

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

**OBEZİTEDE NİTRİK OKSİT,
HOMOSİSTEİN, LEPTİN VE MİYOGLOBİN
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Pınar BAKİ ÜNVER
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Aysun Bay KARABULUT**

MALATYA

2009

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

**OBEZİTEDE NİTRİK OKSİT,
HOMOSİSTEİN, LEPTİN VE MİYOGLOBİN
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Pınar BAKİ ÜNVER

DANIŞMAN

Doç. Dr. Aysun Bay KARABULUT

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2007/29 proje numarası ile desteklenmiştir.**

MALATYA

2009

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Tayfun GÜLDÜR

Danışman

Doç. Dr. Aysun BAY KARABULUT

Üye

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ

ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu...../...../2009 tarih ve 2009/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali OTLU
Enstitü Müdürü

Çağımızın en önemli hastalıklarından biri olan obezite, ülkemizde dâhil olmak üzere tüm dünya ülkelerinin en önemli sağlık sorunlarından biridir. Genel olarak obesitede, enerji alımı ve harcanması arasında bir dengesizlik vardır.

Obez bireylerde nitrik oksit, homosistein, leptin ve miyogloblin düzeylerinin belirlenerek obezitenin tanısına ve prognozunun izlenmesine yardımcı olmak amaçlanmıştır. Bu çalışma için başka hastalığı olmayan 30 obez ve 30 sağlıklı birey seçilmiştir.

Plazma nitrik oksit (NO) sonuçları kontrol grubu ile kıyaslandığında, obez bireylerde anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Plazma homosistein sonuçları kontrol grubu ile kıyaslandığında, obez bireylerde yüksek bulunmuştur. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır. Homosistein ile yaş arasında anlamlı bir fark bulunmazken, cinsiyet ile pozitif yönde zayıf bir ilişki gözlenmiştir.

Plazma leptin sonuçları kontrol grubu ile kıyaslandığında, obez bireylerde daha yüksektir. Leptin ile cinsiyet arasında pozitif yönde zayıf bir ilişki gözlenmiştir. Gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur.

Plazma miyogloblin sonuçları kontrol grubu ile kıyaslandığında, obez bireylerde daha yüksek bulunmuştur. Miyogloblin cinsiyet ve yaşla kıyaslandığında negatif yönde güçlü bir ilişki göstermiştir.

Homosistein konsantrasyonu diyet ile ilişkilidir. BMI ile homosistein arasında pozitif bir ilişki vardır. NO şiddetli obezlerde artmıştır. NO miyogloblin ile ilişkilidir ve miyogloblinin konsantrasyonunu değiştirir. Leptin iştah azaltan bir hormon olup yiyecek alımı ve enerji harcanmasını düzenleyen bir hormondur. Obesitenin leptin eksikliğinden mi yoksa leptin rezistansından mı kaynaklandığı ile ilgili daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çağımızın en önemli hastalıklarından olan obezitenin nedenleri tam olarak açıklanamamıştır. Yapılan literatür araştırmalarında obezitede nitrik oksit, homosistein, leptin ve miyogloblinin ile birlikte çalışmaya rastlanmamıştır. Obesitede oksidatif stres, NO, homosistein, leptin ve miyogloblin düzeyleri artmış olup; bunların obezitenin nedeni mi, sonucumu mu olduğunu açıklamada daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Obesite, Nitrik Oksit, Leptin, Miyogloblin, Homosistein

Obesity is defined as excessive fat pooling in the body. Generally there is imbalance between taking and spending energy is point at issue.

It has been aimed to help the obese individuals in the diagnosis of the obesity by defining the levels of nitric oxide, homocysteine, leptin and myoglobin. 30 healthy individuals and 30 obese individuals without any other illnesses have been selected for this study.

Comparison of plasma nitric oxide (NO) in obese individuals with that of controls was found to be statistically significant.

Statistically significant difference was found between plasma homocysteine levels of obese individuals and that of normal subjects. Whereas no correlation was detected between homocysteine levels and age of obese and control group however weak and positive correlation was determined with gender.

Statistically significant difference was found between plasma leptin levels of obese individuals and that of normal subjects. A weak positive correlation was determined between leptin levels and gender.

Statistically significant difference was found between plasma myoglobin levels of obese individuals and that of normal subjects. A strong correlation in a negative way was determined when myoglobin is compared with the gender and age.

Homocysteine concentration is related to the diet. There is a positive correlation between BMI and homocysteine. NO increased in the acute obese individuals. NO level is related to myoglobin levels and alters the myoglobin concentration. Leptin is an appetite hormone and organizes the energy expenditure. The further studies are needed to be done to define whether the obesity is because of the lack of leptin or leptin resistance. The reasons for the obesity, one of the most important illnesses of our time, have not been explained clearly yet. In the literature this is the first study to investigate the relationship between nitric oxide, leptin, homocysteine and myoglobin parameters and obesity. Oxidative stress, NO, homocysteine, leptin and myoglobin levels in obesity increased; and the further studies are needed in defining whether they are the reasons or the results of the obesity.

Key Words: Obesity, Nitric Oxide, Leptin, Myoglobin, Homocysteine

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca sabrını, hoşgörüsünü ve en önemlisi desteğini esirgemeyen, kendime örnek aldığım ve bundan sonraki hayatım boyuncada almaya devam edeceğim saygıdeğer danışman hocam; Doç. Dr. Aysun Bay Karabulut'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aldığım eğitim süresince gerek derslerde, gerekse ders dışında deneyimlerinden faydalandığım Prof. Dr. Tayfun Güldür'e, Doç. Dr. İsmail Temel'e, Prof. Dr. Yusuf Türköz'e ve tüm biyokimya personeline teşekkür ederim.

Hastalarla iletişim kurmamı sağlayan saygıdeğer hocam Doç. Dr. Ayşe Sertkaya Çıkım'a ve tüm Endokrinoloji kliniği personeline;

Tanıdığım en harika insanlardan biri olan, azmine ve çalışkanlığına hayran olduğum, yardım ve desteğini hiç esirgemeyen canım arkadaşım Tuğba Raika Kıran'a;

Desteklerini hiç esirgemeyen sevgili dostum Hatice Özbey'e;

Eğitim hayatım boyunca hep yanımda olan, sevgi ve desteklerini esirgemeyen fedakâr anneme, babama ve kardeşime;

Hayat arkadaşım, en iyi dostum, beni sabırla bekleyen sevgili eşim Can Hüseyin Ünver'e sonsuz hoşgörü ve desteği için;

TEŞEKKÜR EDERİM...

İÇİNDEKİLER

	S. No
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
GRAFİKLER DİZİNİ.....	x
KISALTMALAR.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Adipoz Doku.....	3
2.2. Obezite ve Kan Lipidleri.....	4
2.3. Obezite ve Genleri	5
2.4. Obezite ve Hipertansiyon.....	6
2.5. Obezite ve Oksidatif Stres.....	7
2.6. Leptin.....	9
2.6.1. Plazmadaki Leptin Miktarını Etkileyen Faktörler.....	12
2.6.2. Leptinin İnsan ve Memelilerdeki Fonksiyonları.....	13
2.6.3. Leptin Reseptörleri.....	13
2.6.4. Leptin Rezistansı.....	14
2.7. Nitrik Oksit	15
2.7.1. Konstitütif Nitrik Oksit Sentaz (cNOS).....	19
2.7.2. Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS).....	19
2.7.3. Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS).....	19
2.7.4. İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS).....	20
2.7.5. Mitokondri Nitrik Oksit Sentaz (mtNOS).....	20
2.7.6. Nitrozatif Stres.....	20

2.8. Homosistein	21
2.8.1. Hiperhomosisteinemi.....	25
2.9. Miyogloblin.....	26
3. MATERYAL METOD.....	30
3.1.Örneklerin Toplanması	30
3.2. Veri Toplama Aşaması.....	30
3.3. Kullanılan Araç, Gereç ve Kimyasal Malzemeler.....	30
3.4. Numune Alınması ve Numunelerin Hazırlanması.....	31
3.5. Metodlar.....	31
3.5.1. Serumda Trigliserit, Glukoz, Kolesterol ve HDL Ölçümü.....	31
3.5.2. Serumda Total Nitrit Ölçümü.....	32
3.5.3. Serumda Leptin Ölçümü.....	35
3.5.4. Serumda Homosistein Ölçümü.....	36
3.5.5. Serumda Miyogloblin Ölçümü.....	38
3.6. İstatistiksel İncelemeler.....	38
4.BULGULAR.....	39
5.TARTIŞMA.....	47
6.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	55
7.KAYNAKLAR	56
8.EKLER.....	63
9.ÖZGEÇMİŞ.....	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

	S. No
Şekil 1: LDL ve HDL Oluşumu.....	5
Şekil 2: Obezite ve hipertansiyon.....	6
Şekil 3: Obezite ve oksidatif stres.....	8
Şekil 4: Beyaz yağ dokusundan salgılanan leptinin iştah arttıran ve azaltan etkilere karşı cevabı.....	11
Şekil 5: Leptinin kan basıncı üzerine etkileri	14
Şekil 6 : Sempatik sinir sisteminde leptinin rolü.....	15
Şekil 7: L-Arjinin-NO yolu.....	16
Şekil 8: L-Arjinin-NO yolu.....	16
Şekil 9: Nitrik oksitten kaynaklanan oksidatif ve nitrozatif stres.....	21
Şekil 10: Homosistein.....	21
Şekil 11: Homosistein metabolizması.....	22
Şekil 12: Homosistein ve oksidatif stres.....	24
Şekil 13: Miyogloblin.....	26
Şekil 14: Miyogloblin ve NO.....	27
Şekil 15: Miyogloblin ve ligand bağlanması.....	28
Şekil 16: Miyogloblinden oksimiyogloblin üretimi	28

TABLULAR DİZİNİ

	S.No
Tablo 1: Oksijen ve nitrik oksitten oluşan temel reaktif türler	9
Tablo 2: İnsanda ve memeli organizmalarda leptin üretim yerleri.....	10
Tablo 3: Nitrojenin oksitlenmiş türleri	17
Tablo 4: Yaş, boy, kilo, BMI, glukoz, trigliserit, kolesterol, LDL, HDL ve VLDL'nin hasta (grup 1) ve kontrol (grup 2) grubuna göre değişimleri.....	43
Tablo 5: Miyogloblin, homosistein, NO ve leptinin obez (Grup1) ve kontrol (Grup2) grubuna göre değişimleri.....	44
Tablo 6: Miyogloblin, homosistein, NO ve leptin değişkenlerine ait değerler.....	45
Tablo 7: Yaş ile miyogloblin, homosistein, NO ve leptin değişkenlerine ait korelasyonlar.....	45
Tablo 8: Grup 1 ve Grup2 yaş, boy, kilo, cinsiyet, BMI, glukoz, trigliserit, kolesterol, LDL, HDL, VLDL, miyogloblin, homosistein, NO ve leptin değişkenlerinin korelasyon analizleri..	46

GRAFİKLER DİZİNİ

	S.No
Grafik 1: NO ₂ Standart grafiği.....	35
Grafik 2: Leptinin kalibrasyon eğrisi.....	36
Grafik 3: Grup 1 ve Grup 2'ye ait ortalama \pm standart hata nitrit değerleri.	39
Grafik 4: Grup 1 ve Grup 2'ye ait ortalama \pm standart hata leptin değerleri.....	40
Grafik 5: Grup 1 ve Grup 2'ye ait ortalama \pm standart hata homosistein değerleri.....	41
Grafik 6: Grup 1 ve Grup 2'ye ait ortalama \pm standart hata miyoglobin değerleri.....	42

KISALTMALAR

H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
NO₂	: Azot Dioksit
NO₂⁺	: Nitronyum İyonu
O₂⁻	: Süperoksit Radikal Anyonu
·OH	: Hidroksil Radikali
GSH-Px	: Glutatyon Peroksidaz
NO₂	: Nitrojen Dioksit
N₂O₄	: Dinitrojen Tetraoksit
N₂O₃	: Dinitrojen Trioksit
ROO·	: Peroksil Radikali
NO₃	: Nitrat
NO·	: Nitroksil İyonu
OH·	: Hidroksil İyonu
NO	: Nitrik Oksit
iNOS	: İndüklenebilir NOS
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
eNOS	: Endotel NOS
nNOS	: Nöronal NOS
BKI	: Beden Kitle İndeksi
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoproteinler
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoproteinler
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoproteinler
ATP	: Adenozin Trifosfat
ApoB	: Apolipoprotein B
SOD	: Süperoksit dismutaz
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitör-1
IL-6	: İnterlökin-6
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör-α
LIF	: Lösemi inhibitör faktör
Hdl	: Hormona duyarlı lipaz

UCP-2	: Uncoupling protein-1
STAT-3	: Signal transducers and activator of transcription
ADD	: Adiposit belirleyici ve ayırıcı faktör
SREBP-1c	: Sterol regulatory element binding protein
IRS-1	: İnsülin reseptör substrat-1 geni
KVH	: Kardiyovasküler hastalıklar
LPL	: Lipoprotein lipaz
EYA	: Esterleşmemiş yağ asiti
TAG	: Triaçilgliserol
KBB	: Kan- beyin bariyeri
KAH	: Koroner arter hastalığı
BOS	: Beyin- omurilik sıvısı
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
NADPH	: Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
L-NMA	: N ^G –Metil-L-arjinin
L-NNA	: N ^G –nitro-L-arjinin
5-MTHF	: 5-metiltetrahidrofolat
SAM	: S-adenozil-metiyonin
SAH	: S-adenozil-homosistein
CBS	: Sistatyonin-β sentaz
ADMA	: Asimetrik dimetilarjininin
Mb	: Miyoglobin
MbO₂	: Oksimiyoglobin
Met Mb	: Ferrik Miyoglobin
Hcy	: Homosistein
LEPR	: Leptin reseptörü
AGRP	: Aquoti releated peptit
POMC	: Propiyomelanokortin
NPY	: Nöropeptit Y
MSH	: Melanosit stimüle edici hormon
MCs	: Melanokortin
CRF	: Kortikotropin

STAT	: Sinyal alıcı ve transkripsiyon aktivatörü
SOCS	: Sitokin sinyal baskılayıcı
NFkB	: Nükleer faktör kappa-B
RAS	: Renin-anjiyotensin sistem
Grup 1	: Obez hasta grubu
Grup 2	: Kontrol grubu

1. GİRİŞ

İnsanlarda vücuttaki yağ oranının artmasıyla obezitenin görülme sıklığı da artmaktadır. Ağırlık; vücudun enerji yedeklerinin basitçe bir ölçümü olarak obezitenin tanımlanmasında en sık kullanılan yöntemdir. Rutin klinik uygulamalarda ağırlık ve boy ölçümlerinin yerine en çok kullanılan beden kitle indeksidir (BKI; ağırlık/boy²). BKI'nin doğruluğu yüksek, ölçüm hatası en azdır (1). Normal kiloda olan yetişkin erkeklerdeki BKI; %15-20 arasındayken, bu oran kadınlarda daha yüksektir ve yaklaşık %25-30 kadardır.

Obezite sağlık açısından oldukça tehlikelidir. Obez bir birey için kilo fazlalığı yaşam kalitesinin düşmesinin yanı sıra pek çok hastalığında habercisidir. Diabetes mellitus, koroner kalp hastalığı, el ve dizlerde artrit, safra kesesi hastalığı, uyku apnesi ve bazı kanser türleri (kadınlardaki meme, endometriyum kanseri, erkeklerde kolon kanseri) gibi hastalıklar obezlerde sık rastlanan hastalıklardır.

Çalışmada obez bireyler ile obez olmayan normal bireylerin nitrik oksit, leptin, homosistein ve miyogloblin değerlerinin ölçülerek bu değerlerin birbirleriyle kıyaslanması amaçlanmaktadır.

Obez hastalarda, çalıştığımız leptin, homosistein ve nitrik oksit için ayrı ayrı pek çok çalışma yapılmıştır. Ancak miyogloblin ile beraber bu dört parametrenin birlikte çalışıldığı ilk çalışma olduğu kanısındayız. Yaptığımız bu çalışmanın obezitenin tanısı ve prognozu açısından bu bireylerde görülen komplikasyonlara yardımcı olacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

Çağımızın en önemli hastalıklarından biri olan obezite ülkemiz dahil tüm dünyayı tehdit etmektedir. Obezite vücuttaki aşırı yağ birikimi olarak tanımlanır. Diabetes mellitus, koroner kalp hastalığı, el ve dizlerde artrit, safra kesesi hastalığı, uyku apnesi gibi hastalıklar obezlerde en sık rastlanan hastalıklardandır. Obezitenin tüm mekanizması henüz tam anlamıyla açıklanamamıştır (1, 2, 3).

Obez bireylerde yağ asiti seviyesi yüksektir. Bu nedenle karbonhidrat metabolizması sağlıklı bireylerle kıyaslandığında çok fazla etkin değildir. Bunun sonucunda kilo alımı gerçekleşir (4).

Obezite genel olarak beden kitle indeksi (BKI) ile değerlendirilir. BKI vücuttaki yağ içeriğini belirlemede yardımcı olan standart bir parametredir. Obezitenin derecesi BKI ile sınıflandırılır (4). Kilonun en kolay ölçümü BKI'dir ve normal aralık 18-25'dir. BKI ile yağ oranı, yaş ve cinsiyete bağlı olarak değişir. Şiddetli obezitede yüksek yağ oranı ile sonuçlanır. Vücut yağ dağılımı için bel/kalça oranı kullanılır (5).

İdeal kilo şöyle hesaplanır (2);

$$\text{İdeal kilo} = \text{Boy} - 100 - (\text{Boy} - 150 / 4)$$

- BKI < 24,9 kg/ m² => sağlıklı
- BKI 25-29,9 kg/ m² => aşırı kilolu
- BKI 30-34,9 kg/ m² => hafif obez
- BKI 35-39,9 kg/ m² => şiddetli obez
- BKI > 40 kg/ m² => morbid obez

BKI, 27'nin üzerinde olanlar ile kardiyovasküler morbidite arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. BKI; 35'in üzerinde olanlar için obezite önemli bir kardiyovasküler risk faktörüdür. Genellikle, obezlerin plazma antioksidanları düşüktür (3).

Obezite genellikle hipertansiyon, diyabet, dislipidemi gibi hastalıklarla yakından ilgilidir (6). Safra kesesi taşı, reflü, özofajit, steatozda obezlerde sık rastlanır. Kadınlarda endometriyum kanseri, meme kanseri ve safra kesesi kanseri,

erkeklerde ise; kolon, rektum ve prostat kanseri riskinin obezite ile birlikte arttığı gözlenmiştir (2). Obez bireylerde yağ asiti seviyesi yüksektir ve bu bireylerde insülin rezistansı görülür. Yağ asitinin fazlalığı karbonhidrat metabolizmasının etkinliğini inhibe eder (5). Bireylerin daha az enerji tüketip daha fazla enerji alması pozitif bir enerji dengesi oluşturur. Eğer bu denge pozitif yönde devam ederse vücut ağırlığında artış meydana gelir (1).

Obezitenin artmış olmasının nedenleri arasında; fiziksel aktivite azlığı, yaş, cinsiyet, kadınlarda doğum sayısı, beslenme alışkanlıkları, alkol gösterilebilir. Eğer enerji alımı enerji harcanmasından fazla ise kilo alımı gözlenir ve sonuçta obezite meydana gelir (2).

Vücut işlevlerinin gerçekleştirilebilmesi için gerekli olan enerji, glukoz ve yağ asitlerinin kullanılmasından elde edilen adenosin trifosfatın (ATP) yüksek enerjili bağlarından elde edilir. Vücuttaki enerji metabolizmasındaki genel işlem sırası; ilk olarak yakıtların karbondioksit, su ve ATP yapımı için oksidasyonudur. Burada ATP üretilirken besindeki enerjinin %60'ı ısı olarak açığa çıkar. İkinci olarak ATP'nin vücuttaki kimyasal olaylarda kullanılmasıdır. Tüketilen besinlerdeki enerji içeriği ATP'ye dönüştürülür veya ısı olarak kaybedilir. Son olarak da çeşitli metabolik işlemlerde kullanılır. Bütün bu olanların hepsi '*enerji tüketimi*' olarak adlandırılır (1).

