T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

METABOLİK SENDROMLU HASTALARDA VE SAĞLIKLI BİREYLERDE SERUM VİSFATİN DÜZEYLERİ VE PARAOKSONAZ ENZİM AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşe ŞENELMİŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Yrd Doç. Dr. Aysel KIYICI

KONYA-2009

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tez çalışmamda daima bana yol gösteren değerli hocam Anabilim Dalı Başkanımız Prof Dr. İdris MEHMETOĞLU'na ve bölümdeki diğer hocalarıma,

Tez konumun seçiminde ve çalışmalarım süresince bilimsel açıdan yardımcı olan, manevi destek ve güler yüzünü esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Aysel KIYICI'ya,

Hasta ve kontrol gruplarının oluşturulmasında yardımcı olan Aile Hekimliği Polikliniği Öğretim Üyesi Doç.Dr. Kamile MARAKOĞLU' na,

Tez çalışmam sırasında örneklerin toplanması ve bazı analizlerin yapılmasında bana yardımcı olan Araş. Gör. Hatice KARAOĞLAN'a ve arkadaşım Hümeyra ERCAN'a,

Beni bugünlere getiren, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili annem ve babama,

Dünyalar güzeli kızıma ve yüksek lisans eğitimim her aşamasında yanımda olan; hem maddi hem de manevi desteğini hissettiğim değerli eşime

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ŞEKİL VE ÇİZELGELER v

SİMGELER VE KISALTMALAR vi

1. GİRİŞ 1

1.1. Metabolik Sendromun Tanımı ve Tanı Kriterleri 2

1.1.1. Metabolik Sendromun Görülme Sıklığı 4

1.1.2. Fizyopatalojisi 5

1.1.3. İnsülin direnci ve diyabet 5

1.1.4. Hipertansiyon 7

1.1.5. Obezite 8

1.1.6. Dislipidemi 10

1.2. Paraoksonaz 11

1.2.1. Tarihçe 11

1.2.2. Yapısı ve Özellikleri 12

1.2.3. Substratları 14

1.2.4. Sentez ve Sekresyonu 15

1.2.5. Paraoksonaz Gen Ailesi 15

1.2.6. Polimorfizmi 16

1.2.7. Paraoksonaz ve Metabolik Sendrom 16

1.3. Visfatin 17

2. GEREÇ VE YÖNTEM 21

2.1. Çalışma Şekli 21

2.2. Olgu Seçimi 21

2.3. Örneklerin Toplanması ve Saklanması 22

2.4. Fiziksel Özelliklerin Ölçümü 22

2.4.1. Arteriyel Tansiyon Ölçümü 22

2.4.2. Vücut Kütle İndeksi Hesaplanması 22

2.4.3. Bel Çevresi ve Kalça Çevresi Ölçümü 23

2.5. Biyokimyasal Analizler 23

2.5.1. Paraoksonaz aktivitesi tayini 23

2.5.2. Arilesteraz Aktivitesi Tayini 25

2.5.3. Visfatin Analizi 26

2.5.4. Diğer Biyokimyasal Ölçümler 28

2.5.5. İstatistiksel Analiz **29**
3. BULGULAR **30**
4. TARTIŞMA **35**
5. SONUÇ VE ÖNERİLER **41**
6. ÖZET **42**
7. SUMMARY **43**
8. KAYNAKLAR **44**
9. ÖZGEÇMİŞ **50**

ŞEKİL VE ÇİZELGELER

Çizelge 1-1: WHO Metabolik sendrom tanı kriterleri.

Çizelge 1-2: ATP III Metabolik sendrom tanı kriterleri.

Çizelge 1-3: IDF 2005 Metabolik sendrom tanı kriterleri.

Çizelge 1-4: Metabolik Sendrom'un klinik yansımaları.

Şekil 1-1: İnsan Serum Paraoksonaz (PON 1) Enziminin Yapısı.

Çizelge 3-1: Metabolik sendrom ve kontrol gruplarına ait demografik özellikler.

Çizelge 3-2: Metabolik sendrom ve kontrol gruplarının biyokimyasal analiz verileri.

Çizelge 3-3: PON1, ARE aktiviteleri ve visfatin düzeyleri ile metabolik sendrom kriterleri arasındaki korelasyon analiz sonuçları.

Şekil 3-1: Grupların PON1 aktiviteleri.

Şekil 3-2: Grupların ARE aktiviteleri.

Şekil 3-3: Grupların visfatin düzeyleri.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ARE:	**Arilesteraz**
BKI:	**Vücut Kütle İndeksi**
DM:	**Diabetus Mellitus**
HDL:	**Yüksek Dansiteli Lipoprotein**
HDL-K:	**Yüksek Dansiteli Lipoprotein Kolesterolü**
HOMA:	**Homeostatik Model Değerlendirme**
IDF:	**Uluslararası Diyabet Federasyonu**
IGF 1:	**İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü**
KAH:	**Koroner Arter Hastalığı**
LDL:	**Düşük Dansiteli Lipoprotein**
METSAR:	**Türkiye Metabolik Sendrom Araştırması**
MS:	**Metabolik Sendrom**
NCEP:	**Ulusal Kolesterol Eğitim Programı**
NCEP-ATP III:	**Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı 3. Erişkin Tedavi Paneli**
PKOS:	**Polikistik Over Sendromu**
PON1:	**Paraoksonaz 1**
PON2:	**Paraoksonaz 2**
PON3:	**Paraoksonaz 3**
QUICKI:	**Kantitatif İnsülin Sensitivite İndeksi**
SYA:	**Serbest Yağ Asidi**
TEKHARF:	**Türk Erişkinleri Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması**
TG:	**Trigliserit**
TURDEP:	**Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi**
VKİ:	**Vücut Kitle İndeksi**
VLDL:	**Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein**
WHO:	**Dünya Sağlık Örgütü**

1. GİRİŞ

Metabolik sendrom (MS), insülin direnci temelinde ortaya çıkan ve klinik tablosunda tip 2 diyabet (DM), abdominal obezite, esansiyel hipertansiyon, dislipidemi, hiperürisemi ve fibrinoliz defekti bulunan, çoğunlukla koroner kalp hastalığına yol açan prematüre aterosklerozun yer aldığı bir semptom kompleksidir (Reaven ve Laws 1994). MS, sanayileşmiş modern toplum üyelerinin hareketsiz yaşam tarzını benimsemeleri ve beslenme alışkanlıklarını değiştirmeleri sonucu oluşan ve çevresel etkenlerin yanısıra, kalıtımla gelen bazı özelliklerin de gelişiminde rol oynadığı ciddi bir sağlık problemi haline gelmiştir (Işıldak ve ark 2004).

Kalıtsal yanı konusunda bir tereddüt bulunmamasına karşılık hareketsiz yaşam tarzı, fast-food alışkanlığı, sigara kullanımı ve özellikle stres sendromun giderek daha erken yaşlarda ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Zimmet 1999).

MS'ye neden olan bileşenlerin her biri, ciddi kalp hastalığı risk faktörüdür. Bu bileşenlerin aynı anda, bir arada olması, herbirinin taşıdığı risklerin toplamından daha fazla tehlike arzetmektedir (Blaton 2005). Prospective Cardiovascular Münster çalışmasında 40-65 yaş grubu erkeklerde 4 yıllık miyokard enfarktüsü riski, hipertansiyon veya DM varlığında 2,5 kez artmış bulunurken, bu iki risk faktörünün birlikte bulunmasında bu risk 8 kat artmaktadır ve bu iki faktöre bozulmuş bir lipid profili de ekleniyorsa risk 19 katına çıkmaktadır (Ginsberg ve Stahlenhoef 2003).

Paraoksonaz (PON1, arildialkilfosfataz), 43kDa ağırlığında ve 354 aminoasitten oluşan glikoprotein yapısında doğal antioksidan bir enzimdir. Sentez ve salınımı karaciğer tarafından yapılmaktadır. Bir insektisit olan parationun toksik bir metaboliti olan paraoksonu hidrolize edebilme yeteneği nedeniyle bu isimle anılmıştır. Ateroskleroz oluşumunda yüksek dansiteli lipoproteinler ile PON1 arasında sıkı ve paralel ilişki olduğu belirlenmiştir. Kronik karaciğer hastalığı, DM ve sigara içenlerde bu enzimin aktivitesi düşük bulunmuştur (Hong ve ark 2001).

Visfatin, en son keşfedilen adipokindir (Kralisch ve ark 2005). Visfatin insülin reseptörüne insülinden uzak bir yerde bağlanır ve hepatositlerden glukoz salınımını

azaltarak ve periferal dokulardaki glukoz kullanımını teşvik ederek hipoglisemik etki oluşturur. Visfatin plazma konsantrasyonları, abdominal obezitesi veya DM'si olan insanlarda artmaktadır (Beltowski 2006).

Biz de çalışmamızda; metabolik sendromda ve sağlıklı bireylerde paraoksonaz aktiviteleri ile visfatin düzeylerini saptayıp; bu parametrelerin birbirleri ile ve metabolik sendrom tanı kriterleri ile ilişkileri olup olmadığını ortaya koymayı amaçladık.

1.1. Metabolik Sendromun Tanımı ve Tanı Kriterleri

İlk olarak 1983 yılında bugünkü adıyla metabolik sendrom olarak bilinen risk faktörlerinin oluşturduğu arterosklerotik risk faktörler kümesi olarak tanımlanmıştır. Ancak bu faktörler kümesi MS olarak isimlendirilmeden önce uzunca bir süre Sendrom X olarak anılmıştır. Reaven ve Laws ilk kez 1988'de bu isimlendirmeyi yapmış insülin rezistansıyla bu risk faktörleri kümesinin yakın birlikteliğinin önemini vurgulamıştır. Dislipidemi, insülin rezistansı, hipertansiyon ve obezite bu risk faktörleri kümesinin temel taşları olduğu için bu sendrom; multiple metabolik sendrom, insülin rezistans sendromu, dismetabolik sendrom, öldürücü dörtlü, DROP (dislipidemi, insülin rezistansı, obezite, yüksek kan basıncı) sendromu gibi isimlerle de anılmıştır. Ancak 1998 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tek tip bir isimlendirmenin daha uygun olacağını belirterek bu risk faktörleri kümesinin "metabolik sendrom" olarak isimlendirilmesine karar vermiş ve diyabet, bozulmuş açlık glukozu, bozulmuş glukoz toleransı veya insülin direnci ile birlikte, hipertansiyon, hiperlipidemi, santral obezite ve mikroalbuminüriden en az ikisinin birlikte görülmesi olarak tanımlanmıştır (Alberti 1998) (Çizelge 1-1). Bu sendromun tek nedeni insülin rezistansı olmadığı için temelde bu faktörlerin hepsi metabolik değişimlerle ilişkili olduğu için bu isimlendirme daha fazla kabul görmüş ve literatürde daha fazla yer bulmuştur.

Çizelge 1-1: WHO Metabolik sendrom tanı kriterleri.

Risk faktörü		Tanım
Abdominal obezite (Beden kütle indeksi)		> 30
Trigliserid		> 150 mg/dL
HDL	Erkek	< 35 mg/dL
	Kadın	< 40 mg/dL
Kan basıncı		≥ 140/90 mmHg
Glukoz		Tip II diyabet veya bozulmuş glukoz toleransı
Mikroalbüminüri		> 20 mcg/dak
DM veya Bozulmuş Glukoz Toleransı ve yukarıdaki kriterlerden herhangi ikisi. Glukoz toleransı normalse, diğer rahatsızlıklardan en az üç tanesinin bulunması		

2001 yılında National Cholesterol Education Program/Adult Treatment Panel (Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı/Erişkin Tedavi Paneli) (NCEP/ATP) III'de de sendrom "metabolik sendrom" olarak telaffuz edilmiş ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimi için yüksek riski tanımlayan bir patoloji olarak değerlendirilmiştir. Kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde MS tedavisinin öneminden de özellikle bahsedilmiş ve sendromun tanı kriterleri yeniden belirlenmistir (Bethesda 2001) (Çizelge 1-2).

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF), 2005 yılında yaptığı MS'nin son tanımında; abdominal obezite, yükselmiş trigliserid düzeyi, azalmış HDL kolesterol, yükselmiş kan basıncı ve yükselmiş açlık plazma glukozunu MS tanı kriterleri olarak belirlemiştir (Grundy ve ark 2005) (Çizelge 1-3).

Çizelge 1-2: ATP III Metabolik sendrom tanı kriterleri.

Risk faktörü		Tanım
Abdominal obezite (bel çevresi)	Erkek	> 102 cm
	Kadın	> 88 cm
Trigliserid		> 150 mg/dL
HDL	Erkek	< 40 mg/dL
	Kadın	< 50 mg/dL
Kan basıncı		≥ 130/85 mmHg
Açlık kan glukozu		110 – 125 mg/dL
Beş kriterden en az üçü sağlanmalıdır.		

Çizelge 1-3: IDF 2005 Metabolik sendrom tanı kriterleri.

Risk faktörü		Tanım
Abdominal obezite (bel çevresi)	Erkek	> 94 cm
	Kadın	> 80 cm
Trigliserid		≥ 150 mg/dL
HDL	Erkek	< 40 mg/dL
	Kadın	< 50 mg/dL
Kan basıncı		≥ 130/85 mmHg
Açlık kan glukozu		> 100 mg/dL

MS artmış oksidatif stres, subklinik inflamasyon, protrombotik ve bozulmuş fibrinolitik durum ile de yakından ilişkilidir. Ancak tanı kriterleri arasında bu parametreler günümüzde yer almamaktadır. MS'yi oluşturan beş ana komponent dışında temelinde insülin direncinin rol oynadığı düşünülen bir çok klinik tablo da bu sendromun klinik yansımaları olarak kabul edilmektedir (Ford 2003) (Çizelge 1-4).

Çizelge 1-4: Metabolik Sendrom'un klinik yansımaları.

Klinik yansıma
Diabetes mellitus
Dislipidemi
Esansiyel Hipertansiyon
Hiperkoagulabilite
Viseral obezite
Hiperürisemi
Yağlı karaciğer sendromu
Polikistik over sendromu
Uyku apnesi
İnflamasyon

1.1.1. Metabolik Sendromun Görülme Sıklığı

Günümüzde metabolik sendrom, dünyada ve ülkemizde sıklığı giderek artan önemli bir sorundur. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD), genel popülasyonda MS görülme sıklığı, erkeklerde %24 ve kadınlarda %23,4 olarak saptanmıştır (Ford ve ark 2002). MS prevalansı erişkinlerde ortalama %22 olarak bilinmektedir. Prevalans yaş ile artmakta, 20-29 yaş grubunda %6,7, 60-69 yaş grubunda ise %43,5 oranında görülmektedir. Türk Erişkinleri Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması (TEKHARF) çalışmasına göre, 2000 yılı itibariyle Türkiye genelinde 30 yaş ve üzerindeki 9,2 milyon kişide

metabolik sendrom mevcuttur ve Koroner Arter Hastalığı (KAH) gelişen bireylerin %53'ü aynı zamanda MS hastasıdır. Türkiyede MS görülme sıklığı, erkeklerde 40-49 yaş grubunda %44, kadınlarda ise 60-69 yaş grubunda %56 gibi oldukça yüksek değerlere ulaşır (Arslan 2003). Ülkemizdeki bir diğer önemli çalışma 2005 yılı itibariyle sonuçlanan ve 47 ilde toplam 4264 kişiyle yapılan Türkiye Metabolik Sendrom Araştırması (METSAR) verilerine göre ise; Türkiye'de metabolik sendrom görülme sıklığı %35 olarak saptanmıştır. Kırsal ve kentsel bölgeler arasında görülme sıklığı bakımından fark bulunamamış; kadınların %41'inde, erkeklerin ise %29'unda metabolik sendromun görüldüğü belirtilmiştir (Kazan ve ark 2005).

