit / HDL-K oranında artış tespit edildi ($p<0,05$). Sistolik kan basıncı değerleri MetS grubunda yüksek, MetS+Adropin grubunda MetS grubuna göre düşük bulundu (Tablo 4.1).

İPGTT eğri altında kalan ve 15. Dakika plazma glukoz değeri MetS grubunda yüksek, adropin tedavisi grubunda düşük tespit edildi ($p<0,05$). (Şekil 4.1-3)

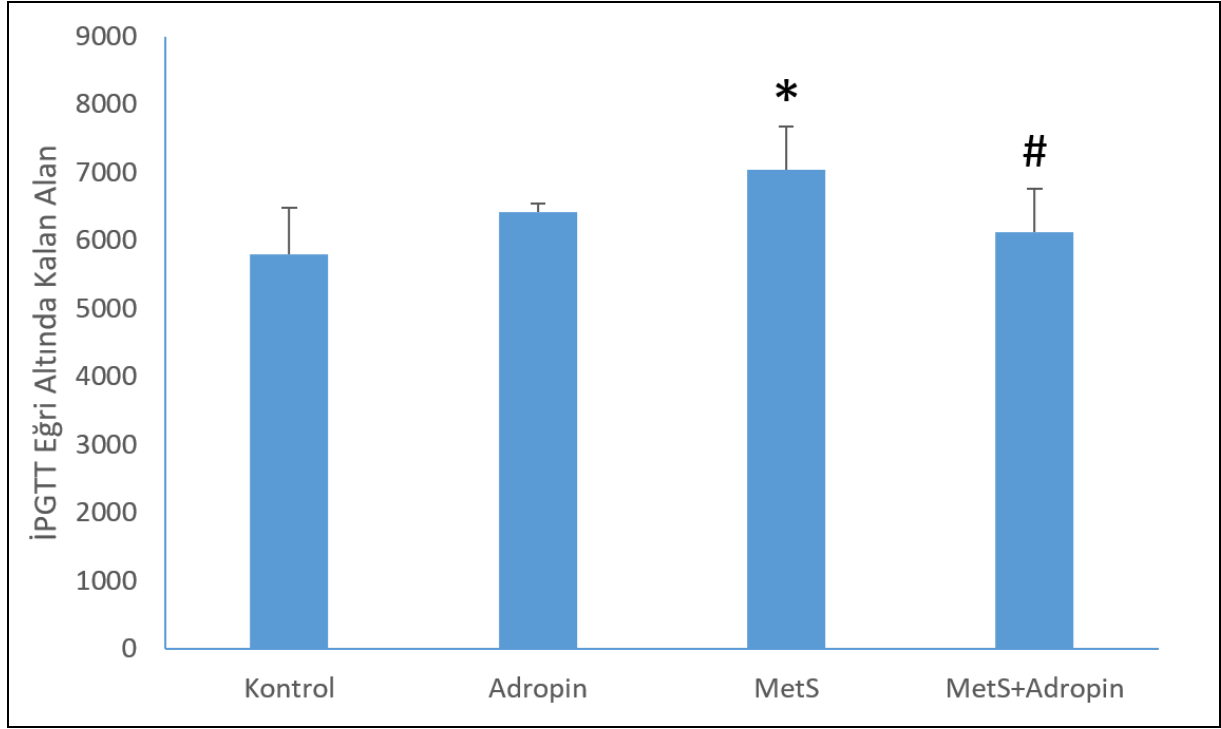
Tablo 4.1. Metabolik parametreler

Metabolik parametreler	Kontrol	Adropin	MetS	MetS+Adropin
Başlangıç ağırlık (g)	254 ± 23	259 ± 28	250 ± 14	249 ± 18
Son ağırlık (g)	313 ± 19	305 ± 16	352 ± 20 ^a	322 ± 23 ^b
Bel çevresi (cm)	16 ± 0,5	15,8 ± 0,6	17,3 ± 0,9 ^a	16,1 ± 0,7 ^b
Beden kitle indeksi (g/cm ²)	0,63 ± 0,02	0,69 ± 0,08	0,70 ± 0,03 ^a	0,66 ± 0,02 ^b
Glukoz (mg/dL)	59 ± 6,7	66,8 ± 1,7	54,8 ± 6,8	56 ± 5,5
İnsülin (mIU/L)	3,28 ± 0,53	3,15 ± 0,21	4 ± 0,32 ^a	3,35 ± 0,33 ^b
HOMA-IR indeksi	0,45 ± 0,09	0,52 ± 0,07	0,59 ± 0,07 ^a	0,44 ± 0,06 ^b
Total kolesterol (mg/dL)	44,8 ± 5,4	50,6 ± 8,1	56,1 ± 9,1 ^a	58,3 ± 5,1
Trigliserit (mg/dL)	56,9 ± 11,9	69,1 ± 13,3	73,5 ± 7,2 ^a	85,1 ± 13,5
HDL-kolesterol (mg/dL)	29,3 ± 3,4	31,7 ± 5	34 ± 3,8	34,1 ± 3,4
Trigliserit / HDL-K	1,78 ± 0,23	2,3 ± 0,87	2,59 ± 0,75 ^a	2,68 ± 0,68
LDL-kolesterol (mg/dL)	23,7 ± 1,7	28,4 ± 7,6	30,4 ± 3,9 ^a	33,5 ± 4,6
Sistolik kan basıncı (mmHg)	115 ± 8,8	112,3 ± 9,3	139 ± 7,2 ^a	115,4 ± 6,7 ^b

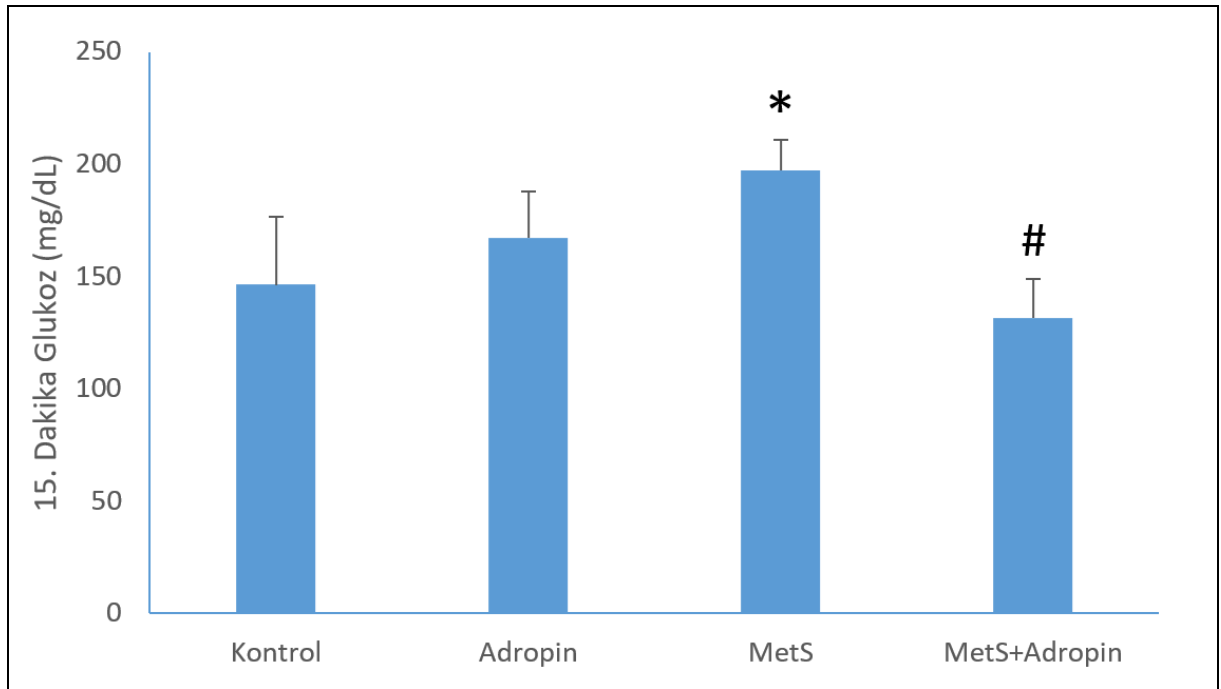
Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. ^ap<0,05 (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), ^bp<0,05 (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).



