

FIKRET KAAAN ORAN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2018



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**DİYABETİK OBEZ VE NONDİYABETİK OBEZ HASTALARDA
ADİPOZ DOKUDAN ELDE EDİLEN VASPİN, VİSFATİN VE KEMERİNDEKİ
GENETİK VARYASYONLARIN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. FİKRET KAAN ORAN

**DANIŞMAN
Prof. ÜMİT ZEYBEK**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP DOKTORA**

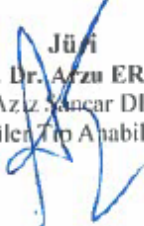
İSTANBUL-2018

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İ.Ü. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı Programında Doktora Programı öğrencisi **Fikret Kaan ORAN**'ın tarafından **Prof. Dr. Ş. Ümit ZEYBEK**'in danışmanlığında hazırlanan "**Diyabetik Obez ve Nondiyabetik Obez Hastalarda Adipoz Dokudan Elde Edilen Vaspin Visfatin ve Kemerindeki Genetik Varyasyonların Karşılaştırılması**" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 04/07/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Programı Tezi olarak kabul edilmiştir.


**Jüri Başkanı
Danışman**

Prof. Dr. Ş. Ümit Zeybek
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı


Jüri
Prof. Dr. Afzu ERGEN
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı


Jüri
Prof. Dr. Engin ULUKAYA
İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Jüri
Prof. Dr. Ali Osman GÜROL
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
İmmünoloji Anabilim Dalı

Jüri
Dr. Öğr. Üyesi Müjdat AYTEKİN
Haliç Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Fikret Kaan Oran



İTHAF

Bu tezi aileme ve ilkokul öğretmenime ithaf ediyorum.



TEŐEKKÖR

İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Ana Bilim Dalı öğretim üyelerinden danışmanım Prof. Dr. Ümit Zeybek'e, doktora eğitimim süresince göstermiş olduğu ilgi ve rehberliğinden dolayı, Tezimin yapımı ve yazımı sırasında yardımları ve destekleri için değerli çalışma arkadaşım Msc. Mol. Bio. Faruk Çelik'e teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 42096



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
BEYAN.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
İTHAF.....	İİİ
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Temel Bilgiler	2
2.2. İnsülin direnci	3
2.3. Obezite ve İnsülin Direnç Sendromu	5
Adipoz Dokuların Sınıflandırılması.....	6
2.4. Disfonksiyonel adipoz doku	8
2.5. Sempatik sinir sistemi (SSS) aşırı güdülemesi	10
2.6. Yağ oksidasyon kapasitesinde azalma	12
2.7. Mitokondriyal disfonksiyon.....	12
2.8. Adipokinler	14
2.9. Visfatin.....	15
2.10. Vaspin	17
2.11. Kemerin.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı	25
3.2. Kullanılan Materyal	25
3.2.1. Kullanılan Kimyasallar	25
3.2.1.1. Kullanılan Primerler.....	25
3.2.2. Kullanılan Aletler.....	26
3.2.3. Çözeltiler.....	27

3.2.3.1.....	27
3.2.3.2. Agaroz Jel Elektroforezi'nde Kullanılan Çözeltiler.....	28
3.3. Kullanılan Yöntemler.....	29
3.3.1 Periferik Kandan Dna İzolasyonu	29
3.3.1.1. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini	29
3.3.1.2 PCR Yöntemi ile Kemerin, Vaspin ve Visfatin Gen Bölgelerinin Çoğaltılması, RFLP ve Tetra-Arm Yöntemiyle Polimorfizm Analizi	30
3.3.2. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel'e Yüklenmesi.....	33
4. BULGULAR.....	36
5. TARTIŞMA	40
KAYNAKLAR	46
HAM VERİLER	50
FORMLAR	51
ETİK KURUL KARARI	52
PATENT HAKKI İZİNİ	55
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	56
ÖZGEÇMİŞ	57

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1 İnsülin direnç mekanizması.....	4
Tablo 2 Kemerin rs17173608 gen bölgesi için kullanılan PCR Protokolü.....	31
Tablo 3 Kemerin rs17173608 gen bölgesi için kullanılan amplifikasyon sıcaklıkları	31
Tablo 4 Vaspin rs2236242 gen bölgesi için kullanılan PCR Protokolü	31
Tablo 5 Vaspin rs2236242 gen bölgesi için kullanılan amplifikasyon sıcaklıkları	32
Tablo 6 Visfatin rs2110385 gen bölgesi için kullanılan PCR Protokolü.....	32
Tablo 7 Visfatin rs2110385 gen bölgesi için kullanılan amplifikasyon sıcaklıkları	32
Tablo 8 AluI enzimi için kesim protokolü	35
Tablo 9 Kemerin, Vaspin ve Visfatin hasta ve kontrol genotip dağılımı.....	36
Tablo 10 Grupların Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi.....	37
Tablo 11 Kemerin homozigot Mutasyon Genotipi varlığında olası Diyabet Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi.....	38
Tablo 12 Vaspin homozigot Mutasyon Genotipi varlığında olası Diyabet Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi.....	38
Tablo 13 Visfatin homozigot Mutasyon Genotipi varlığında olası Diyabet Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi.....	39

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 <i>Beta Hücre Siklusu</i>	2
Şekil 2 Adipoz Doku Kompartmanları	7
Şekil 3 Kemerin rs17173608 geninden 262 bç G alleli, 332 bç T alleli ve 549 bç dış primerler kontrol bantları. Kemerin rs17173608 PCR görüntüsü.	33
Şekil 4 Vaspin rs2236242 geninden 174 bç T alleli, 248 bç A alleli ve 378 bç dış primerler kontrol bantları. Vaspin rs2236242 PZR görüntüsü.	34
Şekil 5 AluI Enzimi ile kesim sonucu elde edilen görüntü	35



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

DM: Diabetes Mellitus
TNF: Tümör nekroz faktörü
IL: İnterlökin
BMI: Beden kitle indeksi
SAT: Subkutan adipoz doku
VAT: Viseral adipoz doku
WAT: Beyaz adipoz doku
BAT: Kahverengi adipoz doku
IGF: İnsülin-Benzeri Büyüme Faktörü
FFA: Serbest yağ asidi
ER: Endoplazmik retikulum
MCP: Monosit kemoatraktan molekül
IFN: İnterferon
IRS: İnsülin Direnci Substratı
CECAM1: Karsinoembriyon antijen ilişkili hücre adhezyon molekül 1
IR: İnsülin direnci
SSS: Sempatik sinir sistemi
ATP: Adenozin 3 fosfat
DAG: Diaçil gliserol
ERS: Endoplazmik retikulum stresi
ROS: Reaktif oksijen türü
PI3K: Fosfoinositid 3-kinaz
GLUT-4: Glikoz taşıyıcı-4
MAPK: Mitojen-aktive protein kinaz
IL-1RA: İnterlökin-1reseptör antagonisti
IFN: İnterferon
PBEF: pre-B koloni artırıcı faktör
APC: Akut faz hücreleri
NAMPT: Nikotinamid fosforibozil transferaz
NAD: Non akut distres
OLETF: Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty
HECT: Hiperinsülin ?-öglisemik klemp
ELISA: Enzim ilişkili immunosorbent analiz
RIA: Radyoimmüno test
T2DM: Tip 2 Diabetes Mellitus
NGT: Normal glikoz toleransı
HOMA: Homeostaz Model Analizi (İnsülin direnç testi)
RARRE2: Retinoik asit reseptör yanıtçı protein 2
CMKLR1: Kemokin benzeri reseptör 1
FABP: Yağ asidi bağlayıcı protein
PAI-1: Plasminojen aktivatör inhibitör-1
LDL: Düşük densiteli lipoprotein
PON1: Paraoksenaz1
EDTA:Etilen diamin tetra asetat
PCR: Polimeraz zincirleme reaksiyon

RFLP: Restriksiyon fragmanı uzunluk poliformizmi
SDS: Sodyum dodesil sülfat
OD: Optik densite
AST: Aspartat amino transferaz
ALT: Alanin amino transferaz
BUN: Blood Urea Nitrogen
PLT: Platelet
WBC: Beyaz kan hücreleri
HDL: Yüksek densiteli lipoprotein
VLDL: Çok düşük densiteli lipoprotein



ÖZET

Oran, F.K. (2018). Diyabetik obez ve nondiyabetik obez hastalarda adipoz dokudan elde edilen vaspin, visfatin ve kemerindeki genetik varyasyonların karşılaştırılması, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Diabetes mellitus (DM) ve obezite, patogenez ve patofizyoloji açısından çok benzerdir. Obezite hastalarının çoğunda, genetik ve çevresel faktörlerin yol açtığı adipoz doku fonksiyon bozukluğu bulunur. Adipoz doku, adipozitlerden salgılanan mediyatörlerin (adipokinler) kaynağıdır. vaspin (visceral adipose tissue–derived serine protease inhibitor), visfatin (pre-B cell enhancing faktör), kemerin son yıllarda keşfedilen adipokinlerdir.

Adipokin genlerindeki polimorfizm, obezitenin ortaya çıkması ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Adipokinlere karşı direnç oluşmasının, sempatik sinir sisteminin kronik aktivasyonunda rolü vardır. Sempatik sinir sisteminin kronik olarak aşırı aktive olmasının, organ hasarlarına ve obezite ile ilgili karmaşık problemlere yol açtığı gösterilmiştir.

Vaspin, viseral adipoz dokuda üretilen serin proteaz inhibitörüdür. Adipoz doku tarafından vaspin indüklenmesi obezite ve obezitenin inflamatuvar komplikasyonlarına yanıtta telafi edici bir mekanizma oluşturabileceği belirtilmektedir.

Visfatin, B lenfosit öncüleri için bir büyüme faktörü olarak karaciğer, iskelet kası ve kemik iliğinde keşfedilmiş, insülini taklit eden bir adipokindir. Dolaşımdaki visfatin seviyesi beyaz adipozit doku birikimi ile yakın olarak ilişkilendirilmektedir. Visfatin mRNA seviyeleri adipozit farklılaşması esnasında artmaktadır ve visfatin sentezi glukokortikoidler, TNF, IL-6 ve büyüme hormonu gibi çeşitli faktörler tarafından düzenlenmektedir.

Kemerin, G protein-coupled reseptör için bir ligand olarak hizmet eden kemoatraktan bir proteindir. Adipogenez ve adipozit metabolizmasını düzenleyen adipoz kaynaklı bir sinyal molekülüdür.

Tip2 diyabetin ve obezitenin insülin direncinden geliştiği bilinmektedir. Bu iki hastalığın patofizyolojisinde adipokin genlerindeki polimorfizm farkları olduğuna inanıyoruz. Çalışma amacımız, diyabetik obez ve nondiyabetik obez hastalardaki adipoz doku kökenli adipokinlerden vaspin, visfatin ve kemerinin gen varyasyonlarının farklılıkları ile etkilerini araştırmaktır.

Anahtar Kelimeler: Vaspin, Visfatin, Kemerin, Adipokin, Adipoz doku, Diyabet, Obezite

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:42096

ABSTRACT

Oran, F.K. (2018). Comparison of genetic variations of adipose tissue derived vaspin, visfatin and chemerin in diabetic-obese and non-diabetic-obese patients, İstanbul University, Aziz Sancar Institute of Health Science, Department of Molecular Medicine. İstanbul.

Diabetes mellitus (DM) and obesity are very similar in regard of pathogenesis and pathophysiology. Most of the patients with obesity have adipose tissue dysfunction as a result of genetic and environmental factors. Adipose tissue is the source of mediators (adipokines) released from the adipocytes. Vaspin (visceral adipose tissue–derived serine protease inhibitor), visfatin (pre-B cell enhancing factor), chemerin are adipokines identified in recent years.

It is suggested that occurrence of obesity can be related with the polymorphism of adipokine genes. Development of resistance to adipokines plays a role in chronic activation of sympathetic nervous system. Chronic over-activation of sympathetic nervous system has been shown to lead to complex problems related with organ damage and obesity.

Vaspin as a serine protease inhibitor (serpine) derived from visceral adipose tissue. Induction of vaspin by adipose tissue is suggested to develop a mechanism compensating the response to obesity and inflammatory complications of obesity.

As a growth factor for B-lymphocyte precursors, visfatin is an insulin-mimicking adipokine discovered in liver, skeletal muscles and bone marrow. Circulating visfatin levels have been associated closely with white adipose tissue accumulation. Visfatin mRNA levels increase during adipocyte differentiation and visfatin synthesis is regulated by various factors such as glucocorticoids, TNF, IL-6 and growth hormone.

Chemerin is a chemo-attracting protein serving as a ligand for G protein-coupled receptor. It is also an adipose-derived signal molecule regulating adipogenesis and adipocyte metabolism.

It is known that type 2 diabetes and obesity occurs as a result of insuline resistance. We believe that there are polymorphism differences in adipokine genes which have role in the pathophysiology of these two diseases. Our aim with this study is, to search the differences and its effects in gene variations of vaspin, visfatin and chemerin which are adipose tissue adipokines in diabetic obese and nondiabetic obese patients.

Key Words: Vaspin, Visfatin, Chemerin, Adipokine, adipose tissue, Diabetes, Obesity

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 42096

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabet ve obezite hem patogenez hem de fizyopatoloji olarak pek çok benzer özellik taşımaktadır (1,2). Obez bireylerin büyük bir kısmında genetik ve çevresel faktörler kökenli adipoz doku disfonksiyonu görülür (3). Adipoz doku, adipokin adı verilen bir takım mediatörlerin kaynağıdır (4). Son 5 yıl içerisinde tanımlanmış bazı önemli adipokinleri saymak gerekirse; vaspin (visseral adipoz doku kökenli serin proteaz inhibitörü), visfatin (pre-B hücresi arttırıcı faktör), kemerin, apelin ve rezistin üzerinde durulabilir (5). Obezite ile adipokin genlerinin polimorfizm göstermesi arasında önemli bir ilişki olduğu vurgulanmıştır (6). Adipokinlere karşı gelişen direnç sempatik sinir sisteminin kronik aktivasyonuna neden olur bunun sonucunda da çeşitli organ hasarları ve obezite tablosu karşımıza çıkar (7). Vaspin, adipoz doku tarafından üretilen bir serin proteaz (serpin) inhibitörüdür ve adipoz doku tarafından sentezinin uyarılması obezite ve obezitenin antiinflamatuvar komplikasyonlarına verilen yanıtı kompanse eder.

B lenfositleri prekürsör hücreleri için büyüme faktörü görevi yapan visfatin, karaciğer iskelet kası ve kemik iliğinde bulunan ve insülinin etkilerini taklit eden bir adipokindir (8,9). Beyaz adipoz doku akümüasyonu ile visfatinin kan düzeyleri arasında sıkı bir korelasyon bulunmaktadır. Adipozitlerin differansiyasyonu sırasında visfatin mRNA düzeyleri artar, glukokortikoidler, TNF, IL-6 ve büyüme hormonu düzeyleri visfatin sentezi için önemli bir regülasyon görevi görür (10).

Kemerin, G protein reseptörü için ligand görevi gören bir kemoatraktan proteindir. Aynı zamanda adipozit metabolizmasında adipogenezi regüle eden bir sinyal molekülüdür (11,12,13).

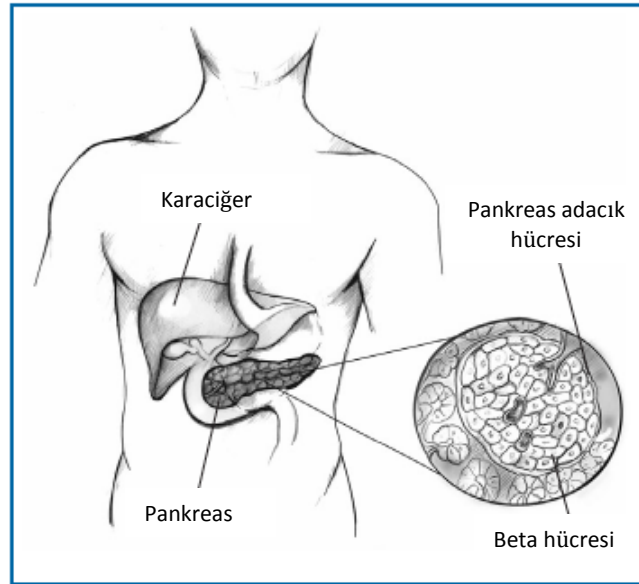
Tip 2 Diyabet ve obezitenin her ikisi de insülin direnci altında gelişse de, fizyopatolojilerinin farklı olduğu düşünülmektedir (adipokin genlerindeki polimorfizm gibi). Bu çalışmadaki amacımız obez hastalardaki adipoz doku kökenli adipokinler olan vaspin, visfatin ve kemerinin genetik varyasyonlarını değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Temel Bilgiler

İnsülin pankreatik bir hormondur ve pankreas midenin arkasında uzanan bir organdır. Pankreasta adacıklar ve Beta hücreleri yer almaktadır. İnsülin adacık hücrelerinde yapılır ve bu hücrelerden kana salınım gerçekleşir. İnsülinin metabolizmadaki rolü oldukça önemlidir. Metabolizma, enerji için sindirilen besinlerin kullanılmasında rol alan sistemdir. Şekerler ile nişastalar pek çok besinde bulunan karbohidratlardır ve sindirim sistemi aracılığı ile yıkılarak glukoz haline gelirler. İnsülin, glukozu absorbe etmeleri konusunda hücrelere yardımcı olur ve daha sonra hücreler glukozu enerji için kullanırlar. Glukoz kan dolaşımındaki şekerdir.

İnsülin direnci, üretilen insülinin bedende verimsiz kullanılmasıdır (8). İnsüline dirençli kişide glukoz hücreler tarafından absorbe olmak yerine, kanda artar ve böylece tip 2 diyabet veya prediyabet gelişir (10). İnsüline dirençli kişide, koruyucu önlemler alınmadığında, yıllar içinde tip 2 diyabet gelişebilir. Tip 2 diyabet yaşam boyu süren bir hastalıktır ve ilerleyici olabilir (8).



