



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**POSTPRANDİYAL LİPEMİ İLE PLAZMA
MikroRNA EKSPRESYON İLİŞKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Serap ÖZER YAMAN

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Asım ÖREM

TRABZON-2019

ONAY

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Serap ÖZER YAMAN'ın hazırladığı "Postprandiyal Lipemi ile Plazma MikroRNA Ekspresyon İlişkisinin İncelenmesi" başlıklı çalışma Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 16/10/2019

Prof. Dr. Asım ÖREM
(Danışman)

Prof. Dr. Birgül KURAL

Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU

Prof. Dr. Adnan YILMAZ

Dr. Öğr. Üyesi Meltem MALKOÇ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne/...../20..... tarihinde teslim edilen bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../20..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ersan KALAY
Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

16/10/2019
Serap ÖZER YAMAN

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca bilimsel, akademik ve insani açıdan her daim örnek aldığım ve tez çalışmamın gerçekleşmesinde bilgi ve tecrübeleriyle her zaman bana yol gösterici olan ve desteğini esirgemeyen, emekleri ve yardımları için değerli danışmam hocam sayın Prof. Dr. Asım ÖREM'e,

Her anlamda imkanlarını, bilgi ve deneyimlerini her zaman benimle paylaşan, her türlü desteğini ve yardımını esirgemeyen, hiçbir zaman beni geri çevirmeyen, odasının kapılarını sonuna kadar açan Dr. Öğr. Üyesi Fulya BALABAN YÜCESAN'a

Bilimsel ve akademik anlamda imkanlarını, yardımlarını, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, her zaman bana destek olan Prof. Dr. Birgül KURAL' a,

Lisansüstü eğitimim boyunca her bakımdan bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım çok değerli hocalarım; emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Eşref Edip KEHA, Prof. Dr. Orhan DEĞER, Prof. Dr. S. Caner KARAHAN, Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU, Prof. Dr. Ahmet ALVER, Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin YAMAN, ve aramızdan ayrılan, her zaman saygı ve sevgiyle andığım değerli hocam Prof. Dr. Ekin ÖNDER'e

Bilimsel ve akademik anlamda imkanlarını, bilgi ve deneyimlerini özveriyle benimle paylaşan Doç. Dr. Ahmet MENTEŞE, Doç. Dr. İbrahim Turan, Doç. Dr. Selim DEMİR, Dr. Öğr. Üyesi Diler US ALTAY, Dr. Öğr. Üyesi Meltem MALKOÇ'a

Tez çalışmamın bir bölümü için yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÇOBAN'a,

Lisansüstü eğitimim boyunca pek çok güzel anı biriktirdiğim, çalışmamda desteklerini hiç eksik etmeyen ve her zaman yanımda olan Dr. Öğr. Üyesi Sema MISIR, Dr. İmran İNCE, Dr. Akın BODUR, Arş. Gör. Kübra AKBULUT ÇAKIROĞLU'na, Dr. Öğr. Üyesi Hanife KARA'ya, Biyokimya Anabilim Dalındaki tüm arkadaşlarıma ve KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü personeline,

Bugünlere gelmemde büyük katkıları olan, hayatımın her alanında bana destek olan aileme, akademik yolumda her zaman destekçim olan, sabrı ve emekleri için sevgili eşim Uzm. Dr. Selçuk Yaman'a ve kızım Beren YAMAN'a, en içten dileklerle teşekkür ederim.

Serap ÖZER YAMAN

Bu tez çalışması KTÜ BAP 2018-7277 numaralı proje bütçesi tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
KABUL ve ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xii
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xiii
ÖZET	xvi
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Postprandiyal Lipemi	3
2.1.1. Postprandiyal Hiperlipidemiye Etki Eden Faktörler	4
2.2. Postprandiyal Lipid Metabolizması	6
2.2.1. Yağların Sindirimi	6
2.2.2. Enterositlere Monoaçilgliserol ve Yağ Asitlerin Alınması	7
2.3. Şilomikron Lipoprotein'inin Yapısı ve Sentezi	8
2.3.1. Şilomikronun Yapısı	8
2.3.2. Şilomikron Sentezi ve Dolaşımı	9
2.4. Şilomikronun Sentezinde ve Fonksiyonunda Görev Alan Bazı Proteinler	11
2.4.1. Apolipoprotein B48	11
2.4.2. Mikrozomal Triglycerid Transfer Protein	12
2.5. Kolesterolün HDL'ye ATP Bağlayıcı Kaset Taşıyıcı A1 Proteinini ile Taşınması	12
2.6. MikroRNA	14
2.6.1. MikroRNA'nın Tarihçesi	14

2.6.2. MikroRNA Biyogenezi	15
2.6.3. Dolaşımda Yer Alan MikroRNA'lar	16
2.6.4. MikroRNA'ların Lipid Metabolizmasındaki Rolü	18
2.6.4.1. MikroRNA-30c Lipid Metabolizmasındaki Rolü	18
2.6.4.2. MikroRNA-122 Lipid ve Kolesterol Metabolizmasındaki Rolü	19
2.6.4.3. MikroRNA-33a/b Kolesterol Metabolizmasındaki Rolü	20
2.7. Metabolik Sendrom	21
2.7.1. Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM	25
3.1. Gereç	25
3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri	25
3.1.2. Kullanılan Ticari Kitler ve Kimyasallar	26
3.2. Yöntem	27
3.2.1. Çalışma Grubu	27
3.2.2. Oral Triglisericid Tolerans Testinin Uygulanması	28
3.2.3. Serum Glukoz, İnsülin ve Lipid Parametrelerinin Ölçümü	29
3.2.4. İnsan Serum Apolipoprotein B48 Düzeylerinin Belirlenmesi	29
3.2.5. İnsan Serum Mikrozomal Triglisericid Transfer Protein Düzeylerinin Belirlenmesi	30
3.2.6. İnsan Serum ATP Bağlı Kaset Taşıyıcı A1 Düzeylerinin Belirlenmesi	30
3.2.7. İnsan Serum Apolipoprotein A1 Düzeylerinin Belirlenmesi	31
3.2.8. Şilomikron Partikül Boyutlarının Analizi	32
3.2.9. Plazma Örneklerinde MikroRNA Ekspresyon Analizleri	33
3.2.9.1. Kandan Plazma Eldesi	33
3.2.9.2. Plazma Örneklerinden miRNA Eldesi	33
3.2.9.3. RNA Örneklerinden cDNA Elde Edilmesi	34
3.2.9.4. cDNA'nın Zenginleştirilmesi	34
3.2.10. Real Time-PCR Analizleri	35
3.2.10.1. RT-PCR Sonuçlarına göre miRNA Ekspresyonlarının Hesaplanması	39
3.2.11. Agaroz Jel Elektrofrezisi	40
3.2.11.1. Agaroz Jel Elektrofrezisinde Kullanılan Çözeltiler	40
3.2.11.2. Real Time-PCR ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrezisinde Yürütülmesi	41
3.3. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler	42

4. BULGULAR	43
4.1. Çalışma Grubuna Ait Parametrelerin Analizi	43
4.1.1. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubuna Ait Antropometrik Değerler	43
4.1.2. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Lipid, Glukoz, İnsülin ve HOMO-IR Düzeyleri	43
4.2. Çalışma Grubuna Ait OTTT Analizleri	44
4.2.1. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Zamana Göre TG Düzeyleri ve OTTT Grafiği	44
4.2.2. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Zamana Göre TK Düzeyleri	46
4.2.3. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Zamana Göre MikroRNA Ekspresyon Değerleri	47
4.2.4. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Zamana Göre Apo B48 ve MTTP Seviyeleri	52
4.2.5. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Zamana Göre Apo A1 ve ABCA1 Seviyeleri	56
4.2.6. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Postprandiyal 4. Saat Şilomikron Partikül Boyutları	58
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	60
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	73
7. KAYNAKLAR	77
EKLER	87
EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi	88
EK 2. Anket Formu	91
EK 3. Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Örneği (Sağlıklı Gönüllü)	95
EK 4. Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Örneği (Hasta Gönüllü)	98
ÖZGEÇMİŞ	102

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
Tablo 1.	Dünya Sağlık Örgütü'nün metabolik sendrom tanı kriterleri	22
Tablo 2.	NCEP-ATP III Metabolik sendrom tanı kriterleri	23
Tablo 3.	Uluslararası Diyabet Federasyonu metabolik sendrom tanı kriterleri	23
Tablo 4.	Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği Metabolik Sendrom Çalışma Grubu'nun metabolik sendrom tanı kriterleri	24
Tablo 5.	Kullanılan cihazlar, laboratuvar malzemeleri ve üretici firmaları	25
Tablo 6.	Kullanılan kitler, kimyasallar ve üretici firmaları	26
Tablo 7.	RNA örneklerinden cDNA sentezi için gerekli reaksiyon bileşenleri	34
Tablo 8.	RNA örneklerinden cDNA'nın zenginleştirilmesi için gerekli reaksiyon bileşenleri	35
Tablo 9.	RT-PCR'da kullanılan miRNA primerlerinin hedef dizileri	37
Tablo 10.	RT-PCR aşaması için gerekli reaksiyon bileşenleri	37
Tablo 11.	RT-PCR protokolü	38
Tablo 12.	MetS ile kontrol grubuna ait antropometrik değerler	43
Tablo 13.	MetS ile kontrol grubuna ait lipid, glukoz, insülin ve HOMO-IR düzeyleri	44
Tablo 14.	MetS ile kontrol grubunun saatlere göre TG değerleri	45
Tablo 15.	MetS ile kontrol grubunun saatlere göre TK değerleri	47
Tablo 16.	Kontrol grubunda saatlere göre miRNA ekspresyon düzeyleri	47
Tablo 17.	MetS grubunda saatlere göre miRNA ekspresyon düzeyleri	49
Tablo 18.	MetS ile kontrol grubunun saatlere göre miRNA ekspresyon düzeyleri	51
Tablo 19.	Kontrol grubunda saatlere göre Apo B48 ve MTTP değerleri	52
Tablo 20.	MetS grubunda saatlere göre Apo B48 ve MTTP değerleri	53
Tablo 21.	MetS ile kontrol grubunun Apo B48 ve MTTP değerleri	55
Tablo 22.	Kontrol grubunda saatlere göre Apo A1 ve ABCA1 değerleri	56
Tablo 23.	MetS grubunda saatlere göre Apo A1 ve ABCA1 değerleri	57
Tablo 24.	MetS ile kontrol grubu arasında Apo A1 ve ABCA1 değerleri	57
Tablo 25.	MetS ile kontrol grubunun postprandiyal 4.saat ŞM partikül boyutu	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Diyetle alınan yağların sindirimi	7
Şekil 2.	İntestinal lipid absorpsiyonu	8
Şekil 3.	Şilomikronun sentezlenmesi ve salgılanması	10
Şekil 4.	Şilomikronun hücre içi sentez basamakları	11
Şekil 5.	ABCA1 transport mekanizması	13
Şekil 6.	MikroRNA biyogenezi	16
Şekil 7.	MikroRNA'ların hücre dışına salınma mekanizmaları	17
Şekil 8.	Lipid metabolizmasını düzenleyen miRNA'lar	21
Şekil 9.	Apo B48 standart grafiği	29
Şekil 10.	MTTP standart grafiği	30
Şekil 11.	ABCA1 standart grafiği	31
Şekil 12.	Apo A1 standart grafiği	31
Şekil 13.	miRNA 122, miRNA 30c, miRNA 33a ve Snord61'e ait amplifikasyon eğrileri	39
Şekil 14.	Bir pleytin RT-PCR'da çalışılması sonucunda elde edilen tipik erime eğrisi grafiği	39
Şekil 15.	MetS ve Kontrol grubunun OTTT grafiği	46
Şekil 16.	Kontrol grubunun zamana göre mikroRNA değerleri	48
Şekil 17.	MetS grubunun zamana göre mikroRNA değerleri	49
Şekil 18.	MetS grubunun kontrol grubuna göre miRNA ekspresyon düzeyleri	51
Şekil 19.	Kontrol grubunda zamana göre Apo B48 ve MTTP değerleri grafiği	52
Şekil 20.	MetS grubunda zamana göre Apo B48 ve MTTP değerleri grafiği	54
Şekil 21.	MetS ile kontrol grubunun zamana göre Apo B48 değerleri	55
Şekil 22.	MetS ile kontrol grubunun zamana göre MTTP değerleri	56
Şekil 23.	MetS ile kontrol grubunun zamana göre Apo A1 değerleri	57
Şekil 24.	MetS ile kontrol grubunun zamana göre ABCA1 değerleri	58
Şekil 25.	Postrandiyal TG cevabı bozuk olan hasta ve normal olan sağlıklı kontrol grubuna ait miRNA-122, miRNA-30c, MTTP, Apo B48, ŞM boyutu ve TG seviyelerinin postprandiyal değişimi	75

Şekil 26. Postrandiyal TG cevabı bozuk olan hasta ve normal olan sağlıklı kontrol grubuna ait miRNA-33a, ABCA1, Apo A1 seviyelerinin postprandiyal değişimi

76



RESİMLER DİZİNİ

Resim No

Sayfa

Resim 1.

RT-PCR'dan sonra miRNA ürünlerinin agaroz jel görüntüsü

41



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ABCA1	ATP bağı kaset taşıyıcı A1
ABCG5/G8	ATP bağı kaset taşıyıcı proteinler G5/G8
ACAT	Açiltransferaz
Ago2	Argonaute 2
AMO	Anti-miRNA oligonükleotidleri
AMP	Adenozin monofosfat
AMPK	AMP-aktive eden protein kinaz
Apo	Apolipoprotein
ASO	Antisense oligonükleotitleri
ATP	Adenozin trifosfat
AUC	Eğri altında kalan alan
BAP	Bilimsel araştırma projesi
C. elegans	Caenorhabditis elegans
CD36	Yağ asidi farklılaşma kümesi 36
CETP	Kolesterol ester transfer protein
COP II	Kaplama protein kompleksi II
Cp	Döngü sayısı (crossing point)
Ct	Eşik değeri (threshold value)
DGCR8	Di george syndrome critical region 8
DLS	Dinamik ışık saçılması
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik ssit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ECmiRNA	Ekstraselüler miRNA
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
ER	Endoplazmik retikulum
FABP	Yağ Asidi Bağlayıcı Protein
FATP4	Yağ asidi transport protein 4
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HDL-K	HDL-kolesterol

HMGCR	3-Hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A redüktaz
HMGCS1	3-Hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A sentaz 1
HOMO-IR	Homeostatic model of assessment-insulin resistance
HRP	Horseradish peroksidaz
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
KAH	Koroner arter hastalığı
KTÜ	Karadeniz Teknik Üniversitesi
LDL-K	Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol
LNA	Nükleik asit kilitleyicileri
LPL	Lipoprotein lipaz
MAG	Monoaçilgliserol
MetS	Metabolik sendrom
miRNA	MikroRNA
MTTP	Mikrozomal trigliserid transfer protein
NCEP-ATP III	Ulusal kolesterol eğitim programının erişkinlerde yüksek kan kolesterolünün değerlendirilmesi 3. raporu
NPC1L1	Niemann–Pick C-1-Like 1
OTTT	Oral trigliserid tolerans testi
PC	Preşilomikron
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PCTV	Preşilomikron transport veziküller
pri-miRNA	Primer miRNA
RNA	Ribonükleik asit
RT-PCR	Real Time- PCR
SNARE	V-soluble N-ethylmaleimide duyarlı faktör bağlı protein reseptör
SREBP	Sterol regülatör element-bağlayıcı protein
ŞM	Şilomikron
TEKHARF	Türk Erişkinleri Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması
TEMD	Türkiye Endrokinoloji Metabolizma Derneği
TG	Trigliserid
TK	Total kolesterol
VAMP 7	Vezikül ilişkili membran protein 7
VKİ	Vücut kitle indeksi

VLDL	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
UV	Ultraviyole

Simgeler

α	Alfa
β	Beta
Δ	Delta
\circ	Derece
μ	Mikro
%	Yüzde

Formüller

C_2H_5OH	Etanol
C_3H_7OH	İzopropil alkol
$NaOH$	Sodyum hidroksit
$NaCl$	Sodyum klorür
H_2O	Su

ÖZET

Postprandiyal Lipemi İle Plazma MikroRNA Ekspresyon İlişkisinin İncelenmesi

Postprandiyal lipemi, yağlı yemek sonrasında oluşan plazma lipid ve lipoprotein seviyelerindeki değişiklikleri ifade eder. Diyetle alınan trigliseridler (TG), mikrozomal trigliserid transfer protein (MTTP) tarafından apolipoprotein (Apo) B48 vasıtasıyla şilomikronun (ŞM) yapısına eklenir. Diyetle alınan kolesterol ise hem MTTP vasıtasıyla ŞM yapısına hem de ATP bağlı kaset taşıyıcı A1 (ABCA1) proteini üzerinden Apo A1 vasıtasıyla HDL'nin yapısına aktararak taşınır. MikroRNA'lar (miRNA) lipid ve lipoprotein metabolizmasında önemli rol oynarlar. Bu çalışmanın amacı, lipid metabolizması bozukluğu görülen metabolik sendrom (MetS) hastalarında postprandial süreçte plazma miRNA ekspresyon düzeyleri ile lipid metabolizmasında görev yapan önemli proteinler arasındaki ilişkiyi belirlemektir.

Çalışmamızda 22 sağlıklı kontrole ve 22 MetS'li hastaya oral trigliserid tolerans testine (OTTT) uygulandı. Bu kişilerden açlıkta ve OTTT sonrası 2., 4., 6. saatlerde kan örnekleri alındı. Bu örneklerin plazmalarında MTTP proteinini aktive/inhibe eden miRNA-122/miRNA-30c ve ABCA1 ekspresyonunu inhibe eden miRNA-33a'nın ekspresyon düzeyleri, MTTP, Apo B48, ABCA1, Apo A1 seviyeleri ve ŞM partikül boyutu belirlendi.

