



**TİP-2 DİYABETTE KAN FFA, DESNÜTRİN VE RESİSTİN
DÜZEYLER İLE KARDİOVASKÜLER RİSK
BELİRTEÇLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Veysel ARSLAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ebubekir BAKAN**

Doktora Tezi-2023

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TİP-2 DİYABETTE KAN FFA, DESNÜTRİN VE
RESİSTİN DÜZEYLER İLE KARDİYOVASKÜLER RİSK
BELİRTEÇLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Veysel ARSLAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ebubekir BAKAN

ERZURUM
2023

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. TİP 2 DİYABET	3
2.1.1. Tanımı	3
2.1.2. Tip 2 Diyabet Epidemiyolojisi	5
2.1.3. Tip 2 Diyabet Tanı Kriterleri	6
2.1.4. Tip 2 Diyabet Etiyolojisi	7
2.2. Tip 2 Diyabet, Obezite, Metabolik Sendrom ve KVH Arasındaki İlişki.....	9
2.3. Adipoz Doku.....	10
2.4. Desnutrin.....	14
2.5. FFA	19
2.6. Malonil-CoA	20
2.7. Resistin.....	22
2.8. Kardiyovasküler Risk Belirteçleri	25
2.8.1. Kolesterol.....	25
2.8.1.1. HDL-Kol.	26
2.8.1.2. LDL- Kol.	27

2.8.2. ApoA-I	27
2.8.3. ApoB-100.....	28
2.8.4. Lp(a).....	29
2.8.5. HbA1c	30
3. MATERYAL VE METOT.....	32
3.1. Subjelerin Seçimi	32
3.2. Numuların Toplanması	33
3.3. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar	34
3.4. Yöntemler	35
3.5. İstatistiksel Analiz.....	47
4. BULGULAR.....	48
5. TARTIŞMA.....	61
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	74
KAYNAKLAR	75
EKLER	87
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	87
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	88
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	89

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca emeğini, bilgisini, değerli vaktini hiç esirgemeyen, akademik duruşunu ve bakış açısını örnek aldığım saygı değer hocam Prof. Dr. Ebubekir BAKAN'a en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışması sürecinde verdiği değerli katkılardan dolayı eş danışmanım Prof. Dr. Nurcan BAYGUTALP'e (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), İstatistiksel analizlerin yapımı aşamasında değerli katkılarından ötürü Doç. Dr. Hamit Hakan ALP'e (Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van), laboratuvar çalışmalarındaki katkılarından dolayı anabilim dalımızda görev yapan araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve bu çalışmayı 9810 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkürü bir borç bilirim.

Dualarını eksik etmeyen aileme, gözümün nuru çocuklarıma teşekkür ederim. Lisansüstü eğitimi sürecinde bir eş en fazla ne kadar destekleyici ve anlayışlı olabilir sorusunun cevabını kendisinde bulduğum, varlığıyla herşeyi anlamlı ve değerli kılan biricik eşime çok teşekkür ederim.

Öğr. Gör. Veysel ARSLAN

ÖZET

Tip 2 Diyabette Kan FFA, Desnütrin ve Resistin Düzeyler ile Kardiyovasküler Risk Belirteçleri Arasındaki İlişki

Amaç: Normalden prediyabete ve prediyabetten Tip-2 diyabete geçiş süreçlerinde kandaki Desnütrin, Resistin, FFA ve Malonil-CoA'nın değişimini belirlemek ve bu analitlerin karakteristik bir değişim gösteren bir biyobelirteç olup olmadıklarının belirlenmesidir. Ayrıca belirtilen bu analitler ile kardiyovasküler risk belirteçleri arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Materyal ve Metot: Çalışmaya sağlıklı 30 (8E), obez- pre diyabetli 29 (2E) ve obez- tip 2 diyabetli 27 (2E) kişi dâhil edilmiştir. Subjelerin açlık kan glukoz, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-Kolesterol ve trigliserid düzeyleri klinik kimyasal yöntemlerle, insülin düzeyleri kemilüminesans yöntemiyle, HbA1c düzeyleri HPLC yöntemiyle, Desnütrin, Resistin, FFA, Apo B100, APO A-I, Lp(a) ve Malonil-CoA ELISA yöntemi ile ölçüldü.

Bulgular: Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında total kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserid, glukoz, insülin ve HbA1c değerleri hasta grubunda yüksek bulundu. Hasta grubunda APO A-I, FFA ve Malonil-CoA düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu. Tip 2 diyabet grubunun desnutrin düzeyleri, pre-diyabet grubunun sonuçlarına göre anlamlı düşük bulundu. Resistin ile HbA1c arasında negatif korelasyon gözlenirken ApoAI, Malonil-CoA, Desnutrin ve FFA arasında pozitif korelasyon vardı. Ayrıca Desnutrin ile ApoAI, Resistin ve FFA arasında pozitif korelasyon bulundu.

Sonuç: Resistinin normalden Pre-diyabete geçişte arttığı ve Tip 2 diyabet sürecinde bu seviyelerde kaldığı belirlendi. FFA ve Malonil-CoA düzeylerinin Tip 2 diyabete geçişte düştüğü; ayrıca Desnutrin'in bazal konumdan pre-diyabet evresine geçişte önemli derecede arttığı ve pre-diyabet evresinden Tip 2 diyabet evresine geçişte seviyelerinin düştüğü tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Desnutrin, FFA, Malonil-CoA, Resistin, Tip 2 Diyabet

ABSTRACT

Blood FFA, Desnutrin and Resistin Levels in Type 2 Diabetes and The Relationship Between Cardiovascular Risk Markers and These Analytes

Aim: The aim of the study is to determine the change of Desnutrin, Resistin, FFA and Malonyl-CoA in the blood during the transition from normal to prediabetes and from prediabetes to Type-2 diabetes and to determine whether these analytes are a biomarker with a characteristic change, and also to investigate the relationship between these analytes and cardiovascular risk markers.

Materials and Methods: The study included 30 healthy (8 M), 29 (2 M) pre-diabetic and 27 (2M) people with type 2 diabetes. Subjects' fasting blood glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-Cholesterol, and triglyceride levels were determined by clinical chemical methods, insulin levels by chemiluminescence method, HbA_{1c} levels by HPLC method, and Desnutrin, Resistin, FFA, Apo B100, APO A-I, Lp(a), and Malonyl-CoA by ELISA method.

Results: When the patient group and the control group were compared, total cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride, glucose, insulin and HbA_{1c} values were found to be higher in the patient group. APO A-I, FFA and Malonyl-CoA levels were found to be significantly lower in the patient group compared to the control group. Desnutrin levels of the type 2 diabetes group were found to be significantly lower than the results of the pre-diabetes group. There was a negative correlation between Resistin and HbA_{1c}, and a positive correlation between ApoAI, Malonyl-CoA, Desnutrin and FFA. A positive correlation was found between Desnutrin and ApoAI, Resistin and FFA.

Conclusion: It was determined that resistin increased during the transition from normal to pre-diabetes and remained at these levels during Type 2 diabetes. FFA and Malonyl-CoA levels decreased in the transition to Type-2 diabetes; It was also found that Desnutrin increased significantly in the transition to pre-diabetes and decreased in the course of type 2 diabetes.

Key Words: Desnutrin, FFA, Malonyl-CoA, Resistin, Type 2 Diabetes

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

T2DM	: Tip 2 Diyabet
AKŞ	: Açlık Kan Şekeri
GLUT	: Glucose Trasnporters
IDF	: International Diabetes Federation, Uluslararası Diyabet Federasyonu
OGTT	: Oral Glukoz Tolerans Testi
HbA1c	: Glikolize Hemoglobin
ADD	: Amerikan Diyabet Derneği
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FFA	: Serbest Yağ Asitleri (=Free Fatty Acid)
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
dL	: Desilitre
IL-6	: İnterlökin 6
IL-1	: İnterlökin 1
CRP	: C-Reaktif Protein
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör- A
NF-κB	: Transkripsyon Faktörü Olan Nükleer Faktör –Kb
P2X	: Pürinerjik Reseptör X
P2Y	: Prünerjik Reseptör Y
RYR	: Ryanodine Reseptör Kanalı
AAP	: Adacık Amiloid Polipeptit
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
BMI	: Vücut Kitle İndeksi
KVH	: Kardiyovasküler Hastalıklar

MetS	: Metabolik Sendrom
GSÜ	: Glikosilasyon Son Ürünleri
KYD	: Kahverengi Yağ Doku
BYD	: Beyaz Yağ Doku
UCP	: Eşleşmeyi Bozan Uncoupling Proteinler
TAG	: Trigliserid
HSL	: Hormon Duyarlı Lipaz (=Hormone Sensitive Lipase)
cAMP	: 3'-5'-Halkasal Adenozin Monofosfat
DAG	: Diaçilgliserol
MAG	: Monoaçilgliserol
ATGL	: Adipoz Trigliserid Lipaz (=Desnutrin)
İPLA2	: Calcium-İndependent Phospholipase A2 (=Desnutrin)
AMPK	: AMP İle Aktive Olan Protein Kinaz
SIRT1	: Sirtuin 1
FoxO1	: Forkhead Box Protein O1
mTORC1	: Mechanistic Target Of Rapamycin Complex 1
Egr1	: Early Growth Response 1 = Erken Büyüme Yanıtı 1
kDa	: Kilo Dalton
TLR4	: Toll Like Reseptör 4
CAP1	: Adenylyl Cyclase-Associated Protein 1
VCAM-1	: Vascular Cell Adhesion Molecule-1
TRAF-3	: Tumor Necrosis Factor Receptor-Associated Factor-3
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

IDL	: Orta dansiteli lipoprotein
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LCAT	: Lesitin Kolesterol Açıl Transferaz
SR-B1	: Scavenger Reseptör B1
ABCA1	: ATP-Bağlayan Kaset Taşıyıcı A1
ABCG1	: ATP-Bağlayan Kaset Taşıyıcı G1
Lp(a)	: Lipoprotein (A)
Apo A-I	: Apolipoprotein A-I
Apo(a)	: Apolipoprotein (A)
APOB-100	: Apolipoprotein B-100
ApoC-I	: Apolipoprotein C-I
ApoC-II	: Apolipoprotein C-II
ApoE	: Apolipoprotein E
ACC	: Asetil-CoA Karboksilaz
rpm	: Revolutions Per Minute
μL	: Mikrolitre
°C	: santigrat derece
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ATP	: Adenosin Trifosfat
ADP	: Adenosin Difosfata
p	: Anlamlılık düzeyi
r	: Korelasyon katsayısı
IQR	: Interquartile Aralık
ELISA	: Enzim Bağlı İmmunosorbent Ölçüm
SREBP	: Sterol düzenleyici eleman bağlayıcı protein

SRE-1	:	Sterol Düzenleyici eleman
mRNA	:	Mesajcı Ribon�kelik Asit
KAT 1		Karnitin Açıl Transferaz 1
MKP 1		Monosit Kemotaktik Protein 1



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No

Sayfa No

Şekil 2.1. Pankreatik β hücreleri tarafından insülin sekresyonunun, glukoz düzeyi ile kontrol edilmesi	4
Şekil 2.2. Dünyada diyabetli hasta sayısının 2045 yılına kadar öngörülen artış miktarı .	5
Şekil 2.3. hücrelerinde disfonksiyona sebep olan mekanizmalar	9
Şekil 2.5. Obezite ile T2DM arasındaki ilişki	10
Şekil 2.7. Adipoz dokunun tipleri ve fonksiyonları.....	12
Şekil 2.8. İnsan beyaz yağ dokusunun enine kesiti.	13
Şekil 2.9. Adipoz Doku Lipolizi.....	16
Şekil 2.10. İnsan desnutrininin tahmin edilen yapısının ve etki alanı organizasyonlarının şematik gösterimi	16
Şekil 2.11. Desnutrin (ATGL) üretiminin kontrol mekanizması.....	18
Şekil 2.22. a) ACC enzimi ile Malonil CoA eritimi b) MCD enzimi ile Malonil CoA'nın Asetil CoA'ya geri dönüşümü	20
Şekil 2.23. Karbonhidrat ve lipit metabolizması üzerinde Malonil-CoA'nın etkisi	21
Şekil 2.12. İnsan ve Fare Resistinlerinin amino asit diziliminin karşılaştırılması	23
Şekil 2.13. İnsan resistininin yapısı ve reseptörlerinin şematik diyagramı	24
Şekil 2.6. GSÜ oluşumu ve etkileri	31
Şekil 3.1. Resistin Standart Eğrisi	38
Şekil 3.2. FFA Standart Eğrisi.....	41
Şekil 3.3. Desnutrin Standart Grafiği	43
Şekil 3.4. Malonil-CoA Standart Grafiği.....	46
Şekil 4.1. Malonil CoA Düzeylerinin Kontrol ve Hasta Gruplarında Karşılaştırılması	50

Şekil 4.2. FFA Düzeylerinin Kontrol ve Hasta Gruplarında Karşılaştırılması.....	50
Şekil 4.3. Desnutrin Düzeylerinin Pre-DM ile DM Gruplarında Karşılaştırılması	53
Şekil 4.5. Malonil-CoA Ölçümünün Median Değerlerinin Gruplar Arası Değişimi	54
Şekil 4.6. FFA Ölçümünün Median Değerlerinin Gruplar Arasındaki Değişimi.....	54
Şekil 4.7. Desnutrin Ölçümünün Median Değerlerinin Gruplar Arasındaki Değişimi ..	55
Şekil 4.8. Resistin Ölçümünün Median Değerlerinin Gruplar Arasındaki Değişimi	55
Şekil 4.9. Tüm FFA ve Resistin sonuçlarının korelasyon grafiği	58
Şekil 4.10. Tüm ApoAI ve Resistin sonuçlarının korelasyon grafiği.....	58
Şekil 4.11. Tüm Malonil CoA ve ApoAI sonuçlarının korelasyon grafiği	59
Şekil 4.12. Tüm FFA ve Desnutrin sonuçlarının korelasyon grafiği.....	59
Şekil 4.13. Tüm Malonil-CoA ve Resistin sonuçlarının korelasyon grafiği	60

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. T2DM Tanı Kriterleri ve T2DM İçin Yüksek Risk.....	7
Tablo 3.1. Kullanılan Kitler, cihazlar ve malzemeler	34
Tablo 3.2. Rutin Biyokimyasal Ölçümler İçin Kullanılan Yöntem ve Cihazlar.....	35
Tablo 3.3. ELİSA Parametrelerinin Ölçümleri İçin Kullanılan Yöntem ve Cihazlar	36
Tablo 4.1. Kont. ve Hasta gruplarında ölçülen analitlerin gruplar arasındaki dağılımı.	49
Tablo 4.2. Pre diyabet ve T2DM gruplarında analitlerin gruplar arasındaki dağılımı...	52
Tablo 4.3. Kontrol ve Hasta Grubunda Ölçülen Parametrelerin Korelasyon Analizi....	57

1. GİRİŞ

Diyabetes mellitus açlık kan şekerinin yüksekliği ile karakterize olan, retinopati, nefropati, nöropati ve kalp krizi hastalıklarının önemli bir nedeni olan metabolik bir hastalıktır.¹ Bir kişiye diyabet (esas olarak tip 2) teşhisi ne kadar erken konursa, kişinin böbrek yetmezliği, körlük ve dolaşım sorunlarına bağlı uzuv amputasyonları gibi birincil olumsuz sonuçlarına maruz kalmama şansı o kadar artar. Diyabette etkili bir tedavi uygulanabilmesi için öncelikle tip 2 diyabet tanısının erken konulması büyük önem arz etse de hastalığın sinsi seyretmesinden dolayı teşhisin geç konulduğu bilinmektedir. Geniş kapsamlı bir çalışmada diyabet tanısı konulan hastaların 1/5'inin tanı konulduğu anda HbA1c seviyelerinin %8'in üzerinde olduğu bildirilmektedir.²

Diyabetin prediyabetik aşamada uzun süreli gizli seyri sırasında bir erken tanı biyobelirtecini belirlenmesi önemlidir ancak kullanılmakta olan biyobelirteçler, diyabet etiyolojisinin karmaşıklığı karşısında yetersiz kalmaktadır.³ Klinikte prediyabet ve diyabeti teşhis etmek için kullanılan en yaygın biyobelirteç olan HbA1c'nin çok önemli limitasyonları bulunmaktadır.⁴ Diyabet olmayan kişilere kıyasla diyabetik hastalarda eritrosit ortalama yaşam süresinin 3 aydan az olduğunun gösterilmiş olması⁵, genetik faktörlerden kaynaklı sebeplerden dolayı farklı topluluklarda düzeylerinin homojen olmaması⁶, orak hücre anemisi ile talasemi gibi hemoglobinopatilerde ve evre 4 veya 5 kronik böbrek hastalığı olan hastalarda yalancı düşük sonuçların alınmış olması⁷, demir eksikliği ve diğer azalmış kırmızı hücre döngüsü durumlarıyla bağlantılı olarak yanlış şekilde yüksek sonuçların alınmış olması⁸ önemli örneklerdendir. Ayrıca açlık kan glukoz seviyesi ile her zaman mükemmel uyum göstermiyor olması⁹ çoğu çalışmada HbA1c'nin, açlık plazma glikozu veya 2 saatlik plazma glikozu testinden daha az diyabet hastası tanımlamış olması^{10, 11} gibi sebepler HbA1c ölçümünün diyabet tanısındaki

güvenirliliği önemli bir tartışma konusu oluşturmaktadır. Tip 2 diyabet açısından risk altında olan bireylerde hastalığın önlenmesi veya kontrol altına alınması, ilerlemesinin yavaşlatılması, hastalığa bağlı komplikasyonların minimuma indirilmesi, yaşam kalitesinin artırılması için önlemlerin alınabilmesinin yanında bu hastalıkların meydana getirdiği maddi yükün hafifletilebilmesi için erken tanıya katkı sağlayacak daha güvenilir ve yeni biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Sağlıklı bir grubun, önce pre-diyabetik ve ardından tip 2 diyabetik evreye geçişini kontrollü bir şekilde takip etmek zordur. Her bir evreye geçiş sürecinde meydana gelen değişikliklerin belirlenebilmesi ve takibinin sağlıklı bir şekilde yapılabilmesi için açlık kan şekeri, HbA1c ve lipid paneli gibi parametrelerin istikrarlı bir şekilde uzun bir süreç boyunca uygulanan periyodik taramayla belirlenip kayıt edilmesi gerekir. Sürecin çok uzun oluşu, hastalığın çoğunlukla sinsi seyretmesi, gönüllü bulma zorluğu veya gönüllülerin devamlılığı gibi sorunlar göz önünde bulundurulduğunda bir bireyin sağlıklı döneminden başlayıp tip 2 diyabet evresine geçişindeki değişiklikleri takip eden bir çalışmanın planlanması yerine pratik bir model oluşturma yoluna başvuruldu. Kontrol grubu bir bireyin sağlıklı dönemini, pre-diyabet grubu tip 2 diyabete hazırlık evresini ve tip 2 diyabetik grup ise tip 2 diyabetin belirti ve bulgularının görüldüğü evreyi yansıtan bir model olarak düşünüldü. Üç gruptan alınan açlık kanlarından özellikle hem obezite hem de tip 2 diyabetle yakından ilişkili olan Desnutrin, Resistin, Malonil-CoA ve FFA parametrelerini analiz ederek bazal konumdan başlayıp obezite tip 2 diyabet evresine girişle sonlanan süreçte düzeylerinin değişimini yansıtabilmeyi hedefledik. Böylece biyobelirteç olma potansiyeli taşıyan analitlerimizin gruplar arasında oluşan belirgin düzey farklılıklarını kullanarak erken teşhiste yararlanılabilecek bir parametre önermeyi umut ettik. Ayrıca diğer kardiyovasküler parametrelerin de ölçümü yapılarak aralarında olası bir korelasyonu açığa çıkarmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TİP 2 DİYABET

2.1.1.Tanımı

Diabetes Mellitus, kan glukoz düzeyini düşüren tek hormon konumundaki insülinin yetersiz salgılanması veya salgılsa da etkisinin yetersiz kalması nedeniyle meydana gelen hiperglisemiyle karakterize olan metabolik bir hastalıktır.¹² Tip 2 Diyabet (T2DM) dünyada artık salgın olarak kabul edilen obeziteyle yakından ilişkili, her geçen gün büyüyen küresel bir sağlık sorunudur. T2DM özellikle sanayileşmiş toplumlarda salgın boyutuna ulaşmıştır ve prevalansı her geçen gün artmaktadır. İnsan popülasyonunda mortalite ve morbiditenin en büyük nedenleri arasındadır.¹³ Hiperglisemi kontrol altına alınmadığında zamanla kardiyovasküler sistem hastalıkları, obezite, böbrek yetmezliği, retinopati ve sinir hasarı gibi komplikasyonlara yol açan kronik, metabolik bir hastalıktır.¹⁴

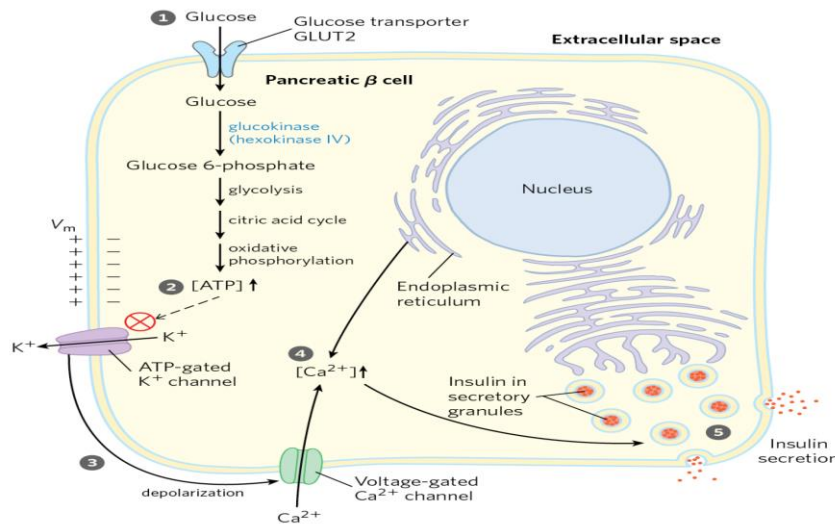
Hastalığın ilk formu olan Tip 1 Diyabet, kendini çocukluk çağının erken evrelerinde (Juvenil Diyabet) gösterir ve belirtiler hızla ciddileşir. Langerhans adacıklarının β hücrelerine karşı meydana gelen otoimmün saldırılar, viral enfeksiyonlar veya toksinler, stres vs. çevresel bir uyarının sonucunda oluşan tahribat giderek büyür ve nihayetinde mutlak insülin yetmezliği ile son bulur. Aniden meydana gelen polifaji, polidipsi ve poliüri bulgularının yanında hastada Açlık Kan Şekeri (AKŞ)'nin 126 mg/dl'nin üstünde oluşu, diyabetik ketoasidoz ve hipertrigliserolemi karakteristiktir.¹⁵ Hastalar hayatına devam edebilmeleri için devamlı insülin enjeksiyonuna ihtiyaç duyarlar. Diyet alımı ve insülin dozu arasındaki ince dengenin hayat boyunca korunması gerekir.

Diyabet hastalarının büyük çoğunluğunda ise, yükselen glukoz değerlerini normal düzeye çekebilmek için daha fazla insülin salınımına sebep olmasıyla karakterize olan

insülin direnciyle başlayıp daha sonraları yetersiz insülin salınımının glukoz homeostazını koruyamaması üzerine meydana gelen hiperglisemi durumu olan T2DM görülür.^{16, 17}

İnsülin Hormonu

İnsülin, pankreasın β hücrelerinde pre-proinsülin formunda sentezlenen polipeptid yapıda bir hormondur. Endoplazmik retikulumdaki konformasyonel değişimle proinsülin dönüştürüldükten sonra¹⁸ golgide C-peptid ve insüline bölünür¹⁹, sitozoldeki veziküllerde uygun bir uyarı geldiğinde ekzositozla salınmak için depolanır. Glukoza en duyarlı hücrelerden olan β hücreleri, membranlarında sensör görevi gören GLUT-2 taşıyıcıları içerir ve kan glukoz düzeyi yükseldiğinde glukoz konsantrasyon farkına göre hücre içine hızla dolar. Glukokinaz enziminin katalitik aktivitesi ile glukoz katabolizması ve ATP üretimi hız kazanır. ATP/ADP oranının artması, ATP duyarlı potasyum kanallarını inhibe ederek membranda bir depolarizasyona ve nihayetinde voltaj duyarlı Ca^{+2} kanallarının açılmasına neden olur. Hücre içinde Ca^{+2} iyonunu konsantrasyonunun artması, insülin veziküllerinin içeriğinin ekzositozla kana boşalmasıyla sonuçlanır (Şekil 2.1.).^{19, 20, 21}

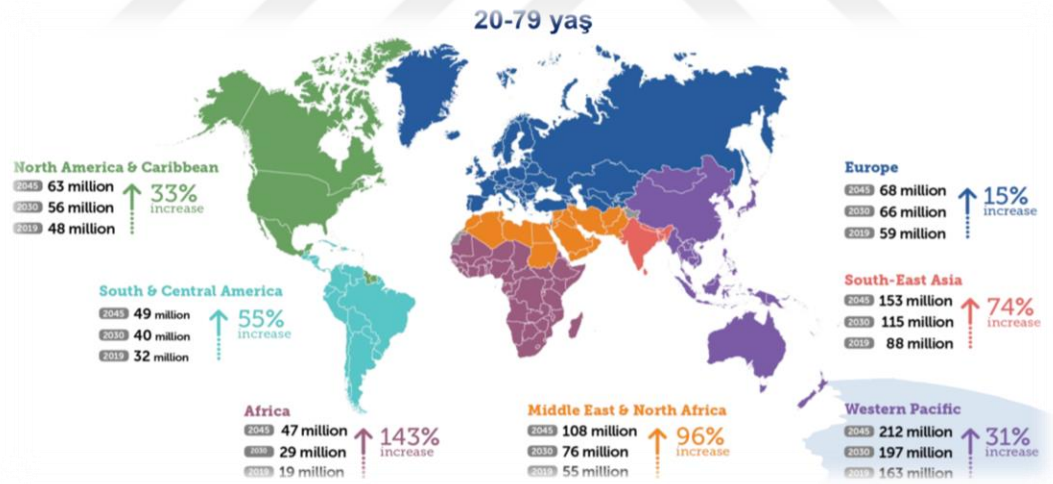


Şekil 2.1. Pankreatik β hücreleri tarafından insülin sekresyonunun, glukoz düzeyi ile kontrol edilmesi

2.1.2. Tip 2 Diyabet Epidemiyolojisi

Türkiye’de T2DM’nin prevalansı 90’lı yılların sonunda yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji (TURDEP-I) çalışması sonuçlarına göre %7.2 bulunmuştur ve bozulmuş glukoz toleransı ise % 6.7 olduğu tespit edilmiştir.²² 2010 yılında TURDEP- II çalışmasının sonucunda ise diyabet sıklığı % 90 artış göstererek toplamda %13’ e ulaştığı, obezitenin %44 artış gösterdiği ve önceki çalışmaya göre diyabet geliştirme yaşının beş yaş daha erken başladığı bulunmuştur.²³

Uluslararası Diyabet Federasyonu’nun (International Diabetes Federation, IDF) 2019 yılında yayınlamış olduğu Diyabet Atlası’na göre dünyada 2019 yılına ait diyabetli sayısının yaklaşık 463 milyon olduğu tahmin edilirken bu sayı 2030 yılında 578 milyon, 2045 yılında ise 700 milyona çıkması beklenmektedir.²⁴ Türkiye’nin 2045 yılında yaklaşık 10 milyon hasta ile dünya diyabet listesinde ilk ona gireceği tahmin ediliyor.



Şekil 2.2. Dünyada diyabetli hasta sayısının 2045 yılına kadar öngörülen artış miktarı

Dünyada T2DM prevalans ve insidansı 4 katına çıkaran ana faktörler arasında obezite, sedanter yaşam, yüksek kalorili besin tüketimi ve ortalama yaşam süresinin artması yer alır.

2.1.3. Tip 2 Diyabet Tanı Kriterleri

Diyabet tanısı için kullanılan en ilkel metotlardan biri idrarda glukozun ölçülmesiydi ancak glukozun idrar ve kan örneklerindeki düzeylerinin korele olmaması plazma glukoz düzeyini öne çıkardı.²⁵ Diyabet tanısı glukoz düzeyi ile konulduğundan hata kaynaklarını minimize etmek için pre-analitik süreçleri iyi yönetmek gereklidir. Kan numunesi alınırken uygun tüpler kullanılmalı, mümkünse tüpler glikolizi inhibe eden sitrat ve florür içermeli, numuneler alındıktan 30 dk içerisinde santrifüjlenmeli gibi kurallara göz ardı edilmemelidir.²⁶

Diyabet tanısı konulurken 4 ana testten yararlanılır; AKŞ, Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT), rastgele glukoz ölçümü ve glikolize hemoglobin A1c (HbA1c).

HbA_{1c}, diyabet tanısında kullanılabilecek bir parametre olarak 1997 yılında Amerikan Diyabet Derneği (ADD) tarafından kabul edildi.²⁷ Hemoglobinin glikasyonu, glukozun hemoglobin proteinlerine enzimatik olmayan kovalent bağlanmasının bir sonucu olarak ortaya çıkar. Bu test hemoglobin A1C zincirinin glikozilasyon yüzdesini ifade eder ve ortalama olarak son üç aylık süreçte kan glukoz düzeyinin ne ölçüde yüksek seyrettiğini gösterir. Her ne kadar sık kullanılan parametreler arasında yer alsada genetik çeşitliliklere bağlı olarak bazı hastaların ortalama eritrosit ömrünün normalden kısa olması, HbA_{1c} 'nin açlık kan şekeri ile her zaman uyumlu olmaması ve tam otomatize bir yöntemle ölçülemiyor olması gibi sebepler teşhisteki rolünü kısıtlar.^{5, 6, 9} Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi verilerine göre taramalarda AKŞ'nin, HbA_{1c}'ye göre 1-3 kat daha fazla önceden teşhisi konulmamış diyabet vakalarını yakladığı görülmüştür.^{28, 29, 30}

ADD, T2DM'nin tanı kriterlerini ilk olarak 1997'de yayınlamış peşinden 1999 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) küçük düzenlemeler yaparak onaylamıştır. 2003 yılında ADD bozulmuş açlık glisemisi terimini katarak güncellemiş ve son olarak bugün kullandığı kriter ve referans aralığını 2010 yılında oluşturup yayınlamıştır.^{31, 32, 33}

Açlık kan şekeri düzeyinin 126 mg veya daha yüksek olmasıyla, %6,5 veya daha yüksek bir HbA_{1c} değeriyle, rastgele ölçülen kan şekerinin veya OGTT testinde glukozun dL başına 200 ve üstü bir değer çıkmasıyla teşhis konulabilir. Tanıyı doğrulamak adına testin sonraki bir gün tekrar edilmesi uygun görülür. ADD, majör risk faktörleri olan bireylere yılda bir kez T2DM taraması yapılmasını önerir.

