

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**OBEZİTE HASTALARINDAN GASTREKTOMİ OPERASYONU İLE ELDE  
EDİLEN MİDE DOKULARINDA GLUTATYON S-TRANSFERAZ  
İZOZİMLERİNİN AKTİVİTELERİNİN VE TOPLAM TİYOL  
MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Ceylan FİDAN  
DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Can YILMAZ

VAN-2018



T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**OBEZİTE HASTALARINDAN GASTREKTOMİ OPERASYONU İLE ELDE  
EDİLEN MİDE DOKULARINDA GLUTATYON S-TRANSFERAZ  
İZOZİMLERİNİN AKTİVİTELERİNİN VE TOPLAM TİYOL  
MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Ceylan FİDAN


VAN-2018



## KABUL VE ONAY SAYFASI

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Dr. Öğr. Üyesi Can YILMAZ danışmanlığında, Ceylan FİDAN tarafından sunulan "Obezite Hastalarından Gastrektomi Operasyonu ile Elde Edilen Mide Dokularında Glutasyon S-transferaz İzozimlerinin Aktivitelerinin ve Toplam Tiyoil Miktarlarının Karşılaştırılması" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince ~~28.12.2018~~ tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile başarılı bulunmuş ve ~~Yüksek Lisans~~ tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Şevki ARSLAN

İmza: 

Üye: Doç. Dr. Metin KONUŞ

İmza: 

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Can YILMAZ

İmza: 

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~04/01/2019~~ tarih ve ~~2019/1-1~~ sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

  
Prof. Dr. Siyasettin SENSOY  
Enstitü Müdürü



## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ceylan FİDAN





## ÖZET

### **OBEZİTE HASTALARINDAN GASTREKTOMİ OPERASYONU İLE ELDE EDİLEN MİDE DOKULARINDA GLUTATYON S-TRANSFERAZ İZOZİMLERİNİN AKTİVİTELERİNİN VE TOPLAM TİYOL MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

FİDAN, Ceylan

Yüksek Lisans Tezi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Can YILMAZ

Aralık 2018, 135 sayfa

Obezite, prevalansındaki yükselme eğiliminden, birçok hastalık ve mortalite ile ilişkili olmasından dolayı pek çok ülkede önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Bu çalışmada endojen savunma mekanizmasının önemli üyeleri olan glutatyon molekülü ve glutatyon S-transferaz enzimi üzerine obezite ve ilişkili hastalıklarının etkisi araştırıldı. 39 obez hastasından alınan mide dokusu örnekleri homojenize edildi. GSH düzeyleri analiz edildi. GST enzim aktivitesi ELISA Mikroplaka Okuyucu sistemde CDNB, pNBC, EPNP substratlarına karşı okuma yapılarak belirlendi. Hastalar cinsiyet, yaş, hipertansiyon olgusu, diyabet olgusu ve aile öyküsü parametreleri göz önünde bulundurularak gruplandırıldı. Vücut Kitle İndeksi-GSH-Toplam GST aktivitesi ilişkisinde, toplam GST aktivitesinin yüksek ölçüldüğü durumlarda, GSH miktarı nispeten düşük olarak tespit edildi. Yaş-GSH ve toplam GST ilişkisinde yaş artışı ile beraber GSH düzeyi ve toplam GST aktivitesinde artış gözlemlendi. Cinsiyete göre yapılan karşılaştırmada, kadın hastalarda, üç farklı substratla ölçülen tüm aktivite değerlerine ait ortalamaların, erkeklerin ortalamalarından yüksek olduğu tespit edildi. Mevcut çalışma Türk popülasyonundaki obez hastaların mide dokularında GST enzim aktivitesinin ve toplam tiyol miktarının yaş, cinsiyet, hipertansiyon olgusu, diyabet olgusu ve aile öyküsü parametrelerine göre gruplandırılıp karşılaştırıldığı ilk çalışma oldu. Bu çalışma Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Baştabipliği Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 2012-KAEK-15/(1678) 1800 sayılı onayıyla gerçekleştirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** CDNB, EPNP, GSH, GST, Obezite, pNBC.



## ABSTRACT

### COMPARISON OF THE ACTIVITIES OF GLUTATHIONE S-TRANSFERASE ISOZYMES AND TOTAL THIOL CONTENT OF GASTRIC TISSUES OBTAINED FROM OBESITY PATIENTS BY GASTRECTOMY OPERATION

FIDAN, Ceylan

M. Sc. Thesis, Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Can YILMAZ

December 2018, 135 pages

Obesity has become an important public health problem in many countries because of its increasing prevalence, its relation with many diseases and mortality. Studies have shown that obesity is associated with oxidative stress. In this study, the effect of obesity and related diseases on GSH molecule and GST enzyme which are important members of endogenous defense mechanism were investigated. The samples of gastric tissue which was taken from 39 obese patients, were homogenized. GSH levels were analyzed. GST enzyme activity was measured towards CDNB, pNBC, EPNP substrates in the ELISA Microplate Reader system. Patients were grouped according to gender, age, hypertension, diabetes and family history. In the relationship of BMI-GSH-Total GST activity, GSH was found to be relatively low when total GST activity was high. In the relationship between age-GSH and total GST, GSH level and total GST activity increased with age. In comparison with gender, the mean values of all activity values measured in three different substrates averages of female patients were found higher than the averages of males. The present study is the first study to compare activities of GST isozymes and total thiol content in the stomach tissue of obese patients in Turkish population grouped according to age, gender, hypertension case, diabetes case and family history parameters. This study was conducted with the approval (No: 2012-KAEK-15 / (1678) 1800) of Ankara Kecioren Training and Research Hospital Medical Research Ethics Committee.

**Keywords:** CDNB, EPNP, GSH, GST, Obesity, pNBC.



## ÖN SÖZ

Yüksek lisans öğrenimimin her aşamasında bana sayısız katkısı olan, beni her zaman daha çok çalışmaya, daha çok araştırmaya ve meraklı bir bilim insanı olmaya teşvik eden değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Can YILMAZ'a

Çalışmanın planlanması, cerrahi grubuyla birlikteliğin ve koordinasyonun sağlanmasında, etik kurul raporunun alınmasında büyük emekleri olan Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN'e

Obezite hastalarından doku örneklerini alarak tarafımıza ulaştıran ve çalışmamızın gerçekleşmesinde büyük payı olan Doç. Dr. Hakan BULUŞ ve ekibinin kıymetli üyesi Dr. Mehmethan CİHAN'a,

Kıymetli tavsiyeleriyle çalışmamıza katkı sağlayan değerli hocam Doç. Dr. Metin KONUŞ'a, jüri üyesi olarak tezime bilimsel katkılarını esirgemeyen Prof. Dr. Şevki ARSLAN'a,

Laboratuvar çalışmalarımın büyük çoğunluğunda yanımda olup benden desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Pınar YILMAZ'a, Doğan ÇETİN'e,

Son olarak sadece yüksek lisans öğrenimim boyunca değil, hayatımın her aşamasında yanımda olan, geçirdikleri zorlu sürece rağmen çalışmalarım süresince bir an olsun desteklerini esirgemeyen canım anneme, babama, kardeşlerime ve Sinan BABAT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

2018

Ceylan FİDAN



## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ .....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Obezite.....	1
1.1.1. Obezitenin tanımı.....	1
1.1.2. Obezitenin sınıflandırılması .....	1
1.1.2.1. Obezitenin yağ hücre sayısı ve büyüklüğüne göre sınıflandırılması .....	2
1.1.2.1.1. Hipertrofik tip obezite .....	3
1.1.2.1.2. Hiperplastik (hipersellüler) tip obezite .....	4
1.1.2.2. Obezitenin ortaya çıktığı yaşa göre sınıflandırılması .....	4
1.1.2.2.1. Çocukluk çağında başlayan obezite.....	5
1.1.2.2.2. Erişkin dönemde başlayan obezite .....	6
1.1.2.3. Obezitenin vücuttaki yağ birikim lokalizasyonuna göre sınıflandırılması .....	7
1.1.2.3.1. Android obezite (elma tipi obezite).....	7
1.1.2.3.2. Gynoid tip obezite (armut tipi obezite).....	9
1.1.2.4. Obezitenin etiyolojiye göre sınıflandırılması .....	11

	<b>Sayfa</b>
1.1.2.4.1. Primer obezite (ekzojen obezite) .....	11
1.1.2.4.2. Sekonder obezite (endojen obezite).....	11
1.2. Detoksifikasyon Enzim Sistemleri .....	12
1.2.1. Faz I sistemleri .....	13
1.2.2. Faz II sistemleri.....	15
1.2.3. Faz III sistemleri .....	16
1.3. Glutasyon Konjugasyonu ve Glutasyon S-Transferazlar .....	18
1.3.1 Glutasyon ve metabolik konjugasyonu .....	18
1.3.2. Glutasyon S-transferazlar.....	20
1.3.2.1. Sitozolik GST .....	23
1.3.2.2. Mitokondrial GST .....	26
1.3.2.3. Mikrozomal (MAPEG) GST .....	26
1.3.3. Glutasyon S-transferaz enzimlerinin substratları .....	27
1.4. Obezite ile İlişkili Oksidatif Stres Mekanizmaları .....	28
1.5. Tezin Amacı .....	30
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ .....	33
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	43
3.1 Materyal.....	43
3.1.1 Kimyasallar.....	43
3.1.2 Mide dokusu örnekleri .....	43
3.2. Yöntemler.....	44
3.2.1 Mide dokularının homojenizasyonu .....	44
3.2.1.1. Yıkama tamponu hazırlığı .....	44



	<b>Sayfa</b>
3.2.1.2. Homojenizasyon tamponu hazırlığı .....	44
3.2.1.3. Homojenizasyon uygulaması .....	44
3.2.2. Bradford metodu ile protein tayini .....	45
3.2.3. GST spesifik aktivite tayini .....	46
3.2.3.1. CDNB substratı ile GST spesifik enzim aktivitesinin belirlenmesi .....	46
3.2.3.2. PNBC substratı ile GST spesifik enzim aktivitesinin belirlenmesi .....	47
3.2.3.3. EPNP substratı ile GST spesifik enzim aktivitesinin belirlenmesi .....	48
3.2.4. Toplam tiyol gruplarının belirlenmesi .....	49
3.2.5. İstatistiksel analizler .....	52
4. BULGULAR .....	53
4.1. GST İzozimlerinin ve Toplam Tiyol Miktarının Örnekleme Parametrelerine Göre Değişimi .....	53
4.1.1. Yaşın GST enzim aktiviteleri ve toplam tiyol miktarı üzerine etkileri .....	54
4.1.2. Cinsiyetin GST enzim aktiviteleri ve toplam tiyol üzerine etkileri .....	62
4.1.3. Hipertansiyonun GST enzim aktiviteleri ve toplam tiyol miktarı üzerine etkileri .....	70
4.1.4. Diyabetin GST enzim aktiviteleri ve toplam tiyol miktarı üzerine etkileri ...	78
4.1.5. Aile geçmişinin GST enzim aktiviteleri ve toplam tiyol miktarı üzerine etkileri .....	86
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	95
KAYNAKLAR .....	103
EKLER .....	115
ÖZ GEÇMİŞ .....	135



## ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Çocukluk çağı obezitesinin nedenleri .....	12
Çizelge 1.2. İnsanlarda başlıca faz II detoksifikasyon aktiviteleri .....	17
Çizelge 3.1. GST enzim aktivitesi reaksiyon ortamına ait bileşenler (PNBC) .....	48
Çizelge 3.2. GST enzim aktivitesi reaksiyon ortamına ait bileşenler (EPNP) .....	49
Çizelge 3.3. Toplam tiyol gruplarının belirlenmesi deneyine ait reaksiyon bileşenleri.....	51
Çizelge 4.1. Yaş-Toplam GST aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları.....	55
Çizelge 4.2. Yaş-GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: pNBC) .....	57
Çizelge 4.3. Yaş-GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: EPNP).....	59
Çizelge 4.4. Yaş-Toplam tiyol miktarı istatistiksel analiz sonuçları.....	61
Çizelge 4.5. Cinsiyet- Toplam GST aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları .....	63
Çizelge 4.6. Cinsiyet- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: pNBC) .....	65
Çizelge 4.7. Cinsiyet- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: EPNP).....	67
Çizelge 4.8. Cinsiyet-Toplam tiyol miktarı istatistiksel analiz sonuçları.....	69
Çizelge 4.9. Hipertansiyon-Toplam GST aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları .....	71
Çizelge 4.10. Hipertansiyon- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: pNBC) .....	73
Çizelge 4.11. Hipertansiyon- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: EPNP).....	75
Çizelge 4.12. Hipertansiyon-Toplam tiyol miktarları istatistiksel analiz sonuçları.....	77
Çizelge 4.13. Diyabet-Toplam GST aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları .....	79

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 4.14. Diyabet- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: pNBC) .....	81
Çizelge 4.15. Diyabet-GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: EPNP).....	83
Çizelge 4.16. Diyabet-Toplam tiyol miktarı istatistiksel analiz sonuçları .....	85
Çizelge 4.17. Aile bağlantısı-Toplam GST aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları .....	87
Çizelge 4.18. Aile bağlantısı- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: pNBC) .....	89
Çizelge 4.19. Aile bağlantısı- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: EPNP).....	91
Çizelge 5.1. Tüm deney grupları için, tüm substratlarla elde edilen GST aktiviteleri ve GSH miktarları .....	96

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Normal ve hipertrofik adiposit görünümü.....	2
Şekil 1.2. Obezitenin gelişimindeki kritik dönemler.....	5
Şekil 1.3. Armut ve elma tipi obezite .....	9
Şekil 1.4. İnsan CYP P450 genlerinin filogenetik ağacı. ....	15
Şekil 1.5. Ksenobiyotiklerin enzimatik biyotransformasyonuna genel bakış .....	18
Şekil 1.6. Glutasyon yapısı .....	19
Şekil 1.7. $\gamma$ -glutamil döngüsü ve GSH:GSSG döngüsü .....	20
Şekil 1.8. İnsan glutasyon transferazlarının (GST'ler) amino asit sekans benzerliğine göre sınıflandırılması .....	22
Şekil 1.9. S/C ve Y-Tipi GST'ler .....	24
Şekil 1.10. GST monomer ve dimer yapıları.....	24
Şekil 1.11. GST enziminin üç boyutlu yapısı.....	25
Şekil 1.12. İnsan GST izozimleri ve model substratları.....	28
Şekil 1.13. Obezite ile ilgili oksidatif stres mekanizmaları.....	29
Şekil 1.14. Obezite ile ilgili araştırmaların sayısı.....	30
Şekil 1.15. Obezite-glutasyon S-transferaz ilişkisini gösteren çalışmaların sayısı.....	31
Şekil 1.16. Türk popülasyonunda obeziteyi araştıran çalışmaların sayısı.....	31
Şekil 3.1. Bradford protein tayin metodunda kullanılan standart eğri grafiği.....	46
Şekil 3.2. GST enzimi tarafından katalizlenen GSH ve CDNB konjugasyon reaksiyonu.....	47
Şekil 3.3. GST enzimi tarafından katalizlenen GSH ve PNBC reaksiyonu .....	48
Şekil 3.4. GST enzimi tarafından katalizlenen GSH ve EPNP reaksiyonu.....	49

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 3.5. DTNB'nin serbest tiyol grupları tarafından indirgenmesi .....	50
Şekil 3.6. DTNB' nin GSH tarafından indirgenmesi .....	51
Şekil 3.7. Total tiyol miktarının belirlenmesi için kullanılan standart eğri grafiği. ....	52
Şekil 4.1. Obez hastalarda görülen olgu ortaklıkları. ....	53
Şekil 4.2. Toplam GST aktivitelerinin yaşa göre dağılımı (Substrat: CDNB). ....	54
Şekil 4.3. Toplam GST aktivitelerinin ortalamalarının yaşa göre dağılımı. ....	54
Şekil 4.4. GST izozim aktivitelerinin yaşa göre dağılımı (Substrat pNBC). ....	56
Şekil 4.5. GST izozim aktivitesi ortalamalarının yaşa göre dağılımı (Substrat: pNBC). ....	56
Şekil 4.6. GST izozim aktivitelerinin yaşa göre dağılımı (Substrat:EPNP). ....	58
Şekil 4.7. GST izozim aktivitesi ortalamalarının yaşa göre dağılımı (Substrat: EPNP). ....	58
Şekil 4.8. Toplam tiyol miktarının yaşa bağlı dağılımı. ....	60
Şekil 4.9. Toplam tiyol miktarı ortalamalarının yaşa bağlı değişimi. ....	60
Şekil 4.10. Toplam GST aktivitelerinin cinsiyete göre dağılımı (Substrat: CDNB). ....	62
Şekil 4.11. Toplam GST aktivitelerinin ortalamalarının cinsiyete göre dağılımı. ....	62
Şekil 4.12. GST izozim aktivitelerinin cinsiyete göre dağılımı (Substrat: pNBC). ....	64
Şekil 4.13. GST izozim aktivitesi ortalamalarının cinsiyete göre dağılımı (Substrat: pNBC). ....	64
Şekil 4.14. GST izozim aktivitelerinin cinsiyete göre dağılımı (substrat: EPNP). ....	66
Şekil 4.15. GST izozim aktivitesi ortalamalarının cinsiyete göre dağılımı (substrat: EPNP). ....	66
Şekil 4.16. Toplam tiyol miktarının cinsiyete bağlı dağılımı .....	68
Şekil 4.17. Toplam tiyol miktarı ortalamalarının cinsiyete bağlı dağılımı. ....	68

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 4.18. Toplam GST aktivitelerinin hipertansiyon vakalarına göre dağılımı (Substrat: CDNB). .....	70
Şekil 4.19. Toplam GST aktivite ortalamalarının hipertansiyon vakalarına göre dağılımı. ....	70
Şekil 4.20. GST izozim aktivitesinin hipertansiyon vakalarına göre dağılımı (Substrat pNBC). ....	72
Şekil 4.21. GST izozim aktivitesi ortalamalarının hipertansiyon vakalarına göre dağılımı (Substrat pNBC). ....	72
Şekil 4.22. GST izozim aktivitelerinin hipertansiyon vakalarına göre dağılımı (Substrat: EPNP). ....	74
Şekil 4.23. GST izozim aktivitesi ortalamalarının hipertansiyon vakalarına göre dağılımı (Substrat: EPNP). ....	74
Şekil 4.24. Toplam tiyol miktarının hipertansiyon vakalarına bağlı dağılımı. ....	76
Şekil 4.25. Toplam tiyol miktarı ortalamalarının hipertansiyon vakalarına bağlı dağılımı. ....	76
Şekil 4.26. Toplam GST aktivitelerinin diyabet vakalarına göre dağılımı (Substrat: CDNB). ....	78
Şekil 4.27. Toplam GST aktivite ortalamalarının diyabet vakalarına göre dağılımı. ....	78
Şekil 4.28. GST izozim aktivitelerinin diyabet vakalarına göre dağılımı (Substrat: pNBC). ....	80
Şekil 4.29. GST izozim aktivitesi ortalamalarının diyabet vakalarına göre dağılımı (Substrat: pNBC). ....	80
Şekil 4.30. GST izozim aktivitelerinin diyabet vakalarına göre dağılımı (Substrat: EPNP). ....	82
Şekil 4.31. GST izozim aktivitesi ortalamalarının diyabet vakalarına göre dağılımı (Substrat: EPNP). ....	82
Şekil 4.32. Toplam tiyol miktarının diyabet vakalarına bağlı dağılımı. ....	84
Şekil 4.33. Toplam tiyol miktarı ortalamalarının diyabet vakalarına bağlı dağılımı. ....	84

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 4.34. Toplam GST aktivitelerinin aile bağlantısına göre dağılımı (Substrat: CDNB). .....	86
Şekil 4.35. Toplam GST aktivite ortalamalarının aile bağlantısına göre dağılımı (Substrat: CDNB). .....	86
Şekil 4.36. GST izozim aktivitelerinin aile bağlantısına göre dağılımı (Substrat: pNBC). .....	88
Şekil 4.37. GST izozim aktivitesi ortalamalarının aile bağlantısına göre dağılımı (Substrat: pNBC). .....	88
Şekil 4.38. GST izozim aktivitelerinin aile bağlantısına göre dağılımı (Substrat: EPNP).....	90
Şekil 4.39. GST izozim aktivitesi ortalamalarının aile bağlantısına göre dağılımı (Substrat: EPNP).....	90
Şekil 4.40. Toplam tiyol miktarının aile bağlantısına göre dağılımı. ....	92
Şekil 4.41. Toplam tiyol miktarı ortalamalarının aile bağlantısına göre dağılımı.....	92
Şekil 5.1. VKİ-GSH-Toplam GST Aktivitesi ilişkisi.....	96
Şekil 5.2. Yaş-Toplam GST Aktivitesi-GSH ilişkisi.....	98
Şekil 5.3. Farklı substratlar ile elde edilen GST aktiviteleri arasındaki bağıntı.....	99
Şekil 5.4. Yaş-VKİ-Toplam GST Aktivitesi ilişkisi. ....	101



## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler

### Açıklama

<b>g</b>	Gram
<b>µg</b>	Mikrogram
<b>nm</b>	Nanometre
<b>ml</b>	Mililitre
<b>µl</b>	Mikrolitre
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	Distile Su
<b>mM</b>	Milimolar

### Kısaltmalar

### Açıklama

<b>GST</b>	Glutasyon S-transferaz
<b>CDNB</b>	1-kloro-2,4-dinitrobenzen
<b>EPNP</b>	1,2-epoksi-3-(p-nitrofenoksi)-propan
<b>pNBC</b>	p-nitrobenzil klorid
<b>GSH</b>	Glutasyon
<b>GSSG</b>	Disülfid glutasyon
<b>WHO</b>	World Health Organization
<b>ROS</b>	Reaktif Oksijen Türevleri
<b>VKİ</b>	Vücut Kitle İndeksi
<b>BKİ</b>	Beden Kitle İndeksi
<b>GPx</b>	Glutasyon Peroksidaz
<b>GR</b>	Glutasyon Redüktaz



## EKLER DİZİNİ

<b>Ekler</b>	<b>Sayfa</b>
Ek 1. pNBC substratı ile GST enzimi spesifik aktivitesinin belirlenmesi için yapılan optimizasyonlar.....	115
Ek 2. Hastalar için pNBC substratı ile belirlenen enzim aktiviteleri.....	119
Ek 3. EPNP substratı ile GST enzimi spesifik aktivitesinin belirlenmesi .....	125
Ek.4. Hastalar için EPNP substratı ile belirlenen enzim aktiviteleri.....	128





# 1. GİRİŞ

## 1.1. Obezite

### 1.1.1. Obezitenin tanımı

Obezite terimi, *ob-* ve *edere* kelimelerinin kısaltılması ile oluşmuş Latince kökenli, “devamlı olarak oburca yemek” anlamındaki *obesus* kelimesinden türemiştir (Aronson, 2003).

Obezite yağın adipoz dokuda normal olmayan ya da aşırı bir şekilde birikimi sonucu genel sağlığı olumsuz yönde etkileyen, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi bir dizi kronik hastalık için risk faktörü veya belirleyici olan bir durumdur (WHO, 2000; Tremmel ve ark., 2017). Diğer bir deyişle, obezite uzun bir süre boyunca enerji alımının enerji tüketimini aşması sonucu meydana gelen ve kilo alımına sebep olan, istenmeyen bir pozitif enerji dengesi durumudur (WHO, 2000).

Ortalama kiloda yetişkin bir erkek bireyde, vücut yağ yüzdesi %15-20 arasındadır. Kadınlarda bu oran daha fazladır ve %25-30 civarındadır. Erkeklerde yağ yüzdesinin vücut ağırlığının %25’ini ve kadınlarda ise %30’unu geçtiği durumda obeziteden söz edilir (Deurenberg ve ark., 1991; Seidell ve Flegal, 1997).

### 1.1.2. Obezitenin sınıflandırılması

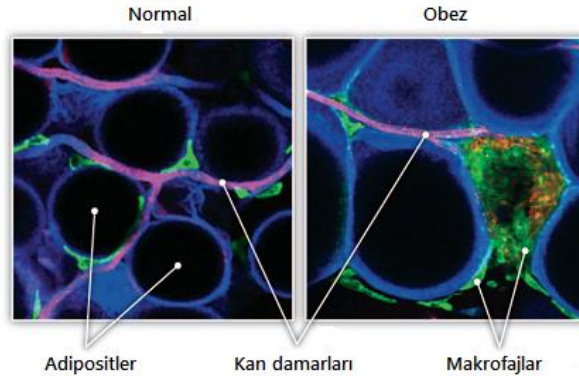
Aşırı kiloluluk ve obezitenin sınıflandırılması, bir popülasyon içinde ve/veya popülasyonlar arasındaki ağırlık durumunun anlamlı bir şekilde karşılaştırılmasına ek olarak, daha sonraki çalışmalarda birey ve toplum düzeylerine müdahale için önceliklerin belirlenmesine ve daha fazla değerlendirmesine olanak tanır, bireylerin ve grupların morbidite ve mortalite riskinin artışının tanımlanmasına yardımcı olur (WHO, 2000).

Obezite, genelde alınan enerjinin, harcanan enerjiden fazla olmasından kaynaklanan pozitif enerji dengesi sonucu ortaya çıkar; ancak, gelişmesinde birçok çevresel, psikolojik ve genetik faktörün rol oynaması, özelliklerinin ve sonucundaki

bulguların farklı olabilmesi nedeniyle birkaç şekilde sınıflandırılır (Esenlik ve Bolat, 2011).

### 1.1.2.1. Obezitenin yağ hücre sayısı ve büyüklüğüne göre sınıflandırılması

Canlılar hayatta kalabilmek için dışarıdan enerji almaya ihtiyaç duyarlar. Özellikle gıda alımı fazla olduğunda enerjinin fazlasının depolanması, gıda alınmadığı zamanlarda hayatta kalmayı artırıcı önemli fizyolojik bir aktivitedir. Çok hücreli organizmalar, fazla enerji alındığında lipitleri depolamak için özelleşmiş hücre ya da organlara sahiptirler (Birsoy ve ark., 2013). Johnson ve Hirsch'in (1972) çalışmalarından başlayarak, normal ve anormal gelişimdeki adipoz doku büyümesi üzerine, hücre büyüklüğü ve hücre sayısı açısından dokunun durumunu karakterize eden çok sayıda çalışma yapılmıştır (Jo ve ark., 2009). Lipidlerin alımı, esterleşmesi, lipolizis ve preadipositlerin farklılaşmasındaki biyokimyasal süreçlere göre enerji dengesine bir cevap oluşturmak için, adiposit sayısı ve morfolojisi değişim göstermektedir (Gray ve Vidal-Puig, 2007). Obez hastaların adipoz doku kitlesinin hücresel karakterine bağlı olarak iki obezite şekli ortaya çıkar: hiperplastik tip obezite ve hipertrofik tip obezite (Salans ve ark., 1973). Adipoz dokudaki preadipositlerin yaşam boyunca olgun adipositlere dönüşebilmesiyle, depolama ihtiyacı arttığında ve gerekli olduğunda adipoz dokunun genişlemesi mümkün olmaktadır. Aşırı gıda alımında ve depolama ihtiyacına göre olgun adipositler büyüklüklerini artırırlar (Şekil 1.1) ve hipertrofik olurlar (Gray ve Vidal-Puig, 2007).



Şekil 1.1. Normal ve hipertrofik adiposit görünümü (Lumeng, 2010).

Pozitif enerji dengesi sırasında adipozun büyümesi, adipositlerin sayısında bir artış (hiperplazi) ve/veya yağ hücrelerinin boyutunda bir artış (hipertrofi) ile ortaya çıkabilir. Adiposit sayısı yaşamın erken evrelerinde kısmen belirlenmiş olmasına rağmen, öncül hücrelerden oluşan adipositlerin (preadipositler) sayısı yetişkinlik döneminde artabilir (RÁCZ ve ark., 2014).

#### **1.1.2.1.1. Hipertrofik tip obezite**

Obezitenin oluşumu ile metabolik hastalıkların ortaya çıkmasının göstergesi, adipoz dokularda görülen hücresel yapı değişiklikleridir (Sun ve ark., 2011). Hastalarda ilk olarak, mevcut adipoz hücrelerinde trigliserit depolanmasının artışı, adipoz hücrelerini uygun olmayan bir şekilde genişleterek insülin direncine ve inflamasyona sahip bozuk bir adipoz doku ile karakterize hipertrofik obeziteye yol açar. Hipertrofi, obezitenin ilerlemesinde, ek yağ depolama kapasitesine duyulan ihtiyacı karşılamak için, hiperplazi öncesinde oluşur. Metabolik sendromlu obezlerde adipoz dokunun karakteristik yapısı adiposit hipertrofisi şeklindedir. Hipertrofik obezite, subkütanöz yağ dokusunun yeni adipoz öncül hücrelerini oluşturma ve farklılaştırma yeteneğinin bozulmasından kaynaklanmaktadır. Lipit birikimi sırasında subkütanöz yağ dokusunda yeni adipoz hücresi alma yeteneği, uygun olmayan adipoz hücre genişlemesini (hipertrofik obezite) önlemektedir (Faust ve ark., 1978; Gustafson ve ark., 2009; Sun ve ark., 2011; Gustafson ve ark., 2013)

Adipositlerin boyutu, triaçilgliserollerin depolanması ve salınması arasındaki dengeye cevap verir. Artan gıda alımı ve artmış insülin salgılanması lipogenezi destekleyecektir. Diğer yandan, egzersizde ve lipolitik hormonların salgılanmasındaki artış yağ kullanımını teşvik edecektir. Bu durum, hipertrofik obezitenin dinamik ve geri dönüşümlü olduğu anlamına gelir (RÁCZ ve ark., 2014).

Hipertrofik obezitede, mevcut yağ hücreleri, obezitenin patofizyolojisinde rol alan proteinleri ve metabolitleri üretir. Bu proteinler, çok düşük yoğunluklu lipoproteinlerin trigliseritlerinin ve şilomikronların hidrolizine katkıda bulunan lipoprotein lipazları, sitokinleri (tümör nekrotizan faktör- ve interlökin-6) ve anjiyotensinojenleri içerir. Hipertrofilli yağ hücresi ayrıca obez hayvan modellerinde

yer alan bir hormon olan leptini üretir. Hipertrofik tip obezite bozulmuş glikoz toleransı, hipertansiyon gibi obezitenin metabolik komplikasyonları ile ilişkilidir (Aronne, 2002).

#### **1.1.2.1.2. Hiperplastik (hipersellüler) tip obezite**

Adipoz hücrelerinde trigliseritlerin depolanmasının artışı yeni yağ hücrelerinin artışı (hiperplazi) şeklinde bir mekanizma ile de gerçekleşebilir (Gustafson ve ark., 2009). Artmış toplam adiposit hücresi sayısı ile karakterize olan hipersellüler tip obezite, tipik olarak,  $VKI < 40 \text{ kg / m}^2$  olan hastaları etkiler (Aronne, 2002).

Yağ hücrelerinin ömrü çok uzun olduğundan, boyutları depolanan triaçilgliserollerin miktarına göre değişir, ancak toplam sayısında ya hiç değişiklik olmaz ya da çok kısıtlı bir değişim gözlenir. Bu gerçek, hiperplastik obeziteye sahip bireylerin ömürleri boyunca yağ hücrelerinin toplam kütlelerinde bir artış olduğunu ve adipositlerin sayısında bir azalma olmaksızın küçülme meydana geldiğini gösterir (Rácz ve ark., 2014).

Obezitenin bu iki hücresel şekli, deri altı ile daha derin depo bölgeleri arasında çeşitli yağ dağılımlarından bağımsızdır. Bu farklı hücresel şekiller vücut büyüklüğü, vücut kompozisyonu, obezitenin derecesi, süresi ve başlangıç yaşı gibi çeşitli parametreler açısından incelendiğinde, yalnızca, obezitenin başlangıç yaşı açısından hiperplastik tip obezite hipertrofik tip obeziteden ayrılır: hiperplastik obezite erken başlangıç yaşı, hipertrofik obezite geç başlangıç yaşı ile karakterizedir. Adipoz dokusunun hipersellüleritesinin en sık ortaya çıktığı iki farklı dönem: ilk birkaç yıl içindeki çok erken dönem veya 9 ila 13 yaş arasındadır (Salans ve ark., 1973). Hipertrofik obezitenin insülin direnci ve diğer metabolik komplikasyonlarla olan ilişkisi hiperplastik obeziteye oranla çok daha kuvvetlidir. Yeni yağ hücrelerinin oluşması yetişkinlerde daha az görülür; ancak, ortaya çıktığında, genellikle “obez ama metabolik olarak normal” olarak tanımlanırlar (Gustafson ve ark., 2009).

#### **1.1.2.2. Obezitenin ortaya çıktığı yaşa göre sınıflandırılması**

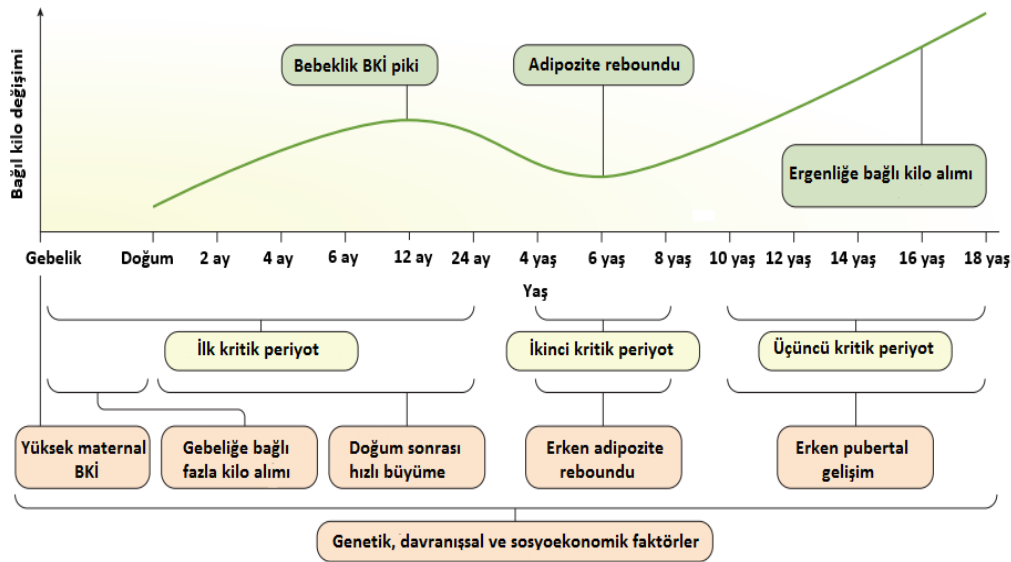
Obezitenin başlangıç yaşının belirlenmesi potansiyel olarak obeziteye katkıda bulunan yaşam tarzı değişiklikleriyle ilişkilendirilebileceği ve hiperplastik tip obeziteyi



hipertrofik tip obeziteden ayırabilecek klinik bir belirteç olabileceği için önemlidir (Aronne, 2002).

### 1.1.2.2.1. Çocukluk çağında başlayan obezite

Erken başlangıçlı şişmanlık, yaygın olması, çocukluk çağında başlayıp erişkin dönemde de devam edebilmesi (Şekil 1.2), tip II diabetes mellitus ve kardiyovasküler hastalıklar gibi erişkin metabolik komplikasyonlarına sebep olması ile düşük özgüven, depresyon ve olumsuz benlik imajı gibi psikososyal problemlere kaynak olabilmesi dolayısıyla halk sağlığı açısından büyük bir sorundur (Lo ve ark., 2014; Lee ve ark., 2016).



Şekil 1.2. Obezitenin gelişimindeki kritik dönemler (González-Muniesa ve ark., 2017).

İnsanlarda bebeklik dönemi, hem ilk yılda yaklaşık 6 kg alınmasına, hem de vücut boyutunun ortalama üç katına çıkmasına bağlı olarak en yüksek kilo alınan dönemdir. Bebeklikteki bu hızlı kilo artışı, çocukluk ve erişkin obezite riski ile tutarlı bir şekilde ilişkilidir (Lakshman ve ark., 2012). Adipoz dokunun ontogenetik gelişiminde “erken çocukluk dönemi” ve “ergenlik dönemi” olmak üzere önemli iki kritik dönem daha vardır ve bu dönemlerde adipoz doku kitlesi hızlandırılmış bir birikim ile doğumdan ergenliğe kadar artar. Normal kiloya sahip çocuklarda adipozite

boyutu erken çocukluk döneminden ergenlik dönemine ve sonrasında erişkin döneme kadar artar. Obez çocuklarda ise adiposit boyutu 6-8. yaşlarda zaten önemli ölçüde artmıştır ve daha sonra, erken erişkinlik dönemine kadar nispeten sabit kalması, obez çocuklarda daha büyük olan adiposit boyutunun çocukluk çağında belli bir düzeye erişebileceğini göstermektedir (Landgraf ve ark., 2015).

Çocukluk çağı obezitesi sıklıkla hiperplastik tip obezite sınıfında değerlendirilir. Büyümenin erken dönemlerinde hiperplazi, adipoz doku kitlesinin artışına önemli ölçüde katkıda bulunur; ardından kombine hipertrofi ve hiperplazi periyodu gelir. Bu kavramda, erişkin döneme gelindiğinde, adipositler artık çoğalamaz ve yağ dokusu sadece hipertrofiye bağlı olarak boyutlarını artırabilir (Bulfer ve Allen, 1979).

Erken çocukluk döneminde fazla kilolu veya şişman olanların ergenlik ve yetişkinlik döneminde obez olma olasılığı daha yüksektir ve bu duruma genetik faktörler ve çevresel faktörler arasındaki etkileşimler neden olur (Lee ve ark., 2016). Whitaker ve ark., (1997) çalışmalarında obez olmayan ebeveynlere sahip üç yaş altı obez çocukların yetişkinlikte obezite için düşük risk taşıdığını, ancak daha büyük çocuklarda görülen obezitenin ebeveynlerin obez olup olmadığına bakılmaksızın, yetişkin obezitesinin önemli bir göstergesi olduğunu; ayrıca, parental obezitenin, 10 yaşın altındaki hem obez hem de obez olmayan çocuklar arasında yetişkin obezite riskini ikiye katladığını göstermişlerdir.

#### **1.1.2.2.2. Erişkin dönemde başlayan obezite**

Erişkin dönemde başlayan obezite yağ hücrelerinin boyutunun lipit depolanma artışına bağlı olarak artması ile karakterize olan hipertrofik tip obezite sınıfında değerlendirilmektedir (Bulfer ve Allen, 1979). Başlangıç yaşı kimi çalışmada 18 yaş ve sonrası olarak tanımlanırken (Nasr ve ark., 1982) kimi çalışmada ise 20 yaş ve üzeri (The ve ark., 2010) olarak kabul edilmiştir. Obezitenin erişkin yaşta başlamasında birçok faktör rol oynayabilir; ancak, yaşam tarzındaki değişim (fiziksel olarak aktif yaşam tarzından hareketsiz yaşam tarzına geçiş) temel faktörlerden biridir. Multimedya kullanımının (bilgisayar, TV, internet) yanısıra ulaşım için motorlu araç kullanımının artışı ve fiziksel olarak yoğun mesleklerin sayısının azalması gibi durağan yaşam tarzı tipleri enerji tüketiminde azalmaya yol açarken, sağlıksız gıdaların aşırı tüketimi enerji

alımında artışa neden olur. Enerji alımı ve enerji tüketimindeki küçük bireysel değişiklikler bile, sistematik enerji dengesizliğine (örneğin enerji alımının enerji tüketimini aşması) ve obezitede popülasyon boyutunda ciddi değişikliklere yol açabilir (Hill ve ark., 2003; Pratt ve ark., 2012).

### **1.1.2.3. Obezitenin vücuttaki yağ birikim lokalizasyonuna göre sınıflandırılması**

İnsanlarda yağ dağılımı hem yaşa hem de cinsiyetine bağlıdır; cinsiyete bağlı yağ dağılımı bebeklik, erken çocukluk ve yaşlılıkta benzerdir, ancak yağ dağılımındaki farklılıklar erken gençlik yaşlarından orta yaşlara kadar olan dönemde ortaya çıkar. İnsanlarda yağ dağılımı, cinsiyet hormonları tarafından düzenlenir ve yağ bir bölgede biriktirildiği zaman, aynı zamanda vücudun bir başka bölgesinden de kullanılabilir (Singh ve Singh, 2006). Bjorntorp (1987, 1991) ve Rebuffé-Scrive ve ark., (1985) tarafından yapılan kapsamlı çalışmalar, cinsiyet hormonlarının belirli bölgesel adipoziteyi etkilediği ve yağ kullanımını ve birikimini düzenlendiğini göstermiştir. Basitçe ifade edilirse, östrojen, abdominal bölgede yağ birikimini önlerken gluteofemoral bölgedeki yağ birikimini diğer vücut bölgelerinde olduğundan daha fazla uyarır. Buna karşılık testosteron, abdominal bölgede yağ birikimini uyarır ve gluteofemoral bölgede yağ birikimini önler (Singh ve Singh, 2006).

Vücut yağının dağılımı total adipoziteye göre daha önemlidir ve hastalık riskleri ile doğrudan ilişkilidir (Koster ve ark., 2015). Bunun sebebi vücuttaki yağ dağılım şeklinin, obeziteden daha önemli bir morbidite ve mortalite faktörü olmasıdır. Bazı obez bireyler vücudun üst kısımlarında yağ depolarken, diğerleri vücutlarının alt kısımlarında yağ depolar. Bu durum, iki tip obeziteye neden olur: Android tip obezite ve gynoid tip obezite (Rác ve ark., 2014).

#### **1.1.2.3.1. Android obezite (elma tipi obezite)**

Erkeklerde daha sık görülen bu obezite türüne International Obesity Task Force (IOTF, 2004) “erkeklerde 102 cm'den ve hamile olmayan kadınlarda ise 88 cm'den büyük bel çevresi” şeklinde bir tanımlama getirmiştir. Özellikle üst vücutta depolanan fazla vücut yağı, aynı zamanda, elma şeklinde obezite veya abdominal obezite olarak da

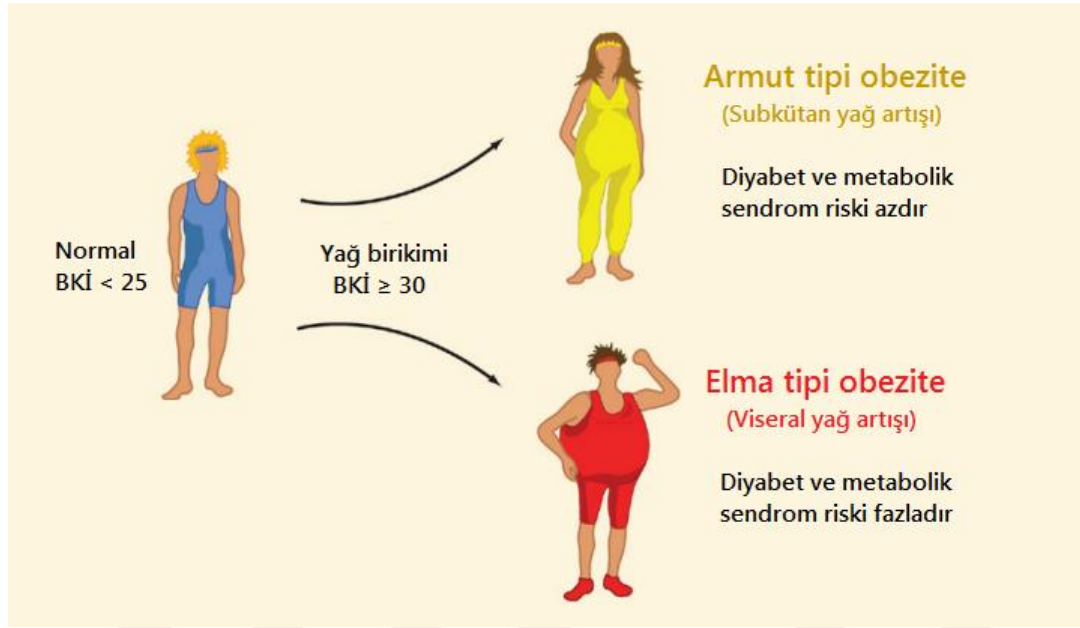
bilinen üst vücut şişmanlığı ile sonuçlanır. Üst vücut obezitesini tanımlamak için kullanılan diğer isimler arasında *merkezi obezite*, *trunkal obezite* veya *android obezite* bulunur. Halk dilinde, elma şekli obezitesine bazen “göbek” veya “bira göbeği” denir. Yani aşırı yiyecek tüketimine ek olarak fazla miktarda bira veya başka alkollü içecek tüketen kişilerde yaygın olarak görülen göbek yapısıdır (Uzogara, 2016). Tipik olarak, üst vücut şişmanlığı erkeklerde daha sık görülse de kadınlarda da yaygındır ve yağ hücrelerinin hacimce büyümesi ile karakterize olan hipertrofik tip obezite sınıfında değerlendirilir (Patidar, 2013; Işık ve ark., 2017). Menstrüel anormallikleri olan veya doğum sonrası hormon tedavisi gören kadınlar, bu tip obeziteye daha yatkındır (Patidar, 2013). Bu tip obeziteden muzdarip kadınlar, hirsütizm olarak adlandırılan vücut kıllılığı gibi daha erkeksi bir özellik geliştirirler ve genellikle aynı tip obeziteden muzdarip erkeklerden daha fazla yağa sahiptirler (Ojiegbe, 2016).

Android tip obezite, deri altı ve iç karın bölgesi kompartmanlarındaki adipoziteden katkılar alır. İntra-abdominal yağ (visseral yağ), iç organlar ve peritonda, bağırsakların dorsal sınırı ve böbreğin ventral yüzeyinde bulunan yağ olarak tanımlanmıştır (Desprès, 2006). Hastanın yağ dokusu özellikle karnın üst kısmı, omuzlar, yüz, kol, boyun ve göğüste birikmiştir ve vücudun alt kısmı, üst kısma kıyasla orantısız olarak daha incedir (Patidar, 2013). Ayrıca android tip obezitede bel/kalça oranı erkekte 0,95'den, kadında ise 0,8'den fazladır (Ojiegbe, 2016).

J.Vague, 1947'de obezitenin metabolik komplikasyonlarının en önemli faktörü olarak bölgesel adipoz doku dağılımının önemini öngören ilk kişiydi. Vague android obezitenin hızlandırılmış ateroskleroz, tip 2 diabetes mellitus ve gut ile ilişkili olduğunu öne sürmüştür. Vague'in öncüsü olduğu bu fikir sayısız deneysel, klinik ve epidemiyolojik çalışmalarla doğrulanmıştır ve android obezitenin neden olduğu durum “X-sendromu”, “metabolik sendrom” veya basitçe “insülin direnci sendromu” olarak adlandırılmıştır (Rác ve ark., 2014).

Sonuç olarak günümüzde de android tip şişmanlığın Diabetes Mellitus, Hipertansiyon, dislipidemi gibi birçok hastalık için risk faktörü olduğu (Şekil 1.3) ve bu tip obeziteye sahip bireylerin kardiyovasküler hastalıklar, yağlı karaciğer hastalığı ve bazı kanser türleri (kolon, mide ve meme) gibi çeşitli hastalıklara karşı daha savunmasız olduğu bilinmektedir (Yen, 1994; Uzogara, 2016). Üst vücut obezitesinin erkeklerde daha sık görülmesi hipertansiyon, dislipidemi ve glukoz intoleransı gibi metabolik

anormalliklere sahip olma olasılıklarını yükseltir ve bu durum erkeklerin neden daha yüksek ölüm oranlarına ve koroner kalp hastalığı insidansına sahip olduğunu açıklayabilir. Kadınlarda da android tip yağ paterni, kalp hastalığı geliştirme olasılığını artırır (Yen, 1994).



Şekil 1.3. Armut ve elma tipi obezite (Gesta ve ark., 2007).

#### 1.1.2.3.2. Gynoid tip obezite (armut tipi obezite)

Esas olarak alt vücutta kalça, uyluk ve bacak bölgelerinde artmış subkütanöz yağ, alt vücut obezitesi veya armut şekli obezitesi ile sonuçlanır. Armut şekli obezitesi, *gluteal obezite*, *periferik obezite* veya *gynoid obezite* gibi çeşitli isimlerle de bilinmektedir (Gesta ve ark., 2007; Uzogara, 2016). Kadınların daha fazla etkilenmesine rağmen, bu tür obezite her iki cinsiyette de yaygındır ve yağ hücre sayısındaki artış ile karakterize olan hiperplastik tip obezite sınıfında değerlendirilir (Patidar, 2013; Işık ve ark., 2017). Bu tür yağ birikiminde östrojen özellikle gluteofemoral bölgedeki yağ birikimini diğer vücut bölgelerinde olduğundan daha fazla uyarır (Singh ve Singh, 2006).

Gynoid obezite aşırı adipozitenin lokomotor zorluk, abdominal basınç, solunum hareketinin sınırlanması, venöz ve lenfatik dolaşımın yavaşlaması, selülit gibi doğrudan mekanik komplikasyonları ile ilişkilidir (Vague, 1956). Subkütan veya armut tipi

obezitesi olan bireyler plazma lipid bozuklukları (aterojenik dislipidemi), artmış kan basıncı, yüksek plazma glikozu ve protrombotik durum ile karakterize metabolik sendrom komplikasyonları için düşük risk altında iken, visseral veya elma tipi obezitesi olan kişiler bu komplikasyonlar ve metabolik sendromun koroner kalp hastalığı, inme, tip 2 diyabet ve komplikasyonları, yağlı karaciğer, kolesterol safra taşı ve muhtemel bazı kanser türleri gibi klinik sonuçları açısından yüksek risk altındadır (Şekil 2.1) (Grundy, 2000; Gesta ve ark., 2007).

