



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

CUSHİNG HASTALIĞINDA KAHVERENGİ YAĞ DOKUSUNDAKİ DEĞİŞİMİNİN
BELİRLENMESİ VE SAĞLIKLI KONTROL GRUBUYLA KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Berat Furkan ÇAYIR

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
Dr.Öğretim Üyesi Alev SELEK

2019

TÜRKİYE CUMHURİYETİ

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

CUSHİNG HASTALIĞINDA KAHVERENGİ YAĞ DOKUSUNDAKİ DEĞİŞİMİNİN
BELİRLENMESİ VE SAĞLIKLI KONTROL GRUBUYLA KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Berat Furkan ÇAYIR

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

Dr.Öğretim Üyesi Alev SELEK

KOÜ GOKAEK-2018/30.10. 2018/274

2019

TEŞEKKÜR

Bu tezin her aşamasında bana her zaman yardımcı olan, değerli görüş ve önerileriyle bana ışık tutan, ayrıca tecrübe ve bilgi birikimiyle bana destek olan değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Alev SELEK'e en samimi ve içten duygularıyla teşekkürlerimi sunuyorum.

Asistanlık sürecimde bana her türlü yardım ve ilgilerini eksik etmeyen KOÜ Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD tüm hocalarıma, yandal uzmanlık asistanlığı yapan abi ve ablalarım ve asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi iletiyorum.

Bu tezi hazırlarken çalışmamda yardımcı olan asistan arkadaşım Sayın Özlem ŞAFAK'a ve biyokimya teknisyeni Sayın Erdem YAŞARTÜRK'e desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunuyorum.

Tüm hayatım boyunca her türlü zahmet ve sıkıntılarında bana yardım eden ve hiçbir zaman haklarını ödeyemeyeceğim başta annem ve babam olmak üzere tüm aileme saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Tanıştığım ilk günden beri desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen ve bu tezi hazırlarken de desteğini fazlasıyla bana hissettiren sevgili eşim Esra ÇAYIR'a en içten teşekkürlerimi ve sevgilerimi gönderiyorum.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	4
ŞEKİLLER DİZİNİ	6
TABLolar DİZİNİ	6
SİMGELER VE KISALTMALAR	7
1.AMAÇ VE KAPSAM	9
2.GENEL BİLGİLER.....	11
2.1.Cushing Sendromu	11
2.1.1.Cushing Sendromunun Seyri ve Epidemiyolojisi.....	11
2.1.2.Hipotalamo-Hipofizer-Adrenal Aks ve Glukokortikoid Sentezi.....	11
2.1.3.Kortizol Etki Mekanizması ve Metabolizması	12
2.1.4.Glukokortikoidlerin Fizyolojik Etkileri	13
2.1.5.Cushing Sendromunda Belirti ve Bulgular	14
2.1.6.Etyoloji.....	16
2.1.6.1.Ekzojen Cushing Sendromu	16
2.1.6.2.Endojen Cushing Sendromu	17
2.1.7.Cushing Sendromu Tanısı	19
2.1.7.1.Tarama Testleri.....	19
2.1.7.1.1.İdrar Serbest Kortizolü	19
2.1.7.1.2.Tükrük kortizolü.....	20
2.1.7.1.3.Diurnal salınım.....	20
2.1.7.1.4.Düşük Doz DST	20
2.1.7.2.Kesin Tanı Testleri.....	21
2.1.7.3.Ayırıcı Tanı Testleri.....	21
2.1.8. Tedavi	22
2.1.8.1.Cerrahi Tedavi	22
2.1.8.2.Radyoterapi	23
2.1.8.3.Bilateral Adrenalektomi	23
2.1.8.4.Medikal Tedavi.....	23

2.1.8.4.1.Steroidogenez İnhibitörleri	24
2.1.8.4.2.ACTH Salgısını Azaltan İlaçlar	24
2.1.8.4.3.Glukokortikoid Reseptör Antagonisti.....	25
2.1.8.4.4.Diğer ajanlar	25
2.1.9.Prognoz	26
2.2.Adipoz Doku.....	26
2.2.1.Beyaz Yağ Dokusu	27
2.2.2.Kahverengi Yağ Dokusu.....	28
2.2.2.1.KYD'nin dağılımı	29
2.2.2.2.KYD Fonksiyonu	29
2.2.2.3.Beyaz Yağ Dokunun Kahverengileşmesi	30
2.2.2.4.KYD ile diğer organların ilişkisi	32
2.2.2.5.KYD aktivitesinin hastalıklarla ilişkisi	33
2.2.2.5.1.Obezite.....	33
2.2.2.5.2.Diyabet	34
2.2.2.6.KYD Belirteçleri.....	35
2.2.2.6.1.Uncoupling Protein 1 (UCP 1).....	35
2.2.2.6.2.İrisin	37
2.2.2.6.3.PRDM 16.....	41
2.2.2.6.4.BMP 7.....	42
2.2.3.Beş Yağ Dokusu	43
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	45
3.1.Kitlerin çalınması	47
3.2. İstatiksel Yöntem	48
4.BULGULAR	48
5.TARTIŞMA	56
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	65
7.ÖZET	67
8.ABSTRACT	68
9.KAYNAKÇA	69

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1:Hipotalamo-Hipofizer -Adrenal Aksı	12
Şekil 2 :Adrenal Steroid Hormon Sentezi Yolakları.....	13
Şekil 3 :Adipoz Doku Çeşitleri.....	27
Şekil 4:KYD aktivitesi	28
Şekil 5 :KYD Fonksiyonu	30
Şekil 6:KYD Kahverengileşmesi.....	32
Şekil 7:İrisin etki mekanizması	33
Şekil 8 :Adipositokinlerin yağ dokusu ve hedef organlardaki bazı işlevleri	35
Şekil 9 :UCP1 Etki Mekanizması	36
Şekil 10 :Egzersizle beyaz yağ dokunun kahverengileşmesi	37
Şekil 11 :İrisin Etki Mekanizması	39
Şekil 12 :Termogenez ve adipozitlerin kahverengileşmesi ile ilişkili yolakların şematize edilmesi	40
Şekil 13 :Soğuk ve egzersiz ile irisin sekresyonunun uyarılması	40
Şekil 14 :PRDM16'nın KYD Üzerinde Etkisi	42
Şekil 15:BMP7 Etkisi	43
Şekil 16:Bej Yağ Doku Oluşumu	45

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 :Cushing Hastalığı Belirti ve Bulguları	15
Tablo 2 :Cushing Sendromu Etiyolojisi	18
Tablo 3:Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik Özellikleri	49
Tablo 4:Hasta ve Kontrol Grubunda Belirteçler.....	50
Tablo 5:Hasta grubunda nüks, remisyon, boyuta göre göre belirteçlerin korelasyonu	51
Tablo 6:Hasta grubunda preop acth, preop kortizol, gece kortizolü, idrar serbest kortizolü, tümör capına göre belirteç korelasyonu	52
Tablo 7:Hasta grubunda değişkenler ve belirteçler arasında korelasyonun anlamlılık derecesi	53
Tablo 8:Kontrol grubunda değişkenler ve belirteçler arasında korelasyonun anlamlılık derecesi ...	53
Tablo 9:Tüm gruplarda değişkenler ve belirteçler arasında korelasyonun anlamlılık derecesi	54
Tablo 10:Hasta grubunda VKİ, TG, HbA1c ye göre belirteç karşılaştırılması.....	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTH :	Adrenokortikotropin hormon
ADP :	Adenosin difosfat
AKŞ :	Açlık kan şekeri
AKYD :	Aktive Kahverengi Yağ Dokusu
ATF-2 :	Aktive edici transkripsiyon faktörü 2
ATP :	Adenin trifosfat
β-3AR :	Beta-3 adrenerjik reseptör
BMP7 :	Kemik morfogenetik protein 7 (Bone morphogenetic protein 7)
CH:	Cushing Hastalığı
CRH :	Kortikotropin releasing hormon
CS :	Cushing sendromu
DM :	Diyabetes mellitus
DST :	Deksametazon supresyon testi
EAS :	Ektopik ACTH sendromu
EDTA :	Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA:	Enzim linked immuno-sorbent assay
FDG:	Fludeoksiglukoz
FGF21:	Fibroblast Growth Factor 21
FIPA :	Ailesel izole hipofiz adenomları
FNDC5 :	Fibronectin type-III containing protein 5
GFR:	Glomerular Filtration Rate
GK :	Glukokortikoid
GnRH :	Gonadotropin salgılatıcı hormon
HT :	Hipertansiyon
HPLC :	Yüksek Performanslı sıvı kromatografisi
HRP :	Avidin-Horseradish Peroxidase
IPSS :	İnferior petrosal sinus örneklemesi

KHAK :	Küçük hücreli akciğer karsinomları
KYD :	Kahverengi yağ dokusu
LDL :	Düşük yoğunluklu lipoprotein (Low density lipoprotein)
MEN1 :	Multiple endokrin neoplazi tip 1
mRNA :	Mesajcı RNA
MSH :	Melanosit uyarıcı hormon (Melanocyte-stimulating hormone)
NAYKH:	Non-Alkolik yağlı karaciğer hastalığı
OD :	Optik yoğunluk
p38 MAPK :	P38 mitojen-aktive protein kinaz
PET:	Pozitron emisyon tomografisi
PGC-1 α :	Proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 α
PRDM16 :	Çinko parmak olan 16'yı içeren PR alanı
SST :	Somatostatin reseptör
TG:	Trigliserid
TGF-beta:	Transforming growth factor β
TNF- α :	Tumor necrosis factor alfa
TSS :	Transsfenoidal hipofiz cerrahisi
UCP 1 :	Uncoupling protein 1
UFC:	İdrar serbest kortizolü (urine free cortisol)
USP8 :	Ubikuitine özgü proteaz 8
VKİ :	Vücut kitle indeksi
VLDL :	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein (Very low density lipoprotein)
WAT:	Beyaz yağ dokusu (White adipose tissue)

1.AMAÇ VE KAPSAM

Cushing hastalığı (CH) aşırı adrenokortikotropin hormon (ACTH) üreten hipofiz adenomu nedeniyle, adrenal bezlerden suprafizyoloji düzeyde kortizol salgılanmasına neden olan nadir bir hastalıktır. İnsidansı milyon başına 1.2–2.4'tür ve prevalansı milyon nüfus başına ~40'tır. CH, ACTH bağımlı Cushing sendromu vakaların% 75-80'ini oluşturur. Kontrolsüz kortizol yüksekliği; mortaliteye neden olabilecek metabolik, kardiyovasküler, bilişsel ve psikolojik komplikasyonlar ile ilişkilidir(1).

Metabolik olarak aktif kahverengi yağ dokusunun (KYD) erişkin insanlarda var olduğu düşünülmektedir ve enerji dengesinde ve kilo kontrolünde etkilidir(2). İnsanlarda glukokortikoidlerin; kahverengi yağ dokusu aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir(3).

Beyaz, kahverengi ve bej olmak üzere üç çeşit yağ dokusu vardır. Beyaz yağ dokusu enerji depolanmasından, kahverengi yağ dokusu ise enerji harcanmasından sorumludur. Bej ise kahverengi kadar olmasa da termojenik etkisi olan bir yağ dokusudur. Beyaz (ve bej) adipoz doku, esas olarak cilt altında bulunmakla birlikte kalp, karaciğer, pankreas ve iskelet kasları gibi ektopik bölgelerde de bulunabilir. Ektopik yağ birikimi; düşük dereceli inflamasyona, insülin direncine ve metabolik komplikasyonlara neden olur. Kahverengi yağ dokusu ise servikal ve supraklaviküler bölgelerde birikir. Kahverengi yağ dokusunun iç membranları Uncoupling protein 1 (UCP 1) adı verilen, membranlar arası boşluktan mitokondrial matrikse proton pompalayan bir protein içerir(4). UCP 1 aktive edildiğinde eşleşmemiş bir protein olduğu için adenin trifosfat (ATP) sentezine sebep olmaz; ısı açığa çıkar(4).

Glukokortikoidler kahverengi preadiposit doku değişimine neden olurken, kahverengi adipositlerdeki UCP1 ekspresyonunu ve aktivitesini baskılar. Örneğin, farelere kortikosteron uygulaması, KYD'da lipit birikimini arttırırken, termojenik aktiviteyi ve UCP1 üretimini azaltır(5).

İrisinin insanlarda etkileri kahverengi yağ dokusunun farklılaşma aşamasına bağlıdır. İrisin, UCP1 ekspresyonunu artırarak, olgun adipositleri kahverengi benzeri adipositlere yeniden programlar(6).

BMP7 (Bone morphogenetic protein 7) ise, yüksek UCP-1 ekspresyonu olan tamamen farklılaşmış kahverengi adipositlerin gelişmesine yol açar(7). Çalışmalarda BMP7 olmayan örneklerde kahverengileşme sürecinin durduğu ve hemen hemen hiç UCP 1 aktivitesinin oluşmadığı gözlemlenmiştir(7).

PRDM16 (çinko parmak olan 16'yı içeren PR alanı), kahverengi yağ hücrelerinin farklılaşmasını güçlü bir şekilde düzenleyen bir transkripsiyonel ko-regülatördür(8). Özellikle, beyaz adipozit dokuda PRDM16'nın artan ifadesi kahverengi adiposit gelişimine neden olmaktadır ve metabolik hastalıkları baskılamaktadır(9). Tersine, adipositlerdeki PRDM16'nın azalması, farelerde, yüksek yağ diyetine maruz kalınması üzerine şiddetli metabolik hastalığa yol açan, farelerde bej adiposit işlevinin büyük bir kaybına neden olur(10).

Çalışmamızın amacı, kahverengi yağ doku belirteçleri olarak kabul edilen UCP1, İrisin, BMP 7, PDM16 düzeylerinin, metabolik komplikasyonlarla seyreden bir hastalık olan Cushing Hastalığı olgularında değerlendirilmesi ve kontrol grubu ile karşılaştırılmasıdır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Cushing Sendromu

Cushing sendromu, endojen ya da ekzojen kronik glukokortikoid fazlalığına maruziyet sonucu gelişen bir hastalıktır. Bu tablo hipofiz veya adrenal bez kaynaklı olabileceği gibi kortikosteroid içeren ilaç kullanımı ile de iyatrojenik olarak ortaya çıkabilir.

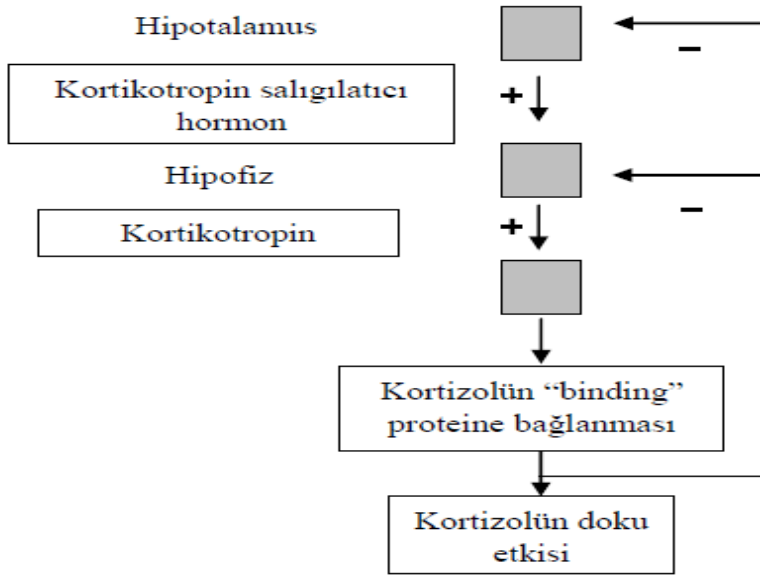
2.1.1.Cushing Sendromunun Seyri ve Epidemiyolojisi

Cushing sendromlu hastaların 50 yıl önce ortalama yaşam beklentisi 5 yıl olup, bu hastalarda ölümün majör nedenlerini miyokard enfarktüsü, serebrovasküler olaylar veya enfeksiyöz komplikasyonlar oluşturmaktaydı. Günümüzde yapılan tedaviler ile ökortizolemi sağlandıktan sonra 1-20 yıllık takipte hastaların kendi yaş grubu ile benzer yaşam süresine sahip olduğu gözlenmiştir. Ancak persistan orta düzeyde hiperkortizolemisi olan kişilerde standart mortalite oranı 3,8-5 kat artmaktadır (11). İnsidansı milyonda 1.2-2.4'tür. Kadınlarda erkeklere göre 3 kat daha fazla görülmektedir.

Tedavi edilmediğinde, Cushing sendromu, eşlik eden metabolik riskler nedeniyle mortalite ile sonuçlanabildiği için erken tanı ve tedavisi önem taşımaktadır(12). Cushing sendromu, her yaşta görülebilir ve başlangıcı sinsi olabilir. Kadınlarda daha sık görülmekle birlikte ektopik ACTH sendromunda kadın erkek oranı eşit görünmektedir. Kontrolsüz tip 2 diyabetes mellitus ve hipertansiyonu olan, beklenmedik yaşta osteoporoz tanısı alan ve hirsutizmi olan hastalar riskli olup bu grupların taranması önerilmektedir(12)

2.1.2.Hipotalamo-Hipofizer-Adrenal Aks ve Glukokortikoid Sentezi

Kortizol adrenal korteksten salgılanan en güçlü glukokortikoid hormondur. Glukokortikoid salınımı hipotalamus, hipofiz ve adrenal bezler arasındaki etkileşimler ile düzenlenir. Beyinden gelen uyarı ile hipotalamustan 'kortikotropin releasing hormon' (CRH) salınır. CRH'nin etkisi ile hipofizer kortikotrop hücrelerden adrenokortikotropik hormon (ACTH) diurnal ritimli olarak salgılanır. ACTH ise adrenal bezlerdeki zona fasikülata tabakasından kortizol salınımına sebep olmaktadır. Kortizolün ise ACTH ve CRH üzerinde baskılayıcı etkisi (negatif feedback etki) vardır(13)



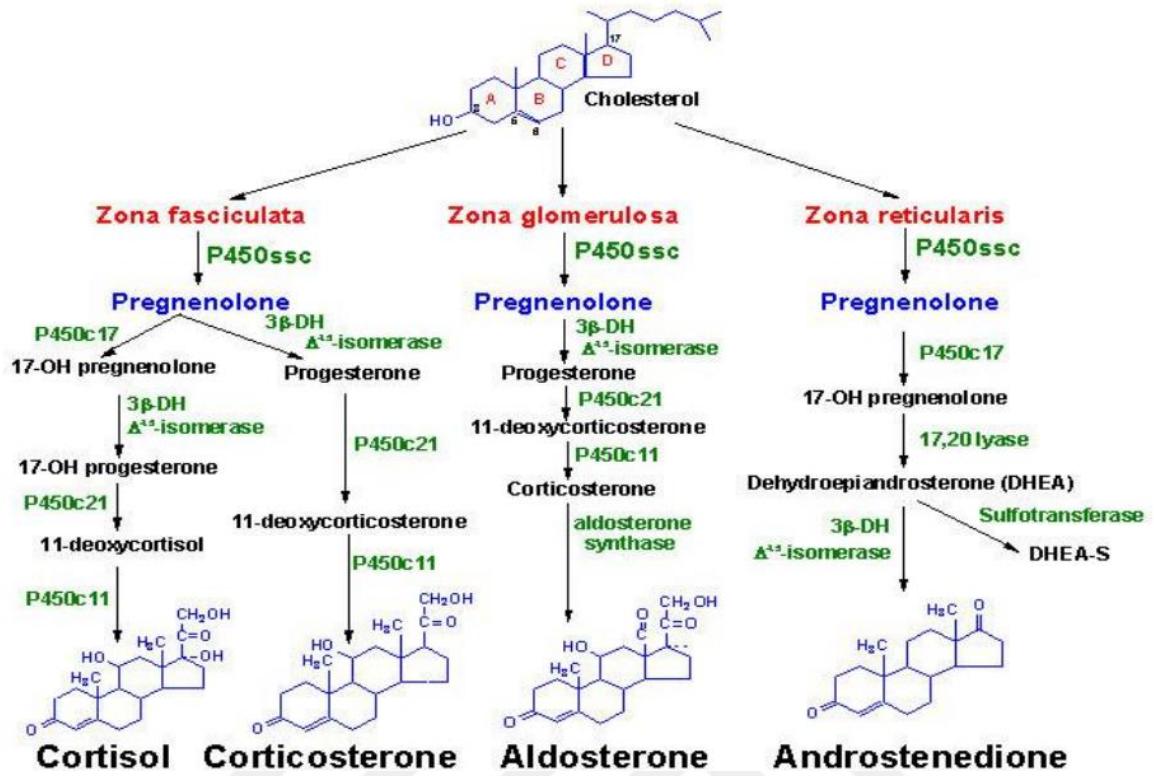
Şekil 1:Hipotalamo-Hipofizer -Adrenal Aksı (13)

ACTH'nın diurnal salınımı ile kanda kortizol seviyesi gece boyunca artar ve sabah en yüksek seviyelere ulaşır. Kortizol öğleden sonra sabaha göre daha düşük seviyelerde bulunur ve gece 23:00'da en düşük seviyesinde izlenir. Bu siklus hipotalamus, hipofiz ve adrenal bezlerin hastalıklarından etkilendiği gibi, uyku bozuklukları, fiziksel ve emosyonel stres, anksiyete, ağrı gibi pek çok faktörden etkilenebilmektedir. Hipotalamo-hipofizer-adrenal (HHA) aks olarak adlandırılan bu sistemde, amaç metabolik dengeyi sağlamak ve uygun nörohumoral yanıt oluşturmaktır.

2.1.3.Kortizol Etki Mekanizması ve Metabolizması

Glukokortikosteroidler 21 karbonlu steroid hormonlardır. Serbest kortizol, fizyolojik olarak aktiftir ve dokular üzerinde direkt etkiye sahiptir. Normal olarak plazmada dolaşan serbest kortizol, total kortizolün <math><5\%</math>'i kadardır. İnsanlardaki steroid hormonların hepsi kolesterolden sentezlenmektedir. Kolesterolün adrenal korteks içerisine alınması LDL (low density lipoprotein) reseptörleri ile olmaktadır. Serbest kolesterolden yan zincir kopması ve oksidasyonundan sonra pregnanolon oluşur ve bu dönüşüm ACTH tarafından uyarılır. Pregnanolon spesifik oksijenazlar ve dehidrogenazlar tarafından çeşitli

aktif hormonlara çevirilirler(13)



Şekil 2 :Adrenal Steroid Hormon Sentezi Yolakları(14)

Steroidin etkisiyle meydana gelen olaylar Cushing Hastalığının fizyolojisinden ve tipik bulgularından sorumludur. Ayrıca steroidlerin reseptörleri hipofizde, hipotalamusta ve hipokampusta feed-back mekanizmasının oluşmasını sağlar. Cushing sendromunda görülen hiperlipidemi ve hipertansiyon, glukoz intoleransı veya diyabet yağ, karaciğer ve kas dokusundaki reseptörler aracılığıyla oluşmaktadır(14)

2.1.4.Glukokortikoidlerin Fizyolojik Etkileri

Glukokortikoidler stres durumunda artar ve katabolik etkileri olur. Glukokortikoidler; metabolik, antiinflamatuvar, immunosupresif, surfaktan oluşumunu arttırıcı, eritropoetik sistemi uyarıcı ve osteoporotik etkilere sahiptirler.

Glukokortikoidlerin karbonhidrat metabolizması üzerine anti insüliner etkisi vardır. Glukoneogenez enzimlerini (fosfoenolpiruvat karboksilaz, fruktoz- 1,6- difosfataz, glukoz-6-fosfataz, transaminaz) aktifleştirirler. Hücre içine glukoz girişini azaltırlar, glikojen sentez'ı indükleyerek karaciğerde ve çizgili kaslarda glikojen sentezini ve depolanmasını

arttırlar. Glukokortikoidler kas dokusu içerisinde aminoasit girişini azaltarak protein sentezini azaltır ve protein yıkımını da arttırlar. Karaciğer hücrelerinde ise protein sentezini arttırlar(15)

Glukokortikoidlerin yağ doku metabolizması üzerine etkileri, birçok farklı mekanizmayla olmaktadır. Glukokortikoid etkisi ile artan lipoprotein lipaz aktivitesi ve buna bağlı trigliserid hidrolizi ile artan şilomikronlar, VLDL (Very low density lipoprotein), dolaşımdaki yağ miktarını artırır ve karaciğer, kas, santral adipositlerde ektopik yağ birikimini hızlandırır. Glukokortikoidler aynı zamanda yağ asit sentaz ekspresyonunu arttırarak, hepatositlerde de-novo lipid üretimini arttırmaktadır. Ayrıca olgun liposit gelişimini uyarır ve adipoz doku hiperplaziye uğrar. Glukokortikoidlerin adipositler üzerinde akut anti-lipolitik etkisi vardır, fakat lipoliz üzerindeki uzun dönem etkileri belirsizliğini korumaktadır(16). Kortizol düzeyinin çok yüksek miktarda olması durumunda periferik yağ dokularında lipoliz ve insulin salınımı artmaktadır(17). Glukokortikoidler, makrofajların aktivasyonunu engeller ve proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α (Tumor necrosis factor alfa) ve interlökin-1 sentezini inhibe ederler. Aktive olmuş T lenfositlerden interlökin-2 salınımını engelleyerek sitotoksik hücrelere dönüşümü azaltır ve kompleman sistemini inhibe ederler(18)

2.1.5.Cushing Sendromunda Belirti ve Bulgular

CS (Cushing sendromu)'nda klinik olarak; hipertansiyon, protein katabolizmasında artış, kan şekeri yüksekliği, kas güçsüzlüğü, osteoporoz, obezite, gonadal disfonksiyon, hirsutizm, cilt değişiklikleri, nöropsikiyatrik değişiklikler görülmektedir(19).

Periferik dokuların katabolik sürece cevabı; kas güçsüzlüğü, yorgunluk, halsizlik, olarak kendini gösterir. Hastaların %60'ında proksimal kas güçsüzlüğü özellikle alt ekstermitelerde görülür. Epidermisteki kollojen doku zayıflığına bağlı ciltte çabuk morarma, mor renkli stria oluşumu, yüzde pletore görülebilir. ACTH bağımlı CS'da ise MSH (melanocyte-stimulating hormone) reseptör aşırı uyarımı sonucunda dirsek, el, kıvrım bölgelerinde ve ağız mukozasında pigmentasyon artışı görülebilir.