Şekil 1 Beta Hücre Siklusu

2.2. İnsülin direnci

İnsülin direncinde; kas, yağ ve karaciğer hücrelerinin insüline yanıtı düzensizdir. Böylece bu yapıların kan dolaşımındaki glukozu abzorbe etmeleri güçleşir (11). Beden ilerleyici biçimde glukozun hücrelere girmesine yardımcı olması için daha fazla insüline gereksinim duyar. Pankreatik beta hücreleri artan insülin talebini karşılamak için çok çalışır ve insülin üretimini artırır. Beta hücreleri insülin direncinin üstesinden gelmeye yetecek miktarda insülin üretebildiği sürece kan glukoz düzeyi normal kalır. Zaman içinde, beta hücreleri bedenin insülin talebini karşılamaya yetecek kadar insülin üretmede yetersiz hale gelir. Bu durum, insülin direnci nedeniyle tip 2 diyabetin veya prediyabetin ortaya çıkmasına neden olabilir (11).

İnsülin direncinin birincil nedeni obezitedir. Önceleri araştırmacılar yağ dokusunun yalnızca enerji deposu olarak iş gördüğünü kabul etmekte idiler (8). Ancak, çalışmalar, bel çevresindeki yağın insülin direncine, yüksek kan basıncına, kolesterol dengesizliğine ve kardiyovasküler hastalıklara neden olabilecek hormonları ve diğer maddeleri ürettiğini göstermiştir. Bel çevresindeki yağ bedende kronik ve kalıcı inflamasyon gelişmesinde rol almaktadır. Kronik inflamasyon uzun dönemde bedende herhangi bir bulgu veya semptom olmadan zarar doğmasına neden olur (14). Bu inflamasyon ayrıca insülin direnci, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalık gelişmesine katkıda bulunur. Çalışmalar beden ağırlığındaki azalmanın insülin direncini azalttığını ve tip 2 diyabeti önlediği veya geciktirdiğini göstermiştir (13).

Tip 2 diyabet ve prediyabet gelişme riski insülin direnci ile birlikte artar. Bir kişide insülin direnci varsa, genellikle prediyabet gelişir. İnsülin direnci tip 2 diyabete tek başına yol açmaz ama hastalık için uygun ortamı hazırlar; çünkü insülin üreten beta-hücreleri üzerinde yüke neden olur (8).

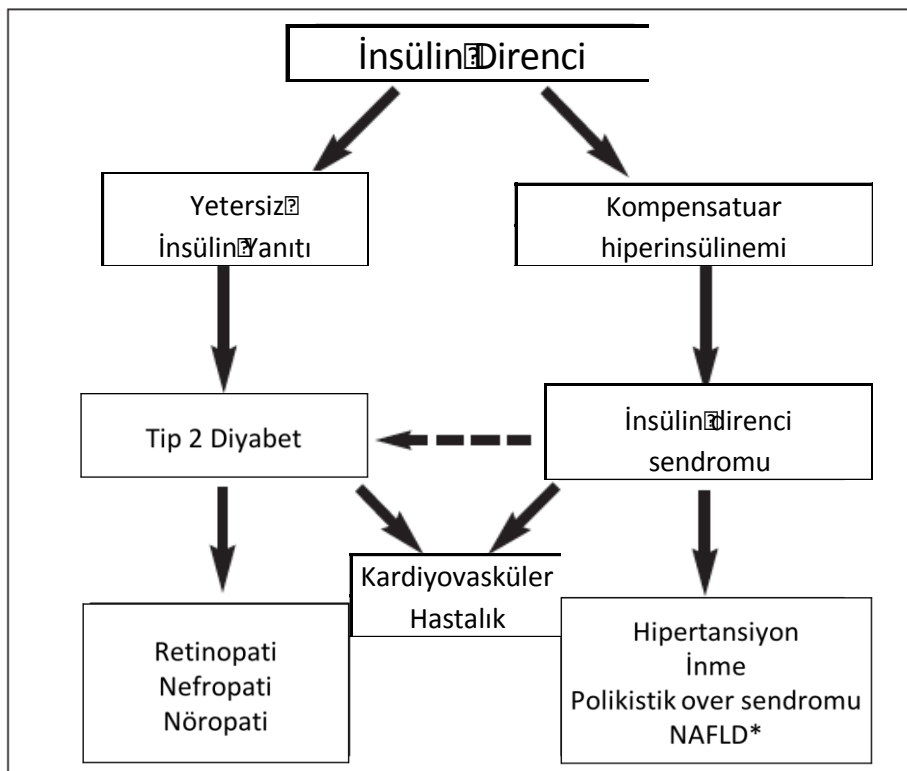
Prediyabette, beta hücreleri tarafından insülin üretimi, insülin direncini yenmeye yeterli gelmez, böylece kan glukoz düzeyleri artar. Prediyabet bir kez başladığında genellikle, beta-hücre fonksiyonu kaybı nedeniyle tip 2 diyabetle sonuçlanır (12).

Diyabet koroner olaylar riskini erkeklerde 2 kat ve kadınlarda 4 kat artırır. Bu artış hipertansiyon, dislipidemi ve pıhtılaşma anormallikleri gibi kardiyovasküler risk faktörlerinin sıklığına bağlıdır. Hem diyabet hem de hipertansiyon olan kişilerde kardiyovasküler hastalık oluşma riski, hipertansif ama diyabeti olmayanlardan yaklaşık 2 kat daha fazladır. Hipertansif diyabetik hastalarda ayrıca retinopati ve nefropati dahil

diyabete özgül komplikasyon riski de artmıştır (5). İnsülin direnci ve onu telafi etmek üzere ortaya çıkan hiperinsülinemi, İnsülin Direnç Sendromu olarak adlandırılır ve klinik dışavurumlarının büyük bir halk sağlığı sorunu olduğu iyi bilinmektedir (11).

Hiperinsülinemi, direncin üstesinden gelecek şekilde sürdürülemediğinde tip 2 diyabet gelişir (15). İnsülin direnci olan kişiler glukoz düzeylerini normal tutmak için normal miktardan daha fazla insülin salgırlar ve hiperglisemi yokluğunda bile bu durum bir grup anormalliğe neden olabilir. Bu anormallikler grubunu çeşitli isimler arasında en iyi İnsülin Direnç Sendromu tanımlar. Bu isim, eşlik eden anormallikler grubunun patogenezi insülin direncine ve sonucunda ortaya çıkan telafi edici hiperinsülinemiye baş rolü vermektedir. Alternatif isimler, örneğin metabolik sendrom veya dismetabolik sendrom çok açıklayıcı olmayan metabolik tanımlarına dayanmaktadır ve insülin direnci ve bunun sonucunda ortaya çıkan hiperinsülinemi arttığında bu terimler durumu açıklamada daha da az uygun hale gelirler (16). Ayrıca, bu isimler yalnızca bir kişide kümelenen klinik bulgular grubunu tanımlamaktadır ve niçin ortaya çıktığını açıklamamaktadır (17). Tersine, İnsülin Direnç Sendromu bir kişide bir grup anormalliğin ortaya çıkmasına neden olabilecek insülin direncine ve buna bağlı ortaya çıkan hiperinsülinemiye işaret ederek patogenezi açıkça belirtmektedir. Bu anormalliklerin tümünü (insülin direnci ve hiperinsülinemi ve anormallikler) bir şemsiye altında toplamaktadır (3).

Tablo 1 İnsülin direnç mekanizması



2.3. Obezite ve İnsülin Direnç Sendromu

Bu tezde anahatları verilen Obezite ve İnsülin Direnç Sendromu arasındaki ilişki pek çok diğer yayına göre iki açıdan farklıdır (18).

Birincisi, İnsülin Direnç Sendromu obeziteyi, özellikle abdominal obeziteyi, basit bir biçimde pek çok yaşam tarzı faktöründen biri olarak kabul etmeyip, sendromun özelliklerinden birisi olarak kabul eder. Çünkü obezite, insülinin aracılık ettiği glukoz kullanımını olumsuz etkiler ve İnsülin Direnç Sendromu riskini artırır (19). Obezite neden İnsülin Direnç Sendromunun bir özelliği olarak kabul edilir? Çünkü obezite, insülin direncinin/hiperinsülineminin bir sonucu değildir ama, insülinin aracılık ettiği glukoz kullanımını azaltan fizyolojik bir faktördür. Ayrıca, insülin direnci bulunan kişiler arasında aşırı kilolu/obez olmayanlar ve aşırı kilolu/obez kişiler arasında da insülin direnci olmayanlar bulunmaktadır (18). İnsülin Direnç Sendromunun fizyolojik oluşumunun açıkça anlaşılması için obezitenin insülin direnci/hiperinsülinemi sendromuna katkıda bulunduğu ama anormal insülin metabolizmasının bir sonucu olmadığı kabul edilmelidir (19).

İkincisi, İnsülin Direnç Sendromu riskinin artmış olduğunu belirlemek için bel çevresinden ziyade beden kitle indeksi (BMI) kullanılmaktadır (11). Bu seçimin yapılmasının nedenleri, boy ve beden ağırlığının ölçümü basittir ama bel çevresinin ölçülmesi kolay değildir, rutin bir işlem değildir ve standardize değildir (20).

Ayrıca, BMI, ABD ve Avrupa'da obezite tanımı için yaygın olarak kullanılmaktadır. Normal ağırlık, fazla kilo ve obezite sınıflandırması BMI'ye dayanmaktadır. Obezitenin farmakolojik tedavisinin uygun kullanılmasına ilişkin güncel kılavuzlar da BMI'yi temel almaktadır (21). Mevcut bilimsel kanıt, insülin direncinin saptanması bakımından bel çevresi ölçümünün BMI'den üstün olduğunu gösterememiştir (3).

Genelde, BMI ile tanımlanan yağ miktarı normalden yüksek olduğunda, metabolizma ile ilişkili hastalıklar için risk faktörü olarak kabul edilir. Kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diabetes mellitus, kemik kırılabilirliği bu hastalıklar arasındadır. Fazla yağa veya alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması; neoplazi, polikistik over sendromu, glomerulopati ve diğer metabolik olmayan patolojilere bağlı hastalıkların riskini de artırır (22). Ancak, yağ dağılımının yağ fazlalığından daha önemli olduğunu ve bedenin merkezi bölgelerinde bulunan yağın (aynı zamanda viseral veya

intraabdominal yağ olarak da bilinir) hastalıkların patogeneğinde daha önemli rol oynadığı tespit edilmiştir. Geniş kalça ve geniş basen anlamına gelen periferik obezite ise daha iyi metabolik profil ile ilişkilidir (23). Yağdaki viseral adipoz dokunun daha önce belirtilen komorbiditeleri öngördürücü olması bakımından, subkutan adipoz dokudan daha önemli olduğu gösterilmiştir (4).

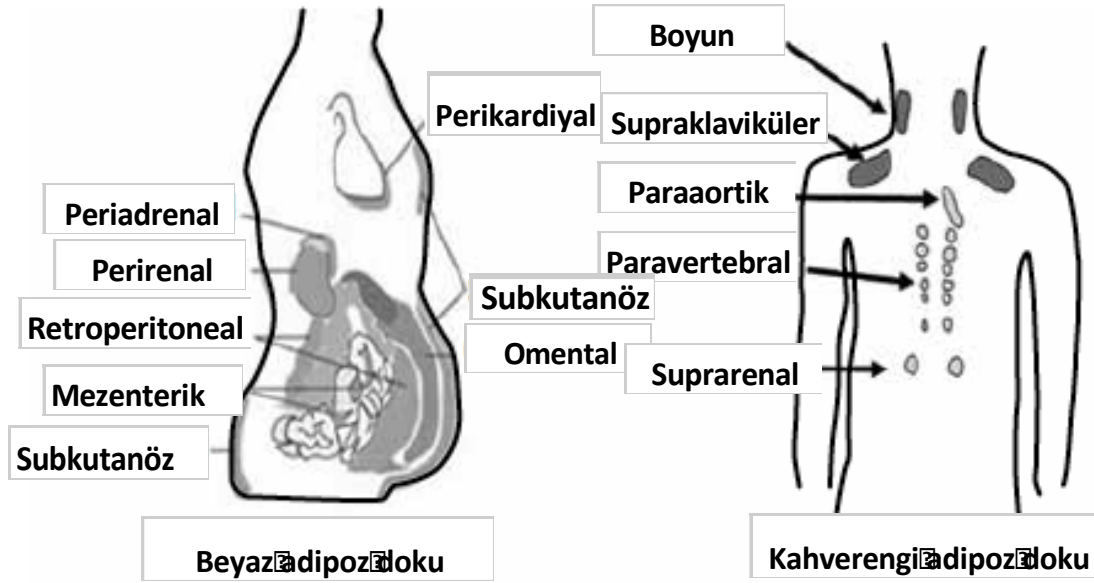
Obezite ile insülin direnci gelişmesi bağlantılıdır. Örneğin, Afro-Amerikalarda artmış abdominal subkutan adipoz doku (SAT) ve viseral adipoz doku (VAT) ile insülin direnci arasında güçlü bağlantı olduğu gösterilmiştir (24). Ayrıca, santral obezitede, subkutan obeziteye nazaran insülin direncinin daha yüksek olduğu da tespit edilmiştir. Bazı araştırmacılar ise viseral obezite ve metabolik veya metabolik olmayan hastalıklar arasındaki ilişkiye insülin direncinin neden olduğunu savunmaktadır (4).

SAT kaybı (edinsel veya kalıtsal) olan ve daha fazla VAT ve ektopik yağ birikmesi bulunan lipodistrofik hastalarda insülin direnci gelişme olasılığı daha yüksektir ve insülin direnci ile ilişkili metabolik ve metabolik olmayan hastalıklara yatkınlık daha fazladır (25). Diğer yandan, daha fazla subkutan yağı ve deforme edici yağ hastalığı (multipl simetrik lipomatozis, lipidema ve Dercum hastalığı) olan kişiler metabolik durum bakımından genellikle daha sağlıklıdır. Bu bulgular SAT'ta yağ birikmesinin metabolik durum bakımından koruyucu rolü olabileceğini düşündürmektedir ama VAT veya ektopik bölgelerdeki yağın böyle bir rolü yoktur (4).

Adipoz Dokuların Sınıflandırılması

Bedende adipoz dokular iki türe ayrılır: Beyaz adipoz doku (WAT) ve kahverengi adipoz doku (BAT) (14). WAT yağ depolama rolüne ek olarak bedendeki en büyük endokrin organ kabul edilmektedir. Otokrin, parakrin ve endokrin fonksiyonları vardır (örn., beyin, kas, karaciğer, damarlar, böbrek, kemik vb). Besin alımı ve soğuğa yanıt olarak termogenezin düzenlenmesi aracılığı ile, sempatik aktivasyonlar, kaslar tarafından salgılanan irisin hormonları vb ile BAT bedende enerjiyi yayar (4).

Şekil 2 Adipoz Doku Kompartmanları



Beyaz adipoz doku (WAT) ve kahverengi adipoz doku (BAT) daha da ileri düzeyde aşağıdaki şekilde sınıflandırılır:

a. WAT, subkutan adipoz doku (SAT) ve iç adipoz doku olarak sınıflandırılır. SAT ise daha da bölünerek yüzeysel ve derin adipoz doku adını alır. İç adipoz doku intratorasik (örn., perikardiyal) ve viseral adipoz dokudan (VAT) oluşur. Viseral adipoz doku ise intraperitoneal yağ (omentum majus ve mezenterik) ve ekstraperitoneal yağ (pre ve retroperitoneal) olarak sınıflandırılır.

b. BAT, damarlar boyunca (aorta, karotis, koroner arterler vb), boyunda, intraskapuler ve supraklavikuler bölgelerde, aksilla, karın duvarı, inguinal fossa ve kaslarda bulunur.

Adipoz dokunun iki önemli özelliği vardır: Genişler ve plastisitesi (şekle girebilir) vardır. Genişleme adipoz dokunun lipid depolama yeteneğidir. Bu adipositlerin boyutundaki artışla (hipertrofi) ve/veya mevcut adipositlerdeki artış (adipogenez) ile gerçekleşir. Obezite ilerledikçe, hipertrofi gözlenir ama çok obez kişilerde hipertrofi plato yapar (8) ama bu kez de adipositlerde hiperplazi gözlenir (26). VAT'ın proliferasyon hızı ve diferansiyasyon kapasitesi daha yavaştır ve bu nedenle başlıca hipertrofi ile büyür (18). Tersine, SAT (başlıca bedenin alt bölümlerinde)

temelde hiperplazi ile çoğalmaktadır. Her iki kompartmanda da genişleme kapasitesi aşıldığında, lipid non-adipoz dokulara taşar (4). Plastisitesi ile ilişkili olarak WAT ve BAT alanı belli koşullarda transdiferensiyasyon gösterir. Örneğin, soğuğa maruziyet durumunda, bazı WAT kahverengi adipoz dokuya dönüşür ve ısı üretimini artırabilir ve kilo artırıcı bir diyet tüketildiğinde BAT WAT'a transdiferensiyasyon olur ve daha fazla enerji depolar (4).

İnsülin direnci insülinin etkisini bozar. İnsüline direnç olan durumlarda kas glukoz alımı azalır ve karaciğerde endojen glukoz üretimi artar ve böylece hem açlık hem de tokluk durumlarında kandaki glukoz düzeyi artar. İnsülinin lipid metabolizması (örn., adipositlerde lipoliz artar) veya protein metabolizması (örn., kasta protein sentezi azalarak sarkopeniye yatkınlığa yol açar) üzerindeki etkisi de bozulur (27). İnsülin direnci, damarlar (vazokonstriksiyon/hipertansiyon); beyin (kalori alımı artar); pankreas (beta-hücre kitlesi azalır ve glukoz duyarlılığı azalır); kemik (kemik kitlesi ve gücü azalır) gibi diğer organların fonksiyonunu da etkiler (4).