1.1.2. Fizyopatalojisi

MS'nin etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte; obezite ve adipoz doku bozuklukları, insülin direnci ve hepatik, vasküler ve immünolojik etkenlerden kaynaklanan ve sendromun oluşmasını tetikleyen bağımsız etmenlerin sendromun gelişmesinde önemli etkileri olduğu düşünülmektedir (Işıldak ve ark 2004, Samur 2005).

MS'yi oluşturan hastalıkların (dislipidemi, hiperglisemi, hipertansiyon, obezite) hepsinin temelinde insülin direncinin rolü bulunmaktadır. Bu hastalıklar ve insülin direnci endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz sürecini hızlandırarak klinikte koroner arter hastalığı, inme ve periferik damar hastalığı gibi yüksek mortalite ile seyreden tablolara neden olmaktadır (Özbakkaloğlu ve Demirci 2003).

1.1.3. İnsülin direnci ve diyabet

İnsülin direnci, MS'nin temelindeki esas patolojik olaydır (Davis 1996). İnsülin direnci, insüline normalde cevap veren yağ, karaciğer, iskelet kası, kalp kası gibi hedef organlarda insülinin sinyal yolunda yetersizlik olması ve biyolojik yanıtın alınması için daha fazla insülin gereksinimi olma hali olarak tanımlanmıştır (Henry 1996). İnsülin direnci çesitli tekniklerle belirlenebilmektedir. Öglisemik hiperinslünemik klemp tekniği, insülin direncinin tespitinde altın standart kabul edilir; ancak karmaşık ve uygulaması pratikte güç bir işlem olduğu için, insülin direnci yüksek olan populasyonlarda yaygın kullanım için uygun değildir. İnsülin direnci için homeostaz modeli değerlendirmesi (HOMA-IR = Homeostasis Model Assessment) diyabetik olan ve olmayan kisilerde, kiside

ölçülen glukoz ve insülin değerleri kullanılarak beta hücre fonksiyonunu ve insülin direncini pratik bir sekilde inceleme imkanı sağlayan bir modeldir (Laakso 1993). Türk toplumunda HOMA'nın 2,4-2,7'nin üzerindeki değerlerinin insülin direncini gösterdiği de bazı yayınlarda bildirilmiştir (Hatun 2003) HOMA'ya benzer şekilde normoglisemik ve hiperglisemik kişilerde uygulanabilen diğer bir ölçüm tekniğide kantitatif insülin duyarlılığı kontrol indeksidir (QUICKI). QUICKI= 1/[log(AI)+log(AG)] olarak hesaplanır.Birçok araştırmacı QUICKI'nın insülin duyarlılığını tanımlamada HOMA'dan daha üstün olduğunu düşünmesine rağmen her iki sonuç birbirleri ile iyi bir şekilde koreledir (Kauffman ve Castracane 2003). İnsulin direnç neredeyse tüm DM hastalarında görülmesine rağmen, henüz hiperglisemi geliştirmemiş MS'li hastalarda da oluşmaktadır (Harmel ve Berger 2004). Bu olay, MS'nin patogenezini içine alan çok ciddi bir sorundur (Bakris 2001). Klinik uygulamada, insülin direnci genellikle abdominal obezitenin varlığı ile kendini gösterebilir. Bu direncin en önemli nedenlerinden birisi dokulardaki aşırı yağ birikimidir. İnsülin direnci vücut yağı arttıkça yükselmektedir. BKİ 30 kg/m^2 ve üzerinde olan bireylerde postprandiyal hiperinsülinemi ve düşük insülin duyarlılıkları görülmektedir. Ancak BKİ 25-29 kg/m^2 arasında olan fazla kilolu kişilerde de insülin direnci gelişebilmektedir (Grundy 2004).

Özellikle abdominal obezite, inaktivite, karbonhidrat ağırlıklı diyet, hormonal faktörler, genetik ve yaşlılık ile dokularda insüline karşı bir direnç gelişmektedir (Henry 1996). Dokuların insülin duyarlılıkları birbirinden farklı olduğundan, insülin direnci başladığında öncelikle kasta glukoz yıkımı azalır ve bu postprandial hiperglisemiye yol açar. Bu durumu daha belirgin bir insülin etkisizliği izler ve karaciğerden glukoz çıkışı artar. Böylece açlık hiperglisemisi ve tüm gün hiperglisemisi saptanır hale gelir (DeFronzo 1998).

Dokuların insülin duyarlılıkları birbirinden farklı olduğundan, insülin direnci başladığında, kasta normal glukoz metabolizmasını sürdürmek için öncelikle daha fazla insülin salınmasına gereksinim duyulur (Henry 1996).

İnsülin direnci, tip 2 diyabette en çok rol oynayan faktördür. İnsülin direnci obezitede sık görülmekle birlikte; obez olmayan ve normal OGTT'si (Oral Glukoz Tolerans Testi) olan bireylerin %25'inde, esansiyel hipertansiyonlu hastaların da yine yaklaşık %25'inde saptanmıştır. İnsülin direnci polikistik over sendrom (PKOS)'lu

kadınların da yaklaşık üçte birinde görülen bir durumdur. Bu yüzden insülin direnci toplumda sık rastlanan ve yaygın bir fenomendir (Heijmans ve ark 2000).

MS, hem diyabeti olmayanlarda hem de diyabetlilerde kardiyovasküler hastalık ve ölüm oranlarını ciddi şekilde artırdığından büyük klinik öneme sahiptir (Orna ve ark 2004). Sendromun etkili bir şekilde erken tedavisi hem diyabet hem de kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde önemli bir etkiye sahip olabilir (Alebiosu ve ark 2004). MS, kardiyovasküler hastalık için önemli bir risk faktörü olan DM'nin güçlü bir habercisidir (Hanley ve ark 2005).

MS'li kişilerde kardiyovasküler olaylara yatkınlığın artmasının sebebi hızlanmış ateroskleroz, hiperkoagülabilite ve endotel disfonksiyonunun olmasıdır. MS kriterlerinden hiçbirini taşımayan bir kişiye kıyasla kriterlerin 4 veya 5 tanesi mevcut olan kişilerde diyabet gelişme riski 25 kat, koroner arter hastalığı gelişme riski 4 kat artmıştır (Gündoğdu 2006). Normal populasyona kıyaslandığında diyabetiklerde aterosklerozun daha yaygın olduğu görülür ki bu durum orta yaş ve öncesi için geçerlidir. Yaş ilerledikçe bu fark kapanır. (Williams 2004).

İnsülin direnci; polikististik sendromda tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalık gelişme riski artmıştır. Kırklı yaşlardaki polikistik over sendromlu kadınların yaklaşık %40'ında bozulmuş glukoz tolerans testi bulunduğu bildirilmiştir (Legro 2001).

1.1.4. Hipertansiyon

Kan basıncındaki artma (hipertansiyon), MS bileşenlerinden biri olup kardiyovasküler hastalık açısından da risk etkenidir (Grundy ve ark 2005). MS'li bireylerin üçte birinde hipertansiyon gelişebilmektedir. Hipertansiyon sıklıkla dislipidemi, glukoz intoleransı ve abdominal obezite ile birliktedir (Brook ve Julius 2000).

Hiperinsülinemi, sempatik sinir sistemi aktivitesini artırarak, vasküler cevabı vazokonstriksiyon yönüne kaydırarak ve sodyum tutulumuna yol açarak kan basıncı yüksekliğine neden olur. İnsülin ve IGF-1 (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü) damardaki düz kas hücrelerinin poliferasyonuna yol açtığından, damar duvarları kalınlaşıp bu riskin

daha da yükselmesine sebep olur. Damar lümeninde daralmalar perifer damar direncini artırır ve hipertansiyon ortaya çıkar (Görpe 1997).

Hipertansiyonlu hastalarda glukoz, insülin ve lipoprotein metabolizması bozuklukları oldukça yaygındır. Hiperinsülineminin de hipertansiyon, obezite ve bozulmuş glukoz toleransı ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır (Haffner ve Taegtmeyer 2003). Hiperinsülinemi doğrudan sempatik sinir sistemi aktivitesini etkileyerek ya da vazokonstrüksiyon ve renal sodyum tutulumuna neden olarak hipertansiyonu tetikleyebilmektedir (Scott 2003).

Sempatik hiperfonksiyon; hipertansiyon, aktive olmuş renin-anjiotensin sistemi, insülin direnci, kalp hızının artması, kardiyovasküler hastalık ve ani ölüm olmak üzere MS komplikasyon ve patogenezine katkıda bulunur (Egan 2003).

MS'de adipoz doku renin-anjiotensin sisteminin insülin rezistansının gelişimine ve hipertansiyona katkısı olduğu kabul edilmektedir. ACE inhibisyonunun ve anjiotensin reseptör blokajının, DM'de yararlı etkileri gösterilmiştir (Engeli 2003).

Ülkemizde MS'nin en sık rastlanan şekli hipertansiyon ve HDL düşüklüğüdür (Arslan 2003).

1.1.5. Obezite

Obezite adipoz dokunun fazlalığı olarak tanımlanır. Son 10 yılda birçok ülkede obezite prevalansı artış göstermiştir (Kahn ve Flier 2000). TURDEP (Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi) çalışması sonuçlarına göre ülkemizde 20 yaş ve üzerindeki kişilerin %34' ünde abdominal obezite görülmektedir (Salman ve ark 2002).

Obezite; lipid ve glukoz metabolizmasını, kan basıncı kontrolünü, trombolitik ve fibrinolitik sistemi ve inflamatuar reaksiyonları etkiler (Devaraj ve Rosenson 2004). İnsülin direnci, MS, DM ve KAH ile santral adipozite arasında güçlü bir ilişki saptanmıştır. Viseral obeziteyi klinik olarak yansıtan abdominal obezitedir. Bunun en iyi göstergesi ise bel-kalça oranı ile bel çevresi ölçümüdür. Bel çevresi genişliği (abdominal obezite) insülin

direncinin kesin bir göstergesi olmamakla beraber, insülin direncinin varlığı ve derecesi ile ilişkili bir antropometrik değişkendir. Obez kişilerin tümünde insülin direnci olmadığı gibi insülin direnci de sadece obezlerde görülmemektedir (Ferrannini ve ark 1997).

Viseral yağ dokusu sadece enerji kaynağı değil, aynı zamanda bir endokrin organ sayılmaktadır. Dolaşıma çok sayıda sitokin ve polipeptid salgıladığı gösterilmiştir. Yağ dokusundan salgılanan ve adipositokinler olarak adlandırılan TNF-α, IL-6, leptin, adinopektin ve rezistin gibi çeşitli aktif moleküllerin insülin direnci, hipertansiyon ve ateroskleroz gelişiminde etkili oldukları düşünülmektedir (Festa ve ark 2000, Das 2001). Obezitede insülin direncine neden olan diğer bir etken ise; adipoz dokudan salınımı obezite ile artan ve protrombotik durumu geliştiren plazminojen aktivatör inhibitör (PAI-1)'dür PAI-1; plazminojeni plazmine dönüştüren plazminojen aktivatör enzimini baskılamakta, plazmin ise kan pıhtısındaki fibrin polimerlerini düşürmektedir. Yüksek düzeylerdeki PAI-1 fibrinolitik aktiviteyi etkilemekte ve tromboz riskini artırmaktadır. Bu durum obez bireylerde koroner aterosklerozun patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır (Bleckburn ve Bevis 2004).

Viseral obezite; kan basıncı, açlık kan glukozu ve insülin değerleri ile pozitif, HDL kolesterol düzeyleri ile negatif ilişki göstermektedir (Maison ve ark 2001). Serbest yağ asitleri düzeyleri ile insülin direncinin doğru orantılı olduğu gösterilmiştir (Carey ve ark 1996).

Abdominal obezitesi olan hastalar; kalp hastalığı, diyabet, hipertansiyon ve hiperlipidemi açısından, gluteal yağ dağılımı olan hastalara göre daha risklidir (Kissebah 1991). Adipoz doku dağılımına göre kardiyovasküler risk seviyesindeki bu değişiklik özellikle hafif obez hastalarda önemlidir. Abdominal obezite ile MS arasındaki ilişki çok net olmamakla birlikte en çok kabul gören teori viseral adipoz dokusunun daha fazla lipolize uğradığı şeklindedir. Bunun sonucunda portal vende esterleşmemiş yağ asitleri artar, bu da hepatik çok düşük dansiteli lipoprotein ve glukoz üretimini artırarak periferik insülin duyarlılığını bozar. Obezite gelişiminin, MS'nin unsurları ve vasküler hastalıkla paralellik göstermesi, proinflamatuvar süreçte adipoz dokunun önemli rol oynadığını göstermektedir. MS ve inflamasyonda adipoz dokunun öneminin artışına neden olan bir diğer unsur da adipositlerden salgılanan çok sayıda ürünün tanımlanmasıdır. Adipokinler

gerek geleneksel hormonal etkileriyle gerek de adipositler üzerindeki lokal etkileriyle insülin direncinin önemli bir belirleyicisidir (Klein 2004).

1.1.6. Dislipidemi

MS'li hastalarda viseral obezite ve insülin direnci etkisi ile dislipidemi gelişmektedir. Lipid parametrelerindeki bu değişiklik HDL düşüklüğü ve trigliserid yüksekliği ile karakterizedir. LDL genellikle normal düzeylerdedir ancak apolipoprotein-B partikülleri artmıştır. Bunun sebebi, daha kolay okside olan ve dolayısıyla daha fazla aterojenik özelliği olan küçük ve yoğun LDL alt grubundaki artıştır (Brunzell ve Hokanson 1999). Abdominal bölgede viseral yağlanmanın bulunması insülin direncindeki dislipidemiyi açıklamaktadır. İnsülin direnci varlığında, yağ dokusunda hormon duyarlı lipaz aktivitesi baskılanamaz. Bu nedenle yağ dokusundan serbest yağ asidi çıkısında artış olur. Bu lipoproteinlerin aşırı üretimindeki asıl neden ise serbest yağ asitlerinin aşırı miktarda karaciğere gelmesidir. Karaciğere gelen bu yağ asitleri ya mitokondri içine girerek okside olurlar yada TG şeklinde Apo-B içeren TG'den zengin VLDL yapımının artışına neden olurlar (Carr ve ark 2004, Eckel ve ark 2005). TG'den zengin VLDL-K partikülleri hepatik lipaz tarafından TG'den zengin LDL-K partiküllerine ayrılır. TG'den zengin HDL partikülleri daha hızlı hidroliz olurlar ve seviyeleri düşer. TG'den zengin LDL partikülleri ise daha ileri lipolize uğrayarak küçük-yoğun LDL partiküllerine dönüşürler (Ginsberg 2000, Kendall ve Harmel 2002). Yapılan çalışmalar küçük- yoğun LDL-K partikül yüksekliğinin kardiyovasküler hastalıklarla yakından ilişkisi olduğunu göstermektedir. Bu moleküllerin proaterojenik özellikleri oldukça fazladır. Framingham Kalp Çalışması'nda, düşük HDL-K düzeylerinin; yüksek LDL-K düzeyi ve artmış kardiyovasküler hastalık riski ile yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir. HDL-K'deki her 10 mg/dL'lik artışın kardiyovasküler hastalık riskini %50 oranında azalttığı gözlenmiştir (Yoo 2005). Batı toplumlarından farklı olarak Türk toplumunda HDL-kolesterol ortalama 10-15 mg/dl daha düşüktür. Hipertrigliseridemi ve obezitesi olmayan Türk erkeklerinin %53' ünde, kadınlarının ise %26' sında HDL kolesterol düzeyleri 35 mg/dl nin altında bulunmaktadır (Arslan 2003).