Tablo 2.1. T2DM Tanı Kriterleri ve T2DM İçin Yüksek Risk

Kriter	T2DM	T2DM İçin Yüksek Risk
HbA _{1c}	≥6.5%	6.0%–6.4% 5.7%–6.4%
Açlık Kan Şekeri	≥126 mg/dL	100–125 mg/dL
OGTT (2 saatlik tokluk kan şekeri)	≥200 mg/dL	140–199 mg/dL
Rastgele Plazma Glukoz Düzeyi	≥200 mg/dL	

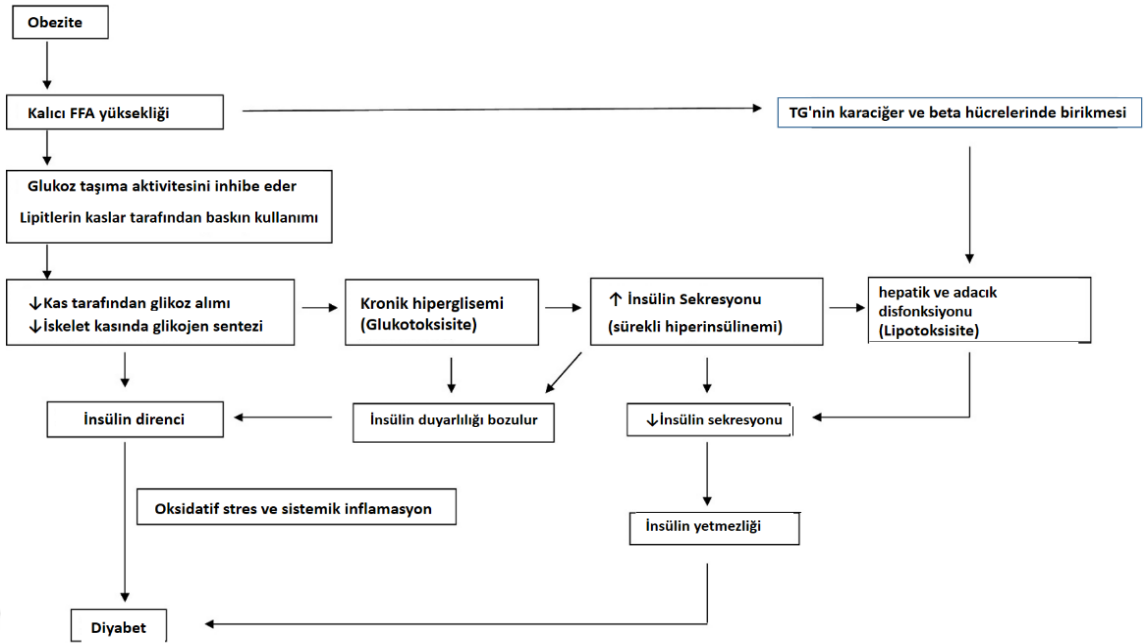
2.1.4. Tip 2 Diyabet Etiyolojisi

T2DM gelişimini destekleyen birçok faktör vardır. Bunlardan biri de diyetdir. Yüksek kalorili ağır bir yemekten sonra kan glukoz düzeyi trigiseritten zengin çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), şilomikron ve artıkları hücre içinde oksidan moleküllerin düzeyini artırır. Özellikle süperoksit (O₂⁻) üretimi T2DM patogenizinde rol alan beş ana yolağı da aktive eder; ileri glikasyon son ürünlerinin artan oluşumu, glikasyon son ürünlerinin artan reseptör üretimleri, protein kinaz C izoformlarının aktivasyonu, aşırı heksozamin aktivitesi ve poliol yolağı.^{34, 35, 36} Kan serbest yağ asitlerinin (FFA) düzeyinin artması, yan ürünleri vasıtasıyla mitokondriyal elektron trasnport zincirinde elektron akışını bozar ve bu FFA'lar mitokondriyal zarlara dâhil olduklarında elektron kaçaklarına neden olarak mitokondrilerde disfonksiyonu destekler.³⁷

Sedanter yaşam tarzı, kısıtlı fiziksel aktivite ve sporsuz hayat düşük seviyelerde kronik sistemik inflamasyona sebep olabilir.^{38, 39} İnterlökin 6 (IL-6), interlökin 1(IL-1) C-reaktif protein (CRP) ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) gibi metabolik inflamasyona sebep olduğu bilinen proinflamatuvar moleküller kana ve bazı dokulara salınır.¹⁸ Özellikle pankreas β -hücrelerine karşı oluşan bağışık yanıtta rolü olan IL-1, β -hücrelerinin fonksiyonunu inhibe eder ve transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör κ B (NF- κ B) 'yi aktifleştirerek apoptozisi indükler.⁴⁰

İnsülin ekzositozunu uyaran en önemli ikincil haberci cAMP'dir.⁴¹ İnsülin hücre içi Ca^{+2} seviyesini arttırarak vezikül mobilizasyonunu arttırır ancak Pürinerjik reseptör X (P2X), prüneryjik reseptör Y (P2Y), sarko-endoplazmik retikulum Ca^{+2} -ATPaz (SERCA) ve ryanodine reseptör kanalı (RYR) da Ca^{+2} iyonunun hücre içine mobilizasyonunda önemli katkı sağlar.⁴²

Glukoz homeostazisinin devamlılığı için insülin sekresyonunun dengesi hassas bir şekilde sürdürülmesi gereklidir. Bu da sağlıklı β - hücre sayısının korunumuna bağlıdır. Aşırı beslenmeyle birlikte kontrol edilmeyen hiperglisemi ve hiperlipidemi, enflamasyon, inflamatuvar stres, ER stres, oksidatif stres ve amiloid stres gibi toksik baskılara sebep olarak pankreas adacık kaybına yol açabilmektedir.⁴³ Uzamış hiperglisemi, β - hücrelerinde pro-insülin ekspresyonunu ve adacık amiloid polipeptit (AAP) sentezini arttırır ve bu da hatalı katlanmış insülin ile AAP birikimi sonucu reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimiyle sonuçlanır.⁴⁴ Hücrede meydana gelen bu değişim interlökin (IL)-1 β seviyesini arttırarak makrofajların etkisiyle bölgesel adacık inflamasyonuna yol açar.⁴⁵ Ayrıca Ca^{+2} mobilizasyonu değişir, proapoptotik sinyaller artar, proinsülinin mesajcı ribonükelik asit (mRNA) düzeyinde azalma görülür (Şekil 2.3.).⁴⁵



Şekil 2.5. Obezite ile T2DM arasındaki ilişki

Dr. Reaven insülin direncinin sadece T2DM patogenezinde değil aynı zamanda KVVH’larda rol oynayabileceğini düşündü.⁵² 1998 yılında X sendromu olarak da bilinen MetS, abdominal obezite, bozulmuş glukoz toleransı, yüksek trigliserit düzeyleri, düşük yoğunluklu lipoprotein (HDL) düşük düzeyleri ile karakterize olan kardiyovasküler risk faktörlerinin bir kümesi olarak tanımlandı.⁵³ Kendi başına bir hastalık olmayan MetS, artmış hastalık riskine sahip bireyler için şemsiye olarak hizmet eder.

2.3. Adipoz Doku

Bilim dünyası, adipoz doku (AD) hakkında son otuz yıla kadar pek bilgi sahibi değildi ve tek görevinin yağ depolamak olduğuna inanıldığı için anatomi atlaslarında dahi yer verilmeyecek kadar önemsenmiyordu.⁵⁴ Ancak günümüzde beyin ve karaciğer gibi diğer organ ve dokularla yakından ilişkili olan iştah, insülin duyarlılığı, lipid ve glukoz homeostazının yanında inflamasyon ve anjiyogenezde önemli rolü olan endokrin ve parakrin bir doku olduğu kabul ediliyor.

Mezodermden köken alan yağ doku⁵⁵ kahverengi yağ doku (KYD) ve beyaz yağ doku (BYD) olmak üzere iki çeşit olduğu kabul ediliyordu. Ancak günümüzde kemirgenlerde ve insanda beyaz, kahverengi, bej, pembe ve sarı olmak üzere 5 çeşit adiposit olduğu biliniyor (şekil 2.7.).⁵⁶ KYD gebeliğin ikinci trimesterin sonunda ortaya çıkar ve titreme yeteneği kazandırarak yenidoğanları soğuktan korur. Yetişkinlerde KYD boyun, omuzlar, serviks, aorta, böbrek, arka göğüs ve belli abdominal noktalarla kısıtlıdır.⁵⁷ KYD ise birkaç tane multiloküler lipit içeriğine sahip yüksek mitokondri yoğunluğuna sahip olan bir hücre tipidir. KYD'ler mitokondrilerinde bulundurdukları eşleşmeyi bozan uncoupling proteinler (UCP) ile elektron taşıma zinciri - ATP üretimi eşleşmesini birbirinden ayırır nonshivering thermogenesis ile depolanmış trigliseritleri depolamak yerine yakarak ısı üretir. Enerji harcanmasındaki bu potansiyel rolü ile vücutta yağ birikimine karşı koruyucudur ve KYD aktivitesi ile vücut yağ kitlesi ters orantılıdır.^{58, 59} Özellikle yenidoğanlarda vücut ısısının korunması için miktarı yüksektir. KYD'nin ayrıca insülin duyarlılığını arttırarak insülin direncini kırmada rolü vardır.⁶⁰

BYD 'de ikinci trimesterde döneminde gelişmeye başlar ve doğumla birlikte hem iç organ hem de deri altı depolarında yayılım gösterir. BYD mitokondrisi nispeten az, büyük bir tek parça lipit damlacağı ile dolu enerji depolayan hücrelerdir. Lipit depolama ve salımının ana merkezi olmak, çeşitli sitokinleri salgılayarak insülin duyarlılığını, glikoz homeostazını^{61, 62, 63} ve beslenme davranışını düzenleyen bir endokrin organı olarak işlev görmek^{64, 65} gibi fonksiyonlarla biyolojik süreçlerde anahtar rol oynar. Ancak BYD'nin en iyi bilinen işlevi, fazla enerjiyi, daha yüksek talep veya gıda kıtlığı durumunda tekrar salınabilen trigliseritler şeklinde depolamaktır.

Bej yağ dokusu, iskelet kası, deri altı ve retroperitoneal beyaz yağ dokularında yaygın olarak dağılır.⁶⁶ Pembe yağ dokusu, gebelik ve emzirme döneminde beyaz yağ dokusundan dönüşen pembe adipositlerden oluşan, süt üreten ve salgılayan bir alveol

hücreleridir.⁶⁷ Çocukluk döneminden sonra uzun kemiklerdeki kırmızı iliğin yerini yavaş yavaş yağ dokusu alır ve bu da eller, ayaklar dâhil olmak üzere distal iskelet içinde benzersiz bir yağ dokusu olan sarı iliğin oluşumuna sebep olur. Bu sarı renkli adipoz doku bulundukları bölgelerde salgıladıkları özel faktörlerle hepatopoetik kök hücrelerin yapımını, yeniden yapılanmasını ve progenitör hücrelere dönüşümünü düzenleyerek hematopoezde regülatör rol oynar.⁶⁸

	Beyaz	Kahverengi	Bej	Pembe	İlik Yağ Dokusu
Lokasyon	Yaygın olarak iç organların çevresinde ve deri altı dokuda yayılım gösterir.	Temel olarak iç interskapuler alandayayılım gösterir.	Erişkilere omurga ve köprücük kemiğine yakın deri altında yayılım gösterir.	Hamilelik döneminde beyaz yağ dokudan dönüştürülür.	Kemik iliği boşluğunda bulunur
Özelliği	- Yağ damlası büyüktür - Mitokondri sayısı düşüktür.	- Lipit damlacıkları küçük ve çok sayıda - Mitokondri sayısı yüksek	- Lipit damlacıkları küçük ve çok sayıda - Mitokondri sayısı yüksek	- Yağ damlası büyüktür - Mitokondri sayısı düşüktür.	- Yağ damlası büyüktür - Mitokondri sayısı düşüktür. - Beyaz yağ dokuya benzer
Fonksiyonu	- Enerji depolanması ve dağıtımı - İnsülin duyarlılığını modüle etmek - Beslenme davranışlarını düzenlemek	- Önemli derecede ısı üretir. - UCP1 ekspresyonu eder. - Artmış insülin duyarlılığı - Enerji homeostazisinin düzenlenmesi	- Uyarıldıktan sonra UCP1 ve PGC1-α üretimi - Enerji depolanması - Sıcaklık üretimi	Süt üretimi ve salgılanması	- Hematopoietik homeostazı düzenler. - Osteogenez sürecini düzenler. - Tam işlevi henüz bilinmiyor

Şekil 2.7. Adipoz dokunun tipleri ve fonksiyonları

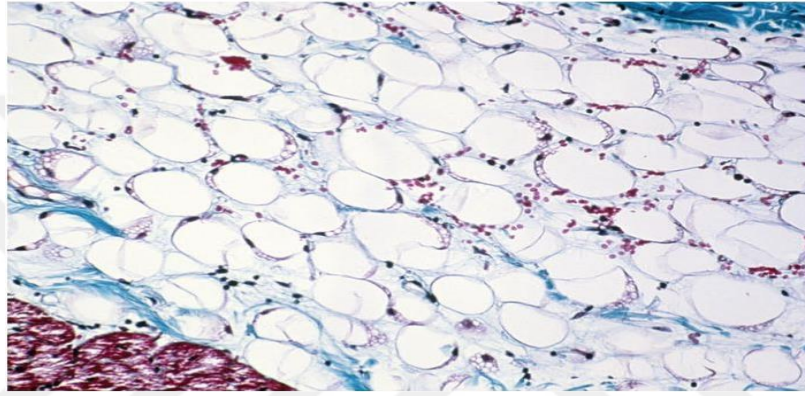
Yağ dokusunun ana hücre tipi adipositlerdir. Adiposit doku dinamik bir dokudur ve her 15 yılda bir kendini tamamen yeniler.⁶⁹ Büyümesi hem hipertrofi hem hiperplazi ile olur.⁷⁰ Büyüme konusunda diğer hücre gruplarından çok öndedir, 30-40 µm çapından 100µm'nin üzerinde şişebilir ve hacim olarak on kat büyüyebilir.⁷¹

Adipoz doku tek görevi triaçilgliserol (TAG) olarak depolama olan pasif bir doku değildir. Adipoz doku enerji depolama, ısı yalıtımı, enfeksiyon ve yaralanmalara karşı mekanik bariyer oluşturmanın⁷² yanında leptin ve adiponektin gibi hormonları

salgıladığının keşfedilmesiyle aynı zamanda endokrin bir doku olduğu ortaya çıkmıştır.^{73,}

74, 75, 76

Olgun adipositler, genel enerji homeostazında yer alan çok sayıda enzim, büyüme faktörü, sitokin ve hormonu sentezler. Bunlar arasında en önemlileri TNF- α , monosit kemotaktik protein 1 (MKP1) ve östrojendir.⁷⁷ Adipositlerden salındığı kanıtlanmış iştah kontrolü ve enerji dengesinde görev alan adipokin adı verilen sayısı 50'den fazla molekül vardır.



Şekil 2.8. İnsan beyaz yağ dokusunun enine kesiti. (Her hücre, çekirdeği (kırmızı lekeli) plazma zarına sıkıştırarak kadar büyük bir yağ damlacığı (beyaz) içerir.)

Enerji dağılımında merkezi bir rolü vardır. Metabolizmada enerji açığı doğduğunda, adipositlerde depolanan TAG'lerin hidrolitik etkisi ile hızla mobilize edilir ve enerji ihtiyacını karşılamak için FFA'ları dolaşıma serbestlerler. FFA'larda karaciğer, kas ve renal korteks gibi dokularda oksidatif yakıt elemanı olarak kullanılır ve beyin için glukoz tasarrufu sağlar.

TAG, yağ dokusu sitozolünde etrafı perilipin proteini ile çevrelenerek stabilize edilmiş yağ damlacıkları formunda bulunurlar.⁷⁸ Kan glukoz seviyesinin düşmesiyle seviyesi yükselen katekolaminler, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve glukagon gibi Adenil Siklaz aktivitesine sahip enzimler, Hormon Duyarlı Lipaz (HSL) üzerinden lipolizi uyarır.⁷⁹ Bu enzimler hücrede ilk olarak adenilat siklazı aktifleştirerek sitozolde

3'-5'-halkasal adenozin monofosfat (cAMP) miktarını artırır. cAMP ile aktiflenen protein kinaz A (PKA), HSL enzimini fosforilleyerek aktive eder. PKA aynı zamanda yağ damlacıklarını etrafını kuşatarak lipazların hidrolitik etkisinden koruyan perilipini de fosforiller.⁸⁰ Konformasyon değişikliğine uğrayan perilipin, lipazların yağ damlacığı içine rahatça girebilmesine izin verir. TAG'ler lipazlara karşı savunmasız hale gelir ve lipoliz başlar. Tam tersine İnsülin hormonu ise cAMP seviyesinin düşmesine neden olarak anti-lipolitik etki meydana getirir.⁸¹ AD içerisinde lipoliz ve yeniden esterifikasyon işlemleri bir döngü halinde devam eder. Böylece AD, plazma TAG'si yükseldiğinde bunun seviyesinin düşmesi ve FFA'nın dolaşıma salınımının engellenmesiyle bir tampon görevi görür.⁶¹ Lipoliz sırasında meydana gelen FFA'lar diğer dokuların kullanımına sunulması için dolaşıma katılırken bir kısmı yağ dokuda kalıp yeniden esterleşebilir. AD'de TAG sentezi ve hidrolizi arasındaki dengesizlikler özellikle TAG birikimi obezite, insülin direnci T2DM ve kardiyovasküler hastalıklar gibi metabolik sağlık sorunlarına neden olabilir.⁸² Bu nedenle lipolizde görev alan enzimler ve dolayısıyla lipoliz hormonların sıkı kontrolü altındadır.

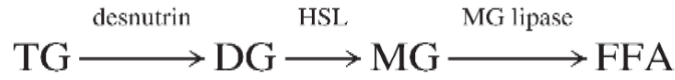
2.4. Desnutrin

Yakın zamandaki çalışmalar AD'deki lipoliz mekanizmasını aydınlatmadan önce TAG'nin hidrolizini hız sınırlayıcı enzim olan HSL'nin kontrol ettiğine inanılıyordu.⁸³ Bu görüşe göre lipolizin ilk basamağını HSL gerçekleştirmekteydi. Ancak HSL üretimi baskılanmış farelerin normal vücut ağırlığı gösterirken yağ kütlesinin azalmaya devam etmesi^{84, 85, 86, 87} ve AD' de TAG miktarındaki azalmaya karşılık DAG birikiminin artması⁸¹ lipolizdeki tek enzimin HSL olmadığını düşündürmüştür. Bu sonuçlara göre lipoliz kaskadında en az bir lipaz daha var olmalıydı ve enzimatik etkisi TAG hidrolizinin birinci basamağına özgü olmalıydı.

2004 yılına gelindiğinde birbirinden bağımsız üç ayrı laboratuvar ekibi aranılan bu lipazı farklı isimlerle tanımladılar. Villena ve ark.⁸⁸ adiposit dokusunda eksprese edilen genleri tanımlamak için sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 2.0 kb'lik bir mRNA keşfettiler. Açlık sırasında seviyesi artan bu mRNA'nın ürettiği moleküler ağırlığı 53.6 kD olan 486 amino asitlik proteinin trigliserit hidrolizinde artışa neden olduğunu buldular ve Desnutrin adını verdiler. Patatin motifi olarak bilinen ve patates gibi bitkilerin depo bölümlerinde de bol bulunan Glisin-X-Serin-X-Glisin (GX SXG) dizilerinin desnutrin proteininin N-terminal bölgesinde varlığı gösterildi. Bu diziler lipit hidrolaz aktiviteyle ilişkilidir. Enzimatik karakterinin araştırılmadığı bu çalışmada desnutrini aşırı eksprese eden transfekte edilmiş COS-7 hücrelerinde TAG birikimini azaltmasından yola çıkarak bunun bir lipaz olacağını düşündüler. Northern Blot analizi ile seviyesi belirlenen Desnutrin mRNA'ları yağ dokusundan bariz bir şekilde çalışılan diğer dokulara göre daha fazla eksprese edildiği keşfedilmiştir. Açlıkta geçici olarak indüklenen ve yeniden beslenmeyle miktarı azalan desnutrinin obez farelerde normal farelere göre miktarı yaklaşık %80 oranında daha az olduğu görülmüştür.⁸⁸ İnsülin ile uyarılan glukoz alımını incelemek için kültür ortamında yaygın olarak 3T3-L1 adiposit hücreleri kullanılır. Hücre kültüründe 3T3-L1 pre-adipositlerinde hücreler olgunlaşana kadar desnutrin üretimi olmadı ancak hücreler farklılaştıktan sonra 24 saat içerisinde üretim arttı. Ayrıca cAMP aracılı glukagon hormonunun desnutrin seviyesini arttırmasını beklerken glukokortikoid deksametazonun takviyesinin Desnutrin ekspresyonunda artışa yol açtığını buldular.

Aynı yıl içinde eş zamanlı olarak Zimmermann ve ark.⁸⁹ HSL'nin özellikle DAG hidrolizinden sorumlu olduğunu ve TAG'lerin ilk ester bağımlı hidroliz eden yeni bir lipaz enzimini buldular. Bu enzimi Adipoz Trigliserit Lipaz (ATGL) olarak tanımladılar. Araştırmacılar ATGL antikorunun TAG hidrolizini %64 oranında inhibe ettiklerini buldular. Bu oran HSL üretemeyen hücrelerde %90 'ı buldu. Yine aynı yıl içinde

Jenkins ve arkadaşları buldukları proteine Kalsiyumdan Bağımsız Fosfolipaz A₂ (calcium-independent phospholipase A₂ = İPLA₂) adını verdiler.⁹⁰ Tanımlanan bu üç proteininde birbirleriyle aynı olduğu anlaşıldı. Desnutrin lipolizde ilk enzim olarak işlev görürken HSL, TAG, DAG ve MAG hidrolizi yapabilen çok yönlü bir enzimdir ancak DAG hidrolizine olan özgüllüğü diğerlerine göre yaklaşık on kat daha fazladır.⁸¹



Şekil 2.9. Adipoz Doku Lipolizi

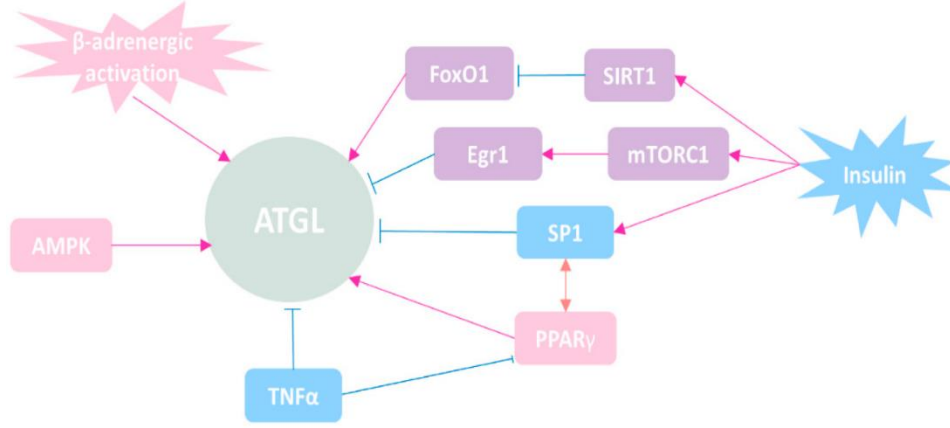
11p15.5 kromozomu üzerinde bulunan insan desnutrin geni, 504 amino asitlik desnutrin proteinini kodlayan on ekzon içerir.⁹¹ Desnutrin proteininin sekans analizi ile bölümleri incelendiğinde 1-253 kalıntıları arasında üç katmanlı ($\alpha/\beta/\alpha$) sandviç domain alanına sahip olduğu görülmüştür. 10-178 arasında bulunan patatin benzeri bir fosfolipaz alanı, kendisi gibi fosfolipaz alanı taşıyan protein ailesinde olduğu gibi TAG, retinol ester ve fosfolipid gibi lipitlere spesifik substrat özgüllüğü taşıyan katalitik aktivitesiyle lipid hidrolizinde önemli bir görev alıyor.⁹² Desnutrin, TAG'lerin *sn*-1 ve *sn*-2 pozisyonunda bulunan uzun zincirli FFA'ları hidrolize ederken *sn* -3 konumunda bulunan yağ asitlerini hidrolize etmez.⁹³



Şekil 2.10. İnsan desnutrininin tahmin edilen yapısının ve etki alanı organizasyonlarının şematik gösterimi

Sitoplazmada lokalize olan desnutrin lipid damlacıklarının üzerinde ve plazma membranında yerleşik olarak bulunur.⁹² Lipoliz ile lipogenez arasındaki dengenin korunmasında merkezi bir role sahip olan desnutrinin düzenlenmesi transkripsiyonel ve post-translasyonel düzenlemeler ile gerçekleşmektedir. Adiposit farklılaşması sürecinde PPAR- γ , Desnutrin promotöründe *specificity protein 1* (özgüllük proteini 1) ile etkileşime girerek mRNA ekspresyonunu transkripsiyonel olarak indükler.^{94, 95} İndüklenen mRNA ekspresyonuna uygun olarak, açlık üzerine yağ dokularında ATGL protein seviyeleri artar.⁹⁶ *Fat specific protein 27* (lipit spesifik protein 27) ve insülin, erken büyüme yanıtı transkripsiyon faktörü aile üyelerinden biri olan erken büyüme yanıtı 1'in (*early growth response 1* = Egr1) Desnutrin promotörüne afinitisini modüle ederek transkript seviyelerini düşürür.^{97, 98} Açlık durumunda transkripsiyonel aktivatörler olan interferon regulatory factor 4 (interferon düzenleyici faktör 4)⁹⁹ ve forkhead box protein O1'in (FoxO1)'in desnutrin promotörüne bağlanması artarken¹⁰⁰ lipolizin en temel baskılayıcılarından olan insülin varlığında azalır.^{99, 101} İnsülin, sirtuin 1 (SIRT1) tarafında kontrol edilebildiği gösterilen FoxO1'in nükleer lokalizasyonunu kısıtlayarak adipositlerde desnutrin ekspresyonunu sınırlandırır.¹⁰⁰ Adipositlerde insülin uyarısından sonra mechanistic target of rapamycin complex 1'in (mTORC1) aktive olur ve Egr1 aracılığı ile⁹⁸ desnutrin ekspresyonunu transkripsiyonel düzeyde inhibe eder.⁹⁸

β -adrenerjik aktivasyon ile aktive edilebilmesinin yanında¹⁰² farelerde AMP ile Aktive Olan Protein Kinaz (AMPK) veya PKA ile 406. ser kalıntısı üzerinden fosforilasyon yaparak aktivasyona katkı sağladığı gösterilmiştir.^{103, 104, 105} Uzun zincirli FFA'ların miktarı arttığında negatif feedback ile Desnutrin üzerinde inhibe edici etki gösterirler.¹⁰⁶ Desnutrin tüm bu kontrol mekanizmaları sayesinde, beslenme durumuna bağlı olarak tüm vücut FFA'sını ve enerji arzını kontrol eder.



Şekil 2.11. Desnutrin (ATGL) üretiminin kontrol mekanizması

Depo lipitlerinin lipolizinde anahtar rolü olan ATGL, tüm vücut enerji homeostazını etkilediğinden bozulmuş ATGL aktivitesinin metabolik hastalıklarla ilişkili olması şaşırtıcı değildir. KVH, T2DM, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı gibi hastalıklarında önemli bir risk faktörü olduğu biliniyor ancak oluşum mekanizması çok karmaşıktır ve en kabul gören temel sebeplerinden biri aşırı lipid depolanmasıdır.¹⁰⁷ Lipid depolanması düzeyini ise lipoliz ve lipogenezin hücresel seviyedeki dengesi belirler. Dengenin lipoliz lehine kayması obezite ve obezite ile ilişkilendirilen hastalıkların gelişimine karşı koruyucu bir etki gösterdiği anlaşılmıştır.^{108, 109}

Desnutrin, adipositlerde yüksek oranda eksprese edilir ve desnutrin aracılı lipoliz, açlık sırasında enerji üretimi FFA sağlamak için gereklidir.¹¹⁰ TAG'nin çok daha az miktarda bulunduğu diğer dokulardaki lipolizden üretilen FFA'lar, öncelikle hücre içinde metabolize edilir.

2.5. FFA

Yağ asitleri, 4 ile 36 arasında karbon atomu içerebilen bir hidrokarbon zinciri ile bir karboksilik asit zincirinden meydana gelir.¹² Karboksil karbonundan sonra gelen karbon atomları sırasıyla α , β ve γ olarak adlandırılırken zincirin en ucundaki karbona ω adı verilir. Plazmada esterifiye olmamış form olan serbest yağ asitleri şeklinde bulunurken, uzun zincirli yağ asitleri plazmada albümine nonkovalent bağlı olarak taşınır, hücre içinde ise yağ asidi bağlayan proteine bağlı olarak bulunur.¹² FFA'lar adipoz dokuda TAG hidroliziyle veya plazma TAG'lerinin lipoprotein lipaz ile parçalanmasıyla ortaya çıkar. Kalp kaynaklı lipoprotein lipaz enziminin K_m değeri, AD' deki izoziminin onda biri civarında olduğundan açlık durumlarında kalbin FFA kullanımını kolaylaştırır.¹² Vücudun enerji dengesi FFA'ların AD'de depolanması ve mobilizasyonu arasındaki dengeye bağlıdır.

