



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



METABOLİK SENDROMLU HASTALARDA PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ VE GEN POLİMORFİZMİ

Nurdagül Şerife NURANİ ÇULCU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof.Dr. Fatma Birgül IŞIK

DİYARBAKIR- 2018



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Nurdagül Şerife NURANİ ÇULCU'nun hazırladığı "Metabolik Sendromlu Hastalarda Paraoksonaz Aktivitesi ve Gen Polimorfizmi" başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 04/05/2018

Danışman Prof. Dr. Fatma Birgül IŞIK

Jüri Üyeleri

Jüri Başkanı Prof. Dr. Nuriye METE

Üye Prof. Dr. Fatma Birgül IŞIK

Üye Doç. Dr. Halit AKBAŞ

İmza

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 08.06/2018 tarih ve 1. sayılı kararıyla onaylanmıştır.

18.06.2018

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü





**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

04/05/2018

Nurdagül Şerife NURANİ ÇULCU

TEŞEKKÜR

Tez konumun seçimi ve tüm aşamalarında yardımlarını gördüğüm tez danışmanım Sayın Prof.Dr. F. Birgül IŞIK'a, laboratuvarlar ve anabilim dalının tüm imkanlarından faydalanmamı sağlayan Ana Bilim Dalı Başkanımız Sayın Prof.Dr. Nuriye METE'ye, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı hocalarımdan Sayın Doç. Dr. Selahattin TEKEŞ'e, desteklerini benden esirgemeyen tüm mesai arkadaşlarıma ve bugünlere gelmemde 'gömleğimi satar yine sizi okuturum' sözüyle en büyük desteği gördüğüm merhum babam, sevgili annem, kardeşlerim ve eşime sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim...



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
TABLolar.....	VI
EŞİTLİKLER	VII
KISALTMALAR.....	VIII
1.1. ÖZET.....	1
1.2. ABSTRACT	3
2. GİRİŞ ve AMAÇ	5
3. GENEL BİLGİLER.....	7
3.1. Metabolik Sendrom	7
3.1.1. Metabolik sendromun tanımlanması	7
3.1.2. Epidemiyoloji	11
3.1.3. Metabolik sendrom bileşenleri ve etyopatogenezi	12
3.1.4. Tedavi	17
3.2. Paraoksonaz.....	18
3.2.1. PON 2	20
3.2.2. PON 3	20
3.2.3. PON polimorfizmi.....	21
3.2.4. PON aktivitesini etkileyen faktörler.....	22
4. GEREÇ ve YÖNTEM	23
4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması.....	23
4.2. Kan Örneklerinin Toplanması	23
4.3. Laboratuvar Ölçüm Yöntemi.....	24
4.4. Yöntemler	24
4.4.1. Açlık kan şekeri ölçümü	24
4.4.2. Lipit düzey ölçümleri	24
4.4.3. Paraoksonaz aktivitesi ölçümü	27
4.4.4. PON1 gen polimorfizminin belirlenmesi	27
4.5. İstatistiksel Analiz	35
5. BULGULAR	36

6. TARTIŞMA	44
7. SONUÇ	49
8. KAYNAKLAR.....	51
9. ÖZGEÇMİŞ	62
10. EKLER	64
11. ORJİNALLİK RAPORU	65



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: PON 1'in yapısı.....	19
Şekil 2: Paraoksonazın paraoksonu hidroliz reaksiyonu	19
Şekil 3: Paraoksonazın arilesteraz reaksiyonu.....	20
Şekil 4: PON 1 RFLP L55M enzim kesim sonuçları.....	34
Şekil 5: PON 1 RFLP Q192R enzim kesim sonuçları	34



TABLÖLAR

Tablo 1: Dünya Sağlık Örgütü MS (WHO) tanı kriterleri,1998.....	8
Tablo 2: Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu(EGIR) tanı kriterleri,1999	9
Tablo 3: NCEP ATP III klavuzuna göre MS tanı kriterleri	9
Tablo 4: Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği (AACE) tanı kriterleri	10
Tablo 5: Metabolik sendromda IDF tanı kriterleri	11
Tablo 6: Yetişkinlerde WHO'ya göre obezitenin sınıflandırılması.....	15
Tablo 7: NCEP ATP III kılavuzunda belirtilen lipid düzeyleri	16
Tablo 8: Mutasyon analizinde kullanılan primerler ve enzimler.....	31
Tablo 9: Kontrol ve hasta gruplarının yaş ortalamaları	36
Tablo 10: Kontrol ve hasta gruplarının demografik özellikleri	36
Tablo 11: Kontrol ve hasta gruplarının laboratuvar ölçümleri	37
Tablo 12: Kontrol ve hasta grubunda PON aktivitesi.....	37
Tablo 13: PON 1 192 polimorfizmi genotip ve allel frekansları	38
Tablo 14: PON 1 55 polimorfizmi genotip ve allel frekansları	39
Tablo 15: MS Parametrelerinin hasta grubunda PON1 Q192R genotipine göre dağılımı.....	40
Tablo 16: MS Parametrelerinin hasta grubunda PON1 L55M genotipine göre dağılımı.....	41
Tablo 17: MSParametrelerinin kontrol grubunda PON1 Q192R genotipine göre dağılımı.....	42
Tablo 18: MS Parametrelerinin kontrol grubunda PON1 L55M genotipine göre dağılımı.....	43

EŞİTLİKLER

Eşitlik 1: Açlık kan şekeri ölçümünde yer alan tepkime denklemi	24
Eşitlik 2: Total kolesterol ölçümünde yer alan tepkime denklemi	25
Eşitlik 3: HDL-Kolesterol ölçümünde yer alan tepkime denklemi.....	25
Eşitlik 4: Trigliserit ölçümünde yer alan tepkime denklemi	26
Eşitlik 5: Friedwald eşitliği	26



KISALTMALAR

AACE: Amerikan Klinik Endokrinoglar Birliği

AAP: Aminoantiprin

ACE: Anjiyotensin dönüştüren enzim inhibitörü

AKŞ: Açlık kan şekeri

Apo AI: Apolipoprotein A

Apo J : Apolipoprotein J (klusterin)

ARB: Anjiyotensin reseptör blokörü

ATPIII: Adult Treatment Panel III (Yetişkin Tedavi Paneli III)

BAG: Bozulmuş açlık glukozu

Bç: Baz çifti

BGT : Bozulmuş glukoz toleransı

BKO: Bel kalça oranı

Ca : Kalsiyum

CE: Kolesterol esteraz

CIGMA: Glukozun sürekli infüzyon modeli

CP: Klorfenol

Cys: Sistein

DHAP: Dihidroksiaseton fosfat

DM: Diabetes Mellitus

EDTA: Etilendiamin tetraasetikasit

EGIR: Avrupa insülin direnci çalışma grubu

GK: Gliserokinaz

GPO: Gliserol fosfat oksidaz

HBA: Hidrobenzoik asit

HDL : Yüksek Dansiteli Lipoprotein

HECT: Hiperinsülinemik öglisemik klemp testi

HK: Heksokinaz

HOMA (Homeostasis model assasment): İnsülin Direncinin Değerlendirilmesi İçin

Kullanılan Bir Model

HT : Hipertansiyon

IDF: Uluslararası Diyabet Birliği
KAH : Koroner Arter Hastalığı
KAKH: Kalp Kapak Hastalığı
KC: Karaciğer
KKH: Koroner Kalp Hastalığı
KVH: Kardiyovasküler Hastalık
L: Leusin
LDL : Düşük Dansiteli Lipoprotein
LPL: Lipoprotein lipaz
M : Metiyonin
METSAR: Metabolik Sendrom Sıklığı Araştırması
MS: Metabolik Sendrom
NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NCEP(National Cholesterol Education Program): Ulusal Kolesterol Eğitim Programı
NHANES III : Ulusal sağlık ve beslenme anketi
OGTT: Oral Glukoz Tolerans Testi
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
PEG: Polietilen glikol
POD: Peroksidaz
PON1: Paraoksonaz 1
PON2: Paraoksonaz 2
PON3: Paraoksonaz 3
Q : Glutamin
R : Arjinin
RFLP: Restriksiyon fragmanı uzunluk polimorfizmi
TBE: Tris Borat EDTA
TEKHARF: Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri
TG : Trigliserit
TRİS: Trizma Hydrochloride
UV: Ultraviyole
VKİ: Vücut Kitle İndeksi

VLDL : Çok düşük dansiteli lipoprotein

WHO(World Healty Organization): Dünya Sağlık Örgütü



METABOLİK SENDROMLU HASTALARDA PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ VE GEN POLİMORFİZMİ

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Nurdagül Şerife NURANİ ÇULCU

Danışmanı: Prof. Dr. Fatma Birgül IŞIK

Anabilim Dalı: Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

1.1. ÖZET

Amaç: Metabolik Sendrom birçok risk faktörünün bir arada bulunması olarak tanımlanmaktadır. Hem kardiyovasküler hastalıklar hem de tip 2 diyabetin en önemli ve en sık nedenleri arasında yer alır. Paraoksonaz (PON1) insan serumunda HDL'ye bağlı olarak bulunan önemli bir karaciğer enzimidir. PON1'in enzimatik aktivitesi bireysel farklılıklar göstermektedir. PON1 aktivitesindeki bu değişimler bu enzimi kodlayan gen bölgesindeki polimorfizimler nedeniyledir. Paraoksonaz gen ailesi üç gen içermektedir. PON1 geni kodlama bölgesi iki polimorfik bölgesinde aminoasit değişikliğine uğrar. Bunlar Lösin→Metiyonin (55. kodon L/M) ve Glutamin→Arjinin (192. kodon Q/R) aminoasit değişimleridir. 192. pozisyonda glutamin bulunan homozigot bireylerde paraoksonaz aktivitesi düşük, arginin bulunan homozigot bireylerde aktivite yüksek görülmüştür. Metabolik sendrom özelliklerini taşıyan bireylerde serum PON1 aktivitesi ölçümünün rutin laboratuvar çalışmaları arasında olabilirliğini ve paraoksonaz gen polimorfizmi ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamız Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Endokrinoloji Klinik ve Polikliniğine başvuran, MS tanı kriterlerinden en az üçünü gösteren ve MS tanısı almış 101 hasta ile 59 sağlıklı kontrol grubu ile yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 101 MS 'lu hastada PON 55 ve PON 192 gen polimorfizmlerinin dağılımı polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragmanı uzunluk polimorfizmi (PCR RFLP) yöntemi ile incelenmiş, serum PON aktivite düzeyleri ölçülmüş ve 59 sağlıklı kontrol grubu bireyi ile karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Serum PON aktivite düzeyi hasta grubunda istatistiksel olarak azalma göstermektedir ($p<0,01$). PON1 QQ genotipe sahip bireyler düşük enzim aktivitesi

gösterirken, PON1 MM genotipe sahip bireylerde hasta ve kontrol grubunda istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

Sonuç: MS’da PON aktivitesinin azaldığını gözlemledik. Genetik polimorfizm açısından genotip frekanslarının bu değişimleri destekler nitelikte olduğunu bulduk.

Anahtar Kelimeler: Paraoksonaz, Metabolik sendrom, Polimorfizm, Diyabet, Obezite.



PARAOXONASE ACTIVITY AND GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME

Student's Surname and Name: Nurdagül Şerife NURANİ ÇULCU

Adviser of Thesis: Prof.Dr. Fatma Birgül IŞIK

Department: Dicle University Faculty Of Medicine Medical Biochemistry
Department

1.2. ABSTRACT

Aim: Metabolic Syndrome is defined as the coexistence of many risk factors. It is one of the most important and most common causes of both cardiovascular diseases and type 2 diabetes. Paraoxonase (PON1) is an important liver enzyme linked to HDL in human serum. The enzymatic activity of PON1 shows individual differences. These changes in PON1 activity are caused by polymorphisms in the gene region encoding this enzyme. The paraoxonase gene family includes three genes. The PON1 gene encoding region undergoes amino acid changes in two polymorphic regions. These are amino acid changes of Leucine → Methionine (55th codon L / M) and Glutamine → Arginine (192nd codon Q / R). In homozygous individuals with glutamine at position 192, paraoxonase activity was found to be low, activity was found to be high in individuals with arginine whereas moderate activity was observed in heterozygous individuals. It is known that serum PON1 activity is low in individuals with metabolic syndrome features. We aimed to investigate the probability of serum PON1 activity among routine laboratory studies in individuals with metabolic syndrome and the relationship with paraoxonase gene polymorphism

Material and Method: Our study was carried on with 101 patients who applied to Endocrinology Clinic and Polyclinic of Dicle University Medical Faculty Research and Application Hospital and who had at least three of the MS diagnostic criteria and who were diagnosed with MS and with a control group consisting of 59 healthy individuals. Distribution of PON 55 and PON 192 gene polymorphisms in the 101 MS patients included in the study was examined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR RFLP) method and their serum PON activity levels were measured and compared with 59 healthy individuals in the control group.

Results: Serum PON activity level showed a statistically significant decrease in the patient group ($p < 0.01$). Individuals with the PON1 QQ genotype exhibited low enzyme activity whereas those with PON1 MM genotype had no statistically significant difference in the patient and control groups.

Conclusion: We have observed that PON activity decreased in MS. We have found that genotype frequencies support these changes, in terms of genetic polymorphism.

Key words: Paraoxonase, Metabolic syndrome, Polymorphism, Diabetes, Obesity.



2. GİRİŞ ve AMAÇ

Metabolik sendrom (MS); çok yaygın olarak görülen ve birçok faktörden kaynaklandığı düşünülen, kardiyovasküler hastalık riskinin arttığı bir bozukluk olup, insülin direnci, bozulmuş glukoz intoleransı, obezite, hipertansiyon ve dislipidemi ile birlikte tanımlanan hastalıklar kompleksidir (1,2).

1923 yılında Kylin tarafından hipertansiyon (HT), hiperglisemi ve hiperinsülineminin birlikteliği olarak tanımlanırken 1988 yılında Reaven Amerikan Diyabet Birliği toplantısında hipertansiyon, glukoz intoleransı, yüksek trigliserit ve düşük HDL kolesterol (HDL-K) düzeyleri için Sendrom X tanımlamasını kullanmıştır (1,3,4).

Özellikle genetik, artan sedanter yaşam tarzı ile değişen beslenme alışkanlıkları ve bununla birlikte kilo artışı, obezite, insülin rezistansı, dislipidemi, hipertansiyon, polikistik over sendromu, karaciğer yağlanması, uyku ve nefes darlığı gibi birçok hastalık bu sendroma neden olabilmektedir (2,5).

PON ailesinin MS gibi bir çok hastalığın merkezi olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır. PON1'in ve HDL-K seviyelerinin inflamatuvar yanıtla yakın ilişkili olduğu, PON1'in sadece lipid peroksidasyonun inhibisyonu değil aynı zamanda HDL' yi oksidasyondan koruyarak ve HDL kolesterolün ters yönde kolesterol taşıma fonksiyonu ile makrofajlarda kolesterol birikmesi işlemini engelleyerek köpük hücre oluşmasını yavaşlattığı bildirilmiştir. PON1 'in HDL'nin yapısında bulunmasıyla birlikte KAH ile ilişkilendirilen çalışmalar artmış, PON1 aktivitesindeki azalmanın KAH ile ilgili olabileceği de ileri sürülmüştür. İnsülin direnciyle yapılan çalışmalarda PON1 aktivitesinde azalma olduğu gösterilmiş ancak MS 'da PON1 düzeyindeki değişimi belirten çalışmalar çok az sayıda bulunmaktadır (6-9).

Paraoksonaz enzimi 354 aminoasitten oluşup karaciğerde (KC) sentezlenir. Ayrıca insanlarda kalp, beyin, ince bağırsak, böbrekler ve akciğerde de bulunmaktadır. % 95' i HDL-K, % 5 'i şilomikronlar ve çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL) yoluyla taşınmaktadır. Molekül ağırlığı yaklaşık olarak 45 kDa olan kalsiyum(Ca) bağımlı bir esterazdır (10-12).

İnsan 7. kromozomunun uzun kolunda paraoksonaz gen ailesinin üç üyesi bulunmaktadır. Bunlar PON1, PON2, PON3' tür ve %65 oranında benzer aminoasit dizilimi, %70 oranında benzer nükleotit dizilimi gösterirler. PON1 enzimi iki yaygın polimorfizm gösterir ve bunlar 192. pozisyonda glutamin-arginin (Q192R), 55. pozisyonundaki lösin metiyonin (L55M) yer değiştirmesidir. Q192R polimorfizmi, PON1'in protein konsantrasyonunu değiştirmez ancak PON1 aktivitesi büyük oranda bu polimorfizmden etkilenir. Q allele göre, R allelin kodladığı proteinin paraoksonu hidroliz aktivitesi, çok daha yüksektir. L55M polimorfizminde ise L allelin yüksek PON aktivitesi gösterdiği belirtilmiştir (13-15). PON alloenzimlerinin LDL'yi oksidasyondan koruma kapasitesinin paraoksonun hidrolitik aktivitesinin tersi çalıştığı bildirilmiştir ve homozigot 192 QQ ve 55 MM, HDL-K ve PON1 ile ilişkili olarak LDL-K' ü oksidasyondan korumada büyük koruma kapasitesine sahiptirler (16,17).