Dislipidemi, DM ve hipertansiyon oluşumunu destekleyen önemli bir faktördür. İlerlemiş ateroskleroz durumunda, dislipidemi ile beraber trombosit agregasyonu ve

endotel disfonksiyonu artmıştır; aterosklerotik vasküler hastalık riski yükselmiştir. Hiperlipidemi, obezite ve insülin direnci arasında belirgin bir ilişki bulunmuştur. İnsülin direncinin en belirgin sebebi abdominal obezitedir. Burada da esas etken subkutan yerleşimden ziyade viseral yerleşimli yağlanmadır. Bu yağ çoğunlukla TG'lerden oluşmaktadır. Üç yağ asidinin bir gliserol molekülü ile birleşmesinden oluşan TG yağ dokusunda birikmekte, enerji gereksinimi ile paralel olarak yeniden yağ asitlerine ayrılarak dokuların bu ihtiyacını karşılamaktadır. Şişman kişilerde daha fazla yağ asidi salgılanmakta, dokulardaki yağlanma daha fazla olmaktadır. Böylece dokulardaki, özellikle de kaslarda ve karaciğerdeki fazla yağ miktarı insülin direncini arttırmaktadır (Onat ve ark 2002).

1.2. Paraoksonaz

Paraoksonaz 1 (PON), hem arilesteraz (E.C. 3.1.1.2) hem de paraoksonaz (arildialkil fosfataz; organofosfat hidrolaz; paraokson hidrolaz; E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip bir ester hidrolazdır (Gan ve ark 1991). PON1 proteini karaciğer ve pankreasta yüksek, beyin ve akciğerde ise az miktarda eksprese olmaktadır. Sentezlenen ve dolaşıma katılan PON1, HDL yapısında yer almaktadır (Ekmekçi ve ark 2004).

1.2.1. Tarihçe

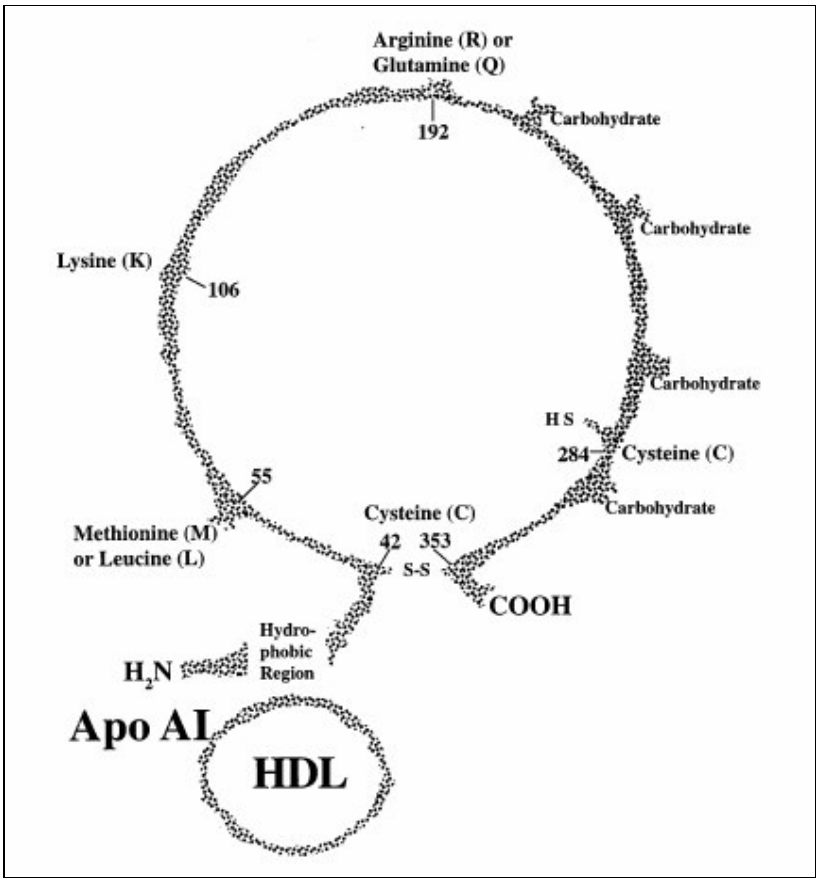
Paraoksonaz, ilk olarak 1953 yılında Aldridge W.N. (Aldridge ve ark 1953) tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütirat'ı hidroliz eden A-esteraz olarak teşhis edilmiştir. İnsan serumunda ilk kez 1961'de Uriel tarafından elektroforez sonrası HDL immunopresipitatlarında saptanmıştır (Uriel ve ark 1961). 1965 yılında, Ooms ve Boter tarafından (Ooms ve ark 1965), paratiyon ve paraokson hidrolizindeki stereospesifikliği ile tanımlanmıştır. 1973 yılında bir grup Alman araştırıcı, ilk olarak insan serum paraoksonazı genetik olarak saptamışlardır (Mallinckrodt ve ark 1979). Mackness ve ark., paraoksonaz aktivitesinin çoğunlukla apo AI içeren partiküllerde HDL ile birlikte bulunduğunu ortaya çıkarmışlar ve enzimin kanda HDL yapısında taşındığını göstermişlerdir. Aynı grup 1988'de yaptıkları çalışmalarla, PON'un HDL üzerinde apo A-I'e bağımlı olarak aktivite gösterdiğini ve 1991 yılında da LDL üzerindeki lipoperoksit birikimini azalttığını bulmuşlardır (Austin ve ark, 1998). İmmunoaffinite kromatografi çalışmaları insan serum

paraoksonazının gerçekte apolipoprotein AI ve klusterin (apolipoprotein J) içeren HDL tipleri ile ilişkili olduğunu ve PON1'in total HDL'nin çok küçük bir bölümünü oluşturduğunu göstermiştir (Mackness ve ark 1996, Mackness ve ark, 1998). Farklı populasyonlarda (Fransız, Sudanlı vs) polimorfizm analizleri yapılarak, allellik formları belirlenmiş ve populasyon çalışmaları enzim aktivitesiyle HDL, apo A-I, apo AII arasında istatistiksel ilişki gösterilmiştir (Mackness ve ark 1988). Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda, farklı kardiyovasküler hastalıklarda aktiviteleri incelenmiş, lipoproteinlerle ve lipid peroksidasyon arasındaki ilişkisi araştırılmış ve enzimin amino asit dizisi belirlenmiştir.

1.2.2. Yapısı ve Özellikleri

Paraoksonaz, 43-46 kDa ağırlığında, 354 aminoasitten oluşan glikoprotein yapısında bir enzimdir. Paraoksonazı kodlayan gen, 7. kromozomun q 21.3 ile 21.6. bölgesine yerleşmiştir (Hegele 1999). Ağırlığının %15.8'ini oluşturan karbohidrat üniteleri, 4 farklı konumda proteine bağlı olarak bulunur (La Du 1999). Enzim bir glikoproteindir ve 3 şeker bağı içermektedir. PON1'in amino asit bileşimi incelendiğinde, lösin içeriğinin yüksek olmasına karşılık, "kringle" yapısına sahip olacak kadar sistein içermediği görülür (Gan 1991).

Protein kısmı ise sistein kalıntısı içeren 354 amino asitten oluşmuştur. Bununla beraber, 42, 284 ve 353. konumlarda yer alan sistein artıklarının, PON1'in yapısal ve fonksiyonel özelliklerine katkıda bulunduğu söylenebilir. Bunlardan 284. pozisyondaki sistein kalıntısı serbest iken, diğer ikisi (Cys 42-352) arasında bir disülfid bağı bulunur. Serbest sülfidril grubu içeren 284. pozisyondaki sisteinin, LDL'yi oksidasyondan korumada önemli bir fonksiyona sahip olmasına karşın organo fosfatların hidrolizinde bir etkisi gözlenmemektedir.



Şekil 1-1: İnsan Serum Paraoksonaz (PON 1) Enziminin Yapısı

Paraoksonazın yapısında bulunan N-terminal hidrofobik sinyal peptidi, HDL ile etkileşim için gerekmektedir. Paraoksonaz enzimi N-terminal hidrofobik sinyal peptidi aracılığı ile fosfolipidlere ve lipoproteinlere bağlanır (Sönmez 2000).

PON1'n yapısında hem stabilite hem de aktivite için iki adet kalsiyum iyonu bulunur. Bu özellik PON1'i Co^{+2}, Mn^{+2}, Mg^{+2} kullanan diğer ‘‘A’’ esteraz enzimlerinden ayırır. Yapısal kalsiyum uzaklaştırılırsa geri dönüşümsüz denatürasyon meydana gelir. Kalsiyum direkt katalitik reaksiyonda yer alır veya aktif alanın uygun konformasyonunu sağlar. Ayrıca paraoksonun "P=O" bağını polarize ederek fosforun nükleofilik saldırıya yatkınlığını sağlar ve böylece dietilfosfatın aktif alandan ayrılmasını kolaylaştırır. Kalsiyum iyonunun aktivitede oynadığı önemli rolden dolayı enzim aktivitesinin ölçümünde serum yada heparinli plazma kullanılır (Mackness 1998).

1.2.3. Substratları

Paraoksonaz [(PON) arildialkilfosfataz, E.C.3.1.8.1.] ve arilesteraz [(ARE) E.C.1.1.2] her ne kadar iki ayrı enzim olarak algılansa da, yapılan çalışmalar sonucu insan serumunda tek gen ürünü enzimin hem ARE hem de PON 1 aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (Mackness 1998). 1989 yıllarına kadar ARE ile PON1 aynı kimyasal grup içerisinde değerlendirilmiş ve iki enzim EC 3.1.8.2 olarak isimlendirilmiştir. Ancak farklı yapıda oldukları belirlendikten sonra PON1 yeniden EC.3.1.8.1. olarak isimlendirilmiştir (Gan ve ark 1989).

PON1'in fizyolojik substratları henüz tanımlanmamıştır; fakat insektisit ve sinir gazı yapımında yaygın olarak kullanılan organofosfat bileşiklerinin hidrolizini katalizlemekte ve bu nedenle in vivo ksenobiyotik metabolizması ve toksikolojik çalışmalar için büyük önem taşımaktadır (Aldridge 1953). Organofosfat bileşiklerinden paratiyonun aktif katabolik metaboliti olan paraokson (o,o-dietil-o-p-nitrofenil fosfat), enzime adına verdiği gibi, aktivite tayininde de en çok kullanılan substratlardan birisidir (Eckerson ve ark 1983). PON1' in hidrolitik aktivitesiyle açığa çıkan 4-nitrofenol veya fenolün konsantrasyonu üzerinden, PON 1 aktivitesi spektrofotometrik olarak tayin edilebilmektedir (Gan ve ark 1991).

Arilesteraz ölçümünde ise substrat olarak paraokson yerine fenil asetat kullanılmakta ve oluşan fenol ölçülmektedir. PON1'deki polimorfizm ARE aktivitesini etkilemez. Bu nedenle ARE aktivitesi PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız olarak asıl protein konsantrasyonun bir göstergesi olarak kabul edilir (Eckerson ve ark 1983)

Paraoksonaz aktivitesi, genellikle paraoksonun substrat olarak kullanıldığı yöntemler ile ölçülür. Enzimin aktivitesi genetik ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir, aktivitenin farklı toplumlarda çok geniş aralıklarda farklı profiller sergilediği gözlenmiştir (Heijmans ve ark 2000).

1.2.4. Sentez ve Sekresyonu

PON1'e ait mRNA'nın karaciğerin yanı sıra böbrek, kalp, beyin, ince bağırsak ve akciğer dokularında da bulunduğu gösterilmiş ve PON1'in, bu dokuların hepsinde endotelyal tabakada lokalize olduğu, immunohistokimyasal yöntemlerle tayin edilmiştir. Sentezlenen ve dolaşıma katılan PON, HDL yapısına katılır. Genetik faktörler ve çeşitli çevresel faktörler PON1 ekspresyonunu ve aktivitesini düzenler. Cinsiyete bağlı değişiklik gözlenmez. Serum aktivitesi yeni doğan ve prematüre yeni doğanlarda erişkin düzeyin yarısı kadardır. Erişkin düzeyine doğumdan bir yıl sonra ulaşılır ve yaşam boyunca aynı kalır (Mackness ve ark 1998).

1.2.5. Paraoksonaz Gen Ailesi

İnsanda 7. kromozomun uzun kolunda q 21.3 ve q 22.1 arasında tanımlanabilen paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 şeklinde 3 üyesi bulunur. Bu enzimlerin tümü antioksidan özelliktedir. PON1 ve PON3, HDL ile ilişkili ve LDL'nin oksidasyonunu önlemede etkili iken, PON2 enziminin böyle bir özelliği yoktur (Ng ve ark 2001). Gelişimsel açıdan bakıldığında, gen duplikasyonu sonucu oluşarak yapısal benzerlik gösteren genlerdir. PON1, PON2 ve PON3 genlerinin memeliler arasında nüklelotid seviyesinde benzerlikleri %81-90 iken; aminoasit seviyesindeki benzerlikleri %79-90' dır. PON1'de 106. kodonda lizin bulunurken, PON2 ve PON3'te lizin bulunmamaktadır (Campo ve ark 2004).

PON gen ailesinin insan fizyolojisi ve patolojisi üzerindeki rolü çok az anlaşılabilmiştir. PON' ların sinir sistemini, sirkülasyondan giriş yapan organo fosfatların nörotoksisitesine karşı muhtemel bir koruyucu etkisi vardır, çünkü bu organofosfatları hidrolize eder. Fakat bu muhtemelen, onların fizyolojik rolü değildir. Biyokimyasal ve genetik deneyler sonucunda tüm paraoksonazların ateroskleroz üzerinde etkisi olduğu kanıtlanmıştır (Aviram ve Rasenblat 2004)

Yıllardır PON1 ile ilgili yapılan çalışmalarda, insan serum kapasitesi, ksenobiotikleri hidrolize etmesi ve aterosklerozla ilişki araştırılmıştır. PON2 ve PON3, haklarında yapılan araştırmaların azlığı nedeniyle PON1 kadar iyi anlaşılamamışlardır.

1.2.6. Polimorfizmi

PON1 polimorfizminin moleküler temeli 55. ve 192. pozisyonlardaki amino asitlerin yer değiştirmesi ile ilişkilidir. 192. amino asit pozisyonunda glutamin (Q alleli), arjinin (R alleli) ile değişince birinci polimorfizm; 55. pozisyonundaki metiyonin (M alleli), lösin (L alleli) ile yer değiştirince ikinci polimorfizm oluşur. 192. pozisyonda glutamin varlığında PON1 A tipi, 192. pozisyonda arjinin varlığında B tipi şeklinde isimlendirilir. Ancak son zamanlarda A tipi yerine Q izoenzimi, B tipi ise R izoenzimi olarak ifade edilmektedir (Heijmans ve ark 2000).

PON1'in hem Q hem de R izoenzimlerinin LDL' yi oksidasyona karşı koruma özelliğine sahip oldukları gösterilmiştir. Ancak Q izoenzimi paraoksona karşı düşük afiniteye sahip iken, R izoenzimi yüksek afiniteye sahiptir (La Du 1999, Sanders ve ark 1999).

Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada, PON1 genetik polimorfizminin, koroner arter hastalığı gelişiminde bağımsız bir risk faktörü olabileceğine ilişkin kanıtlar bulunmuştur (Aynacıoğlu ve ark 2000).

1.2.7. Paraoksonaz ve Metabolik Sendrom

Paraoksonaz yüksek dansiteli lipoproteinler ile ilişkili bir antioksidan enzimdir. Düşük PON1, dislipidemi, diabetes mellitus, ileri yaş ve sigara gibi faktörler oksidatif stresle ilişki gösterir. Gerçekten de oksidatif stres metabolik sendromun bir anahtar komponenti olan insülin rezistansının derecesini göstermektedir. MS'li hastalarla, hasta olmayan bireyler karşılaştırıldığında MS'li hastalarda serum PON1 aktivitesinin anlamlı bir şekilde azaldığı ve lipid peroksit konsantrasyonunun anlamlı bir şekilde arttığı bulunmuştur (Senti ve ark 2003).