Hiperkortizolemide azalmış kemik mineralizasyonu ile çocuklarda büyüme ve gelişme geriliği; erişkinlerde osteoporoz ve buna bağlı kemik kırıkları görülebilir(15).

Artmış hepatic glukoneogenez ve insulin direnci ile bozulmuş glukoz toleransı vardır. Hastaların < %20'sinde diyabet gelişir. Hipertansiyon da sıklıkla görülmektedir, dirençli hipertansiyona neden olabilir. Hipertansiyon ile birlikte tromboembolik olaylar da sıktır. Hepatik lipoprotein sentezi uyarılır ve kolesterol ve trigliserid seviyelerinde artış görülür. CS olan hastalarda hızlanmış ateroskleroz vardır(20).

Hiperkortizolizm, yağ dokusunda lipolizi artırır fakat gelişen insulin direnci nedeni ile atipik bölgelerde yağ birikimi görülmektedir. Buna bağlı olarak hastalarda tipik 'aydede yüzü', interskapular alanda birikime bağlı 'buffalo hörgücü', supraklavikular yağ birikimi ve mezenterik yatakta yağ birikimine bağlı 'abdominal obezite' görülmektedir.

Kadınlarda artmış androjen sentezine bağlı hirsutizm, oligomenore veya amenore görülebilir. Her iki cinsiyette de libido kaybı görülebilir. GnRH (Gonadotropin salgılatıcı hormon)'nun kortizol tarafından baskılanması nedeni ile hipogonadizm görülebilir. Çocuklarda erken veya geç puberte saptanabilir.

Ayrıca; CS'lu hastalarda yorgunluk, irritabilite, hafif huzursuzluktan ağır depresyona varan geniş bir skalada duygu durum değişiklikleri de görülmektedir. Bu bulgular hiperkortizolemi derecesi ile paralellik gösterir. Tedavi sonrası nöropsişik değişimler düzelebilir.

CS'de görülen belirti ve bulgular başka hastalıklarda ve durumlarda da görülebilir. Gebelik, depresyon ve diğer psikiyatrik bozukluklar, alkolizm, glukortikoid direnci, morbid obezite, kötü kontrollü diabetes mellitus gibi özel durumlarda CS olmaksızın kortizol yüksekliği ile birlikte klinik özellikler de görülebilir Tüm bu durumlarda ayırıcı tanı yapmak için tarama testleri kullanmak faydalı olacaktır.

Tablo 1 :Cushing Hastalığı Belirti ve Bulguları(15)

Belirti ve Bulgular	Hastalarda Görülme Yüzdesi
Tipik görünüm (Sentripedal obezite, yüzde	97
Artmış vücut kitle indeksi, kilo alımı	94
Halsizlik, yorgunluk	87
Hipertansiyon (Kan basıncı>150/90)	82
Hirsutizm	80
Amenore	77
Vücutta mor stria	67
Emosyonel değişiklikler	66
Ekimoz	65
Proksimal kas güçsüzlüğü	62
Ödem	62
Cilt bulguları (Çabuk morarma, akne)	35-40

2.1.6.Etyoloji

2.1.6.1.Ekzojen Cushing Sendromu

Cushing sendromunun en sık nedeni aşırı GK (glukokortikoid) kullanımınıdır. Ekzojen CS' de görülen semptomlar endojen CS'li hastalardaki semptomlara benzerdir. Farklı olarak, ekzojen CS daha hızlı gelişir ve belirtiler yüksek doz GK başlanmasından kısa bir süre sonra ortaya çıkar(21).

Ekzojen CS'yi dışlamak için iyi bir anamnez almak gereklidir. Kullanılan steroid oral, parenteral, inhaler, rektal, topikal yoldan uygulanmış olabilir. Hidrokortizon kullananlar dışında diğer GK'leri kullananlarda serum kortizol düzeyi ve plazma ACTH düzeyi baskılanmış olarak saptanır. Kortizol ölçümü ideal olarak, likit kromatografi

tandem kütle spektrofotometri (LC-MS/MS) yöntemi ile yapılmaktadır. Çünkü bu yöntemle diğer sentetik steroidler ile çapraz reaksiyon önlenmiş olur. Bu yöntem ekzojen olarak kullanılan diğer faktisiyöz GK'lerin belirlenmesine de imkân verir(22).

2.1.6.2.Endojen Cushing Sendromu

Endojen CS ise adrenal korteks tarafından üretilen GK'lere kronik ve aşırı miktarda maruz kalma sonucu gelişir(23). Endojen CS'li olguların %80'i ACTH bağımlı olgulardır. ACTH bağımlı grubun % 87'si Cushing Hastalığı, %12'si Ektopik ACTH sekresyonuna bağlı Cushing'den oluşur. Çok nadiren CRH salgılayan ektopik bir tümör veya ACTH kaynağı belirlenemeyen grup olarak sınıflandırılır. ACTH bağımsız grup ise tüm olguların %20'sini oluşturmaktadır. ACTH bağımlı Cushing Sendromunun sebebi %50 hastada adrenal adenom, %25 hastada adrenal karsinoma bağlıdır. Çok nadiren makronodüler adrenal hiperplazi, McCune-Albright sendromu ve primer pigmente nodüler adrenal hastalık görülür(23)(24).

Adrenal adenomların insidansı yaklaşık 0.6/milyon/yıl oranındadır. Kadınlarda daha sık görülmekle birlikte en sık 35 yaş civarında görülür. Adrenal kanser insidansı ise yaklaşık 0.2/milyon/yıl 'dır.

Cushing hastalığı multiple endokrin neoplazi tip 1 (MEN1) ve ailesel izole hipofiz adenomlarının (FIPA),%5'ini oluşturmaktadır. Bugüne kadar sadece 2 CH vakası, AIP geninde mutasyonlarla ilişkili olarak tanımlanmıştır. CH ile genetik ilişkinin bir örneği de, CDKN1B genindeki mutasyona bağlı MEN1 benzeri bir sendrom olan MEN4'ün bir parçası olarak bildirilmiştir(25). Ubikuitine özgü proteaz 8 (USP8) genindeki somatik mutasyonlar da CH'ye neden olan kortikotrof tümörlerde sık görülür(26).

ACTH bağımlı CS grubunda, kortikotrop adenomdan ACTH hipersekresyonu CH'ye neden olur. İlk olarak 1932'de Harvey Cushing tarafından tanımlanan CH, endojen CS'nin en sık nedenidir. Üçüncü ve dördüncü dekatta tanı alır ve kadınlarda erkeklerden sekiz kat daha fazla görülür(27).

HPA aksının normal kortizol geri bildirim mekanizmasının bozulması, sirkadiyen ritmin kaybı, aşırı kortizol üretimi ve hiperkortizolizm ile sonuçlanır. CH'de, HPA aks ve kortizol sirkadiyen ritminde bozulma, serum ve idrar kortizol düzeylerinde artış ile

karakterizedir. CH'ye neden olan hipofiz tümörü genellikle bir adenomdur, çok nadiren hipofiz karsinomu görülür. Hipofiz adenomu vakalarının %90'ından fazlasında mikroadenom, %10'undan daha azında makroadenom saptanır(28). Mikroadenomların maksimum çapı 1 cm'den daha azdır ve radyolojik olarak lokalize edilmesi zor olabilir. Hipofiz MR görüntüleme mikroadenomlu olguların %40 kadarı görülemez. Makroadenomlar ise hızlı büyümesi ve çevredeki yapılara invaze olması ile karakterize agresif davranış gösterebilirler(24). Makroadenomlu olgularda hiperkortizolizmin bulgu ve semptomlarına ek olarak, baş ağrısı, görsel semptomlar ve hipofizin normal fonksiyonunun bozukluğunu içeren çevre yapılar üzerindeki mekanik etkinin belirtileri de görülür.

Hipofiz dışı bir tümörden ektojik ACTH salınımı CS'li olguların yaklaşık %10'unu oluşturur(29). Ektojik ACTH sendromu (EAS), ile ilişkili en sık görülen tümörler; küçük hücreli akciğer karsinomları (KHAK), bronşiyal karsinoidler, timik karsinoidler, pankreatik nöroendokrin tümörler, medüller tiroid karsinomları ve feokromositomalar dahil olmak üzere nöroendokrin tümörlerdir.

Tablo 2 :Cushing Sendromu Etiyolojisi

CUSHİNG SENDROMU ETİYOLOJİ	Prevalans
ACTH Bağımlı Cushing Sendromu	80%
Cushing Hastalığı	70%
Ektojik ACTH sendromu	10%
Ektojik CRH sekresyonu	<%1
Kortikotropik karsinom	Nadiren
Ektojik CRH/ACTH sekresyonu	Nadiren
ACTH Bağımsız Cushing Sendromu	20%
Adrenal Adenom	10%
Adrenal Karsinom	5%
Primer makronodüler adrenal hiperplazi	<%2
Primer pigmente nodüler adrenokortikal hastalık	<%2
Mc-Cune Albright	Nadiren
Ektojik Kortizol Salınımı	Nadiren
Kortizol Aşırı Duyarlılığı	Nadiren

2.1.7.Cushing Sendromu Tanısı

Cushing sendromunun olası varlığı hastalığın belirti ve bulguları ile tahmin edilmektedir. Fakat, bu bulguların hiçbirisi (örneğin, obezite, hipertansiyon, adet düzensizliği, ve glukoz intoleransı) hastalık için tanı koydurucu ve spesifik değildir. Bunun sonucu olarak, hastalığın tanısı biyokimyasal testler ile doğrulanmalıdır. Biyokimyasal testler yapılmadan önce hastalarda mutlaka ekzojen steroid kullanım durumu aydınlatılmalıdır.

Hastalığın taranması sırasında idrar kortizol düzeyi, gece tükürük kortizolü, kortizol sirkadiyan ritmi ve düşük doz deksametazon supresyon testi (DST) kullanılmaktadır(11).

Kortizol ölçümü önerilen her test (idrara, serum, tükürük) tarama testleri için son basamaktır.

Sendroma özgü tipik özelliklerin arandığı dikkatli bir öykü ve kapsamlı bir fizik muayene ile araştırma başlamalıdır. CS tanısının klinik olarak şüphelenildiği ancak ilk tarama testlerinin normal olduğu durumlarda, hasta daha sonraki bir tarihte tekrar değerlendirilmeli ve invaziv işlemler ertelenmelidir(23). Kolay morarma pletore, proksimal miyopati, stria gibi CS için önemli belirleyici bulguları olanlar, yaşla uyumsuz klinik özellikleri olan bireyler (HT, osteoporoz gibi), adrenal insidentaloma tespit edilenler ve kilo artışıyla birlikte büyüme hızında yavaşlama olan çocuklarda tarama yapılmalıdır(11).

2.1.7.1.Tarama Testleri

2.1.7.1.1.İdrar Serbest Kortizolü

Normal şartlarda plazma kortizolünün %10'u serbest kortizol olarak plazmada bulunur. Kortizol böbreklerden filtre olur, büyük bir kısmı reabsorbe olurken bir kısmı idrar ile atılır. 24 saatlik idrar serbest kortizolü ölçümü en iyi tarama testidir(30). Tarama testi olarak idrar serbest kortizolü kullanılacak ise en az 2 kez ölçüm gereklidir. Kullanılan ölçüm yöntemine (ELISA, RIA, HPLC) bağlı olarak idrar serbest kortizolü için belirlenen normal sınırlar farklılık gösterebilir. HPLC ile ölçüm yapmak altın standarttır(11). İdrar serbest kortizolü ölçüm yapılan yöntem için belirlenen aralıkta ise normal olarak

değerlendirilir. İdrar serbest kortizolü normalin üst sınırının 2-3 katı olması patolojik olarak kabul edilir(30). Orta-ciddi böbrek bozukluğunda idrar serbest kortizol değeri düşük bulunur. Kreatinin klirensi 60ml/dk'nın altında ise yanlış negatif idrar serbest kortizolü görülebilir. Bu nedenle kreatinin klirensi bozulmuş olan hastalarda 1 mg DST yapılması daha uygundur.

2.1.7.1.2.Tükrük kortizolü

Tükrük kortizol değeri plazma kortizolü ile korele olan bir testir. Normalde gece yarısı tükrük kortizol düzeyleri <4 nmol/lt'dir. CS tanısı koymada testin sensitivitesi%92-100; spesifitesi %93-100'dür(31). Bu testin Türkiye'de sınırlı kullanımı olması en önemli dezavantajdır. Sıklık CS düşünülen hastalarda tükrük kortizolü ve 24 saatlik idrar kortizolü bakılması daha uygun olacaktır(30).

2.1.7.1.3.Diurnal salınım

Kortizol salınımı, ACTH'nın diurnal salınımına paralel olarak sabah en yüksek, gece yarısı en düşük düzeydedir (32). Gece serum kortizolünün düşmesi CS'da görülmez ve bu durum gece yarısı serum kortizolü ölçümü testinin temelini oluşturur. Sirkadiyan ritm taranırken bakılan gece yarısı kortizolü (23.00-24.00) uykuda 1,8 µg/dl, uyanık iken kortizol değeri >7,5 µg/dl olarak kabul edilir. Bu testin sensitivitesi %100, spesifitesi % 85 olarak kabul edilir(11)(30).

2.1.7.1.4.Düşük Doz DST

Düşük doz DST yapılırken, gece 23 veya 24:00 de 1 mg Deksmetazon " 2x0.5 mg tb" verilip, sabah 08.00-09.00'da kortizol değeri ölçülür. Kortizol < 1,8 µg/dl ise normal kabul edilir. İlaç kullanımı, stres, uykusuzluk, alkol kullanımı, depresyon durumlarında 1 mg DST yanlış pozitif sonuç verme ihtimali yüksektir. Eğer baskılanma için <3.6 mg/dl kabul edilirse yanlış pozitiflik oranı %12-15'e, >7.2 mcg/dl kullanılırsa bu oran %7 oranına gerilemektedir(33). Bu sebeple oral kontraseptifler ve Deksmetazon metabolizmasını hızlandıran fenitoin, rifampisin gibi ilaçlar testten en az 6 hafta önce kesilmelidir(30). Bu testin sensitivitesi % 100, spesifitesi % 85'dir. Bu tarama testleri birinci basamak testler olup sonrasında kesin tanı testi yapılması gerekir.

2.1.7.2.Kesin Tanı Testleri

Birinci basamak tarama testlerinden sonra hastalarda kesin tanı testleri için ikinci basamak testler yapılmalıdır. Kesin tanı için gece yarısı serum kortizol düzeyi bakılması, düşük doz 2 gün 2 mg DST veya 2gün 2 mg DST+CRH uyarı testi yapılır. Düşük doz 2 mg DST'de sabah 09:00'dan itibaren 6 saatte bir 0.5 mg deksametazon/ 2 gün verilir; 3.gün saat 08-09:00'da ölçülen kortizol < 5 µg/dl (RIA) veya < 1,8 µg/dl (HPLC) ise normal olarak kabul edilir(11).

Deksametazon+CRH uyarı testi, CS ile psödo Cushing sendromu ayırıcı tanısında kullanılır. Test ilk gün saat 12:00'da başlatılır, 6 saatte bir 0.5 mg deksametazon 2 gün boyunca verilir; son dozdan 2 saat sonra 1 µg/kg CRH verilir. CRH verilmesinden 15 dk sonra bakılan plazma kortizol değeri >1,4 µg/dl ise CS vardır denilir ve psödo CS'dan ayırım yapılır(11)(30).

2.1.7.3.Ayırıcı Tanı Testleri

CS tanısı alan hastalarda etiyolojiyi belirlemek için ayırıcı tanı yapılmalıdır, bu nedenle ACTH düzeyleri ölçülür. İki farklı zamanda yapılan ölçümlerde ACTH > 15-20 pg/ml ise ACTH bağımlı , <10 pg/ml ise ACTH bağımsızCS düşünülür(30). Klinik uyumsuzluk halinde ACTH interferansı akla getirilmelidir.

Ölçülen plazma ACTH düzeyleri 10 pg/ml'den yüksek ise ACTH kaynağı araştırılmalıdır. Hipofizer Cushing hastalığında ACTH artar, kortizol düşük doz DST ile baskılanmaz, fakat yüksek doz DST'de baskılanma olur. Ektopik hastalıkta ise yüksek doz DST ile kortizol düzeyleri baskılanmaz. Bu test için 4x2 mg/gün deksametazon 48 saat boyunca verilir ve test bitiminde plazma kortizol düzeyleri ölçülür. Kortizol düzeyinde %50' den fazla baskılanma pozitif kabul edilir ve hipofizer Cushing hastalığı için anlamlıdır. Bu test için idrar kortizol düzeyleri baz alınacaksa %90 baskılanma pozitif kabul edilirse testin sensitivitesi hipofizer CS için %100'e ulaşır(30).

Hipofizer Cushing hastalığının, ektopik ACTH salgılayan kaynaklardan ayırmak için kullanılan en önemli test inferior petrosal sinus örnekleme (IPSS) dir. IPSS testi yapılırken eş zamanlı CRH uyarısı yapılmalıdır. 100 µg insan kaynaklı CRH verilir. Eş zamanlı olarak inferior petrosal sinus ve periferden 3, 5 ve 10 dk sonra kan örnekleri

alınarak ACTH ölçülür. Santral/periferik ACTH plazma oranının bazalde >2 , CRH sonrası >3 olması hipofizer Cushing hastalığı lehinedir. Ektopik ACTH salgınımında santral/periferik ACTH oranı bazalde >2 , CRH sonrası >3 olması hipofizer Cushing Hastalığı lehinedir. Ektopik ACTH salgınımında santral/periferik ACTH oranı bazalde <2 , CRH sonrası <3 olarak bulunur. Bu test aynı zamanda görüntüleme yöntemi ile saptanmış hipofizer adenomun lateralizasyonunun yapılması için de kullanılır(11)(30). Sağ ve sol petrosal sinusten alınan örneklerin periferik venöz örnekler ile oranlaması yapılır ve oranın 1,4'den fazla olması durumunda lateralizasyon yapılabilir(34). Fakat bazı adenomların santral yerleşimli olabileceği unutulmamalıdır. Bu yöntemin pahalı olması, derin ven trombozu ve pulmoner emboli gibi komplikasyonlarının olması nedeni ile kullanımı seçilmiş vakalarda uygulanmalı ve deneyimli merkezlerde yapılmalıdır.

ACTH bağımlı CS olan hastalarda kontrastlı sella MRG çekilmelidir. Adenomlar normal hipofiz bezi ile karşılaştırıldığında tipik olarak, kontrast sonrası T1 görüntülemede hipointens, T2 görüntülemede hiperintensdir. MRG, hipofiz ACTH mikroadenomu varlığına rağmen CH olan vakaların %40'ında negatif olabilir, bu nedenle tanı koymak için ek yöntemler gerekebilir (28). Ektopik ACTH üreten küçük kitleleri tanımlamak için BT ve MRG'ye ek olarak, somatostatin reseptör sintigrafisi, Ga68 veya FDG PET gibi görüntüleme teknikleri de kullanılabilir.

2.1.8. Tedavi

CH'nin primer tedavi şekli transsfenoidal hipofiz cerrahisi (TSS)'dir. Tekrarlayan CH'si olan vakalarda, TSS tekrarı, geçici olarak medikal tedavi, bilateral adrenaektomi, hipofizer radyoterapi gibi tedaviler uygulanır. İlk hipofiz cerrahisi sonrası başarısızlık ya da remisyon sonrası nüks durumunda, bu ikinci seçenek tedaviler hastanın uygunluğuna göre tercih edilir(35).

2.1.8.1.Cerrahi Tedavi

Mikroskobik ve endoskopik teknikler direkt olarak karşılaştırılmasada özellikle mikroadenomlar için cerrahi sonuçları benzerdir. Cerrahi başarı oranlarına bakıldığında, makroadenomlu hastalarda ve durayı işgal eden tümörlü olgularda daha düşüktür (35). Deneyimli bir hipofiz cerrahisi tarafından yapılan hipofiz cerrahisi genel olarak hastaların

%70-90'ında remisyon ile sonuçlanır ve bu oran tümör boyutuna, çevredeki bölgelere invazyon derecesine bağlıdır. Adenom çapına göre değerlendirilecek olursa, remisyon oranları noninvazif mikroadenomlu hastalarda %70-90, invaziv makroadenomlu hastalarda yaklaşık %25–50 oranında bildirilmiştir (36). Çalışmalar postoperatif sabah serum kortizol düzeylerinin 2 µg/dl (yaklaşık 50 nmol/L)'den az olmasının remisyonla ve 10 yılda %10 gibi düşük oranda nüks ile ilişkili olduğunu göstermektedir. ACTH adenomunun cerrahi rezeksiyonunu takiben ilk birkaç gün boyunca, her 6 saatte bir kortizol seviyeleri, optimal kortizol seviyesine ulaşılan kadar ölçülür. Bu sırada, hastada baş ağrısı, bulantı, kusma, yorgunluk gibi kortizol yoksunluğunu düşündüren klinik semptomlar ortaya çıkarsa replasman tedavisi başlanabilir(35).

2.1.8.2.Radyoterapi

Hastalığın devam etmesi veya nüks etmesi durumunda radyoterapi kullanılabilir. Bu modalite, özellikle cerrahi olarak erişilebilir olmayan kavernoöz sinüs hastalığı olan tümörler için yararlıdır(36).

2.1.8.3.Bilateral Adrenalektomi

Bilateral adrenalektomi, cerrahi, medikal tedavi ve radyoterapi seçeneklerinden sonra refrakter CH olan hastalar için son seçenek olarak kullanılmaktadır. Adrenalektomi, transsfenoidal cerrahi veya radyasyon tedavisinden genellikle daha morbid bir işlem olup Nelson Sendromu riskini taşır ve kalıcı bir hipoadrenalizm tablosu geliştiğinden yaşam boyu GK ve Mineralokortikoid replasman tedavisi gerektirir(35).

2.1.8.4.Medikal Tedavi

Bahsedilen yaklaşımlardan her birinin, kalıcı hormon eksikliği veya mortaliteye yol açabilecek önemli dezavantajları vardır. Bu nedenle, hiperkortizolizmin altta yatan nedenine yönelik yeni tedavilerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Cerrahi yapılamayan ya da deneyimli cerrah tarafından yapılan ilk ameliyattan sonra remisyona girmeyen CS'li hastalarda medikal tedavi için çeşitli seçenekler bulunmaktadır. Cerrahinin başarısız olduğu durumlarda ya da kliniği ağır olan hastalarda cerrahi öncesi morbiditeyi

azaltmak için medikal tedavi kullanılabilir, aşırı kortizol üretimini geçici olarak baskılayabilir ve daha kesin sonuç verecek başka bir tedavi etkili olana kadar klinik belirtilerini iyileştirebilir. Kortizol sekresyonunu baskılamak için kullanılan ilaçlar çoğunlukla steroidogenez inhibitörleridir. ACTH sekresyonunu azaltmaya yönelik ilaçlar standart tedavi olarak daha az kullanılmaktadır. Üçüncü bir ilaç kategorisi, GK reseptör antagonistleridir(37).

2.1.8.4.1.Steroidogenez İnhibitörleri

Metirapon ve ketokonazol gibi steroidogenez inhibitörleri ile adrenale yönelik tedaviler, adrenal bez tarafından kortizol salgılanmasını doğrudan engellemek için kullanılır. Altta yatan nedeni tedavi etmezler. Bu yüzden palyatif tedavilerdir(24). Steroidogenez inhibitörleri ile ilgili çoğu deneyim, aminoglutetimidden daha etkili ve daha iyi tolere edilen metirapon ve ketokonazol ile edinilmiştir(35). Metirapon, sürrenalde 11-deoksikortizolden kortizol üretimini bloke ederek 11 β -hidroksilaz enzimini inhibe eder. Artmış 11- deoksikortikosteron seviyeleri nedeniyle ortaya çıkan hipokalemi, ödem ve HT gibi yan etkiler nadir de olsa görülebilir (38). Ketokonazol, oral antifungal ajan olarak geliştirilen bir imidazol türevidir. C17–20 liyaz ve 11 β -hidroksilaz üzerindeki inhibitör etkisi ile sırasıyla seks steroidleri ve kortizol üretimini etkiler. Ayrıca 17-hidroksilaz ve 18-hidroksilaz aktivitelerini de inhibe eder(23).

Mitotan, 11 α -hidroksilaz, 18-hidroksilaz, 3 α -hidroksilaz, hidroksisteroid dehidrogenaz ve çeşitli kolesterol yan zincir yarıma enzimlerini inhibe eder. Metaboliti, adrenal kortikal hücre mitokondrilerindeki makromolekülleri bağlar ve bunların yıkımına ve hücre sel nekroza neden olur. Bu nedenle asıl kullanım alanı, adrenokortikal karsinomlu hastalardır.

2.1.8.4.2.ACTH Salgısını Azaltan İlaçlar

Kortikotrof adenomlar, somatostatin reseptör (SST) tip 5 ekspresyonu baskın olmasına rağmen, somatostatin reseptör alt tipleri olan SST1, SST2'yi de SST5 ile birlikte eksprese ederler. Bu nedenle, moleküler çalışmalar, kortikotrof adenom tedavisi için somatostatin reseptör ligandlarının kullanımını desteklemektedir. Pasireotide, SST1,2,3 ve

özellikle SST5 için yüksek afiniteye sahip çoklu reseptör ligand somatostatin analogudur. CH olan hastalarda tümöre yönelik medikal tedavi olarak umut vermektedir(39).

Çalışmalarda, CH vakalarında pasireotidin yüksek kortizol seviyelerini önemli ölçüde azalttığı ve 6.ayda hastaların %88'inde UFC'de bir miktar azalma olduğu gösterilmiştir (40). Diğer somatostatin analogları olan oktreotid ve lanreotid baskın olarak SST2 üzerinden etkilidir ve CH'nin tedavisinde çoğunlukla etkisizdir (23)

Dopamin reseptör (D)'leri, CH'de kortikotrof adenomlarda (özellikle D2reseptörü) eksprese edilir. Dopamin agonistlerinin (bromokriptin ve kabergolin), CH tedavisinde ACTH salınımını azaltarak etki gösterir fakat sınırlı etkinliğe sahiptir (41). Ayrıca hastaların %20'sinde tümör küçülmesini indüklediği bildirilmiştir (28).