Şekil 4.1. İntraperitoneal glukoz tolerans testi.



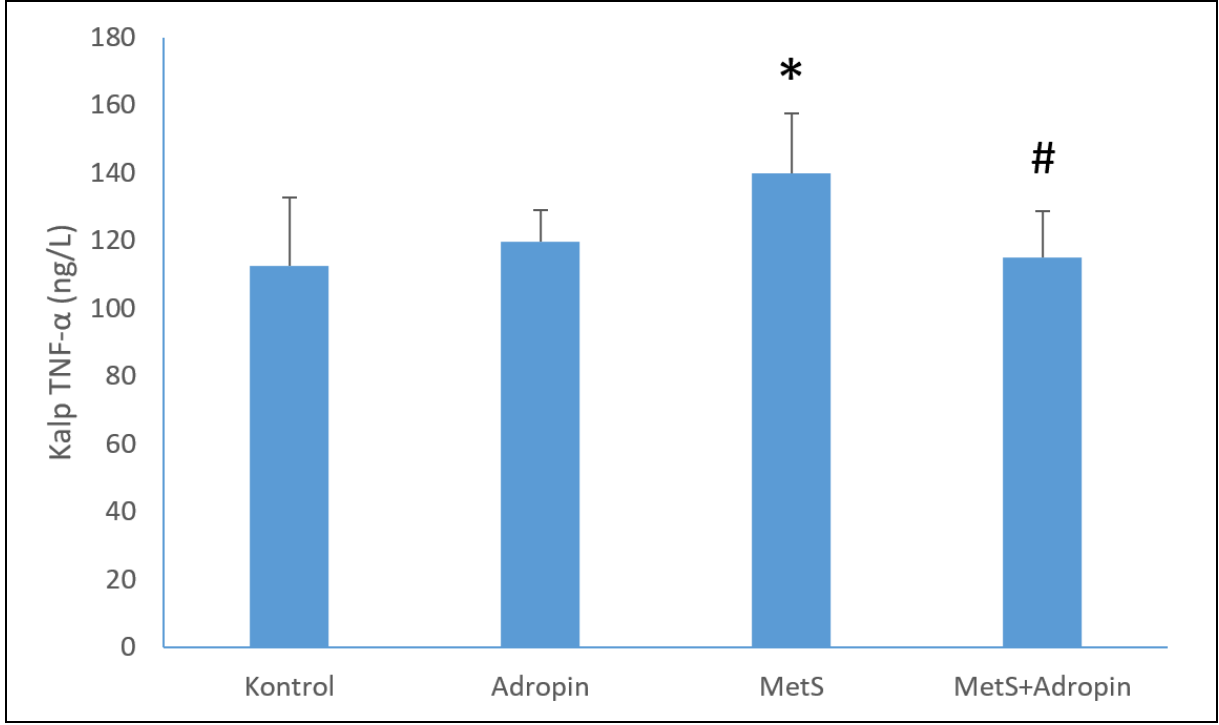
Şekil 4.2. İPGTT eğri altında kalan alan. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), # $p < 0,05$ (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).



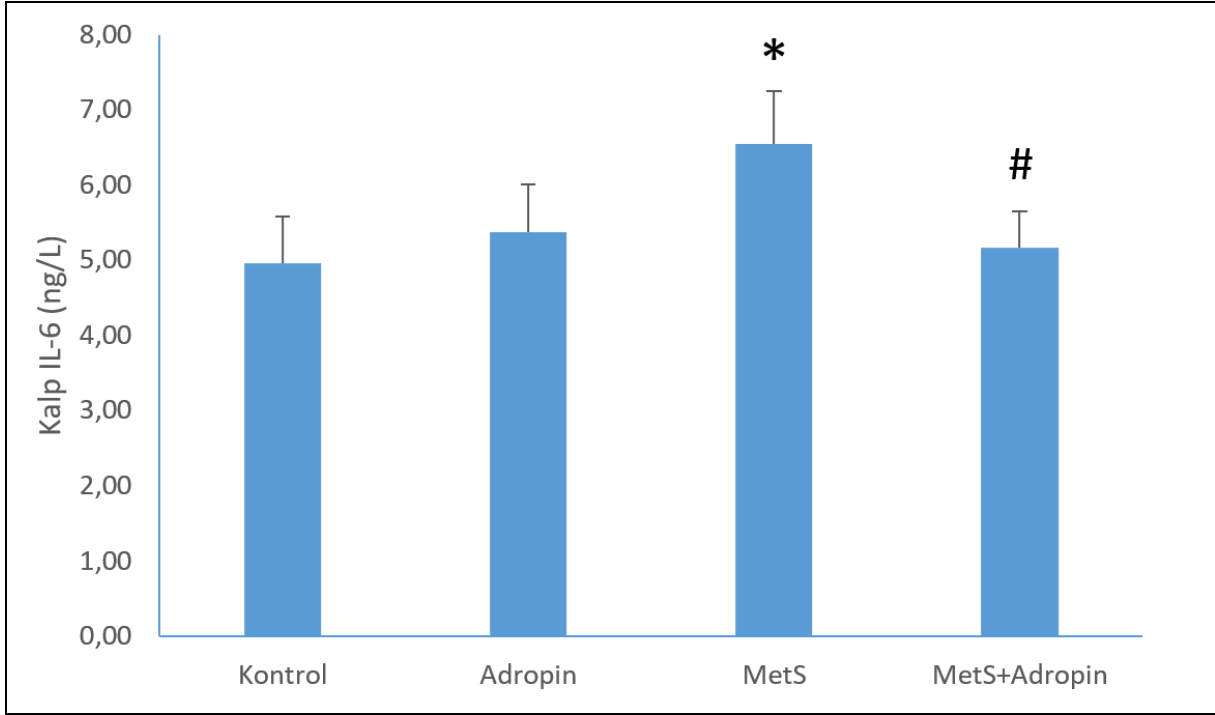
Şekil 4.3. İPGTT 15. dakika glukoz değeri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), # $p < 0,05$ (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).