Yukarıda özetlenen bilgiler ışığında; bu çalışmada, metabolik sendromlu hastalarda PON1'in düşük enzimatik aktivitesi, artan lipit seviyeleri ve azalan HDL düzeyleri ile birlikte paraoksonaz alloenzimleri arasında anlamlı bir ilişkinin bulunup bulunmadığının araştırılmasını amaçlamış olup, metabolik sendromlu bireylerde paraoksonaz enzim aktivitesi ve gen polimorfizmleri arasındaki bağlantının diagnostik bir belirteç olarak kullanılabilirliğinin sağlanmasını ve buna katkıda bulunmayı hedefledik.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Metabolik Sendrom

Metabolik sendrom (MS); özellikle genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğu, altyapısında insülin metabolizması bozukluğu bulunan, obezite, dislipidemi, yüksek kan basıncı, artmış kardiyovasküler hastalık ve diyabet riskiyle bir arada bulunan, genç yada yaşlı her türlü etnik grupta etkili olabilen hastalıklar kompleksidir (5,18).

İlk olarak 1923 yılında araştırmacı Kylin MS'ü hipertansiyon (HT), hiperglisemi ve hiperinsülinemi birlikteliği olarak belirtirken, 1947'de Vague, vücudun üst kısmında oluşan erkek tipi obezite, kardiyovasküler hastalıklar ve tip 2 diyabet ile beraber metabolik sendromu tanımlamıştır. 1988'de Reaven kardiyovasküler risk faktörleri olan hipertansiyon, glukoz intoleransı, yüksek trigliserit(TG) ve düşük HDL-K düzeyi için Sendrom X kavramını kullanmıştır (1,3,19). Birçok araştırmacı bu sendromu, insülin direnç sendromu, plurimetabolik sendrom, dismetabolik sendrom, kardiyometabolik sendrom, ölümcül dördlü ve en yaygın bilineni metabolik sendrom gibi birçok değişik isimle de adlandırmışlardır (1,4).

Metabolik sendromun gittikçe artan oranlarda yaygınlaşması, bu sendromun klinik belirteçler olarak ta iyi bir şekilde anlaşılması ve tedavi edilebilirliği amacıyla tanımlanması gerektiği ihtiyacını doğurmuştur.

3.1.1. Metabolik sendromun tanımlanması

3.1.1.1. Dünya sağlık örgütü (WHO) tanımlaması

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 1998 yılında metabolik sendrom için en yaygın kullanılan tanımlamalardan birini yapmıştır. Bu tanımlamada oral glukoz tolerans testi (OGTT) esas alındığından dolayı insülin direnci ölçümü gerekmektedir. Kriterler arasında üriner albümin atılımı bulunmakta olup, hem diyabetli hemde diyabeti olmayan bireyleri de birarada kapsamaktadır (20).

Tablo 1: Dünya Sağlık Örgütü MS (WHO) tanı kriterleri,1998(20)

Tip 2 diyabet, bozulmuş açlık glukozu, bozulmuş glukoz toleransı veya insülin direnci tanısı ile aşağıdaki iki veya daha fazla kriter	
Hipertansiyon	kan basıncı : $\geq 160 / 90$ mmHg
Dislipidemi	Trigliserid: ≥ 150 mg/dL HDL kolesterol erkek: < 35 kadın: < 39 mg/dL
Obezite	Vücut Kitle İndeksi (VKI): $> 30 \text{ kg/m}^2$ veya bel-kalça oranı erkek: > 0.9 kadın: > 0.85
Mikroalbuminüri	Üriner albumin atılımı: ≥ 20 ug/dk veya albumin/kreatinin oranı: ≥ 20 mg/g

3.1.1.2. Avrupa insülin direnci çalışma grubu (EGIR)

EGIR klavuzuna göre, diyabet için önemli kriter insülin direnci olup, diyabetli kişiler bu sendrom dışı bırakılmış ve bu sendrom insülin direnç sendromu olarak tanımlanmıştır. İnsülin düzeyi ile HT, açlık glukozu, HDL-K düşüklüğü, hipertrigliseridemi, abdominal obezite gibi kriterlerinden en az ikisinin bulunması teşhis için yeterli bulunmuştur (21).

Tablo 2: Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu(EGIR) tanı kriterleri,1999 (21)

İnsülin direnci tanısı ile aşağıdaki iki veya daha fazla kriter	
Hipertansiyon	kan basıncı : $\geq 140 / 90$ mmHg veya antihipertansif ilaç kullanımı
Dislipidemi	Trigliserid: > 180 mg/dL HDL-K: < 40 mg/dL
Obezite	Bel çevresinin Erkekler: ≥ 94 cm Kadınlar: ≥ 80 cm
Açlık Kan Şekeri	> 110 mg/dL

3.1.1.3. Ulusal kolesterol eğitim programı erişkin tedavi paneli (NCEP ATP III)

ATP III Kriterleri beş tane olup, tanı için üçünün varlığı yeterli görülmüştür. İnsülin direnci bu kriterlere dahil edilmemiştir. Bel çevresi obezite göstergesi olarak kabul edilmektedir. Klinikte kullanımı daha pratiktir (22).

Tablo 3: NCEP ATP III klavuzuna göre MS tanı kriterleri (22)

Bel çevresi	Kadınlarda >88 cm Erkeklerde >102 cm
Trigliserid	≥ 150 mg/dL
HDL-K	Kadınlarda <50 mg/dL Erkeklerde <40 mg/dL
Kan Basıncı	$\geq 130/85$ mmHg veya en az üç ay öncesinde tedavi edilmiş hipertansiyon
Açlık Kan Şekeri	≥ 110 mg/dL

3.1.1.4. Amerikan klinik endokrinologlar birliği (AACE) tanımlaması

AACE tanımlaması ATP III ve WHO kriterlerinin karışımı şeklinde olup yine insülin direnci en temel özellik olarak kabul edilir. İnsülin direncinin yanısıra bu kriterlerden en az ikisinin bulunması ve diğerk risk faktörlerinin de bulunması olasılığı arttırmaktadır (22).

Tablo 4: Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği (AACE) tanı kriterleri (22)

1. Bozulmuş Açlık Glukozu veya Bozulmuş Glukoz Toleransı (DM hariç)
2. Trigliserid: ≥ 150 mg/dL
3. Obezite VKİ: ≥ 25 kg/m ²
4. HDL-K Erkek: < 40 mg/dL, Kadın: < 50 mg/dL
5. Kan Basıncı: $\geq 130/85$ mmHg
İnsülin direnci ve MS için diğerk risk faktörleri: 1. DM, HT ve KKH için aile öyküsü 2. Polikistik over sendromu 3. İleri yaş 4. Sedanter yaşam tarzı 5. Diyabet ve insülin direnci için yüksek riskli etnik gruba mensup olmak

3.1.1.5. Uluslararası diyabet birliği (IDF) tanımlaması

IDF tanımlamasında obezite temel bileşen olarak alınmıştır. Abdominal obezite bel çevresi ölçümü ile belirlenmektedir ve bel çevresi etnik gruplara özgü ayrılmaktadır. Avrupalı erkeklerde bel çevresi 94 cm, kadınlarda ise 80 cm; Japon erkek ve kadınlarda 90-80 cm, Güney Asyalı ve Çinli erkeklerde 90 cm, kadınlarında 80 cm ve üzerinde olması abdominal obezite olarak tanımlanmıştır (19,23).

Tablo 5: Metabolik sendromda IDF tanı kriterleri (23)

Avrupa toplumunda bel çevresi erkekte ≥ 94 cm kadında ≥ 80 cm' dir. Ve ek olarak aşağıda belirtilen kriterlerden en azından ikisi olmalıdır.	
Trigliserid değeri	≥ 150 mg/dL veya lipid anormalliği için spesifik tedavi
HDL-K değeri	Kadınlarda <50 mg/dL , Erkeklerde < 40 mg/dL veya lipid anormalliği için spesifik tedavi
Kan Basıncı	$\geq 130/85$ mm/Hg veya hipertansiyon tanısı ile ilaç kullanmak
AKŞ (Açlık kan şekeri)	≥ 100 mg/dL veya Tip 2 DM tanısı

WHO, EGIR VE AACE' nin tanımları glukoz intoleransı veya insülin direncini temel almaktadır. NCEP ATP III ve IDF tanımları ise obeziteyi almaktadır(19-22). Obezitenin başlaması diğer risk faktörlerinin de bir araya gelmesini kolaylaştırdığı için bu kişiler metabolik olarak duyarlı hale gelmektedir. Bu sebeple WHO tanımlamasının araştırmalar için faydalı olduğu ancak NCEP ATP III tanımının ise klinik pratikte kullanıma daha uygun olduğu görülmektedir (24,25).

3.1.2. Epidemiyoloji

Prevalansı tüm dünyada giderek artmakta olan MS, toplumlara, yaşa ve cinsiyete göre değişkenlik göstermekle beraber, artan vücut ağırlığı ve azalan fiziksel aktiviteler sebebiyle son yıllarda önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (26,27). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de NCEP-ATP III kriterleri ile yapılan bir çalışma olan National Health and Nutrition Examination Survey III (NHANES III)' de bulunan sonuçlara göre metabolik sendrom prevalansı % 23,7 olarak belirlenmiştir ve 20 ile 29 yaş aralığında % 7 olan prevalans 60 ile 69 yaş grubunda ise % 44'e çıkmaktadır. 2000 yılı nüfus sayım verilerine göre ise yaklaşık 47 milyon kişi metabolik sendromludur (28).

Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu olan (EGIR), Avrupa’da yaptığı kapsamlı bir çalışmaya göre, MS sıklığını 40–50 yaş arası erkeklerde % 7 ile % 36, aynı yaş grubundaki kadınlarda ise % 5 ile % 22 olarak belirtmiştir (29).

Türkiyede 2004 yılında tamamlanarak 2005 yılındaki 2. Metabolik Sendrom Sempozyumunda sonuçları açıklanan ve 4259 bireyin tarandığı METSAR’ın (Metabolik Sendrom Sıklığı Araştırması) çalışma sonuçlarına göre ülkemizdeki metabolik sendrom görülme oranı %33,9 (kadınlarda %39,6, erkeklerde %28) olarak belirlenmiş ve her iki cinsiyetteki yaşın artmasıyla da metabolik sendrom görülme oranının arttığı bildirilmiştir (30,31).

Bir diğer çalışma 2000 yılında TEKHARF’in (Türk Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri) NCEP kılavuzunun önerdiği kriterlere göre 2455 kişi üzerindeki çalışması olup, bu çalışmanın verilerine göre metabolik sendromun Türkiye’de 30 yaş üstündeki nüfusun %37’sinde yani 9,1milyon yetişkin bireyde (5,1 milyonu kadın) bulunduğu tahmin edilmekte olup yine aynı çalışmada metabolik sendromun Türkiye’deki kronik kalp hastası vakalarının yarısından da sorumlu olduğu ve bu oranın erkeklerde ve kadınlarda %42 - %64 oranında olduğu da belirtilerek bu sendromun ne kadar önemli sonuçlara sebep olduğu gösterilmiştir (32).

Türkiye’de yapılan ve 767 kişinin dahil edildiği bir başka çalışmaya göre NCEP ATP III kriterleri ve IDF kriterleri uygulanmıştır. Buna göre MS oranı NCEP ATP III kriterlerine göre %28,8 (erkeklerde: %23,1, kadınlarda: %33,5), IDF kriterlerine göre %34,6 (erkeklerde : %31,2, kadınlarda: %37,3) olarak bulunmuştur(33).Yine Türkiye’deki yedi bölgeden toplam 4309 (1947 erkek) kişi üzerinde, NCEP ATP III kriterleri ve IDF kriterleri uygulanarak yapılan bir çalışmada MS prevalansı sırasıyla %36,6 (erkek %30,3, kadın %41,8) ve %44 (erkek%37, kadın %49,8) olarak bulunmuştur. Bu çalışma yakın zamanda yapılmış olup özellikle bayanlarda yaşın artmasıyla MS olma riski arttığı görülmüştür (34).

3.1.3. Metabolik sendrom bileşenleri ve etyopatogenezi

3.1.3.1. İnsülin, insülin direnci ve diyabet

İnsülin, pankreastaki langerhans adacıklarının beta hücreleri tarafından salınan ve hem direkt hem de indirekt olarak bütün organların çalışmasını etkileyen

anabolizan bir hormondur. Glukoz ve aminoasitlerin transmembran transportunda karaciğer ve iskelet kasında glikojen oluşumunda, glukozun trigliseritlere dönüşümünde, nükleik asit ve proteinlerin sentezinde rol alır.

İnsülin direnci, insülinin yapım yerinden salınıp, hedef hücrelerinde beklenen etkilerini oluşturuncaya dek olan tüm aşamalarda ortaya çıkabilecek herhangi bir aksama olarak tanımlanabilir. Başka bir anlatımla, normal bir biyolojik sürecin oluşması için çok daha fazla insüline gerek duyulan durumlar olarak tanımlanır(35-38). İnsülin direnci etyolojisini ileri yaş, obezite, fiziksel inaktivite, düzensiz beslenme, stres gibi çevresel faktörler ve genetik gibi dış faktörler oluşturur. Sağlıklı bireylerde insülin direnci %25 genetik olarak, %60 bozulmuş glukoz toleranslı kişilerde ve tip 2 diyabetlilerde ise %60-75 oranında bulunmuştur (39).

MS ilk tanımlandığı günden beri insülin ve insülin direnciyle anılmış hatta bu sendromun tanımlamalarında insülin direnci sendromu denmesi önerilmiştir. Aile öyküsünde obezite, tip 2 DM, HT olan bireylerin, bu özellikler bulunmayan bireylere göre MS olma olasılıklarının arttığı ve insülin dirençlerinin çok daha yüksek olduğu çeşitli çalışmalarla da tespit edilmiştir (40).

İnsülin, kan şekerini düzenleme etkisini, özellikle yağ dokusu ve iskelet kasında glukozun geri emilimini artırarak, karaciğerde ise endojen glukozun yapımını azaltarak yapmaktadır. Bu organlar insülin direncinin olduğu durumlarda insüline yanıt veremezler. Hiperglisemi insülin etkisindeki fonksiyonel defekte bağlıdır. Yetersiz insülin etkisi pankreas beta hücrelerinden hormonun yetersiz salınımı, hedef dokuların insüline cevap azlığı(insülin direnci) veya insülin karşıtı hormonların artışı şeklinde olmaktadır. Oluşturduğu klinik sonuçlar ile ateroskleroza ve endotel disfonksiyonuna da neden olmaktadır (41-43).

Tip II diyabet tanısı için Amerikan Diyabet Birliği (ADA) bozulmuş açlık kan glukoz değerini 100–125 mg/dL olarak belirlemiştir. İnsülin direncini belirlemede ise 75 gr glukoz kullanılarak yapılan OGTT’ nin ikinci saat değerinin 140-199 mg/dL olmasını, etkin bir kriter olarak kabul etmektedir (44).

3.1.3.1.1.Diabetes mellitus tanı kriterleri;

Açlık plazma glukoz değerlerine göre;

Açlık plazma glukoz değeri: < 100 mg/dL → normal

Açlık plazma glukoz değeri: 100-125 mg/dL → bozulmuş açlık glukozu (BAG)

Açlık plazma glukoz değeri: ≥126 mg/dL → diabetes mellitus

OGTT değerlerine göre;

2. saatteki plazmanın glukoz değeri < 140 mg/dL → normal

2. saatteki plazmanın glukoz değeri 140-199 mg/dL → bozulmuş glukoz toleransı (BGT)

2. saatteki plazmanın glukoz değeri ≥ 200 mg/dL → diabetes mellitus

Bozulmuş açlık glukozu ve glukoz toleransı olan bireylerde diyabet gelişme olasılığı fazla olmakla birlikte bu hastalar “pre-diyabet” olarak tanımlanmaktadır (44).

3.1.3.1.2.İnsülin direnci ölçüm yöntemleri; Bunlar, glukoz - insülin ve c-peptid oranları, CIGMA olarak bilinen glukozun Sürekli İnfüzyon Modeli, OGTT, İnsülin duyarlılık indeksi, sık örnekli intravenöz glukoz tolerans testi, İnsülin tolerans testi, Hiperinsülinemik öglisemik klemp testi (HECT) ve Homeostasis model assesment (HOMA)'dır. Ancak insülin direncini ölçmek için en yaygın kullanılan test HOMA'dır.