Yapılan başka bir çalışmada ise pasireotide ve kabergolin ile kombinasyon tedavisinin, tek başına her iki ajandan daha büyük bir inhibitör etki sağlayabileceği gösterilmiştir (42).

2.1.8.4.3.Glukokortikoid Reseptör Antagonisti

Mifepriston (RU 486) geliştirilmiş ilk GK reseptör antagonistidir. Bu özellikte insanlarda kullanılan tek ilaçtır. Mifepristone, hiperkortizolizm klinik belirtilerini kontrol etmede oldukça etkilidir. Bir çalışmada bu ilacın kullanımı ile Cushing Sendromlu olgularda, hipertansiyonda %40, diyabetes mellitusta %60 düzelme görülmüştür (30) Yan etkiler, adrenal yetmezlik ve antiprogesterin etkinin sonucu olarak uzun süreli tedavide endometrial hiperplaziyi içerir. Uzun süreli mifepriston uygulaması, düşük serum potasyum seviyeleri, serum kreatinin düzeylerinde hafif bir artış veya hepatik enzimlerin orta derecede yükselmesi ile ilişkili bulunmuştur (43).

2.1.8.4.4.Diğer ajanlar

Temozolamid

Temozolomid, oral alkilleyici bir kemoterapötik ajandır. Bu kemoterapi ajanının, son çalışmalarda, kortikotrof hipofiz karsinomları dahil olmak üzere seçilmiş agresif hipofiz tümörlerinde de yararlı olabileceği gösterilmiştir(44).

Retinoik asit

Deneysel olarak oluşturulan CS' de, ACTH sekresyonunu ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Bununla birlikte, insandaki klinik deneyler sınırlıdır (45).

2.1.9.Prognoz

Tedavisiz hastalarda mortalitenin ana nedenleri felç, miyokard enfarktüsü gibi makrovasküler hastalıklar, kontrol edilemeyen DM ve enfeksiyonlardır (46). Tahminen 5 yıllık sağkalım, tedavi edilmeyen hastalarda %50 oranındadır. Remisyon ameliyat, radyoterapi ve bazen de medikal tedavi ile sağlanabilir. Son veriler, CS'nin olumsuz metabolik sonuçlarının başarılı tedaviden sonra bile yıllarca devam ettiğini göstermektedir. Uzun süreli remisyonunda bile yaşam kalitesinin ve bilişsel işlevlerin bozulduğunu göstermiştir. Bu nedenle, hedef, sadece tanısal çalışma ve postoperatif erken yönetim değil, aynı zamanda uzun süreli takipte olmalıdır. Ayrıca persistan vakaların remisyondakilerden daha kötü prognoza sahip olması nedeniyle remisyonun başarılması temel öneme sahiptir (47).

2.2.Adipoz Doku

Yağ dokusunda değişik işlevleri olan üç değişik adiposit tipi bulunmaktadır: beyaz, bej ve kahverengi adipositler bulunmaktadır. Beyaz adipositler fazla enerjiyi depolama ve gerektiğinde diğer dokulara hızlı bir şekilde enerji sağlamakla sorumlu iken; kahverengi ve bej adipositler ısı üretiminden sorumludur (48). İlk kez interskapular alanda saptanan kahverengi yağ dokusu, 19. yüzyılın başlarına kadar timusun bir parçası olarak kabul edilmekte iken daha sonra ayrı bir organ olduğu anlaşılmış ve yağ dokusunun farklı bir formu olan endokrin bir organ olarak kabul edilmiştir. Yağ dokusunun ısı üretme (termogenez) özelliği ilk kez 20. yüzyılın ortasında keşfedilmiştir. Bu ısı üretimi iskelet kası kasılması gerektirmeden oluşması nedeniyle "titreme olmaksızın termogenez" ("Nonshivering thermogenesis") olarak adlandırılmaktadır (49)

Kahverengi yağ dokusunda, beyaz yağ dokusuna göre daha çok sinir ucu ve kan damarı bulunur. Olgun kahverengi adipositlerin sitoplazmalarında çok sayıda geniş mitokondriler vardır ve bu nedenle yüksek metabolik aktivite gösterirler. Bir adet büyük yağ damlacığı içeren (uniloküler) beyaz adipositlerin aksine; değişen sayıda yağ damlacığı içeren (multiloküler) hücrelerdir. Genelde hücre çapları, beyaz adipositlere göre daha küçüktür (50).

	WAT	PVAT	BAT
<i>Lipid content</i>	Very high, single droplet	High, multiple lipid droplets	High, multiple lipid droplets
<i>Mitochondrial content</i>	Low	High	Very high
<i>UCP1 expression</i>	Very low	Dependent on tissue localization	High
<i>Vascularization</i>	Adequate, compromised in obesity	In direct contact with adventitia of blood vessels	Highly perfused
<i>Function</i>	Storage of lipids, endocrine function	Thermogenesis, regulation of vascular tone	Thermogenesis
<i>Location</i>	Subcutaneous or intra-abdominal	Around blood vessels	Mainly inter- and subscapular
<i>Response to HFD</i>	Hypertrophy, hyperplasia, inflammation (depot dependent)	Some hypertrophy in thoracic PVAT, Hypertrophy, whitening and inflammation in abdominal PVAT	Some hypertrophy

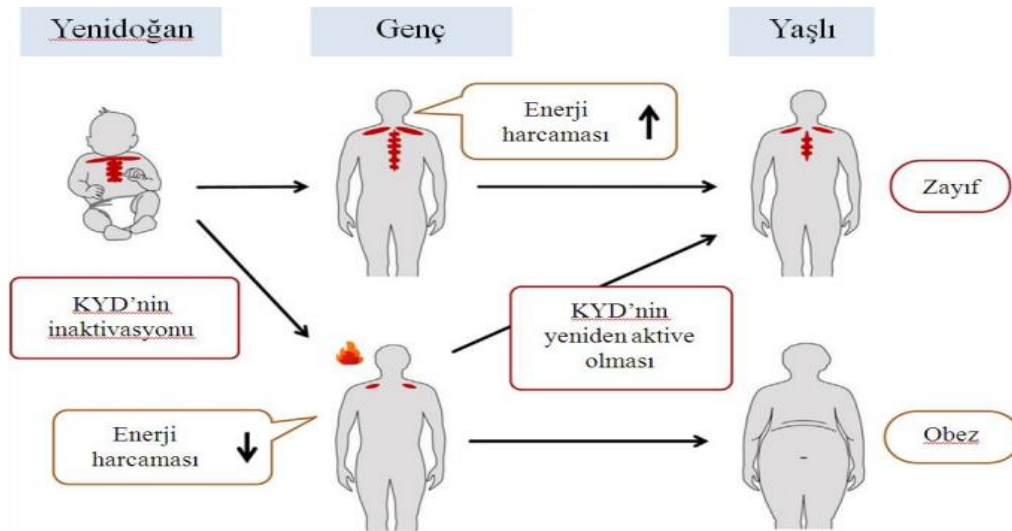
Şekil 3 :Adipoz Doku Çeşitleri(51).

2.2.1.Beyaz Yağ Dokusu

Beyaz yağ dokusu enerji depolanmasından sorumludur. Olgun beyaz adipositler trigliserid sentezi, hücre içine glukoz alımı, lipogenez ve lipolizden sorumludur. Bedenin gereksiniminden fazla enerji alımı olduğunda ya da yeterli enerji harcaması gerçekleşmediğinde fazla enerji trigliserid olarak beyaz yağ dokusunda depolanır. Enerji açığı durumunda ise; lipoliz ile beyaz yağ dokusundan dolaşıma serbest yağ asidi ve gliserol salınımı gerçekleşir ve bu moleküllerin dokularda okside edilmesi ile enerji elde edilir. Daha sonra kullanılmak üzere depolanan kolesterolün ve retinolun sentezi, seks steroidleri gibi steroid hormonların inaktif ya da aktif şekle geçişi de beyaz yağ dokusu hücrelerinde gerçekleşir.

2.2.2.Kahverengi Yağ Dokusu

Kahverengi yağ dokusu temel görevi enerji harcanmasını ve termogenezi sağlamak olan özelleşmiş bir dokudur.1990'lı yıllarda, onkoloji hastaları için FDG PET taramaları kullanan hastanelerin sayısındaki artış ile birlikte; özellikle servikal bölgede görülen simetrik FDG tutulumu gösteren alanlar; propranolol, diazepam gibi ilaçlarla baskılanabilen kas kökenli patolojiler lehine yorumlandı (52). 2002 yılında Hany ve arkadaşları hibrid PET/BT'lerin gelişmesi ile FDG tutulumlarının izlendiği bu alanların BT kesitlerindeki atenüasyon katsayılarının (HU) yağ dansitesi ile uyumlu değerler göstermesi nedeni ile bu alanların KYD'ye ait olabileceği varsayımını başlattı (53). FDG tutulumu gösteren ve AKYD(Aktive Kahverengi Yağ Dokusu) ile uyumlu olarak değerlendirilen alanlardan biyopsiler alınarak bu alanlarda KYD genleri olduğu tespit edildi. Literatürde; AKYD saptanma oranının; VKİ, yaş, dış sıcaklık değerleri, kafein, beta blokör kullanımı ve vücut yağ oranı ile negatif ilişki gösterdiği raporlanmıştır(54)(55). Yetişkinlerde aktive KYD ile yaş arasındaki kuvvetli negatif ilişki gerek retrospektif gerekse prospektif çalışmalarda da gösterilmiştir. Bu durum; yaşla beraber vücudun seks hormonlarındaki ve toplam yağ miktarındaki azalma ile açıklanmıştır (56). Pediatrik olgularda KYD saptanma insidansı ise yenidoğanlarda (2 yıla kadar) ve puberte döneminde%31-77 arasında olup erişkinlere göre daha yüksek seviyelerdedir(57).



Şekil 4:KYD aktivitesi

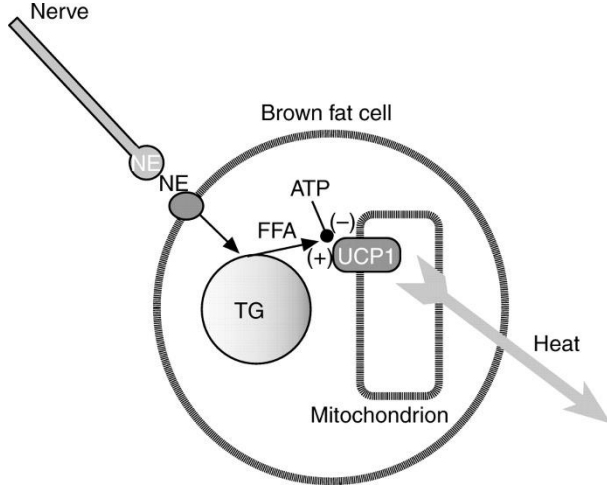
2.2.2.1.KYD'nin dağılımı

Bugüne kadar bildirilen çalışmalara göre, yetişkinlerde AKYD: supraklaviküler(en yüksek insidans), servikal, aksiller, akromiyoklaviküler, mediastinal (paratrakeal, paraözofajial, prevasküler, perikardial, interatriyal septumve azygoözofajial reses), interkostal alanlarda ve batında; retrokrural, periadrenal, perirenal, mezenterik, omental, perihepatik alanlarda izlenmiştir(58)(59). Beden yüzey alanının beden hacmine oranının fazla olması ve iskelet kası miktarının yetersiz olması nedeniyle hipotermi riski ile karşı karşıya olan yenidoğanlarda Kahverengi yağ dokusu özellikle ana kan damarları ve hayati organların etrafında (boyun, interskapular, supraklaviküler, aksiller, suprarenal bölgeler) bulunmaktadır. Soğuğa maruziyette, Kahverengi yağ dokusu çevrelediği damarlardaki kanı periferik damarlara dolaşıma geçmeden önce ısıtarak yenidoğanlarda beden ısısının sabit kalmasını sağlamaktadır(50). Önceki yıllarda insanlarda yapılmış postmortem histolojik çalışmalardan Kahverengi yağ dokusunun beşinci gestasyon haftasında oluştuğu, doğum zamanında tepe yaptığı ancak, yaşamın ilk yıllarında gerileyerek erişkin dönemde kaybolduğu bildirilmekteydi. Yapılan son çalışmalarla, hem çocuklarda hem de erişkinlerde işlevsel Kahverengi yağ dokusu varlığı Pozitron Emisyon Tomografisi/Bilgisayarlı Tomografi (PET/BT) kullanılarak glukoz analogu Flor 18-Florodeoksiglukoz (F18-FDG) tutulumu ile gösterilmiştir(54). Çocuklarda işlevsel Kahverengi yağ dokusu varlığı ilk kez onkoloji hastalarının rutin izlemi kapsamında kullanılan PET/BT incelemeleri ile gösterilmiştir. İşlevsel Kahverengi yağ dokusu süt çocukluğu döneminden sonra da var olmaya devam etmekte ve özellikle boyun, supraklaviküler, paravertebral ve suprarenal bölgelerde yerleşmektedir (60). İşlevsel Kahverengi yağ dokusu miktarının ergenlik döneminde arttığı, yaşamın sonraki döneminde azaldığı gösterilmiştir (61).

2.2.2.2.KYD Fonksiyonu

KYD'nin ısı üretimi; kahverengi yağ hücrelerindeki iç mitokondriyal zarda, mitokondriyal lümenine proton akışını sağlayan bir proton kanalı olan KYD spesifik 'uncoupling protein 1'(UCP1) ekspresyonu ile olur. Mitokondriyal solunum zinciri, iç mitokondriyal membran genelinde ATP üretimi için bir proton gradiyenti oluşturmaktadır. Ancak KYD'ye spesifik olan UCP1 proteini iç zardan proton kaçışına sebep olup adenosin difosfatın (ADP) solunum zinciri sonrası oluşan fosforilasyonu ile

ATP oluşturmasını önleyerek ısı üretimini sağlar (62). Bu işlem β 3-adrenerjik reseptörlerin sempatik stimölasyonu (β 3-AR) ile kontrol edilse de aynı zamanda yağ asitleri ve tiroid hormonları da gerekli düzenlemeler için önemlirle sahiptir(63).



şekil 5 :KYD Fonksiyonu(64)

Kahverengi yağ dokunun; çokça mitokondri barındırması ve UCP-1 eksprese etmesi nedeniyle ısı üretimi ve lipit oksidasyon kapasitesi yüksektir

Çevresel soğuk maruziyeti KYD hücrelerinde; sempatik adrenerjik uyarımın noradrenerjik reseptörler üzerinden yarattığı etki ile mitokondri sayısının ve UCP1 sentezinin artışına neden olur. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar KYD'nin gösterdiği FDG tutulumunun, UCP1 ekspresyonu ve soğuğa bağlı enerji harcanmasındaki artış ile doğru orantılı olduğunu göstermiştir(65). Bu nedenle FDG vivo şartlarda AKYD saptanabilmesi için non-invaziv bir belirteç olarak kullanılabilir.

2.2.2.3.Beyaz Yağ Dokunun Kahverengileşmesi

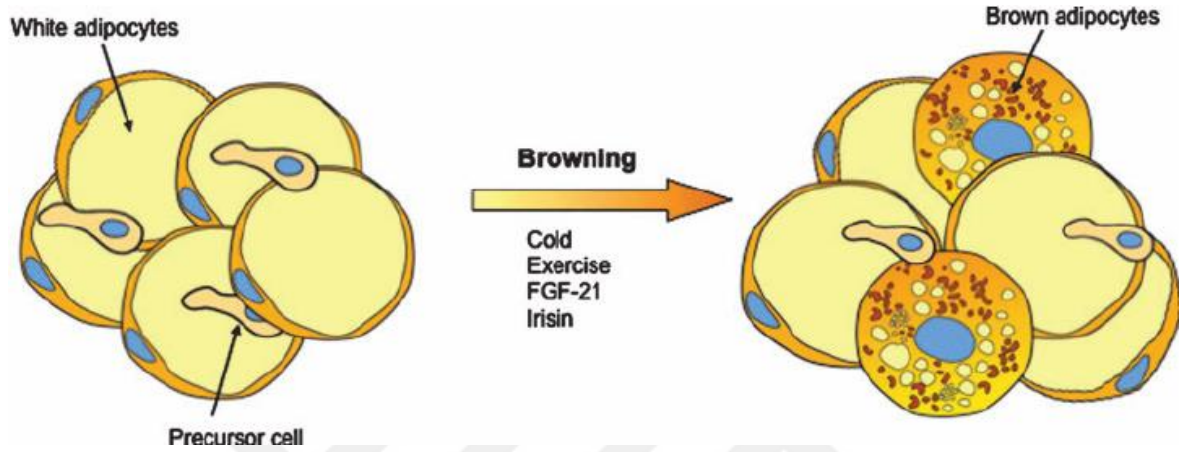
Beyaz yağ dokusunun kahverengileşmesi ve bu süreçte etkili olan faktörler son dönemde tanımlanmaya başlanmıştır. Bu faktörler arasında glukoz metabolizması ile ilgili bir polipeptit olan FGF21 de bulunmaktadır (66). Farelere FGF21 infüzyonu yapıldığında kahverengi yağ dokusunda hafif düzeyde UCP1 artışı görülmesine rağmen beyaz yağ dokusunda çok daha belirgin bir indüksiyon görülmüştür (66). Beyaz yağ dokusunun kahverengileşmesinde etkili olan bir başka faktör de egzersizdir. Beyaz yağ dokusunun kahverengileşmesi ve egzersiz arasındaki bağlantıyı kas dokusundan salgılanan irisin

gerçekleştirmektedir (4). Kraemer ve arkadaşları orta derecede aerobik egzersize yanıt olarak dolaşımdaki irisin düzeylerinde geçici yükselme olduğunu (%20 artış) ve bu yükselmenin egzersizden sonraki ilk 1 saat içinde gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, bir başka çalışmada, 30 dakikalık sürat koşusu sonrasında dolaşımdaki irisin düzeylerinde orta derecede (yaklaşık %18) artış olduğu, 45 dakikalık bisiklet egzersizinden sonra irisin seviyesinde de %20 civarında artış olduğu saptanmıştır (67).

Erişkinlerde soğuga maruz kalındığında insan Kahverengi yağ dokusunun, uyarılıp ısı ürettiği ve böylece toplam enerji harcamasına katkısı olduğu gösterilmiştir (68). Öte yandan, soğuk ile uyarılan Kahverengi yağ dokusu miktarı şişman erişkinlerde normal ağırlıklılara göre azalmış saptanmıştır. Yakın zamanda Leitner ve arkadaşları tarafından yapılan, 20 normal ağırlıklı, 8 şişman erişkin hastanın alındığı çalışmada 13 gün boyunca, günde 5 saat soğuk maruziyeti sonrası, F18-FDG PET/BT kullanılarak olguların Kahverengi yağ dokusu anatomik dağılımı belirlenmiş, hacim ve işlevselliği ölçülmüştür. Şişmanlarda soğuk maruziyeti ile uyarılan Kahverengi yağ dokusu miktarının normal ağırlıklılara göre daha az olduğu saptanmıştır. Ayrıca, hem normal kilolu hem de şişmanlarda soğuk ile uyarılan Kahverengi yağ dokusu miktarının önceki çalışmalarda gösterilene kıyasla çok daha fazla olduğunu bildirilmiştir (69). Orava ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada soğuk ile uyarılan Kahverengi yağ dokusu glukoz tutulumu ile BKİ, beden yağ oranı, bel ve kalça çevresi arasında ters yönde anlamlı ilişki saptanmış, şişmanlarda soğuk maruziyeti ile uyarılan Kahverengi yağ dokusu miktarı ve glukoz tutulumunun normal ağırlıklılara göre daha az olduğu saptanmıştır. Ayrıca, soğuk maruziyeti sırasında Kahverengi yağ dokusu kan akımı normal ağırlıklı bireylerde şişmanlara kıyasla 2 kat fazla saptanmıştır. Öte yandan, şişman olgularda kilo kaybı öncesi ve sonrası arasında soğuk ile uyarılan Kahverengi yağ dokusu miktarı ve glukoz tutulumu açısından anlamlı fark saptanmamıştır. İnsan Kahverengi yağ dokusunun soğuk maruziyeti ile aktivasyonunun şişman bireylerde ciddi anlamda bozulmuş olduğu; soğuk ile uyarılarak saptanabilen Kahverengi yağ dokusuna sahip olmanın sağlıklı bir metabolizmaya sahip olmak ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (70).

Tüm bu sonuçlar, Kahverengi yağ dokusu miktar ve işlevselliği üzerine değişiklikler ile beden ağırlığı kontrolünün yapılabilineceği düşüncesini doğurmuş, kahverengi adipositlerin ve beyaz yağ dokusunda "Kahverengileşme"nin uyarılması ile adaptif

termogenezi ve dolayısıyla enerji harcamasını arttırarak şişmanlık tedavisinde yeni yöntemler geliştirebilme fikri öne sürülmüştür. Şişmanlarda Kahverengi yağ dokusu aktivitesinin az saptanması nedeniyle beyaz yağ dokusundan Kahverengi yağ dokusuna farklılaşmanın bu hastalarda terapötik bir yöntem olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (71).



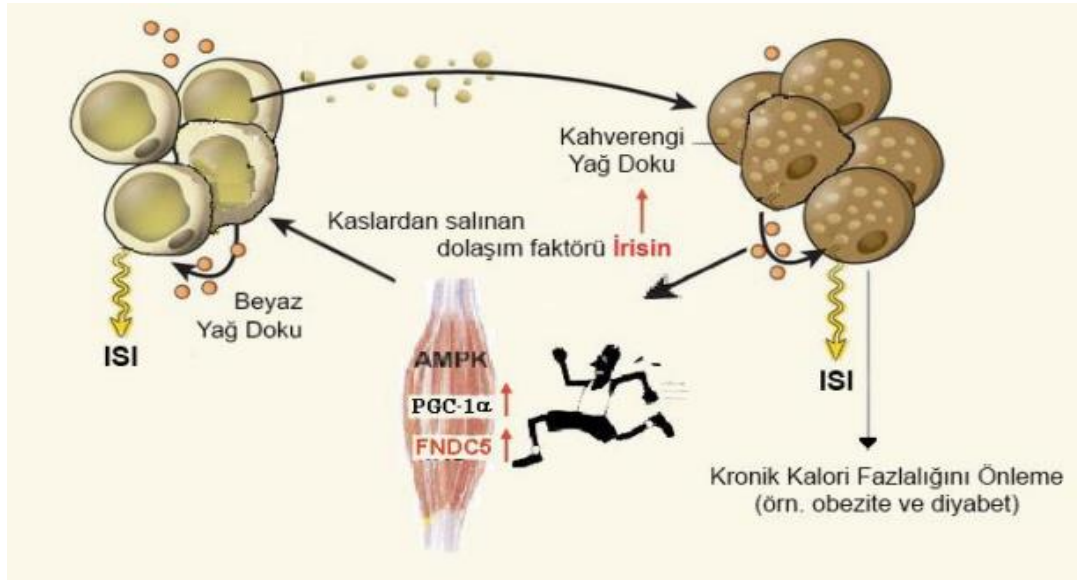
Şekil 6:KYD Kahverengileşmesi

2.2.2.4.KYD ile diğer organların ilişkisi

KYD'nin özelleşmiş bir doku olduğu bilinmekle birlikte, yetişkin insanlardaki rolü için halen çok net bir cevap bulunamamıştır. Her ne kadar bebekler için üretiliminde rol aldığı kabul edilmiş olsa da, yetişkinlerde ısı üretimi bazal metabolizma veya titreme yolu ile yeterli düzeyde elde edilebildiğinden KYD'ye ihtiyaç duyulmamaktadır. Ancak erişkinlerde KYD, ısı üretimi yerine bir dizi metabolik işlemde aracı olarak rol oynuyor olabilir.

AKYD'nin lipidlerin plazmadan temizlenmesinde ve hiperlipideminin tedavisinde önemli bir rol oynadığı fareler üzerinde yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (72). Ayrıca, AKYD'nin glikoz toleransı üzerine olan etkileri de mevcuttur. KYD hücreleri üzerinde insülin reseptörleri bulunmayan farelerde, KYD'nin hipertrofiye olması durumunda; beta hücre kütlelerinde ve bazal insülin seviyelerinde azalma izlenmiş ve bu durumun farelerde glikoz alımına tepki olarak adacık hücrelerinden insülin salgılama kusuruna yol açtığı gösterilmiştir. Bu durumun açlık hiperglisemisi ve bozulmuş glukoz toleransı ile giden diyabetik fenotipe neden olduğu raporlanmıştır (73).

KYD ayrıca fiziksel egzersiz sonrası kas-yağ dokusu arasındaki etkileşimde ise dolaylı olarak rol almaktadır. Son zamanlarda keşfedilen ve kas dokusu tarafından salgılanan FNDC5/irisin'in farelerde KYD içerisindeki UCP1 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir Navarrete ve arkadaşları yaptığı çalışmada insanlardaki FNDC5/irisin seviyeleri ile KYD aktivitesi arasında açık bir ilişki ortaya koymuştur (74).



Şekil 7:İrisin etki mekanizması (75)

2.2.2.5.KYD aktivitesinin hastalıklarla ilişkisi

2.2.2.5.1.Obezite

Sakamoto ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada makrofajların aracılık ettiği enflamatuar reaksiyonun in vitro UCP1 ekspresyonunu olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Bu çalışma, in vivo olarak da teyit edildiği takdirde, makrofajların; kahverengi adipositlerin oluşumunu hem inhibe (enflamasyon oluşturması nedeni ile) hem de stimüle edebildiği (katekolamin salgılanmasına yol açarak) anlamı çıkarılabilir. Obezite ve düşük dereceli inflamasyon arasındaki ilişki göz önüne alındığında, obezite oluşumunda bu tür bir makrofaj aracılı etkinin rol oynadığı söylenebilir (76).

KYD aktivitesinin dinlenme anındaki enerji tüketimi ile ilişkisi gösterilmiştir (54). Ancak henüz aktive KYD'nin metabolik hızın ne kadarını oluşturduğu net olarak gösterilememiştir. Farelerde; KYD toplam ağırlığın sadece%2'lik bir kısmını temsil

etmesine karşın organizmanın bazal metabolizma hızını iki katına kadar çıkarabilmektedir. İnsanlarda ise KYD'ye atfedilen bazal metabolizma hızı değişkenlik göstermekte olup tartışmalı bir konudur. Soğuk ile maksimum düzeyde uyarılmış KYD'ye bağlı bazal metabolizma hızındaki artış çeşitli çalışmalarda %2, %10-15, %10-20, %20 veya %28'ye kadar çıkabilmektedir (77)

Son araştırmalar, UCP1 geni ve beta-3 adrenerejik reseptörünü üzerindeki küçük genetik mutasyonların bile kilo verme üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Ancak bu çalışmaların nedensellik etkisinin insanlarda ispat edilmesi gerekmektedir (78).