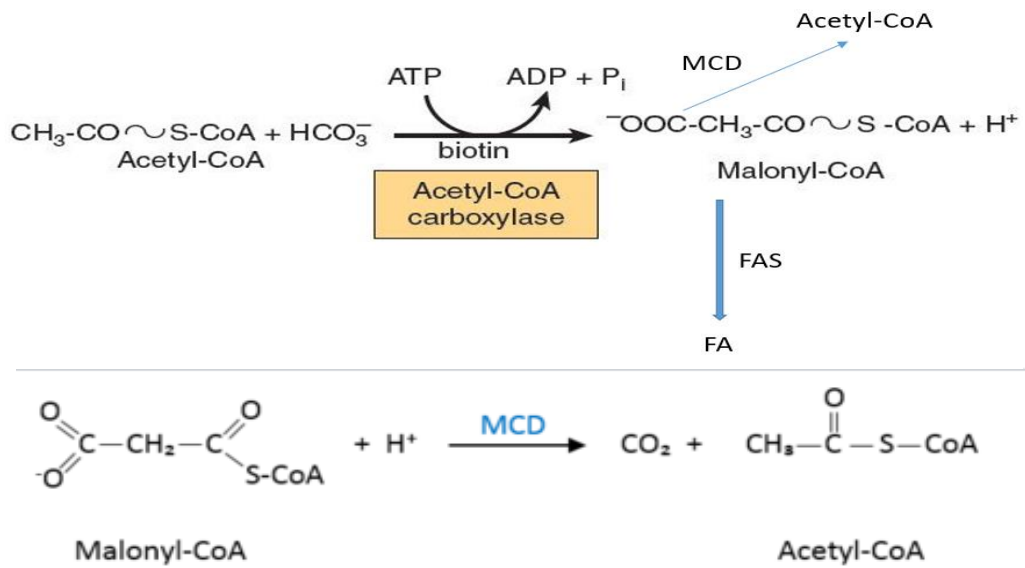
FFA, iskelet kasında oksidasyon için glukoz ile rekabet ederek glukoz kullanımını azaltır.¹¹¹ İnsülin sinyal iletimini bozan protein kinazları uyarır ve ayrıca kasta TAG birikimine katkısı olur.¹¹²

Obez bireylerde artan yağ kitlesiyle doğru orantılı olarak salınan FFA miktarı arttığı için plazmadaki seviyesi genellikle yüksek seyrederek.^{113, 114} Yağ dokudan serbestlenen FFA'lar periferik dokularda insülin direncine katkıda bulunabilir.¹¹⁵ Hücrelerin artan FFA'ya maruz kalması, insülin reseptör substratının (IRS) serin kalıntılarının fosforilasyonunu inhibe eder. Bu fosforilasyon, insüline tepki olarak IRS-1'in tirozin fosforilasyonunu azaltır ve insülin reseptörlerine bağlanma kabiliyetini kaybeder, böylece insülin etkisini ve sinyalini inhibe eder.¹¹⁶ Uzun zincirli FFA'lar insülin salınımı üzerinde kısa zincirli yağ asitlerine göre daha uyarıcı bir etki gösterir.¹¹⁷

2.6. Malonil-CoA

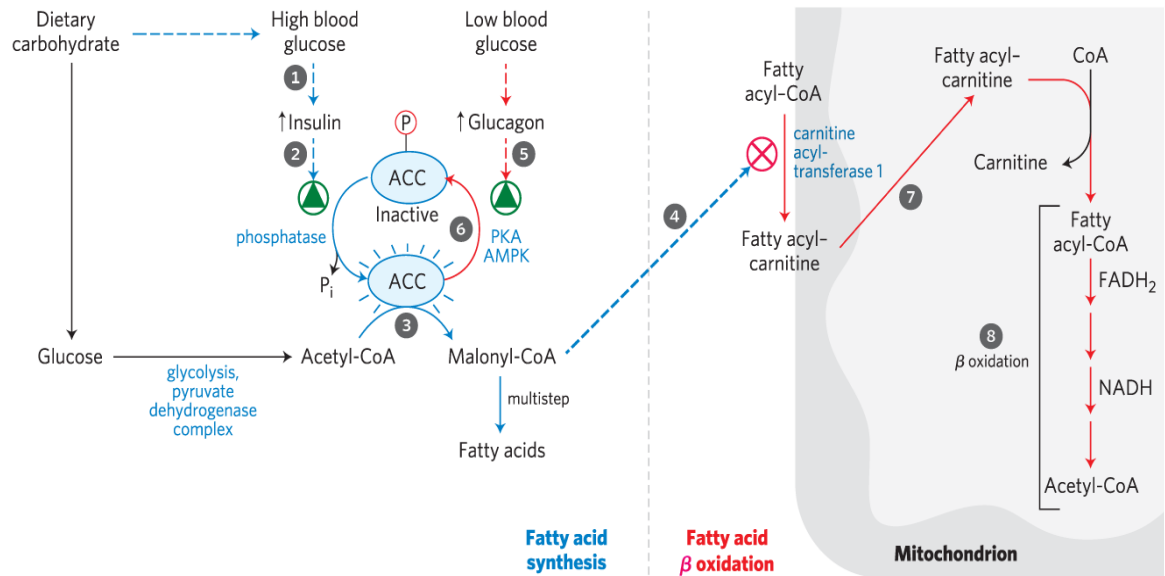
Yağ asidi yıkımı olan β -oksidasyon mitokondride gerçekleşirken, sitoplazmada gerçekleşen sentez işlemi farklı olarak üç karbonlu bir ara ürün olan malonil-CoA ile meydana gelir. Malonil-CoA, yağ asidi sentezinin prekürsörüdür ve düzeyleri hormonlar ve diyetle birlikte değişiklik gösterir. Krebs siklusunda sitrat molekülünün konsantrasyonu ihtiyaçtan fazla artarsa, mitokondriyi terk edip sitoplazmaya çıkar ve sitrat liyaz enzimi ile parçalanır oksaloasetat ve asetil-CoA'yı meydana getirir.

Asetil-CoA molekülleri yüksek enerji sinyal moleküllerinin varlığında Asetil-CoA Karboksilaz (ACC) enzimi ile Malonil-CoA'ya dönüştürülür. Piruvatın, piruvat karboksilaz tarafından karboksilasyonunda olduğu gibi koenzim olarak yine biotin kullanılır. ACC'nin kataliz ettiği bu basamak yağ asidi sentezinin kontrol basamağıdır. Malonil-CoA seviyelerini modüle eden bir diğer etken malonil-CoA'nın tekrar asetil-CoA'ya dönüşümünü katalize eden enzim olan malonil-CoA dekarboksilaz (MCD) enzimidir. Beslenme durumuna ve hormonal değişikliklere yanıt olarak genetik ifade ile düzenlenir.¹¹⁸



Şekil 2.22. a) ACC enzimi ile Malonil CoA üretimi **b)** MCD enzimi ile Malonil CoA'nın Asetil CoA'ya geri dönüşümü

Sitrat molekülü ACC'nin allosterik aktivatörü olarak rol alırken uzun zincirli yağ açıl koa molekülleri enzimde inaktivasyona neden olur. Bir diğer düzenleme mekanizması geri dönüşümlü fosforilasyon ile olur. Yüksek karbonhidratlı bir öğün sonrası kan şekeri ve insülin seviyesi yükselir. İnsülin bağımlı protein fosfataz enzimi ACC enzimini defosforile ederek aktifleştirir ve Malonil-CoA yapımını hızlandırır. Malonil-CoA, karnitin açıl transferaz 1'i (KAT1) inhibe ederek karnitin mekiği ile mitokondri içine yağ asidi taşınımı mekanizmasını devre dışı bırakarak beta oksidasyonu minimize eder. Tam tersine kan glukozunun düşmesi üzerine glukagon miktarının artması PKA aktifleşmesini, sonrasında bu enzimin ACC'yi fosforilleyerek inhibe etmesine yol açar. Ayrıca AMPK, düşük enerji sinyali olan AMP tarafından uyarılarak ACC fosforilasyonunu ve inaktivasyonunu destekler. Böylece malonil-CoA seviyesi düşer, KAT1 üzerindeki baskı kalkar ve yağ asitlerinin β oksidasyonla ATP eldesi için mitokondri içine girmesi kolaylaşır. Bu düzenleyici mekanizmalar sayesinde birbirine zıt iki ana yolağın (lipogenez ve lipoliz) aynı anda devam etmesi önlenmiş olur.



Şekil 2.23. Karbonhidrat ve lipit metabolizması üzerinde Malonil-CoA'nın etkisi

Hipotalamus, besin alımı ile enerji tüketimi arasındaki dengenin sürdürülmesinde ana aktör olarak görev alır. Malonil-CoA'nın lipoliz ve lipogenez dengesinde kavşak bir molekül olmasının yanında hipotalamustaki seviyeleri iştah merkezini uyarır ve besin alımını arttırarak veya azaltarak kilo değişimine katkı vermektedir. Güçlü bir yağ asit sentezi inhibitörü olan C75 (cerulenin and a synthetic compound) farelere intraserebroventriküler veya periferik olarak uygulandığında yağ asidi sentezinde azalma ile malonil CoA seviyesinde artmanın yanında gıda alımında da belirgin bir azalma görülmüştür.¹¹⁹ Hipotalamustaki malonil-CoA birikimi tokluk hissi meydana getirir ve kilo kaybına sebep olur.¹²⁰

2.7. Resistin

Resistin insan ve farelerde pleiotropik role sahip olan, sirküler dolaşımda bol miktarda bulunan küçük bir salgı proteinidir. Resistin, sistein amino asidinden zengin resistin benzeri molekül ailesine (resistin-like molecules) dâhildir ve hormon benzeri bir etki göstererek inflamatuvar süreçlere katkısı olan bir proteindir.^{121, 122} Resistinin insanlardaki biyolojik aktivitesi tamamen açığa kavuşturulamamıştır ancak güncel çalışmalar kronik inflamasyon ve metabolik sendrom ile yakından ilişkili olduğunu gösterir.¹²³

İlk olarak 2001 yılında Steppan ve ark.¹²⁴ tarafından özellikle fare yağ dokusundan sentezlenip kana sekrete edildiği keşfedilen Resistin'nin genetik ve diyete bağlı obez farelerde kan düzeyleri belirgin bir düzeyde yüksek bulunmuştur. Bu bilgiler ışığında obezite ile diyabet arasında bir bağlantı olabileceği düşünüldü. Bu çalışma ekibi resistin proteinini (32 µg/fare) C57BL/6J farelerine intraperitoneal olarak uyguladığında, glukoz homeostazının ve insülin etkisinin bozulduğu görüldü. Daha sonra yapılan fare obez ve diyabet modellerinde resistin seviyelerinin yüksek bulunması ilgi uyandırdı.¹²⁵

```

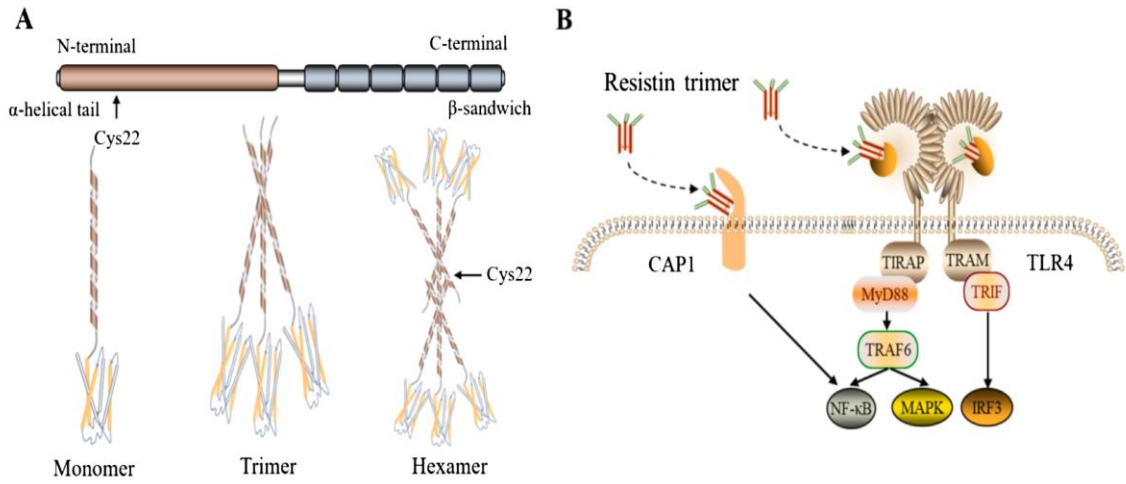
mResistin: 1 MKNLSFPLLFLFFLVPELLGSSMPLCPIDEAIDKKIKQDFNSLFPNAIKNIGLNCWTVSS 60
              MK L + LL + L LL SS LC ++EAI+++ ++ SL AI +IGL C +V+S
hResistin: 1 MKALCLLLLLPV--LG--LLVSSKTLCSMEEAINERIQEVAGSLIFRAISSIGLEQSVTS 56

mResistin: 61 RGKLASCPEGTAVLS CSCGSACGSWDIREEKVCHCQCARIDWTAARCCKLQVAS 114
              RG LA+CP G AV C+CGSACGSWD+R E CHCQCA +DWT ARCC++Q
hResistin: 57 RGDLATCPRGFAVTGCTCGSACGSWDVRAETTCHCQCAGMDWTGARCCRVQP 108

```

Şekil 2.12. İnsan ve Fare Resistinlerinin amino asit diziliminin karşılaştırılması

İnsanda, pre-poliipeptid prekürsöründen 108 amino asit içeren 12,5 kDa molekül kütesine sahip olgun bir resistin proteini meydana gelir.^{126, 127} C- terminalinde disülfid açısından zengin bir β sandviç baş bölümü (CX₁₁-CX₈-CXCX₃-CX₁₀-CXCXCX₉-CC-X₄-) ile α -sarmal yapısına sahip bir N- terminal kuruğun oluşturduğu iki ana bölmeye sahip bir proteindir.¹³ Fizyolojik olarak kan düzeyleri 7-22 ng/ml aralığında seyredir. Resistin konsantrasyona bağlı olarak fizyolojik ve patolojik etkilerinden sorumlu olan geri dönüşümlü konformasyonel değişiklikler gösterir ve kanda birden fazla resistin formunda bulunur.^{121, 128} İnsanda iki ana formundan biri 45kDa moleküler ağırlığına sahip bir trimer diğeri ise 660 kDa'luk bir oligomerdir. Bu baskın formlar, TNF- α , IL- 1 β , -6, -8 ve -12 sekresyonunun uyarılması, ROT üretilmesi gibi etkilerinin yanında MKP1'in salınması ve B hücrelerinde NF- κ B'nin düzeyinde artışa neden olur.^{123, 129, 130} Resistin, Toll Like Reseptör 4 (TLR4) ve Adenylyl Cyclase-Associated Protein 1 (CAP1) reseptörlerine bağlanarak etkilerini gösterebilirler.



Şekil 2.13. İnsan resistininin yapısı ve reseptörlerinin şematik diyagramı

İnsan ve fareler üzerindeki karşılaştırma çalışmaları çelişkili sonuçlar üretmiştir. Fare ve insanlardaki mRNA doku dağılımları karşılaştırıldığında insan yağ doksunun farelerinkinden 250 kat daha az üretim yaptığı bunun yerine resistinin insanda birincil akut lösemi hücrelerinde ve U937 ile HL60 miyeloid hücre dizilerinde bol miktarda üretildiği gösterilmiştir.¹³¹ Ayrıca insanda üretilen 108 amino asitlik protein, 114 amino asitlik fare proteininden yapısal olarak farklılık gösterir ve sadece %55'i özdeştir.^{126, 132, 133} Fare resistinlerinin 3' ucunda, PPAR γ , AP1 ve NF- κ B gibi transkripsiyon faktörlerini tanıma motiflerine sahip bir intron bulunur. İnsanda intronun bulunmaması sebebiyle resistin, PPAR γ üzerinden etkisini gösteremez.

İnsanda farklı etkileri olan Resistin, yağ dokusundan ziyade büyük çoğunlukla inflamatuvar durumlarda makrofajlar, nötrofiller ve akciğerler tarafından üretilen^{125, 134, 135} insülin etkisine karşı koyarak glukoz homeostazını bozan küçük bir protein olarak bilinir.¹³⁶ Resistin geni obeziteye, insülin direncine veya diyabete yakınlıkla ilgili olmayan bir bölge olan 19p13.3 kromozomunda bulunur.¹³⁷

Resistin seviyeleri yükseldiğinde insülin direnci indüklenir. Proinflamatuvar etkiye sahip olan bu adipositokinin obezite ve insülin direncinin patogenezinde tartışmalı

bir role sahiptir.¹³⁸ İnsan resistin geni aktarılmış transgenik farelerde resistin seviyesinin yükselmesinin akabinde adiposit dokularda enflamasyon, artmış lipoliz ve insülin direncinin düzeyini arttırıcı bir FFA birikimi tablosu ortaya çıkmıştır.¹³⁹

Resistin Kardiyovasküler Sistemle İlişkisi

Metabolik sendromu meydana getiren temel nedenler arasında yer alan insülin direnci aynı zamanda kardiyovasküler hastalıklar için de bir risk faktörüdür.

Verma ve ark.¹⁴⁰ 2003 yılında resisitinin insan endotel hücrelerini in vitro olarak uyardığını bulmuşlardır. Çalışmalarında rekombinant resistin, endotel hücrelerinde endotelin-1 mRNA ekspresyonunu ve protein sekresyonunu arttırdığı gibi vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) seviyelerini yükseltirken tumor necrosis factor receptor-associated factor-3 (TRAF-3) ekspresyonunu azaltmıştır. Bu etkiler resisitinin kardiyovasküler sistem hastalıklarına endotelyum aktivasyonu ile katkı sağladığını göstermektedir. Resistin ayrıca makrofajlarda lipid birikimini arttırarak köpük hücre oluşumunu arttırır.^{141, 142} Yükselen resistin seviyelerinin aterosklerotik plakların boyutunda bir artışa neden olduğu¹⁴³ ve Koroner Arter Hastalığı ile bir bağlantısının olduğu gösterilmiştir.^{144, 145}

2.8. Kardiyovasküler Risk Belirteçleri

2.8.1. Kolesterol

Tüm hayvan hücre zarlarının temel bileşeni olan kolesterol zar akışkanlığını düzenlerken, steroid yapıdaki hormonların prekürsörü olmak, D vitamini sentezinde rol almak, yağların sinidrimi ve lipofilik vitaminlerle birlikte emiliminde görev almak gibi vücutta hayati roller üstlenir. Kolesterolün halka yapısı açılmaz, temel besin maddeleri gibi CO₂ ve H₂O'ya yıkılamaz. Kolesterol ve kolesterol esterleri diğer yağlar gibi hidrofobik karakterde oldukları için kanda HDL, IDL, VLDL, LDL gibi lipoproteinlerle

paketlenmiş bir şekilde taşınırlar.¹⁴⁶ Diyetle alınabildiği gibi endojen olarak da sentez edilebilir.¹² Dışarıdan kolesterol alımı endojen sentez yolağını baskılar. Sentez veya dışarıdan alım ile tüketim arasındaki denge bozulduğunda kan damarlarının daralmasıyla neticlenen bir lipit birikimi meydana gelebilir.¹⁴ Bu yüzden endojen ve ekzojen kaynaklı toplam kolesterol ile kullanılan miktarı arasındaki denge korunmalıdır. Ateroskleroz ve kalp hastalıklarıyla birlikte sık anılır ve kandaki miktarının artması KHV ile ilişkilendirilmiştir.

2.8.1.1. HDL-Kol.

Yüksek yoğunluklu lipoprotein en yüksek yoğunluğa sahip en küçük hacimli lipoproteindir. Protein içeriği yüksek TAG içeriği çok düşüktür. Hem karaciğer hem bağırsak tarafından sentez ve salgı yapılan HDL, yeni üretildiğinde apo A ve serbest kolesterol içeren disk yapıdaki fosfolipit çift tabakadan meydana gelir.¹² Bağırsakta üretilmiş HDL kan doluşımına katıldığında karaciğer kaynaklı HDL'den apo C-II (lipoprotein lipazın aktivatörü) ve apo E 'yi transfer eder ki bu da şilomikronlar ve VLDL metabolizmasında gerekli olması açısından önemlidir.¹² KHV'nin insidansı HDL konsantrasyonları ile ters ilişkili olduğu için iyi kolesterol olarak da adlandırılır. HDL, içerisinde yüksek fosfolipid barındırmasıyla kolesterol molekülünü iyi çözerek karaciğer dışı dokulardan kolesterolü toplar. Alınan kolesterol molekülü apo A-I (LCAT aktivasyonu ve HDL'nin yapısal elemanı olarak görev alır) tarafından aktive edilen plazma enzimi lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT) tarafından derhal esterleştirilir ve sonra kolesterol esteri olarak karaciğere verilir.¹⁴ Periferik dokulardan karaciğere doğru gerçekleşen bu taşınma ters kolesterol taşınımı olarak bilinir ve iyi kolesterol taşıyıcısı olarak anılmasının temel sebebidir.

Bu enzim fosfatidil kolinin ikinci karbon atomuna bağı olan yağ asitini kolesterole transfer eder. Hidrofobiklik derecesi iyice artan kolesterol esteri HDL'nin öz bölgesinde depo edilirken bu olay HDL'ye kolesterol akışının devamlılığını sağlar.

2.8.1.2. LDL- Kol.

Birincil görevi periferik dokulara kolesterol sağlamak¹⁴ olan LDL'nin ana apolipoproteini apoB-100'dür.¹² Karaciğer ve pekçok ekstra hepatik doku LDL (apoB-100, E) reseptörüne sahiptir ve LDL'nin yaklaşık %30'u karaciğer dışı dokularda yıkılırken geri kalanı karaciğerde metabolize edilir.¹² LDL'ler, plazma reseptörleri sayesinde ekstra hepatik dokulara kolesterol taşır. LDL reseptörlerinin, LDL'nin dolaşımdan uzaklaştırılmasında oldukça önemli bir rolü vardır. Reseptör sayısının azalmasına yol açan etkenler sebebiyle veya bağlanmada herhangi bir kusurla meydana gelen bir yetmezlik kanda LDL birikimine ve sonrasında prematür ateroskleroza yol açabilir.¹⁴⁶ Dolaşımda özellikle fagositoz yapan makrofajların yüzeyinde *scavenger receptors* olarak bilinen ve LDL'yi bağlayan SR-A1 ve SR-A2 adlı yüzey reseptörleri içerirler.¹⁴⁶ Bu reseptörlerin geniş bir aralıkta ligand bağlama kapasiteleri vardır ve LDL kimyasal olarak modifiye olsa da endositoz ile hücre içine alımda rol oynarlar.¹⁴ Kan LDL'sinin klirensindeki bir dengesizlik sonucu miktarı artarsa makrofajlar lipit ile dolar ve köpük hücrelerini (foam cells) meydana getirir. Kan damarlarının subendotelyal bölümlerinde biriken köpük hücreleri aterosklerotik plakları meydana getirir ve KVVH'lere zemin hazırlar.

2.8.2. ApoA-I

Karaciğer ve bağırsakta sentezlendikten sonra kan dolaşımına katılan çözünebilir özellikteki ApoA-1 apolipoproteini¹⁴⁷, HDL'lerin genç formuna eklenerek HDL'deki lipoproteinlerin %70'ini oluşturan yapısal unsur haline gelirler. ApoA-I plazmada tamamen lipitsiz, az lipit içerikli veya lipitçe zengin formlarda bulunabilir ve

lipoproteinler arası değiş tokuş yapılabılır.¹⁴⁸ Lipitsiz apoA-I, N-terminal (NT) ve C-terminal olmak üzere iki farklı alandan oluşur. NT alanı (1-178 kalıntıları) proteine yapı ve stabilite sağlar ve lesitin-kolesterol asiltransferaz (LCAT) aktivitesinde rol alırken, küçük CT alanı (179-243 kalıntıları) lipid bağlanması başlatılmasından sorumludur ki bu da lipitsiz formdan az lipid içerikli forma geçişi kolaylaştırır.¹⁴⁹ ApoA-I'in yapısal unsuru olduğu HDL'nin plazma düzeyleri ile KVS hastalıklarıyla ters ilişkisi olsada aslında lipitsiz ApoA-I'in makrofaj türevli köpük hücrelerinden kolesterolü almada HDL'ye göre daha etkin olduğu gösterilmiştir.^{150, 151} ApoA-I'in ABCA1 ile etkileşimi hücrel kolesterol akışını ve diskoidal nascent HDL'nin oluşmasını destekler. Bu HDL'nin erken formu yine ApoA-I'in LCAT enzimini aktive etmesiyle küresel HDL'ye dönüşür.¹⁵² Ayrıca karaciğer hücrelerindeki SR-B1 reseptörleri ApoA-I'e bağlanarak HDL kolesterolünün karaciğere aktarımını sağlar. Kısacası periferik dokulardan kolesterolün işlenmek ve safra olarak atılmak üzere karaciğere taşındığı ters kolesterol taşınmasında kritik bir rol oynar. Bu özellikleri ile ApoA-I aterosklerotik plaklardan kolesterol uzaklaştırılmasında, lezyonal lipid içeriğinin azaltılmasında, düşük riskli plakların stabilize edilmesinde ve dolayısıyla kardiyak riskin azaltılmasında potansiyel bir rolü olduğu düşünülebilir.¹⁵³

2.8.3. ApoB-100

VLDL, LDL, IDL ve Lp(a) lipoproteinleri apoB-100 içerir. Kanda kendi başına çözünmeyen bir apolipoprotein olan apoB-100, karaciğerde sentez edilen 4536 amino asitlik bir proteindir.¹⁵⁴ Karaciğerde lipid miktarı düşük olduğunda apoB-100 yıkımlanırken, lipid miktarı yüksek olduğunda mikrozomal trigliserit transfer proteini (MTP) tarafından endoplazmik retikulumda lipid bağlanarak TG'den zengin primordial bir VLDL molekülü oluşturulur.¹⁵⁵ VLDL apoB-100 içermesine rağmen, LDL'yi tanıyan reseptörlere bağlanamaz. Hücre zarlarında *ApoB-100 LDL reseptörleri* bulunan

dokularda, LDL'deki apoB-100 tanınarak kolesterol hücre içine reseptör aracılı endositozla alınır.¹⁵⁶ Hücre içine alınan endozomların lizozomlarla kaynaşmasından sonra kolesterol esterlerini hidrolizleyen enzimler sayesinde kolesterol ve yağ asitleri sitoplazmaya bırakılır. LDL reseptörleri yıkıma uğramadan hücre zarına geri dönerek LDL bağlama işlemine devam ederken LDL'nin apoB100'ü amino asitlerine kadar parçalanır. LDL ApoB-100 proteinindeki 3359-3362 arasındaki bazik amino asit dizisi, arterial intimadaki proteoglikanlara bağlanır böylece aterogenezin çok önemli bir basamağını oluşturur.¹⁵⁷ LDL'deki fosfolipitlerin ve bağlanan proteinin lizil kalıntılarının zamanla oksitlenmesi MKP1 gibi kemoatraktanların sentezini arttırarak bölgesel bir inflamasyon ve imün cevabı tetikler.^{158, 159}

2.8.4. Lp(a)

Lp(a) olarak da bilinen Lipoprotein (a), ateroskleroz, koroner arter hastalığı, inme, tromboz ve aort darlığı için kanıtlanmış ve genetik olarak belirlenmiş bir risk faktörü olan LDL'nin farklı bir formudur.¹⁶⁰ Aynı şekilde 50 mg/dl'nin üzerindeki Lp(a) seviyeleri, artmış kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilidir.¹⁶¹ Lipoprotein (a), LDL partikülüne çok benzer bir yapıya sahiptir. LDL'deki ApoB-100 'ün bir bölgesine apolipoprotein(a)'nın eklenmesiyle oluşur.¹⁴ Karaciğerde sentez edilen Apo(a), LPA geni tarafından kodlanır.¹⁶² Lp(a)'nın plazma konsantrasyonları ile apolipoprotein (a) izoformu arasında ters bir ilişki vardır. Apo(a), plazminojen ile yapısal bir homoloji taşır, doku plazminojen aktivatörüne bağlanmak için plazminojen ile yarışır ve sonuç olarak trombozu teşvik eder. Lp(a)'da yapısı gereği fibrinolizde düşmeye neden olur.¹⁶³ ApoB-100'e tek bir disülfür bağı (S-S) ile bağlanır ve bu da ateroskleroza katkıda bulunur.¹⁶⁴ Apo(a)'nın üzerinde bulunan lizin-bağlayıcı bölge, Lp(a)'nın hasarlı endotele tutunarak subintimal boşlukta birikmesine yardımcı olur.¹⁶⁵ Ayrıca Apo(a)'nın üzerindeki

oksidlenmiş fosfolipitler plak inflamasyonu ve aterosklerozun tetiklenmesine yardımcı olur.¹⁶⁶ Lp(a)'nın kolesterol ve okside fosfolipid yükü ve ayrıca protrombotik potansiyeli nedeniyle ateroskleroz ile nedensel olarak ilişkili olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla plazma Lp(a) seviyelerinin yüksek olması kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilmiştir ve yeni bir biyobelirteç olarak analizlere eklenmesi gündeme gelmiştir.¹⁶⁷

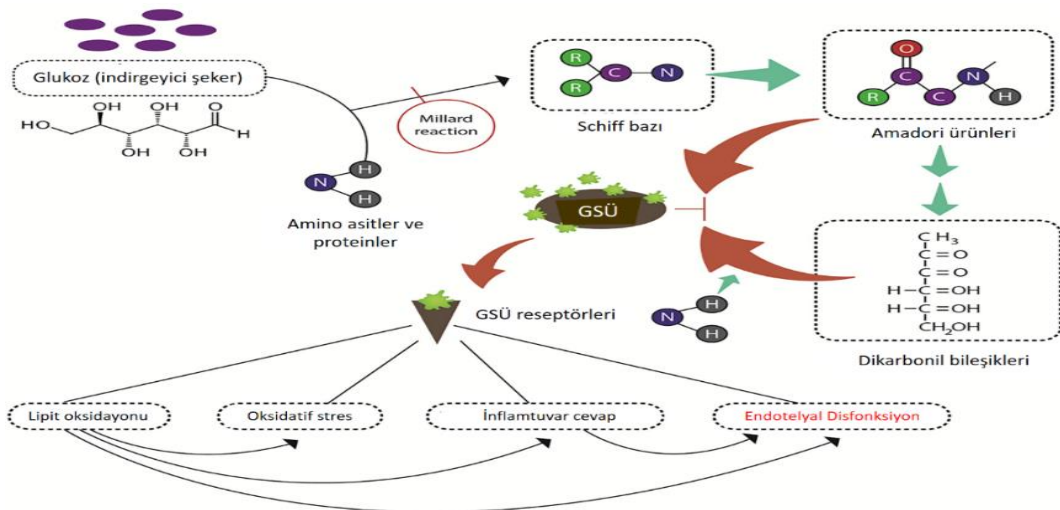
2.8.5. HbA1c

HbA1c, hemoglobine bağlanmış glukoz moleküllerinin yüzdesinin bir ölçüsüdür ve klinikte ortalama glisemik düzeyi belirlemek için en çok başvuru parametrelerden biridir. Son 2-3 aylık süre içerisinde kan glukozu ne kadar yüksek seyrederse HbA1c düzeyi o kadar yüksek olacağından¹⁶⁸ bu parametre diyabet teşhisi koymada ve diyabetlilerin takibinde kullanılır.¹⁶⁹ Tahara ve ark.¹⁷⁰ göre son otuz gündeki ortalama kan glukoz düzeyinin HbA1c düzeyine katkısı %50 iken, bir önceki otuz ve altmış günlük zaman dilimi %25'erlik katkı sağlar.