2.1. Adipoz Doku

Adipoz doku enerji depolama sisteminde aşırı enerjiyi ve yağı depolama gibi merkezi bir role sahiptir. Enerji homeostazisi üzerinde büyük etkisi vardır (7).

Adiponektin insülin aktivitesinin artmasını sağlar. İnsülin rezistansı, hücre duvarının insulini tolere edemeyip içeri geçirmemesi sonucunda kandaki şekerin yakılarak enerjiye çevrilememesi durumudur. Obezlerde adiponektin azalırken, insülin rezistansı buna bağlı olarak artar (1). Adiponektin seviyesinin düşmesi yağ dokusunun gelişmesi üzerine etkilidir. Adiponektin adipositlerde bir açlık sinyali olarak algılanır. Adipöz doku yüksek miktarda trigliserit birikimine ihtiyaç duyar (7).

Adipöz dokudan salgılanan ve hormon etkisi gösterip gıda alımını arttıran adiponektinler; β -endorfin, ghrelin, nöropeptit-Y, norepinefrin, galaninken, gıda alımını azaltan adiponektinler; leptin, insülin, glukagon, vazopressin, seratonin,

dopamin v.s.'dir. İnsülin lipoprotein lipaz (LPL) sentezini sağlar, seks stroidleri vücut yağının bölgesel dağılımında görevlidir. Obezitede açlık plazma insülin düzeyi yüksektir (1). Yağ dokusunda trigliserit miktarı arttıkça yağ dokusunun ve kasın insüline verdiği cevap azalır. Bu duruma insülin reseptörleri sayısının azalmasının ya da hücre zarı yüzeylerinin genişlemesinin neden olduğu düşünülmektedir (2). İnsülin yağ depolanmasını arttırıcı bir etkiye sahiptir, adipöz dokudaki LPL'yi aktive eder. Obezitede esterleşmemiş yağ asiti (EYA) konsantrasyonu plazmada artmıştır. Adipöz dokuda birim kitle başına düşen EYA salınımı, obez bireylerde zayıflara oranla daha azdır. Beyaz yağ dokusunun görevi, depolanmış halde bulunan triaçilgliserolün (TAG) EYA olarak dolaşıma salınımını sağlamaktır. Bu salınımın ana enzimleri TAG-lipaz ve hormona duyarlı lipaz (hDL) 'dır (1).

2.2.Obezite ve Kan Lipidleri

LDL-HDL obezitedeki en önemli risk faktörlerindedir. Obezite yoğun LDL, artmış trigliserit ve düşük HDL ile ilişkilidir (1,7). Obezitede plazma kreatinini düşük, plazma ürik asit, ALT ve lökositleri fazladır. E vitamini ve β karoten obez erkeklerde düşüktür. Obez bayanlarda ise LDL düşüktür (3). Trigliserit ve kolesterol dolaşımında lipoproteinler ile taşınır. 4 alt grubu vardır (1).

1-Çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL)

2-Düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL)

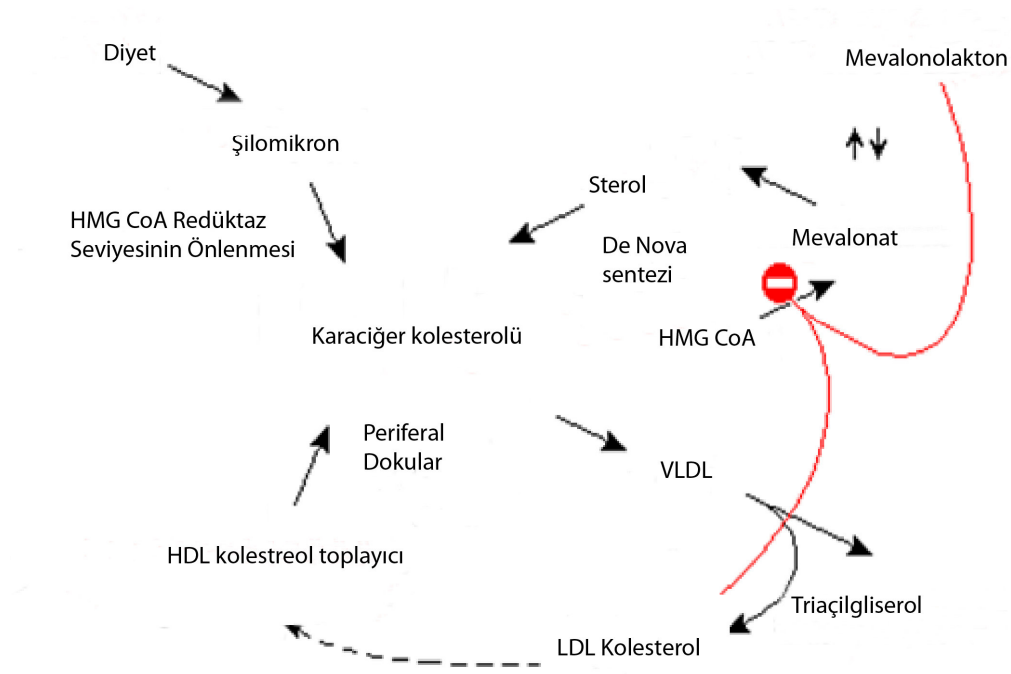
3-Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL)

4-Şilomikronlar

Lipoproteinlerin en büyükleri şilomikronlardır ve trigliserit açısından çok zengindir. VLDL trigliseritlerin taşınmasını sağlar ve karaciğerde üretilir. LDL'ler VLDL'lerdeki trigliseritlerden lipoprotein lipaz enzimi aracılığı ile üretilir. Kolesterolün kandaki en önemli taşıyıcıları LDL'lerdir. Her bir LDL içeriğinde bir tek ApoB (Apolipoprotein) bulunur ve ApoB karaciğerde sentezlenir (1).

Obezitede en önemli lipid bozukluğu düşük HDL ve yüksek trigliserittir. Obez hastaların genelinde LDL-kolesterol yüksektir. Bu şekilde kan lipitlerinin yüksek oluşu kardiyovasküler hastalık riskinin artmasına neden olur. Kilo kaybıyla

birlikte LDL'de düşüş gözlenirken HDL'de de belirgin artış gözlenir (1). LDL ve HDL kolesterol oluşumu Şekil-1'de gösterilmiştir.



Şekil 1: LDL ve HDL Oluşumu (8)

2.3. Obezite ve Genleri

Obezitede rol oynayan genlerin tanımlanmasında çeşitli gelişmeler görülmektedir. Tanımlanmış bazı gen varyantları obezitenin fenotipini belirleyebilecek durumdadır (1). İnsan obezite geninin düzenleyici bölgesi ve genomik dizisi artık günümüzde bilinmektedir. Yapılan dizi analizi çalışmalarında, insan *ob* geninde hastalığa neden olan mutasyona rastlanmıştır (1).

Obeziteye Neden Olabilecek Genler (2);

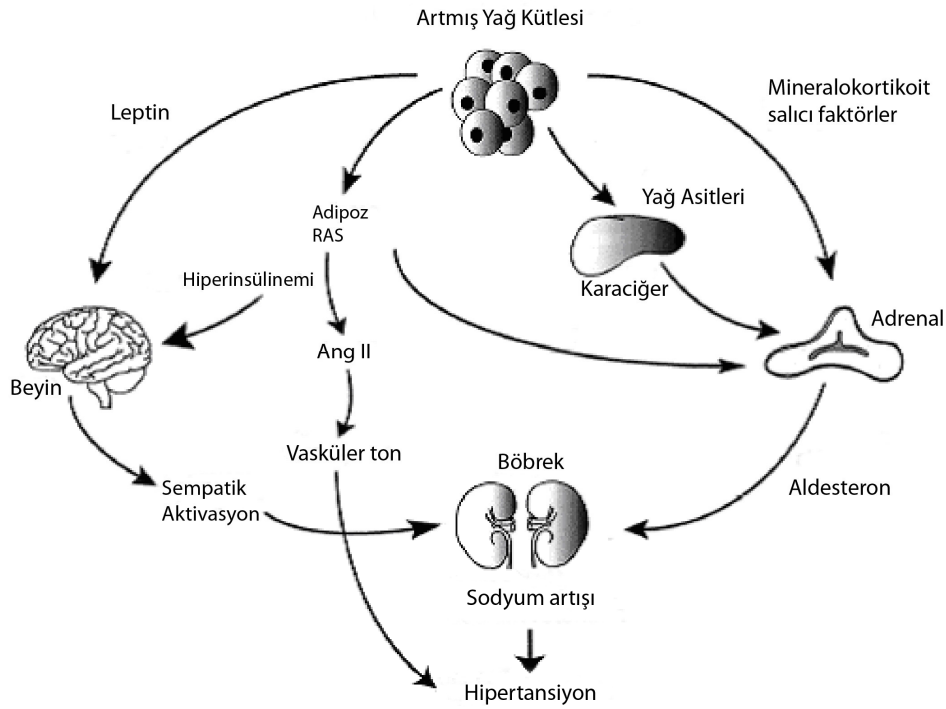
- | | |
|------------------------------------|-----------------------------|
| 1- β_3 -AR | 8- TNF |
| 2- Lipoprotein lipaz | 9- UCP-2 |
| 3- Apolipoprotein D | 10- Açıl taşıyıcı protein-1 |
| 4- Apo B | 11- Adenozin deaminaz gen |
| 5- LDL reseptör | 12- Ob gen |
| 6- Dopamin reseptör D ₂ | 13- IRS-1 |
| 7- İnsülin | 14- ADD-1/SREBP-1c |

Ob ve Leptin Reseptör Genleri

Ob farede, ob genindeki bir mutasyona bağlı olarak obezite gelişir. Ob geninin protein ürünü leptindir. Ob geninin sinyali insülini ve yağ hücresini etkiler. Çeşitli sinyaller ile glukokortikoidlerden de etkilenmektedir (1).

2.4. Obezite ve Hipertansiyon

Hipertansiyon, sistolik/diyastolik kan basıncının 140/90'ı aşması durumudur. Hipertansiyon obezite için bir risk faktörüdür (1). Obez bireylerde sistolik ve diyastolik kan basınçları yüksektir (9). Vücuttaki yağ dağılımı ve kan basıncı arasında doğru bir orantı vardır (Şekil-2) (10). Vücut ağırlığının azalması kan basıncı üzerinde azaltıcı bir etki gösterir. Ağırlık kaybı kan basıncını düşürme eğilimindedir. Kan basıncının azalması başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere pek çok hastalığın olumlu yönde gelişmesine yardımcı olur (11).



Şekil 2: Obezite ve Hipertansiyon (12)

Obezite ile birlikte gelen hipertansiyonda renal sodyumun geri emilimi artar bunun sonucunda da ekstrasellüler sıvı volümü artar (11).

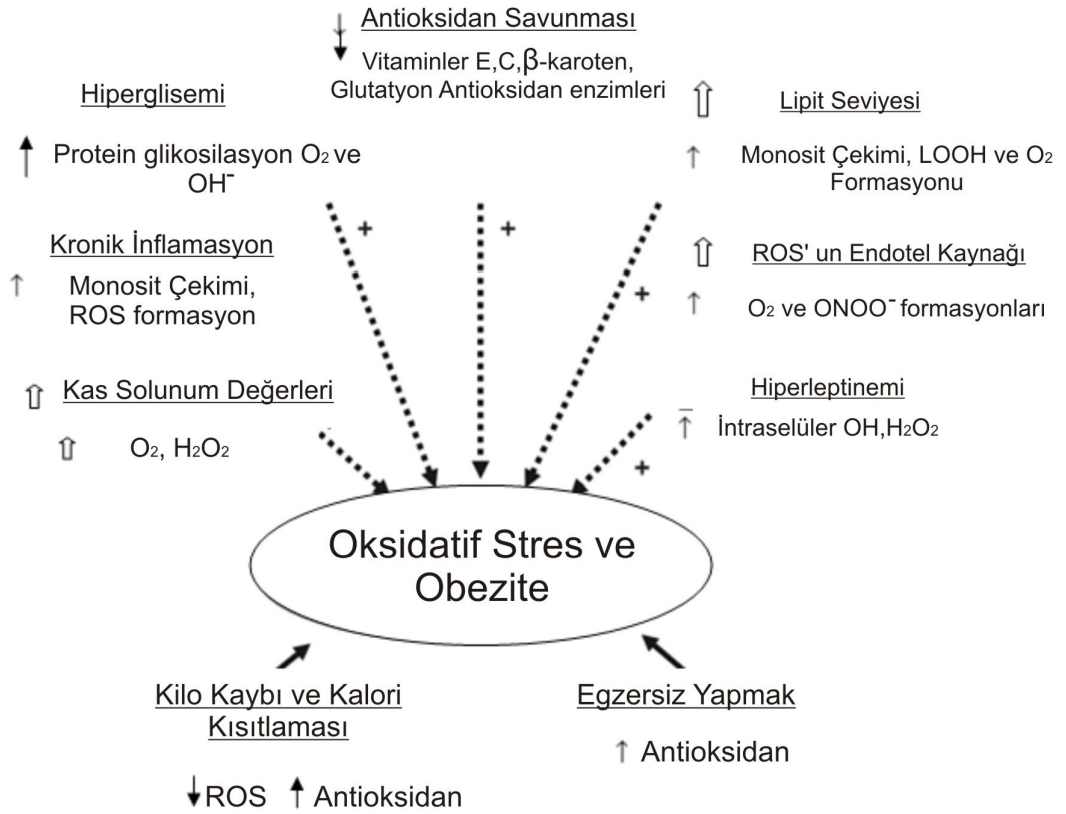
Obezlerde iskelet kası önemli derecede oksidatif kapasiteye ve mitokondriyal içeriğe sahiptir (13). Kas metabolizmasındaki bazı bozukluklar obezite gelişiminde etkili olabilir. Eğer kastaki oksidatif metabolizma bozulacak olursa vücutta enerji depoları birikmeye başlar (14). İnsülin salımını uyaran durumlarda (glukoz metabolizmasında) iskelet kası önemli rol oynar. Obez bireylerde iskelet kasının lipid içeriği artar (15).

2.5. Obezite ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller; hücre metabolizması gerçekleşirken meydana gelen, biyokimyasal redoks reaksiyonları esnasında oluşan, eşleşmemiş elektronlara sahip moleküller olarak tanımlanır. Birçok hastalığın meydana gelmesinde önemli rolleri vardır. Solunum, üriner, sinir sistemi hastalıkları, diyabet, kanser, obezite, miyokardiyal enfarktüs gibi (16).

Oksijen radikalleri biyomoleküllerle tepkimeye girince bazı toksik etkiler meydana gelir. Bu toksik etkiler nedeniyle gelişen patolojik durum *oksidatif stres* olarak adlandırılır (Şekil-3). Nitrik oksitin oksidasyonu sonucu oluşan reaktif türler ise *nitrozatif strese* neden olur (13).

Artan serbest radikal düzeyleri SOD enziminin inhibisyonuna neden olur. Bunun sonucunda peroksinitrit oluşumu ile çok daha toksik bir radikal oluşur ve NO'nun biyoyararlılığı azalır (17).



Şekil 3: Obezite ve Oksidatif stres (18)

Serbest radikaller negatif yüklü, pozitif yüklü ya da nötral olabilirler. Serbest radikaller fazla üretildiklerinde hücre ölümüne ve doku hasarına neden olabilir. Biyolojik sistemlerdeki süperoksit anyonu (O_2^-), reaktif oksijen türleri (ROT), nitrik oksit ($NO\cdot$), hidroksil radikali ($HO\cdot$), peroksil radikali ($ROO\cdot$) ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest radikaller oksidatif strese neden olan en önemli radikallerdir (13).

Tablo 1: Oksijen ve nitrik oksitten oluşan temel reaktif türler (19)

Tür	Adı	Tür	Adı
$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen	NO	Nitrik oksit
O_2^-	Süperoksit	NO_2^-	Nitrojen dioksit
H_2O_2	Hidrojen peroksit	NO_2^+	Nitril katyonu
$\cdot\text{OH}$	Hidroksil radikali	NO^-	Nitroksil
RO^-	Alkoksil radikali	ONOO^-	Peroksinitrit radikali
ROOOH	Hidroperoksit	ONOO^-	Peroksinitrit
ROOR	Endoperoksit	N_2O_3	Dinitrojen trioksit
HO_2^-	Hidroperoksi radikali	N_2O_4	Dinitrojen tetroksit

Organizmada serbest radikallerin meydana gelme hızı ile ortadan kaldırılma hızı belli bir denge içindedir. Bu dengeye *oksidatif denge* denir. Eğer dengenin devamı sağlanırsa organizma serbest radikallerden zarar görmez. O halde *oksidatif stresi*; antioksidan savunma mekanizması ile serbest radikal oluşumu arasında meydana gelen dengesizlik olarak tanımlayabiliriz. Bu dengenin kaybolması sonucunda ciddi doku hasarları meydana gelir (13). Obezite hiperglisemiye neden olur. Hiperglisemide oksidatif stresi indükler (20).

2.6. Leptin

Leptin adını yunanca leptos (ince) kelimesinden alan 167 aminoasit içeren sitokinlere benzer, peptid yapılı bir hormondur (21). 16 kDa büyüklüğündedir. Beyinin iştah ve enerji harcanması ile ilgili bölümlerine sinyal iletilir, iştah azaltılıp enerji tüketimi artırılır (2). Leptin düzeyi kardiyovasküler fonksiyonlar üzerinde etkilidir ve arteriyal zinciri gevşetir. Ayrıca sempatik sinir aktivitesiyle birlikte leptin

düzeyi artar (22). Adipositlerde ob gen ürünü olarak obezite geninden üretilir ve kan beyin bariyerini (KBB) geçerek hipotalamusa ulaşır (1,23). Burada leptin reseptörlerine bağlanarak yiyecek alımını azaltır, enerji kullanımını arttırır (11,24). İnsanda 7. kromozomun uzun kolunda bulunan ob/ob geninde kodlanmıştır. İlk olarak mutant farelerde keşfedilmiştir. Mutajenik gen ürünü olarak tanımlanmıştır (25). İnsanlarda leptin geninde bir mutasyona rastlanmamıştır. Obezlerde serum leptin düzeyi yüksektir ve kilo verilmesi ile bu oran düşürülebilir (21).

Tablo 2: İnsanda ve memeli organizmalarda leptin üretim yerleri (26)

1. Asıl üretim yerleri: Yağ dokusu hücreleri:

- a) Visseral yağ hücreleri
- b) Deri altı yağ hücreleri
- c) Kahverengi yağ hücreleri

2. Diğer üretim yerleri: Plasental trofoblastlar, kalp, kemik,

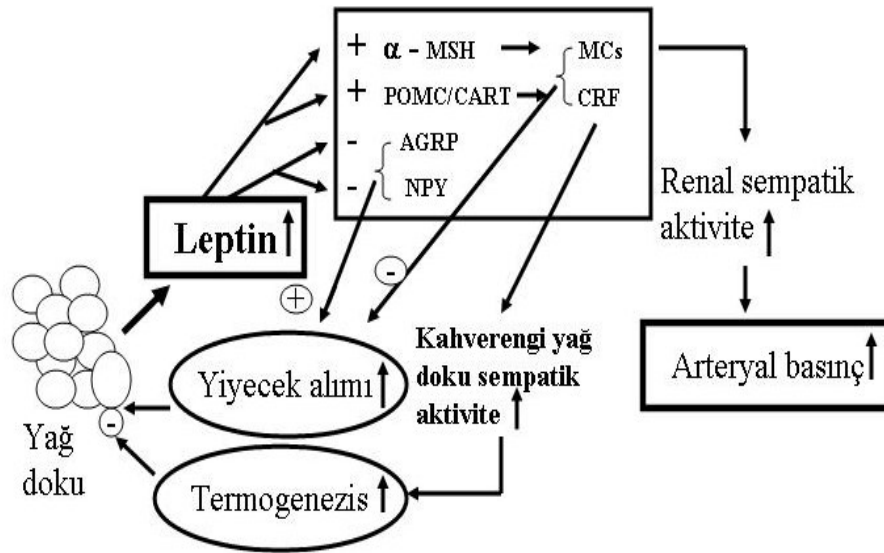
Saç folikülü gibi fetal doku hücreleri, Mide fundus epiteli, koryokarsinoma hücreleri

İnsanlarda obezite iki şekilde oluşur. Ya ob/ob farelerdeki gibi leptin yokluğu vardır ya da db/db farelerdeki gibi leptin vardır fakat leptin reseptör mutasyonu meydana gelmiştir. Leptinin yokluğuyla oluşmuş olan obezite leptin enjeksiyon edilerek tedavi edilmektedir (26).