Postprandiyal dönemde MetS'li hastalarda miRNA-122 ve miRNA-33a ekspresyon seviyeleri yüksek, miRNA-30c ekspresyon seviyesi ise düşük bulundu. Ayrıca bu hastalarda hastalarda açlık durumuna göre postprandiyal 2 ve 4. saatte miRNA-30c ekspresyon seviyesinin anlamlı azaldığı görüldü. MetS grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tüm saatlerde TG, MTTP, miRNA-122 ve miRNA-33a seviyeleri anlamlı yüksek miRNA-30c seviyesi ise anlamlı düşüktü. Diğer taraftan Apo A1 değeri 0. ve 4. saatlerde anlamlı düşük ve ŞM partikül boyutu 4. saatte anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, miRNA-122, miRNA-30c ve miRNA-33a'nın postprandiyal lipemide ve dislipidemide önemli rol oynayabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Sözcükler: Apolipoprotein B48, Hipertrigliseridemi, Lipid metabolizması, Metabolik Sendrom, MikroRNA

ABSTRACT

Investigation of the Relationship Between Plasma MicroRNA Expression and Postprandial Lipemia

Postprandial lipemia refers to changes in plasma lipid and lipoprotein levels that occur after fatty meal. Dietary triglycerides (TGs) are added to chylomicron (CM) structure by apolipoprotein (Apo) B48 via microsomal triglyceride transfer protein (MTTP). Dietary cholesterol is transported by both into CM structure via MTTP and transferred to the structure of HDL via ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1) protein through Apo A1. MicroRNAs (miRNAs) play important roles in lipid and lipoprotein metabolism. The aim of this study was to determine the relationship between plasma miRNA expression levels and related proteins in patients with high postprandial TG response.

In our study, 22 healthy controls with low postprandial TG response and 22 metabolic syndrome (MetS) patients with high postprandial TG response underwent oral triglyceride tolerance test (OTTT). Blood samples were taken from these subjects at fasting and at the 2nd, 4th and 6th hours after OTTT. The expression levels of miRNA-122/miRNA-30c that activates/inhibits the MTTP protein and of miRNA-33a that inhibits ABCA1 expression, the levels of MTTP, Apo B48, ABCA1 and Apo A1, and the particle size of CM were determined in these samples.

It was found that while the levels of miRNA-122 and miRNA-33a expression were high, miRNA-30c expression was low in the postprandial period in patients with MetS. In addition, miRNA-30c expression level decreased significantly at postprandial 2nd and 4th hours according to fasting state in these patients. When MetS group compared with the control group, the levels of TG, MTTP, miRNA-122 and miRNA-33a were significantly high at all hours while miRNA-30c level was low. On the other hand, Apo A1 value at 0 and 4th hours was low and CM particle size at 4th hours was high significantly ($p < 0.05$).

According to the results obtained in this study, it was suggested that miRNA-122, miRNA-30c and miRNA-33a may play an important role in postprandial lipemia and dyslipidemia.

Keywords: Apolipoprotein B48, Hypertriglyceridemia, Lipid metabolism, Metabolic Syndrome, MicroRNA

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Postprandiyal lipemi, yağlı yemek sonrasında oluşan plazma lipid ve lipoprotein seviyelerindeki değişiklikleri ifade eder (1). İnsanların çoğu yemek yeme sıklığı nedeniyle, günün yaklaşık 18 saatini tokluk durumunda geçirir (2). Postprandiyal lipemi durumu, nispeten stabil bir açlık durumuna kıyasla, lipoproteinlerin hızlı bir şekilde yeniden yapılandırılmasıyla dinamik ve kararsızdır (3). Açlık veya postprandiyal hipertrigliseridemi ateroskleroz ve kalp damar hastalıkları gelişimi için bağımsız bir risk faktörüdür (4, 5). Ancak tokluk TG değerlerinin koroner arter hastalığı (KAH) riskini açlık TG değerlerine göre daha güçlü bir şekilde öngördüğü bildirilmiştir (6).

Diabetes mellitus (DM) ve MetS gibi metabolik hastalıklarda görülen postprandiyal TG seviyelerinin yüksekliği trigliseridce zengin lipoproteinlerin aşırı üretimi ve/veya azalmış katabolizmasıyla ilişkilidir (7). Postprandiyal dönemde ŞM'ların sentezlenme hızı hipertrigliserideminin büyüklüğünü ve süresini etkiler (1). MetS'nin ayırt edici özelliklerinden biri olan dislipidemi durumu; yüksek TG değerleri, serbest yağ asitlerinin artması, artmış Apo B ve düşük yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (HDL-K) seviyeleri ile ilgilidir (8).

Yağlı bir yemek sonrasında diyetle alınan TG'ler bağırsak lümeninde serbest yağ asitlerine ve monoaçilgliserollere (MAG) hidrolizlenir. Daha sonra yağ asitleri ve MAG'ler, ince bağırsak epitelinin apikal yüzeyinden enterositlere alınıp endoplazmik retikulum (ER) transfer edilir ve ER'de tekrar TG'lere dönüştürülür. ŞM yapısına MTTP vasıtasıyla Apo B48 üzerinden TG eklenir ve böylelikle oluşan olgun ŞM'ler bağırsak üzerinden lenf dolaşımına katılır. Diyetle alınan serbest kolesterolün enterositlere girişi ise Niemann–Pick C-1-like 1 (NPC1L1) protein vasıtasıyla gerçekleşir. Serbest kolesterol enterosit içinden ATP bağlı kaset taşıyıcı proteinler G5/G8 (ABCG5/8) ile bağırsak lümenlerine geri gönderilebilir veya açıl CoA kolesterol açıltransferazlar 1 ve 2 (ACAT1 ve ACAT2) ile kolesterol esterlerine dönüştürülebilir. Kolesterol bağırsak epitel hücreleri boyunca iki yolla taşınır. İlk yol ŞM yolağı ile aynıdır ve MTTP vasıtasıyla kolesterol ŞM yapısına katılır. Apo B'den bağımsız ikinci yolda ise kolesterol, ABCA1 üzerinden Apo A1 tarafından HDL'nin yapısına aktarılır (9).

MikroRNA; Küçük RNA sınıfında yer alan, protein kodlamayan (non-coding), gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan, yaklaşık 20-23 nükleotit uzunluğunda, tek iplikçikli endojen RNA molekülüdür. MiRNA'lar hem fizyolojik hem de patolojik

süreçleri kontrol eden gen ifadesinin önemli düzenleyicileridir ve birçok hücrel yol, miRNA'ların düzenleyici işlevinden etkilenmektedir (10, 11). Son yıllarda yapılan çalışmalarla; lipid, lipoprotein metabolizmasını düzenleyen miRNA'ların metabolik sendrom, obezite ve ateroskleroz gibi hastalıklarda önemli olabileceği vurgulanmaktadır (12).

Lipid metabolizması üzerinde önemli rolü olan miRNA-30c etkisini MTTP'nin mRNA'sının 3'translasyona uğramamış bölgesine bağlanarak MTTP'nin aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (13, 14). Kolesterol ve lipid metabolizmasında görevli miRNA-122'nin kolesterol metabolizmasına etkisi 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A sentaz 1 (HMGCS1) ve 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A redüktaz (HMGCR) basamakları üzerinden, TG metabolizmasına etkisi ise MTTP üzerinden olduğu bulunmuştur. miRNA-122'nin baskılanması ile plazma kolesterol ve TG seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir (15, 16). Kolesterol metabolizmasında görevli miRNA'lardan biri olan miRNA-33a, sterol regülatör element-bağlayıcı protein (SREBP) genlerinin içinde lokalize olan intronik bir miRNA'dır. MiRNA-33 ekspresyonunun artmasıyla ABCA1 ekspresyonunda azalma görülür ve Apo A1 üzerinden HDL'ye kolesterol akışı bozulur ve böylece HDL-K seviyelerinde azalma görülür (12, 16).

Literatürde insanlarda açlık ve postprandiyal döneme ait plazma miRNA seviyelerini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanılmadı. Çalışmamızda sağlıklı ve postprandiyal hipertrigliseridemili kişilerde lipid metabolizması üzerinde düzenleyici rol oynayan miRNA-122, miRNA-30c ve miRNA-33a'nın postprandiyal süreçte zamana bağlı ekspresyon seviyeleri, miRNA-122 ve miRNA-30c seviyelerinin MTTP, Apo B48, ŞM partikül boyutu ve plazma TG seviyeleriyle, miRNA-33a seviyelerinin ise Apo A1, ABCA1 ve plazma HDL-K seviyeleriyle ilişkisinin incelenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Postprandiyal Lipemi

Postprandiyal lipemi, yağlı yemek sonrasında oluşan plazma lipid ve lipoprotein seviyelerindeki değişiklikleri ifade eder (1).

Lipid, lipoprotein metabolizması ile ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık gelişimi arasındaki ilişki hakkında bildiklerimizin çoğu, açlık durumunda yapılan araştırmalara dayanmaktadır (3). Açlık kan TG seviyeleri, diyetin içeriği ve metabolik aktivitenin kümülatif etkilerini gösterse de, gün içinde tüketilen yiyeceklerin veya öğünlerin etkisini tam olarak yansıtmazlar (9). Günümüzde insanların gıda tüketim alışkanlığı değişmiştir ve kişiler günde ortalama 20 ile 70 g arasında yağ içeren üç veya daha fazla öğün tüketmektedirler. Plazma TG seviyeleri, bazal seviyelere inmeden önce insanların TG yönünden zengin öğünlerin tüketilmesine devam ettiği görülmektedir. İnsanların yemek yeme sıklığı göz önüne alındığında günün yaklaşık 18 saat gibi büyük bir bölümünü tokluk durumunda geçirdiği görülmektedir. Bu 18 saatlik postprandiyal dönemde plazma lipid ve lipoprotein düzeylerinde sürekli bir dalgalanma meydana gelmektedir (2). Postprandiyal lipemi durumu, nispeten stabil bir açlık durumuna kıyasla, lipoproteinlerin hızlı bir şekilde yapım ve yıkımı içeren dinamik ve kararsız bir süreçtir. Açlık ve tokluk kan TG seviyelerinin yüksekliği, kardiyovasküler hastalıklar gibi aterosklerozla ilgili diğer birçok kronik hastalık için önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (3).

Postprandiyal süreçte diyetle alınan trigliseridler bağırsaktan dolaşıma ŞM vasıtasıyla geçer. Tokluk sonrası yapılan TG ölçümleri, diyetsel yağ alımına cevap olarak üretilen ŞM düzeylerini yansıtmaktadır (17). 1979 yılında Zilversimit tarafından postprandiyal şilomikronların aterogenez oluşumuna neden olduğunu gösteren bir derleme yayınlamıştır (18). Bu tarihten sonra ŞM ve ŞM remnantları üzerine yapılan çalışmalar artarak devam etmiştir. Günümüzde ŞM üretiminin büyük ölçüde endojen faktörler olmak üzere pek çok faktör tarafından düzenlendiği bilinmektedir. Hormonlar, serbest yağ asitleri, genetik faktörler, sirkadiyen ritim gibi endojen faktörlerin yanında gıda bileşenleri, nutrasötikler ve terapötik müdahaleler gibi eksojen faktörler de ŞM konsantrasyonunu etkilemektedir (17).

Postprandiyal dönemin bir ile üç saatlik döneminde oksidatif stres, mononükleer hücreler ve polimorfonükleer lökositler tarafından reaktif oksijen türlerinin üretilmesinde

artış görülebilir. Bu metabolik değişikliğe cevap olarak insülin direnci, inflamasyon, vasküler patolojiler gibi olumsuz sonuçlar meydana gelebilir. Aşırı miktarda yağlı besin tüketimi, çeşitli inflamatuvar yolların aktivasyonunu içeren lipotoksik bir duruma neden olabilir. Yüksek yağlı bir öğün tüketiminden bir saat sonra, inflamasyonun ana düzenleyicisi olan nükleer faktör-kappa B, hücre yüzeyi reseptörlerinin aktivasyonu nedeniyle serbest yağ asitleri tarafından aktive olur. Bu durum, interlökin-6, tümör nekrozis faktör α ve interlökin-8 gibi pro-inflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunun artmasına neden olur (2, 9).

Aşırı yağlı beslenme yani postprandiyal lipemi yukarıda da değinildiği üzere birçok patolojik duruma yol açmakla birlikte hipertrigliserideminin seviyesi ve etkileri yönünden birçok faktöre bağlı olarak kişiler arası farklılıklar göstermektedir. Postprandiyal lipemiye etki eden faktörler arasında diyetle alınan yağların miktar ve türünün yanı sıra, kolesterol, karbohidrat, protein, lifler vb diğer besin bileşenleri de yer almaktadır. Ayrıca fiziksel aktivite, sigara kullanımı, alkol tüketimi gibi yaşam tarzı koşulları, yaş, cinsiyet, menopoz gibi fizyolojik durumlar, patolojik ve genetik faktörler de postprandiyal lipemiye etkilemektedir (19).

2.1.1. Postprandiyal Lipemiye Etki Eden Faktörler

Postprandiyal plazma TG seviyelerini öncelikle diyetle alınan yağların miktarı etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda 5-15 g gibi az miktarda yağ içeren test yemekleri tüketildiğinde, postprandiyal plazma TG seviyelerinin önemli ölçüde etkilenmediği; orta düzeyde tüketilen yağların (30-50 g) doza bağlı olarak postprandiyal TG seviyelerini arttırdığı gözlenmektedir. Çok yüksek dozlarda (80 g ve üstü) alınan besinsel yağların ise yüksek postprandiyal TG cevaba sebep olduğu ancak bu artışın doza bağımlı olmadığı belirtilmektedir. Öte yandan, yağ içeren ardışık öğünlerin (günlük iki veya üç öğün) lipemiye arttırdığı görülmektedir. İnsanların yemeklerinde tükettikleri yağ miktarı 20 ile 40 g arasında değişmektedir. Günlük iki ya da üç ana öğünde bu miktarların alındığı düşünüldüğünde TG seviyeleri günün büyük bir bölümünde yüksek seviyelerde seyretmektedir. Bundan dolayı yüksek miktarda besinsel yağ tüketimi postprandiyal lipeminin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (19).

Postprandiyal lipemi sadece diyetle alınan yağ miktarı değil, aynı zamanda bu besinlerin içerdiği yağların bileşimi, doymuş, doymamış yağ asidi içermesi ve yağ asidi zincir uzunluğu gibi faktörlerin de etkili olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmektedir.

Doymuş yağ asidi yönünden zengin beslenme doymamış olana göre postprandiya lipemiyi daha fazla arttırmaktadır (20, 21). Kısa ve orta zincirli yağ asitleri ŞM yapısına girmeyip portal dolaşıma katıldığı için postprandiya lipemiye etkisi sınırlıdır (19). Sağlıklı bireylerle yapılan bir çalışmada, bir öğünde 0, 140, 280 ve 710 mg kolesterol ihtiva eden 45 g yağ içerikli test yemeği tüketildiğinde 280 ve 710 mg kolesterol içeren öğünün plazmada trigliseridce zengin lipoprotein seviyelerini daha fazla arttırdığı gösterilmiştir (22).

Yapılan çalışmalara göre OTTT öğününe eklenen glukoz sağlıklı kişilerin postprandiya TG cevabını değiştirmezken, glukoz yerine fruktoz ve sukroz kullanıldığında TG cevabı anlamlı düzeyde artmıştır (23, 24). Diğer bir çalışmada insülin direnci olan kişilerde, glisemik indeksi yüksek öğünlerin tüketilmesi ile Apo B48 ve Apo B100 içeren lipoproteinlerin seviyelerinde artış görülmüştür (25).

Yağlı öğün tüketimine göre daha az yağlı ve proteince zengin kırmızı et tüketiminin ŞM seviyelerini azalttığı tespit edilmiştir (26). Ayrıca Tip 2 diyabetlilerde yağlı test öğünlerine eklenen peynir altı suyunun daha az ŞM oluşumuna sebep olduğu, dolayısıyla postprandiya TG cevabın daha düşük seviyelerde olduğu görülmüştür (27).

Lifli besinlerin tüketilmesinin ve OTTT öğününe eklenmesinin dolaşımda ŞM seviyelerini azalttığı dolayısıyla postprandiya TG cevabı da azalttığı gösterilmiştir (28, 29).

Yağlı öğünlerin fazla tüketilmesiyle birlikte artan postprandiya TG seviyelerinin, yoğun fiziksel aktivite ve fazla enerji tüketilmesiyle birlikte azaltılabildiği gösterilmiştir. Özellikle sürekli egzersiz yapan kişilerde trigliserid yönünden zengin lipoproteinlerin seviyelerinde azalma görüldüğü tespit edilmiştir (30). Sigara kullanımının ise tam tersi etkisi olduğu bildirilmektedir. Sigara kullanan kişilerde kullanmayanlara göre dolaşımdaki şilomikron seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (31).

Yaş ve cinsiyet gibi fizyolojik faktörlerin de postprandiya TG seviyelerini etkilediği gösterilmiştir (19, 32). İnsanlarda ilerleyen yaşa bağlı olarak lipoprotein lipaz aktivitesinde azalma olduğu için postprandiya lipemi seviyelerinde artış görülmektedir (33). Menopoz sonrası kadınlarda postprandiya TG seviyelerinin arttığı da gösterilmiştir (34). OTTT sonrası postprandiya TG seviyelerinin erkeklerde bayanlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (32).