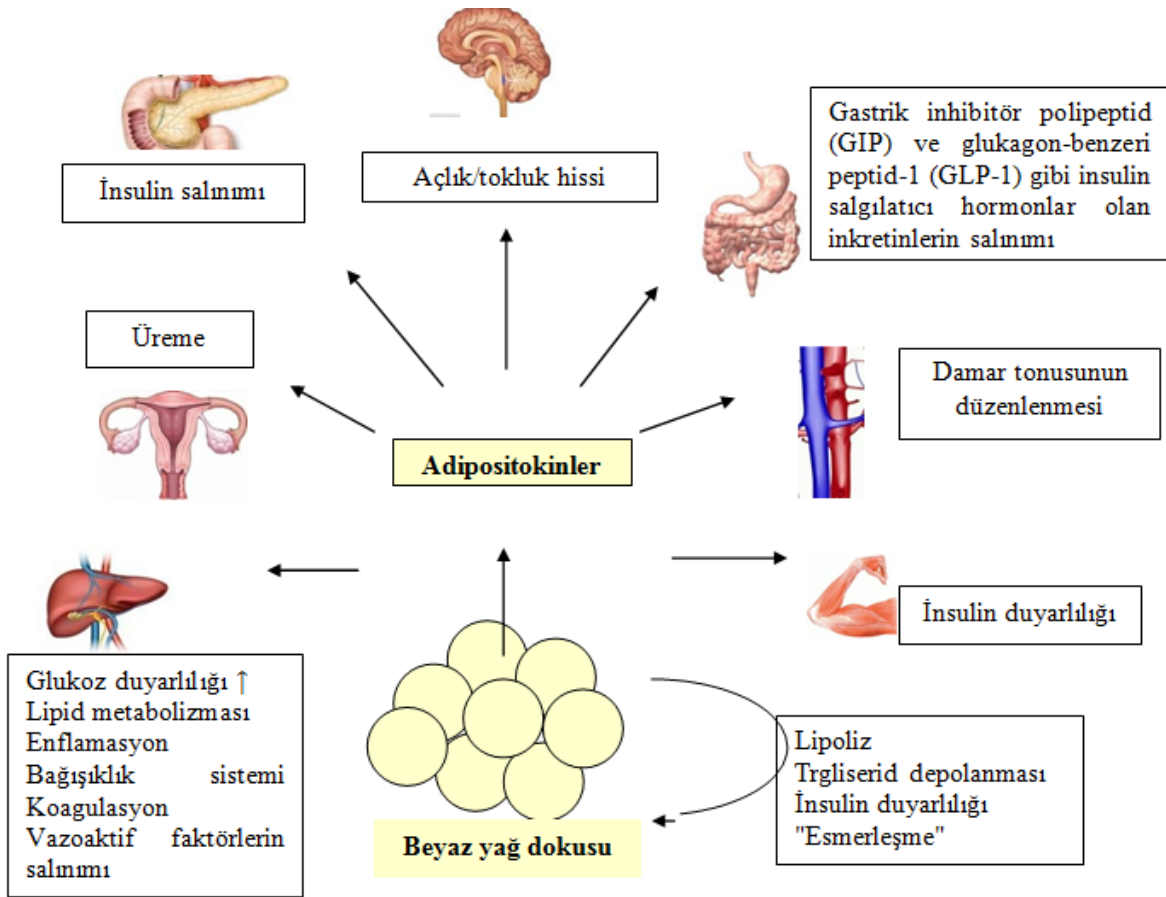
Hayvan çalışmalarında, AKYD'nin obeziteye karşı koruyucu bir rol oynadığı net biçimde kanıtlanmıştır. Bu çalışmalara göre bol miktarda doğal veya çeşitli yollar ile uyarılarak aktive edilen KYD'si olan farelerin obeziteye karşı dirençli olduğu; ayrıca UCP1 geninin ablasyonu ile aktif KYD'si yok olan farelerde ise doğumdan sonraki ilk 30 gün içerisinde doğum ağırlığının %50'sinden daha fazla miktarda kilo artışı gösterilmiştir (64). Öte yandan, KYD miktarını ve aktivitesini arttıran ilaçların farelerde kullanılması deneysel olarak obezite ve ilişkili bozuklukları tedavi etmek için yeterli olmuştur. Ayrıca, sağlıklı bir fareden obez bir fareye yapılan aktive KYD naklinin de tedavi edici etkileri görülmüştür (79).

İnsanlarda AKYD yokluğunda, termogenezin bir tipi olan titremesiz termogenez (non-shivering thermogenesis) daha düşük seviyelerde yapabilmektedir. Bu durum AKYD yokluğunun, artmış vücut yağ yüzdesi ve yüksek VKİ arasındaki güçlü ilişkinin ana nedenidir (80)

2.2.2.5.2.Diyabet

Retrospektif kohort çalışmalar insanlarda yüksek kan şekeri düzeyleri ile AKYD yokluğu arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. FDG PET/BT ile yapılan çalışmada aktif KYD'nin dakika başına tahminen ortalama $9,1 \pm 5,1 \mu\text{mol}/100\text{g}$ glikoz tükettiği görülmüştür. Farelerde KYD'nin kullandığı substrat miktarının sadece %10'luk kesimini glukoz, %90'luk kesimini ise yağ asitlerinin oluşturduğu tahmin edilse de bu oranların insanlarda geçerli olup olmadığı henüz bilinmemektedir (81)

Orava ve arkadaşları AKYD'nin beyaz adipoz dokuya kıyasla insüline çok daha duyarlı bir doku olduğunu ve KYD'de insülin reseptörü eksik olan farelerde diyabet geliştiğini bildirmiştir. Kronik yüksek yağlı beslenmenin farelerde insülin direncine yol açtığı, KYD'nin glukoz alımını azalttığı ve KYD'nin termojenik etkisinde bozulmaya yol açtığı gösterilmiştir (64). Bu durum, KYD glikoz-insülin homeostazında önemli bir rol oynadığını ve tip II diyabetin tedavisinde yeni bir potansiyel hedef doku haline gelebileceğini düşündürür.



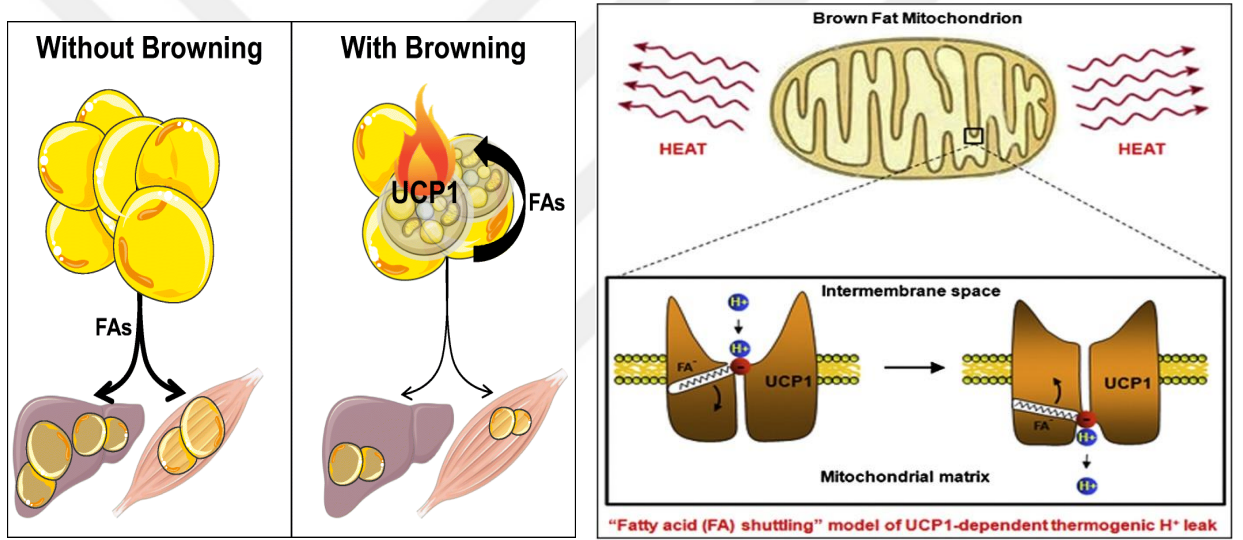
Şekil 8 :Adipositokinlerin yağ dokusu ve hedef organlardaki bazı işlevleri

2.2.2.6.KYD Belirteçleri

2.2.2.6.1.Uncoupling Protein 1 (UCP 1)

Uncoupling protein 1, 32 kilodalton ağırlığında, mitokondri iç zarında bulunan proton taşıyıcı bir transmembran proteindir (48). Protonların tekrar mitokondri matriksine girmesine izin vererek elektrokimyasal gradienti bozar. Normal şartlarda elektron

transportu protonların mitokondri matriksinden zarlar arası boşluğa taşınması ile gerçekleşir ve elektron transfer enerjisinin çoğu matriks dışına proton pompalamak için kullanılır. Bu zar boyunca bir proton gradientinin oluşmasına neden olur. Böylece elektron transfer enerjisi zar boyunca proton gradienti şeklinde korunur, depolanır. Proton gradienti şeklinde depolanan enerji ATP sentezi için gereken enerjiyi sağlar. Bu olay oksidatif fosforilasyon olarak tanımlanır. Uncoupling protein 1, mitokondri iç zarında bir "delik" oluşturarak mitokondri matriksine proton kaçığına neden olmakta, elektroki myasal gradienti bozmakta, sonuç olarak daha az ATP üretimine neden olmaktadır (78). Bu durum solunum zincirinde oksidasyon ile fosforilasyon eşleşmesini bozarak ATP oluşumu yerine ısı üretimine yol açar enerji tüketiminde rol oynar (82).

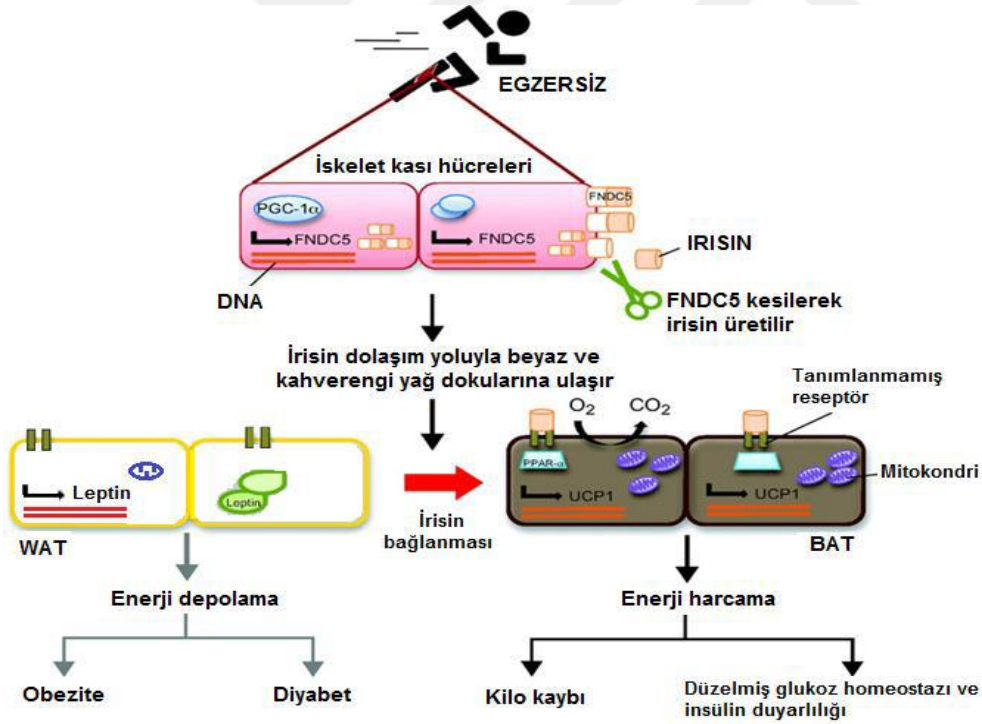


Şekil 9 :UCP1 Etki Mekanizması (81)

Uncoupling protein 1 proteinini kodlayan gen Kahverengi yağ dokusu için bir belirteç gendir. Başlıca Kahverengi yağ dokusunda eksprese olmakla beraber, memelilerin pankreas hücreleri, insan iskelet kası, beyaz yağ dokusu, fare ve sıçan timus hücrelerinde de eksprese edildiği gösterilmiştir (83). Uncoupling protein 1 gen ekspresyonu soğuk, adrenerjik uyarı, beta3 agonistler ve tiroid hormonları ile uyarılmaktadır. Lipoliz ve serbest yağ asitleri salınımı da UCP1 'i uyarır. Serbest yağ asitleri ile UCP 1'in mitokondri iç zarından proton transportu işlevi uyarılmaktadır(78).

2.2.2.6.2.İrisin

İsmi Yunan mitolojisindeki haber taşımakla görevli Tanrıça İris'ten alan irisin ilk olarak 2012 yılında Boström ve ark tarafından tanımlanmıştır. İrisin; FNDC5 (fibronectin type-III containing protein 5) isimli transmembran proteinin bölünmesi ile ortaya çıkan bir miyokindir. İrisin 112 aminoasit içeren, 12 kDa ağırlığında bir proteindir (84). Son yıllarda irisin; egzersiz ve diyetle alınan glukoz ile yağ asidine cevaben salınan, glukoz ile yağ asidinin karaciğer ve yağ dokuya girişini ve oksidasyonunu sağlayan ve termogenezisten sorumlu olan bir myokin olarak tanımlanmıştır (85). 2012'de Boström ve ark tarafından fiziksel egzersiz ile iskelet kasında enerji tüketimi, glukoz metabolizması ve lipid metabolizması ile ilişkili çeşitli genlerin ekspresyonunun arttığı ortaya konulmuştur. Bu genlerden birinin de FNDC5 geni olduğu; FNDC5 proteininin aynı isimli genden PGC-1 α (proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 α) aktivasyonu ile eksprese olduğu gösterilmiştir. FNDC5 proteini bölünür ve dolaşıma irisin olarak salınır(4)

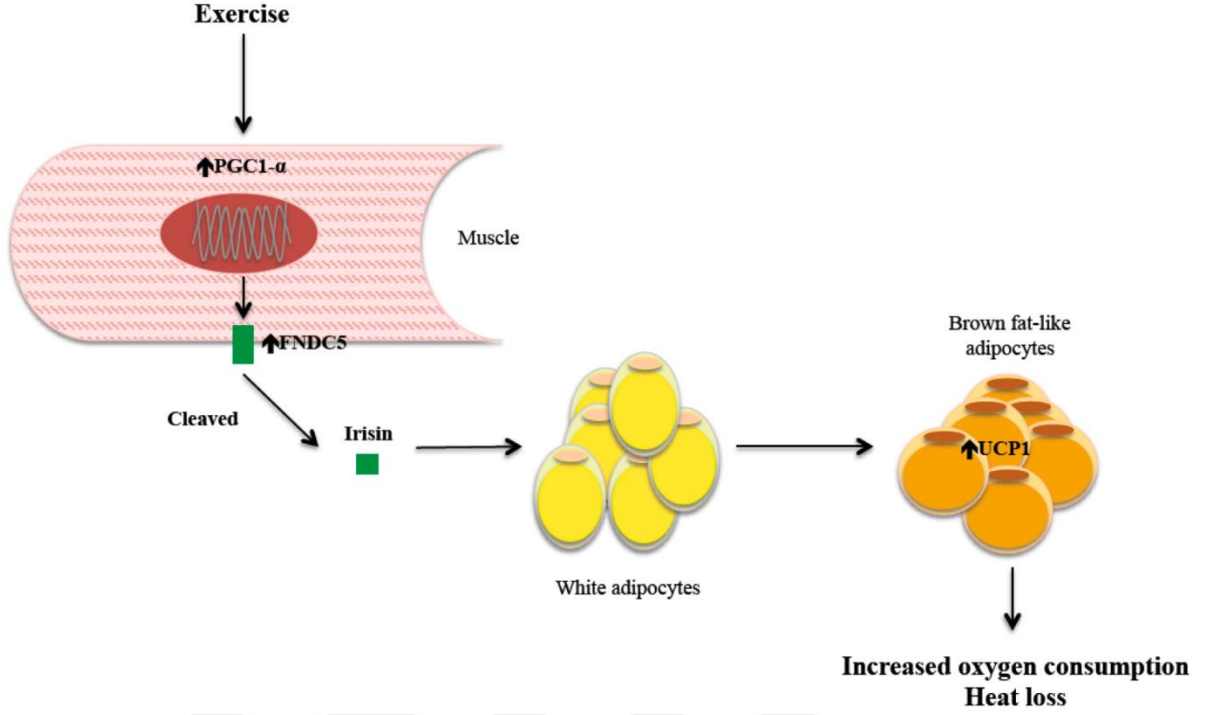


Şekil 10 :Egzersizle beyaz yağ dokunun kahverengileşmesi (86)

İrisin PGC-1 α aktivasyonuna cevap olarak salgılanan bir miyokindir. Çalışmalar, PGC-1 α 'nın mitokondriyal biyogenez ve oksidatif metabolizmayı düzenlemesinin mitokondriyal homeostazisi için önemli olduğunu göstermiştir. Mitokondriyal fonksiyon

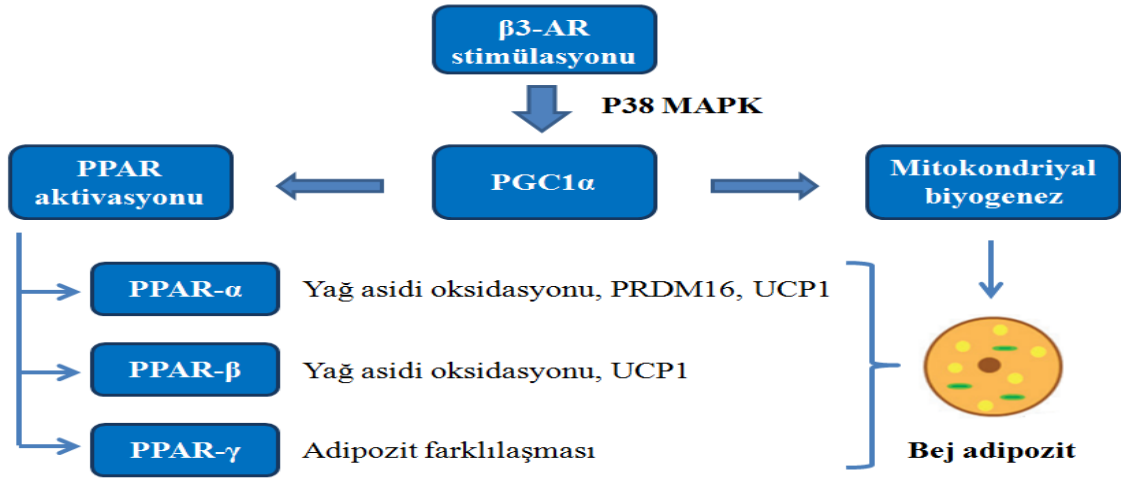
ayrıca insülin direnci patogenezinde de rol oynar. Ayrıca, PGC-1 α aktivitesinin ve ekspresyonunun T2DM’li hastalarda daha düşük olduğu bulunmuştur. PGC-1 α ’nın ekspresyonundaki artış, mitokondriyal DNA ve kahverengi adipoz dokudaki oksidatif fosforilasyonun artışıyla paralellik gösterir (74). Fare iskelet kasında PGC-1 α ’nın seviyesindeki artış üzerine, FNDC5 proteininin ifadesinin indüklendiğini göstermişlerdir ve sonra bölünerek dolaşımdaki kanın içine irisin olarak salgılandığını belirtmişlerdir. İrisin, beyaz adipositlerin yüzeyine bağlanan UCP-1’in ifadesini indükler ve beyaz yağ hücrelerinin dönüşümünü sağlayan tetikleyiciler “BRITE” (Brown in White) hücrelerin içine girerler. Bu değişiklikler total vücut enerji harcanmasına, hafif kilo kaybına ve hafif glikoz intoleransı sağlanmasına eşlik eder. İnsan dolaşımındaki irisinin hafif şiddette 60 dakikalık bisiklet sürüşünden sonra 3 kat arttığı gösterilmiştir (87). Beyaz adipositlerin kahverengi adipositlere bu dönüşümü ve sebep olduğu termojenez artışı, insülin duyarlılığında artışa, vücut ağırlığında düşüğe ve farelerde glukoz toleransında düzelmeye neden olmaktadır (4).

İrisinin hepatik steatoz gelişimine ve NASH’in ilerlemesine karşı koruyucu olabileceği ileri sürülmektedir. İrisin ekspresyonu hepatik yıldız hücrelerin aktivasyonuna paralel olarak artmaktadır ve irisin tedavisi ile de aktive hepatik yıldız hücrelerdeki fibrojenik belirteçlerde artış görülmektedir. İrisin safra kesesinde de yüksek miktarda bulunduğundan hepatobilier sistemin irisin klirensinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (88).

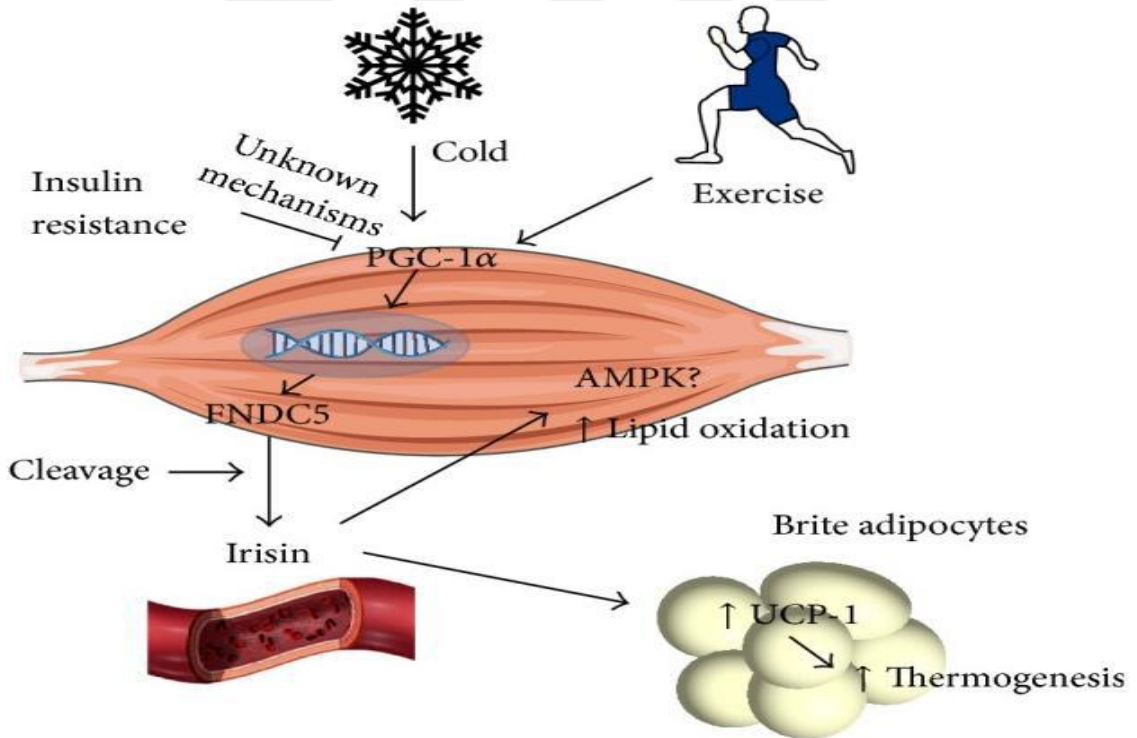


Şekil 11 :İrisin Etki Mekanizması (89)

Termogenez yolağında bulunan ana reseptör beta-3 adrenerjik reseptördür (β -3AR). P38 mitojen-aktive protein kinaz (p38 MAPK) aktive edici transkripsiyon faktörü 2 (ATF-2)'yi stimüle eder ve PGC1 α transkripsiyonunu sağlar. Soğuğa maruziyetle birlikte fare iskelet kasında ve kahverengi adipoz dokusunda PGC1 α mRNA ekspresyonu ve UCP1 regülasyonu artmaktadır. FNDC5 adipozitlerde UCP1 protein ekspresyonunu artırırken, kahverengi adipoz dokuda görülene benzer şekilde yüksek mitokondri yoğunluğu sağlamaktadır (90).



Şekil 12 :Termogenez ve adipozitlerin kahverengileşmesi ile ilişkili yolların şematize edilmesi (91)



Şekil 13 :Soğuk ve egzersiz ile irisin sekresyonunun uyarılması

PGC-1α aktivasyonu ile ENDC5 ekspresyonu ve irisin sekresyonu sağlanır. Dolaşımdaki irisin yağ dokunun kahverengileşmesini uyarır. İrisinin ayrıca geriye dönük

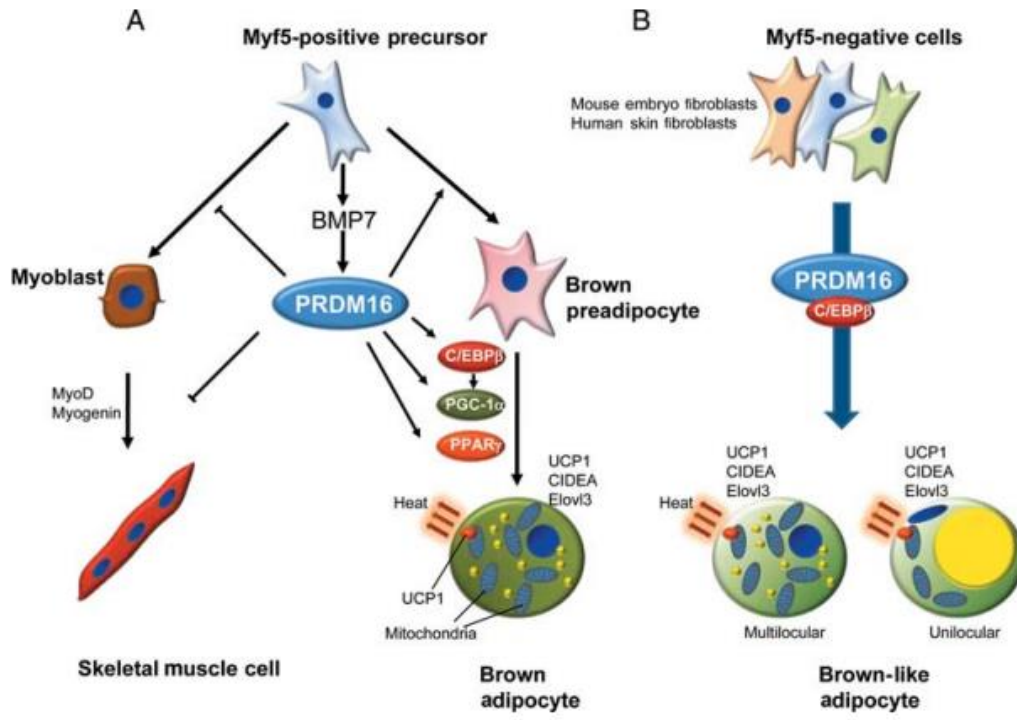
olarak iskelet kası üzerinde AMPK (AMP-activated protein kinase) fosforilasyonunu indüklediği düşünülmektedir (92).