Bouchard 1991 yılında basit üst vücut obezitesi (elma tipi) ve alt vücut obezitesi (armut tipi) şeklindeki sınıflandırmaya yeni bir düzenleme getirmiş ve adipoz dokusunun topografyasının kesin tahminine dayanarak, dört farklı tipte obezite önermiştir:

- i. İlk tip, herhangi bir bölgesel farklılık olmaksızın vücut yağının tüm vücuda benzer oranlarda dağılması ile karakterizedir ve *ovoid tip* olarak isimlendirilir.
- ii. İkinci tip, özellikle abdominal bölgede, gövdede aşırı deri altı yağı olarak tanımlanır ve android veya elma tipi yağ birikimine eşdeğerdir. Yapılan çalışmalarda bu tip obezite ile insülin direnci arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.
- iii. Üçüncü tip, abdominal viseral bölgede aşırı miktarda yağ birikimi ile karakterizedir ve abdominal viseral obezite olarak adlandırılabilir. Yapılan çalışmalarda üçüncü tip obezitede meydana gelen viseral yağ dokusu artışı ile glikoz intoleransı, hiperlipidemi ve yüksek tansiyon riski arasında güçlü bir ilişki saptanmıştır. Tip 3 şişmanlıkta Tip 2 şişmanlıktan farklı olarak yağ deri altında değil iç organların etrafında (viseral yağ) daha fazladır. Üçüncü tip obezite erkeklerde daha sık görülür ve yaşın ilerlemesiyle beraber yağ birikiminde artış meydana gelir.
- iv. Dördüncü tip, gluteofemoral obezite olarak tanımlanır ve sıklıkla kadınlarda görülür (gynoid obezite). Armut tipi şişmanlık yağ birikimine eşdeğerdir. Uyluk ve kalçada aşırı yağ depolanması gözlenir (Bouchard, 1991; Akbulut ve ark., 2007; Rácz ve ark., 2014).

Her ne kadar bu sınıflandırma basit üst/alt sınıflara göre daha bilimsel olsa da, halk sağlığı ve genel tıbbi uygulamada, basit sınıflamanın kullanılması yeterlidir çünkü üst vücut obezitesi her zaman visceral obezite ile ilişkilidir (RÁCZ ve ark., 2014).

#### **1.1.2.4. Obezitenin etiyolojiye göre sınıflandırılması**

##### **1.1.2.4.1. Primer obezite (ekzojen obezite)**

Bu tip obezite *basit* veya *ekzojen obezite* olarak da isimlendirilir. Obez çocukların % 95–99’unda ekzojen obezite görülmekle birlikte % 1-5’inde sekonder organik obezite görülür. Bu çocuklarda obezite genellikle dengesiz beslenme nedeniyle alınan enerji ve kullanılan enerji arasındaki dengesizlik sonucu meydana gelir ve bu çocuklar ergenlik dönemine erken girme eğilimindedir. Ayrıca yetişkin yaşta boyları ailenin beklediğinden daha kısadır (Hoey, 2014). Pediatrik birincil obezite, metabolik, genetik, beslenme, sosyoekonomik, kültürel, psikolojik ve yaşam tarzı faktörleri ile ilişkili çok faktörlü bir etiyolojik durumdur (de Morais Macieira ve ark., 2017).

##### **1.1.2.4.2. Sekonder obezite (endojen obezite)**

Her ne kadar kilo alımı vakaları aslında artmış kalori alımı ve hareketsiz yaşam tarzı ile ilişkili olsa da iştahı, metabolizmayı, enerji dengesini ve yağ dağılımını etkileyen nöroendokrin, hipotalamik veya genetik bozukluklar sekonder tip obeziteye neden olabilir (Karam ve McFarlane, 2007; Hoey, 2014 ).

Sekonder tip obezite basit obeziteye göre çok daha az sıklıkta görülür ve çocukluk çağı obezitesine neden olan sekonder nedenler % 1-5’lik bir grubu oluşturmaktadır (Hoey, 2014). Primer ve sekonder tip obezitenin etyopatogenezinde rol alan faktörler Çizelge 1.1’de görülmektedir.

Çizelge 1.1. Çocukluk çağı obezitesinin nedenleri (Hoey, 2014)

<b>Primer Obezite (%95-99)</b>	<b>Sekonder Obezite (% 1-5)</b>
<u>Çevresel Faktörler</u>	<u>Endokrin Hastalıklar</u>
Gıda alımı	Hipotiroidi
Egzersiz	Büyüme hormonu eksikliği
Duygusal Problemler	Cushing sendromu
<u>Genetik Eğilim</u>	<u>Genetik Sendromlar</u>
	Prader Willi
	<i>Laurence Moon Biedl</i>
	<i>Albright'ın herediter osteodistrofisi</i>
	<i>Melanokortin 4 Reseptör Gen Mutasyonu, leptin eksikliği</i>
	<u>Merkezi Sinir Sistemi</u>
	Hipotalamik tümörler / lezyonlar

## 1.2. Detoksifikasyon Enzim Sistemleri

Yaşayan organizmalar dış çevre ile etkileşim halinde oldukları için sürekli olarak çeşitli kimyasal bileşiklere ve ksenobiyotiklere maruz kalmaktadır. Doğal olarak oluşan madde veya insan yapımı kimyasalların birçoğu, solunduğunda veya absorbe edildiğinde zararlı olabilir. Yapay kimyasallar arasında anti-kanser ilaçları, mantarlar tarafından üretilen antibiyotikler, pestisitler, herbisitler ve diğer çevresel kirleticiler bulunur. Bazı toksin türleri, hücrede büyük miktarlarda reaktif oksijen türleri (ROS) üretimine sebep olabilir; ancak, bazı durumlarda ROS, metabolik süreçlerin doğal yan ürünleri de olabilir. ROS birçok biyomolekül ile reaksiyona girebilir; ve, hasara ve/veya çeşitli patolojilerin gelişimine neden olabilir (Yang ve ark., 2011). Organizmalar birçoğu büyük ölçüde polar olmayan, yapısal olarak farklı bu zararlı moleküllerin kimyasal detoksifikasyon ve eliminasyon süreçlerini işleyen enzim sistemlerinden oluşan gelişmiş savunma stratejileri geliştirmiştir (Dirr ve ark., 1994). Birçok bakteri türünde bu enzimler aracılığıyla reaktif bileşikler yararlı metabolitlere dönüştürülürken daha yüksek yapıya yaşam formlarında toksik bileşikler metabolizmadan uzaklaştırılırlar (Perbandt ve ark., 2003).

Detoksifikasyon enzimleri, substratları için çok spesifik değildir. Çoğu enzim, bir substrata sıkı bir şekilde bağlanmaya evrilmişken, detoksifikasyon enzimleri farklı



bir strateji kullanmaktadır. Diğer enzimlerin, yüksek özgülük ve yüksek dönüşüm sayısı (turnover sayısı) ile elde ettikleri etkinliği, detoksifikasyon enzimleri, uygun hücre tiplerinde yüksek seviyelerde ifade edilebilme sayesinde başarır. Detoksifikasyon enzimleri, çoğunlukla aynı genden evrilmiş gen aileleri tarafından kodlanır. Bu nedenle, bir tür, farklı substrat özgülüklerine sahip olan çok sayıda izozim içerebilmektedir. Bu strateji sayesinde, tek bir enzim ailesi, hücreye giren çok çeşitli ksenobiyotikleri detoksifiye ederek organizmayı korur (Gulick ve Fahl, 1995). Diğer yandan çok sayıda çalışma, kanser, Parkinson hastalığı, fibromiyalji ve kronik yorgunluk/immün işlev bozukluğu sendromu gibi hastalıklarla bozulmuş detoksifikasyon durumu arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Detoksifikasyon sistemleri oldukça karmaşıktır, büyük miktarda bireysel değişkenlik gösterir ve bireyin çevresine, yaşam tarzına ve genetik özgülüğüne son derece duyarlıdır (Liska, 1998).

Biyolojik detoksifikasyon enzim sistemleri, birbiriyle ilişkili üç büyük gruba ayrılabilir;

- Sitokrom P450 süper ailesi gibi faz I enzimleri, kimyasallar içinde reaktif fonksiyonel gruplar (örneğin epoksitler) oluşturarak onları aktive eder.
- Faz II enzimleri, bu reaktif kimyasalları, fonksiyonel gruba bir hidrofilik kısım (örneğin glutatyonil, glukuronil veya sülfünil) ekleyerek deaktive eder.
- Faz III enzimler, aktif olmayan ve suda çözünür ürünlerin hücresel eliminasyonuna aracılık eder (Dirr ve ark., 1994).

### 1.2.1. Faz I sistemleri

Yükseltgenme, indirgenme ve hidroliz reaksiyonlarından oluşan faz I detoksifikasyon sistemi genellikle yabancı bileşiklere karşı ilk enzimsel savunma basamağıdır ve *işlevselleştirme reaksiyonları* olarak da adlandırılır. Faz I reaksiyonlarında molekülün hidrofiliğini arttırmak amacıyla molekül içindeki -OH, -CO<sub>2</sub>H, -NH<sub>2</sub>, ya da -SH gibi fonksiyonel gruplar ortaya çıkarılır ya da moleküle bu fonksiyonel gruplar eklenir. Bu reaksiyonlar fonksiyonel grubun doğrudan girişi (örn.,

aromatik ve alifatik hidroksilasyon) veya mevcut grupların modifiye edilmesiyle (örn., ketonların ve aldehidlerin alkollere indirgenmesi, alkollerin asitlere oksitlenmesi, ester ve amidlerin hidrolizi; ve nitro bileşikleri; oksidatif N -, O - ve S - dealkilasyonu) gerçekleşir (Penner ve ark., 2012).

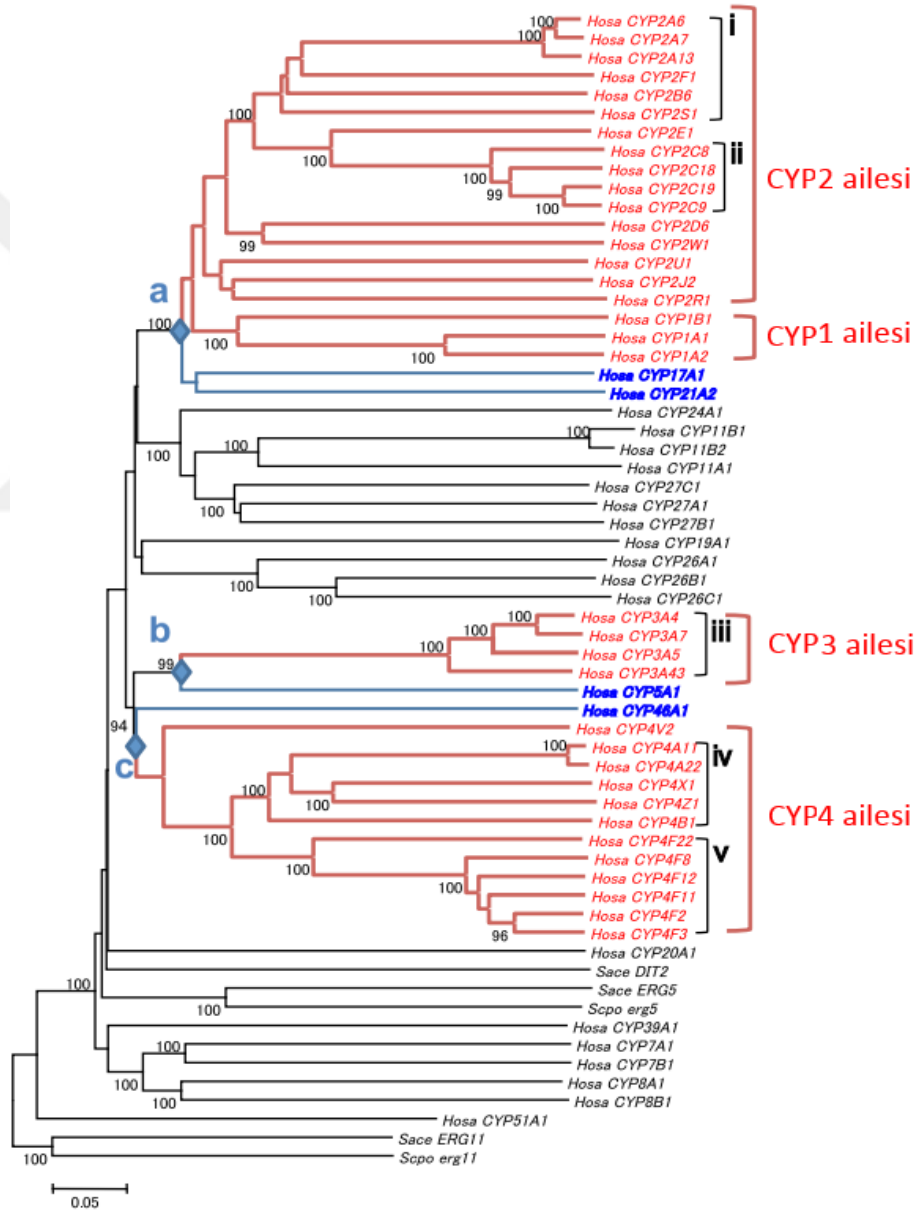
Faz I sistemi, aslında farklı substratlara bağlanabilen birçok izoenzim grubudur. Her ne kadar flavin içeren monoksigenazlar, monoamin oksidazlar ve ksantin oksidaz/aldehit oksidaz gibi birkaç tip faz I detoksifikasyon enzimi mevcutsa da en yaygını, karışık işlevli oksidazların sitokrom P450 (CYP 450) süper ailesidir (Liska ve ark., 2006; Penner ve ark., 2012). Bu enzimler ksenobiyotikler, steroidler, safra asitleri, yağ asitleri, eikosanoidler, çevresel kirlenmeler ve karsinogenler dahil olmak üzere birçok endojen ve ekzojen bileşiğin metabolik oksidasyon, peroksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarını katalizler (Liska ve ark., 2006).

Sitokrom P450 enzim ailesi moleküler oksijenden substrat içine bir atomun eklenmesinin oksidatif reaksiyonlarını katalize eden, *heme* grubu içeren, önemli bir monooksijenaz sınıfıdır. Çoğu durumda, bu biyotransformasyon faz I bileşiğinin faz II konjugasyon reaksiyonlarına girmesine izin verir. Bazı durumlarda ise bu bileşik faz I reaksiyonundan hemen sonra elimine edilebilir (Liska ve ark., 2006; Yang ve ark., 2011). İnsanlarda 50'den fazla protein üyesi tanımlanmış olan CYP süper ailesi (Şekil 1.4), işlevsel olarak üç grupta sınıflandırılabilir:

- 1. Grup: Bu enzim grubu CYP 5-51 ailelerini içerir ve endojen öneme sahiptirler. Genellikle substratları için yüksek afiniteye sahipler ve evrim süresince nispeten iyi korunmuşlardır
- 2. Grup: CYP 1-3 ailelerini içerir ve genellikle substratları için daha az afiniteye sahiptirler. Evrim süresince daha az korunmuşlardır ve önemli genetik polimorfizmler gösterirler
- 3. Grup: CYP 4 enzim ailesini içerir. Hem yağ asidi hem de ilişkili substratların ve bazı ksenobiyotiklerin metabolizmasında rol oynarlar (Ingelman-Sundberg, 2004; Yang ve ark., 2011).

## 1.2.2. Faz II sistemleri

Faz II reaksiyonları *konjugasyon reaksiyonları* olarak da adlandırılır ve genellikle faz I işlevselleştirme basamağını takiben gerçekleşir; bu da ksenobiyotiklerin idrar veya safra yoluyla atılabilen suda çözünebilen bir bileşiğe dönüştürülmesi ile sonuçlanır (Liska, 1998).



Şekil 1.4. İnsan CYP P450 genlerinin filogenetik ağacı (Kawashima ve Satta, 2014).

İnsanlarda başlıca faz II detoksifikasyon reaksiyonları şunları içerir:

- Glukuronid konjugasyonu (aktif glukuronik asitin kullanıldığı enzimatik reaksiyonlarla devam eder)
- Sülfat konjugasyonu (aktif sülfatın kullanıldığı enzimatik reaksiyonlarla devam eder)
- Glutasyon konjugasyonu veya merkapturik asit oluşumu (glutasyon ile reaktif ara ürünlerin konjugasyonunu katalizleyen enzimatik bir reaksiyondur; konjuge ürün daha sonra merkapturik asite dönüştürülür ve atılır)
- Aminoasit konjugasyonu
- Asetilasyon
- Metilasyon

Çoğu durumda, faz II reaksiyonları ana molekülün biyolojik aktivitesini ve bunu takiben toksisitesini azaltır. Biyotransformasyona uğramış moleküller, hızlı atılımı sağlanabilen yeterli derecede hidrofilik karaktere sahip maddeler oluşturmak için endojen hidrofilik bileşiklerle birleştirilir. Bu "konjugasyon reaksiyonları", çeşitli maddeler ile meydana gelebilir ve ilişkili kofaktörler (örn., glukuronik asit, sülfat, glisin veya glutasyon) organizmanın doğal metabolizması tarafından üretilir İnsanlarda faz II detoksifikasyon sistemine ait enzimler, reaksiyonlar ve substratlar Çizelge 1.2’de görüldüğü gibidir.

Faz I reaksiyonları sonucu biyotransformasyona uğrayan metabolik ara maddenin, ortaya çıkarılarak ya da eklenerek (çoğunlukla OH grubu olarak eklenir) oluşturulmuş aktif bölgesi Faz II konjugasyonunda bu kofaktörlerden biri tarafından sağlanan bir polar grup ile konjuge edilir (Liska ve ark., 2006). İnsanlarda Başlıca Faz II Detoksifikasyon Aktiviteleri (Liska ve ark., 2006).

### 1.2.3. Faz III sistemleri

Faz II konjugasyon reaksiyonlarının ürünleri daha sonraki aşamalarda da metabolize olup ve hücreden atılırlar. Örneğin faz II konjugasyon reaksiyonu sonucu oluşan glutasyon ve 1,2-dibromoetan konjugatı mutajeniktir (Kim ve Guengerich, 1990) ve

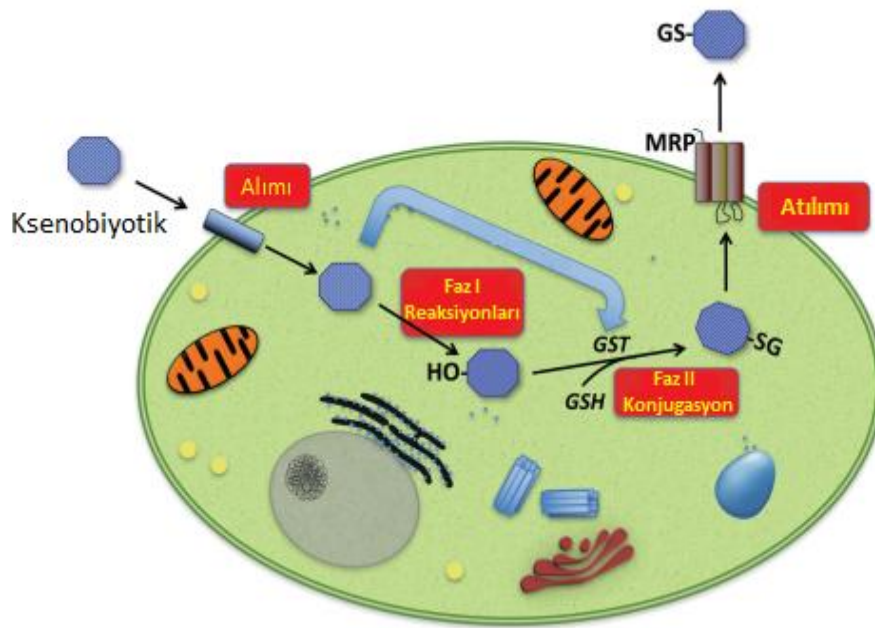
daha ileri metabolize edilmesi gerekir (Gulick ve Fahl, 1995). Bazı araştırmacılar enzimler aracılığıyla faz II konjugasyon ürünlerinin atılımını detoksifikasyonun üçüncü fazı olarak kabul etmişlerdir (Ishikawa, 1992; Gulick ve Fahl, 1995) ve antiportir aktivite (p-glikoprotein), Faz III detoksifikasyon sistemi olarak adlandırılmıştır (Liska ve ark., 2006). Ksenobiyotiklerin sırasıyla Faz I, Faz II ve Faz III enzim sistemlerinin aktivitesi sonucu biyotransformasyonu Şekil 1.5’de görölmektedir.

Çizelge 1.2. İnsanlarda başlıca faz II detoksifikasyon aktiviteleri (Liska ve ark., 2006)

<b>Reaksiyon</b>	<b>Enzim</b>	<b>Substratlar</b>
H <sub>2</sub> O	Epoksit Hidrolaz	Epoksitler
Glutatyon	Glutatyon transferazlar	Elektrofiller
Glukuronik asit	Glukuronil transferazlar	Fenoller, Tiyoller, Aminler Karboksilik asitler
Sülfürik asit	Sülfotransferaz	Fenoller, Tiyoller, Aminler
Metil grubu	Metil transferazlar	Fenoller, Aminler
Asetik asit (Asetil-CoA)	N-asetil transferazlar	Aminler
Amino asitler (Asetil-CoA, taurin, glisin)	Amino asit transferazlar	Karboksilik asitler

Hücre içi metabolitlerin membrandan taşınımı, kritik öneme sahip bir hücrenel işlevidir. Tümör hücrelerinin, çoklu ilaca dirençli fenotipi ile ilgili yapılan bir çalışma (Endicott ve Ling, 1989) bazı antikanser ilaçların hücrelerden dışarı atılmasına aracılık eden bir plazma zarı glikoproteini olan “P-glikoproteini” nin keşfine yol açmıştır. ATP bağımlı bir diğer taşınım pompası ise glutatyon s-konjugatlarının hücre dışına atılmasını sağlayan GS-X pompasıdır. Faz II reaksiyonları sonucu oluşan Glutatyon S-konjugatlarının GS-X pompası ile hücre dışına atılması hem ksenobiyotiklerin eliminasyonu hem de lökotrien C<sub>4</sub> gibi doğal olarak oluşan, biyolojik aktif glutatyon S-konjugatlarının fonksiyonlarının düzenlenmesinde kritik öneme sahiptir (Ishikawa, 1992).

Kinetik veriler (Akerboom ve ark., 1991), GS-X pompasının aktif bölgesinde fonksiyonel açıdan önemli üç domain (P-, G ve C-domainleri) ortaya çıkarmıştır. Basitçe P domaini fosforilasyon bölgesidir, G domaini glutatyon S-konjugatlarındaki glutatyon birimini tanıyıp ve C domaini, glutatyon S-konjugatlarının hidrofobik parçasına karşı afinite gösterir. GS-X pompası, farklı tiplerde glutatyon S-konjugatlarına karşı geniş bir substrat özgüllüğüne sahiptir, buna karşın uzun alifatik karbon zinciri olan glutatyon S-konjugatları için nispeten yüksek afinite gösterirler (Ishikawa, 1992).



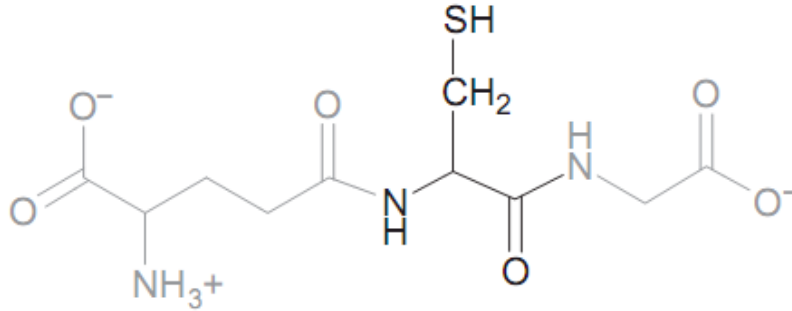
Şekil 1.5. Ksenobiyotiklerin enzimatik biyotransformasyonuna genel bakış (Allocati ve ark., 2018).

### 1.3. Glutatyon Konjugasyonu ve Glutatyon S-Transferazlar

#### 1.3.1 Glutatyon ve metabolik konjugasyonu

Faz II konjugasyon reaksiyonları içinde glutatyon konjugasyonu ana reaksiyonlardan biridir (Yang ve ark., 2011). Glutatyon (GSH), glutamin, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşan suda çözünebilir bir tripeptiddir (Şekil 1.6). Glutatyonun tiyol grubu hücre içinde en bol bulunan küçük moleküldür ve bazı dokularda milimolar konsantrasyona ulaşır. Önemli bir antioksidan olarak GSH,

glutasyon S-transferazlar (GST) ve glutasyon peroksidazlar (GPx) ile katalizi aracılığıyla çeşitli elektrofilik bileşiklerin ve peroksitlerin detoksifikasyonunda rol oynar. GSH'un önemi, bitkilerde, memelilerde, mantarlarda ve bazı prokaryotik organizmalarda yaygın kullanımı ile kanıtlanmıştır. Detoksifikasyona ek olarak, GSH, gliksilaz sistemi, ribonükleotidlerin deoksiribonükleotidlere indirgenmesi, protein ve gen ekspresyonunun tiyol aracılığıyla düzenlenmesi (disülfil değişim reaksiyonları) gibi diğer hücresel reaksiyonlarda da rol oynar. Tripeptit, hücre içinde yükseltgenmiş (GSSG) veya indirgenmiş (GSH) formda bulunabilir. Hücredeki optimal GSH: GSSG oranlarının korunması, hayatta kalma açısından kritik öneme sahiptir, dolayısıyla sistemin sıkı bir şekilde düzenlenmesi zorunludur. GSH'un eksikliği, hücrede oksidatif hasar riski oluşturur. GSH oranındaki dengesizlik kanser, nörodejeneratif bozukluklar, kistik fibrozis, HIV ve yaşlanma gibi geniş bir patoloji ile ilişkilendirilmiştir (Townsend ve ark., 2003).

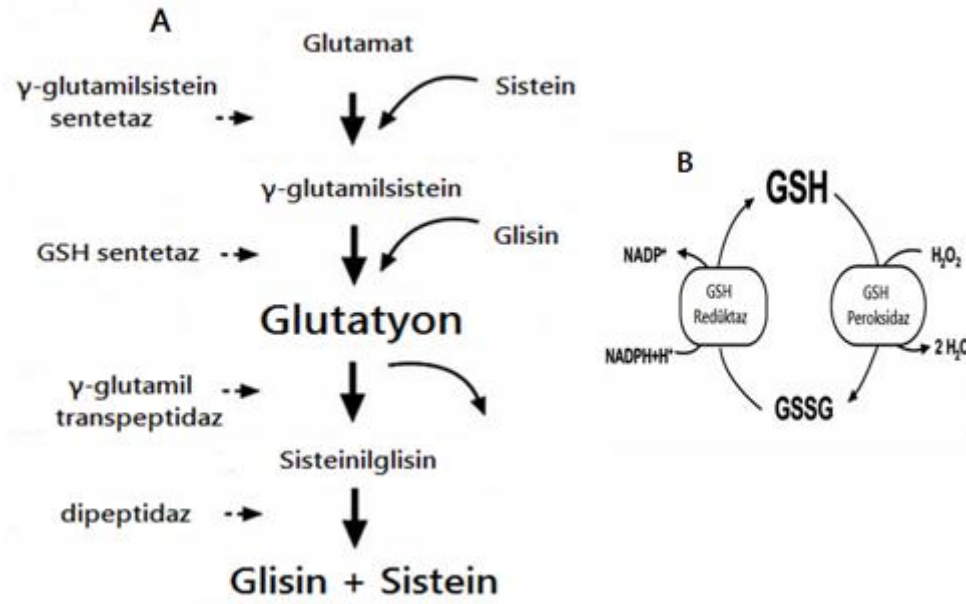


Şekil 1.6. Glutasyon yapısı ( $\gamma$ -L-glutamil-L-sisteinil-glisin veya  $\gamma$ -L-Glu-L-Cys-Gly) (Modèn ve Mannervik, 2014).

GSH homeostazisi normal olarak, indirgenmiş GSH'u oksitlenmiş glutasyon disülfidden (GSSG) geri dönüştüren oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarıyla ve aynı zamanda  $\gamma$ -glutamil döngüsünde sentezlenmesi yoluyla korunur (Şekil 1.7) (Russell ve ark., 2008). Tripeptid glutasyon,  $\gamma$ -glutamilsistein sentetaz ve GSH sentetaz enzimlerinin ardışık aktiviteleri sonucu hücre içerisinde sentezlenirken, glutasyon konjugatlarının bozunumu hücre dışında, hücre zarı üzerinde  $\gamma$ -glutamil transferaz tarafından başlatılır (Townsend ve ark., 2003; Modèn ve Mannervik, 2014).

### 1.3.2. Glutatyon S-transferazlar

Glutatyonun hem endojen hem de ksenobiyotik kökenli elektrofillerle konjugasyonunu katalize eden Glutatyon S-transferaz enzimleri detoksifikasyon sistemleri arasında kritik bir rol oynamaktadır (Hayes ve Pulford, 1995; Modèn ve Mannervik, 2014).



Şekil 1.7. γ-glutamil döngüsü ve GSH:GSSG döngüsü (Rusell ve ark., 2008).

Glutatyon S-transferaz enzimleri, elektrofilik bileşiklerin hücrel biyotransformasyonuna önemli katkıda bulunurlar. Hem ksenobiyotik hem de endojen kökenli çok sayıda bileşiğin genotoksik ve kanserojen etkilerine karşı koruma sağlarlar (Mannervik ve ark., 2005). Glutatyon S-transferazlar ilk olarak 1961 yılında iki farklı grup tarafından sıçanların karaciğer hücre lizatlarında GSH ile brom sülfotalein (Combes ve Stakelum, 1961) ve kloronitrobenzenler (Booth ve ark., 1961) gibi halojenlenmiş aromatik bileşiklerin enzim katalizli konjugasyonun araştırılması üzerine yapılan çalışmalar sırasında tanımlanmıştır. GST enzimleri ilk olarak aktivitelerine göre spesifik olarak ayrılan grup ya da elektrofilik molekülün karbon iskeleti baz alınarak sınıflandırılmaya çalışılmıştır. Yani üzerinde etkili oldukları substrata göre *aril-* (Grover ve Sims, 1964), *alkil-* (Johnson, 1966) *alken-* (Chasseaud, 1973) ve *epoksit transferaz*



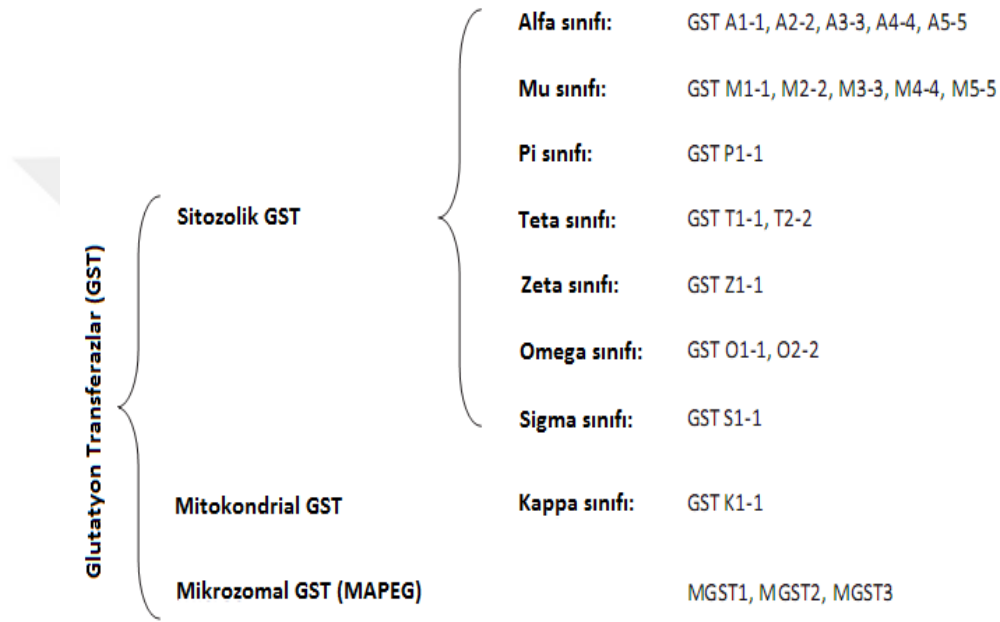
(Boyland ve Williams, 1965) şeklinde adlandırılmıştır (Habig ve ark., 1974; Mannervik ve ark., 2005). Bunu takiben “genel” GST substratı, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB)’in, birkaç farklı GST için substrat olduğunun gösterilmesi (Clark ve ark., 1973), isimlendirmenin yanlışlığını ortaya çıkarmıştır. Aslında, birçok GST, örtüşen substrat seçiciliği gösterir. Bu nedenle substrat spesifikliğı baz alınarak yapılan isimlendirme terk edilmiş ve harfler ile isimlendirme yapılmıştır. Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliğı (IUBMB) Enzim Komisyonu bu enzimin sistematik ismini "RX: glutatyon R-transferaz" (EC2.5.1.18) olarak değıştirmiştir (Mannervik ve ark., 2005). GST'ler genellikle glutatyon ve elektrofiller arasındaki reaksiyonları katalizlerler; ancak, bireysel transferazlar farklı substrat spesifitesine sahiptir ve farklı kimyasal dönüşümleri katalize ederler. Belirli bir genden türetilmiş (örneğin, pre-mRNA'nın kesip ekleme mekanizması ile) varyant GST'ler, GST izoenzimlerini oluşturur (Ranson ve ark., 1998). Ayrıca, bu izoenzimler farklı GST genlerinden gelen alt birimlerin ikili kombinasyonları ile de ortaya çıkabilir (Mannervik ve Jensson, 1982).

Bu enzimler, ksenobiyotiklerin GSH'a ait tiyolat grubu ile reaksiyonunu katalize ederek elektrofilik bölgelerini nötralize eder ve ürünlerin suda çözünürlüğünü arttırmaları (Habig ve Jakoby, 1981).

Glutatyon S-transferazlar, yaklaşık 50 kDa'lık çözünebilir proteinlerdir ve her biri iki polipeptid alt biriminden oluşur. Klasik olarak, tripeptid glutatyonun, S-glutatyonillenmiş polar tepkime ürününü oluşturmak üzere reaktif elektrofilik merkez içeren bir substrata aktarılmasını katalize ederler (Dixon ve ark., 2002).

Bakteri, maya, küf, mantar, yumuşakça, kabuklular, kurtçuk parazitleri, kurbağalar, böcekler, bitkiler, balıklar, kuşlar ve memeliler de dahil çoğı organizmada bulunan GST'lerin ökaryotik formları hücrel yerleşimlerine göre *sitozolik GST'ler*, *mitokondriyal GST'ler* ve *mikrozomal GST'ler* olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (Hayes ve Pulford, 1995; Allocati ve ark., 2018). Sitosolik GST'ler, yaygın bir dağılım gösterir ve kimyasal, fiziksel ve yapısal özelliklerine göre birkaç ana sınıfa ayrılır. Mitokondriyal GST'ler kapp sınıfı GST'ler olarak bilinir ve sitosolik GST'lerle yapısal benzerlik taşıyan çözünebilir enzimlerdir. Buna karşın, MAPEG (Membrane-Associated Proteins involved in Eicosanoid and Glutathione metabolism) olarak da bilinen mikrozomal GST'ler, diğ er ana sınıflar ile ilişkili olmayan, integral membran

proteinleridir (Allocati ve ark., 2018). Protein dizisi ve yapısı GST'lerin sınıflandırılması için bir temel oluşturur. Sitosolik GST'ler arasında, aynı sınıfın üyeleri %40'dan fazla amino asit dizisi benzerliğine sahiptir. Sınıflar arasında ise proteinler %25'den az dizi özdeşliğine sahiptir (Oakley, 2011). İnsanlarda sitosolik GST'ler, amino asit dizilerine göre *alfa* (5 üye), *mü* (5 üye), *pi* (bir üye), *teta* (iki üye), *zeta* (bir üye), *omega* (iki üye) ve *sigma* (bir üye) olmak üzere yedi alt aileye ayrılır (Şekil 1.8) (Wu ve Dong, 2012).



Şekil 1.8. İnsan glutasyon transferazlarının (GST'ler) amino asit sekans benzerliğine göre sınıflandırılması (Wu ve Dong, 2012).

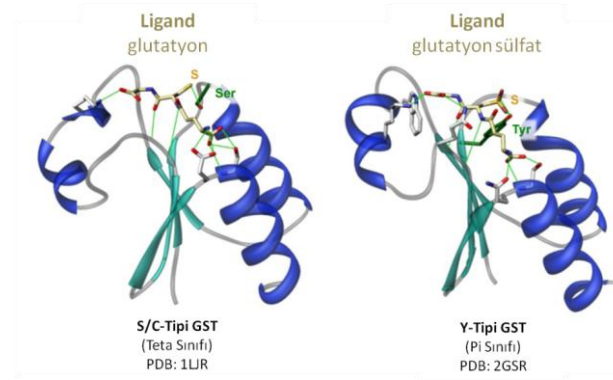
Kamisaka ve ark., (1975) ilk kez insan karaciğerinde GST'lerin immünolojik olarak benzer beş katyonik formunun ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ) varlığını gösterdi. Bu formların tümü yaklaşık 25 kDa büyüklüğünde dimerlerden oluşur ve örtüşen substrat özgüllüklerine sahiptir. Bütün bu formların, tek bir gen ürününün translasyon sonrası modifikasyonlarından kaynaklandığı öne sürülmüştür. Daha sonra Marcus ve ark., (1978) tarafından insan eritrositlerinden anyonik bir GST izoenzimi karakterize edildi. GST  $\rho$  olarak adlandırılan bu izoenzim, Kamisaka ve ark., (1975) tarafından karakterize edilen karaciğer GST'lerinden immünolojik olarak farklıydı. Bu enzim daha sonra Guthenberg ve Mannervik (1981) tarafından GST  $\pi$  olarak adlandırılmıştır. GST  $\mu$  enzimi ise ilk olarak Awasthi ve ark., (1980) tarafından GST  $\psi$  enzimi olarak

tanımlanmıştır. Warholm ve ark., (1981, 1983) tarafından GST  $\mu$  enziminin karaciğerden saflaştırılıp karakterize edilmesi ve Singh ve ark., (1987) tarafından GST  $\psi$  enzimi ile GST  $\mu$  enziminin N-terminal amino asit sekansları ile gösterilen yakın yapısal ilişkisini keşfi sonrası Mannervik ve ark., (1985) bu enzimi GST  $\mu$  sınıfında gruplandırmıştır (Awasthi ve ark., 1984).

### 1.3.2.1. Sitozolik GST

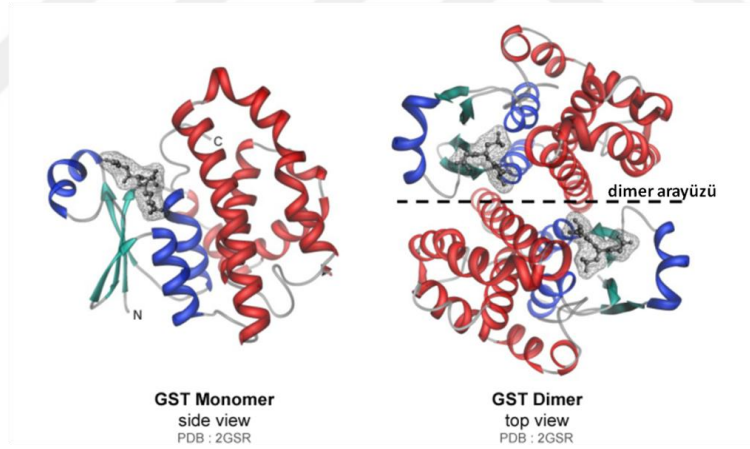
Farklı GST sınıflarının birçok üyesinin üç boyutlu yapıları, X-ışını kristalografisi ile belirlenmiştir (Perbandt ve ark., 2003). Sitosolik GST'lerin tümü dimerdir ve alt birimlerinin her biri 199-244 amino asitten oluşmuştur (Hayes ve ark., 2005). Başlıca alt birim (veya monomer) etkileşimleri, bir alt biriminin domain I'i ve eşinin domain II'si arasında gerçekleşir. Tüm sitozolik GST'lerde ikincil ve üçüncül yapılar oldukça korunmuştur. Tek bir GST birimi, bir N-terminal  $\alpha/\beta$ -domain (ya da GSH'un bağlandığı G domain) ve tümü- $\alpha$ -sarmal olan bir domainden (ya da hidrofobik substratların bağlandığı H domain) oluşur (Wu ve Dong., 2012). Bir tiyoredoksin benzeri domain olan N-terminal domain, proteinin yaklaşık üçte birini oluşturur ve  $\beta\alpha\beta\alpha\beta\alpha$  yapısal motifinden oluşur. Domainin çekirdeğini iki  $\alpha$  heliks ve aralarındaki  $\beta$  plaka yapısı ( $\alpha/\beta/\alpha$ ) oluşturur. Çekirdeği dört sarmal demetinden oluşan C-terminal, proteinin üçte ikisini oluşturur ve tamamı  $\alpha$  heliks yapılarından meydana gelmiştir (Armstrong, 1997).

Mekanik olarak çok büyük çeşitliliğe sahip diğer enzim süper ailelerinden farklı olarak, GST'ler dizi korunumu açısından benzersizdir; katalitik özelliklerin korunumu yerine katlanma stabilitesinin üyeler arasında sürdürülmesi daha ön plandadır. GST aktif bölgeleri arasında sıkı korunmuş bir benzerlik gözlenmez. Bunun yerine, birinci "küre" ve ötesinde geniş bir hidrojen bağı ortaklığı ve kümelenmesi, farklı aktif bölgelerin benzer reaksiyonları gerçekleştirebilmesinin anahtarı olabilir (Şekil 1.9) (Armstrong, 1997; Anandarajah ve ark., 2000; Sheehan ve ark., 2001; Atkinson ve Babbitt, 2009).



Şekil 1.9. S/C ve Y-Tipi GST'ler (S/C ve Y-Tipi GST'lerin aktif bölgeleri glutatyon tripeptidinin bağlanmasında görev alan geniş hidrojen bağları ağını göstermektedir).

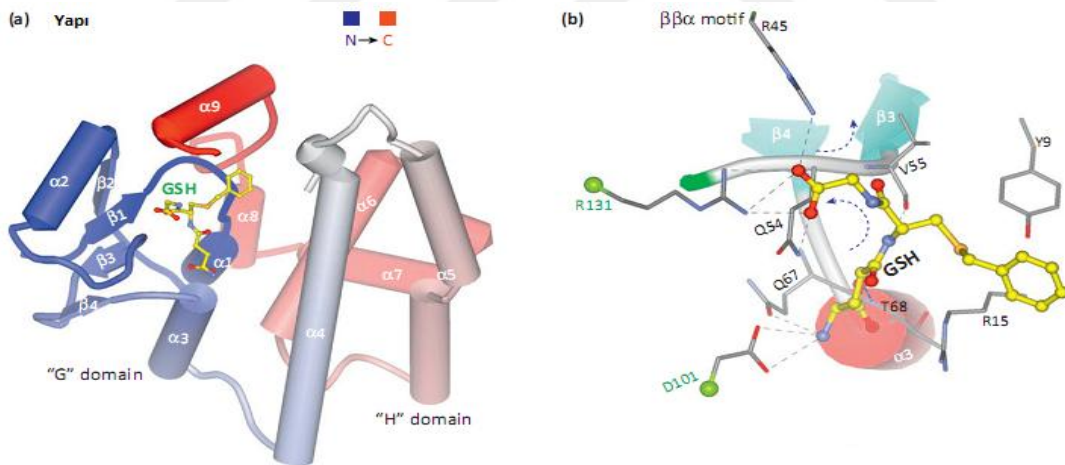
GSH bağlanması için temaslar büyük ölçüde tiyoredoksin benzeri alan tarafından sağlanırken, alfa-sarmal bölge genellikle ortak substrat bağlama cebini tanımlar. Monomerler, aktif enzimi oluşturmak için homodimerler olarak oligomerize edilir, ancak ara yüzün yapısı sınıflar arasında değişiklik gösterir (Armstrong, 1997; Anandarajah ve ark., 2000; Sheehan ve ark., 2001; Atkinson ve Babbitt, 2009).



Şekil 1.10. GST monomer ve dimer yapıları (N-terminal tiyoredoksin-benzeri bölgeciği mavi, C-terminal alfa-sarmal bölgeciği ise kırmızı ile gösterilmiştir. Gri renkte gösterilen GSH molekülü aktif bölge boyunca yerleşik halde resmedilmiştir).

GSH substratının GST enzimlerine bağlanması oldukça korunmuştur. GSH,  $\beta$ -tabakasının bir ucunda uzatılmış bir konformasyonda, protein çekirdeğine doğru  $\gamma$ -glutamil kısmı ile bağlanır (Şekil 1.11 a) ve  $\beta\beta\alpha$  motifinde geniş hidrojen bağlanma etkileşimleri ile sabitlenir (Şekil 1.11 b). Spesifik hidrojen bağlanma etkileşimleri GST alt aileleri arasında farklılık gösterse de, bazı ortak özellikleri de vardır. Örneğin

GSH'un kükürt atomu, sarmal  $\alpha 1$ 'in N-terminal ucunda bulunur ve protein içinde bir katalitik köke (rezidü) değişmez şekilde hidrojen bağlanır. Diğer bir ortak özellik proteinin  $\beta 4$  ve  $\alpha 3$ 'ü arasındaki iki kökün (bir glutamin veya glutamat ve bir serin veya treonin), GSH'un  $\gamma$ -glutamil köküne hidrojen bağlamasıdır (Şekil 1.11 b). Hidrojen bağı etkileşimi, aktive edilmiş GSH'un ( $GS^-$ ) sabitlenmesiyle GST katalizinde önemli bir rol oynar. Substrat bağlanma bölgeleri ise oldukça değişken olup, bağlanma bölgesinin boyut, şekil ve hidrofobiklik gibi farklı fizyokimyasal özelliklerine katkıda bulunur (Wu ve Dong, 2012). Örneğin alfa sınıfı enzimler, mu-sınıfı enzimlere göre daha küçük bir H bölgesine sahiptir. Zeta sınıfı enzimin ise H bölgesi, diğer enzimlere kıyasla çok daha küçüktür (Rossjohn ve ark., 1998; Wu ve Dong, 2012). GST A2-2'nin H bölgesi bir cep şeklindeki, GST A3-3'ün H bölgesi tünel yapısındadır. Ayrıca, alfa ve mü sınıfı enzimlerdeki H bölgesi hidrofobiktir; oysa, pi sınıfı enzimdeki H bölgesi yarı hidrofobik ve yarı hidrofiliktir (Reinemer ve ark., 1992; Wu ve Dong, 2012). Aksine, zeta sınıfı enzimde H bölgesi neredeyse tamamen hidrofiliktir (Wu ve Dong, 2012).



Şekil 1.11. GST enziminin üç boyutlu yapısı ((a) GSH'nin bağlandığı G domaini ve hidrofobik substratların bağlandığı H domaininden oluşan GST enziminin üç boyutlu yapısı. (b) GSH'un GST  $\beta\beta\alpha$  motif kalıntıları ile korunan etkileşimi. Kesikli çizgiler hidrojen bağlarını, kesikli oklar polipeptidinin çalışma yönünü gösterir (Wu ve Dong, 2012).

Konjugasyon, indirgeme ve izomerizasyon reaksiyonlarını katalize etmenin yanı sıra, sitosolik GST'ler ayrıca, kovalent ve kovalent olmayan şekilde hidrofobik nitelikte, substrat harici ligandları da bağlar. Bu tip aktivite, ksenobiyotik ve hormonların hücre

içi taşınımı, salınımına ve atılmasına katkıda bulunur. Bu bileşikler, azo-boyalari, bilirubin, heme, polisiklik aromatik hidrokarbolari, steroidleri ve tiroid hormonlarını içerir (Hayes ve ark., 2005).

Sitosolik GST izoenzimlerinin çoğunluğu hücrenin sitoplazmasında bulunur. Bununla birlikte, fare ve insan Alfa sınıfı GSTA4-4, mitokondri ve membranlarla birleşebilir (Hayes ve ark., 2005).

### **1.3.2.2. Mitokondrial GST**

Kappa sınıfı GST'ler mitokondriyal matrikste bulunan enzimlerdir (Ladner ve ark., 2004). Memeli mitokondriyal sınıfı kappa GST izoenzimleri dimeriktir ve 226 amino asitlik alt birimler içerir. Fare, sıçan ve insanlar sadece tek bir kappa GST sınıfına sahiptir (Hayes ve ark., 2005). Kappa ve sitoplazmik GST sınıfları, benzer katalitik aktivite gösterse de yapısal olarak farklıdır. Ayrıca kappa sınıfı enzimlerin GST enzimlerinden ziyade prokaryotik 2-hidroksikromen-2-karboksilat izomeraz ve protein disülfid izomeraz enzimleri ile yapısal olarak daha yakın ilişkili olduğunun gösterilmesi GST'lerin iki ayrı süper ailesinin, farklı tiyol disülfid oksido-redüktaz öncüllerinden paralel yollarla geliştiğini ortaya çıkarmıştır (Ladner ve ark., 2004; Hayes ve ark., 2005). Kappa sınıfı GST'ler CDNB gibi aril halojenürler için yüksek aktiviteye sahiptir ve CuOOH ve (S) -15-hidroperoksi-5,8,11,13-eikoseetraenoik asidi indirgeyebilir. GST kappa fare ve sıçanlara göre insan dokularında daha yaygın ve homojen bir şekilde ifade edilir. Bu enzim sınıfının mitokondrinin yanı sıra peroksizomlarda da yerleşik olduğu gösterilmiştir. GSTK1-1'in her iki organelde de olması bu enzimlerin yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyonu ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (Hayes ve ark., 2005).

### **1.3.2.3. Mikrozomal (MAPEG) GST**

Sitoplazmik GST ve MAPEG aileleri birincil yapı bakımından benzer değildir. İki süper aile arasında protein alt birimlerinin boyutları açısından önemli farklılıklar vardır. Sitoplazmik GST'lerin tümü dimer olmasına ve heterodimer oluşturabilmelerine karşın (Hayes ve Pulford, 1995) MAPEG enzimleri trimerik yapıdadır (Hebert ve ark.,

1997; Schmidt-Krey ve ark., 2000) ve heterotrimer oluşturabildiklerine dair bir kanıt yoktur (Sherratt ve Hayes, 2002).

