

**T.C.**  
**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**METABOLİK SENDROM VE EŞLİK EDEN**  
**HASTALIKLARDA MULTİ BİYOMARKIR YAKLAŞIM**

**Dr. Semra CAN MAMUR**

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR**

**2011**



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**METABOLİK SENDROM VE EŞLİK EDEN  
HASTALIKLARDA MULTİ BİYOMARKIR YAKLAŞIM**

**Dr. Semra CAN MAMUR**

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Ömer ÇOLAK**

**ESKİŞEHİR  
2011**

## TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Semra CAN MAMUR'a ait "Metabolik Sendrom ve Eşlik Eden Hastalıklarda Multi Biyomarkır Yaklaşım" adlı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Özkan ALATAŞ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Üye	Prof. Dr. Ömer ÇOLAK Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Üye	Doç. Dr. Sema USLU Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun

Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Necmi ATA  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, benden her türlü desteğini, hoşgörüsünü ve karşılaştığım her türlü sorunda yardımını esirgemeyen tez hocam Prof. Dr. Ömer ÇOLAK'a, uzmanlık eğitimim boyunca her zaman yakın ilgi ve bilimsel desteklerini gördüğüm Prof. Dr. Özkan ALATAŞ'a, Prof. Dr. Mine İNAL'a, Prof. Dr. Güngör KANBAK'a, Doç. Dr. Sema USLU'ya, Yrd. Doç. Dr. Fahrettin AKYÜZ'e ve Yrd. Doç. Dr. Emine SÜTKEN'e, hastalarımın temini ve istatistik çalışmaları aşamasında gerekli desteği sağlayan Prof. Dr. Selma METİNTAŞ'a teşekkür ederim.

## ÖZET

**Can Mamur, S. Metabolik sendrom ve eşlik eden hastalıklarda multi biyomarkır yaklaşım. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2011.** Vasküler biyomarkırlar kardiyovasküler risk değerlendirmesinde olduğu gibi metabolik sendromlu bireylerin klinik takibinde de önemlidir. Bu biyomarkırların tek başına veya birlikte kullanımları metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalıklarda öngörücü olabilir. Bu çalışmada total kolesterol, trigliserid, LDL-K, HDL-K, AST, ALT, GGT düzeyleri ile paraoksonaz, arilesteraz ve arginaz aktivitelerini ölçerek bu parametrelerin metabolik sendrom (MS) ve birlikteliğindeki hastalıkları (DM, KVH) biyomarkır olarak öngörebilme kabiliyetlerini araştırmayı amaçladık. Bu çalışma yaşları 25 ile 69 arasında değişen, 90 hasta grubu (36 erkek ve 54 kadın) ile yaş ve cinsiyet uyumlu 30 kontrol grubunda (19 erkek ve 11 kadın) yapıldı. Metabolik sendromlu hastaların tanısı Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Uzman Paneli III kriterlerine göre konuldu. Hastalar ayrıca her biri 30 kişiden oluşan MS, MS + DM (Metabolik sendrom ve Diyabet) ve MS + KVH (Metabolik sendrom ve Kardiyovasküler hastalık) olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Hasta gruplarında kontrol grubuna göre, total kolesterol, TG, glukoz, GGT düzeyleri ve arginaz aktivitesi yüksek; paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesi ise düşük bulundu ( $p<0.001$ ). Kontrol grubu hasta gruplarına kıyasla daha yüksek paraoksonaz ve HDL düzeylerine sahipken, en düşük paraoksanaz aktivitesi MS + DM ve MS + KVH hasta gruplarında, en düşük HDL değerleri ise MS hasta grubunda görüldü. Paraoksonaz aktivitesi ile metabolik sendrom ve metabolik sendrom komponentleri arasında negatif korelasyon gözlenirken, arilesteraz ile sadece MS arasında negatif korelasyon bulundu. Arginaz ve GGT ile metabolik sendrom ve komponentleri arasında pozitif korelasyon bulundu. AST ve ALT düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ). Sonuç olarak MS ve öncülük ettiği DM, KVH'lerde GGT ve arginaz düzeylerinde artma ile paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinde azalma tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu biyomarkırların, bu hastalıkların öngörülmesinde yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Metabolik sendrom, Arginaz, Arilesteraz, GGT, Paraoksonaz

## ABSTRACT

**Can Mamur, S. Multi biomarker approach in metabolic syndrome and associated diseases. Medical Specialization Thesis, Department of Medical Biochemistry in Osmangazi University School of Medicine, Eskisehir, 2011.**

Vascular biomarkers are important in the clinical monitoring of individuals with metabolic syndrome, as in the evaluation of cardiovascular risks. The use of these biomarkers alone or in combination may be predictive of metabolic syndrome and cardiovascular diseases. In these study, we aimed to measure parameters including total cholesterol, triglycerides, LDL-C, HDL-C, AST, ALT and GGT levels, and paraoxonase, arylesterase and arginase activities and to investigate the predictive capabilities of these parameters as a biomarker in metabolic syndrome (MS) and associated diseases (DM, CVH). This study included a patient group of 90 patients (36 male and 54 female) with ages ranging between 25 and 69, and an age and sex matched control group of 30 patients (19 male and 11 female). Diagnosis of the patients with metabolic syndrome was made according to criteria of NCEP-ATP III. Patients were divided into three groups, each consisting of 30 people: MS, MS + DM (Metabolic syndrome and Diabetes Mellitus) and MS + CVH (Metabolic syndrome and Cardiovascular disease). Total cholesterol, TG, glucose and GGT levels and arginase activity were higher, and paraoxonase and arylesterase activities were lower in the patient groups compared to the control group ( $p < 0.001$ ). While paraoxonase activity and HDL levels were higher in the control group than the patient groups, the lowest paraoxonase activity was observed in MS + DM and MS + CVH patient groups, and the lowest HDL levels were observed in MS patient group. While a negative correlation was observed between paraoxonase activity and metabolic syndrome and components of metabolic syndrome, such negative correlation was found only between arylesterase and MS. A positive correlation was found between arginase and GGT, and metabolic syndrome and its components. AST and ALT levels showed no significant difference between groups ( $p > 0.05$ ). In conclusion, GGT and arginase levels were found to increase and paraoxonase and arylesterase activities were found to decrease in MS, MS-related DM and CVHs. Therefore, it is thought that these biomarkers may be useful in predicting these disorders.

**Key Words:** Arginase, Arylesterase, GGT, Paraoxonase

**İÇİNDEKİLER**

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLOLAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Metabolik Sendrom	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Epidemiyoloji	3
2.1.3. Tanı Kriterleri	4
2.1.4. Metabolik Sendrom Bileşenleri ve Etyopatogenezi	7
2.2. Metabolik Sendrom Birlikteliğindeki Hastalıklar	20
2.2.1. Kardiyovasküler Hastalıklar	20
2.2.2. Ateroskleroz	21
2.2.3. Tip 2 DM	22
2.3. Multi Biyomarkır Yaklaşım	22
2.4. Paraoksonaz	24
2.4.1. Yapısı ve Özellikleri	24
2.4.2. PON-1 Fonksiyonu	26
2.5. Arginin ve Arginaz	27
2.5.1. Nitrik Oksit ve Arginaz	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Gereçler	32
3.2. Yöntemler	34
3.2.1. Serum Arginaz Aktivitesinin Tayini	36
3.2.2. Paraoksanaz-1 (PON-1) Ölçümü	40



	Sayfa
3.2.3. Arilesteraz Ölçümü	40
4. BULGULAR	42
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	64

## SİMGELER VE KISALTMALAR

AACE	Amerikan Klinik Endokrinoloji Derneği
AKŞ	Açlık kan şekeri
ALT	Alanin aminotransferaz
ARE	Ariesteraz
AST	Aspartat aminotransferaz
BKİ	Beden kitle indeksi
CETP	Kolesterol ester transfer protein
CRP	C-Reaktif Protein
DM	Diabetes Mellitus
EGIR	Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu
GGT	Gama glutamil transferaz
GLUT4	İnsüline bağımlı glukoz taşıyıcısı- 4
HDL-K	Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol
HT	Hipertansiyon
IDF	Uluslararası Diyabet Birliği
IRS	İnsülin reseptör substratı
KAH	Koroner arter hastalığı
LDL-K	Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
MS	Metabolik sendrom
NCEP ATP III	Ulusal kolesterol eğitim programı üçüncü erişkin tedavi paneli
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitör-1
PPAR	Peroksizom proliferasyonu aktive edici reseptör
PON-1	Paraoksonaz-1
RAS	Renin anjiotensin sistem
sdLDL-K	Küçük yoğun düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
SYA	Serbest yağ asiti
TG	Trigliserid
TNF- $\alpha$	Tümör nekrozis faktör alfa
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

**ŞEKİLLER**

	Sayfa
2.1. İnsülin sinyalizasyonu	8
2.2. Obezite ve adipositokinler	14
2.3. İnsülin direnci ve dislipidemi ilişkisi	17
2.4. Paraoksanaz-1 (PON-1) fonksiyonu	27
2.5. Memeli arginin metabolizması	28
2.6. Arginaz ve NOS tarafından gerçekleştirilen L-arginin metabolizması	29
2.7. Damar hastalıklarının arginaz tarafından tetiklenmesini gösteren model	30
4.1. Çalışma gruplarının GGT düzeyleri	44
4.2. Çalışma gruplarının arginaz aktiviteleri	45
4.3. Çalışma gruplarının paraoksanaz aktiviteleri	46
4.4. Çalışma gruplarının arilesteraz aktiviteleri	47
4.5. PON için ROC eğrisi	50
4.6. ARE için ROC eğrisi	50
4.7. GGT için ROC eğrisi	51
4.8. Arginaz için ROC eğrisi	51

**TABLÖLAR**

	Sayfa
2.1. WHO metabolik sendrom tanı kriterleri	5
2.2. NCEP ATP III metabolik sendrom tanı kriterleri	5
2.3. IDF metabolik sendrom tanı kriterleri	6
4.1. Çalışma gruplarının demografik bulguları	42
4.2. Çalışma gruplarının biyokimyasal bulguları	43
4.3. Çalışma gruplarının GGT düzeyleri	44
4.4. Çalışma gruplarının arginaz aktiviteleri	45
4.5. Çalışma gruplarının paraoksonaz aktiviteleri	46
4.6. Çalışma gruplarının arilesteraz aktiviteleri	47
4.7. Çalışma grubu parametrelerinin metabolik sendrom ve tanı kriterlerine göre parsiyel korelasyon ( r ) düzeyleri	48
4.8. Bağımlı değişken olarak metabolik sendrom üzerine etkili faktörlerin kaba OR değerleri ve Güven aralıkları	49
4.9. ROC (receiver operating characteristic curve) kullanarak hesaplanan MS için PON ve ARE'nin karşılaştırma değerleri	50
4.10.ROC (Receiver Operating Characteristic Curve) kullanılarak hesaplanan MS için GGT ve Arginazın karşılaştırma değerleri	51

## 1. GİRİŞ

İnsülin direnci, aterosklerotik dislipidemi, hipertansiyon (HT), obezite ve yükselmiş açlık glukozu bileşenlerinden oluşan metabolik sendrom (MS) değişen beslenme alışkanlıkları ve artan sedanter yaşam tarzı ile birlikte tüm dünyada ve özellikle de sanayileşmiş ülkelerde gittikçe daha yaygın izlenmektedir.

Metabolik sendromda önemli bir yere sahip olan insülin direnci için risk teşkil eden santral obezitedir. Son 20 yılda, obezite ve diyabet (DM) prevalansındaki global artışla yakından ilişkili olarak, metabolik sendromlu hasta sayısında ciddi artış gözlenmiş ve dünya çapında ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir.

Kavram olarak metabolik sendrom, kardiyometabolik risk artışına yol açan faktörlerin tek başına değil de bir araya gelerek etkili olduklarına dikkat çekmektedir ve esas olarak bizlere kardiyovasküler olay ve diyabet gelişme riski yüksek olan kişileri saptama imkanı vermektedir (1).

Bu sendromun farklı organizasyonlara ait değişik tanımlamaları bulunmaktadır. En çok bilineni ve klinik pratikte uygulama kolaylığı nedeniyle en çok tercih edileni NCEP-ATP III metabolik sendrom tanımlamasıdır (2, 3). NCEP-ATP III' e göre HT, açlık kan şekeri yüksekliği, bel çevresi artışı, hipertrigliseridemi ve yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K) düzeyi düşüklüğünden üçünün varlığı metabolik sendrom tanısı için yeterlidir (4).

Tip 2 DM ve MS'de kardiyovasküler risk faktörlerinin artması multifaktöriyel olsa da, artmış TG (Trigliserid) ve düşük HDL-K ile karakterize aterojenik lipid profili major modifiye edilebilen faktördür (5). LDL-K'nin (Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol) oksidatif modifikasyonu ateroskleroz başlangıç ve progresyonunda önemli bir nedendir. Diğer taraftan HDL-K, antioksidan, anti-inflamatuar ve en önemlisi anti-aterojenik özellikleriyle bilinir (6). HDL-K'nin protektif etkisi HDL-K ile ilişkili çeşitli proteinlere dayandırılmaktadır. Paraoksonaz (PON-1) bunlardan biri olup antioksidan, anti-inflamatuar özellikleriyle aterogeneze karşı koruyucu olan HDL-K ilişkili bir enzimdir. Prospektif çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, HDL-K ilişkili PON-1 aktivitesinin azalması insanlarda endotel disfonksiyonuyla birlikte vasküler hastalıkları ilerlettiği gösterilmiştir (7). Endotel disfonksiyonunda, nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L-arginin kullanılarak damar endotelinde sentezlenen nitrik oksit (NO) miktarında azalma

meydana gelir. Bu azalma arterlerde özellikle de koroner arterlerde damar gerginliğinde artış ve vazospazm oluşumuna neden olur, düz kas hücre aktivasyonu artar ve sonuç olarak hücre proliferasyonu ve ateroskleroza kadar ilerler (8).

Substrat olarak L-arginini kullanarak NOS ile yarışan arginaz, bazı olası mekanizmalarla NO sentezini inhibe etmektedir (9). Bununla birlikte arginaz, arginin metabolizmasını düz kas hücrelerinde NO'dan L-ornitine sonra da poliaminlere ve proline kaydırabilir (10). Bu durumun düz kas hücre proliferasyonunu ve kollojenin devre dışı kalmasıyla vasküler lezyon oluşumunu indükleyerek, kardiyovasküler riskle ilişkili olayların patogenezinde rol oynadığı bazı çalışmalarda bildirilmiştir (9). Bunlarla ilişkili olarak oksidatif stres ve sistemik inflamasyonun artmış olması ateroskleroz ve metabolik sendrom progresyonu için anahtar faktör olarak düşünülmektedir. Yeni olarak, GGT'nin (Gama glutamil transferaz) MS ve kardiyovasküler hastalıkların (KVH) da biyomarkırı olabileceği öne sürülmüştür (11). GGT yüksekliği genelde hepatobilyer hastalık ve alkol alımının markırı olarak kullanılmakla birlikte yapılan çalışmalara göre MS ile GGT ilişkisi, GGT'nin antioksidan savunma sisteminde major bir role sahip olmasına ve oksidatif stres markırı olarak kullanılabilmesine bağlanmaktadır (11, 12). GGT ile birlikte ALT (Alanin aminotransferaz) ve AST (Aspartat aminotransferaz) enzimleri de MS ve KVH'lerle birçok çalışmada ilişkilendirilmiştir.

Sonuç olarak metabolik sendromla ilişkilendirilebilecek ama metabolik sendrom tanısına henüz dahil olmamış birçok biyomarkır bulunmaktadır (12). Vasküler biyomarkırlar kardiyovasküler risk değerlendirmesinde olduğu gibi MS'li bireylerin klinik takibinde de önemlidir (13). Bu biyomarkırların tek başına veya birlikte kullanımları MS ve KVH konusunda öngörücü olabilir.

Bu çalışmada dolaşımdaki biyomarkırları tespit ederek MS ve eşlik eden hastalıklarla ilişkisini göstermeyi amaçladık. Bununla ilişkili olarak hastalarda serum arginaz, PON-1 ve arilesteraz (ARE) akvitelerini belirleyip beraberinde HDL-K, LDL-K, total kolesterol(TK), TG, glukoz, GGT, ALT, AST gibi belirteçlerin de ölçülüp, kardiyovasküler hastalıklardaki rolünü tanımlamayı hedefledik.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Metabolik Sendrom

#### 2.1.1. Tanım

Metabolik sendrom; KVH riskinin yükseldiği, hiperglisemi, dislipidemi, HT ve obezitenin bir arada bulunduğu multidisipliner bir durumdur (14).

İlk olarak 1988 yılında Reaven aterosklerotik risk faktörleri grubunu tanımlamış ve bu kliniği Sendrom X olarak adlandırmıştır. Reaven bu sendromun altta yatan nedeni olarak insülin direncini ileri sürmüştür. Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP) Üçüncü Erişkin Tedavi Paneli (ATP III) durumu tanımlamak için “Metabolik Sendrom” terimini kullanmaktadır (4).

Son 20 yılda, obezite ve diyabet prevalansındaki global artışla yakından ilişkili olarak, MS’li hasta sayısında ciddi artış gözlenmiş ve dünya çapında ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Kavram olarak MS, kardiyometabolik risk artışına yol açan faktörlerin tek başına değil de bir araya gelerek etkili olduklarına dikkat çekmektedir ve esas olarak bizlere kardiyovasküler olay ve DM gelişme riski yüksek olan kişileri saptama imkanı vermektedir (1).

#### 2.1.2. Epidemiyoloji

Metabolik sendrom sıklığı ilerleyen yaş ve vücut ağırlığı artışıyla artar, aynı zamanda kullanılan kriterler ve incelenen toplumlara göre de değişkenlik gösterir. Yapılan en kapsamlı çalışmalardan biri olan ve NCEP-ATP III kriterlerinin kullanıldığı National Health and Nutrition Examination Survey III’de (NHANES III) Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’de metabolik sendrom prevalansı % 23,7 olarak belirlenmiştir ve 20–29 yaş grubunda % 7 olan prevalans 60-69 yaş grubunda % 44’e çıkmaktadır (15). Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu (EGIR) Avrupa’da yapılan sekiz çalışmanın analizine dayanarak yayınladığı raporda, MS sıklığını 40–50 yaş arası erkeklerde % 7 ile % 36, aynı yaş grubundaki kadınlarda ise % 5 ile % 22 olarak belirtmişlerdir (16).

Ülkemizde, 2004 yılında yapılan METSAR (Türkiye Metabolik Sendrom Araştırması) sonuçlarına göre 20 yaş ve üzerindeki erişkinlerde MS sıklığı % 35 olarak saptanmıştır. Bu araştırmada kadınlarda MS sıklığı erkeklere göre daha yüksek bulunmuştur (kadınlarda % 41,1, erkeklerde % 28,8) (17). Geniş kapsamlı

diğer bir çalışma olan TEKHARF (Türkiye’de Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı) alışmasında ise MS sıklığı 30 yaş ve üstü kadınlarda % 45, erkeklerde % 28 olarak tespit edilmiştir (18).

### 2.1.3.Tanı Kriterleri

Günümüzde insülin direnci sendromu veya MS isimleriyle anılan bu metabolik bozuklukların birlikteliği için farklı organizasyonlara ait değişik tanımlamalar bulunmaktadır. En önemlileri WHO (Dünya Sağlık Örgütü), EGIR (Avrupa İnsülin Rezistansı alışma Grubu), NCEP ATP III, AACE (Amerika Klinik Endokrinoloji Topluluğu) ve IDF (Uluslar arası Diabet Federasyonu) olmakla birlikte, en çok bilineni ve klinik pratikte uygulama kolaylığı nedeniyle en çok tercih edileni NCEP-ATP III MS tanımlamasıdır (19-21). Bu tanımlamaların temel bileşenlerini abdominal obezite, insülin direnci, artmış kan basıncı ve lipit bozuklukları oluşturmaktadır.

En yaygın kullanılan tanımlamalardan ilki 1998 de Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılmıştır (22). Burada oral glukoz tolerans testi esas alınmıştır; eğer normal oral glukoz tolerans testi saptanırsa insülin direnci ölçümüne başvurulmuştur. Buna göre; insülin direncini gösteren Tip 2 DM veya bozulmuş glukoz toleransı mutlaka bulunmalı ve buna ek olarak abdominal obezite, TG yüksekliği, HDL-K düşüklüğu, albuminüri veya HT kriterlerinden en az ikisinin eşilik etmesi gereklidir (Tablo 2.1).

1999 yılında tanımlanan Avrupa İnsülin Direnci alışma Grubu (EGIR) kılavuzunda da ‘İnsülin direnci sendromu’ isminin kullanılması önerilmekte, WHO kılavuzuna benzer şekilde glukoz tolerans testine ağırlık verilirken, DM’li kişiler sendrom dışı kabul edilmektedir. Açlık hiperinsülinemisine ek olarak bozulmuş açlık glukozu, HT, hipertrigliseridemi, HDL-K düşüklüğu ve abdominal obezite kriterlerinden en az ikisinin bulunması gerekmektedir (19).



Tablo 2.1. WHO metabolik sendrom tanı kriterleri

Aşağıdakilerden biri ile insülin direnci tanısı	Aşağıdaki bulgulardan en az ikisinin insülin direncine eşlik etmesi
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tip 2 Diabetes Mellitus</li> <li>• Bozulmuş açlık glukozu</li> <li>• Bozulmuş glukoz toleransı</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kan basıncı <math>\geq 140/90</math> mmHg veya antihipertansif ilaç kullanımı</li> <li>• Trigliserid <math>\geq 150</math> mg/dl</li> <li>• HDL-K erkekte <math>&lt; 35</math> mg/dl, kadında <math>&lt; 39</math> mg/dl</li> <li>• Beden Kitle İndeksi (BKİ) <math>&gt; 30</math> kg/m<sup>2</sup> veya bel-kalça oranı erkekte <math>&gt; 0,9</math>, kadında <math>&gt; 0,85</math></li> <li>• Üriner albumin atılımı <math>\geq 20</math> <math>\mu</math>g/dk veya Albumin/kreatinin oranı <math>\geq 30</math> mg/g</li> </ul>

Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Üçüncü Erişkin Tedavi Paneli'nde (NCEP-ATP III) MS tanısı için beş kriter belirlenmiştir. Bu kriterleri abdominal obezite, hipertrigliseridemi, HDL-K düşüklüğü, HT ve açlık serum glukozunun  $\geq 110$  mg/dl olması oluşturmaktadır. Bunlardan herhangi üçünün birlikte bulunması MS olarak tanımlanmıştır (Tablo 2.2). Tanı kriterleri arasında yer almamakla birlikte, proinflamatuvar ve protrombotik durum da MS başlığı altına alınmıştır. NCEP-ATP III'te, MS tanısı için insülin direncinin gösterilmesi gerekmemektedir. NCEP-ATP III, OGTT'yi gerekli görmemesi ve açlık kan şekerini temel alması nedeniyle daha pratiktir (4).

Tablo 2.2. NCEP ATP III metabolik sendrom tanı kriterleri

Risk Faktörü	Değerler
Abdominal obezite (bel çevresi)	
erkek	$> 102$ cm
kadın	$> 88$ cm
Trigliserid düzeyi	$\geq 150$ mg/dl
Düşük HDL düzeyleri	
erkek	$< 40$ mg/dl
kadın	$< 50$ mg/dl
Artmış kan basıncı	$\geq 130/85$ mmHg
Artmış açlık kan şekeri	$\geq 110$ mg/dl

2003 yılında AACE, daha çok NCEP-ATP III ve WHO kriterlerinin kombinasyonu şeklinde olan yeni MS kriterleri belirlemiştir. Buna göre MS tanısı koymak için belli sayıda kriterin karşılanması gerekmektedir ve tanı doktorun klinik yargısına bırakılmıştır (20).

2005 yılında IDF, farklı etnik gruplara göre farklı eşik değerlerin tariflendiği global bir kılavuz yayınlamıştır. Metabolik sendrom tanısı koyabilmek için santral obezite mutlaka olmalı, buna ek olarak yüksek TG, düşük HDL-K, yüksek kan basıncı ve yüksek açlık glukozundan en az iki tanesi bulunmalıdır. Santral obezite için farklı ırklar için değişik bel çevresi değerleri kabul edilmiştir. Avrupalılarda bel çevresinin erkeklerde 94 cm, kadınlarda 80 cm; Güney Asyalı ve Çinli erkeklerde 90 cm, kadınlarda 80 cm, Japon erkeklerde 90 cm ve kadınlarda 85 cm üzerinde olması santral obezite olarak tanımlanmıştır. Trigliserid için 150 mg/dl, HDL-K için erkeklerde 40 mg/dl, kadınlarda 50 mg/dl; kan basıncı için sistolik (SKB) 130 mm/Hg veya diastolik (DKB) 85 mm/Hg ve açlık glukozu için de 100 mg/dl sınır değer kabul edilmiştir (Tablo 2.3)(21). Tüm bu durumlar için daha önceden tanı almış olmak ve tedavi görmek de tanı kriterlerini karşılamaktadır.

Tablo 2.3. IDF metabolik sendrom tanı kriterleri

Santral obezite; Bel çevresi: E $\geq$ 94 cm K $\geq$ 80 cm ile birlikte aşağıdakilerden en az iki tanesinin olması (Bel çevresi etnik gruplara göre düzenlenir)	
• Açlık plazma glukozu	$\geq$ 100 mg/dl veya daha önce tanı almış tip 2 DM varlığı
• Yüksek trigliserid	$\geq$ 150 mg/dl veya ilaç tedavisi altında hipertrigliseridemi
• Düşük HDL-K	E < 40 mg/dl K < 50 mg/dl veya spesifik tedavi alıyor olması
• Kan basıncı	$\geq$ 130/85 mmHg ve/veya ilaç tedavisi altında hipertansiyon

Bütün bu tanımlamalardaki farklılıklara rağmen ortak amaç, KVH gelişme riski yüksek olan bireylerin belirlenmesi, belirli risk faktörleri saptanan kişilerde bulunabilecek diğer risk faktörlerinin sorgulanması ve erken dönemde gerekli ve etkin önlemlerin alınmasıdır.