2.2.2.6.3.PRDM 16

Transkripsiyon faktörü içeren bir çinko parmak olan 16'yı içeren PR alanı (PRDM16), kahverengi / bej yağ hücresi işleyişinin kritik bir moleküler belirleyicisidir. PRDM16'nın fibroblastlarda veya kas öncüllerinde ektopik ekspresyonu, kahverengi yağ hücresi farklılaşmasını uyarır (93). PRDM16, bej adipositlerin farklılaşması ve yetişkin farelerde Kahverengi Yağ Dokusunun korunması için de gereklidir(10) (9)

PRDM16 ifadesi ayrıca bitişik subkutan WAT'a göre insan KYD'ında büyük ölçüde zenginleştirilmiştir. Ektopik PRDM16 ekspresyonu, miyoblastları ve beyaz yağ öncüllerini termojenik, Ucp1 içeren adipositlere dönüştürür. PRDM16'nın yıkılması, kahverengi yağ hücrelerinin termojenik özelliklerini azaltırken aynı zamanda beyaz yağa özgü ve kasa özgü genlerin ekspresyonunda bir artışa neden olur (94).

PRDM16 ekspresyonunu veya aktivitesini modüle ederek kahverengi ve bej adiposit farklılaşmasını düzenlediği çeşitli faktörlerin olduğu gösterilmiştir. Bu faktörler arasında göze çarpan, kemik morfolojik protein 7 (Bmp7), kahverengi yağ gelişimi için gerekli olan ve kahverengi ve beyaz yağ öncül hücrelerinde PRDM16 mRNA miktarlarını artıran bir sinyaldir. Ek olarak, Ppar-gamma'yi hassaslaştıran tiazolidindionlar (TZD'ler), PRDM16 üzerindeki etkileriyle yağ hücrelerinde termojenik gen ekspresyonunu indükler. İlginç şekilde, kas bakımından zenginleştirilmiş microRNA miR-133, kahverengi ve bej adipoz gelişimini bloke etmek için doğrudan PRDM16 miktarlarını hedefler ve azaltır. Soğuk maruz kalma, yağ hücrelerinde miR-133 ekspresyonunu baskılar, bu da PRDM16'nın yol açar (95).

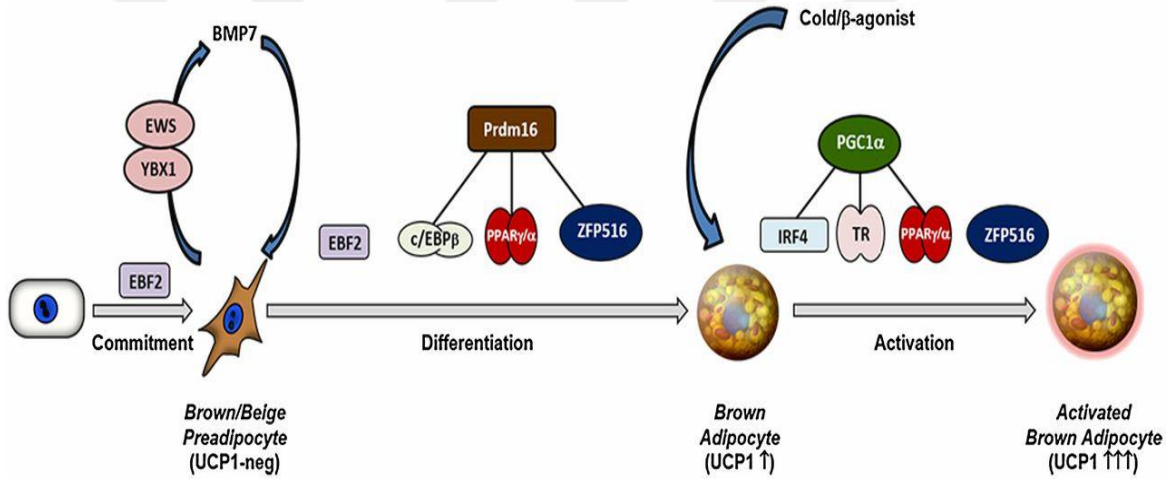


Şekil 14 :PRDM16'nın KYD Üzerinde Etkisi (96)

2.2.2.6.4.BMP 7

TGF-beta süper ailesinin bir üyesi olan kemik morfogenetik protein 7 (BMP7) osteojenik özellikleriyle iyi bilinmektedir (97). Adipositlerin, özellikle de kahverengi adipoz dokusunun (KYD) indüksiyonunda, gelişiminde ve düzenlenmesinde rol oynayan bir proteindir. Son zamanlarda, BMP ailesinin üyelerinin iştah düzenlemesi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Homeostatik denge için beslenme davranışı ve metabolizmasının modülasyonunda rol oynayan ana bölge olarak iyi bilinen hipotalamus, BMP7'nin beyindeki ana etki bölgesidir (98). BMP7 reseptörleri ve sinyal iletimi TGF-b ailesiyle ilişkili ligand, BMP7 reseptörleri transmembran heterodimerleridir ve ayrıca gıda alımını düzenledikleri bilinmektedir (97). BMP7, BMP ailesinin diğer üyeleri arasında, özellikle kahverengi yağ indüksiyonu, farklılaşması ve gelişimi ile bilinir (7). BMP7 iki yönde etki eder. Bir yandan KYD kütlesini önemli ölçüde azalttığı, diğer yandan, kahverengi yağ gelişimini, yağ asidi oksidasyonunu, mitokondriyal aktiviteyi ve vücut ağırlığını azalttığı gösterilmiştir(7)

Miyostatin olarak da bilinen GDF8, bir BMP7 sinyal inhibitörüdür ve adipogenez ve miyogenezini inhibe eder (99). BMP7, UCP1 ekspresyonunu ve brite hücre oluşumunu indükleyerek beyaz yağ dokusunun kahverengileşmesine katılır (48). BMP7'nin kahverengi yağ dokusunu arttırma özelliği, obezite ve buna bağlı morbiditelere karşı bir hedef olarak kullanılabilir. Çalışmalarda, hem sistemik olarak hem de adenoviral yöntemle BMP7 tedavisi, vücut ısısında bir artış, KYD aracılı enerji harcaması, oksidatif fosforilasyon, yağ asidi alımı, mitokondriyal biyogenez ve gıda alımında azalma ile sonuçlanmıştır BMP7, hipotalamusta etkili olan ve beslenme davranışını düzenleyen yeni bir anorektik faktördür (7). BMP7, UCP1 mRNA'yı artırarak iştah azaltma, artan termojenez ve kahverengi yağda enerji harcaması özelliklerine sahiptir ve obezite, diyabet ve diğer ilgili metabolik ve dejeneratif hastalıkların tedavisinde umut vaatmektedir.

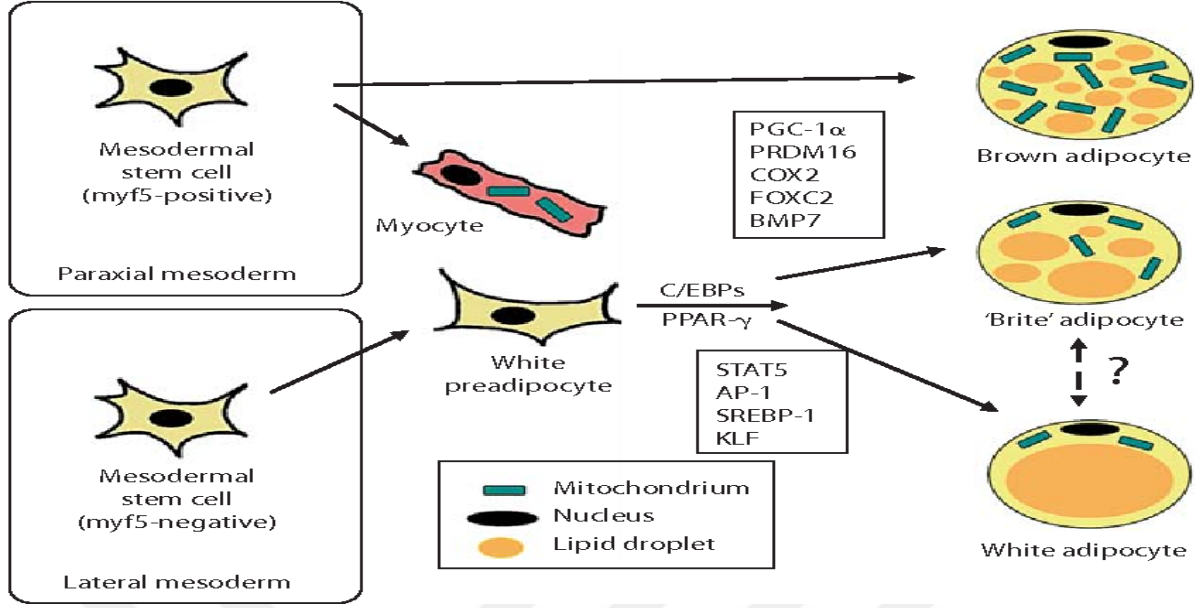


Şekil 15: BMP7 Etkisi (7)

2.2.3. Bej Yağ Dokusu

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, beyaz yağ dokusu içinde de UCP 1 proteini içeren ve Kahverengi yağ dokusu hücrelerine benzer morfolojide hücreler olduğu bildirilmiştir (100). Bu kahverengi-benzeri adipositler (brown-like adipocytes); Kahverengi ve beyaz yağ dokusu hücreleri arası işlevlerinden dolayı "bej" ("beige") ya da "brite" (brown in white) olarak isimlendirilmiştir. Bu hücrelerin, soğuğa maruziyet ya da beta-adrenerjik uyarı gibi farklı çevresel etmenlerle uyarıldıklarında termojenik özellik kazandıkları gösterilmiştir. Bej hücreler, bazal şartlarda klasik beyaz adipositlere benzer moleküller eksprese ederken; uyarıldıklarında yüksek UCP 1 ekspresyonu özelliği kazanıp,

kahverengi adipositler gibi ısı üretimi ile enerji harcaması yeteneği kazanmaktadırlar (100). Bu olay “Kahverengileşme” olarak adlandırılmaktadır. Beyaz yağ doku içinden beyaz bir adiposit hücresinden köken alarak bej adiposite dönüşme durumudur. İrisinin bu dönüşümde rol aldığı bilinmektedir (4). En iyi bilinen ve en önemli bej hücre deposu inguinal yağ depolarıdır. Kahverengi ve bej adipositler bazı farklı özelliklere sahiptir. Bej adipositler beyaz yağ dokusu içinde; özellikle de derialtı beyaz yağ dokusu depolarında bulunurken, klasik kahverengi adipositler genelde interskapular alanda yerleşim gösteren Kahverengi yağ dokusu içinde bulunmaktadır. Bej adipositlerin kökeni henüz net olarak bilinmemektedir. Soğuk maruziyetinde beyaz adipositlerin kaybolduğu ve yeni kahverengi-benzeri adipositlerin oluştuğu hipotezi öne sürülmüş, ancak ölü yağ hücresi kalıntısı ya da hücre ölümüne bağlı reaktif inflamasyon belirtisi saptanmaması, prekürsör hücre proliferasyonuna yönelik kanıt olmaması nedeniyle bu hipotez dışlanmıştır. Bazı çalışmalarda bej adipositlerin olgun beyaz adipositlerin farklılaşması ile oluştuğunu bildirilmiştir (101). Farklı bir progenitör hücre topluluğundan de novo farklılaşma ile oluştuklarını belirten çalışmalar da vardır (102). Bej hücreler, çevresel uyaranlara göre klasik Kahverengi ya da beyaz yağ dokusu hücreleri işlevlerini gösterebilmektedirler. Bu da, prekürsör hücrelerden yeni bir hücre farklılaşmasına gerek duyulmadan, çevresel uyaranlar aracılığıyla bu hücreler üzerine etki ederek, yağ depolayan/yağ yakan hücre oranının ayarlanabileceği anlamına gelmektedir. Genetik deneyler beyaz yağ dokusunda kahverengi-benzeri adipositlerin ortaya çıkmasının, metabolik işlevleri iyileştirmede klasik kahverengi adipositlerin uyarılması kadar etkili olduğunu göstermiştir(8).



Şekil 16:Bej Yağ Doku Oluşumu

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Kahverengi yağ doku belirteçleri olarak kabul edilen UCP1, İrisin, BMP 7, PDM16 düzeylerinin, Cushing Hastalığı olgularında değerlendirildiği ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığı kesitsel gözlemsel klinik çalışmaya; Kocaeli Üniversitesi Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim dalı polikliniğinde takipli, Cushing hastalığı tanısı alan 48 hasta katıldı. Kontrol grubu için ise yaşları 30-60 arasında değişen, fazla kilolu ve obezitesi olan, cushing hastalığı taraması yapılan ve negatif bulunan, normal glukoz toleransına sahip ve herhangi bir hormonal tedaviyi son 6 ay içerisinde kullanmamış ve halen kullanmayan 40 birey alındı. Çalışmamızı yürüttüğümüz Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim dalı, ülke genelinde hastaların refere edildiği üçüncü basamak bir sağlık merkezidir. Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim dalımızda tanı alan hastalar için DST ve 24 saat idrar kortizol taraması ile tanı kesinleştirilmiştir. Çalışmaya kontrol grubu olarak alınan kişiler mutlak gönüllülük esasına göre çalışmaya dâhil

edilmiştir. CS olan hastalar ve kontrol grubu için dışlama kriterleri aşağıda sıralanmaktadır:

Çalışmaya;

- İnsülin ya da inkretin bazlı tedavi alanlar,
- GFR<50-60 ml/dk olanlar,
- Kronik Karaciğer Hastalığı olanlar,
- Kronik İnflamatuvar Hastalığı olanlar,
- Aktif malinitesi olanlar,
- 6 aydan önce uzun süreli steroid kullanımı olanlar,
- Kalp yetmezliği ve İskemik Kalp Hastalığı bulunanlar
- Tedavi edilmemiş tiroid disfonksiyonu olanlar,
- C-peptid <0,1 olanlar,
- Enerji homeostazisini etkileyen ilaç kullanımı olanlar
- Osteoporoz tedavisi alıyor olanlar dâhil edilmedi.

Cushing Hastalığı tanısı almış olan hastalardan Endokrinoloji Kliniğinde aydınlatılmış onam alınarak UCP-1, İrisin, BMP-7, PRDM16 çalışılması için 1-2 cc kuru tüpe kan alındı. Bu kanlar aynı gün içerisinde 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek serum kısmı -80 derecede saklandı. Ayrıca aynı hastaların bel, göbek, kalça çevresi ile boyu, kilosu ölçülecek; hastalarla konuşularak özgeçmiş, soygeçmiş, demografik özellikleri, ilaç ve sigara kullanımları kaydedildi.

Kontrol grubundaki hastalara yapılacak testler hakkında bilgi verilecek, onam alınarak ve daha sonrasında geri bildirim yapılmak üzere bir gecelik açlık sonrası sabah saat 07:00-09:30 arasında kan örnekleri "etilendiamin tetraasetik asit"li (EDTA) ve EDTA'sız biyokimya tüplerine alınarak, serum ve plazma örnekleri ayrılıp santrifirüj edilmiştir. UCP1, İrisin, PRDM16, BMP7 analizi daha sonra yapılmak üzere -80 derecede derin dondurucuda saklanmıştır. AKŞ (Açlık kan şekeri) ve lipid düzeyleri hastaların rutin tetkikleri içerisinde yapılmasından dolayı tekrar edilmemiştir. Ayrıca aynı hastaların bel,

göbek, kalça çevresi ile boyu, kilosu ölçülecek; hastalarla konuşularak özgeçmiş, soygeçmiş, demografik özellikleri, ilaç ve sigara kullanımları kaydedildi. Bu gruptaki hastalara obezitetleri nedeniyle 1 mg DST tarama testi yapıldı ve Cushing Sendromu dışlandı.

Bel çevresi ölçümü: Bel çevresi, ayakta ekspiryum sonunda, iliak krest ile 12. kosta arasında, orta noktadan yere paralel bir düzlemde bel çevresine sarılan elastik olmayan bir mezür yardımıyla ölçüldü.

BMI: Ölçülen vücut ağırlığının (kg) boy uzunluğunun karesine (m²) oranı ile hesaplandı.

3.1.Kitlerin çalışılması

ELISA kitinde, Sandwich-ELISA ilkesini kullanıldı. Bu kitle sağlanan mikro ELISA plakası, Human UCP-1'e özgü bir antikora önceden kaplanmıştır. Standartlar veya örnekler, mikro ELISA plaka oyuklarına ilave edildi ve spesifik antikor ile birleştirildi. Daha sonra, İnsan UCP-1 ve Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatına özgü bir biyotinlenmiş tespit antikorunu, her bir mikro plakaya art arda eklendi ve inkübe edildi. Serbest bileşenler yıkandı. Substrat çözeltisi her oyuğa eklendi. Yalnızca İnsan UCP-1, biyotininle edilmiş tespit antikorunu ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyular mavi renkte görüldü. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisi ilave edilerek sonlandırıldı ve renk sarıya döndü. Optik yoğunluk (OD), 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. OD değeri, İnsan UCP-1'in konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'sini standart eğriyle karşılaştırarak numunelerdeki İnsan UCP-1 konsantrasyonunu hesaplandı.

UCP1, İrisin, PRDM 16, BMP 7: Elabscience marka ticari kitler kullanılarak, kit çalışma prosedürlerine uygun olarak Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarında bulunan Radim Diagnostics rome (italy) cihazında, Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) yöntemi ile analiz edildi. Birimi ng/ml olarak kabul edildi.

3.2. İstatiksel Yöntem

İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) paket programı ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren nümerik değişkenler ortalama±standart sapma, normal dağılım göstermeyen nümerik değişkenler medyan (25.-75. persentil), kategorik değişkenler ise frekans (yüzde) olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılık normal dağılıma sahip olan nümerik değişkenler için student-t testi ile, normal dağılıma sahip olmayan nümerik değişkenler için Mann Whitney U testi ile belirlendi. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare analizi ile değerlendirildi. Nümerik değişkenler arasındaki ilişkilerin analizinde normal dağılım varsayımı sağlanmadığından Spearman korelasyon analizleri kullanıldı. Çalışmaya etki eden faktörler dikkate alınarak düzenleyici değişken analizi kullanıldı ve düzeltilmiş belirteç değerleri tekrardan yorumlandı. İki yönlü hipotezlerin testi için $p < 0.05$ istatistiksel önemlilik için yeterli kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışma 48 (37 kadın, 11 erkek) Cushing Hastası ve 40 (31 kadın, 9 erkek) Kontrol grubu ile gerçekleştirildi. Hasta grubunda 11 erkek (%22,9) , 37 kadın (%77,1), kontrol grubunda 9 erkek (%22,5), 31 kadın (%77,5) bulunmaktadır. Cushing hasta grubunda yaş ortalaması $44,04 \pm 13.79$ (min-max; median:19-73;42). Kontrol grubunda ise yaş ortalaması $45,3 \pm 9.31$ (min-max; median: 29-60;45). Kilo ortalaması hasta grubunda 82,47, kontrol grubunda ise 89,51.VKİ hasta grubunda $31,29 \pm 5,76 \text{ kg/m}^2$, kontrol grubunda $33.42 \pm 3,11 \text{ kg/m}^2$ saptandı. Hasta ve kontrol grubu bireylerin CRP, cinsiyet ve yaş ortalamaları benzerdi. Bunun yanında kilo, vki, HbA1c açısından 2 grup arasında anlamlı fark bulunmaktaydı ($P < 0,05$). Trigliserid hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p < 0,05$). Diğer verilerden her iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Hasta ve kontrol grubunun özellikleri Tablo 3 de belirtilmiştir.

Tablo 3:Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik Özellikleri

	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	P Değeri
Cinsiyet n (%)			
Kadın	37 (%77,1)	31 (% 77,5)	>0.05
Erkek	11 (%22,9)	9 (%22,5)	>0.05
Yaş (yıl ±std sapma)	44,04 (13,79)	45,30 (9,31)	>0.05
Kilo (kg±std sapma)	82,47 (13,13)	89,51(11,26)	<0,05*
VKİ (kg/m²)	31,29	32,4	<0,05*
HbA1c(mmol/L)	6,3	5,6	<0,05*
CRP(mg/L)	0,73	0,53	>0.05
Trigliserid(mg/dl)	190,5 ±80	83,5 ±49,2	<0,05*
HDL(mg/dl)	48,5 ±15,5	51,3 ±10,7	>0.05
LDL(mg/dl)	125,1 ±27,5	134,6 ±27,9	>0.05
25-OH(mg/ml)	15,3 ±7,83	17,9 ±8,31	>0.05

*P <0,05 istatistiksel anlamlı

Cushing Hastalığında Kahverengi Yağ Dokusu belirteçleri hasta ve kontrol grubunda anlamlı bir farklılık gösterip göstermediğini test etmek amacıyla Mann-Whitney U-Testi ve Independent Sample T- Testi yapılmıştır. Mann-Whitney-U Testi sonuçları Tabloda gösterilmiştir.

PRDM16, İrisin, BMP7, UCP1 belirteçleri hasta ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4:Hasta ve Kontrol Grubunda Belirteçler

	Hasta Grubu		Kontrol Grubu		P
	Ort.	Ss.	Ort.	Ss.	Değeri
UCP-1	1,4	1.09	1,3	0,74	$>0.05^1$
İrisin	3,2	0,8	2,7	1,16	$>0.05^2$
BMP7	148,1	97,93	158,8	84,78	$>0.05^2$
PRDM16	207,6	136,3	306,9	308,6	$>0.05^2$

¹ Independent T-Test

² Mann Whitney U test

Kahverengi yağ dokusuna etki eden faktörler arasında kilo ve vücut kitle indeksinin de etkisi bulunduğu analizimizde düzenleyici değişken analizi kullanılarak; kilo ve vücut kitle indeksine göre her 2 grubun düzeltilmiş belirteç değerleri hesaplanarak tekrar karşılaştırma yapıldı. Düzeltilmiş değerler arasında 2 grup arasında anlamlı fark saptanmadı ($P>0,05$)

Cushing Hastalığı olan grup kendi içinde değerlendirildiğinde hastaların 19 tanesinde (%40,4) makroadenom, 28 tanesinde (%59,6) mikroadenom saptandı. Tedavi sonrası %82 hasta erken remisyona girerken, %18 hastada hastalık devam etmekteydi. Ayrıca hastaların 6 yıllık takiplerinde %23 tanılı hastanın nüks ettiği, % 77 sinin remisyonda olduğu saptandı. 24 saatlik idrarda serbest kortizol ve adenom boyutu arasında ilişki olup olmadığına dair karşılaştırma yapılmıştır. İdrar kortizol atılımının mikroadenom ve makroadenomlarda kaç kat artış olduğuna dair veriler tabloda gösterilmiştir. Buna göre

mikroadenomlarda idrar serbest kortizolünde 2,6 kat artış olurken; makroadenomlarda bu değer 3.67 olarak saptanmıştır.(p=0,041)

Mikroadenom ve makroadenom şeklinde gruplandırılarak yapılan değerlendirmede Kahverengi Yağ Dokusu belirteçleri ile korelasyon yapılarak karşılaştırıldığında; İrisin, PRDM16 ve BMP7’de istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. UCP1 de ise mikroadenomlarda; makroadenomlara göre belirteçte anlamlı derecede yükseklik saptandı (p<0,05). Erken remisyona giren hastalar ve erken remisyona girmeyen hastalar KYD belirteçleri açısından korelasyon yapılarak karşılaştırıldığında 2 grup arasında anlamlı fark saptanmadı (p >0, 05). Nüks eden vakalar ve nüks olmayan vakalar KYD belirteçleri açısından korelasyon yapılarak karşılaştırıldığında 2 grup arasında anlamlı fark saptanmadı (p >0,05).

Tablo 5:Hasta grubunda nüks, remisyon, boyuta göre belirteçlerin korelasyonu

	Nüks olanlar	Nüks olmayan	Erken remisyon olanlar	Erken remisyon olmayan	Mic	Mac
İrisin medyan (%25-%75)	3,6 (3,1-3,7)	3,7 (2,2-3,7)	3,7 (2,63-3,7)	3,7 (3,7-3,7)	3,7 (2,29-3,7)	3,7 (3,5-3,7)
P değeri	>0,05		>0,05		>0,05	
UCP-1 medyan (%25-%75)	0,79 (0,43-1,12)	0,91 (0,56-2,43)	1,12 (0,55-2,36)	2,52 (0,55-2,72)	1,68 (0,61-2,6)	1,01 (0,49-1,27)
P değeri	>0,05		>0,05		<0,05 *	
PRDM16 medyan (%25-%75)	180 (146-263)	153 (138-217)	157 (142-281)	164 (132-195)	160 (140-240)	152 (138-197)
P değeri	>0,05		>0,05		>0,05	
BMP7 medyan (%25-%75)	98,9 (60-135)	104 (67-240)	127 (72-210)	217 (77-350)	157 (67-242)	86 (65-177)
P değeri	>0,05		>0,05		>0,05	

*P <0,05 istatistiksel anlamlı

Kahverengi yağ doku belirteçleri (BMP7, PRDM16, İrisin, UCP1) hasta grubunda; Tümör çapı, PreopACTH ile istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon göstermediği bulunmuştur ($p>0,05$).