Leptin; otokrin, endokrin ve parakrin etkileri olan bir hormondur (11). Kanda iki şekilde bulunur. Ya serbesttir ya da proteine bağlıdır. Leptin aktivitesinden serbest formunun etkili olduğu düşünülmektedir. Obez bireylerde leptinin serbest formunun artışı gözlenmiştir. Bunun sonucunda, obezitenin leptin eksikliği değil leptin rezistansından kaynaklandığı hipotezi doğrulanmaktadır. Leptin doyumluk ve enerji dengesi ile ilgili bir hormondur (Şekil-4). Yarılanma ömrü insanlarda yaklaşık 25 dakikadır (25). Genel olarak leptin yemekten 2-3 saat sonra salgılanır (21). Leptinin plazma konsantrasyonu sirkadian bir değişim gösterir. Öğleden sonra

yükselmeye başlar, gece yarısı pik yapar, gün doğumuna doğru seviyesi düşer ve en alt seviyelere iner (25).

Yiyecek alımı ve enerji harcanması hipotalamik aracılı etkilerle düzenlenir (23). Leptin enerji kontrolünü sağlayan ve vücut yağ oranını kontrol eden anahtar bir hormondur. Hipotalamusta enerji alımında, enerji harcamada ve hormonal fonksiyonlarda önemli rol oynar (27, 28). Beslenme ve enerji homeostazında önemli rolleri vardır. Besin alımının inhibitörüdür. Beyaz yağ dokusunun yanı sıra meme epitelinden, gastrik mukozadan ve placentadan da sentezlendiği tespit edilmiştir. Leptinin eksikliğinde veya rezistansında (Obezite, diyabet ve infertilite gibi) çeşitli hastalıklar meydana gelir. Konjenital leptin eksikliğine sahip kişilerde şiddetli obezite görülmektedir. Dolaşımdaki leptin seviyesi BKİ, beden yağ yüzdesi ve ağırlık ile pozitif ilişkilidir. Kişi aç iken insülin ve leptin baskılanır, ancak beslenmeye başlandığında ikisinin düzeyi artar. Kadınlarda yağ oranı fazla olduğu için leptin oranı yüksektir (25). Leptin erkeklerde ve hamile kadınlarda yalnızca adipositlerde üretilir. Adipositler arttıkça plazma leptin konsantrasyonu da artar (28).



Şekil 4: Beyaz yağ dokudan salgılanan leptinin iştah artıran ve azaltan etkilere karşı cevabı. AGRP ve NPY'nin iştah arttıran etkisini engellerken, α MSH ve POMC/CART'ın iştah azaltan etkisini aktive eder. (AGRP; aquoti related peptit, NPY; nöropeptit, POMC; proopi melanokortin, CRF; kortikotropin releasing faktör, MSH; melanosit stimüle edici hormon, MCs; melanokortin) (1).

2.6.1. Plazmadaki Leptin Miktarını Etkileyen Faktörler (26)

1. Hiperinsülinemi
2. Vücut yağ kitlesi
3. Cinsiyet
4. Metabolik hormonlar
5. Günlük besin alımı
6. Günlük enerji harcanması
7. Farmakolojik ajanlar (isoproterenol, propranol v.s)

Leptinin en önemli görevi vücuttaki yağ miktarını sabit tutmaktır. Leptinin üretiminde adipositlerin büyüklüğü ve yerleşimi önemli rol oynar. Kadınlar erkeklerden daha fazla leptin üretmektedir. Bunun nedenleri arasında testosteronun leptin üzerine baskılayıcı etkisi olması ve cinsiyete bağlı farklı miktarda yağ depolanması gösterilebilir (29). Obezlerde leptin üretiminde genetik defektler vardır. (30).

Leptin beslenme, termogenez, immün sistem, üreme, beyin gelişimi, solunum, kemik dansitesi fonksiyonlarını düzenlemede de rol oynar. Merkezi sinir sistemi üzerinde de etkileri vardır. İnsan obezitesi sadece leptin eksikliğinden kaynaklanmaz. Leptinin kendisine karşı bir dirençte gelişebilir. Reseptörlerde bir bozukluk meydana gelirse *direnç sendromu* görülür (25).

İnsanlarda leptinle ilgili obezite nedenleri (26);

1. Yağ hücrelerinde leptinin sentezi ve sekresyonunda bozukluk olabilir.
2. Kana geçen leptinin taşınmasında bir problem olabilir.
3. Leptinin KBB (kan beyin bariyeri) ve kan BOS bariyerini aşamaması
4. Hipotalamusta leptin reseptör ve sinyal iletimi yetersizliği olması

2.6.2. Leptin'in insan ve Memelilerde Fonksiyonları (26)

1. Beslenme davranışlarını düzenler
2. Otonom sinir sistemi fonksiyonlarını ayarlar
3. Metabolizma hızını ayarlar
4. Termoregülasyonda rol oynar
5. Sempatik aktivitede artışa sebep olur
6. Büyüme ve gelişmede rolü vardır
7. Üreme ve hematopoeziste etkindir

2.6.3. Leptin Reseptörleri

Leptin, tümör nekrozis faktör α (TNF α), interlökin 6 (IL-6), lösemi inhibitör faktör (LIF) ve diğer sitokin proteinleri ile yapısal bir homoloji gösterir. Bu nedenle sitokin benzeri bir hormondur. Leptin reseptörlerinin 6 izoformu bulunmaktadır. LEPRa, LEPRb, LEPRc, LEPRd, LEPRE, LEPRf. Bunların hepsinde ekstrasellüler bir leptin bağlama bölgesi mevcuttur fakat intrasellüler bölgeleri birbirinden farklılık gösterir. En uzun olanı LEPRb'dir (11).

Leptin santral ve periferik etkilerini reseptörleri aracılığı ile gösterir. (1,25). İnsanda; plesentada, fetal karaciğerde, hematopoetik kök hücrelerde ve beyinde leptin reseptörleri bulunmaktadır (1).

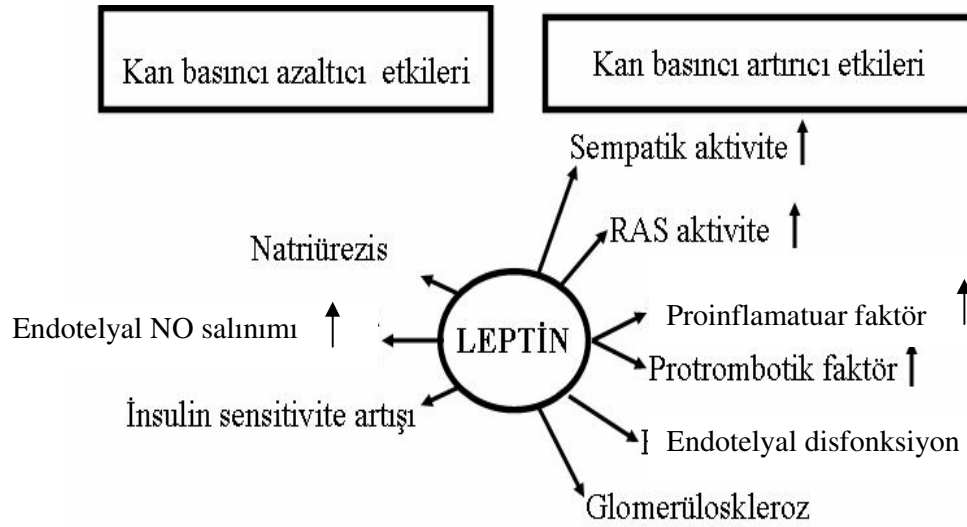
Leptin beyinde, hipotalamusta negatif feedback etki yaparak gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenler, obezite gelişimini engeller. Leptin reseptörleri iki tiptir:

- OB-Rb (uzun reseptörler)
- OB-Ra (kısa reseptörler)

OB-Rb sinyal iletimi kapasitesine sahiptir. OB-Ra ise sinyal iletiminde çok az rolleri vardır (21).

Karaciğer, akciğer ve kas dokularında leptin reseptör mRNA'sı vardır. Leptinin reseptör mRNA'sı böbreklerde ve akciğerlerde daha fazladır (28).

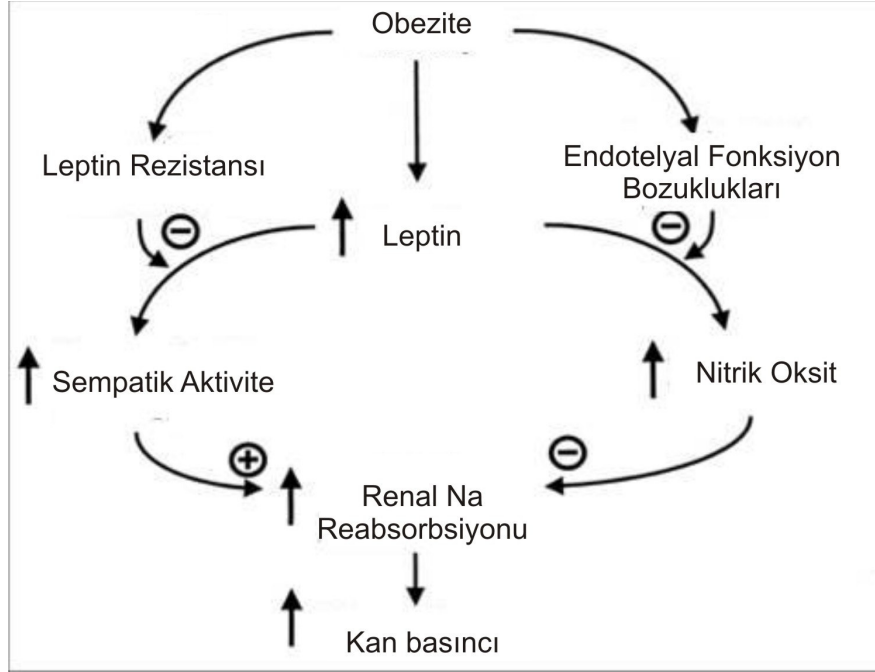
Leptin ile endotelial NO aracılı gevşeme artar. Hipotalamik nöropeptit Y'yi (NPY) baskıladığı için beyindeki bu etkisi ile NO sentezini azaltır (31). Hipertansiyon ile birlikte obezlerde ve obez olmayanlarda leptin düzeyi yüksektir (22,31). Leptinin kan basıncı üzerine etkileri Şekil-5'de verilmiştir.



Şekil 5: Leptinin kan basıncı üzerine etkileri (1)

2.6.4. Leptin Rezistansı

Obezlerde leptin direnci vardır (Şekil-6). Hiperleptinemi leptin rezistansı ile oluşur (14). Hiperleptinemi diğer bir deyişle leptin rezistansı obez hastaların hemen hemen tümünde gözlenir (2). Leptin LEPRb'ye bağlanır ve JAK2 aktive olur. Daha sonra STAT3 aktifleşir. STAT3 nükleusa gider ve hedef genlere bağlanır. Sitokin sinyal 3 reseptörlerinin (SOCS3) artan ekspresyonu leptin direncine neden olur. SOCS3 JAK2'yi bağlar ve STAT3'ün oluşumuna engel olur. Leptinin hücre içinde sinyalizasyonunun gerçekleşmesi için SOCS3 inhibe olmalıdır. SOCS3 artınca leptin direnci gelişir (11).



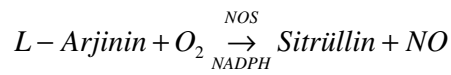
Şekil 6: Sempatik sinir sisteminde leptinin rolü (32)

2.7. Nitrik Oksit

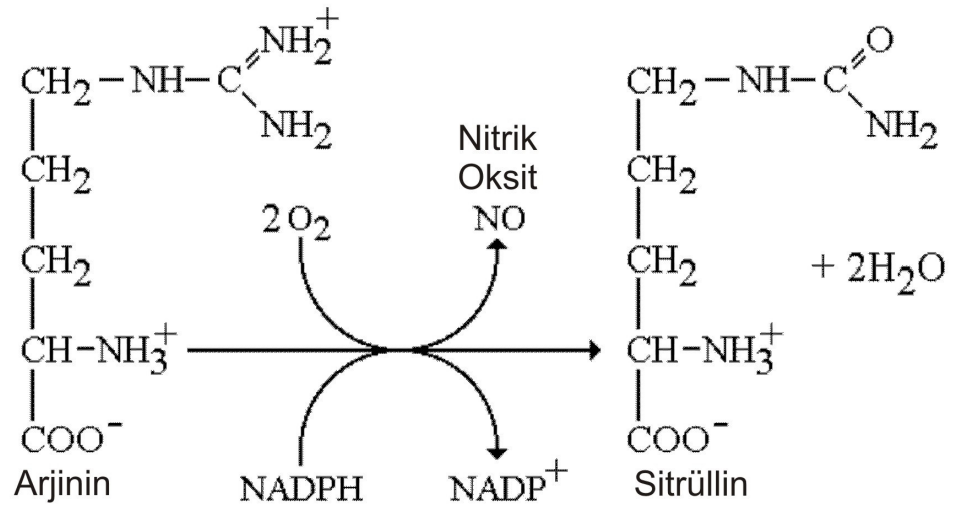
Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) renksiz, uçucu bir gazdır. Serbest radikal özelliğine sahiptir (33). NO , haberci ve sinyal molekülüdür (34). Serbestçe hücre membranından geçebilir. Yarı ömürleri kısadır. Moleküler oksijenle reaksiyonu birkaç saniye ya da dakikadır (35).

Atmosferde bulunan NO hava ile temasta oksitlenir ve nitrojen dioksite dönüşür. Nitrojen dioksit biyolojik dokular için zararlı bir bileşiktir. NO üzerinde yük taşımaz ve eşleşmemiş elektronu vardır. NO 'nun bu özelliği onun hücreden hücreye hiçbir engelle karşılaşmadan geçmesini sağlar. NO ; eşleşmemiş elektron bulundurması nedeniyle radikal bir moleküldür ve düşük konsantrasyonlarda önemli rollere sahiptir. NO 'nun konsantrasyonu düşük iken oksijenle kıyaslandığında hemoglobine 3000 kat affinite ile bağlanır. Eğer hemoglobin oksijen formunda ise NO 'yu nitrata oksitler (NO_3). Dolaşımda bulunan oksimiyoglobin NO 'nun kuvvetli inhibitörüdür (36).

NO, arjinin amino asitinden sentezlenir ve 2.dk'da biyolojik sistemden kaybolur (33,37). L-arjinin katyoniktir ve yarı esansiyeldir. L-arjinin nitrik oksit sentaz (NOS) için özel bir substrattır. Sinyal molekülü olan NO'yu üretir (Şekil-7,8) (37). Bu reaksiyon NOS aracılığı ile iki basamakta gerçekleşir. İlk basamakta arjinin guanido nitrojeni (N⁰) hidroksillenir ve N⁰-Hidroksi arjinin (N-OH-Arjinin) oluşur. İkinci aşamada ise sitrulin ve nitrik oksit oluşur. Arjininden NO oluşumu kuşlarda, balıklarda, omurgasızlarda, bitki ve bakterilerde de insandaki gibi gerçekleşmektedir (33).

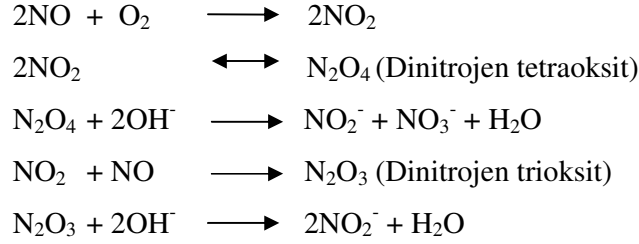


Şekil 7: L-Arjinin-NO yolu (36)



Şekil 8: L-arjinin NO yolu (38)

NO biyolojik dokularda bazı reaksiyonlara girer. Bu reaksiyonların nitrit ve nitrat oluşumu ile ilgili olanları aşağıda verilmiştir (39):



Tablo 3: Nitrojenin oksitlenmiş türleri (33)

Formül	Adı
NO·	Nitrojen monoksit
NO ⁺	Nitrozil
NO ⁻	Oksinitrat
NO ₂ ·	Nitrojen dioksit
NO ₂ ⁺	Nitril iyonu (katyonu)
NO ₂ ⁻	Nitrit
N ₂ O	Dinitrojen monoksit
NO ₃ ⁻	Trioksonitrat

NO'nin hidrofobik ortamdaki çözünürlüğü sudakinin 70 katı kadar olması nedeniyle biyolojik zarları geçebilmek için herhangi bir engelle karşılaşmaz. NO'nin difüzyonunu kısıtlayan tek faktör kendi reaktivitesidir (33).

NO kan basıncını homeostazında ve damar düz kaslarının tonusu düzenlemede önemli rol oynar (33,40). Nitrik oksit sitoplazmik guanilat siklazı aktive eder. Bu yolla damar düz kaslarında gevşemeyi sağlar. Kanın akış hızı endotel hücrelerinden NO sentezini artırır. Kan damarlarında kanın akış hızı artınca endotelde mekanik bir kuvvet meydana gelir ki bu kuvvete *yıkıcı stres* (*Shear stres*) denir. Endotelde *yıkıcı stres* meydana gelince NO sentez ve salınımı artar (33).

Koroner arter hasalıklarında trombosit bağımlı NO üretimi azalır. Trombosit bağımlı NO trombosit membranında üretilir. NO'nun azalması trombosit fosfolipitlerinin artmasına neden olur (41).

NO'nun doğrudan ve dolaylı etkileri vardır. 1 μM 'ın altındaki gözlenen düşük derişimleri *doğrudan etkidir*, fizyolojik fonksiyonlar için gerekenden daha fazla derişimde (1 μM 'ın üstündeki derişim) görülen etkiler *dolaylı etkidir*. Derişim artınca oksijenle tepkimede hızlanır (33).

Vücut kilosu ve NO çıkışı arasında bir ilişki vardır. Yani BKI ve NO çıkışı arasında pozitif ilişki vardır. Şiddetli obezlerde NO çıkışı azalır ve bu bozukluk kilo kaybıyla onarılır (42). Yoğun egzersiz ile NO yapımı azalmaktadır (24).

NO yiyecek alımı ile direkt ya da indirekt olarak ilişkilidir. Nöropeptitlerle bağlantılı yiyecek tüketiminde NO santral regülatör olabilir. Diyetle azaltılan obezite boyunca hipotalamik doyunluk merkezinde NO üretiminde artış meydana gelir. Bu şekilde NO mekanizması santral leptin mekanizmasının meydana gelmesine yol açar (30).

Vasküler düz kas hücreleri arjinaz aktivitesine sahiptir. NO sentezinin bozulmasıyla endotelial fonksiyon bozuklukları meydana gelir. Arjinaz endotelial fonksiyon bozukluklarına, obeziteye ve diyabete katkıda bulunur (37).

NO lipolitik aktivite için gereklidir. NOS lipolizi inhibe eder. Adipositlerde bulunan NO'nun görevleri henüz çok iyi anlaşılamamıştır (9).