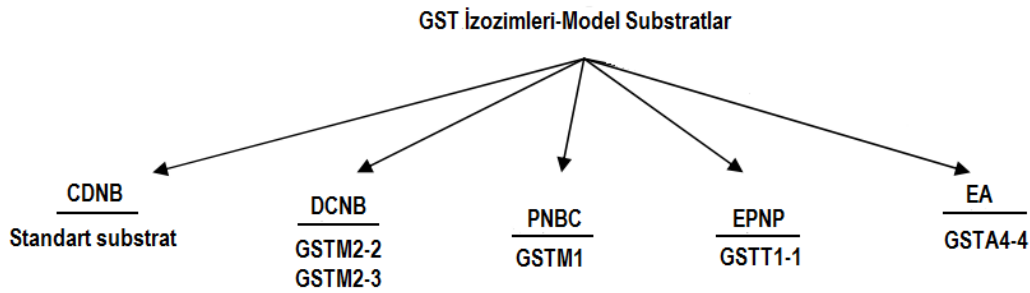
GST süper ailesinin bu üyelerinin çoğu eikosanoidlerin üretimi ile ilişkilidir. % 20'den daha fazla dizi özdeşliği taşıyan toplam dört MAPEG alt grubu (I–IV) tanımlanmıştır. İnsanlarda altı MAPEG enzimi tanımlanmıştır ve bunlar I, II ve IV alt gruplarında yer almaktadır. MAPEG ailesinin bir üyesi olan MGST1, başlangıçta, mikrozomal CDNB-metabolize edici enzim olarak tanımlanmıştır ve çoğu sitozolik GST'nin aksine, N-etilmaleimit ile muamele edilerek aktive edilebilir. Eikosanoid sentez yollarında rolleri olan MAPEG üyeleri daha sonra lökotrien A<sub>4</sub>'ü GSH ile birleştiren bir mikrozomal transferaz olan lökotrien C<sub>4</sub> sentaz (LTC<sub>4</sub>S) olarak; 5-lipoksijenaz aktive edici protein (FLAP) olarak; GSH bağımlı PGH<sub>2</sub>'nin PGE<sub>2</sub>'ye izomerizasyonunu katalizleyen prostaglandin E<sub>2</sub> sentaz 1(PGES1) olarak tanımlandı. Bu güne dek literatürde belirtilen veriler, MGST1'in sadece bir detoksifikasyon enzimi olarak işlev gördüğünü göstermektedir. Buna karşılık, insan MGST2 ve MGST3, hem yabancı bileşikleri detoksifiye etme, hem de Lökotrien C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) sentezleme kapasitesine sahiptir. FLAP katalitik aktiviteye sahip değildir, ancak araşidonik asidi bağlar ve oluşan tüm lökotriyenlerin sentezi için gerekli gibi görünmektedir (Hayes ve ark.,2005).

### 1.3.3. Glutasyon S-transferaz enzimlerinin substratları

Glutasyon S-transferaz enzimlerinin substrat bağlayan H bölgeciği, glutatyona özgül bağlanma bölgesi olan hidrofilik G bölgeciğinin aksine, farklı GST'lerde oldukça değişkenlik gösterebilir ve yapısal olarak farklı birçok elektrofilik substratın bağlanması için hidrofobik ortam sağlar (Armstrong, 1997; Eaton ve Bammler, 1999). İlaçlar, pestisitler, endojen moleküller, çevresel karsinojenler ve toksikantlar gibi pek çok kimyasal GST enzimleri tarafından substrat olarak kullanılabilir (Eaton ve Bammler, 1999).

GST izozimlerinin GSH ile elektrofilleri bağlama yeteneğinde belirgin farklılıklar vardır. Belirli GST izozimlerine özgü olan substratlar, genellikle izoenzimleri tanımlamak amacıyla kullanılır (Hayes ve Pulford, 1995). Bu amaçla kullanılan substratlar Şekil 1.12'de görüldüğü gibidir. GST enzimlerinin substratları

arasında akrolein, adenin propenal, kolesterol-5,6-oksit, 4-hidroksinon-2-enal, 9-hidroperoksi-linoleik asit gibi oksidatif stres ürünleri de vardır (Hayes ve Pulford, 1995). 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) hemen hemen tüm GST izozimleri tarafından kullanılan standart bir model substrattır. Ancak teta sınıfı GST'ler bu substratla reaksiyonu katalizlememektedir (Eaton ve Bammler, 1999). 1,2-dikloro-4-nitrobenzen (DCNB) GST M2'ye, p-nitrobenzil klorid (PNBC) GST M1'e, etakrinik asit (EA) GSTA4-4'e (Hayes ve Pulford, 1995) ve 1,2-epoksi-3-(p-nitrofenoksi)-propan (EPNP) GSTT1-1'e (Sherratt ve Hayes, 2002) özgü model substratlardır.



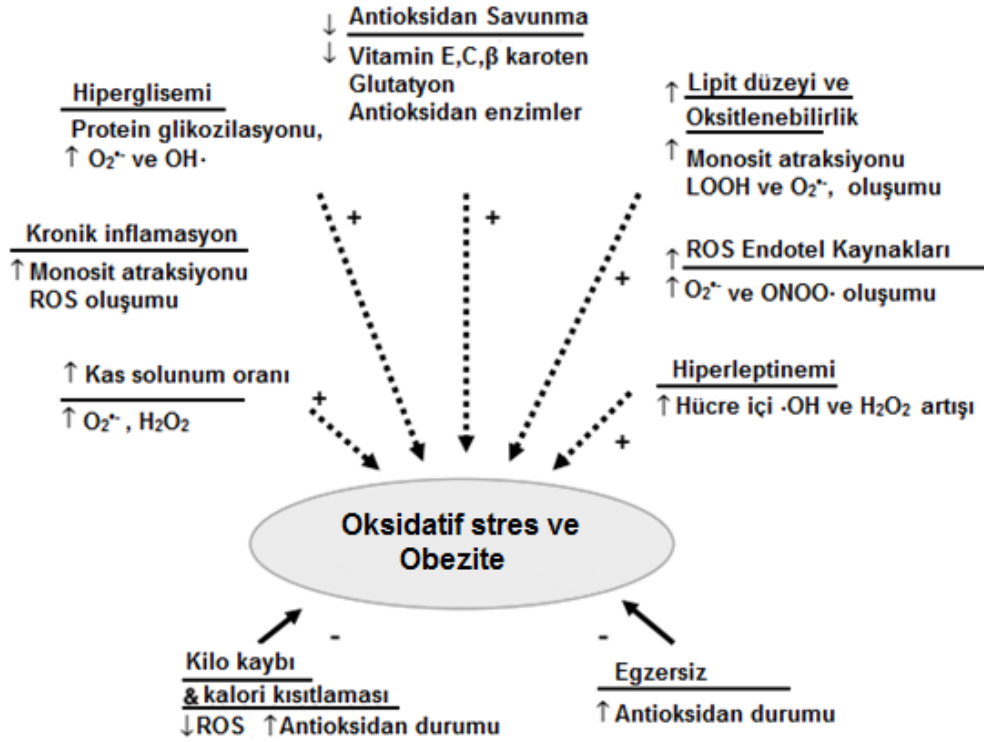
Şekil 1.12. İnsan GST izozimleri ve model substratları (Hayes ve Pulford, 1995; Sherratt ve Hayes, 2002).

#### 1.4. Obezite ile İlişkili Oksidatif Stres Mekanizmaları

Serbest radikaller, yakınlarında bulunan moleküllere hızla bağlanan, eşleşmemiş elektronlara sahip yüksek oranda reaktif olan moleküllerdir. Reaktif oksijen türleri (ROS), dokularda yüksek oranda reaktif olan, eşlenmiş ya da eşlenmemiş elektronlara sahip oksijen içeren moleküllerdir. ROS, süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ), nitrik oksit (NO), hipoklorit ve peroksiniti ( $ONOO^-$ ) içerir. Düşük konsantrasyonlarda serbest radikal, ROS ve diğer azot türleri normal hücre redoks durumu, hücre fonksiyonu ve hücre içi sinyalizasyon için gereklidir. Bununla birlikte, bazı hastalık durumlarında serbest radikaller fazlasıyla üretilir. Yüksek ROS ve serbest radikal konsantrasyonları, DNA, protein, karbonhidrat ve lipit bileşenlerine zarar verir ve hücre fonksiyonunu tehlikeye atar (Vincent ve Taylor, 2005).

Epidemiyolojik ve klinik pek çok çalışma, obezitenin, değişen redoks durumu ve artmış metabolik risk ile bağlantılı olduğunu göstermiştir (Şekil 1.13) (Tran ve ark., 2013; Franch ve ark., 2013; Warolin ve ark., 2014).





Şekil 1. 13. Obezite ile ilgili oksidatif stres mekanizmaları (Vilcent ve Taylor, 2005).

Oksidatif stres hem obezitenin bir sonucu hem de obezitenin tetikleyicisi olabilir. Kronik aşırı beslenme, yüksek oranda karbonhidrat, doymuş yağ asitleri ve trans-yağ asitleri içeren besinlerle beslenmek, hücre içi yolları uyararak, NADPH oksidazlardan (Nox) süperoksit üretimi, oksidatif fosforilasyon, gliseraldehit oksidasyonu gibi çok sayıda biyokimyasal mekanizma yoluyla oksidatif strese yol açar (Sies ve ark., 2005; Serra ve ark., 2013). Oksidatif stres, beyaz yağ dokusu birikimini uyararak ve gıda alımını değiştirerek obezitenin gelişiminde etkili olabilir. Hücre kültürü ve hayvan çalışmaları oksidatif stresin olgun adipositlerin boyutunu, adiposit proliferasyonunu ve adiposit farklılaşmasını artırdığını göstermektedir (Furukawa ve ark., 2004; Lee ve ark., 2009; Higuchi ve ark., 2013) ve reaktif oksijen türlerinin tokluk ve açlık davranışını kontrol eden hipotalamik nöronlar üzerinde farklı etkiler yaparak vücut ağırlığının kontrolünde rol aldığı görülmektedir (Horvath ve ark., 2009). Ayrıca, obezitenin kendi başına sistemik oksidatif stresi indükleyebileceği de gösterilmiştir: aslında yağ birikiminin, adipositlerde ROS üretiminin artmasına neden olan Nox aktivitesini ve endoplazmik retikulum (ER) stresini artırdığı gösterilmiştir (Furukawa ve ark., 2004; Mlinar ve Marc 2011). Obezitede oksidatif strese katkıda

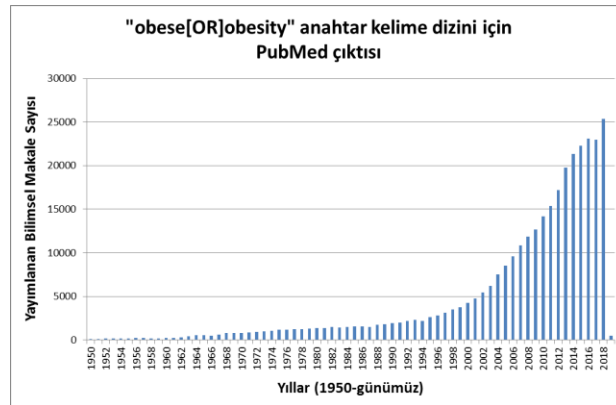
bulunan diğer faktörler, tokluk sonrası anormal ROS üretimi (Patel ve ark., 2007), hiperleptinemi (Beltowski, 2012), kronik inflamasyon (Bondia-Pons ve ark., 2012), doku fonksiyon bozukluğu (Serra ve ark., 2012) ve yetersiz antioksidan savunmasıdır (Chrysohoou ve ark., 2007). Obezitede oksidatif stresi azaltma stratejileri arasında ise kilo verme, fiziksel aktiviteyi artırma ve antioksidan bakımından zengin beslenme vardır. Kilo vermenin oksidasyon belirteçlerini azalttığı, antioksidan savunmayı arttırdığı ve insan obezitesi ile ilişkili metabolik ve kardiyovasküler riskleri iyileştirdiği (Bigornia ve ark., 2010) bilinmektedir (Savini ve ark., 2013).

### 1.5. Tezin Amacı

Obezite, birçok hastalık, metabolik bozukluk ve mortalite ile ilişkili olması, prevalansındaki yükselme eğilimi ve tedavi maliyetinin, birçok ülkede ulusal sağlık hizmetleri bütçesi için ağır bir yük haline gelmesi nedeniyle pek çok ekonomik ve epidemiyolojik araştırmanın konusu haline gelmiştir.

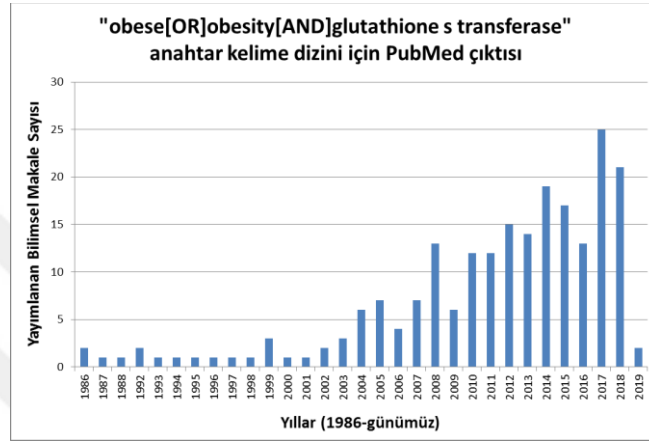
OECD (2018) raporlarına göre 2011 yılında Türkiye’de kadın popülasyonunun %58’i, erkek popülasyonunun %52,7’si ve tüm popülasyonun %55,4’ü aşırı kilolu ya da obez iken 2017’de bu oran sırasıyla %66, %62,8 ve %64,4’e yükselmiştir. Obezitenin görülme sıklığı açısından diğer ülkeler ile kıyaslandığında Türkiye ilk sıralardadır ve özellikle kadınlarda görülen obezite çok yaygındır.

PubMed üzerinden “obese” “or” “obesity” anahtar kelimeleri kullanılarak araştırma yapıldığında obezite ile ilgili çalışmaların sayısında son 10 yıl içerisinde önemli bir artış olduğu görülmektedir (Şekil 1.14).



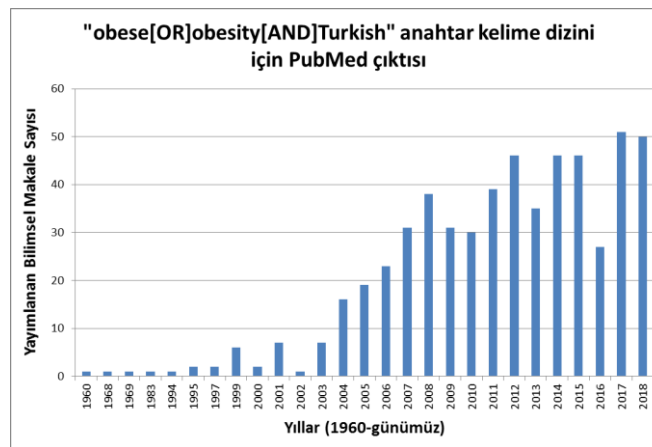
Şekil 1.14. Obezite ile ilgili araştırmaların sayısı.

Obezitenin oksidatif stres ile ilişkisini araştıran pek çok çalışma vardır ancak PubMed üzerinden “obese” “or” “obesity” “and” “glutathione S-transferase” anahtar kelimeleri kullanılarak obezitenin glutatyon S-transferaz ile ilişkisini gösteren çalışmalar araştırıldığında (şekil 1.15) bu çalışmaların sayısında seneler içinde artış görülmesine rağmen toplamda düşük bir yüzdeye sahip olduğu görülmektedir.



şekil 1.15. Obezite-glutatyon S-transferaz ilişkisini gösteren çalışmaların sayısı.

Türk popülasyonu üzerinde obezite ile ilgili araştırma dağılımı PubMed üzerinden “obese” ”or” ”obesity” ”and” ”Turkish” anahtar kelimeleri kullanılarak aratıldığında ilgili çalışmaların sayısının oldukça az olduğu (şekil 1.16) ve çalışmamızı karşılayan “obese” “or” “obesity” “and” “Turkish” “and” “glutathione S-transferase” anahtar kelimeleri aratıldığında ise hiç çalışma olmadığı görülmektedir.



şekil 1.16. Türk popülasyonunda obeziteyi araştıran çalışmaların sayısı.

Bu tez kapsamında yapılan çalışmalara ynelmedeki amaç Türk popülasyonunda obezite ve obezite ile ilgili hastalıkların glutatyon S-transferaz enzim aktivitesi ile toplam tiyol miktarı üzerine etkilerinin araştırılmamış olmasıdır. Bu anlamda çalışmamız Türk popülasyonunda yaş, cinsiyet, hipertansiyon olgusu, diyabet olgusu, aile geçmişi gibi parametrelere göre obez hastaların gruplandırıldığı ve gruplar arasında glutatyon S-transferaz izozimlerinin aktiviteleri ve toplam tiyol miktarları açısından karşılaştırma yapıldığı ilk çalışma olmuştur. Çalışmamızın, Türk popülasyonunda obezite ve glutatyon S-transferaz enzim aktivitesi ilişkisi ile ilgili literatürdeki açığı azaltmaya yönelik ciddi bir katkısı olacağı düşünülmektedir.



## 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Almoshabek ve ark, (2016) katılımcılarını obez/aşırı kilolu 420 olgunun ve normal ağırlıktaki 234 kişiden oluşan kontrol gurubununun oluşturduğu genç yaştaki Suudi popülasyonu üzerine yapmış oldukları çalışmada, glutasyon S-transferaz *GSTM1* ve *GSTT1* delesyon polimorfizmi ile obezite, plazma lipoproteinleri, BKİ ve hipertansiyon ilişkisini araştırmayı amaçlamıştır. Bu çalışmada kontrol grubu ile kıyaslandığında *GSTM1+/GSTT1-* ve *GSTM1-/GSTT1-* frekansının obez/aşırı kilolu olgularında çok daha yüksek olduğu gösterildi. Bu sonuca paralel olarak *GSTM1+/GSTT1-* ve *GSTM1-/GSTT1-* genotipe sahip bireylerde BKİ ve vücut ağırlığının daha yüksek olduğu da bildirildi. Sonuçta *GSTM1+/GSTT1-* ve *GSTM1-/GSTT1-* genotipi ile obezite ve onunla ilişkili risk faktörlerinin önemli ölçüde ilişkili olduğu ortaya çıkarıldı ve obeziteye neden olabilecek doku ve makromolekül oksidatif hasarı ile sonuçlanan yüksek oksidatif stres düzeyinin *GSTM1* ve *GSTT1* gen delesyonu ile ilişkili olabileceği gösterildi. Ayrıca bu gen delesyonlarının neden olduğu, total enzimatik aktivitenin kaybı ile ilişkili olan protein ürünü yoksunluğunun, ksenobiyotiklerin yanlış detoksifikasyonuna, oksidatif strese karşı savunma yeteneğinin azalmasına, serbest radikallerden kaynaklanan hücresel hasara neden olabileceği ve daha sonra bireylerin obeziteye duyarlılığını etkileyebileceği bildirilmiştir.

Chielle ve ark., (2016) normal kilolu, aşırı kilolu ve obez bireylerden oluşan 60 yaş üstü 232 kişide *GSTP1 Ile105Val* gen polimorfizmi ile obezite arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçlamıştır. Periferik kan örneklerinde polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) ile genetik analiz gerçekleştirilmiş ve sonuçta *GSTP1* geni ekzon 5 bölgesindeki adenin bazın guanin bazına dönüşümünün (A/G) neden olduğu *Ile105Val* gen polimorfizmi ile BKİ arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Ayrıca 60 yaş üstü aşırı kilolu/obez bireylerde GG genotipinin önemli ölçüde arttığı ve cinsiyet ayrımı olmaksızın AA genotipi ile kıyaslandığında en azından bir G alleleline (AG ya da GG genotipi) sahip bireylerde obezite gelişme ihtimalinin 2.4 kat daha fazla olduğu bildirildi. Sonuçlar doğrultusunda *GSTP1* polimorfizminin önce antioksidan savunma sisteminde düşüşe, sonra inflamasyona ve nihayetinde obeziteye neden olabileceği gösterilmiştir.

Bulus ve ark., (2018) normal kolon dokusu ve kolon tümöründe glutatyon S-transferaz P1 (GSTP1), GSTT1, GSTO1, GSTK1 ve sitokrom P450 1A1(CYP1A1), CYPB1, CYP2E1enzimlerinin immünohistokimyasal boyama özelliklerini ayrıca yaş, cinsiyet, sigara içme durumu, tümör derecesi ve tümör evresi gibi klinikopatolojik parametreler ile ilişkilerini araştırmayı amaçlamışlardır. Kolon adenokarsinomu bulunan toplam 47 hastadan dokular alınmış, tümör ve kontrol dokularının boyanma yoğunlukları karşılaştırılmıştır. Çalışma sonunda CYP ve GST izozimlerinin, sağlıklı dokularda, yaş ve cinsiyete göre belirgin bir değişim göstermedikleri bildirilmiştir.

Roe ve ark., (1999) genetik olarak obez erkek ve dişi ob/ob farelerde cinsiyet ve yaş bağımlı hepatik sitokrom P450 ve glutatyon S-transferaz aktivitesini ve ekspresyonunu karakterize etmeyi amaçlamışlardır. Bu çalışmada GST enzim aktivitesi 1-kloro-2,4, -dinitrobenzene (CDNB) karşı ölçülmüştür. Sonuçta yaştan bağımsız olarak obez erkek ob/ob farelerde GST-CDNB aktivitesinin büyük oranda düştüğü, aksine obez dişi ob/ob farelerde ise yaş ve obezitenin GST-CDNB aktivitesi üzerine bir etkisi olmadığı gözlenmiştir. Bu çalışma ile obez ob/ob farelerinde, birçok karaciğer CYP450 ve glutatyon S-transferaz enzimlerinin aktivitesi ve ekspresyonu üzerindeki yaş ve cinsiyete bağlı etki açıkça gösterildi.

Barnett ve ark., (1992) tamamı 16 aylık olan erkek obez-diyabetik (ob/ob) fare modellerinde insanlarda da benzer etkileri olan insülin-bağımsız diyabetin, hepatik mikrozomal CYP450 ve sitosolik glutatyon S-transferaz aktivitesi üzerine etkilerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Sonuçta insülin-bağımsız diyabetin, sitozolik glutatyon S-transferaz aktivitesini ve glutatyon düzeyini büyük ölçüde düşürdüğünü gözlemlemişlerdir.

Abernethy ve Greenblatt (1986) insanlarda obezitenin ilaç dispozisyonu üzerine etkilerini araştırmayı amaçladıkları çalışmalarında normal kilolu bireylere kıyasla obez bireylerde Faz II enzimlerinin artışına bağlı olarak glukuronid, sülfat ve glutatyon konjugasyon reaksiyonlarının daha fazla olduğu bildirildi.

Schwartz ve ark., (2005) “hava kirliliğinden kaynaklanan oksidatif stres kardiyovasküler ölümlere sebep olur” hipotezinden yola çıkarak, hava kirliliğinin kalp hızı değişkenliği üzerine nasıl bir etkisi olduğunu ve bu etkinin, statin kullanımı, glutatyon-S-transferaz M1 (GSTM1) allelinin varlığı ya da yokluğu, inflamasyon ve oksidatif stresle ilişkili obezite ve artmış nötrofil sayısı ile nasıl değiştiğini

araştırmışlardır. Sonuçta obeziteden kaynaklanan inflamasyon ve ROS miktarlarındaki artışın kardiyovasküler ölümler ile ilişkili olduğu gösterilmiş ve GSTM1'in delesyonu söz konusuysa bu etkilerin daha da fazla arttığı gözlemlenmiştir.

Klánová ve ark., (2018) katılımcılarını ortalama yaşları 45.26 ve ortalama Beden Kitle İndeksleri 32.36 olan 472 bireyin oluşturduğu bir insan popülasyonu üzerine yapmış oldukları çalışmada, enzimatik aktiviteyi büyük ölçüde etkilediği bilinen GST polimorfizmlerinin diyet kompozisyonu üzerine bir etkisinin olup olmadığını belirlemeyi amaçlamıştır. Bu çalışma ile, tüketilen bitkisel besinlerin içerisindeki bazı bitkisel molekülleri metabolize etmek için GST'lerin çalışmasına ihtiyacınız duyulduğu ancak GST polimorfizmleri sonucunda bu enzimler tam olarak aktivite gösteremiyorsa, o moleküllerin kandaki seviyesinin istenmeyen değerlere ulaştığı ve bunun da allerjik bazı ciddi sonuçlar doğurduğu sonucuna ulaşmışlardır. Klánová ve ark., (2018) çalışmalarının sonuçlarına dayanarak bu GST polimorfizmlerin (GSTA1, GSTM1 ve GSTT1) diyet kompozisyonunu etkilediği ancak toplam enerji alımı üzerine bir etkilerinin olmadığını ve obezite ile ilişkilerinin bulunmadığı çıkarımlarında bulunmuşlardır. Bu durumda, günlük diyetimizin tayininde, GST polimorfizmi de önemli bir parametre olduğu ve obez hastaların tedavisi ve sonrasında beslenmesinde dahi GST'lerin dikkate alınmak durumunda olduğu söylenebilir. Kilo kontrolü için önerilen bitkisel ürünlerin tüketilmesi GST'lerin eksikliğinde obez hastalarda başka problemler dahi ortaya çıkarabilir. Bu durumda GST'lerde görülen polimorfizmler obezitenin sebebi olabilir, sonucu olabilir ve hatta tedavisinde belirleyici bir faktör de olabilir.

Picklo ve ark., (2015) GSH ve glutatyonil sistemlerin obezite gelişimindeki rollerini araştırmıştır. Bu derlemede çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile oksidasyonu sonucu oluşan, protein ve DNA moleküllerine kovalent bağlanan elektrofilik merkeze sahip, trans-4-hidroksi-2-nonenal (4-HNE) ve trans-4-okso-2-nonenal (4-ONE) gibi sitotoksik  $\alpha,\beta$ -doymamış aldehitlerin obezite ve diğer birçok hastalığın başlamasında ve ilerlemesinde etkisi bulunan lipid peroksidasyonunda rolleri olduğu vurgulanmıştır. Sitotoksik etkiye sahip bu aldehitlerin GSH ile konjugasyonunu GST Alfa sınıfının sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca obezitenin beyaz adipoz dokuya özgül GSTA4 enziminde aşağı regülasyona (down regülasyon) sebep olduğu dolayısıyla

4-HNE ve 4-ONE aldehit düzeylerinin 5-10 kat arttığı ve sonunda 4-HNE ve 4-ONE tarafından proteinlerin modifiye edildiği bildirilmiştir.

Loguercio ve ark., (1996) insanlarda karaciğer sızoru ve yaşın, plazma, eritrosit ve gastrik mukozadaki glutasyon konsantrasyonu üzerine etkilerini incelemek için yaşları 29 ile 70 arasında değişen 40 sağlıklı birey (24 erkek) ve yaşları 39 ile 70 arasında değişen 80 siroz hastasından (52 erkek) oluşan bir insan popülasyonu üzerine çalışmıştır. Glutasyon düzeyinin ve GST enzim aktivitesini yaş, cinsiyet ve karaciğer hastalığa bağlı olarak nasıl değiştiğini araştırmışlar ve sonuçta karaciğer sirozu bulunmayan yani sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda gastrik mukozada GSH düzeyinde ve GST enzim aktivitesinde yaşın artışına bağlı olarak azalma olduğunu ancak cinsiyete bağlı bir değişim olmadığını bildirmişlerdir.

Mukhtar ve ark., (1981) farklı yaş gruplarından insanlara ait birçok fetal ve yetişkin dokusunda CDNB substratına karşı toplam GST aktivitesini ölçmüştür. Elde ettikleri veriler fetal karaciğer, kas, böbrek, akciğer, pankreas ve mide dokularının enzimatik aktivitesinin yetişkinlere ait bu dokulardaki enzimatik aktiviteye kıyasla daha fazla olduğunu bildirmişleridir.

Caira ve ark., (2017) obez ve obez olmayan bireylerden alınan karaciğer biyopsilerinin proteomunu iki boyutlu jel elektroforezi kullanarak karşılaştırmış ve her iki gruba ait protein örneklerini MALDI-TOF-MS tabanlı peptid kütle parmak izi (PMF) ve nLC-ESI-MS/MS metotları ile tanımlamıştır. Tüm karaciğer biyopsilerinde ortak olarak bulunan 61 gen ürünü 65 spot içinde tanımlanmış ve bunlardan 25'inin obez ve obez olmayan bireylerde farklı şekilde temsil edildiği gözlenmiştir. Glutasyon S-transferaz'ın da dahil olduğu pek çok proteinin aşırı ekspresyonu (over-representation) obezite durumu ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca obez hastaların karaciğer hücrelerinde GSH düzeyinin azalmasının bu durumu desteklediği bildirilmiştir.

Valle ve ark., (2012) katılımcılarını diyabetik ve diyabetik olmayan morbid obez (BKI>40 kg/m<sup>2</sup>) hastalarının oluşturduğu bir insan popülasyonunda, obez bireylerde Tip 2 Diyabetes Mellitus hastalığı tarafından değiştirilen karaciğer proteinlerini tanımlamayı amaçlamışlardır. Her iki gruba ait bireylerden karaciğer örnekleri alınmış ve protein ifadesindeki değişimler MALDI-TOF kütle spektrometrisi ile birleştirilen iki boyutlu jel elektroforezi ile analiz edilmiştir. Analiz edilen 850 proteinden 33 tanesinin diyabetik obez hastalarında farklı bir şekilde ifade edildiği görülmüştür. Bu çalışma



sonucunda S-adenozil-L-metiyonin bileşiminin glutatyona dönüşümü ile ilişkili 3 enzimin, diyabetik olmayan obez hastalarına kıyasla diyabetik obez hastalarında azaldığı ve bunun sonucunda Tip 2 DM hastalarının karaciğerlerinde glutasyon düzeyinin daha düşük olduğu gözlenmiştir. Ayrıca Glutasyon S-transferaz omega-1'e (GSTO1) karşılık gelen spotun diyabetik obez hastalarında azaldığı ve diyabetik olmayan hastalara kıyasla diyabetik obez hastalarında lipit ve proteinlerde oksidatif hasarın daha fazla arttığı bildirilmiştir.

Coles ve ark., (2002) normal bireylerin gastrointestinal sistem (mide-kolon) mukozalarında Glutasyon S-transferaz alfa, mü ve pi enzimlerinin organa özgül ifadelerini ve bireysel farklılıkları belirlemeye çalışmıştır. GSTP1'in, gastrointestinal sistem boyunca ifade edildiği ancak mide ile kolon bölgesinde ekspresyonun azaldığını gösterdi. GSTA1 ve GSTA2, duodenum ve ince bağırsakta yüksek seviyelerde eksprese edildiği ancak tüm bireylere ait mide dokusunda ekspresyonlarının düşük olduğu belirlendi. Bu durum, duodenum ve ince bağırsağa kıyasla mide ve kolonda kimyasal karsinojenlerin GST-bağımlı detoksifikasyonunun daha az olduğunu dolayısıyla bu organların özellikle GSTA1'e özgül substratlardan kaynaklanan genotoksik etkiye daha açık olduğunu göstermiştir.

Ergenç ve ark., (2017) melatonin uygulamasının diyabetik sıçanların karaciğer, böbrek, pankreas, mide ve retinal dokularındaki oksidan ve antioksidan duruma etkisini inceledikleri çalışmalarında, erkek Wistar albino cinsi sıçanları kontrol, kontrol+melatonin, diyabetik ve diyabet+melatonin olmak üzere 4 gruba ayırmış ve çalışmadan elde ettikleri sonuçlar doğrultusunda kontrol grubu ile kıyaslandığında diyabetik hayvanların karaciğer, böbrek, mide, retina, pankreas dokularında malondialdehid seviyelerinde artış endojen antioksidan olan GSH düzeyinde ise azalma gözlemlendi.

Yılmaz-Ozden ve ark., (2014) diyabetik sıçanların mide dokularında oksidatif stres üzerine vanadil sülfatın iyileştirici etkisini incelemeyi amaçlamışlardır. Çalışmalarında erkek Wistar albino cinsi sıçanları kontrol, kontrol+vanadil sülfate, diyabetik, diyabetik+vanadil sülfate olmak üzere 4 gruba ayırmışlardır. Mide dokusu homojenatlarında katalaz, süperoksit dismutaz, glutasyon redüktaz, glutasyon peroksidaz, glutasyon-S-transferaz, miyeloperoksidaz, karbonik anhidraz, glikoz-6-fosfat dehidrojenaz ve laktat dehidrojenaz enzimlerinin aktivitelerini belirlemişlerdir.

Bu çalışma sonucunda normal sıçanlara kıyasla diyabetik sıçanların mide dokularında katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz, karbonik anhidraz, glikoz-6-fosfat dehidrojenaz ve laktat dehidrojenaz enzimlerinin aktivitelerinde artış gözlenmiştir.

Murray ve Zaluzny (1989) sıçan karaciğeri sitozolik GST enzim aktiviteleri üzerine genetik obezitenin ve diyabetin karşılaştırmalı etkilerini incelemiştir. GST enzim aktivitelerini, izozime özgü aktiviteyi yansıtan 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB), p-nitrobenzyl chloride (PNBC), 1,2-dikloro-4-nitrobenzen (DCNB), trans-4-fenil-3-büten-2-one (TPBO) ve 1,2-epoksi-3- (p-nitrofenoksi) propan (EPNP) substratlarına karşı okunmuştur. Diyabetik sıçanların karaciğer sitozolünde DCNB konjugasyonunun kontrolün %47'sine kadar, PNBC ve CDNB konjugasyonu ise kontrolün %63'üne kadar azaldığı gözlenmiştir. Ancak EPNP ve TPBO konjugasyonunda kontrol grubuna kıyasla bir değişim gözlenmemiştir. Bu veriler birlikte ele alındığında, deneysel diyabetik durumun sitozolik GST aktivitesi üzerindeki etkilerinin substrata özgü olduğu bildirilmiştir. Obez sıçanların karaciğer sitozolünde ise DCNB, CDNB, PNBC ve TPBO'nun glutatyon ile konjugasyonları, sırasıyla kontrolün % 44,% 78, % 88 ve% 59'una kadar azaldığı EPNP konjugasyonunun ise kontrol grubuna kıyasla değişmediği gözlenmiştir. Böylelikle, EPNP ve CDNB konjugasyonlarının, hem diyabet hem de genetik obezitede kontrollerine göre benzer şekilde etkilendikleri bununla birlikte, TPBO ve DCNB'nin glutatyon ile konjugasyon oranları, diyabetli hayvanlara kıyasla obez farelerde daha belirgin bir şekilde azaldığı sonucuna varılmıştır. Aksine, diyabetik sıçanların karaciğer sitozolünde gözlenen PNBC konjugasyon oranındaki azalmanın obez sıçanlarda görülen azalmadan daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Ozaydın ve ark., (2006) obez ve obez olmayan kişilerde glutatyon S-konjugat taşınımını karşılaştırmayı ve glutatyon S-konjugatlarının obezitede antioksidan duruma nasıl ilişkili olduğunu belirlemeyi amaçlamışlardır. 33 obezite hastasının ve 28 obez olmayan bireyin eritrositlerinde glutatyon S-konjugatları ve malondialdehid seviyesini ölçmüşlerdir. Çalışma sonunda obez bireylerde obez olmayan bireylere kıyasla glutatyon S-konjugatları taşınımının çok daha fazla olduğu gösterilmiştir.

Tunali ve Yanardag (2006) diyabetik sıçanlarda mide ve dalak dokuları ve lipid parametreleri üzerine vanadil sülfatın etkilerini araştırdıkları çalışmalarında Swiss

albino cinsi şıçanları kontrol, kontrol+vanadil sülfate, diyabetik, diyabetik+vanadil sülfate olmak üzere 4 gruba ayırmışlardır. Homojenize edilen mide dokularında GSH düzeyleri belirlenmiştir ve sonuçta mide dokularında GSH düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla diyabetik sıçanlarda önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir.

Yalin ve ark., (2007) sağlıklı ve diyabetik bireylerde *GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTP1* gen polimorfizmlerini incelemiş ve Türk popülasyonunda bu gen polimorfizmlerinin diyabetes mellitus ile ilişkili olup olmadığını araştırmışlardır. 98 sağlıklı ve 98 diyabet hastasında Real-time PCR kullanılarak *GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTP1* genlerinin genotipleme yapılmıştır. Sonuçta diyabetes mellitus hastalarında kontrol grubuna kıyasla daha yüksek *GSTM1* null genotipi gözlenmiştir. Bununla birlikte, hastalar ve kontrol grubu arasında *GSTT1* ve *GSTP1* gen polimorfizmlerinin sıklığında anlamlı fark bulunamadı. Bu sonuçlar *GSTM1* null genotipinin diyabetin etiopatogenezinde önemli rol oynayabildiğini ve *GSTM1* geninin, Türk popülasyonunun diyabetes mellituse duyarlılık tahmininde yararlı bir belirteç olabileceğini göstermektedir. Taiwo ve Shittu (2015) ise yaptıkları derlemede homozigot *GSTM1* ya da *GSTT1* null genotipinin bu GST'lerin enzimatik aktivitesini kaybetmesine dolayısıyla pankreatik  $\beta$ -hücrelerinde reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinden kaynaklanan hasarın artmasına neden olduğunu, bu durumun ise düşük insülin üretimi sonucu tip 2 diyabete sebep olduğunu bildirmişlerdir. Azarova ve ark., (2018) Rus popülasyonunda del/del *GSTT1* genotipinin tip 2 diyabet ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermiş ve cinsiyet-tabanlı analizlerinde ise *GSTM1* ve *GSTT1* delesyon genotiplerinin ve *GSTP1*'in 114A/V genotipinin özellikle erkeklerde Tip 2 diyabet riskinin artışı ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Üç genotip kombinasyonunun (yani *GSTM1*+ x *GSTT1*+, *GSTM1*+ x *GSTP1* 114A/A ve *GSTT1*+ x *GSTP1* 114A/A), erkeklerde tip 2 diyabet riskinde azalma ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterdiğini yaptıkları çalışma sonucu bildirildi. Ayrıca bu çalışma ile glutatyon S-transferazları kodlayan genlerin tip 2 diyabet riskine birlikte katkıda bulunduğu ve hastalık duyarlılığı üzerindeki etkilerinin cinsiyete özgü olduğu gösterildi.

Rizvi ve ark., (2015) hipertansiyonu olan bireylerde *anjyotensin-dönüştürücü enzim* ve *Glutatyon S-transferaz* gen polimorfizmi ile BKİ arasındaki ilişkiyi belirlemeyi amaçlamışlardır. Katılımcıları 378 bireyin oluşturduğu çalışmada, hipertansiyonlu bireyler (253 kişi) normal ( $<25 \text{ kg/m}^2$ ) ya da yüksek ( $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ )

BKİ'ye göre gruplandırılmıştır. Üçüncü grubu ise normal tansiyona ve BKİ'ne sahip bireyler oluşturmuştur. Gen polimorfizmleri PCR ile değerlendirilmiş, genotipik ve allelik sıklık dağılımı analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda hipertansif obez/aşırı kilolu bireyler ile kontrol grubu arasında *GST mu 1*-pozitif ve *GST teta 1*-null genotip sıklığı bakımından büyük bir fark olduğu bildirilmiştir. Ayrıca BKİ'den bağımsız olarak hipertansif ve normal bireyler arasında *GST teta 1*-null ve *GST teta 1*-pozitif genotip sıklığının oldukça farklı olduğu gözlenmiştir.

Eslami ve Sahebkar (2014) 12 farklı meta-analiz çalışmasını derlemiş, *GSTM1* ve *GSTT1* null genotiplerinin hipertansiyon için risk oluşturduğunu bildirmiştir. Aksine Ge ve ark., (2015) *GSTM1* ve *GSTT1* null genotipleri ve hipertansiyon riski arasında bir ilişki bulunmadığını bildirmiştir.

Choquet ve Meyre (2011) genetik ve obezite alanındaki 15 yıllık araştırmaları derlemiş, gıda alımının ve obeziteye genetik yatkınlığın düzenlenmesinde yer alan genlerin rolünü belirleyen monogenik ve poligenik formlar arasındaki genetik sürekliliğin varlığı hakkında yorumda bulunmuştur. Obezite ile ilişkili, sekiz monogenik gen ve dört poligenik genin (*FTO*, *PCSK1*, *MC4R*, *CTNBL1*) bulunduğunu ve son yıllarda dokuz lokusun, poligenik obeziteye katkıda bulunan 58 lokus ile birlikte Mendellian obezite formları ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Obezitenin, vücut ağırlığını düzenleyen merkezi sisteminin kalıtsal bir bozukluğu olduğunu vurgulamış ve polijenik obeziteye özellikle *FTO* geni içinde (rs1421085/rs9939609) ve *MC4R* geni yakınındaki (rs17782313) tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir. Obeziteye yatkınlığa sebep olan *FTO* varyantının çocuklarda ve yetişkinlerde azalmış tokluk ve / veya artan açlık hissi ile de ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca obeziteye yatkınlığa neden olan *MC4R*'ye yakın SNP varyantının hem çocuklarda hem de yetişkinlerde artmış açlık hissi, doyunluğun azalması, toplam, yağ ve protein enerji alımının artması gibi gıda alımı ile ilgili parametreler üzerindeki etkiler ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Reuter ve ark., (2016) çocuklarda obezite aile öyküsü ile *FTO* rs9939609 polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçlamışlardır. Yaşları 7-17 arasında değişen toplam 406 obez/aşırı şişman kişide polimorfizm PCR ile genotipenmiştir (AA [obezite riski altında], AT ve TT). Sonuçta AA genotipinin diğer genotipler ile kıyaslandığında (AT ve TT) obezite riski ile çok daha fazla ilişkili olduğu gözlenmiştir.

Ayrıca AA genotipine sahip çocuklarda aile öyküsü ile BKİ arasında bir ilişki olduğu, prevalansın obez anneye, obez anneanne ya da babaanneye ve obez paternal dedeye sahip olan çocuklarda daha yüksek olduğu gözlemlendi. AT ve TT genotipine sahip çocuklarda ise, çocuklardaki obezite ile obez baba ve obez maternal dede arasında ilişki olduğu bildirilmiştir.

Mărginean ve ark., (2018) yaptıkları derlemede obezite ile ilişkisi olduğu bilinen yağ kütlesi ve obezite ile ilişkili (*FTO*) gen, leptin geni ve reseptörü, tümör nekroz faktörü alfa ( $TNF-\alpha$ ), melanokortin 4 reseptör geni (*MC4R*), Ektoenzim nükleotit pirofosfat fosfodiesteraz 1 (*ENPP1*) peroksizom proliferatör ile aktive olan reseptör gama (*PPARG*), anjiyotensin dönüştürücü enzim (*ACE*), glutation S-transferaz (*GST*) ve interlökin-6 (*IL-6*) genleri ve obezojenik çevresel faktörler arasındaki ilişki üzerine yorumda bulunmuşlardır. Sonuçta obezite ile ilişkili bu genler nedeniyle genetik yatkınlığın kaçınılmaz olduğunu ancak diyet müdahaleleri ve uygun yaşam tarzı değişiklikleri, genetik açıdan yatkın çocuklarda obezite gelişimini engelleyebildiği bildirilmiştir.



### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1 Materyal**

##### **3.1.1 Kimyasallar**

Dipotasyum hidrojen fosfat (Merck-7758-11-4), Potasyum dihidrojen fosfat (Merck-7778-77-0), Bovine serum albumin (Sigma-A2153), Bradford solüsyonu (Sigma-Aldrich-B6916), 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (Sigma-Aldrich-138630), redükte glutatyon (Sigma-Aldrich-G4251), Sodyum klorür (Titan Biotech-7647-14-), Etilendiamin tetraasetik asit (Merck-6381-92-6), hidroksimetil aminometan (Sigma-T1503), Metanol (Sigma-Aldrich-34885, %100), Etanol (Sigma-Aldrich-64-17-5; %99,8), dithiothreitol (Sigma Aldrich-3483-12-3), Proteaz İnhibitör Kokteyli (VWR-M221-1ML), Hidroklorik asit (Merck-1003172510), 5,5'- dithiobis(2- nitrobenzoik asit) (Sigma Aldrich -69-78-3), p-nitrobenzil klorid (Aldrich-140112), 1-2, epoksi-3-(p-nitro fenoksi) propan (Santa Cruz-5255-75-4).

Tüm kimyasallar analitik derecededir ve mevcut en yüksek saflıkta ticari kaynaklardan elde edilmiştir.

##### **3.1.2 Mide dokusu örnekleri**

Obez hastalara ait mide dokusu örnekleri, Ankara Keçiören Eğitim Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Servisi'nde, her yaş diliminden, erkek ve kadın hastalardan gastrektomi operasyonu ile elde edildi. Bu dokular hastalardan alındıktan hemen sonra etiketlenerek -80°C soğutucularda muhafaza edildi; daha sonra, kuru buz içerisinde üniversitemiz Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Araştırma Laboratuvarına kargo ile gönderildi. Örnekler, soğuk zincir bozulmadan özel kutular içerisinde -80°C soğutucuya kaldırıldı ve deney gününe kadar orada muhafaza edildi.

## 3.2. Yöntemler

### 3.2.1 Mide dokularının homojenizasyonu

#### 3.2.1.1. Yıkama tamponu hazırlığı

- 100 mM 200 mL (pH: 7.4) yıkama tamponu hazırlamak için gerekli olan 150 mM NaCl (1.754 g) ve 1 mM EDTA (0.074 g) miktarları hesaplandı ve tartıldı.
- 40 ml 500 mM fosfat tamponu (pH:7.4) behere alındı. Manyetik karıştırıcıda içerisine 1.754 g NaCl ve 0.074 g EDTA eklenerek magnet atılıp çözünmesi sağlandı.
- Son hacim dH<sub>2</sub>O ile 200 ml'ye tamamlandı.

Hazırlanan yıkama tamponu temiz şişeye alındıktan sonra parafilmlemlenip kullanılacağı güne kadar buzdolabında +4 °C'de saklandı.

#### 3.2.1.2. Homojenizasyon tamponu hazırlığı

- 100 mM 100 mL (pH: 7.4) homojenizasyon tamponu hazırlamak için gerekli olan 150 mM NaCl (0.877 g), 1 mM EDTA (0.037 g) ve 1.4 mM DTT (0.22 g) miktarları hesaplandı ve tartıldı.
- Proteaz inhibitör kokteylinin (100X) 1mL dH<sub>2</sub>O içerisinde çözünmesi sağlandı.
- 20 ml 500 mM fosfat tamponu (pH:7.4) behere alındı. Manyetik karıştırıcıda içerisine tartılan NaCl, EDTA ve DTT eklenerek magnet atılıp çözünmesi sağlandı.
- Son hacim dH<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan proteaz inhibitör kokteyli de bu çözelti üzerine eklendikten sonra temiz falkon tüplerine alınıp parafilmlemlendi ve buzdolabında +4 °C'de saklandı.

#### 3.2.1.3. Homojenizasyon uygulaması

- Gün içerisinde çalışılacak hastalara ait doku örnekleri -80 °C'den çıkarıldı ve çözüldükten sonra tartıldı.



- Buz üzerine yerleştirilen yıkama kabı içerisine doku alındıktan sonra dokunun üzerini kaplayacak miktarda soğuk yıkama tamponu eklenerek dokular yıkandı.
- Yıkanan dokular temiz bir kaba alınarak yine buz üzerinde “1 g doku/4 ml homojenizasyon tamponu” oranında soğuk homojenizasyon tamponu eklenip doku makası ile küçük parçalara ayrıldı.
- Doku ve homojenizasyon tamponundan oluşan bu karışım buza daldırılmış teflon-cam hücre parçalama tüpü içerisine alındı ve 6x30sn olacak şekilde homojenize edildi.
- Homojenatlar 12000g'de, +4°C'de, 30dk santrifüj edildi, süpernatant toplandı ve 250µL'lik alikotlara bölünüp etiketlendikten sonra -80 °C'de derin dondurucuda saklandı.

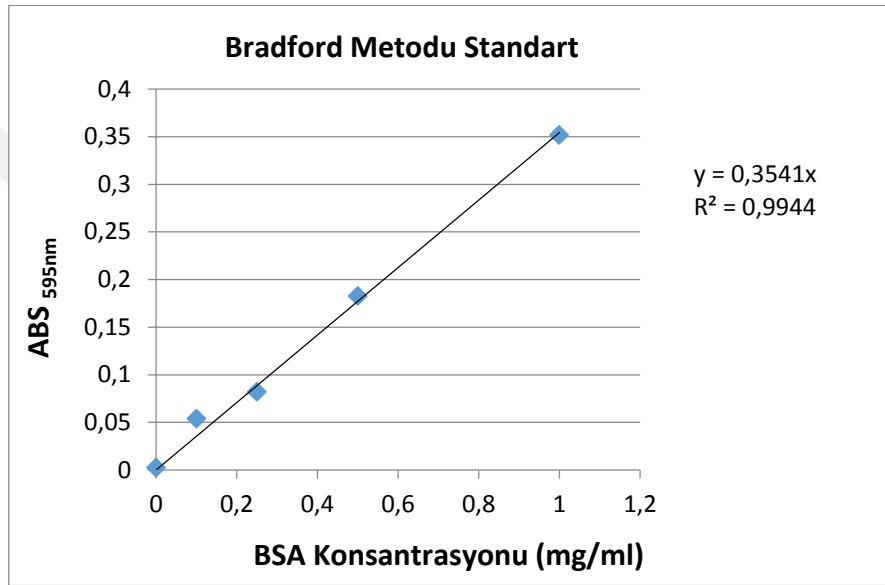
### 3.2.2. Bradford metodu ile protein tayini

Bradford yöntemi Coomassie Brilliant Blue G-250 boyasının asidik ortamda, proteine bağlanması temelinde dayanarak karışımdaki protein miktarının spektrofotometrik olarak ölçülmesini sağlar. Coomassie Brilliant Blue G-250 boyasının kırmızı ve mavi olmak üzere iki farklı renk formu mevcuttur ve kırmızı form, boyanın proteine bağlanması üzerine mavi forma dönüşür. Ayrıca boya ve protein kompleksinin oluşması boyanın maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyunda değişime sebep olur ve bu dalga boyunu 465 nm'den 595 nm'ye çıkarır. Protein-boya kompleksi, yüksek bir yok olma katsayısına (Extinction Coefficient) sahiptir ve böylece proteinin ölçülmesinde büyük hassasiyet sağlar (Bradford, 1976). Bu tez kapsamında yapılan bütün protein tayinleri Bradford (Coomassie Blue) Metodunun ELISA Mikroplaka Okuyucu sisteme göre optimize edilmiş haliyle yapıldı.