Preoperatif kortizol, gece kortizolü ile İrisin istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon gösterirken ($p<0,05$) diğer yağ doku belirteçleri ile korelasyon saptanmamıştır ($p>0,05$).

UFC (İdrar serbest kortizolü) ile sadece UCP1 belirteçi istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde pozitif bir korelasyon gösterirken ($p<0,05$) diğer yağ doku belirteçleri istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon göstermemiştir ($p>0,05$).

Tablo 6:Hasta grubunda preop acth, preop kortizol, gece kortizolü, idrar serbest kortizolü, tümör çapına göre belirteç korelasyonu

	Tümör çapı		PreOp Acth		PreOp Kortizol		Gece Kortizolü		İdrar serbest Kortizolü	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
İrisin	0,248	0,093	0,041	0,783	0,328	0,024*	0,375	0,019*	0,143	0,411
UCP1	-0,212	0,153	-0,09	0,546	0,145	0,331	-0,079	0,633	0,391	0,02*
PRDM16	-0,029	0,845	-0,124	0,405	-0,097	0,518	0,155	0,346	-0,004	0,984
BMP7	-0,151	0,31	-0,164	0,272	0,094	0,528	-0,082	0,621	-0,239	0,167

* $P < 0,05$ istatistiksel anlamlı

Hasta grubunda kilo arttıkça, UCP1 ve BMP7 belirteçlerinde pozitif yönde korelasyon saptanmıştır [P değerleri sırasıyla (0,002; 0,006)]. Yine aynı şekilde UCP1 ve BMP7 belirteçlerinin vücut kitle indeksi ile pozitif orantılı olarak değiştiği gözlenmiştir [P değerleri sırasıyla (0,043; 0,021)]. Diğer verilerle kahverengi yağ dokusu belirteçleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır.

Tablo 7:Hasta grubunda değişkenler ve belirteçler arasında korelasyonun anlamlılık derecesi

	İrisin	UCP-1	PRDM16	BMP7
TRİGLİSERİD	0,139	0,367	0,134	0,157
LDL	0,484	0,361	0,109	0,798
HDL	0,805	0,137	0,471	0,377
KİLO	0,967	0,002*	0,917	0,006*
YAŞ	0,356	0,581	0,186	0,18
VKİ	0,412	0,043*	0,881	0,021*
CRP	0,844	0,357	0,479	0,638
25-OH	0,419	0,9	0,852	0,746
HBA1C	0,436	0,904	0,108	0,461

*P <0,05 istatistiksel anlamlı

Kontrol grubu değerlendirmesinde ise; trigliserid ile PRDM16 arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon saptanmıştır (P< 0,05). Trigliserid yükselirken PRDM16 belirtecinin azaldığı saptanmıştır. BMP7 ve LDL arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon saptanmıştır (P:0,033). LDL artarken BMP7 belirtecinin azaldığı saptanmıştır. Kontrol grubunda vücut kitle indeksi ile sadece PRDM16 pozitif yönde anlamlı korelasyon göstermiştir (P:0,068). CRP ve BMP7 arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon saptanmıştır. CRP değeri artarken BMP7'nin korele olarak azaldığı gösterilmiştir (P:0,045). Ayrıca D vitamini ve PRDM 16 arasında P:0,072 olacak şekilde pozitif yönde anlamlı bir korelasyon saptanmıştır. Diğer parametreler ve Kahverengi yağ dokusu belirteçleri arasında korelasyon bulunmamıştır.

Tablo 8:Kontrol grubunda değişkenler ve belirteçler arasında korelasyonun anlamlılık derecesi

	İrisin	UCP-1	PRDM16	BMP7
TRİGLİSERİD	0,802	0,63	-0,042*	0,095

LDL	0,152	0,286	0,921	-0,033*
HDL	0,624	0,475	0,183	0,901
KİLO	0,487	0,772	0,454	0,665
YAŞ	0,779	0,295	0,697	0,824
VKİ	0,112	0,318	-0,068*	0,57
CRP	0,878	0,529	0,117	-0,045*
25-OH	0,817	0,379	0,072*	0,147
HBA1C	0,084	0,294	0,677	0,104

*P <0,05 istatistiksel anlamlı

Tüm grupların toplu olarak değerlendirilmesinde ise; trigliserid ile İrisin arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon saptanmıştır (P<0,05). Trigliserid yükselirken İrisin belirtecinin arttığı saptanmıştır. Tüm gruplarda vücut kitle indeksi ile UCP1 ve BMP7 güçlü oranda pozitif yönde anlamlı korelasyon göstermiştir (P<0,05). Yine tüm gruplarda kilo ve UCP1, BMP7 arasında güçlü oranda pozitif yönde korelasyon saptanmıştır (P<0,05). Diğer parametreler ve Kahverengi yağ dokusu belirteçleri arasında korelasyon bulunmamıştır.

Tablo 9:Tüm gruplarda değişkenler ve belirteçler arasında korelasyonun anlamlılık derecesi

	İrisin	UCP-1	PRDM16	BMP7
TRİGLİSERİD	0,049*	0,981	0,120	0,984
LDL	0,466	0,971	0,424	0,50
HDL	0,502	0,101	0,355	0,441
KİLO	0,979	0,003*	0,283	0,001*
YAŞ	0,652	0,310	0,208	0,141
VKİ	0,049*	0,000*	0,289	0,00*
CRP	0,410	0,442	0,842	0,438
25-OH	0,286	0,579	0,125	0,525
HBA1C	0,446	0,896	0,505	0,373

Obezite sınırı olarak VKİ 30 olarak belirlenmiştir ve VKİ değeri 30 altında ve 30 üstünde olarak baz alınarak İrisin, PRDM16, UCP1, BMP7 belirteçleri ile

karşılaştırılmıştır. UCP1 ve BMP7 belirteçlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır (P<0,05). VKİ değeri 30'un altında olan hastalarda UCP1 ve BMP7 belirteçleri; VKİ değeri 30'un üzerinde olan hastalara göre daha düşük bulunmuştur. İrisin ve PRDM16 belirteçlerinde anlamlı farklılık saptanmamıştır (P>0.05).

TG (trigliserid) değeri 150 altında ve 150 üstünde olarak baz alınarak İrisin, PRDM16, UCP1, BMP7 belirteçleri ile karşılaştırılmıştır. TG değeri 150 nin altında olan 15 hasta ve TG değeri 150 üzerinde olan 33 hasta karşılaştırılmıştır. PRDM16 ve BMP7 belirteçlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır (P<0,05). TG değeri 150'nin altında olan hastalarda PRDM16, BMP7 değerleri TG değeri 150'nin üzerinde olan hastalara göre daha yüksek çıkmıştır. İrisin ve UCP1 de anlamlı farklılık saptanmamıştır.

HbA1c değeri 6,5 altında ve 6,5 üstünde olarak baz alınarak İrisin, PRDM16, UCP1, BMP7 belirteçleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

Tablo 10:Hasta grubunda VKİ, TG, HbA1c ye göre belirteç karşılaştırılması

	VKİ		TG		HbA1c	
	<30	>30	<150	>150	<6,5	>6,5
İrisin	2,8(±2,21)	2,6(±0,5)	2,94(±1,14)	3,31 (±0,7)	2.77(±2,21)	2.54(±0,5)
p	>0,05		>0,05		>0,05	
UCP1	1.1(±1,09)	1.5(±0,63)	1,3(±0,68)	1,5(±1,05)	1,8(±0,68)	1,4(±1,05)
p	<0,05	*	>0,05		>0,05	
PRDM16	210(±201)	199(±137)	280,3(±300)	164,7(±145)	213(±201)	185(±137)
p	>0,05		<0,05	*	>0,05	
BMP7	162 (±84,6)	134 (±85)	198,1(±86,8)	99,8(±95)	154(±80)	142(±92)
p	<0,05	*	<0,05	*	>0,05	

*P <0,05 istatistiksel anlamlı

5.TARTIŞMA

Cushing hastalığı, tedavi edilmediği takdirde önemli morbidite ve mortaliteye neden olan ve farklı etyolojilere bağlı olarak gelişen bir hastalıktır. Cushing hastalığında diyabet, dislipidemi, hipertansiyon, santral obezite gibi kardiyovasküler hastalıklara yol açan faktörler sıklıkla görülmektedir(19). CS olan kişilerde KVH (Kardiyovasküler hastalık) gelişmesinde artış olduğu ve KVH gelişiminin CS olan hastalarda mortalite ve morbiditenin en önemli sebebi olduğu bildirilmektedir (23). Çalışmamızda Cushing Hastalarında Kahverengi Yağ Dokusu belirteçleri araştırılmıştır. Cushing hastaları, yaş, VKİ yönünden benzer kişilerden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Cushing hastalığı olan hastalar antropometrik ölçümler, HbA1c, lipid değerleri, Adenom boyutu, preop ACTH, preop Kortizol, idrar serbest kortizol ölçümleri ile değerlendirilmiştir. Çalışmamızda tüm gruplarda kahverengi yağ dokusu miktarının; çeşitli parametrelerle korelasyonu, hasta ve kontrol grubu arasındaki kahverengi yap dokusu miktarı farkları ve cushing hastalığı olan kişilerde hastalığa dair laboratuvar verilerinin korelasyonu araştırılmıştır.

Cushing hastalığı, erişkinlerde 3. veya 4. dekatlarda pik yaparken, kadınlarda 3 kat daha fazla görülmektedir (103). Çalışmamızda hastaların %77'sinin kadın, %23'ünün erkek olduğu görülmüştür. Hastaların yaş ortalaması 44 yıldır. Literatürle uyumlu olarak kliniğimizde takip edilen CS'li hastalarda kadın cinsiyet daha fazla görüldü.

Kahverengi yağ dokusunun adaptif termojenik etkisi ile enerji harcamasının kısa dönem düzenlenmesindeki önemli rolü göz önünde bulundurularak; enerji dengesinin uzun vadede düzenlenmesi ve dolayısıyla beden yağ içeriği üzerine olası etkileri de araştırılmıştır. Hayvan çalışmalarında bu hipotezi destekleyen sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin; şişman fareler Kahverengi yağ dokularında daha az UCP 1 eksprese ederken, aşırı UCP 1 eksprese eden fareler daha az kilolu saptanmıştır (104). İnsanlarda hem klinik hem de deneysel çalışmalar Kahverengi yağ dokusu işlev ve/ya da yaygınlığı ile VKİ,

beden yağ içeriği ve visceral yağ depolanması gibi ölçütler arasında ters yönde bir ilişki ortaya koymaktadır. F18-FDG PET/BT ile değerlendirilen VKİ ve beden yağ oranı sonuçlarının, hem geriye dönük hem de ileriye dönük olarak yapılan çalışmalarında işlevsel Kahverengi yağ dokusu miktarı arasında negatif yönde ilişki saptanmıştır (105). İşlevsel Kahverengi yağ dokusu, normal kilolu erişkinlerde kilolu ve şişmanlara göre 4 kat daha fazla saptanmıştır (54). Kahverengi yağ dokusu işlevsizliği ile şişmanlık arasında ilişki olduğu sonucuna varılmıştır (105). Bariatrik cerrahi ile kilo veren şişmanlarda Kahverengi yağ dokusu işlevinin arttığı gösterilmiştir (68). Sonuç olarak işlevsel Kahverengi yağ dokusu daha çok olan insanların şişmanlığa eğiliminin daha az olduğu bildirilmiştir (56). Bizim çalışmamızda ise hasta ve kontrol grubu arasında kahverengi yağ dokusu belirteçleri açısından fark saptanmamıştır. Cushing hastalarında UCP 1 ve BMP7 kortizole korele olarak artmaktadır fakat kontrol grubuyla belirteçler arasında pozitif yönde bir korelasyon bulunmamaktadır. Bunun sebebi uzun süre yüksek dozda glukokortikoid maruziyetinin cushing hastalarında yağ dokusu işlevselliğinin kaybına neden olması ve invivo direnç oluşturarak belirteçlerin yüksek bulunması olarak yorumlanabilir. Ayrıca bir çalışmada akut kortizol maruziyeti ile KYD aktifleştiği ve bu nedenle de KYD belirteçlerinin artabileceği belirtilmiştir (106). Kronik kortizol maruziyetinin etkilerini ve hangi yol ile olduğunu açıklayacak ayrıntılı çalışmalara gerek olduğu aşikârdır.

Çocuklarda yapılan çalışmalarda işlevsel Kahverengi yağ dokusu miktarının vücut kitle indeksi ile ters orantılı olduğu saptanmış, sonuç olarak çocuklarda Kahverengi yağ dokusunun aktivitesi ile şişmanlık arasında ters yönde bir ilişki olduğu bildirilmiştir (61). Magnetik rezonans görüntüleme (MRG) kullanılarak 9-15 yaş arası, 13'ü normal, 15'i şişman 28 çocuk ve ergen ile yapılan bir çalışmada hepsinin MRG'sinde supraklaviküler yağ dokusu saptanmıştır. Kahverengi yağ dokusundaki yağ oranı ve T2 gevşeme zamanı (mitokondri demir içeriği ile ters orantılı olan bir MRG parametresi) şişmanlarda daha yüksek saptanmış, bu durumun şişmanların Kahverengi yağ dokusunda daha fazla yağ içeriği miktarı ve daha az vaskülarizasyon, daha az mitokondri varlığını gösterdiği saptanmıştır. Sonuç olarak buna bağlı olarak şişmanlarda Kahverengi yağ dokusunun daha az aktif olduğu bildirilmiştir. Cushing hastaları da bu yöntem ile değerlendirilirse KYD aktivite ölçümü belirlenebilir. Bunu inceleyen çalışmalar ile bu hipotez doğrulanabilir.

Saito ve arkadaşları yaptığı çalışmada AKYD miktarının VKİ ve vücudun toplam yağ miktarı ile ters bir ilişkisi olduğunu göstermiştir(80). Ayrıca 2009 yılında Van Marken Lichtenbelt ve arkadaşları AKYD'nin vücudun yağ yüzdesi ile negatif, bazal metabolizma hızı ile pozitif bir korelasyon gösterdiğini saptamıştır (54).Bu sonuçlar, yetişkinlerde izlenen AKYD'nun sistemik metabolizma için faydalı olabileceğini, KYD'nin aktivitesini tetiklemenin; obezite ve obezite ile ilişkili hastalıklar olan dislipidemi ve/veya NAYKH (Non-Alkolik yağlı karaciğer hastalığı) ile mücadele için terapötik olarak yararlı bir strateji olabileceğini akla getirmektedir.

İrisin yeni keşfedilen bir hormon olması nedeniyle, irisinle ilgili yapılan çalışmalar sınırlıdır. İrisin modern çağın hastalıkları olan diyabetes mellitus ve obezite için farklı çözüm arayışlarına umut teşkil etmekle birlikte, henüz yeni bir molekül olduğu için hakkında yapılan çalışmalar bir fikirbirliği oluşturmaya yöneliktir. Bu yüzden birbiri ile son derece çelişkili yayınlar mevcuttur. Bu hormonun yakıt metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rolü olduğu yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur. Ayrıca, pek çok çalışma ile de kan dolaşımındaki irisin seviyesinin, sağlıklı kişilerle karşılaştırıldığı zaman, T2DM'li kişilerde daha düşük olduğu bildirilmiştir (107). Xiang ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda yeni tanı almış T2DM'li hastalar ile normal glukoz toleransı olan kontrollerde serum irisin seviyelerini karşılaştırmışlar ve serum irisin seviyelerinin yeni tanı almış T2DM'li grupta önemli ölçüde düşük olduğunu bulmuşlardır(108). Yukarıdaki bulgulara ilaveten, irisin ve glukoz homeostazisi arasındaki ilişki de gösterilmiştir. Choi ve arkadaşları serum irisin seviyesinin 2. saat plazma glukozu ve HbA1c ile anlamlı derecede ters ilişkili olduğunu bulmuşlardır (107) Ayrıca, Yan ve arkadaşları çinli obez yetişkinlerde, serum irisinin açlık insülin değeri ve HbA1c ile anlamlı derecede ters ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (109). Espes ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada ise T1DM'li kişilerde, özellikle de kadınlarda, irisin seviyesinin arttığını bulmuşlar, ancak bu konuda daha kesin bilgilere ulaşmak için daha fazla çalışma yapılması gerektiğini de vurgulamışlardır (110). Çalışmamızda kontrol grubu diyabetik olmayan bireylerden seçilmiştir. Sonuç verilerimizde hasta grubunda HbA1c yüksek saptanmıştır. İrisinin, hepatik glukoz ve lipid metabolizmasını geliştirerek, pankreas hücre fonksiyonlarını destekleyerek ve beyaz adipoz dokuyu kahverengi adipoz dokusuna dönüştürür. Ayrıca iskelet kası ve kalbinde insülin reseptörünün hassasiyetini arttırarak insülin direncini azalttığı ve bunun yanında Cushing gibi metabolik hastalıkları tedavi

ettiği önerisi sürülmüştür(111). Glukokortikoid hâkimiyetinin kahverengi yağ dokusu miktarının azaltmasına bağlı olarak hasta grubunda normalden daha düşük irisin miktarı beklenmesi gerekirdi. Fakat bizim çalışmamızda hasta grubunun ve kontrol grubunun serum örnekleri karşılaştırıldığında, irisin değerleri açısından hasta ve kontrol grubunda anlamlı derecedefark bulunmamıştır ($p>0,05$). Hasta grubunda HbA1c değeri 6,5 altında ve 6,5 üstünde olarak temel alınarak; diyabeti olanlar ve olmayanlar arasında İrisin belirteçi ile karşılaştırıldığında örnek çalışmalardan farklı olarak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p >0,05$).

Yapılan bazı çalışmalarda irisin ve enerji metabolizması belirteçleri arasındaki ilişkiler araştırılmış, ancak, birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Mesela; Timmons ve arkadaşları irisinin miyosit ekspresyonunun vücut kitle indeksi ile ilişkili olmadığını belirtirken, Huh ve arkadaşları dolaşımdaki irisin miktarının vücut kitle indeksi ile pozitif ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (112)(67) Yapılan daha kapsamlı bir çalışmada, Kurdiova ve arkadaşları kas ve yağ dokusunda sentezlenen ve dolaşıma salınan FNDC5/irisin seviyelerini sedanter, zayıf, obez, prediyabetik ve T2DM’li hastalarda farklılıklarını araştırmışlardır (113). Dolaşımdaki en yüksek irisin seviyesinin zayıf hastalarda olduğunu, obez ve prediyabetik hastalarda anlamlı bir değişiklik olmadığını bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda tüm grupta korelasyon saptanırken, hasta ve kontrol grubu olarak ayırınca fark kayboluyor bu da kortizol aksının etkisi olmadığını düşündürüyor. ($U=237$, $p>0,05$).

UCP1’in enerji harcanmasını artırarak vücut ağırlığını azalttığı birçok çalışmada gösterilmiştir (114)(115). UCP1 ve Obezite arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada UCP1 polimorfizmlerinin önemli bir ilişkisi; obez kohortta yaş, cinsiyet ve tip 2 diyabet ayarlandıktan sonra UCP1 değerinin azaldığını göstermiştir ($p<0,05$) (116). 1994 yılında bir çalışmada UCP1 geninde polimorfizm saptanmış ve bu durum yıllar içinde kilo almaya eğilimde artış ile ilişkili bulunmuştur (117). Yakın zamanda Türkiye’de 268 şişman and 185 kontrol grubu çocuk ve ergen ile yapılan bir çalışmada, UCP1-3826A/G polimorfizminin çocukluk çağı şişmanlığı gelişiminde rol oynayan etmenlerden biri olduğu bildirilmiştir. (112). Carey ve arkadaşları çalışmasında 9 normal ağırlıklı ve 8 şişman erişkin hastalarının derialtı beyaz yağ dokusundan alınan biyopsi örneklerinden adipojenik öncül hücreler elde edilerek kültüre konmuş, bej adipositlere farklılaşmaları sağlanmıştır.

Her iki olgu grubunda da adipojenik öncül hücrelerde farklılaşma öncesinde UCP 1 gen ekspresyonu ve proteini saptanmazken, kültüre konulan hücrelerde farklılaşma sonrası hem UCP 1 ekspresyonu hem de UCP 1 proteini saptanmıştır. Western blot yöntemi ile saptanan UCP 1 proteini miktarı normal ağırlıklılarda şişmanlara göre 9 kat daha fazla saptanmıştır. Sonuç olarak insan beyaz yağ dokusu hücrelerinin Kahverengi yağ dokusu hücreleri özelliklerini kazanabileceği ve bu kapasitenin şişmanlarda daha az olduğu bildirilmiştir (118). Yapılan başka bir çalışmada ise sc ozmotik mini pompalarla FGF21'in infüzyonunun UCP1 miktarını artırarak total kalori alımını azaltmadan veya fiziksel aktiviteyi etkilemeden doz bağımlı olarak diyetle indüklenmiş obez farelerin vücut ağırlığını %20 oranında azalttığı belirtilmiştir. Fakat yapılan bir çalışmada kronik glukokortikoid fazlalığı kemirgenlerde KYD aktivasyonunu baskıladığı gösterilmiş. Glukokortikoidlerin insanlarda KYD aktivitesini düzenleyip düzenlemediğini test edilmiş. İn vitro glukokortikoidler primer mürin kahverengi ve bej adipositlerinde UCP-1'i önemli ölçüde azalttığı bildirilmektedir (106). Çalışmamızda hasta ve Kontrol grubu kilo ve VKİ açısından farklı gruplardır. Kontrol grubunda UCP1 ve kilo arasında ilişki saptanmazken hasta grubunda pozitif korelasyon saptanmıştır. Kontrol grubunun VKİ daha yüksek olması nedeniyle KYD belirteçlerinin düşük olması beklenebilirdi ve gruplar arası farka neden olabilirdi. Fakat kilo ve VKİ düzenlenerek yapılan regresyon analizinde fark saptanmamıştır. Kilosu ve VKİ yüksek olan hastalarda UCP1 yüksek bulunmuştur. Bu kronik glukokortikoid (GK) maruziyetinin bir sonucu olabilir. Kısa süreli GK maruziyeti KYD aktifleşmesini baskımlarken, CH'nda olduğu gibi uzun süreli yüksek ve ciddi dozlarda endojen GK maruziyeti irisin ve UCP1 etkisine karşı dirence neden olabilir. Bu direnç nedeniyle irisin ve UCP1 değerleri ilerleyen dönemde yüksek bulunmuş olabilir. CH'da KYD belirteçleri daha önce çalışılmadığı için bu yeni bir bulgudur ve ileri çalışmalar ile doğrulanması gerekmektedir. Ayrıca CH olan grupta obez olanlar ve olmayanlar arasında UCP1 değerleri incelenmiştir. VKİ<30 olan hastalarda; VKİ >30 olan hastalara göre anlamlı olacak şekilde UCP1 miktarının düşük olduğu saptanmıştır. Bu bulgu ile VKİ'nin CH olan bireylerde dahi bağımsız olarak UCP1'in düzenleyicisi olduğunu düşündürmektedir (P<0,05).

KYD, dokuya özgü UCP1 yoluyla termojenez için yakıt harcar; Bir zamanlar KYD'nun sadece kemirgenlerde ve bebeklerde fonksiyonel bir rolü olduğu düşünülmüş, ancak son zamanlarda hafif soğuk maruz kalmaya yanıt olarak yetişkin insan KYD'ın gram

başına diğer dokulardan daha fazla glikoz tükettiği gösterilmiştir (70). Bu geçici olmayan termogeneze ek olarak, insan KYD ayrıca, artan tüm vücut enerji alımının ayarlanmasında daha aktif hale kilo verilmesini ve diyabetten korunabilmeyi sağlar. UCP1 aktivasyonunun obezite ve metabolik düzensizlik için güvenli bir tedavi olarak kullanılabilceğini ve DM'nin iyileştirilmesine yardımcı olabileceği gösterilmiştir. Dokularda eksprese edilen UCP1 genine bakıldığında, gelecekte UCP1'in kas dokusunda, adacık hücrelerinde diyabet tedavisi için de kullanılabilir Diyabet hastalarında UCP1 miktarının olmayanlara göre daha düşük saptandığı söylenebilir(119). Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarında UCP1 ve HbA1c korelasyonu saptanmamıştır. Hasta grubunda HbA1c değeri 6,5 altında ve 6,5 üstünde olacak şekilde karşılaştırıldığında UCP1 belirteci ile istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($P>0,05$). Bu konuda daha geniş hasta grubuna ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Obeziteyi araştıran bir çalışmada, kahverengi yağ dokusunun iki anahtar transkripsiyonel ayarlayıcısı olan PRDM16 ve peroksizom PGC-1 α 'yı doğrudan hedefleyerek kahverengi adiposit farklılaşmasını ve bej yağ gelişimini baskıladığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar obezite ve PRDM16 miktarının ilgili olabileceğini göstermektedir. Bizim çalışmamızda hasta grubunda PRDM16 düzeylerinin kilo ve VKİ ile anlamlı bir korelasyon görülmedi, obez olan ve olmayan hastalar arasında da fark saptanmadı. Fakat kontrol grubunda VKİ ve PRDM16 miktarının negatif yönde korrele olduğu görüldü. Bu bulgu kaynaklar ile uyumlu saptandı. Hasta grubunda obez olan ve olmayanlar arasında PRDM16 değişimi incelendiğinde; VKİ değeri 30'un altında olan hastalarla VKİ değeri 30'un üzerinde olan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır

PRDM16'nın adipoz dokudan ablasyonunun yapıldığı bir çalışmada deri altı yağda bej adiposit fonksiyonunun belirgin şekilde inhibe edildiği görülmüş. Bu etki şiddetli insülin direnci ve hepatik steatozla birlikte obezite ve cushing gibi metabolik hastalıkların gelişmesine sebebiyet vermiş. Bu bulgular, PRDM16 ve bej adipositlerin, beyaz yağın "Kahverengileşmesi" ve deri altı adipoz dokuların sağlıklı etkileri için gerekli olduğunu göstermektedir. Cushing gibi metabolik hastalıklarda PRDM16 seviyesinin düşük olması beklenmektedir (10). Fakat bizim çalışmamızda PRDM16 belirteci hasta ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık

saptanmamıştır($U=847,5$) ($p>0,05$). Çalışmamızda kilo fazlalığı nedeniyle KYD belirteçlerinde oluşabilecek farkı ortadan kaldırmak için kontrol grubu VKİ uyumlu olarak alındı. Yüksek düzeylerde kronik endojen GK maruziyetinin PRDM16 düzeyleri üzerine etkisi saptanamadı. Bu konuda daha geniş farklı dizaynda çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bir çalışmada, BMP7 endojen büyüme faktörü ile farelerin 4 haftalık tedavisinin, beyaz yağ dokusunda KYD hacmini ve bej hücrelerinin oluşumunu etkili bir şekilde arttırdığını ve tüm vücut metabolizmasını arttırdığını gösterilmiştir. Dahası, BMP7, beyaz yağ içeriğini, karaciğer lipid birikimini azaltabildiği gibi, diyet kaynaklı obez farelerde dislipidemi ve hiperglisemi de azalttığı ve BMP7'nin obezite ve ilgili hastalıklarla mücadelede terapötik potansiyeli olduğu vurgulanmıştır (120). Çalışmamızda hasta ve Kontrol grubu kilo ve VKİ açısından benzerdir. Hasta grubunda kilo ve BMP7 arasında diğer çalışmalara benzer şekilde bir ters korelasyon saptanması beklenirken, kilosu ve VKİ yüksek olan hastalarda BMP7 yüksek bulunmuştur. Tezimizi güçlendirme amaçlı yalnızca hasta grubunda yani glukokortikoid maruziyeti olan bireyler arasında; obez olanlar ve olmayanlar arasında BMP7 değerleri incelenmiştir. VKİ<30 olan hastalarda; VKİ >30 olan hastalara göre anlamlı olacak şekilde BMP7 miktarının yüksek olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Bu bulguların yine kronik GK maruziyetine bağlı gelişen direnç mekanizmaları ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. KYD gelişimini arttıran hormon, protein ve aracı moleküllere, periferik dokularda ya da ekspresyon düzeyinde direnç gelişebileceği öngörülebilir. Fakat bunları gösterebilecek moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır. Hasta grubunda HbA1c değeri 6,5 altında ve 6,5 üstünde olarak baz alınarak BMP7 belirteçleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($U=244$) ($p>0,05$).