İnsüline dirençli durumlarda insülinin selüler mitojenik etkisi korunur; bu özellik hücre çoğalmasını kolaylaştırır (örn., acantosis nigricans, kansere yatkınlık). İnsülin kıkırdakta IGF-1 resptörü (akromegalik özelliklere neden olur) veya over teka hücreindeki reseptör (aşırı androjen üretimi ve sagılanması, hirsutizm ve polikistik over sendromuna neden olur) gibi diğer reseptörlere bağlanabilir (28). Obezite çeşitli reseptör düzeylerinde insülinin etiyopatogenezinde rol alır; örneğin serbest yağ asidi (FFA) fazlalığı nedeniyle kasa insülinin ulaşmasını azaltır (pre-reseptör), hiperinsülinemi nedeniyle insülin reseptör downregülasyonunu azaltır (reseptör) ve birkaç adipoz ile ilişkili faktör (örn., FFA artışı, adipokin ve/veya sitokin salgılanmasındaki bozukluk) tarafından hücre içi zincirler inhibe edilir (post reseptör). Bunlardan ayrıntılı olarak söz edilmiştir ve tanımlanmışlardır (4).

2.4. Disfonksiyonel adipoz doku

Adipositler ve diğer adipoz doku obezite ile ilişkili insülin direncinde temel rol oynamaktadır. Başlıca VAT ve üst beden SAT'da yer alan oldukça lipolitik hipertrofik disfonksiyonel adipositler, dolaşıma FFA salımını artırır ama adipokinlerin salınımını bozarlar (leptin ve resistin artar, adiponektin azalır vb) (29). Artan FFA'nın santral obezite ve insülin direnci ile nasıl bir ilişkili olabileceği sorusu birbirini tamamen

reddetmeyen iki varsayımla açıklanmaktadır: portal varsayımı ve taşma (veya ektopik yağ) varsayımı.

Portal teoride, santral abdominal yağ dokusu karaciğer portal ven drenajı yoluyla arttıkça karaciğere giren FFA artar. Böylece, karaciğerde insülin direnci ortaya çıkar ve glukoz üretiminde artışa yol açar. Yakın zamanlarda, viseral yağ tarafından portal vene salınan inflamatuvar sitokinleri de bazı yazarlar tarafından en az portal FFA artışı kadar hepatik (ve sistemik) insülin direncine neden olan bir faktör olarak kabul edilmiştir (4).

Taşma varsayımında, enerji dengesi pozitif olduğunda adipoz doku genişlemesi sınırlı hale gelir (özellikle periferik subkutan kompartmanda) ve sonuç olarak FFA viseral yağ kompartmanına ve non-adipoz dokulara (örn., karaciğer, kas, pankreas, böbrek, kemik) taşar (30).

FFA non-adipoz dokular tarafından yeterince oksitlenemez ve/veya depolanamaz ve FFA ve/veya metabolik aktif türevleri ektopik organlarda birikir. Bu durum da, insülin direncine neden olacaktır ve ayrıca hücrede lipotoksisiteye ve bu ektopik organlardaki fonksiyonları bozan apoptoza neden olacaktır. Ayrıca hipertrofik adipositlerin neden olduğu hipoksi, endoplazmik retikulum (ER) stresini, adiposit ölümünü ve makrofaj infiltrasyonunu artırır (30).

Makrofaj infiltrasyonu, TNF- α ve interlökin (IL)-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin ve monosit kemoatraktan proteinin (MCP-1) salgılanmasını artırır. Tüm bu maddeler lokal ve/veya sistemik düşük dereceli inflamasyona yol açar ve bu inflamasyon insülin sinyalizasyonunu bozar (4).

İnsülin kan düzeyleri, üretim ve klirens arasındaki dengenin bir sonucudur. Bilindiği üzere insülin pankreasta üretilir. İnsülin klirensi başlıca karaciğer, böbrek, kas ve adipoz doku gibi diğer yerler yoluyla olur.

İnsülin klirensi pek çok dokuda insülinin alınması ve yıkılması ile gerçekleşir (31). Karaciğerde insülin alımı genellikle reseptör aracılığı ile olur. Düzenleyiciler vardır. Alımı ve yıkımı engelleyen FFA bu düzenleyicilerden birisidir (4). Obezitede hiperinsülinemi iki yolla ortaya çıkar. İlk olarak, insülin üretimi yüksek yağ asidi ve glukoz düzeyi nedeniyle artar. İkinci olarak, karaciğerde, ve belki de böbrek ve diğer bölgelerde insülin klirensi azalır. Hiperinsülinemik durumlar insülin reseptörlerinin downregülasyonunu sağlarlar ve kan dolaşımından insülinin giderilmesi azalır.

Hiperinsülinemi IRS-1/2'yi inhibe eden bir negatif geri besleme döngüsüne bağlı olarak insülin direncini teşvik eder (31).

CEACAM1 hepatic insülin klirensinde temel bir düzenleyicidir, bedende her yerde bulunur; ekspresyonu bozulduğunda insülin klirensi azalır. Diyet ile indüklenen obez köpeklerden elde edilen kanıt, CECAM1'deki (karsinoembriyon antijen ilişkili hücre adhezyon molekül1) değişikliklerin insülin klirensindeki azalma ile bağıntılı olduğunu göstermektedir. Kısa süre önce köpeklerde büyük bir kohort çalışması yapılmıştır ve başlangıçta, gece aç kalındıktan sonra insülin duyarlılığının birincil belirleyicisinin insülin klirensi olduğu gösterilmiştir ve böylece bozulması durumunda insülin direncinden önemli bir faktör haline gelecektir (29).

Metabolik düzensizlikler ve glukokortikoidin fazla olduğu durumların veya obezitenin bir sonucu olarak ortaya çıkan insülin direnci arasında bazı benzerlikler vardır, ancak bu benzerliklerin mekanizmaları kesin değildir (4). Cushing sendromu ve kronik stres kortizolde bir artışa neden olur ve kortizol artışı nedeniyle abdominal obezite, insülin direnci ve metabolik bozuklukların gelişmesi ile ilişkilidir. Tersine, abdominal obezite hipotalamus-hipofiz ekseninde kortizolün anormal diüurnal değişkenliği, alınan öğünlerin kortizole yanıt eksikliği gibi durumlara neden olur. Ayrıca, viseral yağın kortizolün etkisine daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (4).

Sistemik kortizol, adipozitleri etkiler ama diğer yandan viseral yağ kortizol üretir. Adipozitte kortizolün parakrin etkisi adiposit metabolizmasını değiştirir (örn., lipolizi azaltır veya artırır), adipokin salgılanmasını bozar ve ayrıca insülin direncini (IR) kolaylaştırır (4).

2.5. Sempatik sinir sistemi (SSS) aşırı güdülemesi

Kanda katekolaminlerin yüksek düzeyde olması insülin direncine neden olur. Yüksek katekolamin düzeyleri lipolizi artırır ve böylece hücrelere FFA girişi de artar. Obezitede, özellikle viseral obezitede SSS aktivitesi artar. Artan SSS aktivitesi WAT'ın BAT'a transdiferensiye olmasını artırır. Katekolaminerjik reseptörlerin yokluğunda BAT aktivitesi azalır ve obezite ortaya çıkar. Ayrıca, SSS bağışıklık yanıtının yoğunluğunu kontrol eder. Benzer şekilde, bağışıklık sistemi SSS'nin termojenik etkisini sitokinler yoluyla kontrol eder (4).

BAT aktivitesi yaş ve BMI ile negatif bağıntılıdır. İnsanlarda, soğukla indüklenen BAT aktivitesi ilerleyen yaşla birlikte azalır. Diyabetik obez hastalarda subkutan WAT'da ucpc ekspresyonu azalır (30). Yaşlı sıçanlarda, BAT azalmasının insülin direnci ve hiperglisemi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ancak, insanlarda IR patogeneğinde BAT'ın rolü hala kesin değildir. Lipidlerin ve türevlerinin hücre içinde birikmesi non-adipoz dokuda morfolojik ve fonksiyonel değişikliklere neden olur ve hücre ölümü ile sonuçlanabilir (lipoapoptoz). Bu fenomene lipotoksisite adı verilir (4).

Hücrelerde FFA, yapısal lipidleri üretmek üzere ve mitokondriyal oksidasyonda (ATP ve ısı üretimi için) kullanılır ve/veya trigliserid dolu (lipid) damlacıklar olarak depolanır. (31). FFA fazla olduğunda, non-adipoz doku yeterince yağ okside edemez ve bu da lipidlerin aşırı β -oksidasyonuna ve böylece mitokondriyal disfonksiyona ve lipid damlacıkların birikmesine yol açar. Ayrıca, non-adipoz dokuda yağın sınırlı depolanabilmesi, FFA metabolizmasının non-oksidatif yollarına olanak tanır ve böylece diaçilgliserol (DAG) ve seramidler gibi FFA-türevleri birikir. DAG ayrıca lipotoksisiteye katkıda bulunur (4).

Tek başına FFA veya belli DAG türlerinin hücre içinde birikmesi, insülin sinyalizasyonunun downstream yollarını doğrudan inhibe ederek, insülin etkisini bozar. Apoptotik lipidin bir ürünü olan seramid fazla miktarda olduğunda hücre ölümüne yol açar. Seramid hangi dokuda biriktiğine bağlı olarak sarkopeni, kalp yetersizliği, β -hücre kitlesinde azalma, siroz, glomerulopati vb.'ne neden olabilir. Ektopik FFA birikmesi obezite, dislipidemi, insülin direnci ve ko-morbiditeler arasındaki ilişkide çok önemli kabul edilmektedir ama bazı araştırmacılar tek başına ektopik lipid birikmesinin zararlı olmadığını ama bir belirteç olarak enerji yakıtı fazlalığını yansıttığını öne sürmüşlerdir. Bazı yazarlar yağ dağılımı anormallikleri, insülin direnci ve eşlik eden patolojiler arasındaki ilişkinin gerçek nedeninin toksik FFA türevlerinin birikmesine yol açan aşırı hücre içi lipidlerin non-oksidatif metabolizması olduğunu öne sürmektedirler (4).

Lipid ve glukoz düzeyi yüksek olduğunda ve hipoksi bulunduğu endoplazmik retikulum (ER) proteinleri katlayamaz. Yanlış katlanmış veya katlanmamış proteinlerin birikmesi ER stresine (ERS) yol açar. ERS yanlış katlanan proteinin translasyonunu durdurmayı amaçlar ve onları uygun katlayacak moleküler süreçleri başlatır ve daha ileri düzeyde ER stresini önler. Bu gerçekleşmezse, ERS, reaktif oksijen türlerinin (ROS) çoğalmasına, inflamatuvar yanıtta, hücre metabolik

disfonksiyona ve apoptoza neden olur. Bu olayların bir parçası olarak ERS, sonunda insülin ve leptin direncine yol açarak insülin salgılanmasını azaltır (4).

2.6. Yağ oksidasyon kapasitesinde azalma

Adipoz doku, kas gibi çeşitli organların oksidatif kapasitesini kontrol eden leptin ve TNF α gibi adipokinleri üretir ve salgılar. Buna göre, kasın FFA oksitleme kapasitesi artarsa kişiler obeziteye daha az yatkın olurlar. Ama bu kapasite azalırsa insülin direnci ortaya çıkabilir. Yaşlanma ve egzersiz yokluğu sarkopeniye yol açar ve sarkopeni de FFA oksidatif kapasitesinin azalması ve yağ birikmesi ile sonuçlanır (30). Tersine fiziksel aktivite veya farmakolojik tedavi (metformin, glitazonlar, leptin) oksidatif kapasiteyi artırır ve insülin duyarlılığını iyileştirir (4).

2.7. Mitokondriyal disfonksiyon

Mitokondriyal disfonksiyonun insülin direnci ve ektopik yağ birikmesi patogeneğinde rol aldığı varsayılmıştır. Bu varsayımı destekleyen, insanlarda yapılmış ve bazı çalışmalar vardır. Ama nedensel ilişki açık değildir. Mitokondriyal disfonksiyon insülin direncinin nedeni ya da sonucu olabilir. Besinler hücreye çok miktarda girer ve mitokondriler onların tamamını oksitleyemezse ve besinlerin bazısı de novo lipogeneşte kullanılırsa, ROS üretilmesi lehine bir ortamda doğmuş olabilir (31). Karaciğerde, kasta ve kahverengi yağda aşırı lipid mitokondrilerin ATP üretmek üzere aşırı aktifleşmesine yol açar. Bu aşırı aktivite nedeniyle çok fazla ATP üretilir. Aşırı ATP düzeylerine karşı koruma olarak işlev gören bu dokularda insülinin indüklediği glukoz alım yanıtı ihibe olur (4). Mitokondrinin yağ oksidasyon kapasitesinin azalması ektopik dokularda daha fazla yağ depolanmasına yol açabilir ve bunların metabolitleri de insülin sinyalizasyonunu inhibe edebilir (4).

Normal hücre fonksiyonu için reaktif oksijen türleri gereklidir. Mitokondri disfonksiyonu, inflamasyon ve glikasyon ve endojen antioksidan kapasitenin başa çıkabileceğinden daha fazla ROS üreten diğer mekanizmalar olmadığı sürece, peroksizomların içindeki antioksidan mekanizmalar ROS'un zararlı etkilerini baskırlar ve böylece ROS bedene zarar vermez. ROS birikmesi lipid peroksidasyonunu ve protein yanlış katlanmasını artırır (endoplazmik retikulum stresine yol açar) ve bunlar sonunda DNA ve hücrel hasar ve/veya metabolik disfonksiyon ile sonuçlanır (4).

Hormonal durum (örn., menapoz), yaş, cinsiyet, genetik özellikler ve etnik köken gibi çeşitli faktörlerin yaşam faktörleri ile etkileşime geçmesiyle VAT/ektopik yağda artış ve insülin direnci gelişmesine yatkınlık ortaya çıkabilir. Enerjiden zengin besin alımı ve yetersiz fiziksel aktivite, SAT/VAT artışına neden olur. Dokular doyunlaştığında (obeziye) veya sınırlı hale geldiğinde (lipodistrofi), lipidler non-adipoz dokulara taşarlar (ektopik yağ depolanması). Hipertrofik yağ disfonksiyonel adipositleri oluşturur. Bu adipositler insülinin antilipolitik etkilerine daha dirençlidirler. Sitokinlerin/adipokilerin salgılanmasını bozarlar (örn, adiponektin azalır ve TNFalfa ve IL-6 artar) (31). Sonuç olarak, FFA ve sitokinlerin kan dolaşımına salınımı gerçekleşir. Fazla FFA hücrelere gider ve fazla FFA'lar burada oksitlenir, depolanır (lipid damlacıkları) veya metabolize olurlar (DAG ve seramidler gibi toksik metabolitlere). Bu toksik metabolitler insülin direncine yol açar, hücre fonksiyonunu olumsuz etkiler (liptoksisite) veya apoptozla sonuçlanır (lipoapoptoz). Pankreasta, bu toksik etkiler β -hücrelerinin sayısını ve insülin salgılama kapasitelerini azaltır ve böylece tip 2 diabetes mellitus başlamasını kolaylaştırır; ancak, karaciğerde toksik etkiler kendilerini alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması ve bunu izleyen siroz olarak gösterir; kasta sarkopeni olarak ve böbrekte glomerulopati olarak ortaya çıkar vb.. makrofaj infiltrasyonunu hücre disfonksiyonu ve hücre ölümü izler ve bu lokal ve sistemik inflamasyon anlamına gelir. Ayrıca, kan dolaşımına giren inflamatuvar moleküller ayrıca hücre içi insülin sinyalizasyonunu bozar (32).

Sonuç olarak ortaya çıkan insülin direnci karaciğer endojen glukoz üretimini artırır ve periferik dokularda, başlıca kaslarda glukoz kullanılmasını azaltır. Sonuç olarak, kanda glukoz düzeyi artar ve pankreasın insülin salgılamasını uyarır. Ayrıca, hepatik insülin klirensinin bozulması da hiperinsülinemiye katkıda bulunur ve bu da insülin reseptörünün downregülasyonunu kolaylaştırır. Hiperinsülineminin diğer etkileri hücre çoğalmasının kolaylaştırılması (örn., acanthosis nigricans, neoplaziler) ve endotel disfonksiyonunu (vazokonstriksiyon artışı) içerir ama bunlarla sınırlı değildir (32).

Obezite, özellikle santral obezite sırasıyla FFA artışı, hiperinsülinemi ve sitokinlerin artışına bağlı olarak pre-reseptör, reseptör ve/veya post-reseptör düzeyde insülin direncine yol açar. İnterstisyel boşluğa insülinin ulaşması (pre-reseptör bozulma); FFA fazlalığı ve kan dolaşımındaki insülin artışına sekonder endotel

disfonksiyonu tarafından indüklenebilir. İnsülin klirensindeki azalma ve FFA fazlalığına bağlı insülin salgılanmasındaki artış hiperinsülinemiye ve bu da insülin reseptörlerinin down-regülasyonuna neden olabilir (reseptör düzeyinde bozukluk). Ayrıca, FFA ve sitokinler insülin reseptör downstream sinyalizasyonunu inhibe edebilirler (post-reseptör bozukluk). Hücrelerin içindeki çok fazla FFA aşırı miktarda ATP üretilmesi ile sonuçlanır ve bu da oksidatif strese ve mitokondriyal disfonksiyona, aşırı miktarda reaktif oksijen türleri üretimine, endoplizmik retikulum stresine ve lipid depolanmasına ve diaçilgliserid ve seramid gibi non-oksidatif toksik metabolitlerin birikmesine neden olur (32,33).

Yukarıda belirtilen faktörler ayrıca inflamasyon yollarını da aktive ederler. Upstream ve downstream düzeyde insülin reseptör bozukluğuna ek olarak insülin reseptör substratlarının (IRS-1 veya 2) inhibisyonu veya bunu izleyen PI3K (fosfoinozimid 3-kinaz) yolağının inhibisyonu da metabolik etkilerden sorumludur ve insülin direncine yol açar. Bu inhibisyonun sonucu olarak: 1) GLUT-4 (glikoz taşıyıcı-4) aktivasyonu azalır ve bu da glukoz alımını bozar; 2) karaciğer glukoz üretimini azaltır (glukoneogenezi inhibe ederek ve/veya glikohemolizi kolaylaştırarak) ve 3) de novo lipogenez, lipid depolanması (lipid damlacıkları) ve toksik metabolitler artar. Ancak, insülin reseptör substratı, Shc FFA veya sitokinler tarafından inhibe edilmez ve hiperinsülinemi ile uyarılır.