#### **2.1.4. Metabolik Sendrom Bileşenleri ve Etyopatogenezi**

##### **İnsülin ve İnsülin Direnci**

##### **İnsülin**

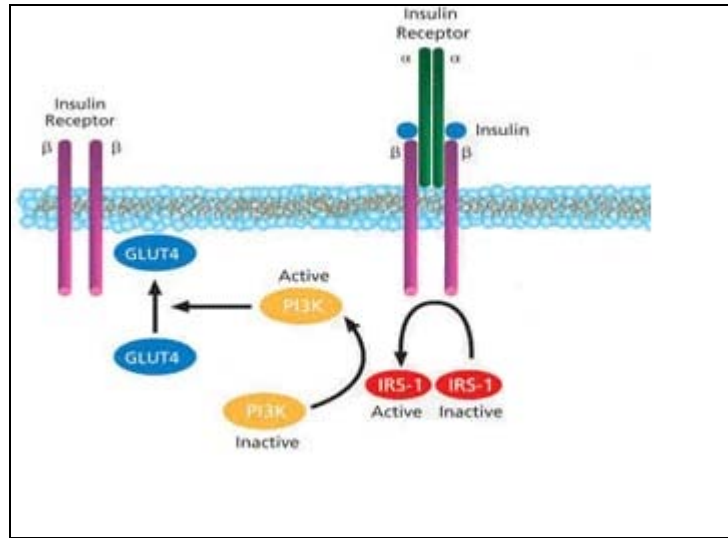
İnsülin pankreastaki langerhans adacıklarının beta-hücreleri tarafından üretilen polipeptit yapıda 6000 dalton molekül ağırlığında bir hormondur. Kısa (A) ve uzun (B) iki amino asit zincirinden oluşmaktadır. A zinciri 21, B zinciri 30 amino asit içerir. Bu iki zincir birbirine sistein rezidüleri arasında yer alan iki adet disülfür köprüsü ile bağlıdır. A zincirinde ise zincir içi bir disülfür köprüsü daha bulunur.

Beta hücrelerindeki ribozomlarda önce prepro-insülin adı verilen tek zincirli, 110 aminoasitli bir öncü molekül sentezlenir. Preproinsülin granüllü endoplazmik retikulum membranını geçip lümene ulaştığında 24 aminoasitlik N terminali kopar ve proinsülin meydana gelir. Bu molekül kendi içinde kıvrılır ve üç disülfür köprüsü oluşur. Sonra bu molekül golgi aygıtına transfer olur ve burada yer alan proteazların etkisiyle 35 amino asitlik bir segmentinden (C peptid) daha ayrılır ve veziküller içinde insülin olarak depolanır. C peptidin ayrılmasıyla oluşan insülin, proinsülinde daha insoluble bir molekül haline gelir ve  $Zn^{+2}$  iyonu ile birlikte heksamerik kristaller halinde çöker. Ekzositozla insülin salgılanırken  $Zn^{+2}$ , C peptid ve az bir miktarda proinsülin de salgılanır (23).

İnsülinin glukoz metabolizması üzerine etkileri, en belirgin olarak üç dokuda gözlenir: karaciğer, kas ve yağ dokusu. Karaciğerde glikoneogenez ve glikojen yıkımını inhibe ederek glukoz üretimini azaltır; kas ve karaciğerde glikojen sentezini artırır. Kas ve yağ dokusunda, hücre membranlarındaki glukoz taşıyıcılarını arttırarak glukoz alımını çoğaltır. İnsülin verilmesinden birkaç dakika sonra, yağ dokusundan yağ asidi salınmasında belirgin düşme görülür. İnsülin yağ dokusunda hormon duyarlı lipaz'ın aktivitesini inhibe ederek dolaşımdaki yağ asitlerini azaltır. Çoğu dokuda amino asitlerin hücre içine girişini ve protein sentezini uyarır.

İnsülin reseptörü, disülfid köprüleri ile birbirine bağlı, hücre dışında bulunan iki alfa subunit ile hücre membranına lokalize iki beta subunitten oluşan

transmembran bir proteindir (24). İki  $\alpha$  alt birimi reseptörün hücre dışı bağlanma bölgesini oluştururken,  $\beta$  alt birimlerinin membran ve sitoplazmaya uzanm gösteren kısmı tirozin kinaz aktivitesi gösterir. İnsülin, reseptörün  $\alpha$  alt birimine bağlanınca,  $\beta$  biriminde otofosforilasyon gerçekleşir. Otofosforilasyon tirozin kinaz aktivitesini artırır. Bu olaydan sonra insülinin hücre içindeki etkilerinden sorumlu olan insülin reseptör substrat (IRS-1,2,3,4) adlı protein aktive olur. IRS proteini ayrıca birçok fonksiyonel proteini de aktive eder (Şekil 2.1.1). İnsülin bağımlı dokularda membrandan glukoz transportunu IRS-1'in IP3-kinaz aracılığı ile fosfatidilinozitol 3,4,5-trifosfat oluşumunu artırarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir.



Şekil 2.1. İnsülin sinyalizasyonu (25).

İnsülin sitoplazmada yerleşmiş bulunan ve glukozun hücre içine taşınmasını sağlayan glukoz taşıyıcı moleküllerin (GLUT) translokasyonunu sağlayarak onları işlevsel duruma getirir. Bu taşıyıcılar beş adettir ve insüline en duyarlısı GLUT-4'dür. GLUT-4 iskelet kası ve yağ dokusunda hakim olan glukoz taşıyıcısı olduğundan insülinin glukoz üzerindeki etkilerinin çoğundan sorumludur (26).

Genel olarak bakıldığında insülinin etkileri, hücresel düzeyde saniyeler veya dakikalar içinde olan kinazların fosforilasyonu, defosforilasyonu, glukoz ve iyon

transportunda değişimler ile daha geç ortaya çıkan etkiler olan hücre içinde enzimlerin ve bazı proteinlerin sentezinin arttırılması Şeklinde oluşur. İnsülin direkt veya indirekt olarak bütün organların çalıŐmasını etkileyen, genelde anabolizan yönde etkileri olan bir hormondur ve glukozun, yağların, proteinlerin ve nükleik asitlerin sentezleri ve/veya depolanmasına yönelik metabolik yollarda görev alır.

### **İnsülin Direnci**

İnsülin direnci oluşumunda diğer kompleks hastalıklarda olduğu gibi birçok genetik ve çevresel faktör rol oynamaktadır (27). Aile yksnde Tip 2 DM, HT ve obezite olan kişilerin, aile öyküsünde bu özellikler bulunmayan kiŐilere göre MS olma olasılıklarının arttığı, insülin dirençlerinin daha yüksek olduğu çeşitli çalışmalar ile tespit edilmiştir (28, 29).

İnsülin direnci, insülinin yapım yeri olan pankreasın -hücrelerinden salınmasından, hedef hücrelerde beklenen etkilerini oluŐturuncaya kadar olan aŐamalarda ortaya çıkabilecek herhangi bir aksama olarak tanımlanabilir (30). İnsülin direnci olan kişilerde belirli bir biyolojik fonksiyonun yerine getirilmesi için ihtiyaç duyulan insülin miktarı artmıŐtır. İnsülin direnci için normal konsantrasyondaki insülinin, normalden daha az biyolojik yanıt oluşturması durumu da denilebilir. Başka bir anlatım ile, belirli konsantrasyondaki insülinin glukoz uptake'ini uyarma etkisinin azalmasıdır. Normalde insülin karaciğerde glukoneogenezi ve glukojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Ayrıca glukozu kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara taŐıyarak buralarda ya glikojen olarak depolanmasını ya da enerji üretmek üzere yıkılmasını sağlar. İnsülin direncinde, insülinin karaciğer, kas ve yağ dokusundaki bu etkilerine karşı direnç oluşur ve hepatik glukoz sekresyonu bozulur. Kas ve yağ dokusunda insülin aracılığı ile olan glukoz uptake'i azalır. Bu durumda oluşan insülin direncini karŐılayacak ve dolayısı ile normal biyolojik yanıtı sağlayacak kadar insülin salgısı artışı ile metabolik durum dengelenir. Böylelikle hipergliseminin önlenebilmesi için beta hücreleri sürekli olarak insülin salgısını arttırmaya yönelik bir çaba içerisine girer. Sonuçta normoglisemi sağlanırken insülin düzeylerinde 1,5-2 kat, hatta bazen daha da fazla artış olur (31).

Genetik ve çevresel faktörlerce ortaya çıkabilen insülin direnci hücre yapısı bazında; prereseptr, reseptör ve post reseptör olarak üç Şekilde sınıflandırılır.

İnsülin genindeki yapısal mutasyonlar sonucu anormal, defektif insülin molekülleri oluşumu prereseptör düzeyde insülin direncine neden olmaktadır. Bunun sonucunda proinsülin molekülündeki proteolitik parçalanma bölgesinin yapısal bozukluğuna bağlı olarak proinsülinin insüline dönüşümü tam olamaz. Tüm bu nedenlerle endojen insüline karşı doku yanıtı azalarak direnç oluşur. Bu düzeydeki defektler insülin direnci oluşumunda daha az rol oynamaktadır.

İnsan insülin reseptör geninin klonlanması ile çok sayıda nokta mutasyonları tanımlanmıştır. Bu mutasyonların her biri, insülin reseptör fonksiyonlarındaki spesifik defekt ile ilişkilidir.

Son yıllarda insülin direnci oluşumunda en büyük payın post reseptör düzeyindeki defektlerin sağladığı ileri sürülmektedir. İnsülin reseptörünün tirozin kinaz aktivitesinde, glukoz transportunda, glikojen sentaz aktivitesinde azalma ve insülin reseptör sinyal ileti sisteminde anormallikler, glukoz fosforilasyonunda azalma, glikoliz/glukoz oksidasyonunda defektler ve pirüvat dehidrogenaz stimülasyonunda azalma, insülinin reseptöre bağlanmasından sonra gerçekleşen aksaklıklar arasında sayılabilir (22, 32).

İnsülin direncinin oluştuğu başlıca dokular karaciğer, iskelet kası ve yağ dokusudur. Tip 2 diyabetlilerde ve obezitede insülinin antilipolitik etkisine karşı direnç gelişmektedir. Bundan dolayı insülin direnci veya insülin eksikliği hormon duyarlı lipaz aktivitesinde artışa yol açarak serbest yağ asidi salınımını artırır. Karaciğere gelen artmış serbest yağ asidi düzeyleri, hem hepatik serbest yağ asidi oksidasyonunu hem de hepatik glukoz üretimini uyarmaktadır. Yağ dokusunda da insülin direncinin kesin nedeni tam olarak bilinmemekle beraber, post reseptör düzeyde olduğu düşünülmektedir.

### **Obezite**

Vücut yağ dokusu oranının fazlalığıdır ve birçok hastalığa yatkınlık yaratır. Dislipidemi, HT ve Tip 2 DM gibi KVH risk faktörleri de obeziteye sıklıkla eşlik etmektedir. Obezite gelişiminde genetik yatkınlık, beslenme ve fiziksel aktivitenin büyük rolü vardır. Yağ dokusu hormonları, büyüme faktörleri ve sitokinleri içeren çok sayıda biyoaktif maddeleri salgılayan aktif ve kompleks bir endokrin organdır (33).

Beden kitle indeksi (kg cinsinden ağırlık/metre cinsinden boyun karesi) obezitenin derecelendirilmesinde kullanılmaktadır. Beden kitle indeksi, vücut yağ dokusu miktarı ile iyi korele olan bir parametredir, fakat vücut yağ dağılımı hakkında bilgi vermez. Obezite, Dünya Sağlık Örgütüne göre BKİ'si 25–29,9 kg/m<sup>2</sup> olan fazla kilolu, 30–34,9 kg/m<sup>2</sup> olan 1.derece obez, 35–39,9 kg/m<sup>2</sup> olan 2. derece obez ve 40 kg/m<sup>2</sup> üzeri olan 3.derece (morbid obez) olarak sınıflandırılmaktadır.

Erişkin Amerikalı kadın ve erkeklerde yapılan ulusal sağlık ve beslenme araştırma çalışması III (NHANES III) verilerine göre normal kilolularda MS sıklığı %5 iken, kilo fazlalığı olan kişilerde %22, obezlerde %60'a varan düzeylerde görülmektedir (15). Obezite ve insülin direnci ile KVH ilişkisini değerlendiren bir çalışmada BKİ arttıkça, insülin direncinin de aynı oranda arttığı saptanmıştır (34). Enerji fazlalığında kalorik dengenin sağlanabilmesi amacıyla yağ hücreleri önce fazla enerjiyi trigliserid olarak depolayarak hipertrofiye olurlar. Başlangıçtaki bu hipertrofiyi takiben sağlıklı adipozitlerin proliferasyonu ve diferansiyasyonu ile yeni oluşan yağ hücreleri aracılığıyla daha çok yağ depolama imkanı oluşturulur. Adipogenez olarak adlandırılan bu ikinci süreç, hormonlar (İnsülin, glukokortikoidler, östrojen, tiroid hormonları), lipoproteinler, proteinler ve lipidler gibi çok sayıda faktörden etkilenir. Adipozit kökenli olmayan bu faktörlere katekolaminler, androjenler, interferon, flavonoidler gibi diğerleri de ilave edilebilir (35). Ancak adipogenez sıklıkla spesifik adipozit faktörlerin (transkripsiyon faktörleri, ekstraselüler matriks faktörleri, proadipogenik ve anti adipogenik faktörleri) kontrolü altındadır. Bu faktörler transkripsiyon, anjiogenez ve ekstraselüler matriks formasyonunu etkileyerek yağ dokusunun genişlemesini sağlarlar. Transkripsiyon faktörü olarak bulunan Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör (PPAR $\gamma$ ), yağ hücresinin farklılaşması ve vücut yağ kitlesinin oluşmasında anahtar rol oynar ve insüline hassasiyeti düzenler. Yağ hücresinden salgılanan tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), rezistin ve adiponektin, PPAR $\gamma$ 'n transkripsiyonal olarak kontrolü altındadır ve beslenme ve obezite arasındaki ilişkiyi düzenler (36).

Yağ dokusu değişik bölgelere yerleşim gösteren ve buna bağlı olarak farklı fonksiyonlar gösterebilen heterojen bir metabolik organdır. Subkutan yağ dokusu, periferik (tipik olarak total yağ dokusunun %80'ini teşkil eder) ,trunkal,

gluteofemoral, meme, inguinal bölge yağ dokusu ve abdominal yağ dokusundan oluşur. Abdominal cilt altı yağ dokusu metabolik olarak periferik yağ dokusuyla viseral yağ dokusu arasında bir aktivite gösterir. Viseral yağ, hepatik kan akımının %80'inini sağlayan portal ven aracılığıyla karaciğere doğrudan erişebilme durumundadır ve en üst düzeyde metabolik aktiviteye sahiptir.

Temelde, viseral yağ dokusu insülin etkilerine daha dirençli ve lipolitik enzimlere daha duyarlı olduğundan; portal sisteme daha fazla serbest yağ asidi geçer ve karaciğerde artan TG sentezi, insülinin ilk geçiş metabolizmasını bozabilir (37). Serbest yağ asitleri protein kinaz-C sistemi üzerinden etki yaparak insülin direncine yol açar. Bununla birlikte hiperinsülinemi ve dislipidemi gelişimine neden olur ve hepatik glukoz üretiminde artış meydana gelir (38).

Viseral obeziteyi klinik olarak yansıtan abdominal obezitedir ki, bunun en iyi göstergesi bel / kalça oranı ile bel çevresi ölçümüdür. Amerikan ve Avrupa kılavuzlarında metabolik sendrom tanımlamasında obezite değil, abdominal obezite kriter olarak alınmış ve abdominal obeziteyi gösteren bel çevresi genişliği NCEP-ATP III'de kadınlarda >88 cm, erkeklerde >102 cm, EGIR'de kadınlarda >80 cm, erkeklerde >94 cm olarak tanımlanmıştır. Bel çevresi genişliği (abdominal obezite) insülin direncinin şaşmaz bir göstergesi olmamakla beraber, insülin direncinin varlığı ve derecesi ile ilişkili bir antropometrik değişkendir (20).

Çeşitli çalışmalarda yağ dokusunun sadece enerji deposu değil aynı zamanda çeşitli biyolojik aktif molekülleri üreten ve sekrete eden (adipositokinler, peptidler gibi) bir endokrin organ gibi çalıştığı saptanmıştır. Yağ dokusundan salınan PAI-1 (Plazminojen aktivatör inhibitör -1), TNF- $\alpha$  (Tümör nekrozis faktör alfa), IL-6, rezistin, leptin, adiponektin gibi çeşitli aktif moleküller "adipositokin" olarak adlandırılır. Obez kişilerde MS'nin gelişmesinde adipositokinlerin düzensiz üretiminin rolü vardır (39, 40).

Artmış abdominal yağ dokusunun, dislipidemi ve glukoz toleransında bozulma ile yakın ilişkisinin gösterilmesi, abdominal obezitenin MS'de önemli bir faktör olduğunu düşündürmektedir. Obezite MS'de insülin direncinin oluşmasında ve diğer metabolik sorunların kökeninde önemli bir rol oynamaktadır.



### **Obezitenin İnsülin Direnci İle İlişkisi**

Vücut yağ dağılımı , insülin direnci için önemli bir risk faktörüdür. Viseral obezitenin insülin direnci ile olan bağlantısı omental ve paraintestinal bölgede biriken yağ dokusunun metabolik özelliklerinden kaynaklanmaktadır.

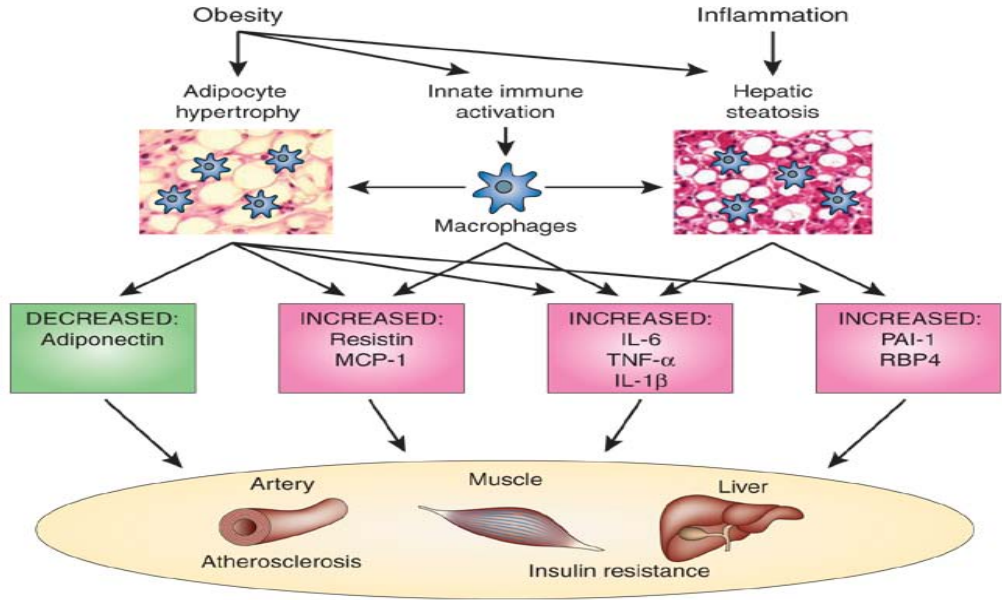
Yağ kitlesi arttıkça insülin direncinin ortaya çıkmasına neden olabilecek en olası faktörler arasında, serbest yağ asitleri, TNF- $\alpha$ , rezistin, IL-6 ve leptin yer almaktadır (41, 42).

Viseral yağ dokusu insülin etkilerine daha dirençli ve lipolitik enzimlere daha duyarlı olduğundan portal sisteme daha çok serbest yağ asidi (SYA) geçmesine neden olur. Portal ven aracılığıyla karaciğere gelen SYA'ları karaciğerde yağ birikimine ve insülin direncinin gelişimine neden olmaktadır. SYA'ları hem kas dokusunda glukoz alımını azaltmak, hem de karaciğerden glukoz çıkışını arttırmak suretiyle insülin karşıtı etkiler sergilemektedirler. Kasta SYA oksidasyonu sonucunda oluşan asetil-CoA, pirüvat dehidrogenazı inhibe ederek glukoz kullanımının azalmasına yol açar. Sonuç olarak ortaya çıkan hücre içi glukoz artışı, glukozu hücre içine girmeye yönlendiren transmembran konsantrasyon gradiyentini düşürür ve glukoz alımında ikincil bir azalmaya neden olur. Karaciğerde asetil-CoA birikimi de piruvat karboksilazı aktive edip, glukoneogenezi uyararak, glukoz metabolizması üzerinde etki gösterir. Bu nedenle artmış SYA konsantrasyonları hepatik glukoz üretiminin artmasına ve kas dokusu tarafından glukoz alımının azalmasına yol açar. Böylece kan glukoz konsantrasyonunu arttırma eğilimi gösterir ve insülinin etkisine karşı koyar (43).

İnsüline bağımlı glukoz kullanımına direncin bulunması diğer metabolik bozuklukların da bulunma olasılığını arttırmaktadır. Aterojenik dislipidemi olarak da adlandırılan TG yüksekliği, HDL-K kolesterol düşüklüğü, küçük yoğun LDL-K oranının artışı insülin direnci ile birlikte bulunabilir.

Çeşitli çalışmalarda yağ dokusunun sadece enerji deposu değil aynı zamanda çeşitli biyolojik aktif molekülleri üreten ve sekrete eden (adipositokinler, peptidler gibi) bir endokrin organ gibi çalıştığı saptanmıştır. Yağ dokusundan salınan PAI-1, TNF-  $\alpha$ , IL-6, rezistin, leptin, adiponektin gibi çeşitli aktif moleküller “adipositokin” olarak adlandırılır. Obez kişilerde MS'nin (glukoz intoleransı, dislipidemi, HT ve

ateroskleroz) gelişmesinde adipositokinlerin düzensiz üretiminin rolü vardır (39, 44) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Obezite ve adipositokinler (45).

### Adipositokinler

**Adiponektin:** Yağ dokusundan salınan, antiaterosklerotik özellikleri olan bir plazma proteindir. Plazmadan glukoz, TG, SYA'larının temizlenmesini kolaylaştırır. Karaciğerde glukoz sentezini azaltır. Hasarlı damar duvarında inflamasyon mediyatörlerinin etkilerini bloke eder ve antiaterosklerotik etki gösterir.

Adiponektin düzeyi obez bireylerde azalmıştır ve ilginç olarak adiponektin seviyelerinin düzenlenmesi subkutan yağ dokusundan çok omental yağ dokusunda yapılmaktadır. Bu durum visseral adipozitenin metabolik sendrom ve insülin direnci ile olan bağlantısında uyumlu bir mekanizmadır (39, 44, 46, 47).

**Leptin:** Leptin yağ hücreleri tarafından sentezlenen, iştahı baskılayan ve termogenezi artıran, vücutta yağ dağılımını ve metabolizmasını etkileyen bir proteindir. Obez kişilerde ve insülin direnci olanlarda seviyeleri artar. Leptin eksikliğinde iştah artışı olur. Konjenital leptin eksikliği olan kişilerde ciddi obezite ve karaciğer yağlanması saptanması, leptinin insanlardaki enerji dengesini

sağlamadaki önemini göstermiştir. Leptin IL-6, IL-1 ve TNF- $\alpha$  üretimini artırır. TNF- $\alpha$  adipositlerde sentezlenir ve dokularda insülin direncine yol açar. Leptin IRS'nin tirozin fosforilasyonuna sebep olarak insülin direnci oluşturması bakımından önemlidir. Plazma leptini için kardiyovasküler olayların gelişme riskini gösterdiği yönünde çalışmalar mevcuttur (39).

**Rezistin:** Rezistin yağ hücresinden salgılanan 114 aminoasitli polipeptit yapıda bir hormondur. Artmış yağ dokusu ve insülin direnci ile ilişkilidir. Rezistin glukoz metabolizmasına etkili, insülin antagonisti gibi çalışan hormon olarak görev yaptığı sanılmaktadır. Reseptörü henüz bilinmediğinden hedef hücreler ve dokular saptanamamıştır, karaciğer ve kasların hedef organ olabileceği düşünülmektedir. Obezitenin derecesi ile yağ hücresi rezistin mRNA miktarı arasında korelasyon saptanmıştır (48-50).

**TNF- $\alpha$ :** TNF- $\alpha$  çeşitli immünolojik fonksiyonları ile multipotansiyel bir sitokindir. İnsülin reseptör sayısını azaltarak, insülin reseptörünün tirozin kinaz aktivitesini bozarak, IRS-1 ve fosfotidilinozitol-3 kinaz (PI3-kinaz) arasındaki ilişkiyi bozarak, IRS-1 ve GLUT-4 ekspresyonunu azaltarak insülin direncine neden olur (39, 41).

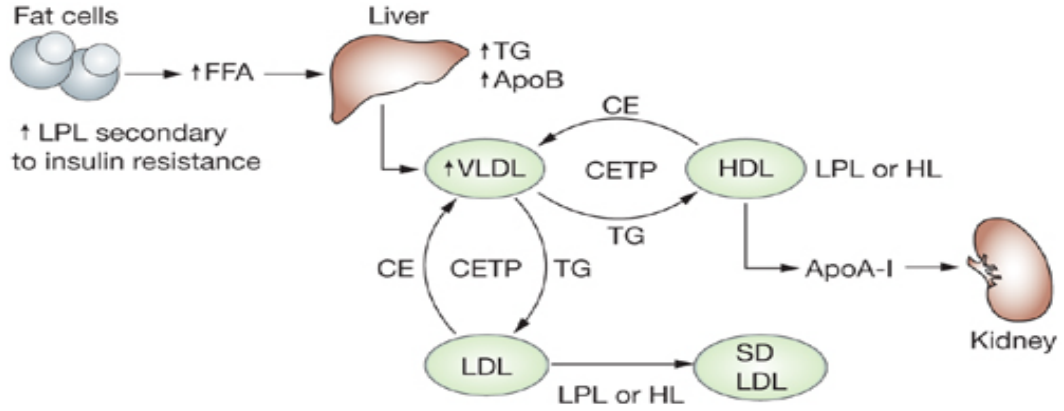
**IL-6:** Akut faz cevabının major sitokin mediyatörü olup, makrofajlardan, lenfositlerden, fibroblastlardan, endotel hücrelerinden salgılanır. Bunun yanı sıra dolaşımdaki IL-6 düzeylerinin üçte biri yağ dokusundan kaynaklanır. IL-6 yapımı obez bireylerde daha yüksektir. Visseral yağ hücresinden salgılanan IL-6 portal yolla karaciğere ulaşarak fibrinojen ve C reaktif protein (CRP) üretimini artırır. Açlık serum IL-6 konsantrasyonları, insülin direnci göstergesi olarak ölçülen tüm parametrelerle (açlık plazma insülini, açlık plazma glukozu ve fasting insülin resistance index) ilişkilidir. IL-6, hipotalamo-hipofizer-adrenal aksı direkt uyararak CRH (Kortikotropin salgılatıcı hormon) sekresyonunu, ACTH (Adrenal kortikotropin hormon) ve kortizol üretimini artırarak, açlık kan glukoz ve plazma glukagon düzeylerini arttırarak, lipolizi indirekt olarak uyarması sonucu insülin direncine neden olur (39, 41, 42).