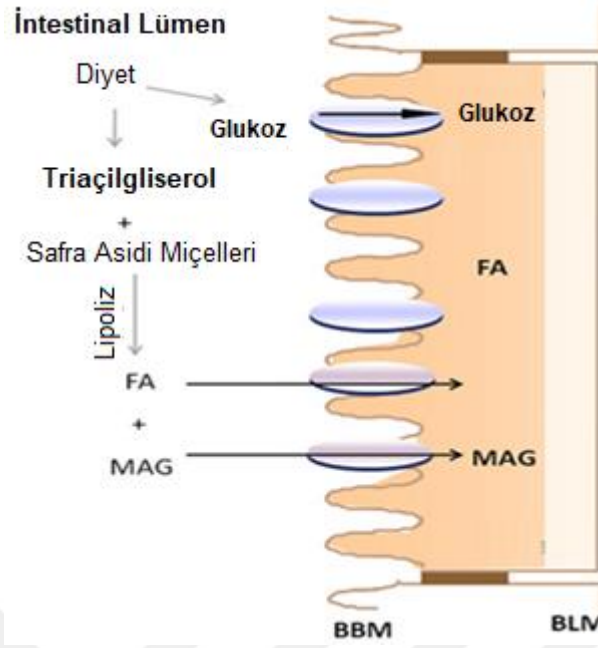
Özellikle obezite ve tip 2 diyabet gibi patolojik faktörler postprandial lipemik cevaba olumsuz yönde etki etmektedir. Abdominal obezite ile birlikte karaciğerde serbest yağ asidi miktarı artmakta, buna bağlı olarak hepatik TG sentezinde de artış görülmektedir (35).

Tip 2 diyabetli kişilerde yüksek TG ve düşük HDL-K seviyeleri görülmektedir. İnce bağırsak ve karaciğerde sentezlenen lipoproteinler bu kişilerde yüksek seviyelerde tespit edilmiştir. Ayrıca bu bireylerde artmış postprandiyal TG cevabı görülmektedir (36). Artan postprandiyal TG seviyesi hem kolesterol ester transfer protein (CETP) aktivasyonunu, hem de yüksek miktarda Apo B içeren lipoproteinlere kolesterol esterlerinin geçişini artırır. Buna bağlı olarak HDL'ye TG geçişi artar. Uzamış VLDL ve ŞM katabolizması, HDL miktarını azaltır. Düşük HDL düzeyleri ile yüksek TG düzeyleri arasındaki ilişki, aterosklerotik olaylarda postprandiyal dönemin önemini ortaya koymaktadır (37).

2.2. Postprandiyal Lipid Metabolizması

2.2.1. Yağların Sindirimi

Besinsel yağların en önemli lipid bileşeni triaçilgliseroldür. İnsanlar tarafından günde ortalama 20 ile 70 g arasında veya daha aşırı miktarda tüketilebilmektedir (38). Yağlı bir yemek sonrasında diyetle alınan TG'ler bağırsak lümeninde iki aşamada serbest yağ asitlerine ve MAG'lere hidrolizlenir. İlk olarak, sulu bir ortamda hemen hemen çözünmeyen TG'ler, ağızda fiziksel olarak parçalandıktan sonra midede lingual ve gastrik lipazın etkisiyle sindirim başlar. Duodenum ve jejunumda safra asidi vasıtasıyla miçel oluştururlar. Bu miçel yapısındaki TG moleküllerindeki yağ asitlerinde bulunan ve polar olmayan metil grupları, iç tarafa doğru yönelir. Böylece partiküller küçülür ve kümeleşmezler. İkinci aşamada, miçeller ince barsak hareketleri vasıtasıyla ilerler. TG molekülleri MAG ve yağ asitlerini vermek üzere çeşitli lipazlar/kolipazlar tarafından hidrolizlenir. Diyetle alınan TG'nin hidrolizi, midede lingual ve gastrik lipazların etkisiyle meydana gelir. Duodenum ve jejunumda pankreatik trigliserit lipaz ile ilişkili protein 2 ve karboksil ester lipaz içeren birkaç pankreatik trigliserit lipaz ile tamamlanır. Pankreatik lipaz enzimi ile TG molekülleri yağ asitleri ve MAG yapısına parçalanmış olur (Şekil 1) (39).



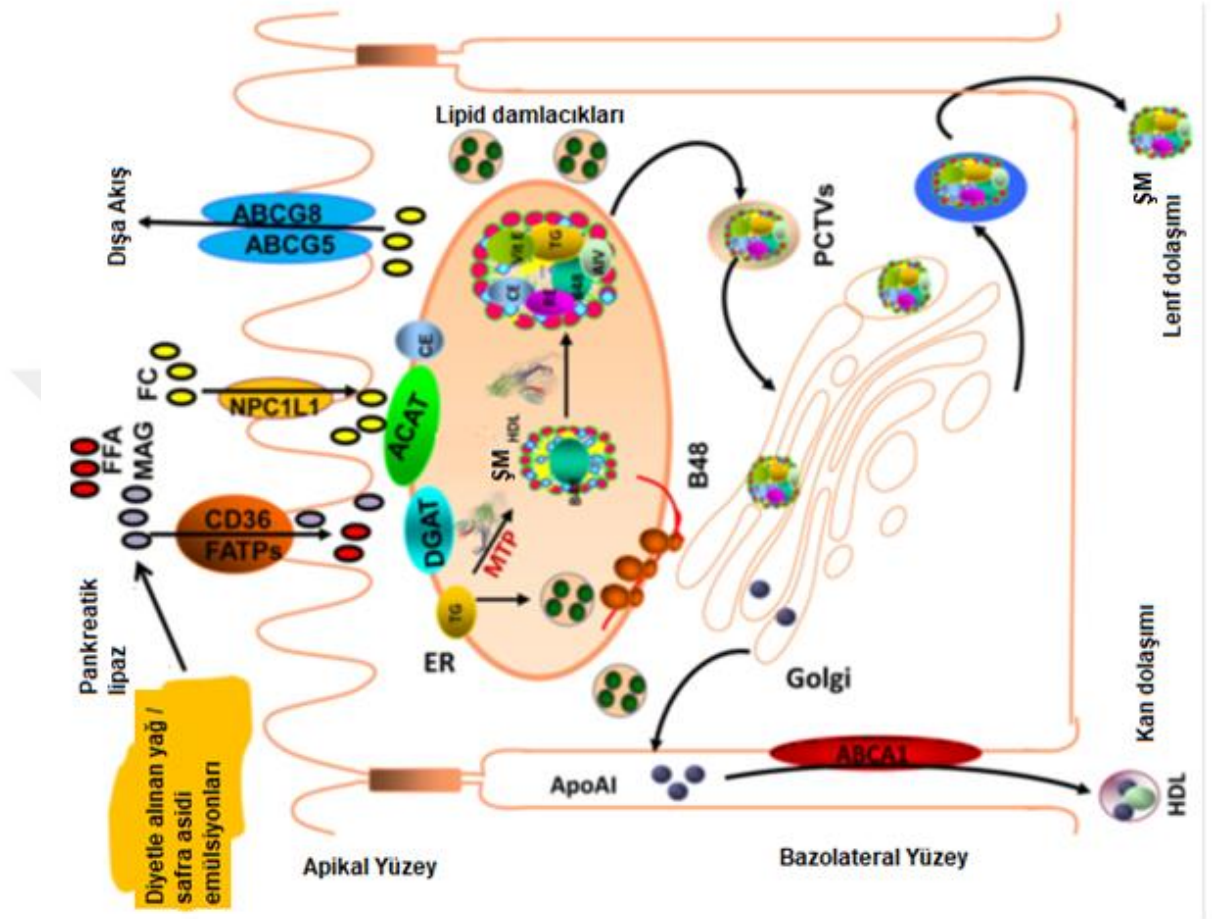
Şekil 1. Diyetle alınan yağların sindirimi (Pan'dan, 39)

2.2.2. Enterositlere Monoaçilgliserol ve Yağ Asitlerin Alınması

Serbest yağ asitlerinin ince bağırsaktan kısa zincirli olanları pasif difüzyon ile orta ve uzun zincirli olanları ise spesifik taşıyıcılar vasıtasıyla aktif geçişi sağlanmaktadır. Yağ asidi taşıyıcısı olan yağ asidi farklılaşma kümesi 36 (CD36), ince bağırsağın proksimal kısmında eksprese edilir ve bağırsak hücrelerinin yağ asidi alımında önemli bir rol oynar. Plazma membranı yağ asidi bağlayıcı protein (FABPpm), yağ asidi transport protein 4 (FATP4) ve yağ asit translokaz (FAT / CD36) gibi farklı proteinler de bağırsakta yağ asitlerinin taşınmasını kolaylaştırır. Daha sonra yağ asitleri ve MAG ince bağırsak epitelinin apikal yüzeyinden enterositlere alınıp sitozolik yağ asidi bağlayıcı proteinler (L-FABP ve I-FABP) tarafından ER'ye transfer edilir ve ER'de tekrar TG'lere dönüştürülür. ŞM yapısına MTTP vasıtasıyla Apo B48 üzerinden TG eklenir ve böylelikle oluşan olgun şilomikronlar bağırsak üzerinden lenf dolaşımına katılır.

Diyetle alınan serbest kolesterolün enterositlere girişi ise NPC1L1 proteini vasıtasıyla gerçekleşir. Serbest kolesterol enterosit içinden ABCG5/G8 ile bağırsak lümenlerine geri gönderilebilir veya açil CoA kolesterol ACAT1 ve ACAT2 ile kolesterol esterlerine dönüştürülebilir. Kolesterol bağırsak epitel hücreleri boyunca iki yolla taşınır. İlk yol ŞM yolağı ile aynıdır ve MTTP vasıtasıyla kolesterol ŞM yapısına katılır. Apo B'den bağımsız ikinci yolda ise kolesterol, ABCA1 üzerinden Apo A1 tarafından HDL'nin

yapısına aktarılır. Bu yol Apo A1'in kolesterol taşınmasındaki önemini göstermektedir (Şekil 2) (39-41).



Şekil 2. İntestinal lipid absorpsiyonu (Hussain'den, 41).

2.3. Şilomikron Lipoprotein Yapısı ve Sentezi

2.3.1. Şilomikronun Yapısı

Şilomikronlar, enterositlerde sentezlenen, diyetle alınan trigliseridlerin ve kolesterolün periferik dokulara ve karaciğere taşınmasında rol alan, trigliserid bakımından zengin büyük partiküllerdir (40). ŞM'ler, 75 ile 450 nm çapında, heterojen yapıda, plazma lipoproteinlerinin en büyük olanıdır (41). Yoğunlukları 0.93 g/mL'dir. Kuru ağırlık yüzdesi olarak ŞM partikülünün %85-92'si TG, %6-12'si fosfolipid, %1-3'ü kolesterol ve %1-2'si proteinlerden oluşmaktadır (42). ŞM yüzeyi tek tabaka fosfolipid ile çevrilidir ve yüzeyinde serbest kolesterol içerir. Yüzeyinde Apo B48 adı verilen integral proteinin

yanısına Apo A1, Apo AIV ve Apo C gibi apolipoproteinler de bulunur. Partikülün merkezi ise TG ve kolesterol esterleri bakımından zengindir (41).

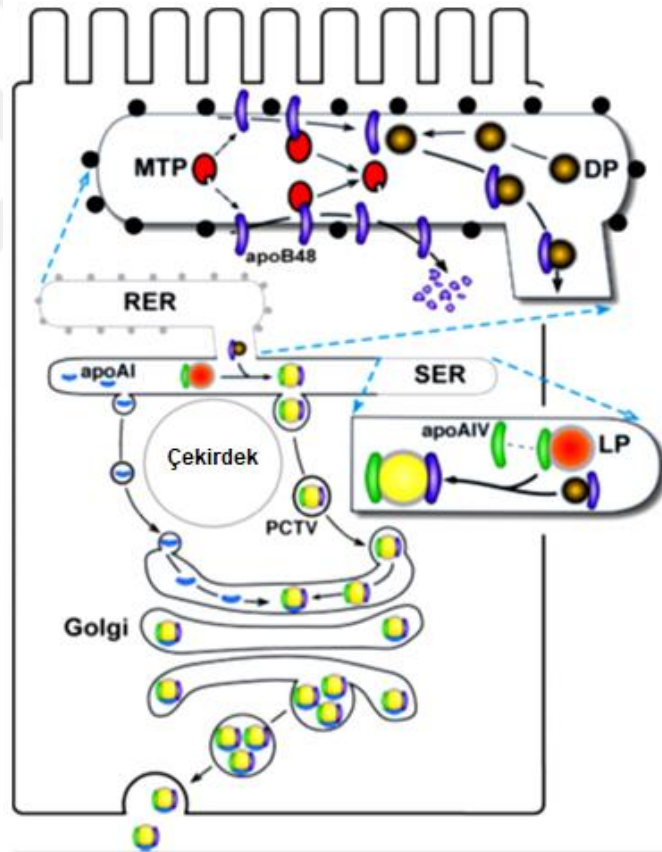
2.3.2. Şilomikron Sentezi ve Dolaşımı

Diyetle alınan TG'lerin sindirim ve emilim aşamaları gerçekleştiikten sonra açığa çıkan kısa ve orta zincirli yağ asitleri ince bağırsak hücrelerinden direkt olarak portal dolaşıma salınır ve albümine bağlanarak karaciğere taşınır. Uzun zincirli yağ asitleri ise ince bağırsak hücrelerinde yeniden TG'lere dönüştürülür. Bu TG'ler enterositlerin ER'sinde MTTP vasıtasıyla Apo B48, fosfolipid ve esterleşmemiş kolesterolün oluşturduğu ince bir tabaka tarafından çevrelenerek primordial şilomikronu oluşturur(26). Primordial ŞM'yi oluşturan ilk kısım, Apo B48, fosfolipidler, kolesterol ve az miktarda TG ve kolesterol esteridir. Salgılanan parçacıkların boyutunun heterojenliği, yağ emilim oranına, emilen yağın cinsine ve miktarına bağlıdır (43, 44).

Endoplazmik retikulum lümeninde primordial şilomikronun yapısına Apo AIV'ünde eklenmesi ve MTTP vasıtasıyla Apo B48 üzerinden daha fazla TG'nin yapıya katılmasıyla partikülün çekirdek kısmı genişler ve preşilomikron (PC) yapısına dönüşür. PC'nin TG'ce zenginleşmesi ve yapıya fosfolipid-kolesterol tabakası ile Apo AIV'ün eklenmesiyle, yapı kararlı hale gelmiş olur. ER lümeninde oluşan bu yapı golgiye gönderilmeye hazır hale gelir. PC'nin ER lümenindeki biyosentezi gerçekleştiikten sonra PC, ortalama çapı yaklaşık 250 nm olan PC transport vezikülleri (PCTV) halinde paketlenir. PC transport vezikülleri oluşan PC'yi ER lümeninden cis-golgiye transfer eder. Sitozolik L-FABP bu vezikülü cis-golgiye iletir. Vezikül ilişkili membran protein 7 (VAMP7) ve CD36 proteinleri PCTV'lerin golgiye doğru bir şekilde yönlendirilmesini yaparlar. Böylece vezikül membran ile uygun bir şekilde birleşir (Şekil 3) (43, 45). Golgiye L-FABP vasıtasıyla taşınan PCTV'nin golgi ile birleşmesini sağlayan vezikül ilişkili V-soluble N-ethylmaleimide duyarlı faktör bağı protein reseptör (SNARE) proteindir. Bu proteinin özelliği PCTV'nin yönlendirilmesi ve golgi ile birleşmesini sağlamaktır. Golgi ile birleşen bu vezikül taşıdığı PC'yi golgi lümenine bırakır (43, 46).

Preşilomikron transport vezikülünden farklı olarak ER'de ikinci bir vezikül tomurcuklanır. Kaplama protein kompleksi II'nin (COP II) görevi Apo A1'i golgi lümenine taşımaktır. Bu vezikülün boyutları yaklaşık 55 ile 70 nm arasında değişmektedir (43).

Sentezlenen TG'ler golgi kompleksinde diğer hücrelere taşınmak üzere şilomikron adı verilen lipoprotein yapısına paketlenir. Olgunlaşmamış ŞM lenf yoluyla plazmaya taşınır ve plazmada HDL'den Apo C ve Apo E apolipoproteinlerini alarak olgun ŞM'ye dönüşür. Apo CII lipoprotein lipazı (LPL) aktive eder. Olgun ŞM dolaşıma girdikten sonra TG'yi endotel hücrelerinin yüzeyinde, özellikle adipoz ve kas dokusunda MAG ve yağ asitlerine hidrolize etmek için LPL ile etkileşime girer. Bu hidrolitik ürünler, ya albümine bağlanır ya da hızlı bir şekilde oksidasyon için kas veya depolama için yağ dokusu tarafından alınır. Daha sonra, Apo A ve Apo CII apolipoproteinlerinin HDL'ye aktarımı sonucu şilomikron remnantı oluşur. Karaciğere gelen şilomikron remnantları endositozla hücre içine alınarak lizozomlarda yıkılır (2).