Eritrosit yüzeyindeki taşıyıcı proteinler sayesinde hücre içi ve dışındaki glukoz konsantrasyonu dengeye ulaşır ve hemoglobinler bu konsantrasyon oranında devamlı olarak glukozla maruz kalırlar.¹⁷¹ Hemoglobinin primer amino grupları (amino terminal valin veya lizin rezidüsünü ϵ - amino grupları) ile glukoz arasında nonenzimatik ve yavaş gelişen bir reaksiyon meydana gelir. Hemoglobinin glikasyonu eritrositlerin ortalama 120 günlük ömürleri boyunca devam eden bir süreçtir. HbA1c molekülü toplam hemoglobinin yaklaşık %5'ini oluşturur ve bu değer 120mg/100ml ortalama kan şekeri düzeyine karşılık gelir.¹⁷¹ Günümüzde Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), immunoassayler ve katyon değişimi ve boronat afinite kromatografisi olmak üzere üç temel metod ile ölçümü yapılır.^{172, 173}

KVH ile Gelişmiş Glikasyon Son Ürünleri Arasındaki İlişki

Hiperglisemi, oksidatif strese artışa, hücresel ve moleküler işlev bozukluğu ile ilgili ileri glikosilasyon son ürünlerinin (GSÜ) üretimine katkıda bulunur. Glikasyon reaksiyonlarının birçoğu nonenzimatik olarak gerçekleşir ve bu durum DM'nin meydana getirdiği olumsuz sonuçların büyük kısmından sorumludur. Kontrolsüz hiperglisemi ve oksidatif stres, amino asitlerin, lipidlerin, nükelik asitlerin ve şekerlerin oksidasyonu (Maillard reaksiyonları)¹⁷⁴ ve özellikle hiperglisemide yüksek düzeyde aktifleşen poliol yolağı¹⁷⁵ ile GSÜ üretimine neden olur. Maillard reaksiyonları nükleik asit, lipid ve proteinlerin amino gruplarıyla, indirgeyici şekerler arasında karbonil reaksiyonu ile kararsız schiff bazı meydana getirir, sonrasında Amadori ürünleri adı verilen daha kararlı yapıdaki ketoaminler meydana gelebilir. GSÜ'ler hücre içi ve dışındaki prtoeinleri modifiye ederek ve kendi reseptörlerine bağlanarak hücre sinyal yollarını aktifleştirir ve patojenik etki meydana getirir. Hücre dışı proteinlerin glikasyonu doğrudan ateroskleroza teşvik edebilir. LDL moleküllerindeki bir değişim reseptörleri tarafından alınımı bozar monositler ve makrofajlar tarafınan fagosite edilerek köpük hücre oluşumuna neden olur.^{176, 177} Dolaşımdaki fibrinojen proteini glikasyona uğrarsa proteolize dirençli hale gelir ve tromboza zemin hazırlar.^{178, 179}



Şekil 2.6. GSÜ oluşumu ve etkileri

3. MATERYAL VE METOT

Araştırmamız deneysel tipte bir araştırmadır ve 15.04.2021 tarihinde *Atatürk Üniversitesi/Tıp Fakültesi /Klinik Araştırmalar Etik Kurulu* ‘nun B.30.2.ATA.0.01.00/53 sayılı kararıyla çalışmamızın bilimsel ve etik açıdan her hangi bir sakınca taşımadığına oy birliği ile karar verilmiştir. (Ek-3)

3.1. Subjelerin Seçimi

Çalışma için gerekli minimum katılımcı sayısı G Power örneklem hesabı programı (versiyon 3.1.9.4) ile hesaplanmıştır. Minimum örneklem sayısı Tip I hata (α) 0,05 ve Tip II hata ($1-\beta$) 0.95 düzeyinde hesaplanmıştır. Buna göre minimum örneklem sayısı tek yönlü ANOVA testi için her grup için 34 kişi olarak hesaplanmıştır (Cohen’s f: 0,4). Bu nedenle çalışmada her grupta 34 kişinin yer almasına karar verilmiştir.). Buna göre 18-85 yaş aralığında 34 T2DM-obez, 34 prediyabetik-obez kişi (BKI>30 kg/m²) ve 34 kontrol (BKI: 20,00-29,99 kg/m²) olmak üzere toplam 102 kişi ile çalışmaya başlanması planmıştır.

Çalışmamıza dâhil olan hasta grubuna ait bireyler Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi bünyesinde hizmet vermeye başlayan Obezite Merkezi’ne kayıtlı kişiler arasından gönüllülük esasına dayanarak seçilmiş ve gruplandırılmıştır. Obezite merkezinde koordinatör olarak bir endokrinoloji ve metabolizma hastalıkları uzmanı, bir sorumlu hekim, bir psikolog, iki diyetisyen, bir fizik tedavi uzmanı, bir yaşam koçu (hemşire) ve bir halkla ilişkiler sekreteri görev almaktadır. Merkezin uzman personeli tarafından standart teşhis algoritmaları uygulanarak Tip-2 diyabet tanısı almış obez kişiler (BKI>30 kg/m²) arasından 18-85 yaş aralığında en az 34 kişi ve pre-diyabet tanısı almış obez kişiler arasından en az 34 hasta seçilmesi planlandı. Kontrol grubu için laboratuvar sonuçları normal çıkan ve klinik anormalliği olmayan bireylerin içerisinde 34 kişi seçilerek çalışmaya toplam 102 kişi

dahil edilmesi planlandı. Tüm katılımcılardan bilgilendirilmiş gönüllü onam formu alınmıştır. Tüm katılımcıların bilgileri hasta takip formu kullanılarak kaydedilmiştir. Ayrıca bu forma demografik özellikleri, varsa kullanılan ilaçların isimleri ve pozoloji bilgileri kaydedilmiştir.

Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

1. Pre diyabet tanısı almış olmak
2. Tip 2 Diyabetli tanısı almış olmak
3. Herhangi bir kronik hastalığı olmayan sağlıklı kişiler çalışmaya kontrol grubu olarak dahil edilmiştir.
4. Kontrol grubunun yaş ortalaması ile hasta grubunun yaş ortalaması homojen olmasına dikkat edildi.

Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

1. Hasta grubu için pre-diyabet ve T2DM haricinde herhangi bir kronik hastalığı (kalp ve damar hastalıkları, romatoid artrit, KOAH ve astım gibi kronik solunum yolu hastalıkları ve kanser hastaları) olan kişiler çalışmaya dahil edilmemiştir.
2. Kontrol grubu için herhangi bir kronik hastalığı olan kişiler çalışmaya dahil edilmemiştir.
3. 18-65 yaş aralığı dışında kalanlar
4. Gebeler

3.2. Numuların Toplanması

Hasta ve kontrol grubundan bir kez alınan kan numuneleri sekiz saat açlık sonrası antekübital venden oturur pozisyonda alındı. Serum eldesi için rutinde kullanılan separatör özellikli jel içeren sarı kapaklı biyokimya tüpü kullanılırken, tam kan eldesi için EDTA'lı mor kapaklı tüpler kullanıldı. Biyokimya tüplerine 10 dakika boyunca 3000 rpm devirde santrifüj işlemi yapıldıktan sonra süpernatant kısımları kapakları kilit özellikli

ependorf tüplere alıktlandı. Elde edilen serumlar kademeli olarak önce -20°C'ye sonrasında ise -80 °C' ye kaldırılarak çalışma gününe kadar tekrar çözödürölmeden bekletildi. Alıkotlanan örnekler çalışma gününün bir gün öncesinden sırasıyla -20°C, +4 °C ve oda sıcaklığına aşamalı olarak çözödürölödü. Çözödürölöen örneklerin tekrar dondurulup çözödürölömesinden kaçınıldı.

3.3. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar

Laboratuvar analizlerinde kullanılan cihazlar Tablo 3.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Kullanılan Kitler, cihazlar ve malzemeler

Cihazın Adı	Marka	Menşei
Human Resistin ELISA Kit	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	China
Human Free Fatty Acids (FFA)	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	China
Human Calcium-İndependent Phospholipase A2 (İPLA2)	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	China
Human Malonyl Coenzyme A ELISA Kit	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	China
Human Apolipoprotein B100 (APOB100) ELISA Kit	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	China
Human Apolipoprotein A (APO-A)	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	China
Human Lipoprotein α (Lp-α)	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	China
Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	Tirinity Biotech Premier Hb9210	İrlanda
Klinik Kimya Otoanalizörü	Beckman Coulter AU 5800	ABD
Mikroplate Okuyucu	BIO-TEK PowerWave XS	ABD
İnkübatör	Inovia Technology SC-200-1001	Türkiye
Vorteks	Velp Scientifica ZX3	İtalya
Santrifüj	Beckman Coulter, Allegra X-30R	ABD
Saf Su Cihazı	Mes mp MINIpure	Türkiye
Buzdolabı (+4°C)	Arçelik 5231 NFY	Türkiye
Derin Dondurucu (-80°C)	Nüve DF 290	Türkiye
Ayarlanabilir Hacimli 8 Kanallı Otom. Pipet (10-100 µL)	Eppendorf Research Plus	Almanya
Ayarlanabilir Hacimli Otomatik Pipet (20-200 µL)	Axygen	ABD
Ayarlanabilir Hacimli Otomatik Pipet (100-1000 µL)	Axygen	ABD
Tek Kullanımlık Pipet Ucu (200 µL)	ISOLAB	Almanya
Tek Kullanımlık Pipet Ucu (1000 µL)	ISOLAB	Almanya
Kilitli Kapaklı Mikro Santrifüj Tüpü (1,5 mL)	ISOLAB	Almanya

3.4. Yöntemler

3.4.1. Rutin Biyokimyasal Ölçümler

Tablo 3.2. Rutin Biyokimyasal Ölçümler İçin Kullanılan Yöntem ve Cihazlar

Test Adı	Yöntem	Cihaz Marka	Cihaz Model	Cihaz Menşei	Kitin ticari adı
Glukoz	Enzimatik	Beckman Coulter	AU 5800	ABD	Beckman Coulter
Total Kolesterol	Enzimatik	Beckman Coulter	AU 5800	ABD	Beckman Coulter
HDL Kolesterol	İmmüno inhibisyon	Beckman Coulter	AU 5800	ABD	Beckman Coulter
LDL Kolesterol	Enzimatik	Beckman Coulter	AU 5800	ABD	Beckman Coulter
Trigliserit	Enzimatik	Beckman Coulter	AU 5800	ABD	Beckman Coulter
İnsülin	İmmüno enzimatik	Beckman Coulter	AU 5800	ABD	Beckman Coulter

HbA1c Ölçümü:

Bu analiz için mor kapaklı EDTA'lı tüpe alınan tam kan örnekleri kullanıldı. Analizler Trinity Biotech Premier 9210 otoanalizöründe boronat afinitesi ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile gerçekleştirildi.

HbA1c'ler bir ketoamin bağı aracılığıyla glukoz taşınması ve 1,2-cis-diol gruplarını içermesiyle diğer proteinlerden ayrılırlar. ¹⁸⁰ Boronat afinite kromatografisinin çalışma prensibi kolon içerisinden bir protein solüsyonu (hemolizat veya seyreltilmiş plazma) geçerken HbA1c dışındaki proteinleri matrikse tutunmadan çıkması, HbA1c'deki diol gruplarının, kolon içindeki boronata bağlanıp kompleks oluşturarak matrikse tutunması üzerine kuruludur. Kolonu ilk terkeden grup olan glukoz taşımayan proteinler spektrofotometrik dedektörde 415 nm dalga boyunda miktarı belirlenir. Daha sonra glikozile bileşen boronattan ayırıcı elüsyon reaktif ile kolondan ayrıştırılır. Kolondan ayrılan HbA1c spektrofotometrik dedektöre ulaştıktan sonra yine 450 nm'de analiz edilir.

Ölçülen değerler cihazın bilgisayar tarafından kaydedilir ve işlenir. Toplam değer in yüzdesi olarak HbA1c konsantrasyon sonucu verilir.

3.4.2. Enzim İmmünassayler

Tablo 3.3. ELİSA Parametrelerinin Ölçümleri İçin Kullanılan Yöntem ve Cihazlar

Test Adı	Yöntem	Cihaz Marka	Cihaz Menşei
Resistin	Sandwich-ELISA	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	ÇİN
FFA	Sandwich-ELISA	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	ÇİN
Desnutrin	Sandwich-ELISA	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	ÇİN
Malonil-CoA	ELISA	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	ÇİN
ApoA-I	ELISA	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	ÇİN
ApoB 100	ELISA	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	ÇİN
Lp(a)	ELISA	Bioassay Technology Laboratory (BT LAB)	ÇİN

Resistin Analizi:

İnsan serum Resistin analizi için Çin menşeli Bioassay Technology Laboratory (BT LAB) firmasının üretmiş olduğu ticari (Human Resistin ELİSA kit, E0338Hu) ELİSA kiti kullanıldı. Kit serum, plazma, doku homojenatı, hücre kültürü süpernatantı ve asit sıvısı gibi biyolojik sıvılarda insan resistin düzeyini belirlemek için üretilmiştir. Bu kitin çalışmalar arası kesinlik CV değeri <%10, çalışma içi kesinlik varyasyon katsayısı (CV) değeri <%8, duyarlılığı 10,2 ng/L ve standart eğri aralığı 20-6000 ng/L'dir.

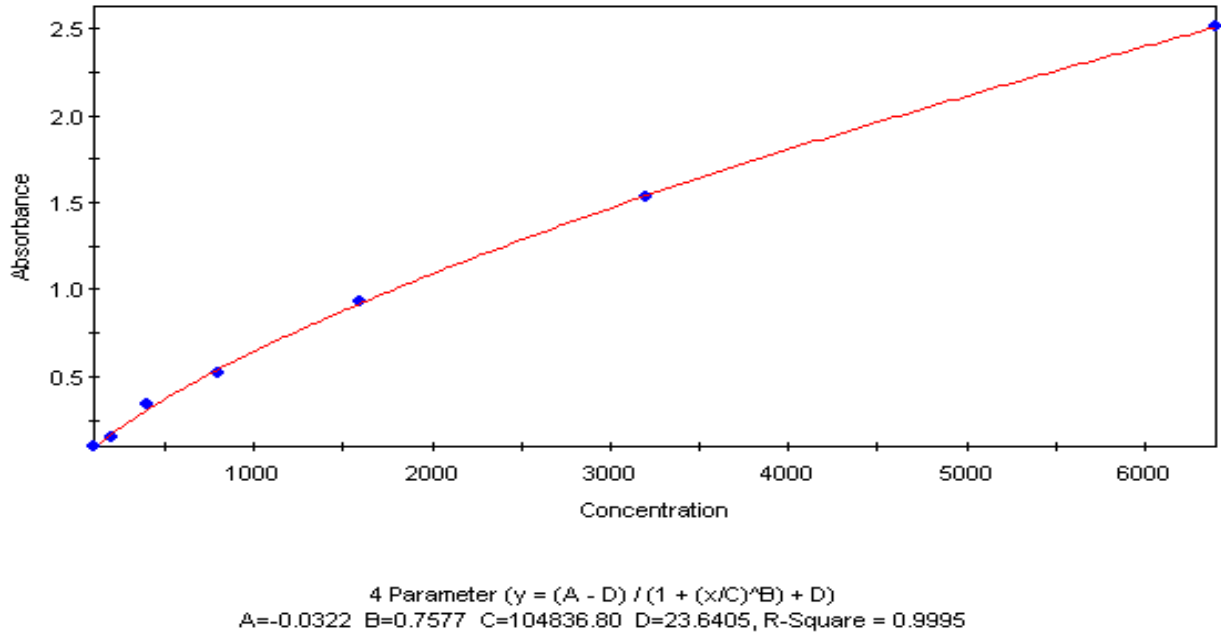
Bu kitin çalışma prensibi Sandviç Enzime Bağlı İmmünosorbent (sandwich-ELISA) yöntemine göre tasarlanmıştır. 96'lık plate, her bir kuyucukta İnsan resistin antikoruna ile önceden kaplanmıştır. İlk aşamada numune eklenir ve numunede bulunan resistin, kuyucuklara sabitlenmiş antikorlara bağlanır. Daha sonra biyotinlenmiş insan resistin antikoruna eklenir ve numunedeki resistine bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş resistin antikoruna bağlanır. 37 °C'de 60 dakika inkübe edilir.

İnkübasyondan sonra, bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama aşaması sırasında yıkanır ve ortamdan uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonu eklenir ve serum resistin düzeyi ile doğru orantılı olarak renk değişimi meydana gelir. 37 °C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra asidik stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sonlandırılır ve absorbans 450 nm'de ölçülür.

Serum Resistin analizi kitin prospektüsünde yazan talimatlar izlenerek aşağıdaki basamaklar takip edilerek yapılmıştır;

1. Kullanılacak tüm reaktifler, standart solüsyonları ve numuneler oda sıcaklığına getirildi. Analiz oda sıcaklığında gerçekleştirildi.
2. Plate düzeni belirlendi. Standart kuyucuklarına 50 µL standart eklendi.
3. Numune kuyucuklarına 40 µL serum ve 10 µL resistin antikoru eklendi.
4. Kör kuyucuklarını hariç tutarak standart ve numune kuyucuklarına 50 µL Streptavidin-HRP eklendi. Karışması sağlandı. Plate üstü kapatılarak 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Plate kuyucuklarının her biri 300 µL yıkama tamponuyla 30 saniye ile 1 dakika yıkanacak şekilde 5 defa yıkandı ve plate iyice kurulandı.
6. Tüm kuyucuklara (numune, standart, kör) 50 µL substrat solüsyonu A eklendikten sonra, yine tüm kuyucuklara 50 µL substrat solüsyonu B eklendi. Mavi renk oluşumu gözlemlendi. Plate üzeri kapatılarak 37 °C'de 10 dakika karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı.
7. Tüm kuyucuklara 50 µL stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Mavi rengin sarıya dönüşümü gözlemlendi.
8. On dakika içinde daha önceden 450 nm dalga boyuna ayarlanmış BIO-TEK PowerWave XS mikropate okuyucu cihazında absorbans değerleri ölçüldü, konsantrasyon hesapları yapıldı.

Kit prosedürüne göre hazırlanan standartların absorbansları kullanılarak R^2 değeri 0,9995 olan bir standart eğri grafiği çizildi (Şekil 3.1.). Bu grafik kullanılarak numunelerin resistin konsantrasyonları birimi ng/L olacak şekilde hesaplandı.



Şekil 3.1. Resistin Standart Eğrisi

FFA Analizi:

İnsan serum FFA analizi için Çin menşeli Bioassay Technology Laboratory (BT LAB) firmasının üretmiş olduğu ticari (Human FFA ELİSA kit, E2013Hu) ELİSA kiti kullanıldı. Kit serum, plazma, doku homojenatı, hücre kültürü süpernatantı ve asit sıvısı gibi biyolojik sıvılarda insan resistin düzeyini belirlemek için üretilmiştir. Bu kitin çalışmalar arası kesinlik CV değeri <%8, çalışma içi kesinlik varyasyon katsayısı (CV) değeri <%10, duyarlılığı 10,47 nmol/ml ve standart eğri aralığı 20-6000 nmol/ml'dir.

Bu kitin çalışma prensibi Sandviç Enzime Bağlı İmmünosorbent (sandwich-ELISA) yöntemine göre tasarlanmıştır. 96'lık plate, her bir kuyucukta İnsan FFA antikoru ile önceden kaplanmıştır. İlk aşamada numune eklenir ve numunede bulunan FFA, kuyucuklara sabitlenmiş antikorlara bağlanır. Daha sonra biyotinlenmiş insan FFA antikoru eklenir ve numunedeki FFA'ya bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş FFA antikoruna bağlanır. 37 °C'de 60 dakika inkübe edilir. İnkübasyondan sonra, bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama aşaması sırasında yıkanır ve ortamdan uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonu eklenir ve serum FFA düzeyi ile doğru orantılı olarak renk değişimi meydana gelir. 37 °C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra asidik stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sonlandırılır ve absorbans 450 nm'de ölçülür.

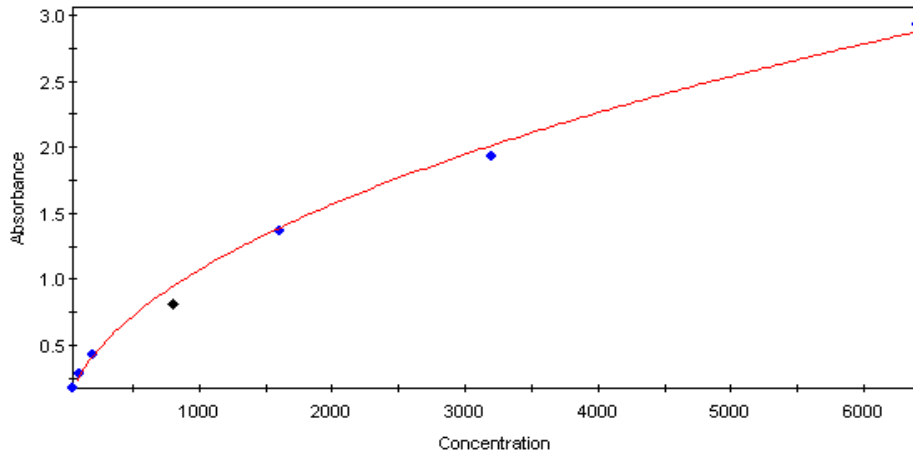
Serum FFA analizi, kitin prospektüsünde yazan talimatlar izlenerek aşağıdaki basamaklara göre yapılmıştır;

1. Kullanılacak tüm reaktifler, standart solüsyonları ve numuneler oda sıcaklığına getirildi. Analiz oda sıcaklığında gerçekleştirildi.
2. Plate düzeni belirlendi. Standart kuyucuklarına 50 µL standart eklendi.
3. Numune kuyucuklarına 40 µL serum ve ardından 10 µL FFA antikoru eklendi.
4. Kör kuyucuklarını hariç tutarak standart ve numune kuyucuklarına 50 µL

Streptavidin-HRP eklendi. Karışması sağlandı. Plate üstü kapatılarak 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.

5. Plate kuyucuklarının her biri 300 µL yıkama tamponuyla 30 saniye ile 1 dakika yıkanacak şekilde 5 defa yıkandı ve plate iyice kurulandı.
6. Tüm kuyucuklara (numune, standart, kör) 50 µL substrat solüsyonu A eklendikten sonra, yine tüm kuyucuklara 50 µL substrat solüsyonu B eklendi. Mavi renk oluşumu gözlemlendi. Plate üzeri kapatılarak 37 °C'de 10 dakika karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı.
7. Tüm kuyucuklara 50 µL stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Stop solüsyonunun eklenmesiyle eş zamanlı olarak mavi rengin sarıya dönüşümü gözlemlendi.
8. On dakika içinde daha önceden 450 nm dalga boyuna ayarlanmış BIO-TEK PowerWave XS mikropate okuyucu cihazında absorbans değerleri ölçüldü, konsantrasyon hesapları yapıldı.

Kit prosedürüne göre hazırlanan standartların absorbansları kullanılarak R^2 değeri 0,9984 olan bir standart eğri grafiği çizildi (Şekil 3.2.).



4 Parameter ($y = (A - D) / (1 + (x/C)^B) + D$)
A=-0.0500 B=0.5616 C=214807.07 D=23.9238, R-Square = 0.9984

Şekil 3.2. FFA Standart Eğrisi

Desnutrin Analizi:

İnsan serum Desnutrin (iPLA2) analizi için Çin menşeli Bioassay Technology Laboratory (BT LAB) firmasının üretmiş olduğu ticari (Human calcium-independent phospholipase A2 (iPLA2) ELİSA kit, E6584Hu) ELİSA kiti kullanıldı. Kit serum, plazma, doku homojenatı, hücre kültürü süpernatantı ve asit sıvısı gibi biyolojik sıvılarda insan Desnutrin düzeyini belirlemek için üretilmiştir. Bu kitin çalışmalar arası kesinlik CV değeri <%10, çalışma içi kesinlik varyasyon katsayısı (CV) değeri <%8, duyarlılığı 9,16 ng/L ve standart eğri aralığı 20-4500 ng/L'dir.

Bu kitin çalışma prensibi Sandviç Enzime Bağlı İmmünosorbent (sandwich-ELISA) yöntemine göre tasarlanmıştır. 96'lık plate, her bir kuyucukta İnsan iPLA2 antikoruna ile önceden kaplanmıştır. İlk aşamada numune eklenir ve numunede bulunan iPLA2, kuyucuklara sabitlenmiş antikorlara bağlanır. Daha sonra biyotinlenmiş insan iPLA2 antikoruna eklenir ve numunedeki iPLA2'ye bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP

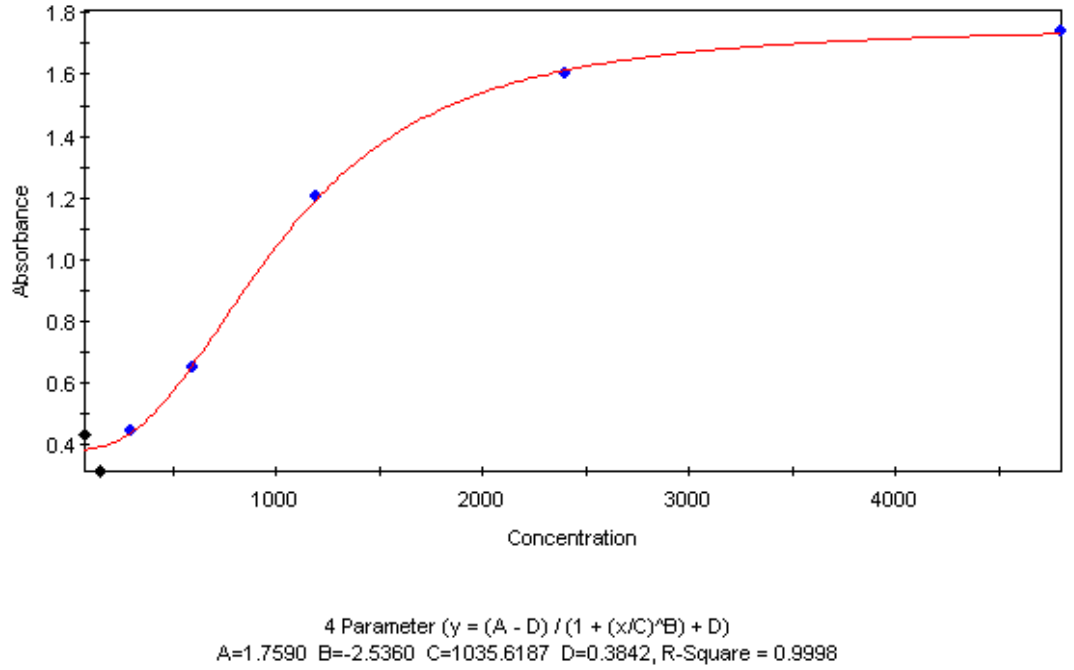
eklenir ve biyotinlenmiş iPLA2 antikoruna bağlanır. 37 °C'de 60 dakika inkübe edilir. İnkübasyondan sonra, bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama aşaması sırasında yıkanır ve ortamdan uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonu eklenir ve serum iPLA2 düzeyi ile doğru orantılı olarak renk değişimi meydana gelir. 37 °C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra asidik stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sonlandırılır ve absorbans 450 nm'de ölçülür.

Serum iPLA2 analizi, kitin prospektüsünde yazan talimatlar izlenerek aşağıdaki basamaklara göre yapılmıştır;

1. Kullanılacak tüm reaktifler, standart solüsyonları ve numuneler oda sıcaklığına getirildi. Analiz oda sıcaklığında gerçekleştirildi.
2. Plate düzeni belirlendi. Standart kuyucuklarına 50 µL standart eklendi.
3. Numune kuyucuklarına 40 µL serum ve ardından 10 µL iPLA2 antikoru eklendi.
4. Kör kuyucuklarını hariç tutarak standart ve numune kuyucuklarına 50 µL Streptavidin-HRP eklendi. Karışması sağlandı. Plate üstü kapatılarak 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Plate kuyucuklarının her biri 300 µL yıkama tamponuyla 30 saniye ile 1 dakika yıkanacak şekilde 5 defa yıkandı ve plate iyice kurulandı.
6. Tüm kuyucuklara (numune, standart, kör) 50 µL substrat solüsyonu A eklendikten sonra, yine tüm kuyucuklara 50 µL substrat solüsyonu B eklendi. Mavi renk oluşumu gözlemlendi. Plate üzeri kapatılarak 37 °C'de 10 dakika karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı.
7. Tüm kuyucuklara 50 µL stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Stop solüsyonunun eklenmesiyle eş zamanlı olarak mavi rengin sarıya dönüşümü gözlemlendi.

8. On dakika içinde daha öndecen 450 nm dalga boyuna ayarlanmış BIO-TEK PowerWave XS mikropate okuyucu cihazında absorbans değerleri ölçüldü, konsantrasyon hesapları yapıldı.

Kit prosedürüne göre hazırlanan standartların absorbansları kullanılarak R^2 değeri 0,9998 olan bir standart eğri grafiği çizildi (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Desnutrin Standart Grafiği

Malonil CoA Analizi:

İnsan serum Malonil CoA analizi için Çin menşeli Bioassay Technology Laboratory (BT LAB) firmasının üretmiş olduğu ticari (Human Malonil CoA ELİSA kit, Cat. No: E5628Hu) ELİSA kiti kullanıldı. Kit serum, plazma, doku homojenatı, hücre kültürü süpernatantı ve asit sıvısı gibi biyolojik sıvılarda insan Malonil CoA düzeyini belirlemek için üretilmiştir. Bu kitin çalışmalar arası kesinlik CV değeri <%10, çalışma içi kesinlik varyasyon katsayısı (CV) değeri <%8, duyarlılığı 0,152 ng/ml ve standart eğri aralığı 0,3-90 ng/ml'dir.