### **Dislipidemi**

Metabolik sendromlu hastalar hiperinsülinemi ve insülin direncinin eşlik ettiği plazma serbest yağ asitlerinin artışı, hipertrigliseridemi, apolipoprotein B (apo B) ve “küçük-yoğun” LDL (sd-LDL) düzeylerinde yükseklik, özellikle HDL2 fraksiyonunda olmak üzere HDL-K düzeylerinde düşüklük ile karakterize bir dislipidemi tablosu gösterirler (37).

İnsülin, yağ dokusunda lipolizi engelleyerek ve lipoproteinlerden dokuya serbest yağ asidi transferini sağlayarak anabolik etki gösterir. Plazmadaki SYA’ları temel olarak, cAMP bağımlı hormon duyarlı lipaz etkisi ile yağ dokusundan salınır. İnsülin, hem antilipoliz, hem de lipoprotein lipazın stimülasyonunda önemlidir. İnsülin etkisinde en duyarlı yolak, yağ dokuda lipolizin engellenmesidir. İnsülin direnci varlığında, yağ dokusunda hormon duyarlı lipaz aktivitesi baskılanamaz. Bu nedenle yağ dokusundan SYA çıkışında artış olur.

İnsülin direnci ile beraber artmış ve non-adipoz dokulara yönelmiş serbest yağ asitleri nedeniyle, trigliserid sentezi ve karaciğerden serbestleşen çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) miktarı artar ve böylece apolipoprotein B (Apo B) yıkımı azalır, üretimi artar. Ayrıca TNF- $\alpha$  artışı ve adiponektin azalması hepatik VLDL artışına neden olur. VLDL iki ayrı metabolik olayda kullanılarak, HDL-K seviyesinin düşmesine ve sdLDL parçacıklarının oluşmasına neden olur. Her iki metabolik yolda da önemli rol oynayan molekül kolesterol ester transfer proteindir (CETP). CETP ile HDL-K içindeki kolesterol esterleri VLDL’ye, VLDL içindeki TG HDL-K içine taşınır. Yapısındaki TG miktarı artan HDL-K, karaciğerde hepatik lipaz ile parçalanır, ayrılan Apo-A1 renal yolla atılır. HDL-K partiküllerinin katabolizmasının artması sonucunda HDL-K seviyeleri düşer. Spesifik olarak azalan HDL-K molekülü HDL2- K’dır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. İnsülin direnci ve dislipidemi ilişkisi (51).

Metabolik sendromda LDL- K seviyeleri genellikle artmaz. Ancak yapısında değişiklik olur. CETP ile LDL-K içindeki kolesterol esterleri VLDL'ye, VLDL içindeki TG'ler de LDL-K içine taşınır. Lipoprotein ya da hepatik lipaz ile TG'ler parçalanınca sd-LDL partikülleri oluşur. Obezite ve insülin direnci varlığında hepatik lipaz aktivitesi artmaktadır. Bu da hem HDL-K hem de LDL-K'den lipidlerin ayrılmasına, daha küçük ve daha yoğun partiküllerin oluşmasına neden olur. Bu nedenle hepatik lipaz aktivitesi aterojenik lipid yapısının oluşmasında esas belirleyicilerden birisi olur.

SD-LDL partiküllerinin koroner arter hastalığı (KAH) riskini üç kat artırdığı bildirilmektedir. Bunun nedeni sd-LDL partiküllerinin normal LDL-K partiküllerine göre damar duvarını kolaylıkla geçmesi, okside olması ve LDL-K reseptörlerine bağlanma afinitesinin düşük olmasıdır (52, 53). SD-LDL yüksekliği izole halde nadiren bulunur. Genellikle hipertrigliseridemi, HDL-K düşüklüğü, abdominal obezite, insülin direnci ve endotel disfonksiyonu ve tromboza duyarlılığın arttığı bir seri metabolik bozukluk ile birlikte (53).

Sonuç olarak, insülin direncinde; TG, sd-LDL, 'artık' (remnant) lipoproteinler ve Apo-B düzeyleri artarken, HDL-2K ve Apo-A1 düzeyleri azalır ve ektopik yağ depolanması oluşur (54).

### Hipertansiyon

Hipertansiyon, Tip 2 DM ve dislipideminin birlikteliği uzun yıllardır bilinmektedir. Reaven kan basıncı yüksekliğinin, insülin direnciyle ve plazma insülin

konsantrasyonu ile doğrudan ilişkili olduğunu ve bu ilişkinin yaş, cinsiyet ve obezite derecesinden bağımsız olduğunu belirtmiştir (55). Ayrıca hipertansif hastaların ortalama %50'si obezdir ve BKİ arttıkça HT gözlenme olasılığı artmaktadır.

İnsülin direncinde beyin sapındaki sempatik regülatör merkezler inhibe edilemez ve sempatik aktivite artar. İnsülinin pressör ve depressör etkileri arasında dengesizlik olur ve pressör etkisi belirginleşir.

İnsülin renin anjiyotensin sistem(RAS)'in aktivitesini, proksimal ve distal tübüllerde sodyum reabsorpsiyonunu artırır. Sempatik tonusu uyardığı için hiperinsülinemi tuz tutulumunu ve santral sempatik aktiviteyi artırarak kan basıncını artırır. Hiperinsülinemi böbrekte sodyum retansiyonunu indüklemekte, bu da volüme bağlı tuza duyarlı hipertansiyonla sonuçlanmaktadır (56).

Ayrıca yağ dokusundan obeziteye bağlı HT gelişiminde rol oynayabilen vazoaaktif maddeler salınır. Renin-anjiyotensin sistemi komponentleri de bunlar arasında sayılabilir. Renin-angiotensin sisteminin birçok ögesinin yağ dokusunda eksprese olduğu gösterilmiş ve renin, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) ve anjiyotensin II tip 1 reseptör (AT1-R) gen ekspresyonları obez hipertansiflerde daha fazla bulunmuştur (57).

Metabolik sendromda leptin artışı olur. Hiperinsülinemi ve hiperleptineminin aracı olduğu artmış renal sempatik sinir sistemi aktivitesi proksimal ve distal tübülde direkt olarak sodyum reabsorpsiyonunu stimüle edebilir. Yapılan çalışmalarda hipertansif kişilerde leptin düzeyleri ile kan basıncı, BKİ ve kalp hızı arasında doğrusal ilişki olduğu gösterilmiştir (58, 59). Ayrıca artmış abdominal yağ kitlesi intestinal hidrostatik basıncı arttırarak medüller kan akımını azaltabilir ve buna bağlı sodyum reabsorpsiyonunu arttırabilir (56, 60).

### **Endotel Disfonksiyonu**

Abdominal obezite; yağ dokusu kökenli metabolik ürünler, hormonlar ve sitokinler aracılığı ile bazı uygunsuz kardiyovasküler, renal, metabolik, protrombotik ve inflamatuvar yanıtları tetikleyebilir. Bu yanıtlar tek başlarına ve kombine olarak insülin direnci ve endotel disfonksiyonuna yol açarak KVH riskini arttırırlar (61).

Endotel disfonksiyonu, vazokonstriktörler ve vazodilatatörler, büyüme uyarıcı ve baskılayıcı faktörler, proaterojenik ve antiaterojenik faktörler, prokoagülan ve antikoagülan faktörler arasındaki dengenin kısmi veya tam kaybı olarak

tanımlanabilir. Kardiyovasküler hastalık risk faktörlerine sahip bireylerde hastalık başlamadan önce endotel disfonksiyonu bulunduğu ve bunun da ateroskleroz gelişiminde önemli bir erken safha olduğu kabul edilmektedir.

Hücresele düzeyde, insülin ile uyarılmış glukoz alımı ve NO üretimi fosfatidilinositol-3 kinaz (PI-3k) yolağı üzerinden gerçekleşir ve bu yolak vasküler endotelde NOS'nin aktivitesini artırır. İnsülin direnci ve Tip 2 DM olan kişilerin iskelet kasında PI-3k yolağının baskılandığı gösterilmiştir. Hiperinsülinemik insülin direnci durumunda vasküler düz kas hücre fonksiyonları uyarılmakta ve NO üretiminin azalması ile endotel hücresinde denge proaterojenik yöne kaymaktadır (62, 63).

İnsülin direnci olan bireylerde adipoz dokuda TNF- $\alpha$  ekspresyonu artmaktadır. TNF- $\alpha$ 'nın endotel hücre kültürlerinde NO biyoyararlanımı ile birlikte endotel bağımlı dilatasyonu azalttığı çalışmalarda gösterilmiştir. Bundan sorumlu olası mekanizmalar arasında TNF- $\alpha$  aracılığı ile olan endotelial NO sentaz (eNOS) mRNA yarı ömründe azalma ve vasküler NADPH oksidaz aracılığı ile gerçekleşen süperoksit üretiminde artış sayılabilir (39, 41, 64).

Endotelin-1 insülin ve diğer agonistlere yanıt olarak endotel hücreleri tarafından salgılanan potent vazokonstriktör bir peptittir. Hiperinsülineminin endotel hücrelerinde endotelin-1 üretimini uyarıp PI-3k yolağını baskılayarak insülin direncini daha da arttırdığını, NO ile yarışarak ve süperoksit üretimini artırarak endotel disfonksiyonunu tetiklediğini düşündüren çalışmalar vardır.

Renin anjiyotensin sistemi komponentlerinin adipoz dokudan, vasküler endotelden salınımının arttığı gösterilmiştir. Hayvan deneylerinde anjiyotensin II infüzyonunun IRS-1 ve PI-3 kinaz arasındaki etkileşimi bozarak insülin direncine neden olduğu gösterilmiştir. Anjiyotensin II vazokonstriktör özelliklerinin yanında endotelden endotelin salınımını uyarmakta ve vasküler NADPH oksidaz yolu ile süperoksit üretimini artırmaktadır (65).

### **Hiperkoagülabilité**

Metabolik sendrom artmış pıhtılaşma faktör düzeyleri [doku faktörü (DF), faktörVII (FVII) ve fibrinojen] ve fibrinolitik yolakların inhibisyonu [artmış plazminojen inhibitörü-1 (PAI-1)] ve azalmış doku plazminojen (t-PA) aktivitesi ile karakterizedir. Aynı zamanda, endotel disfonksiyonu ve dislipideminin varlığı

trombosit agregasyonunu tetiklemekte, dolayısıyla hem arteriyel hem de venöz sistemde trombotik olay riski daha da artmaktadır.

İnsülin direnci, dislipidemi, HT gibi durumlarda endotel disfonksiyonu ile normalde plazminojen aktivatörleri ve inhibitörleri arasında bulunan denge inhibitörler lehine bozulur ve buna bağlı olarak fibrinolizde göreceli olarak azalma gözlenir. Doku plazminojen aktivatörü (t-PA) salınımı azalır, fibrinolitik sistemin temel düzenleyicilerinden biri olan ve t-PA ve u-PA (ürokinaz plazminojen aktivatörü)'nü inhibe eden PAI-1 seviyeleri ise artar. PAI-1, karaciğer ve yağ dokusunda sentezlenir. Serum PAI-1 konsantrasyonu visseral adiposit miktarına bağlı olarak artar. Yüksek PAI-1 düzeyleri, dislipidemi, HT ve hiperinsülinemi ile de ilişkili olup kardiyovasküler hastalık riskinde artışa işaret eder (66-69).

## **2.2. Metabolik Sendrom Birlikteliğindeki Hastalıklar**

Metabolik sendrom prevalansı yaş, cinsiyet, tanı kriteri ve ırka bağlı olsa da birçok ülkede yetişkin populasyonun %20-30'unda MS tanısı bulunmaktadır. Bununla birlikte MS prevalansı obezite prevalansına paralel olarak artmaktadır (12).

Metabolik sendromun altta yatan mekanizması tam olarak açıklanmamış olsa da birçok çalışmada metabolik sendromun; inflamasyon, insülin direnci, endotelyal disfonksiyonu, renal disfonksiyon, oksidatif stres, hepatik disfonksiyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (12).

İnsülin direnci MS'ye neden olan temel mekanizma olmakla birlikte aterosjenik dislipidemi gelişimine, glukoz intoleransına ve kan basıncı artışına predispoze olduğu bilinmektedir (13).

Metabolik sendromun Tip 2 DM ve KVVH'larla birlikteliği birçok çalışmada araştırılmıştır. Bununla ilişkili olarak MS'nin yukarıda bahsedilen hastalıklar için önemli bir risk faktörü olduğu dile getirilmiştir.

### **2.2.1. Kardiyovasküler Hastalıklar**

Gelişmiş batı ülkelerinde ölümlerin en başta gelen sebebi kardiyovasküler hastalıklardır. Bu yüzden çok sayıda araştırmaya konu olmakta ve gün geçtikçe bu konuda yeni gelişmeler sağlanmaktadır. Kardiyovasküler hastalıkların temelinde yatan asıl olay ateroskleroz olup etiyopatogenezinde çok sayıda genetik ve çevresel



faktörler rol oynamaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar, koroner kalp hastalığı, inme ve periferik damar hastalıklarını da içine alan farklı hastalık gruplarını kapsar.

### 2.2.2. Ateroskleroz

Ateroskleroz, kan damarlarının subendotelyal aralığında, arter duvarının tüm yapısal elemanları, trombosit, lökosit ve özellikle monosit, makrofaj gibi çeşitli inflamatuvar hücreler ile lipid ve lipoproteinlerin birikimini içeren kronik, inflamatuvar bir hastalıktır (70). Bu süreçte merkezi rol oynayan vasküler endotel, arteriyel duvar ve kan dolaşımı arasında dinamik bir geçiş bölgesidir.

Aterosklerozun öncü lezyonları; yağlı çizgilenmeler ve fibröz plaktır. Yağ çizgilenmeleri mikroskobik olarak; köpük görünümü veren intrasellüler lipitlerle dolu büyük hücrelerin (köpük hücreleri) subendotelyal bölgeye toplanmasıyla karakterizedir. Köpük hücrelerinin bir kısmı düz kas orjinli olsa da esas olarak lipidlerle yüklü makrofajlardır. Fibröz plak, aterosklerotik hastalıkların kliniğinde önemli rol oynar. Mikroskobik olarak, fibröz plaktaki değişikliklerin çoğu intimal tabakada meydana gelir ve burada monosit, lenfosit, köpük hücreleri ve konnektif doku toplanmıştır.

Aterosklerotik süreçteki ilk basamak endotel disfonksiyonudur. Dolaşımdaki yüksek lipid konsantrasyonları, artmış kan basıncı ve yüksek glukoz düzeyleri gibi aterosklerotik risk faktörleri endotel disfonksiyonuna yol açmaktadır (71).

İnsülin direnci, hiperinsülinemi, obezite, yüksek TG ve azalmış HDL-K düzeyleri, okside sd-LDL, HT ve artmış reaktif oksijen radikalleri üretimini kapsayan MS komponentleri endotel disfonksiyonu ile yakından ilişkilidir.

Tip 2 DM ve hiperkolesterolemi, KAH oluşumunda güçlü bir şekilde etkileşir (72). Diabetes mellitus eğer aterosklerozu hızlandırmıyorsa trombotik olayları hızlandırarak ateroskleroza bağlı olay riskini arttırabilir.

Yapılan çalışmalar; plazma insülin düzeyinin, kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk faktörü oluşturduğunu ortaya koymuştur. Daha sonra Reaven 1988 yılında obezite, DM, HT, hiperlipidemi ve aterosklerotik kalp hastalıklarının tesadüften de öte bir sıklıkta aynı hastalarda bulunmalarını gözlemleyerek, bunların aynı metabolik bozukluktan kaynaklandığını ileri sürmüştür. Sözü edilen patolojiler arasında özellikle insüline bağımlı olmayan Tip-2 DM, esansiyel HT ve KAH morbidite ve mortaliteden önemli ölçüde sorumlu tutulmaktadır.

### 2.2.3. Tip 2 DM

Diabetes mellitus; insülin eksikliğinden, insülin etkisine cevabın bozulmasından veya her ikisinden kaynaklanan, hiperglisemi ile seyreden, zamanla mikro ve/veya makrovasküler komplikasyonların eşlik edebildiği kronik metabolik bir hastalıktır (73).

Diyabetik hastaların çoğu etiyopatogenetik açıdan iki büyük kategoride yer alır. Bunlardan ilki; Tip 1 DM, otoimmün (% 80–90) veya nedeni bilinmeyen (% 10 20) bir sebeple, pankreas beta hücrelerinde harabiyet sonucu ortaya çıkar. Bu hastalar çoğunlukla serolojik göstergeler ve genetik belirteçler ile tanımlanır. İkincisi; Tip 2 diyabet ise, insülin sekresyonunda kısmi bozulma ve/veya hedef dokulardaki insülin direnci nedeniyle, insülin etkisindeki azalma sonucunda ortaya çıkar ve uzun süre semptom vermeden seyredebilir (73). İleri yaş, obezite, fiziksel aktivite azlığı, gestasyonel diyabet öyküsü, HT ve dislipidemisi olan kişilerde daha sık görülür. İnsülin direnci sendromu olarak da bilinen MS'nin Tip 2 DM için bağımsız bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte MS, Tip 2 DM ve kardiyovasküler hastalığın belirleyicisi olarak kabul edilmektedir (74, 75).

Diyabet, KVH için bağımsız bir risk faktörüdür ve bu risk beraberindeki dislipidemilerle daha da artar (76). Diyabetik hastalarda TG'lerin artması ve HDL-K'nin azalması ateroskleroza hızlandırır. Diabetes mellituslu hastalarda akut koroner sendrom ve myokard infarktüs (MI) sonrası mortalite ve morbidite riski nondiyabetiklere göre daha fazladır. Ayrıca DM, ateroskleroz gelişimini uyarmakta ve gelişmekte olan ateroskleroza ise hızlandırmaktadır. Bu da aterosklerozun DM'ye yüksek oranda eşlik etmesini ve ölüm nedenlerinin en önemli kaynağı olmasını açıklamaktadır.

Diyabetiklerde kan glukoz düzeyinin kontrolünün, ateroskleroz gelişimini önlemede yetersiz olması aterosklerozun multifaktöryel doğası ve hipergliseminin bu faktörlerden sadece bir tanesi olmasıyla açıklanmaya çalışılmaktadır. Glisemik kontrolün kardiyovasküler komplikasyonları azaltamamasının bir diğer önemli nedeni ise aterosklerozun prediyabetik dönemde başlamış olmasıdır.

### 2.3. Multi Biyomarkır Yaklaşım

Metabolik sendromun, KVH'leri artırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir. İnsülin direnci, MS'ye neden olan temel mekanizma olmakla birlikte endotelial

disfonksiyonu ile de sıkı ilişkisi vardır. Bu ilişkinin de MS'de artmış KVH riskini kısmi olarak açıkladığı söylenmektedir. Bu yüzden endotelial disfonksiyonu markırlarının KVH'ler için potansiyel olarak kullanılabilceği öne sürülmüştür (13).

Metabolik sendromun artmış inflamatuvar ve trombotik yanıtla ilişkili olduğu çalışmalarda belirtilmiştir. Adipoz doku, inflamatuvar sitokinleri salarak protrombotik faktörlerin ekspresyonuna yol açmaktadır. CRP, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-18, PAI-1 ve Von Willebrend faktör gibi inflamatuvar ve protrombotik moleküllerin artışı MS ve kardiyovasküler olay insidansı ile ilişkilendirilmiştir (13).

WBC (Beyaz küre) sayısı, h-CRP, HOMA-IR (Homeostasis Model Assesment İnsülin Resistance İndex), homosistein, sistatin-c, ürik asit, ALT, GGT gibi birçok biyolojik markır metabolik risk faktörü olarak öne sürülmüş ve metabolik sendrom risk artışı ile korele olduğu çalışmalarda vurgulanmıştır (12).

GGT yüksekliği genelde hepatobiliyer hastalık ve alkol alımının markırı olarak düşünölmüştür. Yeni olarak, GGT'nin metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalıkların da biyomarkırı olabileceği düşünölmüştür. Bu ilişkinin altta yatan mekanizması tam olarak anlaşılmasa da, bir açıklamaya göre GGT'nin intraselüler antioksidan savunma sisteminde major bir role sahip olduğu ve oksidatif stres markırı olabileceği vurgulanmıştır. Diğer ilişkili mekanizma da artmış GGT seviyesinin, nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının bir indikatörü olabileceği ve bunun da visseral yağ birikimi ve insülin direnci ile ilişkilendirilebileceğidir (12).

Bunlara ek olarak MS, DM ve KVH'lerde paraoksonaz ve arginaz enzimlerinin farklı aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir. Buna bağılı olarak bu parametrelerin de biyomarkır olarak kullanılabileceği düşünölmüştür.

Bireysel biyomarkırlar veya biyomarkırların kombinasyonu kardiyovasküler hastalık konusunda önemli bilgiler sağlayabilir ve böylelikle tedaviden fayda görebilecek MS'li bireyleri erken dönemde tespit etmeye olanak sağlar. Metabolik sendromun etiyojisi genetik, metabolik ve çevresel faktörlerin kombinasyonu olarak düşünölmektedir. Bu yüzden, MS tanımlanması ve optimum yönetimi için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 2.4. Paraoksonaz

Paraoksonaz arildialkilfosfataz sınıfı ester hidrolaz enzimidir. Plazmada HDL-K ile birlikte bulunur ve plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunu önlemede rolü olduğu düşünülmektedir. Enzim aktivitesini ölçmek için en sık kullanılan paraokson (O,O-dietil-o-p-nitrofenil fosfat) substratından dolayı paraoksonaz olarak isimlendirilmiştir.

İnsan serumunda ilk kez 1961 yılında elektroforez sonrası HDL-K immunopresipatlarında saptanmıştır. Ardından saflaştırılmış PON'nin lipidlerle ilişkili olduğu ve molekül ağırlığının HDL-K ile aynı olduğu gösterilmiştir.

Önceleri organofosfat bileşiklerini hidrolize etme özelliği nedeni ile toksikoloji alanında üzerinde çalışılmış, son yıllarda antioksidan etkileri nedeni ile güncellik kazanmış; farklı kardiyovasküler hastalıklarda enzim aktiviteleri incelenmiş, lipoproteinlerle ve lipid peroksidasyonu ile ilişkisi araştırılmış ve enzimin aminoasit dizisi belirlenmiştir (77).

### 2.4.1. Yapısı ve Özellikleri

İnsanlarda 7. kromozom uzun kolunda, q21.3 bölgesinde birbirine komşu oldukları bildirilen PON1, PON2 ve PON3 olarak adlandırılmış üç adet PON geni bulunmaktadır.

PON1, PON2, PON3 genlerinin proteinleri, aminoasit dizilimi açısından birbirleriyle yaklaşık %53 homoloji göstermektedir. Her üç proteinin dokulardaki ekspresyonları birbirinden farklıdır (78). Sentezlenen ve dolaşıma katılan PON-1 HDL-K yapısında yer almaktadır.

Paraoksonaz-1, 354 aminoasitli glikoprotein yapısında ve üç aktiviteli bir enzimidir. Bunlar paraoksonaz, arilesteraz ve diazoksonazdır. Aminoasit içeriğinde yüksek miktarda lösin bulunur, ayrıca katalitik bölgede üç sistein aminoasidi mevcuttur. Bunlardan 284. pozisyondaki serbest halde iken, diğer ikisi (42.-352. amino asitler) arasında disülfid bağı bulunur. Serbest olan sisteinin, enzimin aktif merkezine yakın bölgede bulunduğu ve bu bölgenin substrata bağlanma için gerekli olduğu düşünülmektedir. Ayrıca LDL-K'yi oksidasyondan korumada önemli bir fonksiyona sahip olmasına karşın organofosfatların hidrolizinde bir etkisinin gözlenmediği bulunmuştur. Enzim aktivitesi sülfhidril bileşikleri ile inhibe olurken bu inhibisyon sistein ile geri döner (77, 78).

İnsan serum PON-1 enzimi HDL-K ile ilişkili, antioksidan fonksiyona sahip olduğu kabul edilen bir enzimdir. Deneysel çalışmalarda PON-1 enziminin HDL-K'nin apo-A1 ve apo-J (Clustrein) proteinleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (79). Apo A1 ve Apo J'nin PON-1'in fosfolipidlere bağlanması ve stabilizasyonunda rolü olduğu düşünülmektedir (80). PON-2 ve PON-3 105. pozisyonda lizin rezidüsü bulundurmadığından paraoksonu hidroliz edemezler (81).

Paraoksonaz ve arilesteraz her ne kadar iki ayrı enzim olarak algılanırsa da, yapılan çalışmalarda, insan serumunda tek gen ürünü olan PON enziminin hem arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir (82). PON-1'den bahsederken aslında PON-1'in paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinden bahsedilecektir.

Serum PON-1 düzeyinin ve aktivitesinin bireyler arasında değişken oluşunun bir nedeni PON genindeki kodlama ve promotor bölgelerinde çok sayıda polimorfizm bulunmasıdır. Bireyler arasındaki değişkenliğin diğer sebebi beslenme şekli ve alışkanlıklardır. Sigara, PON1 düzey ve aktivitesini geri dönüşsüz olarak azaltır. PON1 aktivitesi ayrıca gebelik, akut faz reaksiyonları, Apo A1 metabolizmasını etkileyen bozukluklardan etkilenir. Karaciğer hücre hattı HepG2 hücrelerinin okside LDL-K, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  ile inkübasyonu sonucunda PON-1 mRNA düzeylerinde azalma izlenirken (down regülasyon); simvastatin ile inkübasyonda mRNA düzeylerinde artma izlenmiştir (up regülasyon). Ayrıca leptin tedavisi, leptin eksikliği, homosisteinemi PON-1 aktivitesini azaltırken deksametazon, aspirin, vitamin C, vitamin E ve egzersiz arttırmaktadır. Farelerde yapılan çalışmalarda yüksek kolesterol içeren diyetin karaciğer dokularında PON-1 mRNA düzeylerini düşürdüğü izlenmiştir (6, 83).

PON-2 proteini karaciğer, beyin, kalp, böbrek, aort düz kas hücreleri ve testis dokularında (endotel tabakasında) intrasellüler protein olarak eksprese edilir (83).

PON-3 karaciğerde sentezlenip, serumda HDL-K ile birlikte bulunmaktadır. PON-1'e göre arilesteraz aktivitesi sınırlıdır ve paraoksonaz aktivitesi yoktur ama statin gibi laktonları hidrolize edebilir (83).