Reaktif oksijenler NO'yu direkt olarak inaktive edebilir. Artan arjinaz aktivitesi ve L- arjininin intraselüler ortamda azalması, NO'nun biyoyararlanımını azaltır (37). Süperoksitler kan damarlarında NO derişimini kontrol eder (33).

NO L-arjinin dışında başka yollarla da sentezlenebilir. Konstitütif (esas) ve kalsiyuma bağımlı veya indüklenebilir ve kalsiyumdan bağımsız olarak sentezlenir. NO kan damarları tonusunu ve nöral iletiyi düzenleyen önemli biyolojik habercidir (36).

NO'nun;

- Sinir sisteminde nörotransmitter,
- İmmün sistemde, böbrek ve bağırsaklarda tuz ve suyun emiliminde düzenleyici,
- Hücreleri sitotoksik etkiye karşı koruyucu,

- Düz kasların gevşemesinde,
- Antioksidan olarak fonksiyonları vardır (33).

Nitrik oksit sentaz enziminin 2 izoformu vardır (33) :

1-Konstitütif (cNOS)

a) Endotelyal NOS (eNOS)

b) Nöronal NOS (nNOS)

2-İndüklenebilir (iNOS)

2.7.1. Konstitütif NOS (cNOS)

Endotel hücrelerini uyarırlar ve bu sayede NO üretilmeye başlar. eNOS kofaktör olarak NADPH ve Ca^{2+} / kalmodulini kullanır. N^G –Metil-L-arjinin (L-NMA) ve N^G –nitro-L-arjinin (L-NNA) eNOS’u inhibe eder. Eğer hücrede Ca^{2+} ve Ca^{2+} / kalmodulin seviyesi yükselirse eNOS aktive olur. Endotelden sentezlenen NO difüzyon ile düz kas hücrelerine geçer ve daha sonra guanilat siklazı aktive ederek cGMP seviyesini artırır. Bütün bunların sonucunda ise düz kaslarda gevşeme gerçekleşir (33,36).

Özellikle damar endotelinde, idrar yolu dokularında, periferik ve santral sinir sistemi dokularında bulunur. NOS bu dokularda her zaman vardır fakat inaktiftir. Hücre içinde Ca^{++} artınca kalmodulinle birleşir ve NOS’u aktive eder. Daha sonra L-arjininden NO sentezlenir. Fizyolojik şartlarda sadece cNOS aktiftir (36).

2.7.2. Nöronal NOS (nNOS)

nNOS adrenal bezde, sinir sisteminde ve astrositlerde bulunmaktadır. Bu enzimin aktivitesi de kalsiyum kalmodulin bağımlıdır (33). nNOS ve eNOS kalsiyum bağımlı kalmodulin bağlanması mekanizmasını düzenler (34).

2.7.3. Endotelyal NOS (eNOS)

eNOS sentezi endotelyal fonksiyonlarda, vasküler tonda ve biyolojik dokularda önemli rol oynar. Endotel hücrelerinde NO kalsiyum bağımlı nitrik oksit sentaz enzimi ile sentezlenir (43).

eNOS oksidasyonu katalizler ve L-arjininden NO üretilir. Endotel bağımlı NO aracılı vazodilatasyon hormonlara karşı cevap olur (40). Obezlerde endotelial NO eksikliği, endotele bağılı vazokonstriksiyonu arttırır (6).

2.7.4. İndüklenebilir NOS (iNOS)

Sitoplazmik bir enzimdir. Ancak bunların aktiviteleri kalsiyumdan bağımsızdır. Sadece kalmoduline ihtiyaç duyarlar. Çünkü kalmodulin iNOS'un bir alt birimidir. Uzun süreli NO sentezinde görevlidir. Aktivitelerini glukokortikoidler inhibe ederler (33). iNOS hücre içinde bulunmaz. Makrofajlarda ve damar endotelinde sentezlenir (36). iNOS kalsiyum iyonlarına bağımlı çalışmaz ve çeşitli inflamasyonlarda artar (34).

iNOS endotoksinler ve sitokinler tarafından pek çok hücrede indüklenir. iNOS büyük miktarda NO'yu serbest bırakır. iNOS aktivitesindeki artış sitotoksiteye neden olur (44).

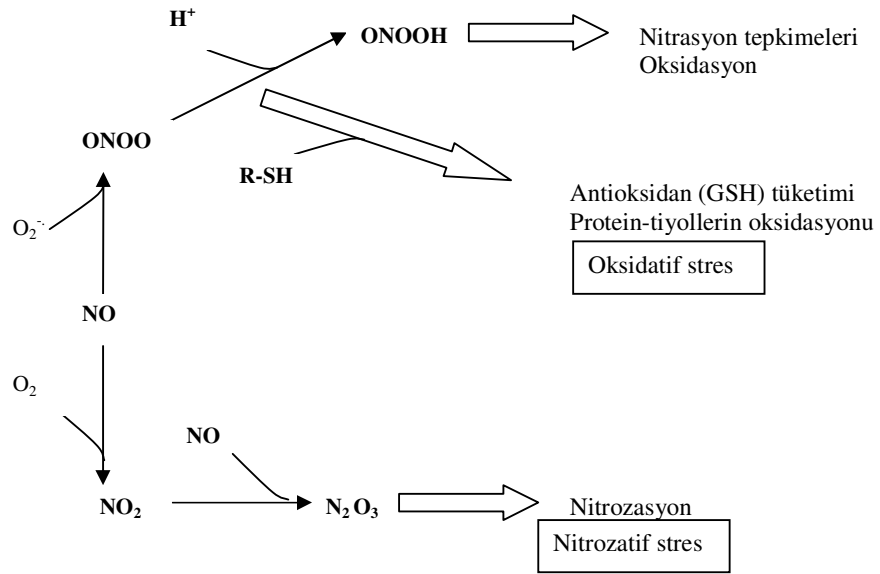
2.7.5. Mitokondri Nitrik Oksit Sentazı (mtNOS)

Nitrik oksit sentezleyen ve mitokondride bulunan bir organeldir. Mitokondrideki NO aktivitesi bu enzim tarafından kontrol edilir. Mitokondri süperoksit ve oksijen radikallerinin çok fazla üretildiği bir organeldir (33).

2.7.6. Nitrozatif Stres

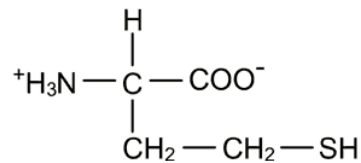
Biyomoleküllerin nitrozasyon tepkimesine uğramasıyla meydana gelir. Nükleofil bir gruba, reaktif nitrojen oksit türleri tarafından nitrozonyum (NO⁺) grubu aktarılarak nitrozil türevinin oluşturulmasıdır (Şekil-9) (33).

Nitrozatif stres hücre fonksiyonlarını bozar ve nitrozilat proteinlerinin aşırı derecede birikimi ile karakterize edilir. Hücreleri NO'ya ve nitrozotiyollere karşı spesifik enzimler korur fakat ROS'a karşı korumaz. Ancak SOD ve katalaz ROS'a karşı korur (44).



Şekil 9: Nitrik oksitten kaynaklanan oksidatif ve nitrozatif stres (33)

2.8. Homosistein

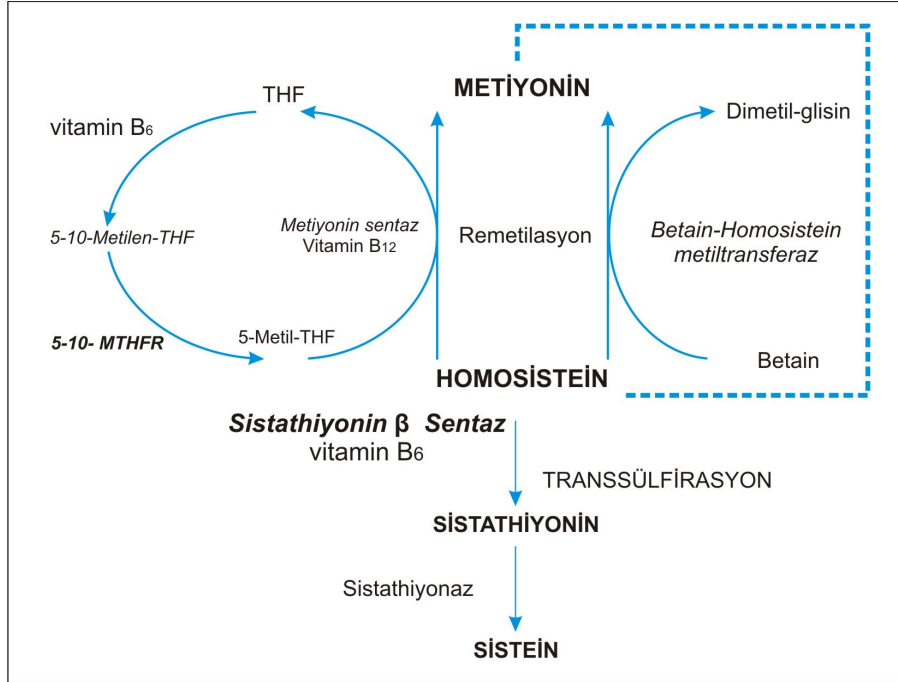


Şekil 10: Homosistein (32)

Homosistein sülfür içeren bir amino asittir (Şekil 10) (45,46). Diyetle bulunmaz ancak insanda metiyonun metabolizması sonucu oluşur ve tiyol içerir (46,47). Homosistein kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörüdür. Konsantrasyonu yaşla birlikte artar, ayrıca erkeklerde konsantrasyonu kadınlara oranla daha yüksektir (47,48). Normal hücrelerde homosistein iki tip remetilasyon yoluyla tekrar metiyonine çevrilir (Şekil-11) (45);

1- Vitamin B_{12} bağımlı metiyonin sentazın katalizlediği reaksiyon ile bir metil grubunun 5-metiltetrahidrofolat'tan (5-MTHF) homosisteine transfer olması,

2- Betain veya trimetilglisinindeki bir metil grubunun geri dönüşsüz homosisteine transfer olması.



Şekil 11: Homosistein Metabolizması (32)

L-homosistein çeşitli dokularda ve hücrelerde birincil aktif formdur. Çeşitli patolojik hastalıklar ve özellikle kardiyovasküler hastalıklarda plazmadaki seviyesi artar (26).

Dolaşımda bulunan homosisteinin sadece %1'i serbest homosistein şeklinde bulunur. %80'i disülfid köprüleri ile albümine bağlı olarak bulunur, bağlı olmayan homosistein ise homosistein-homosistein ve homosistein-sistin halinde bulunur (45). Homosistein vitamin B₆ bağımlı reaksiyonlar ile sisteine dönüşür (47).

Yüksek plazma homosistein seviyesinin nedenleri arasında B vitamini, folat ve böbrek yetmezliği vardır. Folik asit alımı, yüksek homosistein seviyelerini düşürür (45). Plazma homosistein düzeyini belirleyen başlıca parametreler folat ve B₁₂ vitaminleridir (46).

Yüksek plazma homosistein seviyesi güçlü kardiyovasküler risk faktörüdür. Koroner arter hastalıkları, ateroskleroz, periferik damar hastalıkları gibi hastalıkları

ile yüksek homosistein seviyesi arasında pozitif bir ilişki vardır. Yüksek homosistein seviyesi endotel sitotoksitesine neden olmaktadır. Homosisteinin oksidasyonu hidrojen peroksit oluşumuna neden olur. Bunun sonucunda endotel hasarı meydana gelir. Homosistein nitrik oksit inhibisyonu ile ilişkilidir ve endotel bağımlı 'geçiş aracı' dilatasyona neden olur (45).

Yaşam şartları ve diyet homosistein konsantrasyonunu etkiler (47). Sigara ve kahve tüketimi homosistein konsantrasyonu ile pozitif ilişkilidir (46). Diyetle yüksek miktarda folat alımı veya folik asit alımı homosistein konsantrasyonunu azaltır. Kandaki vitamin B₆ ve vitamin B₁₂ konsantrasyonları homosistein konsantrasyonu ile negatif ilişkilidir (47). Serumda folat ve vitamin B₁₂ düzeyi düştükçe homosistein konsantrasyonu artmaktadır (46). Homosistein metabolizması koenzim olarak vitamin B₁₂ ve folat gerektirir. Folik asit tek başına veya vitamin B₆ ile birlikte kullanılabilir (45).

Homosistein NO salıverilmesini artırır. Homosistein otooksidasyona uğrayınca homosistin, miks disülfidler ve homosistein tiyolakton oluşturur. Ayrıca yine bu otooksidasyon sonucu süperoksit ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri meydana gelir. NO salıverilmesi süperoksit dismutaz ve katalazla inhibe edilir (48).

Homosistein, serbest radikallere karşı endotel hücrelerinin savunma yeteneğini azaltır. Örneğin; SOD'ın endotele bağlanmasını sağlayan heparan sülfat proteoglikanını bozar ve SOD'ın arterial endotele bağlanmasını engeller. Homosistein SOD etkinliğini azaltmaktadır (16).

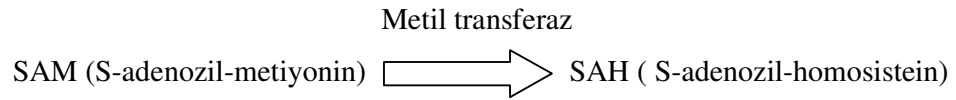
BKI ile homosistein arasında pozitif bir ilişki vardır. Obez bireyler normal bireylerle kıyaslandığında homosistein konsantrasyonu çok az yüksektir. BKI'de her 5 kg/m² artış homosisteinde %10 artışa neden olmaktadır. Meyve ve sebze fazla tüketmek ayrıca aerobik egzersiz yapmak homosistein konsantrasyonunu düşürmektedir (46).

Plazmadaki total homosistein seviyesi trombozis ve vasküler hastalıklarda risk faktörüdür. Yüksek homosistein seviyesi leptin rezistansına neden olur. Artmış homosistein hiperleptinemiye ve apolipoprotein B (ApoB) seviyesinin artmasına neden olur ve kardiyovasküler hastalıklar gelişir. Bütün bunlar obezitenin yaygınlaşma nedenleridir (46).

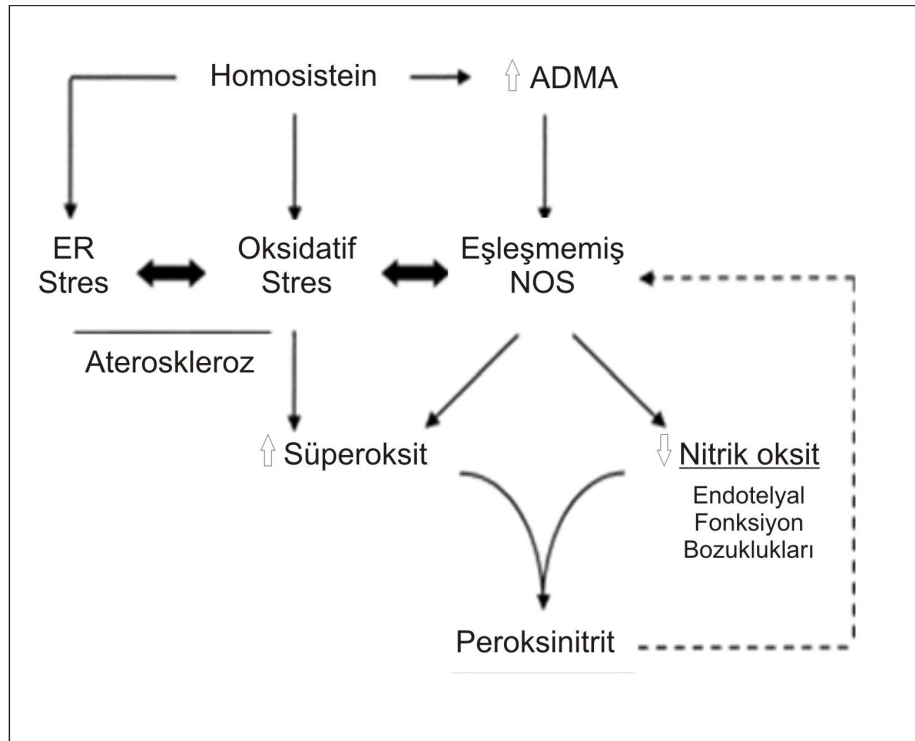
Homosisteinin plazma ve dokularda birikimi için 4 yol vardır: (49) :

- 1- Metiyoninden zengin protein diyeti (de-metilasyon)
- 2-Vitamin B₁₂ /folat eksikliği (re-metilasyon)
- 3-İnsanda CBS (sistatinyonin-β sentaz) aktivitesi için homozigot, heterozigot karakterler ve B6 eksikliği (transsülfonasyon)
- 4-Renovasküler stenoz ve retansiyon hacmi.

Homosisteini oluşturan süreç metilasyondur (45) :



SAH'da homosisteine hidrolize olur. Homosisteinin birikimi hücrelerde oksidatif stresin artmasına neden olur (Şekil-12) (50).



Şekil 12: Homosistein ve Oksidatif Stres (50)

2.8.1. Hiperhomosisteinemi

Hiperhomosisteinemi; serebral, periferik ve koroner arter hastalıklarında ayrıca venöz trombüs gibi durumlarda meydana gelen laboratuvar bulgusudur (7). Plazma homosistein düzeyi 15 µmol/L üzerindeki değerler hiperhomosisteinemi olarak adlandırılır (51). En önemli nedeni vitamin eksikliğidir. Hiperhomosisteinemi tanısı konulan hastalara uygulanan ilk tedavi şekli antioksidan vitamin takviyesidir (42).

Hiperhomosisteinemi aterosklerotik ve thromboembolik vasküler hastalıklarda büyük bir risk faktörüdür (49). İnsan hayatının ilk dönemleri için inme riskini artırır (7). Kalıtsal enzimatik defektler ve beslenme bozuklukları, folat, pridoksin ve kobalamin (B₁₂) eksiklikleri kandaki total homosistein seviyesini yükseltir (23).

Hiperhomosisteinemi endotelial zararlara yol açar. Damar düz kas hücrelerinin büyümesine neden olur ve endotelin antitrombotik özelliğinin trombotik yönde değişmesini sağlar. Plazmada her %3'lük homosistein artışı koroner arter hastalıklarının %10 artmasına neden olur ve felç riski %20 artar (49).

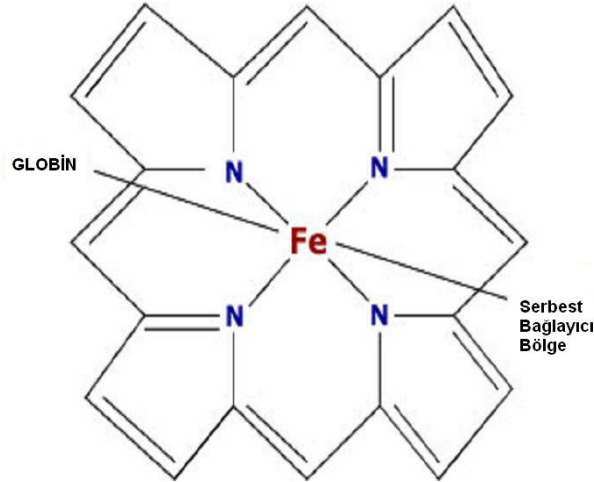
Hiperhomosisteinemi oksijen radikalleri oluşumunun artmasına, LDL oksitlenmesi ile birlikte trombosit aktivasyonuna ve trombosit kümelenmesine yol açar (7).

Hiperhomosisteinemi endotelial işlev bozukluklarına da sebebiyet verirken kardiyovasküler hastalıkların gelişimini tetikler (50).

Hipertansiyon, sigara içmek, diyabet ve insülin rezistansı gibi hastalıklar ile homosistein arasında bir ilişki vardır. Plazmada homosistein artışı vazodilatasyonun bozulmasına neden olur. Homosistein ile NO biyoyararlanımı azalır. Homosistein aortik duvarın elastikiyetini azaltır, kan basıncını artırır ve taşikardi tetikler (49).