PON1'in LDL oksidasyonu esnasında lipid peroksit oluşumunu azaltabileceği ve dolayısıyla HDL'nin ateroskleroza karşı korunmasında rol oynayabileceği belirtilmektedir (Sanghera ve ark 1997). PON1, lipid peroksitlerin yanı sıra hidrojen peroksit üzerine de etkilidir. Aterogenez sırasında arter duvar hücrelerince üretilen major toksik oksijen metaboliti olan hidrojen peroksit, oksidatif koşullarda daha potent ürünlere dönüşerek LDL

oksidasyonuna neden olur. PON1'in okside LDL'deki kolesteril linoleat hidroperoksitler ve hidroksitleri indirgemesi nedeni ile peroksidaz benzeri aktivitesi olduğu düşünülmektedir (Azarsız ve Sönmez 2000).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, HDL'nin üzerinde bulunan Ca^{+2}'a bağlı enzim olan paraoksonazın, okside olmuş lipidlerin metabolizmasında ve aterosklerozdan korunmada önemli fizyolojik rolü olduğu anlaşılmıştır. PON1 ile ateroskleroz arasındaki ilişki HDL'nin antiaterojenik özelliklerinden ileri geliyor gibi görünmektedir. LDL'nin oksidasyondan korunmasında ve LDL oksidasyonuyla oluşan toksik metabolitlerin aktivitesinin azaltılmasında, HDL ile ilişkili olan PON1'in HDL üzerine katalizör etkisinin olabileceği düşünülmektedir. İn vitro çalışmalara göre PON1, biyolojik olarak aktif olan LDL'yi hidrolizleyip lipid peroksit oluşumunu anlamlı olarak azaltmada önemli rol üstlenir (Erden 2004). PON1, HDL'yi de oksidasyondan koruyarak HDL'nin ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamını sağlar. Bu durum makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek antiaterojenik etkiye katkıda bulunur (Ansell ve ark 2005). Oksidatif stres altında sadece lipoproteinler değil hücrenin yapısındaki lipidler de peroksidasyona uğramaktadır. Paraoksonaz lipid peroksitlerinin aterojenik etkilerini nötralize eder, hücre membranlarını koruyucu etki gösterir (Durrington ve ark 2001).

Yapılan çeşitli çalışmalarda tip 2 DM hastalarında sağlıklı kişilere göre daha düşük PON1 aktiviteleri bulunmuştur. Koroner arter hastalığı, retinopati, nefropati gibi komplikasyonların izlendiği Tip 2 DM hasta grubunda PON1 aktivitesi komplikasyon izlenmeyen diyabetik hasta populasyonuna göre daha düşük bulunmuştur (Mackness ve ark 2003).

PON1 düzeyinin; KVH olanlarda, sigara içenlerde, hiperkolesterolemide, ileri yaşta, obezitede, menopozda ve böbrek yetmezliklerinde azaldığı ortaya konulmuştur (Mackness ve ark 1998).

1.3. Visfatin

Visfatin, fare ve insanlarda viseral yağ dokusundan salgılanan 52 kDa ağırlığında ve 491 amino asit içeren bir adipositokindir (Fukuhara ve ark 2005). Visfatin ilk olarak

2004 yılında Fukuhara ve arkadaşları tarafından tanımlanmış olup ismini visseral yağdan kaynaklanmasından dolayı (visseral fat) almıştır (Fukuhara ve ark 2005).

Visfatin daha önceleri İnterlökin (IL)-7 ve gövde hücre etkeni bulunan ortamlarda B hücrelerinin olgunlaşmasını haber veren bir sitokin olduğu sanıldığı için "ön-B hücre kolonisi-geliştirici etken – (pre-B cell colony-enhancing factor : PBEF)" olarak isimlendirilmiştir (Samal ve ark 1994).

Visfatin, adipoz dokudan izole edilmesine rağmen deri altı dokuda da az miktarda bulunmaktadır. Aynı zamanda karaciğer ve böbrekte yüksek miktarda, kalpte orta düzeyde akciğer, dalak, testis ve kasta çok düşük seviyede bulunur. Beyin ve pankreasta ise tespit edilememiştir (Fukuhara ve ark 2005)

Visfatinin adipoz dokudaki direkt etkisi onun hücre ve sitoplazmadaki lokalizasyonuyla desteklenmiştir. Bu hücre döngüsü regülasyonunda visfatinin iki rolü olduğuna işaret edilmiştir. Birincisi visseral adipoz dokuda otokrin/parakrin etki, ikincisi ise çevre organlarda insülin duyarlılığını etkileyen endokrin etkidir. Visfatinin metabolik etkilerinin iyice tanımlanması bu konuda beklenmeyen bir zıtlığı ortaya çıkarmıştır; visfatin tedavisi insülin direncini artırmamaktadır, ancak gerçekten insüline benzer şekilde glukoz düşürücü etki göstermektedir (Fukuhara ve ark 2005).

Akut damar içi visfatin uygulamaları ile plazma glukoz seviyeleri düşmekte ancak insülin seviyesi etkilenmemektedir. Bu da visfatinin direkt hipoglisemik etki yaptığını ancak insülin seviyelerini etkilemediğini göstermiştir. Visfatinin insülin reseptörlerine bağlanarak onları aktive etmesi de gelecekte glukoz homeostazı ve/veya diyabet gibi bazı metabolik bozuklukların tedavisinde yeni yaklaşımlar sağlayacağını düşündürmektedir (Fukuhara ve ark 2005). Visfatin başlıca intra abdominal yağ dokusundan salınır ve yağ dokusunun artışından insulin direncine bir bağlantıdır (Falk ve ark 1995)

Farelerde yapılan diğer çalışmalarda visfatinin insüline benzer etki gösterdiği ve kan şekerini düşürdüğü gözlenmiştir. Visfatin, hem in vitro hem de in vivo ortamlarda insülin benzeri etki gösterir ve insülin reseptörlerine bağlanarak onları aktive eder (Samal ve ark 1994).

Tip 2 DM' si olan hastalarda yapılan bir çalışmada, plazma visfatin düzeyinin arttığı, adiponektin düzeyinin azaldığı ve visfatinin düzeyinin artmasının bağımsız bir şekilde tip 2 diyabete yol açtığı öne sürülmüştür (Chen ve ark 2006).

Tip 2 diyabet ve gestasyonel diyabet hastalarında plazma visfatin seviyesinin yükseldiği ve obez deneklerde kilo kaybıyla düşürülebildiği gözlenmiştir. (Haider ve ark 2006). Glisemik profile sahip tip 1 ve tip 2 diyabetik deneklerde aerobik egzersiz eğitimi yararlı etkiler gösterdiği, vasküler ve insülin direnci dahil metabolik kardiyovasküler risk faktörlerini etkilediği belirtilmiştir (Lehmann ve ark 1997, Yokoyama ve ark 2004).

Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tip 2 diyabet hastalarında plazma visfatin seviyesinin yükseldiği gösterilmiştir. Araştırıcılar, plazma visfatin seviyesinin ölçümünün, metabolik hastalıkların anlaşılmasında önemli bir role sahip olabileceğini vurgulamışlardır (Chen ve ark 2006). Bununla birlikte insülin direnci ile visfatin arasında bir ilişki bugüne kadar gösterilememiştir (Arner 2006).

Visfatinin insülin reseptörüne bağlanma afinitesi insülin ile benzer bulunmuştur. İnsülin reseptörlerini direkt aktive etmekle birlikte insülinden farklı olarak insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) reseptörlerine bağlanma afinitesi son derece zayıftır. Bu bulgular sonucunda visfatinin, insülin reseptörünü insülinden farklı bir yolla aktive ettiği ve insülin benzeri etkisini hem parakrin hem de hormonal yolla gösterdiği ileri sürülmüştür (Fukuhara ve ark 2005).

Visfatinin adiposit farklılaşması üzerine etkisi oldugu gibi, viseral, mezenterik ve subkutan yağ dokusunda trigliserit birikimini artırdığı ve glukozdan trigliserit sentezini hızlandırdığı ve böylelikle adipogenezi uyardığı saptanmıştır (Fukuhara ve ark 2005).

PBEF/visfatin, endotoksinle uyarılmış nötrofiller tarafından üretilir ve kaspaz 3 ile kaspaz 8 tarafından yönlendirilen yolla nötrofil apoptozunu inhibe eder (Jia ve Li 2004).

İnsan ve farelerin viseral yağ dokusunda fazlaca bulunmuş olup serum seviyelerinin kilo ile orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir. Visfatinin bu çalışmada seçilmesinin nedeni ise hücre kültürlerinde insülin benzeri etkileri olması ve farelerde dışardan visfatin

verilişini takiben glukoz seviyelerini düşürücü etkisiyle diyabet ve ateroskleroz patogenezinde rol oynuyor olabileceğidir (Krzyzanowska ve ark 2006).

Visfatinin tanımlanmasını takiben şişmanlıkta, şeker hastalığında, polikistik over hastalarında bu sitokinle ilgili çalışmalar yapılmıştır (Chen ve ark 2006, Krzyzanowska ve ark 2006, Kowalska 2007).

Visfatinin, in vivo ve invitro olarak insülin duyarlı hücrelerde insülin reseptörüne bağlanarak insülino mimetik etki gösterdiği bulunmuştur. 3T3L1 preadiposit ve L6 miyozitte glukoz transportunu ve lipogenezi artırdığı, karaciğerde ise glukoz üretimini azalttığı gösterilmiştir (Fukuhara ve ark 2005).

Plazma visfatin düzeyinin, tip 1 ve tip 2 DM'li hastalarda beta hücre fonksiyon bozukluğunun derecesi ile orantılı olarak arttığı gösterilmiştir (Lopez ve ark 2006).

Yapılan çalışmaların sonuçları göstermiştir ki visfatin, çeşitli özelliklerinden dolayı karın içi ve cilt altı yağ dokusu arasındaki biyolojik farklılıkların anlaşılması için önemli olabilir ve bu dokuların metabolik sendroma katkısını açıklayabilir. İntra abdominal şişmanlığı olanlarda insulin direnci gelişmektedir. Mekanizması tam açıklanamamakla birlikte yağ miktarının aşırı artışı belli eşik değerini geçtiğinde daha fazla depolanamayarak karaciğer, pankreas, kas gibi organlara yönlendirilmekte, bu organlardaki lipit birikimi de toksik olabilmektedir. Bu olay insülin direncini indükler, bu da lipotoksisite olarak bilinir. Visfatin ilk olarak plazmada bulunmuştur ve yapılan çalışmalarda plazma konsantrasyonunun karın içi yağ kitlesi artışı ile korelasyon gösterdiği ancak cilt altı yağ dokusu artışı ile korelasyon göstermediği ileri sürülmüştür (Chen ve ark 2006).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Şekli

Çalışmamız; Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Aile Hekimliği Polikliniği'ne başvuran hastalar üzerinde gerçekleştirildi. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Komisyonu tarafından 25 Nisan 2008 tarih ve 2008/83 numaralı kararı ile tez projesi onaylandıktan sonra çalışmaya başlandı.

2.2. Olgu Seçimi

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Polikliniği' nde tanı almış 20 yaş ve üzeri 25 (erkek:10, kadın:15) metabolik sendrom hastası çalışmaya dahil edildi. Bireyler seçilirken, MS tanısı için ATP III kriterleri temel alındı. Bu kriterlere göre serum TG düzeyi 150 mg/dL ve üzerinde, açlık kan glukozu 110 mg/dL ve üzerinde, serum HDL-K düzeyi 40mg/dL ve altında olan bireyler ile kan basıncı 130/80 mmHg ve üzerinde olanlar çalışmaya alındı. Diğer bir MS kriteri olan abdominal obezite ölçütü olarak 102 cm ve üzerinde bel çevresine sahip bireyler seçildi. Bu 5 kriterden 3 veya daha fazlasının varlığı halinde MS tanısı konuldu.

Kontrol grubu olarak hasta grubu ile yaş, cinsiyet ve eğitim düzeyi yönünden benzer olan ve aynı polikliniğe check-up için gelmiş, her hangi bir akut ya da kronik hastalığı olmayan; ATP III tanı kriterlerinin 3 tanesinin birlikte bulunmadığı 25 (erkek:10, kadın 15) sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi.

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylere projenin amacı ve kapsamını açıklayıcı bilgiler verildikten sonra kendilerinden yazılı aydınlatılmış onam belgesi alındı.

Kardiyovasküler veya serebrovasküler olay hikayesi olanlar, konjestif kalp krizi geçirenler, hepatik veya renal hastalığı olanlar, 12 aydan daha önce ACE inhibitörü veya anjiyotensin reseptör blokörü kullananlar, diğer antihipertansif ilaçlardan veya lipid düşürücü ajanlardan kullanmış olanlar, vitamin, koenzim Q ve Omega-3, Omega-6, DHA

vb preperatları alanlar ile sigara ve alkol kullananlar ile çalışmaya katılmayı kabul etmeyenler dışlama kriterleri olarak belirlendi.

2.3. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerden 8-12 saat açlığı takiben sabah saatlerinde venöz kan örnekleri; serum örnekleri için herhangi bir koruyucu ve antikoagülan madde içermeyen tüplere ve plazma örnekleri için ise antikoagülan olarak EDTA içeren tüplere alındı.

Alınan kan örnekleri Hettich marka santrifüj cihazı ile 4000 rpm/dakika hızla 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serum örneklerinde glukoz, trigliserid, kolesterol, HDL kolesterol düzeyi ile plazma örneklerinden HbA1c analizleri hemen yapıldı. Ayrıca daha sonra çalışılacak biyokimyasal analizler (PON, ARE, visfatin ve insülin seviyeleri) için yeterli miktarda serum örneği ayrılarak -80° C'de derin dondurucuda analiz süresine kadar saklandı.

2.4. Fiziksel Özelliklerin Ölçümü

2.4.1. Arteriyel Tansiyon Ölçümü

Arteriyel kan basıncı ölçümleri, 10 dakikalık istirahat sonrası oturur pozisyonda sağ koldan Oncomed marka sfigmomanometre ile yapıldı.

2.4.2. Vücut Kütle İndeksi Hesaplanması

Çalışmaya katılan bireylerin; boyları metre olarak, vücut ağırlığı ise kg olarak ölçüldü. Obezite ölçütü olarak, vücut ağırlığının (kg) boyun karesine (m^2) bölünmesiyle elde edilen vücut kitle indeksi (VKİ) kullanıldı. Çalışmaya alınanlarda VKİ> 30 kg/m^2 olanlar obez olarak, VKİ=18.5-24.9kg/m^2 olanlar ise non-obez kabul edildi.

Vücut-Kitle indeksi (kg/m^2): VKİ= Vücut ağırlığı (kg) / boy ² (m^2)

2.4.3. Bel Çevresi ve Kalça Çevresi Ölçümü

Bel çevresi olarak, arkus kostarum ile processus spina iliaka anterior süperior arasındaki en dar çap, kalça çevresi olarak da arkada gluteus maksimusların en çıkıntılı yerinden ve önde simfizis pubis üzerinden geçen en geniş çap kabul edildi.

2.5. Biyokimyasal Analizler

Kullanılan kimyasal maddeler

Paraokson (Supelco)

Fenilasetat (Fluca)

$CaCI^2$ (Merck)

HCI (Merck)

TRİS (Merck)

NaOH (Merck)

Otomotik pipetler (Medispec)

Kullanılan cihazlar ve teknik araç, gereçler

Biotek EL/50 ELISA yıkama cihazı

Biotek EL/800 ELISA okuma cihazı

SB 4025 etüv

Spekol 1300 spektrofotometre

Shimadzu UV1700 spektrofotometre

XP 320 M hassas terazi

NM 110 shaker

Tansiyon aleti (Oncomed)

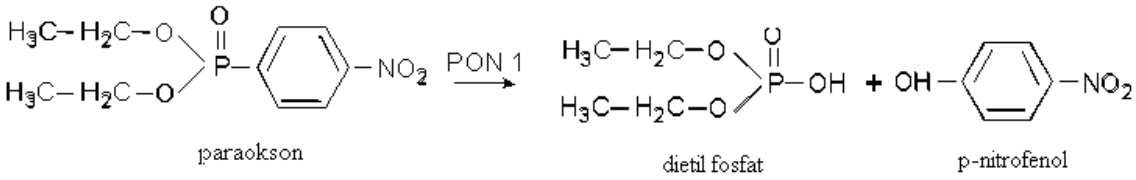
2.5.1. Paraoksonaz aktivitesi tayini

Organofosfat bileşiklerinden paratiyonun aktif katabolik metaboliti olan paraokson (o,o-dietil-o-p-nitrofenil fosfat), enzime adını verdiği gibi, aktivite tayininde de en çok kullanılan substratlardan birisidir. Serum PON1 enzimi aktivitesi ölçümü için Mackness ve

arkadaşlarının geliştirdiği yöntemin Gülcü ve arkadaşlarının önerdiği modifiye şekli kullanıldı (Mackness 1998, Gülcü ve Gürsu 2003).