Sonuç olarak, MAPK (Mitojen-aktive protein kinaz) yolağı (mitojenik) aktifleşir ve antiapoptotik ve proliferasyon etkilerine yol açar ve doku çoğalması ile sonuçlanır. İnsülin direnci ve ektopik yağ birikmesinin metabolik ve non-metabolik etkileri aşağıdaki gibidir: hiperglisemi, hipertrigliseridemi, akantozis nigricans, neoplaziler, karaciğer yağlanması, hücre çoğalması veya apoptoz veya hücre disfonksiyonu (33).

2.8. Adipokinler

1994'de leptinin keşfedilmesi beyaz adipoz dokunun (WAT) basit bir yağ dokusu olmaktan öte tüm beden homeostazına katkıda bulunan bir yapı olduğuna ilişkin somut bir kanıttır. Bu 16 kDa protein, obezite geninin bir ürünüdür ve kalıtsal obezitede fare formunda mutasyonu gerçekleşmektedir. 1994'den bu yana WAT'ın 50'den fazla sitokin ve diğer molekül ürettiği saptanmıştır. Bu adipokinler bağışıklık ve inflamasyon dahil çok çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlere karışırlar. Bu süreç; endokrin, parakrin, otokrin ve juxtakrin etki mekanizmaları yoluyla gerçekleşir (1). 'Adipokin' adı

genellikle WAT adipositlerindeki biyolojik olarak aktif maddelere verilir; ama adipokinler diğer bölgelerde de oluşabilirler ve çeşitli ilişkisiz işlevleri vardır. WAT obezitesi, hakkındaki çok sayıdaki araştırmadan sonra, artık proinflamatuvar bir durum kabul edilmektedir ve obez hastalarda birkaç inflamasyon belirtecinin arttığı gözlenmiştir. Adipokinler çeşitli pro-inflamatuvar peptidleri (tümör nekroz faktörü [TNF] dahil) salgılamaktadır (34). Bu pro-inflamatuvar adipokinler, obez olguların 'düşük dereceli inflamatuvar durumu'na oldukça fazla katkı yapar ve böylece kardiyovasküler komplikasyonlara ve otoimmün inflamatuvar hastalıklara yol açar. Obezitede, WAT'a makrofaj infiltrasyonu WAT tarafından adipokin üretilmesini etkiler. Çözünür araçlar olan makrofajlar lokal ve sistemik inflamasyona katkıda bulunur. WAT ayrıca interlökin(IL)-1-reseptör antagonisti (IL-1RA), IL-10, IL-1RA gibi obez hastalarda belirgin şekilde artmış olan anti-inflamatuvar faktörleri de üretir (48). Kemirgenlerden elde edilen veriler bu endojen antagonistin hem santral hem de periferik etki gösterdiğini düşündürmektedir ve böylece adipogenezi ve leptine direnci artırmaktadır. Ayrıca, IL-1RA: IL-1 oranı, IL-1RA lehinedir ve interferon(IFN)- β WAT'da en iyi IL-1RA indükleyicidir. Ayrıca, IFN- β WAT'daki leptin veya adiponektini modüle edemez (1).

İnsülin direnci, tip 2 diabetes prevalansı ve kardiyovasküler hastalık riski, visceral adipoz doku kitlesi artmış kişide daha yüksektir (35). Adipokinlerin salgılanması yağ depoları arasında farklılık gösterir ve bu en azından kısmen intra-abdominal yağ birikmesinin advers etkilerini açıklayabilir. Bir adipokin olan rekombinant vaspin uygulanmasının obez farelerde glukoz toleransını ve insülin duyarlılığını iyileştirdiği gösterilmiştir ve insülin direnci ile ilişkili genlerin ekspresyonu üzerinde de olumlu etkileri olabilir (2).

2.9. Visfatin

Bir adipokin olan visfatinin insülino-mimetik etkileri vardır ve daha önce karaciğer, iskelet kası ve kemik iliğinde B lenfosit prekürsörleri için büyüme faktörü olarak keşfedildiğinden, pre-B-koloni artırıcı faktör (PBEF) olarak bilinmekte idi. Akut akciğer hasarı ve sepsis modellerinde visfatin artmıştır. Kandaki visfatin düzeyleri, WAT birikmesi ile yakından ilişkilidir. Adiposit diferensiyasyonu sırasında visfatin mRNA düzeyleri artar ve visfatin sentezi glukokortikoidler, TNF, IL-6 ve büyüme hormonu ve bazı diğer faktörler ile düzenlenirler (34). WAT'a ek olarak, visfatin ayrıca

kaspaz 3 ve 8'in aracılık ettiği apoptozu önlemek için endotoksine maruz kalan nötrofiller tarafından da üretilir. İnflamatuar bağırsak hastalığı olan hastalarda, kanda visfatin düzeyleri artmıştır ve bu hastaların bağırsak epitelinde visfatin mRNA düzeyi artışı da görülmüştür.

Visfatin; IL-1 β , TNF, IL-6 ve CD14+ monositlerde ko-stimülatör moleküllerin üretimini indükler ve bunların lenfositlerde proliferatif yanıtlar verme yeteneklerini artırır. Bu etkilere hücre içinde p38 ve MEK1 aracılık etmektedir (1). Visfatin artık yeni bir proinflamatuvar adipositokin olarak kabul edilmektedir. İnsan monositlerinde Pro- ve anti-inflamatuar sitokinler IL-1 β , IL-1Ra, IL-6, IL-10 ve TNF- α 'nın üretimini artırmaktadır. Bu sitokinlerin çok çeşitli infeksiyöz ve inflamatuvar hastalıklarda önemli rolleri vardır (6).

Romatoid artrit ve akut akciğer hasarında visfatin düzeyleri artar. İnflamatuar bağırsak hastalığında visfatin mRNA ekspresyonu artar. Histolojik muayenede inflame kolon dokusundaki akut faz hücrelerinin (APC) ve epitel hücrelerinin artmış visfatin plazma düzeylerinin kaynağı olduğu gözlenmiştir (6). Klinik sepsis ve ağır jeneralize psoriasis, doku ekspresyonunun arttığı durumlardır. Adipoz dokuda ve kolon duvarının submukozasında visfatin/PBEF/Nampt-pozitif makrofajlarının saptanması makrofajların bir visfatin kaynağı olduğuna ilişkin bir kanıttır (6).

Visfatin/PBEF/Nampt'in insülin reseptörüne bağlanma affinitesinin insüline benzer olduğu bulunmuştur ve böylece insülin mimetik etkileri olduğu bildirilmiştir (36). Pek çok çalışmada diabetes mellitusta visfatin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Ancak, obez hastalarda PBEF/visfatin ve glukoz infüzyonu arasında herhangi bir bağıntı gösterilememiştir.

Kısa süre önce, β hücre fonksiyonu için Nampt/visfatinin aracılık ettiği sistemik NAD⁺ biyosentezinin gerekli olduğu gösterilmiştir ve bu visfatinin glukoz homeostaz regülasyonuna yardımcı olduğu anlamına gelmektedir (6). Visfatin düzeyleri WAT (Beyaz Adipoz Doku) birikmesi ile yakın bağıntılıdır. Adiposit diferensiyasyonu sırasında visfatin mRNA düzeyleri artar ve glukokortikoidler, TNF- α , IL 6 ve GH6 visfatin sentezini düzenler. Obezite ölçümleri, visfatin plazma konsantrasyonları ile ve viseral visfatin mRNA ekspresyonu ile bağıntılıdır ama viseral yağ kitlesi veya bel/kalça oranının bu tür bir bağıntısı yoktur (37). Daha yüksek BMI düzeyi olan çocuklarda visfatin düzeyleri daha yüksektir ve bu obezitenin inflamatuvar

mekanizmalarının daha çocuklukta başladığını düşündürmüştür. Kadınlarda da obezite ile artmaktadır (viseral obezite). Çalışmalar BMI'nin %20'sinden fazla beden ağırlığı kaybının ve mide bandı uygulamasının morbid obes hastalarda visfatin konsantrasyonlarını azalttığını ve bağıntının lineer olduğunu göstermiştir (6).

2.10. Vaspin

Vaspin bir viseral adipoz dokudan türeyen serin proteaz inhibitörüdür. Yoğun araştırmaların sonucu olarak kısa süre önce insülin duyarlılaştırıcı olduğu ve ayrıca anti-inflamatuar özellikleri bulunduğu saptanmıştır ve insülin duyarlılığı azalmasına yanıt olan telafi edici bir mekanizma olarak etkide bulunabilir. Obez ve insülin direnci olan farelerde vaspin düzeylerinin anlamlı derecede arttığı saptanmıştır (37). İnsanlarda vaspin gen ekspresyonu ve serum düzeyleri ve metabolik sendrom parametreleri arasında pozitif bir bağıntı vardır. Yaş ve cinsiyet gen ekspresyonunu etkiler ve farelerde insülin duyarlılaştırıcılar vaspin düzeyini artırır. Metformin insanlarda serum vaspin düzeylerini azaltır. Obez olgularda vaspinin başlangıç halindeki ve ilerlemiş ateroskleroz gelişmesinde rol oynayabileceği öne sürülmüştür. Koroner ve serebrovasküler hastalıkta öngördürücü olarak kullanılabilir (37). Vaspin, obezite ve ilişkili metabolik bozukluklar, örneğin glukoz intoleransı arasında yeni bir bağlantı olarak kabul edilebilir. Metabolik ve glukoz tolerans bozuklukları için etiyoloji-temelli tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olabilir (7).

Hida ve ark. serin proteaz inhibitörü olarak vaspinin viseral adipoz dokuda üretildiğini keşfetmişlerdir. Obez sıçanlarda vaspin, glukoz toleransını ve insülin duyarlılığını iyileştirmiştir ve insülin direnci promote edici genlerin ekspresyonunu azaltmıştır (2). Adipoz doku, telafi edici bir mekanizma olarak obez kişilerde vaspin üretimini indükler (1). Diyabetin kötüleşmesi ve beden ağırlığı kaybı, vaspin serum düzeylerini azaltır ama insülin veya pioglitazon tedavisi ile düzey normalleşebilir.

Kısa süre önce, aşırı kilolu olmayan glukoz toleransı normal olan kişilerde saptanamayan insan vaspin mRNA ekspresyonunun, obez olguların adipoz dokusunda gözlemlendiği saptanmıştır (2). İnsan adipoz dokusunda vaspin mRNA ekspresyonu indüksiyonu obezite, ağır insülin direnci ve tip 2 diabetes ile ilişkili telafi edici bir mekanizmadır.

VAT'dan türeyen serin proteaz inhibitörü olan ve insülin duyarlılaştırıcı etkileri bulunan vaspin, serpin süper-ailesi, clade A 'ya aittir (Serpina12) ve OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) sıçanın VAT'ında mevcuttur. OLETF özellikleri santral obezite ve Tip 2 diabetes mellitus (T2DM) varlığı olan bir deneysel hayvan modelidir. Hem kan dolaşımındaki hem de adipositlerdeki vaspin düzeylerinin, OLETF sıçanları için maksimum obezite ve insülin direnç düzeyine erişilen zaman olan 30 haftada anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir (38). Vaspin ekspresyonu kontrolsüz diyabet ve kilo verme durumlarında azalmıştır ama pioglitazon gibi insülin duyarlılaştırıcılar ile ekspresyonu ve serum konsantrasyonu normalleştirilmiştir. Rekombinant vaspin DIO (diyetle indüklenen obezite) farelerde glukoz toleransını ve insülin duyarlılığını iyileştirmiştir. Beklendiği üzere, bu yararlı etki plazma glukoz düzeylerini normalleştirilmiştir ve rezistin, leptin, TNF α , glukoz transporter-4, ve adiponektin gibi ilgi konusu genleri modifiye ederek insülin direncini iyileştirmiştir (38). Bu verilere dayanarak, vaspin üretiminin insülin etkisini bozan etkilere antagonist olduğu (39) ve vaspinin α 1-antitripsin ve nötrofilelastaz gibi diğer iyi incelenmiş sistemlere benzer etkisi olduğu varsayımında bulunulabilir (7).

Nakatsuka ve ark. vaspin-transgenik farelerin diyetle indüklenen obeziteye, glukoz tolerans bozukluğuna ve karaciğer yağlanmasına karşı korunduğunu göstermişlerdir. Öte yandan vaspinden yoksun farelerde endoplazmik retikulum (ER) stres belirteçlerinin upregülasyonuna bağlı olarak glukoz intoleransı gelişebilir.

Vaspin antiinflamatuvar etkisini GPR78'e bağlanarak gösterir ve bunu takibeden sinyaller ER stresi ile indüklenen metabolik bozuklukları olumlu yönde etkiler. Bir diğer çalışmada Nakatsuka ve ark. vaspinin endotel hücrelerinde hücre yüzeyi GRP78/voltaja bağımlı kanal kompleksi için bir ligand olarak işlev gördüğünü göstermişlerdir. Böylece streptozotosin ile indüklenen diabetes mellitus bulunan deneysel sıçan modellerinde damar duvarlarında antiptotik, proliferatif ve koruyucu etkiler göstermişlerdir. Bu reaksiyonlar, obezite ortaya çıktığında adipokin ve endotel hücrelerinin ER stres yanıtları arasında doğrudan bağlantının söz konusu olduğunu göstermiştir (7).

Ayrıca, vaspin NF-kB üzerinde inhibitör etki göstererek endotel hücrelerini korur. Vaspin inhibitör etkilerinin proteaz hedefleri saptandığında obezite, diyabet ve insülin direnci için yeni tedavi stratejileri tasarlanabilir. Vaspin hedefi olarak saptanan

ilk proteaz insan kallikrein 7'dir (hK7). Klasik serpin mekanizması ile inhibe edilir. C57BL/6NTac ve db/db farelerde, izole pankreas adacıklarının rekombinant vaspinin ile muamele edilmesi insülin konsantrasyonu insülin salgılanmasını etkilemeden artırmıştır ve glukoz toleransını iyileştirmiştir. Bu henüz hiperinsülinemik-öglisemik klempt (HECT) uygulanan çalışmalar ile doğrulanmamıştır. Belki de db/db farelerde iyileşen glukoz homeostazına glukoz yüklenmesinden 150 dakika sonra artan plazma insülin konsantrasyonları aracılık ediyor olabilir. Bu olasılık, dolaşımdaki hK7-aracılığı ile gerçekleşen insülin yıkılması üzerinde vaspinin inhibe edici etkisinin glukoz homeostazının iyileşmesine yol açan mekanizma olduğu görüşünü desteklemektedir. hK7 inhibisyonu, obezite ile indüklenen insülin direnci üzerinde telafi edici vaspinin etkileri için en olası altta yatan fizyolojik mekanizma gibi görünmektedir. Böylece, vaspinin rekombinant proteini veya vaspinin analogları, antikorlar veya küçük moleküllü ajanlar vaspini düzenleyen moleküler mekanizmaların tam olarak açıklanması için adaydırlar. Böylece MetS patogenezi hakkında yeni bilgiler sağlarlar ve bu süreçte telafi edici molekül olarak yeni terapötik ajanların temelini oluşturmaya aday olabilirler (7). Serum vaspinin konsantrasyonlarındaki değişikliklere ELISA ve RIA gibi yöntemler arasındaki farklılıklar neden olabilir ama Teshigawara ve ark. bir genetik değişiklik olduğunu tanımlamışlardır (30). Breitfeld ve ark. genom çapında ilişki çalışması yapmışlar ve 14. kromozom vaspinin lokusundaki birkaç tekil nükleotid polimorfizminin (SNP'ler) serum vaspinin düzeyleri ile ilişkili olduğunu bulmuşlar. Serum vaspinin değişkenlerinin en olası nedeninin genetik değişkenlikler olduğu sonucuna varmışlardır (7).

Serum vaspinin konsantrasyonları sabah erken açlık döneminde zirve düzeyi olan ve kahvaltıdan 2 saat sonra post-prandiyal azalma görülen bir profil çizmektedir. Bu eğilim diğer öğünlerde de aynıdır. Bu durum vaspinin metabolik regülasyonda bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Bu arada vaspinin ve kortizol düzeyleri arasında hiçbir ilişki saptanmamıştır. Gündüz zamanında serum vaspinin ve serum insülin ve glukoz düzeyleri arasında güçlü bir negatif bağıntı saptanmıştır ve bu durum insülin duyarlılaştırıcı etkisi olduğu düşüncesini olumsuzlamaktadır. Bir derleme makalesinde Blüher vaspinin çoğunlukla farklı yağ depolarından izole olarak olgun adipositlerde lokalize olduğu ve deri, hipotalamus, pankreas adacıkları ve mide hücrelerinde eksprese edildiği öte yandan stromal veya vasküler hücrelerde eksprese edilmediği özet bilgilerini vermiştir (7).

MONICA/KORA F3 çalışmasında, Kempf ve ark. kromozom 12 vaspin lokusundaki SNP'lerin T2DM ve obezite gelişmesindeki önemini araştırmışlardır ve vaspin SNPrs2236242 ve genotip AA bulunan T2DM'nin BMI'den bağımsız olarak glukoz homeoastaz bozuklukları riskini artırdığını bümüşlardır. Artık vaspin ve glukoz metabolizması arasında bir bağlantı vardır ve vaspin obezite ve ilişkili metabolik bozukluklar, özellikle diyabet arasında yeni bir bağlantı olarak kabul edilebilir (7).

T2DM'de serum vaspin düzeyleri hakkındaki veriler çok çelişkilidir. Ye ve ark. T2DM olgularında vaspin düzeylerinin daha yüksek olduğunu ve vaspin ve post-prandiyal kan glukozu düzeyleri arasında pozitif bağıntı olduğunu bulmuşlardır. Li ve ark. sürekli subkutan insülin uygulanmasının T2DM'de serum vaspin konsantrasyonlarını azalttığını ve aynı zamanda beta-hücre fonksiyonunu iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Diğer çalışmalarda vaspin ve T2DM arasında farklı bağıntı olduğunu gösterememişlerdir. Jian ve ark., düşük serum vaspin düzeylerinin T2DM gelişmesi için bir risk faktörü olabileceğini öne sürmüşlerdir. Normal glikoz toleransı (NGT) ve prediyabet bulunan obes olgularda vaspin konsantrasyonları artmıştır. Atya ve ark. diyabetin süresinin artışı ile vaspin düzeylerinde azalma olduğunu saptamışlardır. Kadınlarda yapılan bir başka çalışmada diyabet süresinin artması ile vaspin düzeylerinin azaldığına ilişkin veriler doğrulamıştır (7).