Homosistein endotelial hücrelerdeki trombin ile üretilir. Hiperhomosisteinemide artmış oksidatif stres asimetrik dimetilargininin (ADMA) birikimi ile yakından ilişkilidir (51).

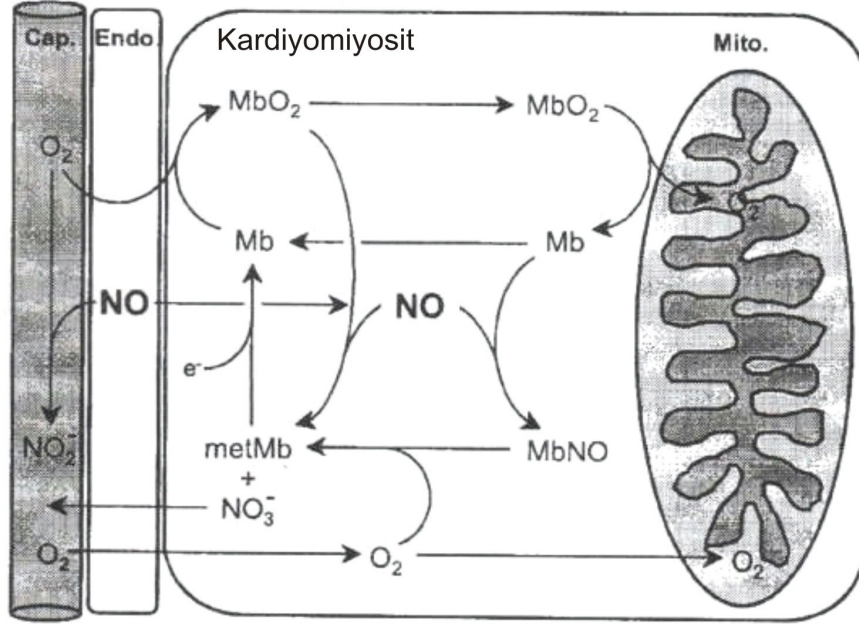
2.9. Miyoglobin



Şekil 13: Miyoglobin (52)

Miyoglobin globüler bir proteindir (Şekil-13) (53). Vertebra tip1 ve 2a iskelet ve kalp kası dokularının sitoplazmasında bulunur (54). Hemoglobin gibi hem grubu içerir ve yine hemoglobin gibi oksijenasyon (oksijenlenme) ve deoksijenasyon yeteneğine sahiptir (55). 17200 molekül ağırlıklı, 153 aminoasit içeren tek bir polipeptit zinciridir, kalp ve oksidatif iskelet miyofibrillerinde bulunan intraselüler bir hemoproteindir (53, 54, 56). Memeli hücrelerinde oksijen ve enerji depolamada ve transportunda önemli rol oynar (57). Miyoglobin (Mb) oksijeni taşır ve sıkıştırılmış, hızla eriyebilir bir yapıdadır (58,59). Miyoglobin, hasarlı miyokard hücreleri tarafından dolaşıma salınır ve infarktüsün başlangıcından hemen sonra artan konsantrasyonlarda serumda belirlenebilen, düşük molekül ağırlıklı bir proteindir. Arteriyoller ve onu çevreleyen dokularda NO'nun oksimiyoglobin ile oksidatif reaksiyona girmesi sonucunda endotel hücrelerinde çok miktarda NO tüketilir. NO oksijensiz miyoglobine bağlanır. Serum Mb değerleri miyokardiyal hasar dışında, renal yetmezliklerde de artabilir (60). Kalp kasında Mb'nin eksikliği NO konsantrasyonunu değiştirir. Bu değişim vasküler tonda ve kalp fonksiyonlarında büyük ölçüde önemli değişimler meydana getirir (55). Mb komşu hücre membranından O₂'yi alır, sitozolden geçirir ve mitokondrinin yakınlıklarına O₂'yi

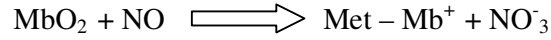
bırakır ve tekrar hücre membranına deoksijenat durumunda geri döner. Buna “kolaylaştırılmış oksijen difüzyonu” denir (Şekil-14) (61).



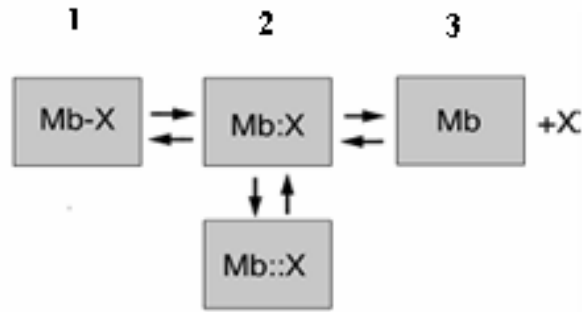
Şekil 14: Miyoglobin ve NO (55)

Miyoglobin NO ile yüksek reaktivite gösterir. NO hem oksimiyoglobin (MbO_2) ile reaksiyona girer hem de sitokrom c oksidazın inhibitörüdür (58). Kimyasal mekanizmada miyoglobinin NO dışında hemoglobin ve CO'ya da affinitesi vardır (62). İnsanda MbO_2 ile depolanan oksijen metabolizmayı güçlü tutar ve solunumsal zincirin aktivitesini güçlendirir (63). Miyoglobinden oksimiyoglobin oluşumu Şekil-16'da gösterilmiştir. Mb kırmızı kaslarda NO toplayıcı bir rol oynar. NO konsantrasyonu artınca total MbO_2 konsantrasyonu azalır. Buna paralel olarak ferrik Mb (Met Mb) formasyonları artar. NO düşük konsantrasyonlarda yıkılabilir. Met Mb azalınca MbO_2 'ye dönüşür ve hızlı ve etkili bir biçimde birikimi engellenir (58). Met Mb iki farklı reaksiyon yolu izler (35):

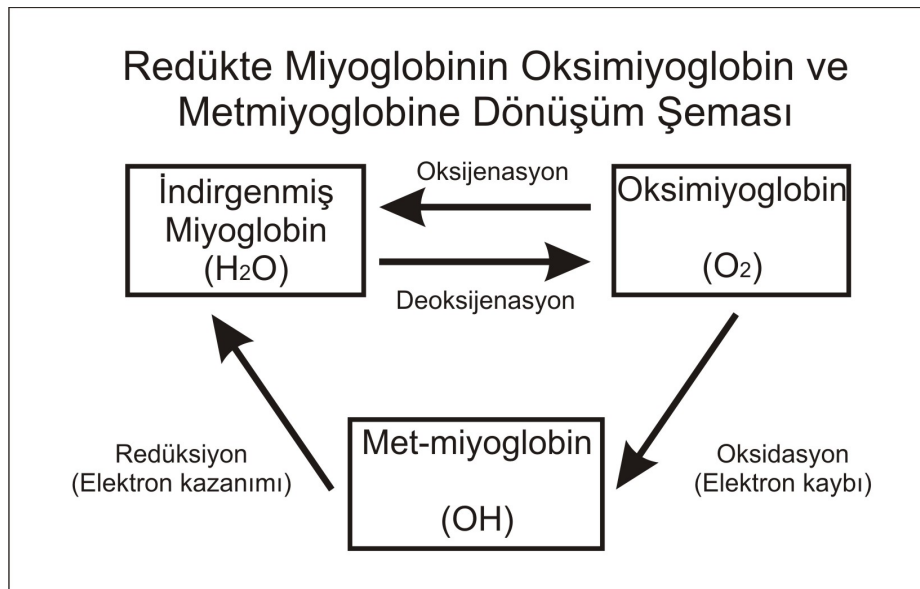
- 1- Direk NO ile etkileşerek MbO_2 oluşturur.
- 2- Nitrozilasyon ile deoksijenat Mb'den $MbNO$ oluşturur.



Deoksijenat durumdaki Mb CO, NO gibi ligandları ve yağ asitlerini bağlar ve bu tip ligandlara O₂'den daha fazla affinite gösterir (Şekil-15) (64,65).



Şekil 15: Miyoglobin ve ligand bağlanması (64)



Şekil 16: Miyoglobinden oksimiyoglobin üretimi (38)

Mb'nin O₂'ye yüksek affinitesi vardır. Mb'nin MbNO formu kapillerde bulunmaya daha yatkın bir formdur. MbNO genellikle met Mb'e dönüşerek O₂ taşır (35).

Miyoglobinin Fizyolojik Fonksiyonları (54)

- 1- Kısa süreli oksijen depolama (Oksijen buffer)
- 2- Uzun süreli oksijen depolama
- 3- İntrasellüler oksijen difüzyonunu kolaylaştırma
- 4- Oksijeni toplama
- 5- Biyokimyasal katalizör
- 6- Oksijeni algılama

Mb, bütün organizmadaki NO turnoverinde önemli role sahiptir (35). NO miyoglobin ya da hemoglobini inhibe eder. Çünkü NO hem ile güçlü reaksiyon verir. NO trombosit fonksiyonlarını inhibe eder ve pıhtı (tromboz) oluşumuna karşı güçlü bir koruyucu rol üstlenir. NO ferril miyoglobini azaltır. Met-miyoglobin ve met-hemoglobin LDL oksidasyonunu artırma yeteneğindedir. Miyoglobinin ferril türevleri LDL'nin oksidasyonunu başlatır. NO ferril miyoglobinin met formunu azaltır (66).

Bu çalışma ile obez bireylerde birçok hastalığın teşhisinde markır olabileceği düşünülen nitrik oksit, homosistein, leptin ve miyoglobin parametrelerini ölçüp bunlar arasında bir ilişki olup olmadığını değerlendirmeyi amaçladık.

3. MATERYAL METOD

3.1. Örneklerin Toplanması

İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp merkezi Endokrinoloji Bölümü'ne başvurup obezite tanısı olan hastalar arasından alkol, ilaç kullanmayan ve diyabet tanısı olmayan hastalar çalışma grubunu oluşturmuştur. Her hastaya çalışma hakkında genel bilgi verilmiştir. Çalışmaya katılmak isteyenlerden 5 ml kan alınmıştır. 30 obez (BKI>30) ve 30 obez olmayan kontrol grubu (BKI< 25) deney grupları oluşturulmuştur. Kontrol grubunu ise sigara ve alkol kullanmayan sağlıklı ve gönüllü 30 birey oluşturmuştur. Çalışmaya katılan bütün hastaların glukoz, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, VLDL kolesterol ve trigliserit düzeylerine bakılmıştır.

3.2. Veri Toplama Aşaması

Araştırmaya başlamadan önce etik kurul raporu alınmıştır (Ek:1). Çalışmanın amacı obez bireylerde nitrik oksit, homosistein, leptin ve miyoglobin düzeylerinin araştırılıp kıyaslanmasıdır. Bu çalışmada ilaç dışı araştırmalar için gerekli olan araştırma protokolü hazırlanmıştır (Ek: 3).

3.3. Kullanılan Araç Gereç ve Kimyasal Malzemeler

Kimyasal Malzemeler

Disodyum tetra borat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$), glisin ($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}$), sodyum hidroksit (NaOH), bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), çinko sülfat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), sülfanilamid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$), sülfirik asit (% 36-38) (H_2SO_4), kadmiyum granülleri (% 99,9) kullanılmıştır.

Kullanılan Araç Gereçler

Hettich Universal 320 R marka santrifüj, Medisis marka pipet, Thermo Orion 420 marka pH metre, Denver APX-153 marka hassas terazi ve Shimadzu UV-1201V marka spektrometre kullanılmıştır.

3.4. Numune Alınması ve Numunelerin Hazırlanması

Serum numunelerinin hazırlanması

Hasta ve kontrol gruplarından 5 ml kan alınmıştır. Alınan kanlar biyokimya tüpleri ile 3000 rpm'de +4 °C'de 10 dk santrifüj edildikten sonra üstteki plazma kısmı pastör pipeti ile ayrı eppendrof tüplere alınıp -40 °C'de çalışma zamanına kadar saklanmıştır.

3.5. Metodlar

3.5.1. Serumda Trigliserit, Glukoz, Kolesterol ve HDL Ölçümü

Trigliserit, Glukoz, Kolesterol ve HDL ölçümleri Architect c Systems - Aeroset Systems cihazı ile enzimatik olarak ölçülmüştür.

Trigliserit ölçümü için Gliserol fosfat oksidaz metodu kullanılmıştır. Trigliserit enzimatik olarak serbest yağ asitleri ve gliserole hidrolize olur. Gliserolden gliserol kinaz ile gliserol-3-fosfat oluşur. Gliserol-3-fosfat dihidroksiaseton fosfata oksitlenir ve H₂O₂ üretilir. Renkli reaksiyon peroksidaz tarafından katalizlenir. H₂O₂ 4-aminoantipirin ve 4-klorofenol ile kırmızı renk verir. Bu renk örnek içindeki trigliserit konsantrasyonu ile orantılıdır. 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

Glukoz ölçümü için heksokinaz / gliserol-6-fosfat dehidrogenaz (G-6 PDH) metodu kullanılmıştır. Glukoz, glukoz-6 fosfat ve adenzin difosfata fosforillenir. G-6 PDH glüköz-6 fosfatı 6-fosfoglukonata oksitler. Aynı anda NAD ve NADH'lar üretilir. 1 mikromol NADH 1 mikromol glukoz tüketildiğinde üretilir. NADH'ın absorbe ettiği ışık 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür.

Kolesterol ölçümü için enzimatik bir metod kullanılmıştır. Kolesterol esterleri kolesterol esteraz ile enzimatik olarak kolesterol ve serbest yağ asitlerine hidrolize olur. Kolesterol kolesterol oksidaz ile hidrojen peroksite oksitlenir.

Hidrojen peroksit hidroksibenzoik asit ve 4-aminoantipirin ile birleşir ve 500 nm’de okunur.

HDL ölçümünde iki belirleyici reaksiyon gerçekleşir. İlk reaksiyonda DSBmT peroksidaz ve kolesterol oksidaz ile HDL dışındaki kolesteroler çöktürülür. İkinci reaksiyonda HDL’ye özgü bir deterjan ile HDL’ler ayrıştırılır. HDL kolesterol kolesterol esteraz ile kolesterol ve H₂O₂’ye dönüşür. H₂O₂, 4-aminoantipirin ve DSBmT ile renkli bir reaksiyon meydana getirir. Renkli çözeltilerden kromojenik olarak ölçüm yapılır.

3.5.2. Serumda Total Nitrit Ölçümü

Nitrik oksit, nitrik oksit sentaz enzimleri tarafından sentezlenir ve sulu ortamda kendiliğinden hızla oksitlenerek nitrata dönüşür. Nitrik oksit (NO), 2-30 sn gibi çok kısa sürede nitrit (NO₂) ve daha sonra da nitrata (NO₃) oksitlenir. Nitrat, nitrik oksit türevlerinin en kararlı yapısıdır. Nitrik oksit stabil yapıda değildir ve bu nedenle direkt ölçmek çok zordur. Nitrat kadmiyum ile nitrite indirgenir ve nitrit miktarı esas alınarak NOS aktivitesi ölçülür. Ortamdaki NOS aktivitesi ile oluşan NO, nitrit üzerinden Griess reaktifi ile tepkimeye girdiğinde oluşan renkli bileşik spektrofotometrede 545 nm’de ölçülmüştür (67).

Fizyolojik şartlarda NO yaklaşık olarak 3:2 oranında nitrit ve nitrata okside olmaktadır (39).

Kullanılan Reaktifler

1. Kadmiyum Granülleri: 0.1 M H₂SO₄ içerisinde 9 ay stabil saklanabilir.

2. Sülfanilamid: 5 g sülfanilamid 3 mol/L HCl asit içinde çözülmüştür. 1 yıl oda sıcaklığında stabildir.

3. Glisin-NaOH tampon: 15 g glisin bir miktar distile suda çözüldükten sonra pH’ı 2mol/L NaOH çözeltisi ile 9,7’ye ayarlanmıştır. Son hacim 1 litre olacak şekilde distile su ile tamamlanmıştır. Bu çözelti 1 ay 0-8 °C’de stabildir.

4. Çinko Sülfat (ZnSO₄): 75mmol/L; 10,8 mg alınıp 500 ml’ye distile su ile tamamlanmıştır.

5. Bakır Sülfat (CuSO₄): 5mmol/L; 250 mg CuSO₄ alınıp 200 ml’ye distile su ile tamamlanmıştır

6. N-Naftiletilen daimine (NNDA): 50 mg NNDA 250 ml distile suda çözülmüştür. Bu çözelti 2 ay 0-8 °C'de stabildir.

7. Sodyum Hidroksit (NaOH): 55mmol/L; 1,1 g alınıp 500 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır.

Standartlar:

NaNO₂ standartı: 85 mg sodyum nitrit tartılıp 10mmol/L sodyum tetra borat (Na₂B₄O₇.10H₂O) içerisinde çözülmüştür.

Deneyin Yapılışı

Deproteinizasyon

Deproteinizasyon işleminin uygulanması

	Numune	Kör
Numune (Plazma)	0.5 ml	-
Çinko Sülfat	2 ml	2 ml
Sodyum Hidroksit	2.5 ml	2.5 ml
Distile Su	-	0.5 ml

Oda ısısında 10 dakika bekletildikten sonra 4000 x g 'de 20 dk santrifüj edilmiştir.

Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu

Granüller 3 defa distile su ile yıkanmıştır. 1-2 dakika CuSO₄ çözeltisi içinde bekletilmiş ve daha sonra vortekslenmiştir. 3 defa da Glisin-NaOH tampon ile yıkanmıştır. 10 dakika içinde kullanılmak üzere kurutma kâğıdı yardımıyla kurutulmuştur.

Total Nitrit Ölçüm

Total nitrit ölçümü

	Numune	Standart
Glisin-NaOH buffer	1 ml	1ml
Deproteinize sample	1ml	-
Standart dilusyonu	-	1ml
2.5-3 gr Cd granülleri (indirgenmiş)	Var	Var



-90 dk oda ısısında inkübasyon-



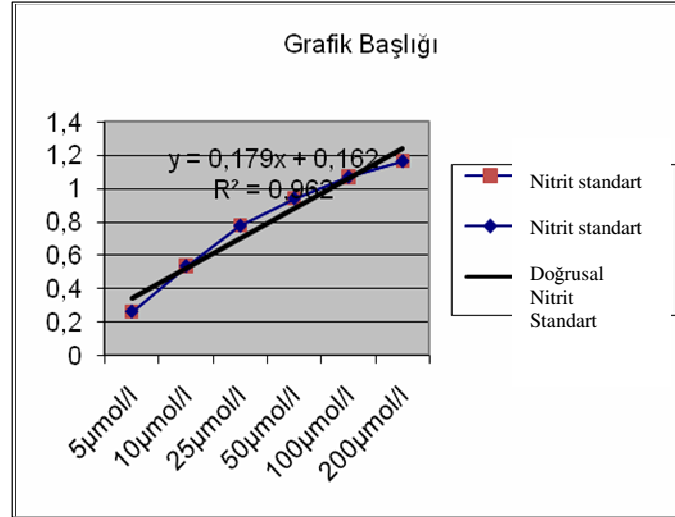
	Numune	Standart	Kör
Distile Su	-	-	1 ml
Numune (indirgenmiş)	1 ml	-	-
Standart	-	1 ml	-
Sülfanilamid	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
N-Naphthylethylene diamine	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml

Standart Ölçümü

Standart ölçmek için 10 mmol/L NaNO₂ stok çözeltisinden 5; 10; 25; 50; 100; 200 µmol/L'lik seri dilusyonlar hazırlandı. Numunelere uygulanan işlemlerin aynısı standartlara da uygulandı.

Nitrit Düzeyinin Hesaplanması

Absorbanslarını 545 nm’de okuduğumuz numune sulandırma faktörü olan 10 ile çarpılıp, elde ettiğimiz değer nitrit standart eğrisinden elde edilen faktörle çarpılıp sonuç $\mu\text{mol/l}$ olarak hesaplanmıştır.