Prensip

PON1 aktivitesiyle substratı olarak kullanılan paraoksonun hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenolün bir dakikada oluşturduğu absorbans artışının 37 ºC'lik ortam sıcaklığında ve 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır.



Çözeltiler

1) Paraokson stok çözeltisi: 0.1 M paraokson stok çözeltisi, asetonda hazırlandı. Hazırlanan bu stok çözeltisi derin dondurucuda saklandı.

2) Reaksiyonda kullanılacak 2 mM paraokson çözeltisi, 0.1 M stok çözeltisinden yararlanılarak 0.1 M Tris-HCl (MA:121,1gr,pH: 8), çözeltisinde taze olarak hazırlandı.

3) 2 mM kalsiyum klorür çözeltisi pH'sı 8.0 olan 0.1 M Tris-HCl çözeltisinden yararlanılarak 2 mM kalsiyum klorür çözeltisi hazırlandı.

4) 1 M sodyum klorür çözeltisi: pH'sı 8.0 olan 0.1 M Tris-HCl çözeltisi kullanılarak 1 M NaCl çözeltisi hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Reaksiyon çözeltisi 2 mM $CaCl_2$, 2 mM Paraokson, 1 M NaCl içeren pH: 8'de 0,1 M Tris-HCl çözeltisi ile hazırlandı. Kör ve örnek tüplerine 3,5 ml reaksiyon çözeltisinden konuldu. 100 µL örnek örnek tüpüne eklendi. Örnek tüpleri 10 sn kadar vorteksle karıştırıldı. 37 °C sıcaklıktaki su banyosunda 5 dakika inkübe edildi. Daha sonra spektrofotometrede 412 nm'deki absorbans değişimleri 5 dakika boyunca izlendi. Kör tüpündeki absorbans değişimi örnek tüplerindeki absorbans değişimlerinden çıkarıldı. Üretilen p-nitrofenolün miktarı 412 nm' deki molar absorptivite katsayısı olan 18290 m^{-1} cm^{-1} den faydalanılarak hesaplandı. 1 Ünite (U) PON1 aktivitesi, yukarıda belirtilen şartlarda 1 dakikada hidrolize olan paraoksonun µmol cinsinden miktarı olarak tanımlandı ve **U/L** olarak verildi.

Hesaplama

PON1 ve ARE enzim aktiviteleri hesaplanırken şu formülden faydalanıldı (Mehmetoğlu 2007) :

$$\text{PON1 Aktivitesi (U/L) (µmol /dk/L)} = \frac{\Delta \text{ A/dk X TV (ml) X } 10^{6}}{\varepsilon_{\text{p-nitrofenol}} \text{ X NV(ml)}}$$

Δ A/dk: Paranitrofenolün 412 nm' de dakikadaki absorbans değişimi

$\varepsilon_{\text{p-nitrofenol}}$: Paranitrofenolün 412 nm' de molar absorptivite katsayısı ($m^{-1} cm^{-1}$)

TV: ml cinsinden toplam reaksiyon hacmi

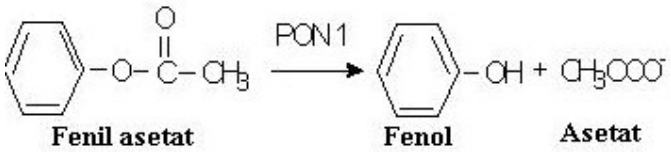
NV: ml cinsinden numune hacmi

2.5.2. Arilesteraz Aktivitesi Tayini

Aromatik karboksilik asit esterlerinden fenil asetat, arilesteraz enziminin aktivitesinin tayininde sıklıkla kullanılmaktadır. Serum ARE aktivitesi ölçümü için Haagen ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntemin Gülcü ve arkadaşlarının önerdiği modifiye şekli kullanıldı (Haagen ve Brock 1992, Gülcü ve Gürsu 2003).

Prensip

ARE aktivitesiyle substrat olarak kullanılan fenilasetatın hidrolizi sonucu oluşan fenolün 1 dakikada oluşturduğu absorbans artışının 37 ºC'lik ortam sıcaklığında ve 270 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır.



Çözeltiler

1*)* Fenil asetat stok çözeltisi: 0.5 M fenil asetat stok çözeltisi (MA: 136.14, d:1.08 g/l) etanolde hazırlandı. Çözelti derin dondurucuda saklandı.

2) 2 mM fenil asetat çözeltisi: Stok 0.5 M fenil asetattan ölçüm yapılmadan hemen önce 0.1 M Tris-HCl (pH=8) tampon çözeltisi ile hazırlandı.

3) 2 mM kalsiyum klorür çözeltisi: 0.1 M Tris-HCl tamponundan 2 mM $CaCl_2$ çözeltisi hazırlanır.

Deneyin Yapılışı

Reaksiyon çözeltisi 2 mM $CaCl_2$, 2 mM fenil asetat içeren pH:8' de 0,1 M Tris-HCl çözeltisi ile hazırlandı. Kör ve örnek tüplerine 3,5 ml reaksiyon çözeltisinden konuldu. Serum örneklerinden 100'er µL örnek tüplerine eklendi. Örnek tüpleri 10 sn kadar vorteksle karıştırıldı. 37 °C sıcaklıktaki su banyosunda 5 dakika inkübe edildi. Daha sonra spektrofotometrede 412 nm'deki absorbans değişimleri 5 dakika boyunca izlendi. Kör tüpündeki absorbans değişimi örnek tüplerindeki absorbans değişimlerinden çıkarıldı. Üretilen fenolün miktarı 270 nm' deki molar absorptivite katsayısı olan 1310 $m^{-1} cm^{-1}$ den faydalanılarak hesaplandı. 1 Ünite (U) ARE aktivitesi, yukarıda belirtilen şartlarda 1 dakikada hidrolize olan fenil asetatın µmol cinsinden miktarı olarak tanımlandı ve **U/L** olarak verildi.

Hesaplama

$$\text{ARE Aktivitesi (U/L) (µmol /dk/L)} = \frac{\Delta \text{ A/dk X TV (ml) X } 10^6}{\varepsilon_{fenol} \text{ X NV(ml)}}$$

Δ A/dk: Fenolün 270 nm' de dakikadaki absorbans değişimi

ε_{fenol}: Fenolün 270 nm' de molar absorptivite katsayısı ($m^{-1} cm^{-1}$)

TV: ml cinsinden toplam reaksiyon hacmi

NV: ml cinsinden numune hacmi

2.5.3. Visfatin Analizi

Ölçüm için Visfatin C-Terminal (Human) EIA (Katalog No: EK-003-80) (Phoenix Pharmaceuticals, Inc, Karlsruhe, Germany) hazır kit kullanılarak enzim immunoassay yöntemi ile ölçüm yapıldı. Ölçüm prensibi yarışmalı enzim immunoassay esasına dayanmaktadır. İmmunoplate sekonder antikor ile kaplanmış ve nonspesifik bağlanma bölgeleri bloke edilmişti. Sekonder antikor, primer antikorun (peptid antikoru) Fc fragmanına bağlanabilir ve primer antikorun Fab fragmanı da yarışmalı olarak hem biotinile peptid hem de peptid standardı veya örneklerdeki hedef peptidi bağlayabilir. Biotinile peptid 3,3´,5,5´ tetrametil benzidin (TMB) den oluşan substrat solüsyonu ile

hidrojen peroksitin mavi renkli solüsyon oluşturmak üzere girdikleri reaksiyonu katalizleyen streptavidin-horseradish peroxidase (SA-HRP) ile etkileşime girer. Enzim substrat reaksiyonu HCl ile durdurulur ve renk sarıya döner. Sarı rengin yoğunluğu biotinile peptid-SA-HRP kompleksin miktarı ile doğru; standart sloüsyonlar ve örneklerdeki peptid miktarı ile ters orantılıdır. Bu, biotinile peptidin standart peptid ve numunedeki peptidle primer antikora bağlanmak için yarışmasından kaynaklanan bir durumdur. Standartların bilinen konsantrasyonlarından oluşturulan standart eğriden örneklerdeki bilinmeyen peptid miktarı saptanabilmektedir.

Kit İçeriği

1. 20 x assay buffer konsantrasyonu
2. 96 kuyucuklu immunoplate
3. Asetat plate kapatıcı
4. Primer antiserum konsantrasyonu
5. Standart peptid
6. Pozitif kontrol
7. Biyotin peptid konsantrasyonu
8. Streptavidin-horseradish peroksidaz
9. Substrat solüsyonu
10. 2N HCI
11. Assay diyagramı
12. Genel protokol

Ölçüm Metodu

Ölçüm için örnekler ve tüm kit solüsyonları çalışılmadan önce oda sıcaklığına gelmesi için 25 dakika bekletildi. 20x konsantre assay buffer, 950 ml su ile seyreltildi. Standart peptid seyreltilmiş assay bufferın 1 ml'si ile seyreltildi, santrifüj edildi ve vortekslendi. Konsantrasyonu 1000ng/ml olan stok çözeltiyi tamamen çözmek için oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.Kullanılmadan önce santrifüj edilip vortekslendi. immunoplate kuyucukların her biri 300 µ1 assay bufferla yıkandı.5 dakika bekletildi. Pozitif kontrolü 1x'lık 200µ1 assay buffer ile sulandırılıp santrifüj edildi. Tamamen çözülmesi için solüsyonu en az 5 dakika bekletildi. A-1 ve A-2 çukurları Blank olarak boş bırakıldı. 1 x'lık 50µ1assay buffer B-1 ve B-2 çukurlarına Total Binding olarak eklendi.

0.1ng/ml olarak hazırlanmış peptit standartlarından 50µ1'si stok çözeltiye eklendi ve bu çözeltiden C-1 ve C-2'den G-1 ve G-2 çukurlarına kadar sırasıyla eklendi. Pozitif kontroller 50µ1 ile tekrar sulandırıldı ve H-1, H-2 çukurlarına eklendi. Örneklerden 50µ'lik alınarak onlar için belirlenen kuyucuklara koyuldu. Antiserum konsantrasyonu 100µ1 1x assay buffer ile seyreltildi ve vortekslendi. Bu solüsyondan blank hariç her bir çukurcuğa 25µ1 eklendi. Daha sonra biotin peptit konsantrasyonu 100µ1'lik 1x assay buffer çözeltisi ile seyreltildi ve blank hariç her bir kuyucuğa 25µ1 eklendi. İmmunoplate APS ile kapatılıp ve oda sıcaklığında 300-400 rpm'de dairesel çalkalama hareketiyle inkübe edildi. Bu kitle verilen SA-HRP viali 3000-5000 rpm 5 saniye santrifüj edildi. SA-HRP solüsyonu hazırlamak için 12ml'lik 1x assay buffer'a 12µ1 SA-HRP eklenip vortekslendi. APS immunoplateden uzaklaştırıldı. Kuyucukların içeriğini boşaltıldı. Her bir kuyucuk 350µ1'lik 1x assay buffer ile 4 kez yıkanır kuyucukların içeriği boşaltıldı. Her bir kuyucuğa 100µ1 SA-HRP solüsyonu eklendi. Immunoplate APS ile kapatılıp ve oda sıcaklığında 1 saat 300-400 rpm'de orbital çalkalama ile inkübe edildi. APS'yi immunoplatten uzaklaştırıldı ve her bir kuyucuk 350µ1'lik 1x assay buffer ile 4 kez yıkanıp kuyucukların içeriği boşaltıldı. Bu kitle verilen TMB substrat solüsyonunda her bir kuyucuğa 100µ1 eklendi. Inkübasyon süresi için 300-400 rpm'de orbital olarak çalkalandı. TMB solüsyonu eklendikten sonra, ışıktan korumak için immunoplate ile kaplandı. Immunoplate APS ile yeniden işaretlendi ve oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi. APS immunoplateden uzaklaştırıldı. Kuyucuklardaki reaksiyonu önlemek için herbir kuyucuğa 100 µl 2 N HCL eklendi. Kuyucuklardaki renk değişimi maviden sarıya döndü. Immunoplate microtiter plate okuyucuda 450nm dalga boyunda okundu. Stanadart konsantrasyonlarının logaritmasına karşı absorbanslarından oluşan standart grafiğinden faydalanılarak numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

2.5.4. Diğer Biyokimyasal Ölçümler

Glukoz, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol konsantrasyonları enzimatik kolorimetrik yöntemlerle Synchron LX20 analizöründe (Beckman Coulter, ABD) orijinal Beckman kitleri kullanılarak ölçüldü. LDL-kolesterol düzeyleri Friedewald formülü ile hesaplandı.

Total kolesterol (mg/dl) = HDL-kolesterol + VLDL ([Trig]/5) + LDL-kolesterol.

İnsülin düzeyinin belirlenmesi

İnsülin düzeyleri immünolojik olarak elektrokemilüminesan yöntemle Cobas İnsülin kiti (Katalog No: 12017547) (Roche Diagnostics, GmbH, Almanya) kullanılarak Roche E170 immunoassay cihazında (Roche Diagnostics, GmbH, Almanya) saptandı.

HbA_{1c} analizi

HbA_{1c} analizi HPLC tekniği ile Variant II hemoglobin analizöründe (BioRad Hemoglobin Analysing System, BioRad Laboratories, Almanya) gerçekleştirildi.

İnsülin rezistansının belirlenmesi

İnsülin rezistansının belirlenmesinde homeostaz model değerlendirmesi (HOMA) kullanıldı (Matthews ve ark 1985). HOMA-IR indeksinin hesaplanmasında şu formülden faydalanıldı:

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Açlık insülini (U/ml) X açlık glukozu (mmol/L)}}{22,5}$$

2.5.5. İstatistiksel Analiz

Bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 15.0 for Windows istatistik paket programı kullanıldı. Önce hasta ve kontrol gruplarına ait demografik ve analitik verilerin dağılım analizleri Shapiro Wilk dağılım analizi ile yapıldı. Normal dağılım gösteren parametreler (yaş, bel çevresi ve kalça çevresi) için bağımsız t testi yapıldı. Normal dağılım göstermeyen parametreler (VKİ, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, serum glukoz, trigliserit, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, HbA_{1c}, visfatin ve insülin düzeyleri ile PON1, ARE aktiviteleri ve HOMA-IR indeksleri) için ise nonparametrik testlerden Mann Whitney testi kullanıldı. Parametreler arasındaki ilişkiler ikişerli olarak Spearman nonparametrik korelasyon analizi ile değerlendirildi. Çizelgelerde bulgular ortalama±standart sapma olarak verildi. $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışmaya ATP III tanı kriterlerine göre tanı almış 25 MS (erkek 10,kadın 15) olgusu ile 25 (erkek 10,kadın 15) sağlıklı birey olmak üzere 50 birey dahil edilmiştir.

Hasta ve kontrol grubundaki bireyler demografik özelliklerin dağılımı açısından incelendiğinde; her iki grubun yaş dağılımları benzerdi (>0,05).VKİ, bel çevresi, kalça çevresi, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı değerleri metabolik sendrom grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$) (Çizelge 3-1) .

Biyokimyasal analiz verileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde MS'li hastalarda serum glukoz, trigliserid ve HbA1c seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseklik bulunurken ($p<0,05$); total kolesterol, LDL-K konsantrasyonları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Hasta grubundaki bireylerin HOMA-IR ve insulin değerleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$) (Çizelge 3-2).