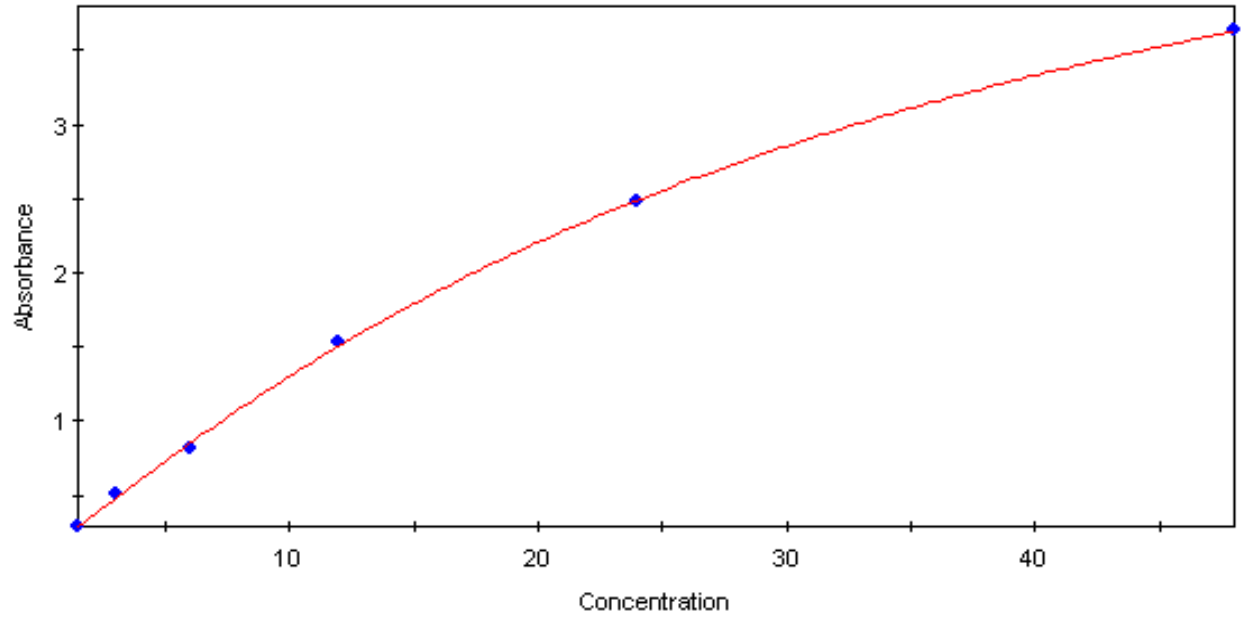
Bu kitin çalışma prensibi Enzime Bağlı İmmünosorbent (ELISA) yöntemine göre tasarlanmıştır. 96'lık plate, her bir kuyucukta İnsan Malonil CoA antikoru ile önceden kaplanmıştır. Numune eklenir ve numunede bulunan Malonil CoA, kuyucuklara sabitlenmiş antikorlara bağlanır. Daha sonra biyotinlenmiş insan Malonil CoA antikoru eklenir ve numunedeki Malonil CoA'ya bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş Malonil CoA antikoruna bağlanır. 37 °C'de 60 dakika inkübe edilir. İnkübasyondan sonra, bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama aşaması sırasında yıkanır ve ortamdan uzaklaştırılır. Daha sonra substrat solüsyonu eklenir ve serum Malonil CoA düzeyi ile doğru orantılı olarak renk değişimi meydana gelir. 37 °C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra asidik stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sonlandırılır ve absorbans 450 nm'de ölçülür.

Serum Malonil CoA analizi kitin prospektüsünde yazan talimatlar izlenerek aşağıdaki basamaklar takip edilerek yapılmıştır;

1. Kullanılacak tüm reaktifler, standart solüsyonları ve numuneler oda sıcaklığına getirildi. Analiz oda sıcaklığında gerçekleştirildi.
2. Plate düzeni belirlendi. Standart kuyucuklarına 50 µL standart eklendi.
3. Numune kuyucuklarına 40 µL serum ve 10 µL malonil CoA antikoru eklendi.

4. K r kuyucuklarını hariç tutarak standart ve numune kuyucuklarına 50  L Streptavidin-HRP eklendi. Karışması sağlandı. Plate  st  kapatılarak 37  C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Plate kuyucuklarının her biri 300  L yıkama tamponuyla 30 saniye ile 1 dakika yıkanacak şekilde 5 defa yıkandı ve plate iyice kurulandı.
6. Tüm kuyucuklara (numune, standart, k r) 50  L substrat solüsyonu A eklendikten sonra, yine tüm kuyucuklara 50  L substrat solüsyonu B eklendi. Mavi renk oluşumu gözlendi. Plate  zeri kapatılarak 37  C'de 10 dakika karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı.
7. Tüm kuyucuklara 50  L stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Mavi rengin sarıya dönüşümü gözlendi.
8. On dakika içinde daha  ndecen 450 nm dalga boyuna ayarlanmış BIO-TEK PowerWave XS mikropate okuyucu cihazında absorbans değerleri ölçüldü, konsantrasyon hesapları yapıldı.

Kit prosedürüne göre hazırlanan standartların absorbansları kullanılarak R^2 değeri 0,9996 olan bir standart eğri grafiği çizildi (şekil 3.4.). Bu grafik kullanılarak numunelerin Malonil CoA konsantrasyonları birimi ng/ml olacak şekilde hesaplandı.



4 Parameter ($y = (A - D) / (1 + (x/C)^B) + D$)
A=5.9997 B=-1.1330 C=34.0596 D=0.1278, R-Square = 0.9996

Şekil 3.4. Malonil-CoA Standart Grafiği

3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızın istatistiksel analizleri yapılırken SPSS 23.0 paket programı kullanıldı. Sürekli verilerin normal dağılım analizi yapılırken Kalmogorov-Smirnov ile Shapiro-Wilk testleri kullanıldı. Normalite testimizin sonuçlarına göre verilerimizin büyük çoğunluğu normal dağılım göstermediği için mean (ortalama) ve SD (standart sapma) değerleri yerine medyan ve IQR (interquartile aralık) değerleri hesaplandı. Bağımsız grupların karşılaştırma analizinde Mann Whitney U testi kullanıldı.



4. BULGULAR

Çalışmaya HbA1c değerleri $<5,7$ olan ve açlık kan şekeri değerleri 64-99 mg/dl arasında olan ve diyabet veya pre-diyabet olmadığı tespit edilen sağlıklı 30 gönüllü kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi bünyesinde hizmet veren Obezite Merkezi'ne kayıtlı gönüllülerden HbA1c değerleri $5,7-6,4$ arasında, açlık kan şekeri 100-125 mg/dl arasında olup merkezin endokrinoloji uzmanı tarafından pre-diyabet tanısı almış 29 kişi çalışmanın Pre-DM grubuna dahil edilirken, merkeze kayıtlı gönüllüler içinden HbA1c değerleri $\geq 6,5$, açlık kan şekeri ≥ 126 mg/dL olup merkezin endokrinoloji uzmanı tarafından T2DM tanısı almış 27 kişi çalışmanın T2DM grubuna dahil edilmiştir.

Çalışma gruplarından alınan kanların sonuçlarının karşılaştırılması (Kontrol grubu – Hasta grubu) ve sonuçların anlamlılık düzeyleri (p değeri) Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Kontrol grubunun biyokimyasal ve ELISA ölçüm sonuçları ile hasta grubunun (Pre-DM ve T2DM) sonuçları karşılaştırıldığında HDL-kolesterol, ApoB100, Resistin ve Desnutrin düzeyleri hariç geriye kalan parametrelerde anlamlı fark olduğu görüldü. Hasta grubunda Total kolesterol, LDL-kolesterol, TAG, glukoz, insülin, HbA1c ve Lip(a) değerleri belirgin yüksek bulundu ($p<0,01$). Kontrol grubunda ise ApoAI, Malonil-CoA ve FFA değerleri belirgin yüksek bulundu ($p<0,01$).

Serum Malonil CoA düzeylerinin medyan değerleri kontrol grubunda 24,55 ng/ml, hasta grubunda 8,80 ng/ml olarak ölçüldü ve kontrol grubunda belirgin yüksek olduğu görüldü ($p<0,01$). Serum FFA düzeylerinin medyan değerleri kontrol grubunda 1270,4 nmol/l, hasta grubunda 460,8 nmol/l ölçüldü ve kontrol grubunda belirgin yüksek olduğu görüldü ($p<0,01$). Serum Resistin düzeylerinin medyan değerleri kontrol grubunda 652,8 ng/ml, kontrol grubunda 1109,7 ng/ml ölçülürken serum Desnutrin düzeylerinin medyan

değerleri kontrol grubunda 447,8 ng/l, hasta grubunda 672,3ng/l olarak ölçüldü. Ana parametrelerimizden olan Resistin ve Desnutrinin yanında HDL-kolesterol ile ApoB100 düzeylerinin medyan değerlerinde de kontrol ve hasta grubunda anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$).

Tablo 4.1. Kontrol ve Hasta gruplarında ölçülen analitlerin gruplar arasındaki dağılımı.

	Kontrol Grubunun (n:30)		Hasta (Pre-DM + T2DM) Grubunun (n:56)		P
	Median Değerleri (IQR)		Median Değerleri (IQR)		
Total Kol. (mg/dL)	146,50	(130,00-166,00)	200,00	(169,50-226,95)	0.000**
HDL- Kol. (mg/dL)	45,50	(42,00-61,00)	47,95	(41,00-57,00)	0.878
LDL- Kol. (mg/dL)	92	(78-109)	122	(99-143)	0.000**
TAG (mg/dL)	98,50	(62,00-135,00)	140,00	(114,35-192,40)	0.000**
Glukoz(mg/dL)	79	(74-83)	99	(90-107)	0.000**
İnsülin	6,36	(3,21-9,84)	11,60	(8,13-19,10)	0.000**
HbA1c (%)	4,8	(4,6-5,2)	6,1	(5,8-6,5)	0.000**
ApoB100 (ng/ml)	1352,47	(1072,07-1579,10)	1274,17	(988,81-1505,56)	0.315
ApoAI (mg/ml)	2,90	(1,24-4,90)	1,07	(0,97-1,23)	0.000**
Lip(a) (ng/ml)	1406,37	(1032,32-1886,62)	3828,10	(1952,73-5408,83)	0.000**
Malonil CoA (ng/ml)	24,55	(16,81-24,55)	8,80	(7,35-10,53)	0.000**
Resistin(ng/ml)	652,82	(389,08-3996,19)	1109,72	(795,63-1336,06)	0.928
Desnutrin (ng/L)	447,88	(314,61-1291,05)	672,30	(361,42-923,83)	0.971
FFA (nmol/L)	1270,44	(455,14-5358,73)	460,87	(409,18-603,80)	0.000**

IQR: Interquartile range, Total Kol: Total Kolesterol, HDL-Kol.: HDL Kolesterol, LDL-Kol.: LDL

Kolesterol, TAG: Triaçilgliserol

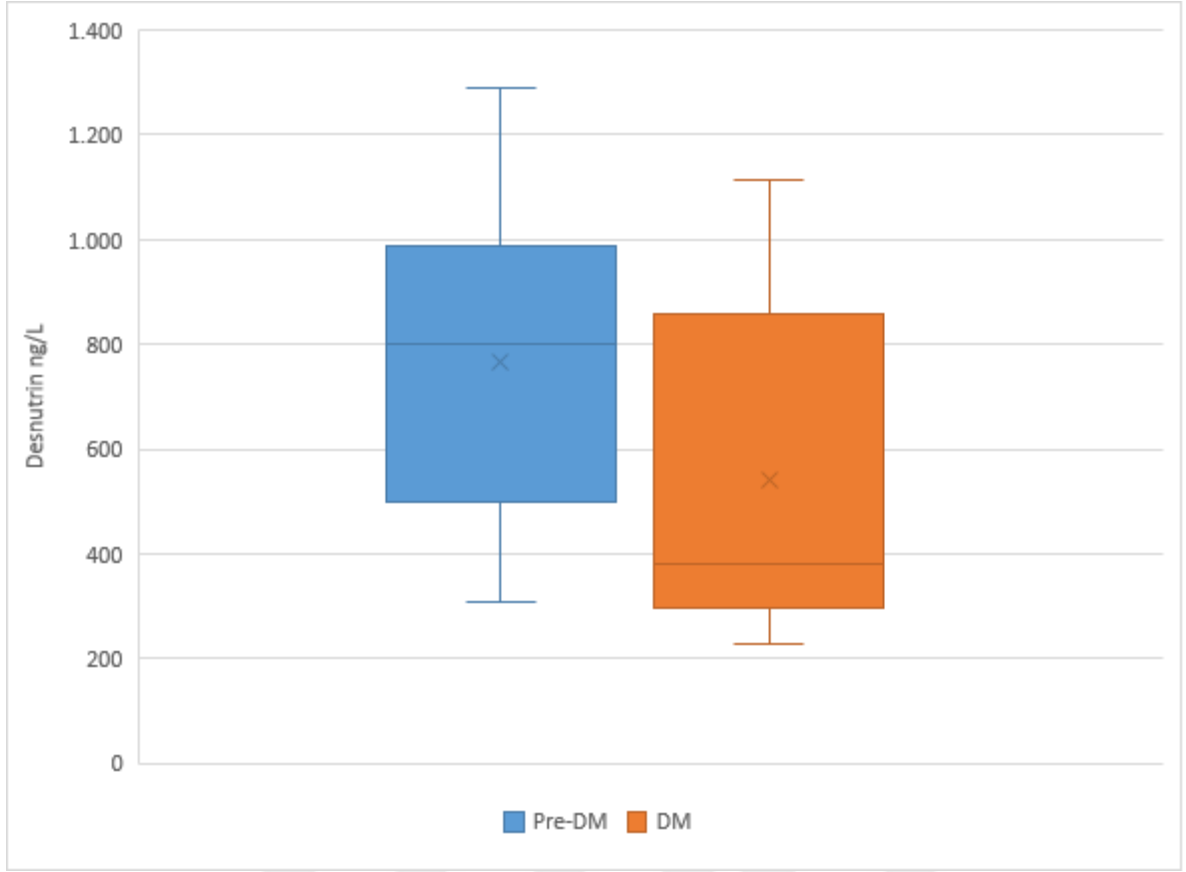
** $p<0,01$

Pre-DM ve T2DM gruplarından alınan kanların sonuçlarının karşılaştırılması ve sonuçların anlamlılık düzeyleri (p değeri) Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Pre-DM grubunun biyokimyasal ve ELISA ölçüm sonuçları ile T2DM grubunun sonuçları karşılaştırıldığında glukoz ve desnutrin parametrelerinde $p<0,05$ düzeyinde, HbA1c düzeyinde ise $p<0,01$ düzeyinde anlamlı fark olduğu görüldü. Geriye kalan diğer parametelerde ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi ($p>0,05$).

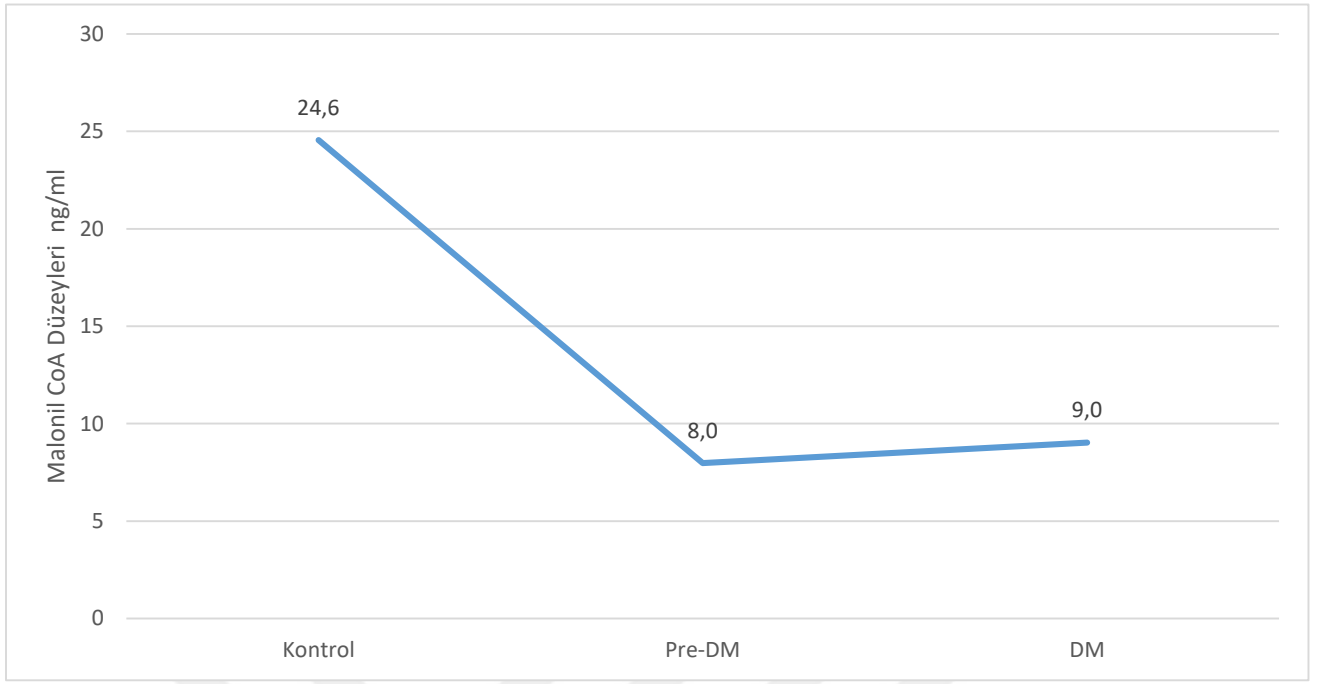
Serum glukoz düzeylerinin medyan değerleri Pre-DM grubunda 93 mg/dl, T2DM grubunda 100 mg/dl olarak belirlenmiştir ve T2DM grubunda anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0,05$). Serum HbA1c düzeylerinin medyan değerleri Pre-DM grubunda 5,8(%), T2DM grubunda 6,5(%) olarak belirlendi ve T2DM grubunda belirgin düzeyde yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0,01$). Ana parametrelerimizden Desnutrinin serum düzeylerinin medyan değerleri Pre-DM grubunda 800,6 ng/l, T2DM grubunda 380,1 ng/l olarak ölçülmüştür ve T2DM grubunda anlamlı düzeyde düşük olduğu gözlemlendi ($p<0,05$). Diğer ana parametrelerimizden Malonil-CoA’nın medyan değerleri Pre-DM grubunda 7,97 ng/ml, T2DM grubunda 9,03 ng/ml; Resistin’in medyan değerleri Pre-DM grubunda 1153,3 ng/ml, T2DM grubunda 1078,8 ng/ml; FFA’nın medyan değerleri Pre-DM grubunda 465,3 nmol/l, T2DM grubunda 457,4 nmol/l olarak ölçülmüştür ve bu üç parametrenin düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.2. Pre diyabet ve Tip 2 Diyabet gruplarında analitlerin gruplar arasındaki dağılımı

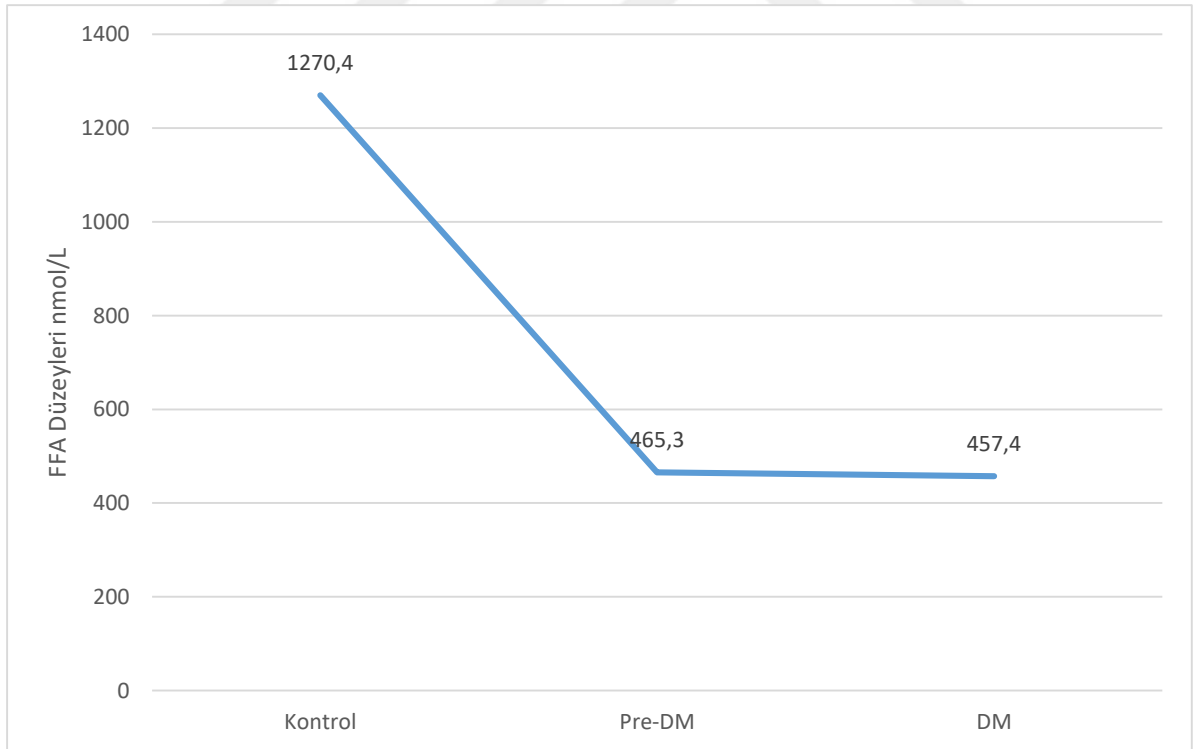
	Pre-DM Grubunun (n:29) Median		T2DM Grubunun (n:27) Median		p
	Değerleri (IQR)		Değerleri (IQR)		
Total Kol. (mg/dL)	196,00	(169,00-219,20)	210,00	(171,70- 238,50)	0,179
HDL- Kol. (mg/dL)	48,70	(42,90-58,30)	46,60	(40,50 - 57,00)	0,481
LDL- Kol. (mg/dL)	112	(96-129)	125	(107-152)	0,098
TAG (mg/dL)	131,00	(92,00-178,40)	146,00	(122,40-227,00)	0,147
Glukoz (mg/dL)	93	(85-103)	100	(94-121)	0,05*
İnsülin	10,60	(8,12-15,50)	12,30	(9,19-20,70)	0,171
HbA1c (%)	5,8	(5,6-5,9)	6,5	(6,1-6,9)	0,00**
ApoB100 (ng/ml)	1356,95	(1017,34-1484,63)	1207,80	(698,45-1742,17)	0,629
ApoAI (mg/ml)	1,11	(1,00-1,26)	1,01	(0,92-1,21)	0,087
Lip(a) (ng/ml)	3830	(2159,62-5419,67)	3820,00	(1634,54-5398,00)	0,363
Malonil-CoA (ng/ml)	7,97	(7,13-10,39)	9,03	(8,22-10,95)	0,228
Resistin (ng/ml)	1153,37	(784,35-1438,66)	1078,84	(914,56-1274,28)	0,466
Desnutrin (ng/L)	800,69	(506,96-982,73)	380,19	(295,34-858,35)	0,04*
FFA (nmol/L)	465,32	(422,23-595,15)	457,43	(393,31-613,30)	0,838
IQR: Interquartile range, Total Kol: Total Kolesterol, HDL-Kol.: HDL Kolesterol, LDL-Kol.: LDL Kolesterol, TAG: Triasilgliserol					
*: p<0,05					
**: p<0,01					



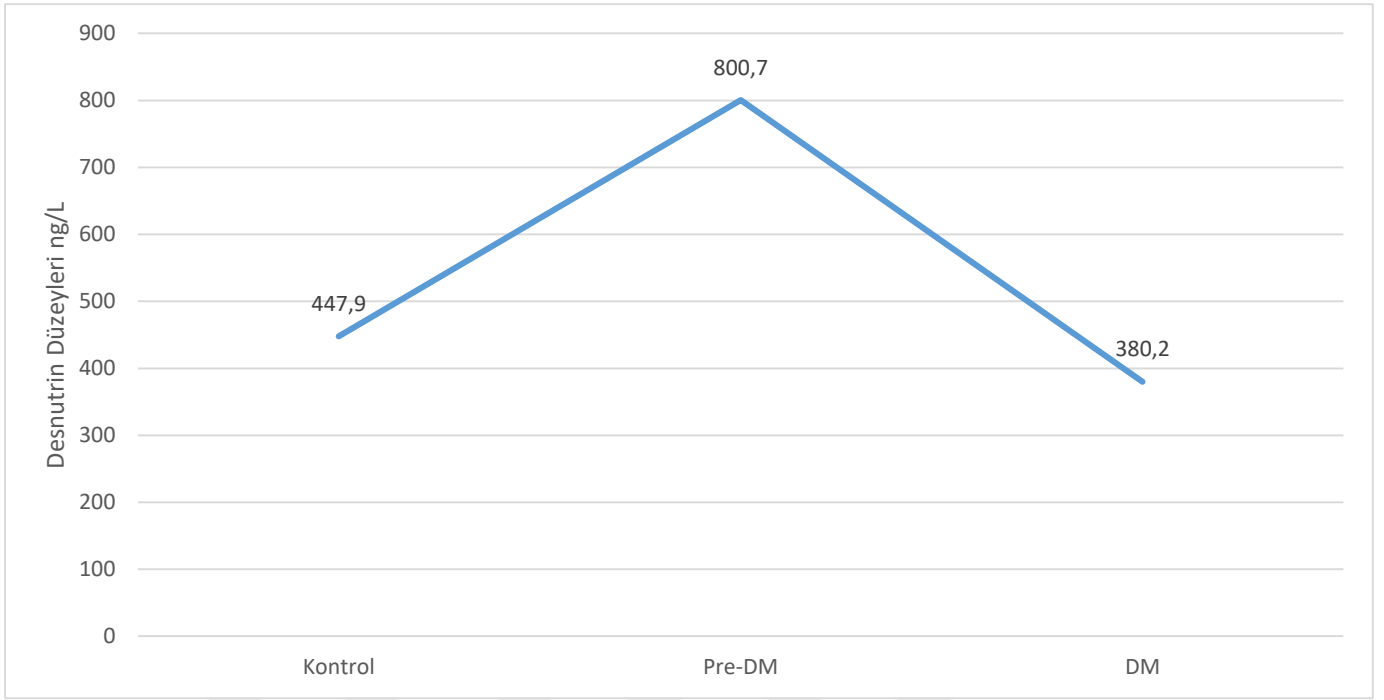
Şekil 4.3. Desnutrin Düzeylerinin Pre-DM ile DM Gruplarında Karşılaştırılması
($p < 0,05$)



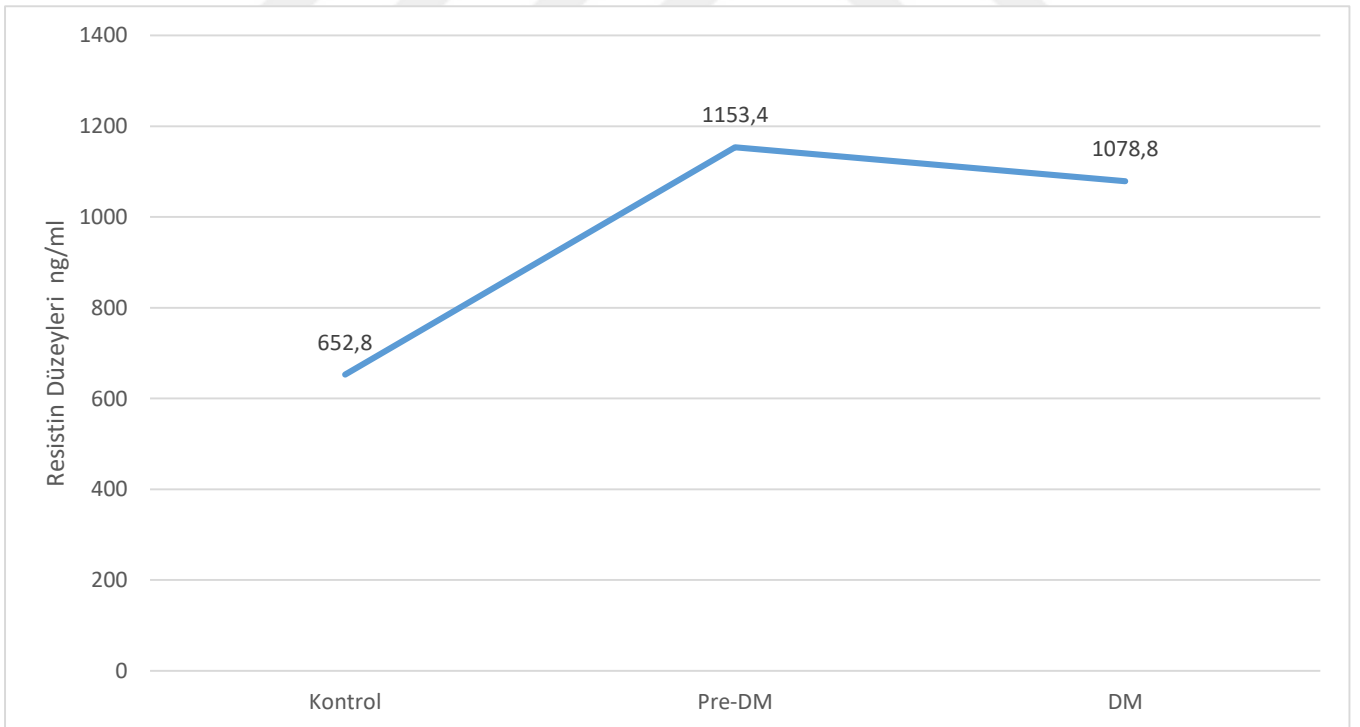
Şekil 4.5. Malonil-CoA Ölçümünün Median Değerlerinin Gruplar Arasındaki Değişimi



Şekil 4.6. FFA Ölçümünün Median Değerlerinin Gruplar Arasındaki Değişimi



Şekil 4.7. Desnutrin Ölçümünün Median Değerlerinin Gruplar Arasındaki Değişimi



Şekil 4.8. Resistin Ölçümünün Median Değerlerinin Gruplar Arasındaki Değişimi

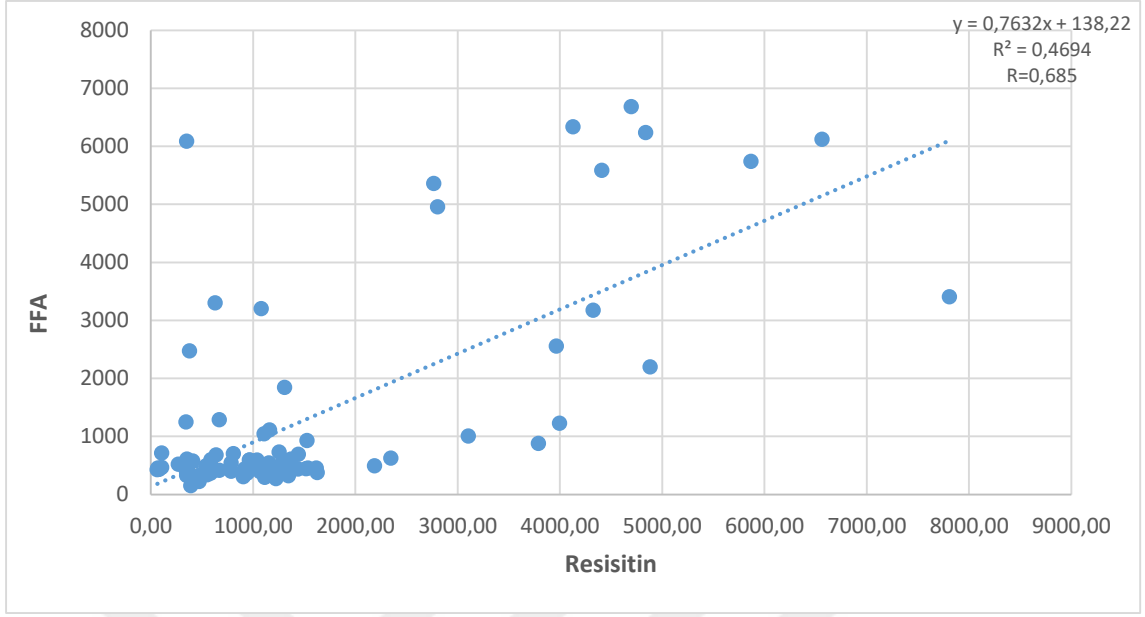
Kontrol grubu ve tüm hasta grubunun sonuçları dâhil edilerek bütün parametrelerin birbirleri arasındaki korelasyonu hesaplanmıştır ve aşağıda Tablo 4.3 ‘te olduğu gibi sadeleştirilmiştir. Aralarında negatif korelasyon olan parametrelerin r (korelasyon kats.) değerleri (-) işareti ile gösterilmiştir.