Ayrıca, Feng ve ark. farklı hastalık sürelerinde T2DM'de her iki grupta vaspin ve HbA1c arasında pozitif bir bağıntı ve HOMA-IR (Homeostaz Model Analizi (insülin direnç testi)) ile ters bağıntı bulmuşlardır ve sağlıklı kontrollerde BMI ve yaş arasında pozitif bağıntı bulunmuştur. Youn ve ark. serum vaspin düzeylerinin obezite varlığı ve NGT olgularında insülin duyarlılığının bozulması ile ilişkili olduğunu ama T2DM hastalarında böyle bir ilişki olmadığını gözlemlemişlerdir. Li ve ark. yeni tanı konulan T2DM hastalarında, glukoz toleransı bozuk olanlarda ve NGT olgularında 2 haftalık insülin infüzyonuna yanıt olarak vaspin düzeylerinin azaldığını ama glisemik kontrolün yalnızca yeni tanı konulan T2DM hastalarında iyileştiğini bulmuşlardır. Vaspin düzeylerindeki değişiklikler insülin direnci ile pozitif bağıntılıdır. Yukarıdaki veriler vaspinin T2DM patogeneğinde önemli rolü olduğunu göstermektedir (7).

Gülçelik ve ark. T2DM bulunan ve glisemik kontrolü iyi olan kadınlarda düşük vaspin düzeyi oranının glisemik kontrolün kötü olduğu kişilere nazaran daha düşük olduğunu ve mikrovasküler komplikasyonların ise vaspini daha fazla düşürdüğünü

göstermişlerdir. Li ve ark. makroanjyopati bulunan ya da bulunmayan T2DM hastalarında vaspin düzeylerini 3 yıl süreyle incelemişlerdir. Vaspinin karotis plağı olmayan T2DM hastalarında NGT olgularına nazaran arttığını ama karotis plağı olan T2DM hastalarında karotis plağı olmayan T2DM hastalarına nazaran azaldığını bulmuşlardır. Böylece, vaspinin diyabetin erken dönemlerinde karotis plak oluşumunda rol alıyor olabileceği ve düzeyinin obezite, ağır insülin direnci ve T2DM gelişmesi için telafi edici bir mekanizma olabileceği ve böylece makrovasküler lezyonlar için koruyucu bir faktör olabileceği öne sürülmüştür. Birkaç çalışmada vaspin düzeyinin diyabet süresi arttıkça ve kardiyovasküler hastalıklar geliştikçe aşamalı olarak azaldığı gösterilmiştir (7).

WAT, metabolik bozukluklar ve inflamatuvar (oto)immün hastalıklar arasında adipokinin aracılık ettiği kompleks bir etkileşim olduğu artık açık hale gelmiştir. Bu etkileşimin her yönü açık olmasa da, terapötik etki için bazı potansiyel alanlara işaret ettik. Romatoid artrit tedavisi için kullanılan çözünür TNF reseptörlerinin çözünür, yüksek affiniteli leptin bağlayıcı molekül analogları yardımıyla leptinin indüklediği inflamasyon önenebilir (5).

2.11. Kemerin

Retinoik asit reseptör yanıtçı protein 2 (RARRES2) olarak da adlandırılan kemerin yeni bir adipokindir ve biyolojik fonksiyonları henüz açık değildir. Kemerin adipositlerin salgıladığı bir proteindir ve adipoz dokunun gelişmesinde ve işlevinde otokrin / parakrin rol oynamaktadır. Kemerin ve majör reseptörü Kemokin benzeri reseptör 1 (CMKLR1) beyaz adipoz dokuda salgılanır ve obez insanlarda ve kemirgenlerde artış gösterir (40,41).

Ayrıca, metabolik sendromda kemerin serum ve adipoz dokuda artar. Bu proteinin ve reseptörünün (kemokin benzeri reseptör 1, CMKLR1 veya ChemR23) adipoz dokuda yüksek düzeyde eksprese edilmesi otokrin/parakrin yollarla adiposit diferensiyasyonunu ve metabolizmayı düzenler (38). Kemerin ayrıca makrofajlar, doğal katil hücreler ve dendritik hücreler gibi bağışıklık hücreleri için de bir kemoatraktandır. İnflamasyon üzerindeki etkileri henüz net değildir. Obezite ve metabolik sendrom gelişmesinde bir rol oynayabilir. Kemerin ayrıca glukoz alımını bozar ve insülin direncini kolaylaştırır ve insanlarda kemerin düzeyleri ile BMI ve inflamasyon belirteçleri ve metabolik sendrom arasında bir pozitif bağıntı vardır (39).

Adipoz doku endokrin bir organdır ve leptin, tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), interlökin 6 (IL-6), rezistin, yağ asidi bağlayıcı protein-4 (FABP-4), adiponektin, kemokin ligand 2, plasminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), adiposin, renin, anjiotensinojen ve anjiotensin I ve II gibi çok sayıda adipokini salgılar. Adipositler ayrıca bazı adipokinler (örn., TNF- α , adiponektin, leptin) için reseptör de eksprese ederler ve bu reseptörler lipid metabolizması ve adipogenezi düzenlerler (41). Adipokinlerin beyin, karaciğer ve kasta da sistemik etkileri vardır ve böylece sistemik lipid ve glukoz düzeyini düzenlerler. Adipokin salgılanması ve kan düzeyi adipozite derecesi ile negatif bağıntılı olduğu için, obezite insülin direnci ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki patojenik bağlantıyı sağlıyor olabilir (42).

Kemerin ve reseptörünün ekspresyonu preadipositlerin adipositlere dönüşümü sırasında artar. Kemerin ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinazlar 1/2'nin (ERK 1/2) fosforilasyonunu ve diferensiyasyonunu adipositlerdeki ve 3T3-L1 hücrelerindeki lipolizi indükler ve hücre içi kalsiyum salgılanmasını uyarır ve cAMP birikmesini inhibe eder (43).

Kemerin 18kDa inaktif pro-protein olarak salgılanır ve plazma ve serumda yer alan 16kDa aktif kemerin formuna dönüşür (44). Plazma ve serumdaki konsantrasyonu sırasıyla insanlarda 3.0 ve 4.4 nM ve farelerde 0.6 ve 0.5 nM'dür. Over kanserli hastaların asit sıvısında (1.8-7.0 nM) ve artritli hastaların sinoviyal sıvısında (22 nM) çok miktarda aktif kemerin vardır (43).

Son bulgular beyaz adipoz dokunun, hem kemerin salgılanmasının birincil kaynağı hem de otokrin/parakrin kemerin sinyalizasyonunun hedefi olarak işlev gördüğünü güçlü biçimde düşündürmektedir. Kemerin/KemerinR'nin kritik bir işlevi adipogenezi ve metabolik hemeostazı düzenlemektir (45). Genetik çalışmalar da kemerinin lipojenik aktiviteyi artırdığını göstermiştir. Bu tür bir raporda, yaşlı ChemR23'den yoksun farelerde hafif obezite gelişmiştir ama adiposit diferensiyasyonunda bir kusur yoktur. Bu durum ayrıca oksidatif stres artışında da ortaya çıkar; ancak, oksidatif süreçte kemerinin rolü hala bilinmemektedir (39). Kemerin ayrıca inflamatuvar süreçlerde kritik bir rol oynamaktadır (43). Çeşitli inflamatuvar patolojilerde, örneğin romatoid artrit ve inflamatuvar asitte dokuda kemerin düzeyinin ve CMKLR1-eksprese eden hücre sayısının fazla olduğu saptanmıştır. Serum

kemerin düzeyindeki artış, dolaşımdaki proinflamatuvar sitokinler tümör nekroz faktör- α ve interlökin-6 ve leptin düzeyi artışı ile pozitif bağıntılıdır (39,40,41).

Kemerin ve leptin ve adiponektin gibi klasik adipokinler arasındaki ilişki de henüz açık değildir. Leptin pro-inflamatuar yanıtları indükler ve serum düzeyleri bedendeki yağ miktarı ile birlikte artar. Leptinin deneysel miyokard infarktüsü modellerinde sıçanlarda kalp yetersizliği artışına, muhtemelen pro-inflamatuar sitokin ekspresyonunu artırarak neden olduğu bulunmuştur (44). Tersine, obezitede adiponektin düzeyleri azalır ve miyokard infarktüsü riski ile ters bağıntılıdır. Ayrıca, adiponektin insülin duyarlılığını ve anti-inflamatuar sitokinlerin üretimini artırır (39).

Obez kişilerde aterojenik dislipidemi sıklıkla gözlenir. Düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonu ateroskleroza kolaylaştırır ve sonunda kardiyovasküler hastalıkların gelişmesine yol açar. Oksitlenen LDL (ox-LDL) monosit/makrofaj ve endotel aktivasyonunu, düz kas hücre proliferasyonu ve köpük hücrelerin ve yağlı çizgilerin oluşmasını başlatır (40). ox-LDL inflamasyonu tetiklemenin yanı sıra kardiyovasküler hastalıklar için yararlı bir belirteç olarak kabul edilebilir, çünkü plazma ox-LDL düzeyi kardiyak hastalarda anlamlı derecede artmıştır. ox-LDL düzeyleri ağır akut koroner sendromda yüksektir ve ağır aterosklerotik lezyonlarda ox-LDL-pozitif makrofajların sayısı artmıştır; böylece, aterosklerotik sürecin sonraki evrelerinde ox-LDL'nin önemli bir süreç olduğu ortaya çıkmaktadır (39). Paraoksonaz (PON1) oksidatif stres artışında rol alan diabetes mellitus'da, hiperlipidemide, iskemik kalp hastalığında ve kronik karaciğer hastalığında azalmıştır.

Gerçekte, PON1 aktivitesinin metabolik sendrom belirteci ile olumsuz bir ilişkisi vardır (32). PON1 aktiviteleri obes çocuklarda azalır ve PON1 arilesteraz aktivitesi adipokin düzeyleri ile değişken bağıntı gösterir. PON1 aktivitelerindeki değişkenlikler başlıca sık görülen bir polimorfizm (Q192R) ile ilişkilidir (34). Bu Gln192Arg polimorfizmi farklı enzimatik aktiviteleri olan üç PON1 fenotipi ile sonuçlanır: AA (düşük aktivite), AB (orta aktivite) ve BB (yüksek aktivite). Q192R polimorfizmi ayrıca insanlarda obezite riski artışı ile de ilişkilidir. Ancak, obez kişilerin önemli bir oranının diyabetik olmadığı ve insülin duyarlılığının normal olduğu dikkate alınmalıdır. Kısa süre önce yapılan bir çalışmada metabolik olarak sağlıklı obezlerde metabolik olarak sağlıklı insülin direnci bulunan obezlere nazaran mortalite ve kardiyovasküler risk oranının daha düşük olduğu gösterilmiştir; ama, obezite hala tip 2

diabetes mellitus için önemli bir risk faktörüdür. Ancak, bu obez kişilerde diyabetin gelişmesi bakımından oksidatif stres, antioksidan durumu, kronik inflamasyon ve adipokin gibi kalori dengesizliğinden başka klinik sonlanımı belirleyici unsurlar bulunduğu görüşünün doğmasına yol açmıştır (39).

Henüz kan dolaşımındaki kemerin proteinin kaynağı saptanamamıştır. En yüksek kemerin ekspresyonu karaciğer, adipoz dokuda ve böbrektedir. Ancak, obezlerde kemerin mRNA ekspresyonunun karaciğerde değil ama adipoz dokuda arttığı; öte yandan zayıf insanlarda hem adipoz dokuda hem de karaciğerde arttığı saptanmıştır. Böylece, insanlarda yüksek plazma kemerin düzeylerinin kökeninin adipoz doku olduğu öne sürülebilir.

Kemerin bir proinflamatuvar sitokin olarak bağışıklık hücrelerini aktive eder ve ayrıca obezitede ortaya çıkan adipoz doku inflamasyonuna da yol açabilir. Kemerin proteini tam uzunlukta ve kısa form olarak mevcuttur. Tam uzunluktaki izoformun biyolojik aktivitesi proteolitik prostenen geçmiş kısa formdan anlamlı derecede daha düşüktür. Adipoz dokuda hangi kemerin formunun bulunduğu bilinmemektedir ama obez hayvanlarda kemerinin proteolitik olarak adipoz dokuda aktif forma ayrıldığı, öte yandan zayıf hayvanlarda kemerinin inaktif tam uzunluktaki form şeklinde kaldığı varsayımında bulunulmuştur (5). Serum kemerin değerleri db/db farelerde azalmıştır (6). Ayrıca, kemerin insülin sinyalizasyonunu artırırken eş zamanlı olarak 3T3-L1'de insülin ile uyarılan glukoz alımını da potansiyelize etmektedir. Kemerin makrofajlarda eksprese edillir ve bunun anlamı kemerinin antijen sunan hücreleri toplayarak inflamasyonu düzenlemede yol oynadığıdır. Bu çalışmada serum kemerin düzeylerinin, metabolik sendromun varlığından bağımsız olarak metabolik sendrom parametreleri ve hipertansiyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Hipertansiyon ile var olan ilişki kemerin kan basıncını bir düzenleyicisi haline getirmektedir, çünkü kan basıncı düzenlenmesinde temel bir organ olan böbrekte çok fazla eksprese edilmektedir (43). Kemerin, sistatinler ve kininojenler dahil kan dolaşımındaki birçok faktör ile ilişkilidir (42).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı

Bu çalışmada iki örnek grubu kullanılmıştır. Medicana Bahçelievler Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği'nde takip edilen 44 Diyabetik Obez ve 51 Non-diyabetik obez hastalığı tanısı konulmuş toplam 95 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

Seçilen vakalardan 10ml'lik kan örnekleri etilen diamin tetra asetatlı (EDTA) ve kuru tüplere toplanmıştır. EDTA lı tüplerdeki periferik kan lökositlerinden elde edilen DNA örneklerinden Kemerin rs17173608, Vaspın rs2236242 ve Visfatin rs2110385 polimorfizmlerini saptamak için Polimeraz Zincirleme Reaksiyonu (PCR), Restriksiyon Fragmanı Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), Tetra-primer Amplifikasyon Refrakter Mutasyon sistem PCR ve agaroz jel elektroforezi teknikleri kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Materyal

3.2.1. Kullanılan Kimyasallar

Agaroz (Promega MBG), Amonyum asetat (Sigma A-8920), Amonyum klorür (Sigma A-5666), Asetik asit (Merck K-04134156), Borik asit (Sigma B-6768), dNTP seti (MBI Fermentas), EDTA (dihidrat)(Merck K-90602121), Etanol (%99), Brom fenol mavisi (Sigma B-6896), Etidyum bromür (Sigma E-8751), Mineral yağ (Sigma M-5904), Potasyum bikarbonat (Merck K-126223552), Sodyum dodesil (lauril) sülfat (Sigma L-5750), Sodyum hidroksit (Merck C754962), Potasyumdihidrojenfosfat (Merck A-741071), Sodyum klorür (Carlo Erba 368257), Tris baz (Sigma T-1503), Taq DNA polimeraz (Invitrogen), DNA marker (50-100 bp DNA size marker; MBI Fermentas), Proteinaz K (Sigma), Potasyum hidroksit (Sigma P 1767), restriksiyon enzimleri (MspI, BpiI, BstUI), primer dizileri (MBI Fermentas).

3.2.1.1. Kullanılan Primerler

Kemerin rs17173608 polimorfizminin gözlemlendiği bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primerlerin nükleotid dizileri aşağıda verildiği gibidir:

İleri primer FI : 5'- ATTGCTATAGTCCAGTGCCCTTCG -3'
 Geri primer RI: 5'- CCAGTTCCTCTGTCCGGCTTAA -3'
 İleri primer FO: 5'- GTCAGACCCATGCAGTTTTCAAAC-3'
 Geri primer RO: 5'- GAGTTCCTCTCTCAAGCATCAGGG-3'

Vaspin rs2236242 polimorfizminin gözleendiği bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primerlerin nükleotid dizileri aşağıda verildiği gibidir:

İleri primer FI: 5'- AAGACGCCGCTTCTGTGCACT -3'
 Geri primer RI: 5'- CACAGGGACCCAGGATAACTTGCT3'
 İleri primer FO: 5'- GGAGGCAGACCAGGCACTAGAAA-3'
 Geri primer RO: 5'- ACCATCTCTCTGGCTTCAGGCTTC-3'

Visfatin rs2110385 polimorfizminin gözleendiği bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primerlerin nükleotid dizileri aşağıda verildiği gibidir:

İleri primer: 5'- TGCTAGCCCATATCAATGACTG -3'
 Geri primer: 5'- AATGGGAGAAGAGGGGAAAA -3'

3.2.2. Kullanılan Aletler

Thermal Cycler cihazı (Gold Plate), Otoklav, Etüv, Hot plate, Dijital Görüntüleme sistemi, Elektroforez için güç kaynağı (E-C Apparatus Corporation), Hassas terazi (Mettler), Polaroid kamera (Kodak), Isıtcılı manyetik karıştırıcı (Elektromag), Mikrodalga fırın (Philco), Mikrosantrifüj, pH metre (Hanna), Pipet takımı (Eppendorf), Falkon santrifüj (Hettich), Spektrofotometre (Biochrom-S2100 diode array spectrophotometer), Su banyosu (Elektromag), UV transilluminator (Stratagene UV/White light Transilluminator), Elektroforez Sistemi (E-C 350 MIDICELL).