Paraoksonaz-1'in yapısında bulunan N-terminal hidrofobik sinyal peptidi, HDL-K ile etkileşim için gerekmektedir. PON-1 enzimi, N-terminal hidrofobik sinyal peptidi aracılığı ile fosfolipidlere ve lipoproteinlere bağlanır (84). PON1'in

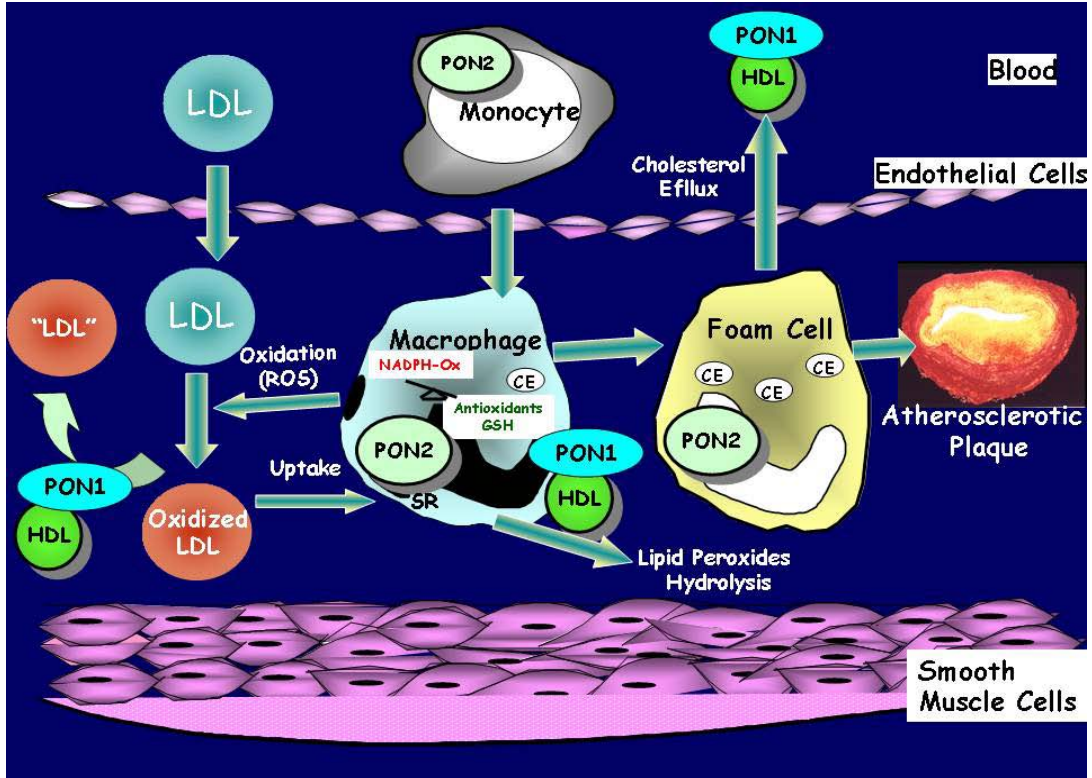
yapısında hem stabilite hem de aktivite için iki adet kalsiyum iyonu bulunur. Yapısal kalsiyum uzaklaştırılırsa geri dönüşümsüz denatürasyon meydana gelir. Kalsiyum direkt katalitik reaksiyonda yer alır veya aktif alanın uygun konformasyonunu sağlar.

#### **2.4.2. PON-1 Fonksiyonu**

Paraoksonaz-1'in en iyi bilinen koruyucu fonksiyonu organofosfatlı gazları, aromatik karboksilik asit esterleri ve insektisidleri hidroliz etme yeteneğidir. Paraokson, asetilkolini yıkan kolinesterazların güçlü inhibitörüdür. Ardışık nöron stimülasyonu ile sinaptik bileşkede asetilkolin birikimine yol açar. Memelilerde hepatik yıkımdan kaçan okson, etki alanına ulaşmadan önce, kanda PON-1 enzimi ile hidroliz edilebilir. PON-1 enzimi, paraoksondaki P=O ester bağının hidrolizinden sorumlu olan esterazdır. PON-1'in paraoksona etkisi ile oluşan organik ürünler daha az toksiktir.

HDL-K, LDL-K'yi oksidasyondan koruyabilme yeteneğine sahiptir. Çeşitli mekanizmalar bu koruyucu rolün açıklanmasında önem kazanmaktadır. HDL-K ile ilişkili enzimlerin (PON1, Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz [PAF AH]) oksidatif modifikasyonlara karşı lipoproteinleri koruduğuna inanılmaktadır (81, 85).

Paraoksonaz, HDL-K'yi oksidasyondan koruyarak HDL-K'nin ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamını sağlar. Bu durum makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve ateroskleroz gelişimi yavaşlatmaktadır (86). HDL-K yapısında bulunan PON-1 enzimi, minimal modifiye LDL-K'deki aktif lipidleri yıkar ve böylece arter duvarında yer alan hücrelerde inflamatuvar cevap oluşumuna karşı koruyucu etki gösterebilir (87). Arter duvarında trombosit aktivasyonu ve kronik inflamasyonu inhibe ederek plak stabilizasyonunu sağlar ve böylece plak rüptürünü önler. PON-1, oxLDL'deki kolesteril linoleat hidroperoksitleri ve spesifik okside fosfolipidleri hidroliz eder. Oksidatif stres altında sadece lipoproteinler değil hücrenin yapısındaki lipidler de lipit peroksidasyonuna uğramaktadır. PON-1 lipit peroksitlerinin aterojenik etkilerini nötralize eder, hücre membranlarını koruyucu etki gösterir (88) (Şekil 2.4).

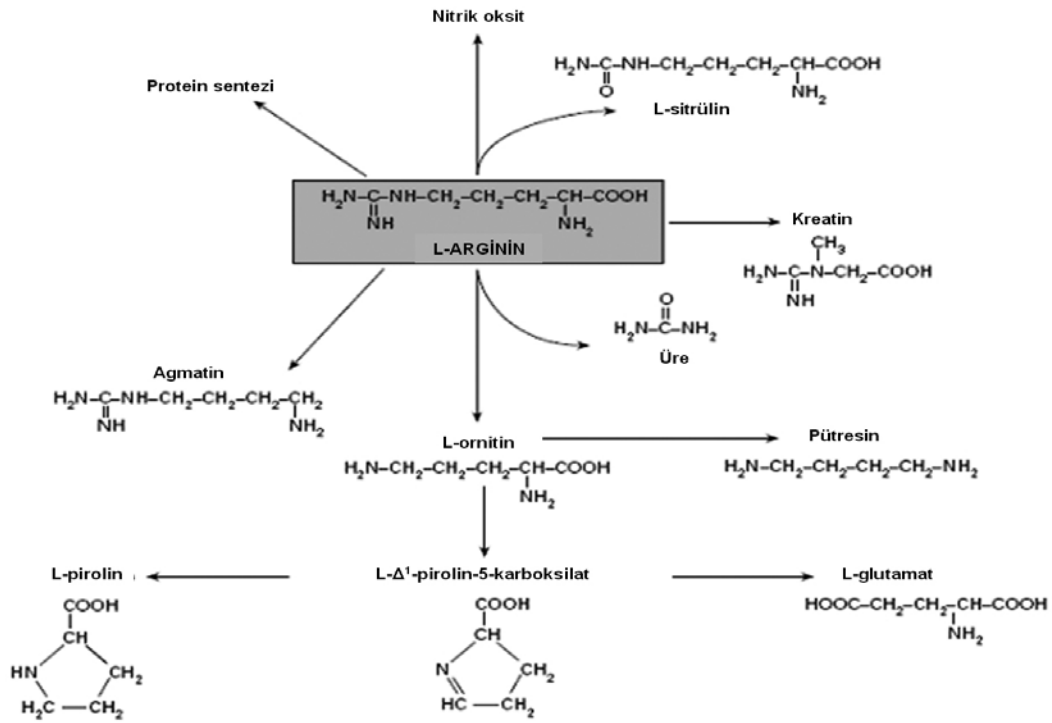


Şekil 2.4. Paraoksonaz-1 (PON-1) fonksiyonu (89).

Oksidatif sistemdeki  $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$  iyonlarının oksidasyon esnasında, PON-1'in aktivitesi için gerekli olan  $\text{Ca}^{2+}$  iyonunun yerine geçmesinin PON-1'in kısmen inaktivasyonundan sorumlu olabileceği de düşünülmektedir. Ayrıca bir çalışmada,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin PON-1'in güçlü inaktivatörü olduğu da gösterilmiştir.

## 2.5. Arginin ve Arginaz

Arginin birçok fizyolojik olayda rol alan yarı esansiyel, katyonik, pozitif yüklü, R grubu bulunduran bir amino asittir. Arginin; protein, üre, kreatin, L-prolin, L-ornitin, poliamin, agmatin ve NO sentezinde görev alan bir aminoasittir (Şekil 2.5). Bununla beraber prolaktin, büyüme hormonu, insülin benzeri büyüme faktörü uyarımı gibi biyolojik etkileri de vardır (9).



Şekil 2.5. Memeli arginin metabolizması (90).

L-Arginin bir molekülünde dört nitrojen atomu bulunduğundan dolayı hayvanlarda ve insanlarda nitrojen taşıyıcısı olarak görev yapar. Üre siklusünde yer almasından dolayı da amonyak temizlenmesinde önemli bir rol oynar.

Endojen olarak glutamat ve sitrülinden arginin sentezi ince barsak, böbrek ve karaciğerde gerçekleşir. Böbrek tarafından üretilen argininin büyük kısmı renal venöz kana salınmasına rağmen, karaciğerde sentezlenen arginin kan dolaşımına çok fazla geçmez. Hepatositlerde oluşan argininin çoğu ornitin ve üreye dönüşür.

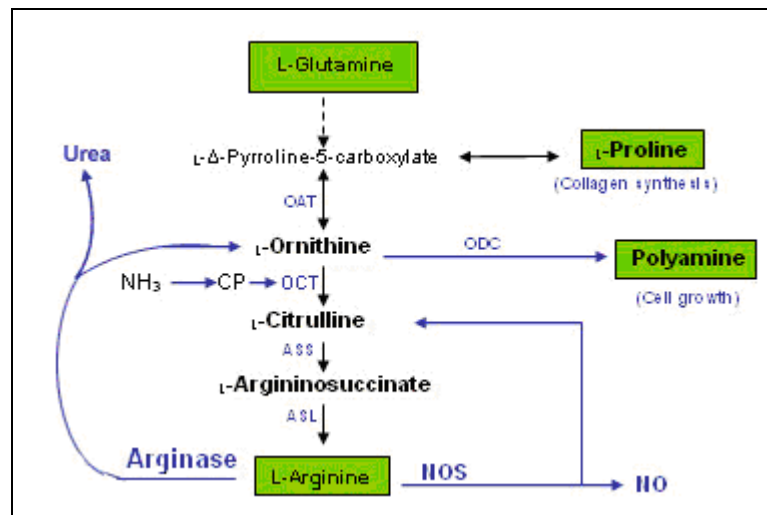
Endojen olarak sentezlenen arginin plazma arginin düzeyine %10 oranında katkıda bulunur. L-arginin hem arginaz için hem de NO üreten NOS için bir substrattır. Arginin, arginaz regülasyon sisteminin ve NO üretiminin önemli bir parçası olan nöroregülatuar bir ajandır. Arginaz (L-arginin aminohidrolaz, EC 3.5.3.1), L-argininin üre ve ornitine hidrolizini katalizleyen, birçok ara metabolizmada rol alan ve mangan kullanan anahtar bir enzimdir (Şekil 2.6). Memelilerde arginaz proteinini kodlayan iki ayrı gen saptanmıştır (8, 91-93). Bu iki gen tarafından kodlanan iki izoenzim amino asit dizilimi açısından % 60 benzerlik gösterir. Enzimatik özellikleri ve mangana olan ihtiyaçları bakımından da birbirlerine



benzerler (94). Doku dağılımı, subsellüler lokalizasyon ve immünolojik reaktivite açısından birbirlerinden farklıdır (95).

Arginaz I ağırlıklı olarak karaciğerde bulunan, üre döngüsünün son basamağını katalizleyen ve tüm vücut arginaz aktivitesinin çoğunluğunu teşkil eden sitozolik bir enzimdir (8, 9). Tip I arginaz ve üre siklusundaki diğer metabolitler, nitrojen ürünlerinin detoksifikasyonunda görevlidir (9). Üre siklusu nitrojen metabolitlerinin detoksifikasyon işleminin yüksek bir etkinlikle gerçekleştirildiği çok önemli bir metabolik yoldur. Arginaz I'in katalizlediği tepkime ile amonyak üreye dönüştürülürken, döngünün devamlılığı için gerekli olan ornitin sağlanmaktadır.

Tip I arginaz (hepatik) defektinin olduğu durumlarda, böbreklerde tip II arginaz ekspresyonu artar. Böylece ortaya çıkacak klinik problemlerin azaltılması sağlanır.

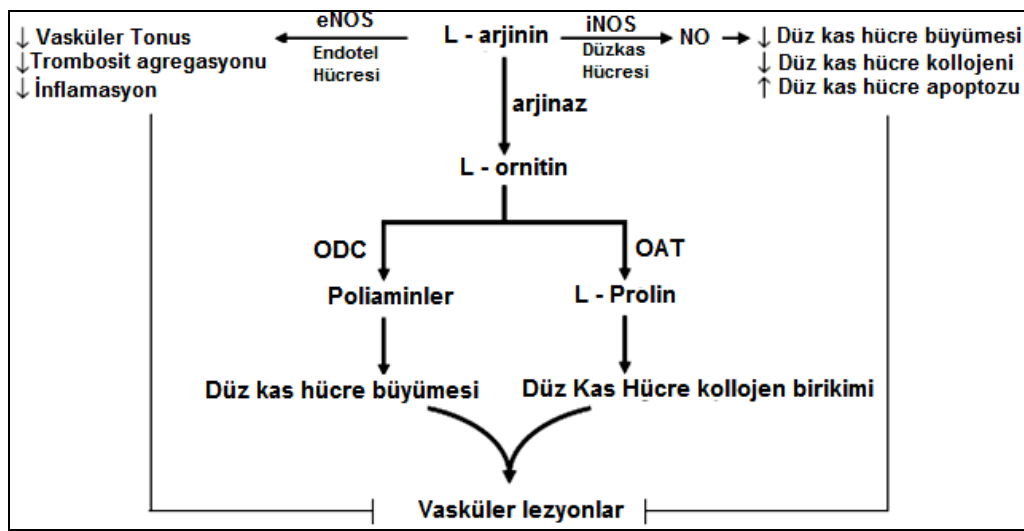


Şekil 2.6. Arginaz ve NOS tarafından gerçekleştirilen L- arginin metabolizması (96).

Arginaz II ise; böbrek, prostat, ince barsak, meme dokusu ve makrofaj gibi ekstrahepatik dokularda bulunan ve mitokondriyal bir proteindir, karaciğerde az bulunur (8). Arginaz II'nin fizyolojik görevinin ise poliamin, L-prolin, L-glutamat biyosentezi için öncül molekül olan ornitini sağlamak olduğu ileri sürülmektedir (9, 93, 97).

Arginazın optimal pH'sı 9.4 ile 9.8 arasındadır. Enzimin aktivitesi, pH 7,4 de % 10–30 oranında azalmakta, pH 7'nin altında ise kaybolmaktadır. Arginaz üç

tetramerden oluşur. Fonksiyon gösterebilmesi için iki molekül mangan ( $Mn^{+2}$ ) elementine ihtiyaç duyar.  $Mn^{+2}$  iyonu enzimi stabilize eder (98). Argininden meydana gelen ürünlerden biri olan ornitin, ornitin dekarboksilaz ile poliamin ve putressine metabolize olur. Poliaminler tüm memeli hücrelerinde bulunur. Hücre proliferasyonunun arttığı durumlarda poliamin düzeyinin de arttığı gösterilmiştir (93, 99). Ornitin dekarboksilaz aktivitesi poliamin sentezindeki artışa öncülük ederek, damar düz kas hücre proliferasyonuna neden olur (100) (Şekil 2.7). Poliaminler, DNA ve RNA sentezi ile DNA'nın stabilizasyonunda uyarıcı etki gösterirler (101).



Şekil 2.7. Damar hastalıklarının arginaz tarafından tetiklenmesini gösteren model (9).

### 2.5.1. Nitrik Oksit ve Arginaz

Nitrik oksit, NOS tarafından katalizlenen bir tepkimede argininin guanido azotu ve moleküler oksijenden sentezlenen, göreceli olarak kararlı, birçok biyolojik olayda önemli rolü olan, çok kısa ömürlü bir serbest radikaldir.

Nitrik oksit sentazın bilinen üç formu vardır. Bunlardan bir tanesi nöronlarda baskın olarak bulunan NOS-1 veya nNOS'dir. Sinapslar arasında retrograd haberleşmeyi sağlar. İkincisi indüklenbilir NOS (iNOS veya NOS-2)'dir. Makrofajlarda, epitelyum hücrelerinde ve damar düz kas hücrelerinde bulunur. Endotoksin ve sitokinler tarafından indüklenir. Bir diğer izoform ise endotelial dokuda baskın olarak bulunan NOS-3 veya eNOS formudur ve en önemli fonksiyonu vasküler tonusu ayarlamaktır (102).

Nitrik oksit, kardiyovasküler sistem, immun sistem ve sinir sisteminde önemli bir sinyal ileti molekülüdür. NO, guanilat siklazı aktive ederek önemli bir ikinci mesajcı olan cGMP sentezini başlatır ve hedef hücredeki cGMP bağımlı kinazları aktive eder. NO'nun nanomolar konsantrasyonları bile guanilat siklazı aktive edebilmekte ve cGMP düzeylerini yükseltmektedir. cGMP ise hücre dışına  $Ca^{+2}$  çıkışını arttırır. Aynı zamanda endoplazmik retikulum ve mitokondri gibi organellerde de  $Ca^{+2}$  depolanmasını uyararak sitozolik  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunun düşmesine yol açar. Hücre içi  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunun düşmesi, NO aracılı vasküler ve nonvasküler düz kas gevşemesine, nötrofil kemotaksisinin baskılanmasına, trombositlerin adezyon ve agregasyonunun inhibisyonuna ve santral ve periferik sinir sisteminde sinyal iletimine neden olmaktadır (103).

Dolaşımda NO'nun eNOS tarafından salınması damar homeostazının korunmasında önemli rol oynar. Bunu damar tonüsünü, trombosit agregasyonunu ve inflamasyonu inhibe ederek gerçekleştirir. Ayrıca iNOS'nin neden olduğu NO oluşumu otokrin bir şekilde kollajen sentezini ve hücre gelişimini bloke edip apoptosisi uyararak düz kas hücrelerinin medial yayılmasını sınırlar. Ancak arginaz, hücreler arası L-arginin metabolizmasını değiştirerek hem endotel hem de damar düz kas hücre disfonksiyonuna da neden olabilir. Özellikle arginazın L-arginin substratı için eNOS ile rekabet yeteneği NO sentezini bozabilir ve endotel disfonksiyonuna yol açabilir.

L-argininin, saflaştırılmış NOS'ye affinitesi arginaza göre daha yüksek olmasına karşın arginazın maksimum aktivitesi NOS'ninkinden daha fazladır (90). Sağlıklı bir hücrede yeterli arginaz miktarı NO sentezi için arginin kullanımını sınırlayabilir. Aslında NOS ve arginaz arasındaki ilişki yalnızca aynı substratı kullanmaları ile sınırlı değildir, daha komplikedir. Örneğin iNOS eksprese eden makrofajlar ve endotel hücreleri arginaz aktivitesini inhibe etmek için yeterli N-hidroksiarginin de üretebilirler (104).

Birçok çalışmada yaralardaki makrofaj kaynaklı arginaz aktivitesinin dokunun iyileşmesinde, inflamasyon ve enfeksiyona karşı korunmasında rol oynadığı gösterilmiştir. Arginaz NO sentezinde substrat olarak kullanılan arginini ortamdan uzaklaştırır ve ayrıca kollajen sentezlenirken ihtiyaç duyulan prolini sentezlemek için ornitin üretir (105).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereçler

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 06/07/2010 gün ve 2010/123 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı tarafından yürütülen 2008-2009 yılı ESKAP (Eskişehir Sağlıklı Kalpler) Projesiyle tesbit edilen bireyler üzerinde yapıldı.

ESKAP projesi, sağlıklı kalp yaşam öğretisinin halka kazandırılmasını amaç edinen bir toplum tabanlı koruma programı örneğidir. Bu çalışma, Eskişehir ili'nin Tepebaşı ilçesine bağlı 20-69 yaş arası nüfusu 2376 (Çukurhisar) ve 4681 (Muttalip) olan iki mahallesinde gerçekleştirildi. Bu iki bölge şehir merkezine uzaklığı ve geçim kaynakları gibi nedenlerle kentsel ve kırsal özellikleri taşımaktadır. Evler gezilip çalışmaya katılmayı kabul edenlere bir anket yapıldı. Bu iki bölgede toplam 2766 kişi çalışmaya katıldı. Hazırlanan ankette; sosyodemografik özellikler (Ad-soyad, yaş, cinsiyet, meslek gibi) ile KVH risk faktörleri arasında yer alan; sigara-alkol kullanımı, yağ, tuz, kırmızı et ve sebze-meyve tüketiminden oluşan beslenme bilgileri, fiziksel aktivite düzeyleri, bireylerin ve ailelerinin hekim tanısı almış oldukları hastalıkları ve kullandıkları ilaçları sorgulayan sorular yer aldı.

Beden kitle indeksine göre vücut ağırlığı sınıflandırıldı; 19.0-24.9 kg/m<sup>2</sup>:normal, 25.0-29.9 kg/m<sup>2</sup>: kilolu, 30.0-39.9 kg/m<sup>2</sup>: obez, 40.0 kg/m<sup>2</sup> ve üzeri: morbid obez olarak değerlendirildi. Bel çevresi ölçümü son kosta sınırını takiben belin en ince yerinden, kalça çevresi ise trokanter major seviyesindeki en geniş noktadan aynı mezura kullanılarak ölçüldü. Bel çevresi erkeklerde  $\geq 102$ cm, kadınlarda  $\geq 88$ cm ise abdominal obezite olarak tanımlandı. Kan basıncı sağ koldan 10 dakikalık dinlenme sonrası civalı manometre ile ölçüldü. Dünya Sağlık Örgütü önerilerine göre sistolik kan basıncı  $\geq 140$  mmHg ve / veya diyastolik kan basıncı  $\geq 90$  mmHg olanlar ve /veya antihipertansif tedavi alanlar hipertansif olarak kabul edildi. Hekim tanısının olması ve açlık kan glukoz değeri 126mg/dl üzerinde olanlar DM olarak kabul edildi.

Toplanan verilerden faydalanarak rastgele örnekleme yöntemiyle MS, DM, KVH ( HT, Dislipidemi, geçirilmiş myokard infarktüs öyküsü, anjina gibi) tanısı olan bireylerden hasta grubu ve sistemik bir hastalığı, ilaç ve sigara-alkol kullanımı

olmayan sağlıklı bireylerden kontrol grubu oluşturuldu. Hastalara MS tanısı NCEP-ATP III kriterlerine göre konuldu.

NCEP-ATP III Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri	
Risk Faktörü	Değerler
Abdominal obezite (bel çevresi)	
erkek	> 102 cm
kadın	> 88 cm
Trigliserid düzeyi	≥ 150 mg/dl
Düşük HDL düzeyleri	
erkek	< 40 mg/dl
kadın	< 50 mg/dl
Artmış kan basıncı	≥ 130/85 mmHg
Artmış açlık kan şekeri	≥ 110 mg/dl

Bu kriterlerin en az üçüne sahip kişiler MS'li kabul edilip çalışmaya dahil edildi. Sigara içen ve alkol kullanan kişiler çalışma dışı tutuldu.

Yaşları 25 ile 69 arasında değişen, 30 kişilik kontrol grubu (19 erkek ve 11 kadın) ve 90 kişilik hasta grubu (36 erkek ve 54 kadın) oluşturuldu. Ayrıca hasta grubu kendi arasında metabolik sendromu olanlar, metabolik sendrom ve diyabeti olanlar, metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalığı olanlar şeklinde aşağıdaki gibi üç gruba ayrıldı.

**1.Grup:** MS (n=30; erkek=17, kadın=13)

**2.Grup:** MS+DM (n=30; erkek=12, kadın=18)

**3.Grup:** MS+KVH (n=30; erkek=7, kadın=23)

Kan örnekleri 12 saatlik açlık sonrası periferik venden herhangi bir koruyucu ve antikoagülan içermeyen tüpe alındı. Tam kan örnekleri alındıktan sonraki 30 dakika içinde oda ısısında 3000 g'de 5 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı. Ayrılan serumdan TK, TG, HDL-K, LDL-K ve glukoz düzeyleri örnek alındığı gün Roche/Hitachi Modular otoanalizörde enzimatik kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Ayrıca daha sonra çalışılacak parametreler (Arginaz, PON-1, ARE, GGT, AST, ALT ) için yeterli miktarda serum ayrılarak -80° C'de saklandı. GGT, AST, ALT düzeyleri Roche/Hitachi Modular otoanalizörde enzimatik kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Arginaz, PON-1 ve ARE düzeyleri fotometrik olarak değerlendirildi.

## 3.2. Yöntemler

### Trigliserit ölçümü

Bu yöntemde, ilk olarak trigliseritler lipoprotein lipaz ile gliserole dönüşmekte, ikinci basamakta, gliserol, glikokinaz enzimi ile gliserol-3-fosfata dönüşmektedir. Gliserol-3-fosfattan gliserol fosfat oksidaz enzimi yardımıyla dihidroksiketon fosfat ve hidrojen peroksit oluşur. Hidrojen peroksit 4-aminofenazon ve 4-klorofenol ile reaksiyona girip kırmızı renkli bileşik oluşturur. Rengin şiddeti fotometrik olarak ölçülür ve serum trigliserit konsantrasyonunu yansıtır. Ölçüm aralığı, 4–1000 mg/dl, en düşük belirlenebilir değer 4 mg/dl'dir. Beklenen değerler, her iki cinsiyet için de <200mg/dl'dir.

