

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

OBEZ KADINLARDA PARAOKSONAZ 1 AKTİVİTESİNİN
LİPİD METABOLİZMASIYLA İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatih ÖZCAN

BOLU

2011

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

OBEZ KADINLARDA PARAOKSONAZ 1 AKTİVİTESİNİN
LİPİD METABOLİZMASIYLA İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatih ÖZCAN

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Güler BUĞDAYCI

BOLU

2011

TEŞEKKÜR

Araştırmamın konusunun belirlenmesi, yürütülmesi ve yazılmasında katkılarıyla başından beri yanımda olan, mesleki gelişimimde önemli yeri olan, değerli ve saygıdeğer hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Güler Buğdaycı' ya teşekkürlerim ve minnettarlığım sonsuzdur.

Uzmanlık eğitimim boyunca emeği geçen, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan hocam Doç. Dr. Erdiñ Serin' e,

Anlayışı ve hoşgörüsüyle desteklerinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Feride Büyükkutlu hocama,

Bölümümüze yeni başlamış olmasına rağmen yardım ve katkılarından dolayı Yrd. Doç.Dr. Mehmet Tosun hocama,

Tez çalışmam sırasında örneklerin toplanmasında ve bazı analizlerin yapılması sırasında bana yardımcı olan kan alma birimi hemşireleri ve tüm biyokimya laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Sadece asistanlık eğitimimde değil hemen her konuda beni yalnız bırakmayan hayatı her yönüyle fedakarca paylaşan sevgili eşim Esra ve canım kızım Belinay' a sevgilerimle.....

Dr. Fatih Özcan

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv-v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi-vii
ŞEKİLLER	viii
TABLolar	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Obezite	3
2.1.1. Obezitenin önemi	3
2.1.2. Obezitenin tanımı	4
2.1.3. Dünyada ve Türkiye’ de obezitenin prevalansı	4
2.1.4. Obezitenin sınıflandırılması	6
2.1.5. Enerji düzenlenmesinde peptidlerin rolü	6
2.1.6. Obezitenin komplikasyonları	12
2.1.7. C-Reaktif protein	13
2.2. Lipoproteinler ve metabolizmaları	14
2.2.1. Lipoproteinlerin tanımı ve sınıfları	14
2.2.2. Apolipoproteinler	15
2.2.3. Lipoproteinlerin metabolizması	16
2.2.4. Ateroskleroz patogenezi	20
2.3. Paraoksonaz 1 (PON1)	25
2.3.1. Yapısı ve özellikleri	26
2.3.2. Sentez ve salgılanması	30
2.3.3. PON1 polimorfizmi	31
2.3.4. PON1 fonksiyonu ve katalizlediği reaksiyonlar	33
2.3.5. Kardiyovasküler hastalıklar ve PON1	35
2.3.6. PON1 ve diğer hastalıklar	37

3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Etik Kurul onayı	39
3.2. Örnek toplanması ve dışlama kriterleri	39
3.3. Obezite tayininde antropometrik ölçümler	39
3.4. Serum örneği alım prosedürü	40
3.5. Kullanılan cihazlar ve kalite kontrolü	40
3.6. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü	40
3.6.1. PON1 aktivite ölçümü	41
3.6.2. Arilesteraz aktivite ölçümü	41
3.6.3. High sensitif C-Reaktif protein (hsCRP) ölçümü	42
3.6.4. Glukoz ölçümü	43
3.6.5. Trigliserit ölçümü	43
3.6.6. HDL kolesterol (HDL-K) ölçümü	43
3.6.7. Total kolesterol ölçümü	44
3.6.8. Apolipoprotein A-I (Apo A-I) ölçümü	44
3.6.9. Apolipoprotein B (Apo B) ölçümü	45
3.6.10. Kreatinin ölçümü	45
3.6.11. Direkt LDL kolesterol (D-LDL-K) ölçümü	46
3.6.12. İnsülin ölçümü	46
3.6.13. Alanin Aminotransferaz (ALT) ölçümü	47
3.7. Serum örneklerinde hesaplanan biyokimyasal parametreler	47
3.7.1 HOMA-IR (Homeostaz model insülin rezistans) indeksi	47
3.7.2. MDRD (Böbrek Hastalığında Diyetin Modifikasyonu) formülü	47
3.8. İstatistiksel analiz	48
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA	54
7. KAYNAKLAR	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

€	Molar Absorbsiyon Katsayısı
Å	Angstrom
α	Alfa
β	Beta
°C	Santigrad Derece
μL	Mikrolitre
dL	Desilitre
mg	Miligram
ABCA	ATP-Bağlayıcı Kaset Aktarıcı Protein
AgRP	Aguti İlişkili Protein
AHA	American Heart Association, Amerikan Kalp Birliği
Apo A-I	Apolipoprotein A-I
ARE	Aristesteraz
ATP III	Adult Treatment Panel III, Yetişkin Tedavi Paneli III
BKO	Bel Kalça Oranı
CDC	Centers for Disease Control, Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi
CV	Değişkenlik Katsayısı
DM	Diabetes Mellitus
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
eGFR	Hesaplanan Glomerüler Filtrasyon Hızı
ET-1	Endotelin-1
HOMA-IR	Homeostasis Model of Assessment-İnsulin Resistance, Homeostaz Model İnsülin rezistans
hsCRP	Yüksek Sensitif C-Reaktif Protein
IRS	İnsülin Reseptör Substrat
IL-6	İnterlökin 6
KETP	Kolesterol Ester Transfer Protein
LPL	Lipoprotein Lipaz
MC-3R	Melanakortin Reseptörü

MAPK	Mitojenle Aktive Olmuş Protein Kinaz
MDRD	Böbrek Hastalığında Diyetin Modifikasyonu
MONICA	Monitoring Trends And Determinants in Cardiovascular Diseases, Kardiyovasküler Hastalıkları Belirleme ve İzleme
NHANES	The National Health and Nutrition Examination Surveys, Ulusal Beslenme ve Sağlık Araştırması
NEFAs	Non-esterifiye Yağ Asitleri
NHLBI	National Heart, Lung and Blood Institute, Ulusal Kalp, Akciğer ve Kan Enstitüsü
NPY	Nöropeptid Y
OxLDL	Okside LDL
PAF-AH	Platelet Aktive Edici Faktör Asetilhidrolaz
PAI	Plazminojen Aktivatör İnhibitörü
PLC	Fosfolipaz C
PON1	Paraoksonaz 1
SR-A	Toplayıcı Reseptör Sınıf-A
TEKHARF	Türkiye’de Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri
TG	Trigliserit
TNF	Tümör Nekroz Faktör
TOHTA	Türkiye Obezite ve Hipertansiyon Araştırması
TURDEP	Türkiye Diyabet, Obezite ve Hipertansiyon Epidemiyolojisi
VKİ	Vücut Kitle İndeksi

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
Şekil 2.1.	Ghrelin ve leptinin açlık-tokluk ilişkisi-Konturek ve ark. (25)' ndan alınmıştır.	7
Şekil 2.2.	Obeziteyle ilişkili insülin direnci ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki bağlantılar-Frühbeck G. (28)' ndan alınmıştır.	11
Şekil 2.3.	Ters kolesterol taşınım yolu -Rifai ve ark. (44)'ndan alınmıştır.	20
Şekil 2.4.	LDL' nin oksidasyonu -Doi ve ark. (46)' ndan alınmıştır.	23
Şekil 2.5.	PON1' in yapısı-Balcı ve ark. (64)' ndan alınmıştır.	27
Şekil 2.6.	PON1 proteininin üç boyutlu yapısı-Josse ve ark. (65)' ndan alınmıştır.	29
Şekil 2.7.	Hücrelerden PON1' in HDL aracılığıyla salınımı hipotezi-James RW ve ark. (72)' ndan alınmıştır.	30
Şekil 2.8.	PON1' in HDL-K' e bağlanması. H1-H2 helikslerinin HDL-K ile etkileşimi-Harel ve ark. (73)' ndan alınmıştır.	31
Şekil 2.9.	Paraoksonun enzimatik hidrolizi-Dragonov ve ark . (8)' ndan alınmıştır.	33
Şekil 2.10.	İnsektisitlerde yaygın olarak kullanılan okson metabolitlerinin Hidrolizi-Dragonov ve ark. (8)' ndan alınmıştır	34
Şekil 2.11.	Lakton hidrolizi-Billecke ve ark. (78)' ndan alınmıştır.	35

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1. Obezite ve fazla kilolu sınıflaması, NHLBI (National Heart, Lung and Blood Institute, Ulusal Kalp, Akciğer ve Kan Enstitüsü) kılavuzu- Bray ve ark. (19)' ndan alınmıştır.	6
Tablo 3.1. Paraoksonaz 1 çalışma yöntemi.	41
Tablo 3.2. Arilesteraz çalışma yöntemi.	42
Tablo 4.1. Çalışma gruplarının nonparametrik olan testlerinin ortanca ve standart hata olarak verilen sonuçları.	50
Tablo 4.2. Çalışma gruplarının parametrik olan testlerini ortalama ve SD olarak verilen sonuçları.	51
Tablo 4.3. Tüm gruplarda, total kolesterol, TG, HDL-K, Apo A-I, Apo B, hsCRP, PON1, Arilesteraz ve D-LDL-K pearson korelasyonu.	52
Tablo 4.4. VKİ ile diğer testlerin çoklu doğrusal regresyon analizi.	53

ÖZET

Fatih Özcan, Obez Kadınlarda Paraoksonaz 1 Aktivitesinin Lipid Metabolizması ile İlişkisi. Tıpta Uzmanlık Tezi, Tıbbi Biyokimya Bölümü, Tıp Fakültesi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu, 2011. Obezite, Tip 2 Diabetes Mellitus, kardiyovasküler hastalık ve kanser riskini artıran, dünya genelinde önemi giderek artan ciddi bir hastalıktır. Bu çalışmanın amacı serum lipidleri, Apolipoprotein A-I (Apo A-I), Apolipoprotein B (Apo B), Paraoksanaz 1 (PON1) aktivitesinin kadınlarda obeziteye etkilerini saptamaktır. Çalışmaya, toplam 90 kadından oluşan, yaşları 18 ile 48 arası değişen, 30 abdominal obez (Grup I), 30 jinoide obez (Grup II), 30 sağlıklı kontrol (Grup III) grubu olmak üzere üç grup dahil edildi. Hasta ve kontrol gruplarında: serum PON1 aktivitesinin yanı sıra glukoz, total kolesterol, trigliserit (TG), HDL-kolesterol (HDL-K), Apo A-I, Apo B, direkt LDL-kolesterol (D-LDL-K), high sensitif C-Reaktif Protein (hsCRP), insülin ve plazma glukoz düzeylerinin ölçümü yapıldı. Trigliserit, HDL-K, Apo B, D-LDL-K, hsCRP, HOMA-IR düzeylerinde, Grup I ve II arasında istatistiksel anlamı fark saptanırken (sırasıyla, $p=0.001$, $p=0.000$, $p=0.016$, $p=0.001$, $p=0.000$, $p=0.000$); HDL-K, D-LDL-K, hsCRP, HOMA-IR düzeylerinde, Grup I ve III arasında istatistiksel fark saptandı (sırasıyla, $p=0.023$, $p=0.023$, $p=0.000$, $p=0.001$). Total kolesterol ile TG ($p=0.000$), Apo A-I ($P=0.001$), Apo B ($P=0.000$), D-LDL-K ($p=0.000$); TG ile Apo B ($P=0.000$), HOMA-IR ($p=0.001$), D-LDL-K ($p=0.000$), VKİ ($P=0.001$); HDL-K ile Apo A-I ($P=0.000$); Apo B ile D-LDL-K ($p=0.000$), VKİ ($P=0.007$); HOMA-IR ile VKİ (0.000); D-LDL-K ile VKİ (0.000), hsCRP ($P=0.013$); VKİ ile hsCRP ($P=0.000$) arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı. Trigliserit ile HDL-K ($p=0.007$) ve HDL-K ile VKİ ($P=0.000$), hsCRP ($p=0.025$) arasında anlamlı negatif korelasyon saptandı. Sonuç olarak, TG, Apo B, HDL-K, D-LDL-K parametrelerinde abdominal obezitede belirgin olmak üzere fark saptanırken; PON1 düzeylerinde gruplar arası fark olmadığı ortaya konuldu. PON1 aktivitesinin gruplar arasında benzer olması; genetik, demografik ve metabolik olmak üzere çok farklı değişkenlerden etkilenmesine bağlı olabilir.

Anahtar sözcükler: *Arilesteraz; Lipid Metabolizması; Obezite; Paraoksanaz 1, Kadın.*

ABSTRACT

Fatih Özcan, In Obese Women The Relationship of PON1 Activity With Lipid Metabolism. Thesis of Graduation, Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Abant İzzet Baysal University, Bolu, 2011. Obesity is a serious disease with increasing importance all around the world; it increases the risk for Type 2 Diabetes Mellitus, cardiovascular diseases and cancer. The aim of this study was to identify the effects of serum lipids, Apolipoprotein A-I (Apo A-I), Apolipoprotein B (Apo B) and Paraoxanase 1 (PON1) activity on obesity in women. The study was conducted on 90 subjects categorized in three groups, there were 30 women in each group with an age range of 18-48 years. Group I had 30 abdominal obese patients, Group II had 30 gynoid obesities and Group III included 30 healthy control subjects. For the patient and control groups, the following measurements were performed: serum PON1 activity, total cholesterol, triglyceride (TG), HDL cholesterol (HDL-C), Apo A-I, Apo B, direct LDL cholesterol (D-LDL-C), high sensitive C-reactive protein (hsCRP), insulin and plasma glucose levels. There was a statistically significant difference between the triglyceride, HDL-C, Apo B, D-LDL-C, hsCRP, HOMA-IR levels of Group I and II ($p=0.001$, $p=0.000$, $p=0.016$, $p=0.001$, $p=0.000$, $p=0.000$, respectively). For HDL-C, D-LDL-C, hsCRP, HOMA-IR levels, there were statistically significant differences between Group I and III ($p=0.023$, $p=0.023$, $p=0.000$, $p=0.001$, respectively). There was significant positive correlation between total cholesterol and TG ($p=0.000$), Apo A-I ($p=0.001$), Apo B ($p=0.000$), D-LDL-C ($p=0.000$); between TG and Apo B ($p=0.000$), HOMA-IR ($p=0.001$), D-LDL-C ($p=0.000$), BMI ($p=0.001$); between HDL-C and Apo A-I ($p=0.000$); between Apo B and D-LDL-C ($p=0.000$), BMI ($p=0.007$); between HOMA-IR and BMI ($p=0.000$); between D-LDL-C and BMI ($p=0.000$), hsCRP ($p=0.013$); finally between BMI and hsCRP ($p=0.000$). There was a significant negative correlation between triglyceride and HDL-C ($p=0.007$) and between HDL-C and BMI ($p=0.000$), hsCRP ($p=0.025$). TG, Apo B, HDL-C, D-LDL-C parameters differed significantly in abdominal obesity, whereas there was no difference among the groups for PON1 activity. Having similar PON1 activity among the groups might be related to several factors like genetic, demographic and metabolic.

Key words: *Arylesterase; Lipid Metabolism; Obesity; Paraoxanase 1; Women.*

1.GİRİŞ

Dünyada obezitenin artan prevalansı, hem bireylerin sağlığı hem de ulusal sağlık koruma sistemleri için büyük endişeye neden olmaktadır (1). Obezite epidemisinin altında yatan nedenler, büyük ölçüde insan uygarlığının ilerlemesinin ürünüdür. Bu durum kentleşmenin ve hareketsiz bir yaşam tarzına teşvik eden teknolojik ilerlemenin artmasıyla oluşmuştur. Ucuz yemeğe ulaşımın kolay olması, fiziksel aktiviteye talebin azalması, bireylerin kilosunun progresif artışını kapsamaktadır. Bu yaşam değişikliği kamu sağlığı ve sağlık politikalarını etkilemiştir (2).

Obezitenin ateroskleroz, arteriyel hipertansiyon (HT), proteinüri ile birlikte olan glomerülopatiler, diabetes mellitus (DM), osteoartrit gibi çeşitli kronik hastalıklara yatkınlık oluşturduğu saptanmıştır. Son yıllarda obezite ile kolon kanseri ve özellikle postmenapozal meme, endokrin, renal cell ve özefagus adeno kanser ile ilişkisi ortaya konmuştur (3). Obezite, dünya çapında epidemik boyutlara varan Tip 2 DM (T2DM) prevalansındaki artışın en büyük suçlusı sayılmaktadır (4).

Obez olgularda, lipit ve lipoprotein metabolizmasında değişiklikler gösterilmiştir (5). Lipoprotein düzeyleri ve bileşenlerindeki değişikliklerin, obeziteye eşlik eden kardiyovasküler hastalık (KVH) risk oluşturmasıyla ilgili olduğu düşünülmektedir. Obez olgularda artmış oksidatif stres vardır. Sağlıklı olgularla obez olgular karşılaştırıldığında düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolün (LDL-K) lipit peroksidasyonuna uğradığı ortaya konmuştur. Oksidatif hasarın artışı antioksidan savunmanın azalmasıyla ilişkilendirilebilir. İnsülin direncine bağlı gelişen metabolik değişikliklerden kaynaklanan oksidatif stresin obezitenin komplikasyonunu oluşturmasına katkıda bulunduğunu düşündüren güçlü deliller vardır. Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K) ile ilişkili antioksidan bir enzim olan PON1 aktivitesindeki azalmanın; dislipidemi, diabetes mellitus, ilerlemiş yaş ve artmış oksidatif stresle ilişkisi gösterilmiştir (6).

Paraoksonaz 1 (PON1) enzimi glikoprotein yapısında olup karaciğer tarafından sentez edilen, aromatik karboksilik asit esterlerini hidroliz eden ve HDL-K' e sıkıca bağlı olan esterazlardır. PON1 aterosklerozun önlenmesinde ve organofosfat detoksifikasyonunda önemli rolü olan bir enzimdir (7). Yapılan çalışmalarda HDL' nin yapısında bulunan ve antioksidan bir enzim olan PON1' in lipit peroksitlerini hidrolize ederek, LDL-K' ün oksidasyonuna karşı koruduğu

gösterilmiştir (8). PON1, LDL oksidasyonunu inhibe ederek makrofajlardan kolesterol akışını uyarır. PON1, HDL-K' nin Apolipoprotein A-I (Apo A-I) ve Apolipoprotein J (Apo J) proteinleriyle ilişkilidir (9).

Arter duvarında LDL' nin oksidasyonu aterosklerozun gelişiminde önemli bir basamak olup, PON1 bu okside LDL (OxLDL)' deki aktif lipidleri yıkarak arter hücre duvarındaki inflamatuvar cevabı önlemektedir (2). Bu çalışmada obez kadınlarda PON1, lipid profili, apoproteinlerin düzeyleri ölçülerek aralarındaki ilişkinin saptanması, literatüre katkıda bulunulması ve obezitede oluşan aterosklerotik damar hastalığının etki mekanizmasının aydınlatılmasına yarar sağlanması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite

2.1.1. Obezitenin önemi

Obezite yüzyıllar boyunca çeşitli şekillerde tanımlanmıştır. Bu kimi zaman kuvvetli, heybetli, kudretli, hükümrân gibi terimlerle adlandırılırken; kimi zamanda bolluk, bereket, doğurganlık ile beraber anılmışlardır. Obezite, tarihte gücün ve yaşamın devamlılığının simgesi olmuştur. Ancak sanayi devrimi ile beraber obezite kişilerin sosyal toplumdaki konumlarının değişmesine neden olmuştur. Günün süratli çalışma temposunda bu devrinime adaptasyon gösterecek fiziksel nitelikteki kişilerin aranması, kilolu kişileri hantal, sorunlu, yavaş ve sağlıksız terimleriyle beraber anılmalarına neden olmuştur (10).

Son yıllarda görülen obezite insidansındaki yükseliş, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından epidemik bir sorun olarak belirlenmesine neden olmuştur (11, 12). Tüm sağlık giderlerinin % 5-11'inin obeziteye harcandığı tahmin edilmektedir (13).

Obezite, yağ doku depolarında artış ile karakterize, enerji alımı ve enerji harcanması arasındaki kronik bir dengesizliktir. Obezite, fiziksel aktivitenin azalması, yaşam tarzının değişmesi, lezzetli ve enerjiden yoğun gıdaların artışı nedeniyle giderek yaygınlaşmaktadır (14).

Obezite günümüzde kişiye yüklediği diğer hastalıklar ve toplumsal sorunlar nedeniyle kronik, yıpratıcı, ilerleyici, mortalitesi ve morbiditesi yüksek bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Obezite etiolojisinde genetik ve çevresel etmenlerin üzerinde durulmaktadır. Hayvan deneyleri ve insanlar üzerinde yapılan klinik çalışmalar sonucu genetik mekanizmaların; yemek yemeyi, enerji tüketiminde değişiklikleri ve yağ dağılımının kontrolünü düzenlediği belirtilmektedir. Yağ dağılımında genlerin de rol oynadığını gösteren çalışmalar vardır. Obeziteden, normal sınırlar içindeki kiloya kalıtımın daha etkili olduğu tahmin edilmektedir. Bir bütün olarak değerlendirildiği zaman genlerin obezitenin etiolojisinin % 25- 40'ını oluşturduğu anlaşılmaktadır (15).

Obezite gelişiminde çevresel etmenlerin rolü yadsınamaz. Çoğunlukla enerji dengesinde bir değişiklik olmadan obezite ortaya çıkmamaktadır. Kişi aşırı yemeli veya enerjiyi harcayacak kadar aktif olmamalıdır. Bazı obez bireyler aşırı miktarda yemek yemekte, bunun nedenlerini; diyet bilgisinde eksiklik, genetik ve psikolojik nedenler oluşturmaktadır. Gerekenden fazla enerji alımına iki farklı örnek olarak;

ABD’ de porsiyonun büyük olması ve Japonya’ da ise toplam alınan enerji sabit olmasına rağmen yağ alımının yüksek olması nedeniyle obezite giderek artmaktadır (16).

2.1.2. Obezitenin tanımı

Obezite kısaca, vücutta aşırı miktarda yağ birikmesi olarak tanımlanmaktadır. Vücut ağırlığının % 10’u kemik ve kaslardan oluşur. Geri kalan kısmın % 75’ i yağ ve % 25’ i bağ ve destek dokularından oluşur. İdeal ağırlığın % 101-120’si kilolu, % 120’ den fazlası ise obez olarak tanımlanır. Yağ oranı açısından değerlendirildiğinde, erkeklerde vücut yağ oranının % 25, kadınlarda ise % 35’ den fazla olması obezite olarak kabul edilir (17). Çocuklarda ise ağırlığın boy uzunluğuna göre düzenlendiği tablolarda ağırlığın 95. persentilin üstünde bulunması şişmanlık olarak kabul edilir.

Obezitenin insan sağlığı açısından önemi tıp literatüründe 1940’ lı yılların sonlarında Jean Vaque’ nün yayınları ile gösterilmiştir. Vücut yağ dağılımını belirlemede çeşitli antropometrik ölçümler kullanılmıştır. Obezitenin derecesinin sınıflandırılmasında Vaque’ nin önerisi brakio-femoral bölge çevrelerinin ölçümü ile ortaya çıkarılan indeks olmuştur. Bu indeks daha sonraları bel/kalça oranı (BKO) ölçümüne dönüşmüştür (18).

İnsan vücut bileşimini belirlemede kullanılan antropometrik ölçümler iki ayrı özelliği gösterebilir;

a) Vücut yağ miktarını gösterenler: Vücut ağırlığı, ideal vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi (VKİ), deri kıvrım kalınlıkları ölçümleridir.

b) Vücut yağ toplanma özelliğini gösterenler: Bel çevresi, kalça çevresi, sağtal bel yüksekliği, femur çevresi, üst kol çevresi, boyun çevresi, BKO, bel/boy oranı ölçümleridir.

Son yıllarda farklı antropometrik ölçümler denenerek en basit ve güvenilir yöntem, bel ölçümleri ve BKO olarak kabul edilmektedir (19).

2.1.3. Dünyada ve Türkiye’ de obezitenin prevelansı

Obezite insidansı her toplumun kendi niteliklerine göre değişim göstermektedir. Gelişmiş ülkelerin orta ve az gelirli kesimlerinde, gelişmekte olan ülkelerin ise orta ve yüksek gelir düzeyli kısımlarında daha çok görülür. Toplumun yeme alışkanlıkları, genetik faktörler, yaşadıkları ortam, çalışma koşulları insidansa etkili faktörlerdir. Obezite kadın ve erkekte 20 yaşlarında 60 yaşına doğru giderek artış gösterir. Özellikle 50 yaşından sonra fiziksel aktivitenin azalmasına bağlı bu

artış belirginleşir. Obezite gelişmekte olan ülkelerde 20-30 yaşları arasında, gelişmiş ülkelerde 50-60 yaşları arasında sık görülür. Irklar arasındaki obezite prevalansı toplumun gelişmişlik düzeylerine göre değişiklik gösterir. Düşük sosyo-ekonomik düzeydeki kişilerde obezite prevalansı yüksektir. Toplumun yemek yeme alışkanlıkları, iklim ve çevre koşulları obezite prevalansına etki eder. Günlük gıda alımındaki yağlı besin oranı obezitenin derecesini belirler (10).