Farelerle yapılan çalışmada BMP7 ile 4 hafta süreyle tedavinin obez farelerde yalnızca diyet kaynaklı beyaz yağ içeriğini azaltmadığını, aynı zamanda karaciğer lipid birikimini, plazma TG seviyelerini ve daha az miktarda plazma kolesterol seviyelerini düşürdüğünü bulunmuş. Plazma lipid seviyelerindeki düşüş muhtemelen BMP7 tarafından indüklenen KYD aktivitesinin sonucudur (48). Bartelt ve arkadaşları KYD'nun plazma TG'ni temizlemek için muazzam bir kapasiteye sahip olduğunu göstermektedir (72) 4 saat soğuk indüksiyon ($4^{\circ}C$) ciddi hipertrigliseridemik farelerde plazma TG seviyelerini normal seviyelere indirmektedir. Plazma TG seviyelerinin artması hem erkeklerde hem de

kadınlarda kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk faktörü olduğu için BMP7, KYD'nu hedefleyerek dislipidemiye hafifleterek kardiyovasküler hastalığı yönetmede ilginç bir tedavi yöntemi olabilir (121). Bizim çalışmamızda BMP7 belirteci hasta grubunda lipidlerle anlamlı bir korelasyon göstermemekte iken kontrol grubunda BMP7 artışı ile LDL kolesterol seviyesinde negatif bir korelasyon saptanmıştır (P:0,033). BMP7 seviyeleri arttıkça LDL kolesterol miktarları azalmıştır. TG değerinde ise hasta ve kontrol grubunda BMP7 ile anlamlı korelasyon saptanmazken, TG değeri 150'nin altında olan hastalarda BMP7 belirteci TG değeri 150'nin üzerinde olan hastalara göre daha yüksek çıkmıştır. Literatürle uyumlu bulunmuştur (P<0,05).

Kemik morfogenetik proteinleri (BMP'ler) de dâhil olmak üzere TGF süper ailesinin üyelerinin pankreas adacık morfogenezi, mass-hücre kütleleri oluşturulması ve adipoz hücre kaderi tayininde rol aldığı gösterilmiştir. Burada, BMP-4 ve BMP-7'nin glukoz homeostazı ve insülin direncinin düzenlenmesinde yeni ve doğrudan bir rol oynadığını gösterilmiştir. Tip 2 diyabetli hayvan modellerinde serum BMP-7 seviyelerinde azalma gözlemlendi. Bu çalışmada BMP-7'nin insülin salınımında ve dolayısıyla glukoz homeostazında etkilerinin olduğu gösterilmiştir. BMP-7; Glut4 ekspresyonunu artırarak adipoz ve kas gibi insüline duyarlı dokularda glukoz alımını arttırmıştır. Diyabetik hayvanların serumunda BMP-7 seviyelerinin artırılması, tedavi edilen yaş kontrol grubunun aksine kan şekeri seviyelerinin azalmasına ve diyabet için yeni bir terapötik yol açılmasına neden olmuştur. Bu nedenle BMP-7, diyabet gibi çok yönlü bir hastalığın üstesinden gelmek için çekici bir adaydır, çünkü sadece vücut yağını azaltmakla kalmaz, aynı zamanda insülin sinyalizasyonunu güçlendirir, glukoz alımını artırır ve periferik insülin direncini iyileştirir (122). Bizim çalışmamızda hasta grubunda BMP7 değerleri ve HbA1c arasında korelasyon saptanmamıştır, diyabetik bireylerde HbA1c açısından kontrollü ve kontrolsüz olarak hastalar gruplandırıldığında da fark görülmemiştir. Bu iki neden bağlı olabilir; birincisi hasta grubunda kötü kontrollü diyabetik hasta sayısının çok az olması, ikincisi ise bu hastalarda görülen diyabetin hiperkortizolemiye bağlı sekonder DM olması olabilir.

Glukokortikoidlerin KYD üzerinde etkisini araştıran çift-kör plasebo kontrollü çalışmada 13 sağlıklı yetişkine bir hafta boyunca günde 15 mg oral prednizolon tedavisi

uygulandı ve KYD miktarı PET ile değerlendirildi. Sonuc olarak ise Glukokortikoide akut maruz kalmak, insan KYD fonksiyonunu baskılar. Enerji üretiminin artması ve enerjinin ısı olarak azalmasının azalması karşısında lipojenez, glukokortikoidlerin enerjiiyi besin alımından sonra yağ depolamaya yönlendirdiğini göstermektedir (3). Uzun süreli ve endojen GK maruziyetini gösteren bir çalışma yoktur, bizim çalışmamızda bu grup hastada kronik maruziyetin kısa süreli maruziyetten farklı etki gösterebileceğini düşündüren bulgular elde edilmiştir. Kronik maruziyet ile KYD gelişimindeki uzun süreli baskılanma duyarsızlığa neden olup belirtilen KYD belirteçlerinde pozitif feedback ile artışa neden olmuş olabilir.

CS'li hastalarda bildirilen dislipidemi sıklığı %38-71 arasında değişmektedir (123)(124). Mancini ve arkadaşları, dislipidemini diğer metabolik komplikasyonlardan daha az sıklıkta görüldüğünü ve hiperkortizolizm veya hastalık süresi ile korele olmadığını göstermiştir (123). Fakat dislipidemi CS'li hastalarda KV riski belirlemede önemli bir rol oynar (23). Artmış KV riski yönetmek için dislipidemini CS'li hastalarda ciddi bir şekilde tedavi edilmesi önerilmektedir (125). Bununla birlikte, dislipidemi için kortizol fazlalığının nedensel rolü çalışmalarda kapsamlı bir şekilde tanımlanmamıştır ve bulgular tartışmalıdır. Genel fikir birliği, CS'de, trigliserid ve total kolesterol düzeylerinde artış ile birlikte VLDL ve LDL dolaşımında artış olurken HDL değişken düzeylerde olabilir (126). Bu değişiklikler hiperkortizolizmin düzeltilmesinden sonra normale döner veya iyileşir (123). TG değerinin hasta grubu ve kontrol grubu arasında farkına dair Bartelt ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı çalışmaları mevcuttur. Bu çalışmaya göre soğuk stres maruziyeti ile farelerde KYD aktivasyonu oluşturulması sonucunda, dolaşımdaki trigliseritlerin KYD tarafından alındığı ve bu durumun KYD saptanan farelerde serum trigliserit düzeylerinde önemli bir düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (72). Çalışmamızda hasta grubunun TG ortalaması 190, kontrol grubunun TG ortalaması 83 olarak saptanmıştır. Hasta grubunda 48 hastanın 33 tanesinin (%68) TG değeri 150 üzerinde saptanmıştır.

Fareler üzerinde yapılan deneylerde, akut soğuk maruziyetinin; yağ asitleri, trigliserid ve kolesterolün KYD aracılı plazma klirensini belirgin bir şekilde arttırdığını ve aynı zamanda kolesterolle zenginleştirilmiş lipoprotein kalıntılarının hepatik klirensini arttırdığını göstermektedir(127)(72)(128). Bizim çalışmamızda PRDM16 belirteci hasta grubunda lipidlerle anlamlı bir korelasyon göstermemekte iken kontrol grubunda

PRDM16, artışı ile TG kolesterol seviyesinde negatif bir korelasyon saptanmıştır (P=0,023). PRDM16 seviyeleri arttıkça TG miktarları azalmıştır. LDL değerinde ise hasta ve kontrol grubunda PRDM16 ile anlamlı korelasyon saptanmamıştır. TG değeri 150'nin altında olan hastalarda PRDM16 belirteçi Tg değeri 150'nin üzerinde olan hastalara göre daha yüksek çıkmıştır (P<0,05). Çalışmamızda benzer olarak glukokortikoid etkisindeki cushing hastalarında azalan KYD nedeniyle lipoproteinlerin hepatik klirensi azalmıştır. Hasta grubunda TG ortalaması 190 iken; kontrol grubunda 83 olarak saptanmıştır (P<0,05). HDL ve LDL hasta ve kontrol grubunda benzer olarak saptanmıştır (P>0,05).

Cushing hastalığı gibi temelde insülin direncinin olduğu polikistik over hastaları ve CRP düzeyleri arasındaki ilişkinin incelendiği çalışmada irisin düzeyleri hasta grubunda; kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş. UCP1 değerleri ise hasta grubunda daha düşük bulunmuştur. Ayrıca hasta grubunda inflamasyon belirteci olan CRP de yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak artan irisin ve düşen UCP1 düzeylerinde çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (129). Çalışmalar; Cushing hastalığında görülen artmış insülin direncinin C-reaktif proteinin artmasına neden olduğu gösterilmiştir (130). Çalışmamızda BMP7 düzeyleri ile CRP arasında negatif ilişki görülmüştür. İnflamasyon arttıkça BMP7 düşmektedir fakat irisin ve UCP1 değerlerinin CRP ile anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Biz bu çalışmada Cushing hastalığı ile kahverengi yağ dokusu arasındaki ilişkiyi kahverengi yağ dokusu belirteçleri olan irisin, UCP1, PRDM16, BMP7 üzerinden değerlendirmeyi, cushing hasta grubu ve kontrol grubu arasındaki farkları ortaya koymayı amaçladık.

Cushing hasta grubu ve kontrol grubu belirteçleri olan İrisin, UCP1, PRDM16, BMP7 açısından benzerdi. Kilo ve VKİ açısından fark saptanan bu iki grup arasında, düzenlenmiş regresyon analizi ile bakılan istatistiksel değerlendirme ile bu bulgu doğrulandı.

Hasta grubunda erken remisyona girenler ve nüks olanların İrisin, UCP1, PRDM16, BMP7 ile korelasyonu incelendiğinde aralarında anlamlı ilişki saptanmadı. Yine KYD adenom boyutu ve kahverengi yağ dokusu belirteçleri arasındaki korelasyon

değerlendirildiğinde anlamlı ilişki saptanmadı. Belirteçlerin hastalık prognozu ile ilişkisiz olduğu düşünüldü.

Preoperatif acth ile kahverengi yağ dokusu belirteçleri arasında anlamlı korelasyon saptanmazken, preoperatif kortizol ve irisin eş yönde artmaktadır. Gece kortizolü ile İrisin arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanırken; UCP1, PRDM16, BMP7 ve gece kortizolü arasında anlamlı ilişki saptanmadı. İdrar kortizolü ve UCP1 arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon saptanırken, diğer belirteçler ve UCP1 arasında ilişki saptanmadı. Bu bulgu hiperkortizoleminin derecesi ile irisin ve UCP1'in pozitif ilişkili olduğunu gösterdi.

Hasta ve kontrol grubunda ayrı ayrı, tüm gruplarda ise genel olarak kahverengi yağ dokusu belirteçleri İrisin, UCP1, PRDM16, BMP7 ile TG, HDL, LDL, kilo, yaş, vki, CRP, 25-OH, Hba1c gibi değişkenler arasındaki ilişkiler incelendi. İrisin belirteci tüm gruplar beraber değerlendirildiğinde VKİ ve TG ile pozitif yönde anlamlı bir korelasyon gösterdi. Hasta grubu ayrı değerlendirildiğinde bu korelasyonun kaybolduğu görüldü ve kortizol aksının bu yolakta etkili olmadığı düşünüldü.

Akut ekzojen hiperkortizoleminin KYD belirteçlerini baskıladığı çalışmalarda görülmüştür. Fakat bizim çalışmamızda baskılanma görülmediği gibi irisin ve UCP1 değerlerinin kortizol artışı pozitif korele olduğu saptanmıştır. Bunun sebebi uzun süre yüksek dozda glukokortikoid maruziyetinin cushing hastalarında yağ dokusu işlevselliğinin kaybına neden olması ve invivo direnç oluşturarak belirteçlerin yüksek bulunması olarak yorumlanabilir. Az sayıda çalışmada akut kortizol maruziyeti ile KYD aktifleştiği ve bu nedenle de KYD belirteçlerinin arttığı da gösterilmiştir. Bu bilgi de hipotezimizi destekleyebilir. UCP1 ve BMP7'nin enerji harcanmasını artırarak vücut ağırlığını azalttığı birçok çalışmada gösterilmiş. Fakat çalışmamızda UCP1 ve BMP7'nin VKİ ve kiloya korele bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Bu kronik olarak ve yüksek doz endojen glukokortikoid maruziyetinin in vivo dirence sebep olarak belirteçleri yükselmesi olarak yorumlanabilir. KYD aracılı plazma lipid klirensinin arttığına dair çalışmalar mevcuttur. Kontrol grubunda BMP7'nin LDL ve CRP ile negatif yönde korelasyonda olduğu görülmüştür.

PRDM16'nın obezite ile ilgisini gösteren çalışmalarda, kiloyu azalttığı gösterilmiştir. grubunda değişkenler arasında saptanmazken, kontrol grubunda PRDM16'nın TG ve VKİ ile çalışmamızda PRDM16 belirteci ile hasta ters korelasyon gösterdiği ve D vitamini ile pozitif yönde anlamlı ilişkisi olduğu görülmüştür.

KYD'nun obezite, hipertrigliseridemi ve diyabeti azalttığını gösteren çalışmalar vardır. Hasta grubunda obezite, trigliserid, diyabet için sınır değerler belirlenerek belirteçlerin ilişkisi incelendiğinde; obez hastalarda UCP1 ve BMP7 belirtecinin daha düşük saptanmıştır. Hipertrigliseridemisi olan hastalarda PRDM16 ve BMP 7 daha düşük olduğu görülmüştür. Diyabetik olan ve olmayan hastalar arasında kahverengi yağ dokusu belirteçleri açısından farklılık görülmemiştir.

7.ÖZET

Amaç: Beyaz, kahverengi ve bej olmak üzere üç çeşit yağ dokusu vardır. Beyaz yağ dokusu enerji depolanmasından, kahverengi yağ dokusu ise enerji harcanmasından sorumludur. Bej ise kahverengi kadar olmasa da termojenik etkisi olan bir yağ dokusudur. Glukokortikoidlerin kahverengi yağ dokusu aktivitesini baskıladığı düşünülmektedir. Çalışmamızda amaç kronik endojen kortizol maruziyeti olan cushing hastalığı grubu ile obezite dışında hastalığı olmayan kontrol grubu arasındaki farkları; kahverengi yağ dokusu belirteçleri ile ortaya koymaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya; Cushing hastalığı tanısı alan 48 hasta ve yaşları 30-60 arasında değişen, fazla kilolu veya obezitesi olan, cushing hastalığı taraması yapılan ve negatif bulunan, normal glukoz toleransına sahip 40 birey kontrol grubu olarak alındı. Hastalardan alınan örnekler ve KYD kitleri için Sandwich-ELISA ilkesi kullanıldı. KYD belirteçleri irisin, UCP1, PRDM16, BMP7 konsantrasyonları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Bulgular: Cushing hasta grubu ve kontrol grubu arasında kahverengi yağ dokusu markerları olan İrisin, UCP1, PRDM16, BMP7 hasta ve kontrol grubunda benzer saptandı. Cushing hasta grubu ve kontrol grubu belirteçleri olan İrisin, UCP1, PRDM16, BMP7 açısından benzerdi. Kilo ve VKİ açısından fark saptanan bu iki grup arasında, düzenlenmiş

regresyon analizi ile bakılan istatistiksel değerlendirme ile bu bulgu doğrulandı. Preoperatif kortizol ve gece kortizolü ile İrisin arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptandı. Cushing hastalarında UCP1 ve BMP7 kortizol, kilo ve vki ile korele olarak artmaktaydı. Trigliseridi ve CRP'si yüksek olan hastalarda PRDM16 ve BMP7'nin daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Tartışma: KYD belirteçlerinin hasta ve kontrol grubunda, kilo ve VKİ açısından eş durumda dahi benzer olduğu görülmüştür. KYD belirteçlerinin cushing hastalığı grubunda kortizole korele olarak yüksek olması, endojen olarak yüksek dozda glukokortikoid maruziyetinin in vivo dirence neden olarak KYD belirteçlerini yükseltebileceğini göstermiştir. Preoperatif kortizol ve gece kortizolünün irisinle; idrar serbest kortizolünün ise UCP1 ile korele olarak arttığı görülmüştür. Bu bulgular hiperkortizoleminin kronik bulguları olarak değerlendirilebilecek yeni bulgulardır. Daha geniş ölçekli prospektif yolak tanımlayıcı çalışmalar ile doğrulanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Cushing hastalığı; kahverengi yağ dokusu; obezite; enerji dengesi.

8.ABSTRACT

Objective: There are three types of adipose tissue: white, brown and beige. White adipose tissue is responsible for energy storage and brown adipose tissue is responsible for energy consumption. Beige is a fatty tissue that has a thermogenic effect, although not as brown. Glucocorticoids are thought to suppress brown fat tissue activity. The aim of our study was to compare the differences between cushing's disease group with chronic endogenous cortisol exposure and control group without disease except obesity; is to reveal with brown adipose tissue markers.

Materials and Methods: To work; The control group consisted of 48 patients diagnosed with Cushing's disease and 40 individuals with age range of 30-60, overweight or obesity, cushing's disease screening and negative, normal glucose tolerance. Sandwich-ELISA principle was used for samples and KYD kits. IRD markers iris, UCP1, PRDM16, BMP7 concentrations were measured spectrophotometrically.

Results: The Irisin, UCP1, PRDM16, BMP7, brown fat tissue markers were similar between the Cushing patient group and the control group. The markers Irisin, UCP1, PRDM16, BMP7 were similar in Cushing patient and control group markers. This finding was confirmed by statistical regression analysis between the two groups in terms of weight and BMI. There was a positive correlation between preoperative cortisol and night cortisol and Irisin. In Cushing's patients, UCP1 and BMP7 were correlated with cortisol, weight and BMI. PRDM16 and BMP7 were lower in patients with high triglyceride and CRP.

Conclusions: The markers of BAT were similar in both patient and control groups, even in terms of weight and BMI. The high levels of BAT markers correlated with cortisol levels in the Cushing disease group indicated that endogenous high dose glucocorticoid exposure may induce resistance in vivo to elevate markers of BAT. Preoperative cortisol and night cortisol irisin; urinary free cortisol was found to be correlated with UCP1. These findings are new findings that may be considered as chronic findings of hypercortisolemia. Larger prospective pathway should be confirmed by descriptive studies.

Key words: Cushing disease, brown adipose tissue, obesity, energy balance

9.KAYNAKÇA

1. Sharma ST, Nieman LK, Feelders RA. Comorbidities in Cushing's disease. Pituitary [Internet]. 2015 Apr [cited 2019 Sep 19];18(2):188–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25724314>
2. Ravussin E, Galgani JE. The implication of brown adipose tissue for humans. Annu Rev Nutr [Internet]. 2011 Aug 21 [cited 2019 Sep 19];31:33–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21548774>
3. Thuzar M, Law WP, Ratnasingam J, Jang C, Dimeski G, Ho KKY. Glucocorticoids suppress brown adipose tissue function in humans: A double-blind placebo-controlled study. Diabetes Obes Metab [Internet]. 2018 [cited 2019 Sep 19];20(4):840–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29119718>
4. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1a dependent myokine that derives browning of white fat and thermogenesis. Nature. 2012;481(7382):463–8.
5. Strack AM, Bradbury MJ, Dallman MF. Corticosterone decreases nonshivering thermogenesis and increases lipid storage in brown adipose tissue. Am J Physiol [Internet]. 1995 Jan [cited 2019 Sep 19];268(1 Pt 2):R183-91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7840319>

6. Zhang Y, Xie C, Wang H, Foss RM, Clare M, George EV, et al. Irisin exerts dual effects on browning and adipogenesis of human white adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* [Internet]. 2016 [cited 2019 Sep 19];311(2):E530-41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27436609>
7. Tseng Y-H, Kokkotou E, Schulz TJ, Huang TL, Winnay JN, Taniguchi CM, et al. New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure. *Nature* [Internet]. 2008 Aug 21 [cited 2019 Sep 19];454(7207):1000-4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18719589>
8. Harms M, Seale P. Brown and beige fat: Development, function and therapeutic potential. Vol. 19, *Nature Medicine*. 2013. p. 1252-63.
9. Seale P, Conroe HM, Estall J, Kajimura S, Frontini A, Ishibashi J, et al. Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *J Clin Invest* [Internet]. 2011 Jan [cited 2019 Sep 19];121(1):96-105. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21123942>
10. Cohen P, Levy JD, Zhang Y, Frontini A, Kolodin DP, Svensson KJ, et al. Ablation of PRDM16 and beige adipose causes metabolic dysfunction and a subcutaneous to visceral fat switch. *Cell* [Internet]. 2014 Jan 16 [cited 2019 Sep 19];156(1-2):304-16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24439384>
11. Nieman LK, Biller BMK, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: An endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(5):1526-40.
12. Yener S, Ertlav S, Secil M, Akinci B, Demir T, Kebapcilar L, et al. Increased risk of unfavorable metabolic outcome during short-term follow-up in subjects with nonfunctioning adrenal adenomas. *Med Princ Pract* [Internet]. 2012 [cited 2019 Sep 19];21(5):429-34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22398948>
13. Adrenal steroid biosynthesis - UpToDate [Internet]. [cited 2019 Sep 19]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/adrenal-steroid-biosynthesis>
14. Raff H, Findling JW. A physiologic approach to diagnosis of the Cushing syndrome. *Ann Intern Med* [Internet]. 2003 Jun 17 [cited 2019 Sep 19];138(12):980-91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12809455>
15. Disorders of the Adrenal Cortex | Harrison's Principles of Internal Medicine, 19e | AccessMedicine | McGraw-Hill Medical [Internet]. [cited 2019 Sep 19]. Available from: <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1130§ionid=79752055>
16. Peckett AJ, Wright DC, Riddell MC. The effects of glucocorticoids on adipose tissue lipid metabolism. *Metabolism* [Internet]. 2011 Nov [cited 2019 Sep 19];60(11):1500-10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21864867>
17. Vegiopoulos A, Herzig S. Glucocorticoids, metabolism and metabolic diseases. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2007 Sep 15 [cited 2019 Sep 19];275(1-2):43-61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17624658>
18. Coutinho AE, Chapman KE. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Mol Cell Endocrinol*

- [Internet]. 2011 Mar 15 [cited 2019 Sep 19];335(1):2–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20398732>
19. Epidemiology and clinical manifestations of Cushing’s syndrome - UpToDate [Internet]. [cited 2019 Sep 19]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-and-clinical-manifestations-of-cushings-syndrome/print>
 20. De Leo M, Pivonello R, Auriemma RS, Cozzolino A, Vitale P, Simeoli C, et al. Cardiovascular disease in Cushing’s syndrome: heart versus vasculature. *Neuroendocrinology* [Internet]. 2010 [cited 2019 Sep 19];92 Suppl 1:50–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20829618>
 21. Hopkins RL, Leinung MC. Exogenous Cushing’s syndrome and glucocorticoid withdrawal. *Endocrinol Metab Clin North Am* [Internet]. 2005 Jun [cited 2019 Sep 19];34(2):371–84, ix. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15850848>
 22. Debono M, Newell-Price JD. Cushing’s Syndrome: Where and How to Find It. *Front Horm Res* [Internet]. 2016 [cited 2019 Sep 19];46:15–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27211887>
 23. Arnaldi G, Angeli A, Atkinson a. B, Bertagna X, Cavagnini F, Chrousos GP, et al. Diagnosis and Complications of Cushing’s Syndrome: A Consensus Statement Arnaldi, G., Angeli, a., Atkinson, a. B., Bertagna, X., Cavagnini, F., Chrousos, G. P., ... Boscaro, M. (2003). Diagnosis and Complications of Cushing’s Syndrome: A Consensus Statement. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2003 Dec [cited 2019 Sep 19];88(12):5593–602. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14671138>
 24. Newell-Price J, Bertagna X, Grossman AB, Nieman LK. Cushing’s syndrome. *Lancet (London, England)* [Internet]. 2006 May 13 [cited 2019 Sep 19];367(9522):1605–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16698415>
 25. Yaneva M, Vandeva S, Zacharieva S, Daly AF, Beckers A. Genetics of Cushing’s Syndrome. *Neuroendocrinology* [Internet]. 2010 [cited 2019 Sep 19];92(1):6–10. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/314215>
 26. Albani A, Pérez-Rivas LG, Dimopoulou C, Zopp S, Colón-Bolea P, Roeber S, et al. The USP8 mutational status may predict long-term remission in patients with Cushing’s disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* [Internet]. 2018 Jun 29 [cited 2019 Sep 19]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29957855>
 27. Bansal V, El Asmar N, Selman WR, Arafah BM. Pitfalls in the diagnosis and management of Cushing’s syndrome. *Neurosurg Focus* [Internet]. 2015 Feb [cited 2019 Sep 19];38(2):E4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25639322>
 28. Pivonello R, De Martino MC, Cappabianca P, De Leo M, Faggiano A, Lombardi G, et al. The medical treatment of Cushing’s disease: effectiveness of chronic treatment with the dopamine agonist cabergoline in patients unsuccessfully treated by surgery. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2009 Jan [cited 2019 Sep 19];94(1):223–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18957500>
 29. Wajchenberg BL, Mendonca BB, Liberman B, Pereira MA, Carneiro PC, Wakamatsu A, et al. Ectopic adrenocorticotrophic hormone syndrome. *Endocr Rev* [Internet]. 1994 Dec [cited