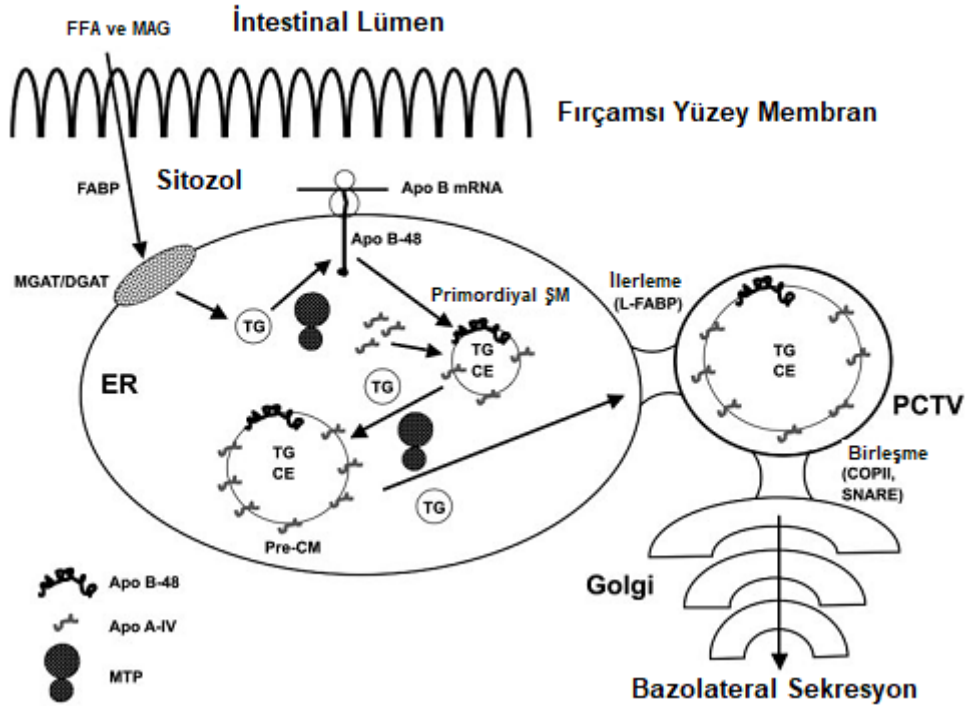
Şekil 3. Şilomikronun sentezlenmesi ve salgılanması (Mansbach'dan, 45). RER: Granüllü Endoplazmik Retikulum, SER: Düz Endoplazmik Retikulum, DP: Yoğun Partikül, LP: Hafif Partikül.

2.4. Şilomikronun Sentezinde ve Fonksiyonunda Görev Alan Bazı Proteinler

2.4.1. Apolipoprotein B48

Karaciğer ve ince bağırsakta sentezlenen Apo B, TG bakımından zengin lipoproteinlerin sentezinde görev yapan yapısal proteindir. Dokuya özgü olarak Apo B100 ve Apo B48 olmak üzere iki farklı şekilde sentezlenir. Şilomikronlarda bulunan Apo B48, Apo B100'ün N-terminalinin %48'inin translasyona uğradığı apolipoproteindir. Karaciğerde Apo B100 mRNA'sı posttranskripsiyonel düzenlenmeye uğramadığından bu apoprotein %100'ü translasyona uğrar. UAA stop kodonu tarafından Apo B mRNA'sının 6666 nükleotidinde ve 2153. amino asidin CAA kodundaki sitozin bazı urasil bazı ile yer değiştirir ve böylece Apo B48 lipoproteini oluşur. Yetişkin insan ve ratların bağırsaklarında sentezlenen tek apo B şeklidir (39). Apolipoprotein B100 iki β -tabakası ve üç α -heliks yapısındaki iken Apo B48 iki α -heliks ve bir β -tabakası yapısındadır (45).

Apolipoprotein B48'in translasyonu tamamlandıktan sonra MTTP'ye bağlanır. MTTP vasıtasıyla Apo B48 üzerinden fosfolipid, kolesterol esterleri ve TG bir araya gelerek primordial şilomikron oluşur. Yine MTTP vasıtasıyla Apo B48 üzerinden daha fazla TG partikül yapısına katılarak preşilomikron kararlı yapısı oluşur (Şekil 4) (43, 47).



Şekil 4. Şilomikronun hücre içi sentez basamakları (Black'den, 43).

2.4.2. Mikrozomal Triglisericid Transfer Protein

Mikrozomal triglisericid transfer proteini 1984 yılında ilk olarak Wetterau ve Zilversmit tarafından tanımlanmıştır (48). Heterodimer yapıdaki MTTP, M alt birimi 97 kDa'luk ve P alt birimi ise 55 kDa'luk olup ER lümeninde bulunur. Büyük alt birim olan M alt birimi, karaciğerde ve ince bağırsakta ER membranına lipid transferinde görevlidir. P küçük alt birimi ise protein disülfid izomeraz (PDI)'dır (49). MTTP proteini karaciğer ve ince bağırsak dışında plasenta, kalp, böbrek, pankreas, testis ve yumurtalıklarda da düşük seviyelerde bulunmaktadır (50).

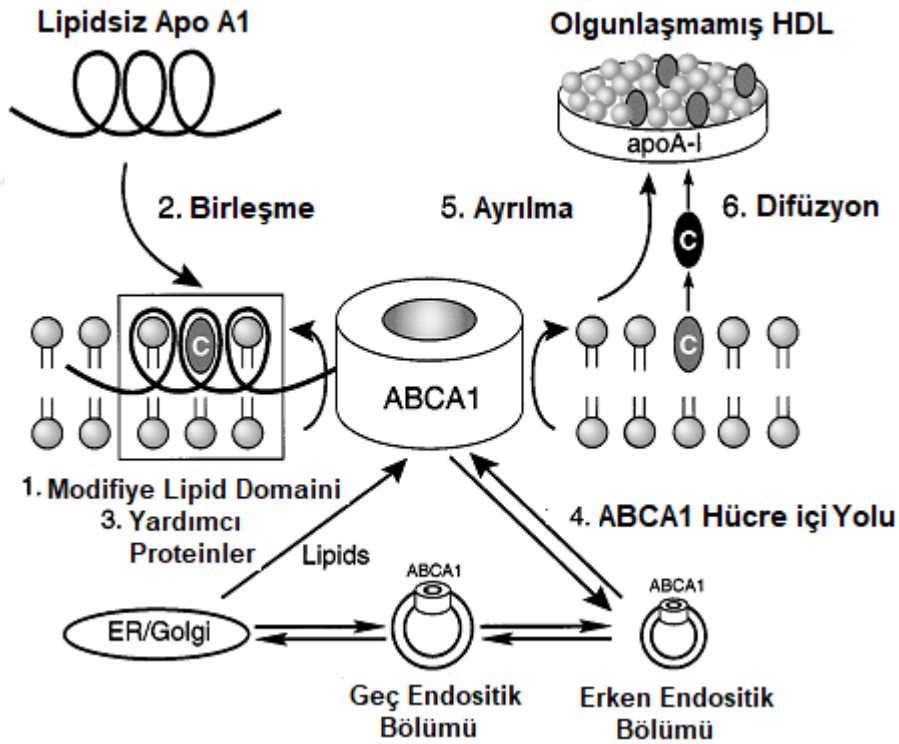
Mikrozomal triglisericid transfer protein, lipidlerin lipoprotein partiküllerine transferine yardımcı olur ve Apo B'nin uygun olmayan konformasyonlarda katlanmasını ve proteozomlar tarafından yıkıma uğramasını engeller. Bu sayede Apo B içeren lipoproteinlerin sentezlenmesine yardımcı olur (51). ER'de bulunan MTTP, TG, kolesterol esterleri ve fosfolipidlerin taşınmasına yardımcı olur (52). Heterodimer yapıdaki MTTP, hepatositlerde Apo B100 ve enterositlerde Apo B48 vasıtasıyla lipoproteinlerin yapısına TG, kolesterol esterler ve fosfolipidleri eklemektedir. Eğer MTTP aracılığıyla lipid transferi azalır veya durursa, Apo B48 degrades olur. Buna bağlı olarak enterositlerde şilomikron sentezlenemez. MTTP'nin, Apo B'nin parçalanmasını ve uygun olmayan konformasyonlarda katlanmasını engellenmede başlıca rol oynadığı görülmektedir. Lipoprotein yapısının oluşumunda başlıca rolü olan bu proteinin düzenlenmesini kontrol eden mekanizmaların belirlenmesi de önemlidir. Özellikle bağırsak ve karaciğerde sentezlenen MTTP'nin, çeşitli transkripsiyon faktörleri ile düzenlendiği bilinmektedir. Bu mekanizmanın aydınlatılması için MTTP ilişkili miRNA'lar üzerinde son yıllarda yapılan araştırmalar artarak devam etmektedir (51).

2.5. Kolesterolün HDL'ye ATP Bağlayıcı Kaset Taşıyıcı A1 Proteini ile Taşınması

ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı A1 proteini, enerji kaynağı olarak ATP'yi kullanarak lipid transportunu sağlayan integral membran proteindir. On iki üyesi olan ABC süper ailesinden biri olup 2261 amino asit ve 50 ekzondan oluşan her biri altı heliksli iki transmembran bölgesi ve iki korunmuş peptid motifi olan bir nükleotid bağlama bölgesine sahiptir (53).

ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı A1 proteininin, karaciğer ve bağırsak hücrelerinde bazolateral membrana yerleşik olarak bulunduğu belirlenmiştir (54). En önemli görevi, kolesterolün Apo A1 vasıtasıyla HDL'ye transfer edilmesine aracılık etmesidir. Bu

nedenle ABCA1, HDL biyogenezinin önemli bir düzenleyicisi olup hücrel kolesterol akışında önemli rol oynar (55). ABCA1 proteininin kolesterolü HDL partikülüne aktarma mekanizması iki modelle açıklanmaya çalışılmıştır. İlk modele göre hücre içi kolesterol ve fosfolipitlerin taşıyıcı vezikül vasıtasıyla golgi aygıtından plazma membranında bulunan ABCA1'e taşınmasıdır. Bu yol üzerinden kolesterol Apo A1 vasıtasıyla HDL'ye transfer edilir (56). İkinci mekanizma kalsiyum bağlı endositoz modelidir. ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı A1 proteinindeki endositik bölmelerde lipid domaini yer almaktadır. Bu domain sayesinde kolesterolün membran çift tabakası boyunca ABCA1 aracılığıyla translokasyonu sağlanır. ABCA1 üzerinden Apo A1 bu membran lipidleriyle etkileşime girer ve kolesterolün HDL'ye aktarımı gerçekleşir. Böylece Apo A1 üzerinden HDL partikülüne hücre içi kolesterol bu yolla aktarılmış olur (Şekil 5). Her iki mekanizmada fazla kolesterolün hücre içinden hızlı ve etkili bir şekilde uzaklaştırılması sağlanır (57).



Şekil 5. ABCA1 transport mekanizması (Santamarina-Fojo'den, 57)

ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı A1 proteinin mRNA'sı transkripsiyonel olarak düzenlenmektedir. Son yıllarda ABCA1 gen ekspresyonunu düzenleyen miRNA'ların rolleri literatüre sunulmaktadır. Özellikle miRNA-33a'nın ABCA1 ekspresyonunu düzenleyerek kolesterolün hücre dışına taşınmasında etkili rol oynadığı tespit edilmiştir (12, 58).

2.6. MikroRNA

Watson ve Crick tarafından DNA'nın yapısının keşfedilmesinden bu yana geçen zamanda moleküler biyoloji alanında hızlı ilerlemeler gerçekleşmiştir. Yapılan araştırmalar büyük ölçüde DNA dizisinin aydınlatılmasına ve bu DNA dizisi tarafından kodlanan proteinlerin tanımlanmasına odaklanmıştır. DNA'nın büyük bir kısmı RNA'ya kopyalanmasına rağmen, genomdaki yaklaşık %2'lik bir miktar fonksiyonel proteinler sentezlemek için kullanılmaktadır (59). Yakın zamana kadar genomun geriye kalan kısmının daha az önemli olduğu düşünülmekteyken, protein kodlamayan küçük RNA'ların, gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenlenmesinde önemli rol oynaması bu görüşü ortadan kaldırmıştır (10).

MikroRNA, gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan, yaklaşık 20-23 nükleotid uzunluğunda, tek iplikçikli endojen RNA molekülüdür. MiRNA'lar hem fizyolojik hem de patolojik süreçleri kontrol eden gen ifadesinin önemli düzenleyicileridir ve birçok hücrel yolak, miRNA'ların düzenleyici işlevinden etkilenmektedir (11, 60).

MikroRNA'ların insan genomunun yaklaşık %3'ünü oluşturduğu belirtilmektedir (10). MiRNA'ları şifreleyen genomik dizilerin birçok canlı türünde korunduğu belirtilmektedir (59). Ayrıca miRNA'ların omurgalılarda mRNA'ların yaklaşık %50'sinin düzenlediği tahmin edilmektedir (11).

2.6.1. MikroRNA'nın Tarihçesi

1993 yılında Lee ve ark. Ambros ve Ruvkun laboratuvarlarında nematod grubundan bir solucan olan *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) üzerinde yaptıkları çalışma sırasında Lin-4 adı verdikleri ilk miRNA'yı keşfetmişlerdir (61). Bu organizmalarda, ilk larva safhası olan L1'den L2'ye geçiş için Lin-14 proteininin regülasyonunun Lin-4 tarafından düzenlendiği belirlenmiştir. Reinhart ve ark. 2000 yılında *C. elegans*'da, Let-7 olarak adlandırdıkları 22 nükleotid uzunluğunda bir miRNA daha keşfetmişlerdir. Let-7'nin

biyolojik fonksiyonundan dolayı insan ve bazı türlerde korunduklarını gözlemlemişlerdir (10, 59).

Mart 2019'da yayımlanan miRNA veritabanına göre insanda 1917 adet miRNA belirlenmiştir ve bu sayının her geçen gün artacağı görülmektedir (62).

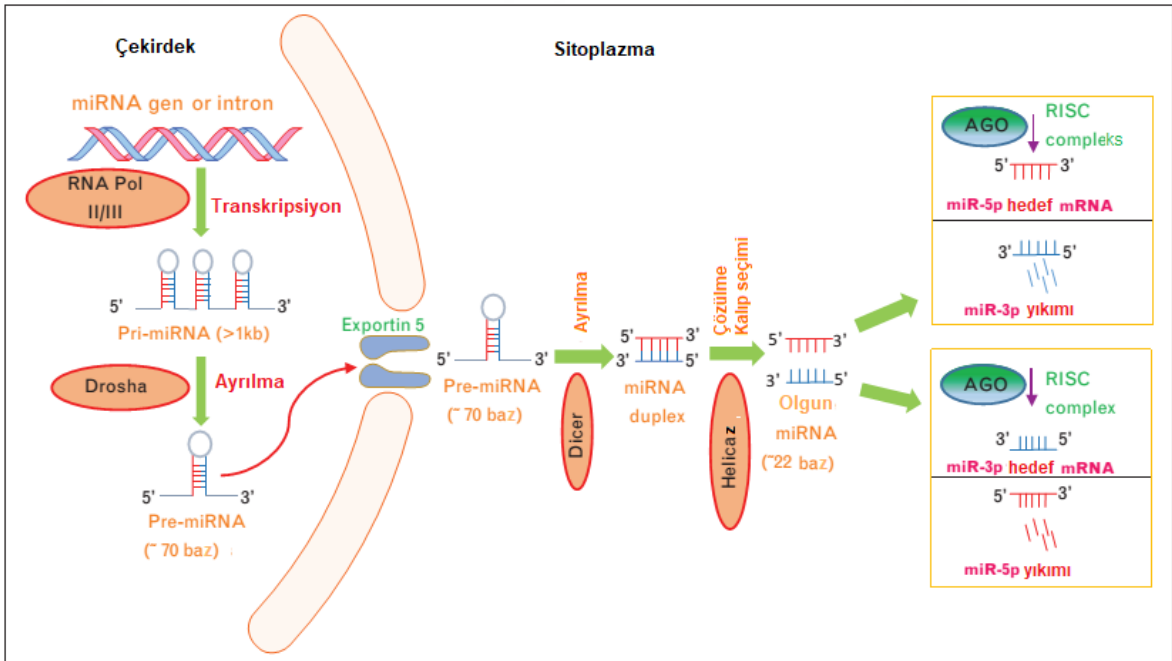
2.6.2. MikroRNA Biyogenezi

MikroRNA'lar, gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynayan, protein kodlamayan bir RNA sınıfıdır ve omurgalılarda tüm mRNA'ların yaklaşık %50'sini düzenlediği tahmin edilmektedir. MiRNA'ların çoğu, DNA dizilerinden birincil miRNA'lara kopyalanır daha sonra öncü miRNA'lara ve son olarak olgun miRNA olacak şekilde işlenir. Çoğu durumda miRNA'lar, mRNA'nın yıkımını veya translasyonel baskılamasını tetiklemek için hedef mRNA'ların 3'çevrilmemiş bölgesi (3'UTR) ile etkileşime girer. Belirli koşullar altında, miRNA'lar translasyonu aktifleştirebilir veya transkripsiyonu düzenleyebilmektedir. MiRNA'lar hedef genleriyle sürekli etkileşim içindedir. Hücre içi yerleşimleri miRNA-mRNA etkileşimlerinin afinitesi gibi birçok faktöre bağlıdır. Ayrıca hücre dışı sıvılara salgılanabilir ve hedef hücrelere, eksozom gibi veziküller yoluyla veya Argonaute gibi proteinlere bağlanma yoluyla taşınabilir (63).

MikroRNA biyogenezi, RNA polimeraz II/III transkriptlerinin posttranskripsiyonel olarak işlenmesiyle başlar. Hali hazırda tanımlanmış tüm miRNA'ların yaklaşık yarısı intrageniktir ve çoğunlukla intronlardan nispeten az sayıda protein kodlayan gen ekzonundan işlenirken, diğer yarısı intergeniktir. Bir konakçı geninden bağımsız olarak kopyalanır ve kendi promotörleri tarafından düzenlenir. Bazen miRNA'lar, benzer bölgelerine sahip olabilecek uzun bir transkript olarak da kopyalanır (64).