Obezitenin yaşla birlikte artması ve gelişmiş ülkelerde bu sorunun belirgin olarak fazlaşması dikkat çekicidir. Dünyada 400 milyonun üzerinde obez, 1.6 milyar fazla kilolu birey bulunmaktadır. 2015 yılında bu oranın sırasıyla 700 milyon ve 2.3 milyara ulaşacağı öngörülmektedir (3). DSÖ tarafından Asya, Afrika ve Avrupa' nın 6 ayrı bölgesinde yapılan ve 12 yıl süren MONICA (Monitoring Trends And Determinants in Cardiovascular Diseases, Kardiyovasküler Hastalıkları Belirleme ve İzleme Eğilimleri) çalışmasında obezite prevalansında 10 yılda % 10-30 arasında bir artış saptandığı bildirilmiştir. Obezitenin en sık görüldüğü ABD' de Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi (CDC, Centers for Disease Control) tarafından yürütülen NHANES (Ulusal Beslenme ve Sağlık Araştırması, The National Health and Nutrition Examination Surveys) çalışmasına göre, 2005-2006 yıllarında obezite prevalansının erkeklerde % 33.3, kadınlarda % 35.3 olarak tespit edildiği açıklanmıştır (20).

Ülkemizde yetişkinlerde obezite prevalansını geniş çapta araştıran dört büyük çalışma tamamlanmıştır. Türkiye'de Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri çalışması (TEKHARF, 1990, 1997-98, 2000, 2007), Türkiye Obezite ve Hipertansiyon Araştırması (TOHTA, 1999-2000) ve Türkiye Diyabet, Obezite, Hipertansiyon Epidemiyolojisi (TURDEP, 1999, 2002) ve Türkiye Obezite Profili (TOAD, 2000-2005) çalışmasıdır (21). Bu çalışmalarda ülkemizde obezite ve abdominal obezite prevalansında özellikle kadınlarda genel bir artış görülmektedir. 2008 yılında ülkemizde yapılan TEKHAUF takip çalışması dahilinde ; 2110 erkek (1374' sı kentsel, 736' sı kırsal alandan), 2154 kadın (1426' sı kentsel 728' i kırsal alandan) yaş ortalaması 40.9 ± 14.9 olan yaş aralığı 20-90 arasındaki çalışmada obezite prevalansı % 30.4 (% 20.6 oranında erkek, % 39.9 oranında kadın) bulunmuştur (22).

2.1.4. Obezitenin sınıflandırılması

İnsan vücudundaki yağ dokusu, cilt altında ve karın içinde (intraabdominal organların etrafında, omentum ve mezenkimal dokularda ve retroperitoneal bölgelerde) yer alır. Cilt altı dışındaki yağ dokularına “ *viseral yağ dokusu*” denir. Obezite visceral yağ dokusunun vücuttaki dağılımına göre android (santral, abdominal, elma tipi) ve jinoid (periferik, gluteo-femoral, armut tipi) olmak üzere iki tipe ayrılır. Bel ölçümünün erkeklerde 102 cm, kadınlarda 88 cm’ den fazla olması android obeziteyi yansıtır. BKO’ nın kadınlarda 0,85 ve erkeklerde 0,95’den büyük olması da benzer şekilde android obezite kriteridir (17).

Literatürde, android obezite sınıfındakilerin, visceral yağ dokusu artışının belirgin olduğu bildirilmektedir. Android obezite, metabolik sendrom olarak adlandırılan insülin direnci, hiperinsülinemi, HT, DM, trigliserit yüksekliği ve HDL-K düşüklüğü gibi metabolik risk faktörlerindeki artış ile birlikte dir.

Tablo 2.1. Obezite ve fazla kilolu sınıflaması, NHLBI (National Heart, Lung and Blood Institute, Ulusal Kalp, Akciğer ve Kan Enstitüsü) kılavuzu-Bray ve ark. (19)’ ndan alınmıştır.

			Kilo ve bel çevresine göre hastalık¹ riski	
			ERKEK < 102 cm	ERKEK > 102 cm
			KADIN < 88 cm	KADIN > 88 cm
	VKİ (kg/m²)	Obezite Sınıfı		
Zayıf	< 18.5		–	–
Normal ²	18.5-24.9		–	–
Fazla Kilolu	25-29.9		yüksek	Yüksek
Obez	30-34.9	I	yüksek	çok yüksek
	35-39.9	II	çok yüksek	çok yüksek
Aşırı Obez	> 40	III	aşırı yüksek	aşırı yüksek

1 T2DM, HT ve KVVH için risk.

2 Artan bel çevresi normal ağırlıklı bireyler içinde bir riskin işareti olabilir.

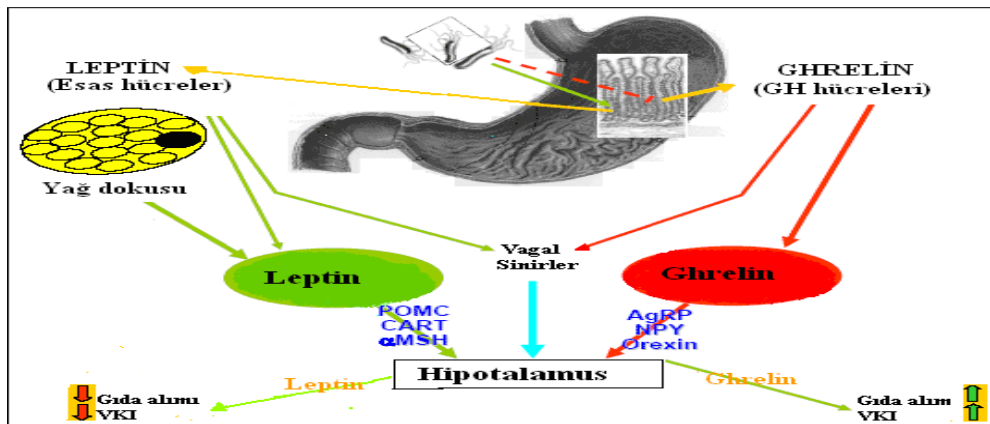
2.1.5. Enerji düzenlenmesinde peptidlerin rolü

Gıda alımı ve enerji dengesinin düzenlenmesi santral sinir sisteminin; korteks, beyin sapı, limbik sistem ve amigdalayı içeren bölümleriyle ilişkilidir (23). Hipotalamus gıda alımının kontrolünde nöral ve humoral sinyalleri düzenler. Hipotalamik nükleuslar; paraventriküler nükleus, ventral nükleus, dorsal nükleus ve

lateral hipotalamustur. Bu paraventriküler nükleus yaygın olarak arkuat nükleus ve lateral hipotalamus tarafından innerve edilmektedir (24).

Enerji dengesi çeşitli mekanizmalarla kontrol edilir. Son yıllarda iştahın kontrol edilmesinde görev alan çok sayıda haberci protein ve reseptör olduğu gösterilmiştir. Bunlar arasında yer alan leptin, ghrelin, nöropeptid Y (NPY), melanokortin reseptörleri (MC-3R ve MC-4R), aguti ilişkili protein (AgRP) üzerinde yapılan araştırmalar, bu proteinlerin sentezindeki genetik farklılıkların obezite gelişmesinde rol oynadığını düşündürmektedir. Beyinde arkuat nükleusta sentezlenen AgRP, NPY, kokain ve amfetaminin düzenlediği transkript (CART) adlı nöropeptidler, alfa melanosit uyarıcı hormon (α -MSH) ile birlikte iştah kontrolünde görev alır (Şekil 2.1.).

Yağ dokusu tarafından sentezlenen küçük bir protein olan leptin, çok çeşitli metabolik etkiler gösterebilen bir hormondur. Dolaşımında leptin düzeylerinin artması, iştahın azalmasına yol açar. Hipotalamusta reseptörüyle birleşen leptin, iştah açıcı ve anabolik etkili olan AgRP ve nöropeptid Y' i inhibe eder, bunun yanında anorektik ve katabolik etkili α -MSH sentezini trozin fosforilasyonu transkripsiyon aktivatör protein tip 3 (STAT 3) aracılığıyla uyarır. Yeme isteğinin hipotalamo-hipofizer kontrol mekanizmasında önemli bir reseptör olan melanokortin 4' ün (MC-4R) aktifleşmesi, iştah baskılayıcı yönde etki yapar. Bu reseptörde genetik mutasyonların varlığı gösterilmiştir. Obezitede artan yağ dokusu nedeniyle dolaşımdaki leptin konsantrasyonunun artması beklenmekle beraber, iştahın baskılanmaması önemli bir çelişkidir. Yapılan araştırmalar, beyinde leptin reseptörlerinin uyarılmadığını ve leptine karşı direnç geliştiğini göstermiştir (24, 25).



Şekil 2.1. Ghrelin ve leptinin açlık-tokluk ilişkisi-Konturek ve ark. (25)' ndan alınmıştır.

Enerji dengesinin düzenlenmesinde, gıda alımı, kısa dönem ve uzun dönem sinyaller olarak sınıflanabilen periferik sinyallerle de kontrol edilebilir. Tüm nöral ve humoral kısa dönem sinyalleri tek bir öğünün büyüklüğünü etkiler ve öğünü hem başlatır hem bitirmektedir. Pankreas, karaciğer, gastrointestinal kanal tarafından oluşturulan sinyaller hem afferent sinirsel hemde santral sinir sistemine ulaşan hormonlarca düzenlenmektedir (26). Enerji dengesi ve gıda alımı kontründeki hormonal sinyaller oreksijenik [Ghrelin, NPY, Melanin-concentrating hormon (MCH), Orexin A ve B (Hypocretin 1 ve 2), Galanin, Melanokortin antagonistleri] ve anoreksijenik peptitler (leptin, insülin, kortikotropin relasing faktör, melanokortin, brain-derived nörotropik faktör, prolaktin-releasing faktör, glukagon –like peptid-1, oxyntomodulin) olarak iki grupta incelenmektedir (27).

Yağ dokudan uzun süre gelen sinyaller beyine enerji depolarının durumu hakkında bilgi vermektedir. Bu bilgiler, santral sinir sisteminin enerjiyi geri uyarlaması için gereken yanıtların düzenlenmesini sağlamaktadır (26). Bu hormonal sinyaller leptin ve insülini içermekte olup dolaşımdaki seviyeleri yağ dokusuyla orantılıdır. Leptin, gıda alımındaki azalma, enerji tüketiminde artış ve vücut ağırlığının kaybını sağlamaktadır (28). Kan glukozundaki artışa yanıt olarak pankreatik β -hücrelerinden sekrete edilen insülin, santral sinir sistemine giderek gıda alımını azaltan şekilde etkiler ve vücut kilosunun düzenlenmesine katılır. Leptin ve insülinin anorektik etkileri, oreksijenik peptidlerin santral sinir sistemideki uyarılarının kontrolünde kısmi aracıdır. Bu kısa ve uzun dönem sinyaller, beynin nöropeptid dolaşımını düzenler böylece gıda alımı ve enerji metabolizmasını ayarlar. Yağ dokusu glukoz homeostazisinin sürdürülmesinde gereklidir. Yağ dokusu artışı insülin direnci yapmaktadır. Bu nedenle, yeterli vücut yağ düzeyi ve fonksiyonu, normal kan glukoz konsantrasyonu sağlamada temeldir (29).

Yağ dokuda sentezlenen ve dokudan salınan giderek artan sayıda faktörlerin olduğu bulunmuştur. Bu sekrete edilen faktörlere “*adipokin/ adipositokinler*” denildi. Yağ dokusu bir çok organla beraber çalışan multifonksiyonel bir dokudur. Bu alandaki çalışmalar, yağ dokusunun, besinleri parçalayan enerji ağıyla ve vücut ağırlığının düzenlenmesiyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Yağ dokusu artışıyla beraber adipokin salınımındaki artış, proinflatuvar faktörlerin ekspresyonunu getirmektedir. Proinflatuvar adipokin sekresyonundaki artış ise hipertrofik, düzensiz ve çok büyük hücrelerin oluşmasına neden olur (30).

Adipozitelere ek olarak yağ dokusunda, stromal hücreler, preadipozitler ve makrofajlar gibi diğer hücrelerde bulunmaktadır. Bu hücreler adipositokin ve proinflamatuvar adipokin sekresyonuna katkıda bulunmaktadır (31). Proinflamatuvar T lenfositler visceral yağ dokuda bulunmakta olup, makrofajlar belirmeden önce lokal inflamatuvar hücre aktivasyonuna neden olabilmektedirler. Bu hücrelerin, yağ doku inflamasyonunun başlaması ve sürdürülmesi ile insülin direncinin gelişmesinde rolü olduğu düşünülmektedir.

Değişik tiplere/ ailelere ait moleküllerin sekrete ettiği ürünler, bir çok olayı oluşturabilir. Adipoz dokudan salınan bu ürünlerin tüm fizyolojik fonksiyonları açığa çıkarılmayı beklemektedir.

Salınan bu ürünlerin biyolojik fonksiyonları tartışıldığı zaman, lokal parakrin aktiviteleri ve sistemik rolü ayrımı yapılmalıdır. Yağ hücresi ürünlerinin az bir miktarı kan dolaşımına katılmakta olup, ölçümleri yapılabilmektedir. Kilo alımı veya obeziteyle, bu faktörlerde artış görülmesinin yanısıra istisna olarak çok az adipokin yağ kütlesi artışıyla azalır (32).

Obezitede artan biyobelirteçler; Leptin, Plazminojen Aktivatör İnhibitör (PAI-1), Anjiotensin II, İnterlökin-6 (IL-6), İnterlökin-8 (IL-8), İnterlökin-18 (IL-18), Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör (MIF), Tümör Nekroz Faktör (TNF) ve TNF- α 'dır. Obezitede azalanlarsa; Ghrelin, Adiponektin, Omentin ve İnterlökin-10'dur (28). Bu faktörlerin etki mekanizmaları iki olasılıkla açıklanmaya çalışılmaktadır. Birincisi sekrete edilen faktörlerin çoğu sadece lokal olarak etkili olmasının yanısıra çevreleyen tüm hücreleri ve uzak organları da etkileyebilmektedir. İkinci bir olasılık da, bazı faktörlerin primer lokal etkiye sahip olabildiği ancak lokal seviyelerinden sonraki değişikliklerin, diğer organlarda sekonder metabolik etkiden sorumlu olabildiği olasılığıdır (26).

Santral sinir sisteminin açlık ve tokluk kontrolü ile adipoz dokunun periferik fonksiyonu arasındaki ilişkiyi açıklamada önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Ortak görüş, enerji dengesinin veya vücut kilosunun merkezi düzenlenmesinin, periferik organlara girişe bağlı olduğudur. Geçmişte dolaşımdaki konsantrasyonlarının yağ doku kitlesiyle orantılı olduğu görüşü vardı. Şimdi ise insülin ve leptinin, periferden kaynaklanan enerji alımı ve kaybı arasındaki karşılaştırmadaki kritik fonksiyonları uygulayan en iyi karakterize sinyaller olduğu kabul edilmektedir. Bununla beraber

akılda tutulmalıdır ki gıda alımı ve enerji kaybı; merkezi, periferik, nöral, humoral ve nörokimyasal sinyallerle belirlenmiş karışık bir süreçtir (33).

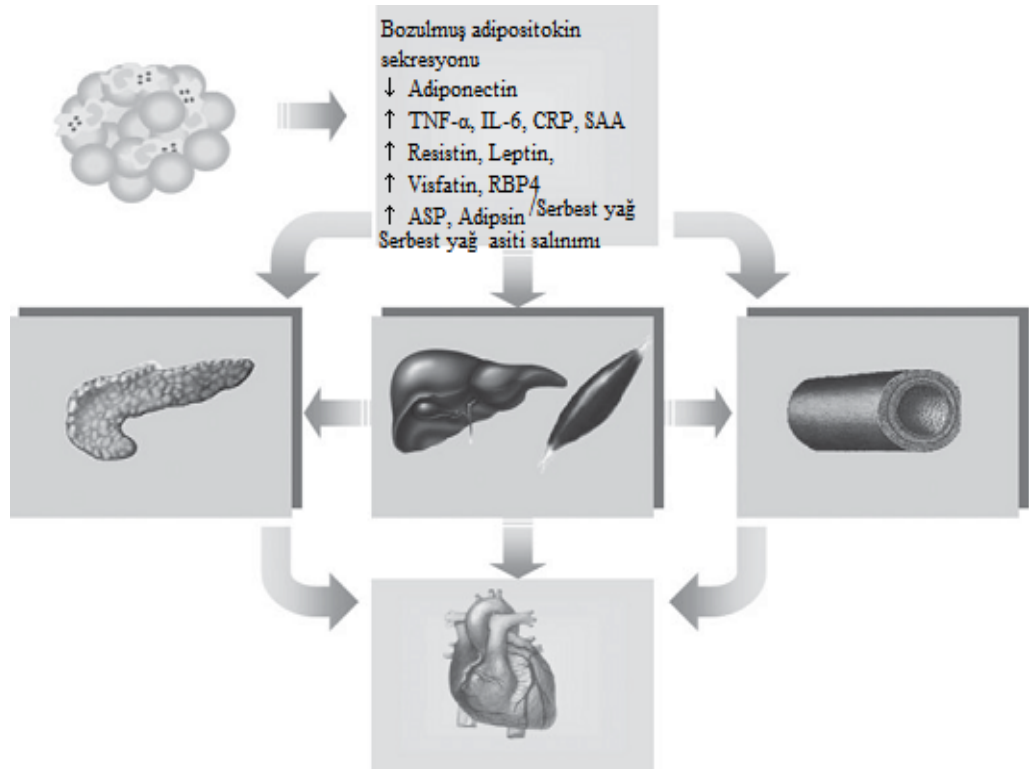
İnsülinin anabolik etkileri olup endojen glukoz yapımını baskılayarak ve insülin duyarlı dokulara glukoz alımını teşvik ederek kan glukoz düzeyini düşürmektedir (34). İnsülin diğer bir çok peptidle pek çok özelliği paylaşmasına rağmen, vücut fizyolojisinde benzersiz bir rol oynamaktadır (28). Glukoz homeostazisinde sekrete edilen insülin glukozun kaslara ve adipozitlere alımını teşvik etmesi ve hepatik glukoz çıkışını inhibe etmesiyle iyi bir şekilde düzenlemektedir. Karacigerde insülin glikoliz ve glikojen sentezini uyarmaktadır ancak ketogenezi, glikojenolizi ve glukoneogenezi, lipolizi inhibe ederler yağ dokuda lipogenezi uyarmaktadır. İnsülin aynı zamanda lipoprotein lipazı (LPL) stimüle eder (26).

İnsülin sinyali insülin reseptör substrat (IRS) 1-4 gibi bir çok proteinin fosforilasyonu ile gerçekleşir. IRS-1 ve IRS-2 baskın rol sergilerler. Bu substratlardaki tirozin rezidülerinin fosforilasyonu, fosfoinozitol 3-kinaz (PI3K), aktive protein kinaz B (Akt/ PKB) ve mitojenle aktive olmuş protein kinaz (MAPK)' ı içeren ek sinyal yollarının aktive olmasına neden olur. Bu yollar yakıt metabolizmasının, gen ekspresyonunun, hücre büyümesinin ve diferansiyasyonun kontrolünü tamamlayabilmek için koordineli olarak çalışırlar (29).

Glukagon, dolaşımdaki glukoz düzeyi düşünce, adacıkların α -hücrelerinden sekrete edilir. İnsülin karşıtı katabolik fonksiyonları vardır. Glukagon açlık sırasındaki kan glukoz düzeylerini, glikojenoliz ve glukoneogenezi teşvik ederek, karacigerde glukogenez ve glikolizi inhibe ederek normal seviyelerde tutar ve hipoglisemiden korur. İlave olarak glukagon bir çok ekstrahepatik etkiye sahiptir. Adipoz dokuda lipolizi artırır ve beyinde tokluk merkezi gibi çalışarak anoreksijenik etkiler gösterir. DM' de glukagonun artmış sekresyonu ve yemek ilişkili glukagon supresyonunun bozulmuş olması, hepatik glukoz çıkışını artırarak hiperglisemiye kötüleştirir. Glukagon reseptörlerinin aktivasyonu, cAMP'nin intrasellüler seviyelerinin artmasıyla protein kinaz A (PKA) aktivasyonu sonucu Fosfolipaz C (PLC) uyarılır. PLC, daha sonra intrasellüler kalsiyumu, inozitol 1,4,5 trifosfat aracılığıyla dengeler. PLC, protein C ile beraber 1,2 Diacilgliserolü' de aktive eder. Bu yollar karbonhidrat ve lipid metabolizmasındaki anahtar enzimlerin aktivitelerini düzenlemek için koordineli çalışırlar (35, 36).

Obezitede T2DM gelişiminin basamakları; insülin direnci gelişimi, hücrel glukoz alımının azalması, hepatik glukoz çıkışının artışı ile birlikte hiperinsülinemi gelişmesiyle β -hücre bozukluğu sonucunda T2DM gelişimi söz konusudur (28). Buna ilave olarak obezitede glukagon konsantrasyonu da artabilir. Uyumsuz olarak artmış insülin ve glukagon konsantrasyonları, insülin resistansına, obeziteyle ilişkili bozulmuş glukoz hemostazisine katkıda bulunur (29).

Uzun yıllar boyunca, yağ dokusu enerjinin depolandığı pasif bir doku olarak kabul edilmiştir. Bununla beraber, yağ dokusu topluca adipokin olarak isimlendirilen, geniş sayıda biyolojik aktif moleküller salgıladığı için son derece önemli bir endokrin organdır. Bu adipokinler; leptin, adiponektin, TNF- α , IL-6, resistin, visfatin, retinol bağlayıcı protein (RBP) ve diğerleri glukoz hemostazisinde kilit rol oynarlar. Yağ dokusu, adipokinlere ek olarak karaciğer ve kasta insülin sensitivitesini azaltan serbest yağ asit salınımını da düzenler. Yağ dokusunun bozulmuş adipositokin sekresyonu, parakrin etkilerinin yanısıra sistemik etkileri sonucu KVH gelişimine katkı sağlamaktadır (28).



Şekil 2.2. Obeziteyle ilişkili insülin direnci ve KVH' lar arasındaki bağlantılar- Fröhbeck G. (28)' ndan alınmıştır.

2.1.6. Obezitenin komplikasyonları

Obezitenin katkıda bulunduğu metabolik ve psikolojik komplikasyonlar çok geniş kapsamlıdır. Obezite, davranışları etkilediği gibi bir çok vücut sistemini olumsuz etkileyebilir. Doğrudan etkiler, kendine saygıda azalma, sosyal kabul eksikliği, refah duygusu kaybının olmasıdır. Uzun vadede, obezite yaşamı kısaltan bir çok kronik hastalığa katkıda bulunur. Bunlar arasında KVH ve T2DM, kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği, ekstremitte kaybı ve enfeksiyonları kapsayan sayısız sekonder komplikasyonla sonlanmaktadır. Obezite aynı zamanda, safra taşına, uyku apnesine, osteoartrit ve çeşitli jinekolojik problemlere yatkınlık yaratır (34).

Gregg ve arkadaşları, obezitenin dislipidemi ile ilişkili KVH gelişimine neden olduğunu belirtmişlerdir (37). VKİ, 25' in üzerinde olan erkek ve kadınlarda total serum kolesterolü artmaktadır. Kadınlarda hiperkolesterolemi insidansı VKİ' indeki artış ile yakın ilişkilidir. Hatta yağ dağılımının paterni total vücut kilosundan bağımsız olarak kolesterol seviyelerini etkilemektedir. Abdominal obezitesi yüksek olan kişilerde total kolesterol seviyesi yüksek olmaktadır. Her iki cinsiyet ve tüm yaş gruplarında VKİ ile trigliserit seviyeleri arasındaki güçlü birliktelik tüm çalışmalarda gösterilmiştir. HDL-K seviyeleri düşüklüğü ile VKİ arasındaki ilişki gösterilmiştir. HDL-K seviyeleri kadınlara göre erkeklerde tüm yaş ve kilolarda daha düşüktür. Yüksek VKİ olan kadın ve erkeklerde HDL-K seviyelerindeki düşme daha belirgindir. Koroner kalp hastalığı ile total serum kolesterolü arasındaki ilişki daha çok LDL-K üzerinden olmaktadır. Gözlemsel çalışmalarda; fazla kilo, obezite ve aşırı abdominal yağlanma ile koroner kalp hastalığı risk faktörleri arasında yakın bir ilişki vardır (38).

Tüm bu tıbbi müdahaleler, obezitenin özellikle KVH ve T2DM gibi komplikasyonlarını önlemeyi amaçlamalıdır (14). Obezitedeki problemlere yaklaşımda, koruma ve tedavi arasında kesin bir sınır çizilmektedir. Obez hastaların tedavi ve takipleri iki amaçla yapılır.

- a. Tıbbi komplikasyonların önlenmesi,
- b. Fazla vücut yağının yok edilmesi.