3.2.3. Çözeltiler

3.2.3.1. DNA izolasyonunda Kullanılan Çözeltiler

Eritrosit Parçalama Tamponu:

8,74gram amonyum klorür, 1gram potasyum bikarbonat, 200µl 0,5 molarlık EDTA'nın tartımları yapılarak erlen içine alınır. 900ml ddH₂O eklenir ve çözeltinin pH'sı bir normal sodyum hidroksit çözeltisi ile 7.4'e ayarlanır. Daha sonra balon joje içine alınarak bir litreye tamamlanır. Çözelti ısıya dayanıklı cam şişeye alınarak 120°C'ye alınarak 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra +4°C'de saklanır.

0,5 M Disodyum Etilen Diamin Tetra Asetat (EDTA) pH:8.0

186,1gram etilen diamin tetra asetat tartılarak beher içine alınır ve 800ml ddH₂O eklendikten sonra manyetik karıştırıcı yardımıyla çözündürülür ve pH'sı sodyum hidroksit çözeltisi ile 8,0'e ayarlanarak ddH₂O ile 1lt'ye tamamlanır. Çözelti 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilir.

4 M Sodyum Klorür (NaCl) Çözeltisi

233, gram sodyum klorür tartılarak erlene alınır. Üzerine 800ml ddH₂O ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözündürülür. Balon jöjeye aktarılarak 1lt'ye tamamlanır. Hazırlanan çözelti 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilir.

Lökositleri Parçalama Tamponu

25ml 4M sodyum klorür ve 50ml 0.5M EDTA direkt balon jöjeye aktarılarak 1lt'ye tamamlanır. Hazırlanan çözelti 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildikten sonra oda ısısında saklanır.

1 Molar Tris Tamponu (Stok)

121,1gram Tris baz tartılarak bir behere alınır. Üzerine 42ul hidroklorik asit ile yaklaşık 800ml ddH₂O eklenerek manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözündürülür. Daha sonra balon jöjeye aktarılır ve 1lt'ye tamamlanır. Hazırlanan çözelti 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilir.

9,5 Molar Amonyum Asetat Çözeltisi

73,22gram amonyum asetat tartılarak beher içine alınır. Üzerine 80ml ddH₂O eklenerek manyetik karıştırıcıda çözündürülür. Balon jojeye aktarılır ve ddH₂O ile 100ml'ye tamamlanır. 0,22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edilir ve +4°C'de saklanır.

%10'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) Çözeltisi

10 gr sodyum dodesil sülfat tartılır. SDS tozlarını kaldırmamaya dikkat ederek beher içine alınır. Üzerine 80ml ddH₂O eklenir. Manyetik karıştırıcı yardımı ile çözündürülür. pH'sı 7,2'ye ayarlanır. 0,22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edilir ve oda ısısında saklanır.

Proteinaz K (20 mg/ml)

20 mg proteinaz K tartılarak steril bir gode içinde steril ddH₂O ile 1ml'ye tamamlanır ve -20°C'de saklanır.

3.2.3.2. Agaroz Jel Elektrofrezinde Kullanılan Çözeltiler

Etidyum Bromür (10 mg/ml)

10gram etidyum bromür tartılarak steril ddH₂O ile 10ml'ye tamamlanır.

Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5x)

20 gram Ficoll 400, 1gram SDS, 1,2ml 0,5 molarlık etilen diamin tetra asetat, 1ml 1molarlık Tris (pH 8.0), 200 mg Bromo fenol mavisi, 200 mg Ksilen siyanol tartılarak steril ddH₂O ile 100ml'ye tamamlanır. Oda ısısında saklanır.

50x Tris - Asetik asit - EDTA Tamponu

242gram tris baz tartılarak bir behere alınır. Üzerine 57,1ml Glasiyal asetik asit ve 100ml 0,5 molarlık etilen diamin tetra asetat ve 800ml ddH₂O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözündürülür. Balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlanır. Hazırlanan çözelti 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilir ve oda ısısında saklanır.

5X Tris-Borik Asit-Etilen Diamin Tetra Asetat Tamponu

54 gram tris baz ve 27,5 gram borik asit tartılarak bir behere alınır. Üzerine 20ml 0.5 molarlık etilen diamin tetra asetat ve 800ml ddH₂O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözündürülür. Balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlanır. Hazırlanan çözelti 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilir ve oda ısısında saklanır.

3.3. Kullanılan Yöntemler

3.3.1 Periferik Kandan Dna İzolasyonu

EDTA'lı tüplerle alınan 10ml.lik kan örnekleri çalışma için falkon tüplerine aktarılır. Üzerilerine 1:3 oranında lysis eklenerek +4°C'de 15dk. Bekletilir. Daha sonra 1500rpm'de 10dk. santrifüj edilir ve süpernatant kısımları atılarak pelletler tamamen süspansiyon durumuna getirilir ve üzerlerine tekrar 15-20ml. lysis eklenir. Örnekler +4°C'de 15dk. Bekledikten sonra 10dk.1500rpm'de santrifüj edilir. Süpernatant kısımları atılır ve süspansiyon olan pellet üzerine 500 µl %10'luk SDS, 75µl proteinaz K (20mg/ml) ve 9,4 ml lökosit parçalama çözeltisi eklenerek 56°C'de su banyosunda bir gece inkübe edilir. İnkübasyondan sonra her 1ml örnek başına 0,37ml olacak şekilde 9,5M'lık amonyum asetat çözeltisi eklendikten sonra karıştırılır ve 3000rpm'de 25dk santrifüj edilerek proteinler çöktürülür. Santrifüj sonrası süpernatant kısmı temiz bir falkona aktarılır ve üzerine 1:2 oranında %99'luk absolü alkol eklenir ve DNA'nın presipitasyonu sağlanır. Yoğunlaşan DNA'nın alkol yüzeyine çıkması beklenir ve DNA mikropipet ucuyla alınır. DNA %70'lik alkolde yıkanır ve korunmak üzere Tris-EDTA çözeltisinde çözündürülerek +4°C'de saklanır.

3.3.1.1. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini

Elde edilen DNA örneklerinde konsantrasyon ve miktar tayini yapmadan önce her örnekten 20µl alınarak üzeri 380µl 0,5X TE tamponu ile tamamlandı ve bu şekilde 1/20 dilüsyonu sağlandı. Bu dilüsyon örneklerinin daha sonra spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında optik densite (OD) ölçümleri yapıldı.

Spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu belirlendi. O.D.₂₆₀ / O.D.₂₈₀ oranı 1,7-1,8 olan DNA'lar temiz olarak kabul edildi. DNA'nın 50µg/ml çift iplikçikli içeriğinin 260 nm dalga boyunda bir OD verdiği kabul edilmektedir. 260 nm'deki ölçüm değeri aşağıdaki formüle uygulanarak DNA konsantrasyonu hesaplandı.

$$\text{DNA Konsantrasyonu (ng/}\mu\text{l): Sulandırma katsayısı (100) x } A_{260} \times 50$$

DNA örneklerinin saflığı OD_{260}/OD_{280} oranı kullanılarak belirlendi. Yeterince iyi saflıkta kabul edilen DNA'nın OD_{260}/OD_{280} değeri yaklaşık 1,8'dir. Ortamda fenol veya protein mevcutsa bu oran 1,8'den küçük olacaktır. OD_{260}/OD_{280} değeri 2'den büyükse ortamda RNA bulunduğu anlamına gelir.

3.3.1.2 PCR Yöntemi ile Kemerin, Vaspin ve Visfatin Gen Bölgelerinin Çoğaltılması, RFLP ve Tetra-Arm Yöntemiyle Polimorfizm Analizi

Genomik DNA örneklerinde Kemerin, Vaspin ve Visfatin gen bölgeleri PCR ile çoğaltıldı. DNA örneklerinin her birinin amplifikasyonu için 10x PCR tamponu (10mM Tris-HCl, 50 mM of KCl, 1,75 mM of $MgCl_2$), 2,5mM dNTP, 0,1 ünite Taq DNA polimeraz Kemerin, Vaspin ve Visfatin gen bölgelerine özgü her bir primerden 100pmol/ μ l ve 500ng DNA içeren toplam 25 μ l'lik PZR karışımı hazırlandı.

PCR'da Kullanılan Kimyasal Maddeler

DNA Taq polimeraz enzimi (5U/ μ l)

PCR reaksiyonundaki konsantrasyonu 2,5 unite olacak şekilde 50 μ l'lik PCR karışımına 0,3 μ l eklendi.

10 X DNA Taq PCR Tamponu (NH_4)₂SO₄'lü

Tris-HCl'den 100mM (pH 8,8, 25°C'de), 500mM KCl ve %0,8 Nonidet P40 içeren 10X Taq PCR tamponundan 25 μ l'lik PCR karışımına 2,5 μ l eklendi.

$MgCl_2$ (25mM/ml)

$MgCl_2$ 'den 25 μ l'lik PCR karışımına 1,5 μ l eklendi.

dNTP'ler (100 μ mol/ml)

dNTP'den (2,5Mm) 25 μ l'lik PCR karışımına 1,5 μ l eklendi.

Kemerin, Vaspin ve Visfatin Gen Bölgelerinin PCR Yöntemi ile Çoğaltılması

Kemerin rs17173608 gen bölgesi optimize edilmiş PCR protokolü (Tablo 3.1) ve PCR şartları (Tablo 3.2) ile amplifiye edilmiştir.

Vaspin rs2236242 gen bölgesi optimize edilmiş PCR protokolü (Tablo 3.3) ve PCR şartları (Tablo 3.4) ile amplifiye edilmiştir.

Visfatin rs2110385 gen bölgesi optimize edilmiş PCR protokolü (Tablo 3.5) ve PCR şartları (Tablo 3.6) ile amplifiye edilmiştir.

Tablo 2 Kemerin rs17173608 gen bölgesi için kullanılan PCR Protokolü

KİMYASALLAR	MİKTARLAR
SU	16,7 µl
dNTP	2 µl
10 x Buffer	2,5 µl
Primer F0	0,5 µl
Primer R0	0,5 µl
Primer F1	0,5 µl
Primer R1	0,5 µl
Taq	0,3 µl
DNA	1,5 µl

Tablo 3 Kemerin rs17173608 gen bölgesi için kullanılan amplifikasyon sıcaklıkları

95°C	5 dk	
94°C	45 sn	
64°C	45 sn	35 döngü
72°C	45 sn	
72°C	5 dk	

Tablo 4 Vaspın rs2236242 gen bölgesi için kullanılan PCR Protokolü

KİMYASALLAR	MİKTARLAR
SU	16,7 µl
dNTP	2 µl
10x Buffer	2,5 µl
Primer F0	0,5 µl
Primer F0	0,5 µl
Primer F0	0,5 µl
Primer F0	0,5 µl
Taq	0,3 µl
DNA	1,5 µl

Tablo 5 Vaspin rs2236242 gen bölgesi için kullanılan amplifikasyon sıcaklıkları

95°C	5 dk	
94°C	45 sn	
63°C	45 sn	35 döngü
72°C	45 sn	
72°C	5 dk	

Tablo 6 Visfatin rs2110385 gen bölgesi için kullanılan PCR Protokolü

KİMYASALLAR	MİKTARLAR
SU	17,7 µl
dNTP	2 µl
10x Buffer	2,5 µl
Primer F	0,5 µl
Primer R	0,5 µl
Taq	0,3 µl
DNA	1,5 µl

Tablo 7 Visfatin rs2110385 gen bölgesi için kullanılan amplifikasyon sıcaklıkları

95°C	5 dk	
94°C	45 sn	
58°C	45 sn	35 döngü
72°C	45 sn	
72°C	5 dk	

%2'lik Agaroz Jel Hazırlanması

Elektroforezde stok 5X TBE tamponundan hazırlanan 1X TBE kullanıldı. 4 gr. agaroz tartılarak erlen içine konuldu. Üzerine son hacim 200 ml. olacak şekilde 1X TBE tamponu eklenerek, mikrodalga fırında kaynatma yolu ile çözündürüldü. Erlenin sıcaklığı elle tutulabilecek sıcaklığa düştüğünde (50-55°C) çözünmüş agaroz jel içine 1 µl etidyum bromür (10mg/ml) ilave edildi. Hazırlanan jel yatay jel yatağı içine dökülerek, yükleme kuyucuklarının oluşması için tarak yerleştirilerek donmaya bırakıldı. Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı ve jel örnek yüklenmesi için hazır duruma geldi.

3.3.2. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel'e Yüklenmesi

Yükleme Tamponu (Loading Buffer: 6X)

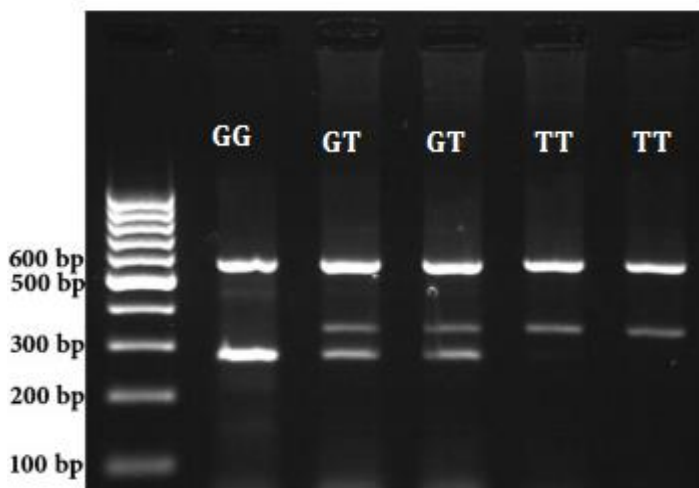
Yükleme tamponu (loading buffer) olarak %40 sükröz + %0,25 bromfenol mavisi karışımı kullanıldı.

%3'lik jel hazırlandıktan sonra 1X TBE tamponu içeren jel tankı içine uygun şekilde konuldu. Agaroz jelin üzerini 2-3 ml geçecek şekilde 1X TBE tamponu jel üzerine eklendi. 7 µl PZR ürününe, 1,5 µl yükleme tamponu (6X) eklenip pipetleme yapılarak karıştırıldı. 10 µl'lik örnek karışımı kuyucuklara sırasıyla yüklendi. Yükleme işleminden sonra jel tankının kapağı kapatıldı. Güç kaynağı (E-C apparatus Corporation, E-C4000P) 500 miliamper 120volt elektrik gücüne ayarlanarak elektroforez jel yürütülmesi gerçekleştirildi.

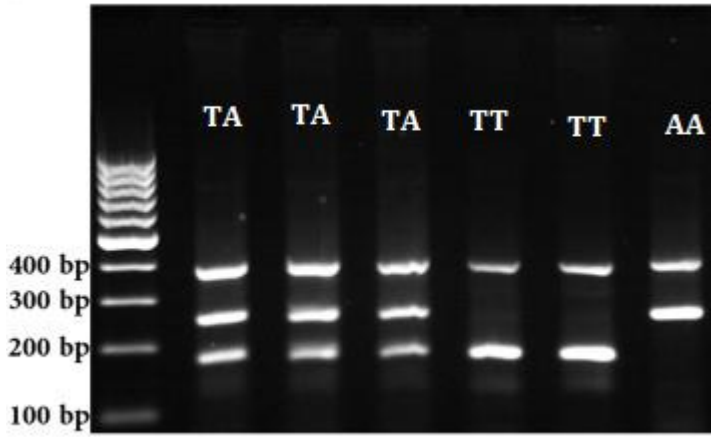
PCR Ürünlerinin Kontrolü

Kemerin rs17173608, Vaspin rs2236242 ve Visfatin rs2110385 genlerine ait istenilen bölgelerinin PCR ürünlerinin oluşup oluşmadığını kontrol etmek amacı ile her iki bölge için de ayrı ayrı PCR tüpünden alınan 7 µl örnek 1,5 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak yukarıda tanımlanan elektroforez sisteminde 120 voltluk elektrik akımında yürütüldü. Yürütme işleminden sonra jel UV ışık altında (304 nm dalga boyunda) PCR ürünleri incelendi ve fotoğrafı UV transillüminator düzeneğinde çekildi.

PCR sonuçları:



Şekil 3 Kemerin rs17173608 geninden 262 bç G alleli, 332 bç T alleli ve 549 bç dış primerler kontrol bantları. Kemerin rs17173608 PCR görüntüsü.



Şekil 4 Vaspin rs2236242 geninden 174 bç T alleli, 248 bç A alleli ve 378 bç dış primerler kontrol bantları. Vaspin rs2236242 PZR görüntüsü.

Visfatin rs2110385 geninden 993 bç'lik bir ürün elde edilmesi beklendi.

AluI Kesim enzimi (10U/µl): AluI enzim 10X Universal Buffer ile birlikte Visfatin rs2110385 gen polimorfizminin belirlenmesi için kullanıldı.

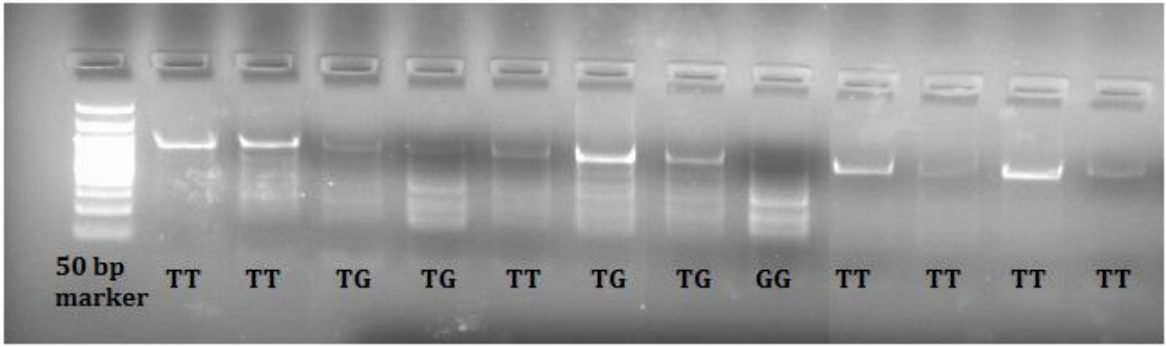
AluI enziminin tanıdığı dizi ve kesim yeri:

5'.AG CT .3'

3'. TC GA.5'

AluI Enzimi Kesim Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Kesim işlemi yapılmadan önce elde edilen PCR ürünlerinin bant büyüklüklerinin 993 bp olduğu saptandı. AluI ile kesim sonrası; 993, 247, 215, 193, 112, 104, 62, ve 60 bç büyüklüğünde bantlar görüldü. Kesim sonucu sadece 993 bç'lik bant görüldüğünde TT (polimorfizm yok), 247, 215, 193, 112, 104, 62, ve 60 bç'lik bantlar görüldüğünde GG (homozigot mutant), 993, 247, 215, 193, 112, 104, 62, ve 60 bç'lik bantlar görüldüğünde ise TG (heterozigot mutant) olarak değerlendirildi.