Homeostasis Model Assesment (HOMA)

Glukoz, c-peptid ve insülin oranlarının kullanımıyla beta hücrelerinin fonksiyonunu ve insülin direncini değerlendiren bir test olup kullanımı pratiktir. On saatlik açlık sonrası 5'er dakika ara ile alınan üç tane kan örneğinin ortalamasıdır. Ancak pratik olarak bir kan örneği alınıp aşağıdaki formül kullanılabilir. CIGMA, HECT ve sık örnekli intravenöz glukoz tolerans testi ile yakın sonuçlar bildirilmiştir(45).

$$\text{HOMA-IR} = [\text{Açlık glukozu (mmol/L)} \times \text{Açlık insülini (mU/ml)}] / 22,5]$$

$$\text{HOMA- \% beta} = [20 \times \text{Açlık insülini (mU/ml)}] / [\text{Açlık glukozu (mmol/L)} - 3,5]$$

(45).

3.1.3.2. Obezite

Obezite vücuttaki yağ dokusu oranının fazlalığıdır. Yağ dokusu hormonları, büyüme faktörlerini, sitokinleri içeren ve birçok biyoaktif maddeyi salgılayan endokrin bir organdır (46).

Sedanter hayata ayak uyduran insanın zamanla hareketi de azaldığı için, vücudundaki kas/yağ oranı giderek azalmakta ve insülin, glukozun büyük bir kısmını yağ dokusu içine depo etmektedir. Bu durum uzun bir süreç sonunda yağ dokusu fazlalığı olarak karşımıza çıkmakta ve birçok kronik hastalıkla beraber insülin direnci tablosunun ciddi bir boyut kazanmasına neden olmaktadır (47).

Obezitenin değerlendirilmesinde en pratik ve en çok kabul edilen yöntem vücut kitle indeksi (VKİ)' dir. 1835 yılında, Qutelet tarafından tanımlanmıştır. İndekste, ölçülen ağırlık (kg) boyun (m) karesine oranlanır.

$$[\text{VKİ} = \text{ağırlık (kg)} / \text{boy}^2(\text{m}^2) (48)$$

Tablo 6: Yetişkinlerde WHO'ya göre obezitenin sınıflandırılması(49)

Sınıflandırma	VKİ(kg/m ²)
Zayıf	≤ 18,5
Normal	18,5-24,9
Aşırı kilo	≥ 25
Preobez	25-29,9
Obez	≥ 30
1. Derece Obez (Hafif)	30-34,9
2. Derece Obez (Orta)	35-39,9
3. Derece Obez (Ağır = Morbid Obez)	≥ 40

Vücutta yağ birikimi olayına göre obezitenin iki tipi tanımlanır.

Jinoid tip obezite yağ hücre sayısı artışı ile karakterize olup kadın tipi yada femoral obezite olarakta adlandırılmaktadır.

Android tip obezite'de yağ hücreleri büyümüştür. Erkek tipi yada viseral obezite olarakta bilinir.

Viseral obezite bel kalça oranı (BKO) yada bel çevresi ölçümü ile klinik olarak yansıtılır. Bel çevresi genişliği EGIR tanı kriterlerinde erkekler: ≥ 94 cm, kadınlar: ≥ 80 cm olarak, NCEP ATP III tanı kriterlerinde kadınlar: > 88 cm, erkekler: > 102 cm olarak bildirilmiştir. Bel çevresi genişliği yani abdominal obezite insülin direnci için kesin bir gösterge olmasada, X sendromunu da karakterize eden metabolik anormalliklerle yakından ilişkili bir parametredir (49-51).

3.1.3.3. Dislipidemi

Dislipidemi lipoproteinlerin fazla üretimi veya eksikliğinden kaynaklanan bir lipoprotein metabolizması bozukluğudur. HDL-kolesterol konsantrasyonunun düşüklüğü, plazma trigliserit düzeyinin yüksekliği ve küçük yoğun LDL partiküllerinin seviyesinin artmış olması ile karakterize olan dislipidemi MS hastalarda insülin direnci ve viseral obezite etkisi ile gelişmektedir. İnsülin direnci varlığında hormona duyarlı lipaz aktivitesi, abdominal obez bireylerde baskılanamaz. Adipoz dokudan aşırı serbest yağ asidi salınımı olur ve karaciğere fazla miktarda gelerek trigliseritten zengin ve Apo B içeren VLDL yapımını arttırırlar. VLDL hepatik lipaz yoluyla aterojenik küçük yoğun LDL'ye dönüşür. Artmış olan enzim aktivitesi anti-aterojenik HDL-2'nin katabolizmasını hızlandırır. HDL-kolesterol TG'den zengin olup çabuk yıkılmaya eğilimlidir. Bu sebeple TG yüksekliği olan kişilerde HDL-kolesterol değerleri normale göre düşük olur (52,18).

Tablo 7: NCEP ATP III kılavuzunda belirtilen lipid düzeyleri (25)

Lipoprotein	Sınır Değer (mg/dL)	Sınıflandırması
LDL-K	<100 100 – 129 130 – 159 160 – 189 ≥ 190	Optimal miktar İstenilen miktar Sınırdan yüksek miktar Yüksek miktar Çok yüksek miktar
Toplam Kolesterol	< 200 200 – 239 ≥ 240	İstenilen miktar Sınırdan yüksek miktar Yüksek miktar
Trigliserid	< 150 150 – 199 200 – 499 ≥ 500	İstenilen miktar Sınırdan yüksek miktar Yüksek miktar Çok yüksek miktar
HDL-K	< 40 ≥ 60	Düşük miktar İstenilen miktar

3.1.3.4. Hipertansiyon

Arterial kan basıncının yükselmesi olarak bilinen hipertansiyonun tip 2 DM ve dislipidemi ile birlikteliği uzun yıllardan beri bilinmektedir. Reaven hipertansiyonun insülin direnci ve hiperinsülinemi düzeyi ile önemli derecede ilişkili olduğunu bildirmiştir. Ancak bu ilişkiyi cinsiyet, yaş ve obeziteden bağımsız bulmuştur. İnsülin direnci ve hiperinsülineminin etkisi ile renal kanallardan sodyum atılmasında azalma, vasküler fonksiyonlarda bozulma hipertansiyon gelişiminde etkili olur (44,53,54).

Metabolik sendrom tanı kriteri olarak hipertansiyon sınırları klavuzlar arasında farklılıklar göstermekle birlikte Amerikan Ulusal Yüksek Kan Basıncı Önleme, Tanıma, Değerlendirme ve Tedavi Komitesinin VII. raporunda (JNC VII) belirtilen <120/80 mmHg'yı normal kan basıncı olarak kabul etmiş ve önceki klavuzda belirtilen sistolik 120-139 mmHg'yı ve diastolik 80-89 mmHg'yı prehipertansiyon belirleyicisi olarak kabul etmişlerdir (55).

3.1.4. Tedavi

Metabolik sendromun meydana gelmesinde hem çevresel faktörler hem de genetik özellikler etkili olmaktadır. Tedavi olarak öncelikli yaklaşım, yaşam tarzı değişiklikleri olmalıdır. Buradaki amaç hipertansiyon, diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesidir. Uygun bir beslenme tarzı ve düzenli egzersiz faaliyetleri sayesinde kilo kaybının sağlanması bu sendromdaki birçok bozukluğu düzeltici yönde etki sağlayabilir.

Hipertansiyon, dislipidemi ve diyabet durumlarında tek başına yaşam tarzı değişiklikleri bazen yeterli olmayabilir. Bu gibi durumlarda ilaç tedavisi tercih edilir. Statinler dislipidemi tedavisinde LDL-K düzeyini düşürüp, HDL-K düzeyini yükseltebilirler. Hipertansiyon kontrolünde ise anjiyotensin dönüştüren enzim inhibitörü (ACE) veya anjiyotensin reseptör blokörü (ARB) gibi ilaçlar kullanılır. İnsülin tedavisinde ise Metformin ve Glitazonlar gibi insülin duyarlılığını arttıran ilaçlar hastalara verilir (56-59).

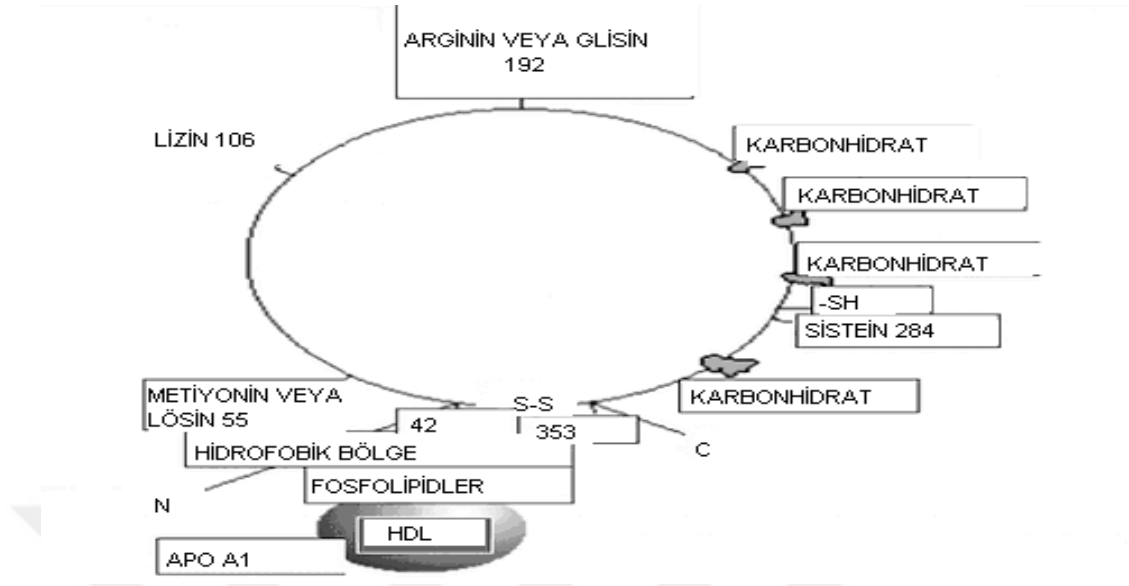
3.2. Paraoksonaz

Paraoksonaz(PON), 1953 yılında Aldridge tarafından A grubu esteraz olarak sınıflandırılmış olup, arilesteraz (E.C.3.1.1.2) ve paraoksonaz (arildialkil fosfataz; organofosfat hidrolaz; paraokson hidrolaz; E.C.3.1.8.1) aktivitesi gösteren ester hidrolazdır ve 1961 yılında Uriel tarafından insan serumundaki varlığı ortaya konmuştur (60-62).

PON gen ailesi, 7. kromozomdaki uzun kolda bulunan ve q21,3-q22,1 bölgelerinde lokalize olan. birbirinin komşusu üç ayrı PON geninden (PON1, 2, 3) oluşmaktadır. Bu üç gen aminoasit seviyesinde %60, nükleotit seviyesinde %70 benzerdirler. Üzerinde en çok çalışılan PON1 genidir (63).

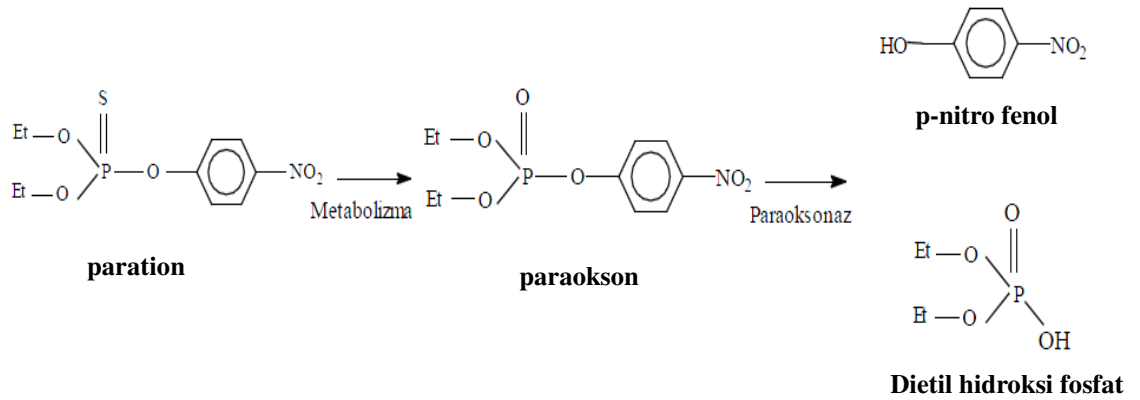
PON1, 354 aminoasitten oluşan bir glikoprotein olup, 43-45 kDa molekül ağırlığına sahiptir ve karaciğerde sentezlenir. Aktivitesi kalsiyum (Ca^{2+}) bağımlı olduğundan kobalt (Co^{2+}), mangan (Mn^{2+}), magnezyum (Mg^{2+}) kullanan diğer A esterazlardan farklıdır (62,64,65).

PON1 plazmada HDL ile taşınmaktadır. Yapısında yüksek miktarda lösin içeriği ve enzimin katalitik bölgesinde ise üç sistein(Cys) aminoasidi bulunmaktadır. 42. ve 352'inci pozisyonadaki sistein aminoasitleri arasında disülfid bağı varken 284'üncü pozisyonunda bulunan sistein serbesttir. Serbest sisteinin substrat bağlanması için gerekli olduğu ve PON'a antioksidan özellik katarak LDL'yi de oksidasyondan koruduğu aynı zamanda lipid peroksidlerini de hidroliz edebilirliğiyle HDL ile LDL'de hidroperoksit birikimini azalttığı bildirilmiştir (13,64,65). Polipeptid yapıda mevcut olan disülfid bağı bu zincirin siklik yapıda bulunmasına sebep olmakta iken, N-terminal hidrofobik bölge sayesinde HDL'ye kolaylıkla bağlanabilmektedir(Şekil 1). HDL'nin yapısında bulunan Apolipoprotein A1(Apo A1) ile Apo J (Klusterin) proteinlerinin bu bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (64,66).



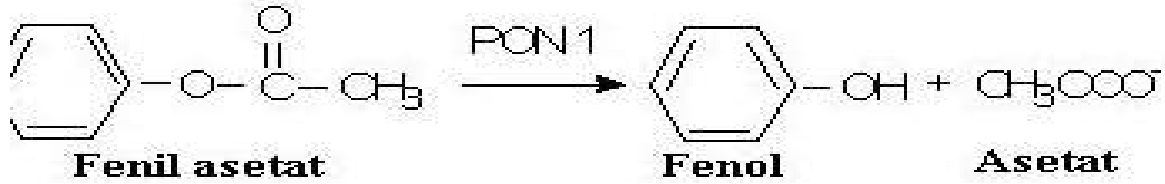
Şekil 1: PON 1'in yapısı

Paration bir organofosfat bileşiği olarak paraokson'un (o,o-dietil-o-p-nitrofenil fosfat) aktif bir katabolik metabolitidir. Bu substrat enzim aktivite tayininde en çok kullanılan substrattır (62,67)(Şekil 2).



Şekil 2: Paraoksonazın paraoksonu hidroliz reaksiyonu

Fenil asetat, bir aromatik karboksilik asit esterleri olarak, PON1'in arilesteraz aktivitesini ölçmede kullanılır ve bir substrat olarak farklı bir reaksiyon gösterir (60)(Şekil 3).



Şekil 3: Paraoksonazın arilesteraz reaksiyonu(60)

PON1 enzim aktivitesi hidrolitik aktiviteyle açığa çıkan p-nitrofenol veya aril esteraz aktiviteyle açığa çıkan fenolün konsantrasyonu üzerinden spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (60).

3.2.1. PON 2

Yapılan bazı çalışmalar PON enzim ailesinin en eski üyesinin olduğunu göstermiştir. PON1 ve PON3 karaciğerde sentezlenmesine rağmen PON2 beyin, karaciğer, kalp, akciğer, böbrek, testis, plasenta, ince bağırsak, dalak, gibi farklı birçok dokuda ve endotel hücreleri, düz kas hücreleri, arter duvar hücrelerinde bulunmaktadır. PON1 hücre membranından seruma salgılanır ve HDL'ye bağlanırken, PON2 hücre içi antioksidan olarak görev yapar. Yapılan çalışmalar PON 1'in aksine PON 2'nin oksidatif stres sonrası salınımının arttığını göstermektedir (13).