#### Stok ve standart BSA (Bovine Serum Albumin) çözeltilerinin hazırlığı:

- 3mg/ml BSA-stok çözelti, 0.0060 g BSA tartılır ve 2 mL dH<sub>2</sub>O içerisinde çözünmesi sağlandı.
- dH<sub>2</sub>O ile yapılan seyreltmeler ile 1.5-1-0.5-0.25 ve 0.1 mg/ml BSA stokları hazırlandı.

**Uygulama:** İşlenmiş doku örneklerinin homojenizasyon tamponuyla istenilen oranda dilüsyonları hazırlandıktan sonra 96 kuyucuklu mikro plakada 5 µl örnek veya 5 µl BSA standardı üzerine 150 µl Bradford solüsyonu eklendi. 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 595 nm dalga boyuna ayarlanmış ELISA mikro plaka okuyucuda oda sıcaklığında köre karşılık okundu. Köre örnek yerine aynı hacimde homojenizasyon tamponu eklendi. Elde edilen değerler ile standart eğri oluşturulup (Şekil 3.1) eğimi hesaplandı.



Şekil 3.1. Bradford protein tayin metodunda kullanılan standart eğri grafiği.

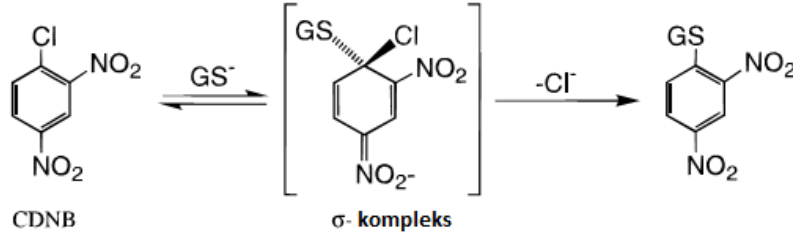
### 3.2.3. GST spesifik aktivite tayini

Mide dokusundan elde edilen homojenatlarda GST enzim aktivitesinin ölçümünde 3 farklı substrat kullanılmıştır: 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB), p-nitrobenzil klorid (PNBC) ve 1,2-epoksi-3-(p-nitrofenoksi)-propan (EPNP)

#### 3.2.3.1. CDNB substratı ile GST spesifik enzim aktivitesinin belirlenmesi

Toplam GST enzim aktivitesi, spektrofotometrik yöntemlerle tiyoeter bağının oluşumunun takibi esasına dayalı olarak gerçekleştirilir (Şekil 3.2).

Deney 340nm’de, substrat olarak CDNB kullanılmasıyla, Habig ve ark. (1974) önerdiği metodun ELISA Mikroplaka Okuyucu sisteme göre optimize edilmiş haliyle (Yılmaz ve Iscan, 2014) yapıldı.



Şekil 3.2. GST enzimi tarafından katalizlenen GSH ve CDNB konjugasyon reaksiyonu (Armstrong, 1997).

Her bir reaksiyon ortamı, yani her bir kuyucuk, 100 mM fosfat tamponu (pH: 7.4) 1mM GSH, 1 mM CDNB ve homojenatın farklı miktarlarını (3.23-23.6  $\mu$ g/kuyucuk) içermektedir. Köre örnek yerine aynı hacimde 10 mM fosfat tamponu eklendi. Enzim eklenerek reaksiyon başlatıldı ve 10 dk boyunca her 20 sn’de bir ABS verileri okundu. Tutarlı sonuçlar elde edebilmek için örneklerin hepsinde farklı zamanlarda en az iki defa daha enzim aktivitesi okundu.

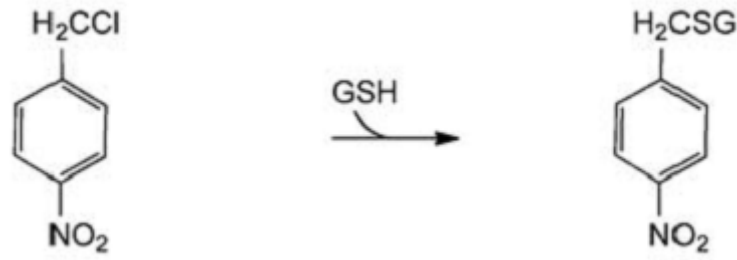
Enzim spesifik aktivitesi hesaplamasında (Eş.3.1) ScanIt RE4.1 yazılımı tarafından hesaplanan ortalama hız değeri kullanıldı:

$$\text{Spesifik Aktivite} = \frac{dA/dt}{\epsilon \text{ (mM}^{-1} \text{ cm}^{-1})} \times SF \times \frac{1}{\text{mg protein/ml}} \quad (3.1)$$

$dA/dt$  birim zamanda (ms) abzorbanstaki değişimi (mOD), yani ortalama hızı,  $\epsilon$  ekstinksiyon sabitini (CDNB için  $9.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) ve SF ise seyreltme faktörünü simgelemektedir.

### 3.2.3.2. pNBC substratı ile GST spesifik enzim aktivitesinin belirlenmesi

Bu metodun Total GST enzim aktivitesi tayininden farkı substrat olarak p-nitrobenzil klorid’in (pNBC) kullanılmasıdır (Şekil 3.3). Habig ve ark. (1974) önerdiği metod laboratuvarımızda ELISA Mikroplaka Okuyucu sisteme göre optimize edildi.



Şekil 3.3. GST enzimi tarafından katalizlenen GSH ve PNBC reaksiyonu (Federici ve ark., 2010).

Optimizasyon sonrası GST enzim aktivitesi ortamının bileşenlerine ait karar verilen konsantrasyon değerleri Çizelge 3.1’de görüldüğü gibidir. Optimizasyon sonucunda, aktivite ölçümleri 340 nm’de gerçekleştirildi.

Çizelge 3.1. GST enzim aktivitesi reaksiyon ortamına ait bileşenler (PNBC)

Bileşenler	Konsantrasyon
Fosfat Tamponu	100 mM (pH: 6.5)
PNBC	0.5 mM
GSH	5 mM

Her bir reaksiyon ortamı, yani her bir kuyucuk 100 mM (pH: 6.5), 5 mM GSH, 0.5 mM pNBC ve homojenatın farklı miktarlarını (128,75-471,75 µg/kuyucuk) içermektedir.

Enzim spesifik aktivitesi hesaplamasında (Eş.3.1) ScanIt RE4.1 yazılımı tarafından hesaplanan ortalama hız değeri kullanıldı.  $\epsilon$  ekstinksiyon sabiti pNBC için  $1.9 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  olarak ayarlandı.

### 3.2.3.3. EPNP substratı ile GST spesifik enzim aktivitesinin belirlenmesi

Bu metodun toplam GST enzim aktivitesi tayininden farklı substrat olarak 1,2-epoksi-3-(p-nitrofenoksi)-propan (EPNP) kullanılmasıdır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. GST enzimi tarafından katalizlenen GSH ve EPNP reaksiyonu (Alias, 2016).

Habig ve ark., (1974) önerdiği metod laboratuvarımızda ELISA Mikroplaka Okuyucu sisteme göre optimize edildi. Optimizasyon sonrası GST enzim aktivitesi ortamının bileşenlerine ait karar verilen konsantrasyon değerleri Çizelge 3.2’de görüldüğü gibidir. Optimizasyon sonucunda, aktivite ölçümleri 360 nm’de gerçekleştirildi.

Çizelge 3.2. GST enzim aktivitesi reaksiyon ortamına ait bileşenler (EPNP)

Bileşenler	Konsantrasyon
Fosfat Tamponu	100 mM (pH: 6.5)
EPNP	0.25 mM
GSH	0.5 mM

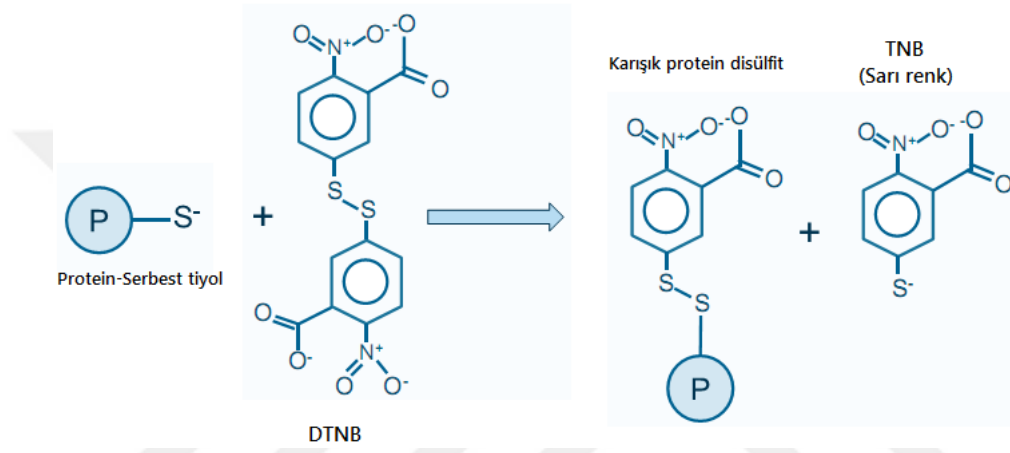
Her bir reaksiyon ortamı, yani her bir kuyucuk 100 mM (pH: 6.5), 0.5 mM GSH, 0.25 mM EPNP ve homojenatın farklı miktarlarını (25.75-94.35 µg/kuyucuk) içermektedir.

Enzim spesifik aktivitesi hesaplamasında ScanIt RE4.1 yazılımı tarafından hesaplanan ortalama hız değeri kullanılmıştır.  $\epsilon$  ekstinksiyon sabiti EPNP için  $0.5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) olarak ayarlandı.

### 3.2.4. Toplam tiyol gruplarının belirlenmesi

Hücredeki toplam tiyol gruplarının %80-85’i GSH molekülünden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, toplam tiyol miktarındaki değişimin GSH havuzu ile ilgili olduğu varsayılır.

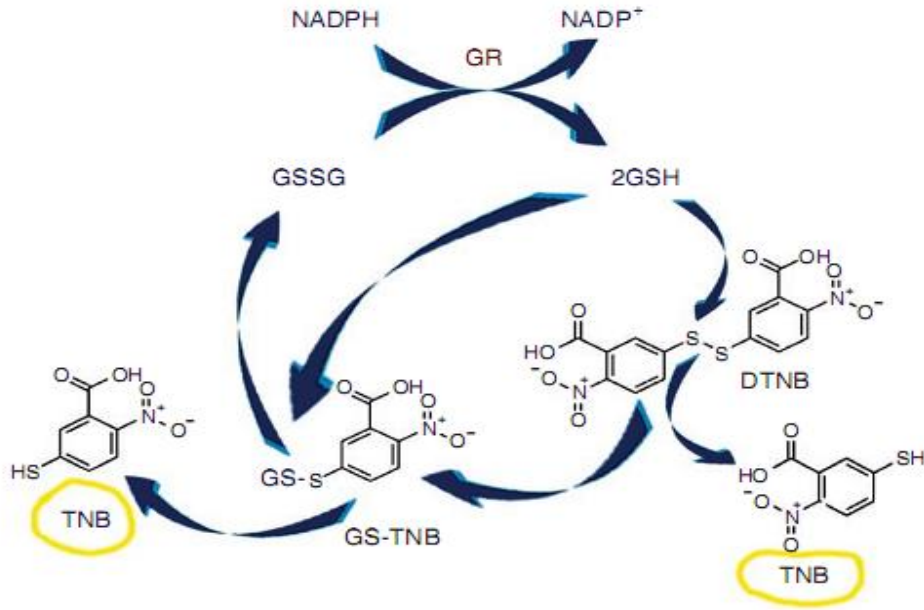
Her bir örneğe ait total tiyol miktarı Sedlak ve Lindsay (1968) tarafından tanımlanan metodun ELISA Mikroplaka Okuyucu sisteme göre optimize edilmiş haliyle belirlenmiştir. Bu metod bir örnekte bulunan tiyol gruplarının Ellman reaktifi DTNB'yi (5,5'-ditiyo-bis- (2-nitrobenzoik asid) kimyasal olarak indirgemesi temeline dayanır. Proteinin serbest tiyol grubu ile DTNB arasındaki reaksiyon sonucu koyu sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB) yapısı oluşur (Şekil 3.5) ve TNB, 412 nm'de maksimum absorpsiyon verir (Şekil 3.5) (Rudyk, ve Eaton, 2014).



Şekil 3.5. DTNB'nin serbest tiyol grupları tarafından indirgenmesi (Rudyk, ve Eaton, 2014).

GSH standartlarının hazırlığı: Standart eğrinin oluşturulması için 0,01-0,1mM konsantrasyon aralığında GSH çözeltileri hazırlandı. DTNB'nin GSH tarafından indirgenme tepkimesi Şekil 3.6'da görülmektedir.

- 0.1 mM GSH standardı 0.000922 g GSH'un 300 µl dH<sub>2</sub>O içinde çözündürülmesi ile hazırlandı.
- 0.075 mM GSH standardı 0.1 mM GSH standardından 75 µl alınıp üzerine dH<sub>2</sub>O ile 100 µl'ye tamamlanması ile hazırlandı.
- 0.050 mM GSH standardı 0.1 mM GSH standardından 100 µl alınıp üzerine dH<sub>2</sub>O ile 200 µl'ye tamamlanması ile hazırlandı.
- 0.020 mM GSH standardı 0.050 mM GSH standardından 80 µl alınıp üzerine dH<sub>2</sub>O ile 200 µl'ye tamamlanması ile hazırlandı.
- 0.010 mM GSH standardı 0.020 mM GSH standardından 50 µl alınıp üzerine dH<sub>2</sub>O ile 100 µl'ye tamamlanması ile hazırlandı.



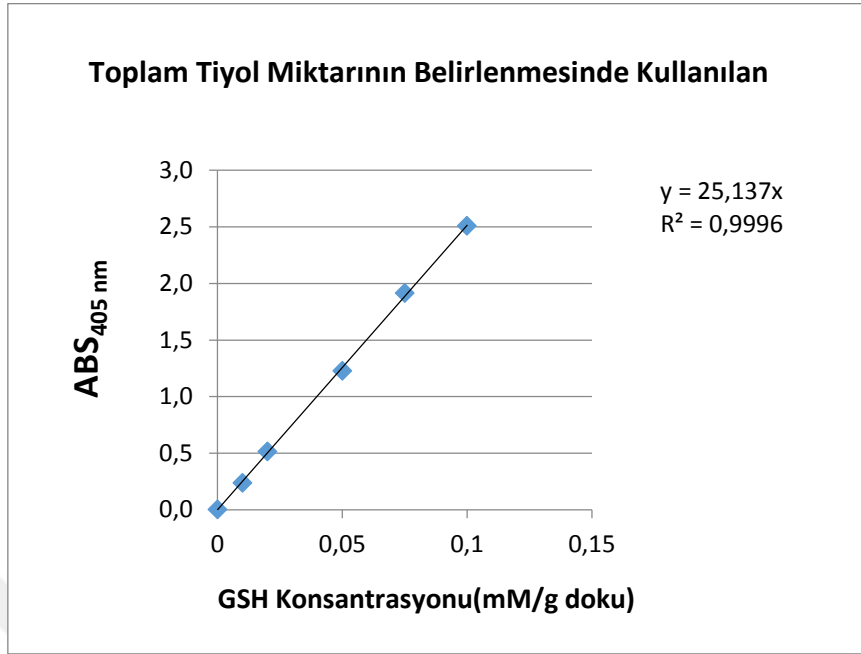
Şekil 3.6. DTNB' nin GSH tarafından indirgenmesi (Giustarini ve ark., 2013).

Prosedür:

20 mM EDTA içeren 30 µl 200 mM Tris tampon (pH 8.2) içerisine 10 µl örnek (10.3-37.76 µg/kuyucuk) eklendi. Daha sonra her bir kuyucuğa 20 µl DTNB (2 mM) ve 140 µl MeOH eklendi. Reaksiyona ait bileşenler Çizelge 3.3'de görülmektedir. 30 dakika 25 °C'de ve karanlıkta inkübe edildikten sonra ELISA mikropłaka okuyucuda 405 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Standart eğrinin (Şekil 3.7) eğim değeri kullanılarak örneklerdeki toplam tiyol miktarı hesaplandı.

Çizelge 3.3. Toplam tiyol gruplarının belirlenmesi deneyine ait reaksiyon bileşenleri

Blank	Standart/Örnek
-	10 µl Örnek /GSH
40 µl Tris tampon	30 µl Tris tampon
20 µl DTNB	20 µl DTNB
140 µl MeOH	140 µl MeOH



Şekil 3.7. Total tiyol miktarının belirlenmesi için kullanılan standart eğri grafiği.

### 3.2.5. İstatistiksel analizler

İstatistiksel analizler Sigmaplot 13.0 lisanslı yazılımı ile gerçekleştirildi. İkili gruplar arasında normalite testi (Shapiro-Wilk) ve eşit varyans testi (Brown-Forsythe) uygulanarak testleri geçip geçemedikleri kontrol edilmiştir. Grupların ortalamaları, standart sapma (SD) ve standart hata ortalamaları (SEM) hesaplanarak, grafiklerde ortalamanın standart hatası hata barlarını oluşturmakta kullanılmıştır ( $\pm$ SEM). t-test sonrasında, normalite testlerini geçen grup karşılaştırmalarında, tek ve çift uçlu P değerleri (one-tailed P value, two-tailed P-value) hesaplanarak iki grubun birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı olup olmadıkları belirlenmiştir:  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Tek ve çift uçlu testlerin güç değerleri de alfa değeri olarak hesaplanarak (Power of performed two-tailed test with alpha) gruplar arasında bir fark olup olmadığı ifade edilmiştir. 0,800'den büyük güç değerleri için gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ve kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir.

Normalite testini (Shapiro-Wilk) geçemeyen deneysel grup karşılaştırmaları için Mann-Whitney U İstatistiği kullanılmış; P değeri bu şekilde elde edilmiştir.

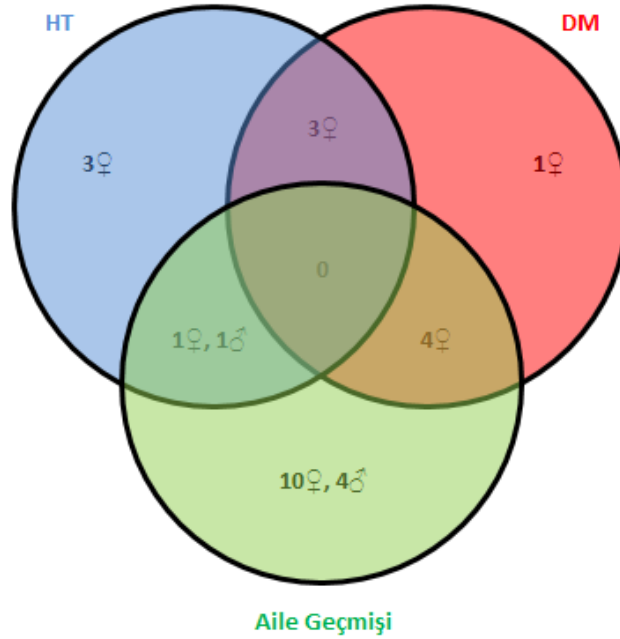


## 4. BULGULAR

### 4.1. GST İzozimlerinin ve Toplam Tiyol Miktarının Örneklem Parametrelerine Göre Değişimi

39 obezite hastasından toplanan anketlerle hem kişisel bilgilere hem de obezite dışında hastalıklarının olup olmadığı bilgisine ulaşıldı. Anketlerden elde edilen bilgilerden yola çıkarak hastalar, cinsiyet, yaş, hipertansiyon olgusu, diyabet olgusu ve aile öyküsü parametreleri göz önünde bulundurularak gruplandırıldı ve bu gruplar şematize edildi (Şekil 4.1). Bu parametrelere bağlı olarak oluşturulan hasta grupları aşağıda görüldüğü gibidir:

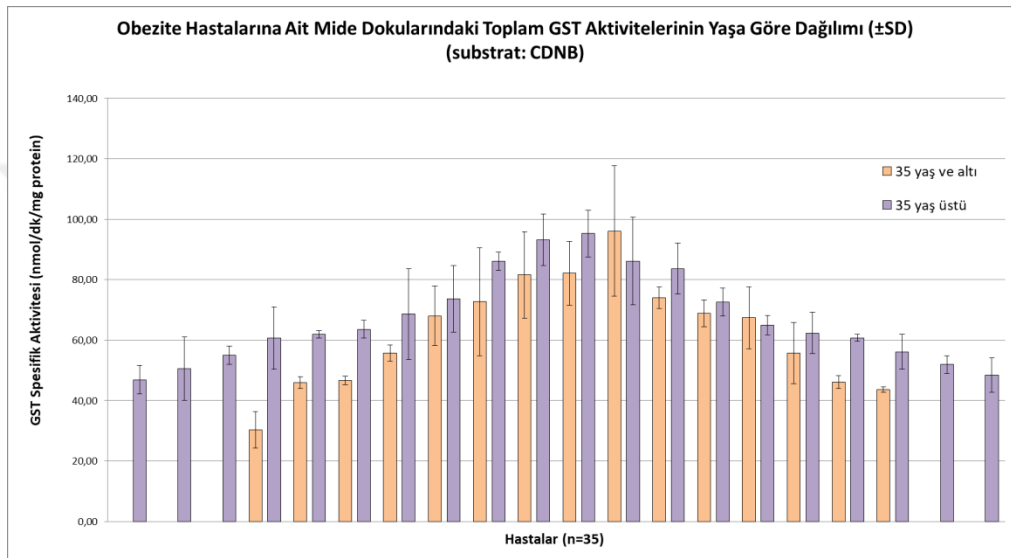
- Cinsiyete göre: 31 kadın ve 8 erkek hasta
- Yaşa göre: 35 yaş üzeri 20 hasta ve 35 yaş ve altı 15 hasta
- Hipertansiyon olgusuna göre: Hipertansiyonu olmayan 26 hasta ve hipertansiyonu olan 8 hasta
- Diyabet olgusuna göre: Diyabeti olmayan 26 hasta ve diyabeti olan 8 hasta
- Aile bağlantısına göre: Ailesinde obezite öyküsü bulunmayan 15 hasta ve obezite öyküsü olan 20 hasta



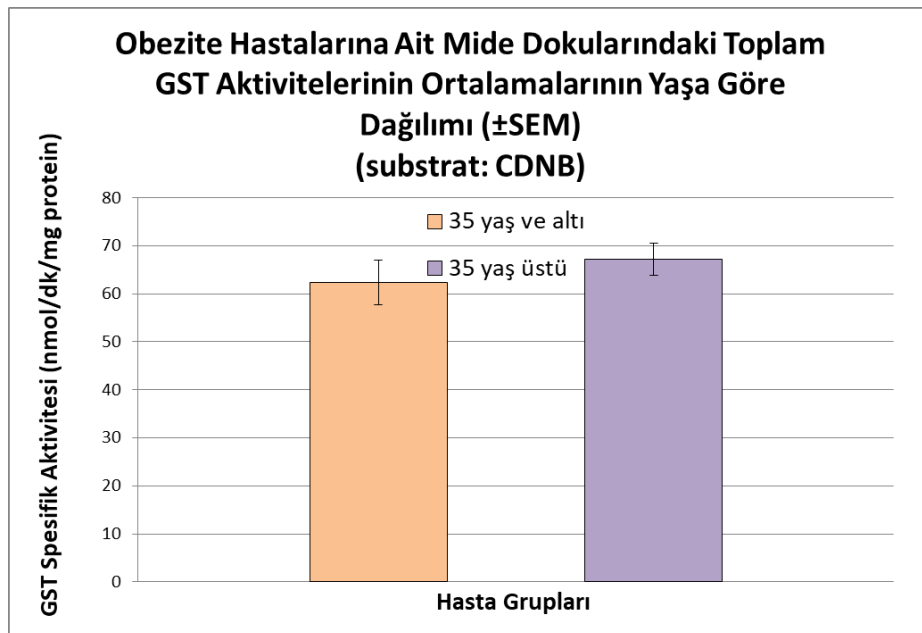
Şekil 4.1. Obez hastalarda görülen olgu ortaklıkları.

#### 4.1.1. Yaşın GST enzim aktiviteleri ve toplam tiyol miktarı üzerine etkileri

Yaş verilerine ulaşılabilen toplam 35 hasta, “35 yaş ve altı” ve “35 yaş üstü” olarak gruplandırıldı. Hastaların her birine ait, CDNB substratına karşı ölçülen toplam GST spesifik aktivitelerinin yaşa bağlı dağılımı Şekil 4.2’de ve her iki gruba ait toplam GST spesifik aktivitesi ortalamalarının yaşa göre dağılımı Şekil 4.3’de görülmektedir.



Şekil 4.2. Toplam GST aktivitelerinin yaşa göre dağılımı (Substrat: CDNB).



Şekil 4.3. Toplam GST aktivitelerinin ortalamalarının yaşa göre dağılımı.

35 yaş ve altı hasta grubu için toplam GST spesifik aktivitesi ortalamaları  $62.317 \pm 4.619$  nm/dk/mg protein (n=15) olarak hesaplanırken, 35 yaş üstü grup için  $67,120 \pm 3.332$  nm/dk/mg protein (n=20) olarak hesaplandı. Sonuçlar değerlendirildiğinde toplam GST aktivite spesifik aktivitesinin “35 yaş üstü” hasta grubunda “35 yaş ve altı” hasta grubundan %7 daha fazla olduğu görüldü.

### İstatistiksel Analizler

“35 yaş üstü” ve “35 yaş ve altı” hasta gruplarında CDNB substratı ile ölçülen toplam GST aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.1’de görüldüğü gibidir.

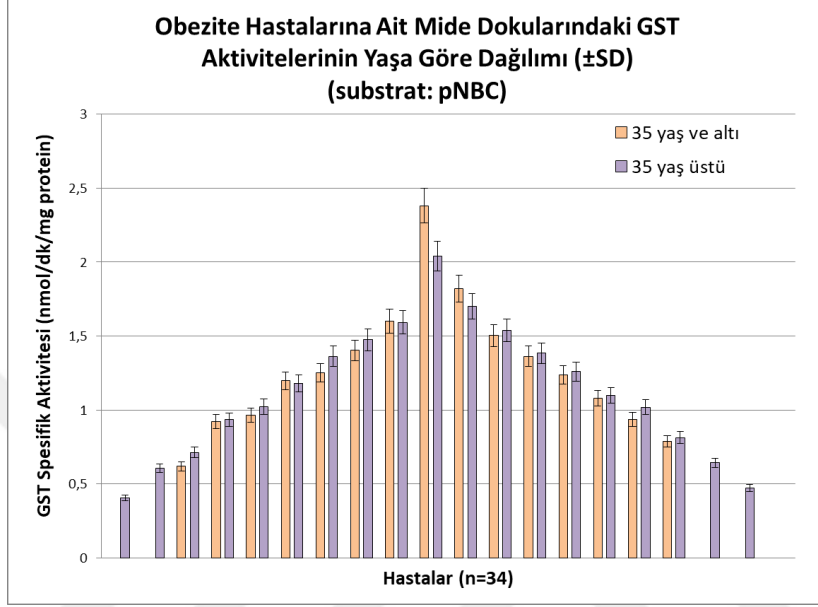
Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,391)  
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,263)

Çizelge 4.1. Yaş-Toplam GST aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları

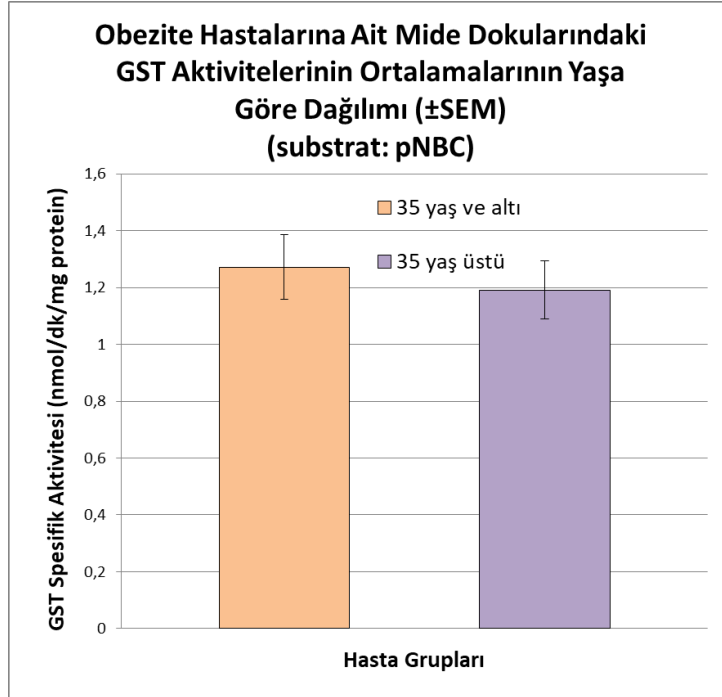
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
35 yaş ve altı	15	62,317	17,891	4,619
35 yaş üstü	20	67,120	14,903	3,332
Fark	-4,804			
t	-0,866 (33 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,393			
Tek uçlu P değeri	0,196			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,134$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,213$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ).

Hastaların her birine ait, pNBC substratına karşı ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesinin yaşa bağlı dağılımı Şekil 4.4’de ve her iki gruba ait GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamalarının yaşa göre dağılımı ise Şekil 4.5’de görülmektedir.



Şekil 4.4. GST izozim aktivitelerinin yaşa göre dağılımı (Substrat pNBC).



Şekil 4.5. GST izozim aktivitesi ortalamalarının yaşa göre dağılımı (Substrat: pNBC).

35 yaş ve altı hasta grubu için pNBC substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamaları  $1.272 \pm 0.114$  nm/dk/mg protein (n=15) olarak hesaplanırken, 35 yaş üstü grup için  $1.191 \pm 0.103$  nm/dk/mg protein (n=19) olarak hesaplandı. Deneysel hata olduğu veya örneğin bozulduğu varsayılan, bir hastaya ait veri ortalama hesaplamalarında kullanılmadı. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde 35 yaş ve altı gruba ait, pNBC substratı ile ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamasının 35 yaş üstü gruptan %7 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“35 yaş üstü” ve “35 yaş ve altı” hasta gruplarında pNBC substratı ile ölçülen GST izozim aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.2’de görüldüğü gibidir.

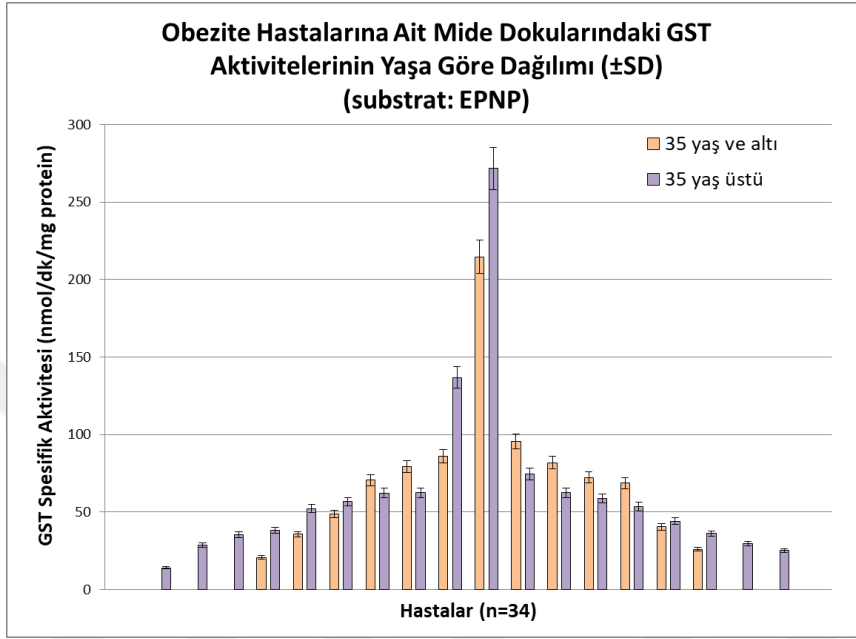
Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,556)  
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,673)

Çizelge 4.2. Yaş-GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: pNBC)

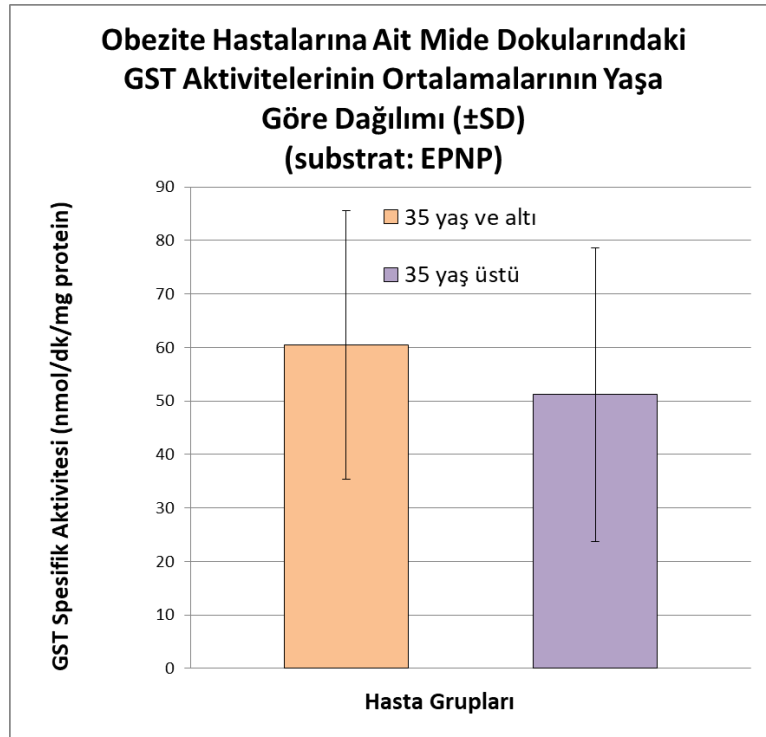
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
35 yaş ve altı	15	1,272	0,443	0,114
35 yaş üstü	19	1,191	0,447	0,103
Fark	0,153			
t	0,993 (32 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,328			
Tek uçlu P değeri	0,164			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,161$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,251$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).

Hastaların her birine ait, EPNP substratına karşı ölçülen GST izozimi spesifik aktivitelerinin yaşa bağlı dağılımı Şekil 4.6’da ve her iki gruba ait GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamalarının yaşa göre dağılımı ise Şekil 4.7’de görülmektedir.



Şekil 4.6. GST izozim aktivitelerinin yaşa göre dağılımı (Substrat:EPNP).



Şekil 4.7. GST izozim aktivitesi ortalamalarının yaşa göre dağılımı (Substrat: EPNP).

35 yaş ve altı hasta grubu için EPNP substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamaları  $60.429 \pm 25.09$  nm/dk/mg protein (n=12) olarak hesaplanırken, 35 yaş üstü grup için  $51.174 \pm 27.486$  nm/dk/mg protein (n=17) olarak hesaplandı. Deneysel hata olduğu veya örneklerin bozulduğu varsayılan, hastalara ait dört veri ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, hastalara ait iki veri ortalama hesaplamalarında kullanılmadı. Sonuçlar değerlendirildiğinde 35 yaş ve altı gruba ait, EPNP substratı ile ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamasının 35 yaş üstü gruptan %18 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“35 yaş üstü” ve “35 yaş ve altı” hasta gruplarında EPNP substratı ile ölçülen GST izozim aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.3’de görüldüğü gibidir.

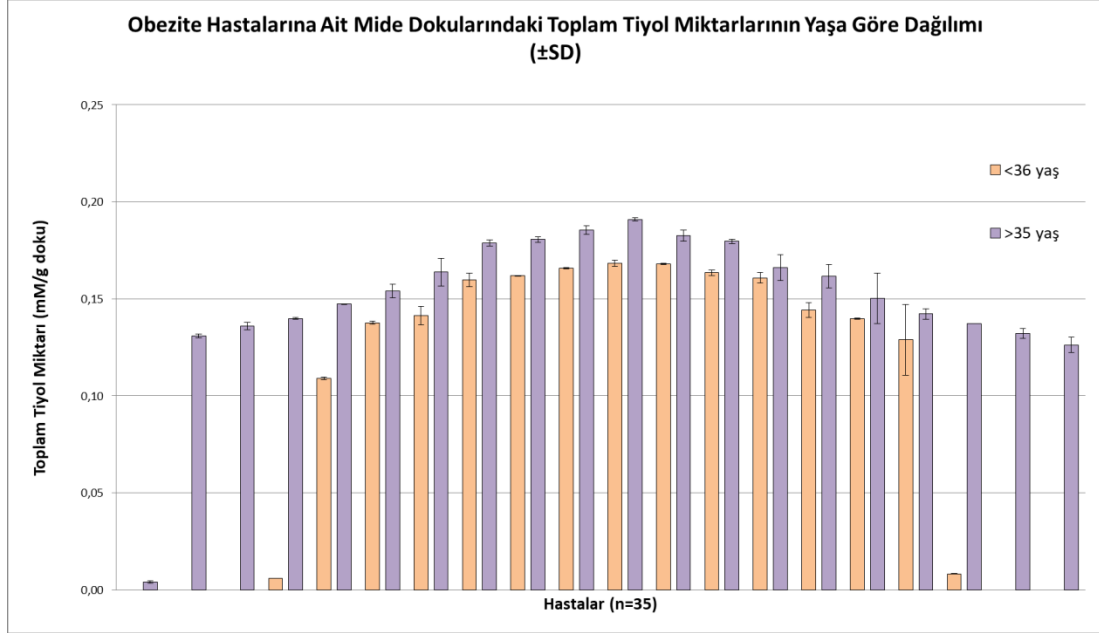
Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçemedi (P < 0,050)  
Mann-Whitney Sıra Toplam Testi

Çizelge 4.3. Yaş-GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: EPNP)

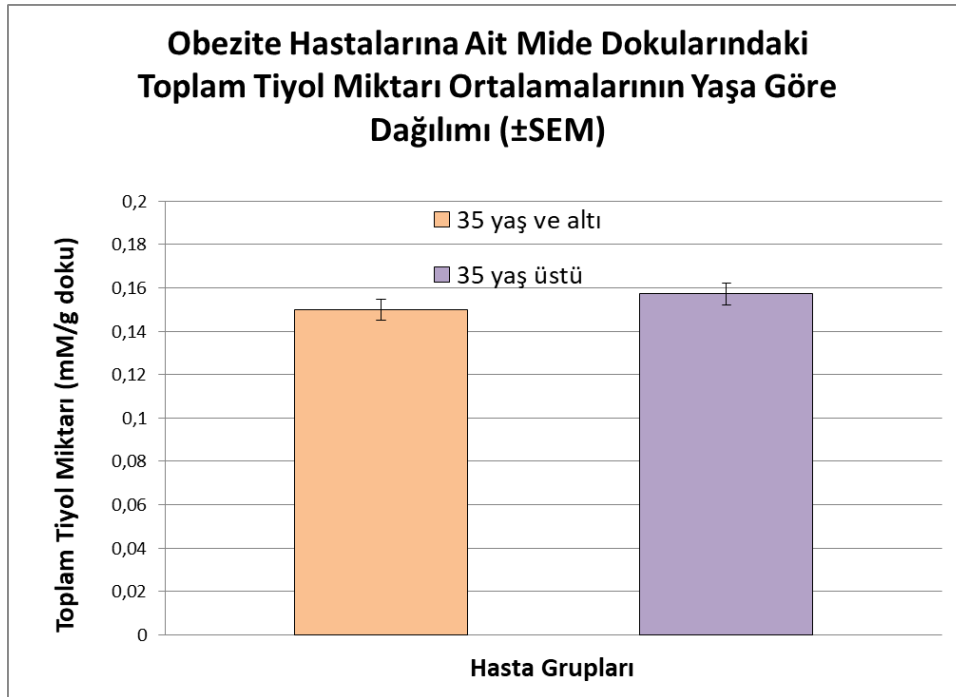
<b>Grup İsmi</b>	<b>N</b>	<b>Medyan</b>	<b>%25</b>	<b>%75</b>
35 yaş ve altı	12	69,563	36,809	81,126
35 yaş üstü	17	52,202	32,375	62,290
MW-U İstatistiği	72,000			
T	210,000			
P değeri	0,191			

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örnekleminin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (p>0,05).

Hastaların her birine ait toplam tiyol miktarının yaşa bağlı dağılımı Şekil 4.8’de, her iki gruba ait toplam tiyol miktarı ortalamalarının yaşa göre dağılımı ise Şekil 4.9’da görülmektedir.



Şekil 4.8. Toplam tiyol miktarının yaşa bağlı dağılımı.



Şekil 4.9. Toplam tiyol miktarı ortalamalarının yaşa bağlı değişimi.



35 yaş ve altı hasta grubu için toplam tiyol miktarı ortalamaları  $0.150 \pm 0.00485$  (n=13) mM/g doku hesaplanırken, 35 yaş üstü grup için  $0.157 \pm 0.00502$  mM/g doku (n=19) olarak hesaplandı. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, üç hastaya ait veriler ortalama hesaplamalarında kullanılmadı. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde 35 yaş üstü gruba ait toplam tiyol miktarının ortalamasının 35 yaş ve altı gruba göre %5 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“35 yaş üstü” ve “35 yaş ve altı” hasta gruplarında toplam tiyol miktarı için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.4’de görüldüğü gibidir.

Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,382)  
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,403)

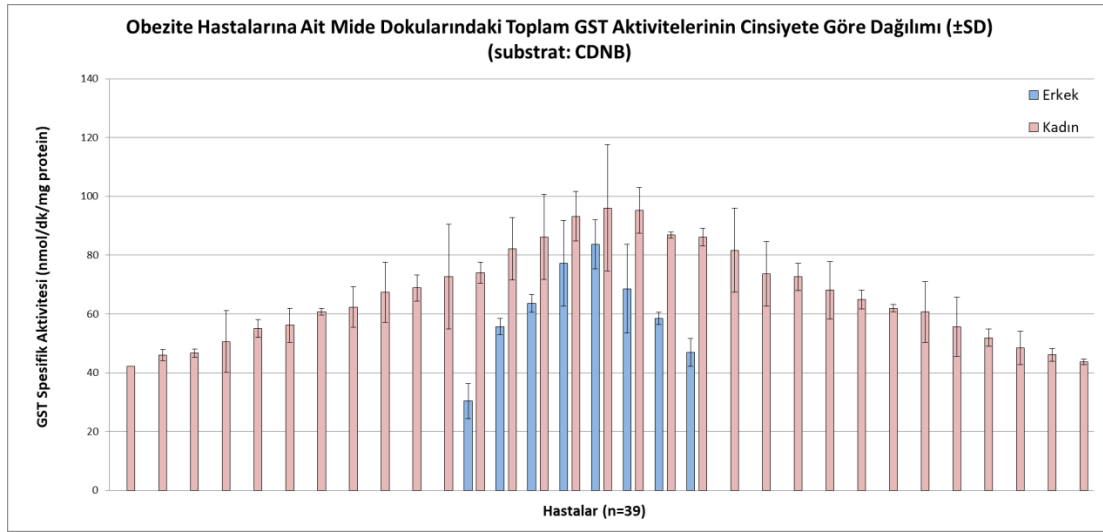
Çizelge 4.4. Yaş-Toplam tiyol miktarı istatistiksel analiz sonuçları

Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
35 yaş ve altı	13	0,150	0,0181	0,00485
35 yaş üstü	19	0,157	0,0212	0,00502
Fark	-0,00721			
t	-1,003 (30 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,324			
Tek uçlu P değeri	0,162			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,163$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,253$ (0,800'den küçüktür)				

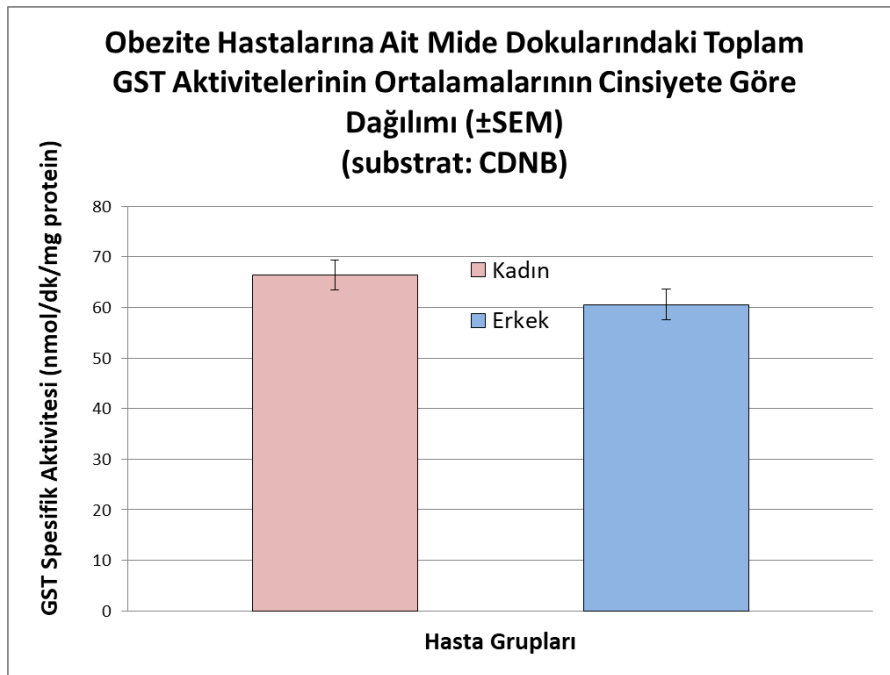
İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örnekleminin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ).

#### 4.1.2. Cinsiyetin GST enzim aktiviteleri ve toplam tiyol üzerine etkileri

39 hasta erkek ve kadın olarak gruplandırıldı. Hastaların her birine ait, CDNB substratına karşı ölçülen toplam GST spesifik aktivitelerinin cinsiyete bağlı dağılımı Şekil 4.10'da ve her iki gruba ait toplam GST spesifik aktivitesi ortalamalarının yaşa göre dağılımı Şekil 4.11'de görülmektedir.



Şekil 4.10. Toplam GST aktivitelerinin cinsiyete göre dağılımı (Substrat: CDNB).



Şekil 4.11. Toplam GST aktivitelerinin ortalamalarının cinsiyete göre dağılımı.

Kadın hasta grubu için toplam GST spesifik aktivitesi ortalamaları  $66.363 \pm 2.908$  nm/dk/mg protein (n=31) olarak hesaplanırken, erkek hasta grup için  $60.575 \pm 2.998$  nm/dk/mg protein (n=8) olarak hesaplandı. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde kadın hasta gruba ait toplam GST spesifik aktiviteleri ortalamasının erkek grubundan yaklaşık %10 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“Kadın” ve “Erkek” hasta gruplarında CDNB substratı ile ölçülen toplam GST aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.5’de görüldüğü gibidir.

Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,413)

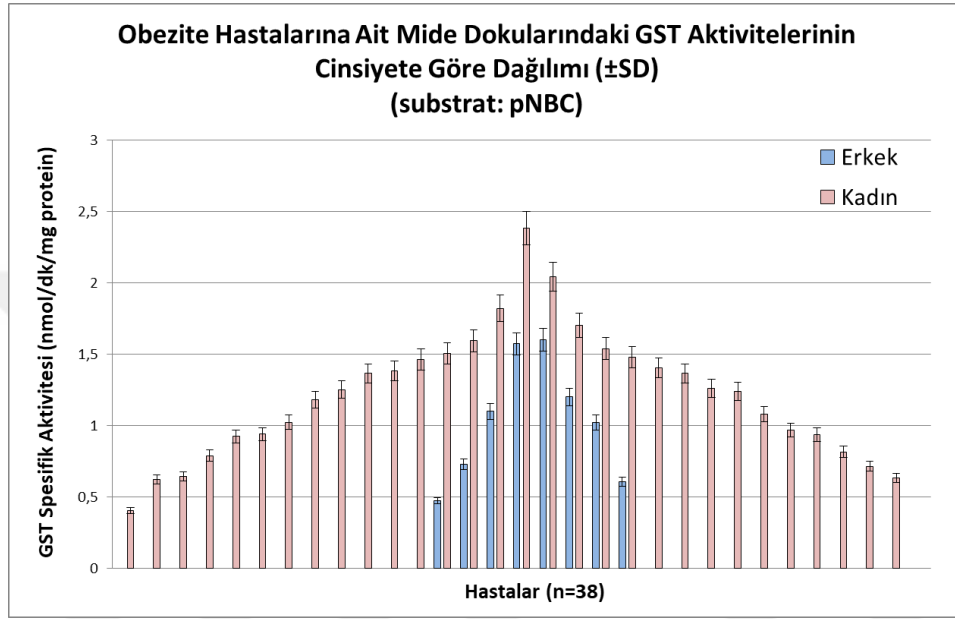
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,842)

Çizelge 4.5. Cinsiyet- Toplam GST aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları

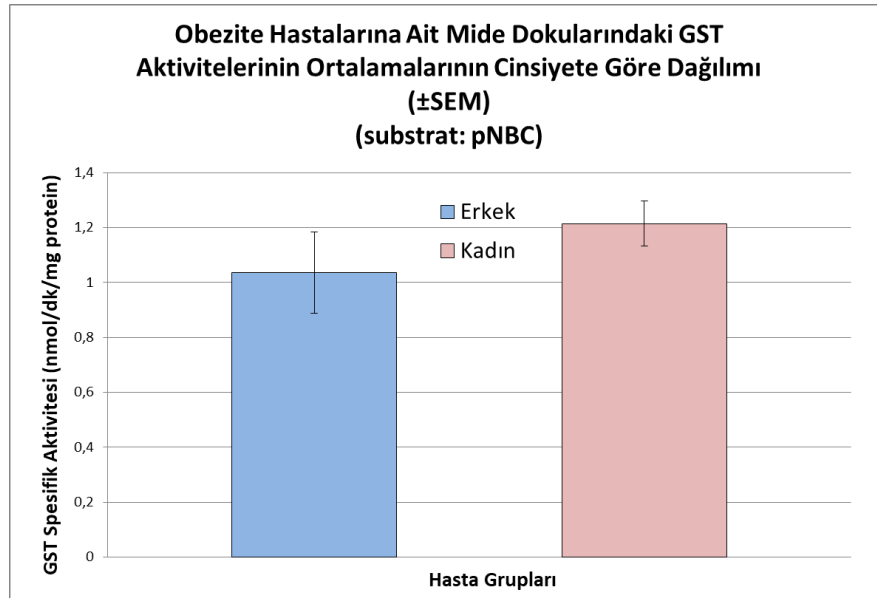
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
Kadın	31	66,363	16,190	2,908
Erkek	8	60,575	16,964	2,998
Fark	5,788			
t	0,893 (37 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,377			
Tek uçlu P değeri	0,189			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,140$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,221$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).