### LDL-K ölçümü

Peroksidaz enzimi varlığında, hidrojen peroksitin 4-aminoantipirin ve sodyum N-(2-hidroksi-3-sulfopropil)-3,5-dimethoksianilin (HSDA) ile reaksiyona girmesi sonucu, mavi mor renkli pigment oluşturması esasına dayanmaktadır. Rengin şiddeti, fotometrik olarak ölçülür ve LDL-K konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Ölçüm aralığı, 3-550 mg/dl olup, en düşük belirlenebilir değer 3 mg/dl'dir. Referans değerler, erişkinler için <100 mg/dl'dir.

### HDL-K ölçümü

Peroksidaz enzimi varlığında, hidrojen peroksitin 4-aminoantipirin ve sodyum N-(2-hidroksi-3-sulfopropil)-3,5-dimethoksianilin ile reaksiyona girmesi sonucu, mavi mor renkli pigment oluşturması esasına dayanmaktadır. Rengin şiddeti, fotometrik olarak ölçülür ve HDL-K konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Burada kullanılan enzimler polietilen glikol ile modifiye edilmiştir ve katalitik aktiviteleri HDL-K'ye daha özgün hale getirilmiştir. Ölçüm aralığı, 3–120 mg/dl, en düşük belirleme sınırı 3 mg/dl'dir. Beklenen değerler, erişkinler için >35 mg/dl olarak önerilse de, kardiyovasküler hastalık riski açısından önerilen risk değerlendirmesi şu şekildedir: HDL-K<40, düşük HDL-K düzeyini ifade eder ve yüksek riski belirtir. HDL-K  $\geq$  60, yüksek HDL-K düzeyidir ve negatif risk faktörü olarak tanımlanmıştır.

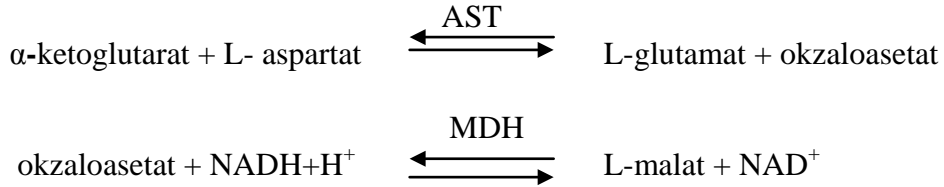
### **Kolesterol ölçümü**

Hidrojen peroksitin 4-aminofenazon ile reaksiyonu sonucu kırmızı renkli bileşik oluşumuna dayanmaktadır ve fotometrik olarak belirlenen rengin şiddeti kolesterol konsantrasyonu ile orantılıdır. Ölçüm aralığı 3-800mg/dl olup, ölçülebilir en küçük değer 3 mg/dl'dir. Beklenen değerler her iki cinsiyet için de <200 mg/dl'dir.

### **Glukoz ölçümü**

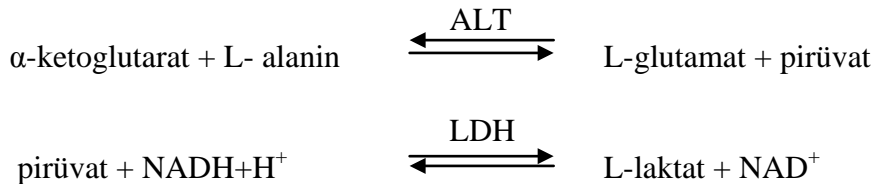
Glukoz, glukoz oksidaz enzimi ile okside olarak, oksijen varlığında glukonolaktona dönüşür. Bu sırada oluşan hidrojen peroksit, peroksidaz varlığında 4 aminofenazon ve fenolü 4-(p-benzoquinon-monoimino)-fenazona okside eder. Bu bileşik, kırmızı renklidir. Fotometrik olarak belirlenen rengin şiddeti glukoz konsantrasyonu ile orantılıdır. Glukoz için ölçüm aralığı 2–450 mg/dl ve beklenen değerler 70–110 mg/dl'dir.

### **AST ölçümü**



AST enzimi yukarıdaki ilk reaksiyonu katalizlemektedir. Okzaloasetat miktarındaki azalma malat dehidrogenaz (MDH) enzimi ile katalizlenen reaksiyonla belirlenmektedir. NADH, NAD<sup>+</sup>'ye okside olur. NADH miktarındaki azalma fotometrik olarak ölçülür. NADH'deki bu azalma direkt olarak okzaloasetat ve dolayısıyla da AST aktivitesiyle orantılıdır. Ölçüm aralığı 4- 800 U/L olup beklenen değerler erkeklerde 40, kadınlarda 32 U/L'ye kadardır.

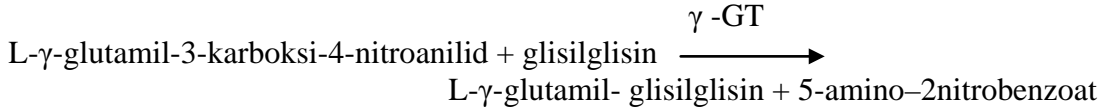
### **ALT ölçümü**



Yukarıdaki birinci reaksiyon ALT enzimi ile gerçekleşmektedir. Pirüvat miktarındaki azalma laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi ile katalizlenen reaksiyonla

belirlenmektedir. NADH, NAD<sup>+</sup>'ye okside olur. NADH miktarındaki azalma fotometrik olarak ölçülür. NADH'deki bu azalma direkt olarak pirüvat ve dolayısıyla da ALT aktivitesiyle orantılıdır. Ölçüm aralığı 4- 600 U/L olup beklenen değerler erkeklerde 41, kadınlarda 33 U/L'ye kadardır.

### GGT ölçümü



Gamma glutamil transferaz, L- $\gamma$ -glutamil-3-karboksi-4-nitroanilid'in  $\gamma$ -glutamil grubunu glisilglisine transfer eder. 5-amino-2-nitrobenzoat miktarı fotometrik olarak ölçülür ve bu GGT aktivitesi ile orantılıdır. Ölçüm aralığı 3 – 1200 U/L olup beklenen değerler erkeklerde 8–61, kadınlarda 5–36 U/L arasında değişmektedir.

### 3.2.1. Serum Arginaz Aktivitesinin Tayini

**Yöntem adı:** Tiyosemikarbazid-Diasetil Monoksim Üre (TDMU) yöntemi.

#### Prensip

Tiyosemikarbazid-Diasetil Monoksim Üre yöntemi spektrofotometrik olarak üre düzeyini ölçen bir yöntemdir. Bu yöntemde arginaz aktivitesi indirekt olarak ölçülür. Arginaz substrat olarak L-arginin kullanır ve ürün olarak üre ve ornitine dönüştürür. Oluşan reaksiyonla ortamda biriken üre diasetil monoksim (DAM) ile doğrudan reaksiyona girmez. İlk önce asit ortamda ısı etkisi ile hidroksilamin ve diasetile hidrolize olur. Diasetil, asit çözeltide üre ile kondanse olur ve H<sub>2</sub>O ve renkli bir bileşik olan diazin meydana gelir. Bu rengi stabilize etmek için Tiyosemikarbazid ve Fe<sup>+++</sup> iyonları kullanılır.

Örnekteki üre düzeyinin 0,3  $\mu\text{mol}$  üre /ml'den fazla olduğu durumlarda Beer–Lambert kanununa göre doğrusallığı kaybetmesi yöntemin dezavantajıdır. Ancak bu olumsuzluk yüksek absorbans değeri veren örneklerin dilüsyonundan sonra ölçülmesi ile önlenir.



### **Serum arginaz aktivitesi tayini için kullanılan çözeltiler**

#### **50 mM arginin Çözeltisi:**

0.871 gr L-arginin bir miktar suda çözüldü. 0.1 M HCl ile pH'sı 9,7'ye getirildi, son hacim distile su ile 100 ml'e tamamlandı. Hazırlanan çözelti +4°C'de saklandı.

#### **100 mM pH: 9,7 Karbonat Tamponu:**

1,0599 gr Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> bir miktar suda çözümlenerek distile su ile 100 ml'e tamamlandı. 0,8401 gr NaHCO<sub>3</sub> bir miktar distile suda çözümlenerek 100 ml'ye tamamlandı. 100 mL 0,1 M NaHCO<sub>3</sub> üzerine 0,1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ilave edilerek pH 9,7'ye getirildi. Hazırlanan tampon çözelti +4°C'de saklandı.

#### **9 mM MnCl<sub>2</sub> Çözeltisi:**

1,78119 gr MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O bir miktar distile su ile çözümlenerek 1000 mL'ye tamamlandı. Buzdolabında +4°C'de saklandı.

#### **Asit Karışımı:**

0,12 M FeCl<sub>3</sub> / % 56,7 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>: 3,24 g FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O bir miktar distile su ile çözüldü, üzerine %85'lik H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>'ten 66,7 ml eklendi. Üzeri distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltilerden 1 ml alınıp üzerine % 20 (h/h)'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edildi. Deney sırasında asit karışımı olarak bu çözelti kullanıldı. Asit karışımı oda sıcaklığında saklandı.

#### **Renk Ayırıcı:**

6,238 gr diasetilmonoksim ile 0,328 gr tiosemikarbazid karıştırılarak bir miktar distile suyla çözüldü. Çözelti distile suyla 1000 ml'ye tamamlandı. Oda ısısında ve renkli şişede saklandı.

#### **Üre Standardı:**

3 mg üre, 0,016 M 100 ml benzoik asit içinde çözüldü. Stok olarak hazırlanan bu çözeltilerden deney sırasında 1:5 oranında dilüsyon yapılarak 0,1 µmol üre/ ml standart hazırlandı. Hazırlanan çözelti +4°C'de saklandı.

### **Deneyin Yapılışı**

1. Enzim aktivitesi tayini için iki deney düzeneği hazırlandı. Birinci düzeneğe deney tüpleri, ikinci düzeneğe ise kör, standart ve sıfır zaman tüpleri konuldu. Sıfır zaman tüplerini hazırlamaktaki amacımız, enzim kaynağındaki endojen ürenin arginaz aktivitesinin hesaplanması esnasında göz ardı edilebilmesidir.

2. Serum örnekleri 9 mM Mangan klorür ile 1:10 oranında dilüe edildi.

3. Dilüe edilen serum örnekleri 55°C'de 20 dakika ön inkübasyona bırakıldı.

4. Bu aşamadan sonra deney ve sıfır zaman tüplerine 0,4 ml L-arginin ve 0,4 ml karbonat tamponu konuldu.

5. Kör tüpüne 1 ml distile su, standart tüpüne 1 ml üre standartı konuldu.

6. Aynı zamanda oda ısısında tutulan sıfır zaman tüplerine 3 ml asit karışımı konuldu.

7. Sıfır zaman tüplerine 0,2 ml enzim konuldu.

8. Kör ve standart tüplerine 3 ml asit karışımı konuldu.

9. Dilüe serum örnekleri ve hazırlanmış deney tüpleri 37°C'de 3 dakika bekletilerek tüm düzeneklerin aynı ısıya gelmesi sağlandı.

10. Daha sonra 37°C'ye gelen serum örneğinden deney tüplerine 0,2 ml konularak vortekslendi.

11. Enzimatik reaksiyon için 37°C'de 15 dakika inkübe edildi.

12. Inkübasyon süresinin sonunda reaksiyonu durdurmak için deney tüplerine 3 ml asit karışımı konuldu.

13. Bu işlemi takiben her iki düzenekteki tüplere 2 ml renk reaktifi konulup vortekslendi.

14. Tüplerin ağzı kapatılıp, 10 dakika kaynar su banyosunda renk oluşumu için bekletildi.

15. Süre sonunda tüpleri musluk suyu altında soğutuldu.

16. Absorbansları 520 nm'de okutuldu.

<b>1 : 10 Dilüsyon İşlemi</b>				
<b>Serum Örnekleri</b>		<b>MnCl<sub>2</sub> (Mangan Klorür)</b>		
<b>100 µl</b>		<b>900 µl</b>		
<b>55°C'de 20 dakika ön-inbükyasyon</b>				
<b>İŞLEM SIRASI</b>	<b>DENEY</b>	<b>KÖR</b>	<b>STANDART</b>	<b>SIFIR ZAMAN</b>
<b>L - Arginin</b>	<b>400 µl</b>			<b>400 µl</b>
<b>Karbonat Tamponu</b>	<b>400 µl</b>			<b>400 µl</b>
<b>Distile su</b>		<b>1000 µl</b>		
<b>Üre Standartı</b>			<b>1000 µl</b>	
<b>Asit Karışımı</b>		<b>3000 µl</b>	<b>3000 µl</b>	<b>3000 µl</b>
<b>Tüm Deney Düzeneklerini 37 °C'de 3 dakika inkübasyon</b>				
<b>1:10 Dilüe Serum</b>	<b>200 µl</b>			<b>200 µl</b>
<b>37°C'de 15 dakika</b>				
<b>Asit Karışımı</b>	<b>3000 µl</b>			
<b>Renk Reaktifi</b>	<b>2000 µl</b>	<b>2000 µl</b>	<b>2000 µl</b>	<b>2000 µl</b>
<b>10 dakika kaynar su banyosu</b>				

Hesaplama; her deney tüpünün absorbanından, kendi sıfır zaman absorbanı çıkartılarak net absorban elde edildi. Böylece enzim kaynağındaki endojen ürenin absorbanı hesabın dışında bırakılmış oldu.

Standart absorbanı, standarttaki üre miktarı ve sulandırma katsayılarından ortak bir faktör bulundu. Faktör hesaplanması şu şekilde yapıldı:

$$\text{Faktör} = \frac{(0,1 \mu\text{mol üre /ml}) \times 10 \times 5 \times 4}{\text{Üre standardının absorbanı}}$$

10: Serumun MnCl<sub>2</sub> dilüsyon katsayısı

5: serumun inkübasyon ortamındaki dilüsyon katsayısı

4: İnkübasyon süresinin 1 saate tamamlanma katsayısı  
 0,1  $\mu\text{mol üre/ml}$ ' nin absorbanı: 0,331 olarak okundu.  
 Faktör = 60,42 olarak hesaplandı.

Serum için enzim aktivitesi; ünite olarak tanımlanmıştır. Bir ünite enzim aktivitesi, 1 saatte,  $37^{\circ}\text{C}$ 'de, substrat olarak kullanılan L-Arginin'den 1  $\mu\text{mol üre}$  oluşturan enzim miktarıdır. Enzim aktivitesinin hesaplanmasında net örnek absorbanları faktör ile çarpıldı.  $\mu\text{mol üre/ml /saat}$  olarak enzim aktiviteleri bulundu ve ünite olarak tanımlandı (Ünite =  $\mu\text{mol üre/ml/saat}$ ).

### 3.2.2. Paraoksonaz-1 (PON-1) Ölçümü

PON aktivitesi Paraoksonaz Aktivite Ölçüm kiti (Rel Assay Diagnostics) ile Modüler P (Roche Diagnostics) analizörde üretici firmanın önerilerine uygun olarak yapılmıştır.

**Testin prensibi:** Örnekteki paraoksonaz enzimi reaksiyon ortamındaki paraokson substratını hidroliz eder ve açığa çıkan ürünün absorban artışı, absorban spektrumuna uygun dalga boyunda kinetik olarak izlenir. Nonenzimatik hidroliz değeri, örnek değerinden çıkarılarak enzimatik aktiviteye ait net değerler hesaplanır.

Ayraçlardan bir tanesi kalsiyum içeren Tris çözeltisi idi. İkinci ayraç ise yeni geliştirilen kararlı substrat solüsyonu idi. Paraoksondan üretilen P-nitro fenol'ün absorbanındaki lineer artış, kinetik ölçüm ile belirlendi. Paraoksonun hidroliz oranı 412 nm dalgaboyunda absorban oranında artışın gösterilmesiyle ölçüldü. P nitrofenol'ün molar absorptivitesi pH 8,5'de  $18.290 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  idi ve paraoksonaz aktivitesinin 1 Ünitesi  $37^{\circ}\text{C}$ 'de her dakikada her litrede 1  $\mu\text{mol}$  paraoksonu hidroliz eden enzim miktarı olarak tanımlandı. Paraoksonaz aktivitesi U/L serum olarak ifade edildi.

### 3.2.3. Arilesteraz Ölçümü

Arilesteraz aktivitesi, Arilesteraz Aktivite Ölçüm kiti (Rel Assay Diagnostics) ile Modüler P (Roche Diagnostics) analizörde üretici firmanın önerilerine uygun olarak yapılmıştır.

**Testin prensibi:** Arilesteraz enzim aktivitesi ölçümünde substrat olarak fenil asetat kullanıldı. Enzimatik aktivite fenol'ün Molar absorpsiyon katsayısından ( $1310 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) faydalanarak hesaplandı. Örnekte bulunan PON1, fenil asetatı ürünleri olan

fenol ve asetik asite hidroliz etti. Üretilen fenol, 4-aminoantipirin ve potasyum ferrisiyanid ile oksidatif çiftleşme üzerinden 548 nm'de kolorimetrik olarak ölçüldü. Arilesteraz enzim aktivitesi, U/L olarak hesaplandı.

### **İstatistiksel Analiz**

Verilerin istatistiki değerlendirmesi SPSS 13.0 paket programında yapıldı. Gruplar arasında klinik ve metabolik değişken ölçümleri açısından fark olup olmadığını analiz etmek için öncelikle dağılımların normal dağılıma uygunlukları analiz edildi. Analizde Shapiro-Wilk testi ve beraberinde, normal dağılıma uygunluk grafikleri yapıldı. Normal dağılım gösteren değişkenlerin analizinde One-way ANOVA kullanıldı, en küçük kareler yöntemi ile de farkı yapan gruplar belirlendi. Normal dağılım göstermeyen değişkenler için Kruskal Wallis testleri ve farkı yapan grupları belirlemede Bonferroni düzeltmesi ile Wilcoxon işaretli sıralar (signed Ranks) testi kullanıldı. Pearson parsiyel korelasyon katsayısı ile hesaplamalarda yaş ve cins değişkenlerine göre düzeltmeler yapıldı. Logistik regresyon metabolik sendrom ve biyomarkırlar arasındaki ilişkiyi belirlemek için kullanıldı. GGT, PON, ARE ve arginaz'ın metabolik sendromu değerlendirmede kestirim değerlerinin hesaplanmasında ROC (receiver operating characteristic curve) analizi yapıldı.

#### 4. BULGULAR

##### A-Kontrol grubu ve hasta gruplarının demografik bulgularının istatistiksel olarak karşılaştırılması:

Kontrol ve hasta gruplarının demografik bulguları istatistiksel olarak incelenmiş ve Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışma gruplarının demografik bulguları (Ortalama  $\pm$  SD)

	Kontrol n=30	MS n=30	MS+DM n=30	MS+KVH n=30	İstatistiki karşılaştırma
Yaş	45 $\pm$ 7	52 $\pm$ 9	55 $\pm$ 6	53 $\pm$ 8	<b><i>P&lt;0.001</i></b>
Cinsiyet					<b><i>X<sup>2</sup>=11.648; P=0.009</i></b>
Erkek	19 (%63,3)	17 (%56,7)	12 (%40,0)	7 (%23,3)	
Kadın	11 (%36,7)	13 (%43,3)	18 (%60,0)	23 (%76,7)	
Bel (cm)	78 $\pm$ 8	104 $\pm$ 7	97 $\pm$ 9	98 $\pm$ 10	<b><i>P&lt;0.001</i></b>
Kalça (cm)	95 $\pm$ 6	110 $\pm$ 20	114 $\pm$ 12	115 $\pm$ 9	<b><i>P&lt;0.001</i></b>
SKB** (mm Hg)	108 $\pm$ 20	151 $\pm$ 19	156 $\pm$ 25	158 $\pm$ 24	<b><i>P&lt;0.001*</i></b>
DKB*** (mm Hg)	70 $\pm$ 8	93 $\pm$ 19	93 $\pm$ 14	97 $\pm$ 12	<b><i>P&lt;0.001</i></b>

\*: Kruskal Wallis testi yapıldı \*\*: Sistolik Kan Basıncı \*\*\*: Diyastolik Kan Basıncı

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hasta gruplarında yaş, bel ve kalça çevresi, SKB ve DKB değerleri anlamlı düzeyde yüksekken ( $p<0.001$ ), MS+KVH grubunda kadın oranının diğer gruplardan daha fazla olduğu görülmektedir. Bununla birlikte en yüksek bel çevresi değerleri MS grubunda bulunmaktadır.

**B-Kontrol grubu ve hasta gruplarının biyokimyasal bulgularının istatistiksel olarak karşılaştırılması:**

Kontrol ve hasta gruplarının biyokimyasal bulguları istatistiksel olarak incelenmiş ve Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Çalışma gruplarının biyokimyasal bulguları (Ortalama  $\pm$  SD)

	<b>Kontrol n=30</b>	<b>MS n=30</b>	<b>MS+DM n=30</b>	<b>MS+KVH n=30</b>	<b>İstatistiki karşılaştırma</b>
TK (mg/dl)	152 $\pm$ 22	205 $\pm$ 38	224 $\pm$ 50	214 $\pm$ 51	<b><i>P&lt;0.001</i></b>
LDL (mg/dl)	91 $\pm$ 18	128 $\pm$ 33	153 $\pm$ 41	143 $\pm$ 46	<b><i>P&lt;0.001</i></b>
HDL (mg/dl)	48 $\pm$ 5	34 $\pm$ 4	38 $\pm$ 4	37 $\pm$ 3	<b><i>P&lt;0.001</i></b>
TG (mg/dl)	94 $\pm$ 23	225 $\pm$ 75	211 $\pm$ 76	257 $\pm$ 125	<b><i>P&lt;0.001</i></b>
Glukoz (mg/dl)	81 $\pm$ 7	97 $\pm$ 26	173 $\pm$ 59	102 $\pm$ 26	<b><i>P&lt;0.001*</i></b>
AST (U/L)	21 $\pm$ 5	23 $\pm$ 9	27 $\pm$ 15	27 $\pm$ 17	<i>P=0.781*</i>
ALT (U/L)	20 $\pm$ 18	24 $\pm$ 16	24 $\pm$ 17	33 $\pm$ 40	<i>P=0.399*</i>
GGT (U/L)	14 $\pm$ 7	32 $\pm$ 36	40 $\pm$ 32	60 $\pm$ 83	<b><i>P&lt;0.001*</i></b>
PON (U/L)	251 $\pm$ 65	224 $\pm$ 221	122 $\pm$ 58	113 $\pm$ 51	<b><i>P&lt;0.001*</i></b>
Arilesteraz (U/L)	333 $\pm$ 64	305 $\pm$ 50	285 $\pm$ 52	277 $\pm$ 54	<b><i>P&lt;0.001*</i></b>
Arginaz (U/L)	2,03 $\pm$ 1,39	4,72 $\pm$ 2,74	5,16 $\pm$ 2,96	4,66 $\pm$ 2,74	<b><i>P&lt;0.001*</i></b>

\*: Kruskal Wallis testi yapıldı.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hasta gruplarında **TK, TG, LDL, glukoz, GGT** düzeyleri ve **arginaz** aktivitesinin anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu ( $p<0.001$ ). Kontrol grubu, diğer grupların hepsinden daha yüksek **HDL-K** ortalamasına sahipken MS’li grupta en düşük değerler gözlemlendi. En yüksek **glukoz** değerleri MS+DM grubunda gözlemlendi.

Paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinin hasta gruplarında daha düşük olduğu tespit edildi ( $p<0.001$ ). **AST** ve **ALT** değerleri için gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ).

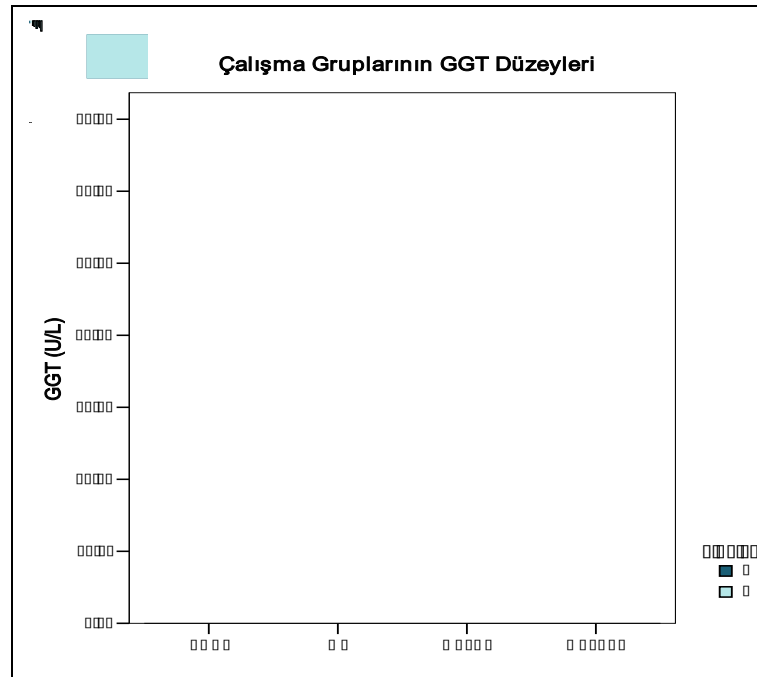
**C-Kontrol grubu ile hasta gruplarında GGT düzeyleri ve arginaz, paraoksonaz, arilesteraz aktivitelerinin karşılaştırılması:**

**GGT Düzeyleri:**

Kontrol ve hasta gruplarında GGT düzeylerinin istatistiksel incelenmesi Tablo 4.3’de ve grafik 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Çalışma gruplarının GGT düzeyleri (Ortalama  $\pm$  SD)

	Kontrol (n=30)	Hasta Grupları			İstatistiki karşılaştırma
		MS (n=30)	MS+DM (n=30)	MS+KVH (n=30)	
GGT (U/L)	14 $\pm$ 7	32 $\pm$ 36	40 $\pm$ 32	60 $\pm$ 83	<i>P</i> <0.001



Şekil 4.1. Çalışma gruplarının GGT düzeyleri

Çalışma gruplarında GGT düzeyleri incelenmiştir. Buna göre; MS+DM grubu kontrol grubundan, MS+KVH grubu kontrol ve MS gruplarından daha yüksek GGT değerlerine sahipti ( $p$ <0.001). Cinsiyete göre GGT düzeyinde sadece kontrol grubunda anlamlı bir fark gözlemlendi ( $p$ <0.05).