4.2 Serum ve Kalp Dokusundaki İnflamatuvar ve Trombotik Belirteçler

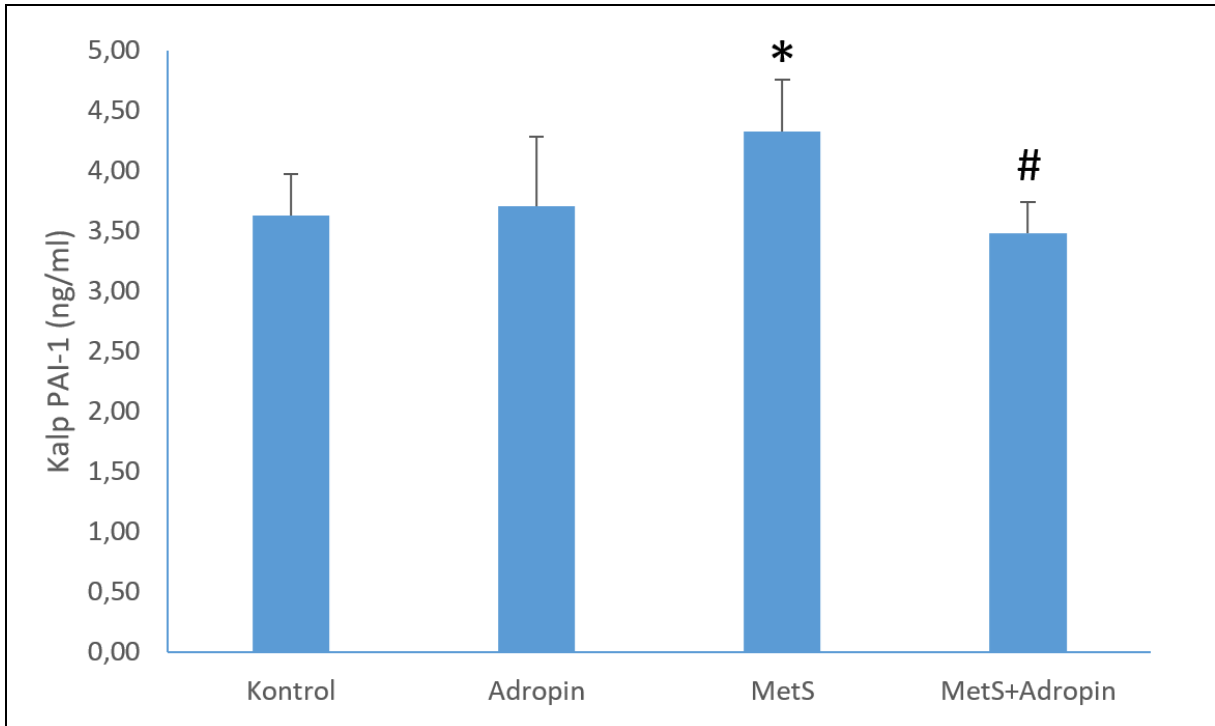
Kalp dokusunda ölçülen TNF- α , IL-6 ve PAI-1 değerleri MetS grubunda kontrole göre yüksek bulundu ($p<0,05$). MetS+Adropin grubunda ise MetS grubuyla karşılaştırıldığında düşük tespit edildi ($p<0,05$). Serumda ölçülen TNF- α , IL-6, PAI-1 ve hs-CRP değerleri de MetS grubunda yüksek, MetS+Adropin grubunda düşük olarak tespit edildi ($p<0,05$). (Şekil 4.4-10)



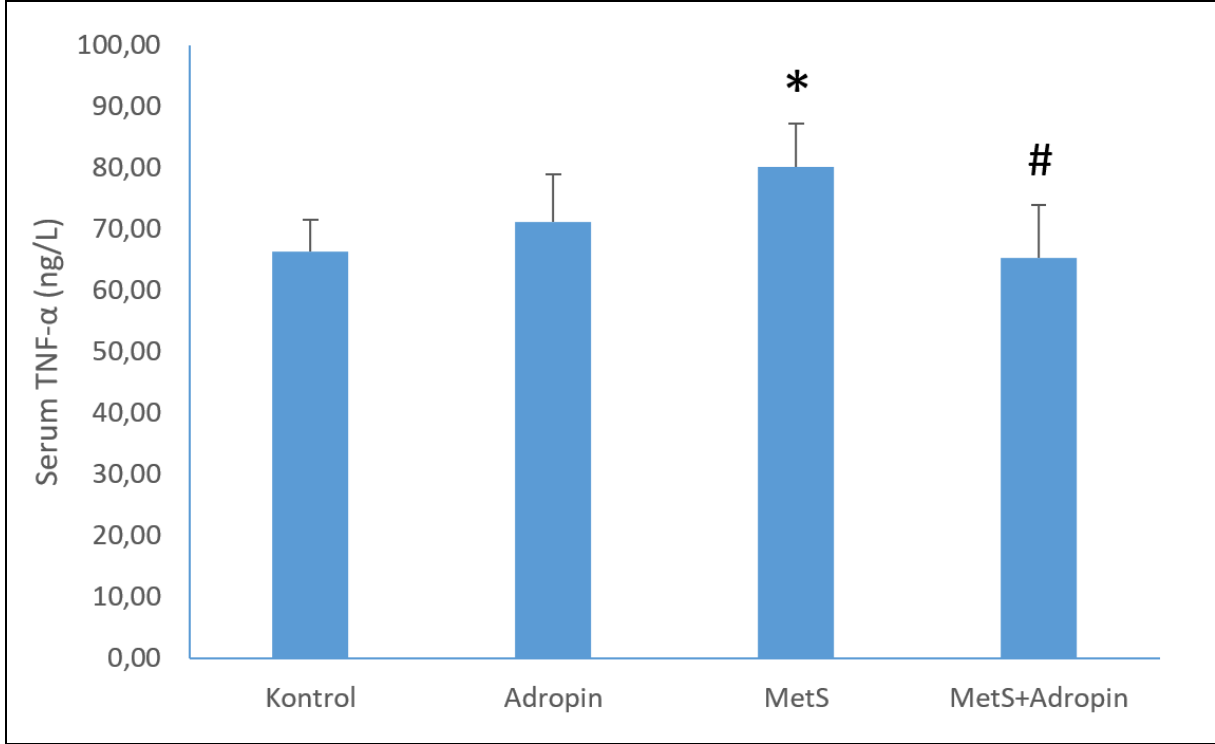
Şekil 4.4. Kalp TNF- α değerleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p<0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), # $p<0,05$ (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).