Obeziteyle beraber non-esterifiye yağ asitleri (NEFAs, Nonesterified fatty acids) artmıştır. NEFAs, normal metabolizma için gerekenden daha fazla enerji substratı sağlanmasına neden olur. Karaciğer ve kastaki lipid birikimi, insülin direnci metabolik sendromun gelişmesine neden olmaktadır. Obeziteden, fiziksel

inaktivitenin ötesinde, genetik faktörler de etkili olmaktadır. Genetik faktörlerin rolü, obezite ve fiziksel inaktivite varlığındaki metabolik sendromda gösterilmiştir (28). Metabolik sendromu olan insanlardaki artmış KVVH riskinin nedenleri tam olarak anlaşılamamıştır. Her risk faktörünün spesifik rolünün saptanması zorlaşmıştır. Buna rağmen, bu sendromla birleşmiş risk faktörlerinin çoğunda aterosklerotik potansiyel görülmektedir (37).

ATP III (Adult Treatment Panel III, Yetişkin Tedavi Paneli III) metabolik sendromu beş klinik özelliklerle tanımlar. Metabolik sendromun temel özellikleri iki risk grubunda incelenebilir. Bunlar; asıl risk faktörleri olan özellikle abdominal obezite, fiziksel inaktivite, aterosklerotik dislipidemi, yüksek kan basıncı, insülin direnciyle beraber artmış plazma glukozu, protrombotik durum ve proinflamatuvar durum sayılabilir. ATP III bu klinik özelliklere göre metabolik sendromun tanısını oluşturmaktadır. Ayrıca başka gizli metabolik risk faktörleri tanınmıştır. Bunlar klinik açıdan, rutin, pratik kullanımı olmayan risk faktörleri olup, özel testler ile tespit edilebilmektedir. Bunlar; insülin direnci (yüksek plazma insülini ile), protrombotik durum (yüksek plazma fibrinojeni ve plazminojen aktivatör inhibitörü-1, PAI-1), proinflamatuvar durum, yüksek high sensitif C-reaktif protein (hsCRP) ve yağlı karaciğerdir (39).

2.1.7. C-Reaktif protein (CRP)

Akut faz proteinlerinin öncüsüdür. *Streptococcus pneumoniae*'nin hücre duvarındaki C-polisakkarite bağlanabilen bir madde varlığı, ilk kez 1930 yılında pnömokok pnömonisi geçiren hastaların akut fazında saptanmıştır. 1941 yılında bunun protein yapısında olduğu belirlenip CRP adı verilmiştir (40). IL-6'ya yanıt olarak hepatositlerde üretilen CRP beş alt birimden oluşur ve pek çok uyarımdan sorumlu olan akut faz proteinidir. IL-6 ve diğer sitokinlerin kaynağı ise yağ hücresi ve aterosklerotik lezyondaki inflamatuvar hücrelerdir. Karaciğer fonksiyonu normal olan kişilerde serum CRP düzeyi inflamatuvar aktivasyonu gösteren bir parametredir ve serumdaki konsantrasyonu, IL-6 ve TNF- α seviyeleri ile ilişkilidir. CRP inflamatuvar yanıtın non-spesifik bir belirtecidir. İnflamatuvar yanıt çok geniş bir hastalık grubunu ifade eder ve koroner olaylar, inme ve periferik arteriyel hastalıkları içeren aterosklerotik olaylarla birliktedir (41).

Akut faz reaktanı olan CRP, herhangi bir enfeksiyon veya doku hasarı durumunda hızla yükselir. Sağlıklı kişilerde serum CRP düzeyi 0.5 ng/dL gibi çok

düşük konsantrasyonlarda bulunur. İnflamasyon, enfeksiyon ve travmalara yanıt olarak serum düzeyi artmaktadır. Bundan başka ileri yaş, sigara, obezite, plazma trigliserit düzeyi yükselmesi ve çeşitli kardiyovasküler belirteçlerin artışı ile de yükselir. CRP düzeylerinin vücut yağ dokusu ölçümleriyle orantılı olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. CRP'nin doğal immün sistem üzerinde etkisi vardır, komplemanı aktive eder, Fc reseptörlerine bağlanır ve pek çok antijen için opsonin davranışı sergiler. CRP' nin, Fc reseptörlerine bağlanması ile proinflamatuvar sitokinlerin salınımını gerçekleştirdikleri, CRP' nin monositlerin sitokin ile doku faktörü sentezini artırdıkları ve endotel hücrelerinden de intrasellüler adezyon moleküllerinin ekspresyonunu stimüle ettikleri gösterilmiştir (42).

Önceki çalışmalar akut myokardial infarktüs ve akut koroner sendrom sonrası CRP üretimi artışının olduğunu desteklemektedir. CRP' nin metabolik sendrom ve KVH' da arttığı istatistiksel olarak gösterilmiştir. CRP plazma düzeyi arttıkça KVH' a sebep olduğu bilinmektedir (41). Bu bulgular kilolu olgularda KVH artışının sebebini yansıtabilir. CRP artışı aynı zamanda T2DM gelişimi ile birlikte (42).

Amerikan Kalp Birliğinin (AHA, American Heart Association) CRP düzeylerine karşılık kardiyovasküler risk sınıflaması şu şekildedir; hsCRP < 1.0 mg/L bulunanlar düşük riskli, hsCRP 1-3 mg/L bulunanlar orta riskli, hsCRP > 3 mg/L bulunanlar ise yüksek riskli olarak sınıflandırmışlardır.

CRP düzeyini etkileyen pek çok neden vardır ve diurnal bir değişim gözlenmemiştir. 1999 yılında yapılan bir çalışmada yüksek CRP düzeyi ile obezite arasında ilişki olduğu saptanmıştır. VKİ değerlerine göre fazla kilolu ve obezlerde düşük dereceli bir sistemik inflamasyon varlığı belirlenmiş, mevcut CRP yükselişinin ise artmış olan yağ dokusu tarafından sentez edilen IL-6 seviyesi ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür.

CRP düzeyini arttıran faktörleri enfeksiyon, DM, travma, sigara kullanımı obezite, yaş, hormon replasman tedavisi, kronik inflamasyon, obstrüktif uyku apnesi; azaltan faktörleri ise artmış egzersiz, kilo kaybı, alkol tüketimidir (43).

2.2. Lipoproteinler ve metabolizmaları

2.2.1. Lipoproteinlerin tanımı ve sınıfları

Karaciğer ve bağırsakta sentezlenen lipidlerin, metabolik fonksiyonlarını yapabilmeleri için, farklı dokulara taşınmaları gerekmektedir. Lipidler, sulu ortamlarda çözünmemeleri nedeniyle, apolipoprotein denilen özgün proteinlerle

kompleks oluşturarak taşınmaktadır. Plazmada dolaşan lipid-protein kompleksleri “*lipoproteinler*” olarak adlandırılır. Lipoprotein, merkezinde polar olmayan lipitleri (trigliserit ve kolesterol esterleri) ve yüzeye yakın kısımlarına yerleşmiş amfipatik özellik taşıyan lipidleri (fosfolipit ve serbest kolesterol) içeren küresel partikül yapısındadır. Yüzeylerinde bir veya daha fazla apolipoprotein olarak adlandırılan özgün proteinleri içerirler (24, 28).

Plazma lipoproteinleri; transport fonksiyonları, yüzme hızları, hidrate yoğunlukları, büyüklükleri, elektroforetik özellikleri, apoprotein içerikleri ve lipit profillerine göre *şilomikron*, *çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL)*, *düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)* ve *yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)* olmak üzere 4 ana sınıfta incelenmektedir. Lipoproteinler ultrasantrifüj ve elektroforez ile birbirinden ayrılabilir. Şilomikron ve VLDL trigliserit taşınmasında, LDL ve HDL kolesterol taşınmasından sorumludur.

Ana lipoprotein sınıflarına ek olarak bunların alt sınıflarında vardır. Bunlar:

- a) VLDL’ nin metabolizması sırasında oluşan ve yoğunluğu 1.006-1.019 g/mL olan *ara yoğunluklu lipoprotein (IDL)*,
- b) HDL’ nin metabolizması sırasında oluşan yoğunluğu 1.063-1.125 g/mL olan *HDL2* ve yoğunluğu 1.125-1.21 g/mL olan *HDL3*,
- c) Lipoprotein (a) ve lipoprotein X’ dir (19).

2.2.2. Apolipoproteinler

Apolipoprotein A: Lipoproteinlerin yapısında Apo A-I, A-II ve A-IV olmak üzere üç tip apoprotein A bulunur.

Apolipoprotein A-I: Apo A-I insan HDL’ sinin major yapısal proteindir. Şilomikron yapısında da bulunur. Lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT) aktivatörüdür. Lipoprotein metabolizmasında HDL’ nin en önemli rolü, *tersine kolesterol transportudur* ve Apo A-I HDL’ nin bu antiaterojenik aktivitesinde LCAT’ ın kofaktörü olarak rol oynamaktadır. Apo A-I, hem karaciğer hem de bağırsakta 276 amino asit içeren Pro-Apo A-I olarak sentezlenir daha sonra yapısından 18 amino asitlik bir bölüm ayrılarak Apo A-I haline dönüştürülür. Apo A-I’ in polipeptid zincirinin –COOH ucuna yakın α -heliks yapısındaki bölge HDL’ nin hücre yüzeyi ile ilişkisinden sorumludur. LCAT’ ı aktifleyen bölüm ise Apo A-I polipeptid zincirinin orta bölümlerindedir.

Apolipoprotein A-II: İnsan Apo A-II' si HDL' nin yapısında en çok bulunan ikinci proteindir. Karaciğerde sentezlenen Apo A-II, HDL' de Apo A-I ile yer değiştirerek HDL' nin hücrelerle, diğer lipoproteinlerle, enzim ve transfer proteinlerle olan ilişkisini düzenler. Lipoprotein metabolizmasında temel bir rolü olmadığı düşünülmektedir.

Apolipoprotein A-IV: Şilomikronun major, HDL' nin ise minör bileşeni olan Apo A-IV bağırsakta sentezlenir. Plazmada lipoproteinler arasında aktarılabilen bir proteindir. Lipoprotein metabolizmasındaki rolü henüz açıklık kazanmamakla birlikte Apo A-I' le ileri derecedeki yapısal benzerliği HDL metabolizmasında ve tersine kolesterol transportunda Apo A-I ile sinerjik etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir.

Apolipoprotein B: İnsan plazmasında Apo B-100 ve Apo B-48 olmak üzere iki tür Apo B bulunmaktadır. Her iki tür de tek bir genden türer. İnsan bağırsağında bulunan düzeltici bir protein Apo B, mRNA ile reaksiyona girerek tek bir nükleotid değişikliğine yol açar. Sonuç olarak Apo B-100' ün % 48' inden oluşan Apo B-48 sentezlenir. Apo B-48, şilomikronun yapısal bileşenidir. Her şilomikronun yapısında bir molekül Apo B-48 bulunur. Apo B-48, Apo B-100' de olduğu gibi reseptöre bağlanma bölgesine sahip olmadığından, şilomikron LDL reseptörüne bağlanamaz.

Karaciğerde sentezlenen Apo B-100, lipoproteinlerden VLDL, IDL ve LDL' nin yapısında yer alır. Bu lipoproteinlerin her biri sadece bir molekül Apo B-100 içerir. Apo B' nin primer yapısında bir çok hidrofobik ve amfipatik diziler bulunur. Apo B-100' ün yapısal rolünün yanında diğer bir fonksiyonu da LDL reseptörü için ligand olmasıdır (28).

2.2.3. Lipoproteinlerin metabolizması

Şilomikronların metabolizması: Diyet kaynaklı trigliserit, kolesterol ve fosfolipitler bağırsakta sindirilip, emildikten sonra şilomikron olarak sistemik dolaşıma verilirler. Bağırsak mukoza hücrelerinin düz endoplazmik retikulumunda yeniden sentezlenen lipitler ile granüllü endoplazmik retikulumunda sentezlenen Apo B-48, A-I ve A-IV, birleştirilerek golgi' de pakatlendikten sonra şilomikron öncüsü halinde lenfatik sisteme verilmekte, oradan da genel dolaşıma aktarılmaktadır. Şilomikron yapısında, % 85 trigliserit, % 5 kolesterol esteri, % 8 fosfolipit ve % 1-2 kadar protein bulunur. Şilomikronların sentezi ve salgılanması doğrudan besinlerle alınan lipitlerin emilimine bağlıdır.

Dolaşım sırasında şilomikronlarda bir takım değişiklikler olur:

1) Plazmada, HDL' den Apo C ve Apo E alırlar, geriye HDL' ye bir miktar fosfolipit verirler. Apo C-II, LPL aktivatörüdür. Apo C-III ise, Apo E' yi bloke ederek vaktinden önce şilomikronun kandan uzaklaştırılmasını önler. Böylece şilomikronlar olgun hale dönüşürler (44).

2) Karaciğer dışı dokuların kapiller endotellerinde bulunan, Apo C-II ile aktiflenen LPL tarafından şilomikronun TG' leri hidrolize edilir. Açığa çıkan yağ asitleri ya TG olarak depolanır ya da enerji sağlamak amacıyla hedef dokulara girer. Açığa çıkan gliserol ise karaciğerde metabolize edilir (24, 44).

Şilomikronların yapısındaki TG' lerin dolaşımdaki yarı ömrü 30 dakika kadardır. LPL, öğünlerden hemen sonra aktifleşir. LPL' nin Km değeri yağ dokusunda yüksektir ancak yüksek TG konsantrasyonlarında hidroliz gerçekleşebilir. Kalp dahil, kaslarda ve laktasyondaki meme bezinde ise LPL' nin Km' i düşüktür. Çok düşük TG konsantrasyonlarında bile hidroliz sağlanır ve serbestleşen yağ asitleri enerji sağlamak amacıyla kullanılır (44).

Çok düşük dansiteli lipoproteinlerin metabolizması: VLDL' ler karaciğerde üretilir ve esas fonksiyonu endojen olarak sentezlenen TG' lerin karaciğerden periferik dokuya transportudur. TG' ler şilomikronlar için tanımlandığı gibi periferik dokuda lipoprotein lipaz tarafından yıkılırlar. Yağlı karaciğer TG ve VLDL salgılanması arasında bir dengesizliğin olduğu durumlarda ortaya çıkar. Obezite, kontrol altına alınamamış diyabet ve kronik etanol alımı bu durumlara örnek olabilmektedir. VLDL' ler karaciğerden direkt olarak kana Apolipoprotein B-100 içeren olgunlaşmamış VLDL partikülleri olarak salıverilirler. Dolaşımdaki HDL' den Apo C-II ve Apo E edinmek zorundadırlar. VLDL' ler dolaşımda bir takım modifikasyona uğrayarak TG içerikleri lipoprotein lipaz tarafından yıkılır, VLDL' lerin boyutları küçülür ve daha yoğun hale gelirler. Apo C ve Apo E' yi içeren yüzey bileşenleri HDL' ye geri döner ancak partikül Apo B-100 içeriğini korur. Son olarak TG' ler, eş zamanlı olarak kolesterol esterlerin HDL' den VLDL' e transferini sağlayan bir değişim reaksiyonu ile VLDL' den HDL' ye transfer edilirler. Bu reaksiyon kolesterol ester transfer protein tarafından gerçekleştirilir. Bu modifikasyonlardan sonra VLDL plazmada LDL' ye dönüştürülür. Bu dönüşüm esnasında bir orta dansiteli lipoprotein (IDL) veya VLDL kalıntısı görülür. IDL'

lerde apo E' nin ligand olarak kullanıldığı reseptör aracılığı ile gerçekleşen endositoz yoluyla hücreler tarafından alınabilir (28).

Düşük dansiteli lipoproteinlerin metabolizması: LDL, plazmanın kolesterol taşıyan (periferik dokulara veya karaciğere) başlıca lipoproteinidir. VLDL'den farklı olarak TG çok azdır ve apoprotein olarak sadece Apo B-100 taşır. Bir LDL taneciği, bir VLDL taneciğinin metabolizması sonucu oluşur. Plazma LDL miktarı; VLDL sentez hızına, VLDL' nin LDL' ye dönüşüm hızına ve LDL' nin plazmadan uzaklaştırılma hızına bağlıdır. LDL' nin % 75'i karaciğer tarafından geri kalanı ise karaciğer dışı dokular tarafından alınarak plazmadan uzaklaştırılır. Plazmadaki yarı ömrü yaklaşık iki gündür. LDL' nin plazmadan uzaklaştırılmasından Apo B ve Apo E reseptörleri sorumludur. LDL reseptörleri, yapısında bulunan Apo B-100 sayesinde LDL' yi tanır ve hücre içine alınmasını sağlar. LDL' nin hücre içine alınımı reseptör aracılı endositozun en tipik örneklerinden biridir. LDL metabolizmasını besinle alınan yağın türü, LDL reseptörü ve Apo B genlerinin mutasyonu gibi çevresel ve genetik faktörler etkiler (45).

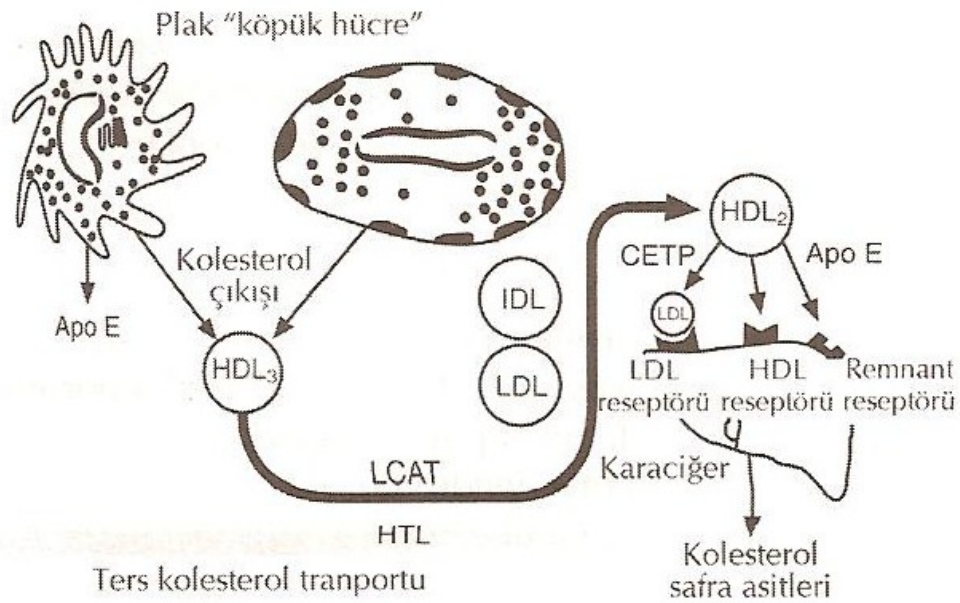
LDL alımı yolağına ek olarak makrofajlar yüksek düzeyde toplayıcı (scavenger) reseptör aktivitesine sahiptir. Toplayıcı reseptör sınıf A (SR-A , Scavenger Receptor Class A) olarak adlandırılan bu reseptörler geniş bir ligand bağlama spektrumuna sahiptirler. Kimyasal olarak modifiye edilmiş LDL' yi tanıyarak endositozuna aracılık edebilen ancak normal LDL' yi tanımayan reseptörlerdir. Dolaşımdaki LDL' yi SR-A reseptörleri tarafından tanınabilecek ligandlara dönüştüren kimyasal modifikasyonlar lipid içeriğinin ve Apo B' nin oksidasyonudur. LDL reseptörünün aksine toplayıcı reseptör artan hücre içi kolesterol seviyesi tarafından baskılanmaz. Kolesterol esterleri makrofajlarda birikirler ve bu hücrelerin aterosklerotik plakların oluşumunda rol alan "köpük" hücrelere dönüşmesine yol açarlar (28, 24).

Yüksek dansiteli lipoproteinlerin metabolizması: HDL 7-10 nm' lik çapıyla lipoproteinlerin en ufak olanıdır. Yapısının % 50' sini protein, % 50' sini lipidler oluşturur. HDL' nin lipid çekirdeğinde kolesterol esterleri yer alır. Yapısında bulunan apoproteinler başlıca Apo A-I, Apo A-II, az miktarda Apo E ve Apo C' dir (24, 44).

HDL' nin yapısında bulunan Apo A-I karaciğer ve bağırsakta sentezlendikten sonra trigliseritden zengin lipoproteinlere gevşek bağlanarak dolaşıma aktarılır.

Plazmaya ulaştığı zaman kendiliğinden lipoproteinlerden ayrılarak sadece Apo A-I veya yapısında çok az fosfolipit içeren Apo A-I halinde, disk şeklinde tanecikler olarak plazmada bulunur. Plazmada şilomikron ve VLDL' nin TG' lerinin hidrolizi sırasında açığa çıkan Apo A-I ve bu lipoproteinlerin kabuklarındaki fosfolipitlerin biraraya gelmesiyle plazmada da oluşabilmektedir. Hem lipid içermeyen Apo A-I hemde fosfolipit içeren Apo A-I elektroforezde pre β 1 mobiliteye sahiptir. Öncül HDL olarak da tanımlanan (pre β 1 HDL) bu tanecikler Apo C ve/veya Apo E de içerirler ve serbest kolesterolü kolaylıkla alabilme özelliğine sahiptir. Karaciğer dışı dokuların hücre membranından [*ATP-bağlayıcı kaset aktarıcı protein (ABCA-1) aracılığı ile*] ve lipoproteinlerin dış yüzeylerinden öncü HDL' ye aktarılan kolesterol, LCAT etkisiyle fosfatidilkolinin (lesitin) 2. karbonundan serbestleşen yağ asidi ile esterleşir. Esterleşen kolesterol, lipoproteinin çekirdek kısmına geçer ve böylece HDL taneciği disk şeklinden küre şekline döner. HDL' nin ufak ve küre şeklindeki ilk formu HDL3 olarak adlandırılır. HDL3 karaciğer dışı dokulardan kolesterol alırken, hücreden kolesterol akışı ABCA-1 ile değil de SR-B1 aracılığıyla veya pasif difüzyonla gerçekleşir. HDL3 giderek küreleşen yapısına yine LCAT aracılığı ile kolesterol esterleri alarak, lipoprotein lipaz ve fosfolipit transfer protein (PLTP) etkisiyle diğer lipoproteinlerden ayrılan yüzey bileşenlerini alarak büyür ve HDL2a haline döner. HDL2a, kolesterol ester transfer proteinin (KETP) aracılık ettiği bir reaksiyonla kolesterol esterlerini LDL ve VLDL' ye aktarır, yerine bu lipoproteinlerden trigliserit alarak HDL2b haline döner (44).

Trigliseritden zengin HDL2b, karaciğerin yüzeyinde bulunan hepatik lipaz etkisiyle trigliserit kaybeder ve yeniden HDL3 haline döner. HDL siklusu olarak adlandırılan bu süreç periferik dokulardan kolesterolün alınıp karaciğere götürülmesinde önem taşır. Siklus sırasında KETP aracılığıyla HDL2a' dan VLDL ve LDL' ye aktarılan kolesterol esterleri, bu lipoproteinlerin plazmadan uzaklaştırılmasıyla karaciğer tarafından alınır. Kolesterolün karaciğer dışı dokulardan HDL tarafından toplanması ve kolesterolün yukarıda açıklanan mekanizma tarafından karaciğere aktarılması işlemi *tersine kolesterol transportu* olarak adlandırılır (44).



Şekil 2.3. Ters kolesterol taşınım yolu-Rifai ve ark. (44)' ndan alınmıştır.

Kolesterol karaciğer tarafından sentezlenerek metabolizmaya katılır. Periferik dokuların ihtiyaç fazlası kolesterolünün yıkılmak üzere alınıp karaciğere getirilmesi gereklidir. Bu amaçla en çok kullanılan yollardan birinde, dokuların yüzeyindeki hücrelerin zarlarından, serbest kolesterol HDL tarafından alınır ve LCAT ile esterleştirilir. HDL' nin yapısındaki kolesterol esterlerinin bir kısmı KETP aracılığı ile VLDL' ye ve LDL' ye aktarılır. Böylece VLDL ve LDL' ye aktarılan kolesterol esterlerinde VLDL artığı veya LDL halinde karaciğere alınırlar. Bir başka uzaklaştırma yolunda ise HDL2a, yapısındaki kolesterol esterlerini toplayıcı reseptör sınıf B (SR-B, Scavenger Receptor Class B) aracılığıyla karaciğere vererek HDL3 haline dönüşür. Diğer taraftan yapısında Apo E bulunan HDL2a, LDL reseptörü aracılığı ile direkt olarak karaciğer tarafından alınır. Apo E' li HDL, HDL1 veya HDLc olarak adlandırılır. Kolesterolce daha zengin ve Apo E taşıyan bu HDL karaciğere girer ve yıkılır. Bu girişte Apo E reseptörleri sorumlu tutulmaktadır (28).

2.2.4. Ateroskleroz patogenezi

Aterojenez, arter duvarının yapısal bileşenleri ile dış faktörler ve uyarılar arasındaki etkileşimlerle ilerleyen bir *fibröz plak* (*aterom*, *aterosklerotik plak*) oluşum sürecidir (24).