HDL-K düzeyi, PON1 ve ARE enzim aktiviteleri metabolik sendrom grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu bulundu ($p<0,05$) (Çizelge 3-2) (Şekil 3-1, Şekil 3-2).

Gruplar arasında visfatin düzeyleri açısından ise anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$) (Çizelge 3-2) (Şekil 3-3).

Parametreler arasındaki ilişkiler ikişerli olarak Spearman nonparametrik korelasyon analizi ile değerlendirildi. Bu analiz sonuçlarına göre PON1 ile VKİ, bel çevresi, kalça çevresi, diastolik kan basıncı, sistolik kan basıncı, glukoz, trigliserit, HbA1c, HOMA-IR arasında negatif korelasyonlar bulunmuştur. PON ile ARE ve HDL-K arasında pozitif korelasyonlar bulunmuştur. LDL-K, total kolesterol, ve insulin ile PON1 arasında ise korelasyon bulunamamıştır (Çizelge 3-3).

ARE ile VKİ, bel çevresi, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı,glukoz arasında negatif korelasyonlar bulundu. ARE ile kalça çevresi ve HOMA-IR arasında

negatif korelasyon bulundu. HDL-K, LDL-K, HbA1c, insulin,trigliserid ile ARE arasında korelasyon bulunamadı (Çizelge 3-3).

Çizelge 3-1: Metabolik sendrom ve kontrol gruplarına ait demografik özellikler.

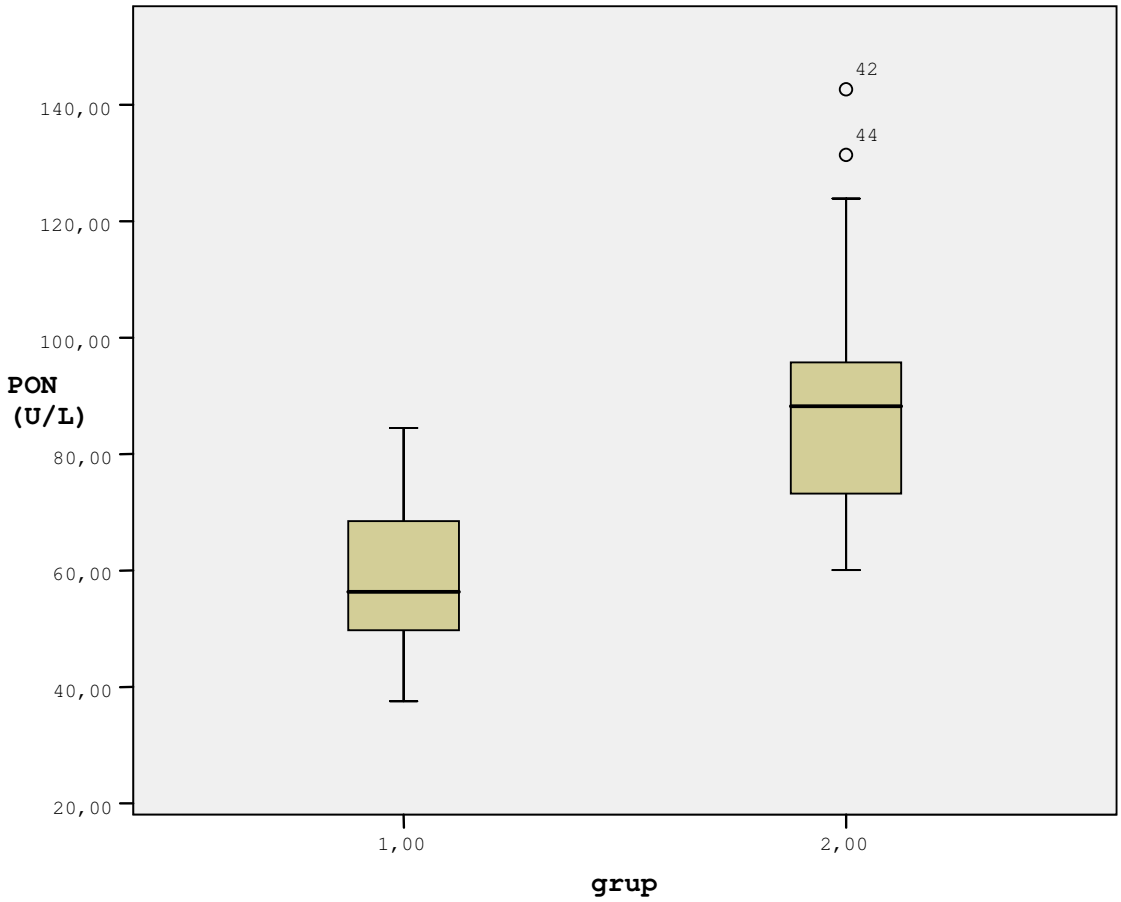
Parametre		Metabolik Sendrom	Kontrol	p
N		25	25	
	Erkek	10	10	
	Kadın	15	15	
Yaş		56,64±10,28	51,16±10,99	p>0,05
VKİ		34,29±5,68	26,01±3,82	p<0,05
Bel Çevresi (cm)		106,88±11,30	79,16±11,3	p<0,05
Kalça Çevresi (cm)		120,08±14,85	93,68±15,77	p<0,05
Sistolik Kan Basıncı (Hg)		142,80±19,47	118,20±10,88	p<0,05
Diastolik Kan Basıncı (Hg)		87,60±13	73,00±12,24	p<0,05

Çizelge 3-2: Metabolik sendrom ve kontrol gruplarının biyokimyasal analiz verileri.

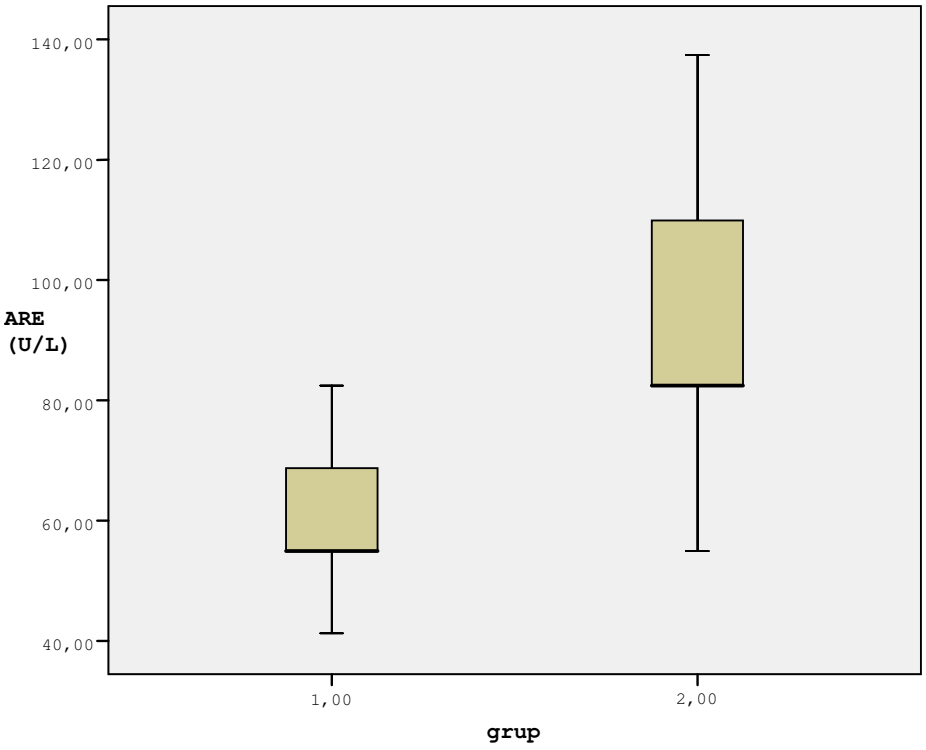
Parametre	Metabolik Sendrom	Kontrol	p
Glukoz (mg/dl)	112,80±30,05	88,56±9,82	p<0,05
Trigliserit (mg/dl)	132,96±59,13	89,96±35,67	p<0,05
Total Kolesterol (mg/dl)	198,00±56,97	180,08 ±45,28	p>0,05
HDL-Kolesterol (mg/dl)	34,59±7,44	42,67±12,92	p<0,05
LDL-Kolesterol (mg/dl)	137,71±53,18	122,03±37,19	p>0,05
HbA1c (mg/dl)	6,32 ±1,66	5,01±0,69	p<0,05
İnsülin (U/l)	10,05±5,81	6,42 ±2,78	p<0,05
HOMA-IR	2,92±2,71	1,43±0,67	p<0,05
PON1 (U/l)	58,59±12,03	88,81±21,23	p<0,05
ARE (U/l)	58,91±13,55	86,63±24,68	p<0,05
Visfatin (ng/dl)	18,41±21,42	15,08±11,57	p>0,05

Çizelge 3-3: PON1, ARE aktiviteleri ve visfatin seviyeleri ile metabolik sendrom kriterleri arasındaki korelasyon analiz sonuçları.

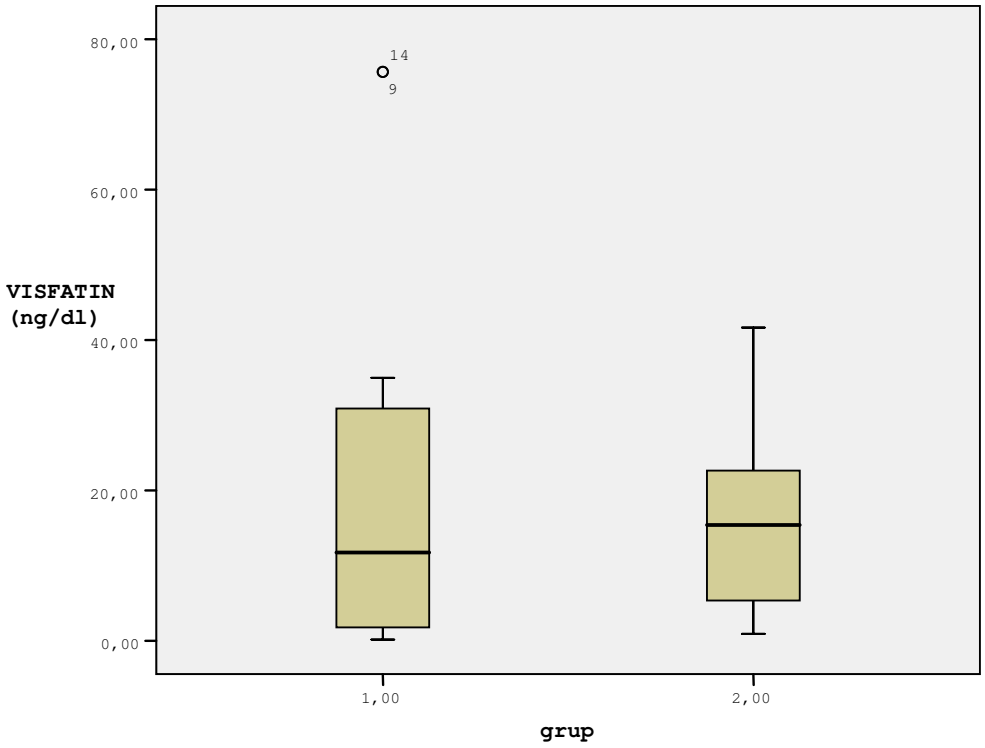
Parametre	PON1	ARE	Visfatin
VKİ	r=0,519 p<0,05	r=0,351 p<0,05	ilişkisiz
S-KB	r=-0,541 p<0,05	r=0,404 p<0,05	ilişkisiz
D-KB	r=-0,340 p<0,05	r=-0,340 p<0,05	ilişkisiz
Glukoz	r=0,444 p<0,05	r=-0,352 p<0,05	ilişkisiz
TRIG	r=-0,300 p<0,05	ilişkisiz	ilişkisiz
Total-K	ilişkisiz	ilişkisiz	ilişkisiz
HDL-K	r=0,333 p<0,05	ilişkisiz	ilişkisiz
LDL-K	ilişkisiz	ilişkisiz	ilişkisiz
HbA_{1C}	r=-0,576 p<0,05	ilişkisiz	ilişkisiz
İnsülin	ilişkisiz	ilişkisiz	ilişkisiz
HOMA-IR	r=0,381 p<0,05	r=-0,307 p<0,05	ilişkisiz
PON1		r=0,341 p<0,05	ilişkisiz
ARE	r=0,341 p<0,05		ilişkisiz
Visfatin	ilişkisiz	ilişkisiz	



Şekil 3-1: Grupların PON1 aktiviteleri. (Grup1:MS, 2: Kontrol)



Şekil 3-2: Grupların ARE aktiviteleri. (Grup1:MS, 2: Kontrol)



Şekil 3-3: Grupların visfatin düzeyleri. (Grup1:MS, 2: Kontrol)

4. TARTIŞMA

Metabolik sendromu oluşturan hastalıkların (dislipidemi, hiperglisemi, hipertansiyon, obezite) hepsinin temelinde insülin direncinin rolü bulunmaktadır. Bu hastalıklar ve insülin direnci endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz sürecini hızlandırarak klinikte koroner arter hastalığı, inme ve periferik damar hastalığı gibi yüksek mortalite ile seyreden tablolara neden olmaktadır (Özbakkaloğlu ve Demirci 2003).

Metabolik sendromun varlığı hem diyabet hem de kardiyovasküler hastalık gelişiminde yüksek bir risk oluşturmaktadır. Birçok çalışma MS'nin ileride gelişecek olan diyabeti öngördüğünü göstermiştir. Metabolik sendromu olan kişiler artmış kardiyovasküler hastalık ve tüm nedenlerine bağlı mortalite riski ile karşı karşıyadır (Isoma ve ark 2001).

Koroner hastalık için başka bir faktör de oksidatif strestir. HDL ilişkili enzim paraoksonaz-1 (PON1), LDL için oksidatif modifikasyonların önlenmesinde HDL'nin kapasitesini belirleyen önemli bir belirteç olarak tanımlanmıştır. MS'li hastalarda PON1' in aktivitelerinin önemli derecede azaldığı gösterilmiştir (Navab ve ark 2005).

Paraoksonaz-1 (PON1); gerek HDL'nin aterosklerozdan koruyucu etkisine katkıda bulunarak, gerekse lipoprotein peroksidasyonunu ve LDL kolesterolün oksidasyonunu önleyerek, aterosklerotik süreçte koruyucu bir role sahip olduğu düşünülen antioksidan bir enzimdir. PON1 düzeyinin; KVH olanlarda, sigara içenlerde, hiperkolesterolemide, ileri yaşta, obezitede, menopozda ve böbrek yetmezliklerinde azaldığı ortaya konulmuştur (Mackness ve ark 1998)

Visfatin, en son keşfedilen adipokindir (Kralisch ve ark 2005). Visfatin insülin reseptörüne insülinden uzak bir yerde bağlanır ve hepatositlerden glukoz salınımını azaltarak ve periferal dokulardaki glukoz kullanımını teşvik ederek hipoglisemik etki oluşturur. Visfatin plazma konsantrasyonları, abdominal obezitesi veya DM'si olan insanlarda artmaktadır (Beltowski 2006).

MS grubu demografik özellikler açısından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında VKİ, bel ve kalça çevresi, sitolik ve diyastolik kan basınçları ölçümleri ile serum glukoz,

trigliserid, HbA_{1c}, insülin düzeyleri ve HOMA-IR indeksleri anlamlı olarak yüksek bulundu. HDL-kolesterol konsantrasyonları ile PON1 ve ARE aktivitelerinin MS' de belirgin olarak azaldığı, LDL-kolesterol ile visfatin konsantrasyonlarının ise iki grupta benzer olduğu gözlendi (Çizelge 3-1, 3-2).

MS hastaları seçilirken her ne kadar ATP III kriterlerinden en az 3 tanesini taşıyanlar çalışmaya alınmış olsa da; hem VKİ, bel çevresi, sistolik ve diyastolik kan basıncı gibi demografik hem de glukoz, HDL-kolesterol ve trigliserid gibi biyokimyasal MS kriterlerinin hepsinin sağlanmış olduğu bu hastaların bu parametrelerine ait ölçümlerinin kontrol grubundan belirgin olarak farklı olması ile de gösterilmiştir (Çizelge 3-1, 3-2).