MikroRNA'lar, saç tokası formundaki genomik dizilerde transkripte olurlar ve bu diziler Dicer ve Drosha enzimleri tarafından tanınırlar. MiRNA'ların oluşum süreci 3 adımda gerçekleşmektedir ve RNA polimeraz II tarafından çekirdekte transkripsiyonu meydana gelir. İlk adımda nükleus içerisindeki miRNA genlerinden primer miRNA (pri-miRNA)'ların transkripsiyonu ve sap-İlmik yapısında primer transkript oluşur. Primer miRNA'ların 5'cap ve 3'poly A kuyrukları vardır. İkinci adımda yine nükleus içinde yer alan Drosha ve kofaktörü Di George Syndrome Critical Region 8 (DGCR8) pri-miRNA'yı belirli bölgelerden keserek 70 nükleotitlik pre-miRNA oluşturulur. Nükleaz olan Drosha ve çift iplikli RNA bağlayan bir protein olan Pasha bir kompleks oluştururlar. Pre-miRNA, Exportin 5 ve RAN-GTP vasıtasıyla sitoplazmaya taşınır. Pre-miRNA'lar sitoplazmada

Dicer tarafından kesilerek olgun çift zincirli miRNA oluşur. Öncelikle pre-miRNA'nın sap ilmek yapısı Dicer tarafından kesilir. Daha sonra RISC kompleksinde bulunan Argonaute 2 (Ago2) proteini, daha kararlı olan miRNA'yı seçerek RISC kompleksine dahil eder. Olgun miRNA'nın sap ilmek yapısı kökenine göre miRNA-5p veya miRNA-3p olarak adlandırılır. Bu olgun miRNA yapısı RISC molekülüne dahil olması kompleks yapıyı komplementer olduğu mRNA'ya yönlendirir ve mRNA'nın işlevini ya translasyonu inhibe ederek ya da mRNA'nın yıkımını kolaylaştırarak inhibe eder. Ayrıca miRNA'nın çekirdek olarak da adlandırılan ve 5' ucunda bulunan 2-7 nükleotid, ilgili hedefle eşleşmesi açısından son derece önemlidir (Şekil 6) (11, 52, 65).

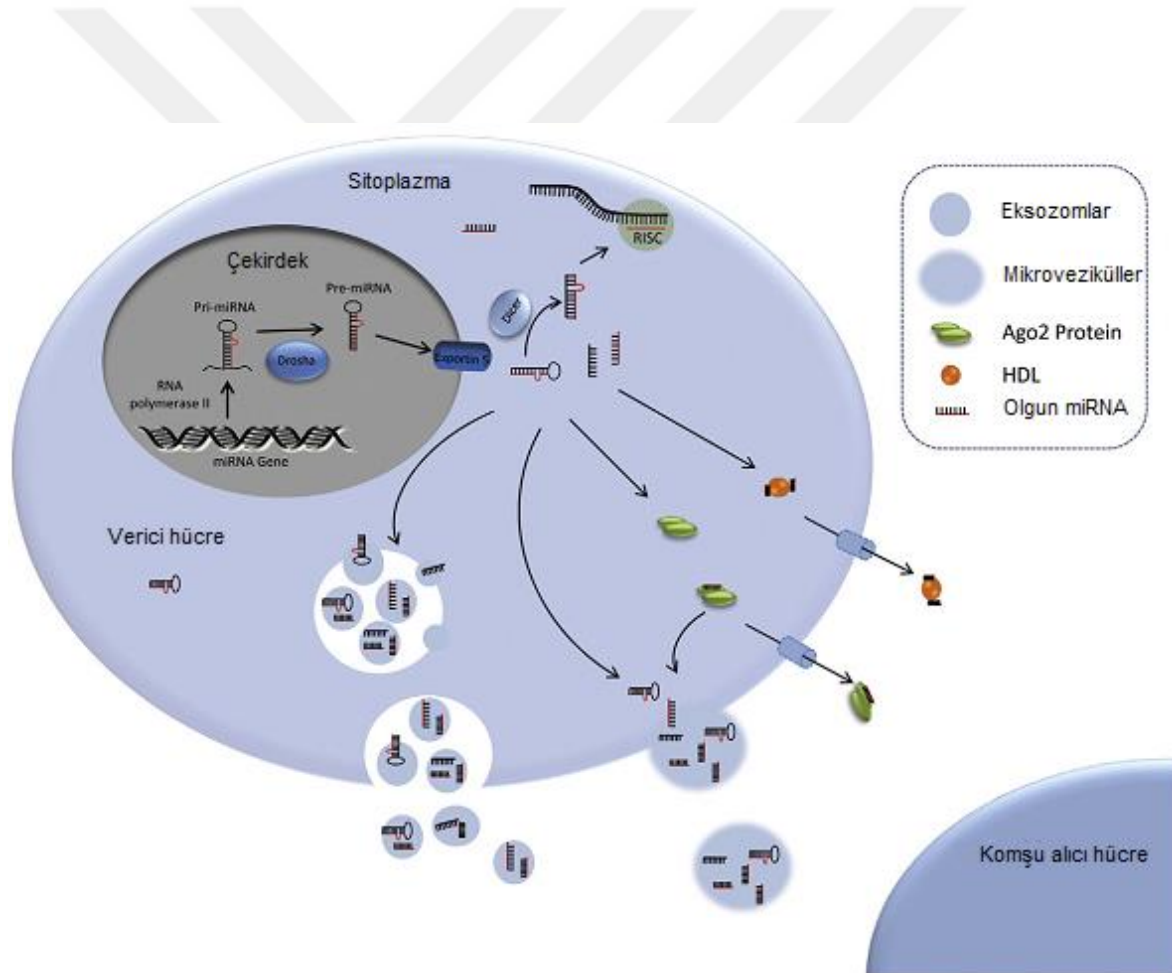


Şekil 6. MikroRNA biyogenezi (Irani'den, 52).

2.6.3. Dolaşımında Yer Alan MikroRNA'lar

MikroRNA'ların çoğu, hücre ortamında tespit edilirken, şaşırtıcı şekilde farklı biyolojik sıvılarda da tespit edilmiştir. Son çalışmalar, miRNA'ların hücreler ve dokular arasında taşınabildiği ve sadece serum ya da plazmada değil, aynı zamanda tükürük, gözyaşı, idrar, anne sütü, kolostrum, periton sıvısı, beyin omurilik sıvısı, bronşiyal lavaj, seminal sıvı ve foliküler sıvı dahil olmak üzere farklı hücre dışı biyolojik sıvılarda bulunduğunu göstermiştir. Ekstraselüler miRNA'lar (ECmiRNA), hücre içi miRNA'ların ve hücre dışı ortamda birkaç saniye içinde parçalanan diğer RNA türlerinin aksine oldukça stabildir ve

olumsuz koşullar altında uzun süre parçalanmadan kalabilirler. RNAaz'lara karşı oldukça kararlı olmalarının dışında kaynama, yüksek veya düşük pH, uzun süreli saklama ve donma-çözülme döngüleri gibi sert koşullara maruz kalsalar bile kararlı bir yapıda kaldıkları belirtilmektedir. Her ne kadar çeşitli çalışmalar ECmiRNA'ların çeşitli biyolojik sıvılarda varlığını doğrulasa da, bu miRNA'ların hücre dışı ortamda serbest bırakılmasından sorumlu olan mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır. MiRNA'ların eksozom ve mikro veziküller vasıtasıyla hücre dışına salındığı yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Ayrıca, ECmiRNA'ların apoptotik cisimler, HDL ve AGO protein kompleksleri vasıtasıyla da hücre dışına salgılanabildiği gösterilmiştir (Şekil 7) (66).



Şekil 7. MikroRNA'ların hücre dışına salınma mekanizmaları (Sohel'den, 66).

Ekstraselüler miRNA'lar biyolojik sıvılarda kararlı bir yapıda buldukları için bu moleküller hastalıkların tanısı ve prognozunda önemli bir biyobelirteç olabilir. Bu miRNA'ların dolaşıma salınması, ilgili dokuyu hedeflemesi ve o dokuyu algılamasıyla ilgili mekanizmalar oldukça merak konusudur ve bu alandaki çalışmalara büyük bir ilgi vardır (66).

2.6.4. MikroRNA'ların Lipid Metabolizmasındaki Rolü

Obezite ve diyabet, tüm dünyada en önemli sağlık sorunlarından biri olmaya devam etmektedir. Bu hastalıkların beraberinde genellikle kardiyovasküler komplikasyonlar meydana gelmektedir. MiRNA'lar insanlarda en çok bulunan gen düzenleyicilerinden biridir. Obezite ve diyabet de dahil olmak üzere geniş bir yelpazedeki fizyolojik ve patolojik süreçlerle ilişkili olduğu belirtilmektedir (67). Son on yılda yapılan çalışmalar, lipoprotein metabolizmasını düzenleyen miRNA'ların metabolik sendrom, obezite ve ateroskleroz gibi hastalıklarda önemini ortaya koymuştur. MiRNA'ların son zamanlarda yapılan çalışmalar ile enerji metabolizmasının kontrolünde önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir. Ayrıca miRNA'lar TG ve kolesterol üzerine de etki gösterdikleri için lipid metabolizmasında önemli bir role sahiptir (12). MiRNA'ların işlev gördüğü hastalıklarda, miRNA antisense oligonükleotitleri (ASO) kullanılmaktadır. Böylece miRNA fonksiyonu baskılanmaktadır. Antisense oligonükleotitleri, miRNA hedeflerine baz dizilimi olarak benzerlik göstermektedir. Nükleik asit kilitleyicileri (LNA), anti-miRNA oligonükleotitleri (AMO) ve antagomirler etkileri ve dayanıklılıklarına göre adlandırılmaktadır (68, 69).

2.6.4.1. MikroRNA-30c Lipid Metabolizmasındaki Rolü

MikroRNA-30 ailesi, en erken tespit edilen miR ailelerinden biri olup farklı organizmalarda kısa RNA dizilimlerinde keşfedilmiştir. MikroRNA-30 ailesi, GUAAACA benzer dizisine sahiptir ve miRNA30 (a-e) olmak üzere beş üyeden oluşmaktadır. MikroRNA-30c, miRNA-30c-1 ve miRNA-30c-2 olmak üzere iki genden üretilir. İki genin varlığının nedeni tam olarak bilinmese de, muhtemelen dokuya özgü ekspresyon için daha fazla kolaylık sağlaması ve fizyolojik, patolojik ve çevresel değişikliklere daha iyi yanıt vermesi olabileceği düşünülmektedir (70).

Lipid metabolizması üzerinde önemli rolü olan miRNA-30c etkisini MTTP'nin mRNA'sının 3' translasyona uğramamış bölgesine bağlanarak göstermektedir (13). MTTP tarafından Apo B içeren lipoproteinlerin yapısına TG'lerin alınması sağlanır. MTTP

mRNA'sının bağlanma bölgesi miR-30c dizisi için yüksek oranda korunmuştur. Bu proteinin mRNA'sına miR-30c etki ederek onun yıkımını indüklediği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Özellikle miRNA-30c'nin, transkripsiyon sonrası MTTP'nin mRNA'sını yıkıma uğratarak MTTP'nin aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. Bu sebepten dolayı MTTP aktivitesinde ve Apo B salınımında azalma görülür (14). miRNA-30c'yi aşırı eksprese eden Western diyetle beslenen Apo E -/- farelerinde yapılan çalışma ile plazma kolesterolünde, açlık plazma trigliseridlerinde ve plazma apo B seviyelerinde önemli düşüşler gösterilmiştir. Üstelik miRNA-30c eksprese eden Apo E -/- farelerde aterosklerotik lezyonların daha az oldukları hatta bu lezyonların küçüldükleri görülmüştür. Bu çalışmalar miRNA-30c'nin lipoprotein üretimini, plazma lipitlerini ve lipit sentezini azalttığını göstermiştir. Böylece miRNA-30c koordineli olarak, lipid biyosentezini ve lipoprotein sekresyonunu azaltarak, hepatic ve plazma lipid seviyelerini düzenler (13, 71).

2.6.4.2. MikroRNA-122 Lipid ve Kolesterol Metabolizmasındaki Rolü

Karaciğerde toplam miRNA'ların %70'ini oluşturan miRNA-122 lipid metabolizması üzerine etkisi yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (15). MiRNA-122'nin fizyolojik fonksiyonunu aydınlatmak için miRNA-122'yi hedefleyen ASO'lar ve LNA'lar geliştirilmiştir ve miRNA-122'nin fonksiyonunu baskılayarak etki mekanizması aydınlatılmıştır. Kolesterol ve lipid metabolizmasında görevli miRNA-122'nin baskılanması ile plazma kolesterol ve TG seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir (15, 16). MiRNA-122'nin kolesterol metabolizmasına etkisi HMGCS1 ve HMGCR basamakları üzerinden, TG metabolizmasına etkisi ise MTTP üzerinden olduğu bulunmuştur. Anti-miRNA-122 terapileri kullanılarak bu genlerin ekspresyonlarının azaldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (16). Ayrıca miRNA-122'yi hedefleyen ASO'lar kullanılarak karaciğerde AMP-aktive eden protein kinaz (AMPK) ekspresyonunda artış görülmüş buna bağlı olarak yağ asidi β -oksidasyonunun aktivasyonu tespit edilmiştir (67).

MikroRNA-122'nin dolaşımında (plazma) ekspresyon seviyeleri incelendiğinde normal kişilere göre özellikle obez kişilerde miRNA-122 ekspresyonu üç kattan daha yüksek olduğu görülmüştür (72).

Özellikle lipid metabolizmasında önemli rol oynayan miRNA-122'nin, antagomir ile inhibisyonu sonucunda plazma trigliserid seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (67).

2.6.4.3. MikroRNA-33a/b Kolesterol Metabolizmasındaki Rolü

Kolesterol metabolizmasında görevli miRNA'lerden biri olan miRNA-33, SREBP genlerinin içinde lokalize olan intronik bir miRNA' dır. MiRNA-33; a ve b olgun formunda yalnızca iki nükleotide farklılaşır ve aynı hedefe sahiptir. Lipid metabolizmasının anahtar transkripsiyonel düzenleyicilerinden olan SREBP' ler TG ve fosfolipid üretimi ile birlikte kolesterol ve yağ asidi biyosentezi ve alımında yer alan birçok geni kontrol eder (16). SREBP-1 yağ asidi metabolizması ve de-novo lipogenezde yer alan genleri aktive etmede rol alırken SREBP-2 doğrudan kolesterol homeostazında yer alan genler için daha seçicidir (15). MiRNA-33a, insan SREBP-2'sinin intronunda bulunan, kolesterol alımı ve sentezi ile ilgili genleri kontrol etmede anahtar rolü olan bir miRNA'dır. MiRNA-33a'nın en çok etki gösterdiği gen hedefleri arasında, kolesterolün hücre dışına taşınmasından sorumlu olan ABCA1 ekspresyonu vardır. ABCA1, HDL biyogenezi ve ters kolesterol taşınımı için önemli bir moleküldür. ABCA1 mRNA'sının ve proteinin yarı ömürleri kısadır (1-2 saat), bu durum de-novo transkripsiyonunun ve translasyonunun kontrolünün önemini daha da artırmaktadır. MiRNA-33a ekspresyonunun artmasıyla ABCA1 ekspresyonunda azalma görülür ve Apo A1 üzerinden HDL'ye kolesterol akışı bozulur. Böylece HDL-K seviyelerinde azalma görülür. MiRNA-33a'nın baskılanması ile ABCA1 ekspresyonunda artış ve dolayısıyla HDL-K'nin miktarında da artma meydana gelir. Böylelikle miRNA-33a ekspresyonu artışının ABCA1 proteinin ekspresyonunu inhibe ederek HDL'ye kolesterol transportunu azalttığı tespit edilmiştir (36, 37). Yapılan çalışmalar ile antisens oligonükleotitler veya antimiRNA-33a lentivirüs ile muamele edilmiş farelerin karaciğerlerinde artmış ABCA1 ve ABCG1 ekspresyonu gösterilmiştir. Ayrıca, endojen miRNA-33a'nın inhibisyonu, ABCA1 ve ABCG1 proteini ve kolesterolün Apo AI ve HDL-K' ye akışını arttırmakta, bu miRNA'nın ABCA1'in düzenlenmesinde fizyolojik olarak rolünü göstermektedir (73, 74). Deneysel ateroskleroz modeli oluşturulan ve anti-miR-33a ile tedavi edilmiş farelerde, diğer lipoproteinler etkilenmeden plazma HDL seviyeleri %35-50 arttığı tespit edilmiştir (74). MiRNA-33a knockout farelerde ABCA1 ve ABCG1 proteini ekspresyonunda artış, buna bağlı olarak serum HDL-K'de de %25-40 artış olduğu görülmüştür (58). Yapılan çalışmalar ile miR-33a/b'nin, lipid metabolizmasının post-transkripsiyonel düzenleyicisi olarak görev yaptığı ve inhibisyonunun, HDL seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir (73).

Lipid ve kolesterol metabolizmasında görev alan miRNA-30c, mirRNA-122 ve miRNA-33a'nın fonksiyonları Şekil 8'de özet olarak gösterildi.

miRNA	HEDEF GEN	BİYOLOJİK ETKİLERİ
miR-122 Baskılanması	MTTP	--> Plazma TG seviyesi ↓
	HMGCR HMGCS1	--> Plazma TK seviyesi ↓
miR-30c Artışı	MTTP	--> Apo B seviyesi ↓ Plazma TG seviyesi ↓
miR-33a Artışı	SREBP	--> ABCA1 ekspresyon seviyesi ↓ Plazma HDL-C seviyesi ↓

Şekil 8. Lipid metabolizmasını düzenleyen miRNA'lar

2.7. Metabolik Sendrom

Metabolik sendrom ilk kez 1988 yılında Reaven tarafından tanımlanmıştır. Metabolik sendromun temelinde insülin direncinin olduğunu ve bozulmuş glukoz toleransı, hiperinsülinemi, hipertansiyon ve dislipideminin yer aldığını belirtmiştir (75).