Bu analize göre Malonil-CoA’nın Total Kolesterol, LDL- Kolesterol, Glukoz, HbA1c parametreleri ile $p<0,01$ düzeyinde, TAG ve Lp(a) parametreleriyle $p<0,05$ düzeyinde negatif korelasyon ilişkisine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca ApoAI, Resistin ve FFA parametreleriyle $p<0,01$ düzeyinde pozitif korelasyona sahip olduğu görülmüştür. FFA parametresinin Total Kolesterol ve LDL- Kolesterol ile $p<0,05$ düzeyinde, Glukoz, HbA1c ve Lp(a) ile $p<0,01$ düzeyinde negatif korelasyon ilişkisine sahipken ApoAI, Malonil-CoA, Resistin ve Desnutrin ile $p<0,01$ düzeyinde pozitif korelasyon ilişkisine sahip olduğu görülmüştür. Resistin parametresinin HbA1c ile $p<0,05$ düzeyinde negatif korelasyon ilişkisi tespit edilmiş, ApoAI, Malonil-CoA, Desnutrin ve FFA ile $p<0,01$ düzeyinde pozitif korelasyon ilişkisine sahip olduğu görülmüştür. Desnutrin parametresinin ApoAI, Resistin ve FFA ile $p<0,01$ anlamlılık düzeyinde pozitif korelasyon ilişkisine sahip olduğu görülmüştür.

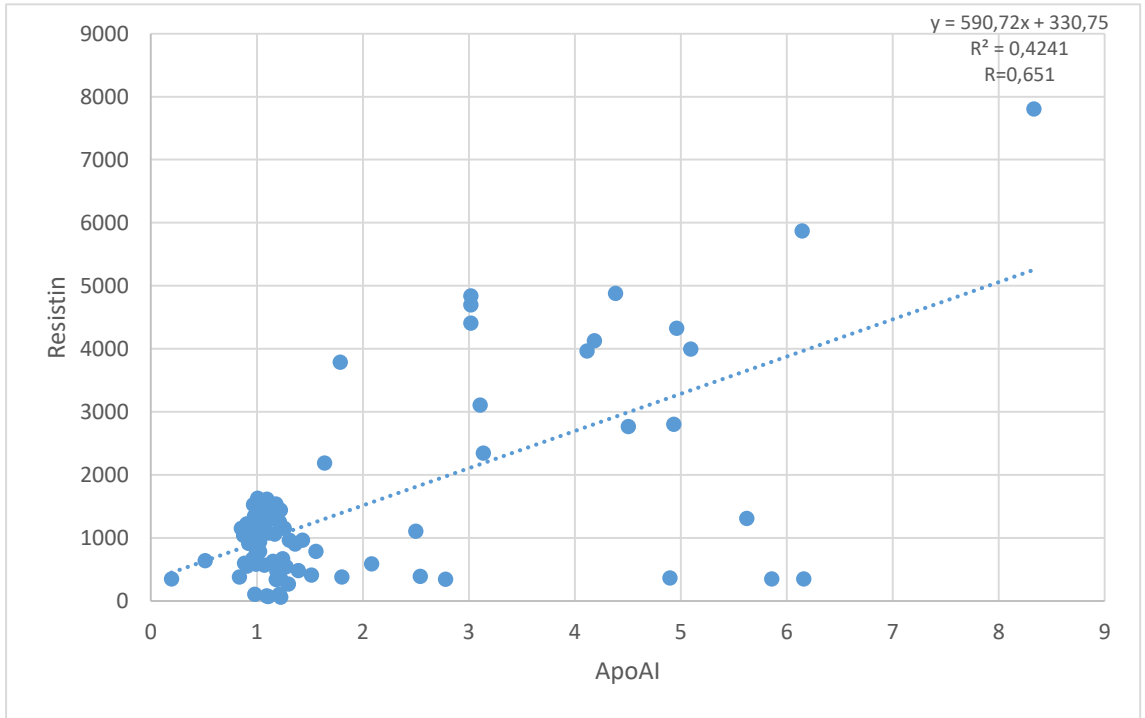
Tablo 4.3. Kontrol ve Hasta Grubunda Ölçülen Parametrelerin Korelasyon Analizi

	Resistin		Desnutrin		FFA		Malonil CoA	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Total Kolesterol (mg/dL)	-0,092	0,399	-0,064	0,556	-0,262*	0,015	-0,336**	0,002
HDL Kolesterol (mg/dL)	0,113	0,301	0,109	0,318	0,128	0,239	0,023	0,830
LDL Kolesterol (mg/dL)	-0,064	0,561	-0,128	0,241	-0,212*	0,050	-0,297**	0,005
TAG (mg/dL)	-0,118	0,278	0,056	0,606	-0,189	0,082	-0,219*	0,043
Glukoz (mg/dL)	-0,161	0,139	-0,100	0,362	-0,309**	0,004	-0,348**	0,001
İnsülin	0,013	0,904	-0,060	0,581	-0,007	0,951	-0,028	0,798
HbA1c (%)	-0,216*	0,046	-0,169	0,119	-0,364**	0,001	-0,401**	0,000
ApoB100 (ng/ml)	0,023	0,832	0,140	0,200	-0,071	0,518	-0,004	0,973
ApoA I (mg/ml)	0,634**	0,000	0,453**	0,000	0,615**	0,000	0,843**	0,000
Lp(a) (ng/ml)	-0,104	0,340	0,001	0,990	-0,337**	0,002	-0,264*	0,014
Malonil CoA (ng/ml)	0,576**	0,000	0,153	0,160	0,484**	0,000	1	
Resistin (ng/L)	1		0,385**	0,000	0,685**	0,000	0,576**	0,000
Desnutrin (ng/L)	0,385**	0,000	1		0,402**	0,000	0,153	0,160
FFA (nmol/L)	0,685**	0,000	0,402**	0,000	1		0,484**	0,000

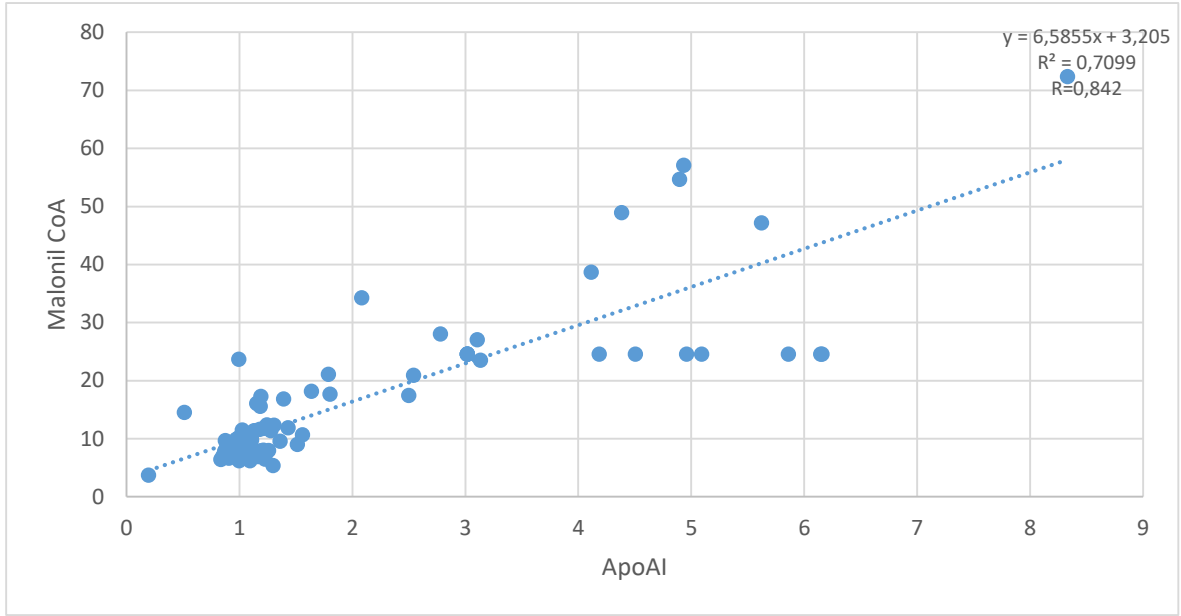
r: correlation coefficient; *: p<0.05; **: p<0.01



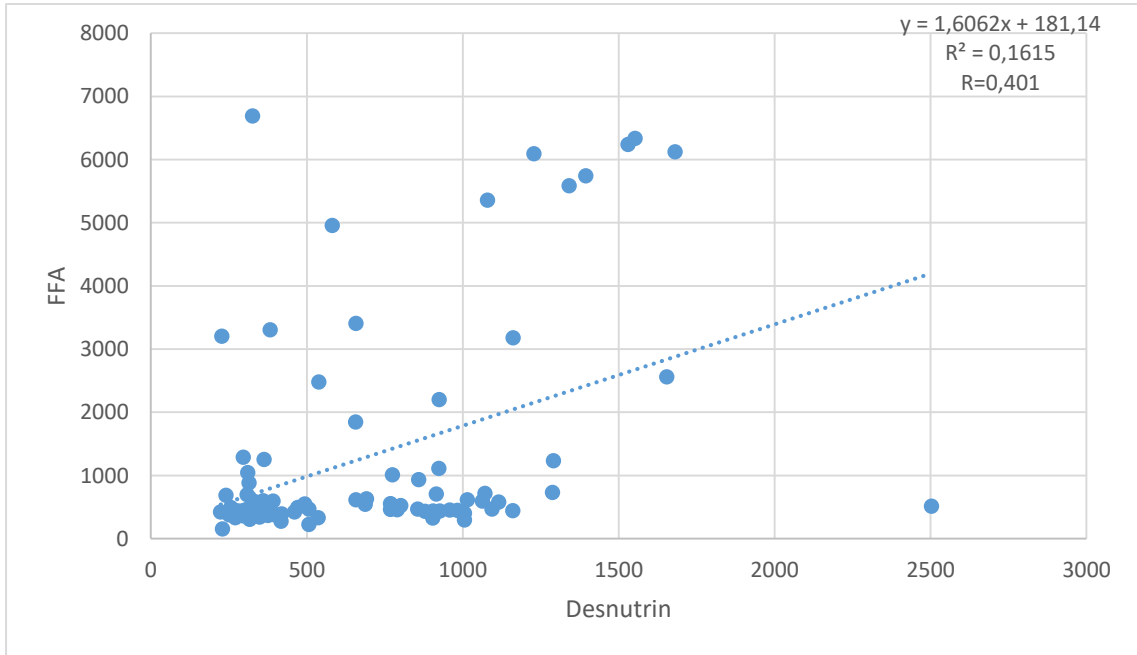
Şekil 4.9. Tüm FFA ve Resistin sonuçlarının korelasyon grafiği ($r=0,685$, $p<0,01$)



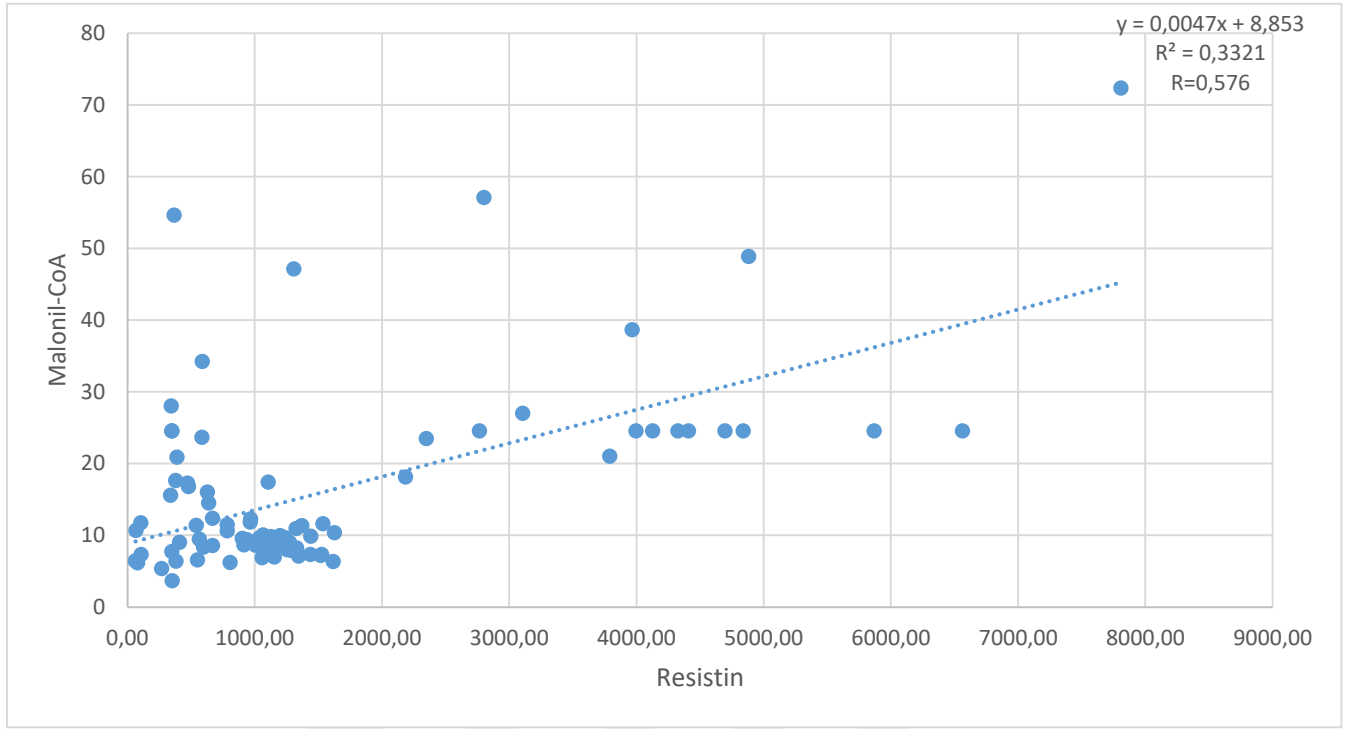
Şekil 4.10. Tüm ApoAI ve Resistin sonuçlarının korelasyon grafiği ($r=0,634$, $p<0,01$)



Şekil 4.11. Tüm Malonil CoA ve ApoAI sonuçlarının korelasyon grafiği ($r=0,843$, $p<0,01$)



Şekil 4.12. Tüm FFA ve Desnutrin sonuçlarının korelasyon grafiği ($r=0,402$, $p<0,01$)



Şekil 4.13. Tüm Malonil-CoA ve Resistin sonuçlarının korelasyon grafiği ($r=0,576$, $p<0,01$)

5. TARTIŞMA

Diyabet insülin hormonunun yokluğu veya yetersizliği sonucu açlık hiperglisemisi, glukozüri ve hiperlipidemiyle sonuçlanan metabolik bir bozukluktur.¹⁴ T2DM sıklıkla uzun yıllar teşhis edilmez çünkü hiperglisemi kademeli olarak gelişir ve erken evrelerde genellikle klasik diyabet semptomları ortaya çıkmaz. Bununla birlikte, teşhis edilmemiş hastalarda bile makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar gelişme riski olabilir.¹⁸¹ Ancak hastalığın bu denli gizli seyretmesinin karşısında teşhiste kullanılan parametreler T2DM patofizyolojisinin karşısında yetersiz kalmaktadır ve bu yüzden erken teşhis için yeni ve daha güvenilir biyobelirteçlere ihtiyaç vardır.

Tip 2 diyabetli hastaların hepsi olmasa da çoğu, fazla kilolu veya obeziteye sahiptir.¹⁸² Bu çalışmada hem obezite hem de T2DM ile yakından ilişkili olduğunu bildiğimiz bazı parametrelerin hastalık süreci boyunca genel seyrini ortaya çıkarabilmeyi ve olası biyobelirteç olabilme potansiyelini tartışmayı amaçladık. Bunun için bir insanın sağlıklı olduğu sıfır noktasından başlayıp önce Pre-DM evresine geçtiği sonrasında Obeziter-T2DM teşhisi aldığı ana kadar yaşadığı hastalık sürecinde araştırma parametrelerimizin nasıl değiştiğini yansıtabilmek için model oluşturma yoluna başvurduk. Kontrol grubunu oluşturan gönüllüleri bir insanın sağlıklı olduğu evreyi yansıttığını düşünerek Pre-DM veya T2DM tanısı almamış sağlıklı kişilerin arasından seçtik. Pre-DM grubunu oluşturan gönüllüleri Pre-DM teşhisi almış obez kişiler arasından, Obeziter-T2DM grubunu ise T2DM teşhisi almış obez bireyler arasından seçtik. Bu üç grubun açlık kanlarının alınmasının ardından glukoz homeostazisini ve lipit profilini yansıtan parametrelerin yanında bazı kardiyovasküler risk belirteçlerini ve 4 ana parametremizin analizlerini gerçekleştirdik. İstatistiksel sonuçlarımızı gruplar bazında karşılaştırdık ve değerlendirdik.

Çalışmaya dahil olacak vakaların belirlenmesinde obezite merkezi ile iş birliğine gidilmiştir. Katılımcıların cinsiyet ve yaş dağılımlarının homojen olması planlanırken numune toplama döneminin COVID-19 pandemisine rastlaması numune toplama açısından obezite merkezine olan mecburiyetimizi arttırmış cinsiyet ve yaş açısından dengeli olmayan bir popülasyonla devam edilmek zorunda kalınmıştır. Pandemi nedeniyle planladığımız vaka sayısından biraz daha az numune toplanmış olsa da toplanılan vaka sayısı istatistik analizler için yeterliydi ve vakaların BMI dağılımları tatmin ediciydi.

Hasta ve kontrol grubundan alınan numunelerde rutin parametreler (glukoz, HDL, LDL vs.) düzenli olarak bakımlarının, kontrol ve kalibrasyon çalışmalarının yapıldığı, hastalara sonuç vermede kullanılan rutin biyokimya otoanalizörlerinde yapıldı. Ana parametrelerin analizi için ise moleküler yöntemler ve immünölçümler gibi seçenekler vardı. Laboratuvar altyapısı ve çalışma bütçesi göz önünde bulundurularak sonuçları kabul gören ve tekrarlanabilirliği iyi olan immünoölçümler tercih edildi. ELISA ölçümlerinde elde edilen sonuçların kitlerde belirtilen standart eğri aralığı içerisinde yer aldığı görüldü. Ana parametrelerimiz için standart eğrisinin R-square değeri $>0,998$ olarak bulundu. Kit protokollerinde belirtilen aşamalar eksiksiz uygulandı. Numuneler -80°C 'de saklandı, çalışmanın yapılacağı zaman kademeli olarak çözündürme işlemi uygulandı. Hemolizli numunelerin test sonuçlarını etkileme ihtimali olduğu için hemolizin minimize edilmesi uyarısı göz önünde bulunduruldu.

Kontrol grubu ile hasta grubunun sonuçları kıyaslandığında literatürdeki diyabet verilerine uyumlu olarak beklenildiği gibi hasta grubunda HbA1c, glukoz, insülin, TAG, LDL, ve Lip(a) $p<0,01$ anlamlılık derecesinde yüksek ApoAI ise düşük bulunmuştur. Ana parametrelerimizden Resistinin ile Desnüttrin düzeyleri hasta grubunda bir miktar yüksek bulunsa da istatistiksel açıdan anlamlı çıkmamıştır. Malonil-CoA ve FFA parametreleri ise hasta grubunda anlamlı derecede düşük bulunmuştur. ($p<0,01$)

Malonil-CoA, TCA döngüsünde biriken sitratın sitoplazmaya geçtikten sonra ACC enzimi tarafından karboksillenmesi sonucu oluşur. Malonil-CoA, yağ asidi sentezinin öncüsüdür ve seviyeleri, besinlere ve hormonlara yanıt olarak düzeyleri büyük ölçüde dalgalanır.¹⁸³ ACC, yağ asidi sentaz (FAS) ve MCD enzimleri malonil-CoA metabolizmasında yer alan ve aktivitelerini değiştirerek hipotalamik malonil-CoA düzeyini değiştirerek gıda alımını etkilediği gösterilen enzimlerdir.^{184, 185}

Hipotalamik malonil-CoA seviyelerindeki bir artış, beslenme davranışını düzenlemenin ötesinde periferik enerji harcamasındaki artışlarla ilişkilidir. C75 ile yağ asidi sentezi baskılanan obez fareler kontrol grubuna göre daha fazla kilo kaybetmişlerdir.¹⁸⁶ Cha ve Col. hipotalamik malonil-CoA artışının sempatik sinir sistemi aracılığıyla iskelet kaslarında yağ asidi oksidasyonunu ve enerji tüketimini arttırdığını bulmuşlardır.^{187, 188} Uzun süreli açlık, ağır egzersiz, AMPK hiperaktivasyonu, obezite veya leptin direnci gibi metabolik stres, beynin farklı bölgelerinde (hipokampus, korteks ve serebellum) malonil-CoA seviyelerinde azalmaya neden olur.¹⁸⁹ McGarry ve ark.¹⁹⁰ iskelet kasındaki malonil-CoA konsantrasyonunun, açlık durumunda artan yağ asidi oksidasyonu ihtiyacına uygun olarak, 48 saatlik açlıktan sonra %80 oranında azaldığını göstermiştir.

Bu çalışmada ise serum malonil-CoA düzeylerinin belirlenmesi, Malonil-CoA'nın iştah düzenleyici rolünü araştırmak için değil bu analitin adipositlerden kan dolaşımına

katılması sonucunda düzeylerindeki değişimin lipid metabolizmasının yönünü yansıtmayı amaçlanarak yapılmıştır.

Çalışmamızın bulgularına göre Malonil-CoA düzeylerini kontrol ve hasta grubunda karşılaştırdığımızda hasta grubundaki düzeylerinin $p<0,01$ anlamlılık düzeyinde daha düşük olduğu görölmüştür. Bunun sebebi ise sağlıklı durumdan T2DM'ye giden patolojik sürecin ilerlemesiyle birlikte glukozu yakıt molekülü olarak etkin kullanamamaya bağlı olarak gelişen metabolik açlık sonrası ve buna paralel seyreden insülin direnci/yetmezliği sonucu malonil-CoA üretiminin azalması olabilir. Çünkü hücre içinde glukoz kullanımı arttığında biriken sitrat ACC'nin ana allosterik aktivatörü olarak rol oynar ve malonil-CoA seviyelerinde yükselmeye sebep olur. Ancak bu noktada hastalığın ilerlemesiyle birlikte glukozun hücre içine alınamaması ve kullanımının azalması durumuna paralel olarak sitratın ACC üzerindeki pozitif etkisi ortadan kalkar ve aynı zamanda artan insülin duyarsızlığına bağlı olarak fosfataz enziminin aktivasyonunun düşmesi ACC'nin fosforile halde kalmasına ve Malonil-CoA üretememesine sebep olur. Böylece süreç ilerledikçe hasta gruplarında Malonil-CoA düzeylerinin düşüyor olması beklenen bir durumdur. Özellikle hipotalamusta Malonil-CoA üretiminin azalması sonucu iştah artmasıyla birlikte insülin direncinin derecesi ölçüsünde polifaji artması yine insülin direncini alevlendirerek T2DM evresine geçişi hızlandırıcı etki gösteriyor olabilir. Malonil-CoA düzeylerinin çalışma gruplarımızdaki eğilimine baktığımızda kontrolden hasta grubuna doğru gidildikçe seviyelerinin düştüğünü gözlemledik. Pre-DM ile T2DM grubu arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir.

Bulgularımıza göre Malonil-CoA, FFA ile ($r=0,484^{**}$, $p<0.01$) pozitif korelasyon ilişkisi göstermiştir. Malonil-CoA miktarı düştüğünde KAT-1 üzerindeki inhibisyon ortadan kalkar, karnitin mekiği ile mitokondri içine yağ asidi taşınımı mekanizması

aktifleşir, beta oksidasyon ile FFA kullanımı artar. Sağlıklı grup ile hasta grubunu karşılaştırdığımızda, malonil-CoA düzeylerinin hasta grubunda anlamlı düşük bulunmuştu. Bazal konumdan Pre-DM evresine geçişte malonil-CoA seviyesi düştükçe dokularda FFA kullanımı artar. Bu durum FFA birincil yakıt elemanı olarak kullanıldıkça serum düzeyi azalır ve hasta grubunda düşük çıkar. Bu durum FFA ile Malonil-CoA arasındaki pozitif korelasyonu açıklamaktadır.

Malonil-CoA ayrıca Resistin ile ($r=0,576^{**}$, $p<0.01$) pozitif korelasyon göstermiştir. Resistin, obezite aracılı insülin direnci ve T2DM’de potansiyel bir faktör olarak tanımlanmaktadır.¹⁹¹ Diyabetik olmayan obezler üzerine yapılan çalışmalarda obez grupların serum resistin düzeylerinin yüksek olmasının yanında adipozite ile resistin arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir.^{192, 193} Çalışmamızın bulgularına paralel olarak 3T3-L1 hücreleri üzerinde resistinin erken olgunlaşma dönemindeki biyolojik işlevini araştırmak için yapılan bir çalışmada resistin seviyesinin düşmesine yanıt olarak iki ana ACC izoformundan biri olan ACC2’nin ekspresyonunda yaklaşık %45’lik bir azalmanın olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında hücre içi lipid içeriğinde yaklaşık %30’luk bir azalma ile hücre içi trigliserit seviyelerinde yaklaşık %20 oranında azalma gözlemlenmiştir.¹⁹⁴ Bu sonuçlara göre resistinin hücre içi lipidlerin birikmesine katkıda bulunduğu düşünülebilir. Bu çalışmanın tersi bir durum düşünüldüğünde Resistin ile birlikte seviyesi yükselen Malonil-CoA adipositlerde FFA sentezini arttırıp, beta oksidasyon ile yıkımı baskılayacağı için hücre içi lipid birikimine neden olacağı ve obeziteyi bu şekilde destekleyeceği öngörülebilir. Genel olarak total kütlesi artan yağ dokusunun da insülin direnciyle ilişkili olduğuna değinmiştik. Adipositlerde normalin üstünde bir FFA’nın birikimi de lipotoksositeyle birlikte, inflamasyona ve içlerinde resistininde bulunduğu bazı adipokinlerin üretimine sebep olur. Böylece kompleks bir

kısır döngü meydana gelebilir ve patofizyolojik süreç T2DM evresine doğru bu şekilde hız kazanıyor olabilir.

Malonil-CoA'nın korelasyon analizinde total kolesterol, LDL-kolesterol, TG, glukoz, HbA1c ve Lp(a) parametreleriyle istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilen negatif bir ilişkisi olduğunu tespit ettik. Bazal konumdan başlayarak ilerleyen hastalık sürecinde malonil-CoA seviyesinin önce anlamlı ölçüde düştüğünü sonrasında önemsiz bir artış gösterdiğini bulmuştuk. Bu düşmenin etkisiyle dokularda lipogenez yolunun baskılanacağına, lipoliz ve FFA oksidasyonunun artacağını belirtmiştik. Beklenildiği gibi FFA'nın birincil yakıt elemanı konumuna gelmesi insülin direncinde artışa, kan glukoz seviyesinin yüksek kalmasına ve HbA1c yüzdesinin artmasına sebep olmuştur. Bu yüzden Malonil-CoA seviyesi düştükçe glukoz ve HbA1c düzeyi artması beklenilebilir. Malonil-CoA düzeyi düştükçe serum düzeyi artan FFA karaciğere ulaşır ve karaciğerin oksidatif kapasitesini aştığı için yeniden VLDL'ye dönüştürülerek sirküler dolaşıma salınır ve indirekt olarak total kolesterol, LDL, TG ve Lp(a) düzeylerinde bir yükselmeye neden olur ki bu da Malonil-CoA ile ters korelasyon ilişkisini yansıtmaktadır.