3.2.2. PON 3

PON gen ailesinin en son tanımlanan üyesi olup karaciğerde sentezlenir ve PON 1 gibi HDL ile ilişkilendirilmiştir. Ancak PON 1'e göre serumdaki seviyesi düşüktür. PON1 ve PON2 gibi PON3'te antioksidan özellik göstermektedir. Draganov ve arkadaşları in vitro olarak tavşan serumundan saflaştırılan PON 3'ün LDL

oksidasyonunu arttıran bakırı inhibe ettiğini ve tavşan PON3'ünün PON1'e göre LDL'yi oksidasyona karşı 100 kat daha fazla koruduğunu belirtmişlerdir (13,68).

3.2.3. PON polimorfizmi

PON1 geni 55. ve 192. pozisyonlar olmak üzere iki yaygın polimorfizm göstermektedir. 55. pozisyonda lösinin(L) yerine metiyonin(M), 192. pozisyonda glutaminin(Q) yerine arginin(R) geçmektedir. PON1-L55M polimorfizmi aktivitede önemli bir değişikliğe neden olmaz.

PON1-Q192R polimorfizminde ise 192. pozisyonda Q bulunan (A tipi) homozigot bireylerde paraoksonaz aktivitesi düşük, R bulunan (B tipi) homozigot bireylerde aktivite yüksek ve heterozigot bireylerde ise orta düzeyde aktivite görülmüştür. Her iki izoform Hardy Weinberg dengesinde olup trimodal dağılım gösterir. En yaygın 192. polimorfizm mutasyonu homozigot- QQ (AA) olanı, ikincisi ise heterozigot- QR (AB) olanı ve en az olanı ise homozigot- RR (BB)'dir (9,62,69).

Garin ve arkadaşları diyabetli hastalarda yaptıkları çalışmada homozigot LL'nin KKH için bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermişlerdir. Mackness ve arkadaşları Q ve M polimorfizmleri için homozigotluğun HDL'nin LDL'yi oksidasyondan korumadaki etkisinde en etkin ve bu bireylerin KKH gelişimine en az yatkın olduğunu bildirmişlerdir. Altuner ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada 192QQ/55MM homozigotluğun daha az PON enzim aktivitesi gösterdiği ve 192RR/55LL homozigotluğun da daha çok enzim aktivitesi gösterdiğini ve bununda diyabetik hastalarda düşük enzim aktivitesi nedeniyle PON1'in oksidasyonuna karşı lipid korumasının azaldığı görüşünü desteklemektedir. Tek bir aminoasitteki değişim enzim aktivitesini çok farklı etkileyebilmektedir. Paraoksonazın LDL-K'ü oksidasyondan koruduğu ve bunu paraoksonun hidrolitik aktivitesiyle tamamen ters olarak yaptığı bildirilmiştir. Sinir gazları olan somon, diazoxon, sarin'i PON1 55MM ile 192QQ alloenzimlerinin hidroliz kapasitesi düşükken, bunların LDL-K'ü oksidasyondan korumada aktif rol aldıkları bildirilmiştir (17,70,71).

3.2.4. PON aktivitesini etkileyen faktörler

İnsan serumundaki PON1 enzim aktivitesi yaş ile cinsiyete bağlı değişim göstermemekle birlikte, bireyler arasında görülen genetik çeşitliliğin ve farklılığın nedeni olarak PON1 genindeki polimorfizimler sorumlu tutulmaktadır. Sigara, gebelik, beslenme şekli, akut faz proteinleri serum PON1 düzey ve aktivitesini etkileyebilir. Yapılan çalışmalarla oksidatif stresin arttığı durumlar olan hiperkolesterolemi, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı hasta gruplarında PON1 enzim aktivitesinin düşük olduğu bulunmuştur. PON1'in HDL ile taşınımının anlaşılmasıyla birlikte KAH ile ilişkili olup olmadığına yönelik çalışmalar artmış ve PON1 aktivitesinin düşük olmasının KAH ile ilişkili olduğu savunulmuştur. KAKH için dislipideminin de bir risk faktörü olması sebebiyle ateroskleroz ve metabolik sendrom arasındaki ilişkiye yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Bu sebepten, düşük PON1 enzim aktivitesinin metabolik sendromda artan oksidatif stresi yansıtabileceği ileri sürülmektedir (8,72).

Yapılan çalışmalarda düzenli olarak yapılan egzersizin koroner arter hastalarındaki antioksidan enzim aktivitesinde artışa, ağır egzersizin ise azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. Senti ve arkadaşlarının sigara kullanan ve sigara kullanmayan bireylerle yaptığı çalışmaya göre sigara kullanımının PON1 aktivitesini azalttığını bulmuşlardır. Fiziksel aktivitesi fazla olup sigara kullanan grupla, fiziksel aktivitesi az olup sigara kullanmayan grup karşılaştırıldığında her iki grubunda PON1 düzeyinde anlamlı bir fark olmadığını ve eğer düzenli olarak fiziksel bir aktivite yok ise etkin bir şekilde sigaranın PON1 aktivitesini azalttığını, düzenli bir fiziksel aktivitenin de PON1 enzim aktivitesini arttırdığını bulmuşlardır (73,74).

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması

Bu çalışma; Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Endokrinoloji Klinik ve Polikliniğine başvuran, NCEP ATP III MS tanı kriterlerinden en az üçünü gösteren ve MS tanısı almış 101 hasta (57 kadın, 44 erkek; ortalama yaş; $48 \pm 13,2$) ile MS özelliklerinden en az üçünü göstermeyen ve MS tanısı almamış 59 bireyden (29 kadın, 30 erkek; ortalama yaş; $45,5 \pm 11,5$) oluşan kontrol grubu ile yapılmıştır.

Çalışmamıza dahil ettiğimiz tüm bireyleri çalışmamız hakkında bilgilendirdik ve yazılı onaylarını aldık. Hastaların boyu, kilosu, bel çevresi, sistolik ve diastolik kan basınçlarını ölçtük. Bel çevresi ölçümü için arkus kostaryum ve spina iliaka anterior superior arasındaki mesafenin orta noktasını ölçtük.

Bu çalışma Helsinki Bildirgesinin belirlediği etik standartlara uygun olarak yapıldı ve Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesinin Yerel Etik kurulu tarafından onaylandı.

4.2. Kan Örneklerinin Toplanması

Çalışmamıza dahil ettiğimiz tüm bireylerin kan numuneleri 12 saatlik gece açlığından sonra, sabah aç karına ve saat 8.00 ile 10.00 arasında alındı. Kanlar biyokimyasal parametreler için sarı kapaklı jelli tüpe ve gen polimorfizm çalışması için ise EDTA'lı tam kan tüpüne alındı.

Biyokimyasal parametreler için Heraeus Sepatech Labofuge 200 markalı santrifüj cihazında 4500 devirde 5 dakika satrifüj edildi. Serumı ayrıldı ve rutin biyokimya ölçümleri olan glukoz, HDL-kolesterol, trigliserit değerleri aynı gün ölçüldü. PON1 aktivitesi için ise, serumlar -20°C ' de analiz edileceği güne kadar saklandı. Gen polimorfizim çalışması için alınan tam kan tüpü -20°C ' de analiz edileceği güne kadar saklandı.

4.3. Laboratuvar Ölçüm Yöntemi

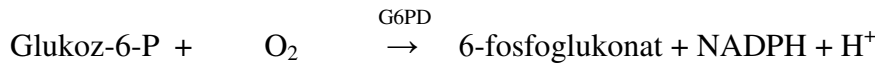
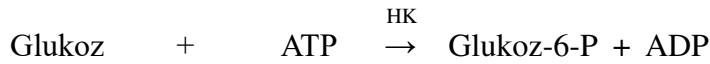
Rutin biyokimya ölçümleri olan glukoz, total kolesterol, HDL kolesterol, trigliserit değerleri Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında bulunan Architect® c16000 (Abbott Park, Illinois, USA) marka otoanalizör ile çalışıldı. PON1 aktivitesi Architect® c16000 (Abbott Park, Illinois, USA) marka otoanalizöre uyarlanarak çalışıldı. pH :7,4 , absorbands : 412 ,sıcaklık: 37 °C.

4.4. Yöntemler

4.4.1. Açlık kan şekeri ölçümü

Açlık kan şekeri düzeyleri enzimatik heksokinaz metodu ile çalışılmış olup yöntem; heksokinaz (HK) ve Mg^{+2} varlığında glukozun ATP ile fosforile olması ile başlar. Oluşan glukoz-6-P, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) enzimi ile okside olarak 6-fosfoglukonata dönüşür. Oluşan NADPH miktarı örnekteki glukoz konsantrasyonu ile direkt orantılı olup, 340 nm'deki absorbands değeri spektrofotometrik olarak ölçülür(Eşitlik 1).

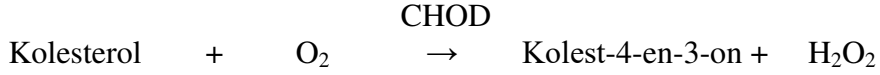
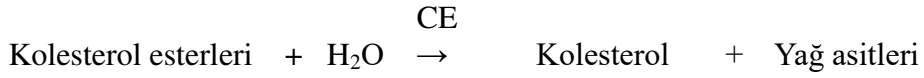
Eşitlik 1: Açlık kan şekeri ölçümünde yer alan tepkime denklemi



4.4.2. Lipit düzey ölçümleri

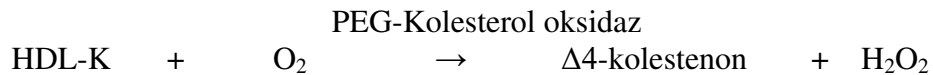
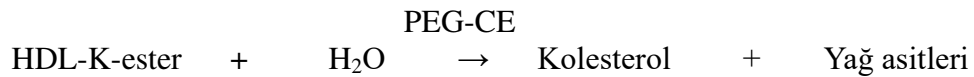
a) Total kolesterol ölçümü: Total kolesterol düzeylerinin ölçümünde enzimatik kolorimetrik yöntem kullanıldı. Bu yöntemle, kolesterol esterleri, kolesterol esteraz (CE) ile serbest kolesterol ve yağ asitlerine ayrılırken oluşan serbest kolesterolün kolesterol oksidaz enzimiyle H_2O_2 'ye oksidasyonu ve bunda peroksidaz enziminin yardımıyla 4-AAP ve hidrobenzoik asit (HBA) varlığıyla, kinonimine dönüşümü olmaktadır. Oluşan bileşiğin konsantrasyonunun 500 nm'deki absorbandsı ölçülür (Eşitlik 2).

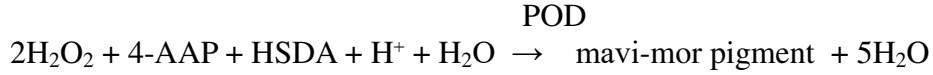
Eşitlik 2: Total kolesterol ölçümünde yer alan tepkime denklemi



b) HDL-kolesterol ölçümü: HDL kolesterol düzeylerinin ölçümünde homojen enzimatik yöntem kullanıldı. Bu yöntemle enzimlere dirençli ve suda çözünen VLDL-K, LDL-K ve şilomikron (CM) kompleksleri oluşturulur. Bu komplekslere magnezyum iyonları ve dekstran sülfat eklenerek PEG ile modifiye edilmiştir. PEG'in amino gruplarıyla modifiye edilen kolesterol oksidaz ve kolesterol esterazın katalizi ile HDL-K'nın miktarı hesaplanır. HDL-K özel deterjanlarla çözünebilir ve renkli reaksiyonlar oluşturabiliyorken LDL-K, VLDL-K ve CM'ler gibi HDL-K içermeyen lipoproteinler deterjanlarla yüzeylerinden inhibe edillir ve içlerindeki kolesterol ise enzimle etkileşmez. Tepkime denklemindeki kolesterol esterleri kolesterol esteraz varlığında serbest kolesterol ile yağ asitlerine ayrılır. Oksijen varlığında ise kolesterol, kolesterol oksidaz tarafından $\Delta 4$ -kolestenon ve H_2O_2 'ye okside olur. Hidrojen peroksit ise POD tarafından 4-AAP ve HSDA varlığında mavi-mor renk pigment oluşturur. Bu pigment absorbansı 582 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür (Eşitlik 3).

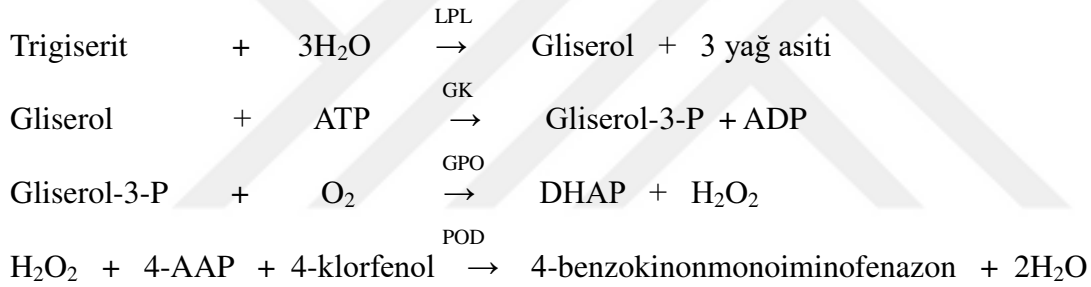
Eşitlik 3: HDL-Kolesterol ölçümünde yer alan tepkime denklemi





c) Trigliserit ölçümü: Trigliserit düzeyleri enzimatik kolorimetrik metod kullanılarak ölçüldü. Bu yöntem, trigliseritlerin lipoprotein lipaz (LPL) varlığı ile serbest yağ asitleri ve gliserole, gliserolün gliserokinaz (GK) ile gliserol-3-fosfata, gliserol-3-P' nin de gliserol fosfat oksidaz (GPO) ile dihidroksiaseton fosfata (DHAP) ve H_2O_2 'ye oksidasyonu ve 4-aminoantipirin ile 4-klorfenol ile birlikte H_2O_2 'nin bir kinon bileşi oluşturması esasına dayanır. Ve bu bileşiğin 520 nm'deki absorbansı HDL-kolesterol ile doğru orantılıdır (Eşitlik 4).

Eşitlik 4: Trigliserit ölçümünde yer alan tepkime denklemleri



d) LDL-K ve VLDL-K ölçümü: LDL ve VLDL düzeyleri Friedwald eşitliğine göre hesaplandı (Eşitlik 5)(75).

Eşitlik 5: Friedwald eşitliği

$$\text{VLDL} = \frac{\text{Trigliserit}}{5}$$

$$\text{LDL} = \text{Total} \cdot \text{kolesterol} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$$

4.4.3. Paraoksonaz aktivitesi ölçümü

Serum PON1 enzim aktivitesi, Eckerson tarafından modifiye edilen spektrofotometrik bir yöntem ile ölçüldü (76). PON1 enziminin aktivite ölçümünde ise paraokson substrat olarak kullanıldı.

Aktivite prensibi: Substrat olan paraoksonun 37 °C ve 412 nm dalga boyundaki enzimatik hidrolizi ile oluşan serbest p-nitrofenolun spektrofotometrik ölçüm esasına dayanır.

Reaktif 1'in hazırlanışı: 0,157g Tris ($C_4H_{11}NO_3.HCl$) bir miktar distile suda çözdürüldükten sonra 60 µ Dietil-4- nitro-fenil-fosfat üzerine eklenerek distile su ile 10mL' ye tamamlanır ve pH' ı 7.4 'e ayarlanır.

Reaktif 2'nin hazırlanışı: 0,0825g $CaCl_2$ alınarak son hacim 250 ml 'ye tamamlandı. Bir ünite PON1 aktivitesi bir dakikada 1 mikromol paraoksonu p-nitrofenol'e dönüştüren enzim miktarıdır. (µmol/min-L)(76,77).

4.4.4. PON1 gen polimorfizminin belirlenmesi

4.4.4.1. DNA izolasyonu

4.4.4.1.1. DNA izolasyonunda kullanılan solüsyon ve tamponlar

1. Reaktif A (pH: 8.0) Lysis buffer

10 mM'lık TRİS - HCL, 5 mM'lık $MgCl_2$ ve 320 mM'lık Sucrose
Otoklav edildi ve %1 Triton – X100 eklendi.

2. Reaktif B pH: 8.0

400 mM'lık TRİS – HCL ile 60mM'lık EDTA ve 150mM'lık NaCl
Otoklav edildi ve %1 SDS eklendi.