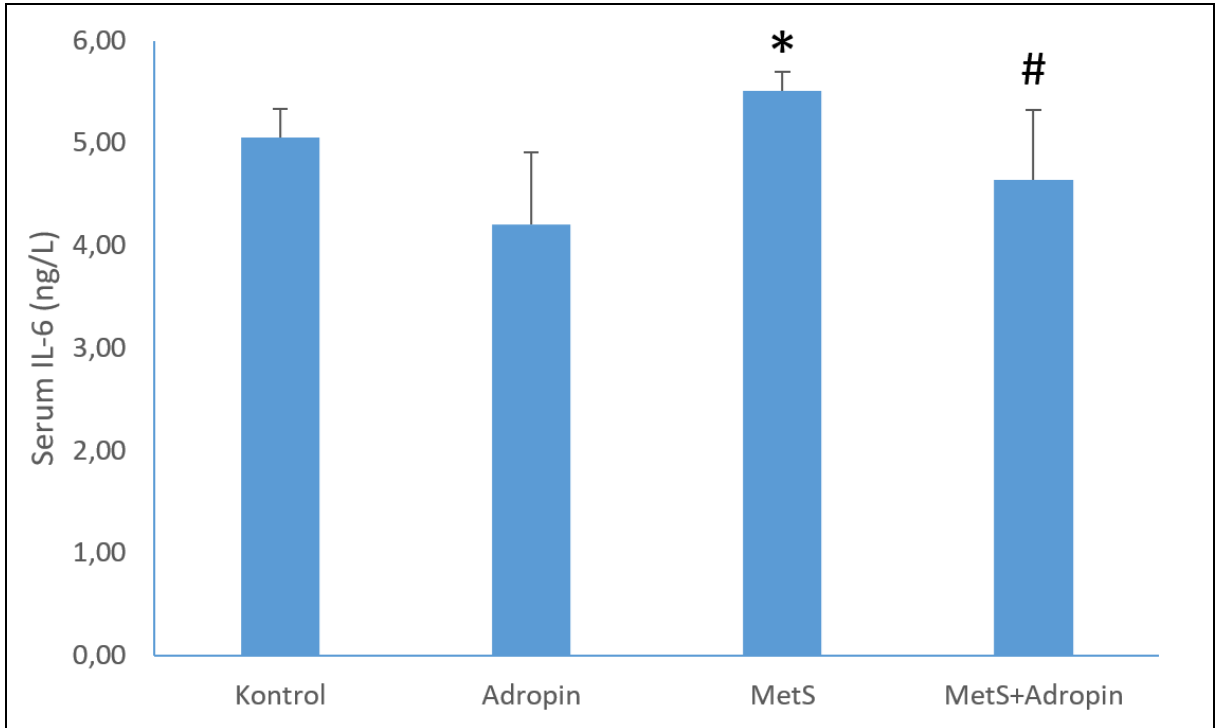
Şekil 4.5. Kalp IL-6 değerleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p<0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), # $p<0,05$ (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).



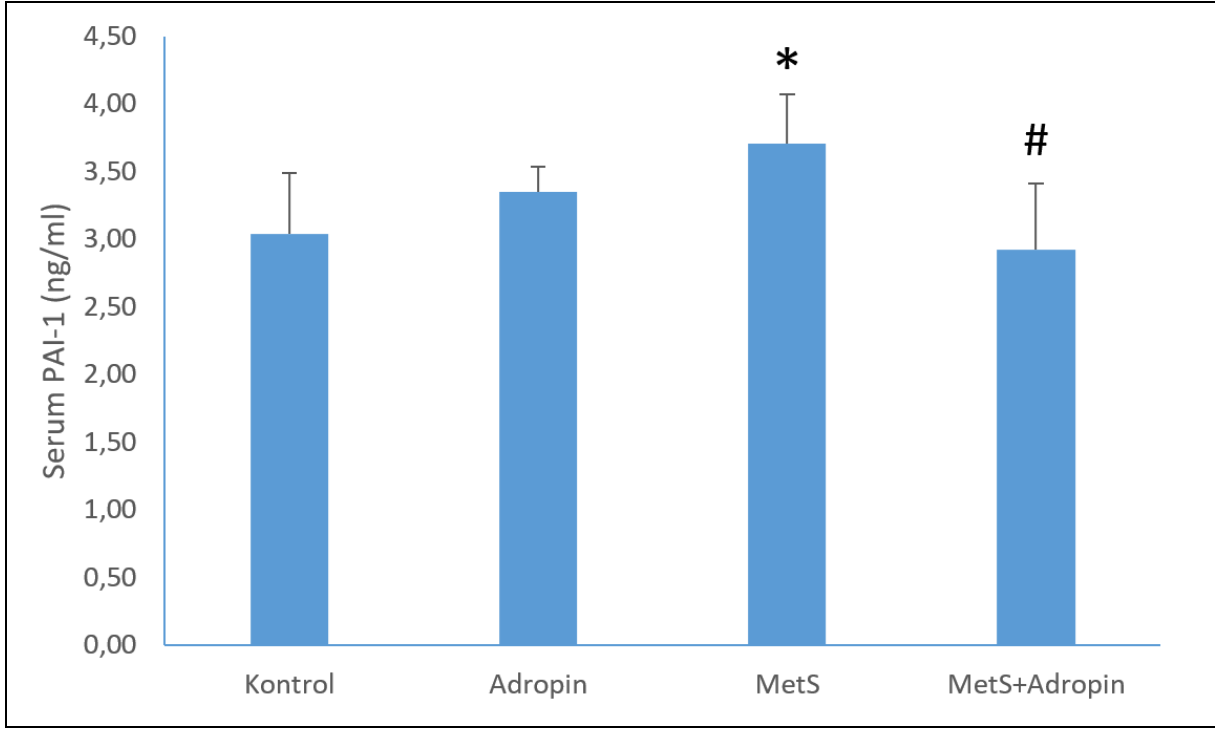
Şekil 4.6. Kalp PAI-1 değerleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p<0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), # $p<0,05$ (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).



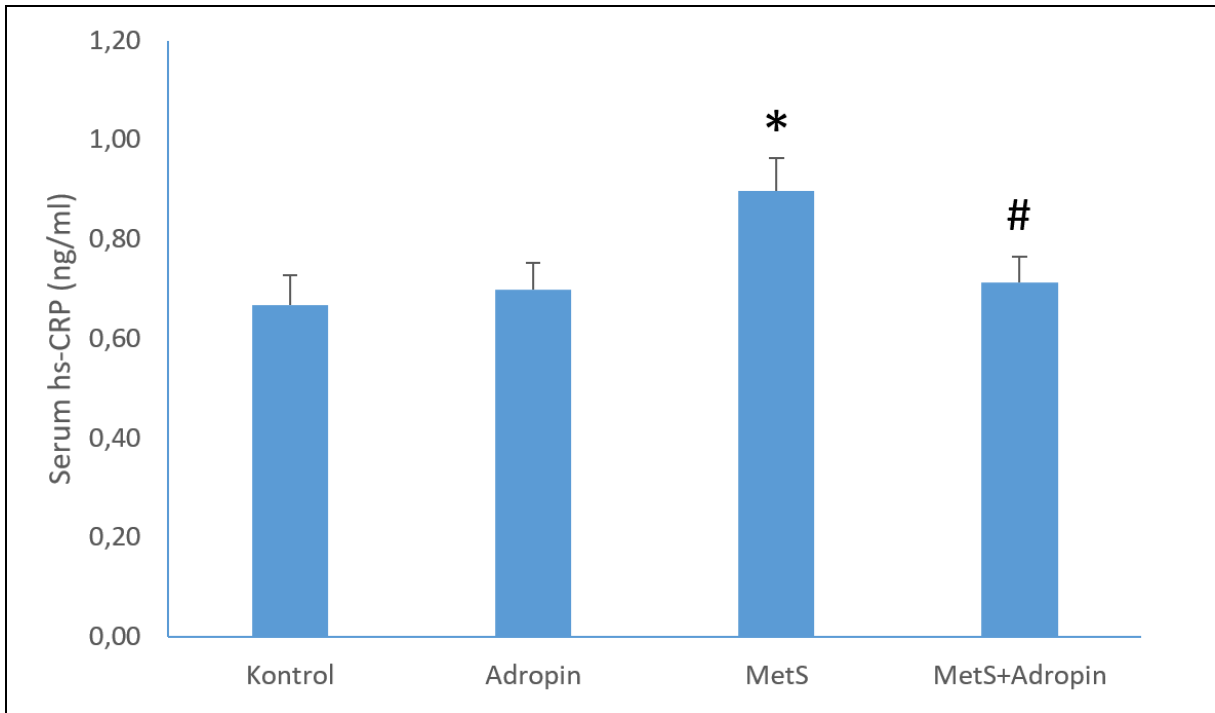
Şekil 4.7. Serum TNF- α değerleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p<0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), # $p<0,05$ (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).