Aterom oluşum aşamaları şu şekilde sıralanabilir:

- a) Arter duvarındaki hücresel reaksiyonun oluşumunda serum kolesterolü anahtar rol oynar. Özellikle LDL' de taşınan kolesterol, plazma kolesterolünün aterojenik

şeklidir (19). Normalde kan dolaşımındaki LDL tanecikleri sınırlı oranda arter duvarından geçerek subendotel yüzeye infiltre olabilir. Ancak endotel hasarı ve aterojenik lipoproteinlerin kanda artışı lipoproteinlerin bu girişini artırır (2, 39). İntimaya geçen LDL taneciklerinin bir kısmı dolaşıma geri dönerken, bir kısmında intimada tutulur. Bu tutulmadan intimanın destek dokusu bileşenlerinden glikozaminoglikanlar (GAG) sorumludur. LDL’deki Apo B-100’ e afinitesi fazla olan GAG, böylelikle LDL’yi intimaya bağlamış olur. Bu nedenle Apo B-100 içeren lipoproteinler, ateroskleroz oluşumunda potansiyel suçludur (28, 41).

b) İntima tabakasında hapsedilen LDL, doku makrofajlarından serbestleşen oksijen radikallerine maruz kalır. LDL oksidasyonunun ateroskleroz gelişiminde en etkili basamak olduğuna inanılmaktadır. İntimada antioksidan gücün yetersiz olması, LDL’ nin intimada tutulma süresi uzadıkça serumun antioksidan potansiyelinden yoksun kalması, oksidasyonu kolaylaştırıcı faktörlerdir (39).

c) LDL’ nin oksidasyonu ile oluşan lizofosfotidil kolin gibi çeşitli modifiye lipitler, endotel hücrelerinde VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1, Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1) gibi adezyon moleküllerinin sentezini uyarır. Adezyon moleküllerinin etkisi ile endotel yüzeyine yapışan monosit ve T-lenfositler, subendotelyal yüzeye göç etmeye başlar (19, 24).

d) İntimada bulunan kemoatraktan moleküller, enflamatuvar hücrelerin intimaya göçünü tetikler (45). En etkili kemoatraktanlar, endotel hücrelerinden salınan MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1, monosit kemoatraktan protein-1) ile okside LDL’ nin bir bileşeni olan lizofosfotidil kolindir (39).

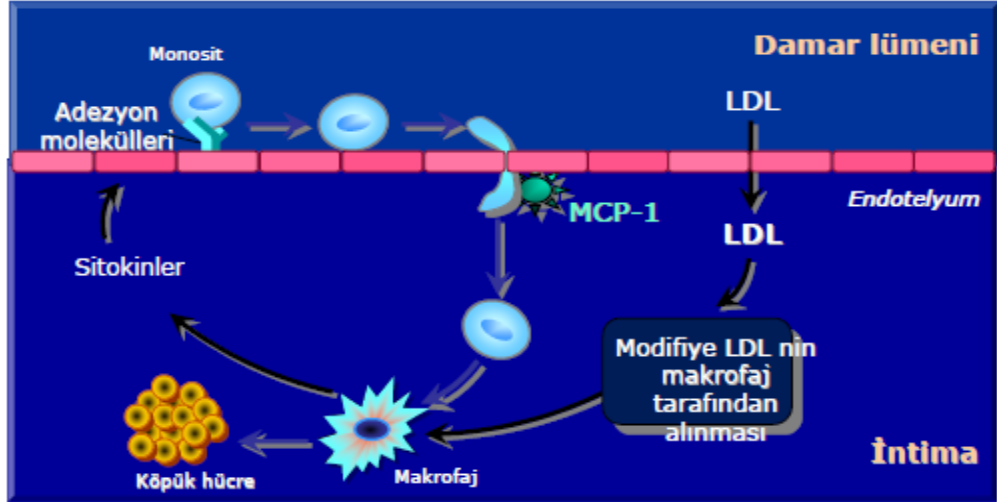
e) İntimaya geçen monositler, GM-CSF (granulocyte macrophage colony-stimulating factor, granülosit makrofaj-koloni uyarıcı faktör) uyarısıyla aktif makrofajlara dönüşür. Makrofajlar, oksidasyonla yapısı değişen LDL’yi fagoside eder. Normal LDL reseptörü yerine makrofaj ve düz kas hücrelerinde bulunan toplayıcı reseptörler bu temizleme işleminden sorumludur. Toplayıcı reseptörler LDL’yi kontrolsüz bir biçimde aldıkları için makrofajlarda aşırı kolesterol birikimi olur ve *köpük hücre* adı verilen oluşum gerçekleşir (10, 24). Köpük hücrelerin endotel altında birikmesi, endotel yüzeyinde şekil bozukluklarına yol açar. *Yağlı çizgi* adı verilen bu oluşumlar arter duvarında en erken görülen lezyonlardır. Yağlı çizgilenmelerin klinik açıdan anlamı yoktur, pek çoğu kendiliğinden geriler. Fakat bazıları fibröz plaklar haline dönüşür (45, 28).

f) Köpük hücre oluşumu, düz kas hücrelerinin intimaya hareketini, çoğalmasını ve matriks bileşenleri üretmesini tetikler. Makrofaj ve trombositlerden salınan büyüme faktörleri *düz kas hücre proliferasyonunun* başlıca uyaranlarıdır. Düz kas hücreleri de köpük hücrelere dönüşebilir. Lipid çekirdeği endotel yüzeyinden ayıran *fibröz plak* oluşmaya başlar. Bu aslında lezyonu lokalize etemeye veya duvarla çevirmeye yönelik bir çabadır. Yaranın kabuk bağlaması gibi düşünülebilir (39, 19).

g) Zamanla hücre infiltrasyonunda, kolesterol depolanmasında, düz kas hücre genişlemesinde ve bağ dokusu birikiminde artış, daha ileri lezyonların ortaya çıkmasıyla sonuçlanır. Özellikle fibröz plağa komşu düz kas hücrelerinde mikroskobik *kalsifikasyonlar* başlar. Zaman içinde bu hücreler ölünce kas tabakası ile fibröz plağın dış kısımları arasında kalsiyum birikimleri meydana gelir. Bu kalsifikasyonlar, aterom ilerledikçe esneklik kaybına ve damarın sertleşmesine yol açar. Fazla miktarda kalsiyum biriktiğinde, bu oluşumlar bilgisayarlı tomografi ile koroner arterlerde görüntülenebilir ve kalsifikasyonlar ateromları çevreleyen yüksek radyografik halkalar olarak görülür. Anjiyografi ile arter lümeninde bir daralma saptanmasa dahi bu kalsifikasyonlar hastalığın ileri bir aşamada olduğunun tartışmasız delili sayılırlar (24).

Hiperkolesterolemi ateroskleroz patogenezinde rol oynayan en önemli faktördür. Plazma kolesterol düzeyinin düşürülmesiyle ateroskleroz zemininde gelişen klinik tabloların sıklığının azaldığı kanıtlanmıştır. Hiperkolesterolemide ilk aşamada gerçekleşen olay, endotel hücrelerinde ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule -1, Hücreler Arası Adezyon Molekülü-1), VCAM-1 gibi adezyon molekülleri ile monosit kemotaksisinde önemli rolü olan MCP-1' in üretimidir. Bunun sonucu, monositler endoteli geçip subendoteliyal alana yerleşirler. Arter duvarındaki enflamatuvar süreci başlatan faktörlerin; oksitlenmiş LDL, mekanik hasar, immunolojik, toksik, infeksiyöz etkenler (*Chlamydia pneumoniae*, herpesvirüsler gibi) veya bunların bileşimi olduğu sanılmaktadır (2, 42). Lipit ve proteinlerde meydana gelen oksidasyonlar hem fonksiyonel bozukluklara yol açmakta, hem de immün mekanizmaları harekete geçirerek oksidatif hasara uğramış yapıları immün sistemin hedefi haline getirmektedir. Bu etkenler endotel hücrelerinin yüzey yapısını değiştirmekte ve endotel hücrelerinin LDL alımını artırmaktadırlar (28, 39).

LDL oksidasyonunun mekanizması: LDL, lipooksijenaz, miyeloperoksidaz, reaktif nitrojen türleri veya metal iyonlarıyla okside olabilir. LDL' nin endotelden oksidasyona uğraması aterosklerozun gelişiminde başlatıcı etkindir (46).



Şekil 2.4. LDL' nin oksidasyonu-Doi ve ark. (46)' ndan alınmıştır.

1. Başlangıç basamağı: Endojen antioksidanların tüketimi
2. İlerleme basamağı: Doymamış yağ asitlerinin lipid hidroperoksitlerine oksidasyonu
3. Sonlanma basamağı: Hidroperoksitlerin reaktif aldehitlere dönüşümü

Aldehitler, Apo B-100' deki lizin kalıntılarıyla reaksiyona girerek LDL oksidasyonuna yol açabilir. NO bakırla oluşan oksidasyonu inhibe eder. Endotel hücreleri ve monosit/makrofajlarda üretilen lipooksijenaz enzimi, doymamış yağ asitlerinin lipid hidroperoksitlerine ve sonrasında OxLDL' ye dönüşümüne neden olabilir.

Aktive makrofajlardan sekrete edilen miyeloperoksidaz, hipokloröz asit (HOCL), nitrojen dioksit (NO₂) gibi reaktif türler oluşturarak LDL lipid ve proteinlerini okside edebilir. NO aerobik şartlarda nitrite dönüşür. Nitrit, LDL' nin miyeloperoksidazla okside olmasını inhibe eder (47,48).

OxLDL, LDL' nin bağlanamadığı SR-A ve CD36 reseptörlerine bağlanır. Bu reseptörler hücre içindeki kolesterol düzeyi tarafından regüle edilemez ve subendotel yerleşimli makrofajlar OxLDL' yi kontrolsüz bir biçimde hücre içine alarak köpük hücrelerini meydana getirirler (49).

OxLDL, MCP-1 sekresyonunu artırarak daha fazla monositin endotel yüzeyine infiltrasyonuna, M-CSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor, Makrofaj Koloni

Uyarıcı Faktör) sekresyonu ile de daha fazla makrofaj üretilmesine böylece köpük hücre oluşumunun artmasına neden olur (50).

Düz kas hücrelerinin üzerinde de SR-A bulunmaktadır. Bu hücreler de okside LDL' yi fagosit ederek köpük hücreleri oluştururlar. OxLDL' nin düz kas hücrelerine migrasyonu, endotel hücreleri, makrofaj ve düz kas hücrelerinin PDGF (Platelet-Derived Growth Factor, Platelet Kökenli Büyüme Faktörü) salgılanmasını uyarmaları sonucu artar. Köpük hücrelerinin toplanması ve düz kas hücrelerinde migrasyon ve proliferasyonun artması intimanın kalınlaşmasına neden olur. Arteriyal lümenin daralması, vazodilatör kapasitenin daha fazla bozulmasına yol açar. OxLDL vazokonstriktör endotelin-1 (ET-1) üretimini stimüle ederken, vazodilatör NO üretimini azaltır. Endotel ve düz kas hücrelerinin apoptozisi plak rüptürüne yol açar. Endotel disfonksiyonu, platelet adezyonu ile prokoagulan aktivitenin artması ve fibrinolizisin bozulmasıyla ilişkilidir. OxLDL platelet adezyon ve agregasyonunu, PGI₂ (prostasiklin) üretimini azaltarak uyarıcı etki etmektedir. Prokoagulan aktiviteyi endotel ve düz kas hücrelerinden doku faktörü (TF) sekresyonunu arttırarak sağlar trombomodulin transkripsiyonunu azaltarak ve protein C aktivasyonunu baskılayarak prokoagulan aktiviteyi arttırır. OxLDL, doku plazminojen aktivatör (tPA) sekresyonunu azaltarak ve PAI-1 sekresyonunu arttırarak fibrinolitik aktiviteyi azaltır (51).

HDL, LDL' yi oksidasyondan koruyabilme yeteneğine sahiptir. LDL' nin oksidasyondan korunmasında, PON1' in HDL üzerine katalizör etkisinin olabileceği düşünülmektedir. PON1, lipid peroksitlerinin aterojenik etkilerini nötralize ederek hücre membranlarını koruyucu etki gösterir. PON1, LDL' yi bakır iyonunun ve serbest radikallerin indüklediği oksidasyondan korumaktadır (52, 53).

LDL oksidasyonu esnasında oluşan okside kolesterol esterleri ve lizofosfatidilkolinler PON1 enzimindeki serbest sülfidril grubu ile etkileşime girer ve enzimin inaktive olmasına yol açar. Oksidatif sistemlerdeki Cu⁺¹/Cu⁺² iyonlarının oksidasyon esnasında, PON1' in paraoksonaz/arilesteraz aktivitesi için gerekli olan Ca⁺² iyonunun yerine geçmesinin PON1' in kısmen inaktivasyonundan sorumlu olabileceği de düşünülmektedir. PON1 inhibitörlerinin, LDL oksidasyonunu artırması, hem PON1 inaktivasyonuna hem HDL lipidlerinin total lipid peroksit oluşumuna katılmasına bağlıdır. Kısmen okside olmuş fosfolipidlerin, PON 1' in ekspresyonunu azalttığı, enflamatuvar sitokinlerin (IL- 6) ApoJ' yi arttırdığı ve IL-6'

nın PON1 regülasyonu için kısa dönemde etkili olduğu bulunmuştur. MCP-I' in okside olmuş fosfolipidlerin regülasyonu için gerekli olmadığı belirtilmiştir (54).

PON1' in sadece LDL oksidasyonunu değil, aynı zamanda HDL oksidasyonunu da (geçiş metal iyonları ve serbest radikaller aracılığıyla oksidasyon indüklendiğinde) engellediği gösterilmiştir. PON1' in HDL' ye eklenmesi ile doza bağımlı olarak oksidasyonun lag fazının uzadığı, HDL' de lipid peroksit ve aldehit birikiminin % 95' e kadar azaldığı gösterilmiştir (55).

PON1 lipid peroksitlerinin yanı sıra hidrojen peroksit (H_2O_2) üzerine de etkilidir. Aterojenez sırasında arter duvarı hücrelerince üretilen majör toksik oksijen metaboliti olan hidrojen peroksit, oksidatif koşullarda daha potent ürünlere dönüşerek LDL oksidasyonuna neden olur. PON1' in OxLDL' deki kolesterol linoleat hidroperoksitlerini ve hidroksitleri indirgemesi nedeniyle peroksidaz benzeri aktivitesi olduğu düşünülmektedir. HDL ile ilişkili diğer enzimlerin de [LCAT, PAF-AH (Platelet Activating Factor Acetylhydrolase, Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz) vb.] oksidatif modifikasyonlara karşı LDL' yi koruduğuna inanılır (56). Çalışmalar, bu enzimlerin MM-LDL (Minimal Modified LDL, Çok Az Değişmiş LDL) deki aktif lipitleri, tek başına gösterdikleri etkinin toplamı bir etki ile yıktıklarını göstermiştir. PON1' in yokluğunda LCAT ve PAF-AH, LDL' yi oksidasyondan korumada çok etkili değildir. Aviram ve ark, PON I' in tek başına, LDL' yi oksidasyondan korumada, LCAT ve ApoA-I' den 90 kat fazla etkisi olmasına rağmen üçünün birlikte yaptığı etkinin azda olsa PON1' den daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir (55).

2.3. Paraoksonaz 1 (PON1)

Paraoksonaz, ilk olarak 1953 yılında Aldridge tarafından tanımlanarak enzim sınıflamasına dahil edilmiştir. Paraoksonaz (PON) Aldridge sınıflama sistemine göre A grubu arildialkilfosfataz (E.C.3.1.8.1) sınıfı bir ester hidrolaz enzimidir. A esterazlar, grup olarak organofosfatlar, karbamatlar ve aromatik karboksilik esterleri hidrolize ederler. Paraoksonaz da bir organofosfat olup A esteraz grubunda yer almaktadır. Enzim aktivitesi ölçümünde ilk olarak paraokson substratı kullanıldığı için bu ismi almıştır. Paraoksonaz (arildialkilfosfataz, E.C.3.1.8.1) ve arilesteraz (ARE, E.C.3.1.1.2) her ne kadar iki ayrı enzim olarak algılansa da, yapılan çalışmalar sonucu insan serumunda tek gen ürünü enzimin hem ARE hem de PON aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (56).

Paraoksonaz insan serumunda ilk olarak 1961’ de Uriel tarafından elektroforez sonrasında HDL immunopresipitatlarında saptanmıştır. Ardından özellikle saflaştırılmış sığır serum paraoksonazının lipidlerle ilişkili olduğu ve HDL kompleksi ile aynı molekül küteside olduğu ileri sürülmüştür (57). 1988 yılında Mackness ve arkadaşları, PON1’ ın HDL üzerinde Apo A-I’ e bağımlı olarak aktivite gösterdiğini ve 1991 yılında da LDL üzerindeki peroksit birikimini azalttığını bulmuşlardır. Popülasyon çalışmaları enzim aktivitesi ve HDL, Apo A-I, Apo A-II arasında istatistiksel ilişki olduğunu göstermiştir (58). Ayrıca son immunoaffinite kromatografi çalışmaları, insan serum paraoksonazının gerçekte Apo A-I ve Apo J içeren HDL tipleri ile ilişkili olduğunu ve paraoksonaz içeren HDL’ nin total HDL’ nin çok küçük bir bölümünü oluşturduğu gösterilmiştir (59).

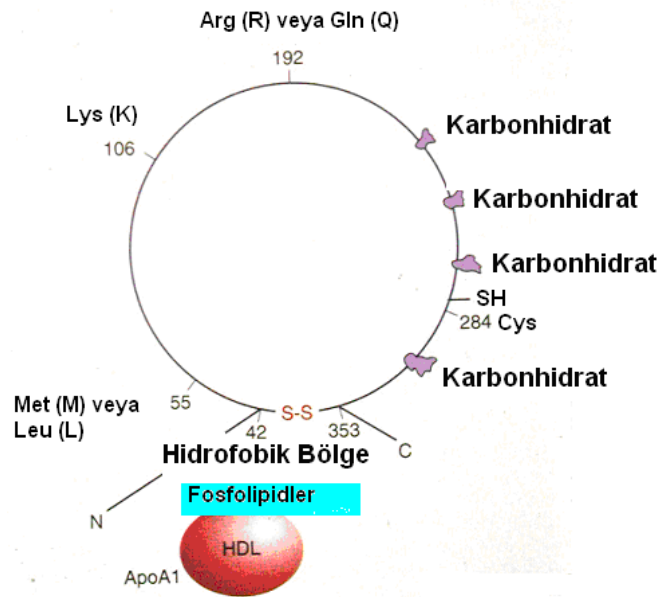
2.3.1. Yapısı ve özellikleri

İnsanlarda ve farelerde aynı kromozom üzerinde, birbirine komşu üç ayrı PON geni (PON1, PON2, PON3) bulunmaktadır. İnsanlarada % 65-92 fenotipik değişkenlik gösterdiği, baskın olarak 7. Kromozomun uzun kolunda, q21.22 bölgesinde birbirine komşu oldukları bildirilmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda kromozom 3 ve 14’ de lokalize PON1 gen aktivitesi bildirilmektedir. Üç PON (PON1, PON2, PON3) genlerinin proteinleri, aminoasit dizilimi açısından birbiriyle yaklaşık % 53 homoloji göstermektedir. PON1’ de 106. kodonda lizin bulunurken, PON2 ve PON3’te lizin bulunmamaktadır. Her üç proteinin dokulardaki ekspresyonları, dağılımları birbirinden farklıdır. PON1 ve PON3’ ün karaciğer ve plazmada bulunmasına karşılık, PON2’nin karaciğer, böbrek, kalp, beyin, testis dokularında özellikle endotel tabakasında bulunduğu ve aortik düz kas hücrelerinde de yer aldığı immünohistokimyasal yöntemle gösterilmiştir (60). İnsan Serum PON aktiviteleri yenidoğan ve prematürlerde erişkin düzeylerinin yarısı kadar görülür ve doğumdan yaklaşık bir yıl sonra normal düzeylere ulaşır (61).

PON1 proteinin ekspresyonu karaciğer ve pankreasta yüksek, beyin ve akciğerde ise az miktarda olmaktadır. Karaciğerde sentezlenen ve dolaşıma verilen PON1’ in HDL yapısında yer aldığı bilinmektedir. PON1, hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL-lipidlerine kolayca bağlanabilmektedir. PON1’ i bağlayan HDL alt birimleri, Apo A-I ve Apo J (klusterin) proteinlerini de içerdiğinden, Apo A-I ve Apo J’nin bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (62).

PON1' in en iyi bilinen fonksiyonu; sinir gazları (soman, sarin) gibi aromatik karboksilik asit esterleri ve insektisitler gibi organofosfatlara ters bağlanıp hidroliz ederek, dolaşıma giren organofosfatların nörotoksisitesini engellemesidir. PON1' in paraoksona etkisi ile oluşan hidrolitik ürünler, paraoksonun kendisine göre daha az zararlıdır.

Paraoksonaz, aktivitesi ve kararlılığı için Ca^{+2} iyonuna bağımlı 43-45 kDa molekül ağırlığına sahip bir enzimdir. İzoelektrik noktası 5.1' dir. 354 amino asit içeren serum PON1 enziminin amino asit bileşimi yüksek lösin içeriği dışında bir özellik göstermez. Yapısında üç karbonhidrat zinciri vardır. Yapısında bulunan üç sistein amino asidinden 284. pozisyondaki serbest iken, 42.ve 353. sistein rezidüleri arasında tek disülfid bağı bulunur. Serbest sistein, substrat tanınması ve bağlanması için gereklidir. 284. pozisyondaki sisteinin, LDL' yi oksidasyondan korumada önemli bir fonksiyona sahip olmasına karşın organofosfatların hidrolizinde bir etkisi gözlenmemiştir. Enzim aktivitesi sülfhidril bileşikler ile inhibe olurken bu inhibisyon sistein ile geri döner. Bu da PON1' in antioksidan kapasitesinin serbest tiyol gruplarının varlığına bağlı olduğunu göstermektedir (63).



Şekil 2.5. PON1' in yapısı- Balcı ve ark. (64)' ndan alınmıştır.

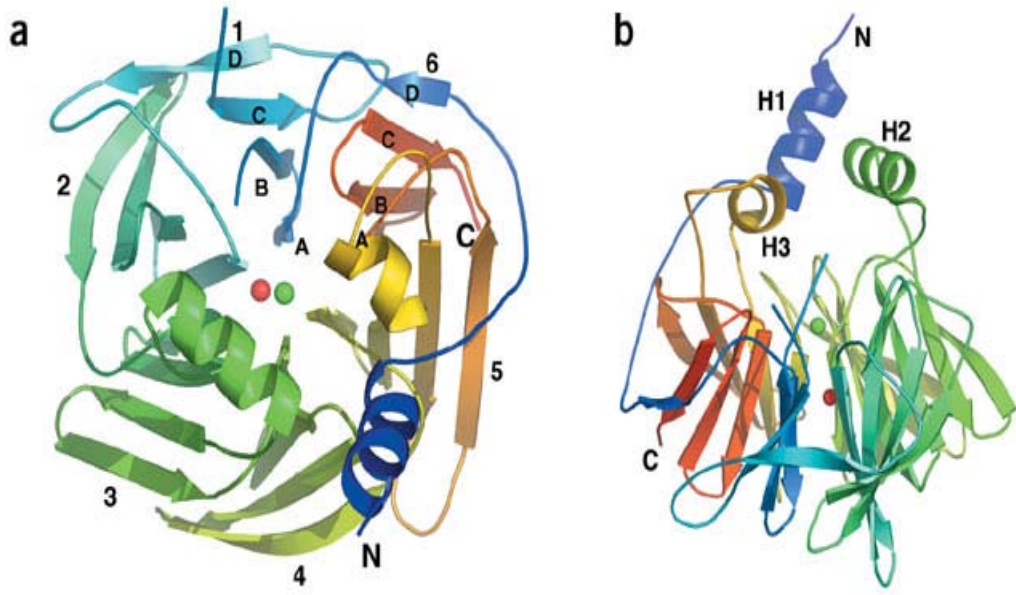
Rekombinant PON1 (rePON1) ile yapılan çalışmalarda, 42. ve 353. pozisyonda bulunan disülfid bağının rePON1' in sekresyon ve aktivitesi için çok önemli olduğu gösterilmiştir (65). PON1, pervane şeklinde yerleşmiş ve her biri 4

sıradan oluşan 6 adet β tabakadan meydana gelmiştir. Amino terminaline yakın 6D tabakasında bulunan Cys42 kalıntısı ve 6C tabakasında bulunan Cys353 kalıntısı arasında disülfid bağıyla bu yapı stabilize edilir. N terminal ve C terminal uçlarının bu şekilde kovalent bağlanması PON ailesinde korunmuştur.

PON1' in yapısında hem stabilite hem de aktivite için β tabakaların merkezinde $7.4 \text{ \AA}$ aralıklı iki adet kalsiyum iyonu bulunmaktadır. Bu özellik PON' ı Co^{+2} , Mn^{+2} , Mg^{+2} kullanan diğer "A" esteraz enzimlerinden ayırır. Bu kalsiyumlardan biri (Ca1) üstte, diğeri (Ca2) merkezde bulunmaktadır (Şekil 2.6.). Ca2 yapısal kalsiyum olup yapıdan uzaklaştırılması dönüşümsüz denaturasyona neden olmaktadır. Ca1 ise katalitik etkinlikte görev alan kalsiyumdur. Bu kalsiyum iyonu $2.2\text{-}2.5 \text{ \AA}$ uzaklıkta 5 adet amino asit kalıntısı (Asn224, Asn270, Asn168, Asp269 ve Glu53) ile etkileşim halindedir. İki kalsiyum iyonunun affiniteleri farklılık göstermektedir. Ca1' in bağlanması Ca2' den daha fazladır. Katalitik etkinlikte yer alan kalsiyum iyonu bir su molekülü varlığında fosfat iyonunun oksijeni ile etkileşir ve paraoksonun " P=O " bağı polarize ederek dietilfosfatın aktif alandan ayrılmasını kolaylaştırır. Kalsiyum iyonunun aktivitede oynadığı önemli rolden dolayı enzim aktivitesinin ölçümünde serum yada heparinli plazma kullanılır. PON1' in organofosfat substratlarına karşı hidrolitik aktivitesi iki kalsiyuma da bağımlı iken, lipit peroksitlerin birikimini önlemede sadece yapısal kalsiyumun yeterli olduğu bildirilmektedir (66).