3. Sodyum perklorate

5 M Sodium Perklorate

4. Taq DNA polimeraz tamponu (10X)

100 mM'lık Tris – HCL, 10 mM'lık $MgCl_2$, 500 mM'lık KCl_2 , %1'lik Triton X -100

5.) dNTP karışımı (pH: 7.4)

Her birinden 2 mM dTTP + dATP +dGTP +dCTP

6.) 10 X TBE elektroforez tamponu

90 mM'lık Tris – borate, 10 mM'lık Sodium - EDTA (pH:8.3)

7.) 10 X agaroze jel elektroforezi yükleme karışımı

%10 Glycerol , %2.5 (w/v) Ficol (type 400), 1 mM EDTA , 0.25

Bromophenol Blue

8.) TE tamponu

10 mM'lık Tris HCL (pH: 7.5) ile 1 mM'lık EDTA

4.4.4.1.2. DNA izolasyon yöntemi

1- Cell preparasyonu

Hastaların kanları Sodyum EDTA' lı tüplere 5-10 ml kadar alındı. Daha sonra santrifüj 4 °C için ön soğutmaya hazırlandı. 5-10 ml kan, 50 ml' lik polypropylene santrifüj tüplerine aktarıldı.Üzerine 40 ml lysis buffer eklendi(Reaktif A). İki dakika boyunca hafifçe karıştırıldı. 4 °C 'de 10 dakika süre ile 3000 rpm 'de santrifüj edildi. Hücrelere zarar vermeksizin süpernatantı ayrıldı.

2- Cell lizis

Tüplere 2 ml Reaktif B eklendi ve hafifçe karıştırılarak hücre çökeltilerinin çözölmeleri sağlandı. Bu süspansiyon 15 ml'lik kapaklı polipropilen tüplere aktarıldı.

3- Deproteinasyon

Her bir tüpe 5 M'lık Sodyum Perklorattan 500 µl eklendi ve tüpler kan döndürme (rotary mix) cihazına konulup, oda ısısında 15 dk süre ile karışması sağlandı. Tüpler 30 dakika önceden hazırlanmış 65 °C lik sıcak blokta inkübe edildi.

4- DNA ekstraksiyonu

Her bir tüpe -20 °C de saklanan kloroform solüsyonundan 3 ml eklendi. 10 dakika oda sıcaklığında rotary mix 'te bekletildi ve 10 dakika 1400 xg de santrifüj edildi.

5- DNA presipitasyonu

DNA içeren faz (üstteki berrak tabaka) pastör pipetleriyle 15 ml'lik yeni bir santrifüj tüpüne aktarıldı. DNA içeren volümün iki katı kadar etanol ilave edildi.

Hafifçe karıştırılarak DNA 'nın presipite olması sağlandı. Plastik öze ile presipite olan DNA alındı ve 3- 5 dakika süre ile dışarıda bekletilerek kuruması sağlandı. 1,5 ml' lik ependorf tüplerine 200 µl TE buffer konuldu. Üzerine DNA 'nın kuruması sağlanan plastik öze kesildi ve içinde TE buffer bulunan tüpe konuldu.

4.4.4.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile örneklerin çoğaltılması

PCR, DNA içinde bulunan ve iki segment arasında dizisi bilinen özgün bölgeleri invitro koşullarda çoğaltmak için kullanılan tekniktir (78).

Prensip olarak PCR; İki oligonükleotid primerin DNA'nın çift iplikli yapısına bağlanması ve uzaması olarak tanımlanır. Kalıp olarak kullanılan DNA molekülleri çok yüksek sıcaklıklarda denatüre edildikten sonra primerler, daha düşük sıcaklıklarda tek iplikli DNA molekülü üzerinde kendilerine özgü bölgelere yerleşirler. Uygun tampon ile dört çeşit dNTP (dATP , dCTP ,dGTP , dTTP) varlığı ve DNA polimeraz enzimi sayesinde primerler 3' hidroksil ucundan uzamaya başlar. Bu işlem sonucunda kalıp DNA ipliğinin tamamlayıcısı olan yeni bir DNA molekülü meydana gelir (79).

PCR döngüleri arka arkaya tekrarlayan denatürasyon işlemi (91-94 °C), primerlerin bağlanması (55-72 °C-annealing) ve extensiyon olarak bilinen uzama aşamalarından oluşur. Bu işlemlerin tekrarlanmasıyla DNA fragmentleri üssel olarak artarken bir yandan da bir sonraki döngüde kalıp primer olarak görev yaparlar. Ve böylece her PCR döngüsünde istenilen bölge sayı olarak iki katına çıkar (79).

Yöntem: Her bir örnek için 30,5 µl H₂O, 0,5 ünite Taq Polimerase enzimi, bu enziminin çalışması için gereksinim duyduğu 10X reaksiyon çözeltisi (50 mM KCL, 100 mM Tris-Hcl Ph: 9.0 25°C de) triton X-100, 1.5-2.5 mM MgCl₂, 2mM dNTP's, 200 ng primer ile 50 µl'lik PCR karışımı elde edildi. Kişilere ait hedef DNA 100-150 ng olacak şekilde PCR karışımına eklendi. Buharlaştırmanın engellenmesi için karışımın üzerine 30µl mineral yağ damlatılarak örneklerin Techne PHC3 thermal cyclerda amplifikasyon işlemleri gerçekleştirildi.

4.4.4.2.1. PON1 enzimi L55M polimorfizmi için PCR aşaması

Bu polimorfizmin PCR aşaması; 5 µl genomik DNA (100 ng), her bir primerden (F ve R) 1 µl (10 pmol/µl) (0.2 µM), 3 µl MgCl₂ (25 mM), 5 µl Taq Buffer (10 X), 4 µl dNTP (2.5 mM) ile 0.5 µl Taq DNA Polimeraz enzimi (5 u/µl) PCR grade su ile enson hacim 50 µl olacak şekilde tamamlanarak gerçekleştirilmiştir.

170 bç 'lik PON 55 polimorfizimi için PCR süreleri :

Denatürasyon

95 °C 'de 5 dakika 1 siklus

Döngüler

95 °C 'de	45 saniye	Denatürasyon	} 30 siklus
55 °C 'de	45 saniye	Annealing (yapışma)	
72 °C 'de	1 dakika	Extension (uzama)	
72 °C 'de	5 dakika	Son uzama	→ 1 siklus

10 µl'lik PCR ürünü ve 2 µl'lik tampon karışımı, %1.5'luk jele yüklenerek 90 V'ta ortalama 45 dakika yürütülerek 170 bç'lik bantların uzunluğu kontrol edilmiştir

4.4.4.2.2. PON1 enzimi Q192R polimorfizmi için PCR aşaması

Bu polimorfizmin PCR aşaması; 5 µl genomik DNA (150 ng), her bir primerden (F ve R) 1 µl (10 pmol/µl) , (0,3 µM), 2 µl MgCl₂ (25 mM), 5 µl Taq Buffer (10 X), 5 µl dNTP (2,5 mM) ile 0,5 µl Taq DNA Polimeraz enzimi (5u/µl) PCR grade su ile enson hacim 50 µl olacak şekilde tamamlanarak gerçekleştirilmiştir.

99 bç 'lik PON 192 polimorfizmi için PCR süreleri:

Denatürasyon

96 °C 'de 10 dakika 1 siklus

Döngüler

95 °C 'de	1 dakika	Denatürasyon	}	35 siklus
58 °C 'de	1 dakikak	Annealing (yapışma)		
72 °C 'de	2 dakika	Extension (uzama)		
72 °C 'de	10dakika	Son uzama	→	1 siklus

10 µl'lik PCR ürünü ve 2 µl'lik tampon karışımı, %1.5'luk jele yüklenerek 90 V'ta ortalama 45 dakika yürütülerek 99 bç'lik bantların uzunluğu kontrol edilmiştir.

Tablo 8: Mutasyon analizinde kullanılan primerler ve enzimler

Mutasyon	Primerler	Enzim
c.163 T>A (g. 12801 T>A, rs 854560, PON1 L55M)	F: 5' GAAGAGTGATGTATAGCCCCAG 3' R: 5' TTTAATCCAGAGCTAATGAAAGCC 3'	NlaIII
c.575 A>G (g.21439 A>G, rs 662, PON1 Q192R)	F: 5' TATTGTTGCTGTGGGACCTGAG 3' R: 5' CACGCTAAACCCAAATACATCTC 3'	BspI

4.4.4.3.PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesimi

4.4.4.3.1.PON1 enzimi L55M polimorfizm bölgesi için enzim kesimi

Enzim kesimi için amplifiye edilen PCR ürününden 10 µl, 10X NE tamponundan 4 µl ve 10 u/µl'lik Nla III restriksiyon enziminden 1µl alınarak toplam 15 µl'lik inkübasyon solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan bu solüsyon 37 °C'de 10 saat

ve 65°C'de 20 dakika bir döngü olacak şekilde inkübasyona tutularak kesilm işlemi gerçekleştirildi. İnkübe edilen kesim ürününden 8 µl ile 2 µl 1X yükleme tamponu karışımı, % 3'lük nusive agaroz jelde 100bp'lik DNA merdiveni moleküler ağırlık belirteci (fermentas) ile 100 volt'ta 45-60 dk yürütülerek, ultraviyole (UV) altında görüntülenip resmi çekilmiştir.

Enzim kesimi sonucu PON1 L55M geninden elde edilen 170 bp'lik bant LL (normal/normal), 170 + 126 + 44 baz çiftlik bant ML (normal/mutant) ve 126 + 44 baz çiftlik bant patterni gösteren örnekler MM (mutant/mutant) genotipi şeklinde değerlendirildi.

4.4.4.3.2. PON1 enzimi Q192R polimorfizm bölgesi için enzim kesimi

Enzim kesimi için amplifiye edilen PCR ürününden 10 µl, 10X NE tamponundan 4 µl ve 10 u/µl'lik BspI restriksiyon enziminden 1µl alınarak toplam 15 µl'lik inkübasyon solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan bu solüsyon 37 °C'de 10 saat ve 65°C'de 20 dakika bir döngü olacak şekilde inkübasyona tutularak kesilm işlemi gerçekleştirildi. İnkübe edilen kesim ürününden 8 µl ile 2 µl 1X yükleme tamponu karışımı, % 3'lük nusive agaroz jelde 100bp'lik DNA merdiveni moleküler ağırlık belirteci (fermentas) ile 100 volt'ta 45-60 dk yürütülerek, ultraviyole (UV) altında görüntülenip resmi çekilmiştir.

Enzim kesimi sonucu PON1 Q192R geninden elde edilen 99 baz çiftlik bant QQ (normal/normal), 69 + 30 baz çiftlik bant QR (normal/mutant) ve 69 baz çiftlik bant patterni gösteren örnekler RR (mutant/mutant) genotipi şeklinde değerlendirildi.

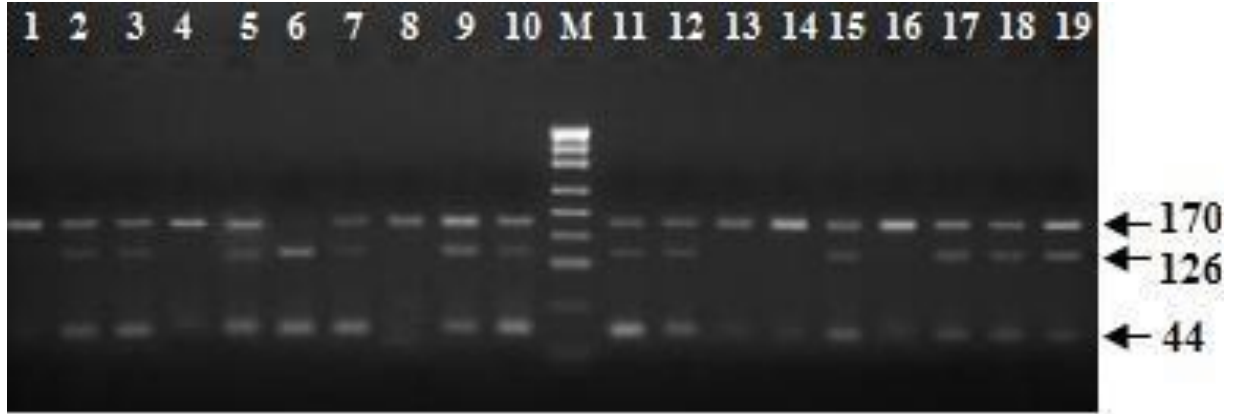
4.4.4.4. Agaroz jel elektroforezi

Prensip: Elektriksel alanda agaroz jel üzerine aplike edilen DNA' ların anoda doğru göç etmesi esasına dayanır .Örnekler DNA belirteci eşliğinde yürütülerek, oluşan DNA bantlarının baz uzunluklarının saptanması sağlanır (80).

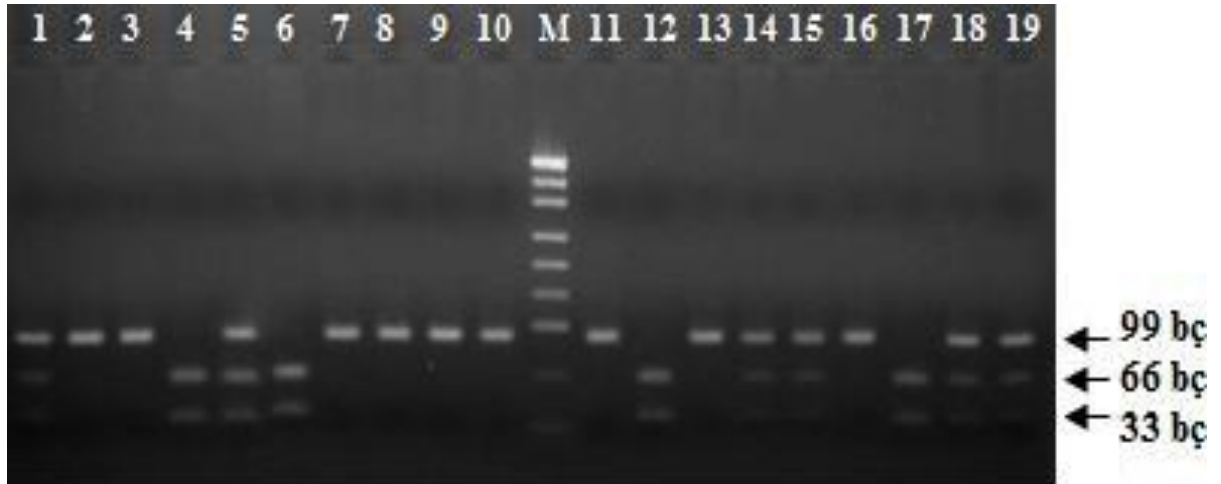
PCR sonrası spesifik bir amplifikasyon işleminin olup olmadığının kontrol edilmesi için agaroz jel kullanıldı. Amplifikasyonun incelenmesi için % 2' lik agaroz jel hazırlandı ve örnekler agaroz jele tabi tutuldu. Bunun için 2 g agaroz tartılıp, beher içinde 1XTBE tamponu 100 ml'ye tamamlandı. Manyetik karıştırıcı ısıtıcıda kaynatıldı. Yaklaşık 50-55 °C' ye kadar soğutulduktan sonra üzerine konsantrasyonu 1 mg/ µl olacak şekilde etidyum bromid eklenip karıştırıldı. Jel soğuduktan sonra jel

tabağına döküldü. Ve daha sonra elektroforez tankına yerleştirildi. Üzerine 1XTBE elektroforez tamponu döküldü. 8 µl'lik PCR ürünü 2 µl'lik yükleme tamponu ile karıştırılıp daha önce jel taraklanarak oluşturulan kuyucuklara yüklendi. Ayrıca her jelin bir kuyucuğına 100 bç' lik DNA size marker yüklendi. Yükleme işlemi bittikten sonra elektrodlar yerleştirilerek örnekler 30-45 dakika 80-100 Volt'ta yürütüldü. Yürütülen jel UV transilluminatör altında incelenerek amplifikasyonun başarılı olup olmadığı kontrol edildi. Ve daha sonra jelin fotoğrafı çekilerek değerlendirildi.





Şekil 4: PON 1 RFLP L55M enzim kesim sonuçları



Şekil 5: PON 1 RFLP Q192R enzim kesim sonuçları

4.5. İstatistiksel Analiz

Bütün istatistiksel analizler SPSS 16 (statistical package for social science) bilgisayar programı kullanılarak yapılmış olup, çalışmadaki ölçümle elde edilen veriler aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma, kategorik veriler ise yüzde ve frekans değerleri olarak ifade edilmiştir. Nümerik verilerin analizlerinde Student T testi ve One way ANOVA post hoc Tukey testi, kategorik veri analizinde ise ki-kare testi kullanılmıştır. Allel frekansları analizi Hardy Weinberg yöntemiyle yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi olarak $p: <0,05$ alınmıştır.