FFA, çoğu hücrede bulunsa da ağırlıklı olarak yağ dokusu içinde trigliseritler şeklinde depolanır. Enerji taleplerine yanıt olarak, depolanan trigliseritlerin yağ asitleri periferik dokular tarafından kullanılmak üzere mobilize edilebilir. Adiposit lipolizinin düzensizliği sonucu dolaşımdaki FFA'nın yükselmesi, obezite ve T2DM gelişimi de dâhil olmak üzere komorbiditelerle ilişkilidir.⁸⁸ Tip 2 diyabette insülin direnci nedeniyle FFA'nın periferik dokular tarafından alınımının azalması ve adipositlerden FFA'nın salınımının artmasıyla dislipidemi gelişir ve kardiyovasküler hastalıklar için risk taşır.¹¹⁴

FFA her ne kadar, karaciğer, istirahat iskelet kası, renal korteks ve miyokard için birincil oksidatif yakıt elemanı olarak fizyolojik bir role sahip olsa da plazmada yükselen FFA, kalp, kas ve yağ dokularında glukoz ile rekabet ederek glukoz oksidasyonunu

azalttığı ve hatta insülin sinyalini inhibe ederek insülin direncine katkı sağladığı öne sürülmüştür.¹⁹⁵ FFA oksidasyonu, kaslarda glikolitik enzimleri inhibe eder ve glikoz fosforilasyonunun bloke edilmesi, glikoz seviyesinde bir artışa neden olur ve glikozun hücreler içinde taşınmasını engeller.¹¹⁶

Diyabetik fareler üzerinde yapılan bir çalışmada anti-lipolitik ajanların kullanımı üzerine plazma FFA seviyelerinde bir düşmenin ardından insülin duyarlılığında artmaya bağlı olarak kan glukozu seviyelerinde düşmeler kaydedilmiştir⁵ ve bu bilgi yüksek plazma FFA'sının insülin direncine katkı sağladığını doğrular. Ayrıca β -hücrelerindeki FFA'ya ait yağ açıl-CoA'ların yıkımıyla oluşan lipotoksisite insülin etkisine zarar verdiği gösterilmiştir.¹⁹⁶

Serum FFA düzeylerini araştıran birçok çalışma T2DM hastalarının yüksek plazma FFA düzeylerine sahip olma eğiliminde olduğunu göstermiştir.^{197, 198, 199} Ma ve ark.²⁰⁰ Kazak ve Uygur popülasyonları üzerinde yaptıkları çalışmada T2DM kohortlarında ölçülen plazma FFA konsantrasyonlarının tümü kontrollere kıyasla değişmedi veya arttığını bulması sonuçların farklı etnik kökenlere göre değişebileceğini düşündürür.

Çalışmamızda literatürden farklı olarak FFA düzeylerini kontrol ve hasta gruplarında karşılaştırdığımızda hasta grubunun sonuçlarını $p < 0,01$ anlamlılık düzeyinde daha düşük olduğunu belirledik. Her ne kadar bu sonuç literatürdeki diğer çalışmaların sonuçlarıyla ters görünse de çalışmamızın sonuçlarına göre FFA'nın desnutrin ile pozitif korelasyon göstermesi ($r = 0,402$, $p < 0.01$) ve hasta grubunda da desnutrinin düzeylerinin anlamlı derecede düşük olması, hasta grubunda plazma FFA düzeyinin düşük bulunmaması sürpriz değildir. FFA düzeylerinin çalışma gruplarımızdaki eğilimine baktığımızda ise kontrolden hasta grubuna doğru gidildikçe seviyelerinin düştüğünü gözlemledik. Serum FFA düzeyindeki ciddi düşüşün sebebini ise Malonil-CoA

seviyesinin düşmesi ve periferik dokularda FFA tüketiminin artmasıyla izah etmiştik. Pre-DM ile T2DM grubu arasında FFA düzeyleri açısından anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir.

Bulgularımıza göre FFA düzeyleri ile resistin düzeyleri pozitif korelasyon göstermiştir ($r=0,685^{**}$, $p<0,01$). Li-Kun Wang ve arkadaşları çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu olarak T2DM'li 120 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada FFA ve Resistinin pozitif korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır.²⁰¹ R. Palanivel ve arkadaşları yaptıkları hücre kültürü çalışmalarında resistinin L6 iskelet kası hücrelerine FFA alımını azalttığını ayrıca yağ asidi oksidasyonunu azalttıklarını bulmuşlardır.²⁰² Bu bilgilere göre resistin seviyesi yükseldiğinde artan insülin direncine bağlı olarak plazma FFA düzeylerinin de yüksek kalacağı yorumu yapılabilir ve bu iki parametre arasındaki pozitif korelasyonu bir miktar açıklayabilir. İnsanda resistinin en önemli kaynaklarından biri makrofajlardır ve adiposit hücrelerdeki makrofaj yüzdesi obezite ile doğru orantılı olarak artar. Obezitenin en tipik özelliklerinden birinin adipositlerde lipid birikiminin olması ve obez bireylerde zamanla serum FFA düzeylerinin yüksek olması resistin ile olan pozitif korelasyonunda açıklayıcı olabilir.

FFA düzeylerinin total kolesterol, LDL-kolesterol, glukoz, HbA1c ve Lp(a) parametreleriyle istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilen negatif bir ilişkisi olduğunu tespit ettik. Serum FFA düzeylerinin TG ($r = 0.338$, $P < 0.001$), total kolesterol ($r = 0.169$, $P < 0.001$) ve açlık kan şekeri ($r = 0.205$, $P < 0.001$)²⁰³ ile pozitif bir korelasyonu olduğu daha önce gösterilmiştir. 48 uzun süreli kontrollü T2DM hastanın ve 48 diyabetik olmayan sağlıklı kontrollerin katıldığı bir başka çalışmada FFA düzeylerinin HbA1c ($r=0,50$), LDL-kolesterol ($r= <0,36$) ve total kolesterol ($r= <0,36$) ile pozitif korelasyona sahip olduğu gösterilmiştir.²⁰⁴

Ayrıca beklenildiği gibi serum FFA düzeyleri araştırma parametrelerimizden desnutrin ile pozitif bir korelasyon göstermiştir. Daha önce belirttiğimiz gibi Malonil-CoA ile pozitif bir korelasyon ilişkisi vardır. Sağlıklı konumdan Pre-DM evresine geçişte adipositlerdeki desnutrin aktivitesinin artıyor olması lipolizi hızlandırarak serum FFA düzeyinin destekler. Aynı şekilde bu evrede malonil-CoA düzeyinin özellikle hipotalamusta azalıyor olması da iştahın artmasını ve dolaylı olarak serum FFA düzeyini arttırıcı bir etki gösterebileceğini düşündürür.

Pre-DM grubu ile T2DM grubunun verileri karşılaştırıldığında beklenildiği gibi T2DM grubunda glukoz ($p<0,05$) ve HbA1c ($p<0,01$) parametrelerinin düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur. Ana parametrelerimizden yalnızca desnüttrin T2DM grubunda ($p<0,05$) anlamlı düşük olduğunu gözlemledik. Geriye kalan parametrelerin tamamında iki grup arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır.

Desnüttrin özellikle adipositlerden, açlık durumunda artan enerji ihtiyacını FFA'lar ile telafi etmek için eksprese edilen bir trigliserit lipaz enzimidir.²⁰⁵ Ancak adipositlerdeki düzensiz TAG lipolizi, dolaşımdaki FA konsantrasyonlarının değişmesiyle insülin direnci ve T2DM gelişimi dâhil olmak üzere ciddi metabolik bozukluklarla ilişkili yükselmesine neden olabilir.⁸⁸ Adipositlere spesifik desnutrinin fonksiyonunu ve desnutrin etkisiyle gerçekleşen lipoliz ile salınan FFA'ların akıbetini araştırmak için yapılan bir çalışmada yağ dokusunda yapısal olarak desnutrini aşırı eksprese eden transgenik fareler kullanılmış ve çalışma sonunda desnutrin aracılı lipolizin diyetle bağlı obeziteyi azalttığını ve şaşırtıcı bir şekilde ektopik TAG depolanmasına veya serbest yağ asiti düzeylerinin artmasına neden olmadığı gösterilmiştir.²⁰⁵ Bu çalışmaya göre desnutrinin aşırı ekspresyonu, adipoz dokuda TAG ve DAG (ve/veya MAG) arasındaki görünür döngüyü arttırması ve özellikle adipositlerde FA oksidasyonunu desteklemesiyle bu transgenik farelerin insülin duyarlılığının arttığı ve diyetle bağlı obeziteye karşı dirençli hale geldiği söylenebilir.

Desnutrin üretimi olmayan fareler ise adipoz TG seviyelerini kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat daha yüksek tuttular.^{81, 206} Bununla birlikte beklenmedik bir şekilde, kalp kasında 20 kat, böbrekte 15 kat, pankreasta 4 kat, iskelet kasında 3 kat, karaciğerde 2 kat artış^{81, 206} dâhil olmak üzere test edilen tüm dokularda önemli ölçüde fazla TG biriktirdikleri ve bu sebeple erken ölüm meydana geldiği gösterilmiştir.¹⁰³

Aynı araştırmacılar ATGL eksikliği olan farelerde ciddi diyetle bağlı obezite ve TG birikimine maruz kalmalarına rağmen, glisemik kontrolü iyileştirdiğini bulmuşlardır.²⁰⁷ Bu, adipoz TG depolarından serbest yağ asitlerini serbest bırakma yeteneğinin bozulmasına ve bunun sonucunda dolaşımdaki açlık FFA'sında belirgin bir azalmaya bağlanmıştır. Hem adipoz dokuda hem de tüm dokularda desnutrin üretimi baskılanmış farelerde serum FFA düzeyi azalırken^{103, 206, 208} aşırı üretim yapan transgenik farelerde FFA düzeylerinin normal seyrinde olduğu görülmüştür.²⁰⁵

Her ne kadar FFA yerine glukoz ve glikojen depolarının kullanımıyla glisemik kontrol düzeliyor olsa da desnutrin üretimi hiç olmayan farelerde glikozla uyarılan insülin sekresyonu bozulur ve hipoinsülinemi görülmeye başlar.^{206, 209}

Adipoz dokusunda desnutrin/ATGL'yi aşırı eksprese eden farelerde, adipoz dokunun küçüldüğü ve TAG içeriğinin seyreltiği görülürken²⁰⁶, tam tersine adipoz dokusunda desnutrin/ATGL eksprese edilmeyen farelerde azalmış bir lipoliz ile yağ dokusunda bir artış gösterilmiştir.^{103, 129}

Çalışmamızda sağlıklı kontrolden pre-DM'ye geçiş sürecinde Desnutrin seviyesinin yükseldiğini gözlemledik. Desnutrin seviyesinin yükselmesiyle ektopik dokularda DG birikiminin yanında FFA lipotoksitesinin sonucu olarak insülin direncinde bir artış ve bozulmuş insülin sinyallerinin meydana gelmesi pre-DM evresine geçişi hızlandırıyor olabilir. Pre-DM grubu ile T2DM grubunun desnutrin düzeylerini karşılaştırdığımızda literatür ile uyumlu olarak T2DM grubunun sonuçlarının $p < 0,05$

anlamlılık düzeyinde daha düşük olduğunu tespit ettik. Bunun sebebi ise Pre-DM evresinde bozulmuş glukoz homeostazisini telafi etmek için seviyesi yükselen insülinin adipositlerde lipolizi baskılayıcı bir etki göstermesi olabilir. Bu inhibisyona bağlı olarak desnutrinin T2DM evresine geçiş sürecinde miktarının düşmesi adipositlerde TAG birikimine sebep olur ve en nihayetinde obeziter-T2DM'ye yol açabileceğini düşündürür.

Bir diğer olası sebep ise pre-DM'den T2DM ye geçiş evresinde desnutrin seviyelerinin düşmesiyle glikozla uyarılan insülin sekresyonu bozulması sonucu T2DM'ye geçişin hızlı olabileceğidir. Liu ve ark.'nın ²¹⁰ insan yalancı adacıklarında ve sıçan INS-1 hücrelerinde desnutrin down regüle olduğunda glikoz ve KCl ile uyarılan insülin sekresyonunu bozduğunu göstermesi fikrimizi desteklemektedir. Fare adacık hücrelerinin aksine insan adacık hücrelerinde lipit damlacıklarının bulunması, bu hücrelerde lipolizden sorumlu enzimin desnutrin olduğu bilgisiyle aşırı lipit depolanmasının β -hücre disfonksiyonuna sebep olduğu²¹¹ bilgileri birleştirilince desnutrinin rolü hakkında ipucu vermektedir. Desnutrin, PKA ve AMPK ile fosforile edildiğinde aktivitesi artan bir lipazdır.^{103, 104, 105} ACC'nin bu enzimler ile fosforile olduğunda inaktifleşerek Malonil-CoA düzeylerinde azalmaya neden olur ve bunun da adipoz dokudan lipoliz ile gelen FFA' ları diğer dokularda β -oksidasyona yönlendireceğini akla getirir.

Beklediğimiz gibi desnutrin seviyesi, serum FFA düzeyleriyle pozitif korelasyon ilişkisine sahiptir. Adipoz dokuda aktivitesi artan desnutrinin TAG'leri lipoliz etmesi ve serum FFA' sını yükseltmesi beklenir. Adipositlerdeki düzensiz lipolizle plazma FFA'larının yükselmesi insülin direnci ve T2DM gibi ciddi metabolik bozukluklarla ilişkili olduğu için²¹² desnutrin'in özellikle yağ dokuda lipit metabolizması üzerindeki rolünün iyi anlaşılması hastalıkların patofizyolojisini anlamada katkı sağlayacaktır.

Bulgularımıza göre desnutrin düzeyleri, serum resistin seviyeleriyle pozitif korelasyon göstermiştir. Hem desnutrin hem resistin ikisi de adiposit farklılaşması sırasında üretilir ve her iki parametrenin gruplar arasında serum düzeylerinin değişimi birbirlerine çok benzerdir. Pre-DM evresine geçiş sürecinde önce artar, T2DM evresine geçiş sürecinde azalma eğilimine geçerler. cAMP, resistin sekresyonunun güçlü bir tetikleyicisidir ve resistin salımı, adrenerjik sinyal yollarıyla uyarılabilir.²¹³

Resistin, glukoz metabolizmasını düzenleyen, seviyeleri yükseldiğinde insülin direncini tetikleyen ve proinflamatuvar etkiler gösteren protein yapıdaki bir hormondur.^{136,}
¹⁹¹ T2DM, obezite, insülin direnci ve adipoz dokudan salgılanan resistin birbiriyle bağlantılıdır. Syed S. Habib ve ark.²¹⁴ 107 T2DM hastasının resistin sonuçlarının 84 sağlıklı insanın sonuçlarıyla kıyaslandığında anlamlı derecede yüksek buldular ($p<0,05$). Başka bir çalışmada gestasyonel diabet hastası 50 gebenin resistin sonuçları 50 sağlıklı gebenin sonuçlarından istatistiksel açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,01$).²¹⁵

Kendi çalışmamızda resistin düzeylerini kontrol grubu ile hasta grubunda karşılaştırdığımızda hasta grubunda yükseldiğini gözlemledik ancak istatistiksel açıdan anlamlı değildi. Kontrol grubu ile sadece T2DM grubu kıyaslansaydı istatistiksel açıdan anlamlı bir yükseklik görülebilirdi. Beklenildiği gibi sağlıklı konumdan Pre-DM'ye geçiş evresinde artış görülmüştür. Pre-DM'den T2DM 'ye geçiş evrelerinde resistin seviyelerinde hafif bir düşme gözlenmiştir ancak istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır.

Ayrıca resistin, bu çalışmadaki sonuçlara göre ApoAI ve Desnutrinin yanında Malonil-CoA ve FFA ile de pozitif korelasyon göstermiş ($p<0,01$), HbA1c ile ters korelasyon göstermiştir ($p<0,05$). HbA1c ile ortaya çıkan bu ters korelasyon beklenilmeyen bir bulgu gibi görünebilir çünkü literatür bilgilerine göre resistin seviyesi arttıkça insülin direnci artar, insülin direnci arttıkça kan glukoz seviyesi yüksek seyreder ve dolayısıyla glikasyona uğramış hemoglobin yüzdesi yüksek olur. Ancak sağlıklı

adacık hücrelerinin sayısı ve dokuların insüline olan duyarlılığının düzeyinin etkisiyle belkide salgılanan aşırı insülin hormonu hiperglisemiden normoglisemiye hatta belki de hipoglisemiye geçiş frekanslarının artmasına, glukoz seviyelerinin normale yakın veya düşük seyretmesine ve Pre-DM evresindeki hastalara ait glikoz bağlı hemoglobin yüzdesinin düşük olmasına sebep olmuş olabilir.

Resistin ile FFA arasındaki ilişki için literatüre bakıldığında benzer çalışmalarda çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu sonuçlar görülmüştür. Resistinin obezite ile ilişkili insülin direncindeki rolünü araştıran bir çalışmada plazma resistin seviyeleri, plazma FFA seviyeleri ile pozitif korelasyon gösterdi. ($r = 0.68$, $P < 0.01$).²¹⁶ 3T3-L1 hücrelerinin kullanıldığı çalışmalarda resistin mRNA seviyelerinin geçici olarak up-regülasyonu lipid birikiminde bir artışa tam tersine down-regülasyonu ise azalışa neden olduğu gösterilmiştir.^{194, 217} Daha önce bahsedildiği gibi FFA'nın insülin direncini artırıyor olması ve Resistinin FFA ile pozitif korelasyon göstermesi birbirleriyle uyum gösteren iki durumdur.

Bulgularımıza göre Resistin, Malonil-CoA ile pozitif korelasyon ilişkisi göstermiştir. Resistinin, 3T3-L1 adipositlerinde resistin ekspresyonunun baskılanmasıyla lipid üretiminin azaldığı gösterilmiştir.¹⁹⁴ Belkide resistinin yağ asidi sentez reaksiyonları üzerinde ilk basamağın dışında bir konumda inhibisyon etkisi varsa resistin seviyesi yükseldiğinde Malonil-CoA birikimi artıyor olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırma parametrelerimizden Malonil-CoA ve FFA'nın serum düzeylerinin gruplar arası değişimine bakıldığında büyük benzerlik gösterdiği dikkat çekmektedir. Sağlıklı konumdan obez Pre-Diyabetik evreye geçiş sürecinde birbiriyle yakın ilişkili bu iki parametrenin düzeylerinde birlikte belirgin bir azalmanın görülmesi bu evre için bir biyobelirteç olabilme potansiyeli taşıdığına işaret etmektedir.

Desnutrinin, obez Pre-DM evresine geçiş sürecinde plazma düzeyinin artıyor olması yine bu evrede erken tanı için kullanılabilecek bir parametre gibi görünmektedir.

Çalışmamızın en ilginç sonuçlarından biri de kardiyovasküler hastalıklarla ters ilişkisinin olduğu bilinen HDL'nin yapısal bileşeni olan ApoAI, araştırma parametrelerimiz olan Desnutrin, Resistin, FFA ve Malonil-CoA ile pozitif korelasyon göstermiştir. Literatür taraması yapıldığında bu bulgumuzu destekleyen veya reddeden bir açıklaması bulunamamıştır. Spekülasyona açık bir parametre olarak durmaktadır ve üzerinde daha detaylı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. Type 2 diabetes. *The lancet*. 2017;389(10085):2239-51.
2. Gim J, Shah BR. Differences in HbA1C at the time of diabetes diagnosis in the adult population of Ontario, Canada. *Primary Care Diabetes*. 2019;13(4):310-5.
3. Herder C, Karakas M, Koenig W. Biomarkers for the prediction of type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2011;90(1):52-66.
4. Sacks DB. A1C versus glucose testing: a comparison. *Diabetes care*. 2011;34(2):518-23.
5. Cohen RM, Haggerty S, Herman WH. HbA1c for the diagnosis of diabetes and prediabetes: is it time for a mid-course correction? : Oxford University Press; 2010. p. 5203-6.
6. Carson AP, Fox CS, McGuire DK, Levitan EB, Laclaustra M, Mann DM, et al. Low hemoglobin A1c and risk of all-cause mortality among US adults without diabetes. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*. 2010;3(6):661-7.
7. Freedman BI, Shihabi ZK, Andries L, Cardona CY, Peacock TP, Byers JR, et al. Relationship between assays of glycemia in diabetic subjects with advanced chronic kidney disease. *American journal of nephrology*. 2010;31(5):375-9.
8. Coban E, Ozdogan M, Timuragaoglu A. Effect of iron deficiency anemia on the levels of hemoglobin A1c in nondiabetic patients. *Acta haematologica*. 2004;112(3):126-8.
9. Garber AJ, Handelsman Y, Einhorn D, Bergman DA, Bloomgarden ZT, Fonseca V, et al. Diagnosis and management of prediabetes in the continuum of hyperglycemia—when do the risks of diabetes begin? A consensus statement from the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists. *Endocrine practice*. 2008;14(7):933-46.
10. Olson DE, Rhee MK, Herrick K, Ziemer DC, Twombly JG, Phillips LS. Screening for diabetes and pre-diabetes with proposed A1C-based diagnostic criteria. *Diabetes care*. 2010;33(10):2184-9.
11. Jørgensen ME, Bjerregaard P, Borch-Johnsen K, Witte D. New diagnostic criteria for diabetes: is the change from glucose to HbA1c possible in all populations? *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010;95(11):E333-E6.
12. Kennelly PJ, Botham KM, McGuinness O, Rodwell VW, Weil PA. *Harper's illustrated biochemistry*: McGraw Hill Professional; 2022.
13. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409(6818):307-12.
14. Ferrier DR. *Lippincott illustrated reviews: biochemistry*: Wolters Kluwer; 2017.
15. Harvey R, Ferrier D. *Lippincott görsel anlatımlı çalışma kitapları: Biyokimya (5. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri*. 2014.
16. Stumvoll M, Goldstein BJ, Van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet*. 2005;365(9467):1333-46.
17. Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *The Journal of clinical investigation*. 1999;104(6):787-94.
18. Bunney P, Zink A, Holm A, Billington C, Kotz C. Orexin activation counteracts decreases in nonexercise activity thermogenesis (NEAT) caused by high-fat diet. *Physiology & behavior*. 2017;176:139-48.
19. Fu Z, R Gilbert E, Liu D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. *Current diabetes reviews*. 2013;9(1):25-53.

20. Boland BB, Rhodes CJ, Grimsby JS. The dynamic plasticity of insulin production in β -cells. *Molecular metabolism*. 2017;6(9):958-73.
21. Seino S, Shibasaki T, Minami K. Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes. *The Journal of clinical investigation*. 2011;121(6):2118-25.
22. Satman I, Yilmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes care*. 2002;25(9):1551-6.
23. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *European journal of epidemiology*. 2013;28(2):169-80.
24. Yuen L, Saeedi P, Riaz M, Karuranga S, Divakar H, Levitt N, et al. Projections of the prevalence of hyperglycaemia in pregnancy in 2019 and beyond: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and clinical practice*. 2019;157:107841.
25. Kumar R, Nandhini LP, Kamalanathan S, Sahoo J, Vivekanadan M. Evidence for current diagnostic criteria of diabetes mellitus. *World journal of diabetes*. 2016;7(17):396.
26. Petersmann A, Nauck M, Müller-Wieland D, Kerner W, Müller UA, Landgraf R, et al. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2018;126(7):406-10.
27. Gavin III JR, Alberti K, Davidson MB, DeFronzo RA. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 1997;20(7):1183.
28. Care D. In the same tables, the sentence “The diagnosis of GDM is made when the plasma glucose level measured 3 h after the test is ≥ 140 mg/dL (7.8 mmol/L)” is incorrect. The corrected sentence is as follows: “the diagnosis of GDM is made when at least two of the following four plasma glucose levels (measured fasting, 1 h, 2 h, 3 h after the OGTT) are met or exceeded. *Diabetes Care*. 2014;37:887.
29. Care D. Professional Practice Committee. *Diabetes Care*. 2015;38(1):S1-S2.
30. Picón MJ, Murri M, Muñoz A, Fernández-García JC, Gomez-Huelgas R, Tinahones FJ. Hemoglobin A1c versus oral glucose tolerance test in postpartum diabetes screening. *Diabetes care*. 2012;35(8):1648-53.
31. Mayfield JA. Diagnosis and classification of diabetes mellitus: new criteria. *American family physician*. 1998;58(6):1355.
32. Genuth S, KG A. bennett P, buse J, Defronzo R, Kahn R, et al. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2003;26:3160-7.
33. Care D. Jan: 33 Suppl. 1: S62-S69. “*Diagnosis and classification of diabetes mellitus*” *American Diabetes Association*. 2010.
34. Dali-Youcef N, Mecili M, Ricci R, Andrès E. Metabolic inflammation: connecting obesity and insulin resistance. *Annals of medicine*. 2013;45(3):242-53.
35. Hummasti S, Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and inflammation in obesity and diabetes. *Circulation research*. 2010;107(5):579-91.
36. Roca-Rivada A, Castelao C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Crujeiras AB, et al. FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PloS one*. 2013;8(4):e60563.
37. Graciano MF, Valle M, Kowluru A, Curi R, Carpinelli A. Regulation of insulin secretion and reactive oxygen species production by free fatty acids in pancreatic islets. *Islets*. 2011;3(5):213-23.
38. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*. 2014;105(2):141-50.

39. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *Jama*. 2001;286(3):327-34.
40. Venkatasamy VV, Pericherla S, Manthuruthil S, Mishra S, Hanno R. Effect of physical activity on insulin resistance, inflammation and oxidative stress in diabetes mellitus. *Journal of Clinical & Diagnostic Research*. 2013;7(8).
41. Cuññas A, García-Morales V, Viña D, Gil-Longo J, Campos-Toimil M. Activation of PKA and Epac proteins by cyclic AMP depletes intracellular calcium stores and reduces calcium availability for vasoconstriction. *Life sciences*. 2016;155:102-9.
42. Islam MS. The ryanodine receptor calcium channel of beta-cells: molecular regulation and physiological significance. *Diabetes*. 2002;51(5):1299-309.
43. Christensen AA, Gannon M. The beta cell in type 2 diabetes. *Current diabetes reports*. 2019;19(9):1-8.
44. Yamamoto WR, Bone RN, Sohn P, Syed F, Reissaus CA, Mosley AL, et al. Endoplasmic reticulum stress alters ryanodine receptor function in the murine pancreatic β cell. *Journal of Biological Chemistry*. 2019;294(1):168-81.
45. Halban PA, Polonsky KS, Bowden DW, Hawkins MA, Ling C, Mather KJ, et al. β -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. *Diabetes Care*. 2014;37(6):1751-8.
46. Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I, Evangelou E. Risk factors for type 2 diabetes mellitus: an exposure-wide umbrella review of meta-analyses. *PloS one*. 2018;13(3):e0194127.
47. Carey VJ, Walters EE, Colditz GA, Solomon CG, Willet WC, Rosner BA, et al. Body fat distribution and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women: the Nurses' Health Study. *American journal of epidemiology*. 1997;145(7):614-9.
48. Dubois SG, Heilbronn LK, Smith SR, Albu JB, Kelley DE, Ravussin E, et al. Decreased expression of adipogenic genes in obese subjects with type 2 diabetes. *Obesity*. 2006;14(9):1543-52.
49. Trayhurn P. Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity. *Physiological reviews*. 2013;93(1):1-21.
50. Hillier TA, Pedula KL. Complications in young adults with early-onset type 2 diabetes: losing the relative protection of youth. *Diabetes care*. 2003;26(11):2999-3005.
51. Khan SS, Ning H, Wilkins JT, Allen N, Carnethon M, Berry JD, et al. Association of body mass index with lifetime risk of cardiovascular disease and compression of morbidity. *JAMA cardiology*. 2018;3(4):280-7.
52. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Nutrition*. 1997;1(13):65.
53. Reaven GM, Laws A. *Insulin resistance: the metabolic syndrome X*: Springer Science & Business Media; 1999.
54. Cypess AM. Reassessing Human Adipose Tissue. *N Engl J Med*. 2022;386(8):768-79.
55. Berry DC, Stenesen D, Zeve D, Graff JM. The developmental origins of adipose tissue. *Development*. 2013;140(19):3939-49.
56. He N, Liu M, Wu Y. Adipose tissue and hematopoiesis: Friend or foe? *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2023:e24872.
57. Leitner BP, Huang S, Brychta RJ, Duckworth CJ, Baskin AS, McGehee S, et al. Mapping of human brown adipose tissue in lean and obese young men. *Proceedings of the national academy of sciences*. 2017;114(32):8649-54.
58. Qing H, Desrouleaux R, Israni-Winger K, Mineur YS, Fogelman N, Zhang C, et al. Origin and Function of Stress-Induced IL-6 in Murine Models. *Cell*. 2020;182(6):1660.
59. Chen M, Wang J, Yang Y, Zhong T, Zhou P, Ma H, et al. Redox-dependent regulation of end-binding protein 1 activity by glutathionylation. *Sci China Life Sci*. 2021;64(4):575-83.

60. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev.* 2004;84(1):277-359.
61. Frayn K. Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux. *Diabetologia.* 2002;45(9):1201-10.
62. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993;259(5091):87-91.
63. Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeier HK, Arita Y, Hansen BC, et al. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes.* 2001;50(5):1126-33.
64. Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, Baskin DG. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J Clin Invest.* 1996;98(5):1101-6.
65. Pinto S, Roseberry AG, Liu H, Diano S, Shanabrough M, Cai X, et al. Rapid rewiring of arcuate nucleus feeding circuits by leptin. *Science.* 2004;304(5667):110-5.
66. Chu T, Yang MS. A Review of Structural Features, Biological Functions and Biotransformation Studies in Adipose Tissues and an Assessment of Progress and Implications. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders).* 2023;23(1):12-20.
67. Giordano A, Smorlesi A, Frontini A, Barbatelli G, Cinti S. White, brown and pink adipocytes: the extraordinary plasticity of the adipose organ. *Eur J Endocrinol.* 2014;170(5):R159-71.
68. Xie W, Li D, Dong D, Li Y, Zhang Y, Duan L, et al. HIV-1 exposure triggers autophagic degradation of stathmin and hyperstabilization of microtubules to disrupt epithelial cell junctions. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):79.
69. Westermark O, Arner E, Bernard S, Bergmann O, Hoffstedt J, Blomqvist L. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature Letters.* 2008;453:783-7.
70. Hammarstedt A, Gogg S, Hedjazifar S, Nerstedt A, Smith U. Impaired adipogenesis and dysfunctional adipose tissue in human hypertrophic obesity. *Physiological reviews.* 2018;98(4):1911-41.
71. Mozaffarian D, Hao T, Rimm EB, Willett WC, Hu FB. Changes in diet and lifestyle and long-term weight gain in women and men. *New England journal of medicine.* 2011;364(25):2392-404.
72. Trayhurn P, Beattie JH. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proceedings of the Nutrition Society.* 2001;60(3):329-39.
73. Villarroya J, Cereijo R, Gavaldà-Navarro A, Peyrou M, Giralt M, Villarroya F. New insights into the secretory functions of brown adipose tissue. *Journal of Endocrinology.* 2019;243(2):R19-R27.
74. Scheele C, Wolfrum C. Brown adipose crosstalk in tissue plasticity and human metabolism. *Endocrine reviews.* 2020;41(1):53-65.
75. Deshmukh AS, Peijs L, Beaudry JL, Jespersen NZ, Nielsen CH, Ma T, et al. Proteomics-based comparative mapping of the secretomes of human brown and white adipocytes reveals EPDR1 as a novel batokine. *Cell metabolism.* 2019;30(5):963-75. e7.
76. Cypess AM, White AP, Vernochet C, Schulz TJ, Xue R, Sass CA, et al. Anatomical localization, gene expression profiling and functional characterization of adult human neck brown fat. *Nature medicine.* 2013;19(5):635-9.
77. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2004;89(6):2548-56.