Şekil 5 AluI Enzimi ile kesim sonucu elde edilen görüntü

Tablo 8 AluI enzimi için kesim protokolü

KİMYASALLAR	MİKTARLAR
Distile SU	4,5 µl
10x Universal uffer	0,5 µl
Alul Enzim	0,25 µl
PZR Ürünü	5 µl

4. BULGULAR

Tablo 9 Kemerin, Vaspın ve Visfatın hasta ve kontrol genotip dağılımı

		Diyabetik (n=43)	%	Non Diyabetik (n=51)	%	p
KEMERİN	TT (w)	21	%47,72	20	%39,21	0,46
	TA	17	%36,63	22	%43,13	
	AA	5	%11,36	9	%17,64	
VASPİN	GG(w)	19	%43,18	15	%29,41	0,048
	GT	21	%47,72	25	%49,01	
	TT	3	%6,81	11	21,56	
VİSFATİN	TT (w)	12	%27,27	8	%15,68	0,096
	TG	18	%40,90	19	%37,25	
	GG	13	29,54	24	%47,05	

Obez diyabetli ve obez non diyabetik bireylerde yapılan çalışmamızda iki grup arasında Vaspın geni polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmuştur. Diğer iki gen polimorfizmi gruplar arasında anlamlı sonuç bulunmamıştır. Ancak hasta sayılarının azlığı göz önünde bulundurulursa, daha çok birey ile yapılacak çalışmalarda daha fazla anlamlı sonuçlar elde edilebilir.

Tablo 10 Grupların Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi

	Diyabetik (n=44) Ort±SS	Non diyabetik (n=51) Ort±SS	p
Yaş	64,74±5,97	61,47 ±9,38	0,013
BMI	31,60±3,32	31,93 ±3,27	0,687
LDL	118±44,59	120,85 ±36,31	0,733
AST	28,16±17,55	31,67 ±17,19	0,119
ALT	27,21±14,98	35.00 ± 27.06	0,133
BUN	20,86±9,97	20,14 ±10,55	0,586
Kreatin	1,67±4,7	1,10±1,15	0,969
PLT	271,8±66,01	272,08±61,95	0,983
Sedim	36,60±22,24	32,61±23,27	0,270
ÜRE	42,45±17,94	43,11±20,82	0,734
WBC	8,13±2,37	7,60±1,99	0,247
HbA1c	8,19±2,29	6,37± 1,52	0,001
KİLO	81,29±11,17	85,23±12,54	0,087
HDL	39,92±9,44	38,17±9,44	0,490
VLDL	48,88±45,37	38,79±9,44	0,642

Yaş ve HbA1c parametrelerinde, gruplar arasında anlamlı olarak fark bulunmuştur. Yaş arttıkça obezitenin de etkisiyle, diyabet riskinin de artabileceği düşünülebilir. Ayrıca diyabetli obez olgularda HbA1c değerinin bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceği görülmüştür.

Tablo 11 Kemerin homozigot Mutasyon Genotipi varlığında olası Diyabet Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi

Homozigot Mutasyon Modeli	p	OR	%95 GA
Kemerin (AA)	0,320	0,520	0,143-1,889
Yaş	0,07	1,052	0,995-1,112
BMI	0,820	0,985	0,865-1,122
LDL	0,892	1,001	0,990-1,012
AST	0,261	0,986	0,961-1,01

Kemerin genindeki homozigot mutasyon ve diyabetik obez olgularda risk faktörü olabilecek parametrelerin, gruplar arasındaki anlamlılıkları binary logistic regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak kemerin genindeki homozigot mutasyon genotipi beraberliğinde kemerin için anlamlı sonuç elde edilememiştir. Aynı zamanda kemerin genindeki homozigot mutasyon genotipi varlığında risk faktörü olabilecek olan yaş, BMI, LDL ve AST de istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunamamıştır.

Tablo 12 Vaspin homozigot Mutasyon Genotipi varlığında olası Diyabet Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi

Homozigot Mutasyon Modeli	p	OR	%95 GA
Vaspin (TT)	0,042	0,234	0,058-0,951
Yaş	0,032	1,065	1,005-1,128
BMI	0,910	1,008	0,880-1,115
LDL	0,753	1,002	0,991-1,013
AST	0,386	0,989	0,964-1,014

Vaspin genindeki homozigot mutasyon genotipi varlığında olası diyabet risk faktörlerinin değerlendirilmesi sonucunda, yaş parametresinin anlamlı olduğu görülmüştür. Yaş artışı eşliğinde Vaspin genindeki polimorfizm obez olgularda diyabet riskini artırabilmektedir.

Ayrıca Yaş, BMI, LDL ve AST faktörleri ile birlikte Vaspin homozigot mutasyon genotipi varlığında obez olgularda Diaybet riskinin artabileceği düşünülebilir

Tablo 13 Visfatin homozigot Mutasyon Genotipi varlığında olası Diyabet Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi

Homozigot Mutasyon Modeli	p	OR	%95 GA
Visfatin (GG)	0,065	0,411	0,160-1,005
Yaş	0,042	1,061	1,002-1,124
BMI	0,782	1,020	0,889-1,70
LDL	0,664	1,002	0,991-1,014
AST	0,437	0,990	0,965-1,055

Visfatin genindeki homozigot mutasyon genotip varlığında risk faktörü olabilecek olan yaş parametresinin anlamlı olduğu ve yaş artıkça obez olgularda diyabet riskinin yüksek olabileceği söylenebilir.

Visfatin genindeki homozigot mutasyon genotipi varlığında AST, LDL, BMI açısından anlamlı sonuçlar elde edilememiştir.

5. TARTIŞMA

Bizim çalışmamızda, obez diyabetik ve obez non diyabetik bireylerde iki grup arasında Vaspin geni polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarda da vaspinin obezite ve bozulmuş insülin direnci için önemli bir biyobelirteç olduğu gösterilmiştir. Bu konuda araştırmalar daha da detaylı hale getirilmiş ve düzenli olarak spor yapmayan bireylerin egzersize başlamasıyla insülin direncinde iyileşme görülür. Düzenli olarak spor yapan fit kişilerde ise hem insülin direncinin normal sınırlarda olduğu hem de vaspin düzeylerinin oldukça düşük seyrettiği tespit edilmiştir (47). Vaspinin insülin duyarlılaştırıcı olduğu ve ayrıca anti-inflamatuar özellikleri bulunduğu saptanmıştır ve insülin duyarlılığı azalmasına yanıt olan telafi edici bir mekanizma olarak etkide bulunabilir. İnsanlarda vaspin gen ekspresyonu ve serum düzeyleri ve metabolik sendrom parametreleri arasında pozitif bir bağlantı vardır. Yaş ve cinsiyet gen ekspresyonunu etkiler. Adipoz doku telafi edici bir mekanizma olarak obez kişilerde vaspin üretimini indükler (1). Aşırı kilolu olmayan glukoz toleransı normal olan kişilerde saptanamayan insan vaspin mRNA ekspresyonunun obez olguların adipoz dokusunda gözlemlendiği saptanmıştır (2). İnsan adipoz dokusunda vaspin mRNA ekspresyonu indüksiyonu obezite, ağır insülin direnci ve tip 2 diyabet ile ilişkili telafi edici bir mekanizmadır.

Blüher vaspinin çoğunlukla farklı yağ depolarından izole olarak olgun adipositlerde lokalize olduğu ve deri, hipotalamus, pankreas adacıkları ve mide hücrelerinde eksprese edildiği öte yandan stromal veya vasküler hücrelerde eksprese edilmediği özet bilgilerini vermiştir (7).

Kempf ve ark. kromozom 12 vaspin lokusundaki SNP'lerin T2DM ve obezite gelişmesindeki önemini araştırmışlardır ve vaspin SNPrs2236242 ve genotip AA bulunan T2DM'nin BMI'den bağımsız olarak glukoz homeostaz bozuklukları riskini artırdığını bümüşlardır. Artık vaspin ve glukoz metabolizması arasında bir bağlantı vardır ve vaspin obezite ve ilişkili metabolik bozukluklar, özellikle diyabet arasında yeni bir bağlantı olarak kabul edilebilir (7).

T2DM'de serum vaspin düzeyleri hakkındaki veriler çok çelişkilidir. Ye ve ark. T2DM olgularında vaspin düzeylerinin daha yüksek olduğunu ve vaspin ve post-prandiyal kan glukozu düzeyleri arasında pozitif bağlantı olduğunu bulmuşlardır. Li ve ark. sürekli subkutan insülin uygulanmasının T2DM'de serum vaspin konsantrasyonlarını azalttığını

ve aynı zamanda beta-hücre fonksiyonunu iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Diğer çalışmalarda vaspin ve T2DM arasında farklı bağıntı olduğunu gösterememişlerdir. Jian ve ark., düşük serum vaspin düzeylerinin T2DM gelişmesi için bir risk faktörü olabileceğini öne sürmüşlerdir.

NGT ve prediyabet bulunan obez olgularda vaspin konsantrasyonları artmıştır. Atya ve ark. diyabetin süresinin artışı ile vaspin düzeylerinde azalma olduğunu saptamışlardır. Kadınlarda yapılan bir başka çalışmada diyabet süresinin artması ile vaspin düzeylerinin azaldığına ilişkin veriler doğrulamıştır (7). Ayrıca, Feng ve ark. farklı hastalık sürelerinde T2DM'de her iki grupta vaspin ve HbA1c arasında pozitif bir bağıntı ve HOMA-IR ile ters bağıntı bulmuşlardır ve sağlıklı kontrollerde BMI ve yaş arasında pozitif bağıntı bulunmuştur. Youn ve ark. serum vaspin düzeylerinin obezite varlığı ve NGT olgularında insülin duyarlılığının bozulması ile

ilişkili olduğunu ama T2DM hastalarında böyle bir ilişki olmadığını gözlemlemişlerdir. Li ve ark. yeni tanı konulan T2DM hastalarında, glukoz toleransı bozuk olanlarda ve NGT olgularında 2 haftalık insülin infüzyonuna yanıt olarak vaspin düzeylerinin azaldığını ama glisemik kontrolün yalnızca yeni tanı konulan T2DM hastalarında iyileştiğini bulmuşlardır. Vaspin düzeylerindeki değişiklikler insülin direnci ile pozitif bağıntılıdır. Yukarıdaki veriler vaspinin T2DM patogenezinde rolü olduğunu göstermektedir (7).

Gülçelik ve ark. T2DM bulunan ve glisemik kontrolü iyi olan kadınlarda düşük vaspin düzeyi oranının glisemik kontrolün kötü olduğu kişilere nazaran daha düşük olduğunu ve mikrovasküler komplikasyonların ise vaspini daha fazla düşürdüğünü göstermişlerdir. Li ve ark. makroanjyopati bulunan ya da bulunmayan T2DM hastalarında vaspin düzeylerini 3 yıl süreyle incelemişlerdir. Vaspinin karotis plağı olmayan T2DM hastalarında NGT olgularına nazaran arttığını ama karotis plağı olan T2DM hastalarında karotis plağı olmayan T2DM hastalarına nazaran azaldığını bulmuşlardır. Böylece, vaspinin diyabetin erken dönemlerinde karotis plak oluşumunda rol alıyor olabileceği ve düzeyinin obezite, ağır insülin direnci ve T2DM gelişmesi için telafi edici bir mekanizma olabileceği ve böylece makrovasküler lezyonlar için koruyucu bir faktör olabileceği öne sürülmüştür. Birkaç çalışmada vaspin düzeyinin diyabet süresi arttıkça ve kardiyovasküler hastalıklar geliştikçe aşamalı olarak azaldığı gösterilmiştir (7).

Araştırmamızın diğer bir önemli bulgusu da vaspin genindeki homozigot mutasyon genotipi varlığında olası diyabet risk faktörlerinin değerlendirilmesi sonucunda, yaş parametresinin anlamlı olduğu görülmüştür. Yaş artışı eşliğinde Vaspin genindeki polimorfizm obez olgularda diyabet riskini artırabilmektedir. Ayrıca Yaş, BMI, LDL ve AST faktörleri ile birlikte Vaspin homozigot mutasyon genotipi varlığında obez olgularda diyabet riskinin artabileceği düşünülebilir. Bizim çalışmamızda cinsiyet farklılığı görülme de Byung Son Youn ve arkadaşlarının makalesinde (2008) vaspin serum düzeylerinin cinsiyete bağlı olarak farklılık gösterdiğini bildirmiştir. Glikoz tolerans normal olan kadınlarda vaspin konsantrasyonu erkeklere oranla 2.5 kat daha fazla bulunmuştur (47).

Vaspinin hedef dokusu aslında beyaz adipoz doku olarak karşımıza çıkar. Temel etkilerini her zaman beyaz yağ hücreleri üzerinden gösterir (48). Bizim bulgularımız ve önceden yapılmış çalışmalar ışığında insülin duyarlılığını artırma özelliğine sahip vaspinin ileride geliştirilebilecek antiproteaz inhibitör tedavisi için kilit rol olmayacağını düşünebiliriz.

Beyaz adipoz doku hem kemerin salgılanmasının temel kaynağı hem de kemerin sinyalizasyonunun primer hedefi olarak işlev görür. Kemerin/KemeriR'nin kritik bir işlevi de adipogenezi ve metabolik hemeostazı düzenlemektir (44). Genetik çalışmalar da kemerin lipojenik aktiviteyi artırdığını göstermiştir. Kemeri ayrıca inflamatuvar süreçlerde kritik bir rol oynamaktadır (45). Çeşitli inflamatuvar patolojilerde, örneğin romatoid artrit ve inflamatuvar artrit dokuda kemeri düzeyinin ve CMKLR1-ekspresyon eden hücre sayısının fazla olduğu saptanmıştır. Serum kemeri düzeyindeki artış dolaşımdaki proinflamatuvar sitokinler tümör nekroz faktör- α ve interlökin-6, ve leptin düzeyi artışı ile korelasyon gösterir (8, 41, 42). Leptin pro-inflamatuvar yanıtları indükler ve serum düzeyleri bedendeki yağ miktarı ile birlikte artar. Obezitede adiponektin düzeyleri azalır ve miyokard infarktüsü riski ile ters bağıntılıdır.

Ayrıca, adiponektin insülin duyarlılığını ve anti-inflamatuvar sitokinlerin üretimini artırır (8). Kemeri bir proinflamatuvar sitokin olarak bağışıklık hücrelerini aktive eder ve ayrıca obezitede ortaya çıkan adipoz doku inflamasyonuna da yol açabilir. Kemeri proteini tam uzunlukta ve kısa form olarak mevcuttur. Tam uzunlukta izoformun biyolojik aktivitesi proteolitik prosten geçmiş kısa formdan anlamlı derecede daha düşüktür. En yüksek kemeri ekspresyonu karaciğer, adipoz dokuda ve böbrektedir. Ancak, obezlerde kemeri mRNA ekspresyonunun karaciğerde değil ama adipoz

dokuda arttığı; öte yandan zayıf insanlarda hem adipoz dokuda hem de karaciğerde arttığı saptanmıştır; böylece, insanlarda yüksek plazma kemerin düzeylerinin kökeninin adipoz doku olduğu öne sürülebilir.

Bizim sonuçlarımıza bakıldığında kemerin genindeki homozigot mutasyon ve diyabetik obez olgularda risk faktörü olabilecek parametrelerin gruplar arasındaki anlamlılıkları binary logistic regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak kemerin genindeki homozigot mutasyon genotipi beraberliğinde kemerin için anlamlı sonuç elde edilememiştir. Aynı zamanda kemerin genindeki homozigot mutasyon genotipi varlığında risk faktörü olabilecek olan Yaş, BMI, LDL ve AST de istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunamamıştır. Ancak hasta sayılarının azlığı göz önünde bulundurulursa, daha çok birey ile yapılacak çalışmalarda daha fazla anlamlı sonuçlar elde edilebilir. Sonuç olarak çalışmamıza T2DM olan 44, diyabeti olmayan 51 olmak üzere 95 hasta dahil edilmiştir ileride daha fazla bireyin dahil edileceği randomize kontrollü çalışmalarda istatistiksel anlamlılığın yakalanacağına inanıyoruz.

Kısa süre önce yapılan bir çalışmada metabolik olarak sağlıklı obezlerde metabolik olarak sağlıklı insülin direnci bulunan obezlere nazaran mortalite ve kardiyovasküler risk oranının daha düşük olduğu gösterilmiştir; ama, obezite hala tip 2 diabetes mellitus için önemli bir risk faktörüdür. Ancak, bu obez kişilerde diyabetin gelişmesi bakımından oksidatif stres, antioksidan durumu, kronik inflamasyon ve adipokin gibi kalori dengesizliğinden başka klinik sonlanımı belirleyici unsurlar bulunduğunu görüşünün doğmasına yol açmıştır (8). Kemerin makrofajlarda eksprese edilir ve bunun anlamı kemerin antijen sunan hücreleri toplayarak inflamasyonu düzenlemede rol oynadığıdır. Bu çalışmada serum kemerin düzeylerinin, metabolik sendromun varlığından bağımsız olarak metabolik sendrom parametreleri ve hipertansiyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Hipertansiyon ile var olan ilişki kemeri kan basıncını bir düzenleyicisi haline getirmektedir, çünkü kan basıncı düzenlenmesinde temel bir organ olan böbrekte çok fazla eksprese edilmektedir (45). Kemerin yapısal olarak katelisinler, sistatinler ve kininojenler dahil kan dolaşımındaki bir çok faktör ile ilişkilidir (46).