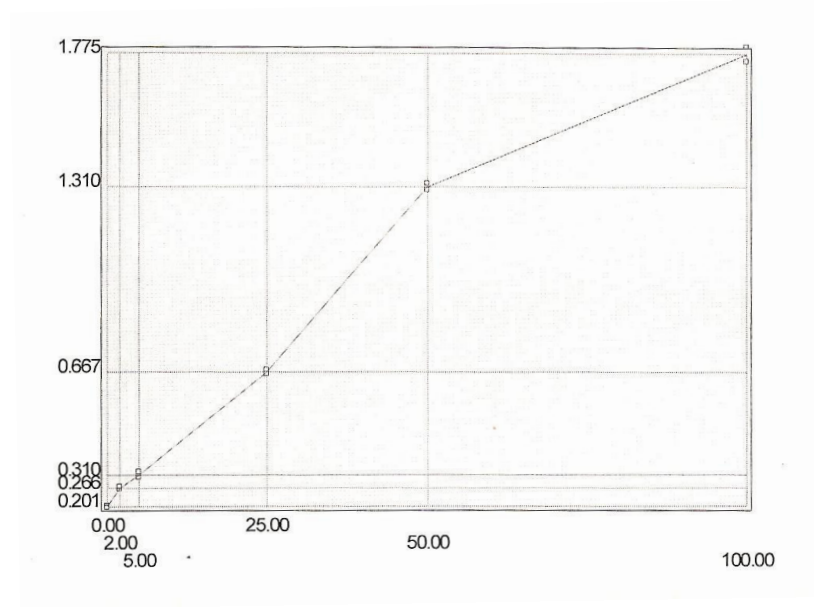


Grafik 1: NO₂ Standart Grafiği

3.5.3. Serumda Leptin Ölçümü

Biyokimya laboratuvarında Brio Seac Radim cihazında Human Leptin Elisa Kiti ile standart ölçümler yapıldı. Laboratuvarın normal değerleri kadınlar için 3,83-1,79 ng/ml, erkekler için 7,36-3,73 ng/ml’dir.

Bu yöntemde monoklonal anti leptin antikorunu ile kaplanmış mikrotiter kuyucuklar kullanıldı. Bu kuyucuklardaki antikorlar tavşan anti leptin antikorları ile kaplıdır. Endojen leptin içeren hasta örnekleri kuyucuklara pipetlendi. İnkübasyona bırakılınca sıkıştırılmış bir kompleks meydana geldi. İnkübasyondan sonra kompleksin bağı çözülür ve materyal yıkanır. Anti tavşan peroksidaz konjugantı eklenir ve bağı olan leptinler saptanır. Substrat solüsyonu eklenir. Meydana gelen renk şiddeti hasta örneklerindeki leptin konsantrasyonu ile orantılıdır (68). Leptinin kalibrasyon eğrisi aşağıda verilmiştir.



Grafik 2: Leptinin kalibrasyon eğrisi

3.5.4. Serumda Homosistein Ölçümü

Biyokimya laboratuvarında Shimadzu HPLC cihazı ile ölçüm yapıldı. Laboratuvarın normal değerleri 6-15 µmol/L'dir. Plazma homosistein seviyesi 15 µmol/L'yi geçtiğinde Hiperhomosisteinemi görülür (69).

HPLC yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Homosistein kanda genellikle proteinlere bağlı bulunur. Öncelikle örnek içindeki homosistein formları serbest bırakılır. Daha sonra presipitasyon reagent ile numune deproteinize olur. Presipitant santrifüj ile ortadan kaldırılır. Son olarak analit floresans markır ile bağlanır ve kromatografik ayırma gerçekleşir. Ayırım için ters faz kolon kullanılır. Analit UV dedektör ile ölçülür (70,71).

HPLC İçerik**İndirgeme**

100 µl serum	25 µl internal standart	25 µl çözelti A
--------------	-------------------------	-----------------

5 dk karıştırma

Presipitasyon

150 µl indirgenmiş numune	100 µl çözelti B
---------------------------	------------------

5 dk karıştırma, 5 dk 10000 g santrifüj

**Numunenin
konjugasyonu**

50 µl süpernatant	100 µl reagent C	50 µl çözelti D
-------------------	------------------	-----------------

5 dk karıştırma, 60°C 'de 60 dk inkübasyon, 5 dk bekleme

HPLC- analiz

Enjeksiyon 20 µl

3.5.5. Serum Miyogloblin Ölçümü

Miyoglobinin kandaki normal seviyesi yükselmeye başlar ve ilk 1-3 saat içinde artmaya devam eder. 6-12. saatler içinde pik yapar ve 24-36. saatlerde tekrar normal seviyesine döner (72,73). Miyogloblin ölçümleri, CLEIA (Chemiluminescence Enzyme Immuno Assay) yöntemine dayanan PATHFAST analizöründe (Mitsubishi Kagaku Latron, Inc. Tokyo, Japon) testlerin çalışma prospektüslerinde belirtilen serum örnekleri kullanılarak yapıldı. Reaktif olarak Mitsubishi Kagaku Latron, Inc. tarafından hazırlanan kartuşlar kullanıldı. Laboratuvarın normal değerleri 8,95-48,8 ng/ml'dir.

Bu yöntemde alkalen fosfatazlı Myo monoklonal antikorlar ve anti Myo monoklonal antikorlar manyetik partiküller ile kaplanır ve numune ile karıştırılır. Numunedeki myogloblin içeriği anti Myo antikorları ile birleşir ve bir immunokompleks oluşur. Antikorlar manyetik partiküller ile kaplanır. Daha sonra enzimli antikorların bağı çözülür ve ayrılır. İmmunokompleks içine bir kemilüminesans substrat eklenir. Kısa bir inkübasyonun ardından görülebilir ışık üretebilen immünokompleks içindeki enzim reaksiyonu saptanır ve numune içindeki myogloblin konsantrasyonu ile görülebilir ışığın şiddeti arasındaki ilişki ölçülür (74).

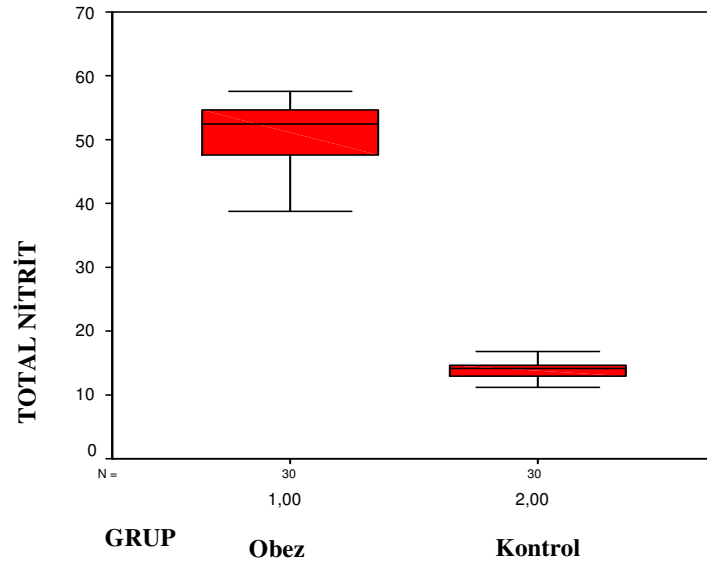
3.6. İstatistiksel İncelemeler

Çalışmamızda elde edilen bulguları değerlendirirken, istatistiksel analiz için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 13.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma) karşılaştırılmasında unpaired T-test ve Pearson korelasyon analizi testleri kullanıldı (75).

4.BULGULAR

a- Serumda Total Nitrit Sonuçları

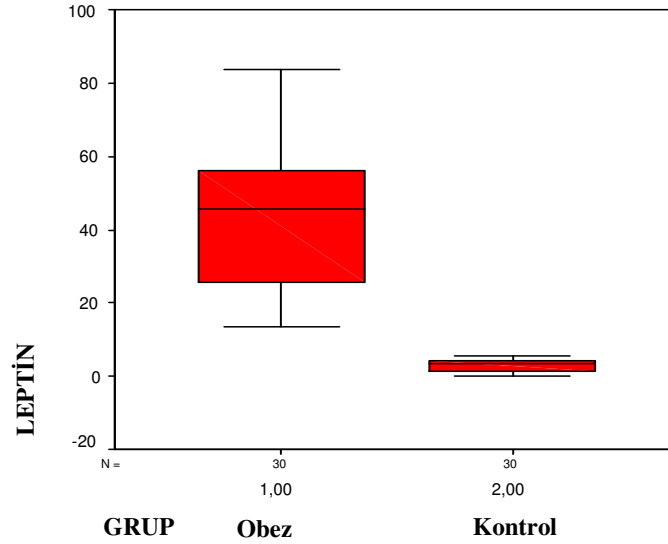
Obez (Grup1) ve Kontrol (Grup2) grubu bireylerin NO sonuçları Grafik 2’de gösterilmiştir. NO değerleri Obez (Grup 1) sonuçları $50,92 \pm 4,92$ ve Kontrol (Grup 2) sonuçları $14,08 \pm 1,19$ $\mu\text{mol /L}$ bulunmuştur ($p=0.001$).



Grafik 3: Grup 1 ve Grup 2’ye ait ortalama \pm standart hata total nitrit değerleri

b-Serumda Leptin Sonuçları

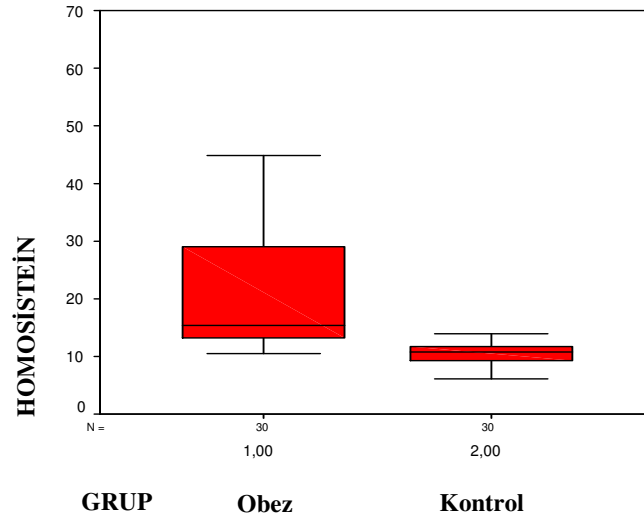
Obez (Grup1) ve kontrol (Grup2) grubu bireylerin leptin sonuçları Grafik 3'de gösterilmiştir. Leptin değerleri obez (Grup 1) sonuçları $43,82 \pm 20,07$ ve kontrol (Grup 2) sonuçları $3,01 \pm 1,65$ ng/ml olarak bulunmuştur ($p=0.001$).



Grafik 4: Grup 1 ve Grup 2'ye ait ortalama \pm standart hata leptin değerleri

c- Serumda Homosistein Sonuçları

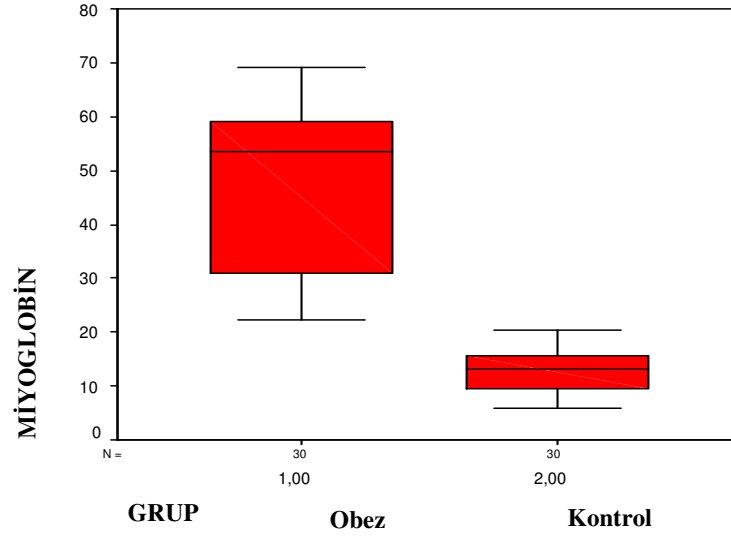
Obez (Grup 1) ve kontrol (Grup 2) grubu bireylerin homosistein sonuçları Grafik 4’de gösterilmiştir. Homosistein değerleri obez (Grup 1) sonuçları $21,52 \pm 12,59$ ve kontrol (Grup 2) sonuçları $10,58 \pm 2,00$ $\mu\text{mol/L}$ olarak bulunmuştur ($p=0.001$).



Grafik 5: Grup 1 ve Grup 2’ye ait ortalama \pm standart hata homosistein değerleri

d- Serumda Miyoglobin Sonuçları

Obez (Grup 1) ve kontrol (Grup 2) grubu bireylerin miyoglobin sonuçları Grafik 5’de gösterilmiştir. Miyoglobin değerleri obez (Grup 1) sonuçları $47,03 \pm 16,34$ ve kontrol (Grup 2) sonuçları $13,07 \pm 3,82$ ng/ml olarak bulunmuştur ($p=0.001$).



Grafik 6: Grup 1 ve Grup 2’ye ait ortalama \pm standart hata miyoglobin değerleri

Tablo 4: Yaş, Boy, Kilo, BMI, Glukoz, Trigliserit, Kolesterol, LDL, HDL ve VLDL'nin Obez (Grup 1) ve Kontrol (Grup 2) grubuna göre değişimleri

Değişkenler	Gruplar	Ort. ±Std. Sapma
YAŞ	Grup 1	35,8 ± 7,45
	Grup 2	29,63 ± 7,83
BOY	Grup 1	161,63 ± 9,34
	Grup 2	163,13± 8,79
KİLO	Grup 1	104,71 ± 26,85
	Grup 2	57,20± 9,63
BMI	Grup 1	40,87 ± 10,31
	Grup 2	22,14 ± 2,46
GLUKOZ (mg/dl)	Grup 1	100,86 ± 13,14
	Grup 2	87,13 ± 8,54
TRİGLİSERİT (mg/dl)	Grup 1	210,66± 93,22
	Grup 2	88,63 ± 29,06
KOLESTEROL (mg/dl)	Grup 1	220,46 ± 37,12
	Grup 2	156,43± 19,08
LDL KOLESTEROL (mg/dl)	Grup 1	142,53± 30,40
	Grup 2	69,78± 24,32
HDL KOLESTEROL (mg/dl)	Grup 1	114,10 ± 19,24
	Grup 2	64,90 ± 10,99
VLDL KOLESTEROL (mg/dl)	Grup 1	152,82 ± 20,18
	Grup 2	21,05 ± 9,94

Tablo 5: Miyoglobin, Homosistein, NO ve Leptinin obez (Grup 1) ve kontrol (Grup 2) grubuna göre değişimleri

Değişkenler	Gruplar	Ort. \pmStd.Hata
MİYOGLOBİN (ng/ml)	Grup 1	47,03 \pm 16,34
	Grup 2	13,07 \pm 3,82
HOMOSİSTEİN (μ mol/L)	Grup 1	21,51 \pm 12,59
	Grup 2	10,58 \pm 2,00
Total Nitrit (μ mol/L)	Grup 1	50,92 \pm 4,92
	Grup 2	14,08 \pm 1,19
LEPTİN (ng/ml)	Grup 1	43,82 \pm 20,07
	Grup 2	3,01 \pm 1,65

Tablo 6: Miyogloblin, Homosistein, Total Nitrit ve Leptin değişkenlerine ait değerler

Değişken	Grup 1 (n=30)	Grup 2 (n=30)	P değeri
Miyogloblin (ng/ml)	47,03* ± 16,34	13,07 ± 3,82	0.001
Homosistein (µmol/L)	21,51* ± 12,59	10,58 ± 2,00	0.001
Total Nitrit (µmol/L)	50,92* ± 4,92	14,08 ± 1,19	0.001
Leptin (ng/ml)	43,82* ± 20,07	3,01 ± 1,65	0.001

* = Grup 1 ile Grup 2 arası istatistiksel olarak fark anlamlı; (p= 0.001)

Miyogloblin, Homosistein, Total Nitrit ve Leptin değişkenlerinin yaşla ilişkisi

Tablo 7: Yaş ile Miyogloblin, Homosistein, Total Nitrit ve Leptin değişkenlerine ait korelasyonlar

		Miyogloblin	Homosistein	NO	Leptin
Yaş	r	,468**	,230	,479**	,514**
	p	,000	,077	,000	,000
	n	30	30	30	30

Yaş ile Miyogloblin, Total Nitrit ve Leptin arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki olup, homosistein ile kıyaslandığında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0,05).

5. TARTIŞMA

Obezite, vücuttaki yağın fazlalığı olarak tanımlanır ve uzun süreli enerji alımı ve enerji harcanması arasındaki dengesizlikle sonuçlanır. Toplumda obezitenin artması, yiyeceklerin alımı ve yeme alışkanlığının değiştiğinin bir göstergesidir. Obezite kardiyovasküler morbidite ve mortalite için önemli risk faktörleri arasındadır. Obezitenin biyokimyasal mekanizması henüz çok iyi anlaşılamamıştır (1, 2, 3).

Obez ve sağlıklı grubun korelasyon analizi sonuçlarına göre BMI ile kilo, kolesterol, LDL, HDL ve VLDL arasında pozitif yönde çok güçlü ilişki mevcuttur ($p=0.001$).

Çalışmamızda nitrik oksit, leptin, homosistein ve miyoglobin parametrelerini birlikte araştırdık. Obezitede bu dört parametreyi ayrı ayrı çalışarak elde ettiğimiz veriler obezitenin tedavisi ve prognozunda diğer çalışmalara yararlı olabilir. Obezitede oksidatif stresin bu parametreleri nasıl etkilediğini, leptin ve nitrik oksit arasındaki anlamlı ilişkinin nedenini, miyoglobinin nitrik oksit ve diğer parametrelerle ilişkisini anlamayı amaçladık.

LDL damarlarda birikerek arter harabiyetini artırır. HDL ise arterdeki birikintiyi temizlemeye çalışır ve damar sağlığını korur. Ergüven ve ark.'nın yaptığı çalışmaya göre obez bireylerde düşük HDL, yüksek LDL seviyesi olduğunu bildirmişlerdir (1,7). Çalışmamızda da paralel şekilde bir sonuç elde edilmiş ve obez bireylerin plazma LDL seviyeleri yüksek, HDL seviyeleri daha düşük bulunmuştur ($p=0,001$).

Obezitede insülin direncinin meydana gelmesini sağlayan yağ dokusunca salgılanan bazı maddelerin kişiyi insüline dirençli hale getirdiği düşünülmektedir. Yağ dokusunda trigliserit miktarının artması, yağ dokusunun ve kasın insüline verdiği cevabı azaltır. Yapılan bazı çalışmalara göre bu duruma insülin reseptörlerinin sayısının azalmasının ya da hücre zarının yüzeyinin genişlemesinin neden olduğu düşünülmektedir (2).

Yağ dokusundan salgılanan leptin, hipotalamustaki reseptörlerine bağlanır ve interlökin-1 üzerinden etki ederek yemek yeme hissini azaltır. Yüksek leptin seviyesi kardiyovasküler hastalıkların riskini artırır (9,11).

Obezitede süperoksit türleri fazla miktardadır. Obezitede oksidatif stresin sıklıkla meydana geldiği bildirilmiştir. Biyolojik sistemlerdeki süperoksit anyonu ($2O_2^-$), reaktif oksijen türleri (ROT), nitrik oksit ($NO\cdot$), hidroksil radikali ($HO\cdot$), peroksil radikali ($ROO\cdot$) ve radikal olmayan hidrojen peroksit ($H_2 O_2$) gibi serbest radikaller oksidatif strese neden olmaktadır (13).

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA ve karbonhidrat gibi bütün önemli bileşiklerinin yapılarını bozarlar. Reitman ve ark.'nın obez bireylerle yaptığı çalışmada, serbest radikallerin ve ROS'un artışının oksidatif strese neden olduğunu bildirmişlerdir. Obez bireylerde artan serbest radikal ve ROS nedeniyle ilerlemiş oksidatif stres görülmektedir (3).