5. BULGULAR

Çalışma grubumuzu, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Endokrinoloji Klinik ve Polikliniğine başvuran yaşları ortalama $48 \pm 13,2$ olan MS tanısı almış 101 hasta ve yaşları ortalama $45,5 \pm 11,5$ olan 59 MS tanısı almamış kontrol grubu olmak üzere toplam 160 birey oluşturmaktadır. Hastaların 57'si (% 56,4) kadın, 44'ü (% 43,5) erkek, kontrol grubunun ise 29'u (% 49,1) kadın, 30'u (% 50,8) erkek bireyden oluşmaktadır. Çalışmamıza katılan metabolik sendromlu hasta grubu ile kontrol grubu bireylerinin yaş ortalamasında anlamlı olmayan bir yükseklik bulunmuş olup ($p > 0,05$) bu değerler tablo 9' da gösterilmiştir.

Tablo 9: Kontrol ve hasta gruplarının yaş ortalamaları

Parametre	Hasta(n= 101)	Kontrol(n=59)	P
Yaş,ortalama $\pm$ SD	$48 \pm 13,2$	$45,5 \pm 11,5$	>0,05
Cinsiyet			
Erkek, (n),(%) Kadın, (n),(%)	44 (% 43,5) 57 (% 56,4)	30 (% 50,8) 29 (% 49,1)	

Tablo 10: Kontrol ve hasta gruplarının demografik özellikleri

Parametre	Hasta(n= 101)	Kontrol(n=59)	P
Boy (cm)	$164,0 \pm 9,5$	$166,9 \pm 9,6$	>0,05
Kilo (kg)	$88,5 \pm 17,1$	$66,2 \pm 12,6$	<0,001
Bel çevresi (cm)	$113,3 \pm 14,0$	$87,9 \pm 8,4$	<0,001
Sistolik kan basıncı (mmHg)	$129,8 \pm 14,4$	$112,9 \pm 10,8$	<0,001
Diyastolik kan basıncı (mmHg)	$81,9 \pm 8,3$	$74,0 \pm 7,2$	<0,001

Yapılan bu çalışmada hasta ve kontrol grubu arasındaki boy farkı anlamlı olmayan bir yükseklikte bulunmuş olup ($p > 0,05$), hastaların kiloları anlamlı bir yükseklikte bulunmuştur. ($p < 0,001$). Metabolik sendrom kriterleri içerisinde de bulunan bel çevresi, sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olup istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$)(Tablo:10).

Tablo 11: Kontrol ve hasta gruplarının laboratuvar ölçümleri

Parametre	Hasta(n= 101)	Kontrol(n=59)	P
Glukoz (mg/dL)	160,9±82,2	90,7±8,3	<0,001
HDL-K (mg/dL)	41,6±10,3	53,7±12,6	<0,001
LDL-K (mg/dL)	121,6±66,9	105,9±33,0	>0,05
Total kolesterol (mg/dL)	195,2±52,0	182,0±44,1	>0,05
VLDL-K (mg/dL)	40,1±19,3	22,1±16,9	<0,001
Trigliserid (mg/dL)	196,0±89,0	102,0±39,8	<0,001

Çalışmamızda iki grup arasındaki total kolesterol ile LDL-K arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmadı($p>0,05$). Ancak metabolik sendromlu hastalarda Glukoz, Trigliserid ve VLDL-K değerleri kontrol grubuna göre yüksek olup sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır. HDL kolesterol değeri ise hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur ($p:<0,001$) (Tablo:11).

Tablo 12: Kontrol ve hasta grubunda PON aktivitesi

Parametre	Hasta(n= 101)	Kontrol(n=59)	P
PON(U/L)	50,4±28,1	64,5±35,5	<0,01

Paraoksonaz aktivitesi; Metabolik sendromlu hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında MS hastalarının serum PON düzeyleri düşük olup, istatistiksel olarak farklı bulundu ($p:<0,01$) (Tablo:12).

Tablo 13: PON 1 192 polimorfizmi genotip ve allel frekansları

PON 1 192 GENOTİPİ	Hasta(n= 101) % (n)	Kontrol(n=59) % (n)	P
QQ	72,3 % (73)	81,4 % (48)	>0,05
QR	16,8 % (17)	7,0 % (4)	>0,05
RR	10,9 % (11)	11,9 % (7)	>0,05
ALLELER			
Q	0,81 % (163)	0,85 % (100)	>0,05
R	0,19 % (39)	0,15 % (18)	>0,05

Çalışmada hasta grubu olarak alınan toplam 101 hastadan 73'ü (% 72,3) PON1 192 genotipi bakımından homozigot normal (QQ) iken, kontrol grubu olarak alınan 59 kontrolden 48'i (% 81,4) homozigot normaldi ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı($p>0,05$). Hasta grubundan 17 hasta (% 16,8) heterozigot (QR) iken, kontrol grubunda 4 kontrol (% 7,0) heterozigot olarak saptandı. İstatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunamadı($p>0,05$). Hasta grubundan 11 hasta (% 10,9) homozigot mutant (RR) iken, kontrol grubundan 7 kontrol (% 11,9) homozigot mutant bulundu. İstatistiksel bakımdan anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$)(Tablo:13).

Allel frekansları olarak değerlendirdiğimizde hasta grubundaki 101 hastada Q alleli sayısı 163 (% 0,81) iken, kontrol grubundaki 59 bireyde bu sayı 100 (% 0,85) olarak bulunmuştur. İstatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmadı($p>0,05$). Hasta grubundaki R alleli sayısı 38 (%0,19) iken kontrol grubunda 18 (% 0,15) olarak bulunmuştur. İstatistiksel bakımdan anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$)(Tablo:13).

Tablo 14: PON 1 55 polimorfizmi genotip ve allel frekansları

PON 1 55 GENOTİPİ	Hasta(n= 101) % (n)	Kontrol(n=59) % (n)	P
LL	47,5 % (48)	50,8 % (30)	>0,05
LM	41,6 % (42)	39,0 % (23)	>0,05
MM	10,9 % (11)	10,2 % (6)	>0,05
ALLELLER			
L	0,69 % (138)	0,70 % (83)	>0,05
M	0,31 % (64)	0,30 % (35)	>0,05

Çalışmada hasta grubu olarak alınan toplam 101 hastadan 48'i (% 47,5) PON1 55 genotipi açısından homozigot normal (LL) iken, kontrol grubu olarak alınan 59 kontrolden 30'u (% 50,8) homozigot normaldi ve istatistiksel bakımdan anlamlı fark saptanamadı($p>0,05$). Hasta grubundan 42 hasta (% 41,6) heterozigot (LM) iken, kontrol grubunda 23 kontrol (% 39,0) heterozigot olarak saptandı. İstatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunamadı($p>0,05$).Hasta grubundan 11 hasta (% 10,9) homozigot mutant (MM) iken, kontrol grubundan 6 kontrol (% 10,2) homozigot mutant bulundu. İstatistiksel bakımdan anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$)(Tablo:14).

Allel frekansları olarak değerlendirdiğimizde hasta grubundaki 101 hastada L alleli sayısı 138 (% 0,69) iken, kontrol grubundaki 59 bireyde bu sayı 83 (% 0,70) olarak bulunmuştur. İstatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmadı($p>0,05$). Hasta grubundaki M alleli sayısı 64(%0,31) iken kontrol grubunda 35(% 0,30) olarak bulunmuştur. İstatistiksel bakımdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$)(Tablo:14).

Tablo 15: MS Parametrelerinin hasta grubunda PON1 Q192R genotipine göre dağılımı

Parametre	QQ (n:73)	QR (n: 17)	RR (n: 11)
PON (U/ L)	42,2±23,9	64,4±25,0	82,7±29,0
Kilo (kg)	88,7±17,7	82,8±10,6	95,9±19,3
Bel çevresi (cm)	113,6±15,1	110,8±11,6	114,8±9,8
Sistolik kan basıncı (mmHg)	128,5±13,7	135,0±12,5	130,4±20,3
Diastolik kan basıncı (mmHg)	81,6±8,2	84,1±7,7	80,9±12,0
Glukoz (mg/dL)	167,9±86,9	134,3±53,4	155,8±83,5
HDL-K (mg/dL)	42,2±10,6	40,0±10,5	40,0±8,4
LDL-K (mg/dL)	122,4±68,6	123,9±78,7	112,8±29,5
Total kolesterol (mg/dL)	197,4±54,2	190,4±53,0	188,0±35,1
VLDL-K(mg/dL)	41,6±19,8	38,7±20,2	32,8±12,5
Trigliserid (mg/dL)	200,0±90,2	192,9±101,0	174,3±60,7

PON1 geni Q192R polimorfizmi bakımından, QQ genotipine sahip MS'lu hastaların glukoz, HDL-K, TK, VLDL-K, TG değerleri QR ve RR genotipine sahip hastalar ile karşılaştırıldığında yüksek olduğu gözlenirken, PON1 aktivitesi ve sistolik kan basıncında azalma gözlenmiştir. QR genotipli hastalarda sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı ve LDL-K değerleri yüksek bulunmuşken kilo, bel çevresi, glukoz değeri QQ ve RR genotipli hastalara göre düşük bulunmuştur. RR genotipli hastalarda PON aktivitesi, kilo, bel çevresi değerleri yüksek bulunmuşken, diastolik kan basıncı, HDL-K, LDL-K, TK, VLDL-K, TG değerlerinde QQ ve QR genotipli hastalara göre azalma gözlenmiştir. PON aktivitesi QQ ve QR genotipleri arasında istatistiksel bakımdan farklı bulunmuştur(p:<0,01). QQ ve RR genotipleri arasında da istatistiksel bakımdan farklılık vardır (p:<0,001)(Tablo:15).

Tablo 16: MS Parametrelerinin hasta grubunda PON1 L55M genotipine göre dağılımı

Parametre	LL (n:48)	LM (n: 42)	MM (n: 11)
PON (U/ L)	55,2±29,3	50,2±27,2	30,1±16,9
Kilo (kg)	86,5±15,5	91,3±18,6	86,9±17,9
Bel çevresi (cm)	110,5±12,0	115,4±14,6	117,2±18,4
Sistolik kan basıncı (mmHg)	131,6±15,3	127,3±11,9	131,3±18,7
Diastolik kan basıncı (mmHg)	82,2±8,9	82,0±7,4	80,4±9,0
Glukoz (mg/dL)	146,7±63,2	164,5±84,7	209,6±125,6
HDL-K (mg/dL)	42,0±10,4	40,2±9,9	44,7±11,4
LDL-K (mg/dL)	117,0±62,3	128,2±76,3	116,8±47,9
Total kolesterol (mg/dL)	195,6±56,3	193,3±48,8	200,1±48,3
VLDL-K (mg/dL)	39,6±19,9	40,3±19,2	42,0±18,7
Trigliserid (mg/dL)	190,9±81,7	201,8±95,6	196,0±101,0

PON1 geni L55M polimorfizmi bakımından, LL genotipine sahip MS'lu hastaların PON aktivitesi, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı LM ve MM genotipine sahip hastalar ile karşılaştırıldığında yüksek olduğu gözlenirken, kilo, bel çevresi, glukoz, VLDL-K, TG değerlerinde azalma gözlenmiştir. LM genotipli hastalarda kilo, LDL-K, TG değerleri yüksek bulunmuşken, sistolik kan basıncı, HDL-K, TK değerleri LL ve MM genotipli hastalara göre düşük bulunmuştur. MM genotibe sahip hastalarda PON aktivitesi, diastolik kan basıncı, LDL-K değerlerinde azalma gözlenirken, bel çevresi, glukoz, HDL-K, TK, VLDL-K değerleri yüksek bulunmuştur. PON aktivitesi LL ve MM genotipleri arasında istatistiksel bakımdan farklı bulunmuştur ($p < 0,05$) (Tablo:16).

Tablo 17: MSParametrelerinin kontrol grubunda PON1 Q192R genotipine göre dağılımı

Parametre	QQ (n:48)	QR (n: 4)	RR (n:7)
PON (U/ L)	56,1±28,6	89,9±20,1	107,7±49,2
Kilo (kg)	67,2±12,6	55,5±3,7	65,2±14,3
Bel çevresi (cm)	88,4±8,3	82,5±6,7	87,7±9,85
Sistolik kan basıncı (mmHg)	114,0±11,2	105,0±10,0	110,0±5,7
Diyastolik kan basıncı (mmHg)	74,7±7,4	70,0±8,1	71,4±3,7
Glukoz (mg/dL)	91,3±8,6	87,2±8,0	89,2±5,8
HDL-K (mg/dL)	52,8±11,7	69,5±20,9	50,7±7,4
LDL-K (mg/dL)	106,1±34,1	89,2±16,8	114,5±31,6
Total kolesterol (mg/dL)	178,9±40,1	203,0±94,8	191,2±35,7
VLDL-K (mg/dL)	22,2±17,9	16,5±8,9	24,8±13,9
Trigliserid (mg/dL)	99,6±33,4	83,0±44,7	129,5±66,6

PON1 geni Q192R polimorfizmi bakımından, QQ genotipine sahip kontrol grubunda kilo, bel çevresi, diyastolik kan basıncı, glukoz değerleri QR ve RR genotipine sahip kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek olduğu gözlenirken, TK değerinin ve PON aktivitesinin düşük olduğu gözlenmiştir. QR genotipli kontrol grubunda HDL-K, TK değerleri yüksek bulunmuşken kilo, bel çevresi, sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı, glukoz, LDL-K, VLDL-K, TG değerleri QQ ve RR genotipli kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. RR genotipli kontrol grubunda LDL-K, VLDL-K, TG ve PON aktivitesi yüksek bulunmuşken, HDL-K değeri QQ ve QR genotipli kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. HDL kolesterol değerleri QQ genotipi ile QR genotipi arasında ve QR genotipi ile RR genotipi arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir farklılık göstermektedir(p:<0,05). PON aktivitesi QQ ve RR genotipleri arasında da istatistiksel bakımdan anlamlı bir farklılık göstermektedir(p:<0,001)(Tablo:17).

Tablo 18: MS Parametrelerinin kontrol grubunda PON1 L55M genotipine göre dağılımı

Parametre	LL (n:30)	LM (n: 24)	MM (n: 5)
PON (U/ L)	67,7±37,6	66,7±33,0	35,0±25,2
Kilo (kg)	65,3±12,0	65,5±12,5	75,4±15,6
Bel çevresi (cm)	86,6±8,9	88,7±7,7	92,4±8,3
Sistolik kan basıncı (mmHg)	113,3±11,5	111,0±10,2	120,0±7,0
Diyastolik kan basıncı (mmHg)	74,0±8,1	73,3±6,3	78,0±4,4
Glukoz (mg/dL)	89,8±6,5	91,2±9,8	94,4±10,5
HDL-K (mg/dL)	52,1±11,5	56,0±13,9	52,4±13,2
LDL-K (mg/dL)	109,8±33,9	99,2±32,1	115,4±32,2
Total kolesterol (mg/dL)	180,8±40,8	181,9±51,3	190,2±30,0
VLDL-K (mg/dL)	18,7±7,6	26,2±24,6	22,8±9,1
Trigliserid (mg/dL)	95,3±37,9	108,0±41,2	114,2±46,0

PON1 55 LL genotipine sahip kontrol grubunda kilo, bel çevresi, glukoz, HDL-K, TK, VLDL-K, TG değerleri düşük bulunmuşken, PON aktivitesi LM ve MM genotipli kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. PON1 55 LM genotipine sahip kontrol grubunda HDL-K, VLDL-K düşük gözlenirken, diyastolik kan basıncı ve LDL-K değerleri LL ve MM genotipli kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. PON1 55 MM genotibe sahip kontrol grubunda kilo, bel çevresi, sistolik ve diastolik kan basıncı, glukoz, LDL-K, TK, TG değerleri LL ve LM genotipli kontrol grubuna göre yüksek bulunmuşken, PON aktivitesi düşük bulunmuştur. Parametreler arasında istatistiksel bakımdan fark bulunmamıştır (Tablo:18).

6. TARTIŞMA

Metabolik sendrom; insülin metabolizması bozukluğu, obezite, dislipidemi, yüksek kan basıncı, artmış kardiyovasküler hastalık ve birde diyabet riskiyle bir arada bulunabilen, oluşmasında en çok da genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğu hastalıklar kompleksidir (5,18).İnsülin rezistans sendromu olarak da adlandırılan bu sendrom gelişmekte olan ülkelerdeki sedanter yaşam tarzı ile bir epidemi haline gelerek kardiyovasküler hastalıkların artışında önemli rol üstlenmektedir (81). Tip 2 diyabet patogeneğinde insülin direnci ve yağ dokusu artışı birlikte yer alır. İnsülin direncinde, plazmadaki lipoprotein lipaz enzim aktivitesi azalır ve plazmadaki trigliseritler artar, bir taraftan da karaciğerdeki lipoprotein lipaz enzim aktivitesinin artmasıyla HDL'nin yıkımı da artar. İnsülin direnci plazmada serbest yağ asitlerini artırır ve bu da karaciğerde trigliserit birikmesini sağlar (82).