PON1' in yapısında 3 tane hidrofobik heliks yapısı (H1, H2, H3) vardır (Şekil 2.6.). H2 ve H3 hidrofobik heliksler aktif bölgede bulunmaktadır ve aktif bölgenin yapısının belirlenmesi, enzimin HDL' ye bağlanması gibi kritik rolere sahiptir (67).

PON1 üzerinde 4 tane potansiyel N-glikozillenme bölgesi vardır. İki tanesi (Asn 227 ve Asn 270) β -kırmalı tabakaların merkezinde, diğeri ikisi yüzeye bakan bölgede (Asn 253 ve Asn 324) yer almaktadır. PON1 memeli hücrelerden eksprese edildikten sonra bu noktalardan glikolizlenir. PON ailesinin hidrolitik aktivitesi için glikozilasyon önemli değildir. Ancak enzim yapısında bulunan bu karbonhidrat moleküllerinin hücre membranlarına spesifik olmayan bağlanmada veya kararlılığı ve çözünürlüğü artırmada etkili olabileceği düşünülmektedir (68).



Şekil. 2.6. PON1 proteininin üç boyutlu yapısı-Josse ve ark. (65)' ndan alınmıştır.

(a) 6' lı β pervane yapısının üstten görünümü. N, C terminali ve merkezde 2 kalsiyum iyonu (Ca1, yeşil; Ca2, kırmızı) (b) 6' lı β pervane yapısının yandan görünümü. H1, H2, H3 helixlerinin görünümü.

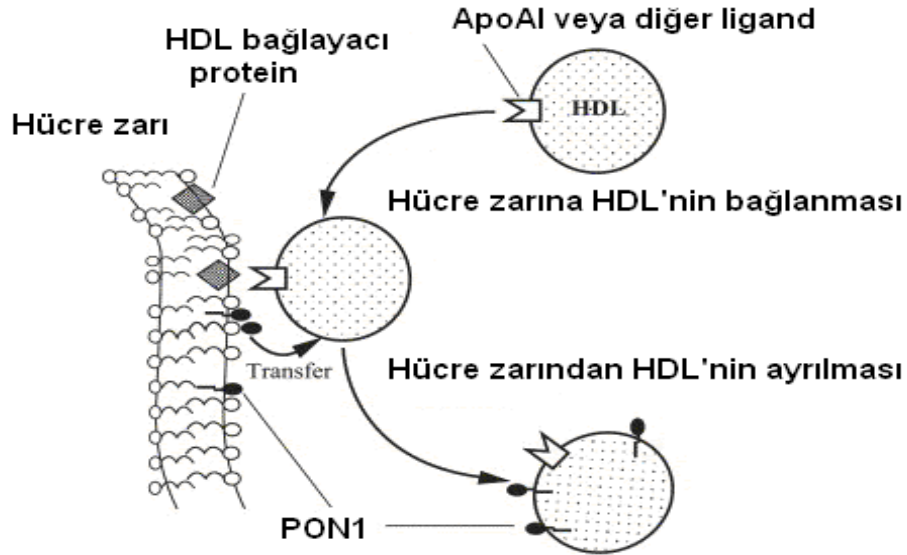
Yapılan çalışmalar PON1 enziminin total HDL'nin ancak % 10' luk bir kısmı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. HDL alt gruplarından moleküler yapısı daha büyük olan HDL2' nin kardiyoprotektif etkisinin moleküler yapısı daha küçük olan HDL3' göre daha çok olduğu tespit edilmiştir. Ancak yapılan araştırmaların bazılarında PON1 enziminin daha çok HDL3 ile ilişkili olduğunu, bazılarında ise HDL2 ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır. Bu konuda tam bir kesinlik mevcut değildir.

Genetik faktörler ve çevresel faktörler PON1 ekspresyonunu ve aktivitesini düzenler. PON1 aktivitesi bireyler arasında (10 kattan 40 kata kadar) ve etnik gruplar arası değişkenlik gösterir (64, 69). Serum PON1 düzeyinin ve aktivitesinin bireyler arasında değişken oluşunun bir nedeni PON genindeki kodlama ve promotor bölgelerinde çok sayıda polimorfizm bulunmasıdır. Bireyler arasındaki değişkenliğin diğer sebebi beslenme şekli ve alışkanlıklarıdır. Sigara PON1 düzeyini geri dönüşüz olarak azaltır. PON1 aktivitesi ayrıca gebelik, akut faz reaksiyonları, Apo A-I metabolizmasını etkileyen bozukluklardan etkilenir. Ayrıca yapılan bir çalışmada, yaş ile PON1 enzim aktivitesi arasındaki ilişki incelenmiş ve PON1 enzim aktivitesinin yaşın artışıyla ilişkili olarak azaldığına dikkat çekilmiştir (70).

2.3.2. Sentez ve salgılanması

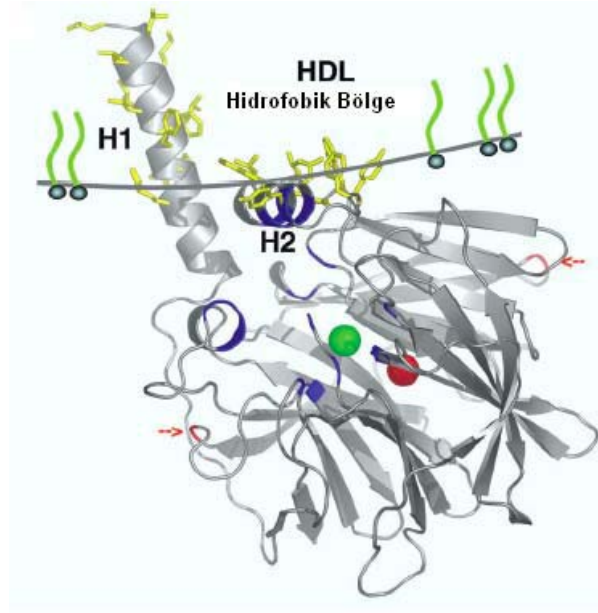
PON1' in salınım mekanizması çok önemlidir çünkü enzimin salınımını etkileyen faktörler, enzimin serum düzeylerini etkilemektedir (71). PON1 insanlarda karaciğerde sentezlenir ve dolaşıma salınır. Lipoproteinlerin yokluğunda çok az PON1 salındığı görülmektedir. Fosfolipit misellerinin ve HDL' nin salınımını stümüle etmesine rağmen LDL' nin ve lipidsiz Apo A-I' in salınımında hiçbir etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, PON1' in dolaşıma salınabilmesi için uygun bir alıcıya ihtiyaç olduğunu ve HDL' nin en etkili fizyolojik alıcı olduğunu göstermektedir.

HDL' ye bağlı olan enzimlerden üç boyutlu yapısı ilk aydınlatılan PON1 enzimidir (68). Yapılan çalışmalarda, enzimin sentezlendikten sonra hücre zarlarının dış yüzeyine bağlanması ve PON1' in hücrelerden salınmasına ilişkin bir hipotez önerilmiştir. Bu hipoteze göre, PON1 sentezlendikten sonra hücrenin dış membranına bağlanmakta, hücre membranı ile HDL' nin kısa süreli etkileşimi sırasında HDL' ye transfer olmaktadır. İnsan PON1 transfekte edilen hücrelerle HDL' nin inkübasyonu sonucu, hücreye bağlı enzim aktivitesinde önemli derecede azalma bulmalarına rağmen kültür ortamında enzim aktivitesinde artış saptamışlardır. Bu bulgular PON1 salınım mekanizmasını desteklemektedir (71).



Şekil 2.7. Hücrelerden PON1' in HDL aracılığıyla salınımı hipotezi-James RW ve ark. (72)' ndan alınmıştır.

PON1, N-terminal hidrofobik sinyal dizisine sahiptir. PON1 salınımindan önce bu bölgenin çıkarılmasıyla oluşturulan mutant-PON1' in HDL' ye bağlanamadığı gösterilmiştir. Bu ise PON1' in HDL' ye hidrofobik N-terminal sinyal dizisi ile bağlandığını göstermektedir. N-terminalin tamamı membranı geçen heliks yapıdadır (Şekil 2.8.). N-terminal yapının 19-18 kalıntısı hidrofilik heliks yapıdadır ve heliks 1 (H1) olarak adlandırılmaktadır. Heliks 2' de (H2) H1 gibi amfipatik yapıdadır. H1 ve H2 yapılarının birbirine yakın hidrofobik kısımları bir araya gelerek potansiyel membrana bağlanma yüzeyi oluştururlar. H2' deki Try 185, Phe186, Try190, Trp194, Trp 202 VE H1' deki Lys21 ile HDL' ye tutunmaktadır. Hepatositlerin zarlarındaki fosfolipid çift tabakasında bulunan PON1 hidrofobik N-terminal sinyal dizisi ile HDL' deki fosfolipidlere bağlanır (73).



Şekil 2.8. PON1' in HDL' ye bağlanması. H1 ve H2 helikslerinin HDL ile etkileşimi-Harel ve ark. (73)' ndan alınmıştır.

2.3.3. PON1 polimorfizmi

PON1 enzim aktivitesindeki polimorfizm substrat bağımlıdır ve farklı etnik geçmişi olan popülasyonlara göre değişir. İlk olarak 1973' te Mallinckrodt ve arkadaşları enzimin genetik polimorfizm sergilediğini ve enzimin aktivitesinin trimodal dağılım gösterdiğine dikkat çekmişlerdir (56).

Epidemiyolojik ve moleküler çalışmalar, PON1 geninin kodlama bölgesinde 192. ve 55. pozisyonlarda olmak üzere iki genetik polimorfizm olduğunu göstermiştir.

Kodon 192' de adenin bazının yerine guanin bazının geçmesi (A→G mutasyonu), proteinde glutamin (Q genotipi) amino asidinin yerine arginin (R genotipi) amino asidinin yer almasına neden olur (PON1-Q192R polimorfizmi). Bu da bireylerde yüksek enzim aktivitesine yol açar (74).

İkinci sık izlenen polimorfizm kodon 55' de lösin (L genotipi) amino asidinin yerine metionin (M genotipi) amino asidinin yer değiştirmesidir (PON1-L55M polimorfizmi). Bu mutasyonun PON1' in aktivitesi üzerine etkisi çok az iken, serumdaki protein seviyesini etkilediği tespit edilmiştir (71).

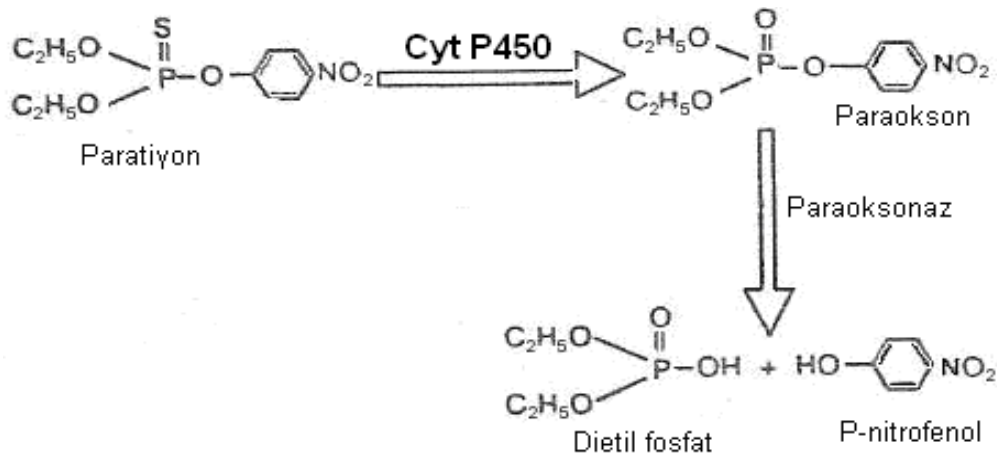
Daha çok çalışılmış olan PON1-Q192R polimorfizmde, enzim aktivitesi açısından QQ homozigot, QR heterozigot, RR homozigot şeklinde trimodal bir dağılım gösterir. PON1' in R alelinin kodladığı proteinin paraokson hidroliz aktivitesi Q aleline göre altı kat daha yüksektir. Homozigot RR bireyler yüksek aktivite gösterirken, QR heterozigot bireyler ılımlı yüksek ve QQ homozigot bireyler düşük aktivite gösterirler (74). Buna karşılık, bazı çalışmalarda PON1' in Q alloenzimini içeren HDL' nin, LDL' yi bakırla indüklenen oksidasyona karşı korumada daha etkili olduğu, bunun da nedeninin Q alloenziminin lipid peroksitleri metabolize etme aktivitesinin yüksekliği olduğu ileri sürülmüştür (74). Q alelinin PON1' in ateroskleroza karşı koruyucu etkisinden sorumlu olduğu, R alelinin ise KVH riski ile ilişkili olduğu pek çok çalışmada bildirilmiştir (75).

Polimorfizm ARE aktivitesini etkilememektedir. Bu nedenle ARE aktivitesi PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız olarak asıl protein konsantrasyonunun bir göstergesi olarak kabul edilir (74).

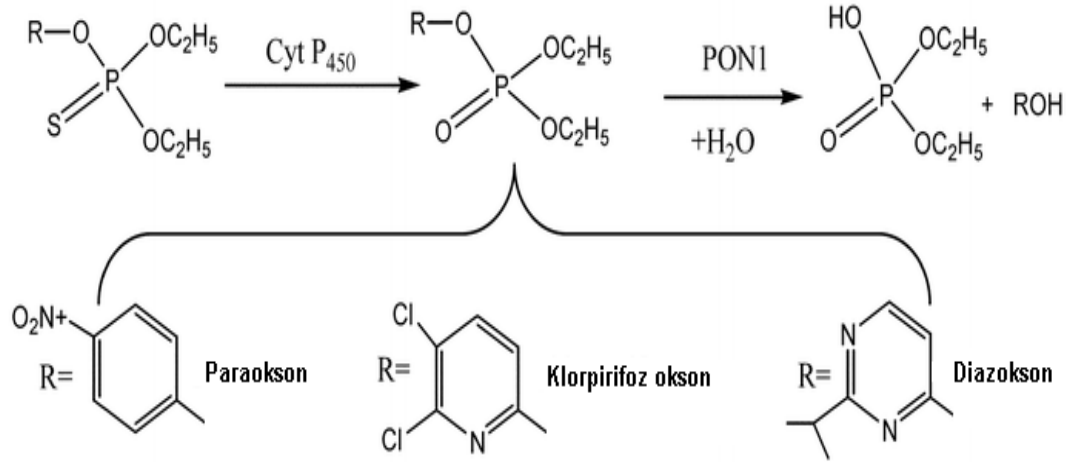
PON1 fenotipleri kantitatif ve kalitatif farklı özellikler gösterirler. PON1' e ait iki izoenzimin (Q ve R9 tuz ve pH' a farklı yanıtlarını temel alan iki fenotip yanıtlanmıştır. Paraokson, Q ve R izoenzimleri için ayırt edici bir substrattır. Tuza yanıt veren R fenotipi paraoksona karşı daha yüksek enzim aktivitesine sahiptir. Paraoksonaz aktivitesi 1 M NaCl ile stümüle edildiğinde düşük aktiviteli form (Q) inhibe olur, yüksek aktiviteli form (R) inhibe olmaz aksine aktivitesi maksimuma çıkar. Paraokson Q ve R izoenzimleri için ayırt edici bir substrat olmasına karşın fenilasetat ayırt edici bir substrat değildir, her iki izoenzim tarafından da benzer hızlarla hidroliz edilir (71).

2.3.4. PON1 fonksiyonu ve katalizlediği reaksiyonlar

PON1' in en iyi bilinen koruyucu fonksiyonu, organofosfat sinir ajanlarını, aromatik karboksilik asit esterlerini ve insektisidleri hidroliz etme yeteneğidir. Organofosfor pestisitleri (örneğin paratyon), tarımda toksik olmayan tiyosülfür bileşikleri türevleri olarak kullanılır. İn vivo olarak sitokrom p-450 bağımlı mikrozomal monooksijenazlar ile, oksidatif desülfirasyon tepkimesiyle, oldukça toksik oksijen analoglarına (okson) analoglarına aktive olurlar (oksidatif desülfirasyon). PON1 paratyonun oksidatif desülfirasyonu ile oluşan paraoksonu hidroliz ederek p-nitrofenol ve dietilfosfat oluşumuna yol açar (Şekil 2.9.). Bu süreç daha çok tıyonlar ve oksonları detoksifiye edebilen enzimlerin (glutatyon-S transferaz, monooksijenaz, PON1) yer aldığı karaciğerde olur ve hepatik organofosfat metabolizması detoksifikasyon yönündedir. Memelilerde hepatik detoksifikasyondan kaçan herhangi bir okson organofosfat etki alanına ulaşmadan önce kanda serum PON1 ile hidroliz edilebilir. Bazı organofosfatların (örneğin primifosmetilokson), serum PON1 ile hidrolizi hızlıdır, aslında beyine hiç aktif organofosfat ulaşmayacağı tahmin edilebilir (56). İnsan serum PON1 enzimi paratyon, diazion ve kloropirifos gibi çok sayıda insektisitın toksik okson metabolitlerini ve soman, sarin ve tabun gibi organofosfat sinir ajanlarını hidroliz edebilmektedir (Şekil 2.10.). İnsan sağlığı açısından organofosfatlı bileşikler terörizm tehdidi kadar bir çevresel risk oluşturur. PON1 enziminin çok yönlü bir araştırma konusu olmasının en önemli nedenlerinden biri budur (8).



Şekil 2.9. Paraoksonun enzimatik hidrolizi-Dragonov ve ark. (8)' ndan alınmıştır.



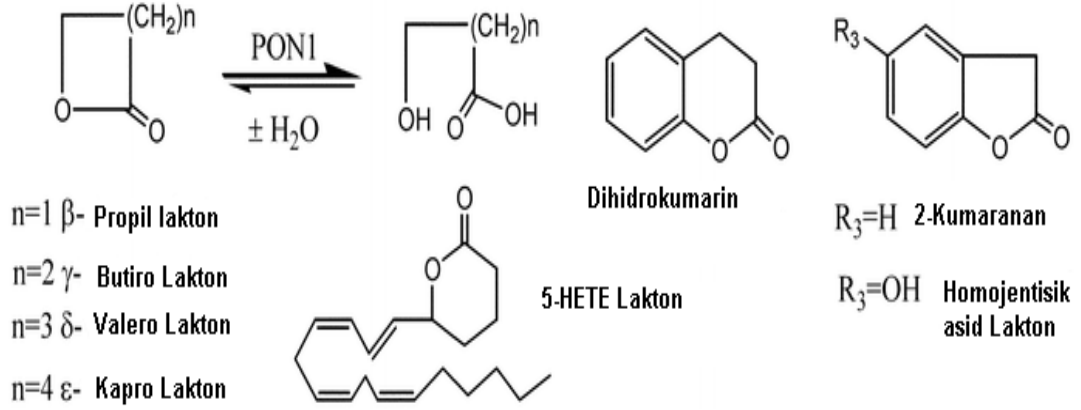
Şekil 2.10. İnsektisitlerde yaygın olarak kullanılan okson metabolitlerinin hidrolizi- Dragonov ve ark (8)’ ndan alınmıştır.

PON1, paraokson, diazoxon, sarin ve soman gibi onorganofosfatları hidrolize etmesinin yanında fenilasetat gibi erilesterleri de hidroliz edebilmektedir. PON1’ in paraoksonaz aktivitesi, substrat olarak paraokson kullanıldığında ölçülen aktivite olup, PON1’ in arilesteraz aktivitesi ise fenilasetat substrat olarak kullanılması ile ölçülen aktivitedir. Paraoksonaz enzimi geniş bir substrat özgüllüğü gösterirken, fizyolojik substratı tam olarak belirlenmemiştir. Ancak arilesteraz, organofosfat ve laktonaz aktivitelerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu aktivitelerin tümünün tek bir aktif merkezde mi yoksa birden fazla aktif merkezde mi gerçekleştiği ve substrat seçiciliğinin nasıl belirlendiği de henüz tespit edilmemiştir (76).

Son yıllarda yapılan yapı-aktivite çalışmalarında, PON1’ in doğal aktivitesinin laktonaz olduğu bildirilmiştir ve son yayınlar enzimi Ca-bağımlı lipofilik laktonaz olarak tanımlanmaktadır. PON1 özellikle LDL ve HDL lipitlerinin okside olmasını önleyerek ve HDL ve LDL’ de 5-hidroksieikozotetraenoik asit lakton gibi yağ asidi oksidasyon ürünlerini metabolize ederek ateroskleroza karşı koruyuculuğunu sahip olduğu laktonaz aktivitesi ile göstermektedir. Söz konusu enzim 4 atomdan 7 atoma kadar değişen lakton halkası içeren en az 30 çeşit laktonu hidroliz etmektedir (77).

Alifatik lakton substratı olan δ -valerolakton (6 halkalı lakton), γ -butirolakton (5 halkalı lakton) ve ϵ -kaprolakton (7 halkalı lakton) daha hızlı hidroliz

edilmektedir (Şekil 2.11.). PON1 enziminin aromatik laktonlara afinitesi alifatik laktonlara oranla daha fazladır ve bu substratları daha kolay hidrolizler (56,77).



Şekil 2.11. Lakton hidrolizi-Billecke ve ark. (78)' ndan alınmıştır.

PON1 enziminin laktonaz aktivitesi için 284. rezidüde bulunan serbest sistein amino asiti oldukça önemlidir. Bu serbest sistein rezidüsünün, söz konusu enzimin laktonaz aktivitesi için gerekli olduğu belirtilmektedir. PON1' in sahip olduğu laktonaz aktivitesi aracılığıyla LDL ve HDL fosfolipitlerinin oksidasyona karşı koruduğu düşünülmektedir (78).

2.3.5. Kardiyovasküler hastalıklar ve PON1

Serum PON1' inin ateroskleroz sürecinin başlangıç evresinde LDL fosfolipidlerini oksidasyona karşı korumada önemli olduğu ilk olarak 1991 yılında Mackness ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada gösterilmiştir. Bu araştırmacılar, HDL' nin LDL' de bakırla inkübe edilen lipid peroksit oluşumunu % 90 oranında inhibe ettiğini; HDL' den saflaştırılan PON1' in tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddelerin (TBARS) düzeylerini ve lipid hidroperoksit oluşumunu önlediğini göstermişlerdir (79). PON1 enzimi eksik olan fareler diyet ile indüklenen ateroskleroza duyarlı hale geldikleri ve bu farelerin HDL' lerinin LDL oksidasyonunu önleyemedikleri gösterilmiştir. PON1' in LDL' nin yanı sıra HDL' yi de oksidasyondan koruduğu ve böylece makrofajlardan kolesterol çıkışını artırdığı gösterilmiştir. Bu durum makrofajlarda kolesterol birikimin engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve aterosklerozun gelişimini yavaşlatmaktadır (80) .

PON1, lipid peroksidlerin yanı sıra hidrojen peroksit üzerine de etkilidir. Aterojenez sırasında arter duvarı hücrelerince üretilen majör toksik oksijen metaboliti olan hidrojen peroksit, oksidatif koşullarda daha potent ürünlere

dönüşerek LDL oksidasyonuna neden olur. PON1' in okside LDL' deki kolesterol linoleat hidroperoksitlerini ve hidroksitleri indirgemesi nedeni ile peroksidaz benzeri aktivitesi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca lipopolisakkarid inaktivasyonu yolu ile bakteriyel endotoksinlere karşı koruma sağlamaktadır (81).

Mackness ve arkadaşları yaptığı bir araştırmada obezite, dislipidemi, HT, insülin direnci ve bozulmuş glukoz toleransı geliştirilen, kombine leptin ve LDL reseptör eksikliği olan farelerde düşük PON1 aktivitesi saptamışlardır. Bu farelere PON1 geni aktarımıyla PON1 ekspresyonu artışının ateroskleroz gelişimine olan etkisini araştırmayı planlamışlardır. PON1 ekspresyonunun, ateroskleroz gelişimini inhibe ettiği, plasma okside LDL' yi azalttığı, total plak hacmini ve plaktaki okside LDL miktarını azalttığını göstermişlerdir. PON1 ekspresyonunun, plazma total kolesterol, trigliserid düzeylerini ve HDL profilini etkilemediği bu nedenle PON1' in antiaterosklerotik etkisini lipid ve lipoproteinleri azaltarak değil, LDL oksidasyonunu azaltarak gösterdiği sonucuna varılmıştır (82).