Yüce ve ark.'nın ratlarla yaptıkları çalışmada serbest radikallerin aşırı üretiminin lipid, protein ve nükleik asitleri olumsuz etkilediğini ve yapılarını bozarak zararlı olmalarına neden olduğunu bildirmiştir. Sonuç olarak birçok hastalığın temelinde de bu yatmaktadır (16).

Sezgin ve ark.'nın kalp yetmezliği olan hastalarla yaptıkları bir çalışmaya göre serbest radikal düzeyinin artması, SOD enziminin inhibisyonuna neden olmaktadır. Sonuçta toksik bir radikal olan peroksinitrit oluşmakta ve NO biyoyararlanımı azalmaktadır (17).

Bakker ve ark.'nın hipotezine göre obez bireylerde pankreatik β hücrelerinin yetersizliği hiperglisemiye neden olmaktadır. Hiperglisemi oksidatif stresi indüklemektedir (20).

Obezlerde plazma leptin seviyesi yüksektir. Yapılan çalışmalara göre insan obezitesinin oluşumu iki şekildedir. Birincisi leptin yokluğu, ikincisi ise leptin reseptör mutasyonudur. Leptin adipoz dokuda lipolizi uyarır ve pankreasta β hücrelerinden insülin salınımını engeller. Obez bireylerde fazla olan yağ dokusuna bağlı olarak fazla miktarda leptin yapılmaktadır. Leptin oluşumundan sorumlu olan ve kan beyin bariyerini geçebilen interlökin-1 Ra (IL-1Ra) ile leptinin hipotalamus üzerindeki etkisi IL-1 ile bloke edilir. Sonucunda yemek yeme baskılanmakta ve kilo alımı devam etmektedir. (24,25).

Leptin düzeyi ile egzersiz arasındaki ilişki, Keçetepen ve ark.'nın yaptığı çalışmada düzenli egzersizin leptin düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir. Bunun sebebi azalan yağ dokusu olabilir (24).

Leptin enerji kontrolünü sağlayan ve vücut yağ oranını kontrol eden anahtar bir hormondur. Beslenme ve enerji homeostazında önemli rolleri vardır. Kanda ya serbest ya da proteine bağlı şekilde bulunur. Leptinin obezitedeki aktivitesinden serbest formu sorumludur. Çünkü bu serbest form obez bireylerde yüksek seviyededir. Sonuç olarak; bu da obezitenin leptin eksikliğinden değil leptin rezistansından kaynaklandığı hipotezini doğrulamaktadır (25, 26, 27, 28).

Altunkaynak ve ark.'nın çalışmaları, dolaşımdaki leptin seviyesinin BKI ve ağırlık ile pozitif ilişkili olduğunu bildirmiştir. Kadınlar erkeklerden daha fazla leptin üretir. Bunun nedeninin testosteronun leptin üzerine baskılayıcı etkisinin ve cinsiyete bağlı yağ depolanmasının olduğu düşünülmektedir (29). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre plazma leptini ile BKI arasında pozitif güçlü bir ilişki gözlenmiştir ($p=0.001$).

Jang ve ark.'nın obez farelerle yaptığı bir çalışmada obez farelerde serum leptin düzeylerini obez olmayanlardan daha yüksek bulmuşlardır (30). Yaptığımız çalışmada bu çalışmaya paralel olarak obez bireylerle (grup 1) sağlıklı bireyler (grup 2) kıyaslandığında plazma leptin düzeylerinde anlamlı farklar elde edilmiştir ($p<0,05$).

Çalışmamızda obezlerde (Grup 1) leptin sonuçları $43,82 \pm 20,07$ ve kontrol (Grup 2) sonuçları $3,01 \pm 1,65$ ng/ml olarak bulunmuştur ($p=0.001$). Leptin ile yaş, kilo, BMI, glukoz, trigliserit, kolesterol, LDL, HDL, VLDL, homosistein, NO ve leptin arasında pozitif yönde güçlü ilişki bulunmuştur ($p=0.001$).

Leptin ile NO arasındaki bu pozitif güçlü ilişkinin leptinin sitokin benzeri bir yapıya sahip olması nedeniyle TNF- α (tümör nekrozis faktör) gibi NFkB (Nükleer faktör kappa-B) aktivasyonu ile olabileceğini düşündürmüştür. Adipöz doku TNF üretir ve bu üretim obezlerde artmış durumdadır (1). TNF- α lipolizi indükler ve serbest yağ asitlerinin salınımını artırır. Bunların yanında NFkB'yi uyararak preadipözit genleri indükler. Sitokin benzeri TNF- α , IL-1b, IL-6 lipid metabolizması üzerinden hiperlipidemi oluşumuna yol açmaktadır. Metabolizmada okside haldeki LDL 'nin uzun süre artmış halde bulunması, monositlerin artan TNF- α ile uyarılmış endotel hücrelerine yapışmasını sağlar. Bu uyarılma sonucunda, monosit/mononükleer hücreler tarafından reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimi arttırılır. Metabolizmada uzun süreli ROT artışı oksidatif stresin artışına yol açar .

NO, üzerinde yük taşımaz ve eşleşmemiş elektron bulundurması sayesinde hücreden hücreye kolaylıkla geçer. Bu yüzden radikal bir moleküldür. Kanda bulunan bazı uyarı iletici hormonların devreye girmesiyle damar zarındaki alıcılara bağlanır ve damar gevşemesi için gerekli olan işlemi başlatır.

L-arjininden sentezlenen NO, endotelde guanilat siklazı aktive eder, cGMP konsantrasyonunu ve düz kaslardaki relaksasyonu artırır. Trombositlerde adezyon ve agregasyonu inhibe eder.

Golan MD. ve ark.'nın yaptıkları çalışmada leptin ile endotelial NO aracılı gevşemenin arttığını bildirmiştir (31). Bizim çalışmamıza göre leptin ile NO arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon gözlenmiştir. Sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.001).

Hemoglobin oksijen formunda iken NO'yu nitrata (NO_3) oksitler. NO etkisiz hale gelir. Yani dolaşımında bulunan oksimiyoglobin NO'nun inhibitörüdür (36). Yaptığımız çalışmada NO ile miyogloblin arasında pozitif yönde güçlü bir ilişki bulunmuştur (p=0.001).

Katz ve ark. konjestif kalp yetmezliği olan hastalarla yaptıkları çalışmada NO'nun hem kan basıncının hemde damar düz kaslarının tonusunun düzenlenmesinde önemli role sahip olduğunu bildirmişlerdir. Kanın akış hızı NO sentezlenmesi ile ilişki içindedir. Kan akış hızı artınca endotelde NO sentez ve salınımı artar (40).

Tretjakovs ve ark. NO üretiminde plazma HDL kolesterolün etkileri ile ilgili yaptıkları bir çalışmada koroner arter hastalıklarında trombosit bağımlı NO üretiminin azaldığını bildirmişlerdir (41). Bizim çalışmamızda ise obez bireylerde NO ile HDL arasında pozitif yönde güçlü bir ilişki bulunmuştur. Sonuçlar istatistiksel açıdan anlamlıdır (p=0.001).

Maniscalco ve ark. BKI ve NO çıkışı arasında pozitif ilişki olduğunu bildirmişlerdir. NO sentezinin bozulmasıyla endotelial fonksiyon bozuklukları meydana gelir (42). NO yiyecek alımı ile bağlantılıdır ve kilo kaybı ile beraber NO üretiminde artış gözlenir. L-arjinin NO sentezini düzenler ve bu sayede kardiyovasküler fonksiyonlar düzenlenir (17). Çalışmamızda BKI ile NO arasında pozitif yönde güçlü bir ilişki bulunmuştur (p=0.001).

Young Kim ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada obezitede yağ dokusunun gelişimi araştırılmış ve NOS'un lipolizi etkilediği ve lipolizi inhibe ettiği bildirilmiştir. (7).

Çalışmamızda obez bireylerde plazma total nitrit düzeylerinde anlamlı artış gözlenmiştir ($p=0.001$). NO değerleri obez (Grup 1) sonuçları $50,92 \pm 4,92$ ve kontrol (Grup 2) sonuçları $14,081 \pm 1,19$ $\mu\text{mol/L}$ bulunmuştur ($p<0.05$).

NO ile yaş, kilo, BKİ, glukoz, trigliserit, kolesterol, LDL, HDL, VLDL, homosistein ve leptin arasında pozitif yönde güçlü bir ilişki tespit edilmiştir ($p=0.001$).

Homosistein kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörüdür. Vasküler fonksiyonu bozarak ateroskleroz riskini artırır (45). Erkeklerde konsantrasyonu bayanlara oranla daha yüksektir. Ancak bizim çalışmamızda Homosistein ile cinsiyet arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

Kocabalkan ve ark.'nın dolaşımdaki homosisteinin %1'inin serbest, %80'inin ise disülfid köprüleri ile albümine bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Geri kalanın ise homosistein-homosistein ve homosistein-sistin halinde bulunduğunu rapor etmişlerdir. Obezitede homosistein seviyesinin yüksek olması koroner arter hastalığı (KAH)'nın artmasına bağlı olarak endotel hasarına neden olabileceğini düşündürmektedir (45).

Yeniçağın kolesterolü olarak bilinen homosistein yüksek miktarda iken endotel sitotoksitesine neden olur. Okside olmuş homosistein hidrojen peroksit oluşturur ve damar düz kasında hasara yol açar (45). Yüksek homosistein hiperleptinemiye neden olur ve artan leptin seviyesi ile birlikte iştahda artmaktadır. Bunun sonucunda da enerji fazlalığı ile birlikte yağ depolanması görülür (46).

Rasmussen ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmaya göre, diyetle folat veya folik asit alımının homosistein konsantrasyonunun azalmasına neden olduğu rapor edilmiştir. Kandaki vitamin B₆ ve B₁₂ düzeyleri homosistein konsantrasyonu ile negatif ilişkilidir (47).

Yüce ve ark.'nın yaptığı çalışmaya göre yüksek homosistein seviyesi serbest radikallere karşı endotel hücrelerinin savunma yeteneğini ve SOD etkinliğini azaltmaktadır. Yüksek homosistein düzeyi endotelin antitrombotik özelliğini protrombotik yönde değiştirir (16).

Aksoy ve ark.'nın 126 sağlıklı bireyle yaptıkları çalışmada B_{KI}, serum folat ve vitamin B₁₂ düzeyleri ile homosistein arasında anlamlı ilişkiler tespit etmişlerdir. Sigara ve kahve tüketimi homosistein konsantrasyonu ile pozitif ilişkili olduğunu, serum folat ve vitamin B₁₂ düzeyi düşüldükçe homosistein konsantrasyonu arttığını göstermişlerdir. Kandaki vitamin B₆ ve vitamin B₁₂ konsantrasyonlarının homosistein konsantrasyonu ile negatif ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (46). B_{KI}'deki her 5 kg/m² artışın homosistein konsantrasyonunda %10 artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre homosistein ile B_{KI} arasında pozitif yönde anlamlı ilişki elde edilmiştir (p=0.001).

Tyagi ve ark.'nın çalışmasına göre hiperhomosisteinemi ile NO biyoyararlanımı azalır ve vazodilatasyon bozulur. Sonuçta kan basıncında artış meydana gelir (49). Bu çalışmada homosistein ile NO arasında pozitif yönde anlamlı ilişki bulunmuştur (p=0.001). Yine aynı çalışmaya göre plazmada her %3'lük homosistein artışının koroner arter hastalıklarının %10 artmasına ve felç riskinin %20 artmasına neden olduğu rapor edilmiştir.

Endotel hücrelerinde homosistein düzeyi arttıkça reaktif oksijen türleride artar. Bunun sonucunda da antioksidan enzimlerin yok olacağını düşünebiliriz. Yapılan birçok çalışmaya göre hiperhomosisteinemi endotelial işlev bozukluklarına neden olur ve kardiyovasküler hastalıkları tetiklemektedir. Homosistein, SOD'ın endotel yüzeyine bağlanmasını sağlayan endotelial heparan sülfat proteoglikanını bozar ve hücre yüzeyine SOD'ın bağlanmasını engeller (50).

Tyagi N. ve ark. homosistein metabolizması üzerine yaptığı çalışmada hiperhomosisteinemide vasküler reaktivitenin azaldığını, endotelial işlev bozukluklarının meydana geldiğini, kardiyovasküler hastalıkları tetiklediğini bildirmişlerdir (50).

Yaptığımız çalışmada gruplar arası homosistein seviyesinde önemli farklar olduğu tespit edilmiştir. Obez bireylerde homosistein seviyesi belirgin seviyede yüksek bulunmuştur (p=0.001). Homosistein değerleri obez (Grup 1) sonuçları 21,52 ± 12,59 ve kontrol (Grup 2) sonuçları 10,58 ± 2,00 µmol/L olarak bulunmuştur (p<0,05).

Homosistein ile kilo, BKI, trigliserit, kolesterol, LDL, HDL, VLDL, miyoglobin, NO ve leptin ($p=0,004$) arasında pozitif yönde güçlü bir ilişki belirlenmiştir ($p=0.001$).

Miyoglobin iskelet ve kalp kasında bulunan globüler bir proteindir (53). En belirgin görevi oksijeni depolamaktır. Obez bireylerde iskelet kasının oksidatif kapasitesi azalmıştır. Sonuç olarak anaerobik ve glikolitik kapasite artmıştır. Kastaki oksidatif metabolizma bozulduğunda kas enerji depolar. İskelet kasının metabolik kapasitesi oksidasyondan çok esterleşmeye doğru organize olmaktadır. Yağ asidi metabolizmasında yağ asitlerinin oksidasyonunda iskelet kası esas substrattır (57).

Kalp kasındaki Mb'nin eksikliği NO konsantrasyonunu etkiler. Sonucunda kalp kasında önemli değişimler meydana gelir. Bu çalışmada bulunan sonuçlara göre miyoglobin ile NO arasında anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Obez bireylerde miyoglobin ile birlikte NO anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0.001$).

Brunori ve ark.'nın nitrik oksit ve miyoglobin ile ilgili yaptıkları çalışmaya göre MbO₂ ile depolanan oksijenin metabolizmayı güçlü tuttuğunu ve solunumsal zincirin aktivitesini güçlendirdiğini bildirmiştir (63). Başka bir çalışmaya göre de deoksijenat durumdaki Mb CO, NO gibi ligandları ve yağ asitlerini bağladığı ve bu tip ligandlara O₂'den daha fazla affinite gösterdiği bildirilmiştir.

Obez bireylerde plazma miyoglobin düzeylerinin yüksek olması miyoglobinin yağ asidi bağlayıcı özelliğinden kaynaklı olduğunu düşündürmüştür. Çünkü miyoglobin yağ asitlerine karşı yüksek affiniteye sahiptir (64,65).

Dee ve ark.'nın çalışmasında NO'nun miyoglobini ve hemoglobini inhibe ettiği bildirilmiştir. Bunun nedeni ise miyoglobinin hem ile güçlü reaksiyona girmesidir (66).

Çalışmamızda obez grup ile sağlıklı grup miyoglobin düzeyleri kıyaslandığında, obez bireylerin miyoglobin düzeylerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Miyoglobin değerleri obez (Grup 1) sonuçları $47,03 \pm 16,34$ ve kontrol (Grup 2) sonuçları $13,072 \pm 3,82$ ng/ml olarak bulunmuştur ($p=0.001$).

Obez ve sağlıklı grubun miyoglobin, homosistein, NO ve leptin değişkenlerinin korelasyon analizi sonuçlarına göre; miyoglobin ile yaş, kilo, BKI, glukoz, trigliserit, kolesterol, LDL, HDL, VLDL, homosistein, NO ve leptin arasında pozitif yönde güçlü bir ilişki bulunmuştur ($p=0.001$).

Yaptığımız araştırmalara göre, nitrik oksit, leptin, homosistein ve miyoglobin parametrelerinin korele araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Obezitede nitrik oksit, leptin ve homosisteinin her biri ile ilgili ayrı ayrı çalışmalar yapılmıştır. Ancak miyoglobin ve obezite ile ilgili böyle bir çalışma bulunmamaktadır. Yaptığımız bu çalışmanın tüm bu bilgilerin ışığında diğer çalışmalara fayda sağlayacağını düşünmekteyiz. Miyoglobinin anlamlı değişiminin obezite ile ilgili gelecek çalışmalarda ilave bir parametre olacağını düşündürmüştür. alışmış olduğumuz bu dört parametrenin tedaviden önce ve sonra ölçülerek değerlendirilmesi ilave çalışmalarla desteklenebilir. Bunlara ek olarak obezitede artmış olan oksidatif stresin çeşitli antioksidan ajanlar kullanılarak hastalığın tedavisine yardımcı olabileceği kanısındayız. Leptinin farklı zaman aralıklarında ölçülmesinin de tedavinin izlenmesine yardımcı olacağı düşüncesindeyiz. Obezitenin pek çok faktörden etkilendiğini düşünecek olursak yapılacak gelecek çalışmaların daha geniş alanlara yayılıp, daha fazla parametrelerle çalışılması bu çalışmaya daha geniş bir perspektifle katkı sağlayacağı düşüncesindeyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmada 30'ar kişilik obez (hasta) ve obez olmayan (sağlıklı=kontrol) gruplara nitrik oksit, homosistein, leptin ve miyoglobin parametreleri çalışılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre bu 4 parametre obez bireylerde kontrollere kıyasla yüksek bulunmuştur. Kontrol ve hasta grubu birbiri ile kıyaslandığında aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksektir.

Araştırma bulgularına dayanarak;

1- Hasta ve kontrol grubunda çalışılmış olan leptinin farklı zaman aralıklarıyla (sirkadiyen ritminin) ölçülerek değerlendirilmesi,

2- Obezitede, leptinin artışı ile birlikte sitokin benzeri yapılar olan TNF-alfa ve NFkB'nin artışı düşündürmüş olup buda lipolizi ve oksidatif stresi indükler. Bu nedenle obezitede farklı sitokinlerle çalışmalar yapılarak bunların değerlendirilmesi,

3- Hastalarda çalışılmış olan bu dört parametrenin obezite tedavisinden önce ve sonra ölçülerek yeniden değerlendirilmesi

4- Çalışmadaki hasta ve kontrol grubunun sayılarının arttırılmasıyla yeni çalışmaların planlanması önerilmiştir.

7. KAYNAKLAR

1- Peter G. Kopelman & Michael J. Stock. Klinik Obezite. Blackwell Science, Tekin yayınevi, Ankara, s.120-556, 1998.

2- Özata M. Obezite tanı ve tedavisi. Gata Basımevi, Ankara, s.1-19, 2003.

3- Reitman A. Friedrich I., Ben-Amotz A., Levy Y. Low plasma antioxidants and normal plasma B vitamins and homocysteine in patients with severe obesity. *IMAJ*. 4: 590-59, 2002.

4- Levitt D.G., Heymsfield S.B., Pierson R.N., Jr., Shapses S.A., Kral J.G. Physiological models of body composition and human obesity. *Nutrition & Metabolism*. 4: 1-13, 2007.

5- Campbell L. Starvation exercise, injury and obesity. *Anaesthesia and intensive care medicine*. 136: 243-248, 2004.

6- Traupe T. D'uscio L.V., Muentner K., Morawietz H., Vetter W., Barton M. Effects of obesity on endothelium-dependent reactivity during acute nitric oxide synthase inhibition: modulatory role of endothelin. *Clin Sci*. 48: 135-155, 2002.

7- Kim J.Y., Wall E., Laplante M., Azzara A., Trujillo M.E., Hofmann S.M., Schraw T., Durand J.L., Li H., Li G., Jelicks L.A., Mehler M.F., Hui D.Y., Deshaies Y., Shulman G.I., Schwartz G.J. Obesity-associated improvements in metabolic profile through expansion of adipose tissue. *J Clin Invest*. 117: 2621-2637, 2007.