Hastaların herbirine ait, pNBC substratına karşı ölçülen GST izozimi spesifik aktivitelerinin cinsiyete bağlı dağılımı Şekil 4.12’de ve her iki gruba ait GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamalarının cinsiyete göre dağılımı ise Şekil 4.13’de görülmektedir.



Şekil 4.12. GST izozim aktivitelerinin cinsiyete göre dağılımı (Substrat: pNBC).



Şekil 4.13. GST izozim aktivitesi ortalamalarının cinsiyete göre dağılımı (Substrat: pNBC).

Kadın hasta grubu için pNBC substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamaları  $1.214 \pm 0.082$  nm/dk/mg protein (n=30) olarak hesaplanırken, erkek hasta grubu için  $1.037 \pm 0.148$  nm/dk/mg protein (n=8) olarak hesaplandı. Deneysel hata olduğu veya örneğin bozulduğu varsayılan, bir hastaya ait veri ortalama hesaplamalarında kullanılmadı. Sonuçlar değerlendirildiğinde kadın hasta grubuna ait, pNBC substratı ile ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamasının erkek hasta grubuna yaklaşık %17 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“Kadın” ve “Erkek” hasta gruplarında pNBC substratı ile ölçülen GST izozim aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.6’da görüldüğü gibidir.

Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,635)

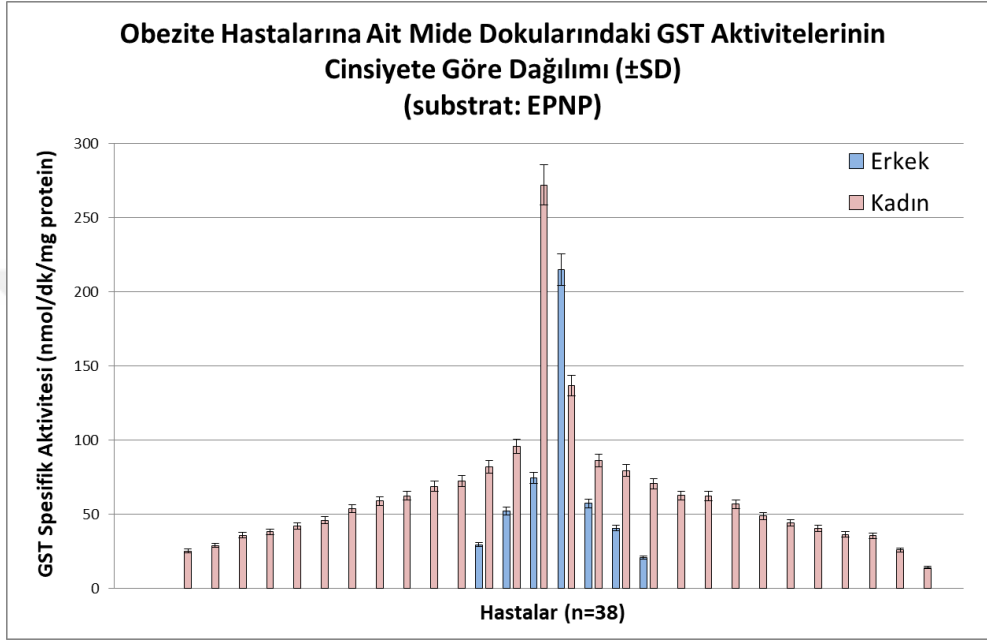
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,815)

Çizelge 4.6. Cinsiyet- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: pNBC)

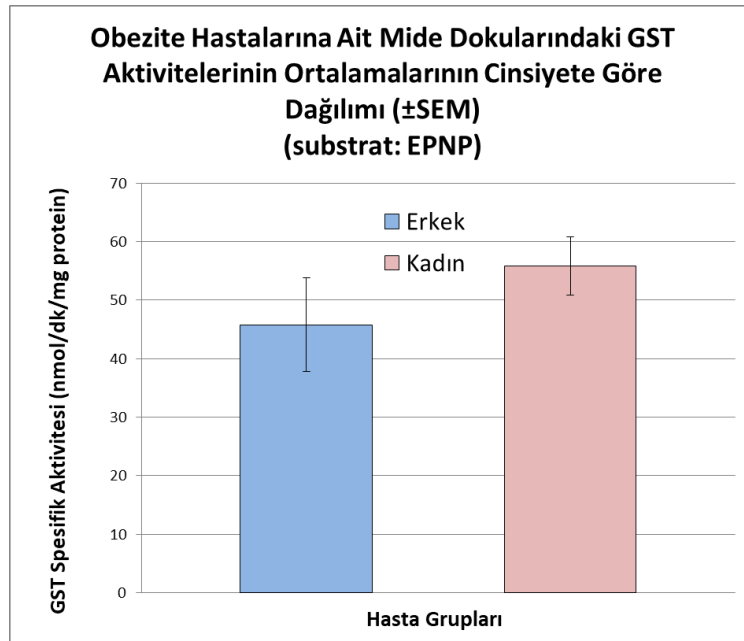
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
Kadın	30	1,214	0,449	0,0820
Erkek	8	1,037	0,420	0,148
Fark	0,177			
t	1,005 (36 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,322			
Tek uçlu P değeri	0,161			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,165$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,255$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ).

Hastaların her birine ait EPNP substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitelerinin cinsiyete bağlı dağılımı Şekil 4.14’de ve her iki gruba ait GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamalarının cinsiyete göre dağılımı ise Şekil 4.15’de görülmektedir.



Şekil 4.14. GST izozim aktivitelerinin cinsiyete göre dağılımı (substrat: EPNP).



Şekil 4.15. GST izozim aktivitesi ortalamalarının cinsiyete göre dağılımı (substrat: EPNP).

Kadın hasta grubu için EPNP substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamaları  $55.782 \pm 5.011$  nm/dk/mg protein (n=27) olarak hesaplanırken, erkek hasta grubu için  $45.775 \pm 8.011$  nm/dk/mg protein (n=6) olarak hesaplandı. Deneysel hata olduğu veya örneklerin bozulduğu varsayılan, hastalara ait dört veri ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, hastalara ait iki veri ortalama hesaplamalarında kullanılmadı. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde kadın hasta grubuna ait EPNP substratı ile ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamasının erkek hasta grubundan yaklaşık % 22 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“Kadın” ve “Erkek” hasta gruplarında EPNP substratı ile ölçülen GST izozim aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.7’de görüldüğü gibidir.

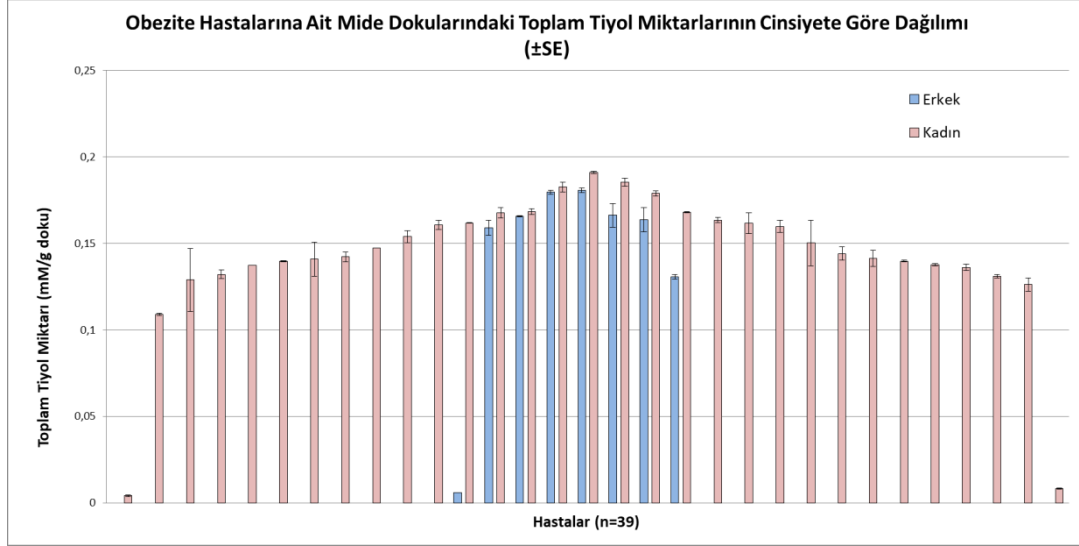
Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,070)  
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,560)

Çizelge 4.7. Cinsiyet- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: EPNP)

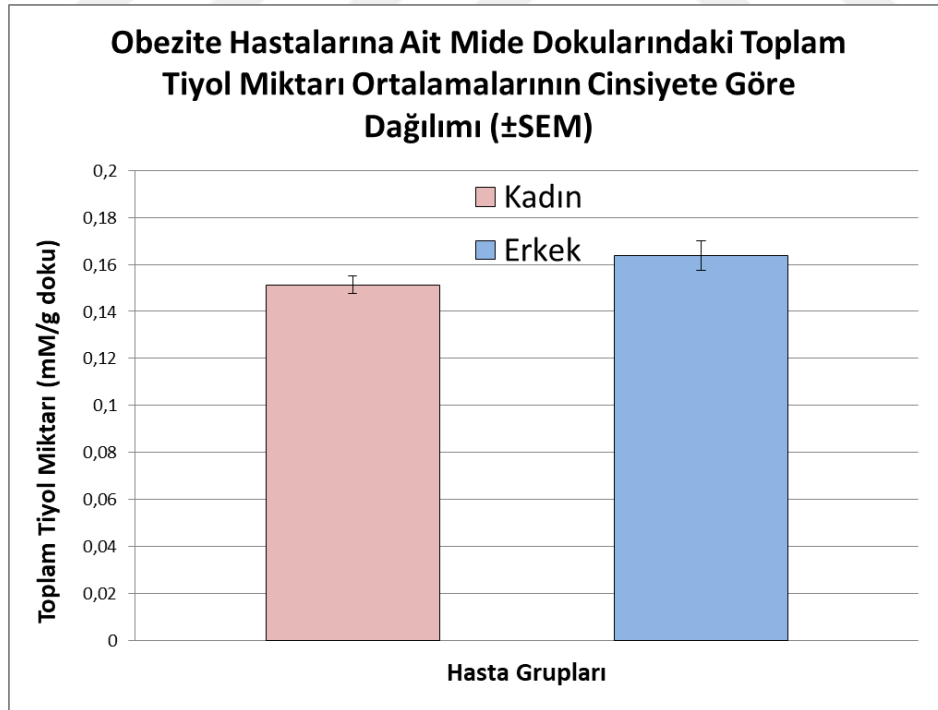
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
Kadın	27	55,782	26,040	5,011
Erkek	6	45,775	19,623	8,011
Fark	10,007			
t	0,883 (31 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,384			
Tek uçlu P değeri	0,192			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,137$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,217$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ).

Hastaların her birine ait toplam tiyol miktarlarının cinsiyete bağlı dağılımı Şekil 4.16'da, her iki gruba ait toplam tiyol miktarı ortalamalarının cinsiyete göre dağılımı ise Şekil 4.17'de görülmektedir.



Şekil 4.16. Toplam tiyol miktarının cinsiyete bağlı dağılımı



Şekil 4.17. Toplam tiyol miktarı ortalamalarının cinsiyete bağlı dağılımı.



Kadın hasta grubu için toplam tiyol miktarı ortalamaları  $0.151 \pm 0,00365$  mM/g doku (n=29) olarak hesaplanırken, erkek hasta grubu için  $0.164 \pm 0,00630$  mM/g doku (n=7) olarak hesaplandı. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, üç hastaya ait veriler ortalama hesaplamalarında kullanılmadı. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde erkek hasta grubuna ait toplam tiyol miktarı ortalamasının kadın hasta grubundan %7 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“Kadın” ve “Erkek” hasta gruplarında toplam tiyol miktarı için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.8’de görüldüğü gibidir.

Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,958)  
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,461)

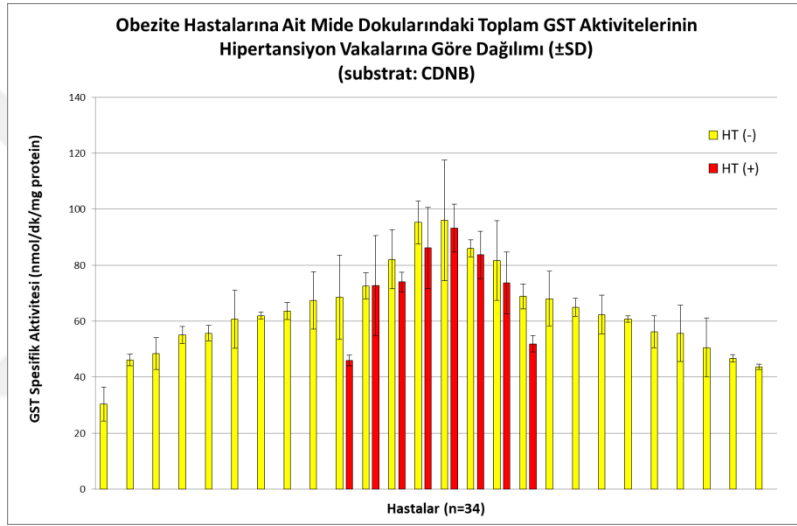
Çizelge 4.8. Cinsiyet-Toplam tiyol miktarı istatistiksel analiz sonuçları

Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
Erkek	7	0,164	0,0167	0,00630
Kadın	29	0,151	0,0196	0,00365
Fark	0,0124			
t	1,534 (34 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,134			
Tek uçlu P değeri	0,0671			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,320$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,444$ (0,800'den küçüktür)				

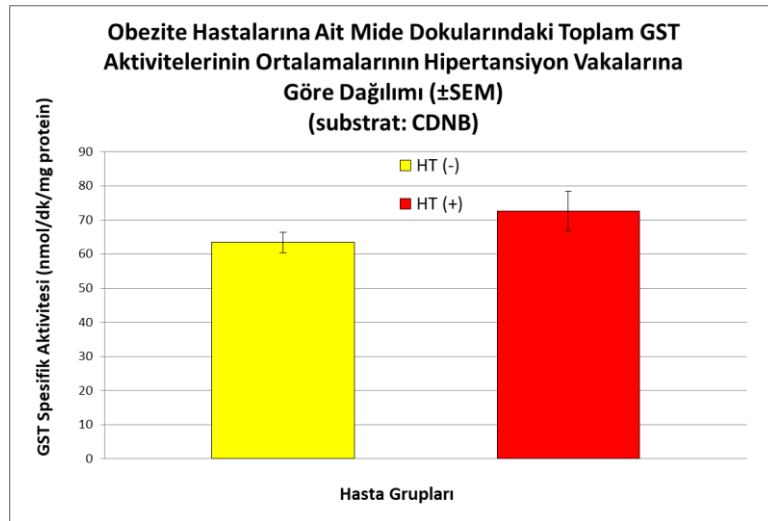
İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örnekleminin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).

### 4.1.3. Hipertansiyonun GST enzim aktiviteleri ve toplam tiyol miktarı üzerine etkileri

Anketlerden edinilen bilgiler ile hipertansiyonu olduğu bildirilen 8 hasta “HT (+)” olarak hipertansiyonu olmayan 26 hasta”HT (-)” olarak gruplandırıldı. Hastaların her birine ait, CDNB substratına karşı ölçülen toplam GST spesifik aktivitesinin hipertansiyon vakasına bağlı dağılımı Şekil 4.18’de, her iki gruba ait toplam GST spesifik aktivitesi ortalamalarının hipertansiyon vakalarına göre dağılımı Şekil 4.19’da görülmektedir.



Şekil 4.18. Toplam GST aktivitelerinin hipertansiyon vakalarına göre dağılımı (Substrat: CDNB).



Şekil 4.19. Toplam GST aktivite ortalamalarının hipertansiyon vakalarına göre dağılımı.

Hipertansiyonu olmayan obez hasta grubu için toplam GST spesifik aktivitesi ortalamaları  $63.425 \pm 3.080$  nm/dk/mg protein (n=26) olarak hesaplanırken, hipertansiyonu olan obez hasta grubu için  $72.650 \pm 5.781$  nm/dk/mg protein (n=8) olarak hesaplandı. Sonuçlar değerlendirildiğinde hipertansiyonu olmayan obez hastalara kıyasla hipertansiyonu olan obez hastalara ait, CDNB substratına karşı ölçülen toplam GST spesifik aktivitesi ortalamalarının yaklaşık % 15 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“HT(-)” ve (HT(+))” hasta gruplarında CDNB substratı ile ölçülen toplam GST aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.9’da görüldüğü gibidir.

Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,904)

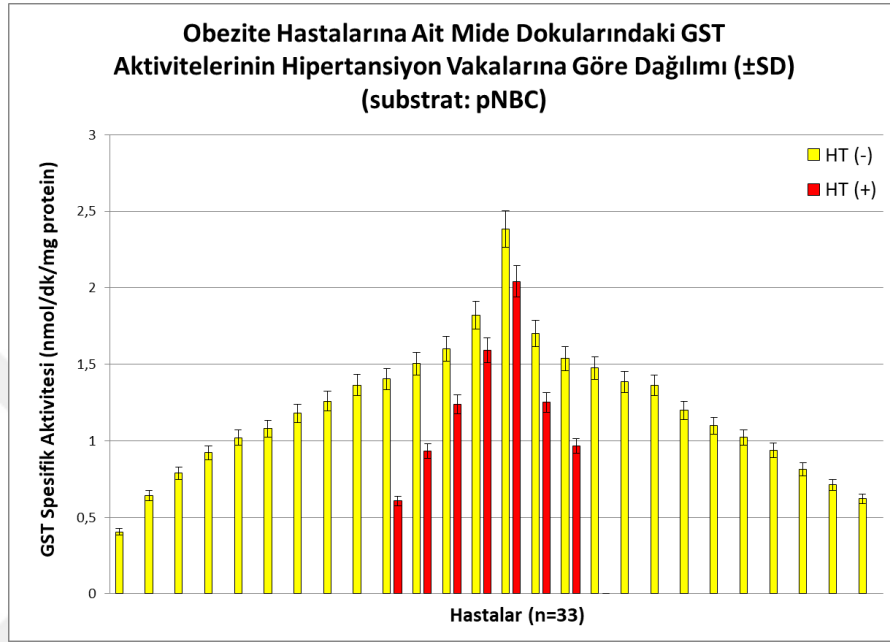
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,970)

Çizelge 4.9. Hipertansiyon-Toplam GST aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları

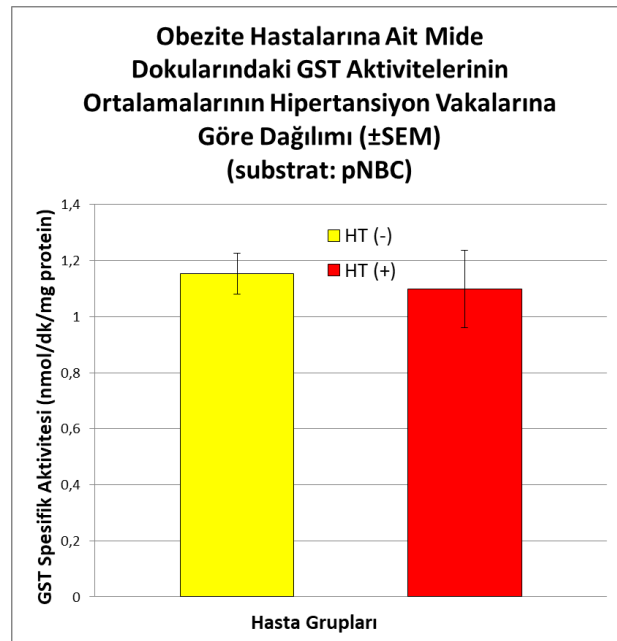
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
HT(-)	26	63,425	15,706	3,080
HT(+)	8	72,650	16,353	5,781
Fark	-9,225			
t	-1,440 (32 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,160			
Tek uçlu P değeri	0,0799			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,287$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,407$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örnekleminin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ).

Hastaların her birine ait pNBC substratına karşı ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesinin hipertansiyon vakasına bağlı dağılımı Şekil 4.20’de ve her iki gruba ait GST izozimi spesifik aktivitesinin ortalamalarının hipertansiyon vakalarına göre dağılımı ise Şekil 4.21’de görülmektedir.



Şekil 4.20. GST izozim aktivitesinin hipertansiyon vakalarına göre dağılımı (Substrat pNBC).



Şekil 4.21. GST izozim aktivitesi ortalamalarının hipertansiyon vakalarına göre dağılımı (Substrat pNBC).

Hipertansiyonu olmayan obez hasta grubu için pNBC substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamaları  $1.154 \pm 0.0733$  nm/dk/mg protein (n=25) olarak hesaplanırken, hipertansiyonu olan obez hasta grubu için  $1.098 \pm 0.138$  nm/dk/mg protein (n=6) olarak hesaplandı. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, hastalara ait iki veri ve örneğin bozuk olduğu veya deneysel hata içerdiği düşünülen, hastaya ait bir veri ortalama hesaplamalarında kullanılmadı. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde hipertansiyonu olmayan obez hastalarda, hipertansiyonlu obez hastalara kıyasla pNBC substratı ile ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamalarının yaklaşık % 5 daha fazla olduğu belirlenmiştir.

### İstatistiksel Analizler

“HT(+)” ve “HT(-)” hasta gruplarında pNBC substratı ile ölçülen GST izozim aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.10’da görülmektedir.

Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,909)

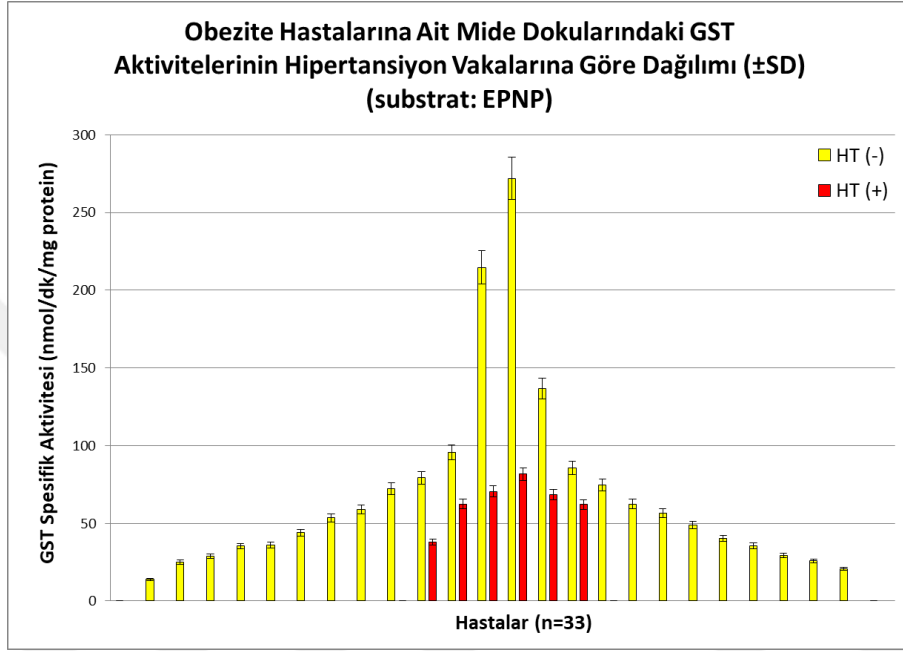
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,662)

Çizelge 4.10. Hipertansiyon- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: pNBC)

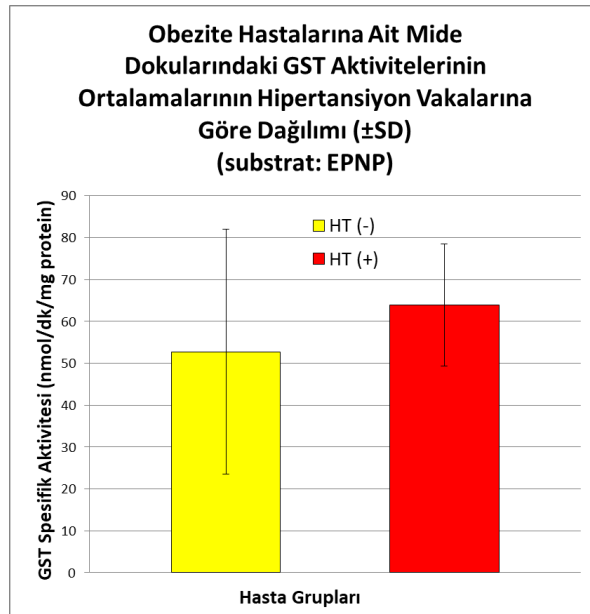
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
HT(-)	25	1,154	0,367	0,0733
HT(+)	6	1,098	0,339	0,138
Fark	0,0563			
t	0,342 (29 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,735			
Tek uçlu P değeri	0,367			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,063$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,095$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).

Hastaların her birine ait EPNP substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitesinin hipertansiyon vakalarına bağlı dağılımı Şekil 4.22’de, her iki gruba ait GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamalarının hipertansiyon vakalarına göre dağılımı ise Şekil 4.23’de görülmektedir.



Şekil 4.22. GST izozim aktivitelerinin hipertansiyon vakalarına göre dağılımı (Substrat: EPNP).



Şekil 4.23. GST izozim aktivitesi ortalamalarının hipertansiyon vakalarına göre dağılımı (Substrat: EPNP).

Hipertansiyonu olan hasta grubu için EPNP substratı ile ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamaları  $63.916 \pm 14.455$  nm/dk/mg protein (n=6) olarak, hipertansiyon olgusu görülmeyen hasta grubu için  $52.701 \pm 29.240$  nm/dk/mg protein (n=22) olarak hesaplandı. Deneysel hata olduğu veya örneklerin bozulduğu varsayılan, hastalara ait dört veri ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, hastalara ait iki veri ortalama hesaplamalarında kullanılmadı. Sonuçlar değerlendirildiğinde hipertansiyon olgusu görülmeyen hasta grubuna ait GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamasına kıyasla hipertansiyon olgusu görülen hasta grubunda yaklaşık %21 oranında bir artış olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“HT(+)” ve “HT(-)” hasta gruplarında EPNP substratı ile ölçülen GST izozim aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.11’de görülmektedir.

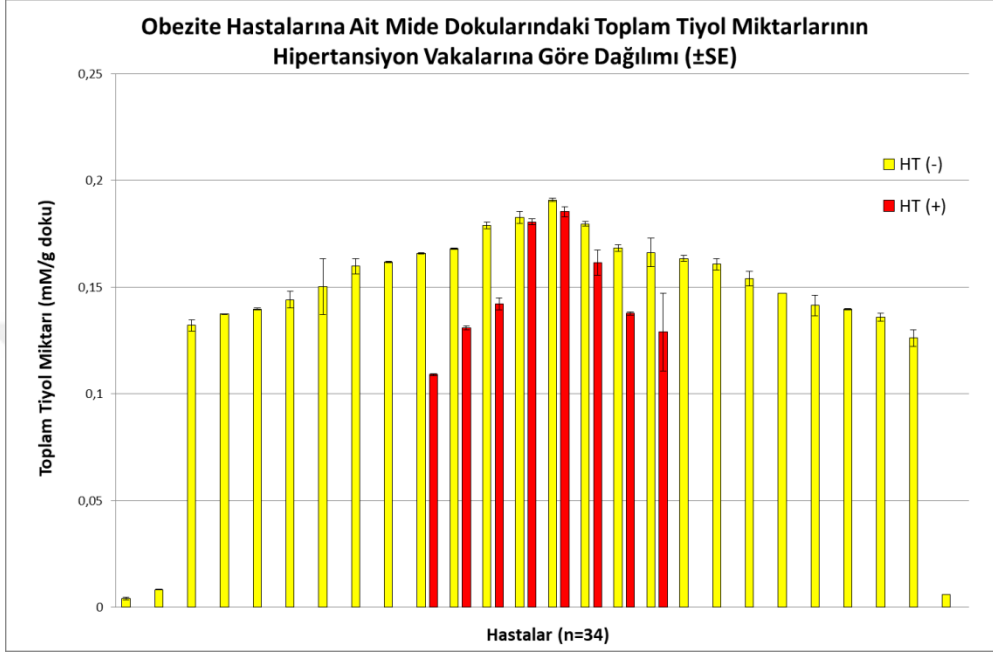
Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçemedi (P < 0,050)  
Mann-Whitney Sıra Toplam Testi

Çizelge 4.11. Hipertansiyon- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: EPNP)

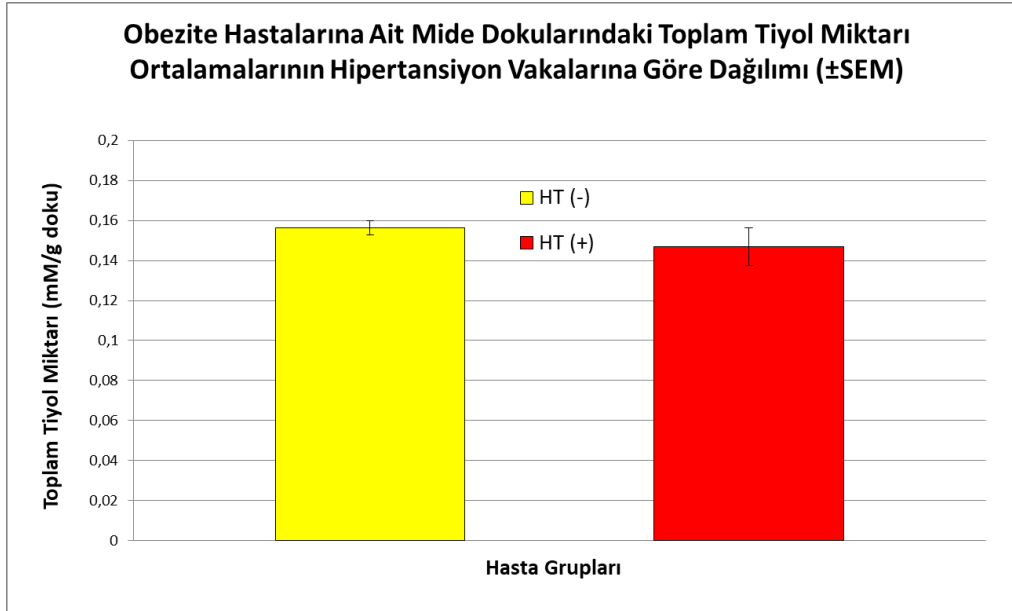
Grup İsmi	N	Medyan	%25	%75
HT(-)	22	46,405	29,221	72,845
HT(+)	6	65,490	56,169	73,332
MW-U İstatistiği	41,000			
T	112,000			
P değeri	0,170			

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örnekleminin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (p>0,05).

Hastaların her birine ait toplam tiyol miktarının hipertansiyon vakasına bağlı dağılımı Şekil 4.24’de ve toplam tiyol miktarı ortalamalarının hipertansiyon vakalarına göre dağılımı ise Şekil 4.25’de görülmektedir.



Şekil 4.24. Toplam tiyol miktarının hipertansiyon vakalarına bağlı dağılımı.



Şekil 4.25. Toplam tiyol miktarı ortalamalarının hipertansiyon vakalarına bağlı dağılımı.



Hipertansiyonu olmayan obez hasta grubu için total tiyol miktarı ortalamaları  $0.156 \pm 0.00368$  mM/g doku (n=23) olarak hesaplanırken, hipertansiyonu olan obez hasta grubu için  $0.147 \pm 0.00941$  mM/g doku (n=8) olarak hesaplandı. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, üç hastaya ait veriler ortalama hesaplamalarında kullanılmadı. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde hipertansiyonu olmayan obez hastalarda, hipertansiyonlu obez hastalara kıyasla toplam tiyol miktarı ortalamalarının yaklaşık % 6 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“HT (+)” ve “HT(-)” hasta gruplarında toplam tiyol miktarı için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.12’de görüldüğü gibidir.

Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,580)

Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,257)

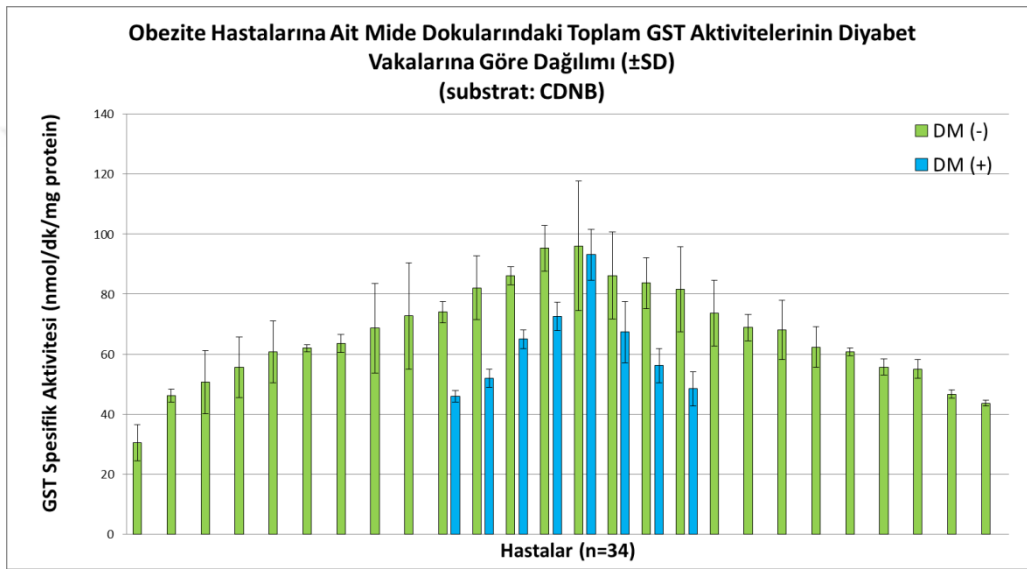
Çizelge 4.12. Hipertansiyon-Toplam tiyol miktarları istatistiksel analiz sonuçları

Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
HT(-)	23	0,156	0,0176	0,00368
HT(+)	8	0,147	0,0266	0,00941
Fark	0,00924			
t	1,117 (29 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,273			
Tek uçlu P değeri	0,137			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,191$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,290$ (0,800'den küçüktür)				

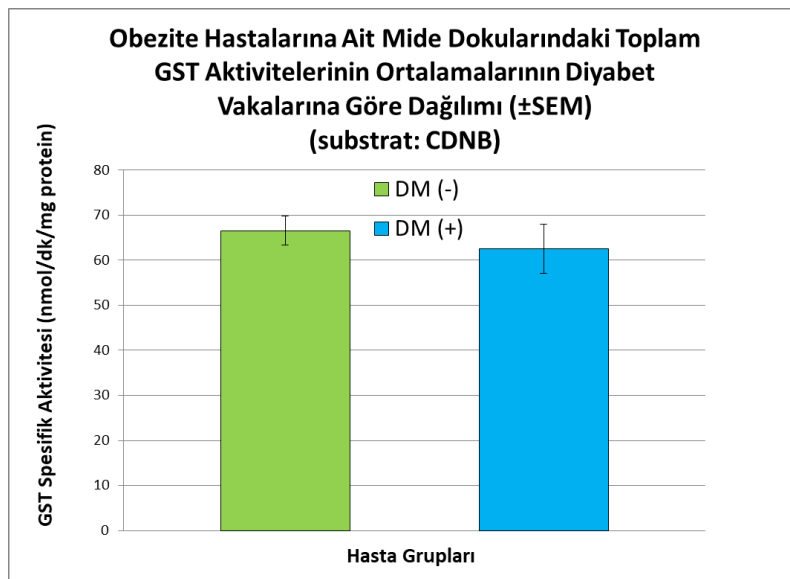
İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ).

#### 4.1.4. Diyabetin GST enzim aktiviteleri ve toplam tiyol miktarı üzerine etkileri

Anketlerden edinilen bilgiler ile diyabet hastası olduğu bildirilen 8 hasta “DM (+)” olarak diyabeti olmayan 26 hasta “DM (-)” olarak gruplandırıldı. Hastaların her birine ait, CDNB substratına karşı ölçülen toplam GST spesifik aktivitesinin diyabet vakasına bağlı dağılımı Şekil 4.26’da, her iki gruba ait toplam GST spesifik aktivitesi ortalamalarının diyabet vakalarına göre dağılımı Şekil 4.27’de görülmektedir.



Şekil 4.26. Toplam GST aktivitelerinin diyabet vakalarına göre dağılımı (Substrat: CDNB).



Şekil 4.27. Toplam GST aktivite ortalamalarının diyabet vakalarına göre dağılımı.

Diyabetik obez hasta grubu için CDNB substratına karşı okunan toplam GST spesifik aktivitesi ortalamaları  $62.563 \pm 5.509$  nm/dk/mg protein (n=8) olarak hesaplanırken, diyabetik olmayan obez hasta grubu için  $66.529 \pm 3.226$  nm/dk/mg protein (n=26) olarak hesaplandı. Sonuçlar değerlendirildiğinde diyabetik olmayan obez hastalarında CDNB substratına karşı okunan toplam GST spesifik aktivitesi ortalamalarının, diyabetik obez hastalarına kıyasla yaklaşık %6 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“DM(-)” ve “DM(+)” hasta gruplarında CDNB substratı ile ölçülen toplam GST aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.13’de görüldüğü gibidir.

Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,812)

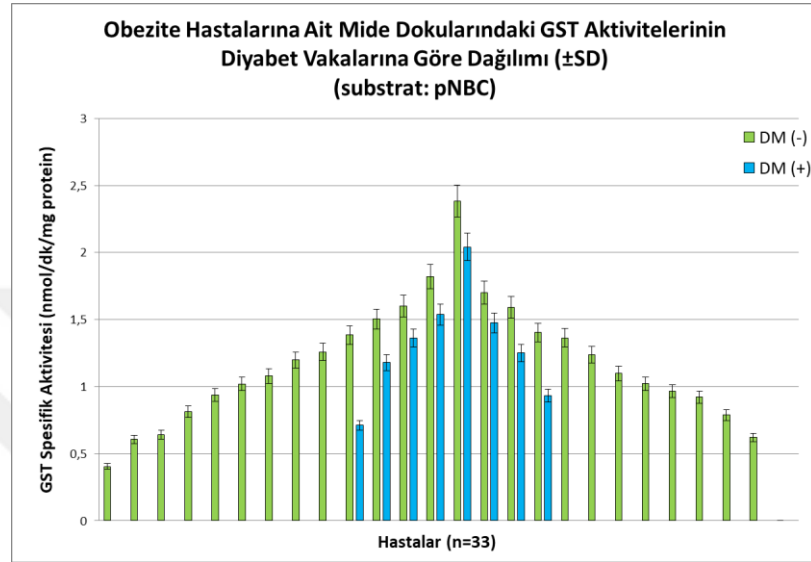
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,743)

Çizelge 4.13. Diyabet-Toplam GST aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları

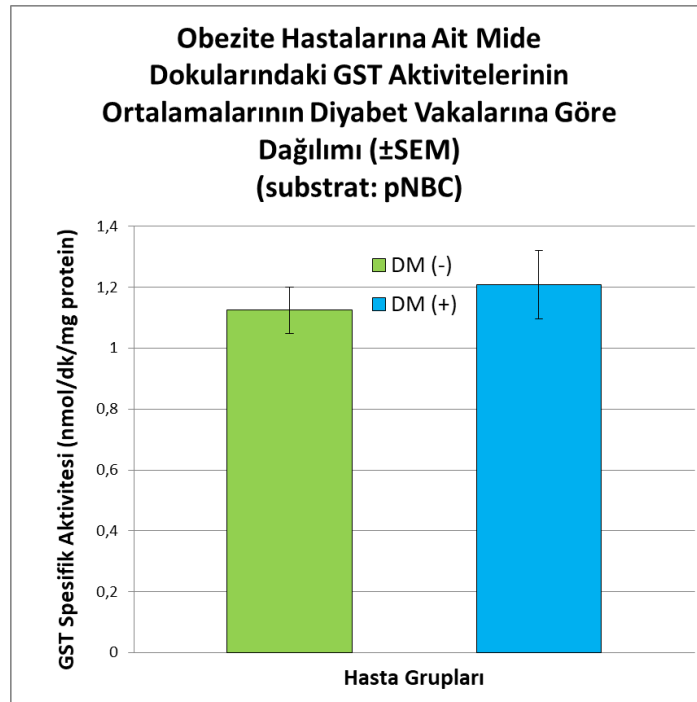
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
DM(-)	26	66,529	16,448	3,226
DM(+)	8	62,563	15,581	5,509
Fark	3,967			
t	0,603 (32 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,551			
Tek uçlu P değeri	0,275			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,090$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,146$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ).

Hastaların her birine ait pNBC substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitelerinin diyabet vakasına bağlı dağılımı Şekil 4.28’de, her iki gruba ait GST izozimi spesifik aktivitesimortalamalarının diyabet vakalarına göre dağılımı ise Şekil 4.29’da görülmektedir.



Şekil 4.28. GST izozim aktivitelerinin diyabet vakalarına göre dağılımı (Substrat: pNBC).



Şekil 4.29. GST izozim aktivitesi ortalamalarının diyabet vakalarına göre dağılımı (Substrat: pNBC).

Diyabetik obez hasta grubu için pNBC substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamaları  $1.208 \pm 0.112$  nm/dk/mg protein (n=7) olarak hesaplanırken, diyabetik olmayan obez hasta grubu için  $1.124 \pm 0.0767$  nm/dk/mg protein (n=24) olarak hesaplandı. Deneysel hata içerdiği ya da örneği bozulduğu varsayılan, bir hastaya ait veri ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, iki hastaya ait veriler ortalama hesaplamada kullanılmadı. Sonuçlar değerlendirildiğinde, diyabetik obez hastalarında diyabetik olmayan obez hastalarına kıyasla pNBC substratı ile ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamasının %7 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“DM(-)” ve “DM(+)” hasta gruplarında pNBC substratı ile ölçülen GST izozim aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.14’de görüldüğü gibidir.

Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,940)

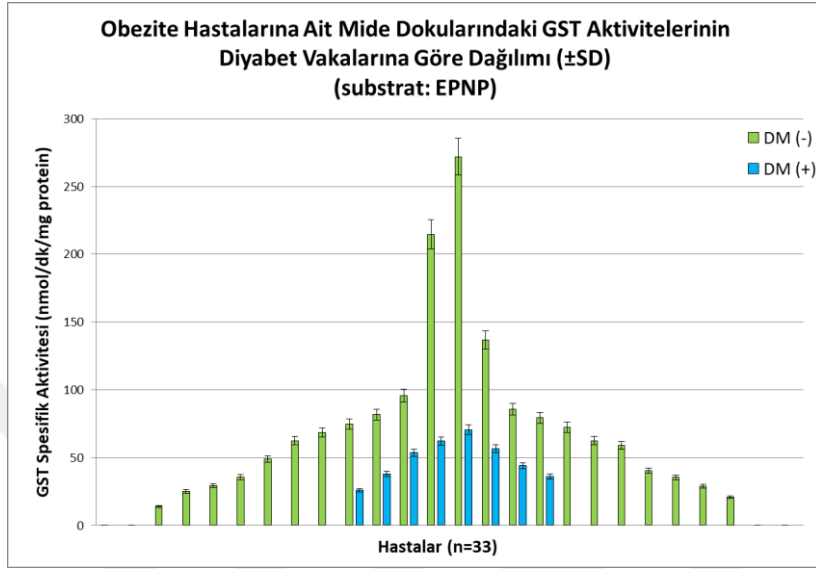
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,614)

Çizelge 4.14. Diyabet- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: pNBC)

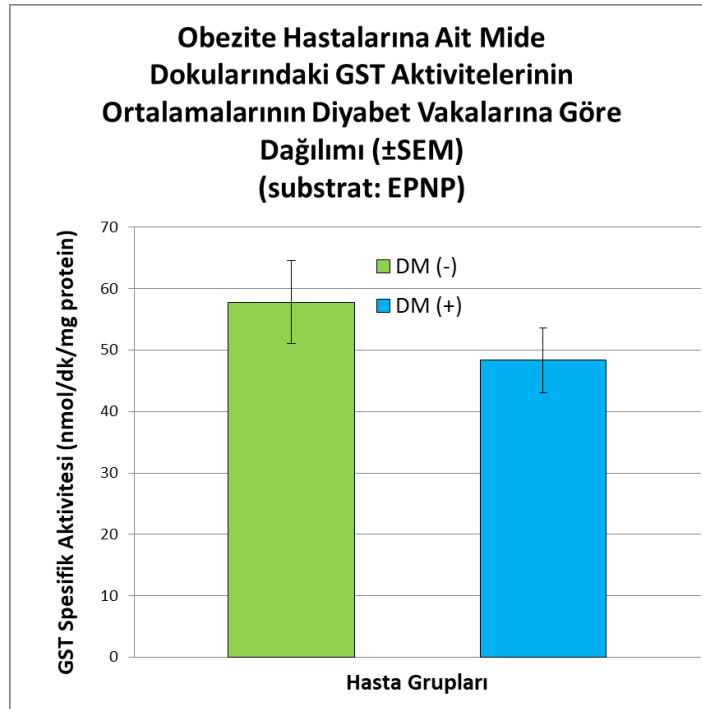
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
DM(-)	24	1,124	0,376	0,0767
DM(+)	7	1,208	0,296	0,112
Fark	-0,0832			
t	-0,537 (29 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,595			
Tek uçlu P değeri	0,298			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,081$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,131$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).

Hastaların her birine ait EPNP substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitelerinin diyabet vakasına göre dağılımı Şekil 4.30'da, her iki gruba ait GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamalarının dağılımı ise Şekil 4.31'de görülmektedir.



Şekil 4.30. GST izozim aktivitelerinin diyabet vakalarına göre dağılımı (Substrat: EPNP).



Şekil 4.31. GST izozim aktivitesi ortalamalarının diyabet vakalarına göre dağılımı (Substrat: EPNP).

Diyabetik obez hasta grubu için EPNP substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamaları  $48.364 \pm 5.272$  nm/dk/mg protein (n=8) olarak hesaplanırken, diyabetik olmayan obez hasta grubu için  $57.801 \pm 6.794$  nm/dk/mg protein (n=20) olarak hesaplandı. Deneysel hata içerdiği ya da örneği bozulduğu varsayılan, 4 hastaya ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, iki hastaya ait veriler ortalama hesaplamada kullanılmadı. Sonuçlar değerlendirildiğinde, diyabeti olmayan obez hasta grubuna ait, EPNP substratı ile ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamasının diyabetik obez hasta grubuna kıyasla yaklaşık %20 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“DM(-)” ve “DM(+)” hasta gruplarında EPNP substratı ile ölçülen GST izozim aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.15’de görüldüğü gibidir.

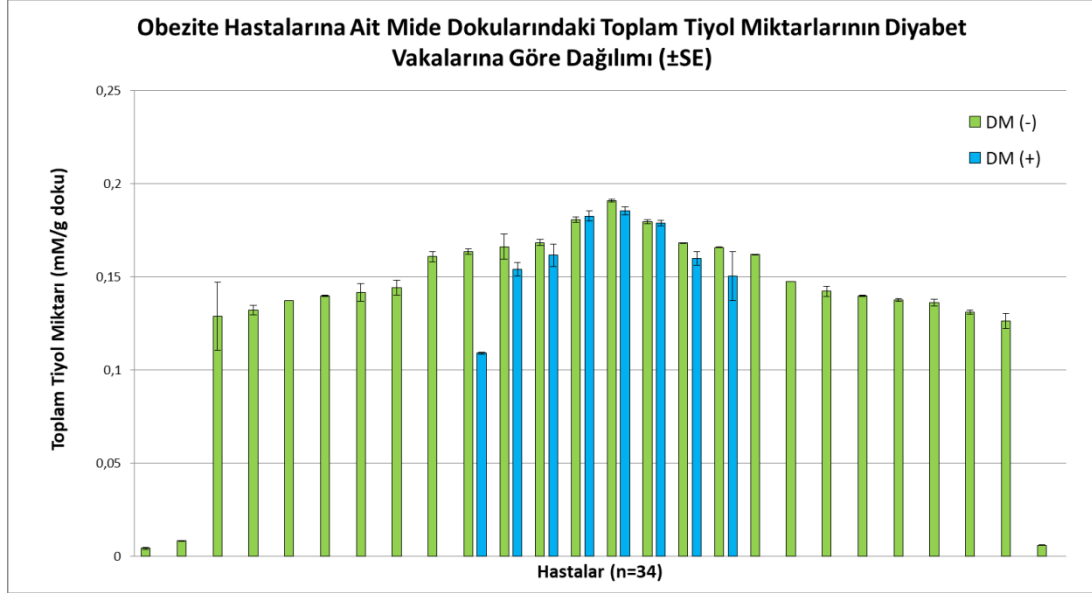
Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,252)  
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,084)

Çizelge 4.15. Diyabet-GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: EPNP)

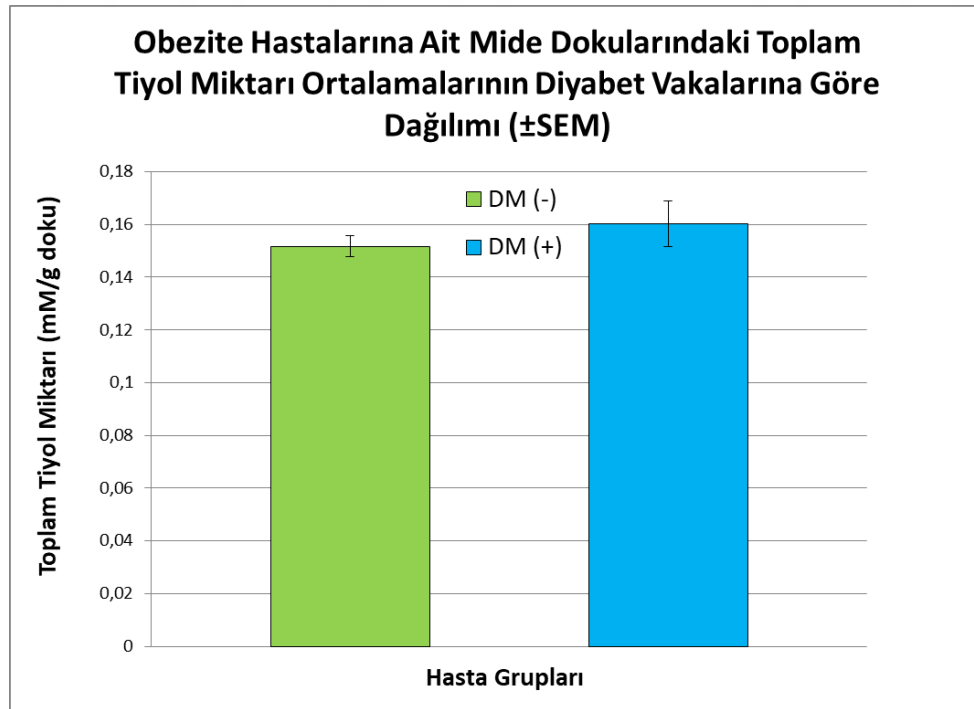
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
DM(-)	20	57,801	30,385	6,794
DM(+)	8	48,364	14,912	5,272
Fark	9,437			
t	0,832 (26 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,413			
Tek uçlu P değeri	0,206			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,126$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,202$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ).