Bu çalışma; MS'li hastalarda PON enzim aktivitesi ve PON gen polimorfizimleri arasında herhangi bir ilişki olup olmadığını göstermek amacı ile yapılmıştır. MS kriterleri insülin direncinin varlığında gelişip organizmalar için zararlı etkiler meydana getirmektedir. Bu zararlı etkilerden PON gibi bazı enzimler metabolizmada antioksidan etki göstermektedir. MS'lu bireylerin artışı ve bu konunun ciddi bir sağlık sorunu haline gelmesi nedeniyle bu çalışmayı yapmayı planladık.

Paraoksonaz enzimi HDL ile taşınan, kalsiyuma bağımlı bir ester hidrolazdır. 192. ve 55. pozisyonlarda olmak üzere iki yaygın polimorfizm gösteren PON aktivitesi düşük ve yüksek aktiviteli iki allelin kontrolü altındadır (10,62,83).

PON1 aterosklerotik süreci önlemede ve düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidatif modifikasyonuna karşı önemli rol oynamaktadır (8). PON1'in, lipit peroksidleri taşıyan HDL-K'ü de LDL-K gibi koruduğu ve makrofajlardan kolesterol salınımını arttırdığı bilinmektedir (62).

PON1-L55M polimorfizimi aktivitede önemli bir değişikliğe neden olmaz. PON1-Q192R polimorfiziminde ise 192. pozisyonda Q bulunan homozigot

bireylerde paraoksonaz aktivitesi düşük, R bulunan homozigot bireylerde aktivite yüksek ve heterozigot bireylerde ise orta düzeyde aktivite rapor edilmiştir. R allelinin kodladığı proteinin paraoksonu hidroliz etme aktivitesi Q allele göre sekiz kat yüksek olduğu ileri sürülmektedir (62,69).

Mackness ve arkadaşları KKH gelişimine en az yatkın olan bireylerin PON1-55 MM genotipi taşıdığını ve bu bireylerde HDL-K'ün de LDL-K'ü oksidasyondan korumada en etkin olduğunu bildirmişlerdir (17).

Bu çalışmamızda NCEP ATP III klavuzunun tanı kriterlerine göre metabolik sendrom tanısı almış ve en az üç kriter birarada bulunan hastalar yer almaktadır.

Metabolik sendrom hipertansiyon, hiperkolesterol ve açlık kan şekerinde yükseklik gibi belirtileri olan çok ciddi bir hastalıktır. Garin ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada metabolik sendromlu hastalarda HDL kolesterol seviyesinde anlamlı bir azalma olduğu ve TG seviyelerinde artış olduğu ve bununda KVH oluşumu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (84). Rojekar ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada metabolik sendromlu hastalarda HDL kolesterol seviyesinde azalma ve açlık glukoz seviyesinde artış gözlenmiştir (85). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada açlık glukoz seviyesi, TG seviyesi, VLDL yüksekliği MS ortaya çıkma riskini arttırdığı ve HDL kolesterol seviyesinin azlığında bunu destekler nitelikte olduğu gözlemlenmiştir. Bulmuş olduğumuz bu sonuç, bahsedilen çalışmaları da destekler niteliktedir. Rojekar ve arkadaşları PON1 enzim aktivitesindeki azalmanın metabolik sendromda HDL ile bağlantılı olduğunu ve HDL kolesterol sentez ve salınımindaki anormallikler veya serbest radikallerin aşırı üretiminin sonucu oluşan oksidatif stres nedeniyle olduğunu bildirmişlerdir. Senti ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma ise düşük PON-1 aktivitesinin MS'de bir oksidatif stresin sözkonusu olduğunu belirtmektedir (85,86). Bizim çalışmamızda da PON aktivitesi metabolik sendromlu hastalarda istatistiksel olarak düşük bulunmuştur.

El-Lebedy ve arkadaşlarının Mısır'da 50 kişilik kontrol grubu ve 68 kişilik diyabetik hasta grubunda yaptıkları çalışmada PON1 192 QQ, QR ve RR genotip frekansları kontrol grubuna göre hasta grubunda istatistiksel bakımdan anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Hasta grubunda sırasıyla % 44,8, % 44, % 11,2 iken kontrol grubunda % 66, % 24, % 10 ($p=0,02$). Q ve R allelleri de sırasıyla hastalarda % 66,8, % 33,2, kontrollerde % 78, % 22 olarak bulunmuştur ($p=0,03$)(87).

Kaman ve arkadaşlarının 277 koroner arter hastası ve 92 sağlıklı bireyde yapmış olduğu çalışmada PON1 192 QQ, QR ve RR genotip frekansları hasta grubunda sırasıyla % 42,2, %41,2, %16,6 iken kontrol grubunda % 46,7, %44,6 ve % 8,7, Q ve R allelleri de sırasıyla hastalarda % 62,8, %37,2 , kontrollerde % 69, %31 bulunmuş ancak istatistiksel bakımdan anlamlı bir fark bulunmamıştır (16).

MS hipertansiyon, hiperkolesterol, hiperglisemi ve obezite gibi kompleks belirtileri olan ciddi bir hastalıktır. Bu sendromlu hastaların tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklara yakalanmada riskleri fazladır. Tamandani ve arkadaşlarının İranda 119 metabolik sendromlu hasta ve 201 kontrol grubunda yapmış olduğu çalışmaya göre PON1 192 QQ, QR ve RR genotiplerinin frekansları hasta grubunda sırasıyla % 50,4, %8,5, %41 iken kontrol grubunda % 62,2, %12,4, %25,4 olarak ve QR+RR genotiplerini de hasta ve kontrolde sırasıyla % 49,5, %37,8 olarak bulmuşlardır. RR ve QR+RR genotipleri metabolik sendrom için artmış bir risk taşımaktadır ($p=0,0001$, $p=0,05$) (88). Bizim çalışmamızda PON 1 Q192R genotip ile allel frekansları açısından kontrol ve hasta grupları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

El-Lebedy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PON1 55 LL, LM ve MM genotip frekansları hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel bakımdan anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Hasta grubunda sırasıyla % 17,2, % 49,3, %33,5 olarak bulunmuşken kontrol grubunda % 14, %28, %58 olarak bulunmuştur($p=0,009$). L ve M allelleri de sırasıyla hastalarda % 42, %58, kontrollerde % 28, %72 olarak bulunmuştur ($p=0,01$)(87).

Kaman ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada PON1 55 LL, LM ve MM genotip frekansları hasta grubunda sırasıyla % 44,4, % 44,4 ve % 11,2 olarak bulunmuşken kontrol grubunda % 32,6, % 46,7 ve % 20,7 olarak bulunmuştur($p=0,031$). L ve M allelleri de sırasıyla hastalarda % 66,4, %33,6 , kontrollerde % 56, %44 olarak bulunmuştur ($p=0,011$). Araştırmacılar PON1 L55M polimorfiziminin KAH ile ilişkilendirilebileceğini bildirmişlerdir (16).

Tamandani ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada PON1 55 LL, LM ve MM genotip frekansları hasta grubunda sırasıyla % 34,5, % 21, %44,5, olarak

bulunmuşken kontrol grubunda % 37, %27,% 36 olarak bulunmuştur. LM+MM genotiplerini de hasta ve kontrolde sırasıyla % 65,5, %37,5 olarak bulmuşlardır($p=0,73$). LL ve LM+MM genotipleri metabolik sendrom için risk faktörü olarak değerlendirilmiştir(88). Bizim çalışmamızda PON1 L55M genotip ve allel frekansları açısından kontrol ve hasta grupları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Kaman ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada PON1 Q192R genotiplerine göre PON aktivite düzeyleri karşılaştırıldığında hastalarda QQ genotipi PON düzeyi $335,4 \pm 9,9$ (U L⁻), RR genotipi PON düzeyi $381,3 \pm 89,7$ (U L⁻)($p<0,01$) olarak anlamlı bulunmuştur. Hasta grubunda QR genotipi PON düzeyi $339,3 \pm 83,5$ (U L⁻) olarak bulunmuş ve RR grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Kontrol grubunda da QQ ve RR genotipi PON düzeyi sırasıyla $369,7 \pm 125,7$ ve $531,0 \pm 39,5$ (U L⁻) ($p<0,001$) istatistiksel bakımdan çok anlamlı bulunmuştur. PON1 L55M genotiplerine göre PON aktivite düzeyleri karşılaştırıldığında hastalarda LL genotipi PON düzeyi $369,1 \pm 96,1$ (U L⁻), MM genotipi PON düzeyi $321,4 \pm 84,5$ (U L⁻) ($p<0,01$) olarak bulunmuştur. Hasta grubunda LM genotipi PON düzeyi $326,0 \pm 79,8$ (U L⁻) olarak bulunmuş ve LL grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,0001$)(16). Bizim çalışmamızda hasta grubunda PON1geni Q192R polimorfizmi bakımından PON enzim aktivite düzeyleri karşılaştırıldığında, hastalarda QQ genotipine sahip bireylerin PON enzim düzeyi ile QR genotipine sahip bireylerin PON enzim düzeyi arasında istatistiksel bakımdan anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,01$). Benzer şekilde hasta grubundaki QQ ve RR genotiplerine sahip bireylerin PON düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel bakımdan anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,001$). Kontrol grubundaki QQ genotipine sahip bireyler ile RR genotipine sahip bireyler arasında PON enzim düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır($p<0,001$). PON1 geni L55M polimorfizmi ile PON aktivite düzeyleri karşılaştırıldığında, hastalarda LL genotipine sahip bireylerdeki PON enzim düzeyi ile MM genotipine sahip bireylerdeki PON enzim düzeyi arasında istatistiksel bakımdan anlamlı farklılık bulunmuştur($p<0,05$). Kontrol grubunda ise sözkonusu polimorfizm ile PON enzim aktivite düzeyleri arasında istatistiksel bakımdan fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çalışmamızda metabolik sendromlu hastalar ve kontrol grubundaki bireyler ayrı ayrı incelendiğinde PON1 Q ve R polimorfizmleri için homozigotluğun PON enzim aktivitesini etkilediğini QQ genotipe sahip bireylerin RR genotipe sahip bireylere göre düşük enzim aktivitesi gösterdiğini ancak PON1 L ve M polimorfizmleri için homozigotluğun PON enzim aktivitesini etkilemede hasta grubunda, MM genotipine sahip bireylerde düşük enzim aktivitesi gösterdiği ve kontrol grubunda da miktar olarak düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak bunu desteklemediğini gözlemledik. Metabolik sendromlu hastalarda PON1 QQ homozigot genotipini taşıyan bireylerin metabolik sendrom parametreleri olan glukoz, HDL-K, TK, VLDL-K, TG değerleri QR ve RR genotipine sahip bireylere göre daha yüksek olduğu gözlenirken istatistiksel olarak herhangi bir farklılık ifade etmediğini, aynı şekilde homozigot PON1 MM genotipine sahip bireylerin glukoz, HDL-K, TK, VLDL-K değerleri LL ve LM genotipine sahip bireylere göre daha yüksek olduğunu gözlemlememize rağmen istatistiksel herhangi bir farklılık ifade etmediğini saptadık. Altuner ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada diyabeti olan hastalarda lipid düzeyleri incelendiğinde QQ PON1 genotipini taşıyan bireylerin TG ve VLDL-K düzeylerinin yüksek olduğu gözlenmiştir. Homozigot MM PON1 genotipine sahip bireylerin de TK, TG, HDL-K düzeylerinin yüksek olduğu ancak bu polimorfizmin plazma lipid, kolesterol düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmadığı belirtilmiştir (71).

Sonuç olarak MS da PON aktivitesinin azaldığını ancak genetik polimorfizm açısından da genotip frekanslarının bu değişimleri kısmen desteklediğini ve bu sebeple farklı popülasyonlarda daha büyük örneklem büyüklüğüne sahip çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

7. SONUÇ

Çalışmamızın sonucunda;

NCEP ATP III metabolik sendrom tanı kriterlerinden en az üçünü gösteren ve MS tanısı almış 101 hasta (ortalama yaş: $48 \pm 13,2$) ve MS tanısı almamış 59 birey (ortalama yaş: $45,5 \pm 11,5$) kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil ettiğimiz hasta ve kontrol grubu, NCEP ATP III raporundaki tanı kriterleri bakımından karşılaştırıldığında bel çevresi, trigliserit, HDL-K, AKŞ, sistolik ve diyastolik kan basıncı değerleri bakımından $p < 0,001$ istatistiksel bakımdan yüksek anlamlıdır.

Paraoksonaz aktiviteleri bakımından çalışmamızda hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında MS hastalarının serum PON düzeyleri istatistiksel bakımdan anlamlı bir azalma göstermektedir ($p < 0,01$).

Bizim çalışmamızda PON1 Q192R ve PON1 L55M genotip ve allel frekansları açısından kontrol ve hasta grupları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0,05$).

PON1 Q192R genotipine göre hasta grubu kendi arasında incelendiğinde homozigot QQ genotipine sahip olan bireylerin en düşük PON enzim aktivitesi gösterdiği, en yüksek PON aktivitesini de RR genotipine sahip bireylerin gösterdiği görülmüştür. QQ ve QR genotipleri kendi arasında istatistiksel bakımdan anlamlı derecede yüksek idi ($p < 0,01$). QQ ve RR genotipleri de kendi aralarında istatistiksel bakımdan çok anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,001$).

PON1 Q192R genotipine göre kontrol grubu kendi arasında incelendiğinde homozigot QQ genotipine sahip olan bireylerin en düşük PON enzim aktivitesi gösterdiği, en yüksek PON aktivitesini de RR genotipine sahip bireylerin gösterdiği görülmüştür. HDL kolesterol değerleride QQ genotipi ile QR genotipi arasında ve QR genotipi ile RR genotipi arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir farklılık göstermektedir ($p < 0,05$).

PON1 L55M genotipine göre hasta grubu kendi arasında incelendiğinde MM genotipine sahip olan bireylerin en düşük PON aktivitesi gösterdiği, en yüksek PON

aktivitesini de LLgenotipine sahip bireylerin gösterdiği görülmüştür. LL ve MM genotipleri kendi arasında anlamlı derecede yüksek idi ($p<0,05$).

PON1 L55M genotipine göre kontrol grubu kendi arasında incelendiğinde MM genotipine sahip bireylerin düşük enzim aktivitesi göstermesine rağmen istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlenmemiştir.

Son yıllarda PON1 genine olan önem artmıştır ve birçok hastalıkla ilişkisi incelenmiştir. Bu çalışmada metabolik sendromda PON1 aktivitesi ve gen polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Paraoksonaz enziminin gen-gen, gen-çevre etkileşimleri de göz önünde bulundurulduğunda, MS da hem aktivite olarak hem de gen polimorfizmi olarak anlamlı ilişkiler bulmamıza rağmen bu ilişkinin daha sağlıklı sonuçlar vermesi açısından farklı popülasyonlarda daha büyük örneklem büyüklüğüne sahip başka analizlere de ihtiyacı olduğunun kanaatindeyiz.

8. KAYNAKLAR

1. Gogia A, Agarwal PK. Metabolic syndrome. Indian J Med Sci. 2006; 60(2):72-81.
2. Solak A, Tuncel P. Metabolik Sendromda Leptin, Adiponektin, Okside LDL Düzeyleri ve Paraoksonaz Aktivitesi, Türk Klinik Biyokimya Derg. 2009;7(1):22-29.
3. Kylin E: Studien Ueber Das Hypertonie - Hyperglykämie Hyperurikämiesyndrom. Zentralblatt Fuer Innere Medizin. 1923; 44: 105-127.
4. Lien L.F, Guyton J.R, Metabolic syndrome. Dermatologic Therapy. 2008;21:362-375.
5. Handelsman Y, D.M, P.F.A.C, E.F.A.C. Metabolic Syndrome Pathophysiology and Clinical Presentation, Toxicologic Pathology. 2009; 37:18-20.
6. Camps J, Marsillach J, Joven J. The Paraoxonase: role in human diseases and methodological difficulties in measurement. Crit Rev Clin Lab Sc. 2009; 46(2):83-106.
7. Bajnok L, Seres I, Varga Z .Relationship of endogenous hyperleptinemia to serum paraoxonase 1, cholesteryl ester transfer protein, and lecithin cholesterol acyltransferase in obese individuals. Metabolism Clinical and Experimental.2007; 56: 1542-1549.
8. Yılmaz N, Eren E, Erel O; Activity paraoxonase and arylesterase and its relationship to antioxidant profiles in young basketball players and sedentary controls, Medicina Sportiva. 2007; 11(1): 20-26.