MS hastalarında HbA_{1c} düzeylerinin de sağlıklı bireylerden anlamlı olarak yüksek bulunması aslında bu hastalardaki insülin direnci gelişimi ve buna bağlı bozulmuş glukoz toleransının aslında en azından 2-3 ay öncesinde de mevcut olduğunu düşündürmektedir. Karagenç 'in yapmış olduğu çalışmada paraoksonaz enzim aktivitesiyle serum glukoz ve HbA1c düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır (Karagenç 2003).

Çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarının total ve LDL-kolesterol düzeylerinin benzer olduğu görüldü. Literatürdeki çalışmalarda MS hasta grubunda total kolesterol ve LDL-K değerleri ile ilgili çeşitli sonuçlar bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda total kolesterol ve LDL-K, MS hastaları ve kontrol grubu arasında farklı bulunurken bazı çalışmalarda bu farklılık izlenmemiştir. Bazı çalısmalarda sadece total kolesterol, bazılarında ise sadece LDL-K değeri farklılık göstermektedir. Ancak total kolesterol ve LDL-K yüksekliği MS kriterleri arasında bulunmamaktadır. Bu konu ile ilgili daha fazla araştırmaya gerek vardır.

İnsülin düzeyleri ve HOMA-IR indeksleri MS grubunda sağlıklı bireylerden anlamlı olarak yüksek bulundu. Ancak insülin düzeyleri her iki grupta da referans aralığının içindeydi. MS grubunda HOMA-IR indeksi Hatun'un (2003) Türk toplumu için verdikleri sınır olan 2,4' ten yüksek bulundu. Bu bulgu da çalışmamıza dahil olan MS hastalarında insülin rezistansı gelişimini göstermektedir.

PON1 ve ARE aktivitelerinin MS grubunda belirgin olarak azaldığı gözlendi. Ateroskleroza karşı koruyucu rolü olan bu enzimlerin aktivitelerinin azalması MS

hastalarında zaten var olan kardiyovasküler hastalık riskini artırmaktadır. Daha önce yapılan araştırmalarda da obezlerde, diabetiklerde ve MS' de bu enzimlerin aktivitelerinin azaldığı gösterilmiştir (Senti ve ark 2003). Bizim sonuçlarımız literatür sonuçları ile uyumludur.

PON1 aktiviteleri ile diğer demografik ve biyokimyasal parametreler arasında gerçekleştirilen ikişerli korelasyon analizlerinde ise PON1 aktiviteleri ile VKİ, bel ve kalça çevresi ölçümleri, sistolik ve diastolik kan basınçları, serum glukoz, trigliserid, HbA_{1c} düzeyleri ve HOMA-IR indeksleri arasında negatif korelasyonlar; HDL-kolesterol düzeyleri ve ARE aktiviteleri ile PON1 aktiviteleri arasında ise pozitif korelasyonlar olduğu görüldü. PON1 aktiviteleri ile serum total kolesterol, LDL-kolesterol, insülin ve visfatin düzeyleri arasında ise anlamlı bir ilişki bulunamadı. PON1 aktiviteleri ile MS kriterleri arasındaki kuvvetli korelasyonlar PON1 aktivitesinin hem bağımsız bir kardiyovasküler risk faktörü hem de MS kriteri olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Senti ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PON1 aktivitesi ile metabolik sendrom arasındaki bağlantı araştırılmış, metabolik sendromlu olanlarda normal deneklere göre serum PON1 aktiviteleri önemli miktarda düşük ve lipid peroksit konsantrasyonu ise yüksek bulunmuştur (Senti ve ark 2003).

ARE aktivitesi ile diğer parametreler arasında yapılan ikişerli korelasyon analizi sonuçlarına göre ise ARE aktivitesi ile VKİ, bel çevresi, kalça çevresi, diastolik kan basıncı, sistolik kan basıncı ölçümleri ve serum glukoz düzeyleri ve HOMA-IR değerleri arasında negatif korelasyonlar olduğu gözlendi. Serum trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, HbA_{1c}, insülin ve visfatin düzeyleri ile ARE aktiviteleri arasında ise anlamlı bir ilişki bulunamadı.

Literatürde ARE aktivitesi ve metabolik sendrom arasındaki ilişkiyi değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Araştırıcılar daha çok PON1 aktivitesi üzerinden paraoksonaz aktivite ölçümü yapmışlardır. Bizim sonuçlarımız bu konuda ilk veriler olma özelliğindedir.

Visfatin düzeyleri gruplarda birbirlerinden farklı değildi. Daha önce değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda obezitede yüksek ve DM' de visfatin düzeyleri yüksek olarak bulunmuştu (Chen ve ark 2006, Krzyzanowska ve ark 2006). Bizim çalışmamızda MS ve kontrol gruplarının benzer visfatin düzeyleri gruplardaki vaka sayılarının sınırlı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Visfatin düzeyleri ile hem MS kriterleri hem de PON1 ve ARE aktiviteleri arasında anlamlı bir ilişki gözlenmedi.

Wassink ve arkadaşları çalışmalarında önceleri pre-B-hücre kolonisi artırıcı faktör olarak tanımlanan visfatinin viseral adipoz dokuda bol bulunduğunu tespit etmiş ve plazma visfatin seviyesinin obezite ile korele olduğunu belirtmişlerdir. Visfatinin farelerde ve kültür ortamında kandaki glukoz seviyesini düşürdüğü gözlenmiştir. Buna rağmen, insanda plazma visfatin seviyesi ile insülin duyarlılığının parametreleri arasında hiçbir korelasyon bulunamamıştır. Bu nedenle insanlardaki glukoz hemostazında visfatinin rolünün belirlenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır (Wassink ve ark 2007)

Susan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada belirtildiğine göre visfatin yeni bir adipositokin olarak karakterize edilmekte ve çeşitli dokularda insülin benzeri etkiler göstermektedir. Bu adipositokinin etkinliğini ve regülasyonunu açığa çıkarmak için adipogenez sırasında ve insülin duyarlılığı değiştirdiği bilinen hormonlar ile tedavi edildikten sonra 3T3-L1 adipositokindeki pekçok gerçek zamanlı ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonlar ile visfatin mRNA ölçülmüştür. Çalışmaları visfatin mRNA'nın insülin dirençli uyarıcı hormonlar tarafından farklı regulasyonunu göstermiştir. Bu bulgu bu adipositokinin obezite ve insülin direnci gibi metabolik sendromun temel bileşenlerini bağlayan yeni, ilginç bir aday olduğu görüşünü desteklemiştir (Kralisch ve ark 2005).

Pagano ve arkadaşlarının zayıf ve obez deneklerdeki visfatin etkinliğini değerlendirmek ve visfatinin insülin direncindeki rolünü incelemek için yaptıkları çalışmada subkutan adipoz dokuda dolaşan visfatin ve onun mRNA ekspresyonu ölçülmüştür. Sonuçta normal kilolu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında obez hastalarda subkutan adipoz dokudaki visfatin ve onun mRNA'sı önemli miktarda düşük çıkmıştır. Dolaşan visfatin ve subkutan adipoz doku visfatin mRNA' sının her ikisinin de VKİ ile

negatif korelasyonuna rağmen homeostaz model değerlendirmesinde hiçbir korelasyon bulunamamıştır. Normal kontrol grupla karşılaştırıldığında obez deneklerin viseral adipoz dokularında önemli miktarda yüksek visfatin mRNA bulunmuştur. Viseral adipoz dokulardaki visfatin mRNA, VKİ ile pozitif olarak korelasyon göstermektedir. Serbest yağ asitlerinin yükseltilmesi insülin direnci oluşmasına yol açmış ama dolaşan visfatin veya onun mRNA'sını etkilememiştir. Sonuçta araştırıcılar tarafından insan obezitesinde plazma visfatinin azaldığı ama subkutan adipoz doku ve viseral adipoz dokularında visfatin mRNA'nın farklı bir şekilde düzenlendiği ve visfatinin normal homeostaz veya yağ verilmesi durumunda insülin direnci ile bir ilişkisi olmadığı yorumunu yapmışlardır (Pagano ve ark 2006).

Wang ve Yu PKOS'li hastalarda serum visfatin, adiponektin ve leptin seviyelerini incelemek için yaptıkları çalışmada PKOS'li hastalarda visfatin ve leptin seviyelerinin yüksek, adiponektin seviyesinin düşük olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca visfatin seviyesinin insülin direnci ile pozitif korelasyonu olduğunu bulmuşlardır (Wang ve Yu 2009).

PON1 düzeyinin her ne kadar daha önceden KVH olanlarda, hiperkolesterolemide, diabet ve obezitede, azaldığı ortaya konulmuşsa da direkt metabolik sendromda PON1 aktivitelerini araştıran çok az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalarda da PON1 aktivitesi ile metabolik sendrom kriterleri arasındaki ilişki tam olarak değerlendirilmemiştir. Bizim çalışmamızda ARE aktivitesinin de PON1 ile birlikte değerlendirilmesi ve her ikisinin de metabolik sendromla kuvvetli ilişkilerinin ortaya konulması ile bu bireylerdeki kardiyovasküler risk belirlenirken bu enzimin de değerlendirmeye alınmasının uygun olacağı düşüncesi kuvvet kazanmaktadır.

Metabolik sendromda diğer adipositokinlerin rolü giderek netleşse de visfatin en son tanımlanmış olan adipoz doku kaynaklı bir protein olarak henüz etkileri, diğer inflamatuar belirteçler ve sitokinlerle ilişkisi çok iyi anlaşılmış değildir. Bizim çalışmamızda visfatin düzeylerinin metabolik sendromlu ve sağlıklı bireylerde benzer bulunuşu, metabolik sendrom kriterleri ile visfatin düzeyleri arasında ilişki gözlenmeyişi literatürde insülin direnci ve visfatin arasında olduğu düşünülen bağlantıyı desteklememektedir. Ancak Pagano ve arkadaşlarının visfatin seviyelerinin obesitede plazmada düşerken, adipoz dokudaki ekspresyonunun değiştiğini belirtmeleri de bu

parametre ile insülin direnci arasındaki ilişkinin hala çok belirgin olmadığı yönündeki kanaatleri artırmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bulgularımıza göre sonuç olarak; MS' de PON1 ve ARE aktivitelerinin belirgin olarak azaldığı ve özellikle PON1 aktiviteleri ile MS kriterleri arasındaki kuvvetli negatif korelasyonlar nedeniyle PON1 aktivitesindeki azalmanın da MS kriterleri arasına alınabileceği, kardiyovasküler hastalıklar açısından bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Visfatin düzeylerinin obezite ve MS ile ilişkisi hala tam olarak açık değildir. Bizim sonuçlarımızda da MS ve kontrol gruplarının benzer visfatin düzeylerine sahip oldukları görülmüştür.

İnsülin direnci gelişimi ile MS komponentleri olan hiperlipidemi, hipertansiyon ve obezite arasındaki ilişkinin patogenezinde hala eksik noktalar vardır ve tam olarak aydınlatılamamıştır. Adipokinler ve sitokinler bu konuda özellikle son yıllarda en çok araştırılan konulardandır. Ancak insülin direnci gelişimin mekanizması hala çok açık değildir. İleri çalışmalarla elde edilecek veriler hem sendromun patogenezinin aydınlatılmasına hem de yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

METABOLİK SENDROMLU HASTALARDA VE SAĞLIKLI BİREYLERDE SERUM VİSFATİN DÜZEYLERİ VE PARAOKSONAZ ENZİM AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

"Ayşe ŞENELMİŞ"

Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2009

Metabolik sendromda ve sağlıklı bireylerde paraoksonaz aktiviteleri ile visfatin düzeylerini saptayıp; bu parametrelerin birbirleri ile ve metabolik sendrom tanı kriterleri ile ilişkileri olup olmadığını ortaya koymayı amaçladığımız çalışmamız 25 metabolik sendrom hastası ile 25 sağlıklı kontrol üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Hasta ve kontrol gruplarının VKİ, bel çevresi, kalça çevresi, sistolik ve diastolik kan basıncı ölçümleri ile serum glukoz, lipid, insülin, HbA_{1c} ve visfatin düzeyleri ile HOMA-IR indeksleri ve PON1, ARE aktiviteleri belirlenmiştir.

Metabolik sendromda PON1 ve ARE aktiviteleri sağlıklı bireylerden anlamlı olarak düşük bulunmuştur, ancak visfatin düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

PON1 aktiviteleri MS hastalarında özellikle kardiyovasküler hastalık riski belirlenirken değerlendirilmelidir. Visfatin ile obezite ve insülin rezistansı arasındaki ilişkiyi aydınlatmaya yönelik ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Metabolik sendrom; paraoksonaz; visfatin

7. SUMMARY

T.C.
SELÇUK UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

INVESTIGATION OF SERUM VISFATIN LEVELS AND PARAOXONASE ENZYME ACTIVITIES IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME AND HEALTHY INDIVIDUALS

"Ayşe ŞENELMİŞ"

Department of Biochemistry

MASTER OF SCIENCE THESIS / KONYA-2009

We aimed to demonstrate paraoxonase activities and visfatin levels in patients with metabolic syndrome and healthy individuals and identify a probable relation between these parameters and metabolic syndrome criteria. Our study was performed on 25 patients with metabolic syndrome and 25 healthy individuals.

BMI, wrist and hip circumferences, systolic and diastolic blood pressures and serum glucose, lipid, insulin, HbA_{1c} and visfatin concentrations, HOMA-IR indexes and PON1, ARE activities of subjects in both groups were determined.

PON1 and ARE activities were significantly decreased in metabolic syndrome and visfatin levels were similar in both groups.

PON1 activities must be considered while determining cardiovascular disease risk. However further investigations are needed to identify the relation between visfatin and obesity and insulin resistance.

Key Words: Metabolic syndrome; paraoxonase; visfatin

8. KAYNAKLAR

1. Alberti KGMM. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. WHO/NCD/NCS/1998.

2. Aldridge WN. Serum esterases. II. an enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenylphosphate EG and its identity with A-esterase of mammalian sera. Bichem J 1953; 53: 117-124.

3. Alebiosu CO, Odusan BO. Metabolic syndrome in subject with type-2 diabetes mellitus. J Natl. Med. Assoc. 2004;96:817-21.

4. Ansell BJ, Watson EK, Fogelman AM, Navab M, Fonarow GC. High-density lipoprotein function. JACC 2005;46:1792–8.

5. Arner P. Visfatin--a true or false trail to type 2 diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab. 2006; 91: 28-30.

6. Arslan M. Metabolik sendrom klavuzu. Türkiye endokrinoloji ve metabolizma derneği. 2003:1-13.

7. Austin MA, Breslovv JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. JAMA 1988:260:1917-21.

8. Aviram M, Rasenblat M. Paraoxonase 1, 2 and 3, oxidative stress, and macrophage FOAM cell formation during atherosclerosis development. Free Radical Biology & Medicine 2004; 0891-5849.

9. Aynacıoğlu AS, Kepekci Y. The human paraoxonase Gln-Argl92 (Q/R) polymorphism in turkish patients with coronary artery disease. Int J Cardiol. 2000;74:33-7

10. Azarsız E, Sönmez EY. Paraoksonaz ve klinik önemi. Türk Biyokimya Dergisi. 2000;25:109-119.

11. Bakris GL. Optimal Management of Hypertension and Obesity in the Metabolic Syndrome. Version 1.0. ACCESS Medical Group Department of Continuing Medical Education Arlington Heights, Illinois, 2001.

12. Beltowski J. Apelin and visfatin: unique beneficial adipokines upregulated in obesity? Med Sci Monit. 2006; 12: RA112-RA119.