Şekil 4.8. Serum IL-6 değerleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p<0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), # $p<0,05$ (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).



Şekil 4.9. Serum PAI-1 değerleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p<0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), # $p<0,05$ (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).



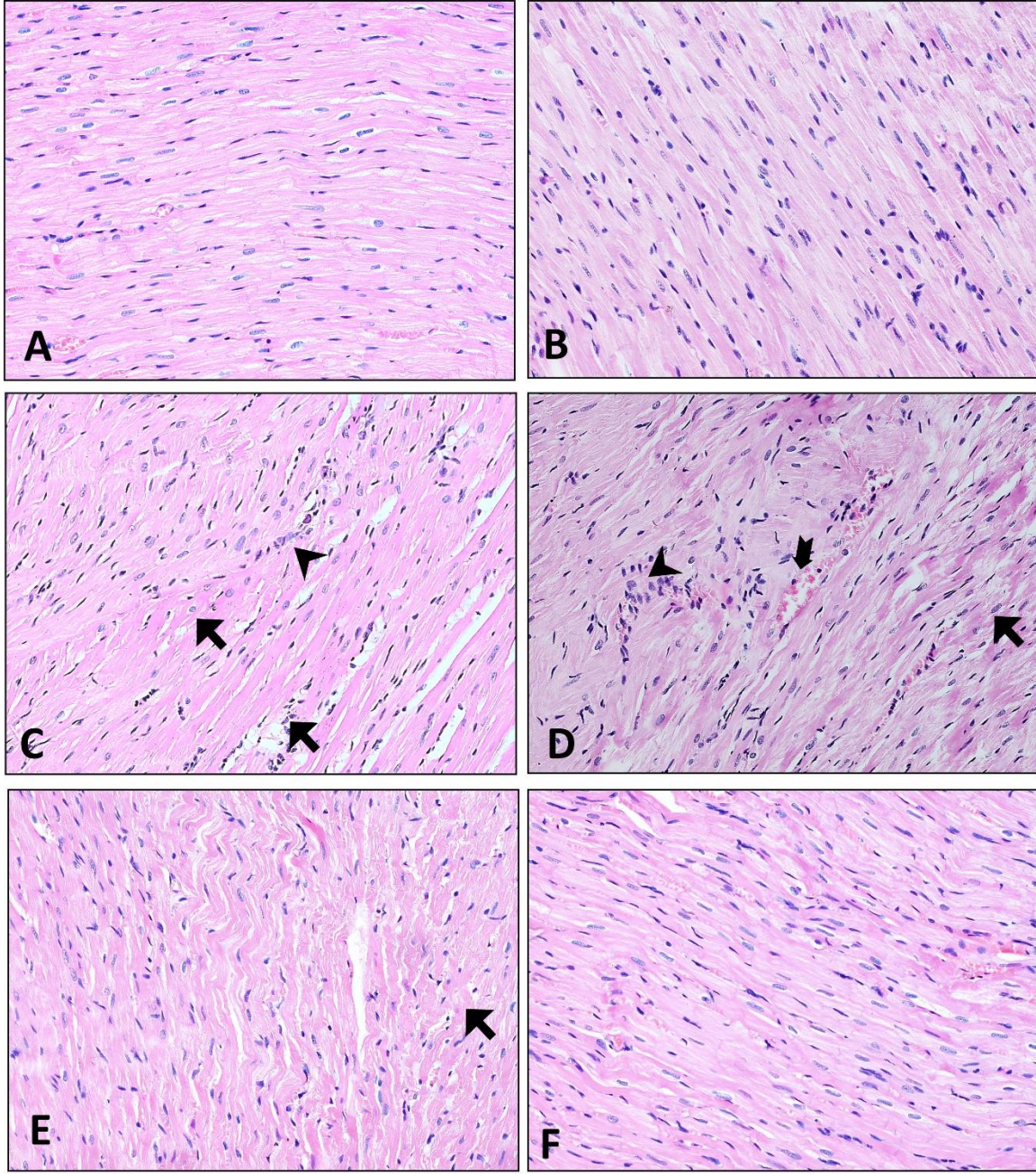
Şekil 4.10. Serum hs-CRP değerleri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p<0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), # $p<0,05$ (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).

4.3 Kardiyak Remodeling

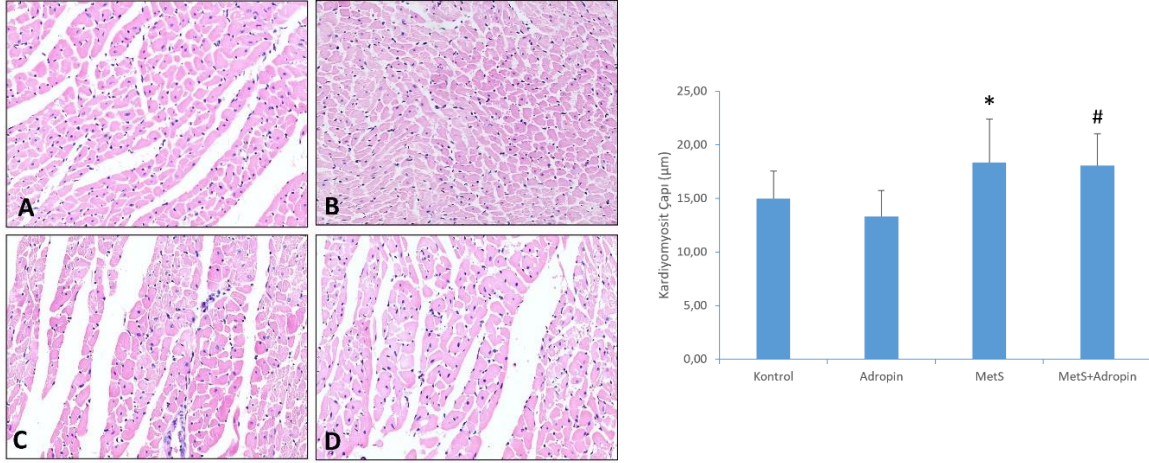
Deney gruplarına ait kalp kesitlerinin Hematoksilen-Eosin boyama sonrasında yapılan değerlendirmelerde, Kontrol ve Adropin gruplarına ait kalp dokusunun normal histolojik yapıya sahip olduğu izlendi. Kalp kası hücreleri merkezi yerleşimli oval nukleusa sahipti ve kas liflerinin organizasyonu normaldi. Kontrol ve Adropin gruplarına ait kesitlerde herhangi bir histopatolojik değişim izlenmedi. MetS grubuna ait kesitlerde kalp kası hücrelerine ait dejenerasyon, hipertrofik kardiyomyositler, lif düzensizlikleri, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve konjesyon dikkati çekti. MetS+Adropin grubuna ait histolojik kesitlerde ise adropin uygulaması ile bazı alanlarda dejeneratif değişimlerin devam ettiği, ancak genel olarak MetS grubuna göre azaldığı dikkat çekti (Şekil 4.11).