HDL' deki PON1' in LDL oksitlenmesini önleyerek inflamatuvar yanıtları engelliyor olabileceği düşünülmüş, ancak akut faz reaksiyonu süresince PON1 aktivitesinin önemli derecede kaybolduğu, bu nedenle akut faz reaksiyonu sırasında HDL' nin LDL' yi koruyamadığı gösterilmiştir (83). Ayrıca, koroner aterosklerozlu hastalarda HDL' nin LDL' yi oksitlenmeden koruyamadığını bildirilmiş ve bunun düşük serum PON1 aktivitesinden kaynaklanıyor olabileceği öne sürülmüştür. Mackness ve arkadaşları ise, serum PON1 aktivitesinin ve konsantrasyonunun miyokard enfarktüsü belirtilerinin başlamasından sonraki 2 saat içinde azaldığını, PON1 düzeyinin miyokard enfarktüsü sonrasındaki 42 gün boyunca akut faz reaksiyonu geçmiş olduğu halde değişmediğini göstermiş ve PON1 aktivitesindeki bu azalmanın akut olgunun öncesinde mevcut olabileceğini bildirmişlerdir (79).

Tüm bu verilere ek olarak, ateroskleroza yatkınlık oluşturan beslenmenin tavşanlarda, farelerde ve insanlarda PON1 düzeyini azalttığı gösterilmiştir. Koroner kalp hastalığı olan kişilerde arttığı gösterilen ve PON1' in substratı olan lipid peroksitler aynı zamanda PON1' in inhibitörüdür. Sonuç olarak PON1 aktivitesinin düşük oluşundan, koroner kalp hastalığında yaygın olan çevresel faktörlerin, PON1-M55L ve PON1-Q192R polimorfizmleri gibi genetik faktörlere göre daha fazla sorumlu olabilir denmektedir (84).

2.3.6. PON1 ve diğer hastalıklar

PON1 seviyelerindeki değişkenlikleri, genetik polimorfizmi ile çeşitli hastalıklar arasındaki ilişki bir çok çalışmalarda gösterilmiştir. İlişkili hastalıklar; inme, pankreatit, intestinal inflamatuvar hastalıklar, kronik böbrek yetmezliği, amiotrofik lateral skleroz, lupus eritematozus, meme kanseri, akciğer kanseri, prostat kanseri, infertilite ve bakteriyel infeksiyonlar sayılmaktadır (85).

DM' li hastalarda serum bazal PON1 düzeyi ve stümüle PON1 düzeyleri anlamlı olarak düşük saptanırken, serum malonil dialdehit (MDA) düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur. Hiperglisemi artmış oksidatif stres PON1 aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır. Bu nedenle PON1 glisemi kontrol ve komplikasyonlarının gelişiminin bir göstergesi olabilmektedir (83).

Artmış kan glukoz düzeyi proteinlerin glikasyonuna neden olur. Glikasyon hem serbest radikal üretimine neden olur hem de antioksidan enzimlerin yapı ve fonksiyonunu değiştirerek onların serbest radikalleri ortadan kaldırma yeteneğini azaltır (85). Bu konuda yapılan bir araştırmada saflaştırılmış PON1 enziminin 25 mmol/L glukoz ile inkübasyonu PON1 aktivitesinin % 40 azalması ile sonuçlanmıştır. Glikasyon PON1 enziminin inaktivasyonuna ve HDL' de lipid peroksitlerinin artışına yol açar. HDL' nin glikasyona uğraması oksidasyona karşı koruma yeteneği de azalmaktadır (86). Diyabet hastalarıyla yapılan bir çalışmada PON1 enziminin aktivitesinin ve konsantrasyonunun azalmış olduğu ve HDL' nin de oksidasyona karşı koruma yeteneğinin azaldığı gösterilmiştir. Yine metabolik sendromlu hastalarda, artmış insülin direnci ve anormal açlık glukozu bulunan kişilerde PON1 aktivitesi düşük bulunmuştur (87).

Bazı çalışmalarda PON1 polimorfizmi ile diyabet ve diyabetik komplikasyonların (nefropati veya retinopati gibi) oluşması arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Özellikle PON-155L polimorfizminin diyabetik komplikasyonlardan retinopati ile ilişkili olduğu, PON1-192R polimorfizminin ise diyabetik hastalarda koroner kalp hastalığı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (88).

Patogenezinde lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasar sonucu gelişen nörodejenerasyon olduğu bilinen Alzheimer ve Parkinson hastalıklarının gelişiminde PON1' in önemli olduğu düşünülmektedir. PON1 çevresel nörotoksinleri de metabolize ettiğinden dolayı yaşlılıktaki nörodejenerasyonda sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir. Alzheimer hastalığında PON1 aktivitesi düşük bulunmuştur (89).

PON1 192R ve 108T polimorfizmi Alzheimer ile ilişkili bulunmuştur (90). Parkinson hastalığı yaşlı bireylerde görülen en yaygın nörodejeneratif hastalıklardan biridir. PON1 polimorfizminin çevresel nörotoksinlerin hidrolizine etkisi farklıdır. Homozigot RR polimorfizmi paraoksonu daha hızlı hidroliz etmesine rağmen, diazokson, soman ve sarin gibi nörotoksinlerin hidrolizi yavaştır. Yapılan çalışmada PON1' in 192R polimorfizmi Parkinson hastalığına genetik yatkınlığı artırabileceği gösterilmiştir (91).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik kurul onayı

AİBÜ Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları Etik Kurulunun 10.09.2008 tarih ve 105 sayılı kararı ile çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna dair onay alındı.

3.2. Örnek toplanması ve dışlama kriterleri

Bu çalışma için Abant İzzet Baysal Üniversitesi (AİBÜ), Tıp Fakültesi, Bolu Uygulama ve Araştırma Merkezi, Merkez Laboratuvarı, Kan Alma Ünitesine rutin kontrol için gelenler veya hasta yakınları arasından sistemik herhangi bir hastalığı olmayan 60 obez kadın (android, n=30 ve jinoid, n=30) ve 30 kontrol grubu olmak üzere toplam 90 kişi dahil edildi. Obezite grubu Ulusal Sağlık (NIH) enstitüsünün kriterlerine göre alındı (17, 92). VKİ' si 30 kg/m^2 ve üzeri olanları obez, bunlarında BKO'nı 0.85' den büyük olanlar android obez, 0.85' den küçük olanlar jinoid obez olarak sınıflandırıldı.

Çalışmaya katılan bireylerde, son üç ayda serebrovasküler hastalık geçirme öyküsü, önemli kilo kaybı olması, son altı ayda doğum yapmış olması, HT, DM, geçirilmiş MI, anoreksiya/bulimia öyküsü, ilaç kullanımı (Aspirin, Antiinflamatuvar, OKS, Hipolipidemik ilaçlar vs.), vitamin, antioksidan, sigara kullanımı, gebelik, menapozal-postmenapozal durum, hepatik, renal, tiroid, aterosklerotik hastalıkları, pituitar hastalığı veya disfonksiyonu olup olmadığı çalışma dışı bırakılma kriteri olarak kabul edildi.

Kriterlere uygun hastalar araştırmaya hakkında bilgilendirildi ve "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu" okutulup, onay alınmasının ardından çalışmaya dahil edildi.

3.3. Obezite tayininde antropometrik ölçüm yöntemi

VKİ değeri, bireylerin ağırlıkları (kg) boy ölçümünün metrakaresine bölünerek elde edildi. BKO değeri, bel çevresinin (sonuncu kosta ile krista iliyaka arasındaki mesafenin ortası) ölçümünün (cm) kalça çevresi (trokanter majoris düzeyinde önde simfizis pubis arkada gluteuslar üzerinden geçen maksimum çap) ölçümüne oranı olarak hesaplandı. Tüm olguların VKİ ve BKO' ları hesaplanıp kesme değerleri sırasıyla 25 kg/m^2 ve 0.85 kabul edilerek gruplara ayrıldı (92). Tüm olguların VKİ ve BKO' ları hesaplanarak kesme değerleri sırasıyla 25 kg/m^2 ve 0.85 kabul edilerek gruplara ayrıldı. Grup 1 ($\text{VKİ} \leq 25 \text{ kg/m}^2$, $\text{BKO} < 0.85$) yaş ortalamaları 27.13 ± 5 , yaş aralığı 21-38, Grup 2 ($\text{VKİ} \geq 30$, $\text{BKO} > 0.85$) yaş ortalamaları 35.56 ± 8 , yaş

aralığı 25-47, Grup 3 ($VKI \geq 30$, $BKO < 0.85$) ise yaş ortalamaları 34.03 ± 7 , yaş aralığı 28-47 olan kişiler VKİ ve BKO değerlerine göre sınıflandırıldı.

3.4. Serum örneği alım prosedürü

Çalışmaya katılanların oniki saatlik gece açlığını takiben, saat 09.00' da oturur vaziyette venöz kan örnekleri alındı. Serum eldesi için pıhtı aktivatörü içeren jel separatörlü kuru tüpler (Vacuette, Greiner Bio-one GmbH, Kremsmünster, Avusturya) kullanılarak 8 ml ve K_3EDTA ' lı tüpler (Vacuette, Greiner Bio-one GmbH, Kremsmünster, Avusturya) kullanılarak 2 ml kan alındı. Alınan kan örnekleri pıhtılaşması için oda ısısında 30 dakika bekletildi. Daha sonra $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 1250 g' de 15 dakika santrifüj edilerek serum ve plazma ayrıldı. Serum örnekleri analiz yapılacak güne kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de saklandı. Analizden hemen önce dondurulmuş örnekler aşamalı olarak çözülde. Tekrarlanan dondurma ve çözme işleminden kaçınıldı.

3.5. Kullanılan cihazlar ve kalite kontrolü

Laboratuvar çalışmaları AİBÜ Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı ve Tıbbi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı.

Ölçümler sırasında kullanılan cihazlar;

1. Spektrofotometre “UV-2700 Model Double-Beam Spektrofotometer, Shimadzu Co. , Kyoto, Japonya”

2. Otoanalizör “Abbott Architect Ci 8200 (Chicago, IL, ABD) ”

3. Nefelometre “BN prospec (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, ABD) ”

Glukoz , trigliserit, HDL-K, total kolesterol, kreatinin, insülin testleri için internal kalite kontrol serumları olarak BIO-RAD Lyphochek Assayed Chemistry Control (Katalog no: C-310-5, Hercules, CA, ABD), eksternal kalite kontrol için EQAS Clinical Chemistry (Monthly) Program (Katalog no: BC5L, BC50/QC50, Hercules, CA, ABD) kullanılmaktadır.

3.6. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü

Tüm standartlar, kontroller, serumlar, kitler kullanmaya başlamadan önce oda ısısına ($18-26\text{ }^{\circ}\text{C}$) getirildi.

3.6.1. PON1 aktivite ölçümü

Serum paraoksonaz aktivitesi, Rel Assay Diagnostics ticari kit kullanılarak ölçüldü (Katalog no: 5D43, Gaziantep, Türkiye). Testin % CV değerleri, üretici firma tarafından, düşük, orta ve yüksek serum havuzlarında sırasıyla 4.1, 1.7 ve 1.5 olarak bildirilmiştir.

Birinci reaktif kiti; Tris-HCl tamponu (PH: 8.0, 100 mM) ve CaCl₂ (2 mM); ikinci reaktif ise; substrat solüsyonu (paraokson, 5 mM) içermektedir.

Metodun prensibi, substrat olarak kullanılan paraoksonun enzimatik hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenolün spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Serum paraoksonaz aktivitesi spektrofotometre ile kinetik olarak ölçülmüştür. Paraoksonazın çalışma yöntemi Tablo 3.1.' de özetlenmiştir.

Deneyin yapılışı;

Tablo 3.1. Paraoksonaz 1 çalışma yöntemi.

Numune	50 µL
Reaktif 1	1000 µL
5 dakika bekletildi	
Reaktif 2	50 µL

Reaksiyon sonucu oluşan P-nitrofenolün dakikada oluşturduğu absorbans 412 nm' de spektrofotometre cihazında ölçüldü. P- nitrofenol için molar absorbsiyon katsayısı $\epsilon_{412} = 18290 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olarak alındı. Paraoksonaz aktivitesinin bir ünitesi, bu ölçüm koşullarında dakikada bir µmol paraoksonu hidroliz eden enzim miktarı olarak tanımlanmış ve enzim aktivitesi U/L şeklinde ifade edilmiştir.

3.6.2. Arilesteraz aktivite ölçümü

Serum arilesteraz düzeyi Rel Assay Diagnostics arilesteraz aktivitesi ölçüm kiti (Katalog no: 4D23. Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Testin % CV değerleri, üretici firma tarafından, düşük, orta ve yüksek serum havuzlarında sırasıyla 4.0, 3.3 ve 3.1 olarak bildirilmiştir.

Birinci reaktif kiti; fenilasetat (2 mmol/L), Tris-HCl tamponu (100mM, pH:8), dilüsyon solüsyonu; ikinci reaktif ise; CaCl₂ (2 mmol/L) içermektedir.

Metodun prensibi; substrat olarak kullanılan fenilasetatın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan fenolün kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Arilesterazın çalışma yöntemi Tablo 3.2.' de özetlenmiştir.

Deneyin yapılışı;

Tablo 3.2. Arilesteraz çalışma yöntemi.

	KÖR	NUMUNE
Numune (1/50 Dilüe)	—	18 µL
Distile Su	570 µL	570 µL
Süre	4 dakika	5 dakika
Reaktif 1 (R1)	30 µL	30 µL
Distile Su	195 µL	195 µL
Reaktif 2 (R2)	240 µL	240 µL

Reaksiyon sonucu oluşan fenolün dakikada oluşturduğu absorbands 548 nm' de spektrofotometre cihazında ölçüldü. Fenol için molar absorpsiyon katsayısı $\epsilon_{548} = 4000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olarak alınmıştır. Arilesteraz aktivitesinin bir ünitesi bu ölçüm koşullarında dakikada bir mikromol fenilasetatı hidroliz eden enzim miktarı olarak tanımlanmış ve enzim aktivitesi U/L şeklinde ifade edilmiştir.

3.6.3. High sensitif C-Reaktif protein (hsCRP) ölçümü

High sensitive-CRP (hs-CRP) düzeyleri BN Prospec (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, ABD) nefelometre cihazı ile ticari kit kullanılarak nefelometrik yöntemle tayin edildi. Testin doğrusalılığı 204 mg/dL'ye kadardır. Gün içi tekrarlanabilirliği % 3.4, günler arası tekrarlanabilirliği % 2.1, analitik duyalılığı 0.175 mg/L' nin altındadır.

Reaktif kiti; CRP' ye karşı fare monoklonal antikorları ile kaplanmış polistren partiküllerinin süspansiyonunu içermektedir.

Ölçüm yapılan kitin referans aralığı 0-3.19 mg/L idi.

İnternal kalite kontrol için N/T Romatoloji kontrol SL/1 (Katalog no: OQDB13, Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg/Almanya) kullanıldı.

3.6.4. Glukoz ölçümü

Plazma glukoz düzeyi, heksokinaz yöntemi ile Abbott ticari kiti (Chicago, IL, ABD) kullanılarak ölçüldü (Katalog no: 3L82-20). Testin doğrusallığı 761 mg/dL' ye kadardır. Gün içi tekrarlanabilirliği % 0.4, günler arası tekrarlanabilirliği % 1.2, analitik duyarlılığı 0.3 mg/dL' nin altındadır.

Birinci reaktif; β -NADH (1.63 mg/mL), G-6-PDH (1.5 U/mL), Hekzokinaz (3.0 U/mL), TRIS (100 mmol/L), sodyum azid (% 0.1); ikinci reaktif ise; ATP 2Na (4.41 mg/mL), TRIS (400 mmol/L), sodyum azid (% 0.1) içermektedir.

Test prensibi; glukoz-6-fosfatın Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz tarafından spesifik oksidasyonu sırasında, NADP, NADPH' a indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Oluşan NADPH absorbans artışı spektrofotometrik olarak saptanır.

Ölçüm yapılan kitin referans aralığı 75-100 mg/dl idi.

3.6.5. Triglicerit ölçümü

Serum triglicerit düzeyi enzimatik yöntem ile Abbott ticari kiti (Chicago, IL, ABD) kullanılarak ölçüldü (Katalog no: 7D74-20). Testin doğrusallığı 1420 mg/dl ' ye kadardır. Gün içi tekrarlanabilirliği % 0.7 , günler arası tekrarlanabilirliği % 1.6 , analitik duyarlılığı 5 mg/dl' nin altındadır.

Reaktif kiti; ATP (2.5 mmol/L), Mg^{++} (2.5 mmol), 4-Aminoantipirin (0.4 mmol), 4-Klorofenol (2 mmol), Peroksidaz > 2.000 U/L, gliserol kinaz (> 600 U/L), Gliserol fosfat oksidaz (> 6.000 U/L), Lipoprotein lipaz (> 3.000 U/L) içermektedir.

Testin prensibi, trigliseritler enzimatik olarak lipaz tarafından yağ asitlerine ve gliserole hidroliz esasına dayanmaktadır. Gliserol, gliserol kinazlı (GK) adenosin trifosfat (ATP) tarafından gliserol-3-fosfat ve adenosin difosfat (ADP) oluşturmak için fosforile edilir. Gliserol-3-fosfat gliserol fosfat oksidaz (GPO) ile dihidroksiaseton fosfata (DAP) oksidize edilir ve hidrojen peroksit (H_2O_2) üretilir. Peroksidaz ile katalize edilen bir renk reaksiyonunda, H_2O_2 kırmızı renkli bir boya oluşturmak için 4-Aminoantipirin (4-AAP) ve 4-klorofenol (4-CP) ile reaksiyona girer. Bu boyanın absorbansı örnekteki trigliserit varlığının konsantrasyonu ile orantılıdır.

Ölçüm yapılan kitin referans aralığı 0-150 mg/dL idi.

3.6.6. HDL-Kolesterol (HDL-K) ölçümü

Serum HDL düzeyi enzimatik yöntem ile Abbott kiti (Chicago, IL, ABD) ile ölçüldü (Katalog no: 3K33-20). Testin doğrusallığı 180 mg/dL' ye kadardır. Gün içi

tekrarlanabilirlik % 1.7, günler arası tekrarlanabilirlik % 5.1' dir. Analitik duyarlılığı 5.0 mg/dl' nin altındadır.

Birinci reaktif 1, kolesterol oksidaz (< 1.000 U/L), peroksidaz (< 1.300 ppg U/L), N, N-bis (4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodyum, hızlandırıcı (< 1.0 mmol/L), askorbik oksidaz (< 3.000 U/L); ikini reaktif ise; kolesterol esteraz (< 1.500 U/L), 4-Aminoantipirin (< % 0.1), deterjan (< % 2.0) içermektedir.

Serum HDL ölçüm metodu çöktürmesiz yöntem kullanılarak yapıldı. Test prensibi, kolesterol oksidazın non-HDL esterleştirilmemiş kolesterol ile reaksiyonunun hızlandırılması ve HDL kolesterolünün özgül bir deterjan yardımıyla seçici bir şekilde çözündürülmesine dayanmaktadır. Birinci reaktifte, non-HDL esterleştirilmemiş kolesterol bir enzim reaksiyonuna maruz kalır ve oluşan peroksit, renksiz bir ürün ortaya çıkaracak şekilde DSBmT ile bir peroksidaz reaksiyonu ile tüketilir. İkinci reaktif, bir deterjan (HDL kolesterolünü çözdürme yeteneğine sahiptir), kolesterol esteraz ve HDL kolesterolünün kantitatif belirlenmesi için boya verecek kromojenik bağlayıcıdan oluşur.

Ölçüm yapılan kitin referans aralığı 35-55 mg/dL idi.

3.6.7. Total kolesterol ölçümü

Total kolesterol enzimatik yöntem ile Abbott kiti (Chicago, IL, ABD) kullanılarak ölçüldü (Katalog no: 7D62-20). Testin doğrusalılığı 705 mg/dL' ye kadardır. Gün içi tekrarlanabilirlik % 0.8, günler arası tekrarlanabilirlik % 1.3, analitik duyarlılığı 5.0 mg/dL' nin altındadır.

Reaktif kiti; kolesterol oksidaz (> 200 U/L), kolesterol esteraz (> 500 U/L), peroksidaz (> 300 U/L), 4-Aminoantipirin (0.25 mmol), hidroksibenzoik asit (10 mmol/L) içermektedir.

Ölçüm metodu, kolesterol esterleri, kolesterol esterazla kolesterol ve serbest yağ asitlerine enzimatik olarak hidrolize edilmesi prensibine dayanmaktadır. Serbest kolesterol içerdiği orijinal yapısıyla kolesterol oksidaz tarafından oksidlenir. Oksidlenme sonucu oluşan hidrojen peroksit hidrobenzoik asit ve 4-aminoantipirinle birleşir ve oluşan renk değişimi 500 nm' de ölçülür.

Ölçüm yapılan kitin referans aralığı 50-200 mg/dL idi.

3.6.8. Apolipoprotein A-I (Apo A-I) ölçümü

Serum Apo A-I düzeyi immünoturbidimetrik yöntem ile Abbott ticari kiti (Chicago, IL, ABD) kullanılarak ölçüldü (Katalog no: 9D92-20). Testin doğrusalılığı

350 mg/dL' ye kadardır. Gün içi tekrarlanabilirlik % 1.9, günler arası tekrarlanabilirlik % 2.5, analitik duyarlılığı 3 mg/dL' nin altındadır.

Birinci reaktif kiti; TRIS (100 mmol/L), sodyum azid (% 0.1), anti-insan Apo A-I serumu (% 50) ve polyetilen glikol (35 g/L); ikinci reaktif ise ; TRIS (100 mmol/L) ve sodyum azid (% 0.1) içermektedir.

Test prensibi, Apo A-I antikorlarının örneğe eklenmesi sonucu oluşan çözünmeyen immün komplekslerin oluşturduğu bulanıklık artışının ölçüldüğü bir immünotürbidimetrik yöntem esasına dayanır. Apo A-I içeren örnek bir tamponla inkübe edilir ve örnek kör ise Apo A-I antikorları eklenmeden önce hazırlanır. Fazladan uygun antikor varlığında, Apo A-I konsantrasyonu bulanıklık fonksiyonu gibi ölçülür.

Ölçüm yapılan kitin referans aralığı 101-223 mg/dL idi.

3.6.9. Apolipoprotein B (Apo B) ölçümü

Serum Apo B düzeyi immünotürbidimetrik yöntem ile Abbott ticari kiti (Chicago, IL, ABD) kullanılarak ölçüldü (Katalog no: 9D93-20). Testin doğrusalılığı 268 mg/dL' ye kadardır. Gün içi tekrarlanabilirlik % 1.3, günler arası tekrarlanabilirlik % 3.2, analitik duyarlılık 3 mg/dL' nin altındadır.

Birinci reaktif kiti; TRIS (100 mmol/L), polietilen glikol (30 g/L), sodyum azid (% 0.1) ve anti-insan Apo B serum (% 50); ikinci reaktif ise; TRIS (100 mmol/L) ve sodyum azid (% 0.1) içermektedir.

Test prensibi, Apo B antikorlarının örneğe eklenmesi sonucu oluşan çözünmeyen immün komplekslerin oluşturduğu bulanıklık artışının ölçüldüğü bir immünotürbidimetrik bir yöntem esasına dayanır. Apo B içeren örnek bir tamponla inkübe edilir ve örnek kör ise Apo B antikorları eklenmeden önce hazırlanır. Fazladan uygun antikor varlığında, Apo B konsantrasyonu bulanıklık fonksiyonu gibi ölçülür.

Ölçüm yapılan kitin referans aralığı 53-182 mg/dL idi.

3.6.10. Kreatinin ölçümü

Serum kreatinin düzeyi alkalın pikrat-jaffe yöntemi ile Abbott ticari kiti (Chicago, IL, ABD) kullanılarak ölçüldü (Katalog no: 7D64-20). Testin doğrusalılığı 38.7 mg/dL' ye kadardır. Gün içi tekrarlanabilirliği % 1.4, günler arası tekrarlanabilirliği % 3.2, analitik duyarlılığı 0.05 mg/dL' nin altındadır.

Birinci reaktif, sodyum hidroksit (0.25 mol/L), ikinci reaktif ise pikrik asit (20.5 mmol/L) içermektedir.

Alkali pH' da örnekte bulunan kreatinin rektifteki pikrat ile kompleks oluşturur. Örneğin kreatinin konsantrasyonu ile orantılı olarak oluşan absorbans artış oranı 500 nm' de okutulur.

Ölçüm yapılan kitin referans aralığı 0-1.5 mg/dL idi.

3.6.11. Direkt LDL kolesterol (D-LDL-K) ölçümü

Serum D-LDL-K düzeyi enzimatik yöntem ile Abbott ticari kiti (Chicago, IL, ABD) kullanılarak ölçüldü (Katlog no: 1E31-20). Testin doğrusalılığı 800 mg/dL' ye kadardır. Gün içi tekrarlanabilirliği % 1.1, günler arası tekrarlanabilirliği % 2.2, analitik duyarlılığı 1 mg/dL' nin altındadır.

Birinci reaktif kiti; MES tamponu (pH 6.3), deterjan 1 (< % 1.0), kolesterol esteraz (< 1.500 U/L), kolesterol oksidaz (< 1.500) , peroksidaz (< 1300 ppg U/L), 4-aminoantipirin (< % 0.01) ve askorbik asit oksidaz (< 3.000 U/L); ikinci reaktif kiti ise; MES tamponu (pH 6.3) Deterjan 2 (< % 1.0), DSBmT (N, N-bis(4-sülfobutil)-m-toluidin, disodyum) (< 1.0 mmol/L) içermektedir.