Metabolik sendrom tüm dünyada obezitenin yaygınlaşmasıyla birlikte artan toplumda yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan hastalıklar grubudur. Prevalansı toplumlara, cinsiyete, yaşa ve kullanılan tanı kriterlerine göre önemli ölçüde değişiklik göstermektedir. 2005 yılı verilerine göre Amerika Birleşik Devletleri'nde MetS prevalansı %40.1'e ulaşmıştır. Ülkemizde ise 2002 yılında yapılan Türk Erişkinleri Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması (TEKHARF) çalışmasında ise MetS sıklığı erkeklerde %27, kadınlarda %38.6 bulunmuştur (76, 77).

Metabolik Sendromun etyopatogenezi tam olarak belli değildir. Genetik yatkınlık, sedanter yaşam ve diyet alışkanlıkları MetS oluşumunu tetiklediği düşünülmektedir (76).

Yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen MetS hastalığı günümüzde sık görülmekte olup, insülin direnci, abdominal obezite, tip II diyabet, hipertansiyon, dislipidemi, bozulmuş glukoz toleransı ve kalp damar hastalıkları gibi sistemik

bozuklukların da eşlik edebildiği bir sendromdur. MetS'li kişilerde yüksek kan şekeri, abdominal obezite, yüksek serum TG seviyeleri, düşük HDL-K seviyeleri, yüksek kan basıncı görülmekte olup, bu metabolik dengesizlikler MetS için risk faktörü olarak sayılmaktadır (78, 79). Bu nedenle diyabet ve MetS kalp damar hastalıkları için önemli bir risk faktörüdür. Başta obezite ve fiziksel hareketsizlik olmak üzere genetik faktörler, yaşlılık, endokrin bozukluklar MetS'yi tetikleyebilir (78).

Metabolik Sendrom 1999 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından tanımlandı. 2001 yılında Ulusal Kolesterol Eğitim Programının Erişkinlerde Yüksek Kan Kolesterolünün Değerlendirilmesi 3. Raporu'nda (NCEP-ATP III) klinik kriterler yer aldı. 2005 yılında Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) ve ATP III yeni kriterler yayınlandı. Bu raporlara göre MetS fizyopatolojisinde abdominal obezite ilk üç kriterden biri oldu (10, 80).

2.7.1. Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri

Metabolik Sendrom tanı kriterleri ilk olarak 1999'da DSÖ tarafından tanımlandı. Bu tanı kriterlerine göre insülin direnci, diyabet, glukoz intoleransı, diabetes mellitustan en az biri ile beraber; hipertansiyon, dislipidemi, abdominal obezite veya mikroalbuminüriden en az ikisinin bulunması gerekmektedir (Tablo 1) (81). Aynı yıl Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu tarafından MetS kriterlerine bir sınıflama yapıldı (82).

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü'nün metabolik sendrom tanı kriterleri (81)

Aşağıdaki kriterlerden en az biri

- İnsülin direnci
- Glukoz intoleransı
- Diabetes mellitus ve

Aşağıdaki kriterlerden en az ikisi

- Hipertansiyon (kan basıncı > 140/90 mmHg)
 - Dislipidemi (trigliserid düzeyi > 150 mg/dL veya HDL düzeyi erkekte < 35 mg/dL, kadında < 39 mg/dL)
 - Abdominal obezite (VKİ > 30 kg/m² veya bel/kalça oranı erkekte > 0.90, kadında > 0.85)
 - Mikroalbuminüri (idrara albumin atılımı > 20 mcg/dakika veya albumin/kreatinin oranı > 30 mg/g)
-

2001 yılında NCEP-ATP III MetS kriterlerini yeniden tanımladı, insülin direnci bu tanımlamaya dahil edilmeden kriterler hazırlandı (Tablo 2) (83).

Tablo 2. NCEP-ATP III metabolik sendrom tanı kriterleri (83)

Aşağıdaki kriterlerden en az üçü

- Abdominal obezite (bel çevresi: erkeklerde > 102 cm, kadınlarda > 88 cm)
- Hipertrigliseridemi (≥ 150 mg/dL)
- Düşük HDL (erkeklerde < 40 mg/dL, kadınlarda < 50 mg/dL)
- Hipertansiyon (kan basıncı $\geq 130/85$ mmHg)
- Hiperglisemi (açlık kan glukozu ≥ 110 mg/dL)

2003 yılında Amerikan Endokrin Derneği, NCEP-ATP III kriterlerini yeniden düzenledi. Buna göre hipertrigliseridemi, düşük HDL-K, hipertansiyon ve açlık veya OGTT sonrası kan şekeri yüksekliği yeni kriterler olarak belirledi (84).

2005 yılında IDF, NCEP ATP III kriterlerinde bazı değişiklikler yaparak MetS'nin sınıflandırılmasında abdominal obezitenin önemli bir faktör olduğunu belirterek abdominal obezite kriterini ilk sıraya almıştır (Tablo 3) (85).

Tablo 3. Uluslararası Diyabet Federasyonu metabolik sendrom tanı kriterleri (85)

- Abdominal obezite (Bel çevresi: Avrupalı erkeklerde ≥ 94 cm, kadınlarda ≥ 80 cm)

Aşağıdakilerden en az ikisi

- Trigliserid ≥ 150 mg/dL
- HDL-K: erkekte < 40 mg/dl, kadında < 50 mg/dL
- Kan basıncı $\geq 130/85$ mmHg veya antihipertansif tedavi alıyor olmak
- Açlık kan glukozu ≥ 100 mg/dL veya Tip 2 DM

Ülkemizde Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği (TEMĐ) Metabolik Sendrom Çalışma Grubu 2005 yılında MetS kriterlerini tanımlamıştır. Ülkemizdeki bu dernek tarafından insülin direncinin MetS'de önemli olduğu vurgulanmış, bu yüzden 1999-DSÖ ile 2001-NCEP ATP III'ün tanı kriterlerinden oluşturulan yeni bir MetS tanı kılavuzu sunulmuştur (Tablo 4) (86).

Tablo 4. Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği Metabolik Sendrom alışma Grubunun metabolik sendrom tanı kriterleri (86)

Aşağıdaki kriterlerden en az biri

- Diabetes mellitus veya
 - Bozulmuş glukoz toleransı veya
 - İnsülin direnci ve
-

Aşağıdaki kriterlerden en az ikisi

- Hipertansiyon (Kan basıncı $\geq 130/85$ mmHg veya antihipertansif kullanıyor olmak)
 - Dislipidemi (trigliserid düzeyi >150 mg/dl veya HDL-K düzeyi erkekte < 40 mg/dL, kadında < 50 mg/dL)
 - Abdominal obezite (VKİ > 30 kg/m² veya bel çevresi: erkeklerde > 94 cm, kadınlarda > 80 cm)
-

Görüldüğü üzere metabolik sendromu tanımlamak için yapılan kriterler organizasyonlara göre değişiklik göstermektedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri

Çalışmamızda kullanılan cihazlar ve laboratuvar malzemelerinin listesi üretici firmaları ile birlikte Tablo 5’de verildi.

Tablo 5. Kullanılan cihazlar, laboratuvar malzemeleri ve üretici firmaları

Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri	Üretici Firma
Çalkalayıcı inkübatör	Shellab/Sheldon S14-2
Derin Dondurucu (-80°C)	Thermo Electron Corporation
El homojenizatörü	OMNI-Tissue Master 125
Elektroforez güç kaynağı	Thermo EC250-90
Elektroforez tankı	Bio-Rat Wide Mini-Sub
Hassas analitik terazi	Mettler Toledo AB204-S
İnkübatör	Shel Lab, Heraeus
Jel görüntüleme sistemi	Vilber Lourmat ECX-20-M
Manyetik karıştırıcı	Thermal
Mikro dalga fırın	Altus ALMD 171
Mikro hacimli spektrofotometre	Thermo Nanodrop 2000
Mikropleyt okuyucu	Versa max, Molecular devices
Mikropleyt yıkayıcısı	BioTek ELx50
Mikrosantrifüj	Thermo IEC Micromax
Otoklav	Tuttnauer 3150 ELV
Otomatik pipetler	Socorex, Isolab, Eppendorf
PCR cihazı	Applied Biosystems GeneAmp9700
Real-Time PCR cihazı	Roche LightCycler 480 II
Saf Su Arıtma Cihazı	Kros
Soğutmalı santrifüj	Beckman-Coulter
Santrifüj	Eppendorf, Centrifuge 5810
Vorteks	IKA Vortex, Genius 3
Zetasizer ZS90	Malvern

3.1.2. Kullanılan Ticari Kitler ve Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kitler ve kimyasallar üretici firmaları ile birlikte Tablo 6’da verildi.

Tablo 6. Kullanılan kitler, kimyasallar ve üretici firmaları

Kullanılan kitler ve kimyasallar	Üretici Firma
Agaroz	Sigma
Etanol (C ₂ H ₅ OH)	Sigma
Human Apo B48 ELISA Kit	Elabscience E-EL-H1642
Human MTTP ELISA Kit	Cusabio CSB-EL015209
Human ABCA1 ELISA Kit	Elabscience E-EL-H0529
Human Apo A1 ELISA Kit	Elabscience E-EL-H0125
İzopropil alkol (C ₃ H ₇ OH)	Sigma
Kloroform	Sigma
NaCl	Sigma
Mirneasy Serum/Plasma Kit	Qiagen - Cat. No 331452
Mirneasy Serum/Plasma Spike-In Control	Qiagen - Cat. No 219610
Miscript II RT Kit	Qiagen- Cat No 218161
Miscript Preamp PCR Kit	Qiagen - Cat No331452
Miscript Primer Assay	Qiagen - Cat No 218300
Miscript SYBR GREEN PCR Kit	Qiagen- Cat No 218073

3.2. Yöntem

3.2.1. Çalışma Grubu

Bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı tarafından yürütülen TSA-2018-7277 numaralı ve “Postprandiyal Lipemi ile Plazma MikroRNA Ekspresyon İlişkisinin İncelenmesi” isimli bilimsel araştırma projesi (BAP) kapsamında yürütüldü ve KTÜ BAP programı desteği ile gerçekleştirildi. Ayrıca KTÜ, Tıp Fakültesi, Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu Değerlendirme Komisyonu’ndan 2017/194 protokol numarası ve 8 numaralı karar ile onay alındı (Bkz. Etik Kurul Onayı).

Araştırmamızın çalışma grubu KTÜ Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Kardiyoloji Polikliniğine başvuran sosyo-ekonomik açıdan toplumun farklı kesimlerinin oluşturduğu gönüllü kişilerden seçildi. Çalışmamızda yer alan hasta ve sağlıklı kontrol grubu oluşturulurken; gebelik, akut-kronik böbrek yetmezliği, karaciğer rahatsızlığı, sindirim-emilim bozukluğu, koroner arter hastalığı, kanser, menopoz, lipid düzeyini düşürücü ilaçlar, sigara ve alkol kullanımı dışlama kriteri olarak belirlendi.

Çalışma grubumuz, 22 metabolik sendromlu hasta ve 22 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 44 kişiden oluşturuldu. Hasta ve kontrol grubunda özellikle yaş ve cinsiyet dağılımının yakın olmasına özen gösterildi. Her bir grupta 10 kadın ve 12 erkek gönüllü yer almaktadır. Bu kişilere 12 saatlik açlık sonrası OTTT uygulandı. Metabolik sendromlu hasta grubu NCEP ATP III ve DSÖ’ye göre TEMD Metabolik Sendrom Çalışma Grubu tarafından oluşturulan tanı kriterlerine göre belirlendi. Bu nedenle aşağıdaki beş kriterden ilk iki kriterin mutlaka olması şartı ile en az üçünü bulundurarak metabolik sendrom tanısını almış gönüllü bireylerden hasta grubumuz oluşturuldu (85, 86).

- 1) Abdominal obezite (bel çevresi genişliği erkeklerde ≥ 102 cm, bayanlarda ≥ 88 cm)
- 2) Açlık plazma glukozu ≥ 100 mg/dL veya diyabet tanısı almış
- 3) HDL- K erkeklerde < 40 mg/dL, bayanlarda < 50 mg/dL
- 4) Açlık plazma Trigliserid ≥ 150 mg/ dL
- 5) Hipertansiyon ($\geq 130 /85$ mm Hg)

Kontrol grubu hasta grubunun yaş ve cinsiyetine uygun, NCEP ATP III, DSÖ ve IDF’ye göre belirtilen kriterleri taşımayan, kardiyoloji polikliniğine başvuran, gönüllü olarak çalışmaya katılmak isteyen sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Çalışmaya katılacak gönüllülerin OTTT uygulaması öncesinde, vücut ağırlıkları (kg), boyları (m), bel çevresi

(cm), kalça çevresi(cm), sistolik ve diyastolik kan basıncı (mmHg) ölçülerek kaydedildi. Bu veriler kullanılarak vücut kütle indeksi (BMI) ve bel/kalça oranı hesaplandı.

3.2.2. Oral Trigliserid Tolerans Testinin Uygulanması

Oral Trigliserid Tolerans Testinin uygulanması Kolovou ve ark.'larının uygulamaları esas alınarak, toplumsal gıda tüketim çeşitleri ve tolere edilebilirlikleri göz önünde tutulup, orijinal çalışmada bazı değişiklikler yapılarak hazırlandı. OTTT için hastalara tost hazırlandı ve ayran (200 mL) eşliğinde 15-20 dakikada tüketilmesi sağlandı. OTTT öğünü; %22.7 karbohidrat, %68.2 yağ, %9.1 proteinden (75 g yağ, 25 g karbohidrat ve 10 g protein) oluşup, yaklaşık 815 kcal değerinde olacak şekilde hazırlandı. İnsanların birçoğunun günlük normal tüketimi düşünüldüğünde bu tolere edilebilir bir miktardır (87). Araştırma amaçlı olan bu uygulama, klinisyen denetiminde, standardize olma yolunda bir yöntemdir ve daha öncede çalışmalarda postprandiyal metabolizmanın değerlendirilmesinde kullanılmıştır (32).

Gönüllülere 12 saatlik açlık dönemini takiben sabah 08:00 ile 09:00 saatleri arasında KTÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı Araştırma Laboratuvarında OTTT uygulandı. Kan örnekleri OTTT öncesi (açlık), OTTT sonrası 2. 4. ve 6. saatlerde yaklaşık 10'ar mL olmak üzere antikoagülsüz seperatör jelli tüplere ve antikoagülan olarak etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) içeren tüplere alındı. Alınan kan örnekleri, 1800xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası serum ve plazma örnekleri 1 mL'lik kapaklı plastik tüplere aktarılarak analizler yapılana kadar -80°C'de muhafaza edildi. OTTT süresince kişilerin günlük sürdürdükleri aktivitelerinde bir değişiklik yapmadan devam etmeleri, yatarak istirahatı ve aşırı egzersiz durumlarından kaçınmaları sağlandı ve sadece su almalarına müsaade edildi.

Açlık, 2, 4 ve 6. saatlerde ölçülen TG düzeylerine göre çizilen grafikte, eğri altında kalan alan (AUC) değeri trapezoid kuralına göre aşağıdaki formül ile hesaplandı.

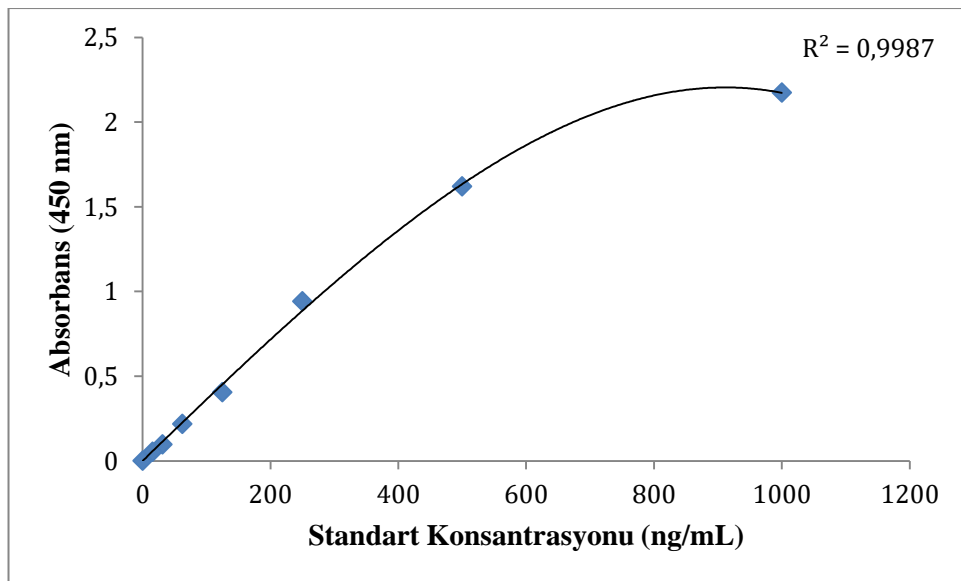
$$\text{AUC [(mg.sa)/dL]} = \text{Açlık TG (mg/dL)} + 2 \times [\text{TG 2. saat (mg/dL)} + \text{TG 4. saat (mg/dL)}] + \text{TG 6. saat (mg/dL)}$$

3.2.3. Serum Glukoz, İnsülin ve Lipid Parametrelerinin Ölçümü

Çalışmamızda yer alan Glukoz, TG, Total Kolesterol (TK), HDL-K ve Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol (LDL-K) düzeyleri KTÜ Farabi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda mevcut olan Beckman Coulter marka AU 5800 (Kaliforniya, ABD) model otoanalizörde ölçüldü. İnsülin parametresi ise yine aynı laboratuvarında mevcut olan Siemens marka Immulite 2000 XPI model otoanalizörde ölçüldü. Bu parametrelerin ölçümü günlük uygulanan kalite kontrol prosedürleri uygulandıktan sonra gerçekleştirildi. Söz konusu parametrelerin ölçümünde cihazların orijinal kitleri kullanıldı. Glukoz ölçümü heksokinaz (enzimatik UV test), TG ölçümü lipaz/glisero kinaz (enzimatik kolorimetrik), TK ölçümü kolesterol oksidaz (enzimatik kolorimetrik), HDL-K ölçümü immünolojik/direkt (enzimatik kolorimetrik), LDL-K ölçümü koruyucu reaktif/direkt (enzimatik kolorimetrik) ve insülin ölçümü kemilüminesans immunassay yöntemi kullanılarak belirlendi.