MetS grubuna ait kalp dokusu kesitlerinde kardiyomyosit çapında anlamlı artış izlendi ($p<0,05$). MetS+Adropin grubunda ise MetS grubuna göre anlamlı düşüş görüldü ($p<0,05$) (Şekil 4.12).

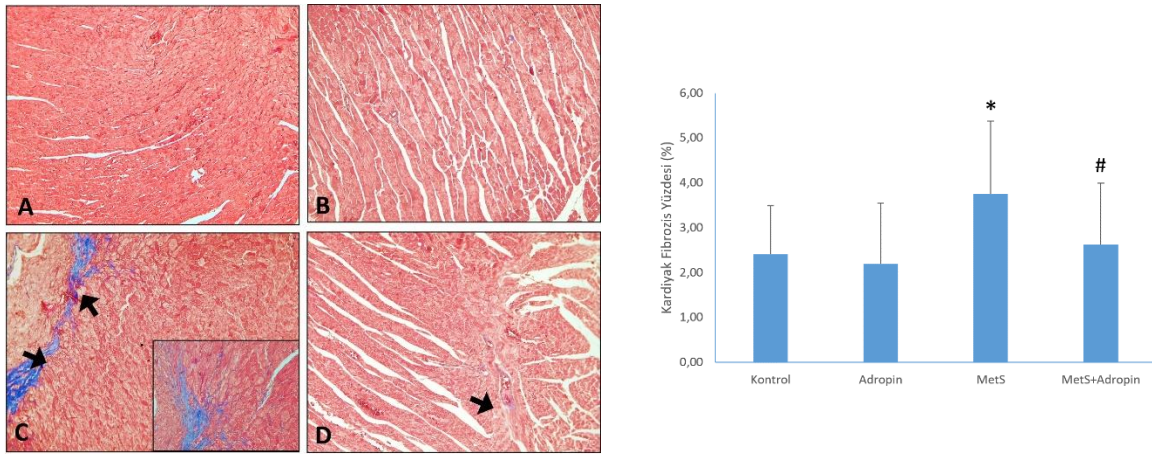
Masson's Trichrome boyama sonrası kalp dokusuna ait fibrotik değişimler değerlendirildiğinde; MetS grubu kardiyak fibrozis yüzdesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek izlendi ($p<0,05$). MetS+Adropin grubunda MetS grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı düşüş görüldü ($p<0,05$) (Şekil 4.13).



Şekil 4.11. Deney gruplarına ait kalp kesitleri. (A)Kontrol, (B)Adropin, (C,D)MetS, (E,F)MetS+Adropin; (➤)inflamatuar hücre infiltrasyonu, (↔)kas liflerinde düzensizlik, (✱)konjesyon (Hematoksilen-Eosin boyama, x200).



Şekil 4.12. Transvers kalp kesitleri ve kardiyomyosit çap ölçümleri. (A)Kontrol, (B)Adropin, (C)MetS, (D)MetS+Adropin (Hematoksilen-Eosin boyama, x200). Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), # $p < 0,05$ (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).

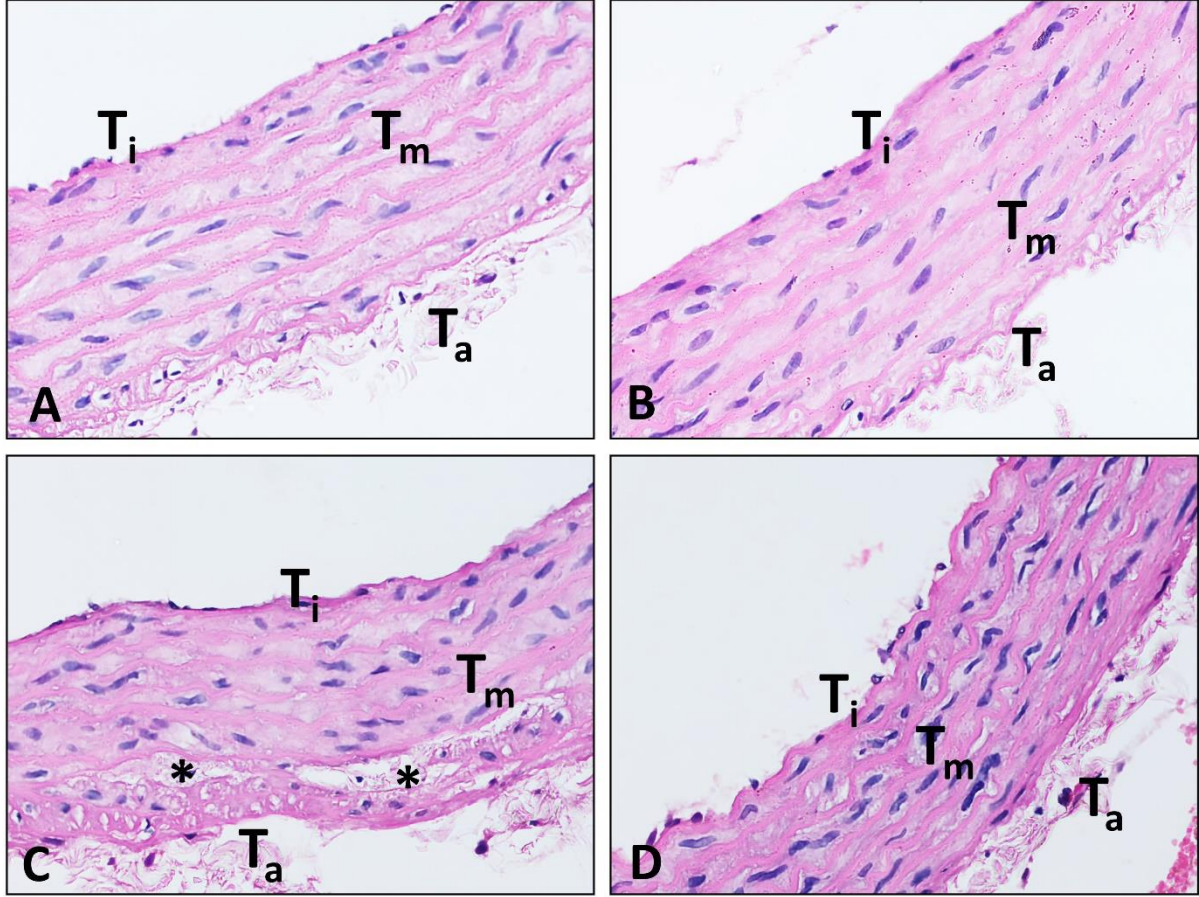


Şekil 4.13. Masson's Trichrome ile boyanmış kalp kesitleri ve fibrotik alanların yüzdesi. (A)Kontrol, (B)Adropin, (C)MetS, (D)MetS+Adropin, (↔) fibrotik alanlar (Masson's Trichrome boyama, x200, inset x400). Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p < 0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), # $p < 0,05$ (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).