Serum D-LDL-K ölçüm metodu çöktürmesiz yöntem kullanılarak yapıldı. Reaktif birde bulunan deterjan ile yalnızca LDL olmayan partikülleri çözündürür. Serbest bırakılan kolesterol, kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz tarafından renk oluşturmeyen bir reaksiyonda tüketilir. İkinci reaktifde buluna deterjan ile kalan LDL partiküllerini ve renk oluşumu için kromojenik bir bağlayıcıyı çözündürür. Bağlayıcının varlığındaki LDL ile olan enzim reaksiyonu, örnekteki LDL kolesterol varlığının miktarı ile orantılı renk oluşturur.

Ölçüm yapılan kitin referans aralığı 80-160 mg/dL idi.

3.6.12. İnsülin ölçümü

Serum insülin düzeyi kemilüminesans mikropartikül enzim immünolojik yöntem ile Abbott ticari kiti (Minato-ku, Tokyo, Japonya) kullanılarak ölçüldü (Katalog no: 8K41). Testin doğrusalılığı 300 µU/mL' ye kadardır. Gün içi tekrarlanabilirliği % 2.1, günler arası tekrarlanabilirliği % 2.4, analitik duyarlılığı 1.0 µU/mL' nin altındadır.

Kit içeriğinde; sığır protein stabilizatörüyle MOPS tamponu içerisinde insan kaynaklı insülin kaplı mikropartiküllere karşı antikor ve protein stabilizatörüyle

MES tamponu içerisinde insan kaynaklı insülin konjugatına karşı akridinium etiketli antikor konjugat olarak bulunmaktadır.

Ölçüm metodu, anti-insülin kaplı paramanyetik mikropartiküller ve anti-insülin akridinium etiketli konjugat birleştirilir. Örnekte mevcut insülin, anti-insülin kaplı mikropartiküllere ve anti-insülin akridinium etiketli konjugata tutunur. Yıkamadan sonra pre-trigger solüsyonu (% 1.32 w/v, hidrojen peroksit) ve trigger solüsyonu (0.35 N NaOH) reaksiyon karışımına ilave edilir; elde edilen kemilüminesan reaksiyon, relatif ışık üniteleri (RLU) olarak ölçülür.

Ölçüm yapılan kitin referans aralığı 0-28.4 µU/mL idi.

3.6.13. Alanin aminotransferaz (ALT) aktivite ölçümü

Serum ALT düzeyi kinetik yöntem ile pridoksal fosfat içermeyen, Abbott ticari kiti (Chicago, IL, ABD) kullanılarak ölçüldü (Katalog no: 7D74-20). Testin doğrusalılığı 942 U/L' ye kadardır. Gün içi tekrarlanabilirliği % 1.5, günler arası tekrarlanabilirliği % 4.8' dir. Analitik duyarlılığı 2 U/L' nin altındadır.

Birinci reaktif, β-NADH (0.16 mg/mL), Laktat Dehidrogenaz (2.57 U/L) ve L-Alanin (392 mmol/L); ikinci reaktif ise α-Ketoglutarat (77 mmol/L) ve L-Alanin (1.000 mmol/L) içermektedir.

Örnekteki ALT varlığı amino grubunun, pirüvat ve L-glutamat oluşturarak L-alaninden α-Ketoglutarata transferini katalize eder. NADH ve Laktat Dehidrogenaz varlığındaki pruvat L-Laktata indirgenir. Bu reaksiyonda NADH, NAD' ye oksitlenir. Reaksiyon, NADH' ın NAD' ye oksitlenmesine bağlı olarak 340 nm' deki absorbans azalma hızının ölçümü ile izlenir.

Ölçüm yapılan kitin referans aralığı 7-35 U/L idi.

3.7. Serum örneklerinde hesaplanan biyokimyasal parametreler

3.7.1.HOMA-IR (Homeostaz model insülin rezistans) indeksi

Açlık plazma glukozu (mg/dL) X açlık plazma insülin (µIU/dL)/ 405 formülü ile hesaplandı (93).

3.7.2. MDRD (Böbrek Hastalığında Diyetin Modifikasyonu) formülü ($eGFR_{MDRD} = 186 \times (S_{Cr})^{-1.154} \times (Yaş)^{-0.203} \times 0.742$)

Böbrek işlevi basitleştirilmiş MDRD eşitliği kullanılarak hesaplanan tahmini glomerül filtrasyon hızı (eGFR) ile değerlendirildi. MDRD çalışması denkleminde (yaş, cinsiyet, ırk ve kreatinin) elde edilen hastaya özgü değerlere göre “en iyi tahmini” GFR’ yi sağlamaktadır (94).

3.8. İstatistiksel analiz

İstatistik değerlendirme SPPS (17 versiyonu) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişikliklerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Kolmogorov Smirnov testi, homojenitesi ise Levene testi ile incelendi. Bütün veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Dağılımı normal olan parametrelerde One Way ANOVA ile gruplar değerlendirildi. Anlamli çıkan parametreler post hoc Tukey testi ile gruplar arası fark incelendi. Dağılımı normal olmayan parametrelerde Kruskal Wallis Varyans Analizini takiben gruplar arası fark Mann Whitney U ile incelendi. Parametrik verilerde aritmetik ortalama ve standart sapma, nonparametrik verilerde ortanca ve standart hata kullanıldı. Pearson Korelasyon ve VKİ ile çoklu doğrusal regresyon analizi ile hesaplandı. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirildi ve $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışma grubu, sağlıklı obez olmayan kontrol grubu (Grup I, n=30), abdominal obezite (Grup II, n=30) ve jinoide obez (Grup III, n=30) olmak üzere toplam 90 kadından oluşmuştur.

Çalışma gruplarında ölçülen ve hesaplanan değerler, Kolmogorov Smirnov testi ile dağılımlarına göre parametrik ve nonparametrik olarak ayrıldı. Nonparametrik testler; obezite süresi, VKİ, sistolik kan basıncı (SKB), diastolik kan basıncı (DKB), İnsülin, HOMA-IR, ARE aktivitesi olarak saptandı, veriler ortanca ve standart hata olarak gösterilmiştir. Parametrik olan testler; yaş, BKO, glukoz, kreatinin, MDRD, Total kolesterol, trigliserit, HDL-K, Apo A-I, Apo B, PON1 aktivitesi, D-LDL-K ve hsCRP olarak saptandı, sonuçları aritmetik ortalama ve standart sapma olarak belirtilmiştir.

Grupların yaş ortalama, SD ve aralığı; Grup I 31.5 ± 7.5 (21-48) yıl, Grup II 35.6 ± 8.6 (18-47) yıl ve Grup III 34.0 ± 8.2 (18-47) yıl olarak bulunmuş olup, istatistiksel bir fark saptanmamıştır ($p=0.163$). Grup II' nin obezite süresi 5.0 (2.0 – 10.0) yıl ve grup III' ün obezite süresi 4.0 (1.0 – 12.0) yıldır. Gruplar arası anlamlı istatistiksel fark saptandı ($p=0.000$) Grup I ve II arasında ($p=0.000$) ve Grup I ile III arasında ($p=0.000$) istatistiksel fark saptanırken, Grup II ile III arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.525$).

Obezite hastalarını sınıflandırmada kullanılan BKO sonuçları; Grup I, 0.80 ± 0.05 ; Grup II, 0.89 ± 0.03 ; Grup III 0.79 ± 0.03 olarak belirlendi. Dağılımı normal olan gruplararası ve Grup I ve II ile Grup II ve III istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$). VKİ için, gruplar arasında ve Grup I ve II arasında ($p=0.000$, $p=0.000$) ve Grup I ve III arasında ($p=0.000$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken, Grup II ve III arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.534$).

SKB, DKB, insülin, HOMA-IR gruplar arasında istatistiksel fark saptandı ($p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$). Grup I ve II arasında ($p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$) ve Grup I ve III arasında ($p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.003$, $p=0.001$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken, Grup II ve III arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.534$, $p=0.671$, $p=0.185$, $p=0.336$, $p=0.496$). ARE ve ALT aktivite düzeylerinde gruplar arası istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.288$, $p=0.134$). Sonuçlar Tablo 4.1.' de verilmiştir.

Trigliserit testinde gruplararası ve Grup I ve II arasında istatistiksel anlamı fark saptanırken, Grup I ve III ile Grup II ve III arasında anlamlı istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.001$, $p=0.01$, $p=0.055$, $p=0.294$).

HDL testinde gruplar arası ve grup I ve II ile grup I ve III arasında istatistiksel anlamı fark saptanırken, Grup II ve III arasında anlamlı istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.023$, $p=0.250$).

Apo B gruplar arası ve Grup I ve II arasında istatistiksel anlamı fark saptanırken, Grup I ve III ile Grup II ve III arasında anlamlı istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.022$, $p=0.016$, $p=0.355$, $p=0.322$).

D-LDL-K gruplar arası ve Grup I ve II ile Grup I ve III arasında istatistiksel anlamı fark saptanırken, Grup II ve III arasında anlamlı istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.001$, $p=0.000$, $P=0.023$, $p=0.627$). hsCRP testinde gruplar arası ve Grup I ve II ile Grup I ve III arasında istatistiksel anlamı fark saptanırken, Grup II ve III arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.080$). Glukoz, Kreatinin, MDRD, Total kolesterol, Apo A-I, PON1 parametrelerinde gruplar arası istatistiksel fark saptanmadı (sırasıyla $p=0.135$, $p=0.723$, $p=0.642$, $p=0.235$, $p=0.150$, $p=0.886$). Sonuçlar Tablo 4.2.' de verilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışma gruplarının nonparametrik olan testlerinin ortanca ve standart hata olarak verilen sonuçları.

	GRUP I n=30	GRUP II n=30	GRUP III n=30	I-II P	I-III p	II-III p
VKİ (kg/m²)	21.0 ± 0.42	33.5 ± 0.63	32.0 ± 0.87	0.000	0.000	0.534
SKB (mm/Hg)	100 ± 1.71	120 ± 2.57	120 ± 1.83	0.000	0.000	0.671
DKB (mm/Hg)	65 ± 1.41	80 ± 1.30	80 ± 1.67	0.000	0.000	0.185
İNSULİN (µU/mL)	8.6 ± 0.60	11.3 ± 1.23	10.4 ± 1.50	0.000	0.003	0.336
HOMA-IR	1.90 ± 1.87	2.75 ± 0.35	2.53 ± 0.35	0.000	0.001	0.496
ARE (U/L)	953 ± 89.7	1110 ± 79.6	1042 ± 85.8	*	*	*
ALT	12.0 ± 0.81	16.0 ± 1.06	12.5 ± 0.75	*	*	*

*Kruskal Wallis ile istatistiksel anlam saptanmadı.

Tablo 4.2. Çalışma gruplarının parametrik olan testlerinin ortalama ve SD olarak verilen sonuçları.

	GRUP I	GRUP II	GRUP III	I-II	I-III	II-III
	n=30	n=30	n=30	P	P	p
GLUKOZ (mg/dL)	92.0 ± 12.2	96.3 ± 9.7	98.7 ± 16.8	*	*	*
KREATİNİN (mg/dL)	0.72 ± 0.07	0.71 ± 0.07	0.71 ± 0.08	*	*	*
MDRD	104.3 ± 11.4	101.5 ± 12.8	101.7 ± 13.7	*	*	*
T-KOL (mg/dL)	162.7 ± 29.3	174.4 ± 35.5	175.2 ± 29.0	*	*	*
TG (mg/dL)	94.2 ± 42.2	151.1 ± 70.1	128.9 ± 55.1	0.001	0.055	0.294
HDL-K (mg/dL)	52.9 ± 9.6	43.9 ± 6.8	47.2 ± 7.8	0.000	0.023	0.250
APO A-I (mg/dL)	133.7 ± 20.1	126.5 ± 14.9	125.5 ± 16.8	*	*	*
APOB (mg/dL)	68.7 ± 21.4	83.3 ± 21.6	75.9 ± 16.6	0.016	0.355	0.322
PON1 (U/L)	31.5 ± 19.3	29.2 ± 16.4	30.6 ± 18.7	*	*	*
D-LDL-K (mg/dL)	97.9 ± 23.9	122.6 ± 30.1	116.2 ± 28.1	0.001	0.023	0.627
HSCRP	0.77 ± 0.70	5.05 ± 3.35	3.76 ± 2.06	0.000	0.000	0.080

*ANOVA ile istatistiksel anlam saptanmadı.

Ölçümü yapılan testler arasında Pearson Korelasyonu uygulandı. Total kolesterol, TG ile ($r=0.614$, $p=0.000$), Apo A-I ile ($r=0.358$, $p=0.001$), Apo B ile ($r=0.840$, $p=0.000$) ve D-LDL-K ile ($r=0.781$, $p=0.000$) anlamlı pozitif korelasyon saptandı. Trigliserit, HDL-K ile negatif ($r=-0.281$, $p=0.007$), Apo B ile ($r=0.677$, $p=0,000$), HOMA-IR ile ($r=0.353$, $p=0.001$), D-LDL-K ile ($r=0.512$, $p=0.000$), VKİ ile ($r=0.357$, $p=0.001$) pozitif anlamlı korelasyon saptandı.

HDL-K, Apo A-I ile pozitif ($r=0.817$, $p=0.000$), hsCRP ($r=-0.237$, $p=0.025$), VKİ ($r=-0.384$, $p=0.000$) ile negatif anlamlı korelasyon saptandı. Apo B ile D-LDL-K pozitif ($r=0.811$, $p=0.000$), VKİ ile pozitif ($r=0.284$, $p=0.007$) anlamlı korelasyon

VKİ ile ölçülen diğer tüm parametrelere çoklu doğrusal regresyon uygulandığında anlamlı istatistiksel fark olduğu ortaya kondu ($r^2=0.524$, $p=0.000$, $VKİ=23.24-0.003XTKOL+0.010XTG-0.218XHDL-K+0.046XApoA-0.061XApoB-0,014XPON1-0.000XARE+0.932 HOMA-IR+0,066XD-LDL-K+1,015XhsCRP$).

VKİ ile diğer parametreler tek tek incelendiğinde, en fazla hsCRP ($p=0,000$), HOMA-IR indeksi ($P=0,006$) ile istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. Sonuçlar Tablo 4.4.' de sunulmuştur.

Tablo 4.4. VKİ ile diğer testlerin çoklu doğrusal regresyon analizi.

	β katsayısı	P değeri
TKOL	0.012	0.957
TG	0.087	0.536
HDL-K	-0.286	0.153
APO A-I	0.119	0.498
APOB	-0.187	0.329
ARE	0.010	0.900
PON1	0.036	0.665
D-LDL-K	0.275	0.103
HOMA-IR	0.238	0.006
hsCRP	0.436	0.000

5.TARTIŞMA

Obezite, HT, T2DM, dislipidemi, KVH gibi çoğu kronik hastalık ve bazı kanserler için risk faktörü olarak kabul edilmektedir (3,95). Obezitenin hastalık yapma mekanizmalarının temelinde ise metabolik olayların tetiklediği, düşük dereceli bir inflamatuvar sürecin varlığı söz konusudur (96).

Bilim dünyasında, ilk olarak PON, 1970' lerde organofosfat zehirlenmesine karşı koruyucu etkisine odaklanan toksikolojistler olmuştur. PON1 lipid hidroperoksidlerin metabolize ederken HDL' ye eşlik eden bir enzimdir. PON1 ile ilgili, son yıllarda ise özellikle; KVH, diabet, nörolojik hastalıklar, HIV ve bazı bakteriyel enfeksiyonlar, kronik karaciğer hastalıkları ve alkol kullanımı ile ilgili araştırmalar bulunmaktadır (85, 97). Obez olgularda, lipid ve lipoprotein metabolizmasında değişiklikler gösterilmesine rağmen PON1/ARE aktivitesinin düzeyi ve lipid metabolizması ile ilişkisi bilinmemektedir (98, 99, 100). Bu çalışmada, premenapozal abdominal ve jinoide obezitesi olan kadınlar üzerinde PON1/ARE aktivitesi ile lipid metabolizması arasında ilişkisinin incelenmesi amaçlandı. PON1/ARE aktivitesinde değişiklik grupları arasında benzer bulunurken, lipid panelinde D-LDL-K, HDL-K, TG, ApoB ve endotel inflamasyonun göstergesi hsCRP düzeylerinde değişiklik olduğu gösterilmiştir.

PON1, HDL partiküllerinin antiaterojenik özelliklerini sağlayan enzimdir. Farklı substratların yanı sıra farklı genetik ve çevresel faktörlerin PON1 metabolizmasına etkisinin incelendiği bir çalışmada, Rainwater ve arkadaşları, 922 kişinin serum PON1 aktivitesini paraokson, fenil asetat ve lakton dihidrokumarin olan üç farklı substratla karşılaştırmıştır. Aktivitesinin tek bir substratla sağlanmadığını ortaya koymuşlardır. Şöyleki substrata bağlı olarak aktivite % 88-97 oranında farklı çıkmıştır. PON1 aktivitesini etkileyen demografik değişkenlerden yaş ve sigaranın aktiviteyi azalttığını etkilerken, oral kontraseptiflerin arttırdığını, fenotipik varyansın % 1-6 değiştiğini göstermişlerdir. Apo A-II, Apo A-I, TG ve non HDL-K gibi metabolik değişkenlerin fenotipik varyansı % 4-19 etkilediğini ortaya koymuşlardır. Kromozom 7' de bulunan PON1 yapısal lokusu dominant genetik etkisini ortaya çıkarır ve fenotipik varyansın % 65-92' sini açıklar. PON1 polimorfizminin tanımlandığı Q192A ve L55M olan bireylerde aleller arası farklar ortaya konmuştur. PON1 aktivitesi açısından bulundukları alellere göre aktivite sırasıyla QQ< QR< RR ve MM< LM< LL olarak saptanmıştır (100). Bizim

çalışmamızda demografik değişkenleri elimine etmek için çalışmaya katılan bireyler, benzer yaş grubu, aynı cinsiyette, OKS kullanmayan, sigara ve alkol içmeyen kişilerden seçildi.

Browne ve arkadaşları, PON1 metodu ve biyolojik varyasyonunu inceledikleri bir çalışma yapmışlardır. İnsan serum PON1 aktivitesini Q192R polimorfizmi olan 41 (QQ), 31 (QR) ve 7 (RR) aleli olan toplam 79 bireyden; paraoksonaz aktivitesi, tuzla uyarılan paraoksonaz aktivitesi, fenil asetatla ARE aktivitesi, p-nitrofenil asetatla ve fenilasetatla p-nitrofenil asetatla ARE aktivitesi olmak üzere beş farklı kinetik ölçüm yaparak, metodlar arasındaki aktivite farkını ortaya koymuşlardır. PON1 aktivitesi alellere göre $QQ < QR < RR$ olarak bulunmuştur. 17 bireyde yaptıkları biyolojik varyasyon çalışmasında aleller arası farkı ortaya koymuşlardır. Bizim çalışmamızda kullandığımız paraoksonaz aktivitesi için analitik % CV (CV_A) % 9.17, birey içi % CV (CV_I) % 13.40 ve bireyler arası % CV (CV_G) % 84.05, analitik kabul edilebilir indeks (CV_A/CV_I) 0.68, bireysel indeks (CV_I/CV_G) 0.19; fenil asetat substratı kullanılan ARE aktivitesi için CV_A % 5.21, CV_I % 3.89, CV_A 69.48, analitik kabul edilme indeksi 1.34 ve bireysel indeks 0.09 olarak saptanmıştır. Her genotip PON1 aktivitesi açısından önemli farklılıklar içerdiği için, genetiğe özel referans aralık çalışmaları için epidemiyolojik çalışmalar yapılabileceği önerisi vardır (101).

Tuncel ve arkadaşlarının PON1 ve HDL-K biyolojik varyasyonunu inceledikleri çalışmalarında, bireysel indeksin düşük olmasından dolayı her iki parametrenin de referans değerler ile değil, kişinin kendi sonuçlarına göre değerlendirilmesinin uygun olduğu ortaya konmuştur. Paraoksonaz aktivitesi için CV_A % 1.38, CV_I % 11.45, CV_A 70.83, analitik kabul edilme indeksi 0.12 ve bireysel indeks 0.16 olarak saptanmıştır. Bireysel indeks > 1.4 olduğunda referans aralık test için kullanılması uygun iken, indeks < 0.6 iken kişinin kendi sonuçlarına göre değerlendirilmesi uygundur (102).

Veiga ve arkadaşlarının Portekizli 81 obez ve 75 sağlıklı kadın bireyde yaptıkları çalışmada, paraokson substratı kullanarak baktıkları PON1 aktivitesinde gruplararası fark bulamamışlardır. Yine bu çalışmada, Q192R polimorfizminde R alel sıklığı obez kadınlarda daha sık ve obezite riskini artırdığı bulunmuştur. Tüm örnekler, Q192R ve L55M polimorfizmine göre hastaları sınıflandırdıklarında PON1 aktivitelerinin alellere göre diğer çalışmalara benzer olan farklarını ortaya

konmuştur. Q192R polimorfizmi olanlarda PON1 aktivitesi QQ da en düşük, QR de orta, RR de en yüksek aktivite olarak saptanmıştır ($p<0.01$). L55M polimorfizmi olanlarda ise MM de en düşük, ML de orta ve LL de aktivite en yüksek olarak saptanmıştır ($p<0.01$) (103). Bu çalışmada bizim çalışmamıza benzer olarak obez grupta SKB, DKB, triglisert ve hsCRP yüksek olarak (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$) ve HDL-K düzeyinin ise düştüğü ($p<0.001$) olarak bulunmuştur.

Tabur ve arkadaşlarının 30 obez ve 40 nondiabetik metabolik sendromu olan ve 30 kontrol grubu birey içeren çalışmasında, bizim çalışmamıza benzer olarak PON1/ARE aktivitesinde gruplar arasında fark bulmamışlardır. Bu çalışmanın kontrol ve obez grup karşılaştırıldığında diğer sonuçları; SKB, DKB, triglisert, LDL-K, hsCRP, TAS, HOMA-IR düzeylerinin yükseldiği (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.01$) olarak ve HDL-K ve TOS düzeylerinin ise düştüğü (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$) gösterilmiştir (6). Bizim çalışmamıza benzer olarak PON1 aktivitesi gruplararası değişmezken SKB, DKB, TG, D-LDL-K, hsCRP, HOMA-IR artışı ve HDL-K azalışı istatistiksel olarak anlamlı fark ile gösterilmiştir.

Literatürde obez çocuklarda yapılan birkaç çalışmada PON1 aktivitesinin azaldığına ait az sayıda çalışma vardır, arttığına ait çalışma hiç yoktur. Adult ve çocukluk çağı obezitesi olan bir grupta Seres ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada adiponektin, resistin ve PON1 aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Araştırmada bu aktivitesi azalana PON1 formunun Q192R polimorfizmi olan grupta aktivitesinin A ve B izoenzimden B izoenzime bağlı olduğu belirtilmiştir (98). Ferretti ve arkadaşlarının 30 obez çocuk ve 62 kontrol çocuk içeren çalışmalarında PON1 aktivitesinin azaldığı ($p<0.05$), ARE aktivitesi arttığı ($p<0.01$), leptin düzeyi artışı ($p<0.0001$), adiponektin azalışı ($p<0.001$) saptamışlardır (104).

Ayer ve arkadaşlarının 19 obez ve 19 non obez genç bireyde yaptıkları egzojen nitrat uyarılı arteriyel dilatasyon yapılan bir grupta hsCRP ve insülin düzeyi önemli derecede yüksek ve HDL-K düzeyi ise düşük bulunmuştur (105). Belz ve arkadaşlarının obez olgularda hsCRP'nin düşürülmesi için üç farklı düşük enerji diyeti kullanımı ile CRP ve salınım ile direkt ilişkili IL-6 diyeti takiben düzeylerinin düştüğü gösterilmiştir. Çizmecioğlu ve arkadaşlarının metabolik sendromu olan obez ve aşırı kilolu çocuklarda (177 kız ve 130 erkek), erkek çocuklarda adiponektin düzeyinin düşük ($p<0.002$) bulurken tüm olgularda hsCRP düzeyini ($p=0.000$)

yüksek olarak bulunmuştur. ROC eğrileri ile değerlendirildiğinde bel çevresinin metabolik sendrom tanısında önemli etken olduğu adiponektin, resistin ve hsCRP nin metabolik sendrom tanısında prediktif değeri olmadığı düşünülmüştür (106).

Agrawal ve arkadaşları, hesaplanan LDL-K ve direkt LDL-K arasındaki ilişkiyi açıklamak üzere yaptıkları çalışmada, 2208 bireyde üç farklı periyoda her iki testi çalışarak karşılatırmışlardır. D-LDL-K ve hesaplanan LDL-K arasında korelasyon yapıldığında korelasyon katsayıları 0.93, 0.97 ve 0.98 olarak bulunmasına rağmen ortalamalar incelendiğinde D-LDL-K hesaplanan LDL-K' den daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu üç periyod klinik karar ve lipid tedavisi açısından incelendiğinde D-LDL-K' ün daha değerli olduğu sonucuna varılmıştır (107). Otokazawe ve arkadaşları, Framingham Offspring 6. siklus çalışmasında 1335 kontrol-173 koroner kalp hastası erkek ve 1606 kontrol- 74 koroner kalp hastası kadında direkt ölçülen HDL-K ve LDL-K, standart metodlar ile karşılaştırılmıştır. Direkt ölçümlerin standart metodlarla korele olduğu (her ikisi için, $p<0.001$), olgularda LDL biasının % 7.7, HDL-K biasının % 8.5 olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar lipid tedavisinde rehberlik etme açısından direkt ölçümlerin daha kıymetli olduğu sonucuna varılmıştır (108).