3.2.4. İnsan Serum Apolipoprotein B48 Düzeylerinin Belirlenmesi

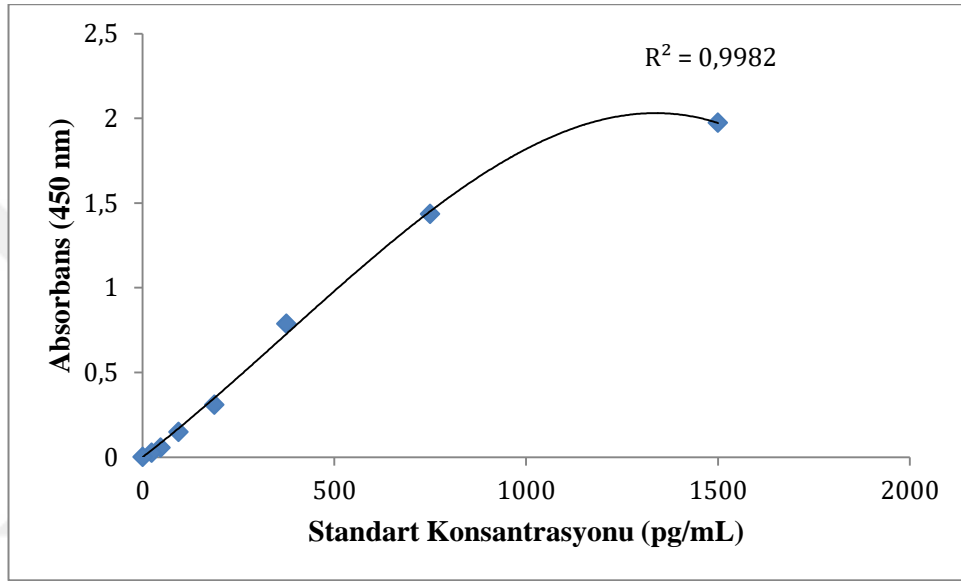
Serum numunelerinde Apo B48 seviyeleri Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile Apo B48 kiti (Elabscience, Katalog No: E-EL-H1642, Lot: NNDHCXXE, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Kit protokolüne uygun olarak Apo B48 ölçümü yapıldı. Şekil 9'daki standart grafik kullanılarak Apo B48 konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.



Şekil 9. Apo B48 standart grafiği

3.2.5. İnsan Serum Mikrozomal Triglisericid Transfer Protein Düzeylerinin Belirlenmesi

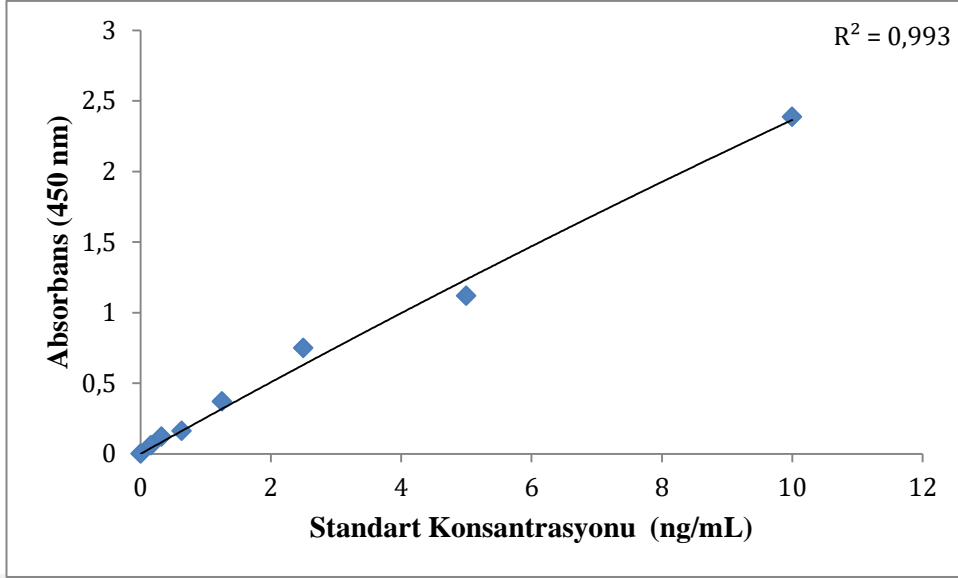
Serum numunelerinde MTTP seviyeleri ELISA yöntemi ile MTTP kiti (Cusabio, Katalog No: CSB-EL015209HU, Lot: Z03226895, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Kit protokolüne uygun olarak MTTP ölçümü yapıldı. Şekil 10'daki standart grafik kullanılarak MTTP konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar pg/mL olarak verildi.



Şekil 10. MTTP standart grafiği

3.2.6. İnsan Serum ATP Bağlı Kaset Taşıyıcı A1 Düzeylerinin Belirlenmesi

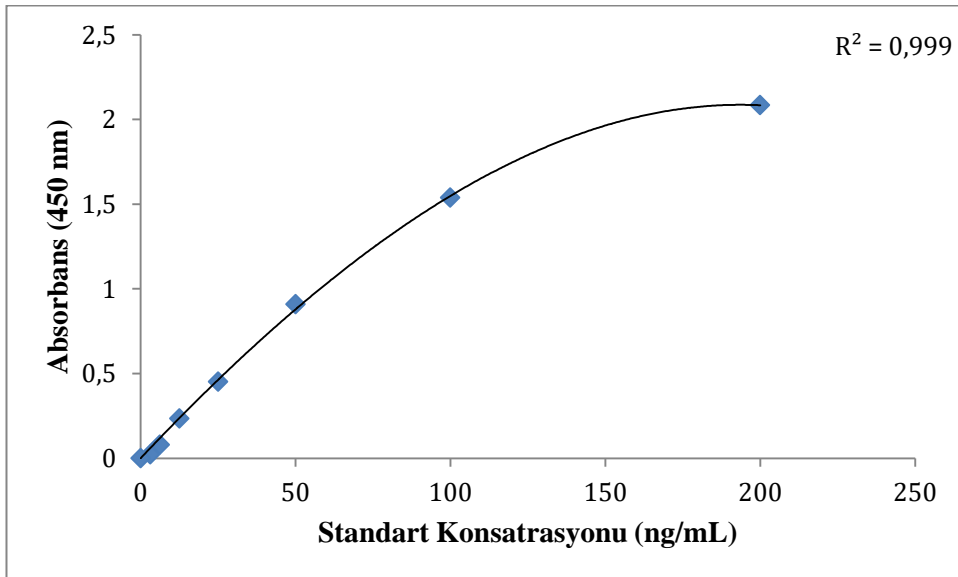
Serum numunelerinde ABCA1 seviyeleri Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile ABCA1 kiti (Elabscience, Katalog No: E-EL-H0529, Lot: VR24C1TY, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Kit protokolüne uygun olarak ABCA1 ölçümü yapıldı. Şekil 11'deki standart grafik kullanılarak ABCA1 konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.



Şekil 11. ABCA1 standart grafiği

3.2.7. İnsan Serum Apolipoprotein A1 Düzeylerinin Belirlenmesi

Serum numunelerinde Apo A1 seviyeleri ELISA yöntemi ile Apo A1 kiti (Elabscience, Katalog No: E-EL-H0125, Lot: U9WAKU8V, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi. Kit protokolüne uygun olarak Apo A1 ölçümü yapıldı. Şekil 12'deki standart grafik kullanılarak Apo A1 konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.



Şekil 12. Apo A1 standart grafiği

3.2.8. Şilomikron Partikül Boyutlarının Analizi

Şilomikron partikül boyutlarının analizi için yapılan ölçümler Borel ve ark'nın (88) geliştirdiği yöntem modifiye edilerek yapıldı. Şilomikron partikül boyutu ölçümünde kullanılan çözelti aşağıda yer almaktadır.

%0.9 NaCl Çözeltisi: 9 g NaCl, 750 mL distile suda çözüldü. Homojen karışım sağlandıktan sonra son hacim distile su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

Kan örnekleri EDTA içeren antikoagülanlı tüpe alındı ve 1800xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen plazma örnekleri ayrı bir tüpe alındı. 2 mL plazma örneklerinin üzerine 3 mL %0.9 NaCl çözeltisi ilave edildi ve 20000xg'de +4 °C'de 30 dakika santrifüj edildi. Şilomikron partiküllerinin bulunduğu süpernatant fazı ayrı bir tüpe alınarak ölçümler yapılncaya kadar -80°C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi. Çalışma günü -80 °C'deki muhafaza edilen serum örnekleri oda sıcaklığına getirildi.

Şilomikronların hidrodinamik çapı, Zetasizer ZS90 (Malvern Panalytical, Malvern, UK) cihazında ölçüldü.

Cihazın partikül boyutlarını ölçmek için belirlenen çalışma koşulları;

- ortam sıcaklığı 25 °C,
- viskozite indeksi 1.0658,
- kırılma indeksi 1.445,
- sulu fazın kırılma indeksi olarak 1.330 olarak ayarlandı.

Zeta Sizer cihazı, ışığın küçük bir parçacık veya molekülün elektrik alanı ile etkileşmesi sonucu dinamik ışık saçılması (DLS) yöntemiyle çalışmaktadır. Yaklaşık 1 mL numune çizilmez camdan veya optik olarak temiz, saydam tek kullanımlık plastik küvetlere ilave edilir. Numune temiz ve homojen olmalıdır. Sulu ortamda disperse olan çözeltiye Helyum ve Neon lazer ışın kaynağından monokromatik ışın demeti gönderilir. Çözelti içerisinde bulunan partiküller Brownian hareketi yapmaktadır ve 633 nm dalga boyunda 4 mW'luk ışın demetinden bu partiküllere çarpıp gelen ışının dalga boyundaki değişim ölçülür Foton dedektör tarafından ortamda dağılan ışın demeti algılanır. Zetasizer genel olarak ölçüm aralığı 0.6 nm ve 6 µm aralığındadır. Bu partiküllerin boyutu bilgisayar yazılımı tarafından ortalama hidrodinamik partikül çapı şeklinde belirlenir (Malvern Instruments Ltd., Zetasizer Software 6.20) (89).

3.2.9. Plazma Örneklerinde MikroRNA Ekspresyon Analizleri

3.2.9.1. Kandan Plazma Eldesi

1. Antikoagülan içeren EDTA'lı tüpe kan alındı.
2. 1800xg'de 4 °C'de 10 dakika santrifüj edildi.
3. Plazma fazı temiz bir tüpe aktarıldı.
4. Plazma örneği 16.000xg' de 4 °C'de 10 dakika santrifüj edildi.
5. Süpernatant fazı yeni bir tüpe aktarıldı.

3.2.9.2. Plazma Örneklerinden miRNA Eldesi

Plazma örneklerinden miRNA eldesi ticari kit kullanılarak gerçekleştirildi. MikroRNA izolasyonu miScript RNeasy kiti (Qiagen, Katalog No: 331452, Hilden, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. İşlem basamakları aşağıdaki gibidir:

1. Plazma örneklerinden 200 µL serum örneği alındı ve üzerine 1000 µL Qiazol lizis reaktifi eklendi.
2. Örnekler 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Üzerlerine 200 µL kloroform eklendi ve vortekslendi.
3. Daha sonra örnekler 3 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
4. 12.000xg' de 4 °C'de 15 dakika santrifüj edildi.
5. Süpernatandan 600 µL alındı ve süpernatant yeni bir toplama tüpüne transfer edildi.
6. Toplama tüpünün üzerine 900 µl %100'lük saf etanol eklendi ve alt üst edilerek iyice karışması sağlandı.
7. RNaz mini kolona karışımdan alınan 700 µL örnek konuldu. 8000xg'de ve oda sıcaklığında 15 saniye santrifüj edildi.
8. RWT tamponundan 700 µL alınıp RNaz mini kolona eklendi ve 15 saniye oda sıcaklığında 8000xg'de santrifüj edildi.
9. Toplama tüpünde kalan kısım atıldı. 500 µL RPE tamponundan RNaz mini kolonun üstüne eklendi ve 15 saniye oda sıcaklığında 8000xg'de santrifüj edildi.
10. RNaz mini kolonun üzerine 500 µl %80 etanol eklendi ve 2 dakika 8000xg'de santrifüj edildi.
11. RNaz mini kolon 1 dakika 16.000xg santrifüj edildi.
12. RNaz mini kolona 14 µL RNaz içermeyen su eklendi.
13. 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı ve 1 dakika santrifüj edildi.

14. Elde edilen miRNA'ların saflığı ve miktarı nanodrop ND-2000 cihazı kullanılarak ölçüldü.

15. İşlemler yapılınca kadar miRNA'lar -80 °C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.9.3. RNA Örneklerinden cDNA Elde Edilmesi

İzole edilen RNA örneklerinden cDNA eldesi ticari kit kullanılarak aşağıdaki gibi gerçekleştirildi. -80°C'den çıkarılan miRNA'ların soğuk blok üzerinde çözünmeleri beklendi. cDNA eldesi için miScript Reverse Transcription (RT) II kiti (Qiagen, Katalog No: 218161, Hilden, Almanya) kullanıldı. Reaksiyon karışımı Tablo 7'de verilen hacimler kullanılarak buz üzerinde hazırlandı.

1. Hazırlanan karışım iyice pipetaj yapıldı ve 8 µL olacak şekilde her bir tüpe aktarıldı.
2. Üzerlerine her bir tüpe sırasıyla 12 µL miRNA eklendi. Pipetaj yapılarak PCR cihazına konuldu.

Tablo 7. RNA örneklerinden cDNA sentezi için gerekli reaksiyon bileşenleri

Reaktifler	Her bir örnek için gerekli hacim (µL)
5x miScript HiSpec tamponu	4
10x miScript Nükleik asit karışımı	2
miScript Reverse Transcriptase Karışımı	2
Kalıp miRNA	12
Toplam Hacim	20

PCR cihazı;
60 dakika 37 °C
5 dakika 95 °C olacak şekilde ayarlandı ve cDNA sentezi işlemi başlatıldı.

Süre sonunda sentezlenen cDNA konsantrasyonları spektrofotometrik olarak ölçüldü. Sonrasında cDNA miktarları 20 µL'de 50 ng/µL olacak şekilde ayarlandı. cDNA zenginleştirilmesi için 5 µL cDNA kullanıldı.

3.2.9.4 cDNA'nın Zenginleştirilmesi

Elde edilen cDNA'ların zenginleştirilmesi işlemi ticari kit kullanılarak aşağıdaki gibi gerçekleştirildi. cDNA'lar, miScript PreAMP PCR Kiti (Qiagen, Katalog No: 331452,

Hilden, Almanya) kullanılarak zenginleştirme işlemi yapıldı. Reaksiyon karışımı Tablo 8'de verilen hacimler kullanılarak buz üzerinde hazırlandı.

Tablo 8. RNA örneklerinden cDNA'nın zenginleştirilmesi için gerekli reaksiyon bileşenleri

Reaktifler	Her bir örnek için gerekli hacim (µL)
5x miScript PreAMP Buffer	5
HotStarTaq DNA Polimeraz	2
miScript PreAMP Primer Karışımı	5
miScript PreAMP Universal Primer	1
RNaz-içermeyen su	7
Seyreltilmiş cDNA	5
Toplam Hacim	25

PCR cihazı;
15 dakika 95°C
30 saniye 94 °C
3 dakika 60 °C ve toplam 12 döngü olacak şekilde ayarlandı ve cDNA'nın zenginleştirme işlemi başlatıldı.

3.2.10. Real Time-PCR Analizleri

cDNA eldesi tamamlandıktan sonra miRNA'larının ekspresyon düzeylerine belirlemek için Real Time-PCR (RT-PCR) aşamasına geçildi ve miScript SYBER GREEN PCR kiti (Qiagen, Katalog No: 218073, Hilden, Almanya) kullanıldı. MikroRNA primerleriyle beraber referans olarak SNORD61 ekspresyon seviyelerini tespit etmek için LightCycler® 480 II RT-PCR cihazı kullanıldı.

Real Time-PCR metodu, nükleik asit amplifikasyonu ile birlikte eş zamanlı olarak artan floresan sinyalinin ölçülmesidir. Meydana gelen döngüler boyunca her bir reaksiyondaki floresan sinyaller sayısal olarak ölçüldüğü için kantitatif sonuç alınabilen bir yöntemdir.

Syber Green 1 boyası yalnızca çift zincirli DNA'ya bağlanır, amplifiye olan DNA'nın artışıyla birlikte ışığa veren floresans miktarı ölçülür. Uzama safhasında

primerlerin bağlanmasıyla birlikte DNA'ya bağlanan Syber Green 1 miktarında artış görülmektedir. Böylece yayılan floresans miktarında da artış olmaktadır.

Real Time-PCR aşaması üç temel basamakta gerçekleşir.

Hedef DNA'nın çoğaltılması 20-40 döngü arasında olmaktadır. Her döngü kendi içerisinde farklı sıcaklıkların ayarlandığı üç bölümden oluşmaktadır.

Bu basamaklar;

Denatürasyon: kalıp DNA çift zinciri açılır ve DNA tek zincirli hale gelir.