8- [http:// www.chembio.uoguelph.ca](http://www.chembio.uoguelph.ca)

9- Ergüven M., Doğu A., Yılmaz Ö.. Obez çocuklarda kan homosistein düzeylerinin ve diğer potansiyel erken aterosklerotik risk faktörlerinin değerlendirilmesi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Derg.* 50: 241-247, 2007.

10- N. Canova, D. Lincova, H. Farghalı. Inconsistent effect of nitric oxide on lipolysis in isolated rat adipocytes. *Physiol. Res.* 54: 387-393, 2005.

11- Dursun N. Leptinin kardiyovasküler etkileri. *Erciyes Tıp Derg.* 27(4): 167-176, 2005.

12- [http:// www.mk3.uniklinikum-dresden.de/picture](http://www.mk3.uniklinikum-dresden.de/picture)

13- Altan N., Dinçel A.S., Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk J Biochem.* 31 (2): 51-56, 2006.

14- Tanner C.J., Barakat H.A., Dohm G.L., Pories W.J., MacDonald K.G., Cunningham P.R.G., Swanson M.S., Houmard J.A. Muscle fiber type is associated with obesity and weight loss. *AJP-Endocrinol Metab.* 282: 1191-1196, 2002.

15- Simoneau J., Veerkamp J.H., Turcotte L.P., Kelley D.E. Markers of capacity to utilize fatty acids in human skeletal muscle. Relation to insulin resistance and obesity and effects of weight loss. *The FASEB Journal.* 13: 2051-2059, 1999.

16- Yüce A., Aksakal M.. Ratlarda homosisteinin oksidan-antioksidan sistem ve koroner damarlarda oluşturduğu değişiklikler üzerine melatoninin etkisi. *F.Ü. Sağlık Bil. Derg.* 20(1): 51-59, 2006.

17- Sezgin N., Sezgin A.T., Güllü H., Karabulut A., Özyalın F., Topal E., Gözükara E.M. Sitokin, nitrik oksit ve süperoksit dismutaz düzeylerinin miyokard fonksiyonu üzerine etkileri. *Turk J Biochem.* 29 (2): 178-182, 2004.

18- [http:// www.nature.com/ijo/journal](http://www.nature.com/ijo/journal)

19- Kıran T.R. Hipertiroidili ve hipotroidili hastalarda oksidatif stres parametreleri ve adenzin deaminaz aktivitesi. Doktora tezi, Malatya, 2007.

20- Bakker S.J.L., IJerman R.G., Teerlink T., Westerhoff H.V., Gans R.O.B., Heine R.J. Cytosolic triglycerides and oxidative stress in central obesity: the missing link between excessive atherosclerosis, endothelial dysfunction, and β -cell failure? *Atherosclerosis.* 148: 17-21, 2000.

21- Aslan K., Serdar Z., H. Tokullugil H.A. Multifonksiyonel hormon: Leptin. *Uludağ Üniv. Tıp Fak. Derg.* 30 (2): 113-118, 2004.

22- Kimura K., Tsuda K., Baba A., Kawabe T., Boh-oka S., Ibata M., Moriwaki C., Hano T., Nishio I. Involvement of nitric oxide in endothelium-dependent arterial relaxation by leptin. *Biochem Biophys Res Commun.* 273: 745-749, 2000.

23- Narin F., Atabek M.E., Karakukcu M., Narin N., Kurtoglu S., Gumus H., Çoksevrim B., Erez R. The association of plasma homocysteine levels with serum leptin and apolipoprotein B levels in childhood obesity. *Ann Saudi Med.* 25(3): 209-214, 2005.

24- Keçetepen L.O., Dursun N. Egzersizin leptin düzeyleri üzerine etkisi, leptinin solunum ve kardiyovasküler parametrelerle ilişkisi. *Erciyes Üniv. Sağlık Bil. Derg.* 15(1): 1-7, 2006.

- 25- Hekimoğlu A. Leptin ve fizyopatolojik olaylardaki rolü. *Dicle Tıp Derg.* 33 (4): 259-267, 2006.
- 26- Ergün A. Leptin (ob protein). *T Klin Tıp Bil.* 19: 130-136, 1999.
- 27- Stejskal D., Rüzicka V., Hrubiskova L., Hrebicek J., Bartek J., Frankova M., Pastorkova R., Mohapl P., Vavrova J. Leptin in persons with simple obesity. *Vnitr Lek.* 43(9): 555-6, 1997.
- 28- Jensen M.D., Moller N., Nair K.S., Eisenberg P., Landt M., Klein S. Regional leptin kinetics in humans. *Am J Clin Nutr.* 69: 18-21, 1999.
- 29- Altunkaynak B.Z., Özbek E. Yağ dokusu endokrin bir organ mıdır? *Dicle Tıp Derg.* 32(4): 211-217, 2005.
- 30- Jang E.H., Park C.S., Lee S.K., Pie J.E., Kang J.H. Excessive nitric oxide attenuates leptin-mediated signal transducer and activator of transcription 3 activation. *Life Sci.* 80(7): 609-617, 2007.
- 31- Golan E., Tal B., Dror Y., Korzets Z., Vered Y., Weiss E., Bernheim J. Reduction in resting metabolic rate and ratio of plasma leptin to urinary nitric oxide: Influence on obesity-related hypertension. *IMAJ.* 4: 426-429, 2002.
- 32- [http:// www.nature.com](http://www.nature.com)
- 33- Kılınç A., Kılınç K. Nitrik oksit biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. Palme Yayıncılık, Ankara, s. 1-120, 2003.
- 34- Sugita H., Fujimoto M., Yasukawa T., Shimizu T., Sugita M., Yasuhara S., Martyn J.A.J., Kaneki M. Inducible nitric-oxide synthase and NO donor induce insulin receptor substrate-1 degradation in skeletal muscle cells. *J Biol Chem.* 280(14): 14203–14211, 2005.
- 35- Eich R.F., Li T., Lemon D.D., Doherty D.H., Curry S.R., Aitken J.F., Mathews A.J., Johnson K.A., Smith R.D., Phillips G.N., Jr., Olson J.S. Mechanism of NO-induced oxidation of myoglobin and hemoglobin. *Biochem.* 35: 6976-6983, 1996.
- 36- Türköz Y., Özerol E. Nitrik oksit'in etkileri ve patolojik rolleri. *Journal of Turgut Özal Medical Center.* 4(4): 453-461, 1997.
- 37- Durante W., Johnson F.K., Johnson R.A. Arginase: A critical regülator of nitric oxide synthesis and vascular function. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 34(9): 906–911, 2007.

38- [http:// www.meat.tamu.edu/colorflow chart](http://www.meat.tamu.edu/colorflow_chart)

39- [http:// www.tfd.org.tr/mersin bahar1.pdf](http://www.tfd.org.tr/mersin_bahar1.pdf)

40- Katz S.D., Khan T., Zeballos G.A., Mathew L., Potharlanka P., Knecht M., Whelan J. Decreased activity of the L-arginine-nitric oxide metabolic pathway in patients with congestive heart failure. *Circulation*. 99: 2113-2117, 1999.

41- Tretjakovs P., Kalnins U., Dabina I., Dinne I., Erglis A., Kumsars I., Jurka A. Plasma HDL-cholesterol has an effect on nitric oxide production and arachidonic acid metabolism in the platelet membranes of coronary heart disease patients without LDL-hypercholesterolemia. *Clin Invest Med Sci Moint*. 6(3): 507-511, 2000.

42- Maniscalco M., Laurentiis G., Zedda A., Faraone S., Giardiello C., Cristiano S., Matteo S. Exhaled nitric oxide in severe obesity: Effect of weight loss. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 156(3): 370-373, 2007.

43- Giraldez R.R., Panda A., Xia Y., Sanders S.P., Zweier J.L. Decreased nitric-oxide synthase activity causes impaired endothelium-dependent relaxation in the postischemic heart. *J Biol Chem*. 272 (34): 21420-21426, 1997.

44- Zhang L., Looney C.G., Qi W.N., Chen L.E., Seaber A.V., Stamler J.S., Urbaniak J.R. Reperfusion injury is reduced in skeletal muscle by inhibition of inducible nitric oxide synthase. *J Appl Physiol*. 94: 1473-1478, 2003.

45- Kocabalkan F., Baykal Y., Bozoğlu E.. Yaşlılarda kardiyovasküler risk faktörü olarak homosistein. *Turkish Journal of Geriatrics*. 3(2): 69-73, 2000.

46- Aksoy Ş.N., Geyikli İ., Saygılı E.İ.. Sağlıklı kişilerde plazma homosistein düzeyinin belirleyicileri. *Turk J Biochem*. 3(4) : 175-181, 2006.

47- Rasmussen L.B., Ovesen L., Bülow I., Knudsen N., Laurberg P., Perrild H. Folate intake, ifestyle factors and homocysteine concentrations in younger and older man. *Am J Clin Nutr*. 72: 1156-63, 2000.

48- <http://www.ctf.edu.tr/farma/tfd/aerol.pdf>

49- Tyagi N., Moshal K.S., Ovechkin,A.V.. Walter Rodriguez, Mesia Steed, Brooke Henderson, Andrew M. Roberts, Irving G. Joshua, and Suresh C. Tyagi. Mitochondrial mechanism of oxidative stress and systemic hypertension in hyperhomocysteinemia. *J Cel Biochem*. 96: 665-671, 2005.

50- Tyagi N., Sedoris K.C., Steed M., Ovechkin A.V., Moshal K.S., Tyagi S.C.. Mechanism of homocysteine- induced oxidative stres. *Am J Physiol.* 289: 2649-2656, 2005.

51- Sydow K., Schwedhelm E., Arakawa N., Bode-Boger S.M., Tsikas D., Hornig B., Frolich J.C., Boger R.H.. ADMA and oxidative stres are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocysteinemia: Effects of L-Arginine and B vitamins. *Cardiovasc Res.* 57: 244-252, 2003.

52- [http// www.meat.tamu.edu/myoglobin.jpg](http://www.meat.tamu.edu/myoglobin.jpg)

53- Austin R.H., Beeson K.W., Eisenstein L., Frauenfelder H., Gunsalus I.C.. Dynamics of ligand binding to myoglobin. *Biochem.* 14 (24): 5355, 1975.

54- Flögel U., Merx M.W., Gödecke A., Decking U.K.M and Schrader J.. Myoglobin: A scavenger of bioactive NO. *PNAS.* 98 (2): 735–740, 2001.

55- Kanner J. Ben-gera I., Berman S. Nitric-oxide myoglobin as an inhibitor of lipid oxidation. *Biomedical and Life Sci.* 15(11): 944-94, 2006.

56- Garry D.J., Ordway G.A., Lorenz J.N., Radford N.B., Chin E.R., Grange R.W., DUBY R.B., Williams R.S. Mice without myoglobin. *Nature.* 39: 905-908, 1998.

57- Samsøe B.D., Christiansen E. and Andersen R.B.. Myofascial pain and the role of myoglobin. *Scand J Rheumatology.* 15: 174-178, 1986.

58- Brunori M. Nitric oxide moves myoglobin centre stage. *Trends in Biochem Sci.* 26: 209-210, 2001.

59- Fandrich M., Fletcher M.A., Dobson C.M.. Amyloid fibrils from muscle myoglobin. *Nature.* 41: 165-166, 2001.

60- Şahin M., Pirim İ., Şahin Y.N., Ateşal S., Alp N. Akut miyokard infarktüsünün erken tanısında serum miyoglobin artışının tanı değeri ve kreatin kinaz, laktat dehidrogenaz ve izoenzimleri ile karşılaştırılması. *Turk J Cardiol.* 7: 195-199; 1994.

61- Moll W. The diffusion coefficient of myoglobin in muscle homogenate. *Pfliigers Archly.* 299: 247–251, 1968.

62- Olson J.S., Phillips G.N.. Kinetic pathways and barriers for ligand binding to myoglobin. *J Biol Chem.* 271 (30): 17593-17596, 1996.

- 63-** Brunor M. Nitric oxide, cytochrome-c oxidase and myoglobin. *Trends in Biochem Sci.* 26 (1): 21-23, 2001.
- 64-** Brunori M., Bourgeois D. and Vallonea B. The structural dynamics of myoglobin. *J Struct Biol.* 147: 223–234, 2004.
- 65-** Kragten J.A., Nieuwenhoven F.A., Dieijen-Visser M.P., Theunnissen P.H.M.H., Hermens W.T., Glatz J.F.C. Distribution of myoglobin and fatty acid-binding protein in human cardiac autopsies. *Clin Chem.* 42 (2): 337-338, 1996.
- 66-** Dee G., Evans C.R., Obeyesekera S., Meraji S., Jacobs M., Bruckdorfer K.R.. The modulation of ferryl myoglobin formation and its oxidative effects on low density lipoproteins by nitric oxide. *Federation of European Biochemical Societies.* 294(1,2): 38-42, 1991.
- 67-** Cortas N.K., Wakid N.W.. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin. Chem.* 36/8: 1440-1443, 1990.
- 68-** Considine, R.V., Sinha, M.K., Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal weight and obese humans. *New Eng J Med.* 334(5): 292-295, 1996.
- 69-** Ueland P.M., Refsum H., Stabler S.P., Malinow M.R., Andersson A., Allen R.H.. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem.* 39: 1764-1779, 1993.
- 70-** McCully K.S. Vascular pathology of homocysteinemia: Implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol.* 56(1): 111-128, 1969.
- 71-** Heijer D., Keijzer, MB. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for venous thrombosis. *Clin Chem Lab Med.* 39(8): 710-3, 2001.
- 72-** Ellis A.K., Little T., Zaki Masud A.R., Klocke F.J. Patterns of myoglobin release after reperfusion of injured myocardium. *Circulation.* 72: 639-647, 1985.
- 73-** Rozenman Y., Gotsman M.S.. The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. *Ann Rev of Med.* 45: 31-44, 1994.
- 74-** Bhayana V. Biochemical markers of myocardial damage. *Clin Biochem.* 28: 1-29, 1995.
- 75-** Özdamar K. SPSS ile Biyoistatistik. Kaan Kitabevi, s. 150-168, 2007.

8. EKLER

1. Etik Kurul Raporu
2. Araştırma protokolü (İlaç dışı araştımlar için)
3. Bilgilendirilmiş Olur Formu Örneği (İlaç-dışı Araştırmalar İçin)

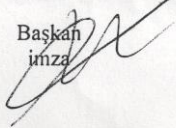

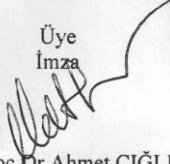

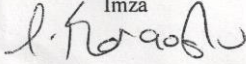
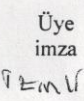
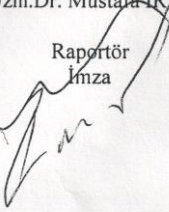

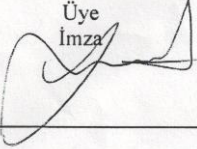
EK-1

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 09/08/2007
Toplantı Yeri : TÖTM -MALATYA
Araştırmanın Protokol No.su : 2007/127

“Obezitede nitrik Oksit, Miyogloblin ,Homoistein ve Leptin düzeylerinin araştırılması” konulu araştırma incelenmiştir.

Adı geçen araştırmanın;araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi yönergesinde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve 10.madde gereği sorumluluk araştırmacıya ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakıncanın bulunmadığına karar verildi.

Doç.Dr.Ayşe KAFKASLI Başkan imza 	Doç. Dr. Muammer KARAKAŞ Başkan Yrd. İmza 	Prof. Dr.M.Ayşe SELİMOĞLU Üye imza Katılmadı
Doç.Dr. Meltem SERİN Üye İmza 	Doç.Dr.İbrahim ŞAHİN Üye İmza 	Doç.Dr. Leyla KARAOĞLU Üye İmza 
Yrd.Doç.Dr.Ahmet ÇIĞLI Üye imza 	Uzm.Dr. Mustafa İRAZ Raportör İmza 	Doç.Dr.S.Hale KIRIMLIOĞLU Üye imza 
Ecz.Seda YILMAZ Üye İmza 		

Ek-2. ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ (İlaç-dışı Araştırmalar için)

1. Hasta tanımı ve sayısı

Araştırmada insan serumu kullanılacaktır. Obezite tanısı almış hastalardan alınan kan örnekleri kullanılacaktır.

Öncelikle miyogloblin ve homosistein çalışılacaktır. Proje desteği oranında diğer leptin ve nitrik oksit düzeyleri çalışılacaktır.

Proje desteğine bağlı olarak öncelikle 30 hasta serumu ardından 30 kontrol hastası çalışılacaktır.

2. Araştırmaya dâhil olma kriterleri

Obezite tanısı almış olmak

3. Araştırmadan çıkartılma kriterleri

Yeterli serum alınmamış olması

4. Araştırma süresi

Bir yıl

5. Kontrol grupları ve kontrol süresi

30 kontrol hastası

6. Yapılacak girişimler: Yok

a) Noninvaziv girişimler

b) İnvaziv girişimler

c) Diyetle yapılacak değişiklikler

7. Yapılacak klinik ve laboratuvar testleri

Yapılacak Biyokimyasal Testler

Yapılacak Biyokimyasal Testler	Yapılacağı Laboratuvar
Kolesterol, LDL, HDL, VLDL, Glukoz	Biyokimya Labratuvarı

Yapılacak Analitik Testler

Yapılacak Analitik Testler	Yapılacağı Laboratuvar
----------------------------	------------------------

8. Kullanılacak değerlendirme ve istatistik yöntemleri

1. Bağımsız gruplarda iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi

2. Unpaired student test

3. Pearson Korelasyon analizi

EK-3**BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU ÖRNEĞİ (İlaç-dışı Araştırmalar İçin)
HASTA (Veli/Vasi) BİLGİLENDİRME FORMU**

Bu klinik çalışmanın amacı, Obezitede nitrik oksit, homosistein, leptin ve miyogloblin düzeylerinin araştırılması isimli tıbbi uygulamanın etkinliğini değerlendirmektir.

Bu tıbbi uygulamanın hastalığınıza yapılacak olan tedavinin etkinliğini artırmada iyi olacağı düşünülmektedir.

Fakültemiz Etik Kurulu tarafından, bu çalışmanın Helsinki Deklerasyonunda belirtilen maddelere göre ahlaki, vicdani ve tıbbi kurallara uygun olduğu onaylanmıştır.

Çalışma öncesinde bu tıbbi uygulama ile ilgili tedaviyi istediğinize dair bir evrak imzalamanız gerekmektedir.

Bu çalışmaya katılmakta karar tamamen size aittir (özgürsünüz). Başlangıçta kabul edip, daha sonra fikir değiştirip, hiç gerekçe göstermeden çalışmadan ayrılabilirsiniz. Bu durumda sizinle ilgili tıbbi özende bir değişiklik olmayacaktır.

HASTA (Veli/Vasi) RIZA FORMU

Aşağıda imzası bulunan ben Obez hastalarda nitrik oksit, homosistein, leptin ve miyogloblin parametrelerinin araştırılması isimli, planlanan klinik çalışma hakkında, Biyolog Pınar BAKİ ÜNVER'den tam olarak bilgi aldığımı beyan ederim.

Bu tıbbi uygulamanın etik açısından Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) kurallarına uygun olarak incelendiğini ve insanlara uygulanmasının sakıncalı olmayacağı bana anlatıldı.

Bana verilen bu bilgiler temelinde, istediğim herhangi bir zaman, hiçbir sakınca olmadan, çalışmadan çekilebileceğimi teyid ediyorum

Hasta No :
 Hastanın Adı Soyadı :
 Hastanın Doğum Tarihi :
 Hastanın veli/vasisinin Adı Soyadı :
 Araştıracının İmzası :
 Tarih :

11. ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Malatya’da doğmuştur. İlk, orta, lise eğitimini Malatya’da tamamlamıştır. 2000 yılında Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazanıp üniversite eğitimine başlamış 2005 yılında bu bölümden mezun olup 2006 yılında İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başlamıştır. Halen eğitimini devam ettirmektedir.