İnsülin direnci, abdominal obezitede, NIDDM, HT ve KVH' lara sebep olarak gösterilmektedir (109). HOMA-IR > 2.7 olduğunda insülin direnci var diyebiliriz (110). Bizim çalışmamızda her iki obez grup kontrol ile karşılatırıldığında HOMA-IR açısından istatistiksel anlamlı fark olduğu görüldü. Sadece abdominal obez grupta insülin direnci oluştuğu (> 2.7) bulunmuştur. Bizim çalışmamızda abdominal obez grupta HOMA-IR' si > 2.7 olanların sıklığı % 53 (n=16), jinoid obez grupta ise % 46 (n=14) olarak bulundu.

Revenga-Faruca ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada obez çocuk (126) ve adolosanların (60 erkek ve 66 kız) abdominal yağlanma ve metabolik riskleri incelendiğinde bizim çalışmamıza benzer olarak insülin CRP, TG ve HDL-K düzeylerinde farklılıklar ortaya konmuştur (111).

Schwandth ve arkadaşlarının 4473 (2218 erkek) ve 6800 (3409 erkek) obez çocukta Almanya, Brezilya ve İran' lı çocukların metabolik sendrom komponentlerini taşımasının incelendiği bir çalışmada etnik farklılık ve cinsiyetin farklı etkilendikleri ortaya konmuştur. İran ve Brezilyalılar' ın Almanlar' dan daha düşük HDL-K (% 34' e % 7, $p<0.05$), daha yüksek Trigliserit (% 10' e % 1, $p<0.05$)

olduğu bulunmuştur. Kan basıncında ise İran (% 1), Brezilya ve Almanların (% 6) kadar düşük olduğu bulunmuştur (112).

Obezlerde hipoklorik diyetlerle inflamasyon ve insülin direnci değişiklikleri ile ilgili bir çalışmada; Faraj ve arkadaşlarının 56 aşırı kilolu ve obez postmenapozal kadınlarda 6 aylık kalori kısıtlamasının ardından Apo B' de yüksek olanların % 17, hsCRP' de % 24 ve haptoglobulin düzeyinde % 8 azalma saptanmıştır. Apo B' si zaten normal olanlarda bir değişme saptanmamıştır (113).

Obezitede oluşan metabolik disfonksiyonun VKİ ile ilişkisi olup olmadığının incelendiği bir çalışmada, morbid veya sınıf III obez gruplarda hiperandrojenizm olmadan amenore veya oligomenore bulgularının olduğu, oluşan aşırı insülin direncinin menstrüel kontrolün overyen mekanizmasını bozduğu düşüncesini desteklemektedir (114). Bizim çalışmamızda, VKİ ile tüm ölçülen parametrelerin çoklu doğrusal analizinde en çok etkilenen parametrenin HDL-K olduğu gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalar abdominal obezitenin kardiyometabolik riskinin jinoid obeziteden daha yüksek olduğunu göstermektedir (115, 116). Bizim çalışmamızda abdominal obez grubun kontrolle karşılaştırıldığında insülin direncinin olduğu; TG, Apo B, D-LDL-K, hsCRP de yükseklik, HDL-K ise düşüklük istatistiksel belirgin farkla saptanmıştır. Jinoid obezite ve kontrol grubu karşılaştırıldığında insülin direnci oluşmadığı, D-LDL-K ve hsCRP de yükseklik ve HDL-K düşüklük saptanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan örneklem, belli bir polimorfizm veya allel grubu seçilmemesi nedeniyle heterojen bir gruptur. Obez grup, başka hormonal ve metabolik sorunlardan etkilenmemesi için üreme dönemindeki kadınlar olmasının yanı sıra diabetik, renal ve karaciğer ve endokrin sorunları olmayan bireylerden oluşmuştur. Tüm bu kısıtlamalara ek olarak obezite süresinin oldukça kısa olması ve hasta sayısının yetersiz olmasını sayabiliriz.

Obez kadınlarda PON1' in lipid metabolizması ile ilişkisini incelediğimiz çalışmamızda şu sonuçlara ulaştık;

PON1 aktivitesinde gruplar arası benzerlik vardı. PON1 aktivitesinin; ölçüm yönteminin farklı olması ve polimorfizmlerden hatta allelerden etkilenmesi söz konusudur. Ek olarak bu testlerin biyolojik varyasyon çalışmalarında, bireysel indeksin < 0.6 olması nedeniyle referans aralık seçiminden çok bireysel fark ile takip

edilmesi gerekliliği ortaya atılmıştır. PON1 aktivitesi saptanırken, demografik değişkenlerden minimum etkilenmesi için, benzer yaş, sadece kadın, sigara içmeyen ve OKS kullanmayan bireyler çalışmaya alındı. PON1 aktivite testlerinin ancak belirli genotiplerde ve belirli substratları kullanarak birey içi ölçümle takip edilmesi önerilebilir.

Abdominal obez grupta insülin direncinin geliştiği görüldü. Kontrol ile karşılaştırıldığında, abdominal obez grupta; TG, ApoB, D-LDL-K ve hsCRP yüksekliği ve HDL-K düşüklüğü; jinoid obez grupta ise D-LDL-K, hsCRP yüksekliği ve HDL-K düşüklüğü bulunmuştur. Bu sonuçlar hem jinoid hem abdominal obezide metabolik disfonksiyonun başladığının işaretidir. Bu süreçten abdominal obezitedeki grubun daha fazla etkilendiği aşıkardır. Klinik biyokimya laboratuvarlarında kullanımı güncelleşen belirteçlerinden D-LDL-K' ün abdominal grup daha belirgin olmak üzere her iki grupta yüksek bulunması literatüre yeni eklenen bir bilgi olması açısında önemli olarak değerlendirilebilir.

6. KAYNAKLAR

1. Ogden CL, Yanovski SZ, Carroll MD, Flegal KM. The epidemiology of obesity. *Gastroenterology* 2007; 132: 2087–2102.
2. Chudek J ve Wiecek A. Adipose tissue, inflammation and endothelial dysfunction. *Pharmacol Rep* 2006; 58: 81-88.
3. Pischon T, Nötling U, Boeing H. Obesity and cancer proceeding of the nutrition society. *Proc Nutr Soc* 2008; 67: 128-145.
4. WHO. WHO consultation, definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. World Health Organisation, Geneva, Switzerland, 1999.
5. Faraj M, Lavoie ME, Messier L, Bastard JP, Prud'homme D. Reduction in serum apoB is associated with reduced inflammation and insulin resistance in post-menopausal women: A MONET study. *Atherosclerosis* 2010; 211: 682-688.
6. Tabur S, Torun AN, Sabuncu T, ve ark. Non-diabetic metabolic syndrome and obesity do not affect serum paraoxonase and arylesterase activities but do affect oxidative stress and inflammation. *European Journal of Endocrinology* 2010; 162: 535-541.
7. Furlong CE, Suzuki SM, Stevens RC ve ark. Human PON1, a biomarker of risk of disease and exposure. *Chem Biol Interact* 2010; 187: 355-361.
8. Dragonov DI ve La Du NB. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2004; 369: 78-88.
9. Wilson MR ve Easterbrook-Smith SB. Clusterin is a secreted mammalian chaperone. *Trends Biochem* 2000; 25: 95–98.
10. Bozbora A. Obezite ve Tedavisi. 1. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002.
11. WHO Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity, 3–5 June. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1997.
12. WHO Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series No 916. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2003.
13. Allender S ve Rayner M. The burden of overweight and obesity-related ill health in the UK. *Obesity Reviews* 2007; 8: 467–473.
14. Chopra M, Galbraith S, Darnton-Hill I. A global response to a global problem: the epidemic of overnutrition. *Bulletin World Health Organization* 2002; 80: 952–958.
15. Fry J ve Finley W. The prevalence and costs of obesity in the EU. *Proceedings of the Nutrition Society* 2005; 64: 359–362.
16. Runge CF. Economic consequences of the obese. *Diabetes* 2007; 56: 2668–2672.
17. Seven A. Obezite Gelişiminde Rol Oynayan Moleküler Mekanizmalar. Bakırcı L, Canbulat EC, Cığerli Ş, Emerk K. Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği 5. Ulusal Kongresi. 1. Baskı, İstanbul: Renk Matbaası 2009: 121-123.

18. Vague J. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *Nutrition* 1999; 15: 89-90.
19. Bray GA, Bouchard C. *Handbook of Obesity*. 3th. Ed., Danvers, MA: Informa Healthcare, 2008.
20. Molarius A, Seidel JC, Sans S, Toumlehto J, Kuulasmaa K. Varying sensitivity of waist action levels to identify subjects with overweight or obesity in 19 populations of the WHO MONICA Project. *J Clin Epidemiol* 1999; 52: 1213-1224.
21. Besler T, Bilici S, Buzgan T ve ark. Türkiye Obezite ile Mücadele ve Kontrol Programı (2010-2014). 1. Baskı, Ankara: Kuban Matbaacılık Yayıncılık, 2010: 23-26.
22. Oğuz A, Temizhan A, Abacı A ve ark. Türk erişkinlerinde kardiyometabolik risk için alarm; obezite ve abdominal obezite. *Anadolu Kardiyol Derg* 2008; 8: 401-406.
23. Abizaid A, Gao Q, Horvath TL. Thoughts for food: brain mechanisms and peripheral energy balance. *Neuron* 2006; 51: 691-702.
24. Gürdöl F, Ademoğlu E. *Biyokimya*. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Matbaacılık, 2010.
25. Konturek PC, Cześnikiewicz-Guzik M, Bielanski W, Konturek SJ. Involvement of *Helicobacter pylori* infection in neuro-hormonal control of food intake. *J Physiol Pharmacol* 2006; 5: 67-81.
26. Ahima RS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Obesity* 2006; 14: 242-249.
27. Ahima RS, Qi Y, Singhal NS. Adipokines that link obesity and diabetes to the hypothalamus. *Progress in Brain Research* 2006; 153: 155-174.
28. Frühbeck G. *Papitites in Energy Balance and Obesity*, 1th.Ed., Cambridge, MA: CABI, 2009.
29. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 2006; 444: 840-846.
30. Skurk T, Alberti-Huber C, Herner C, Hauner H. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *J Endocrinol Metab* 2007; 92: 1023-1033.
31. Hauner H. Secretory factors from human adipose tissue and their functional role. *Proc Nutr Soc* 2005; 64: 163-169.
32. Kintscher U, Hartge M, Hess K, ve ark. T-lymphocyte infiltration in visceral adipose tissue. A primary event in adipose tissue inflammation and the development of obesity-mediated insulin resistance. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 2008; 28: 1304-1310.
33. Benoit SC, Clegg DJ, Seeley RJ, Woods SC. Insulin and leptin as adiposity signals. *Recent Prog Horm Res* 2004; 59: 267-285.
34. Scheen AJ. Central nervous system: a conductor orchestrating metabolic regulations harmed by both hyperglycaemia and hypoglycaemia. *Diabetes Metab* 2010; 36: 31-38.
35. Jiang G ve Zhang BB. Glukagon and regulation of glucose metabolism. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2003; 284: 671-678.

36. Basu R, Chandramouli V, Dicke B, Landau B, Rizza R. Obesity and type 2 diabetes impair insulin-induced suppression of glycogenolysis as well as gluconeogenesis. *Diabetes* 2005; 54: 1942-1948.
37. Gregg EW, Cheng YJ, Cadwell BL ve ark. Secular trends in cardiovascular disease risk factors according to body mass index in US adults. *JAMA* 2005; 20: 1868-1874.
38. Denke MA, Sempos CT, Grundy SM. Excess body weight. An underrecognized contributor to dyslipidemia in white American women. *Arch Intern Med* 1994; 154: 401-410.
39. Davi G, Guagnano MT, Ciabattini G, ve ark. Platelet activation in obese women rol of inflammation and oxidant stress. *JAMA* 2002; 288: 2008-2014.
40. Hu G, Qiao Q, Tuomilehto J, ve ark. Prevalence of the metabolic syndrome and its relation to allcause and cardiovascular mortality in nondiabetic European men and women. *Arch Intern Med* 2004; 164: 1066-1076.
41. McNeill AM, Rosamond WD, Girman CJ, ve ark. The metabolic syndrome and 11-year risk of incident cardiovascular disease in the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes Care* 2005; 28: 385-390.
42. Bo S, Gambino R, Uberti B, Mangiameli MP, ve ark. Does C-reactive protein identify a subclinical metabolic disease in healthy subjects? *Eur J Clin Invest* 2005; 35: 265-270.
43. Meier-Evert HK, Mainous AG, Gilbert G. Relation between alcohol consumption and C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. *Clin Chem* 2001; 47: 426-430.
44. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 5th. Ed., Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2005.
45. Rainwater DL, VandeBerg JL, Mahaney MC. Effects of diet on genetic regulation of lipoprotein metabolism in baboons. *Atherosclerosis* 2010; 213: 499-504.
46. Doi H, Kugiyama K, Oka H, ve ark. Remnant lipoproteins induce proatherothrombogenic molecules in endothelial cells through a redox-sensitive mechanism. *Circulation* 2000; 102: 670-676.
47. Carr AC, McCall MR, Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1716-1723.
48. Binder CJ, Chang M, Shaw PX, ve ark. Innate and acquired immunity in atherogenesis. *Nature Medicine* 2002; 8: 1218-1226.
49. Gonzalez-Navarro H, Vinue A, Vila-Caballer M, ve ark. Molecular mechanisms of atherosclerosis in metabolic syndrome: role of reduced IRS2-dependent signaling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 2187-2194.
50. Cushing SD, Berliner JA, Valente AJ, ve ark. Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. *Proc Natl Acad* 1990; 87: 5134-5138.
51. Das UN. Is obesity inflammatory condition? *Nutrition* 2001; 17: 953-966.

52. Penn MS, Cui MZ, Winokur AL, ve ark. Smooth muscle cell surface tissue factor pathway activation by oxidized low-density lipoprotein requires cellular lipid peroxidation. *Blood* 2000; 96: 3056-3063.
53. Heijmans BT, Westendorp RGJ, Lagaay AM ve ark. Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. *Atherosclerosis* 2000; 149: 91-97.
54. Brushia E, Montali A, Vega GL, Grundy SM. Production of recombinant proteins using multiple-copy gene integration in high 60 cell-density fermentations of *Ralstonia eutropha*. *Biotechnol Bioeng* 2003; 84: 114-120.
55. Aviram M, Rosenblat M, Scott B, ve ark. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Rad Biol & Med* 1999; 26: 892-904.
56. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connely PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Cur Opin Lipid* 1996; 7: 69-76.
57. La Du BN, Adkins S, Kuo CL, Lipsig D. Studies on human serum paraoxonase/arylesterase. *Chem Biol Interactions* 1993; 87: 25-34.
58. Azarsız E ve Sözmén EY. Paraoksonaz ve klinik önemi. *Türk J Biochem* 2000; 25: 109-119.
59. Gürsu MF ve Özden M. Lipoprotein (A) düzeyleri ile paraoksonaz (PON1) aktivitelerinin komplikasyonlu ve komplikasyonsuz tip 2 diyabetik (NIDDM) hastalarda araştırılması. *Fırat Tıp Dergisi* 2002; 7: 720-726.
60. Rainwater DL, Rutherford S, Dyer TD, ve ark. Determinants of variation in human serum paraoxonase activity. *Heredity* 2009; 102: 147-154.
61. Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE. Modulation of paraoxonase (PON-1) activity. *Biochem Pharmacol* 2005; 69: 541-50.
62. Deakin S, Leviev I, Gfomaschi M, ark. Enzymatically active paraoxonase-1 is located at the external membrane of producing cells and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism. *J Biol Chem* 2002; 277: 4301-4308.
63. Marchegiani F, Marra M, Olivieri F, ve ark. Paraoxonase 1: genetics and activities during aging. *Rejuvenation Res* 2008; 11: 113-127.
64. Balcı EÖ, Donma O, Ekmekçi H. Paraoksonaz. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2004; 35: 78-82.
65. Josse D, Xie W, Renault F, ve ark. Identification of residues essential for human paraoxonase (PON1) arylesterase/organophosphatase activities. *Biochemistry* 1999; 38: 2816-2825.
66. Lourdes R, Bharti M, Durrington PN, Hernandez A, Mackness MI. Hydrolysis of platelet activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J* 2001; 354: 1-7.
67. Khersonsky O ve Tawfik DS. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON-1 suggest that its native activity is lactonase. *Biochemistry* 2005; 44: 6371-6382.

68. Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, ve ark. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat Struct Mol Biol* 2004; 11: 412-419.
69. Poh R ve Muniandy S. Ethnic variations in paraoxonase1 polymorphism in the Malaysian population. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2007; 38: 392-397.
70. Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop TJ, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Exp Gerontol* 2004; 39: 59-66.
71. Deakin SP ve James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clin Sci* 2004; 107: 435-447.
72. James RW ve Deakin SP. The importance of HDLs for paraoxonase-1 secretion stability and activity. *Free Radical Biology* 2004; 37: 1986-1994.
73. Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, ve ark. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat Struct Mol Biol* 2004; 11: 412-419.
74. 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.
75. Aviram M, Billecke S, Sorenson R, ve ark. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective active of human paraoxonase alloenzymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 10: 1617-1624.
76. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW ve La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. *Drug Metab Dispos* 1991; 19: 100-106.
77. Khersonsky O ve Tawfik DS. The Histidine 115-Histidine 134 dyad mediates the lactonase activity of mammalian serum paraoxonase. *J. Bio Chem* 2006; 281: 7649-7656.
78. Billecke S, Dragonov D, Counsell R, ve ark. Human serum paraoxonases (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Met Dis* 2000; 28: 1335-1342.
79. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, ve ark. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 330-335.
80. Shih DM, Xia YR, Wang XP, ve ark. Decreased obesity and atherosclerosis in human paraoxonase 3 transgenic mice. *Circ Res* 2007; 100: 1200-1207.
81. Aviram M ve Rosenblat M. Paraoxonases and cardiovascular diseases: pharmacological and nutritional influences. *Curr Opin Lipidol* 2005; 16: 393-409.
82. Mackness B, Quarck R, Verreth W, Mackness M, Holvoet P. Human Paraoxonase-1 overexpression inhibits atherosclerosis in a mouse model of metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1545-1552.

83. Arslan C, Altan H, Beşirli K, ve ark. The role of oxidative stress and antioxidant defenses in Buerger disease and atherosclerotic peripheral arterial occlusive disease. *Ann Vasc Surg* 2010; 24: 455-60.
84. Mackness B, Davies GK, Turkie W, ve ark. Paraonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 141-147.
85. Camps J, Marsillach J, Joven J. The paraonases: role in human diseases and methodological difficulties in measurement. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2009; 46:83-106.
86. Hedrick CC, Thorpe SR, Fu MX. Glycation impairs high density lipoprotein function. *Diabetologia* 2000; 43: 312-320.
87. Senti M, Tomas M, Fito M. Antioxidant paraonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5422-5426.
88. Letellier C, Durou MR, Jouanolle AM, ve ark. Serum paraonase activity and paraonase gene polymorphism in type 2 diabetic patients with or without vascular complications. *Diabetes Metab* 2002; 28: 297-304.
89. Dantoine TF, Debord J, Merle L, ve ark. Paraonase 1 activity: a new vascular marker for dementia? *Ann NY Acad Sci* 2002; 977: 96-101.
90. Scacchi R, Gambina G, Martini MC, ve ark. Different pattern of association of paraonase Gln192 Arg polymorphism with sporadic late-onset Alzheimer's disease and coronary artery disease. *Neurosci Lett* 2003; 339: 17-20.
91. Kondo I ve Yamamoto M. Genetic polymorphism of paraonase 1 (PON1) and susceptibility to Parkinson's disease 1998; 806: 271-283.
92. National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute: Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults-in evidence report. *Obes Res* 1998; 6: 51-209.
93. Arslan M, Atmaca A, Ayvaz G, ve ark. Metabolik Sendrom Kılavuzu. 1. Baskı, Ankara: Tuna Matbacılık, 2009.
94. Salgado JV, Neves FA, Bastos MG, ve ark. Monitoring renal function: measured and estimated glomerular filtration rates - a review. *Braz J Med Biol Res* 2010; 43: 528-536.
95. Safar ME, Czernichow S, Blacher J. Obesity, arterial stiffness, and cardiovascular risk. *J Am Nephrol* 2006; 17: 109-111.
96. Monteiro R ve Azevedo I. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Mediators of inflammation* 2010; 2010: pii. 289645.
97. Öner A, Başkol G, Karaküçük S. Retinopatisi Olan Tip 2 Diabetes Mellituslu Olgularda Serum Paraksonaz Aktivitesinin ve Malondialdehit Seviyelerinin Belirlenmesi. *Erciyes Tıp Dergisi* 2010; 32: 235-240.
98. Seres I, Bajnok L, Harangi M, ve ark. Alteration of PON1 activity in adult and childhood obesity and its relation to adipokine levels. *Adv Exp Med Biol* 2010; 660: 129-142.
99. Koncsos P, Seres I, Harangi M, ve ark. Human paraonase-1 activity in childhood obesity and its relation to leptin and adiponectin levels. *Pediatr Res* 2010; 67: 309-313.

100. Hong-Liang L, De-Pei L, Chihj-Chuan L. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress and diseases. *J Mol Med* 2003; 81: 766-779.
101. Browne RW, Koury ST, Marion S, ve ark. Accuracy and Biological Variation of Human Serum Praoxonase I Activity and Polymorphism (Q192R) by Kinetic Enzyme Assay. *Clinical Chemistry* 2007; 53: 310-317.
102. Tuncel P, Örmən M, Şişman AR. Paraoksonazın Biyolojik Varyasyonu ve HDL-Kolesterol ile İlişkisi. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2009; 7: 17-22.
103. Veiga LC, Silva-Nunes JA, Melão A, ve ark. Q192R polymorphism of the paraoxonase-1 gene as a risk factor for obesity in Portuguese women. *Eur J Endocrinol* 2010. EJ-10-0825.
104. Ferretti G, Bacchetti T, Masciangelo S, Biocchiega V. HDL-paraoxonase and membrane lipid peroxidation: a comparison between healthy and obese subjects. *Obesity* 2010; 18: 1079-1084.
105. Ayer JG, Harmer JA, David C, ve ark. Severe obesity is associated with impaired with arterial smooth muscle function in young adults. *Obesity* 2011; 19: 54-60.
106. Belza A, Toubro S, Stender S, Astrup A. Effect of diet-induced energy deficit and body fat reduction on high-sensitive CRP and other inflammatory markers in obese subjects. *Int J Obes* 2009; 33: 456-464.
107. Agrawal M, Spencer HJ, Faas FH. Method of LDL cholesterol measurement influences classification of LDL cholesterol treatment goals: clinical research study. *Journal Investig Med* 2010; 58: 945-949.
108. Otokoza S, Ai M, Asztalos BF, ve ark. Direct assessment of plazma low density lipoprotein and high density lipoprotein cholesterol levels and coronary heart disease: results from the framingham offspring study. *Atherosclerosis* 2010; 213: 251-265.
109. Carey DG, Jenkins AB, Campbell LV, Freund J, Chisholm DJ. Abdominal fat and insulin resistance in normal and overweight women: Direct measurements reveal a strong relationship in subjects at both low and high risk of NIDDM. *Diabetes* 1996; 45: 633-638.
110. Campos G, Fernandez V, Fernandez E, ve ark. Association of free fatty acids with the insulin-resistant state but not with central obesity in individuals from Venezuela. *Invest Clin* 2010; 51: 115-126.
111. Revenga-Frauca J, Gonzales-Gil EM, Bueno-Lozano G, ve ark. Abdominal fat and metabolic risk in obese children and adolescents. *J Physiol Biochem* 2009; 65: 415-20.
112. Schwandt P, Kelishadi R, Riberio RQ, Haas GM, Poursafa P. A three-country study on the components of the metabolic syndrome in youths: the BIG Study. *Int J Pediatr Obes* 2010; 5: 334-341.
113. Faraj M, Lavoie ME, Messier L, Bastard JP, Prud'homme D. Reduction in serum apoB is associated with reduced inflammation and insulin resistance in post-menopausal women: A MONET study. *Atherosclerosis* 2010; 211: 682-688.
114. Souza FAC, Dias R, Fernandes CE, Pimentel F, Dias D. Menstrual irregularity: a possible clinical marker of metabolic dysfunction in women with class III obesity. *Gynecological Endocrinology* 2010; 26: 768-772.

115. Pietiläinen KH, Söderlund S, Rissanen A, et al. HDL subspecies in young adult twins: heritability and impact of overweight. *Obesity* 2009; 17: 1208-1214.
116. Ghandehari H, Le V, Kamal-Bahl S, Bassin SL, Wong ND. Abdominal obesity and the spectrum of global cardiometabolic risks in US adults. *Int J Obes* 2009; 33: 239-248.