- 2019 Sep 19];15(6):752–87. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7705280>
30. TÜRKİYE ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA DERNEĞİ | KILAVUZLAR [Internet]. [cited 2019 Sep 19]. Available from: <http://temd.org.tr/Kilavuzlar>
 31. Gilbert R, Lim EM. The diagnosis of Cushing’s syndrome: an endocrine society clinical practice guideline. *Clin Biochem Rev* [Internet]. 2008 Aug [cited 2019 Sep 19];29(3):103–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19107223>
 32. Chiodini I, Mascia ML, Muscarella S, Battista C, Minisola S, Arosio M, et al. Subclinical hypercortisolism among outpatients referred for osteoporosis. *Ann Intern Med* [Internet]. 2007 Oct 16 [cited 2019 Sep 19];147(8):541–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17938392>
 33. Cronin C, Igoe D, Duffy MJ, Cunningham SK, McKenna TJ. The overnight dexamethasone test is a worthwhile screening procedure. *Clin Endocrinol (Oxf)* [Internet]. 1990 Jul [cited 2019 Sep 19];33(1):27–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2401096>
 34. Wind JJ, Lonser RR, Nieman LK, DeVroom HL, Chang R, Oldfield EH. The lateralization accuracy of inferior petrosal sinus sampling in 501 patients with Cushing’s disease. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2013 Jun [cited 2019 Sep 19];98(6):2285–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23553862>
 35. Biller BMK, Grossman AB, Stewart PM, Melmed S, Bertagna X, Bertherat J, et al. Treatment of adrenocorticotropin-dependent Cushing’s syndrome: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Jul [cited 2019 Sep 19];93(7):2454–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18413427>
 36. Zada G. Diagnosis and multimodality management of cushing’s disease: A practical review. Vol. 2013, *International Journal of Endocrinology*. 2013.
 37. Schteingart DE. Drugs in the medical treatment of Cushing’s syndrome. *Expert Opin Emerg Drugs* [Internet]. 2009 Dec [cited 2019 Sep 19];14(4):661–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19939210>
 38. Sonino N, Boscaro M. Medical therapy for Cushing’s disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* [Internet]. 1999 Mar [cited 2019 Sep 19];28(1):211–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10207692>
 39. Schmid HA. Pasireotide (SOM230): development, mechanism of action and potential applications. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2008 May 14 [cited 2019 Sep 19];286(1–2):69–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17977644>
 40. Batista DL, Zhang X, Gejman R, Ansell PJ, Zhou Y, Johnson SA, et al. The effects of SOM230 on cell proliferation and adrenocorticotropin secretion in human corticotroph pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2006 Nov [cited 2019 Sep 19];91(11):4482–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16940446>
 41. Gross BA, Mindea SA, Pick AJ, Chandler JP, Batjer HH. Medical management of Cushing disease. *Neurosurg Focus* [Internet]. 2007 [cited 2019 Sep 19];23(3):E10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17961023>

42. Feelders RA, De Bruin C, Pereira AM, Romijn JA, Netea-Maier RT, Hermus AR, et al. Pasireotide alone or with cabergoline and ketoconazole in Cushing's disease. Vol. 362, *New England Journal of Medicine*. Massachusetts Medical Society; 2010. p. 1846–8.
43. Spitz IM. Progesterone antagonists and progesterone receptor modulators: an overview. *Steroids* [Internet]. 2003 Nov [cited 2019 Sep 19];68(10–13):981–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14667991>
44. Curtò L, Torre ML, Ferraù F, Pitini V, Altavilla G, Granata F, et al. Temozolomide-induced shrinkage of a pituitary carcinoma causing Cushing's disease--report of a case and literature review. *ScientificWorldJournal* [Internet]. 2010 Nov 4 [cited 2019 Sep 19];10:2132–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21057727>
45. Páez-Pereda M, Kovalovsky D, Hopfner U, Theodoropoulou M, Pagotto U, Uhl E, et al. Retinoic acid prevents experimental Cushing syndrome. *J Clin Invest*. 2001;108(8):1123–31.
46. Clayton RN, Raskauskiene D, Reulen RC, Jones PW. Mortality and morbidity in Cushing's disease over 50 years in Stoke-on-Trent, UK: audit and meta-analysis of literature. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2011 Mar [cited 2019 Sep 19];96(3):632–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21193542>
47. Lindholm J, Juul S, Jørgensen JO, Astrup J, Bjerre P, Feldt-Rasmussen U, et al. Incidence and late prognosis of cushing's syndrome: a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2001 Jan [cited 2019 Sep 19];86(1):117–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11231987>
48. Cannon B, Cannon B. (2004). Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. *Physiological Reviews*, 84(1), 277–359. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2003> Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. *Physiol Rev* [Internet]. 2004 [cited 2019 Sep 19];84(1):277–359. Available from: <http://www.physiology.org/doi/pdf/10.1152/physrev.00015.2003>
49. JANSKÝ L. NON-SHIVERING THERMOGENESIS AND ITS THERMOREGULATORY SIGNIFICANCE. *Biol Rev* [Internet]. 2008 Jan 21 [cited 2019 Sep 19];48(1):85–132. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-185X.1973.tb01115.x>
50. Tews D, Wabitsch M. Renaissance of brown adipose tissue. Vol. 75, *Hormone Research in Paediatrics*. 2011. p. 231–9.
51. Hildebrand S, Stümer J, Pfeifer A. PVAT and its relation to brown, beige, and white adipose tissue in development and function. Vol. 9, *Frontiers in Physiology*. Frontiers Media S.A.; 2018.
52. Barrington SF, Maisey MN. Skeletal muscle uptake of fluorine-18-FDG: effect of oral diazepam. *J Nucl Med* [Internet]. 1996 Jul [cited 2019 Sep 19];37(7):1127–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8965182>
53. Hany TF, Gharehpapagh E, Kamel EM, Buck A, Himms-Hagen J, von Schulthess GK. Brown adipose tissue: a factor to consider in symmetrical tracer uptake in the neck and upper chest region. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* [Internet]. 2002 Oct [cited 2019 Sep 19];29(10):1393–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12271425>
54. van Marken Lichtenbelt WD, Vanhommerig JW, Smulders NM, Drossaerts JMAFL, Kemerink

- GJ, Bouvy ND, et al. Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *N Engl J Med* [Internet]. 2009 Apr 9 [cited 2019 Sep 19];360(15):1500–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19357405>
55. Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, et al. Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, Kuo FC, Palmer EL, Tseng Y-H, Doria A, Kolodny GM & Kahn CR (2009) Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N. Engl. J. Med.* 360: 1509–17 Available at: [http://www. NEngl J Med](http://www.NEnglJMed) [Internet]. 2009 [cited 2019 Sep 19];360(15):1509–17. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2859951&tool=pmcentrez&endertype=abstract>
 56. Yoneshiro T, Aita S, Matsushita M, Kameya T, Nakada K, Kawai Y, et al. Brown adipose tissue, whole-body energy expenditure, and thermogenesis in healthy adult men. *Obesity.* 2011 Jan;19(1):13–6.
 57. Gilsanz V, Smith ML, Goodarzian F, Kim M, Wren TAL, Hu HH. Changes in brown adipose tissue in boys and girls during childhood and puberty. *J Pediatr* [Internet]. 2012 Apr [cited 2019 Sep 19];160(4):604-609.e1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22048045>
 58. Au-Yong ITH, Thorn N, Ganatra R, Perkins AC, Symonds ME. Brown adipose tissue and seasonal variation in humans. *Diabetes* [Internet]. 2009 Nov [cited 2019 Sep 19];58(11):2583–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19696186>
 59. Vosselman MJ, van Marken Lichtenbelt WD, Schrauwen P. Energy dissipation in brown adipose tissue: from mice to men. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2013 Oct 15 [cited 2019 Sep 19];379(1–2):43–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23632102>
 60. Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, Heglind M, Westergren R, Niemi T, et al. Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N Engl J Med* [Internet]. 2009 Apr 9 [cited 2019 Sep 19];360(15):1518–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19357407>
 61. Drubach LA, Palmer EL, Connolly LP, Baker A, Zurakowski D, Cypess AM. Pediatric brown adipose tissue: detection, epidemiology, and differences from adults. *J Pediatr* [Internet]. 2011 Dec [cited 2019 Sep 19];159(6):939–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21839465>
 62. Aquila H, Link TA, Klingenberg M. The uncoupling protein from brown fat mitochondria is related to the mitochondrial ADP/ATP carrier. Analysis of sequence homologies and of folding of the protein in the membrane. *EMBO J.* 1985 Sep;4(9):2369–76.
 63. Himms-Hagen J, Cui J, Danforth E, Taatjes DJ, Lang SS, Waters BL, et al. Effect of CL-316,243, a thermogenic beta 3-agonist, on energy balance and brown and white adipose tissues in rats. *Am J Physiol* [Internet]. 1994 Apr [cited 2019 Sep 19];266(4 Pt 2):R1371-82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7910436>
 64. Feldmann HM, Golozoubova V, Cannon B, Nedergaard J. UCP1 ablation induces obesity and abolishes diet-induced thermogenesis in mice exempt from thermal stress by living at thermoneutrality. *Cell Metab* [Internet]. 2009 Feb [cited 2019 Sep 19];9(2):203–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19187776>

65. Cypess AM, Chen Y-C, Sze C, Wang K, English J, Chan O, et al. Cold but not sympathomimetics activates human brown adipose tissue in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2012 Jun 19 [cited 2019 Sep 19];109(25):10001–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22665804>
66. Fisher FM, Kleiner S, Douris N, Fox EC, Mepani RJ, Verdeguer F, et al. FGF21 regulates PGC-1 α and browning of white adipose tissues in adaptive thermogenesis. *Genes Dev* [Internet]. 2012 Feb 1 [cited 2019 Sep 19];26(3):271–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22302939>
67. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, et al. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism*. 2012 Dec;61(12):1725–38.
68. Vijgen GHEJ, Bouvy ND, Teule GJJ, Brans B, Hoeks J, Schrauwen P, et al. Increase in brown adipose tissue activity after weight loss in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2012 Jul [cited 2019 Sep 19];97(7):E1229-33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22535970>
69. Leitner BP, Huang S, Brychta RJ, Duckworth CJ, Baskin AS, McGehee S, et al. Mapping of human brown adipose tissue in lean and obese young men. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Aug 8;114(32):8649–54.
70. Orava J, Nuutila P, Nojonen T, Parkkola R, Viljanen T, Enerbäck S, et al. Blunted metabolic responses to cold and insulin stimulation in brown adipose tissue of obese humans. *Obesity (Silver Spring)* [Internet]. 2013 Nov [cited 2019 Sep 19];21(11):2279–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23554353>
71. Giordano A, Frontini A, Cinti S. Convertible visceral fat as a therapeutic target to curb obesity. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2016 [cited 2019 Sep 19];15(6):405–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26965204>
72. Bartelt A, Bruns OT, Reimer R, Hohenberg H, Ittrich H, Peldschus K, et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nat Med* [Internet]. 2011 Feb [cited 2019 Sep 19];17(2):200–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21258337>
73. Guerra C, Navarro P, Valverde AM, Arribas M, Brüning J, Kozak LP, et al. Brown adipose tissue-specific insulin receptor knockout shows diabetic phenotype without insulin resistance. *J Clin Invest* [Internet]. 2001 Oct [cited 2019 Sep 19];108(8):1205–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11602628>
74. Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serrano M, Guerra E, Pardo G, Tinahones F, et al. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2013 Apr [cited 2019 Sep 19];98(4):E769-78. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23436919>
75. Kelly DP. *Medicine: Irisin, light my fire*. Vol. 335, *Science*. American Association for the Advancement of Science; 2012. p. 42–3.
76. Sakamoto T, Takahashi N, Sawaragi Y, Naknukool S, Yu R, Goto T, et al. Inflammation induced by RAW macrophages suppresses UCP1 mRNA induction via ERK activation in

- 10T1/2 adipocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* [Internet]. 2013 Apr 15 [cited 2019 Sep 19];304(8):C729-38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23302779>
77. Yoneshiro T, Aita S, Matsushita M, Kayahara T, Kameya T, Kawai Y, et al. Recruited brown adipose tissue as an antiobesity agent in humans. *J Clin Invest* [Internet]. 2013 Aug [cited 2019 Sep 19];123(8):3404-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23867622>
 78. Brondani L de A, Assmann TS, Duarte GCK, Gross JL, Canani LH, Crispim D. The role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metabol* [Internet]. 2012 Jun [cited 2019 Sep 19];56(4):215-25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22790465>
 79. Gunawardana SC, Piston DW. Reversal of type 1 diabetes in mice by brown adipose tissue transplant. *Diabetes* [Internet]. 2012 Mar [cited 2019 Sep 19];61(3):674-82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22315305>
 80. Saito M, Okamatsu-Ogura Y, Matsushita M, Watanabe K, Yoneshiro T, Nio-Kobayashi J, et al. High Incidence of Metabolically Active Brown Adipose Tissue in Healthy Adult Humans. *Diabetes* [Internet]. 2009 [cited 2019 Sep 19];58(7):1526-31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19401428>
 81. Ma SWY, Foster DO. Uptake of glucose and release of fatty acids and glycerol by rat brown adipose tissue in vivo. *Can J Physiol Pharmacol*. 1986;64(5):609-14.
 82. Rosenwald M, Wolfrum C. The origin and definition of brite versus white and classical brown adipocytes. *Adipocyte*. 2014 Jan 28;3(1):4-9.
 83. Cao W, Medvedev A V, Daniel KW, Collins S. beta-Adrenergic activation of p38 MAP kinase in adipocytes: cAMP induction of the uncoupling protein 1 (UCP1) gene requires p38 MAP kinase. *J Biol Chem* [Internet]. 2001 Jul 20 [cited 2019 Sep 19];276(29):27077-82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11369767>
 84. Aydin S. Three new players in energy regulation: preptin, adropin and irisin. *Peptides* [Internet]. 2014 Jun [cited 2019 Sep 19];56:94-110. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24721335>
 85. Seldin MM, Lei X, Tan SY, Stanson KP, Wei Z, Wong GW. Skeletal muscle-derived myonectin activates the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway to suppress autophagy in liver. *J Biol Chem* [Internet]. 2013 Dec 13 [cited 2019 Sep 19];288(50):36073-82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24187137>
 86. Castillo-Quan JI. From white to brown fat through the PGC-1 α -dependent myokine irisin: implications for diabetes and obesity. *Dis Model Mech* [Internet]. 2012 May [cited 2019 Sep 19];5(3):293-5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22566556>
 87. Sanchez-Delgado G, Martinez-Tellez B, Olza J, Aguilera CM, Gil Á, Ruiz JR. Role of Exercise in the Activation of Brown Adipose Tissue. *Ann Nutr Metab* [Internet]. 2015 [cited 2019 Sep 19];67(1):21-32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26227180>
 88. Polyzos SA, Anastasilakis AD, Efstathiadou ZA, Makras P, Perakakis N, Kountouras J, et al. Irisin in metabolic diseases. *Endocrine* [Internet]. 2018 [cited 2019 Sep 19];59(2):260-74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29170905>

89. Teresa Arias-Loste M, Ranchal I, Romero-Gómez M, Crespo J. Irisin, a link among fatty liver disease, physical inactivity and insulin resistance. Vol. 15, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2014. p. 23163–78.
90. Hofmann T, Elbelt U, Stengel A. Irisin as a muscle-derived hormone stimulating thermogenesis--a critical update. *Peptides* [Internet]. 2014 Apr [cited 2019 Sep 19];54:89–100. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24472856>
91. Bargut TCL, Souza-Mello V, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Browning of white adipose tissue: lessons from experimental models. *Horm Mol Biol Clin Investig* [Internet]. 2017 Jan 18 [cited 2019 Sep 19];31(1). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28099124>
92. Gamas L, Matafome P, Seica R. Irisin and myonectin regulation in the insulin resistant muscle: Implications to adipose tissue: Muscle crosstalk. Vol. 2015, *Journal of Diabetes Research*. Hindawi Publishing Corporation; 2015.
93. Seale P, Kajimura S, Yang W, Chin S, Rohas LM, Uldry M, et al. Transcriptional Control of Brown Fat Determination by PRDM16. *Cell Metab*. 2007 Jul 11;6(1):38–54.
94. Seale P, Bjork B, Yang W, Kajimura S, Chin S, Kuang S, et al. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature* [Internet]. 2008 Aug 21 [cited 2019 Sep 19];454(7207):961–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18719582>
95. Trajkovski M, Ahmed K, Esau CC, Stoffel M. MyomiR-133 regulates brown fat differentiation through Prdm16. *Nat Cell Biol* [Internet]. 2012 Dec [cited 2019 Sep 19];14(12):1330–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23143398>
96. Christian M, Parker MG. The engineering of brown fat. *J Mol Cell Biol*. 2010;2(1):23–5.
97. Zamani N, Brown CW. Emerging roles for the transforming growth factor- β superfamily in regulating adiposity and energy expenditure. *Endocr Rev* [Internet]. 2011 Jun [cited 2019 Sep 19];32(3):387–403. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21173384>
98. Townsend KL, Suzuki R, Huang TL, Jing E, Schulz TJ, Lee K, et al. Bone morphogenetic protein 7 (BMP7) reverses obesity and regulates appetite through a central mTOR pathway. *FASEB J* [Internet]. 2012 May [cited 2019 Sep 19];26(5):2187–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22331196>
99. Artaza JN, Bhasin S, Magee TR, Reisz-Porszasz S, Shen R, Groome NP, et al. Myostatin inhibits myogenesis and promotes adipogenesis in C3H 10T(1/2) mesenchymal multipotent cells. *Endocrinology* [Internet]. 2005 Aug [cited 2019 Sep 19];146(8):3547–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15878958>
100. Kiefer FW. Browning and thermogenic programming of adipose tissue. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2016 Aug [cited 2019 Sep 19];30(4):479–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27697209>
101. Cinti S. UCP1 protein: The molecular hub of adipose organ plasticity. *Biochimie* [Internet]. 2017 Mar [cited 2019 Sep 19];134:71–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27622583>

102. Wang QA, Tao C, Gupta RK, Scherer PE. Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. *Nat Med* [Internet]. 2013 Oct [cited 2019 Sep 19];19(10):1338–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23995282>
103. Castinetti F, Morange I, Conte-Devolx B, Brue T. Cushing's disease. *Orphanet J Rare Dis* [Internet]. 2012 Jun 18 [cited 2019 Sep 19];7:41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22710101>
104. Lowell BB, Spiegelman BM. Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature* [Internet]. 2000 Apr 6 [cited 2019 Sep 19];404(6778):652–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10766252>
105. Vijgen GHEJ, Bouvy ND, Teule GJJ, Brans B, Schrauwen P, van Marken Lichtenbelt WD. Brown adipose tissue in morbidly obese subjects. *PLoS One* [Internet]. 2011 Feb 24 [cited 2019 Sep 19];6(2):e17247. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21390318>
106. Ramage LE, Akyol M, Fletcher AM, Forsythe J, Nixon M, Carter RN, et al. Glucocorticoids Acutely Increase Brown Adipose Tissue Activity in Humans, Revealing Species-Specific Differences in UCP-1 Regulation. *Cell Metab*. 2016 Jul 12;24(1):130–41.
107. Choi Y-K, Kim M-K, Bae KH, Seo H-A, Jeong J-Y, Lee W-K, et al. Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* [Internet]. 2013 Apr [cited 2019 Sep 19];100(1):96–101. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23369227>
108. Xiang L, Xiang G, Yue L, Zhang J, Zhao L. Circulating irisin levels are positively associated with endothelium-dependent vasodilation in newly diagnosed type 2 diabetic patients without clinical angiopathy. *Atherosclerosis* [Internet]. 2014 Aug [cited 2019 Sep 19];235(2):328–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24911636>
109. Yan B, Shi X, Zhang H, Pan L, Ma Z, Liu S, et al. Association of serum irisin with metabolic syndrome in obese Chinese adults. *PLoS One* [Internet]. 2014 [cited 2019 Sep 19];9(4):e94235. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24709991>
110. Espes D, Lau J, Carlsson PO. Increased levels of irisin in people with long-standing Type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2015 Sep 1;32(9):1172–6.
111. Gizaw M, Anandakumar P, Debela T. A review on the role of irisin in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *J Pharmacopuncture*. 2017;20(4):235–42.
112. Guilherme A, Virbasius J V, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2008 May [cited 2019 Sep 19];9(5):367–77. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18401346>
113. Kurdiova T, Balaz M, Vician M, Maderova D, Vlcek M, Valkovic L, et al. Effects of obesity, diabetes and exercise on Fndc5 gene expression and irisin release in human skeletal muscle and adipose tissue: In vivo and in vitro studies. *J Physiol*. 2014 Mar 1;592(5):1091–107.
114. Douris N, Stevanovic DM, Fisher FM, Cisu TI, Chee MJ, Nguyen NL, et al. Central Fibroblast Growth Factor 21 Browns White Fat via Sympathetic Action in Male Mice. *Endocrinology* [Internet]. 2015 Jul [cited 2019 Sep 19];156(7):2470–81. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25924103>

115. Owen BM, Ding X, Morgan DA, Coate KC, Bookout AL, Rahmouni K, et al. FGF21 acts centrally to induce sympathetic nerve activity, energy expenditure, and weight loss. *Cell Metab*. 2014 Oct 7;20(4):670–7.
116. Samms RJ, Smith DP, Cheng CC, Antonellis PP, Perfield JW, Kharitonov A, et al. Discrete Aspects of FGF21 In Vivo Pharmacology Do Not Require UCP1. *Cell Rep [Internet]*. 2015 May 19 [cited 2019 Sep 19];11(7):991–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25956583>
117. Oppert JM, Vohl MC, Chagnon M, Dionne FT, Cassard-Doulcier AM, Ricquier D, et al. DNA polymorphism in the uncoupling protein (UCP) gene and human body fat. *Int J Obes Relat Metab Disord [Internet]*. 1994 Aug [cited 2019 Sep 19];18(8):526–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7951471>
118. Carey AL, Vorlander C, Reddy-Luthmoodoo M, Natoli AK, Formosa MF, Bertovic DA, et al. Reduced UCP-1 content in in vitro differentiated beige/brite adipocytes derived from preadipocytes of human subcutaneous white adipose tissues in obesity. *PLoS One [Internet]*. 2014 [cited 2019 Sep 19];9(3):e91997. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24642703>
119. Liu J, Li J, Li W-J, Wang C-M. The role of uncoupling proteins in diabetes mellitus. *J Diabetes Res [Internet]*. 2013 [cited 2019 Sep 19];2013:585897. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23841103>
120. Boon MR, van den Berg SAA, Wang Y, van den Bossche J, Karkampouna S, Bauwens M, et al. BMP7 Activates Brown Adipose Tissue and Reduces Diet-Induced Obesity Only at Subthermoneutrality. *PLoS One*. 2013 Sep 16;8(9).
121. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk [Internet]*. 1996 Apr [cited 2019 Sep 19];3(2):213–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8836866>
122. Chattopadhyay T, Singh RR, Gupta S, Surolia A. Bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) augments insulin sensitivity in mice with type II diabetes mellitus by potentiating PI3K/AKT pathway. *Biofactors [Internet]*. 2017 Mar [cited 2019 Sep 19];43(2):195–209. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28186649>
123. Mancini T, Kola B, Mantero F, Boscaro M, Arnaldi G. High cardiovascular risk in patients with Cushing’s syndrome according to 1999 WHO/ISH guidelines. *Clin Endocrinol (Oxf) [Internet]*. 2004 Dec [cited 2019 Sep 19];61(6):768–77. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15579193>
124. Tauchmanová L, Rossi R, Biondi B, Pulcrano M, Nuzzo V, Palmieri E-A, et al. Patients with subclinical Cushing’s syndrome due to adrenal adenoma have increased cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab [Internet]*. 2002 Nov [cited 2019 Sep 19];87(11):4872–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12414841>
125. Greenman Y. Management of dyslipidemia in Cushing’s syndrome. *Neuroendocrinology [Internet]*. 2010 [cited 2019 Sep 19];92 Suppl 1:91–5. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20829626>

126. Lionakis MS, Kontoyiannis DP. Glucocorticoids and invasive fungal infections. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2003 Nov 29 [cited 2019 Sep 19];362(9398):1828–38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14654323>
127. Bartelt A, John C, Schaltenberg N, Berbée JFP, Worthmann A, Cherradi ML, et al. Thermogenic adipocytes promote HDL turnover and reverse cholesterol transport. *Nat Commun* [Internet]. 2017 [cited 2019 Sep 20];8:15010. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28422089>
128. Berbée JFP, Boon MR, Khedoe PPSJ, Bartelt A, Schlein C, Worthmann A, et al. Brown fat activation reduces hypercholesterolaemia and protects from atherosclerosis development. *Nat Commun* [Internet]. 2015 Mar 10 [cited 2019 Sep 20];6:6356. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25754609>
129. Yildiz N, Calan M, Cobanoglu M, Sengul Hİ, Kocabas GU, Guclu S. The association between increased circulating irisin levels and inflammatory markers in polycystic ovary syndrome. *Endocr Abstr*. 2016 May 13;
130. Gelaye B, Revilla L, Lopez T, Suarez L, Sanchez SE, Hevner K, et al. Association between insulin resistance and c-reactive protein among Peruvian adults. *Diabetol Metab Syndr*. 2010;2(1).