78. Kraemer FB, Shen W-J. Hormone-sensitive lipase. *Journal of lipid research*. 2002;43(10):1585-94.
79. Wolf G. The mechanism and regulation of fat mobilization from adipose tissue: desnutrin, a newly discovered lipolytic enzyme. *Nutr Rev*. 2005;63(5):166-70.
80. Grdl F, Ademoğlu E. Biyokimya. *İkinci baskı Nobel Tıp Kitapevleri Ltd Şti*. 2010.
81. Haemmerle G, Zimmermann R, Hayn M, Theussl C, Waeg G, Wagner E, et al. Hormone-sensitive lipase deficiency in mice causes diglyceride accumulation in adipose tissue, muscle, and testis. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(7):4806-15.
82. Ahmadian M, Duncan RE, Jaworski K, Sarkadi-Nagy E, Sook Sul H. Triacylglycerol metabolism in adipose tissue. *Future lipidology*. 2007;2(2):229-37.
83. Yeaman SJ. Hormone-sensitive lipase-a multipurpose enzyme in lipid metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (C), Molecular Cell Research*. 1990;1052(1):128-31.
84. Osuga J-i, Ishibashi S, Oka T, Yagyu H, Tozawa R, Fujimoto A, et al. Targeted disruption of hormone-sensitive lipase results in male sterility and adipocyte hypertrophy, but not in obesity. *Proceedings of the National academy of sciences*. 2000;97(2):787-92.
85. Haemmerle G, Zimmermann R, Strauss JG, Kratky D, Riederer M, Knipping G, et al. Hormone-sensitive Lipase Deficiency in Mice Changes the Plasma Lipid Profile by Affecting the Tissue-specific Expression Pattern of Lipoprotein Lipase in Adipose Tissue and Muscle*. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(15):12946-52.
86. Zimmermann R, Haemmerle G, Wagner EM, Strauss JG, Kratky D, Zechner R. Decreased fatty acid esterification compensates for the reduced lipolytic activity in hormone-sensitive lipase-deficient white adipose tissue. *Journal of lipid research*. 2003;44(11):2089-99.
87. Wang SP, Laurin N, Himms-Hagen J, Rudnicki MA, Levy E, Robert MF, et al. The adipose tissue phenotype of hormone-sensitive lipase deficiency in mice. *Obesity research*. 2001;9(2):119-28.
88. Villena JA, Roy S, Sarkadi-Nagy E, Kim KH, Sul HS. Desnutrin, an adipocyte gene encoding a novel patatin domain-containing protein, is induced by fasting and glucocorticoids: ectopic expression of desnutrin increases triglyceride hydrolysis. *J Biol Chem*. 2004;279(45):47066-75.
89. Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, Schoiswohl G, Birner-Gruenberger R, Riederer M, et al. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science*. 2004;306(5700):1383-6.
90. Jenkins CM, Mancuso DJ, Yan W, Sims HF, Gibson B, Gross RW. Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(47):48968-75.
91. CerK İK, Wechselberger L, Oberer M. Adipose triglyceride lipase regulation: an overview. *Current Protein and Peptide Science*. 2018;19(2):221-33.
92. Cornaciu I, Boeszoermenyi A, Lindermuth H, Nagy HM, CerK İK, Ebner C, et al. The minimal domain of adipose triglyceride lipase (ATGL) ranges until leucine 254 and can be activated and inhibited by CGI-58 and G0S2, respectively. *PloS one*. 2011;6(10):e26349.
93. Eichmann TO, Kumari M, Haas JT, Farese RV, Zimmermann R, Lass A, et al. Studies on the substrate and stereo/regioselectivity of adipose triglyceride lipase, hormone-sensitive lipase, and diacylglycerol-O-acyltransferases. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(49):41446-57.

94. Roy D, Farabaugh KT, Wu J, Charrier A, Smas C, Hatzoglou M, et al. Coordinated transcriptional control of adipocyte triglyceride lipase (Atgl) by transcription factors Sp1 and peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) during adipocyte differentiation. *Journal of Biological Chemistry*. 2017;292(36):14827-35.
95. Kim JY, Tillison K, Lee J-H, Rearick DA, Smas CM. The adipose tissue triglyceride lipase ATGL/PNPLA2 is downregulated by insulin and TNF- α in 3T3-L1 adipocytes and is a target for transactivation by PPAR γ . *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2006;291(1):E115-E27.
96. Nielsen TS, Vendelbo MH, Jessen N, Pedersen SB, Jørgensen JO, Lund S, et al. Fasting, but not exercise, increases adipose triglyceride lipase (ATGL) protein and reduces G (0)/G (1) switch gene 2 (G0S2) protein and mRNA content in human adipose tissue. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011;96(8):E1293-E7.
97. Singh M, Kaur R, Lee M-J, Pickering RT, Sharma VM, Puri V, et al. Fat-specific protein 27 inhibits lipolysis by facilitating the inhibitory effect of transcription factor Egr1 on transcription of adipose triglyceride lipase. *Journal of Biological Chemistry*. 2014;289(21):14481-7.
98. Chakrabarti P, Kim JY, Singh M, Shin Y-K, Kim J, Kumbrink J, et al. Insulin inhibits lipolysis in adipocytes via the evolutionarily conserved mTORC1-Egr1-ATGL-mediated pathway. *Molecular and cellular biology*. 2013;33(18):3659-66.
99. Eguchi J, Wang X, Yu S, Kershaw EE, Chiu PC, Dushay J, et al. Transcriptional control of adipose lipid handling by IRF4. *Cell metabolism*. 2011;13(3):249-59.
100. Chakrabarti P, English T, Karki S, Qiang L, Tao R, Kim J, et al. SIRT1 controls lipolysis in adipocytes via FOXO1-mediated expression of ATGL. *Journal of lipid research*. 2011;52(9):1693-701.
101. Chakrabarti P, Kandror KV. FoxO1 controls insulin-dependent adipose triglyceride lipase (ATGL) expression and lipolysis in adipocytes. *Journal of biological chemistry*. 2009;284(20):13296-300.
102. Schott MB, Rasineni K, Weller SG, Schulze RJ, Sletten AC, Casey CA, et al. β -Adrenergic induction of lipolysis in hepatocytes is inhibited by ethanol exposure. *Journal of Biological Chemistry*. 2017;292(28):11815-28.
103. Ahmadian M, Abbott MJ, Tang T, Hudak CS, Kim Y, Bruss M, et al. Desnutrin/ATGL is regulated by AMPK and is required for a brown adipose phenotype. *Cell metabolism*. 2011;13(6):739-48.
104. Pagnon J, Matzaris M, Stark R, Meex RC, Macaulay SL, Brown W, et al. Identification and functional characterization of protein kinase A phosphorylation sites in the major lipolytic protein, adipose triglyceride lipase. *Endocrinology*. 2012;153(9):4278-89.
105. Kim S-J, Tang T, Abbott M, Viscarra JA, Wang Y, Sul HS. AMPK phosphorylates desnutrin/ATGL and hormone-sensitive lipase to regulate lipolysis and fatty acid oxidation within adipose tissue. *Molecular and cellular biology*. 2016;36(14):1961-76.
106. Nagy HM, Paar M, Heier C, Moustafa T, Hofer P, Haemmerle G, et al. Adipose triglyceride lipase activity is inhibited by long-chain acyl-coenzyme A. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2014;1841(4):588-94.
107. Fischer J, Lefèvre C, Morava E, Mussini J-M, Laforêt P, Negre-Salvayre A, et al. The gene encoding adipose triglyceride lipase (PNPLA2) is mutated in neutral lipid storage disease with myopathy. *Nature genetics*. 2007;39(1):28-30.
108. Li JJ, Ferry RJ, Diao S, Xue B, Bahouth SW, Liao F-F. Nedd4 haploinsufficient mice display moderate insulin resistance, enhanced lipolysis, and protection against high-fat diet-induced obesity. *Endocrinology*. 2015;156(4):1283-91.

- 109.Lodhi IJ, Yin L, Jensen-Urstad AP, Funai K, Coleman T, Baird JH, et al. Inhibiting adipose tissue lipogenesis reprograms thermogenesis and PPAR γ activation to decrease diet-induced obesity. *Cell metabolism*. 2012;16(2):189-201.
- 110.Schreiber R, Xie H, Schweiger M. Of mice and men: The physiological role of adipose triglyceride lipase (ATGL). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2019;1864(6):880-99.
- 111.Kelley DE, Mandarino LJ. Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: a reexamination. *Diabetes*. 2000;49(5):677-83.
- 112.Perseghin G, Scifo P, De Cobelli F, Pagliato E, Battezzati A, Arcelloni C, et al. Intramyocellular triglyceride content is a determinant of in vivo insulin resistance in humans: a 1H-13C nuclear magnetic resonance spectroscopy assessment in offspring of type 2 diabetic parents. *Diabetes*. 1999;48(8):1600-6.
- 113.GORDON ES. Non-esterified fatty acids in the blood of obese and lean subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1960;8(5):740-7.
- 114.Jensen MD, Haymond MW, Rizza RA, Cryer PE, Miles J. Influence of body fat distribution on free fatty acid metabolism in obesity. *The Journal of clinical investigation*. 1989;83(4):1168-73.
- 115.Boden G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes*. 1997;46(1):3-10.
- 116.Himanshu D, Ali W, Wamique M. Type 2 diabetes mellitus: pathogenesis and genetic diagnosis. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2020;19:1959-66.
- 117.Stein DT, Stevenson BE, Chester MW, Basit M, Daniels MB, Turley SD, et al. The insulinotropic potency of fatty acids is influenced profoundly by their chain length and degree of saturation. *The Journal of clinical investigation*. 1997;100(2):398-403.
- 118.Fillmore N, Lopaschuk GD. Malonyl CoA: a promising target for the treatment of cardiac disease. *IUBMB life*. 2014;66(3):139-46.
- 119.Kuhajda FP, Jenner K, Wood FD, Hennigar RA, Jacobs LB, Dick JD, et al. Fatty acid synthesis: a potential selective target for antineoplastic therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1994;91(14):6379-83.
- 120.Loftus TM, Jaworsky DE, Frehywot GL, Townsend CA, Ronnett GV, Lane MD, et al. Reduced food intake and body weight in mice treated with fatty acid synthase inhibitors. *Science*. 2000;288(5475):2379-81.
- 121.Patel SD, Rajala MW, Rossetti L, Scherer PE, Shapiro L. Disulfide-dependent multimeric assembly of resistin family hormones. *Science*. 2004;304(5674):1154-8.
- 122.Aruna B, Islam A, Ghosh S, Singh AK, Vijayalakshmi M, Ahmad F, et al. Biophysical analyses of human resistin: oligomer formation suggests novel biological function. *Biochemistry*. 2008;47(47):12457-66.
- 123.Codoñer-Franch P, Alonso-Iglesias E. Resistin: insulin resistance to malignancy. *Clinica chimica acta*. 2015;438:46-54.
- 124.Steppan CM, Brown EJ, Wright CM, Bhat S, Banerjee RR, Dai CY, et al. A family of tissue-specific resistin-like molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001;98(2):502-6.
- 125.Steppan CM, Lazar MA. The current biology of resistin. *Journal of internal medicine*. 2004;255(4):439-47.
- 126.Ghosh S, Singh AK, Aruna B, Mukhopadhyay S, Ehtesham NZ. The genomic organization of mouse resistin reveals major differences from the human resistin: functional implications. *Gene*. 2003;305(1):27-34.
- 127.Koerner A, Kratzsch J, Kiess W. Adipocytokines: leptin—the classical, resistin—the controversial, adiponectin—the promising, and more to come. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2005;19(4):525-46.

128. Aruna B, Ghosh S, Singh AK, Mande SC, Srinivas V, Chauhan R, et al. Human recombinant resistin protein displays a tendency to aggregate by forming intermolecular disulfide linkages. *Biochemistry*. 2003;42(36):10554-9.
129. Filková M, Haluzík M, Gay S, Šenolt L. The role of resistin as a regulator of inflammation: Implications for various human pathologies. *Clinical immunology*. 2009;133(2):157-70.
130. Silswal N, Singh AK, Aruna B, Mukhopadhyay S, Ghosh S, Ehtesham NZ. Human resistin stimulates the pro-inflammatory cytokines TNF- α and IL-12 in macrophages by NF- κ B-dependent pathway. *Biochemical and biophysical research communications*. 2005;334(4):1092-101.
131. Yang RZ, Huang Q, Xu A, McLenithan JC, Eisen JA, Shuldiner AR, et al. Comparative studies of resistin expression and phylogenomics in human and mouse. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;310(3):927-35.
132. Kwon H, Pessin JE. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013;4:71.
133. Li Y, Ding L, Hassan W, Abdelkader D, Shang J. Adipokines and hepatic insulin resistance. *J Diabetes Res*. 2013;2013:170532.
134. Pang SS, Le YY. Role of resistin in inflammation and inflammation-related diseases. *Cell Mol Immunol*. 2006;3(1):29-34.
135. Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C, et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR γ activators. *Biochemical and biophysical research communications*. 2003;300(2):472-6.
136. Tripathi D, Kant S, Pandey S, Ehtesham NZ. Resistin in metabolism, inflammation, and disease. *The FEBS journal*. 2020;287(15):3141-9.
137. 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(18):1345-6.
138. Owecki M, Miczke A, Nikisch E, Pupek-Musialik D, Sowiński J. Serum resistin concentrations are higher in human obesity but independent from insulin resistance. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes*. 2011;119(02):117-21.
139. Qatanani M, Szwegold NR, Greaves DR, Ahima RS, Lazar MA. Macrophage-derived human resistin exacerbates adipose tissue inflammation and insulin resistance in mice. *J Clin Invest*. 2009;119(3):531-9.
140. Verma S, Li SH, Wang CH, Fedak PW, Li RK, Weisel RD, et al. Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation*. 2003;108(6):736-40.
141. Jamaluddin MS, Weakley SM, Yao Q, Chen C. Resistin: functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease. *British journal of pharmacology*. 2012;165(3):622-32.
142. Rae C, Graham A. Human resistin promotes macrophage lipid accumulation. *Diabetologia*. 2006;49(5):1112-4.
143. Cho YM, Youn B-S, Chung SS, Kim KW, Lee H, Yu K-Y, et al. Common genetic polymorphisms in the promoter of resistin gene are major determinants of plasma resistin concentrations in humans. *Diabetologia*. 2004;47(3):559-65.
144. Burnett MS, Lee CW, Kinnaird TD, Stabile E, Durrani S, Dullum MK, et al. The potential role of resistin in atherogenesis. *Atherosclerosis*. 2005;182(2):241-8.
145. Ohmori R, Momiyama Y, Kato R, Taniguchi H, Ogura M, Ayaori M, et al. Associations between serum resistin levels and insulin resistance, inflammation, and coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;46(2):379-80.
146. Peet A. *Marks' Basic Medical Biochemistry*: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.

147. Breslow J, Ross D, McPherson J, Williams H, Kurnit D, Nussbaum A, et al. Isolation and characterization of cDNA clones for human apolipoprotein AI. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1982;79(22):6861-5.
148. Curtiss LK, Valenta DT, Hime NJ, Rye K-A. What is so special about apolipoprotein AI in reverse cholesterol transport? *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2006;26(1):12-9.
149. Burdick JP, Basi RS, Burns KS, Weers PM. The role of C-terminal ionic residues in self-association of apolipoprotein AI. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2023;1865(2):184098.
150. D Dergunov A, A Garaeva E, V Savushkin E, Y Litvinov D. Significance of lipid-free and lipid-associated ApoA-I in cellular cholesterol efflux. *Current Protein and Peptide Science*. 2017;18(1):92-9.
151. Chroni A, Kardassis D. HDL dysfunction caused by mutations in apoA-I and other genes that are critical for HDL biogenesis and remodeling. *Current medicinal chemistry*. 2019;26(9):1544-75.
152. Gorshkova IN, Meyers NL, Herscovitz H, Mei X, Atkinson D. Human apoA-I[Lys107del] mutation affects lipid surface behavior of apoA-I and its ability to form large nascent HDL. *J Lipid Res*. 2023;64(2):100319.
153. Kalayci A, Gibson CM, Ridker PM, Wright SD, Kingwell BA, Korjian S, et al. ApoA-I Infusion Therapies Following Acute Coronary Syndrome: Past, Present, and Future. *Curr Atheroscler Rep*. 2022;24(7):585-97.
154. Segrest JP, Jones MK, De Loof H, Dashti N. Structure of apolipoprotein B-100 in low density lipoproteins. *Journal of lipid research*. 2001;42(9):1346-67.
155. Olofsson S-O, Asp L, Borén J. The assembly and secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins. *Current opinion in lipidology*. 1999;10(4):341-6.
156. Nelson DL, Cox MM. *Principles of Biochemistry Lehninger*: Artmed Editora; 2022.
157. Borén J, Olin K, Lee I, Chait A, Wight TN, Innerarity TL. Identification of the principal proteoglycan-binding site in LDL. A single-point mutation in apo-B100 severely affects proteoglycan interaction without affecting LDL receptor binding. *The Journal of clinical investigation*. 1998;101(12):2658-64.
158. Parthasarathy S, Raghavamenon A, Garelnabi MO, Santanam N. Oxidized low-density lipoprotein. *Free Radicals and Antioxidant Protocols*. 2010:403-17.
159. Yurdagul Jr A, Finney AC, Woolard MD, Orr AW. The arterial microenvironment: the where and why of atherosclerosis. *Biochemical Journal*. 2016;473(10):1281-95.
160. Scipione CA, Koschinsky ML, Boffa MB. Lipoprotein(a) in clinical practice: New perspectives from basic and translational science. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2018;55(1):33-54.
161. Maranhão RC, Carvalho PO, Strunz CC, Pileggi F. Lipoprotein (a): structure, pathophysiology and clinical implications. *Arq Bras Cardiol*. 2014;103(1):76-84.
162. Schmidt K, Noureen A, Kronenberg F, Utermann G. Structure, function, and genetics of lipoprotein (a). *Journal of lipid research*. 2016;57(8):1339-59.
163. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Borén J, Andreotti F, Watts GF, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J*. 2010;31(23):2844-53.
164. Mehta A, Shapiro MD. Apolipoproteins in vascular biology and atherosclerotic disease. *Nat Rev Cardiol*. 2022;19(3):168-79.
165. Tsimikas S. A test in context: lipoprotein (a) diagnosis, prognosis, controversies, and emerging therapies. *Journal of the American College of Cardiology*. 2017;69(6):692-711.

166. Boffa MB, Koschinsky ML. Oxidized phospholipids as a unifying theory for lipoprotein (a) and cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2019;16(5):305-18.
167. Collaboration ERF. Lipoprotein (a) concentration and the risk of coronary heart disease, stroke, and nonvascular mortality. *JAMA: the journal of the American Medical Association*. 2009;302(4):412.
168. Little RR, Rohlfing C, Sacks DB. The national glycohemoglobin standardization program: over 20 years of improving hemoglobin A1c measurement. *Clinical chemistry*. 2019;65(7):839-48.
169. Association AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2019. *Diabetes care*. 2019;42(Supplement_1):S13-S28.
170. Treviño G. On the weighted-average relationship between plasma glucose and HbA1c. *Diabetes Care*. 2006;29(2):466-.
171. Nelsen DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*: Macmillan Learning; 2021.
172. Miedema K. Standardization of HbA1c and optimal range of monitoring. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2005;65(sup240):61-72.
173. Little R, Rohlfing C. Proposed changes for reporting HbA1c: Various groups are deciding how HbA1c results are to be reported in the future. *Vitro diagnost technol*. 2007;18.
174. Garay-Sevilla ME, Beeri M, De la Maza MP, Rojas A, Salazar-Villanea S, Uribarri J. The potential role of dietary advanced glycation endproducts in the development of chronic non-infectious diseases: a narrative review. *Nutrition Research Reviews*. 2020;33(2):298-311.
175. Mayer O, Gelžinský J, Seidlerová J, Mateřánková M, Mareš Š, Svobodová V, et al. The role of advanced glycation end products in vascular aging: which parameter is the most suitable as a biomarker? *Journal of Human Hypertension*. 2021;35(3):240-9.
176. Silveira Rossi JL, Barbalho SM, Reverete de Araujo R, Bechara MD, Sloan KP, Sloan LA. Metabolic syndrome and cardiovascular diseases: Going beyond traditional risk factors. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2022;38(3):e3502.
177. Kosmopoulos M, Drekolias D, Zavras PD, Piperi C, Papavassiliou AG. Impact of advanced glycation end products (AGEs) signaling in coronary artery disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2019;1865(3):611-9.
178. Fishman SL, Sonmez H, Basman C, Singh V, Poretsky L. The role of advanced glycation end-products in the development of coronary artery disease in patients with and without diabetes mellitus: a review. *Molecular Medicine*. 2018;24(1):1-12.
179. Khan MS, Ikram M, Park TJ, Kim MO. Pathology, risk factors, and oxidative damage related to type 2 diabetes-mediated Alzheimer's disease and the rescuing effects of the potent antioxidant anthocyanin. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2021;2021.
180. Mallia AK, Hermanson GT, Krohn RI, Fujimoto EK, Smith PK. Preparation and use of a boronic acid affinity support for separation and quantitation of glycosylated hemoglobins. *Analytical Letters, Part B: Clinical and Biochemical Analysis*. 1981;14(8):649-61.
181. Association AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2020. *Diabetes care*. 2020;43(Supplement_1):S14-S31.
182. Association AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2021. *Diabetes care*. 2021;44(Supplement_1):S15-S33.
183. Fadó R, Rodríguez-Rodríguez R, Casals N. The return of malonyl-CoA to the brain: Cognition and other stories. *Prog Lipid Res*. 2021;81:101071.

- 184.Chakravarthy MV, Zhu Y, López M, Yin L, Wozniak DF, Coleman T, et al. Brain fatty acid synthase activates PPAR α to maintain energy homeostasis. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(9):2539-52.
- 185.Dowell P, Hu Z, Lane MD. Monitoring energy balance: metabolites of fatty acid synthesis as hypothalamic sensors. *Annu Rev Biochem*. 2005;74:515-34.
- 186.Kumar MV, Shimokawa T, Nagy TR, Lane MD. Differential effects of a centrally acting fatty acid synthase inhibitor in lean and obese mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(4):1921-5.
- 187.Cha SH, Hu Z, Lane MD. Long-term effects of a fatty acid synthase inhibitor on obese mice: food intake, hypothalamic neuropeptides, and UCP3. *Biochemical and biophysical research communications*. 2004;317(2):301-8.
- 188.Cha SH, Hu Z, Chohnan S, Lane MD. Inhibition of hypothalamic fatty acid synthase triggers rapid activation of fatty acid oxidation in skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005;102(41):14557-62.
- 189.Fadó R, Rodríguez-Rodríguez R, Casals N. The return of malonyl-CoA to the brain: Cognition and other stories. *Progress in lipid research*. 2021;81:101071.
- 190.McGARRY JD, Mills SE, Long C, Foster DW. Observations on the affinity for carnitine, and malonyl-CoA sensitivity, of carnitine palmitoyltransferase I in animal and human tissues. Demonstration of the presence of malonyl-CoA in non-hepatic tissues of the rat. *Biochemical Journal*. 1983;214(1):21-8.
- 191.Acquarone E, Monacelli F, Borghi R, Nencioni A, Odetti P. Resistin: A reappraisal. *Mech Ageing Dev*. 2019;178:46-63.
- 192.Lazar M. Resistin-and obesity-associated metabolic diseases. *Hormone and Metabolic Research*. 2007;39(10):710-6.
- 193.Owecki M, Miczke A, Nikisch E, Pupek-Musialik D, Sowiński J. Serum resistin concentrations are higher in human obesity but independent from insulin resistance. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes*. 2010;117-21.
- 194.Ikeda Y, Tsuchiya H, Hama S, Kajimoto K, Kogure K. Resistin affects lipid metabolism during adipocyte maturation of 3T3-L1 cells. *The FEBS journal*. 2013;280(22):5884-95.
- 195.Reaven GM, Chang H, Ho H, Jeng C-Y, Hoffman BB. Lowering of plasma glucose in diabetic rats by antilipolytic agents. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 1988;254(1):E23-E30.
- 196.Oh Y, Bae G, Baek D, Park E, Jun H. Fatty acid-induced lipotoxicity in pancreatic beta-cells during development of type 2 diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 9: 384. PUBMED; 2018.
- 197.Carlsson M, Wessman Y, Almgren P, Groop L. High levels of nonesterified fatty acids are associated with increased familial risk of cardiovascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2000;20(6):1588-94.
- 198.Salgin B, Ong KK, Thankamony A, Emmett P, Wareham NJ, Dunger DB. Higher fasting plasma free fatty acid levels are associated with lower insulin secretion in children and adults and a higher incidence of type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2012;97(9):3302-9.
- 199.Mahendran Y, Cederberg H, Vangipurapu J, Kangas AJ, Soininen P, Kuusisto J, et al. Glycerol and fatty acids in serum predict the development of hyperglycemia and type 2 diabetes in Finnish men. *Diabetes care*. 2013;36(11):3732-8.
- 200.Ma X-l, Meng L, Li L-l, Ma L-n, Mao X-m. Plasma free fatty acids metabolic profile among Uyghurs and Kazaks with or without type 2 diabetes based on GC-MS. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. 2018;126(10):604-11.

201. Wang LK, Wang H, Wu XL, Shi L, Yang RM, Wang YC. Relationships among resistin, adiponectin, and leptin and microvascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Int Med Res.* 2020;48(4):300060519870407.
202. Palanivel R, Sweeney G. Regulation of fatty acid uptake and metabolism in L6 skeletal muscle cells by resistin. *FEBS letters.* 2005;579(22):5049-54.
203. Zhang J, Zhao Y, Xu C, Hong Y, Lu H, Wu J, et al. Association between serum free fatty acid levels and nonalcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study. *Scientific reports.* 2014;4(1):5832.
204. Spiller S, Blüher M, Hoffmann R. Plasma levels of free fatty acids correlate with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity and Metabolism.* 2018;20(11):2661-9.
205. Ahmadian M, Duncan RE, Varady KA, Frasson D, Hellerstein MK, Birkenfeld AL, et al. Adipose overexpression of desnutrin promotes fatty acid use and attenuates diet-induced obesity. *Diabetes.* 2009;58(4):855-66.
206. Haemmerle G, Lass A, Zimmermann R, Gorkiewicz G, Meyer C, Rozman J, et al. Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase. *Science.* 2006;312(5774):734-7.
207. Haemmerle G, Moustafa T, Woelkart G, Büttner S, Schmidt A, van de Weijer T, et al. ATGL-mediated fat catabolism regulates cardiac mitochondrial function via PPAR- α and PGC-1. *Nat Med.* 2011;17(9):1076-85.
208. Schoiswohl G, Stefanovic-Racic M, Menke MN, Wills RC, Surlow BA, Basantani MK, et al. Impact of reduced ATGL-mediated adipocyte lipolysis on obesity-associated insulin resistance and inflammation in male mice. *Endocrinology.* 2015;156(10):3610-24.
209. Peyot M-L, Guay C, Latour MG, Lamontagne J, Lussier R, Pineda M, et al. Adipose triglyceride lipase is implicated in fuel- and non-fuel-stimulated insulin secretion. *Journal of Biological Chemistry.* 2009;284(25):16848-59.
210. Liu S, Promes JA, Harata M, Mishra A, Stephens SB, Taylor EB, et al. Adipose triglyceride lipase is a key lipase for the mobilization of lipid droplets in human β -cells and critical for the maintenance of syntaxin 1a levels in β -cells. *Diabetes.* 2020;69(6):1178-92.
211. Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *The Lancet.* 2014;383(9922):1068-83.
212. Unger RH. Lipotoxic diseases. *Annual review of medicine.* 2002;53(1):319-36.
213. Musovic S, Shrestha MM, Komai AM, Olofsson CS. Resistin is co-secreted with adiponectin in white mouse adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2021;534:707-13.
214. Habib SS, Al-Khliwi T, Butt MA, Habib SM, Al-Khliwi H, Al-Regaiey K. Novel Adiponectin-Resistin Indices and Ratios Predict Increased Cardiovascular Risk in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *J Saudi Heart Assoc.* 2023;35(1):59-65.
215. Torun GI, Tuzun D, Sahin M, Kilinc M. The Relationship Between Gestational Diabetes Mellitus and Adipocytokine Levels. *Sisli Etfal Hastan Tip Bul.* 2023;57(1):79-85.
216. Yang G, Li L, Fang C, Zhang L, Li Q, Tang Y, et al. Effects of free fatty acids on plasma resistin and insulin resistance in awake rats. *Metabolism.* 2005;54(9):1142-6.
217. Gong H, Ni Y, Guo X, Fei L, Pan X, Guo M, et al. Resistin promotes 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Eur J Endocrinol.* 2004;150(6):885-92.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Doğum tarihi: Doğum Yeri: Medeni Hali: Uyruğu: Adres: Tel: Faks: E-mail:
Eğitim
Lise: Lisans: Yüksek lisans: Doktora:
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: Almanca: Rusça:
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Veysel ARSLAN
Öğrencinin Numarası	
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Biyokimya
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Doktora

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 2	% 15
II. Genel Bilgiler	% 2	% 35
III. Materyal ve Metod	% 14	% 35
IV. Bulgular	% 9	% 15
V. Tartışma	% 1	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU**



Bölümü : Dekanlık
Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/359
Konu : Etik Kurul Kararı

15.04.2021

Sayın:
**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi**

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz **“Tip-II Diyabette Kan FFA, Desnütrin ve Resistin Düzeyler ile Kardiyovasküler Risk Belirteçleri Arasındaki İlişki”** isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU**



KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	
	FAKS	
	E-POSTA	
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		Tip-II Diyabette Kan FFA, Desnütrin ve Resistin Düzeyler ile Kardiyovasküler Risk Belirteçleri Arasındaki İlişki
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 03 Karar No: 47	Tarih:15.04.2021
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin TÜBİTAK tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	