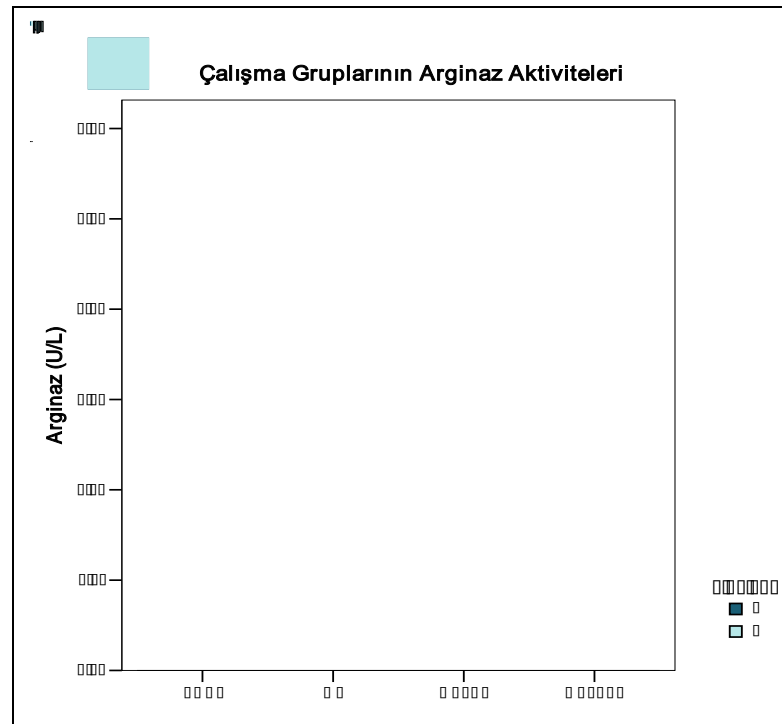


### Arginaz Aktiviteleri:

Kontrol ve hasta gruplarında arginaz aktivitelerinin istatistiksel incelenmesi Tablo 4.4’de ve grafik 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Çalışma gruplarının arginaz aktiviteleri (Ortalama  $\pm$  SD)

	Kontrol (n=30)	Hasta Grupları			İstatistiki karşılaştırma
		MS (n=30)	MS+DM (n=30)	MS+KVH (n=30)	
Arginaz (U/L)	2,03 $\pm$ 1,39	4,72 $\pm$ 2,74	5,16 $\pm$ 2,96	4,66 $\pm$ 2,74	<i>P</i> <0.001



Şekil 4.2. Çalışma gruplarının arginaz aktiviteleri

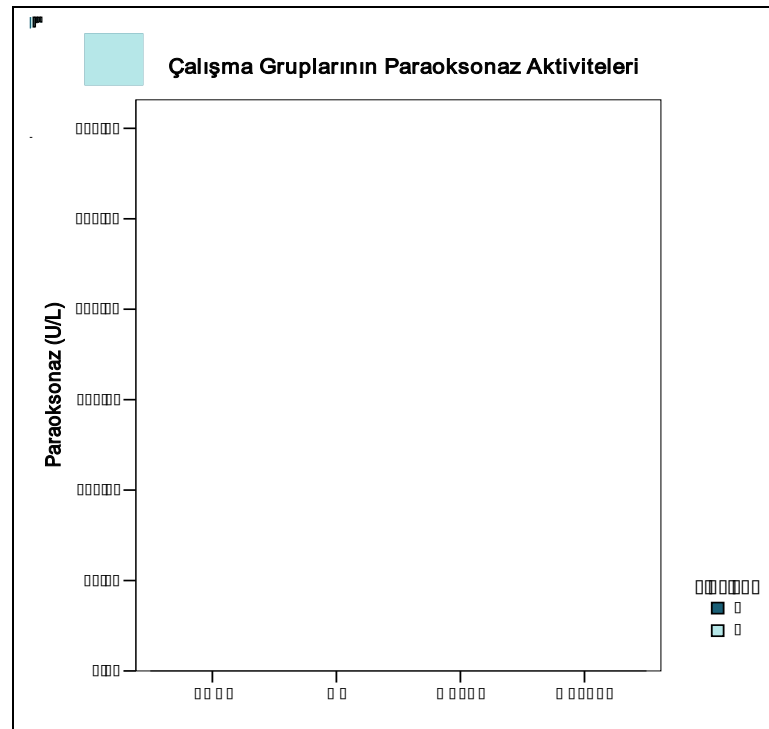
Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında arginaz aktivitesinin MS, MS+DM ve MS+KVH gruplarında daha yüksek olduğu bulundu ( $p<0.001$ ). Cinsiyet açısından arginaz aktivitesinde gruplar arasında bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ).

#### Paraoksonaz Aktiviteleri:

Kontrol ve hasta gruplarında paraoksonaz aktivitelerinin istatistiksel incelenmesi Tablo 4.5’de ve grafik 4.3’de gösterilmiştir.

Tablo 4.5.Çalışma gruplarının paraoksonaz aktiviteleri (Ortalama  $\pm$  SD)

	Kontrol (n=30)	Hasta Grupları			İstatistiki karşılaştırma
		MS (n=30)	MS+DM (n=30)	MS+KVH (n=30)	
Paraoksonaz (U/L)	251 $\pm$ 65	224 $\pm$ 221	122 $\pm$ 58	113 $\pm$ 51	$P<0.001$



Şekil 4.3. Çalışma gruplarının paraoksonaz aktiviteleri

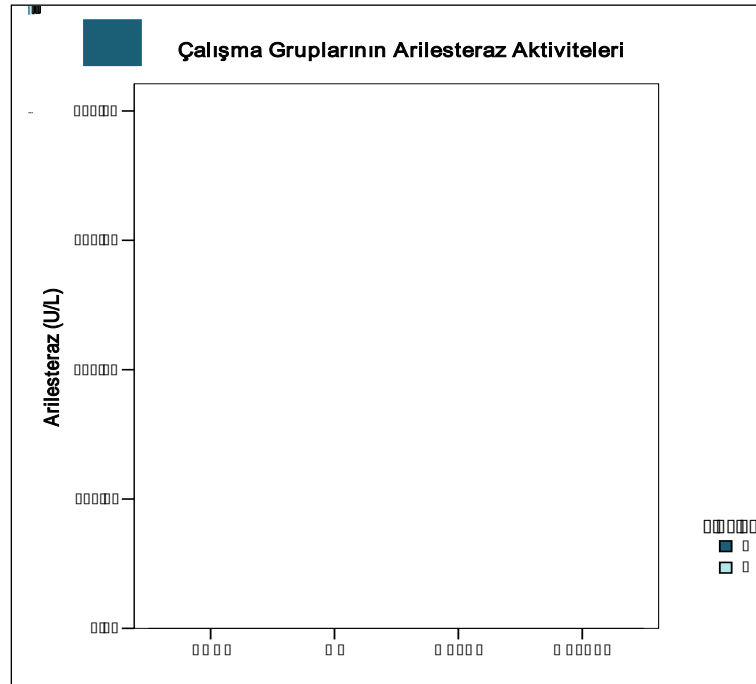
Çalışma gruplarında en yüksek PON-1 aktivitesi kontrol grubunda gözlemlendi. MS+DM ve MS+KVH gruplarında kontrol ve MS gruplarına nazaran anlamlı düzeyde düşük PON-1 aktivitesi tespit edildi ( $p<0.001$ ). Cinsiyet açısından PON-1 aktivitesinde gruplar arasında bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ).

#### Arilesteraz Aktiviteleri:

Kontrol ve hasta gruplarında ARE aktivitelerinin istatistiksel incelenmesi Tablo 4.6'de ve grafik 4.4'de gösterilmiştir.

Tablo 4.6.Çalışma gruplarının arilesteraz aktiviteleri (Ortalama  $\pm$  SD)

	Kontrol (n=30)	Hasta Grupları			İstatistiki karşılaştırma
		MS (n=30)	MS+DM (n=30)	MS+KVH (n=30)	
<b>Arilesteraz (U/L)</b>	333 $\pm$ 64	305 $\pm$ 50	285 $\pm$ 52	277 $\pm$ 54	<i>P&lt;0.001</i>



Şekil 4.4. Çalışma gruplarının arilesteraz aktiviteleri

Arilesteraz aktivitesi kontrol grubuna göre hasta gruplarında daha düşük olarak bulundu. Bununla birlikte MS+DM grubu kontrol grubundan, MS+KVH grubu kontrol ve MS gruplarından daha düşük arilesteraz aktivitesine sahipti. Cinsiyet açısından arilesteraz aktivitesinde gruplar arasında bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ).

#### D. Metabolik sendrom hastalarında parametreler arasındaki ilişkiler:

Tablo 4.7. Çalışma grubu parametrelerinin metabolik sendrom ve tanı kriterlerine göre parsiyel korelasyon ( r ) düzeyleri

	Bel Çevresi	TG Yüksekliği	HDL-K Düşüklüğü	AKŞ	Kan Basıncı	Komponent Sayısı	MS
Log PON	<b>-0.27**</b>	<b>-0.38**</b>	<b>-0.25*</b>	-0.17	<b>-0.29*</b>	<b>-0.39**</b>	<b>-0.40**</b>
Log ARES	-0.05	-0.13	-0.11	-0.17	-0.10	-0.05	<b>-0.26*</b>
Log Arjinaz	0.16	<b>0.27*</b>	<b>0.19*</b>	0.12	<b>0.23*</b>	0.17	<b>0.30**</b>
Log GGT	<b>0.26*</b>	<b>0.43**</b>	<b>0.22*</b>	<b>0.19*</b>	<b>0.38**</b>	<b>0.37**</b>	<b>0.38**</b>

\* $p<0.05$ , \*\*  $p<0.001$

Çalışma gruplarında paraoksonaz, arilesteraz ve arginaz aktiviteleri ile GGT düzeylerinin MS ve tanı kriterleri ile parsiyel korelasyon değerleri hesaplanırken yaş ve cinsiyet için düzeltme yapıldı.

Buna göre PON-1 aktivitesi ile bel çevresi, TG yüksekliği, HDL-K düşüklüğü, kan basıncı, MS komponent sayısı ve MS arasında negatif korelasyon bulundu (sırasıyla  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ).

Arilesteraz aktivitesi ile MS arasında negatif korelasyon bulundu ( $p<0.05$ ).

Arginaz aktivitesi ile TG yüksekliği, HDL-K düşüklüğü, kan basıncı ve MS arasında pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.001$ ).

GGT düzeyi ile bel çevresi, TG yüksekliği, HDL-K düşüklüğü, AKŞ, kan basıncı, komponent sayısı ve MS arasında pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla  $p<0.05$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ).

Tablo 4.8. Bağımlı değişken olarak metabolik sendrom üzerine etkili faktörlerin kaba OR değerleri ve Güven aralıkları

<b>Değişkenler</b>	<b>Odds ratio</b>	<b>%95 Güven aralığı</b>
Yaş	1,19	<b>1,12-1,28</b>
Cinsiyet	2,59	<b>1,10-6,09</b>
Bel	1,26	<b>1,16-1,37</b>
Kalça	1,15	<b>1,09-1,22</b>
SKB	1,51	<b>1,19-1,91</b>
DKB	1,16	1,00-1,23
TK	1,06	<b>1,04-1,09</b>
LDL	1,07	<b>1,04-1,11</b>
HDL	0.63	<b>0.535-0.75</b>
TG	1,06	<b>1,04-1,09</b>
Glukoz	1,10	<b>1,05-1,15</b>
AST	1,04	0.99-1.09
ALT	1,02	0.989-1,05
GGT	1,13	<b>1,06-1,20</b>
PON	0,99	<b>0,99-0,99</b>
Arilesteraz	0.99	<b>0,98-0,99</b>
Arginaz	1,85	<b>1,38-2,48</b>

Metabolik sendrom ile demografik özellikler ve biyokimyasal parametreler arasındaki ilişkiyi belirlemek için logistik regresyon analizi yapıldı.

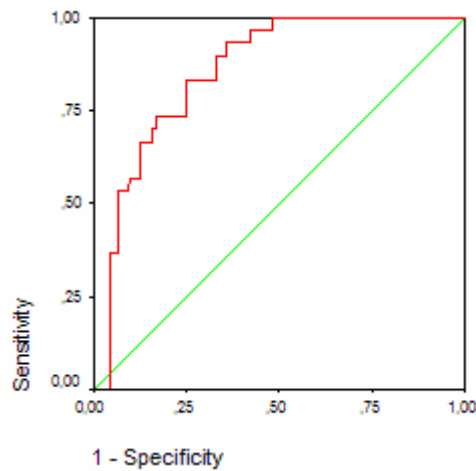
Buna göre MS görülme riski ilerleyen yaş, erkek cinsiyet, bel ve kalça çevresi, SKB, TK, LDL-K, TG, Glukoz, GGT düzeyleri ve arginaz aktivitesiyle birlikte arttığı tespit edildi. Bununla birlikte HDL-K düzeyi, PON-1 ve ARE aktivitesinin artışı ile MS'nin ortaya çıkış riskinin azaldığı bulundu (veya tersi). Değerlendirilen parametrelerin OR (odd ratio) değerleri güven aralıkları ile birlikte tablo 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.9. ROC (Receiver Operating Characteristic Curve) kullanılarak hesaplanan MS için PON ve ARE'nin karşılaştırma değerleri

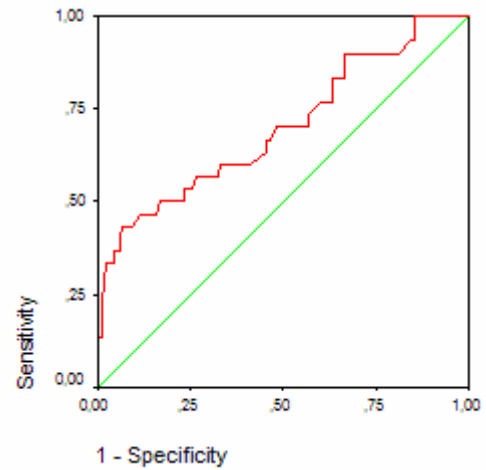
	AUC*	SE**	95%CI***	Cut-off değeri	Sensitivite	Spesifite
PON	0.85	0.0346	0.782-0.915	≤196	76	83
Arilesteraz	0.70	0.0601	0.610-0.781	≤ 346	93	43

\*: Eğri altında kalan alan (Area Under Curve), \*\*: Standart hata (Standart Error),

\*\*\*: Güven aralığı (Confidence Interval)



Şekil 4.5. PON için ROC eğrisi



Şekil 4.6. ARE için ROC eğrisi

Paraoksonaz ve ARE'nin MS'yi değerlendirmede kestirim değerlerinin hesaplanmasında ROC analizi yapıldı.

Buna göre paraoksonazın cut-off değeri ≤ 196 U/L olarak alındığında sensitivite ve spesifitesi sırasıyla %76 ve %83 bulundu.

Arilesterazın cut-off değeri ≤ 346 olarak alındığında sensitivite ve spesifitesi sırasıyla %93 ve %43 bulundu. Yapılan ROC analizi sonucunda ARE'nin PON-1 kadar iyi olmasa da MS için prediktif değerinin olduğu bulundu. Bu parametrelerin AUC değerleri %95 güven aralıkları ile birlikte tablo 4.9'da verilerek, ROC eğrilerinde (şekil 4.5 ve şekil 4.6) eğri altında kalan alanlar ayrıca gösterilmiştir.

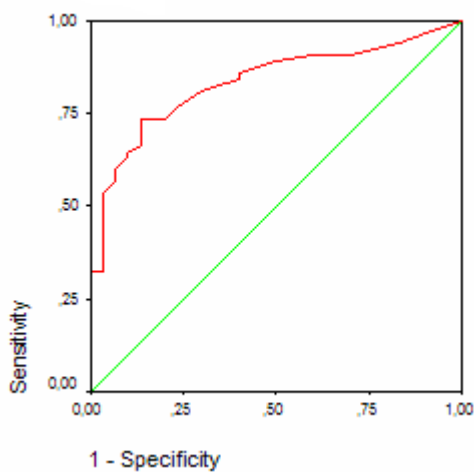
Tablo 4.10. ROC (Receiver Operating Characteristic Curve) kullanılarak hesaplanan MS için GGT ve Arginazın karşılaştırma değerleri

	AUC*	SE**	95%CI***	Cut-off değeri	Sensitivite	Spesifite
GGT	0.83	0.0381	0.756-0.896	>19	73	87
Arginaz	0.79	0.0436	0.716-0.867	>2,8	74	77

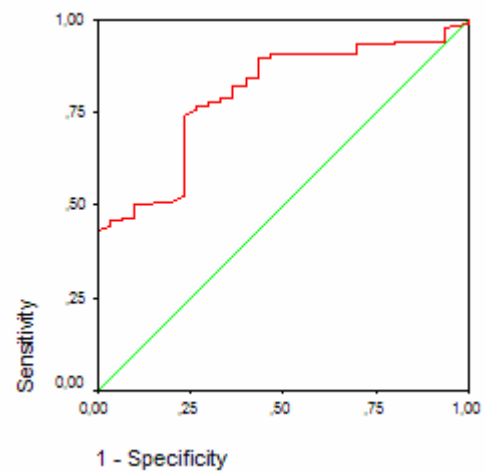
\*: Eğri altında kalan alan (Area Under Curve),

\*\* : Standart hata (Standart Error),

\*\*\*: Güven aralığı (Confidence Interval)



Şekil 4.7 GGT için ROC eğrisi



Şekil 4.8. Arginaz için ROC eğrisi

GGT ve arginazın MS'yi değerlendirmede kestirim değerlerinin hesaplanmasında ROC analizi yapıldı. Buna göre GGT'nin cut-off değeri >19 U/L olarak alındığında sensitivite ve spesifitesi sırasıyla %73 ve % 87 bulundu.

Arginazın cut-off değeri >2,8 olarak alındığında sensitivite ve spesifitesi sırasıyla %74 ve %77 bulundu.

Yapılan ROC analizi sonucunda GGT ve arginazın MS için iyi bir prediktif değere sahip olduğu gözlemlendi. Bu parametrelerin AUC değerleri %95 güven aralıkları ile birlikte tablo 4.10'da verilerek, ROC eğrilerinde (şekil 4.7 ve şekil 4.8) eğri altında kalan alanlar ayrıca gösterilmiştir.

## 5. TARTIŞMA

Metabolik sendrom; hiperglisemi, dislipidemi, bozulmuş glukoz toleransı, HT ve abdominal obezitenin bir arada bulunduğu multidisipliner bir durumdur. Sendromun yukarıda sayılan komponentlerinin her birisi ateroskleroz için birer risk faktörüdür. Dolayısıyla MS, koroner kalp hastalığı gelişimi için önemli bir risk grubunu teşkil eder.

Metabolik sendromun, kardiyovasküler hastalıkları artırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir. İnsülin direnci, MS'ye neden olan temel mekanizma olmakla birlikte endotel disfonksiyonu ile de sıkı ilişkisi vardır. Bu ilişkinin de MS'de artmış KVH riskini kısmi olarak açıkladığı söylenmektedir. Bu yüzden endotel disfonksiyonu markırlarının KVH'ler için potansiyel risk faktörü olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (13).

Çalışmamızda, NCEP ATP III kriterlerine göre belirlenmiş MS ve birlikteliğindeki KVH ve DM gibi hastalıklarda multi biyomarkır yaklaşım amacıyla glukoz, lipit profili, AST, ALT, GGT düzeyleri, PON-1, ARE ve arginaz aktivitelerini ölçtük. Bu parametrelerin gruplar arasında farklılıklarının anlamlılık derecelerini araştırdık. Biyomarkır olarak MS, DM ve KVH gibi hastalıkları öngörebilme kabiliyetlerini araştırmayı amaçladık.

Yapılmış bir çalışmada, metabolik sendrom HDL-K ve LDL-K profilindeki kalitatif değişikliklerle güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Beraberinde HDL-K'nın antioksidan kapasitesinin de azalmasıyla birlikte KAH riskinin artmış olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan başka bir çalışmada metabolik sendrom hastalarında HDL-K seviyesinde anlamlı bir azalmanın olduğu ve bu azalmanın da KVH oluşumu ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (106). Çalışmamızda, (odd ratio hesaplamasıyla) TK, TG ve LDL-K artışı ile MS'nin ortaya çıkma riskinin arttığı, HDL-K artışı ile azaldığı (veya tersi) tespit edildi. Bulmuş olduğumuz bu ilişki, bahsedilen çalışmaları destekler niteliktedir.

İnsülin direnci sendromu olarak da bilinen MS'nin Tip 2 DM için bağımsız bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte MS, Tip 2 DM ve kardiyovasküler hastalığın belirleyicisi olarak kabul edilmektedir. Yapılan bir çalışmada MS'nin kardiyovasküler hastalık riskini ve beraberinde mortaliteyi arttırdığı gösterilmiştir (107). Yapmış olduğumuz çalışmada, en yüksek glukoz



düeyleri MS+DM hasta grubunda gözlenirken, glukoz artışı ile MS'nin ortaya çıkma riskinin arttığı tespit edildi. Ayrıca LDL-K düzeylerinin, kontrol ve diğer hasta gruplarına göre bu grupta daha yüksek olması, metabolik sendromun DM ve KVH'lerdeki önemini ortaya koymaktadır.

Aterosklerotik damar hastalıkları tüm dünyada ölümlerin en önemli nedeni ve başlıca sağlık sorunudur. Metabolik sendromu oluşturan komponentler tek başlarına ve birlikte ateroskleroza yol açan etmenlerdir. Metabolik sendrom hastaları hiperinsülinemi ve insülin direncinin eşlik ettiği, plazma serbest yağ asitlerinin artışı, hipertrigliseridemi, Apo-B ve sd-LDL düzeylerinde yükseklik, özellikle HDL2 fraksiyonunda olmak üzere HDL-K düzeylerinde düşüklük ile karakterize bir dislipidemi gösterirler (37). Çalışmamızda, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hasta gruplarında TK, TG ve LDL-K seviyelerinin anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu bulundu. HDL-K düzeyinin kontrol grubunda daha yüksek olduğu tespit edilirken en düşük düzeylerin ise MS hasta grubunda olduğu gözlemlendi.

Koroner arter hastalığının mekanizması tam olarak açık olmasa da günümüzde arter duvarında, makrofajların oxLDL'ye karşı olan inflamatuvar cevabı ile oluştuğu savunulmaktadır (7, 108). Bununla ilişkili olarak KAH'lerinin risk faktörleri araştırmalarında birçok metabolik bozukluğu bir arada bulunduran MS üzerine de odaklanılmıştır (106).

LDL-K'nin oksidatif modifikasyonu aterosklerozun başlangıç ve progresyonunda önemli rol oynamaktadır (7, 109-112). Proaterojenik bu etkisini adezyon moleküllerinin sentezi ve sekresyonunu, monosit kemotaksisi ve adezyonunu, platelet adezyon ve agregasyonunu, köpük hücre formasyonunu, düz kas hücre migrasyon ve proliferasyonunu artırması ile birlikte endotel hücreleri üzerine apoptotik etkiler ile göstermektedir (111). Diğer taraftan HDL-K antiaterojenik özelliği ile bilinmektedir. HDL-K'nin protektif etkisi, fazla kolesterolü periferel dokulardan ters kolesterol transport yoluyla uzaklaştırabilme kapasitesine bağlanmaktadır (6, 7, 111, 113). Bununla birlikte HDL-K, LDL-K modifikasyonunu önleyip KAH gelişme riskini azaltarak ters bir ilişkiye neden olmaktadır. HDL-K'nin bu şekildeki protektif özelliği HDL-K ile ilişkili birtakım proteinlere bağlanmaktadır. PON-1 böyle proteinlerden olup antioksidan ve antiinflamatuvar özelliğiyle bilinmektedir (7, 113).

Paraoksanaz-1 karaciğerde sentezlenip HDL-K üzerinde lokalize olan bir proteindir. Aynı zamanda kalsiyum bağlı bir esteraz olup okside fosfolipidleri hidroliz edebilme yeteneğine sahip bir enzimdir ve bu yüzden de lipoproteinleri (HDL-K, LDL-K) ve membranları oksidatif modifikasyona karşı korumaktadır (110, 114-116). PON-1'in, antioksidan olarak önemi buradan kaynaklanmaktadır.

Lipit bileşimi ve lipit-apoprotein etkileşimi, lipoproteinlerin yapısal organizasyonu ile fizikokimyasal özelliklerinde önemlidir (117). HDL-K'nin okside olmasıyla birlikte ters kolesterol transportu düzenleme kabiliyeti bozularak antiaterojenik aktivitesi azalırken aynı zamanda lipoproteinleri ve membranları oksidatif hasardan koruma yeteneği de kaybolmaktadır (114, 118, 119). Araştırmacılar HDL-K'nin doğal antioksidan özelliğinin kaybolmasına modifiye HDL-K durumunun neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yapılmış çalışmalarda da HDL-K kompozisyonunun PON-1 aktivitesini etkilediği gösterilmiştir (106, 120).

Makrofajlarda kolesterol birikimi ve köpük hücre oluşumu ateroskleroz oluşumunun erken özellikleridir. PON-1 enzimi makrofajlardan süperoksid anyon salınımını önleyerek hücre aracılı LDL-K oksidasyonunu azaltmaktadır. Beraberinde okside LDL-K içindeki spesifik okside lipitlerin kırılmasını artırarak ve makrofajların okside LDL-K alımını azaltarak kolesterol akışını önlediği çalışmalarda gösterilmiştir (121-123). Bundan dolayı PON-1 makrofajlarda kolesterol biyosentezini de inhibe etmektedir (113, 124). Aynı zamanda endotel hücrelerinden oxLDL ile indüklenmiş monosit kemoatraktant-protein-1 (MCP-1) üretimini inhibe ederek monosit transmigrasyonunu da inhibe ettiği ifade edilmiştir (125). Bunlarla ilişkili olarak PON-1'in, makrofaj oksidatif aktivitesini azalttığı sonucuna varılmıştır (109, 123).

Daha sonra küçük bir çalışmada; yüksek HDL-K'si fakat düşük PON-1 seviyesi olan hastaların, düşük HDL-K ama yüksek PON-1 seviyesi olan hastalara oranla KVH'ye daha yatkın oldukları gösterilmiştir. HDL-K'nin LDL-K oksidasyonunu önleme kapasitesinin, HDL-K'nin konsantrasyonundan daha önemli olduğu vurgulanmıştır (126). Mackness ve arkadaşları ise, PON-1 aktivitesi ve konsantrasyonunun KVH'ler için PON-1 genotipinden çok daha iyi bir prediktör olduğunu göstermişlerdir (113, 127, 128). Çalışmamızda, HDL-K düzeyleri hasta gruplarında ortalama olarak birbirine yakınken, PON-1 aktivitesi MS hasta grubunda

daha yüksek olarak bulundu. Diğer iki hasta grubunda (MS+DM, MS+KVH) gözlenen PON-1 düşüklüğü, metabolik sendroma ek olarak DM ve KVH'nin de bulunması ile açıklanabilir.