13. Bethesda MD. Third Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). National Institutes of Health. 2001;3670.

14. Bleckburn GL, Bevis LC, The Obesity Epidemic: Prevention and Treatment of the Metabolic Syndrome. 2004

15. Brook RD, Julius S. Autonomic imbalance, hypertension and cardiovascular risk. Am J Hypertens 2000; 13: 112-22

16. Brunzell JD, Hokanson JE. Dyslipidemia of central obesity and insulin resistance. Diabetes Care 1999; 22:10–3.

17. Campo S, Sardo AM, Campo GM, Avenoso A, Castaldo M, D'Ascola A, Guinta E, Calatroni A, Saitta A. Identification of paraoxonase 3 gene (PON3) missense mutations in a population of southern Italy. Mutation Research 2004;546:75-80

18. Carey DG. Abdominal fat and insulin resistance in normal and overweight women: Direct measurements reveal a strong relationship in subjects at both low and high risk of NIDDM. Diabetes. 1996; 45:633-8.

19. Carr MC, Brunzell JD. Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: Importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 2004;89:2601-7

20. Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, Huang HF, Shin SJ, Lee YJ. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony enhancing factor in patients with type 2 diyabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab . 2006; 91: 295-299.1

21. Das UN. Is obesity an inflammatory condition? Nutrition 2001; 17: 953–66

22. Davis S. Insulin, oral hypoglycemic agents, and the pharmacology of the endocrine pancreas. In: Hardman J, Limbard L, eds. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th ed. New York, NY: McGraw-Hill Publishing Co. 1996; 1487-1517.

23. DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. Diabetes Reviews. 1998; 5:177-269.

24. Devaraj S, Rosenson RS, Jialal I. Metabolic syndrome: an appraisal of the proinflammatory and procoagulant status. Endocrinol Metab Clin North Am. 2004; 33: 431-53.

25. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2001;21:473-480

26. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The Metabolic Syndrome. Lancet. 2005;365:1415-28

27. Eckerson HW, Romson J, Wyte C. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. Am J Hum Genet 1983;35:214-27

28. Egan BM. Insulin resistance and the sympathetic nervous system. Curr hypertens Rep 2003; 5: 247-54.

29. Ekmekçi ÖB, Donma O, Ekmekçi H. Paraoksonaz . Cerrahpasa J Med 2004; 35: 78-82.

30. Engeli S, Schling P, Gorzelniak K, Boschmann M, Janke J, Ailhaud G. The adipose-tissue renin-angiotensin-aldosterone system: role in the metabolic syndrome? Int J Biochem Cell Biol. 2003; 35: 807-25.

31. Erden İ. St Elevasyonlu Miyokard İnfarktüslü Ste Hastalarda İnsan Paraoksanaz geni Met-Leu/55 Polimorfizmi. 2004.

32. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. Circulation. 1995;92:657–671

33. Ferrannini E, Natali A, Bell P, Cavallo-Perin P, Lalic N, Mingrone G. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. J Clin Invest 1997; 100: 1166-73.

34. Festa A, D'Agostino R Jr, Howard G, Mykkänen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. Circulation 2000; 102: 42-7

35. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults, Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. 2002;287: 356–359.

36. Ford, ES. A comparison of the prevalance of the metabolic syndrome using two proposed definitions. Diabetes Care. 2003;26:575-81

37. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M. Visfatin: A protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. Science. 2005;307:426-430.

38. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, Ka Du BN. Purification of human serum Paraoxonase/Arylesterase. Evidence for one esterase catalysing both activities. Drog Metab Dispos. 1991; 19: 100-106.

39. Ginsberg HN. Insulin resistance and cardiovascular disease. J Clin Invest. 2000; 106: 453-58.

40. Ginsberg HN, Stahlenhoef AF. The Meatbolic Syndrom: Targeting Dyslipidemia to Reduce Coronary Risk. J Cardiovasc Risk. 2003;10:121-128.

41. Görpe U. Metabolik sendrom. Diabetes Mellitus Sempozyumu. 1997;47-51

42. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F. American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. Circulation. 2005;112:2735-52

43. Grundy SM. What is the Contribution of Obesity to the Metabolic Syndrom. Endocrinol. Metab. Clin. N. Am. 2004;33: 267-282.

44. Grundy SM, Brewer HB, Cleeman JI, Smith SC, Lenfant C. Definition of Metabolic Syndrome, Definition of the National Heart, Lung and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. Circulation. 2004;109: 433-438.

45. Gülcü F, Gürsu MF. Paraoksonaz ve Aril Esteraz Aktivite Ölçümlerinin Standardizasyonu. Türk Biyokimya Dergisi. 2003; 28 (2): 45-49.

46. Gündoğdu AS. Metabolik sendrom, insülin direnci ve tip 2 diabetten korunma. Diabet Esasları. 2006;12-21.

47. Haffner S, Taegtmeyer H. Epidemic Obesity and the Metabolic Syndrome. Circulation. 2003;108: 1541-1545.

48. Haider DG, Schindler K, Schaller G, Prager G, Wolzt M, Ludvik B. Increased plasma visfatin concentrations in morbidly obese subjects are reduced after gastric banding. J Clin Endocrinol Metab. 2006;91:1578–1581

49. Hanley AJG, Karter AJ, Williams K, Festa A, D'Agostino RB, Wagenknecht LE, Haffner SM.Prediction of Type 2 Diabetes Mellitus With Alternative Definitions of the Metabolic Syndrome: The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. Circulation 2005;112:3713-3721

50. Harmel AP, Berger DN. Clinical Implications of the Metabolic Syndrome. 2004.

51. Hatun Ş. Çocukluk çağında obezite ve insülin rezistansı. Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism. 2003; 7(2): 023-026

52. Hegele RA. Paraoxonase genes and disease. Ann Med 1999; 31: 217-224

53. Heijmans BT, Westendorp RGJ, Lagaay AM, Knook DL, Kluft C, Slagboom PE. Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. Atherosclerosis. 2000; 149: 91-7.

54. Henry RR. Glucose control and insulin resistance in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Ann Intern Med. 1996; 124: 97-103.

55. Hrebicek J, Janout V, Malincikova J. Detection of insulin resistance by simple quantitative insu1in sensitivity check index (QUICKI) for epidemiological assessment and prevention. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87: 144-147

56. Hong SH, Song J, Min WK, Kim JQ. Genetic variations of theparaoxonase gene in patients with coronary artery disease. Clin Biochemistry. 2001;34:475-481.

57. Isıldak M, Guven GS, Gurlek A. Metabolik sendrom ve insulin direnci. Hacettepe Tıp Dergisi. 2004; 35: 96-99.

58. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. Diabetes Care. 2001;24:683–689

59. Jia SH, Li Y. Pre-B cell colony enhancing factor inhibits neutrophil apoptosis in experimental inflammation and clinical sepsis. J Clin Invest. 2004;113: 1318

60. Kahn BB, Flier SJ. Obesity and Insulin Resistance. J. Clin. Invest. 2000; 106: 473-481.

61. Kauffman PR, Castracane DV. Assessing insulin sensitivity. Contemporary OB/GYN. 2003;48(1):30-48.

62. Kazan Ö, Oğuz A, Abacı A. Türkiye Metabolik Sendrom Prevalans Çalışma (METS) sonuçları II. Metabolik Sendrom Sempozyumu İstanbul. 2005.

63. Kendall DM, Harmel AP. The metabolic syndrome, type 2 diabetes, and cardiovascular disease: understanding the role of insulin resistance. Am J Manag Care. 2002; 8: 635-53.

64. Kissebah AH. Insulin resistance in visceral obesity. Int J Obes 1991; 15:109-115.

65. Klein S. The case of visceral fat: argument for the defense. J Clin Invest. 2004;113:1530-1532.

66. Kowalska I, Straczkowski M, Nikolajuk A, Adamska A, Karczewska-Kupczewska M, Otziomek E, Wolczynski S, Gorska M. Serum visfatin in relation to insulin resistance and markers of hyperandrogenism in lean and obese women with polycystic ovary syndrome. Human Reproduction. 2007; 22: 1824-1829.

67. Kralisch S, Klein J, Bluher M. Therapeutic perspectives of adipocytokines. Expert Opin Pharmacother. 2005;6:863-72.

68. Kralisch S, Klein J, Lossner U, Bluher M, Paschke R, Stumvoll M, Fasshauer M. Hormonal regulation of the novel adipocytokine visfatin in 3T3-L1 adipocytes. Journal of Endocrinology. 2005:185, R1-R

69. Krzyzanowska K, Krugkuger W. Increased plasma visfatin concentrations in women with gestational diabetes mellitus. Clin Sci. 2006; 111: 605–609.

70. La Du BN, Aviram M, Billecke S. On the physiological role of the paraoxonases. Chem Biol Interact. 1999; 119-120: 379-388

71. Laakso M. How good a marker is insulin level for insulin resistance. Am J Epidemiol. 1993;37:959-65

72. Legro RS. Diabetes prevalence and risk factors in polycystic ovary syndrome. Obstet Gynecol Clin North Am. 2001;28(1):99-109.

73. Lehmann R, Kaplan V, Bingisser R, Bloch KE, Spinas GA. Impact of physical activity on cardiovascular risk factors in IDDM. Diabetes Care. 1997; 20: 1603–1611

74. Lopez C, Cornabella M, Tintore M. Variation in chemokine receptor and cytokine expression during pregnancy in multiple sclerosis. Multiple sclerosis 2006;12:421-7.

75. Mackness MI, Walker CH. Multiple forms of sheep serum A-esterase activity associated with the high-density lipoprotein. Biochem. J.1988; 250: 539-545

76. Mackness B, Durrington P, McElduff P. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. Circulation. 2003;107:2775

77. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele A. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoprotein. Curr Opin Lipidol. 1996;7:69-76

78. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum Paraoxonase. Gen Pharm. 1998; 3: 329-36.

79. Maison P, Byrne CD, Hales CN, Day NE, Wareham NJ. Do different dimensions of the metabolic syndrome change together over time?: Evidence supporting obesity as them central feature. Diabetes Care. 2001;24:1758-63.

80. Mallinckrodt GVM, Hommel G, Dumbach J. On the genetics of the human serum paraoxonase (EC 3.1.1.2). Hum Genet. 1979;50(3):313-26.

81. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia. 1985;28:412-419

82. Mehmetoğlu İ. Klinik biyokimya laboratuvarı el kitabı. Nobel kitabevi. 2007

83. National Institutes of Health: Third Report of the on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Adult Treatment Panel III. Executive Summary. Bethesda MD. National Institutes of Health, National Heart Lung and Blood Institute. 2001; 01-3670

84. Navab M, Hamalevy S, Van Lenten BJ, Fonarow GC, Cardinez CJ, Castellani LW, Brennan ML, Lusis AJ, Fogelman AM. Oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/PON ratio. J Clin Invest. 1997;99: 2005-2019.

85. Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, Hama S, Grijalva VR. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-metiated oxidative modification of low density lipoprotein. The Journal of Biological Chemistry. 2001; 276: 4444-4449.

86. Onat A. Halkımızda koroner hastalığın baş suçlusu metabolik sendrom: sıklığı, unsurları, koroner risk ile ilişkisi ve yüksek risk kriterleri. Türk Kardiyoloji Derneği. 2002;30:8-15.

87. Oooms AJ, Boter HL. Sterospecificity of hydrolytic enzymes in their reaction with optically active organophosphorus compounds. I. The reaction of cholinesterases and paraoxonase with S-alkyl P-nitrophenyl methylphosphonothiolates. Biochemical pharmacology. 1965;14(12): 1839-45

88. Orna JAG, Arnal LML, Herguedas EM. Metabolic syndrome as a cardiovascular risk factor in patients with type 2 diabetes. Rev Esp Cardiol. 2004;57:507-13.

89. Özbakkaloğlu M, Demirci C. Yüzyılın salgını: metabolik sendrom. SSK Tepecik Hast Derg. 2003; 13:121-127

90. Pagano C, Pilon C, Olivieri M, Mason P, Fabris R, Serra R, Milan G, Rossato M, Federspil G, Vettor R. Reduced Plasma Visfatin/Pre-B Cell Colony-Enhancing Factor in Obesity Is Not Related to Insulin Resistance in Humans , The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2006;91(8):3165–3170

91. Reaven GM, Laws A. Insulin resistance, compensatory hyperinsulinaemia, and coronary heart disease. Diabetologia 1994; 37: 948-52.

92. Salman I, Yılmaz T, Şengül A, Salman S, Salınan F, Uygur S, Bastar I, Turtuncu Y, Sargın M, Karşıdağ K, Kalaca S, Özcan C, King H. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey. Results of the turkish diabetes epidemiology study. TURD. Diabetes Care. 2002;25:1551-6.

93. Samal B, Sun Y. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony enhancing factor. Mol Cell Biol., 1994; 14: 1431–1437.

94. Samur, G. Metabolik sendrom ve sağlıklı zayıflama diyeti. Sendrom. 2005;17:78-86,.

95. Sanders SP. Asthma, viruses, and nitric oxide. Proc Soc Exp Biol. Med. 1999; 220: 123-32.

96. Sanghera DK, Saha N, Aston CE, Kamboh MI: Genetic polymorphism of paraoxonase and risk of coronary heart disease. Ateriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 1997;17:1067-1073.

97. Scott LC. Diagnosis, Prevention and Intervention for the Metabolic Syndrome, Am. J. Cardiol. 2003;92: S35i-42i,.

98. Senti M, Tomas M, Fito M, Weınbrenner T, Covas M, Sala J, Masıa R, Marrugat J. Antioxidant Paraoxonase 1 Activity in the Metabolic Syndrome. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2003; 88, 5422–5426

99. Sönmez H. Lipid metabolizmasının ana hatları, primer ve sekonder hiperlipidemiler. Türkiye Klinikleri, 2000; 13: 1-8.

100. Türkoğlu S, Gülcü F, Parmaksız A, Özkan Y, Gürsu F. Metabolik Sendromlu Hastalarda Paraoksonaz 1 ve Arilesteraz Aktivite Düzeyleri. Fırat Tıp Dergisi 2008;13: 110-115.

101. Uriel J. Characterization of cholinesterase and other carboxylic esterases after electrophoresis and immunoelectrophoresis on agar. I. Application to the study of esterases of normal human serum. Ann. Inst. Pasteur (Paris). 1961;101:104–11.

102. Wang Y, Yu P. Clinical significance and changes of serum visfatin, adiponectin and leptin levels in patients with polycysticovarian syndrome. JcentSouthUniv (MedSci). 2009; 34(1):0072-04.

103. Wassink AMJ, Olijhoek JK, Visseren FLJ. The metabolic syndrome: metabolic changes with vascular consequences, European Journal of Clinical Investigation.. 2007;37: 8–17

104. Williams G, Pickup JC. Handbook of Diabetes Mellitus. Third Edition. Published by Blackwell. 2004; 185-195

105. Yokoyama H, Emoto M, Araki T, Fujiwara S, Motoyama K, Morioka T, Koyama H, Shoji T, Okuno Y, Nishizawa Y 2004 Effect of aerobic exercise on plasma adiponectin levels and insulin resistance in type 2 diabetes. Diabetes Care. 2004; 27:1756–1758

106. Yoo TW, Sung KC, Shin HS, Kim BJ, Kim BS, Kang JH, Lee MH, Park JR, Kim H, Rhee EJ, Lee WY, Kim SW, Ryu SH, Keum DG. Relationship between serum uric acid concentration and insulin resistance and metabolic syndrome. Circ J. 2005; 69: 928-33.

107. Zimmet PZ. Diabetes epidemiology as a tool to trigger diabetes research and care. Diabetologia 1999; 42: 499-518

9. ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Akhisar'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Akhisar'da tamamladıktan sonra 2001 yılında İstanbul Üniversitesi Tıbbi Laboratuvar Bölümü'nü kazandım. 2003 yılında mezun olduktan sonra girdiğim dikey geçiş sınavıyla 2003 yılının bahar döneminde Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandım. 2006 yılında bu bölümden mezun oldum. 2007 yılının bahar döneminde Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Programı Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım. Yüksek lisans eğitimime halen devam etmekteyim .