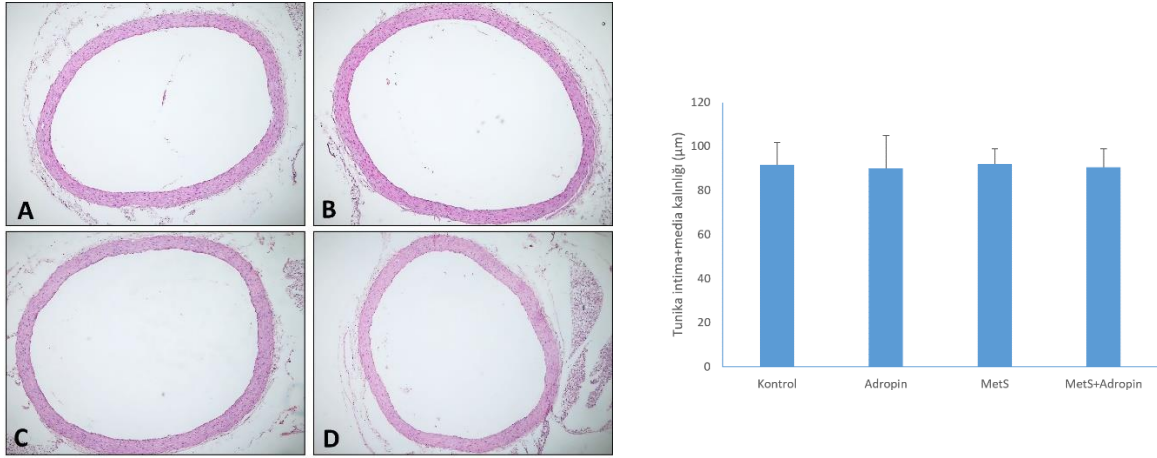
4.4 Aterosklerotik Değişiklikler

Kontrol ve Adropin gruplarına ait aort dokularının Hematoksilen-Eosin ile boyanmış enine kesitlerinde, damar duvarını oluşturan tunika intima, tunika media ve tunika adventisya tabakalarının normal histolojik yapıda olduğu izlendi. Tunika media tabakasını oluşturan elastik lameller ve düz kas hücreleri normal histolojik görünüme sahipti. MetS grubuna ait aort dokusunun Hematoksilen-Eosin ile boyanmış enine kesitlerinde ise, tunika media tabakasında elastik lamellerin organizasyonunda, düz kas yapısında düzensizlikler ve sitoplazmik vakuolizasyon izlendi. MetS+Adropin grubunda, tunika intima ve tunika media tabakalarının MetS grubuna göre daha düzenli histolojik yapıya sahip olduğu dikkati çekti.

Aort dokularına ait kesitlerde Tunika intima+media kalınlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arası anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p=0,776$). Aort kesitlerinde ateroskleroz varlığı incelendiğinde ise gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi (Şekil 4.14-15).



Şekil 4.14. Deney gruplarına ait aort transvers kesitleri. (A)Kontrol, (B)Adropin, (C)MetS, (D)MetS+Adropin; (Ti)Tunica intima, (Tm)Tunica media, (Ta)Tunica adventisya, (*)elastik lamellerin organizasyonunda görülen düzensizlikler (Hematoksilen-Eosin boyama, x400).



Şekil 4.15. Deney gruplarına ait aort transvers kesitleri ve tunika intima+media kalınlıkları. (A)Kontrol, (B)Adropin, (C)MetS, (D)MetS+Adropin (Hematoksilen-Eosin boyama, x40). Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. * $p<0,05$ (Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında), # $p<0,05$ (MetS grubuyla karşılaştırıldığında).

5. TARTIŞMA

Adropin ile vücut ağırlığı, bel çevresi ve beden kitle indeksi arasındaki ilişki farklı deney modelleriyle ortaya konulmuştur. Diyabetik farelerin ve hiperlipidemik sıçanların vücut ağırlıkları adropin tedavisiyle azalmıştır (Akçılar vd., 2016; Skrzypski vd., 2022). Adropin geni aşırı ifade edilmiş (overexpression) farelerde yüksek yağlı diyetle bağlı olarak olması gerektiğinden daha az ağırlık artışı olmuştur (K. G. Kumar vd., 2008). Obez ve Tip 2 Diyabetli hastalarda yapılan farklı insan çalışmalarında adropin ile vücut ağırlığı, bel çevresi ve beden kitle indeksi arasında negatif korelasyon olduğu tespit edilmiştir (R. M. Chen vd., 2019; Choi ve Yim, 2018; Erman vd., 2021). Bizim çalışmamızda metabolik sendromlu sıçanlara uyguladığımız adropin tedavisi ile vücut ağırlığı, bel çevresi ve beden kitle indeksi değerleri diğer çalışmalarla uyumlu şekilde azaldı.

Açlık plazma glukozu deney grupları arasında değişiklik göstermezken, adropin tedavisine bağlı olarak glukoz toleransında artış ve insülin direncinde azalma tespit ettik. Deney hayvanlarının yaşı, genetik özellikleri, diyet süresi ve diyet içerikleri farklı olan fruktoz ile metabolik sendrom modeli oluşturulmuş bazı çalışmalarda da açlık plazma glukoz değerleri değişmemiştir (Frantz vd., 2017; Gasparova vd., 2023; Mahesh vd., 2021). Diyet ile obez olan farelerde adropin tedavisi ya da adropin geninin aşırı ifadesi kan glukozunun yükselmesini engelleyerek vücudun glukoz toleransını iyileştirmiştir (Gao vd., 2015; K. G. Kumar vd., 2008). Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde adropin tedavisine bağlı olarak insülin direncinde iyileşme görülürken (X. Chen vd., 2020), obez çocuklarda yapılan başka

bir çalışmada serum adropin değerleri ile HOMA-IR değerleri arasında negatif korelasyon olduğu tespit edilmiştir (R. M. Chen vd., 2019).

Dislipidemi kardiyovasküler hastalıklar açısından önemli bir risk faktörüdür. Adropin geni susturulmuş farelerde serum trigliserit değerleri yüksek iken total kolesterol değerlerinde fark tespit edilememiştir (Ganesh Kumar vd., 2012). Hiperlipidemik sıçanlarda yapılan adropin tedavisi ise ldl-kolesterol ve hdl-kolesterolde düzelmeye sebep olurken, total kolesterol ve trigliserit değerlerini etkilememiştir (Akçılar vd., 2016). Adropin ile trigliserit ve ldl-kolesterol arasında negatif korelasyon, hdl-kolesterol arasında pozitif korelasyon mevcuttur (Butler vd., 2012; Radić vd., 2023). Buna zıt olarak üç ay süre ile yüksek fruktozlu diyet alan primatlarda adropin ile ldl-kolesterol arasında pozitif korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Butler vd., 2019). 873 hemodiyaliz hastasında yapılan bir çalışmada ise dislipidemi ile adropin arasındaki ilişki ortaya çıkarılamamıştır (Grzegorzewska vd., 2018). Bizim çalışmamızda metabolik sendrom grubunda artan trigliserit, total kolesterol, ldl-kolesterol ve Trigliserit / HDL-K oranı adropin tedavisiyle birlikte değişmedi. Dislipidemi ile adropin arasındaki literatürdeki tutarsız ilişkiler bu konuda yeni çalışmalara duyulan ihtiyacı göstermektedir.