Visfatin yeni bir proinflamatuvar adipositokin olarak kabul edilmektedir. İnsan monositlerinde Pro- ve anti-inflamatuar sitokinler IL-1 β , IL-1Ra, IL-6, IL-10 ve TNF- α 'nın üretimini artırmaktadır. Adipoz dokuda ve kolon duvarının submukozasında visfatin/PBEF/Nampt-pozitif makrofajlarının saptanması makrofajların bir visfatin

kaynağı olduğuna ilişkin bir kanıttır (6). Visfatin/PBEF/Nampt'ın IR'ye (insülin reseptörü) bağlanma affinitesinin insüline benzer olduğu bulunmuştur ve böylece insülinomimetik etkileri olduğu bildirilmiştir (38). Pek çok çalışmada diabetes mellitusta visfatin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Bizim araştırmamızda visfatin genindeki homozigot mutasyon genotip varlığında risk faktörü olabilecek olan yaş parametresinin anlamlı olduğu ve yaş artıkça obez olgularda diyabet riskinin yüksek olabileceği söylenebilir. Bu bilgi literatürde yer alan pek çok çalışma ile de uyumludur. Ancak visfatin genindeki homozigot mutasyon genotipi varlığında AST, LDL, BMI açısından anlamlı sonuçlar elde edilememiştir.

Her ne kadar sedanter yaşama tarzı ve aşırı gıda alımı ile ilişkilendirilse de yağ hücresi pasif bir hücre değildir. Pasif bir algı ile konumlandırılan yağ dokusu aslında yaşam boyu sürekli hacim değişkenliği gösteren, ekstrasellüler sıvıya sitokin ve hormon salgılayan aktif bir hücredir. Bu salgı ürünleri ile endokrin, parakrin ve otokrin yolla diğer hücrelerle haberleşir. Hormonlar ve sitokine membran reseptörleri aracılığı ile yağ asidi salgılayarak veya yağ asitlerini hücre içine alarak adipositokinler adı verilen sitokinleri salgılar. Kanda katekolaminlerin yüksek düzeyde olması insülin direncine neden olur. Yüksek katekolamin düzeyleri lipolizi artırır ve böylece hücrelere serbest yağ asidi girişi artar. Obezitede, özellikle visceral obezitede sempatik sinir sistemi aktivitesi artar ve bunun sonucunda da beyaz yağ dokusunun kahverengi yağ dokusunu dönüşüm oranı artar. Katekolaminerjik reseptörlerin yokluğunda kahverengi yağ dokusu aktivitesi azalır ve obezite ortaya çıkar (4). Buna ek olarak kandaki glukozun hücre içine tanınmasını sağlayan GLUT-4 adlı protein insülin direnci ve sempatik sinir sistemi aktivasyonu gibi durumlarda işlevini tam olarak gerçekleştiremez. Bunun sonucunda da periferik bölgede ve kanda bulunan glikoz hücre içine taşıyamaz. İşte adipozitlerin artışı da mekanizmalar içerisinde kilit rolü oynar (48, 49).

Çalışmamızın kısıtlı yönleri hakkında da bilgi vermek gerekirse en temel sorun hasta sayısı olarak karşımıza çıkmaktadır. Obez diyabetli ve obez non diyabetik bireylerde yapılan çalışmamızda iki grup arasında Vaspin geni polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmuştur. Diğer iki gen polimorfizmi grupları arasında anlamlı sonuç bulunmamıştır. Ancak hasta sayılarının azlığı göz önünde bulundurulursa, daha çok birey ile yapılacak çalışmalarda daha fazla anlamlı sonuçlar elde edilebilir. Ancak hasta sayılarının azlığı göz önünde bulundurulursa, daha çok birey ile yapılacak çalışmalarda daha fazla anlamlı sonuçlar elde edilebilir. Sonuç olarak çalışmamıza

T2DM olan 44, diyabeti olmayan 51 olmak üzere 95 hasta dahil edilmiştir. İleride daha fazla bireyin dahil edileceği randomize kontrollü çalışmalarda istatistiksel anlamlılığın yakalanacağına inanıyoruz. Tüm bu yönlerine rağmen çalışmamız, antiproteaz inhibitörü tedavisinin geliştirilmesinde bir katkı olarak literatürdeki yerini alacaktır.



KAYNAKLAR

1. Francisca Lago, Carlos Dieguez, Juan Gómez-Reino and Oreste Gualillo, Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation, NATURE CLINICAL PRACTICE RHEUMATOLOGY, DECEMBER 2007 VOL 3 NO 12
2. Byung-Soo Youn et al, Serum Vaspin Concentrations in Human Obesity and Type 2 Diabetes, DIABETES, VOL. 57, FEBRUARY 2008
3. AACE Position Statement, ENDOCRINE PRACTICE Vol 9 No. 3 May/June 2003
4. Ana Valeria B. Castro, Cathryn M. Kolka, Stella P. Kim, Richard N. Bergman, Obesity, insulin resistance and comorbidities – Mechanisms of association, Arq Bras Endocrinol Metab. 2014;58/6
5. Z. ANWER, P.K. SHARMA, V.K. GARG, N. KUMAR, A. KUMARI, Hypertension management in diabetic patients, European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2011; 15: 1256-1263
6. S.S. SONOLI, S. SHIVPRASAD, C.V.B. PRASAD, A.B. PATIL,P.B. DESAI, M.S. SOMANNAVAR, Visfatin A Review, European Review for Medical and Pharmacological Sciences 2011; 15: 9-14
7. Rumyana Dimova and Tsvetalina Tankova, The Role of Vaspin in the Development of Metabolic and Glucose Tolerance Disorders and Atherosclerosis, BioMed Research International Volume 2015, Article ID 823481
8. Bruce R, Godsland I, Walton C, Crook D & Wynn V. (1994). Associations between insulin sensitivity, and free fatty acid and triglyceride metabolism independent of uncomplicated obesity. Metabolism 43, 1275–1281.
9. Friedman JM. (2000). Obesity in the new millennium. Nature 404, 632-634.
10. Dohm GL, Elton CW, Friedman JE, et al. Decreased expression of glucose transporter in muscle from insulin-resistant patients. Am J Physiol 1991;260(3 Pt 1):E459-463
11. Petersen KF, Shulman GI. Pathogenesis of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. Am J Cardiol 2002;90(5A):11G-18G.
12. Björnholm M, Kawano Y, Lehtihet M, Zierath JR. Insulin receptor substrate-1 phosphorylation and phosphatidylinositol 3-kinase activity in skeletal muscle from NIDDM subjects after in vivo insulin stimulation. Diabetes 1997;46: 524-527.
13. Konishi H, Shinomura T, Kuroda S, Ono Y, Kikkawa U. Molecular cloning of rat RAC protein kinase alpha and beta and their association with protein kinase C zeta. Biochem Biophys Res Commun 1994; 205:817-825.
14. Haffner SM, Greenberg AS, Weston WM, Chen H, Williams K, Freed MI. Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. Circulation 2002;106:679–684.
15. Bandyopadhyay G, Standaert ML, Galloway L, Moscat J, Farese RV. Evidence for involvement of protein kinase C (PKC)-zeta and noninvolvement of diacylglycerol-sensitive PKCs in insulin-stimulated glucose transport in L6 myotubes. Endocrinology 1997;138:4721-4731.

16. Bandyopadhyay D, Kusari A, Kenner KA, et al. Protein-tyrosine phosphatase 1B complexes with the insulin receptor in vivo and is tyrosine-phosphorylated in the presence of insulin. *J Biol Chem* 1997;272:1639-1645.
17. Konishi H, Kuroda S, Tanaka M, et al. Molecular cloning and characterization of a new member of the RAC protein kinase family: association of the pleckstrin homology domain of three types of RAC protein kinase with protein kinase C subspecies and beta gamma subunits of G proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 216:526-534.
18. Gordon AH, Koj A. The acute-phase response to injury and infection: the roles of interleukin 1 and other mediators. In: *Research Monographs in Cell and Tissue Physiology*. Amsterdam: Elsevier, 1985:10.
19. Lillioja S, Mott DM, Spraul M, Ferraro R, Foley JE, Ravussin E, Knowler WC, Bennett PH, Bogardus C. Insulin resistance and insulin secretory dysfunction as precursors of non-insulin-dependent diabetes mellitus: prospective studies of Pima Indians. *N Engl J Med* 1993; 329:1988–1992.
20. Haffner SM, Stern MP, Mitchell BD, Hazuda HP, Patterson JK. Incidence of type II diabetes in Mexican Americans predicted by fasting insulin and glucose levels, obesity, and body-fat distribution. *Diabetes* 1990; 39:283–288.
21. Bergstrom RW, Newell-Morris LL, Leonetti DL, Shuman WP, Wahl PW, Fujimoto WY. Association of elevated fasting C-peptide level and increased intra-abdominal fat distribution with development of NIDDM in Japanese-American men. *Diabetes* 1990; 39:104–111
22. Pradhan AD, Ridker PM. Do atherosclerosis and type 2 diabetes share a common inflammatory basis [editorial]? *Eur Heart J* 2002;83:831–834.
23. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995;95:2409–2415.
24. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, Klein S, Coppel SW. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:4196–4200.
25. Samad F, Uysal KT, Wiesbrock SM, Pandey M, Hotamisligil GS, Loskutoff DJ. Tumor necrosis factor- α is a key component in the obesity-linked elevation of plasminogen activator inhibitor 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:6902–6907.
26. Mohanty P, Aljada A, Ghanim H, Tripathy D, Syed T, Hofmeyer D, Dandona P. Rosiglitazone improves vascular reactivity, inhibits reactive oxygen species (ROS) generation, reduces p47phox subunit expression in mononuclear cells (MNC) and reduces C reactive protein (CRP) and monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1): evidence of a potent anti-inflammatory effect [abstract]. *Diabetes* 2001;50(suppl 2):A68.
27. Freed M, Fuell D, Menci L, Heise M, Goldstein B. Effect of combination therapy with rosiglitazone and glibenclamide on PAI-1 antigen, PAI-1 activity and tPA in patients with type 2 diabetes [abstract]. *Diabetologia* 2000;43(suppl 1):1024.

28. Clément K, Vaisse C, Lahlou N et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998;392:398–401.
29. Stepan CM, Lazar MA. The current biology of resistin. *J Intern Med* 2004;255:439–447.
30. Shuldiner AR, Yang R, Gong DW. Resistin, obesity and insulin resistance—the emerging role of the adipocyte as an endocrine organ. *N Engl J Med* 2001;345:1345–1346.
31. Nagaev I, Smith U. Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;285:561–564.
32. Filková M, Haluzík M, Gay S, Senolt L. The role of resistin as a regulator of inflammation: Implications for various human pathologies. *Clin Immunol* 2009;133:157–170.
33. Axelsson J, Bergsten A, Qureshi AR et al. Elevated resistin levels in chronic kidney disease are associated with decreased glomerular filtration rate and inflammation, but not with insulin resistance. *Kidney Int* 2006;69:596–604.
34. Pang SS, Le YY. Role of resistin in inflammation and inflammation-related diseases. *Cell Mol Immunol* 2006;3:29–34.
35. Koerner A, Kratzsch J, Kiess W. Adipocytokines: leptin—the classical, resistin—the controversial, adiponectin—the promising, and more to come. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005;19:525–546.
36. Sethi JK, Hotamisligil GS. The role of TNF α in adipocyte metabolism. *Semin Cell Dev Biol* 1999;10:19–29.
37. Pihlajamäki J, Ylinen M, Karhapää P, Vauhkonen I, Laakso M. The effect of the -308A allele of the TNF- α gene on insulin action is dependent on obesity. *Obes Res* 2003;11:912–17.
38. Norman RA, Bogardus C, Ravussin E. Linkage between obesity and a marker near the tumor necrosis factor- α locus in Pima Indians. *J Clin Invest* 1995;96:158–162.
39. Peter Fulop, Ildiko Seres, Hajnalka Lorincz, Mariann Harangi, Sandor Somodi, Gyorgy Paragh, Association of chemerin with oxidative stress, inflammation and classical adipokines in non-diabetic obese patients, *J. Cell. Mol. Med.* Vol 18, No 7, 2014 pp. 1313-1320
40. Colhoun HM, McKeigue PM, Davey Smith G. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 2003;361:865–872.
41. Pearson TA, Manolio TA. How to interpret a genome-wide association study. *JAMA* 2008;299:1335–1344
42. David Stejskal, Milan Karpisek, Zuzana Hanulova, Marek Svestak, CHEMERIN IS AN INDEPENDENT MARKER OF THE METABOLIC SYNDROME IN A CAUCASIAN POPULATION – A PILOT STUDY, *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2008, 152(2): 217–221.
43. Cheung CY, Tso AW, Cheung BM et al. Obesity susceptibility genetic variants identified from recent genome-wide association studies: implications in a Chinese population. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:1395–1403.

44. den Hoed M, Ekelund U, Brage S et al. Genetic susceptibility to obesity and related traits in childhood and adolescence: influence of loci identified by genome-wide association studies. *Diabetes* 2010;59:2980–2988.
45. Liu YJ, Guo YF, Zhang LS et al. Biological pathway-based genome-wide association analysis identified the vasoactive intestinal peptide (VIP) pathway important for obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2010;18:2339–2346.
46. Byung-Soo Youn,^{1,2} Nora Klo“ting,³ Ju“rgen Kratzsch,⁴ Namseok Lee,¹ Ji Woo Park,¹ Eun-Sun Song,¹ Karen Ruschke,³ Andreas Oberbach,³ Mathias Fasshauer,³ Michael Stumvoll,³ and Matthias Bluher³, Serum Vaspin Concentrations in Human Obesity and Type 2 Diabetes, *DIABETES* 57, Şubat 2008
47. Kazuyuki Hida, Visceral adipose tissue-derived serin protease inhibitor: a unique insulin sensitivity adipocytokine in obesity, [www. Pnas.org](http://www.Pnas.org) PNAS Temmuz 2005, volume 32, no:30, 10610-10615
48. Zhangbin Yu¹, Shuping Han¹, Xingguo Cao¹, Chun Zhu¹, Xuejie Wang¹ and Xirong Guo¹, Genetic Polymorphisms in Adipokine Genes and the Risk of Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis, www.obesityjournal.org Vol:2 no:2, 2012

HAM VERİLER



FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 1703

Tarih : 04.12.2013

Konu : Doç.Dr. Ş.Ümit ZEYBEK

Sayın Doç.Dr. Ş.Ümit ZEYBEK
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü

İlgi :Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsünün bila tarih ve sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Doktora Öğrencisi Fikret Kaan ORAN'ın yürüteceği 2013/1220 dosya numaralı "Obez Hastalarda Adipoz Doku Kökenli Vaspın,Visfatin ve Kemerin'in Genetik Varyasyonlarının İncelenmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 22/11/2013 gün ve 20 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Obez Hastalarda Adipoz Doku Kökenli Vaspın,Visfatin ve Kemerin'in Genetik Varyasyonlarının İncelenmesi"			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr. Ş.Ümit ZEYBEK			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Moleküler Tıp			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü			
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>			
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz :Klinik Araştırma				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLAR ARASI <input type="checkbox"/>	

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	29/08/2013		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	<input checked="" type="checkbox"/>		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	<input type="checkbox"/>	Açıklama		
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>			
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>			
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>			
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>			
	İLAN	<input type="checkbox"/>			
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>			
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>			
	DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgu Rapor Formu, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:20	Tarih: 22/11/2013			
	İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsünde görevli Doç.Dr. Ş.Ümit ZEYBEK'in sorumluluğunda ve Doktora Öğrencisi Fikret Kaan ORAN'ın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.				

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU							
ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmî Gazetede yayımlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik					
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *	Katılım **	İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Sevdâ ÖZEL	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

* :Araştırma ile ilişki
** :Toplantıda Bulunma

Bu karar araştırma projesinin etik açıdan değerlendirme sonucunu bildirmektedir. Klinik ilaç araştırması projeleri için, etik kurulu onayı sonrasında, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmeliğin 5/a .maddesi gereğince, Sağlık Bakanlığına da başvurulması ve gerekli iznin alınması gerekmektedir.

PATENT HAKKI İZİNİ



İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

DİYABETİK OBEZ VE NONDİYABETİK OBEZ HASTALARDA ADİPOZ DOKUDAN ELDE EDİLEN VASPIN VİSFATİN VE KEMERİNDEKİ GENETİK VARYASYONLARIN KARŞILAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%7 BENZERLİK ENDEKSİ	%3 İNTERNET KAYNAKLARI	%1 YAYINLAR	%6 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
--------------------------------	-------------------------------------	-----------------------	-------------------------------

BRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%5
2	www.mikrobik.net İnternet Kaynağı	<%1
3	www.nature.com İnternet Kaynağı	<%1
4	www.eje-online.org İnternet Kaynağı	<%1
5	Submitted to Yeditepe University Öğrenci Ödevi	<%1
6	www.europeanreview.org İnternet Kaynağı	<%1
7	journals.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	Dietary Components and Immune Function,	

ÖZGEÇMİŞ

Ad:	FİKRET KAAN
Soyad:	ORAN
Doğum Yeri:	İSTANBUL
Doğum Tarihi:	12.01.1975
Görev Yeri:	CELGENE İLAÇ
Yabancı Dil:	İNGİLİZCE
E-Posta Adresi	kaanoran@yahoo.com

Tarih	Eğitim
1993-2002	İst.Ünv. CTF
2011-devam	İst.Ünv. DETAE MOLEKÜLER TIP ABD DOKTORA
Varsa, İyi Klinik Uygulamalar Kapsamında Aldığı Eğitimler.	
2009	VIENNA SCHOOL OF CLINICAL RESEARCH
Akademik Ünvanları	
2002	Tıp Doktoru
İş Tecrübesi	
2002-2005	EUROIMMUN DIAGNOSTIC TÜRKİYE
2005-2006	PFIZER İLAÇ
2006-2009	VALEANT İLAÇ
2009-2011	ABBOTT LAB. TİC. LTD. ŞTİ.
2011-DEVAM	CELGENE İLAÇ
Varsa, Araştırmacı Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar	İmmobilizasyon stresinin Epilepsi Üzerine Etkileri – 1997 – Ulusal Fizyoloji Kongresi Sunum
Varsa, Monitör/İzleyici Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar	YOK
Varsa, Saha Görevlisi Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar	YOK