Metabolik sendromda PON-1 aktivitesinin azalmış olması oksidatif stresle ilişkilendirilmiştir. Serbest radikaller hiperglisemi, dislipidemi gibi metabolik bozukluklarla birlikte şekillenmektedir. Serbest radikaller DNA, protein ve lipidleri okside etmekte aynı zamanda birçok stres duyarlı hücresel yolları aktive ederek doku hasarına neden olmaktadır. Sonuç olarak düşük PON-1 aktivitesi MS'de bir oksidatif stres varlığına işaret etmektedir (129).

Metabolik sendrom ve KVH ilişkisi birçok çalışmada araştırılmıştır. Metabolik sendromun bireylerde KAH insidans ve şiddetini arttırdığı görülmüştür. Konuyla ilişkili olarak Graner ve arkadaşları (130), PON-1 aktivitesi ile konsantrasyonunun KAH'lı bireylerde daha düşük olduğuna ve bu düşüklük ile KAH şiddeti arasında anlamlı bir ilişkinin bulunduğu dikkat çekmişlerdir. Aynı zamanda arilesteraz aktivitesinin de PON-1 ile birlikte bu hastalarda düşük olduğu görülmüştür (110). Çalışmamızda ise PON-1 ve ARE aktiviteleri, kontrol ve MS gruplarına göre MS+KVH hasta grubunda daha düşük bulundu.

Diyabetin birçok kardiyovasküler komplikasyonla ilişkisi bilinmektedir. Hiperglisemi ile HDL-K ve LDL-K nonenzimatik glikasyonu oluşmaktadır. Bu da oksidasyona yatkınlığı artırmaktadır. HDL-K glikasyonunun, kendi katabolizmasını da artırdığı öne sürülmüştür (111). Diyabetli hastalarda HDL-K'nin antioksidan ve ters kolesterol transport kapasitesinin bozulmuş olması bu mekanizmaya dayandırılmaktadır. Yapılan çalışmalarda Tip 2 DM'li hastalardan elde edilen HDL-K'nin okside fosfolipidleri metabolize etme kabiliyetinin azalmış olması bunu desteklemektedir. Aynı zamanda HDL-K ilişkili PON-1'in enzimatik aktivitesinin DM'lerde azalmış olması da glikasyon nedeniyle enzimatik inaktivasyona bağlanmaktadır (111, 112). Yaptığımız çalışmada, MS+DM grubunda PON ve ARE aktivitelerinin düşük bulunması bu mekanizma ile açıklanabilir.

Serum PON-1 aktivitesinin Tip 1 ve 2 DM'li hastalarda azalması, düşük oranda senteze, yüksek oranda katabolizmaya ve artmış oksidatif strese veya HDL-K ve /veya PON-1'in glikasyonuna bağlanmaktadır (131, 132). Tip 1 DM'lilerde glukoz seviyesi <181 mg/dl olanlarla kıyaslandığında; yüksek glukoz değerleri olan

hastalarda (>180 mg/dl) PON-1 aktivitesi ve konsantrasyonunun anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür (133). Tip 2 diyabetlilerde azalmış serum PON-1 aktivitesinin hastaların ox-LDL-K seviyeleriyle ve vasküler komplikasyonlarla korele olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (112, 134-136).

Yukarıda bahsedilen çalışmalar PON-1 aktivitesi ile ilgili olan çalışma sonuçlarımızla uyumluluk göstermektedir. Bununla birlikte PON-1 aktivite ve konsantrasyonunu etkileyen birçok faktörün olduğu da unutulmamalıdır. PON-1 aktivitesi oxLDL ile inaktive olurken antioksidanlarla korunmaktadır. Antioksidanlar, yağlı yiyecekler, sigara, yaşam stili gibi çeşitli eksternal faktörler insan PON-1 aktivitesini etkileyebilmektedir (7, 109, 113). Düşük serum PON-1 aktivitesi olan sigara içen bireylerde, fiziksel aktivitenin PON-1 aktivitesini onardığı rapor edilmiştir (129). Diyetteki doymuş yağlarla trans yağların yer değiştirmesi de sağlıklı erkek ve bayanlarda %6 oranında PON-1 aktivitesini düşürmüştür (137).

PON-1'in farmakolojik modülasyonu üzerine olan birçok çalışma lipit düşürücü tedavi üzerine odaklanmıştır. Dislipidemik hastalarda atorvastatin tedavisinin (10mg/gün) oksidatif stresi azalttığı ve PON-1 aktivitesini artırdığı çalışmalarda gösterilmiştir (138, 139). Statin tedavisi ile birlikte PON-1 aktivitesinin artırılması statinlerin antioksidan bir etkisinin olabileceği sonucunu vermektedir. Oksidatif stres ve ilişkili KVH'leri azaltmayı amaçlayan farmakolojik ajanların gelecekteki önemli bir hedefi PON-1 aktivitesi ve konsantrasyonunun artırılması olabilir (110, 113).

Çalışmamızda, PON-1 ve ARE aktiviteleri ile MS ve komponentleri (Bel çevresi, TG yüksekliği, HDL-K düşüklüğü, AKŞ, kan basıncı) arasında negatif korelasyon bulundu. Ayrıca PON ve ARE aktivitelerinin artışı ile MS'nin ortaya çıkma riskinin azaldığı (veya tersi) tespit edildi (odd ratio analizi ile). ROC analiziyle de PON-1'in MS için iyi bir prediktif değere sahip olduğu bulundu. Bu sonuçlar, paraoksonaz ile arilesterazın MS ve KVH'lerde biyomarkır olarak kullanılabileceği fikrini desteklemektedir. Bununla birlikte KVH'lerin erken tanı ve tedavisinin hem hasta hem de maliyet açısından önemi göz önüne alındığında, bu parametrelere ek olarak başka markırların da birlikte ölçülmesi multi biyomarkır yaklaşım açısından daha iyi olacaktır.

Prospektif çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, HDL-K ilişkili PON-1 aktivitesinin azalmasının, insanlarda endotel disfonksiyonunu ve ilişkili hastalıkları ilerlettiği gösterilmiştir. Endotel disfonksiyonuyla ilişkili olarak, damar endotelinde L-argininden NOS enzimi ile sentezlenen NO miktarında azalma meydana gelmektedir. Bu azalma, damar gerginliğinde artışa (özellikle de koroner arterlerde) ve düz kas hücre aktivasyonuna neden olur. Sonuç olarak hücre proliferasyonu ve ateroskleroza kadar ilerler.

Arginaz yarı esansiyel bir aminoasit olan L-arginini ornitin ve üreye ayıran bir enzimdir. Arginazın tip I ve tip II olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır (8, 93, 95, 140). Tip I arginaz total arginaz aktivitesinin büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Sitozolik bir enzimdir ve karaciğerde üre siklusunun bir parçası olarak yüksek düzeyde bulunmaktadır (9). Tip II arginaz ise mitokondriyaldir. Karaciğer dışında, böbrek, beyin, testis, deri, ince bağırsak, prostat, akciğer ve lökositler gibi birçok dokuda bulunmaktadır (141-144).

Arginaz enzimi ile ilgili son yıllarda yapılan çalışmalar, bu enzimin, damar hastalıkları, enfeksiyöz hastalıklar, immün hücre fonksiyonu üzerindeki rollerine odaklanmıştır (8, 145). Arginaz enzimi, güçlü bir immün sistem inhibitörüdür ve lenfosit proliferasyonunda da inhibitör etkisi olan bir enzimdir. Arginazın tetiklediği tepkime sonucu üre ve ornitin olmak üzere iki ürün meydana gelir. Ornitin, akut inflamasyona cevap olarak ve hücre proliferasyonunu sağlamak üzere tüm memeli hücrelerinde bulunan poliaminlere dönüşür. Poliamin düzeyleri hücre proliferasyonunun arttığı fizyolojik ve patolojik durumlarda artış göstermektedir.

Arginaz enziminin diğer bir önemli özelliği ise NOS enzimi ile ortak substrat olan arginini kullanmasıdır. Arginaz ve NOS enziminin arginini tüketmek için birbiriyle yarıştığı ifade edilmektedir (8, 146). Birbiri ile yarışma halinde olan bu iki enzimden biri olan arginaz enzim aktivitesinin artması, NOS enzimini baskılayarak üretimi ornitin lehine çevirebilir. Bu durum poliamin sentezini artırırken, NO üretiminin azalmasına neden olacaktır.

Nitrik oksit birçok fizyolojik fonksiyonun gerçekleşmesi için gerekli olup antioksidan savunmaya katkıda bulunmaktadır. Nitrik oksit, damar tonüsünü, trombosit ve lökosit aktivasyonunu, düz kas hücresinin bölünmesini ve endotel hücre ölümünü azaltarak dolaşımda önemli rol oynar (8, 147). Ayrıca endotel

fonksiyonunda önemli olmakla birlikte glukoz kullanımını ve insülin sensitivitesini de düzenlediği çalışmalarla desteklenmektedir (143). Nitrik oksit azalmış biyoyararlılığı çeşitli damar hastalıklarının patogeneğinde sık görülen bir mekanizmadır (Hipertansiyon, ateroskleroz, DM ve iskemi-reperfüzyon hasarı, endotel disfonksiyonu gibi hastalıklar) (148-151). Artmış endojen NO inhibitörlerinin seviyesi ve mevcut L-arginin miktarının kısıtlı olması gibi endotelyal NOS aktivitesinin azalmasına yol açan birçok muhtemel mekanizma vardır. Yapılmış klinik ve deneysel çalışmalar L-arginin verilmesinin NO sentezini ve bazı KVH'lerde damar fonksiyonunu onardığı gösterilmiştir. Bu da damar patolojilerinin altında bozulmuş L-arginin kullanımının yattığını ortaya koymaktadır (152, 153).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, arginaz enziminin birçok metabolik özelliğe sahip olduğunu ve aktivitesindeki artışın aterosklerozu da içeren KVH'ler için risk teşkil eden faktörlerle ilişkili olduğunu göstermektedir. Aterosklerotik hastalıklarda oxLDL'nin önemi bilinmektedir. Bununla birlikte oxLDL'nin arginaz II aktivitesini artırarak NO üretimini azalttığı ve bozulmuş endotel NO sinyaline neden olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Bu yüzden oxLDL bağlı endotelyal disfonksiyonunda arginaz, terapötik hedef olarak gösterilmektedir (141). Çalışmamızda, arginaz aktivitesi ile MS ve MS komponentlerinin birçoğu arasında pozitif korelasyon bulundu. Ayrıca, arginaz aktivitesinin artması ile MS'nin ortaya çıkma riskinin de arttığı tespit edildi (odd ratio analizi). Bunun yanında arginazın MS için iyi bir prediktif değere sahip olduğu tespit edildi. Tüm bu sonuçlar arginazın, metabolik sendromda önemli bir markır olduğunu göstermektedir. Ayrıca risk altındaki kişilerde aralıklı olarak arginaz ölçümü, MS'nin erken tanısı ile birlikte DM, HT ve ateroskleroz gibi önemli KVH'lerin önleminin alınması mümkün olacaktır.

Tip 2 DM, inflamasyon, oksidatif stres ve hızlanmış ateroskleroz gelişimi ile karakterize bir insülin direnç durumudur (143). Literatürdeki çalışmalarda hipergliseminin vasküler arginaz aktivitesini artırdığı ve arginazın obezite ve diyabette endotel disfonksiyonuna neden olabileceği açıklanmıştır (8, 9). Diyabet süresince artmış olan reaktif oksijen türleri ve inflamatuvar sitokinlerin arginaz aktivitesinde artmaya neden olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Bu durumlarda oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve peroksinitritin rol aldığı ileri sürülmüştür. Ek olarak hiperglisemi

ekstrasellüler matriks ve prokoagulan proteinlerin ekspresyonunu indükler, endotel hücre apoptozisini artırır, endotel hücre proliferasyonunu azaltır ve endotel hücre disfonksiyonuna neden olur. Hiperglisemi, endotelyal permeabiliteyi ve lökositlerin endotele adezyonunu artırır, NO biyoyararlanımını bozar (156). (154, 155). Çalışmamızda, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında arginaz aktivitesi hasta gruplarında daha yüksek bulundu. Bununla birlikte, en yüksek arginaz aktivitesinin MS+DM grubunda gözlenmesi, hiperglisemi ve arginaz ilişkisini desteklemektedir. Ayrıca DM'de, endotel disfonksiyonuyla birlikte oluşan komplikasyonlarda arginazın da önemli bir rolünün olduğunu göstermektedir.

Tip 2 DM'li hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada, plazma arginaz aktivitesi hiperglisemi derecesiyle bağlantılı bulunmuş, kısa süreli (4saat) fizyolojik hiperinsülineminin yükselmiş plazma arginaz aktivitesini azalttığı, kontrol grubunda ise bu etkinin olmadığı görülmüştür (143). Bu durum insülinin, arginaz enzimi aktivitesi üzerine önemli düzenleyici etkisini göstermektedir. Başka bir çalışmada, hipergliseminin renal arginaz aktivitesinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir (157). Konuyla ilişkili olarak, izole edilmiş koroner arter hücrelerinde yapılan bir çalışmada invitro olarak yüksek glukoz konsantrasyonuna maruz bırakılması ile arginaz aktivitesinin arttığı gözlenmiştir (8).

Artan arginaz aktivitesi, NOS aktivitesini sınırlayabilmekte ve böylece NO'nun ksantin oksidaz aktivitesi üzerindeki inhibitör etkisinde zayıflamaya yol açabilmektedir. Bu durumda daha fazla reaktif oksijen ürünlerinin oluşumu ve doku hasarı ile sonuçlanmaktadır. Reaktif oksijen ürünlerinin artmış oluşumu, arginaz aktivitesini de etkileyebilen pek çok damar patolojisinde bir diğer sık görülen bulgudur (9).

Arginazın ürünü olan üre böbrekten atılırken, diğer arginaz ürünü olan L-ornitin, ornitin dekarboksilaz ile poliamin ve putresine metabolize olur. Poliaminler hücrelerin mitojenik cevabında bütünleyici rol oynarlar. Damar düz kas hücre bölünmesine ornitin dekarboksilaz aktivitesi ve poliamin sentezindeki artış öncülük eder ve poliamin oluşumunun inhibe edilmesi düz kas hücre gelişimini inhibe eder (100).

Arginaza karşı yönelmiş tedavi modelleri, hem damar endotel hem de düz kas hücre disfonksiyonunu düzeltme imkanı sağladığından tek bir hücreyi hedefleyen

diğer tedavi seçeneklerinden daha avantajlı olabilir. Ayrıca hedeflenen L-arginin metabolizmasındaki değişimleri düzeltmek amacıyla L-arginin verilmesi seçeneğine göre daha seçici yaklaşımlar sağlayabilir. Diyete L-arginin eklenmesi NO sentezini ve eşlik ettiği birçok hastalığı düzeltirken, L-argininin alternatif yollara kayması bu tedavinin etkinliğini tehlikeye sokabilir (142, 150, 151). Arginaz oluşumu ve aktivitesini hedefleyen spesifik ve seçici moleküllerin gelişmesi damar hastalıklarının tedavisinde yeni tedavi yaklaşımları oluşturacak derecede ümit vaat eden bir alan gibi görünmektedir.

Hepatobiliyer hastalıkların ve alkol alımının bir markırı olarak kabul edilen GGT aynı zamanda yağlı karaciğer, plazma lipid/lipoprotein oranı ve glukoz düzeyleri gibi birçok faktörün de klinik markırı olarak kullanılmaktadır (158-161). Bunların yanında GGT oksidatif stres markırısıdır ve KVH ile ilişkisi birçok çalışmada araştırılmıştır (162-164).

Yapılmış araştırma sonuçları GGT'nin, antioksidanlardan olan glutatyonun ekstraselüler katabolizmasında rol aldığını desteklemektedir (158, 165). GGT'nin ektoenzimatik aktivitesi, hücre yüzeyinde tiol gruplarının redoks durumunu düzenleyerek reaktif oksijen türlerinin ve membran permeabl hidrojen peroksitlerinin üretimine yol açmaktadır (166). Bununla ilişkili olarak GGT birçok organ sisteminde oksidatif stres yolağı tetiklemektedir. Okside LDL ve köpük hücrelerin birlikte bulunduğu koroner aterom plaklarında GGT'nin eksprese olduğu çalışmalarda tespit edilmiştir (160, 167). Bu durum aynı zamanda GGT'nin bir proinflamatuvar olup aterosklerozda önemli bir süreç olduğunu göstermektedir (168, 169).

GGT ve ALT'nin DM ve KVH'ler için bağımsız bir risk faktörü olduğu birçok çalışmada rapor edilmiş ve MS'nin bir komponenti olarak öne sürülmüştür. Bu iki karaciğer enziminin MS'le direkt ilişkisi araştırılmış ve yüksek quartildeki GGT ve ALT düzeylerinde MS prevalansının yüksek olduğu görülmüştür. GGT ve ALT'nin MS'nin çoğu komponentiyle (obezite, insülin direnci, DM, HT ve dislipidemi) anlamlı bir şekilde korele olduğu sonucu bulunmuştur (160, 161). Ayrıca çalışma sonuçlarına dayanarak GGT'nin MS ve DM prevelansında ALT'den daha iyi olduğu ileri sürülmüştür. Çalışmamızda, GGT ile MS ve MS'nin birçok komponenti arasında pozitif korelasyon bulunurken, kontrol ve hasta gruplarında



AST ve ALT düzeylerinde anlamlı bir farkın bulunamaması da bu konudaki çalışmaları destekler niteliktedir.

Ruttmann ve arkadaşları büyük prospektif bir çalışmada GGT'nin bağımsız olarak KVH mortalitesiyle ilişkili olduğunu bulmuşlardır (170). Lee ve arkadaşları da GGT'nin MS başlangıcını, kardiyovasküler insidansı ve mortalitesini predikte ettiğini raporlamışlardır (158). Kotronen ve Yki-Jarvien karaciğer yağ deposunun anlamlı bir şekilde MS'un bütün komponentleriyle pozitif korele olduğunu bulmuşlardır (171). Dever ve arkadaşları ise KVH'leri daha iyi ve erken predikte edebileceğini düşünerek GGT'nin MS tanı kriterlerine dahil olmasını önermişlerdir (172). Çalışmamızda ise kontrol grubuyla karşılaştırıldığında GGT düzeylerinin hasta gruplarında daha yüksek olduğu bulundu. Bununla birlikte hasta grupları içerisinde en yüksek düzeyler, MS+KVH hasta grubunda gözlemlendi. Ayrıca GGT artışıyla MS'nin ortaya çıkma riskinin arttığı tespit edildi (odd ratio analizi ile). GGT'nin metabolik sendrom için iyi bir prediktif değere sahip olduğu bulundu. Bu sonuçlar, bahsedilen çalışmaları desteklemekle birlikte GGT'nin metabolik sendrom ve KVH'lerde ölçülmesi gereken önemli bir parametre olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak MS ve beraberindeki hastalıklarda (DM, KVH) erken tanının tedavi ve maliyet açısından önemi göz önüne alındığında, paraoksonaz, arilesteraz, arginaz ve GGT'nin bu konudaki prediktif değerlerinin kullanılması gerekmektedir. Ayrıca rutin parametrelerin yanında bu parametrelerin de ölçülecek olması, kardiyovasküler risk değerlendirmesinde multi biyomarkır yaklaşım açısından önemli bir adım olacaktır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında serum glukoz, lipit profili, GGT, AST, ALT düzeylerinin ve arginaz, arilesteraz, paraoksonaz aktivitelerinin ölçülerek MS, DM ve kardiyovasküler hastalıklardaki olası rollerini araştırdığımız bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edildi;

1. Hasta gruplarının bel- kalça çevresi, yaş, SKB, DKB değerleri istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde kontrol grubundan yüksekti ( $p<0.001$ ).
2. Hasta gruplarında TK, LDL-K, TG ve glukoz değerleri istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde kontrol grubundan yüksekti ( $p<0.001$ ). Hasta gruplarının HDL-K değerleri ise kontrol grubundan düşüktü ( $p<0.001$ ).
3. Kontrol ve hasta gruplarında AST ve ALT değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $P > 0,05$ ).
4. Serum GGT düzeyleri hasta gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksekti ( $p<0.001$ ). Bununla birlikte en yüksek GGT düzeyleri MS+KVH grubunda gözlemlendi ( $p<0.001$ ).
5. GGT düzeyleri ile MS ve MS komponentleri arasında pozitif korelasyon bulundu ( $p<0.05$ ).
6. Logistik regresyon analizinde, GGT artışıyla metabolik sendromun ortaya çıkma riskinin arttığı tespit edildi (OR=1,13; %95 güven aralığı -1,06-1,20).
7. ROC analizi ile MS için GGT'nin sensitivite ve spesifiteleri sırasıyla % 73 ve % 87 bulundu. Bununla birlikte MS için iyi bir prediktif değerinin olduğu tespit edildi.
8. MS+DM ve MS+KVH hasta gruplarında, kontrol ve MS gruplarına nazaran anlamlı düzeyde düşük paraoksonaz aktivitesi tespit edildi ( $p<0.001$ ). Arilesteraz aktivitesi kontrol grubuna göre hasta gruplarında daha düşük bulundu ( $p<0.001$ ).
9. Paraoksonaz aktivitesi ile MS ve MS komponentleri arasında negatif korelasyon bulundu ( $p<0.05$ ).

10. ROC analizi ile MS için PON-1'in sensitivite ve spesifiteleri sırasıyla %76 ve %83 bulundu. Bununla birlikte MS için iyi bir prediktif değerinin olduğu tespit edildi.
11. Logistik regresyon analizinde; PON-1 ve ARE aktivitesinin azalması ile MS'nin ortaya çıkma riskinin arttığı bulundu. ROC analizi ile MS için iyi bir prediktif değerlerinin olduğu tespit edildi.
12. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında arginaz aktiviteleri hasta gruplarında daha yüksek bulundu ( $p<0.001$ ).
13. Arginaz aktivitesi ile MS ve MS komponentleri arasında pozitif korelasyon bulundu ( $p<0.05$ ).
14. Logistik regresyon analizinde, arginaz aktivitesinin artması ile MS'nin ortaya çıkma riskinin arttığı bulundu (OR=1,85; %95 güven aralığı =1,38-2,48). ROC eğrisi kullanılarak MS için arginazın sensitivite ve spesifiteleri sırasıyla % 74 ve %77 bulundu. ROC analizi ile MS için prediktif değerinin olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak; MS ve birlikteliğindeki hastalıklarda lipit profili, glukoz düzeyi değişikliklerine ek olarak PON-1 ile ARE aktivitesinin azaldığı, GGT düzeyi ile arginaz aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. Metabolik sendrom, DM ve KVH'larda PON-1 ve ARE'nin artırılması, GGT ve arginazın ise azaltılması terapötik hedef olarak kabul edildiğinde, büyük komplikasyonların önlenmesi mümkün olabilecektir. Ayrıca bu parametrelerin prediktif değerleri göz önüne alındığında, MS, DM ve KVH'lerin erken tanısında zaman kazandırabilecektir. Rutin parametrelerin yanında PON-1, ARE, GGT ve arginaz gibi markırların da ölçülecek olması, kardiyovasküler risk değerlendirmesinde multi biyomarkır yaklaşım açısından önemli bir adım olacaktır.

**KAYNAKLAR**

1. Daskalopoulou SS, Mikhailidis DP, Elisaf M. Prevention and treatment of the metabolic syndrome. *Angiology*. 2004;55(6):589-612.
2. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998;15(7):539-53.
3. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications: Report of a WHO Consultation. Geneva, Switzerland: Department of Noncommunicable Disease Surveillance, World Health Organization. 1999.
4. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285(19):2486-97.
5. Cannon CP. Mixed dyslipidemia, metabolic syndrome, diabetes mellitus, and cardiovascular disease: clinical implications. *Am J Cardiol*. 2008;102(12A):5L-9L.
6. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(4):473-80.
7. Jayakumari N, Thejaseebai G. High prevalence of low serum paraoxonase-1 in subjects with coronary artery disease. *J Clin Biochem Nutr*. 2009;45(3):278-84.
8. Romero MJ, Platt DH, Tawfik HE, Labazi M, El-Remessy AB, Bartoli M, et al. Diabetes-induced coronary vascular dysfunction involves increased arginase activity. *Circ Res*. 2008;102(1):95-102.
9. Durante W, Johnson FK, Johnson RA. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007;34(9):906-11.

10. Wu G, Bazer FW, Davis TA, Kim SW, Li P, Marc Rhoads J, et al. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. *Amino Acids*. 2009;37(1):153-68.
11. Lee MY, Koh SB, Koh JH, Nam SM, Shin JY, Shin YG, et al. Relationship between gamma-glutamyltransferase and metabolic syndrome in a Korean population. *Diabet Med*. 2008;25(4):469-75.
12. Lee JG, Lee S, Kim YJ, Jin HK, Cho BM, Jeong DW, et al. Multiple biomarkers and their relative contributions to identifying metabolic syndrome. *Clin Chim Acta*. 2009;408(1-2):50-5.
13. Thande N, Rosenson RS. Vascular biomarkers in the metabolic syndrome. *Expert Rev Mol Diagn*. 2009;9(3):209-15.
14. Masharani U KJ, Germen MS. Pancreatic hormones and diabetes mellitus. *Basic and clinical endocrinology*. 2004;p.658-46.
15. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 2002;287(3):356-9.
16. Balkau B CM, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Wareham N, Yudkin JS, et al. Group For The Study Of Insulin Resistance (EGIR). Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts and an alternative definition of an insulin resistance syndrome. *Diabetes Metab*. 2002:364-76.
17. Metabolik Sendrom Arastırma Grubu. METSAR sonuçları. XXUlusal Kardiyoloji Kongresi; Antalya,2004.
18. Onat A SV. Halkımızda koroner hastalığın baş suçlusunu metabolik sendrom: sıklığı, unsurları, koroner risk ile ilişkisi ve yüksek risk kriterleri. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2002:8-15.
19. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med*. 1999;16(5):442-3.

20. Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract.* 2003;9(3):237-52.
21. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet.* 2005;366(9491):1059-62.
22. Bloomgarden ZT. The 1st World Congress on the Insulin Resistance Syndrome. *Diabetes Care.* 2004;27(2):602-9.
23. Schinner S SW, Bornstein SR, et al. Molecular mechanism of insulin resistance. *Diabet Med.* 2005;22:674-82.
24. Mlinar B, Marc J, Janez A, Pfeifer M. Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. *Clin Chim Acta.* 2007;375(1-2):20-35.
25. Sigma Aldrich. Cell Signaling & Neuroscience. 12/04/2011. Insulin Pathway. <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/cell-biology/learning-center/pathway-slides-and/insulin-pathway.html>. [14.05.2011].
26. Florke RR, Schnaith K, Passlack W, Wichert M, Kuehn L, Fabry M, et al. Hormone-triggered conformational changes within the insulin-receptor ectodomain: requirement for transmembrane anchors. *Biochem J.* 2001;360(Pt 1):189-98.
27. Henry RR. Insulin resistance: from predisposing factor to therapeutic target in type 2 diabetes. *Clin Ther.* 2003;25 Suppl B:B47-63.
28. Hunt KJ, Heiss G, Sholinsky PD, Province MA. Familial history of metabolic disorders and the multiple metabolic syndrome: the NHLBI family heart study. *Genet Epidemiol.* 2000;19(4):395-409.
29. Lee KE, Klein BE, Klein R. Familial aggregation of components of the multiple metabolic syndrome in the Framingham Heart and Offspring Cohorts: Genetic Analysis Workshop Problem 1. *BMC Genet.* 2003;4 Suppl 1:S94.
30. Ginsberg HN, Stalenhoef AF. The metabolic syndrome: targeting dyslipidaemia to reduce coronary risk. *J Cardiovasc Risk.* 2003;10(2):121-8.

31. Kocabalkan F BY, Bulucu F. The effect of Age on insulin resistance and secretion. *Turkish Journal of Geriatrics*. 1999;2(3):132-6.
32. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000;106(2):171-6.
33. Matsuzawa Y, Funahashi T, Nakamura T. Molecular mechanism of metabolic syndrome X: contribution of adipocytokines adipocyte-derived bioactive substances. *Ann N Y Acad Sci*. 1999;892:146-54.
34. McLaughlin T AG, Abbasi F, Lamendola C, et al. Prevalence of insulin resistance and associated cardiovascular disease risk factors among normal weight, overweight, and obese individuals. *Metabolism*. 2004;53(4):495-9.
35. Heilbronn L, Smith SR, Ravussin E. Failure of fat cell proliferation, mitochondrial function and fat oxidation results in ectopic fat storage, insulin resistance and type II diabetes mellitus. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28 Suppl 4:S12-21.
36. Goldstein BJ. Insulin resistance as the core defect in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 2002;90(5A):3G-10G.
37. Tchernof A, Lamarche B, Prud'Homme D, Nadeau A, Moorjani S, Labrie F, et al. The dense LDL phenotype. Association with plasma lipoprotein levels, visceral obesity, and hyperinsulinemia in men. *Diabetes Care*. 1996;19(6):629-37.
38. Despres JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006;444(7121):881-7.
39. Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2002;13(2):84-9.
40. Grundy SM. What is the contribution of obesity to the metabolic syndrome? *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2004;33(2):267-82, table of contents.
41. Diez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol*. 2003;148(3):293-300.

42. Vendrell J, Broch M, Vilarrasa N, Molina A, Gomez JM, Gutierrez C, et al. Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: relationships in obesity. *Obes Res.* 2004;12(6):962-71.
43. Boden G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes.* 1997;46(1):3-10.
44. Motoshima H, Wu X, Sinha MK, Hardy VE, Rosato EL, Barbot DJ, et al. Differential regulation of adiponectin secretion from cultured human omental and subcutaneous adipocytes: effects of insulin and rosiglitazone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(12):5662-7.
45. Zhang Z, Xue HL, Liu Y, Wang WJ. Yi-Qi-Zeng-Min-Tang, a Chinese medicine, ameliorates insulin resistance in type 2 diabetic rats. *World J Gastroenterol.* 2011;17(8):987-95.
46. Iwaki M, Matsuda M, Maeda N, Funahashi T, Matsuzawa Y, Makishima M, et al. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes.* 2003;52(7):1655-63.
47. Stuhlinger MC, Tsao PS, Her JH, Kimoto M, Balint RF, Cooke JP. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation.* 2001;104(21):2569-75.
48. Steppan CM, Lazar MA. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab.* 2002;13(1):18-23.
49. Shuldiner AR, Yang R, Gong DW. Resistin, obesity and insulin resistance--the emerging role of the adipocyte as an endocrine organ. *N Engl J Med.* 2001;345(18):1345-6.
50. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature.* 2001;409(6818):307-12.
51. Ginsberg HN. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest.* 2000;106(4):453-8.
52. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet.* 2005;365(9468):1415-28.



53. Lamarche B, Lemieux I, Despres JP. The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects. *Diabetes Metab.* 1999;25(3):199-211.
54. Nozue T, Michishita I, Ishibashi Y, Ito S, Iwaki T, Mizuguchi I, et al. Small dense low-density lipoprotein cholesterol is a useful marker of metabolic syndrome in patients with coronary artery disease. *J Atheroscler Thromb.* 2007;14(4):202-7.
55. Reaven GM. Insulin resistance/compensatory hyperinsulinemia, essential hypertension, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(6):2399-403.
56. Bloomgarden ZT. Obesity, hypertension, and insulin resistance. *Diabetes Care.* 2002;25(11):2088-97.
57. Gorzelniak K, Engeli S, Janke J, Luft FC, Sharma AM. Hormonal regulation of the human adipose-tissue renin-angiotensin system: relationship to obesity and hypertension. *J Hypertens.* 2002;20(5):965-73.
58. Mark AL, Correia M, Morgan DA, Shaffer RA, Haynes WG. State-of-the-art-lecture: Obesity-induced hypertension: new concepts from the emerging biology of obesity. *Hypertension.* 1999;33(1 Pt 2):537-41.
59. Ogawa Y, Masuzaki H, Ebihara K, Shintani M, Aizawa-Abe M, Miyanaga F, et al. Pathophysiological role of leptin in lifestyle-related diseases. Studies with transgenic skinny mice overexpressing leptin. *J Diabetes Complications.* 2002;16(1):119-22.
60. Bagnasco M, Dube MG, Katz A, Kalra PS, Kalra SP. Leptin expression in hypothalamic PVN reverses dietary obesity and hyperinsulinemia but stimulates ghrelin. *Obes Res.* 2003;11(12):1463-70.
61. Hsueh WA, Lyon CJ, Quinones MJ. Insulin resistance and the endothelium. *Am J Med.* 2004;117(2):109-17.
62. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation.* 2004;109(23 Suppl 1):III27-32.

63. Behrendt D, Ganz P. Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol.* 2002;90(10C):40L-8L.
64. Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res.* 2000;86(5):494-501.
65. Sorescu D, Weiss D, Lassegue B, Clempus RE, Szocs K, Sorescu GP, et al. Superoxide production and expression of nox family proteins in human atherosclerosis. *Circulation.* 2002;105(12):1429-35.
66. Yamamoto K, Loskutoff DJ. Fibrin deposition in tissues from endotoxin-treated mice correlates with decreases in the expression of urokinase-type but not tissue-type plasminogen activator. *J Clin Invest.* 1996;97(11):2440-51.
67. Cannon RO, 3rd. Role of nitric oxide in cardiovascular disease: focus on the endothelium. *Clin Chem.* 1998;44(8 Pt 2):1809-19.
68. Cefalu WT. Insulin resistance: cellular and clinical concepts. *Exp Biol Med (Maywood).* 2001;226(1):13-26.
69. Devaraj S, Rosenson RS, Jialal I. Metabolic syndrome: an appraisal of the pro-inflammatory and procoagulant status. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2004;33(2):431-53, table of contents.
70. Ford ES. Leukocyte count, erythrocyte sedimentation rate, and diabetes incidence in a national sample of US adults. *Am J Epidemiol.* 2002;155(1):57-64.
71. Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1998;339(4):229-34.
72. Roberts WC. Preventing and arresting coronary atherosclerosis. *Am Heart J.* 1995;130(3 Pt 1):580-600.
73. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2004;27 Suppl 1:S5-S10.

74. Lorenzo C, Okoloise M, Williams K, Stern MP, Haffner SM. The metabolic syndrome as predictor of type 2 diabetes: the San Antonio heart study. *Diabetes Care*. 2003;26(11):3153-9.
75. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2001;24(4):683-9.
76. Flegal KM. Blood lipid levels in type 2 diabetes. What are the effects of diet? *Diabetes Care*. 1999;22(10):1605-6.
77. Azarsız E SE. Paraoksonaz ve klinik önemi. *Turk J Biochem*. 2000;25(3):109-19.
78. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol*. 1998;31(3):329-36.
79. Heijmans BT, Westendorp RG, Lagaay AM, Knook DL, Klufft C, Slagboom PE. Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. *Atherosclerosis*. 2000;149(1):91-7.
80. Ansell BJ, Watson KE, Fogelman AM, Navab M, Fonarow GC. High-density lipoprotein function recent advances. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(10):1792-8.
81. Suchocka Z, Swatowska J, Pachecka J, Suchocki P. RP-HPLC determination of paraoxonase 3 activity in human blood serum. *J Pharm Biomed Anal*. 2006;42(1):113-9.
82. Aslan M, Kosecik M, Horoz M, Selek S, Celik H, Erel O. Assessment of paraoxonase and arylesterase activities in patients with iron deficiency anemia. *Atherosclerosis*. 2007;191(2):397-402.
83. Mackness M, Mackness B. Paraoxonase 1 and atherosclerosis: is the gene or the protein more important? *Free Radic Biol Med*. 2004;37(9):1317-23.
84. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, Hsu C, Billecke S, La Du BN. Human serum Paraoxonase/Arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids : apolipoprotein A-I stabilizes activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(9):2214-25.

85. Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodelling of high density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis*. 1999;145(2):227-38.
86. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraonase. *J Clin Invest*. 1998;101(8):1581-90.
87. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem*. 1997;272(34):20963-6.
88. Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Milo S, Hoffman A, et al. Human serum paraonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation*. 2000;101(21):2510-7.
89. M A. 12/05/2011. Paraonases, Lipid Peroxidation and Atherosclerosis. Lipid Research Laborotary. [www.aviramlipids.com/lipid-research.html](http://www.aviramlipids.com/lipid-research.html). [14.05.2011].
90. Wu G, Morris SM, Jr. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J*. 1998;336 ( Pt 1):1-17.
91. Cederbaum SD, Yu H, Grody WW, Kern RM, Yoo P, Iyer RK. Arginases I and II: do their functions overlap? *Mol Genet Metab*. 2004;81 Suppl 1:S38-44.
92. Li H, Meininger CJ, Hawker JR, Jr., Haynes TE, Kepka-Lenhart D, Mistry SK, et al. Regulatory role of arginase I and II in nitric oxide, polyamine, and proline syntheses in endothelial cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;280(1):E75-82.
93. Ash DE. Structure and function of arginases. *J Nutr*. 2004;134(10 Suppl):2760S-4S; discussion 5S-7S.
94. Vockley JG, Jenkinson CP, Shukla H, Kern RM, Grody WW, Cederbaum SD. Cloning and characterization of the human type II arginase gene. *Genomics*. 1996;38(2):118-23.
95. Jenkinson CP, Grody WW, Cederbaum SD. Comparative properties of arginases. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 1996;114(1):107-32.

96. R. William Caldwell. 12.05.2011. Role of arginase in vascular endothelial dysfunction. Georgia Health Sciences University. Department of Pharmacology&Toxicology.[http://www.georgiahealth.edu/som/phmtox/phtx\\_faculty.html](http://www.georgiahealth.edu/som/phmtox/phtx_faculty.html). [14.05.2011].
97. Levillain O, Balvay S, Peyrol S. Mitochondrial expression of arginase II in male and female rat inner medullary collecting ducts. *J Histochem Cytochem.* 2005;53(4):533-41.
98. Di Costanzo L, Moulin M, Haertlein M, Meilleur F, Christianson DW. Expression, purification, assay, and crystal structure of perdeuterated human arginase I. *Arch Biochem Biophys.* 2007;465(1):82-9.
99. Weiner CP, Knowles RG, Stegink LD, Dawson J, Moncada S. Myometrial arginase activity increases with advancing pregnancy in the guinea pig. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;174(2):779-82.
100. Durante W, Liao L, Peyton KJ, Schafer AI. Thrombin stimulates vascular smooth muscle cell polyamine synthesis by inducing cationic amino acid transporter and ornithine decarboxylase gene expression. *Circ Res.* 1998;83(2):217-23.
101. Wallace HM, Fraser AV, Hughes A. A perspective of polyamine metabolism. *Biochem J.* 2003;376(Pt 1):1-14.
102. Thiemermann C. The role of the L-arginine: nitric oxide pathway in circulatory shock. *Adv Pharmacol.* 1994;28:45-79.
103. Hobbs AJ, Ignarro LJ. Nitric oxide-cyclic GMP signal transduction system. *Methods Enzymol.* 1996;269:134-48.
104. Hecker M, Nematollahi H, Hey C, Busse R, Racke K. Inhibition of arginase by NG-hydroxy-L-arginine in alveolar macrophages: implications for the utilization of L-arginine for nitric oxide synthesis. *FEBS Lett.* 1995;359(2-3):251-4.
105. Shearer JD, Richards JR, Mills CD, Caldwell MD. Differential regulation of macrophage arginine metabolism: a proposed role in wound healing. *Am J Physiol.* 1997;272(2 Pt 1):E181-90.

106. Garin MC, Kalix B, Morabia A, James RW. Small, dense lipoprotein particles and reduced paraoxonase-1 in patients with the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(4):2264-9.
107. Andreeva-Gateva P, Popova D, Orbetsova V. [Antioxidant parameters in metabolic syndrome -- a dynamic evaluation during oral glucose tolerance test]. *Vutr Boles.* 2001;33(2-3):48-53.
108. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340(2):115-26.
109. Soran H, Younis NN, Charlton-Menys V, Durrington P. Variation in paraoxonase-1 activity and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2009;20(4):265-74.
110. Gur M, Aslan M, Yildiz A, Demirbag R, Yilmaz R, Selek S, et al. Paraoxonase and arylesterase activities in coronary artery disease. *Eur J Clin Invest.* 2006;36(11):779-87.
111. Ikeda Y, Suehiro T, Arie K, Kumon Y, Hashimoto K. High glucose induces transactivation of the human paraoxonase 1 gene in hepatocytes. *Metabolism.* 2008;57(12):1725-32.
112. Lu C, Gao Y, Zhou H, Tian H. The relationships between PON1 activity as well as oxLDL levels and coronary artery lesions in CHD patients with diabetes mellitus or impaired fasting glucose. *Coron Artery Dis.* 2008;19(8):565-73.
113. Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases and cardiovascular diseases: pharmacological and nutritional influences. *Curr Opin Lipidol.* 2005;16(4):393-9.
114. Ferretti G, Bacchetti T, Moroni C, Savino S, Liuzzi A, Balzola F, et al. Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(3):1728-33.
115. La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson RC, et al. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Interact.* 1999;119-120:379-88.

116. Jakubowski H. Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylation. *J Biol Chem.* 2000;275(6):3957-62.
117. Ferretti G, Bacchetti T, Marchionni C, Caldarelli L, Curatola G. Effect of glycation of high density lipoproteins on their physicochemical properties and on paraoxonase activity. *Acta Diabetol.* 2001;38(4):163-9.
118. Jaouad L, Milochevitch C, Khalil A. PON1 paraoxonase activity is reduced during HDL oxidation and is an indicator of HDL antioxidant capacity. *Free Radic Res.* 2003;37(1):77-83.
119. Ferretti G, Bacchetti T, Busni D, Rabini RA, Curatola G. Protective effect of paraoxonase activity in high-density lipoproteins against erythrocyte membranes peroxidation: a comparison between healthy subjects and type 1 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2957-62.
120. Deakin S, Leviev I, Gomaschi M, Calabresi L, Franceschini G, James RW. Enzymatically active paraoxonase-1 is located at the external membrane of producing cells and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism. *J Biol Chem.* 2002;277(6):4301-8.
121. Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic Biol Med.* 2004;37(9):1304-16.
122. Rozenberg O, Rosenblat M, Coleman R, Shih DM, Aviram M. Paraoxonase (PON1) deficiency is associated with increased macrophage oxidative stress: studies in PON1-knockout mice. *Free Radic Biol Med.* 2003;34(6):774-84.
123. Rozenberg O, Shih DM, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) attenuates macrophage oxidative status: studies in PON1 transfected cells and in PON1 transgenic mice. *Atherosclerosis.* 2005;181(1):9-18.
124. Rozenberg O, Shih DM, Aviram M. Human serum paraoxonase 1 decreases macrophage cholesterol biosynthesis: possible role for its phospholipase-A2-like activity and lysophosphatidylcholine formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(3):461-7.

125. Mackness B, Hine D, Liu Y, Mastorikou M, Mackness M. Paraoxonase-1 inhibits oxidised LDL-induced MCP-1 production by endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;318(3):680-3.
126. Ansell BJ, Navab M, Hama S, Kamranpour N, Fonarow G, Hough G, et al. Inflammatory/antiinflammatory properties of high-density lipoprotein distinguish patients from control subjects better than high-density lipoprotein cholesterol levels and are favorably affected by simvastatin treatment. *Circulation.* 2003;108(22):2751-6.
127. Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E, et al. Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(9):1451-7.
128. Mackness M, Durrington P, Mackness B. Paraoxonase 1 activity, concentration and genotype in cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol.* 2004;15(4):399-404.
129. Senti M, Tomas M, Fito M, Weinbrenner T, Covas MI, Sala J, et al. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(11):5422-6.
130. Graner M, James RW, Kahri J, Nieminen MS, Syvanne M, Taskinen MR. Association of paraoxonase-1 activity and concentration with angiographic severity and extent of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(12):2429-35.
131. Mackness B, Durrington PN, Boulton AJ, Hine D, Mackness MI. Serum paraoxonase activity in patients with type 1 diabetes compared to healthy controls. *Eur J Clin Invest.* 2002;32(4):259-64.
132. Younis N, Sharma R, Soran H, Charlton-Menys V, Elseweidy M, Durrington PN. Glycation as an atherogenic modification of LDL. *Curr Opin Lipidol.* 2008;19(4):378-84.



133. Kordonouri O, James RW, Bennetts B, Chan A, Kao YL, Danne T, et al. Modulation by blood glucose levels of activity and concentration of paraoxonase in young patients with type 1 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2001;50(6):657-60.
134. Tsuzura S, Ikeda Y, Suehiro T, Ota K, Osaki F, Arai K, et al. Correlation of plasma oxidized low-density lipoprotein levels to vascular complications and human serum paraoxonase in patients with type 2 diabetes. *Metabolism*. 2004;53(3):297-302.
135. Kopprasch S, Pietzsch J, Kuhlisch E, Graessler J. Lack of association between serum paraoxonase 1 activities and increased oxidized low-density lipoprotein levels in impaired glucose tolerance and newly diagnosed diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(4):1711-6.
136. Hanefeld M, Koehler C, Henkel E, Fuecker K, Schaper F, Temelkova-Kurktschiev T. Post-challenge hyperglycaemia relates more strongly than fasting hyperglycaemia with carotid intima-media thickness: the RIAD Study. Risk Factors in Impaired Glucose Tolerance for Atherosclerosis and Diabetes. *Diabet Med*. 2000;17(12):835-40.
137. de Roos NM, Schouten EG, Scheek LM, van Tol A, Katan MB. Replacement of dietary saturated fat with trans fat reduces serum paraoxonase activity in healthy men and women. *Metabolism*. 2002;51(12):1534-7.
138. Kural BV, Orem C, Uydu HA, Alver A, Orem A. The effects of lipid-lowering therapy on paraoxonase activities and their relationships with the oxidant-antioxidant system in patients with dyslipidemia. *Coron Artery Dis*. 2004;15(5):277-83.
139. Paragh G, Torocsik D, Seres I, Harangi M, Illyes L, Balogh Z, et al. Effect of short term treatment with simvastatin and atorvastatin on lipids and paraoxonase activity in patients with hyperlipoproteinaemia. *Curr Med Res Opin*. 2004;20(8):1321-7.
140. Perozich J, Hempel J, Morris SM, Jr. Roles of conserved residues in the arginase family. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1382(1):23-37.

141. Ryoo S, Lemmon CA, Soucy KG, Gupta G, White AR, Nyhan D, et al. Oxidized low-density lipoprotein-dependent endothelial arginase II activation contributes to impaired nitric oxide signaling. *Circ Res.* 2006;99(9):951-60.
142. Zhang C, Hein TW, Wang W, Miller MW, Fossum TW, McDonald MM, et al. Upregulation of vascular arginase in hypertension decreases nitric oxide-mediated dilation of coronary arterioles. *Hypertension.* 2004;44(6):935-43.
143. Kashyap SR, Lara A, Zhang R, Park YM, DeFronzo RA. Insulin reduces plasma arginase activity in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2008;31(1):134-9.
144. Morris SM, Jr. Regulation of enzymes of the urea cycle and arginine metabolism. *Annu Rev Nutr.* 2002;22:87-105.
145. Morris SM, Jr. Recent advances in arginine metabolism: roles and regulation of the arginases. *Br J Pharmacol.* 2009;157(6):922-30.
146. Zhang C, Hein TW, Wang W, Chang CI, Kuo L. Constitutive expression of arginase in microvascular endothelial cells counteracts nitric oxide-mediated vasodilatory function. *FASEB J.* 2001;15(7):1264-6.
147. Durante W. Regulation of L-arginine transport and metabolism in vascular smooth muscle cells. *Cell Biochem Biophys.* 2001;35(1):19-34.
148. John S, Schmieder RE. Potential mechanisms of impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia. *Curr Hypertens Rep.* 2003;5(3):199-207.
149. Lefter AM, Lefter DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. *Cardiovasc Res.* 1996;32(4):743-51.
150. Berkowitz DE, White R, Li D, Minhas KM, Cernetich A, Kim S, et al. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels. *Circulation.* 2003;108(16):2000-6.

151. Wu G, Meininger CJ. Arginine nutrition and cardiovascular function. *J Nutr.* 2000;130(11):2626-9.
152. Angulo J, Rodriguez-Manas L, Peiro C, Neira M, Marin J, Sanchez-Ferrer CF. Impairment of nitric oxide-mediated relaxations in anaesthetized autoperfused streptozotocin-induced diabetic rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1998;358(5):529-37.
153. Tousoulis D, Antoniades C, Tentolouris C, Goumas G, Stefanadis C, Toutouzias P. L-arginine in cardiovascular disease: dream or reality? *Vasc Med.* 2002;7(3):203-11.
154. Thengchaisri N, Hein TW, Wang W, Xu X, Li Z, Fossum TW, et al. Upregulation of arginase by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> impairs endothelium-dependent nitric oxide-mediated dilation of coronary arterioles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(9):2035-42.
155. El-Remessy AB, Tawfik HE, Matragoon S, Pillai B, Caldwell RB, Caldwell RW. Peroxynitrite mediates diabetes-induced endothelial dysfunction: possible role of Rho kinase activation. *Exp Diabetes Res.* 2010;2010:247861.
156. Kim JA, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation.* 2006;113(15):1888-904.
157. Ishii N, Ikenaga H, Carmines PK, Aoki Y, Ogawa Z, Saruta T, et al. High glucose augments arginase activity and nitric oxide production in the renal cortex. *Metabolism.* 2004;53(7):868-74.
158. Lee DS, Evans JC, Robins SJ, Wilson PW, Albano I, Fox CS, et al. Gamma glutamyl transferase and metabolic syndrome, cardiovascular disease, and mortality risk: the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(1):127-33.
159. Whitfield JB. Gamma glutamyl transferase. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2001;38(4):263-355.

160. Oda E, Kawai R, Watanabe K, Sukumaran V. Prevalence of metabolic syndrome increases with the increase in blood levels of gamma glutamyltransferase and alanine aminotransferase in Japanese men and women. *Intern Med.* 2009;48(16):1343-50.
161. Kawamoto R, Kohara K, Tabara Y, Miki T, Otsuka N. Serum gamma-glutamyl transferase levels are associated with metabolic syndrome in community-dwelling individuals. *J Atheroscler Thromb.* 2009;16(4):355-62.
162. Lee DH, Silventoinen K, Hu G, Jacobs DR, Jr., Jousilahti P, Sundvall J, et al. Serum gamma-glutamyltransferase predicts non-fatal myocardial infarction and fatal coronary heart disease among 28,838 middle-aged men and women. *Eur Heart J.* 2006;27(18):2170-6.
163. Meisinger C, Doring A, Schneider A, Lowel H. Serum gamma-glutamyltransferase is a predictor of incident coronary events in apparently healthy men from the general population. *Atherosclerosis.* 2006;189(2):297-302.
164. Shankar A, Li J, Klein BE, Javier Nieto F, Klein R. Serum gamma-glutamyltransferase level and peripheral arterial disease. *Atherosclerosis.* 2008;199(1):102-9.
165. Andre P, Balkau B, Vol S, Charles MA, Eschwege E. Gamma-glutamyltransferase activity and development of the metabolic syndrome (International Diabetes Federation Definition) in middle-aged men and women: Data from the Epidemiological Study on the Insulin Resistance Syndrome (DESIR) cohort. *Diabetes Care.* 2007;30(9):2355-61.
166. Dominici S, Valentini M, Maellaro E, Del Bello B, Paolicchi A, Lorenzini E, et al. Redox modulation of cell surface protein thiols in U937 lymphoma cells: the role of gamma-glutamyl transpeptidase-dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and S-thiolation. *Free Radic Biol Med.* 1999;27(5-6):623-35.

167. Paolicchi A, Emdin M, Ghiozeni E, Ciancia E, Passino C, Popoff G, et al. Images in cardiovascular medicine. Human atherosclerotic plaques contain gamma-glutamyl transpeptidase enzyme activity. *Circulation*. 2004;109(11):1440.
168. Lee DH, Jacobs DR, Jr. Association between serum gamma-glutamyltransferase and C-reactive protein. *Atherosclerosis*. 2005;178(2):327-30.
169. Jean JC, Liu Y, Brown LA, Marc RE, Klings E, Joyce-Brady M. Gamma-glutamyl transferase deficiency results in lung oxidant stress in normoxia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2002;283(4):L766-76.
170. Ruttman E, Brant LJ, Concin H, Diem G, Rapp K, Ulmer H. Gamma-glutamyltransferase as a risk factor for cardiovascular disease mortality: an epidemiological investigation in a cohort of 163,944 Austrian adults. *Circulation*. 2005;112(14):2130-7.
171. Kotronen A, Yki-Jarvinen H. Fatty liver: a novel component of the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(1):27-38.
172. Devers MC, Campbell S, Shaw J, Zimmet P, Simmons D. Should liver function tests be included in definitions of metabolic syndrome? Evidence from the association between liver function tests, components of metabolic syndrome and prevalent cardiovascular disease. *Diabet Med*. 2008;25(5):523-9.