Adropin endotelde nitrik oksit bulunurluğunu artırarak vasküler homeostazisi düzenlemede önemli bir role sahiptir (Lovren vd., 2010). Nitrik oksitin azalması ya da vazokonstriktör maddelerin artışı endotel disfonksiyonuna sebep olmakta bu da hipertansiyon ile sonuçlanabilmektedir. Yapılan klinik çalışmalarda hipertansif kişilerde (Gu vd., 2015), hipertansiyon problemi olan gebelerde (Lin vd., 2019) ya da gece yüksek kan basıncına sahip kişilerde (Bolayır vd., 2018) adropin seviyeleri düşük bulunmuştur. Adropinin hipertansiyon üzerindeki etkisi, deney hayvanlarında kan basıncı ölçümü yaptığımız bu çalışmamız aracılığıyla daha da güçlenmiştir.

Adropin geni susturulmuş farelerde batı tarzı diyetle bağlı olarak karaciğer inflamasyonu artmıştır (X. Chen vd., 2019). Hiperlipidemik sıçanlarda adropin tedavisiyle karaciğer TNF- α ve IL-6 mRNA ekspresyonları azalmıştır (Akçılar vd., 2016). Atrial fibrilasyonu, tip 2 diyabeti ve obstrüktif uyku apnesi olan hastalarda serum adropin değerleri ile TNF- α , IL-6 ve hs-CRP arasında negatif korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Kong ve Liu, 2022; Wang vd., 2019; Zang vd., 2018). Endotel disfonksiyonunda adropin, makrofaj fenotipini pro-inflamatuardan anti-inflamatuara çevirmektedir. Kronik adropin uygulanması anti-inflamatuar etkisiyle farelerde aortadaki aterosklerotik plak oluşumunu, plak içerisindeki monosit-makrofaj infiltrasyonunu ve düz kas göçünü azaltmaktadır (Sato vd., 2018). Bizim çalışmamızda kalp dokusunda metabolik sendroma bağlı olarak artan inflamatuvar belirteçler adropin tedavisi ile azaldı.

24 hafta yüksek yağlı diyet alan farelerde kalpte hipertrofi ve fibrozis ortaya çıkmış ve PAI-1 protein düzeylerinde artış tespit edilmiştir (Zhou vd., 2022). C-Reaktif protein geni aşırı ifade edilen farelerden diyabet olanlarında kardiyak fibroziste ve kardiyak TNF- α , IL-6 ve PAI-1 mRNA ekspresyonlarında artış görülmüştür (Mano vd., 2011). Myokard enfarktüsü genellikle sol ventrikül remodelingi ile sonuçlanmaktadır. Myokard enfarktüsü sonrasında ortaya çıkan kardiyak fibrozisteki artış PAI-1 geni susturulmuş farelerde görülmemektedir (Takeshita vd., 2004). Endotelial fonksiyonun sürdürülmesinde önemli bir rolü olan nitrik oksit sentezi N^G-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ile inhibe edildiğinde sol ventriküldeki PAI-1 değerleri yüksek çıkmaktadır (Kato vd., 2000). Adropin ise endotel hücrelerinde nitrik oksit sentaz üzerinden nitrik oksit bulunurluğunu artırarak endotelial fonksiyonun sürdürülmesinde önemli bir role sahiptir (Lovren vd., 2010). Çalışmamızın metabolik sendrom grubundaki sıçanların serum ve kalp dokularında PAI-1 değerleri yüksek çıktı. Adropin tedavisi alan grupta bu artış görülmedi. Bizim bulgularımız ile birlikte, nitrik oksit, PAI-1 ve kardiyak remodeling arasındaki ilişkinin ayrıntılarının araştırılması ihtiyacı iyice artmıştır.

Adropin geni susturulmuş deney hayvanlarında karaciğer ve akciğer dokularında fibroziste artış tespit edilmiştir (X. Chen vd., 2019; Ding vd., 2023). Adropin tedavisi ise radyoterapi ile oluşturulan (B. Li vd., 2022) ve myokard enfarktüsü sonrasında görülen (H. Y. Li vd., 2021) myokardiyal fibroziste iyileşmeye sebep olmuştur. Diyabet modeli oluşturulmuş sıçanlarda adropin tedavisi sonucunda myokardiyal fibroziste ve sol ventrikül ağırlığında azalma ortaya çıkmıştır (Liu vd., 2021). Annesinde gestasyonel diyabet tanısı olan yenidoğanlardan myokardiyal hipertrofisi ileri düzeyde olanların kordon kanında adropin seviyeleri düşük çıkmıştır (Dincer vd., 2022). Metabolik sendrom modeli oluşturduğumuz sıçanların kalp histolojik değerlendirmelerine göre artan kardiyomyosit çapı ve fibrozis oranı adropin tedavisi ile azaldı. Literatürde var olan adropin tedavisinin kardiyak remodeling üzerindeki iyileştirici etkisi; bizim çalışmamızda diğerlerinden farklı olarak fruktoz ile oluşturduğumuz metabolik sendrom modelinde de ortaya çıkmıştır.

Çalışmamızda metabolik sendrom grubundaki sıçanların aorta tunika media tabakasında elastik lamellerin organizasyonunda, düz kas yapısında düzensizlikler ve sitoplazmik vakuolizasyon izlenmiştir. Ancak aortadaki bu değişiklikler başlangıç aşamasında kalmış tunika intima ve media tabakalarında kalınlık artışına ve ateroskleroza dönüşmemiştir. Sıçanlar ve mini domuzlarda yapılan farklı merkezlerdeki çalışmalarda diyet ile oluşturulan metabolik sendrom modelinde tunika intima ve media kalınlıklarında değişiklik tespit edilememiştir (Low Wang vd., 2013; Wattanathorn vd., 2019). Diyet içeriği ve süresi değiştirilerek ve diyet uygulanan deney hayvanlarının özellikleri dikkate alınarak damarlarda ateroskleroz gelişimini gösteren çalışmalar da literatürde mevcuttur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sıçanlarda oluşturduğumuz metabolik sendrom modelinde dışarıdan tedavi olarak uyguladığımız adropin; vücut ağırlığı, bel çevresi, insülin direnci, glukoz toleransı ve kan basıncında iyileştirici yönde etkiler gösterdi. Metabolik sendromda ortaya çıkan inflamasyon, kardiyak hipertrofi ve fibrozisde azalmaya yol açtı. Deney hayvanlarında in vivo olarak uyguladığımız adropin tedavisi literatürde az sayıdaki benzerleriyle birlikte ileriye dönük yapılacak çalışmalar açısından önem arz etmektedir. Adropinin metabolik sendrom parametreleri ve kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerini bu çalışmamızda serum ve kalp dokusundaki protein düzeylerindeki değişiklikler ve histolojik olarak da morfolojik değişiklikler açısından değerlendirebildik. Adropinin metabolik sendroma bağlı olarak ortaya çıkan kardiyovasküler sistem bozukluklarındaki iyileştirici yöndeki etkilerinin ekokardiyografi gibi fonksiyonel tetkik araçları ve farklı moleküler test yöntemleriyle de doğrulanması elde ettiğimiz bulguların güvenilirliğini artıracaktır.