Hastaların her birine ait total tiyol miktarlarının diyabet vakasına göre dağılımları Şekil 4.32’de, her iki gruba ait toplam tiyol miktarı ortalamalarının diyabet vakalarına göre dağılımı Şekil 4.33’de görülmektedir.



Şekil 4.32. Toplam tiyol miktarının diyabet vakalarına bağlı dağılımı.



Şekil 4.33. Toplam tiyol miktarı ortalamalarının diyabet vakalarına bağlı dağılımı.



Diyabeti olmayan obez hasta grubu için toplam tiyol miktarı ortalamaları  $0.152 \pm 0.00388$  mM/g doku olarak hesaplanırken, diyabetik obez hasta grubu için  $0.160 \pm 0.00871$  mM/g doku olarak hesaplandı. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, üç hastaya ait veriler ortalama hesaplamalarında kullanılmadı. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde diyabeti olan obez hastalarda, diyabeti olmayan obez hastalara kıyasla total tiyol miktarı ortalamasının % 5 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

“DM(-)” ve “DM(+)” hasta gruplarında toplam tiyol miktarları için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.16’da görüldüğü gibidir.

Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,504)  
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,822)

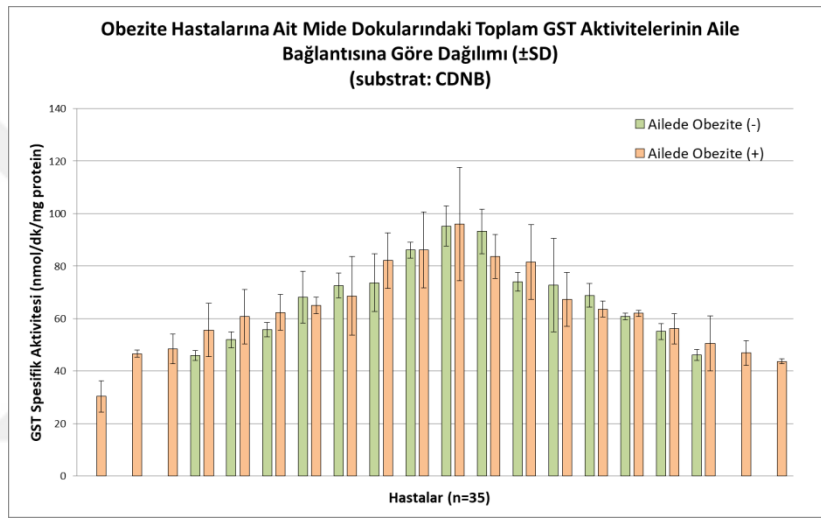
Çizelge 4.16. Diyabet-Toplam tiyol miktarı istatistiksel analiz sonuçları

Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
DM(-)	23	0,152	0,0186	0,00388
DM(+)	8	0,160	0,0246	0,00871
Fark	-0,00847			
t	-1,020 (29 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,316			
Tek uçlu P değeri	0,158			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,167$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,258$ (0,800'den küçüktür)				

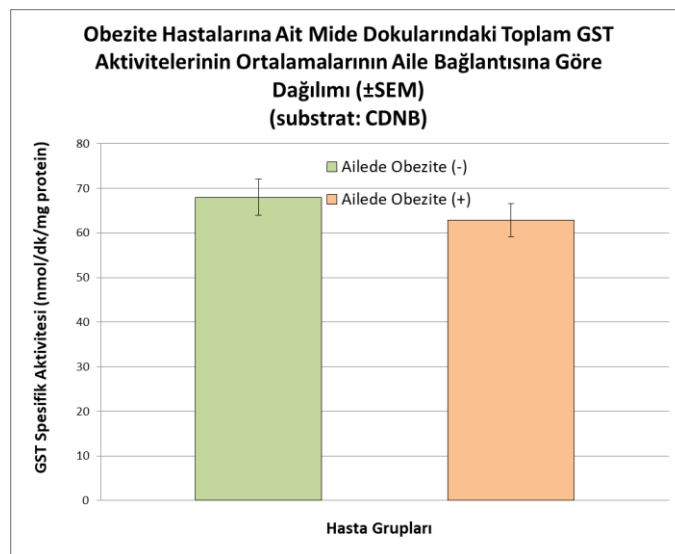
İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).

#### 4.1.5. Aile geçmişinin GST enzim aktiviteleri ve toplam tiyol miktarı üzerine etkileri

Anketlerden edinilen bilgiler ile aile öyküsünde obezite olduğu bildirilen 20 hasta “Ailede Obezite (+)” olarak ve aile öyküsünde obezite olmayan 15 hasta “Ailede Obezite (-)” olarak gruplandırıldı. Hastaların her birine ait CDNB substratına karşı ölçülen toplam GST spesifik aktivitesinin aile bağlantısına göre dağılımı Şekil 4.34’de, her iki gruba ait toplam GST spesifik aktivitesi ortalamalarının aile bağlantısına göre dağılımı ise Şekil 4.35’de görülmektedir.



Şekil 4.34. Toplam GST aktivitelerinin aile bağlantısına göre dağılımı (Substrat: CDNB).



Şekil 4.35. Toplam GST aktivite ortalamalarının aile bağlantısına göre dağılımı (Substrat: CDNB).

Aile bağlantısı olan obez hasta grubu için CDNB substratına karşı ölçülen toplam GST spesifik aktivitesi ortalamaları  $62.867 \pm 3.721$  nm/dk/mg protein (n=20) olarak hesaplanırken, aile bağlantısı olmayan obez hasta grubu için  $67.987 \pm 4.031$  nm/dk/mg protein (n=15) olarak hesaplandı. Sonuçlar değerlendirildiğinde aile bağlantısı olmayan obez hastalarında toplam GST spesifik aktivitesi ortalamalarının, aile bağlantısı olan obez hastalarına kıyasla %8 daha fazla olduğu görüldü.

### İstatistiksel Analizler

“Aile bağlantısı(-)” ve “Aile bağlantısı(+)” hasta gruplarında CDNB substratı ile ölçülen toplam GST aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.17’de görüldüğü gibidir.

Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,467)

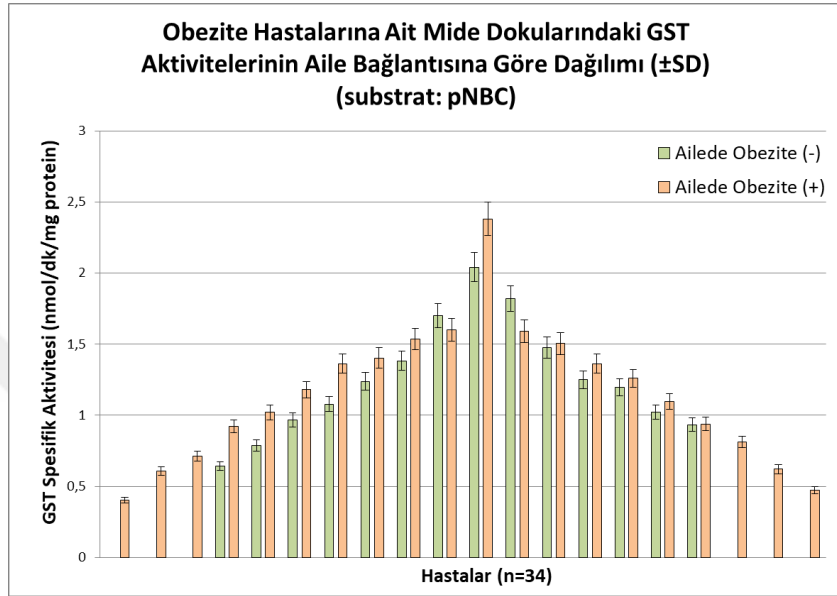
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,914)

Çizelge 4.17. Aile bağlantısı-Toplam GST aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları

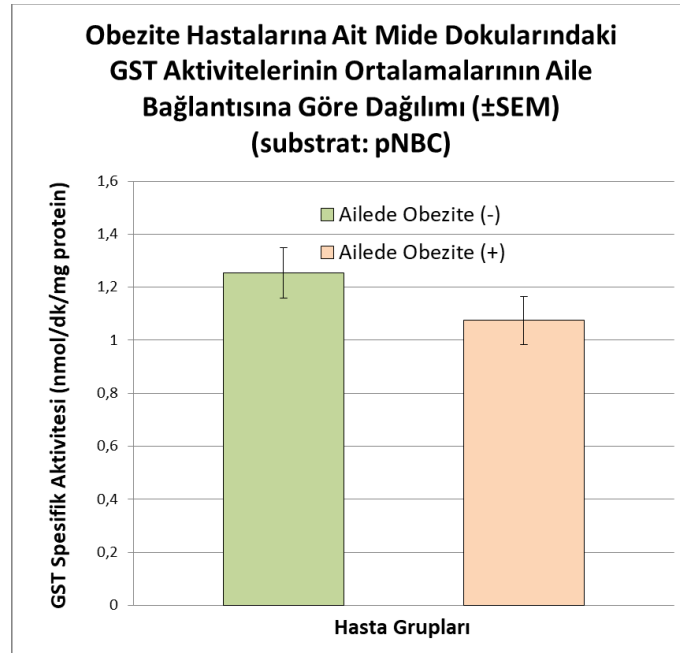
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
Ailede Obezite(-)	15	67,987	15,611	4,031
Ailede Obezite(+)	20	62,867	16,642	3,721
Fark	5,120			
t	0,924 (33 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,362			
Tek uçlu P değeri	0,181			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,146$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,230$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).

Hastaların her birine ait, pNBC substratına karşı ölçülen GST izozimi spesifik aktivitelerinin aile bağlantısına göre dağılımı Şekil 4.36'da, her iki gruba ait GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamalarının aile bağlantısına göre dağılımı ise Şekil 4.37'de görülmektedir.



Şekil 4.36. GST izozim aktivitelerinin aile bağlantısına göre dağılımı (Substrat: pNBC).



Şekil 4.37. GST izozim aktivitesi ortalamalarının aile bağlantısına göre dağılımı (Substrat: pNBC).

Aile bağlantısı olan obez hasta grubu için pNBC substratı ile ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamaları  $1.0741 \pm 0.0896$  nm/dk/mg protein (n=19) olarak hesaplanırken, aile bağlantısı olmayan obez hasta grubu için  $1.252 \pm 0.0947$  nm/dk/mg protein (n=13) olarak hesaplandı. Deneysel hata içerdiği ya da örneği bozulduğu varsayılan, bir hastaya ait veri ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, iki hastaya ait veriler ortalama hesaplamada kullanılmadı. Sonuçlar değerlendirildiğinde aile bağlantısı olmayan obez hastalarında, aile bağlantısı olan obez hastalarına kıyasla pNBC substratı ile ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamasının %17 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

Aile bağlantısı(-)” ve “Aile bağlantısı(+)” hasta gruplarında pNBC substratı ile ölçülen toplam GST aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.18’de görüldüğü gibidir.

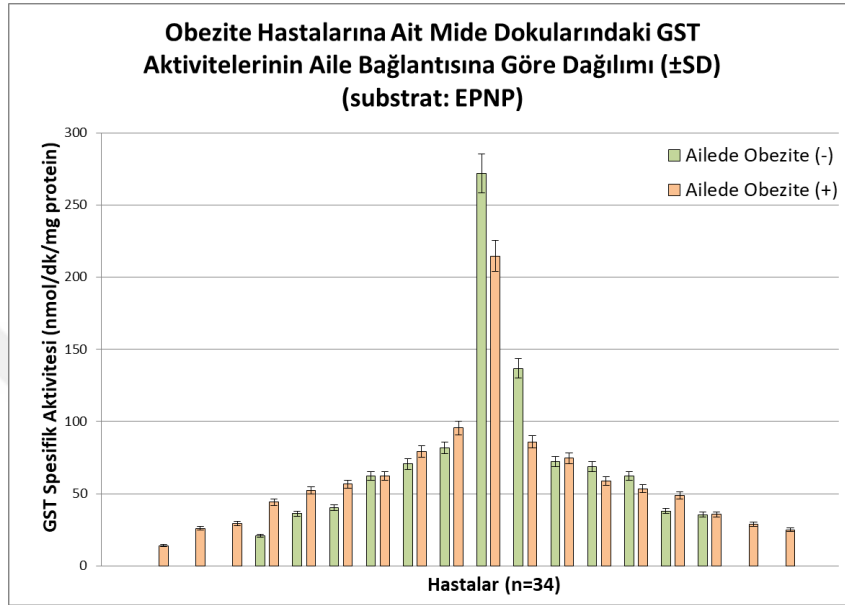
Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,458)  
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,370)

Çizelge 4.18. Aile bağlantısı- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: pNBC)

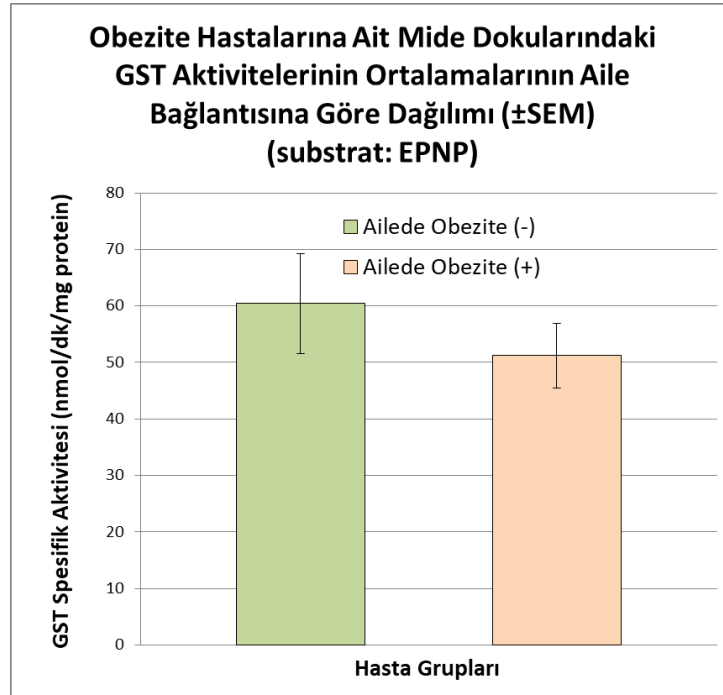
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
Ailede Obezite(-)	13	1,252	0,341	0,0947
Ailede Obezite(+)	19	1,074	0,390	0,0896
Fark t	0,118	0,882 (30 derece serbestlikte)		
İki uçlu P değeri	0,385			
Tek uçlu P değeri	0,192			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,137$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,217$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).

Hastaların her birine ait EPNP substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitesinin aile bağlantısına göre dağılımı Şekil 4.38’de, her iki gruba ait GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamalarının aile bağlantısına göre dağılımı ise Şekil 4.39’da görülmektedir.



Şekil 4.38. GST izozim aktivitelerinin aile bağlantısına göre dağılımı (Substrat: EPNP).



Şekil 4.39. GST izozim aktivitesi ortalamalarının aile bağlantısına göre dağılımı (Substrat: EPNP).

Aile öyküsünde obezite bulunan hasta grubu için EPNP substratına karşı okunan GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamaları  $51.182 \pm 5.661$  nm/dk/mg protein (n=17) olarak hesaplanırken, aile öyküsünde obezite bulunmayan hasta grubu için  $60.419 \pm 8.833$  nm/dk/mg protein (n=12) olarak hesaplandı. Deneysel hata olduğu veya örneklerin bozulduğu varsayılan, hastalara ait dört veri ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, hastalara ait iki veri ortalama hesaplamalarında kullanılmadı. Sonuçlar değerlendirildiğinde aile öyküsünde obezite bulunmayan hasta grubuna ait EPNP substratı ile ölçülen GST izozimi spesifik aktivitesi ortalamasının aile öyküsünde obezite bulunan hasta grubuna kıyasla yaklaşık %18 daha fazla olduğu belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

Aile bağlantısı(-)” ve “Aile bağlantısı(+)” hasta gruplarında EPNP substratı ile ölçülen toplam GST aktiviteleri için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.19’da görüldüğü gibidir.

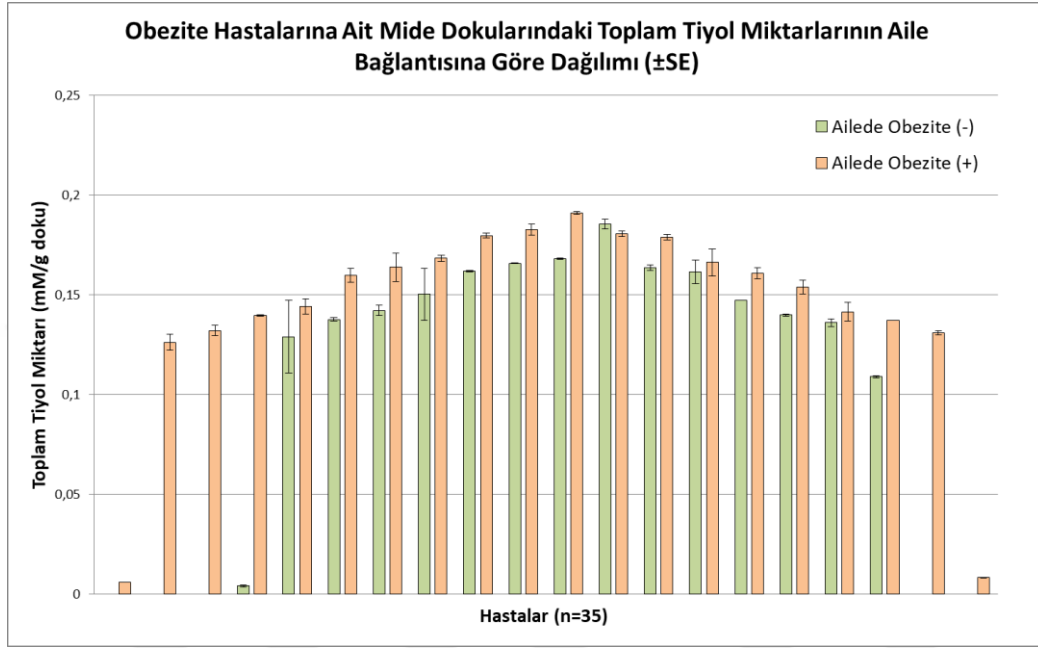
Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,098)  
Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,765)

Çizelge 4.19. Aile bağlantısı- GST izozim aktivitesi istatistiksel analiz sonuçları (Substrat: EPNP)

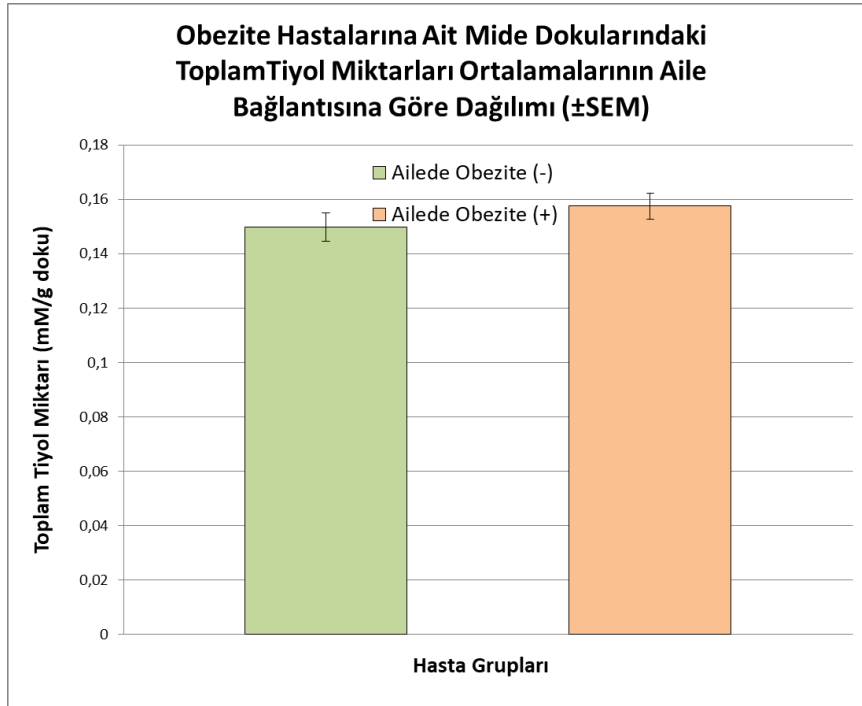
Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
Ailede Obezite(-)	12	60,419	30,598	8,833
Ailede Obezite(+)	17	51,182	23,341	5,661
Fark	9,237			
t	0,923 (27 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,364			
Tek uçlu P değeri	0,182			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,145$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,228$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örneklemenin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).

Hastaların her birine ait toplam tiyol miktarlarının aile bağlantısına göre dağılımları Şekil 4.40'da, her iki gruba ait toplam tiyol miktarı ortalamalarının aile bağlantısına göre dağılımı ise Şekil 4.41'de görülmektedir.



Şekil 4.40. Toplam tiyol miktarının aile bağlantısına göre dağılımı.



Şekil 4.41. Toplam tiyol miktarı ortalamalarının aile bağlantısına göre dağılımı.



Aile bağlantısı olan obez hasta grubu için toplam tiyol miktarı ortalamaları  $0.158 \pm 0.00478$  mM/g doku (n=18) olarak hesaplanırken, aile bağlantısı olmayan obez hasta grubu için  $0.150 \pm 0.00520$  mM/g doku (n=14) olarak hesaplandı. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmayan, üç hastaya ait veriler ortalama hesaplamalarında kullanılmadı. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde aile bağlantısı olan obez hastalarında, aile bağlantısı olmayan obez hastalarına kıyasla toplam tiyol miktarı ortalamasının %5 daha fazla olduğu belirlenmiştir.

### İstatistiksel Analizler

“Aile bağlantısı(-)” ve “Aile bağlantısı(+)” hasta gruplarında toplam tiyol miktarları için yapılan istatistiksel analizler Çizelge 4.17’de görüldüğü gibidir.

Normalite Testi (Shapiro-Wilk): Geçti (P = 0,830)

Eşit Varyans Testi (Brown-Forsythe): Geçti (P = 0,678)

Grup İsmi	N	Ortalama	Standart Sapma (SD)	Ortalamanın Standart Hatası (SEM)
Ailede Obezite(-)	14	0,150	0,0195	0,00520
Ailede Obezite(+)	18	0,158	0,0203	0,00478
Fark	-0,00782			
t	-1,102 (30 derece serbestlikte)			
İki uçlu P değeri	0,279			
Tek uçlu P değeri	0,140			
İki uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,187$ (0,800'den küçüktür)				
Tek uçlu test için güç değeri $\alpha = 0,050:0,285$ (0,800'den küçüktür)				

İki grubun ortalamaları arasındaki fark, rassal örnekleminin değişkenliğinin bu farkı yaratmış olabileceği olasılığını reddetmek için yetersizdir. Bir başka ifadeyle, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ).



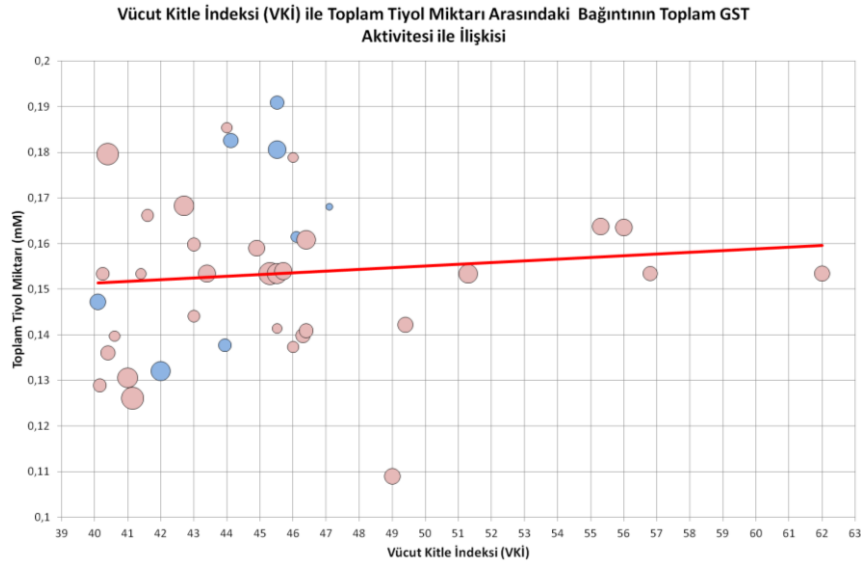
## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Obezite prevalansındaki yükselme eğilimi, geçmiş yıllarda pek çok ülkede önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Bu kısmen obezitenin, tip 2 diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon ve inme, hiperlipidemi, osteoartrit, uyku apnesi ve belirli kanser türleri gibi çok sayıda hastalığa yakalanma riskini büyük ölçüde arttırması kısmen de mortalite ile ilişkili olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca aşırı kiloluk ve obezite, her yıl 17 milyondan fazla ölüme neden olan kardiyovasküler hastalıklar için önemli risk faktörleridir (WHO, 2005).

Obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkların tedavi maliyeti, birçok ülkede ulusal sağlık hizmetleri bütçesi için ağır bir yük haline gelmiştir. Obezitenin tedavi seçenekleri içinde farmakolojik tedavi, cerrahi müdahale, diyet ve egzersiz ile kilo verme vardır (Borg ve ark., 2014). Obezitenin cerrahi tedavi seçeneğinin diğer seçeneklere kıyasla hem daha az maliyetli (Borg ve ark., 2014) hem de klinik olarak daha etkili (Clegg ve ark., 2003; Yumuk ve ark., 2015) olduğunu gösteren çalışmalar bireyleri bu tedavi seçeneğine teşvik etmektedir. Angrisani ve ark., (2015) Uluslararası Obezite Cerrahisi ve Metabolik Bozukluklar Federasyonu (IFSO)'nun verilerinden yola çıkarak 49 ülkede, cerrahi prosedürlerin tümünü değerlendirmiş ve 2003-2013 yılları arasında dünya çapında cerrahi tedaviye olan eğilimin arttığını bildirmiştir.

Bu çalışmada, her yaş grubundan erkek ve kadın obez hastalardan gastrektomi operasyonu ile elde edilen mide dokusu örneklerinde toplam tiyol miktarı ve GST enzim aktivitesi karakterize edilmeye çalışılmıştır. Obezitenin yanı sıra ya diyabet, hipertansiyon hastası ya da aile öyküsünde obezite olduğu bilinen toplam 39 hasta gruplara ayrılmış ve elde edilen veriler ile gruplar için çapraz karşılaştırma yapılmıştır.

Obezite hastalarının serum ve doku örneklerinde ölçülen normalden yüksek GSH seviyeleri mevcut durumun yarattığı yüksek oksidatif baskının; ve bunun sonucunda artan antioksidan metabolizmasının doğal bir sonucu olarak değerlendirilebilir. GSH havuzundaki yükselmenin, özellikle dokularda artan GR, GPX ve GST aktivitelerini destekleyecek nitelikte olması beklenir. Şekil 5.1'de görüldüğü üzere, obezite hastalarında artan VKİ değerleriyle paralel bir GSH artışı istatistiksel olarak anlamlı bir görünümde değildir.



Şekil 5.1. VKİ-GSH-Toplam GST Aktivitesi ilişkisi.

Benzer durum VKİ-toplam GST aktivitesi ilişkisi için de geçerlidir. Grafikte yatay eksen VKİ değerlerini, dikey eksen GSH miktarını ve kabarcık boyutları toplam GST spesifik aktivitesini göstermektedir. Aynı grafikte, hastalara bireysel olarak bakıldığında, yüksek GST aktivitesine karşılık düşük GSH miktarı bir genelleme ortaya koymamaktadır. Ancak hastaların ortalama değerleri incelendiğinde, toplam GST aktivitesinin yüksek ölçüldüğü durumlarda (yaş dağılımı haricinde), GSH miktarı nispeten düşük olarak tespit edilmiştir (Çizelge 5.1).

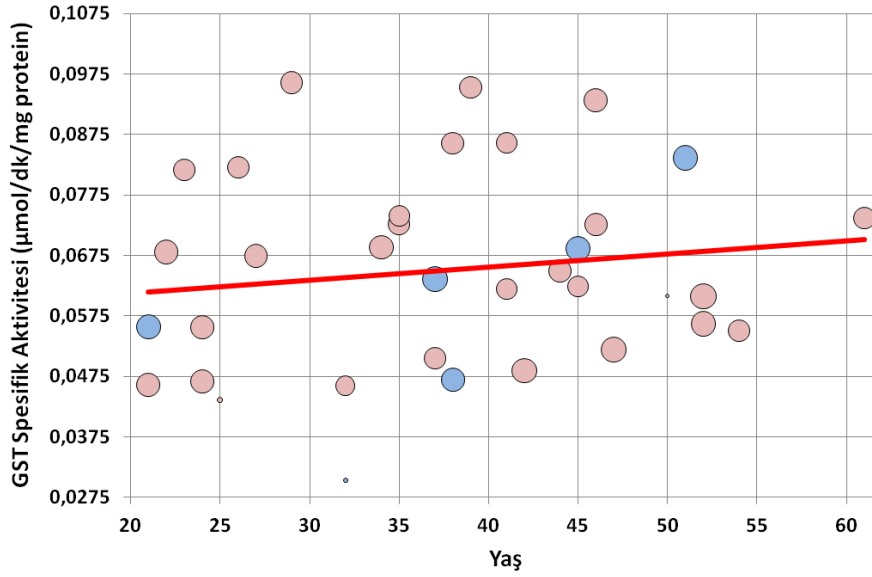
Çizelge 5.1. Tüm deney grupları için, tüm substratlarla elde edilen GST aktiviteleri ve GSH miktarları

		GST Spesifik Aktivitesi ( <i>nmol/dk/mg protein</i> )			GSH $\pm$ SEM ( <i>mM</i> )
		CDNB $\pm$ SEM	pNBC $\pm$ SEM	EPNP $\pm$ SEM	
Yaş	$\leq 35$	62.32 $\pm$ 4.62	1.272 $\pm$ 0.114	60.43 $\pm$ 25.09	0.150 $\pm$ 0.0049
	$> 35$	67.12 $\pm$ 3.33	1.191 $\pm$ 0.103	51.17 $\pm$ 27.49	0.157 $\pm$ 0.0050
Cinsiyet	K	66.36 $\pm$ 2.908	1.214 $\pm$ 0.082	55.78 $\pm$ 5.011	0.151 $\pm$ 0.0037
	E	60.58 $\pm$ 2.998	1.037 $\pm$ 0.148	45.78 $\pm$ 8.011	0.164 $\pm$ 0.0063
Hipertansiyon	+	72.65 $\pm$ 5.781	1.098 $\pm$ 0.138	63.92 $\pm$ 14.46	0.147 $\pm$ 0.0094
	-	63.43 $\pm$ 3.080	1.154 $\pm$ 0.073	52.70 $\pm$ 29.24	0.156 $\pm$ 0.0037
Diyabet	+	62.56 $\pm$ 5.509	1.208 $\pm$ 0.112	48.36 $\pm$ 5.272	0.160 $\pm$ 0.0087
	-	66.53 $\pm$ 3.226	1.124 $\pm$ 0.077	57.80 $\pm$ 6.794	0.152 $\pm$ 0.0039
Ailede Obezite	+	62.87 $\pm$ 3.721	1.074 $\pm$ 0.089	51.18 $\pm$ 5.661	0.158 $\pm$ 0.0048
	-	67.99 $\pm$ 4.031	1.252 $\pm$ 0.095	60.42 $\pm$ 8.833	0.150 $\pm$ 0.0052

Loguercio ve ark., (1996) tarafından İtalyan popülasyonunda yapılan çalışmada, sağlıklı bireylerin gastrik mukoza örneklerinde ölçülen GSH düzeylerinde ve toplam GST enzim aktivitelerinde yaşın artışına bağlı olarak azalma olduğu, ancak cinsiyete bağlı bir değişim gözlemlenmediği bildirilmiştir. Bu durum, mevcut çalışmada elde edilen sonuçların tam tersini işaret etse de, örneklerin obez hastalardan toplandığı ve farklı bir popülasyonun örneklem olarak kullanıldığı unutulmamalıdır. Caira ve ark. (2017) tarafından sağlıklı ve obez bireylerden alınan karaciğer biyopsi örneklerinde yapılan proteomik çalışmada, obez bireylerde tüm GST izozimlerinin ifadesinde önemli bir artış tespit edilmiştir. Bu durum, herşeyden evvel, obez bireylerde sağlıklı bireylerdekinden farklı bir durumun söz konusu olduğu, GST aktiviteleri için sağlıklı bireylerde gözlemlenen değişimlerin obez bireylerde aynı şekilde gerçekleşmeyebileceği şeklinde yorumlanabilir.

Daha evvel yaş-obezite bağlantısıyla GST ilgisi üzerine, kobaylarda ve insanlarda yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Obez (*ob/ob*) farelerde yapılan çalışmada, CDNB substratı kullanılarak belirlenen toplam GST aktivitesinin obez kobaylarda, normal olanlara göre cinsiyete bağlı bir değişim gösterdiği bildirilmiştir (Roe ve ark.,2009). Obez erkek farelerde toplam GST aktivitesi daha düşük olarak belirlenmiş ancak dişi farelerde ne yaş ne de obezitenin GST aktivitelerinde bir değişikliğe sebep olmadığı gözlenmiştir. Mevcut çalışmada cinsiyete göre yapılan karşılaştırmada, kadın hastalarda, üç farklı substratla ayrı ayrı ölçülen tüm aktivite değerlerinde ortalamalar, erkeklerin ortalamalarından yüksektir. Çalışmada kullanılan örneklerde 35 yaş ve altı kadınların (n=13), CDNB substratı ile ölçülen, toplam GST aktivitelerinin ortalaması 65.285 nmol/dk/mg protein iken, 35 yaş üstündeki (>35) kadınlarda (n=16) ise bu değer 67.478 nmol/dk/mg protein'dir. Oysa erkekler bu karşılaştırmaya dahil edildiğinde 35 yaş ve altı ile 35 yaş üstü hastaların toplam GST aktivitelerinin ortalamaları (sırasıyla, 62.317 nmol/dk/mg protein ve 67.12 nmol/dk/mg protein) arasında daha büyük bir fark gözlenmektedir. Bu durum Roe ve arkadaşlarının( 1999) çalışmasındaki sonuçlar ile de paralellik göstermektedir. GSH miktarlarıyla ilgili de benzer bir durum söz konusudur. 35 yaş üstü ve altı kadınlardan alınan örneklerdeki GSH konsantrasyonları arasındaki fark, erkeklerin de dahil olduğu tüm örnekleme grubundaki 35 yaş altındakiler-üstündekiler farkından daha küçük kalmıştır. Bir başka deyişle, kadınlarda, yaşla birlikte toplam GSH havuzunda, erkeklere oranla, daha az bir artış gerçekleşmiştir.

### Yaş ile Toplam GST Aktivitesi Arasındaki Bağıntının GSH Miktarı ile İlişkisi

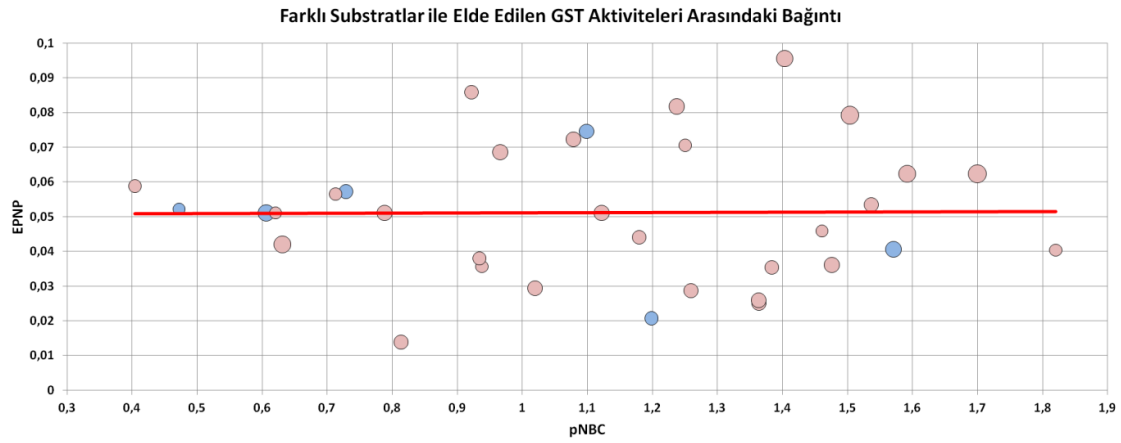


Şekil 5.2. Yaş-Toplam GST Aktivitesi-GSH ilişkisi.

Elde edilen deneysel verileri yatay eksenle hastaların yaşları, dikey eksenle toplam GST aktivitesi olmak üzere düzenleyerek, kabarcıkların büyüklüklerini GSH miktarını gösterecek şekilde ayarladığımızda (Şekil 5.2) oluşan grafikte bu durum daha net gözlemlenebilmektedir. Her ne kadar erkek hasta sayısı istatistiksel olarak kuvvetli bir çıkarımda bulunulmasına yetmeyecek derecede az olsa da, kadın hastalarda artan yaşla birlikte GST aktivitesinin dağılımında belirgin bir farklılık gözlemlenmemiştir. Oysa erkek hastalarda yaşla birlikte artan bir GST aktivitesi söz konusudur.

35 yaş üstü hastalarda GSH miktarı, daha yüksek enzim aktivitesine rağmen, diğer gruptakinden yüksek çıkmıştır. Artan yaşla birlikte pek çok dokudaki toplam GSH miktarının azaldığı GSSG konsantrasyonlarının arttığı rapor edilmekte (Maher, 2005; Thomas ve ark., 2016); ve bu durumun yaşa bağlı ortaya çıkan kardiyovasküler hastalıklara ve hatta Parkinson's hastalığına sebebiyet verdiği iddia edilmektedir. Esasında, yaşlanmanın tam olarak tanımı yapılamamakta; normal fizyolojinin bir parçası mı yoksa yukarıda bahsedilen ve daha pek çok patolojinin bir sonucu mu (Lushchak, 2012) olduğuna kesin karar verilememektedir. Bu nedenle, çalışmada gözlemlenen 35 yaş üstü hastalardaki daha yüksek GSH miktarlarının deneysel bir hatadan kaynaklanmadığı; sağlıklı bireylere göre obez hastalarda tam tersi bir durumun olabileceği sonucuna varılmıştır. Kan plazmasında yapılan ölçümlerde, glutatyon S-

konjugatları taşınımının obez bireylerde, çok daha fazla olduğu da bildirilmiştir (Ozaydın ve ark., 2006). Ayrıca, örneklem içerisindeki hastaların diğer patolojileri ve düzenli kullandıkları ilaçlar ile beslenme şekilleriyle ilgili daha detaylı veriler olmadan yorum yapılması oldukça güçtür. Obezite hastalarının sıklıkla kullandığı antihiperglisemik ilaçların GSH konsantrasyonlarında artışa neden olduğunu bildiren bazı çalışmalar (Ewis ve Abdel-Rahman, 1995) bulunmaktadır.



Şekil 5.3. Farklı substratlar ile elde edilen GST aktiviteleri arasındaki bağıntı.

EPNP substratı ile ölçülen GST- $\theta$  izoziminin aktivitesi, pNBC ile tespit edilen GST- $\mu$  izoziminin aktivitesi ile CDNB ile belirlenen toplam GST aktivitesi, tüm örneklem için, ortalama değerler olarak karşılaştırıldığında; Tablo 5.1'de görüldüğü üzere, bu üç farklı substrat ile ölçülen aktivite değerlerinin ortalamaları arasında bir korelasyon bulunmamaktadır. Diğer bir deyişle, çalışma sonucunda, farklı GST izozimleri arasında belirgin bir bağıntı tespit edilememiştir. Bireylere ait veriler, yatay ekseninde pNBC substratı ile elde edilen, dikey ekseninde ise EPNP substratı ile elde edilen değerler olmak üzere; CDNB substratı ile ölçülen aktivite değerleri de kabarcık büyüklüğünü göstermek üzere çizilen grafiğe yerleştirildiğinde, aynı durum gözlemlenmiştir: GST izozimlerinin aktiviteleri ile toplam GST aktivitesi arasında, tek tek örnekler için de bir bağıntı bulunmamaktadır.

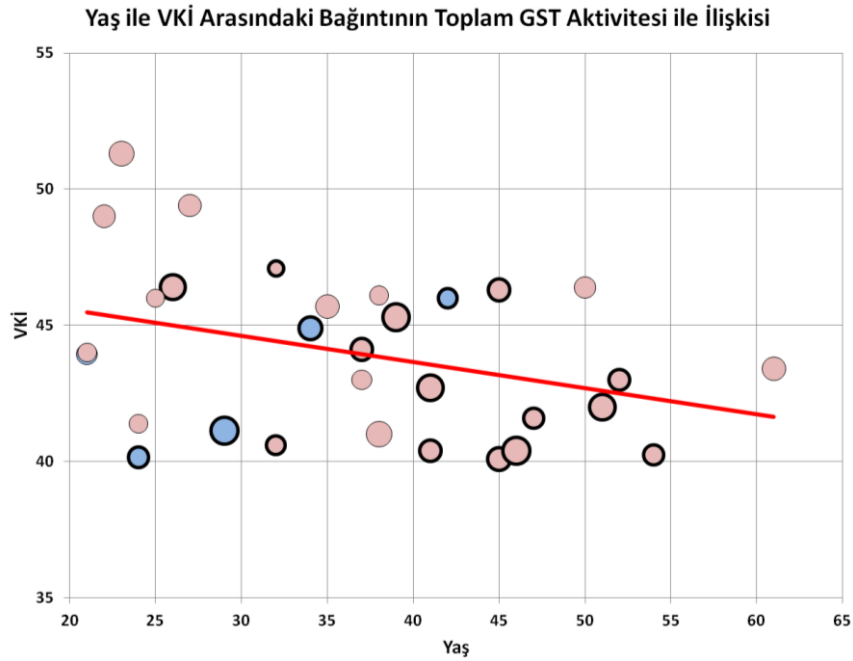
Murray ve Zaluzny (1989) sıçan karaciğeri sitozolik GST enzim aktiviteleri üzerine genetik obezitenin ve diyabetin karşılaştırmalı etkilerini inceledikleri çalışmanın sonucunda obez sıçanların karaciğer sitozolünde CDNB ve pNBC'nin glutasyon ile konjugasyonları, sırasıyla kontrolün % 78 ve % 88'ine kadar azaldığını, EPNP

konjugasyonunun ise kontrol grubuna kıyasla değişmediği gözlemlenmiştir. Ayrıca, EPNP ve CDNB konjugasyonlarının, hem diyabette hem de genetik obezitede kontrollerine göre benzer şekilde etkilendiklerini; bununla birlikte, diyabetik sıçanların karaciğer sitozolünde gözlenen PNBC konjugasyon oranındaki azalmanın obez sıçanlarda görülen azalmadan daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Barnett ve ark., (1992) tarafından obez ve diyabetik fareler üzerinde yapılan deneylerde ise, sitozolik toplam GST aktivitesinin diyabetik olanlarda, olmayanlara göre, daha düşük olduğu rapor edilmektedir. Benzer durum, mevcut çalışmada kullanılan örnek grubunda da gözlemlenmiştir; ancak, farelerde rapor edilenin tersine GSH miktarı diyabetik hastalarda, diyabet olmayanlara göre yaklaşık %5 daha yüksektir. Bu durum, toplam GST aktivitesinin yüksek olduğu deney gruplarının genelinde gözlemlenmiş ve artan enzim aktivitesiyle küçülen substrat (GSH) havuzunun doğal bir sonucu olarak açıklanmıştır. Toplam GST aktivitesinde görülen düşüş de yukarıda bahsedilen çalışmalarda sonuçlara uygundur. Ancak, obez hastalarda, mide dokusunda EPNP substratı ile ölçülen aktivite değerlerinin ortalaması dikkate alındığında, diyabetik hastalara oranla, diğer grupta yaklaşık %20 kadar yüksek aktivite söz konusudur.

Hipertansiyon ile GST izozimleri arasındaki bağıntıyı, boş/geçersiz (null) genler ile ilişkilendiren çalışmalar mevcuttur (Rizvi ve ark., (2015), Eslami ve Sahebkar (2014), Ge ve ark., (2015)). Ancak bu çalışmalarda en çok üzerinde durulan GST izozim genlerinden biri olan *GSTT1-1-null*'in hipertansiyon oluşumuna katkısı tartışmalıdır. GSTT1-1 izoziminin aktivitesini ölçmekte kullanılan EPNP substratı ile alınan değerlerde, hipertansiyon obez hastaların mide dokularında, hipertansiyonu olmayanlara kıyasla yaklaşık %20'lik bir fark izlenmiştir. Bu ölçümlerin literatüre katkı yapacağı, ancak mevcut problemin çözümünde tek başına yeterli olmayacağı değerlendirilmiştir.

Şekil 5.4'de, her bir hastanın yaşı yatay eksene, hesaplanan VKİ değeri dikey eksene yerleştirilmiş, kabarcık büyüklükleri (CDNB ile ölçülen) toplam GST aktivitesini gösterecek şekilde düzenlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmayan uç değerler grafik verileri arasından çıkarıldıktan sonra, ailesinde obezite bağlantısı ve muhtemel genetik kalıtım bulunanlar koyu renk çerçeve ile çevrelenmiştir.





Şekil 5.4. Yaş-VKİ-Toplam GST Aktivitesi ilişkisi.

Grafikte eğilim çizgisinin altında ve üstünde kalan değerler ile üzerinde yer alanlar karşılaştırıldığında, ailesinde obezite vakaları bulunan hastaların VKİ değerlerinin genel olarak eğilim çizgisinin üzerinde ve altında kaldığı (13/18 hasta) gözlenmektedir. Diğer taraftan, ailesinde obezite bağlantısı olmayan hastaların eğilim çizgisinin yukarısında yoğunlaştığı (8/12 hasta) görülmektedir.

Yapılan çalışmalar (Choquet ve Meyre, 2011; Reuter ve ark., 2016; Mărginean ve ark., 2018) aralarında GST ailesine ait genlerinde (*GSTT1-1*, *GSTM1-1*) bulunduğu pek çok gen nedeniyle obezitede genetik yatkınlığın kaçınılmaz olduğunu bildirmişlerdir. Bu durumun çalışmadaki hasta grubunda nasıl bir etki gösterdiğinin çözümlenebilmesi için açlık hissi, doygunluğun azalması, toplam, yağ ve protein enerji alımının artması gibi gıda alımı ile ilgili parametreler gibi pek çok obezogenik çevresel faktörler hakkında anket verisine ve genlerdeki polimorfizmin moleküler biyoloji teknikleriyle değerlendirilmesine ihtiyaç vardır.



## KAYNAKLAR

- Abernethy, D. R., Greenblatt, D. J., 1986. Drug disposition in obese humans. *Clinical Pharmacokinetics*, **11** (3): 199-213.
- Akbulut, G., Özmen, M., Besler, T., 2007. Çağın Hastalığı Obezite. *TUBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi*, **2** (7): 2-15.
- Akerboom, T. P., Narayanaswami, V., Kunst, M., Sies, H., 1991. ATP-dependent S-(2, 4-dinitrophenyl) glutathione transport in canalicular plasma membrane vesicles from rat liver. *Journal of Biological Chemistry*, **266** (20): 13147-13152.
- Alias, Z., 2016. The Role of Glutathione Transferases in the Development of Insecticide Resistance, Insecticides Resistance, Prof. Stanislav Trdan (Ed.), *InTech*, DOI: 10.5772/61972.
- Allocati, N., Masulli, M., Di Ilio, C., Federici, L., 2018. Glutathione transferases: substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases. *Oncogenesis*, **7** (1): 8.
- Almoshabek, H. A., Mustafa, M., Al-Asmari, M. M., Alajmi, T. K., Al-Asmari, A. K., 2016. Association of glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 deletion polymorphisms with obesity and their relationship with body mass index, lipoprotein and hypertension among young age Saudis. *JRSM Cardiovascular Disease*, **5** (0): 2048004016669645.
- Anandarajah, K., Kiefer, P. M., Donohoe, B. S., Copley, S. D., 2000. Recruitment of a double bond isomerase to serve as a reductive dehalogenase during biodegradation of pentachlorophenol. *Biochemistry*, **39** (18): 5303-5311.
- Angrisani, L., Santonicola, A., Iovino, P., Formisano, G., Buchwald, H., Scopinaro, N., 2015. Bariatric surgery worldwide 2013. *Obesity Surgery*, **25** (10): 1822-1832.
- Armstrong, R. N., 1997. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chemical Research in Toxicology*, **10** (1): 2-18.
- Aronne, L. J., 2002. Classification of obesity and assessment of obesity-related health risks. *Obesity Research*, **10** (2): 105-115.
- Aronson, S. M., 2003. The Verbiage of Obesity. *Medicine and Health Rhode Island*, **86** (5): 154.
- Atkinson, H. J., Babbitt, P. C., 2009. Glutathione transferases are structural and functional outliers in the thioredoxin fold. *Biochemistry*, **48** (46): 11108-11116.
- Awasthi, Y. C., Dao, D. D., Saneto, R. P., 1980. Interrelationship between anionic and cationic forms of glutathione S-transferases of human liver. *Biochemical Journal*, **191** (1): 1-10.
- Azarova, I., Bushueva, O., Konoplya, A., Polonikov, A., 2018. Glutathione S-transferase genes and the risk of type 2 diabetes mellitus: Role of sexual dimorphism, gene-gene and gene-smoking interactions in disease susceptibility: GST genes and the risk of type 2 diabetes. *Journal of Diabetes*, **10** (5): 398-407.
- Barnett, C. R., Abbott, R. A., Bailey, C. J., Flatt, P. R., Ioannides, C., 1992. Cytochrome P450-dependent mixed-function oxidase and glutathione S-transferase activities in spontaneous obesity-diabetes. *Biochemical Pharmacology*, **43** (8): 1868-1871.
- Belowski, J., 2012. Leptin and the regulation of endothelial function in physiological and pathological conditions. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **39** (2): 168-178.