9. Balcı Ekmekçi Ö, Donma O, Ekmekçi H. Paraoksonaz. Cerrahpasa Tıp Dergisi. 2004; 35: 78-82.

10. Taşkiran P, Çam S.F, Şekuri C. Paraoksonaz Geninde Leu-Met(55) ve Gln- Arg (192) Polimorfizmleri ile Kroner Arter Hastalığı Arasındaki İlişki, Türk Kardiyol Dern Arş.2009; 37(7):473-478.

11. Berrougui H, Loued S, Khalil A. Purified Human Paraaxonase-1 Interacts with Plasma Membrane Lipid Rafts and Mediates Cholesterol Efflux From Macrophages, Free Radical Biology. 2012; 52(8):1372-1381.

12. Gur M, Aslan M, Yıldız A. Paraaxonase and arylesterase activities in coronary artery Disease. European Journal of Clinical Investigation. 2006 ; 36, 779–787.

13. Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST. The Paraaxonase Gene Family and Atherosclerosis. Fr Rad Biol Med. 2005; 38:153-163.

14. Precourt L.P, Amre D, Denis M.C, Lavoie J.C, Delvin E, Seidman E, Levy E. The Three Gene Paraaxonase Family: Physiologic Roles, Actions and Regulation. Atherosclerosis.2011;214 :20-36.

15. Adkins S, Gan K.N., Mody M., Molecular Basis for the Polymorphic Forms of Human Serum Paraaxonase / Arylesterase: Glutamine or Arginine at Position 191, for hte Respective A or B Allozymes. Am J Hum Genet.1993; 52:598-608.

16. Kaman D, Ilhan N, Metin K, Akbulut M, Ustundag B. A preliminary study of human paraaxonase and PON 1 L/M55-PON 1 Q/R 192 polymorphisms in Turkish patients with coronary artery disease. Cell Biochem Funct. 2009; 27:88–92.

17. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Durrington PN. Effect of the human serum paraaxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by

high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *Febs Lett.* 1998; 423: 57-60. 54.

18. 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(20): 635-53.

19. Zimmet P, Magliano D. The metabolic syndrome: A global public health problem and a new definition. *Journal of atherosclerosis and thrombosis.* 2005;12(6)295-300.

20. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus Provisional Report of a WHO Consultation. *Diabet Med.* 1998;15:539-553.

21. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med.* 1999;16(5):442-3.

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

23. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Vol 2005, International Diabetes Federation, 2005.

24. Grundy SM. Does a diagnosis of metabolic syndrome have value in clinical practice. *Am J Clin Nutr.* 2006;83:1248-51.

25. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001;285:2486-97.

- 26.** Ritchie SA, Connell JMC. The link between abdominal obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 2007; 17: 319-326.
- 27.** Tamsma JT, Jazet IM, Beishuizen ED, Fogteloo AJ, Meinders AE, Huisman. The metabolic syndrome: A vascular perspective. *European Journal of Internal Medicine*. 2005; 16: 314-320.
- 28.** Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 2002; 287: 356-9.
- 29.** Balkau B CM, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Wareham N, Yudkin JS, et al. Group For The Study Of Insulin Resistance (EGIR). Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts and an alternative definition of an insulin resistance syndrome. *Diabetes Metab*. 2002; 364-76.
- 30.** Kozan O, Oğuz A, Abacı A, Erol C, Ongen Z, Temizhan A. ve ark. Prevalence of the metabolic syndrome among Turkish adults. *Eur J Clin Nutr*. 2007; 61:548-53.
- 31.** Kozan O, Oğuz A, Abacı A, ve ark. Türkiye metabolik sendrom prevalans çalışması (METSAR) sonuçları. II. Metabolik Sendrom Sempozyumu. İstanbul Mart 2005.
- 32.** Onat A, Sansoy V. Halkımızda koroner hastalığın başsuçlusu metabolik sendrom: sıklığı, unsurları, koroner risk ile ilişkisi ve yüksek risk kriterleri. *Türk Kardiyol Dern Araş*. 2002; 30: 8–15.
- 33.** Gundogan K, Bayram F, Capak M, et al. Prevalence of metabolic syndrome in Mediterranean region of Turkey: evaluation of hypertension, diabetes mellitus, obesity and dyslipidemia. *Metab Syndr Relat Disord*. 2009; 7(5):427-34.

- 34.** Gundogan K, Bayram F, Gedik V, et al. Metabolic syndrome prevalence according to ATP III and IDF criteria and related factors in Turkish adults. *Arch Med Sci.* 2013; 20;9(2): 243-253.
- 35.** Schinner S SW, Bornstein SR, et al. Molecular mechanism of insulin resistance. *Diabet Med.* 2005; 22:674-82.
- 36.** Henry RR. Insulin resistance: from predisposing factor to therapeutic target in type 2 diabetes. *Clin Ther.* 2003; 25 Suppl B:B47-63.
- 37.** Yoshiaki Kido, Jun Nakae, Domenico Accili. The insulin receptor and its cellular targets. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 972–979.
- 38.** Ginsberg HN, Stalenhoef AF. The metabolic syndrome: targeting dyslipidaemia to reduce coronary risk. *J Cardiovasc Risk.* 2003;10(2):121-8.
- 39.** Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Metabolik Sendrom Çalışma Gurubu Metabolik Sendrom Klavuzu 2009.
- 40.** Hunt KJ, Heiss G, Sholinsky PD, Province MA. Familial history of metabolic disorders and the multiple metabolic syndrome: the NHLBI family heart study. *Genet Epidemiol.* 2000; 19(4):395-409.
- 41.** Arner P, Pollare T, et al. Different aetiologies of type 2 diabetes mellitus in obese and nonobese subjects. *Diabetologia.* 1991; 34:483-7.
- 42.** Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 2002; 505:1135-1143.

- 43.** DeFronzo RA. The triumvirate: B-cell, muscle or liver. A Collusion responsible for NIDDM patients. *Diabetes Care*. 1988; 37(6): 667-687.
- 44.** ADA.Clinical Practice Recommendations. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2010; 34: S62-S69.
- 45.** Wallace JM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 2004; 27: 1487-1495.
- 46.** Matsuzawa Y, Funahashi T, Nakamura T. Molecular mechanism of metabolic syndrome X: contribution of adipocytokines adipocyte-derived bioactive substances. *Ann N Y Acad Sci*. 1999; 892:146-54.
- 47.** Korkmaz A, Topal T. Modern yaşam tarzı ve yeni hastalıklar: Metabolik sendrom örneği. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*. 2006; 5(4): 307-316.
- 48.** Garrow JS and Webstar J. Quetlet index (W/H^2) as a measure of fatness. *Int. J Obesity*. 1985; 9: 147-53.
- 49.** World Health Organization, “Obesity: Preventing and Managing The Global Epidemic”, Report of a WHO Conculcation, WHO Technical Report Series 894, Geneva, 2000.
- 50.** Janjık D. Android type obesity and gynecoid type obesity. *Schweiz Rundsch Med Prax*. 1997.28; 86(5): 149.
- 51.** Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract*. 2003; 9(3):237-52.

- 52.** Brunzell JD, Hokanson JE. Dyslipidemia of central obesity and insulin resistance. *Diabetes Care*. 1999; 22(3):10-3.
- 53.** Reaven GM. Insulin resistance/compensatory hyperinsulinemia, essential hypertension, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88(6):2399-403.
- 54.** Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell*. 2001; 104:545-56.
- 55.** Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. The seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure: The JNC 7 report. *JAMA*. 2003; 289:2560-72.
- 56.** Gregg EW, Cauley JA, Stone K, Thompson TJ, Bauer DC, Cummings SR, et al. for the Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Relationship of changes in physical activity and mortality among older women. *JAMA*. 2003; 289:2379-86.
- 57.** Brown WV, Clark L, et al. Optimal management of lipids in tip II diabetes and metabolic syndrome. *Journal of Clinical Lipidology*. 2008; 2(5):335-342.
- 58.** Miller EL, Mitchell A. Metabolic Syndrome: Screening, Diagnosis and Management. *Journal of midwifery-Woman's Health*. 2006; 51(3):141-151.
- 59.** Rosenson RS. New Approaches in the intensive Management of Cardiovascular Risk in the Metabolic Syndrome. *Curr Probl Cardiol*. 2005; 30:241-280.
- 60.** Başkol G, Köse K. Paraoksonaz: biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. *Erciyes Tıp Fakültesi Dergisi*. 2004; 26:75-80.
- 61.** Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum Paraoxonase. *Gen Pharm*. 1998; 3: 329-36.

- 62.** Azarsız E, Sönmez EY. Paraoksonaz ve klinik önemi. Türk Biyokimya Dergisi.2000; 25:109-119.
- 63.** Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. J Mol Med. 2003; 81(12): 766-79.
- 64.** Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. Clin Sci. 2004; 107:435-47.
- 65.** Mackness,M.I.Arrol, S.Abbott,C. Durrington, P.N. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. Atherosclerosis. 1993; 104:129-35.
- 66.** Otocka-Kmiecik A, Orłowska-Majdak M. The role of genetic (PON1 polymorphism) and environmental factors, especially physical activity, in antioxidant function of paraoxonase. Postepy Hig Med Dosw. 2009; 63: 668-677.
- 67.** Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN.The Human serum paraoxonase polymorphism: Identification of phenotypes by their response to salts. Am J Hum Genet. 1983; 35: 214-227.
- 68.** Rajkovic M.G, Rumora L, Barisic K. The Paraoxonase 1,2 and 3 in Humans. Biochemia Medica. 2011; 21(2):122-30.
- 69.** Bayrak T, Bayrak A, Demirpençe E, Kılınç K. Yeni bir kardiyovasküler belirteç adayı: paraoksonaz. Hacettepe Tıp Dergisi. 2005; 36: 147-51.
- 70.** Garin MCB, James RW. Paraoxonase Polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzym: a possible link between the

paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. J Clin Invest. 1997;99:62-66.

71. Altuner D, Ates I, Suzen S.H. The relationship of PON1 QR 192 and LM 55 polymorphisms with serum paraoxonase activities of Turkish diabetic patients. Toxicology and Industrial Health. 2011; 00(00) 1-6.

72. Holland N, Furlong C, Bastaki M, Richter R, Bradman A, Huen K, Beckman K, Eskenazi B. Paraoxonase polymorphisms, haplotypes, and enzyme activity in Latino mothers and newborns. Environ Health Perspect. 2006; 114(7):985-991.

73. Alessio HM, Blasi ER. Physical activity as a natural booster and its effect on a healthy life span. Res Q Exerc Sport. 1997; 68:293-302.

74. Senti M, Tomas M. Interrelationship of smoking, paraoxonase activity and leisure time physical activity: a population based study. Eur J Intern Med. 2003; 14(3):178-184.

75. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem. 1972; 18:499-502.

76. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. Am J Hum Genet. 1983; 35:1126-1138.

77. Gülcü F, Gürsu MF. Paraoksonaz ve arilesteraz aktivite ölçümlerinin standardizasyonu. Turk J Biochem. 2003;28:45- 49.

78. Çakır G. Kroner Arter Hastalıklarında Leptin ve Endotelial Nitrik Oksit Sentaz Gen Polimorfizimi, D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi. 2004, Diyarbakır.

- 79.** Devrim A.K, Kaya N. Polimeraz Zincir Reaksiyonu. Kafkas Üniv.Vet.Fak.Derg. 2004; 10(2): 209-214.
- 80.** Yoon Y, Song J, Hong S.H, Kim J.Q. Plasma nitric oxide concentrations and nitric oxide synthase gene polymorphisms in coronary artery disease. Clinical Chemistry. 2000; 46:1626- 1630.
- 81.** Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. JAMA. 2002; 288: 2709-16.
- 82.** Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. J Clin Invest. 2000;106(2): 171-6.
- 83.** Mackness MI, Arrol SI, Mackness B, Durrington PN. Allo-enzymes of paraoxonase and affectiveness of high density lipoproteins in protecting low density lipoprotein against lipid peroxidation. Lancet. 1997; 349:851-852.
- 84.** Garin MC, Kalix B, Morabia A, James RW. Small, dense lipoprotein particles and reduced paraoxonase-1 in patients with the metabolic syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 2005; 90(4):2264-9.
- 85.** Rojekar M, Mogarekar M, Rojekar A.A. Study of oxidative stress marker serum paraoxonase in metabolic syndrome.Turk Endocrinol Metab. 2016; 20:83-87.
- 86.** Senti M, Tomas M, Fito M, Weinbrenner T, Covas MI, Sala J, et al. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 2003; 88(11): 5422-6.

87. El-Lebedy D, Kafoury M, Abd-El Haleem D, et al. Paraoxonase1 gene Q192R and L55M polymorphisms and risk of cardiovascular disease in Egyptian patients with type 2 Diabetes Mellitus. J Diabetes Metab Disord. 2014; 13(1): 12.

88. Kordi- Tamandani DM, Hashemi M, Sharifi N. Association between paraoxonase1 gene polymorphisms and risk of metabolic syndrome. Mol Biol Rep. 2012; 39:937–943.



9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	NURDAGÜL ŞERİFE	Soyadı	NURANİ ÇULCU
Doğum Yeri	DİYARBAKIR	Doğum Tarihi	26.02.1982
Uyruğu	TC	Tel	0-536-4783001
E-posta	nurdagulnurani@mynet.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Tezli Yüksek Lisans		
Tezsiz Yüksek Lisans		
Lisans	DİCLE ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ BİYOLJİ	2005
Lise	ZİYA GÖKALP LİSESİ	1999

İş Deneyimi

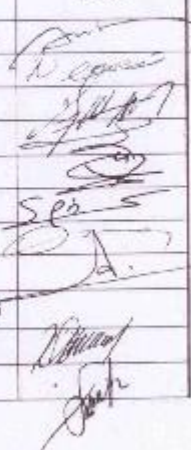
	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
	BİYOLOG	DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ METABOLİZMA LABORATUVARI	2008-2016
	BİYOLOG	DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ MERKEZ LABORATUVARI	2016-

Yabancı Dil Sınav Notu								
ÜDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
61,250								

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	66,45	66,26	61,11
(Diğer) Puanı			



10. EKLER

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ETİK KOMİTE					
DİCLE UNIVERSITY FACULTY OF MEDICINE ETHICS COMMITTEE					
20-08-09.11					
KARAR					
Prof.Dr.Birgöl İŞİK, Prof.Dr.Alparslan Kemal TUZCU, Biyolog Nurdagül Şerife NURANI, isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Metabolik Sendromlu Hastalarda Paraoksonaz Aktivitesi ve Gen Polimorfizmi" başlıklı araştırmaya <i>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komite'si</i> tarafından oy birliği ile onay verilmiştir. Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Komitemize verilmesi zorunludur.					
DECISION					
The project titled as "Paraoxonase Activity and Gene Polymorphism in Patients with Metabolic Syndrome" planned by Prof.Dr.Birgöl İŞİK, Prof.Dr.Alparslan Kemal TUZCU, Biyolog Nurdagül Şerife NURANI, has been approved by Dicle University Faculty Of Medicine Ethics Committee.					
Oturma No (Meeting number)		Tarih (Date): 03/03/2011		Saat (Hour): 14.00	
Kurul Başkanı (CHIEF)		Prof.Dr.Aydın ECE			
KURUL ÜYELERİ / MEMBERS					
	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Aydın ECE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Çocuk Sağlığı ve Hast.	
2	Prof.Dr.	Nuriye METE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyokimya	
3	Prof.Dr.	Şevval EREN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Göğüs Cerrahisi	
4	Prof.Dr.	Saim DAYAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Enfeksiyon Hast.	
5	Doc.Dr.	Ümit ÖZKAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Beyin Cerrahisi	
6	Doç.Dr.	Süleyman GÖREN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Adli Tıp	
7	Doç.Dr.	Osman GÖKALP	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Farmakoloji	
8	Yrd Doç.Dr.	Uğur FIRAT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Patoloji	
9	Yrd Doç.Dr.	Ahmet YARDIMEDEN	Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi	Mühendislik Fakültesi	
10	Avukat	Recep ÖTER		Avukat	
11	Yrd Doç.Dr.	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyoistatistik	

11. ORJİNALLİK RAPORU

METABOLİK SENDROMLU HASTALARDA PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ VE GEN POLİMORFİZMİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 23	% 20	% 18	% 15
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	biotek.ankara.edu.tr	%2
	İnternet Kaynağı	
2	www.bvs.sld.cu	%1
	İnternet Kaynağı	
3	www.istanbulsaglik.gov.tr	%1
	İnternet Kaynağı	
4	Submitted to Erciyes Üniversitesi	%1
	Öğrenci Ödevi	
5	www.geneltip.org	%1
	İnternet Kaynağı	
6	www.seedo.es	<%1
	İnternet Kaynağı	
7	endokrin.org.tr	<%1
	İnternet Kaynağı	
8	Submitted to Yeditepe University	<%1
	Öğrenci Ödevi	