- Bigornia, S. J., Mott, M. M., Hess, D. T., Apovian, C. M., McDonnell, M. E., Duess, M. A., Kluge, M. A., Fiscala, A. J., Vita, J. A., Gokce, N., 2010. Long-term successful weight loss improves vascular endothelial function in severely obese individuals. *Obesity*, **18** (4): 754-759.
- Birsoy, K., Festuccia, W. T., Laplante, M., 2013. A comparative perspective on lipid storage in animals. *J Cell Sci*, **126** (7): 1541-1552.
- Björntorp, P. (1987). Fat cell distribution and metabolism. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **499** (1): 66-72.
- Björntorp, P. (1991). Adipose tissue distribution and function. *International Journal of Obesity*, **15** (2): 67-81.
- Bondia-Pons, I., Ryan, L., Martinez, J. A., 2012. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. *Journal of Physiology and Biochemistry*, **68** (4): 701-711.
- Booth, J., Boyland, E., Sims, P., 1961. An enzyme from rat liver catalysing conjugations with glutathione. *Biochem J*, **79** (3): 516-524.
- Borg, S., Näslund, I., Persson, U., Ödegaard, K., 2014. Obesity and Surgical Treatment—A Cost-Effectiveness Assessment for Sweden. *Nordic Journal of Health Economics*, **2** (1): 257-275.
- Bouchard, C., 1991. Heredity and the path to overweight and obesity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, **23** (3): 285-291.
- Boyland, E., Williams, K., 1965. An enzyme catalysing the conjugation of epoxides with glutathione. *Biochemical Journal*, **94** (1): 190-197.
- Bulfer, J. M., Allen, C. E., 1979. Fat cells and obesity. *BioScience*, **29** (12): 736-741.
- Bulus, H., Oguztuzun, S., Güler Simsek, G., Kilic, M., Ada, A. O., Göl, S., Koçoğan, A. K., Kaygın, P., Iscan, M., 2018. Expression of CYP and GST in human normal and colon tumor tissues. *Biotechnic & Histochemistry*, 1–9.
- Caira, S., Iannelli, A., Sciarrillo, R., Picariello, G., Renzone, G., Scaloni, A., Addeo, P., 2017. Differential representation of liver proteins in obese human subjects suggests novel biomarkers and promising targets for drug development in obesity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **32** (1): 672-682.
- Chasseaud, L. F., 1973. Distribution of enzymes that catalyse reactions of glutathione with  $\alpha\beta$ -unsaturated compounds. *Biochemical Journal*, **131** (4): 765-769.
- Chielle, E. O., Trott, A., da Silva Rosa, B., Casarin, J. N., Fortuna, P. C., da Cruz, I. B. M., Moretto, M. B., Moresco, R. N., 2017. Impact of the Ile105Val polymorphism of the glutathione S-transferase P1 (GSTP1) gene on obesity and markers of cardiometabolic risk in young adult population. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, **125** (05): 335-341.
- Choquet, H., Meyre, D., 2011. Genetics of obesity: what have we learned?. *Current Genomics*, **12** (3): 169-179.
- Chrysohoou, C., Panagiotakos, D. B., Pitsavos, C., Skoumas, I., Papademetriou, L., Economou, M., Stefanadis, C., 2007. The implication of obesity on total antioxidant capacity in apparently healthy men and women: the ATTICA study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, **17** (8): 590-597.
- Clark, A. G., Smith, J. N., Speir, T. W., 1973. Cross-specificity in some vertebrate and insect glutathione-transferases with methyl parathion (dimethyl p-nitrophenyl

- phosphorothionate), 1-chloro-2, 4-dinitrobenzene and S-crotonyl-N-acetylcysteamine as substrates. *Biochemical Journal*, **135** (3): 385-392.
- Clegg, A., Colquitt, J., Sidhu, M., Royle, P., Walker, A., 2003. Clinical and cost effectiveness of surgery for morbid obesity: a systematic review and economic evaluation. *International Journal of Obesity*, **27** (10): 1167.
- Coles, B. F., Chen, G., Kadlubar, F. F., & Radomska-Pandya, A. (2002). Interindividual variation and organ-specific patterns of glutathione S-transferase alpha, mu, and pi expression in gastrointestinal tract mucosa of normal individuals. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **403** (2): 270-276.
- Codoner-Franch, P., Tavárez-Alonso, S., Murria-Estal, R., Tortajada-Girbes, M., Simo-Jorda, R., Alonso-Iglesias, E., 2012. Elevated advanced oxidation protein products (AOPPs) indicate metabolic risk in severely obese children. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, **22** (3): 237-243.
- Combes, B., Stakelum, G. S., 1961. A liver enzyme that conjugates sulfobromophthalein sodium with glutathione. *The Journal of Clinical Investigation*, **40** (6): 981-988.
- de Moraes Macieira, L. M., de Andrade Saraiva, J. M. T. L., da Conceição Santos, L., 2017. Overweight and obesity and their associated factors among early adolescence school children in urban and rural Portugal. *BMC Nutrition*, **3** (1): 17.
- Després, J. P., 2006. Abdominal obesity: the most prevalent cause of the metabolic syndrome and related cardiometabolic risk. *European Heart Journal Supplements*, **8**: B4-B12.
- Deurenberg, P., Weststrate, J. A., Seidell, J. C., 1991. Body mass index as a measure of body fatness: age-and sexspecific prediction formulas. *British Journal of Nutrition*, **65** (2): 105-114.
- Dirr, H., Reinemer, P., Huber, R., 1994. X-ray crystal structures of cytosolic glutathione-S transferases: Implications for protein architecture, substrate recognition and catalytic function. *European Journal of Biochemistry*, **220** (3): 645-661.
- Dixon, D. P., Laphorn, A., Edwards, R., 2002. Plant glutathione transferases. *Genome Biology*, **3** (3): reviews3004.1-3004.10
- Eaton, D. L., Bammler, T. K., 1999. Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology. *Toxicological Sciences: An Official Journal of The Society of Toxicology*, **49** (2): 156-164.
- Endicott, J. A., Ling, V., 1989. The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Annual Review of Biochemistry*, **58** (1): 137-171.
- Ergenç, M., Özenoğlu, S., Turan, İ., Özaçmak, V. H., Sayan-Özaçmak, H., 2017. Diyabetik sıçanlarda melatonin uygulamasının karaciğer, böbrek, mide, pankreas ve göz dokularında oksidatif stres üzerine etkisi. *Turkish Journal of Diabetes and Obesity*, **3**: 117-123.
- Esenlik, E., Bolat, E., 2011. Obezite ve ortodonti ilişkisi. *SDÜ Sağlık Bilimleri Dergisi*, **2** (2): 101-111.
- Eslami, S., Sahebkar, A., 2014. Glutathione-S-transferase M1 and T1 null genotypes are associated with hypertension risk: a systematic review and meta-analysis of 12 studies. *Current Hypertension Reports*, **16** (6): 432.

- Ewis, S. A., Abdel-Rahman, M. S., 1995. Effect of metformin on glutathione and magnesium in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Applied Toxicology*, **15** (5): 387-390.
- Faust, I. M., Johnson, P. R., Stern, J. S., Hirsch, J., 1978. Diet-induced adipocyte number increase in adult rats: a new model of obesity. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, **235** (3): E279-E286.
- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M., Shimomura, I., 2017. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*, **114** (12): 1752-1761.
- Ge, B., Song, Y., Zhang, Y., Liu, X., Wen, Y., Guo, X., 2015. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) null polymorphisms and the risk of hypertension: a meta-analysis. *PloS One*, **10** (3): e0118897.
- Gesta, S., Tseng, Y. H., Kahn, C. R., 2007. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell*, **131** (2): 242-256.
- González-Muniesa, P., Martínez-González, M. A., Hu, F. B., Després, J. P., Matsuzawa, Y., Loos, R. J. F., Moreno, L. A., Bray, G. A., Martínez, J. A., 2017. Obesity. *Nature Reviews Disease Primer*, **15** (3): 17034.
- Gray, S. L., Vidal-Puig, A. J., 2007. Adipose tissue expandability in the maintenance of metabolic homeostasis. *Nutrition Reviews*, **65**: 7-12.
- Grover, P. L., Sims, P., 1964. Conjugations with glutathione. Distribution of glutathione S-aryltransferase in vertebrate species. *Biochemical Journal*, **90** (3): 603.
- Grundy, S. M., 2000. Metabolic complications of obesity. *Endocrine*, **13** (2): 155-165.
- Gulick, A. M., Fahl, W. E., 1995. Mammalian glutathione S-transferase: regulation of an enzyme system to achieve chemotherapeutic efficacy. *Pharmacology & Therapeutics*, **66** (2): 237-257.
- Gustafson, B., Gogg, S., Hedjazifar, S., Jenndahl, L., Hammarstedt, A., Smith, U., 2009. Inflammation and impaired adipogenesis in hypertrophic obesity in man. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **297** (5): E999-E1003.
- Gustafson, B., Hammarstedt, A., Hedjazifar, S., Smith, U., 2013. Restricted adipogenesis in hypertrophic obesity: the role of WISP2, WNT, and BMP4. *Diabetes*, **62** (9): 2997-3004.
- Guthenberg, C., Mannervik, B., 1981. Glutathione S-transferase (transferase  $\pi$ ) from human placenta is identical or closely related to glutathione S-transferase (transferase  $\rho$ ) from erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Enzymology*, **661** (2): 255-260.
- Habig, W. H., Jakoby, W. B., 1981. [51] Assays for differentiation of glutathione S-Transferases. In *Methods in Enzymology*, **77**, 398-405. Academic Press.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, **249** (22): 7130-7139.
- Hayes, J. D., Flanagan, J. U., Jowsey, I. R., 2005. Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **45**: 51-88.
- Hayes, J. D., Pulford, D. J., 1995. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the Isoenzymes to cancer

- chemoprotection and drug resistance part I. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, **30** (6): 445-520.
- Hebert, H., Schmidt-Krey, I., Morgenstern, R., Murata, K., Hirai, T., Mitsuoka, K., & Fujiyoshi, Y., 1997. The 3.0 Å projection structure of microsomal glutathione transferase as determined by electron crystallography of  $p 2_12_12$  two-dimensional crystals. *Journal of Molecular Biology*, **271** (5): 751-758.
- Higuchi, M., Dusting, G. J., Peshavariya, H., Jiang, F., Hsiao, S. T. F., Chan, E. C., Liu, G. S., 2012. Differentiation of human adipose-derived stem cells into fat involves reactive oxygen species and Forkhead box O1 mediated upregulation of antioxidant enzymes. *Stem Cells and Development*, **22** (6): 878-888.
- Hill, J. O., Wyatt, H. R., Reed, G. W., Peters, J. C., 2003. Obesity and the environment: where do we go from here?. *Science*, **299** (5608): 853-855.
- Hoey, H., 2014. Management of obesity in children differs from that of adults. *Proceedings of the Nutrition Society*, **73** (4): 519-525.
- Horvath, T. L., Andrews, Z. B., Diano, S., 2009. Fuel utilization by hypothalamic neurons: roles for ROS. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, **20** (2): 78-87.
- Ingelman-Sundberg, M., 2004. Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **369** (1): 89-104.
- International Obesity Task Force, 2004. Management of Obesity in Adults: Project for European Primary Care. *International Journal of Obesity*, **28**: 226-231.
- Ishikawa, T., 1992. The ATP-dependent glutathione S-conjugate export pump. *Trends in Biochemical Sciences*, **17** (11): 463-468.
- Işık, Ö., Yıldırım, İ., Yıldırım, Y., Karagöz, Ş., Ersöz, Y., Doğan, İ., 2017. Üniversite Öğrencilerinde Farklı Ölçüm Yöntemlerine Göre Obezite Prevalansı. *İnönü Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi*, **4** (2): 20-33.
- Jo, J., Gavrilova, O., Pack, S., Jou, W., Mullen, S., Sumner, A. E., Cushman, S. W., Periwat, V., 2009. Hypertrophy and/or hyperplasia: dynamics of adipose tissue growth. *PLoS Computational Biology*, **5** (3): e1000324.
- Johnson, M. K., 1966. Studies on glutathione S-alkyltransferase of the rat. *Biochemical Journal*, **98** (1): 44-56.
- Johnson, P. R., Hirsch, J., 1972. Cellularity of adipose depots in six strains of genetically obese mice. *Journal of Lipid Research*, **13** (1): 2-11.
- Kamisaka, K., Habig, W. H., Ketley, J. N., Arias, I. M., Jakoby, W. B., 1975. Multiple forms of human glutathione-S transferase and their affinity for bilirubin. *European Journal of Biochemistry*, **60** (1): 153-161.
- Karam, J. G., McFarlane, S. I., 2007. Secondary causes of obesity. *Clinical Practice*, **4** (5): 641-650.
- Kawashima, A., Satta, Y., 2014. Substrate-dependent evolution of cytochrome P450: Rapid turnover of the detoxification-type and conservation of the biosynthesis-type. *PloS One*, **9** (6): e100059.
- Kim, D. H., Guengerich, F. P., 1990. Formation of the DNA adduct S-[2-(N 7-guanyl) ethyl] glutathione from ethylene dibromide: effects of modulation of glutathione and glutathione S-transferase levels and lack of a role for sulfation. *Carcinogenesis*, **11** (3): 419-424.
- Klánová, B., Zlámál, F., Pohořalá, A., Slabý, O., Pikhart, H., Bienertová-Vašků, J., 2018. Association of Glutathione S-Transferase Polymorphisms with Dietary

- Composition but Not Anthropometry in Obese as Well as Nonobese Individuals. *Journal of the American College of Nutrition*, **37** (2): 87-92.
- Koster, A., Murphy, R. A., Eiriksdottir, G., Aspelund, T., Sigurdsson, S., Lang, T. F., Gudnason, V., Launer, L. J., Harris, T. B., 2015. Fat distribution and mortality: the AGES-Reykjavik Study. *Obesity*, **23** (4): 893-897.
- Ladner, J. E., Parsons, J. F., Rife, C. L., Gilliland, G. L., Armstrong, R. N., 2004. Parallel evolutionary pathways for glutathione transferases: structure and mechanism of the mitochondrial class kappa enzyme rGSTK1-1. *Biochemistry*, **43** (2): 352-361.
- Lakshman, R., Elks, C. E., Ong, K. K., 2012. Childhood obesity. *Circulation*, **126** (14): 1770-1779.
- Landgraf, K., Rockstroh, D., Wagner, I. V., Weise, S., Tauscher, R., Schwartze, J. T., Löffler, D., Bühligen, U., Wojan, M., Till, H., Kratzsch, J., Kiess, W., Blüher, M., Körner, A., 2015. Evidence of early alterations in adipose tissue biology and function and its association with obesity-related inflammation and insulin resistance in children. *Diabetes*, **64** (4): 1249-1261.
- Lee, H., Lee, Y. J., Choi, H., Ko, E. H., Kim, J. W., 2009. Reactive oxygen species facilitate adipocyte differentiation by accelerating mitotic clonal expansion. *Journal of Biological Chemistry*, **284** (16): 10601-10609.
- Lee, I., Bang, K. S., Moon, H., Kim, J., 2016. Comparison of obesity rates in early childhood (4 to 80 months) by parental socioeconomic status using national cohort dataset in Korea. *Asian Nursing Research*, **10** (4): 305-311.
- Liska, D. J., 1998. The detoxification enzyme systems. *Alternative Medicine Review*, **3** (3): 187-98.
- Liska, D., Lyon, M., Jones, D. S., 2006. Detoxification and biotransformational imbalances. *Explore: The Journal of Science and Healing*, **2** (2): 122-140.
- Lo, J. C., Maring, B., Chandra, M., Daniels, S. R., Sinaiko, A., Daley, M. F., Sherwood, N. E., Kharbanda, E. O., Parker, E. D., Adams, K. F., Prineas, R. J., Magid, D. J., O'Connor, P. J., Greenspan, L. C., 2014. Prevalence of obesity and extreme obesity in children aged 3–5 years. *Pediatric Obesity*, **9** (3): 167-175.
- Loguercio, C., Taranto, D., Vitale, L. M., Beneduce, F., Blanco, C. D. V., 1996. Effect of liver cirrhosis and age on the glutathione concentration in the plasma, erythrocytes, and gastric mucosa of man. *Free Radical Biology and Medicine*, **20** (3): 483-488.
- Lushchak, V. I., 2012. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *Journal of Amino Acids*, **2012**: 26.
- Lumeng, C. N., 2010. Adipose tissue macrophages: a piece of the PAI of metabolic syndrome. *Science Translational Medicine*, **2** (20): 20ps7-20ps7.
- Maher, P. (2005). The effects of stress and aging on glutathione metabolism. *Ageing Research Reviews*, **4** (2): 288-314.
- Mărginean, C. O., Mărginean, C., Melit, L. E., 2018. New Insights Regarding Genetic Aspects of Childhood Obesity: A Minireview. *Frontiers in Pediatrics*, **6**: 271.
- Mannervik, B., Board, P. G., Hayes, J. D., Listowsky, I., Pearson, W. R. (2005). Nomenclature for mammalian soluble glutathione transferases. *Methods in Enzymology*, **401**: 1-8.
- Mannervik, B., Jensson, H., 1982. Binary combinations of four protein subunits with different catalytic specificities explain the relationship between six basic



- glutathione S-transferases in rat liver cytosol. *Journal of Biological Chemistry*, **257** (17): 9909-9912.
- Marcus, C. J., Habig, W. H., Jakoby, W. B., 1978. Glutathione transferase from human erythrocytes: Nonidentity with the enzymes from liver. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **188** (2): 287-293.
- Mlinar, B., & Marc, J., 2011. New insights into adipose tissue dysfunction in insulin resistance. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, **49** (12): 1925-1935.
- Modén, O., Mannervik, B., 2014. Glutathione transferases in the bioactivation of azathioprine. *Advances in Cancer Research*, **122**: 199-244.
- Mukhtar, H., Zoetemelk, C. E. M., Baars, A. J., Wijnen, J. T., Blankenstein-Wijnen, L. M. M., Khan, P. M., Breimer, D. D., 1981. Glutathione S-transferase activity in human fetal and adult tissues. *Pharmacology*, **22** (5): 322-329.
- Murray, M., Zaluzny, L., 1989. Comparative effects of genetic obesity and streptozotocin-diabetes on rat liver cytosolic glutathione S-transferase activities. *Nutrition Research*, **9** (10): 1151-1160.
- Nasr, N. J., Kaminski Jr, M. V., Sriram, K., 1982. Childhood versus adult onset obesity in a comprehensive, multidisciplinary weight reduction program. *Journal of the American College of Nutrition*, **1** (2): 187-192.
- Oakley, A., 2011. Glutathione transferases: a structural perspective. *Drug Metabolism Reviews*, **43** (2): 138-151.
- OECD, 2018. "Non-medical determinants of health", *OECD Health Statistics* (database), (Erişim tarihi:24.12.2018 ).
- Ojiegbe, I. N., 2016. Impacts of obesity on the health of women of childbearing age: A call for action. *International Journal of Medicine and Biomedical Research*, **5** (1): 19-27.
- Ozaydin, A., Onaran, I., Yeşim, T. E., Sargın, H., Avşar, K., Sultuybek, G., 2006. Increased glutathione conjugate transport: a possible compensatory protection mechanism against oxidative stress in obesity?. *International Journal of Obesity*, **30** (1): 134.
- Patel, C., Ghanim, H., Ravishankar, S., Sia, C. L., Viswanathan, P., Mohanty, P., Dandona, P., 2007. Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor- $\kappa$ B activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **92** (11): 4476-4479.
- Patidar, O. P., 2013. Higher prevalence rate of CHD in 'apple type of obesity' cases as compared to 'pear type obesity' cases. *Indian Journal of Clinical Practice*, **23** (12): 791-794.
- Penner, N., Woodward, C., Prakash, C., 2012. Metabolizing enzymes and Biotransformation reactions. In: Zhang, D. and Surapaneni, S. eds. *ADME-Enabling Technologies in Drug Design and Development*. 1st ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc.: 545-565.
- Perbandt, M., Burmeister, C., Walter, R. D., Betzel, C., Liebau, E., 2004. Native and inhibited structure of a Mu class-related glutathione S-transferase from Plasmodium falciparum. *Journal of Biological Chemistry*, **279** (2): 1336-1342.
- Picklo, M. J., Long, E. K., Vomhof-DeKrey, E. E., 2015. Glutathionyl systems and metabolic dysfunction in obesity. *Nutrition Reviews*, **73** (12): 858-868.

- Pratt, M., Sarmiento, O. L., Montes, F., Ogilvie, D., Marcus, B. H., Perez, L. G., Brownson, R. C., Lancet Physical Activity Series Working Group., 2012. The implications of megatrends in information and communication technology and transportation for changes in global physical activity. *The Lancet*, **380**: 282-293.
- Rącz, O., František, N., Dombrowský, P., Jakubowski, K., Küchelová, Z., Maceková, D., Cimboláková, I., Kuzmová, D., 2014. Obesity, the Pandemic of XXI<sup>st</sup> Century. *Kultura Fizyczna*, **13** (1): 162-173.
- Rakhshandehroo, M., Kalkhoven, E., Boes, M., 2013. Invariant natural killer T cells in adipose tissue: novel regulators of immune-mediated metabolic disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **70** (24): 4711-4727.
- Ranson, H., Collins, F., Hemingway, J., 1998. The role of alternative mRNA splicing in generating heterogeneity within the *Anopheles gambiae* class I glutathione S-transferase family. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **95** (24): 14284-14289.
- Rebuffé-Scrive, M., Enk, L., Crona, N., Lönnroth, P., Abrahamsson, L., Smith, U., Björntorp, P., 1985. Fat cell metabolism in different regions in women. Effect of menstrual cycle, pregnancy, and lactation. *The Journal of Clinical Investigation*, **75** (6): 1973-1976.
- Reinemer, P., Dirr, H. W., Ladenstein, R., Huber, R., Bello, M. L., Federici, G., Parker, M. W., 1992. Three-dimensional structure of class  $\pi$  glutathione S-transferase from human placenta in complex with S-hexylglutathione at 2.8 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*, **227** (1): 214-226.
- Reuter, C. P., Burgos, M. S., Bernhard, J. C., Tornquist, D., Klinger, E. I., Borges, T. S., Renner, J. D. P., Moura Valim, A. R. D., Mello, E. D. D., 2016. Association between overweight and obesity in schoolchildren with rs9939609 polymorphism (FTO) and family history for obesity. *Jornal de Pediatria*, **92** (5): 493-498.
- Rizvi, S., Raza, S. T., Siddiqi, Z., Abbas, S., Mahdi, F., 2015. Association of angiotensin-converting enzyme and glutathione S-transferase gene polymorphisms with body mass index among hypertensive North Indians. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, **15** (4): e477.
- Roe, A. L., Howard, G., Blouin, R., Snawder, J. E., 1999. Characterization of cytochrome P450 and glutathione S-transferase activity and expression in male and female ob/ob mice. *International Journal of Obesity*, **23** (1): 48.
- Rossjohn, J., McKinstry, W. J., Oakley, A. J., Verger, D., Flanagan, J., Chelvanayagam, G., Tan, K. L., Board, P. G., Parker, M. W., 1998. Human theta class glutathione transferase: the crystal structure reveals a sulfate-binding pocket within a buried active site. *Structure*, **6** (3): 309-322.
- Russell, J. W., Anjaneyulu, M., Berent-Spillson, A., 2008. Metabotropic glutamate receptors (mGluRs) and diabetic neuropathy. *Current Drug Targets*, **9** (1): 85-93.
- Salans, L. B., Cushman, S. W., Weismann, R. E., 1973. Studies of human adipose tissue Adipose cell size and number in nonobese and obese patients. *The Journal of Clinical Investigation*, **52** (4): 929-941.
- Savini, I., Catani, M., Evangelista, D., Gasperi, V., Avigliano, L., 2013. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *International Journal of Molecular Sciences*, **14** (5): 10497-10538.
- Schmidt-Krey, I., Mitsuoka, K., Hirai, T., Murata, K., Cheng, Y., Fujiyoshi, Y., Morgenstern, R., Hebert, H., 2000. The-threedimensional map of microsomal

- glutathione transferase 1 at 6 Å resolution. *The EMBO Journal*, **19** (23): 6311-6316.
- Schwartz, J., Park, S. K., O'Neill, M. S., Vokonas, P. S., Sparrow, D., Weiss, S., Kelsey, K., 2005. Glutathione-S-transferase M1, obesity, statins, and autonomic effects of particles: gene-by-drug-by-environment interaction. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **172** (12): 1529-1533.
- Sedlak, J., Lindsay, R. H., 1968. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, **25**: 192-205.
- Seidell, J. C., Flegal, K. M., 1997. Assessing obesity: classification and epidemiology. *British Medical Bulletin*, **53** (2): 238-252.
- Serra, D., Mera, P., Malandrino, M. I., Mir, J. F., Herrero, L., 2013. Mitochondrial fatty acid oxidation in obesity. *Antioxidants & Redox Signaling*, **19** (3): 269-284.
- Sheehan, D., Meade, G., Foley, V. M., Dowd, C. A., 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochemical Journal*, **360** (1): 1-16.
- Sherratt, P.J., Hayes, J.D., 2002. Glutathione S-transferases. In Ioannides, C. (ed), *Enzyme Systems That Metabolise Drugs and Other Xenobiotics*. Wiley & Sons, Chichester: pp 319-352.
- Sies, H., Stahl, W., Sevanian, A., 2005. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *The Journal of Nutrition*, **135** (5): 969-972.
- Singh, D., Singh, D., 2006. Role of body fat and body shape on judgment of female health and attractiveness: An evolutionary perspective. *Psychological Topics*, **15** (2): 331-350.
- Singh, S. V., Kurosky, A., Awasthi, Y. C., 1987. Human liver glutathione S-transferase  $\Psi$ . Chemical characterization and secondary-structure comparison with other mammalian glutathione S-transferases. *Biochemical Journal*, **243** (1): 61-67.
- Sun, K., Kusminski, C. M., Scherer, P. E., 2011. Adipose tissue remodeling and obesity. *The Journal of Clinical Investigation*, **121** (6): 2094-2101.
- Taiwo Idowu, A., Shittu Mujeeb, O., 2015. Polymorphic Human Glutathione S-transferase Genes may Predict Susceptibility to Type 2 Diabetes Mellitus: A Minireview. *International Journal of Biomedical Research*, **6** (3): 139-143.
- The, N. S., Suchindran, C., North, K. E., Popkin, B. M., & Gordon-Larsen, P., 2010. Association of adolescent obesity with risk of severe obesity in adulthood. *Jama*, **304** (18): 2042-2047.
- Thomas, N. O., Shay, K. P., Kelley, A. R., Butler, J. A., Hagen, T. M., 2016. Glutathione maintenance mitigates age-related susceptibility to redox cycling agents. *Redox biology*, **10**: 45-52.
- Townsend, D. M., Tew, K. D., Tapiero, H., 2003. The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **57**: 145-155.
- Tran, B., Oliver, S., Rosa, J., Galassetti, P., 2012. Aspects of inflammation and oxidative stress in pediatric obesity and type 1 diabetes: an overview of ten years of studies. *Experimental Diabetes Research*, **2012**: 7.
- Tremmel, M., Gerdtham, U. G., Nilsson, P. M., Saha, S., 2017. Economic Burden of Obesity: A Systematic Literature Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **14** (4): 435.

- Tunali, S., Yanardag, R., 2006. Effect of vanadyl sulfate on the status of lipid parameters and on stomach and spleen tissues of streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacological Research*, **53** (3): 271-277.
- Uzogara, S. G., 2016. Obvious and hidden calories in food and their impact on weight, obesity and wellness: a review. *Advances in Obesity, Weight Management Control*, **4** (5): 120-128.
- Vague, J., 1956. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **4** (1): 20-34.
- Valle, A., Catalán, V., Rodríguez, A., Rotellar, F., Valentí, V., Silva, C., Salvador, J., Frühbeck, G., Gómez-Ambrosi, J., Roca, P., Oliver, J., 2012. Identification of liver proteins altered by type 2 diabetes mellitus in obese subjects. *Liver International*, **32** (6): 951-961.
- Vincent, H. K., Taylor, A. G., 2006. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *International Journal of Obesity*, **30** (3): 400.
- Warholm, M., Guthenberg, C., Mannervik, B., 1983. Molecular and catalytic properties of glutathione transferase mu from human liver: an enzyme efficiently conjugating epoxides. *Biochemistry*, **22** (15): 3610-3617.
- Warholm, M., Guthenberg, C., Mannervik, B., von Bahr, C., 1981. Purification of a new glutathione S-transferase (transferase  $\mu$ ) from human liver having high activity with benzo ( $\alpha$ ) pyrene-4, 5-oxide. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **98** (2): 512-519.
- Warolin, J., Coenen, K. R., Kantor, J. L., Whitaker, L. E., Wang, L., Acra, S. A., Roberts, J., Buchowski, M. S., 2014. The relationship of oxidative stress, adiposity and metabolic risk factors in healthy B lack and W hite A merican youth. *Pediatric Obesity*, **9** (1): 43-52.
- Whitaker, R. C., Wright, J. A., Pepe, M. S., Seidel, K. D., Dietz, W. H., 1997. Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *New England Journal of Medicine*, **337** (13): 869-873.
- World Health Organization. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva, World Health Organ Tech Rep Ser, 2000; 894: 1-253.
- WHO., 2005. The World Health Organization warns of the rising threat of heart disease and stroke as overweight and obesity rapidly increase. The World Health Organization, Geneva. Erişim tarihi: 04.12.2018.
- Wu, B., Dong, D., 2012. Human cytosolic glutathione transferases: structure, function, and drug discovery. *Trends in Pharmacological Sciences*, **33** (12): 656-668.
- Yalin, S., Hatungil, R., Tamer, L., Ates, N. A., Dogruer, N., Yildirim, H., Karakas, S., Atik, U., 2007. Glutathione S-transferase gene polymorphisms in Turkish patients with diabetes mellitus. *Cell Biochemistry and Function*, **25** (5): 509-513.
- Yang, Z., Yu, Y., Yao, L., Li, G., Wang, L., Hu, Y., Wei, H., Hammami, R., Razavi, R., Zhong, Y., Liang, X., 2011. DetoxiProt: an integrated database for detoxification proteins. *BMC Genomics*, **12** (3): 2-8.
- Yen, P. K., 1994. Weight and body shape. *Geriatric Nursing*, **15** (1): 50-51.
- Yilmaz, C., Iscan, M., 2014. Glutathione S-transferase activities and glutathione levels in needles of drought stressed Pinus Brutia Ten. trees. *Turkish Journal of Biochemistry*, **39** (2): 238-243.

- Yilmaz-Ozden, T., Kurt-Sirin, O., Tunali, S., Akev, N., Can, A., Yanardag, R., 2014. Ameliorative effect of vanadium on oxidative stress in stomach tissue of diabetic rats. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, **14** (2): 105.
- Yumuk, V., Tsigos, C., Fried, M., Schindler, K., Busetto, L., Micic, D., Toplak, H., Obesity Management Task Force of the European Association for the Study of Obesity., 2015. European guidelines for obesity management in adults. *Obesity Facts*, **8** (6): 402-424.





## EKLER

EK1. pNBC substratı ile GST enzimi spesifik aktivitesinin belirlenmesi için yapılan optimizasyonlar

pNBC'nin Habig ve ark., (1974) tarafından önerilen reaksiyon ortamında yani 5mM/kuyucuk GST, 1mM/kuyucuk pNBC final konsantrasyonlarında ve pH:6.5'de çok yüksek arka plan ABS değerleri oluşturduğu izlendi.

pNBC substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Hasta Numaraları	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	pNBC mM/kuyucuk	Enzim µg/kuyucuk
23	-0,1234	-0,1534	-0,0710	5	1	163
23	0,1006	0,0386	0,0926	5	1	326
23	-0,1585	-0,2088	-0,1621	5	1	32.6
23	-0,0316	-0,0428	-0,0357	5	1	65.2

Okunan değerlerin aktivite ya da arka planda meydana gelen bir reaksiyon olduğuna karar verilemediği için optimizasyonlara devam edildi.

pNBC substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Hasta Numaraları	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	pNBC mM/kuyucuk	Enzim µg/kuyucuk
23	0,03920	-0,0618	0,02209	1	1	326
35	0,02258	0,05314	0,1032	1	1	223.25
36	0,1136	0,1039	0,1126	1	1	298.5
38	-0,04466	-0,0935	0,0068	1	1	310.75
39	0,03920	-0,0618	0,02209	1	1	224.5

Arka plandaki reaksiyon çok yüksek okunduğundan GSH ve pNBC konsantrasyonları düşürülerek optimizasyona devam edildi.

pNBC substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Hasta Numaraları	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	pNBC mM/kuyucuk	Enzim µg/kuyucuk
38	-0,07190	-0,0458	0,009107	0.2	0.2	310.75
38	-0,1327	-0,0394	-0,04468	0.2	0.2	62.15
38	-0,08278	-0,0606	0,005613	0.2	0.2	31.075

Reaksiyon başlangıcından yarım saat sonra bile kuyucuklarda okunan pozitif değerler, bu deneyler sonucunda reaksiyondan kaynaklanan bir oranın değil devam eden renk değişiminin ölçüldüğünü gösterdi. Bu nedenle arka plandaki reaksiyonun düşürülmesi ve enzimin kullanabileceği ve ölçüm alabilinceye kadar oranı koruyacak/devam ettirecek substrat konsantrasyonunun bulunması için optimizasyonlara devam edildi. Hastalara ait homojenatlarda enzim aktivitesinin azalmış olabileceği olasılığı da göz önünde bulundurularak reaksiyon ortamına ait bileşenlerin konsantrasyonuna karar verilmeye kadar kuzu karaciğer homojenatı ile çalışıldı.

pNBC substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Homojenat	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	pNBC mM/kuyucuk	Enzim µg/kuyucuk
Karaciğer	-0,000116	-0,000147	-0,0000844	5	-	170
Karaciğer	0,001905	-0,001726	-0,009362	-	1	170
Karaciğer	-0,000580	-0,000777	-0,001018	5	1	8.5
Karaciğer	0,0000514	0,001152	-0,0000447	5	1	17
Karaciğer	0,0005536	0,0002665	0,0004542	5	1	42.5
Karaciğer	-0,001188	0,002561	0,001847	5	1	85
Karaciğer	0,002085	0,003580	0,004228	5	1	170

pNBC substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Homojenat	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	pNBC mM/kuyucuk	Enzim µg/kuyucuk
Karaciğer	0,0006786	-0,004077	-0,002377	5	-	170
Karaciğer	0,01733	0,01738	0,01599	-	1	170
Karaciğer	0,005351	0,006955	0,008417	-	1	-
Karaciğer	0,009145	0,02456	-0,005816	5	1	42.5
Karaciğer	0,02318	0,0006531	-0,002642	5	1	85
Karaciğer	0,005597	0,01071	0,006043	5	1	170

Reaksiyon ortamında pNBC olmadığında ABS değerlerinin çok düşük ve sabit olduğu pNBC varlığında ise ABS değerlerinin yaklaşık 5 kat arttığı gözlemlendi. pNBC'ın 0.5 mM/kuyucuk konsantrasyonunda daha anlamlı sonuç elde edildiği gözlemlendi.



pNBC substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Homojenat	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	pNBC mM/kuyucuk	Enzim $\mu$ g/kuyucuk
Karaciğer	0,02007	0,01299	0,01731	2.5	1	85
Karaciğer	0,02757	0,02624	0,01536	5	0.5	170
Karaciğer	0,003884	0,003979	0,005400	2.5	0.5	85
Karaciğer	0,006623	0,003325	0,009613	5	1	170

5 mM GSH, 0.5 mM pNBC ve 170  $\mu$ g/kuyucuk konsantrasyonları denendiğinde 4 ve 5. dakikalardan sonra reaksiyon kuyucuklarında ABS'nin artmaya başladığı, aynı dakikalarda ise kördeki azalmanın sabitlendiği gözlemlendi. Bu nedenle bundan sonraki deneyde ELISA Mikro Plaka Okuyucu sisteme okutulmadan önce 5 dakika inkübasyon süresi uygulandı.

pNBC substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları			
Hız-1	Hız-2	Hız-3	Kör
0,419	0,528	0,55	0,491
0,421	0,531	0,551	0,49
0,421	0,533	0,553	0,488
0,423	0,534	0,555	0,495
0,425	0,534	0,557	0,491
0,427	0,537	0,56	0,498
0,427	0,538	0,561	0,484
0,429	0,539	0,563	0,484
0,43	0,541	0,565	0,486
0,432	0,542	0,567	0,485
0,433	0,544	0,569	0,494
0,434	0,545	0,571	0,488

5 dakikalık inkübasyon sonrası ELISA Mikro Plaka Okuyucu sistemde okuma yapıldı.

pNBC substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Homojenat	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	pNBC mM/kuyucuk	Enzim $\mu$ g/kuyucuk
Karaciğer	0,001226	0,001332	0,000125	5	0.5	42.5
Karaciğer	0,003188	0,003273	0,00120	5	0.5	85
Karaciğer	0,002318	0,005051	0,00348	5	0.5	170

5 dakikalık inkübasyon yapılmadan aynı deney tekrar edildi. 42.5 µg/kuyucuk enzim içeren kuyucuklarda arka planda çok fazla reaksiyon olmasına bağlı olarak aktivite gözlenmezken, 85 ve 170 µg/kuyucuk enzim içeren reaksiyon ortamlarında enzim konsantrasyonunun artışı ile orantılı olarak hız değerlerinde de bir artış gözlemlendi.

pNBC substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Homojenat	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	pNBC mM/kuyucuk	Enzim µg/kuyucuk
Karaciğer	0,000321	0,000199	0,000226	5	0.5	42.5
Karaciğer	0,00136	0,001150	0,001214	5	0.5	85
Karaciğer	0,00312	0,002600	0,002665	5	0.5	170

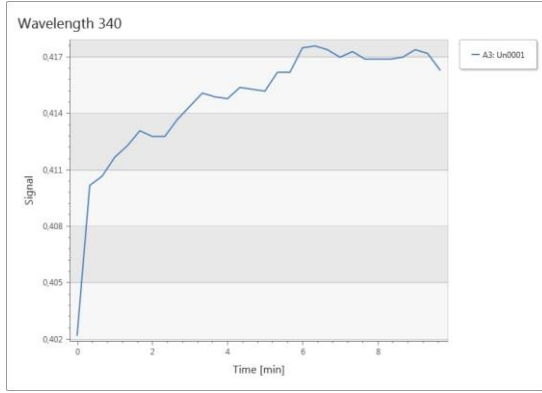
Kördeki reaksiyon değerinin düşürülmesi amacıyla pNBC konsantrasyonu yarıya indirilerek deney tekrar edildi. Bu konsantrasyonda da arka plan ABS değerinin başarılı bir şekilde azaltılabildiği ve 170 µg/kuyucuk enzim konsantrasyonunda enzim aktivitesinin ölçülebildiği gözlemlendi. Ancak 0.5 mM/kuyucuk pNBC kullanıldığı zaman elde edilen sonuçların daha anlamlı olduğu gözlemlendi. Bu nedenle 0.5 mM/kuyucuk pNBC'nin final konsantrasyonu olarak kullanılmasına karar verildi.

pNBC substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Homojenat	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	pNBC mM/kuyucuk	Enzim µg/kuyucuk
Karaciğer	0,000977	0,0006292	0,000744	5	0.25	42.5
Karaciğer	0,0001639	0,00006548	0,000479	5	0.25	85
Karaciğer	0,002579	0,002778	0,003546	5	0.25	170

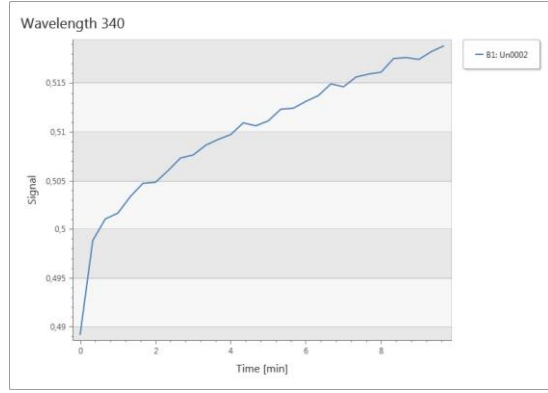
36 numaralı hastaya ait enzim aktivitesi ölçümü 0.5 mM/kuyucuk pNBC ve 5 mM/kuyucuk GSH ve 1158 µg/kuyucuk konsantrasyonunda gerçekleştirildi ve enzim aktivitesinin başarılı bir şekilde ölçülebildiği gözlemlendi. Tüm hastalara ait enzim aktiviteleri GSH ve pNBC'in bu konsantrasyonlarında, kuyucuk dışında enzim seyretmesi yapılmaksızın belirlendi.

pNBC substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Hasta Numarası	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	pNBC mM/kuyucuk	Enzim µg/kuyucuk
36	0,0006233	-0,0003382	-0,00008062	5	0.5	231.6
36	0,003053	0,003150	0,002867	5	0.5	1158

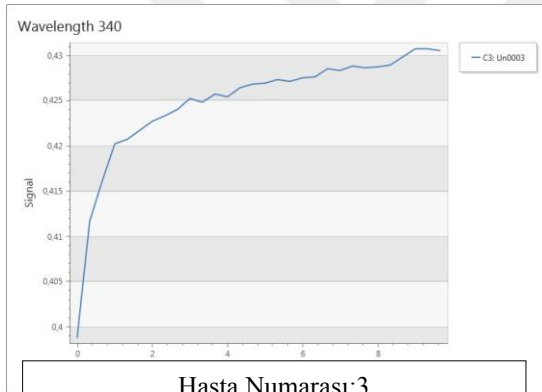
## EK2. Hastalar için pNBC substratı ile belirlenen enzim aktiviteleri



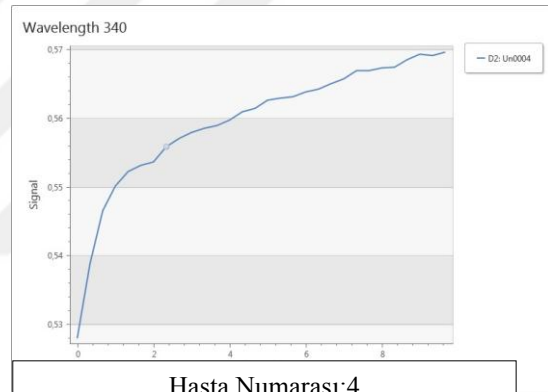
Hasta Numarası:1



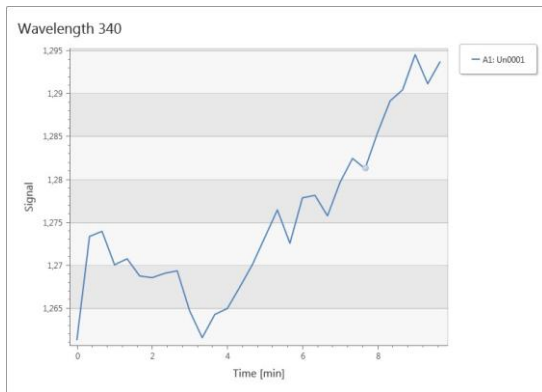
Hasta Numarası:2



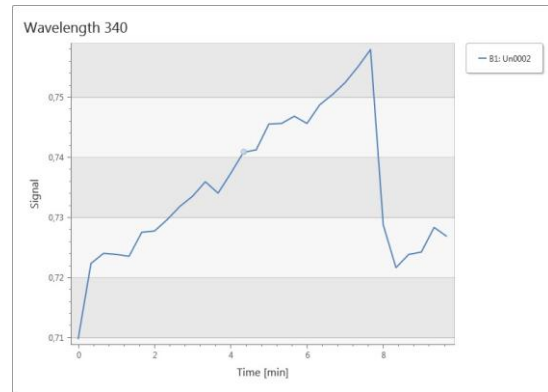
Hasta Numarası:3



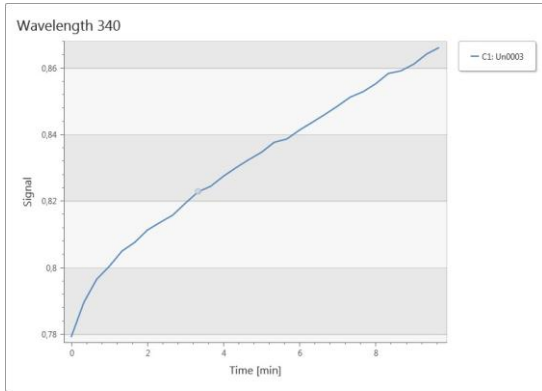
Hasta Numarası:4



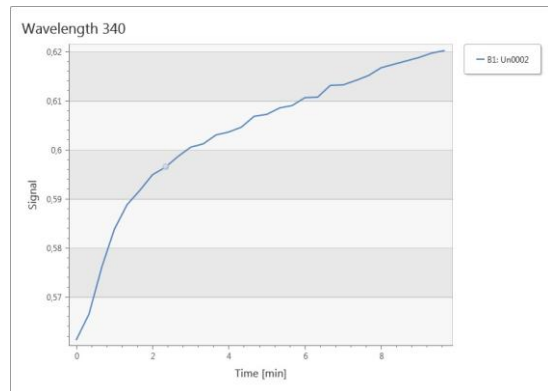
Hasta Numarası:5



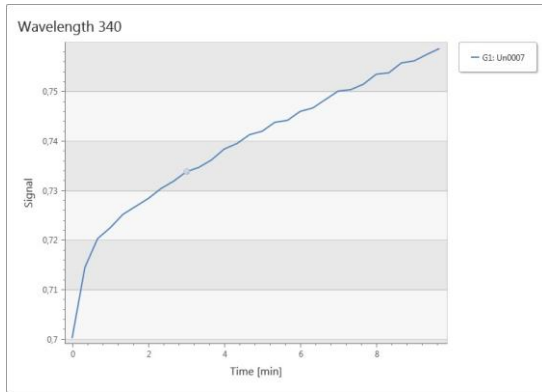
Hasta Numarası:6



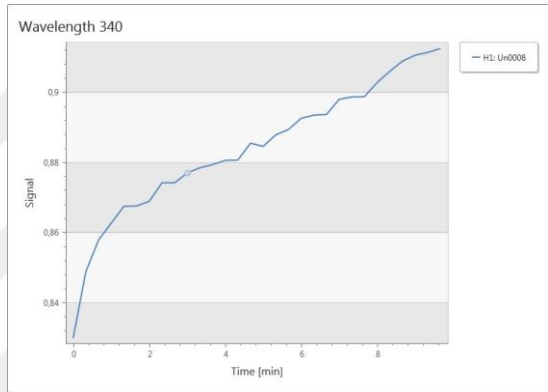
Hasta Numarası:7



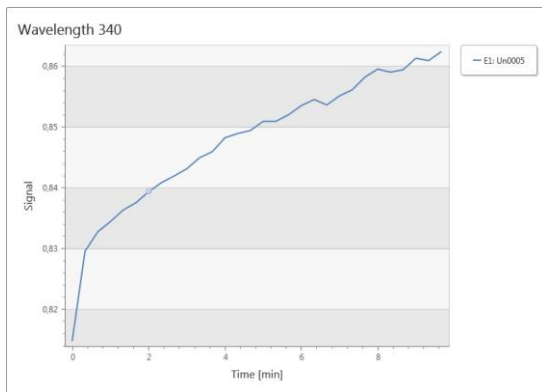
Hasta Numarası:8



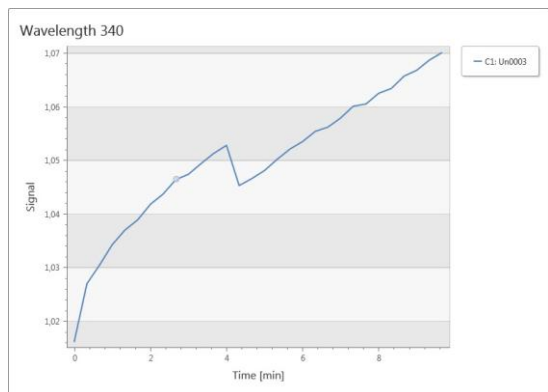
Hasta Numarası:9



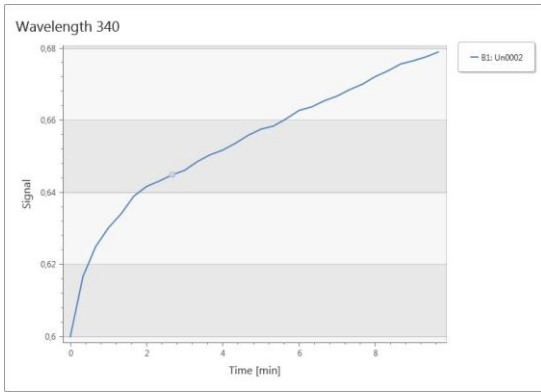
Hasta Numarası:10



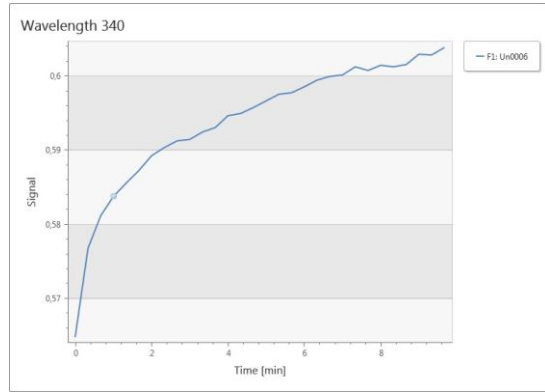
Hasta Numarası:12



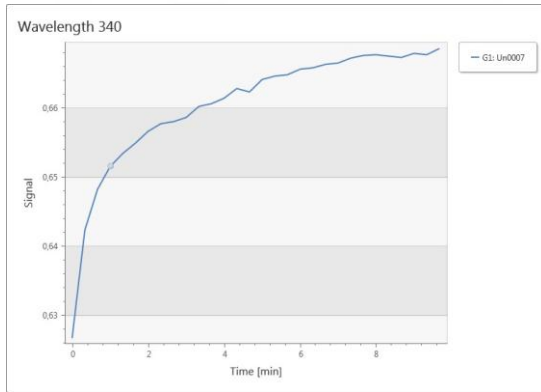
Hasta Numarası:13



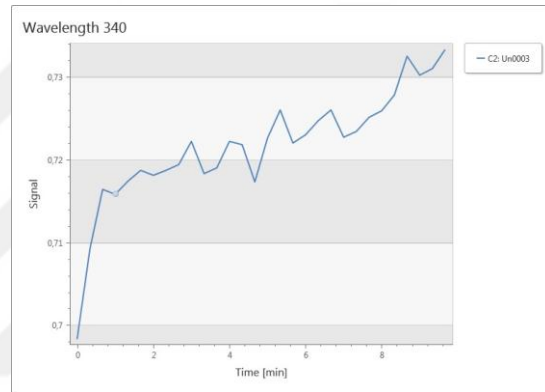
Hasta Numarası:14



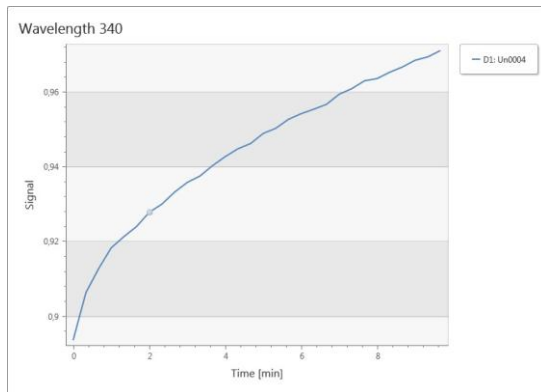
Hasta Numarası:15



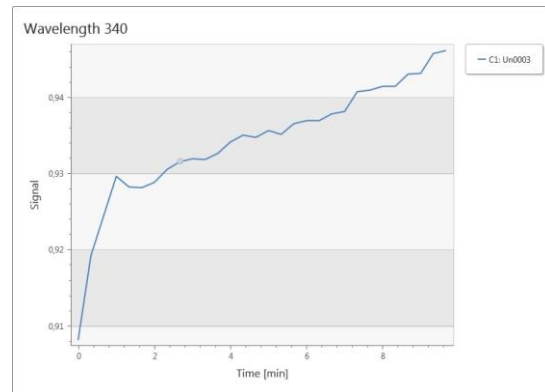
Hasta Numarası:16



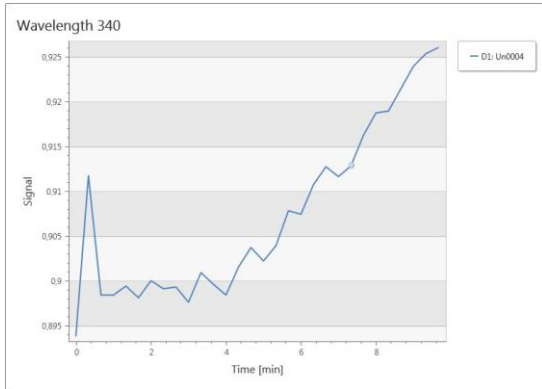
Hasta Numarası:17



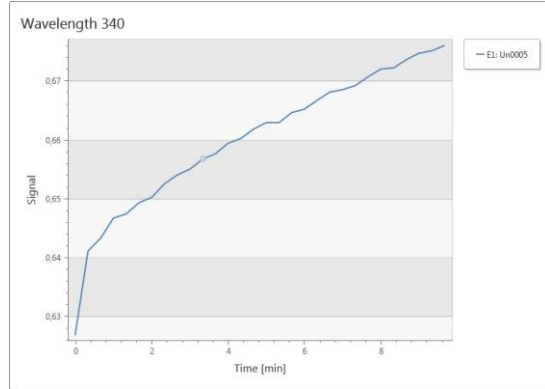
Hasta Numarası:18



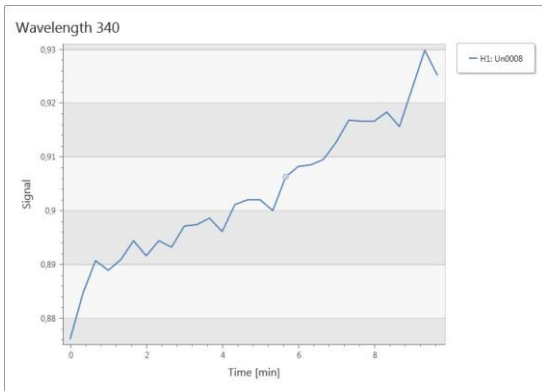
Hasta Numarası:19



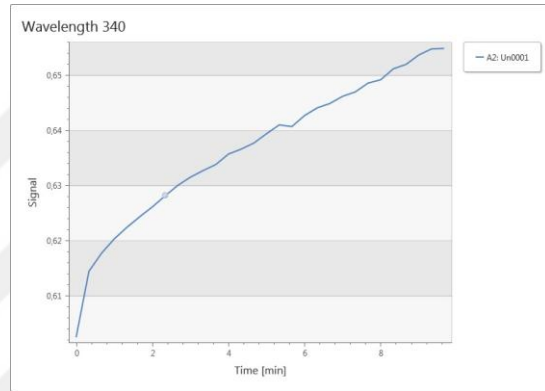
Hasta Numarası:20



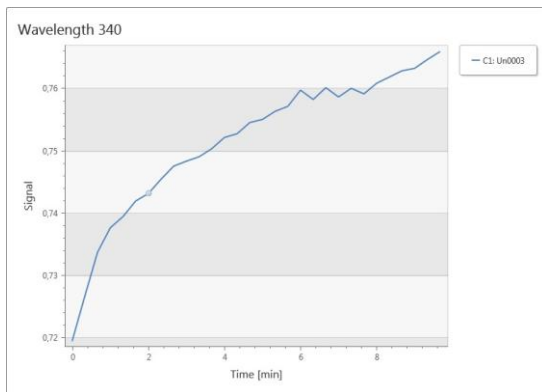
Hasta Numarası:21



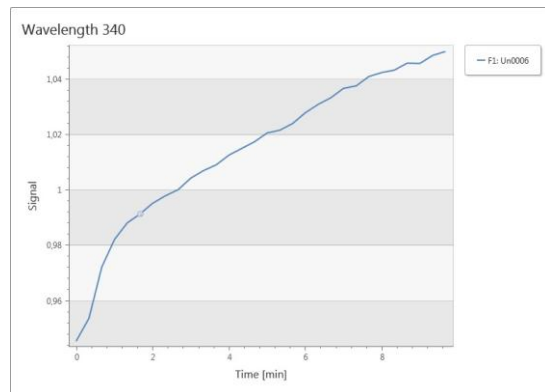
Hasta Numarası:22



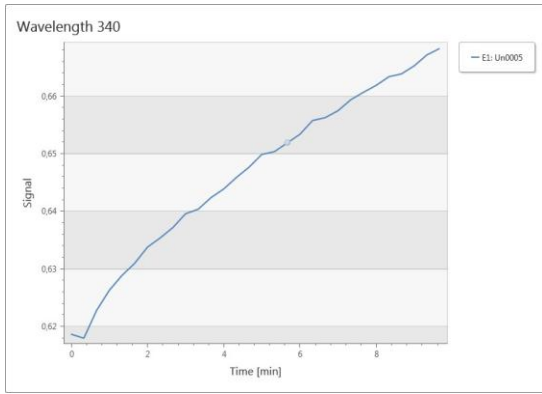
Hasta Numarası:23



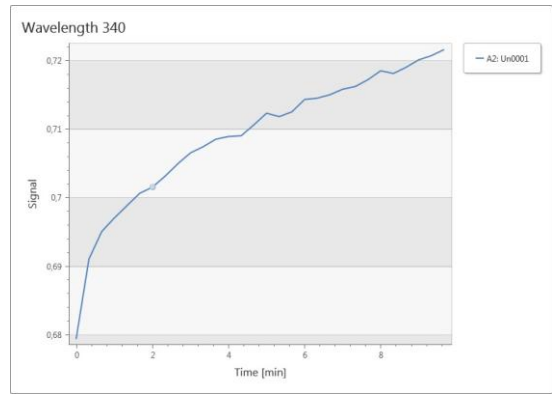
Hasta Numarası:24



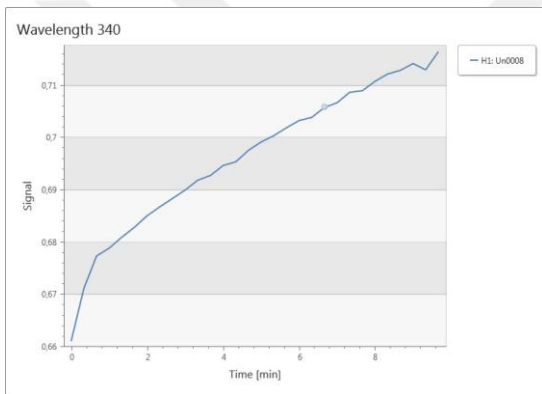
Hasta Numarası:25



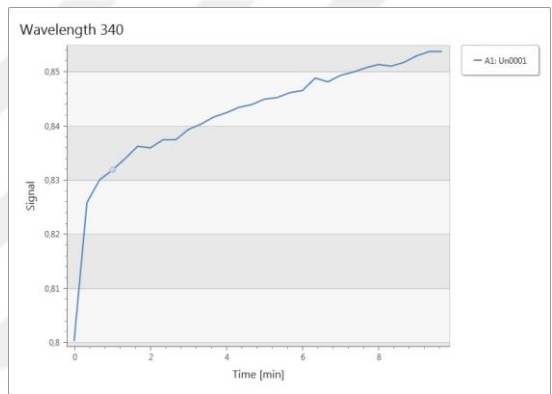
Hasta Numarası:26



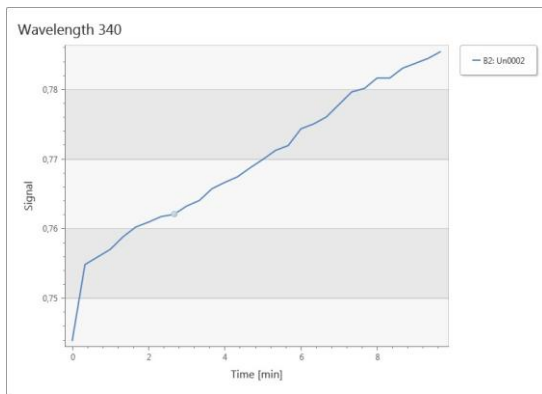
Hasta Numarası:27



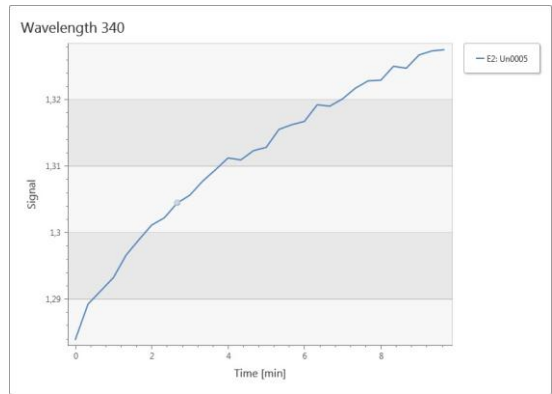
Hasta Numarası:28



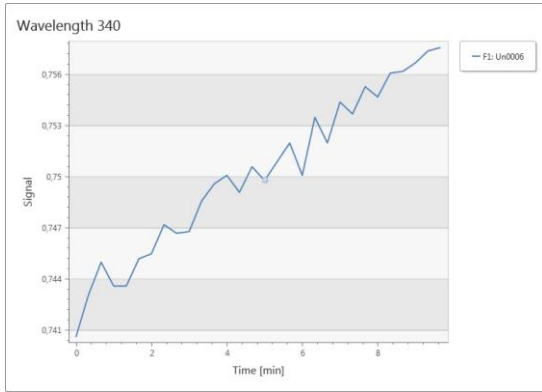
Hasta Numarası:29



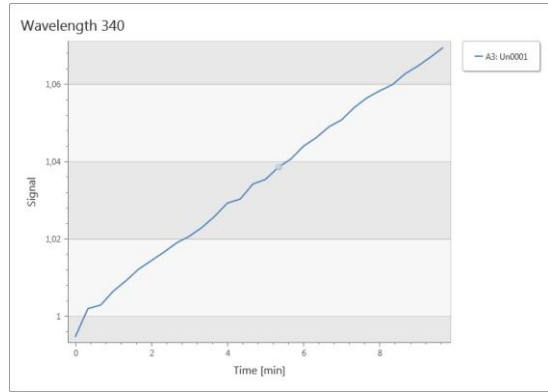
Hasta Numarası:30



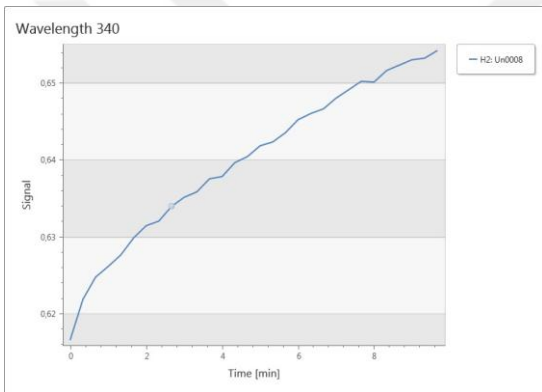
Hasta Numarası:31



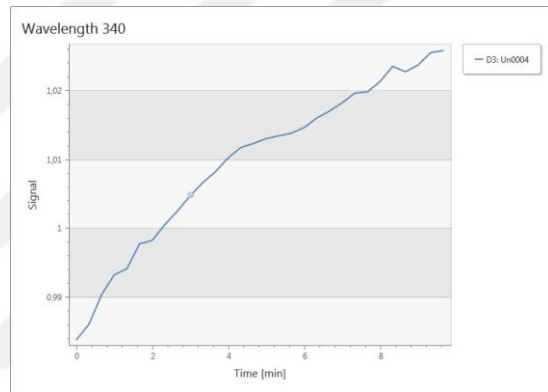
Hasta Numarası:32



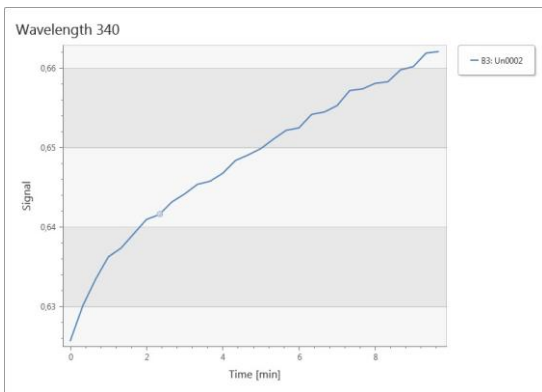
Hasta Numarası:33



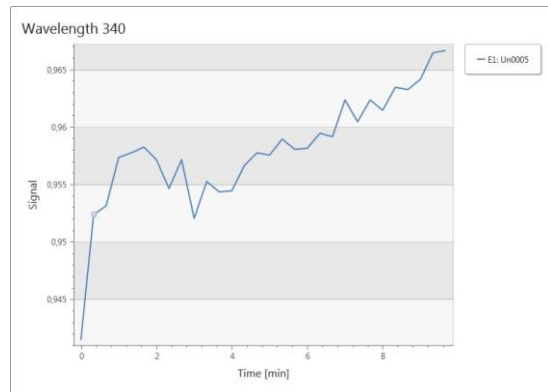
Hasta Numarası:34



Hasta Numarası:35

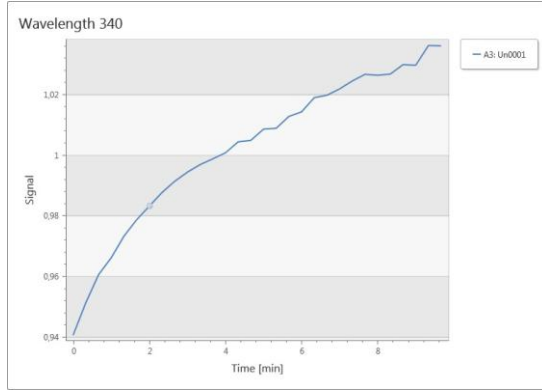


Hasta Numarası:36

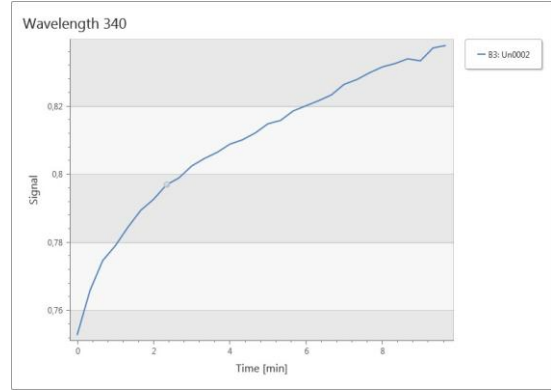


Hasta Numarası:37





Hasta Numarası:38



Hasta Numarası:39

### EK 3. EPNP substratı ile GST enzimi spesifik aktivitesinin belirlenmesi için yapılan optimizasyonlar

EPNP'nin Habig ve ark., (1974) tarafından önerilen reaksiyon ortamında yani 5mM/kuyucuk GST, 5mM/kuyucuk EPNP final konsantrasyonlarında ve pH: 6.5'de çok yüksek arka plan ABS değerleri oluşturduğu ve bu nedenle aktivite okunamadığı izlendi.

#### EPNP substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları

Hasta Numarası	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	EPNP mM/kuyucuk	Enzim $\mu$ g/kuyucuk
28	NaN	NaN	NaN	5	5	1110

Deney EPNP'nin farklı konsantrasyonları kullanılarak tekrar edildi.

#### EPNP substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları

Hasta Numarası	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	EPNP mM/kuyucuk	Enzim $\mu$ g/kuyucuk
28	-0,005356	-0,006481	0,006827	5	0.25	1110
28	0,005830	0,007862	-0,001482	5	0.5	1110
28	-0,01699	-0,02155	-0,05886	5	1	1110
28	0,09497	0,08907	0,05365	5	1.5	1110
28	0,06127	0,08689	0,04449	5	2	1110

Enzim aktivitesinin azalmış olmasından kaynaklanabilecek deneysel bir hatanın önüne geçebilmek için aynı hastada enzim aktivitesi CDNB substratı kullanılarak pH: 7.0 ve reaksiyon ortamında 340nm’de okundu.

CDNB substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Hasta Numarası	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	CDNB mM/kuyucuk	Enzim $\mu\text{g/kuyucuk}$
28	0,04655	0,05304	0,05257	1	1	111

CDNB ile aktivite ölçümünün yapılabildiği görüldü ve hasta no 28’e ait enzim aktivitelerinin ölçümüne pH: 6.5’de, EPNP substratı ve enzimin farklı konsantrasyonları kullanılarak devam edildi.

EPNP substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Hasta Numarası	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	EPNP mM/kuyucuk	Enzim $\mu\text{g/kuyucuk}$
28	0,007508	0,01066	0,008548	5	0.25	111
28	0,004074	0,001806	0,004073	1	0.125	111
28	0,004724	0,006672	0,003024	5	0.125	111

Arka planda okunan yüksek reaksiyonun, enzim aktivitesinin okunabileceği değerlere düşürülmesi için enzim ve EPNP konsantrasyonları değiştirilerek optimizasyon çalışmalarına devam edildi.

EPNP substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Hasta Numarası	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	EPNP mM/kuyucuk	Enzim $\mu\text{g/kuyucuk}$
38	-0,003604	-0,001995	-0,0006186	5	0.25	124.3
38	-0,0007271	0,002844	-0,00006503	5	0.25	248.6
38	-0,0007841	0,0001669	-0,003811	5	0.5	124.3
38	0,001679	0,007268	0,007599	5	0.5	248.6
23	0,01504	0,01138	0,01680	5	0.5	261.4
23	-0,02736	-0,02689	-0,02338	5	0.5	326.75

Optimizasyon çalışmaları GSH’un ve EPNP’nin farklı konsantrasyonları kullanılarak tekrarlandı.

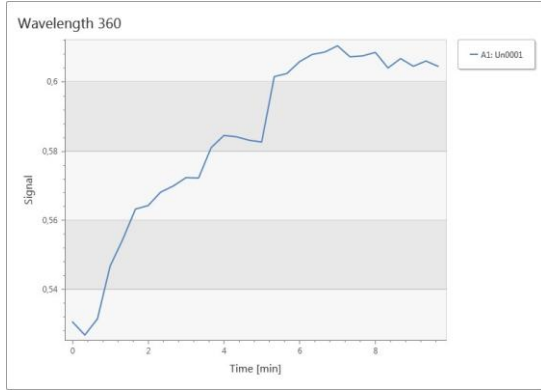
EPNP substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Hasta Numarası	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	EPNP mM/kuyucuk	Enzim $\mu$ g/kuyucuk
38	-0,0008863	0,001324	0,0005937	0.5	0.125	99.45
38	0,0007082	0,005679	0,007489	0.5	0.25	99.45
38	0,004627	-0,003895	-0,003460	0.5	0.5	99.45
38	-0,003591	-0,0006258	0,002402	1	0.125	99.45
38	0,01533	0,01201	0,01506	1	0.25	99.45
38	-0,004890	-0,02434	-0,004384	1	0.5	99.45
38	-0,004071	-0,0009023	0,0003824	2.5	0.125	99.45
38	-0,001824	-0,003288	-0,007637	2.5	0.25	99.45
38	-0,02748	-0,01245	-0,01649	2.5	0.5	99.45
38	-0,006671	-0,008371	-0,002713	5	0.125	99.45
38	-0,006055	-0,0008587	-0,008591	5	0.25	99.45
38	-0,01979	-0,01053	-0,01507	5	0.5	99.45

EPNP'nin 0.5 mM/kuyucuk konsantrasyonunda kuyucuk içinde çökelmenin meydana geldiği ve okunan değerlerin bu oluşumdan kaynaklandığı sonucuna varıldı. Bu nedenle optimizasyon çalışmalarına EPNP'nin 0.5 mM/kuyucuk konsantrasyonundan daha düşük konsantrasyonlarıyla devam edildi.

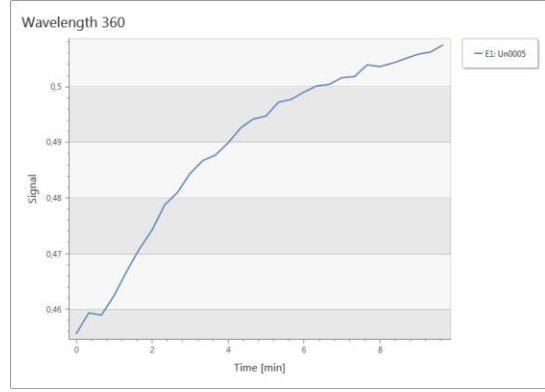
EPNP substratı kullanılarak alınan enzim aktivitesi sonuçları						
Hasta Numarası	Hız-1	Hız-2	Hız-3	GSH mM/kuyucuk	EPNP mM/kuyucuk	Enzim $\mu$ g/kuyucuk
38	-0,0006791	-0,0008722	-0,001075	0.5	0.125	248.6
38	0,005682	0,001375	0,0009811	0.5	0.25	248.6
38	-0,002070	-0,002890	0,000002547	1	0.125	248.6
38	-0,002888	-0,0001783	-0,002872	1	0.25	248.6
26	0,002433	-0,0007339	0,0004079	0.5	0.25	229.8

26 ve 38 numaralı hastalarda 0.5 mM/kuyucuk GSH, 0.25 mM/kuyucuk EPNP ve pH:6.5 reaksiyon ortamında enzim aktivitesinin en etkili şekilde belirlenebildiği görüldü. Bu nedenle bütün hastaların enzim aktivitesi 0.5 mM/kuyucuk GSH, 0.25 mM/kuyucuk EPNP kullanılarak ölçüldü.

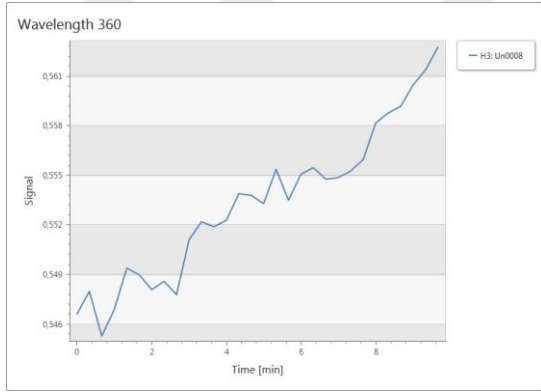
## EK.4. Hastalar için EPNP substratı ile belirlenen enzim aktiviteleri



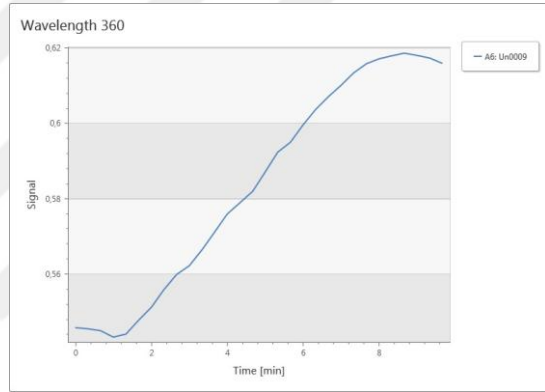
Hasta Numarası: 1



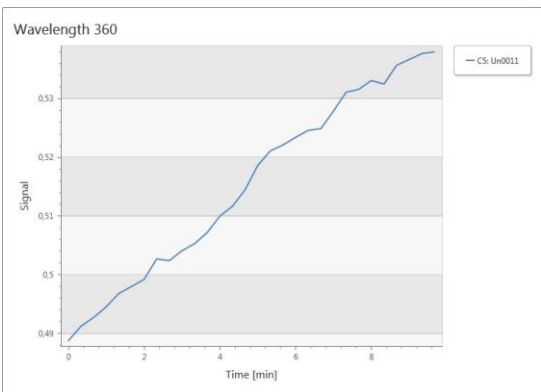
Hasta Numarası: 3



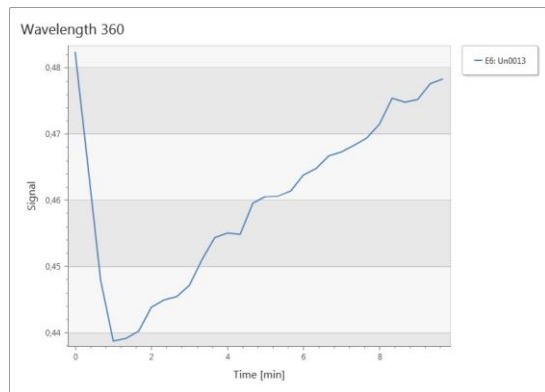
Hasta Numarası: 4



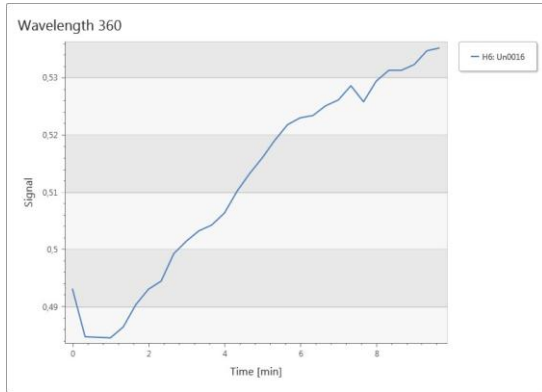
Hasta Numarası: 5



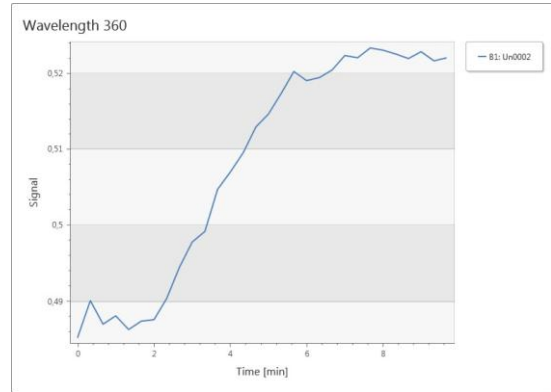
Hasta Numarası: 6



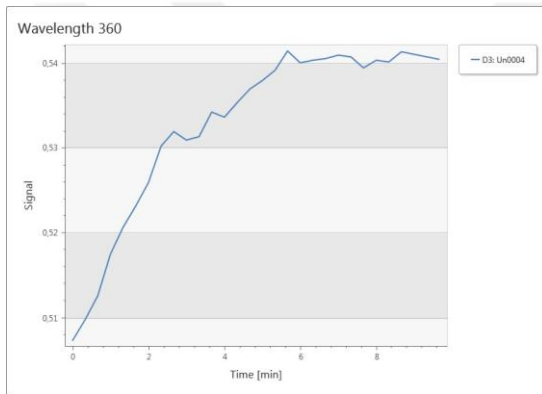
Hasta Numarası: 7



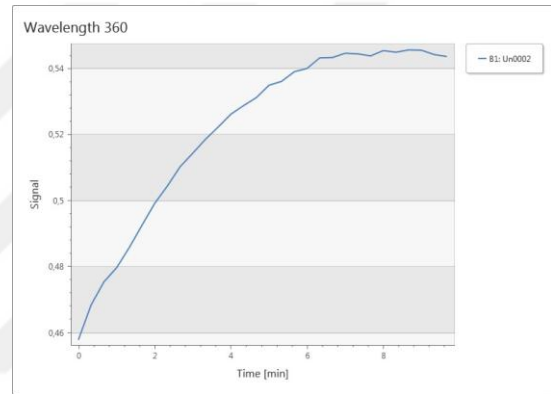
Hasta Numarası: 8



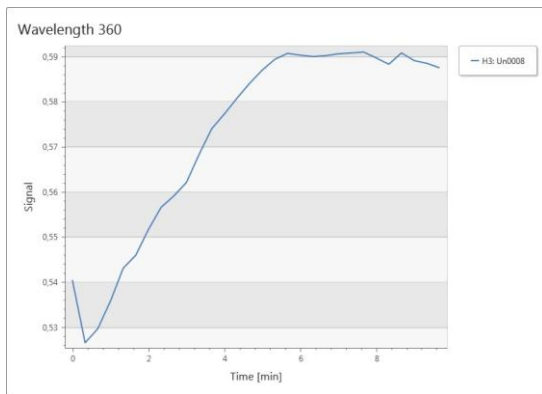
Hasta Numarası: 9



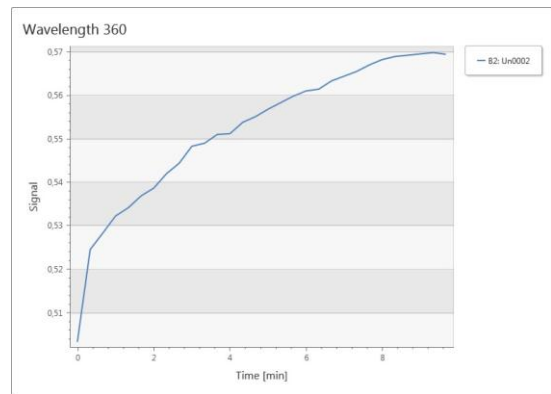
Hasta Numarası: 10



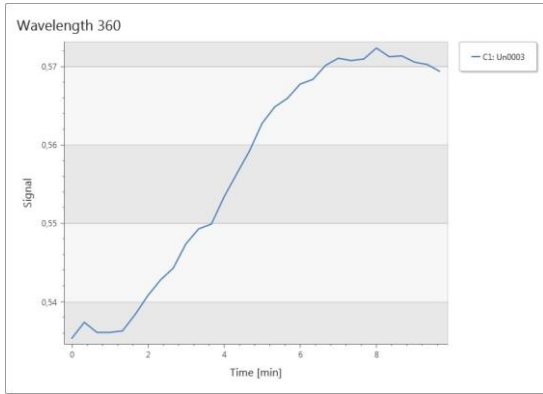
Hasta Numarası: 11



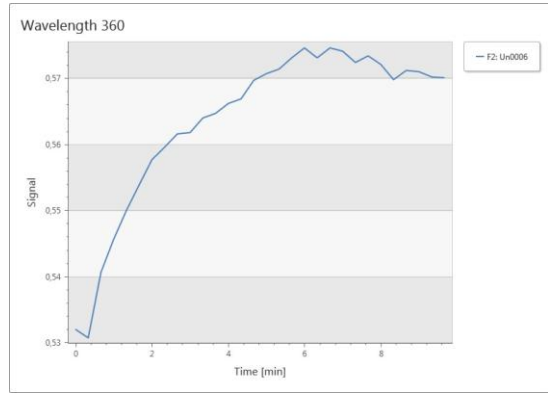
Hasta Numarası: 13



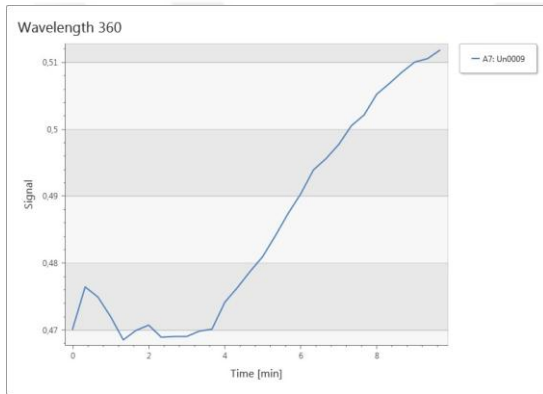
Hasta Numarası: 14



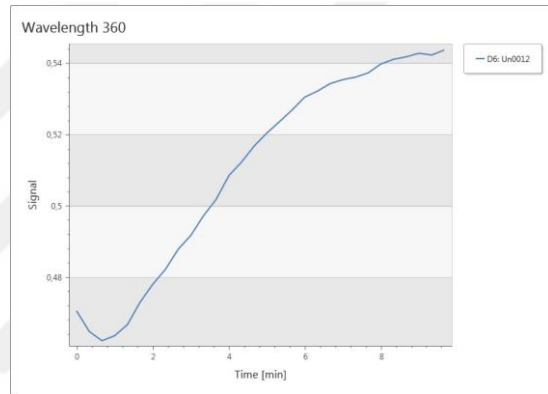
Hasta Numarası:15



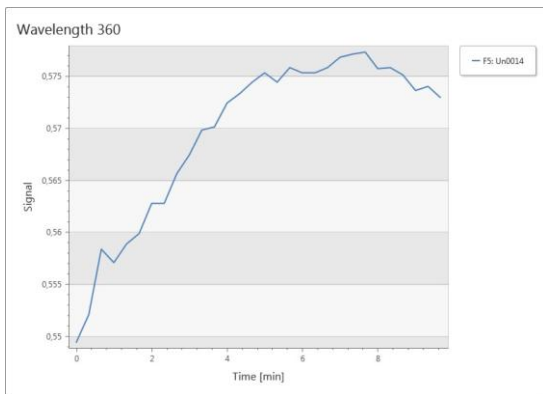
Hasta Numarası:16



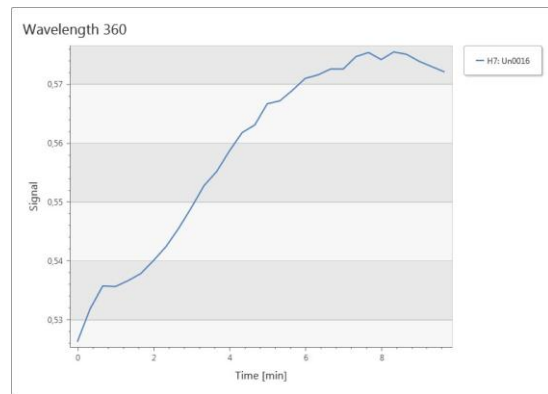
Hasta Numarası:18



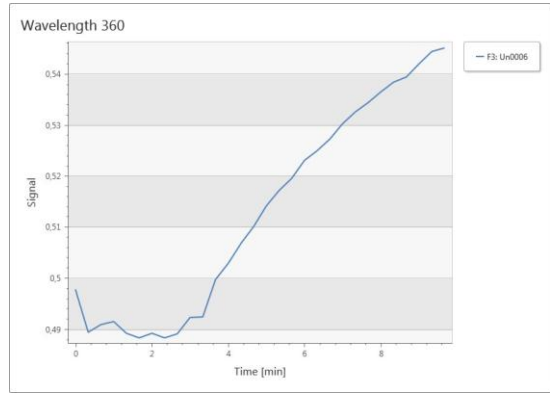
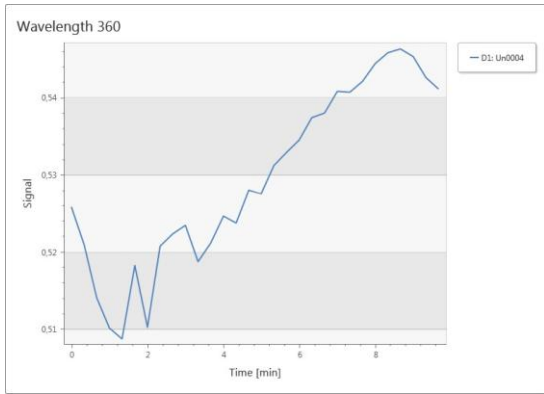
Hasta Numarası:19



Hasta Numarası:20

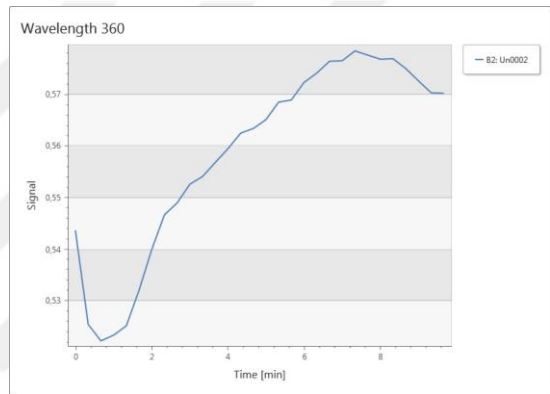
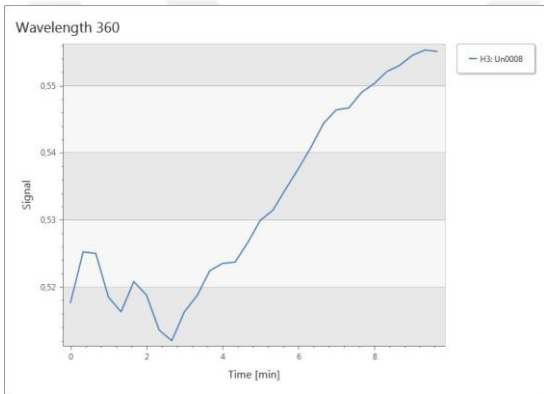


Hasta Numarası:21



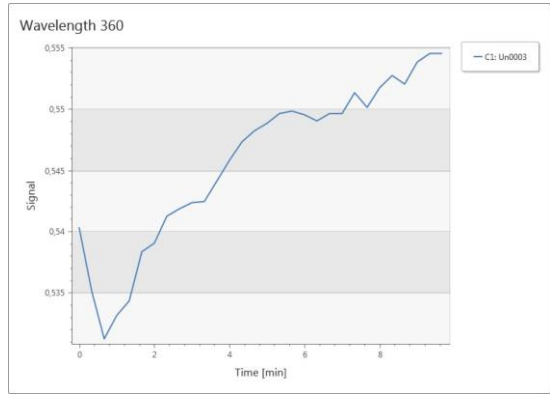
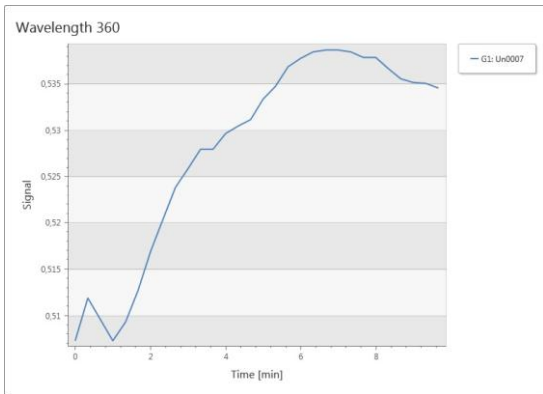
Hasta Numarası:22

Hasta Numarası:23



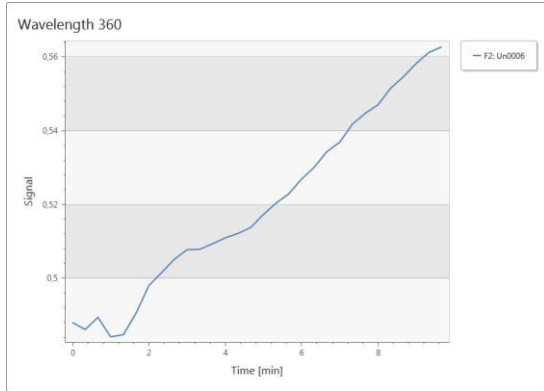
Hasta Numarası:24

Hasta Numarası:25

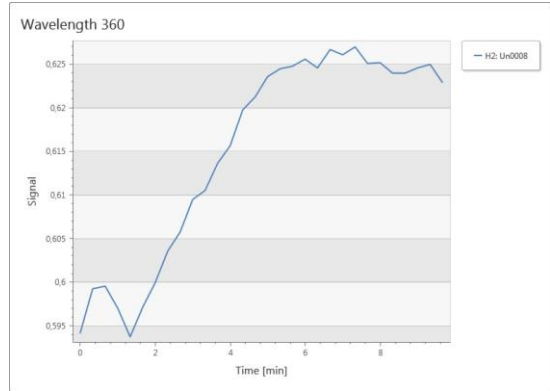


Hasta Numarası:26

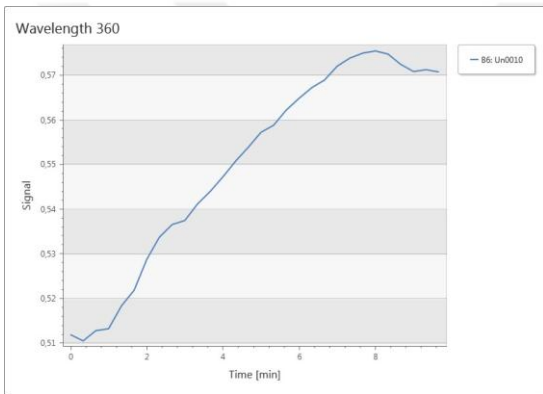
Hasta Numarası:27



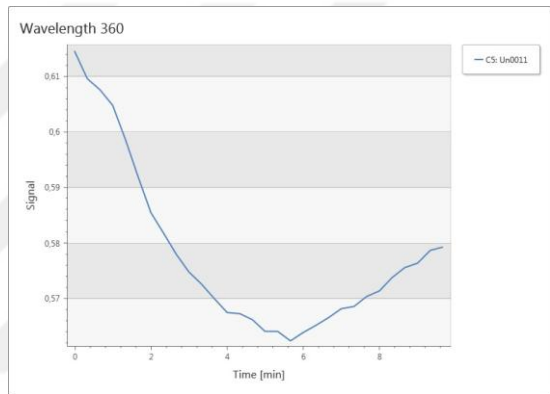
Hasta Numarası:28



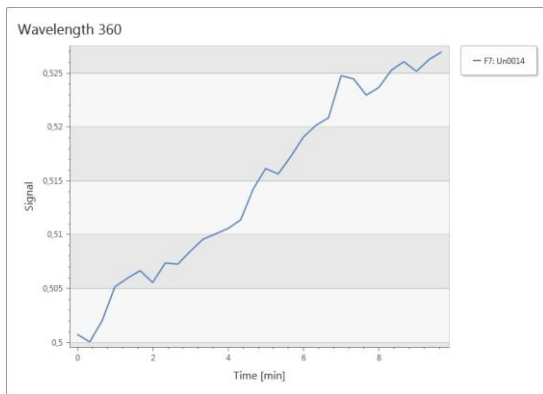
Hasta Numarası:29



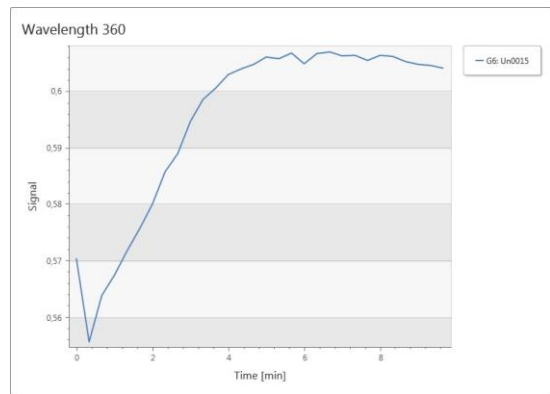
Hasta Numarası:30



Hasta Numarası:31

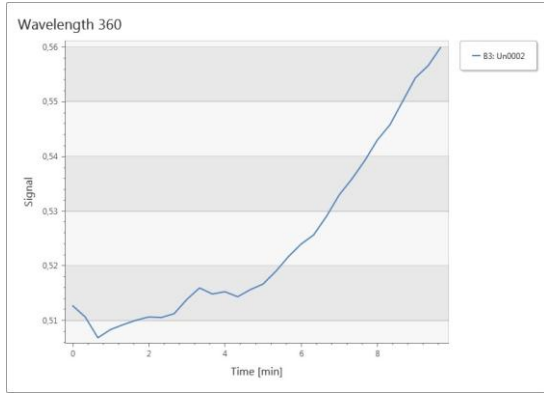


Hasta Numarası:32

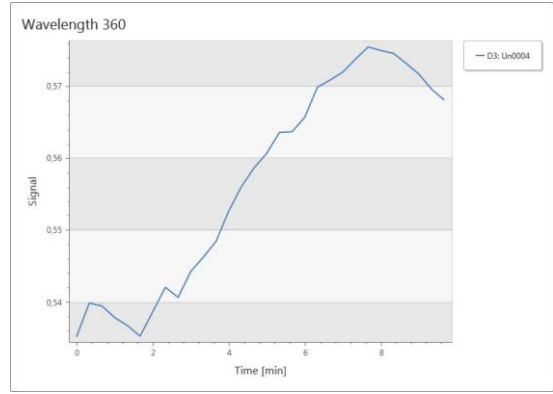


Hasta Numarası:33

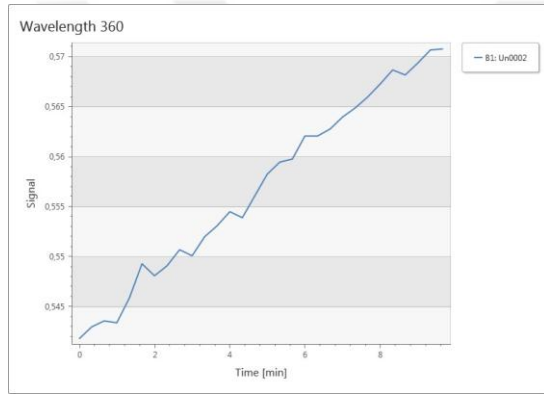




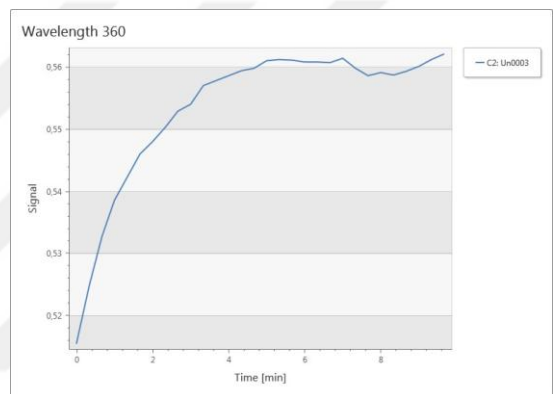
Hasta Numarası: 34



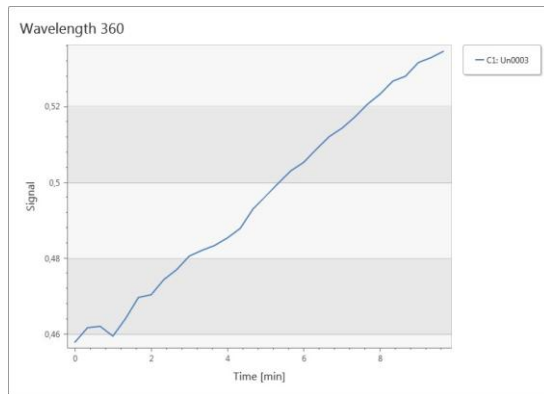
Hasta Numarası: 35



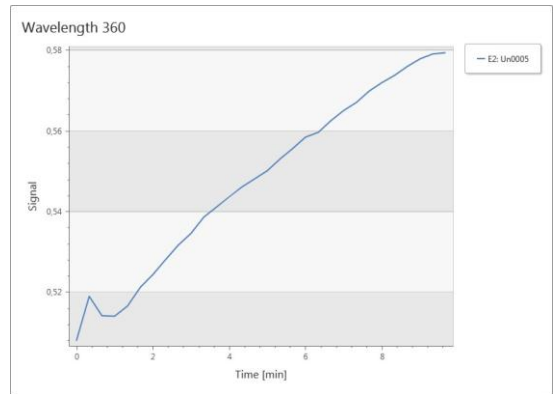
Hasta Numarası: 36



Hasta Numarası: 37



Hasta Numarası: 38



Hasta Numarası: 39



## ÖZ GEÇMİŞ

1992 yılında Van'da doğdu. Van Hüsrevpaşa İlköğretim Okulu'nda ilk öğrenimini, Niyazi Türkmenoğlu Anadolu Lisesi'nde ise orta öğrenimini tamamladı. 2011 yılında Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2015 yılında lisans eğitimini bitirip 2016 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda tezli yüksek lisans eğitimine başladı.



T.C  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 03/01/2019

Tez Başlığı / Konusu: **OBEZİTE HASTALARINDAN GASTREKTOMİ OPERASYONU İLE ELDE EDİLEN MİDE DOKULARINDA GLUTATYON S-TRANSFERAZ İZOZİMLERİNİN AKTİVİTELERİNİN VE TOPLAM TİYOL MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 161 sayfalık kısmına ilişkin, 03/01/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 0 (sıfır) dır.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

03.01.2019

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Ceylan FİDAN

Öğrenci No:159102177

Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Programı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Statüsü: Y. Lisans  Doktora

DANIŞMAN ONAYI  
UYGUNDUR

Dr. Öğretim Üyesi Can YILMAZ

ENSTİTÜ ONAYI  
UYGUNDUR

Prof. Dr. Suat ŞENSOY