Birleşme: tek zincirli kalıp DNA'nın primerlerle birleşme basamağıdır. Bu birleşme basamağında SYBR Green I boyası uyarılma aşamasına kadar ışık yayar.

Uzama: DNA polimeraz maksimum aktiviteye sahiptir. Tek sarmal DNA'nın Taq polimerazla birlikte ortamdaki dNTP'leri kullanarak zinciri uzatır. Tek iplikli DNA çift zincir haline gelir. Primerlerin hedef DNA'yabağlanıp, hedef DNA'nın çift sarmal hale gelmesiyle birlikte DNA'ya bağlanan Syber green 1 boyasında yayılan floresans miktarında artış gözlenir.

RT-PCR analizinde SYBR Green 1 boyası spesifik amplifikasyonu göstermeyebilir. Normalde bu boya çift sarmal yapıya entegredir. Eğer ortamda hedef molekül yoksa primerler kendi aralarında bağlanır ve SYBR Green 1 boyası bu bağlanmalara katılarak floresans ışımaya yapar. Bu sorunu gidermek için amplifikasyon ürünlerinin erime eğrisi analizi (Tm) yapılmaktadır. Her çift sarmal, kendine özgü erime eğrisine sahiptir. Amplifikasyon işleminden sonra sıcaklık arttırılarak, belirli zamanlarda floresans miktar kaydedilip çift sarmal yapı birbirinden ayrılmaya başlayınca boya serbest kalır ve floresans miktarı azalır. Erime eğrisi analizinden yararlanılarak ürünün Tm derecesi saptanabilmektedir. Böylece kendi ürünümüzün çoğalıp çoğalmadığı anlaşılabilir PCR sonucunun doğru veya hatalı olduğuna karar verilmektedir (90, 91).

MikroRNA ekspresyonu analizlerinde kullanılan hedef primerlerin dizileri Tablo 9'da verildi.

Tablo 9. RT-PCR’da kullanılan miRNA primerlerinin hedef dizileri

Olgun miRNA	miRNA hedef dizisi
hsa-mir-33a	5’-GUGCAUUGUAGUUGCAUUGCA-3’
hsa-mir-30c-1	5’-UGUAAACAUCCUACACUCUCAGC-3’
hsa-mir-122	5’- UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG -3’
Snord61	5’- GCTATGATGAATTTGATTGCATTGA TCGTCTGACATGATAATGTATTTTT GTCCTCTAAGAAGTTCTGAGCTT - 3’

RT-PCR için tepkime bileşenleri Qiagen miScript SYBR Green PCR kiti (Hilden, Almanya) kullanılarak hazırlandı. Tablo 10’da bileşenlerin tepkime hacimleri verildi.

Tablo 10. RT-PCR aşaması için gerekli reaksiyon bileşenleri

Reaktifler	Her bir örnek için gerekli hacim (µL)
2x QuantiTect SYBR Green PCR	10
10x miScript Universal Primer	2
10x miScript Primer Assay	2
RNaz içermeyen su	1
Zenginleştirilmiş cDNA	5
Toplam hacim	20

Buz üzerinde referans gen ile herbir miRNA’ya özgü ayrı karışım hazırlanarak 15 µL olarak dağıtıldı. Üzerlerine 5 µL zenginleştirilmiş cDNA eklendi. Cihaz ayarları Tablo 11’de verilen protokole göre düzenlendi ve RT-PCR analizi gerçekleştirildi.

Tablo 11. RT-PCR protokolü

Tespit formatı: SYBR Green I floresan

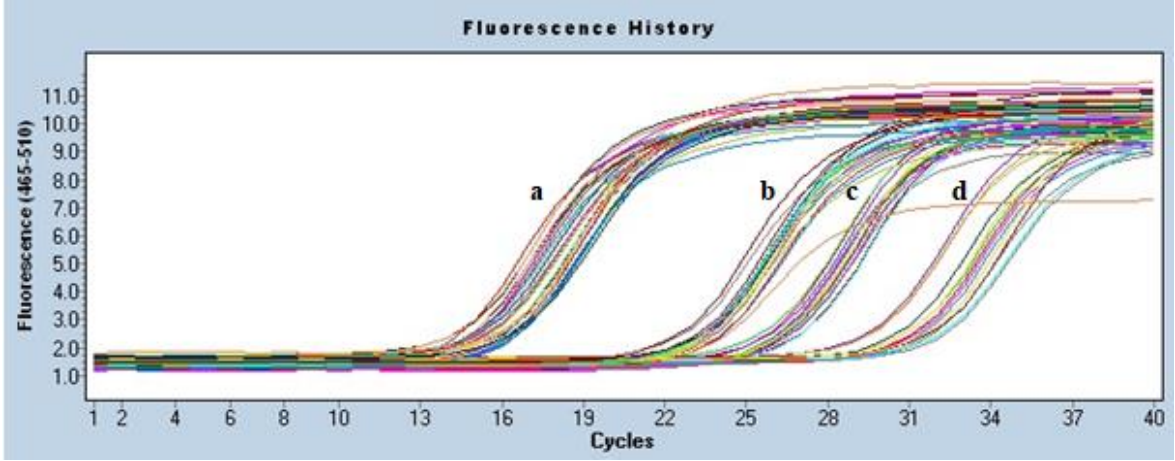
Pleyt türü: 96 kuyucuklu

Reaksiyon hacmi: 20 µL

Program	Döngü	Analiz Modu		
Ön inkübasyon	1	-		
Amplifikasyon	40	Miktar Tayini		
Erime Eğrisi	1	Erime Eğrisi		
Soğutma	1	-		

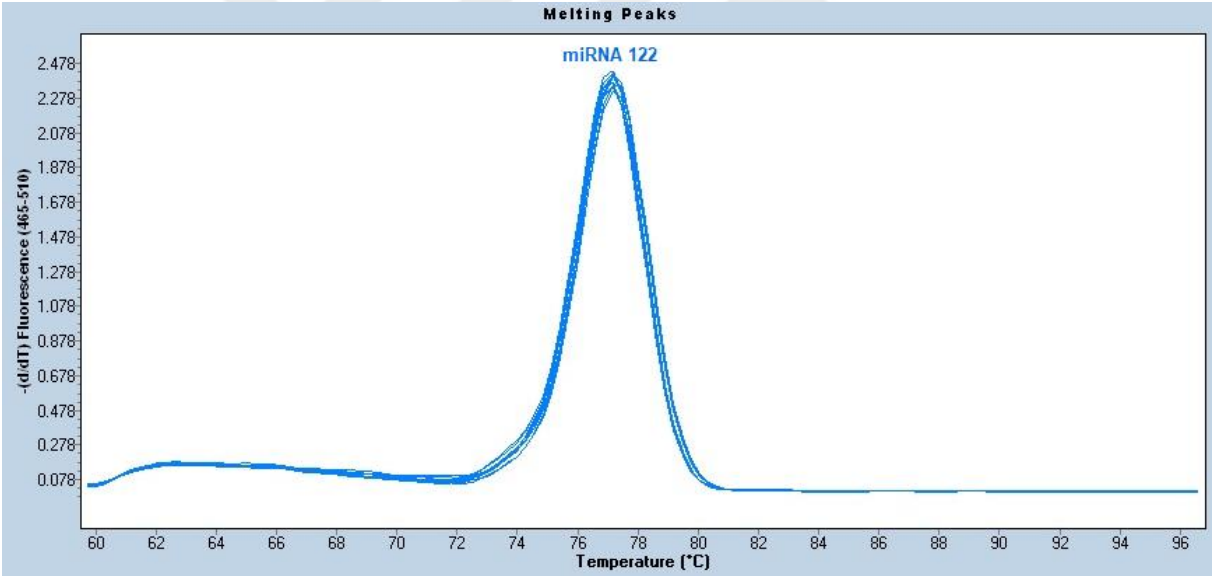
Hedef Sıcaklık °C	Elde etme modu	Süre	Sıcaklık artış hızı (°C/s)
Ön inkübasyon			
95	-	15 dakika	4.4
Amplifikasyon			
94	-	15 saniye	1
60	Tek	30 saniye	1
72	-	30 saniye	1
Erime Eğrisi			
95	-	1 saniye	
60	-	1 dakika	
97	Sürekli		0.11
Soğutma			
95	-	1 saniye	4.4

RT-PCR sonucunda miRNA 122, miRNA 30c, miRNA 33a ve Snord61 ait elde edilen amplifikasyon eğrileri Şekil 13'te verildi.



Şekil 13. a: Sord61, b: miRNA 122, c: miRNA 30c, d: miRNA 33a'ya ait amplifikasyon eğrileri

RT-PCR'da elde edilen erime eğrisi grafiklerinden biri, örnek olarak Şekil 14'te gösterildi.



Şekil 14. Bir pleytin RT-PCR'da çalışılması sonucunda elde edilen tipik erime eğrisi grafiği

3.2.10.1. RT-PCR Sonuçlarına göre miRNA Ekspresyonlarının Hesaplanması

MikroRNA primerleriyle beraber referans olarak SNORD61 ekspresyon seviyeleri tespit hesaplanmasında; öncelikle Real Time analiziyle elde edilen döngü sayısı (Cp) değerleri Excel programına girildi ve tüm miRNA'ların $2^{-\Delta\Delta C_p}$ analizleri yapıldı. SNORD61 referans miRNA olarak kabul edildi ve delta Cp değerleri hesaplandı.

Göreceli miktar tayini, bir genin mRNA seviyelerindeki değişiklikler kantitatif olarak ifadesidir. Bir referans genine karşı hedef genin ekspresyon seviyelerine dayanır ve gen ekspresyon seviyelerindeki değişimi ifade eder. Hedef genin uygun bir referans genine ilişkin ifadesini hesaplamak için çeşitli matematiksel modeller oluşturulmuştur. Hesaplamalar, döngülerin karşılaştırılmasına dayanır. Floresan değerlerinin eşik değerini geçtiği noktaya döngü sayısı (Cp, crossing point) denir. Eşik değeri (Ct, threshold value), sistemin floresan miktarındaki artışın başladığı ve PCR ürününün log-lineer fazda eksponensiyal olarak artmaya başladığı zamandır. Sabit bir floresans seviyesindeki örneğin Cp ve Ct değerleri matematiksel formüllerle belirlenir. Elde edilen sonuçların kantite edilmesinde Cp metodu ($2^{-\Delta\Delta C_p}$ metodu) göreceli kantitasyon için normalize edilmiş gen ekspresyonunun matematiksel formülüdür (90).

Her bir örnek için PCR amplifikasyonu sırasında Cp değerini tespit edilerek, $2^{-\Delta\Delta C_p}$ formülü kullanılır. Çalışmamızda her örnek ikili çalışıldı ve Cp değerlerinin ortalamaları alındı. Kontrol olarak aldığımız gruba göre diğer grupların nasıl değişim gösterdiği aşağıdaki formül kullanılarak belirlendi.

$$\text{Kat değişimi} = 2^{-\Delta\Delta C_p} = 2^{-(\Delta C_p \text{ hedef} - \Delta C_p \text{ kontrol})} \text{ eşitliği kullanılarak hesaplandı (90).}$$

Bu eşitliğe göre ΔC_p hedef: Cp hedef gen-Cp referans gen (housekeeping gen), ΔC_p kontrol: Cp Hedef gen-Cp Referans gen.

3.2.11. Agaroz Jel Elektrofrez

3.2.11.1 Agaroz Jel Elektrofrezinde Kullanılan Çözeltiler

Tris-asetik asit-EDTA Elektrofrez Tamponu: 242 g Tris, 37.2 g Na₂EDTA.2H₂O yaklaşık 750 mL deiyonize çözüldü ve üzerine 57.1 mL asetik asit ilave edildi. Bu çözelti 1 M NaOH ile pH 8.5'a ayarlandı ve son hacim deiyonize su ile 1 L'ye tamamlandı. Hazırlanan bu tampon 50 kat seyreltildi. Elektrofrez tamponu ve agaroz jelin hazırlanmasında kullanıldı.

Etidyum Bromür Çözeltisi: 100 mg etidyum bromür 10 mL deiyonize suda çözüldü ve 10 mg/mL'lik stok çözelti elde edildi. Bu stok +4 °C'de saklandı.

%2'lik Agaroz Jel Hazırlanması: 1.5 g agaroz 100 mL TAE tamponunda çözüldü ve mikrodalga fırında yaklaşık 50-60 saniye karışımın çözünmesi sağlandı. Elde edilen jel biraz soğutulup üzerine 4 µL etidyum bromür eklendi, iyice karıştırıldı. Hazırlanan agaroz

jel kalıbına döküldü ve taraklar yerleştirildi. Jel tamamen donduktan sonra taraklar çıkartıldı ve elektroforez tankına yerleştirildi.

3.2.11.2. Real Time-PCR ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Yürütülmesi

Real Time-PCR ürünlerinden 16 µL alındı ve 4 µL yükleme boyası ile karıştırıldı. Karışım elektroforez tankındaki jelin kuyucuklarına yüklendikten sonra 100 volt 300 amperde numunelerin göçü sağlandı. Daha sonra jel Ultra Viyole (UV) ışıkta görüntülendi ve fotoğrafı çekildi. Jel görüntülerinden elde edilen sonuçlar Resim 1’de verildi.



Resim 1. RT-PCR’den sonra miRNA ürünlerin agaroz jel görüntüsü. Jele yüklenen ürünler sırasıyla 1: Snord61 0.saat, 2: Snord61 2.saat, 3: Snord61 4.saat, 4: Snord61 6.saat, 5: miRNA 122 0. saat, 6: miRNA 122 2. saat, 7: miRNA 122 4. saat, 8: miRNA 122 6. saat, 9: miRNA 30c 0. saat, 10: miRNA 30c 2. saat, 11: miRNA 30c 4. saat, 12: miRNA 30c 6. saat, 13: miRNA 33a 0. saat, 14: miRNA 33a 2. saat, 15: miRNA 33a 4. saat, 16: miRNA 33a 6. saattir.

3.3. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Veriler SPSS (IBM SPSS 23) programında istatistiksel olarak değerlendirildi. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu “Shapiro-Wilk” testi yapılarak, bağımsız ikili testlerin karşılaştırılmasında normal dağılıma uyan parametreler “Student t”, normal dağılıma uymayan parametreler “Mann-Withney U” testi ile değerlendirildi. Bağımlı ikili testlerin karşılaştırılmasında ise normal dağılıma uyan parametreler “paired-sample t test”, normal dağılıma uymayan parametreler “Wilcoxon” testi ile değerlendirildi. Bağımlı üçlü testlerin karşılaştırılmasında normal dağılıma uyan parametreler için “Tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi”, normal dağılıma uymayan parametreler için ise “Freidman iki yönlü varyans analizi” testleri kullanılarak değerlendirildi. Herbir gruba ait değerler, normal dağılıma uyanlar aritmetik ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$), normal dağılıma uymayan parametreler medyançeyrekler arası aralık (IQR) olarak ifade edildi. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışmaya alınacak gönüllü sayısını belirlemek amacıyla power analizi yapıldı. MedCalc (MedCalc Software 19.1) programını kullanarak elde ettiğimiz sonuçlara göre; etki büyüklüğü 0,6 kabul edildiğinde, %5 tip 1 hata ile gerçekleştirilecek çalışmanın %90 güce ulaşabilmesi için her bir grup için ideal olarak 19 gönüllünün çalışmaya alınması gerektiği hesaplandı.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubuna Ait Parametrelerin Analizi

Çalışmamıza katılan hasta ve kontrol grubuna ait ortalama ölçüm değerleri ve ilgili analizler aşağıda yer almaktadır.

4.1.1. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubuna Ait Antropometrik Değerler

Çalışmamıza katılan hasta ve kontrol grubuna ait antropometrik değerler Tablo 12’de verildi.

Tablo 12. MetS ile kontrol grubuna ait antropometrik değerler

Parametreler	Kontrol (n=22)	Mets (n=22)	p
Yaş (yıl)	42.5±7.0	43.5±7.6	0.638
Boy (m)	1.70±0.095	1.69±0.103	0.717
Kilo (kg)	73.6±12.7	94.0 ±16.6	0.0001
VKI (kg/m ²)	25.2±2.98	32.9±5.63	0.0001
Bel Çevresi (cm)	93.9±11.5	115±14.1	0.0001
Kalça Çevresi (cm)	105±7.73	115±9.13	0.0001
Bel/Kalça Oranı	0.898±0.079	1.01±0.093	0.0001
Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	120 (110-120)	130 (120-140)	0.0001*
Diastolik Kan Basıncı (mmHg)	70 (60-70)	80 (70-90)	0.0001*

Sonuçlar, ortalama± standart sapma şeklinde verildi.

p; “Student t” testine göre verildi.

*p; “Mann-Whitney U” testine göre verildi. (p<0.05)

Hasta ile kontrol grubunun yaş ve boy ortalamaları arasında anlamlı bir fark yoktur. Hasta grubunun kilosu, vücut kitle indeksi (VKİ), bel çevresi, kalça çevresi, bel/kalça oranı, sistolik ve diastolik kan basıncı değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir.

4.1.2. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Lipid, Glukoz, İnsülin ve HOMO-IR Düzeyleri

Hasta ve kontrol grubunun 12 saatlik açlık sonrası ölçülen serum lipid, glukoz, insülin ve HOMO-IR düzeyleri açısından değerlendirilmesi Tablo 13’te verildi.

Tablo 13. MetS ile kontrol grubuna ait lipid, glukoz, insülin ve HOMO-IR düzeyleri

Parametreler	Kontrol (n=22)	MetS (n=22)	P
TG (mg/dL)	85±21	235±67	0.0001
TK (mg/dL)	185±35	219±35	0.002
LDL-K (mg/dL)	139±30	168 ±31	0.003
HDL-K (mg/dL)	48±12	40±6	0.010
Glukoz (mg/dL)	90 (88-94)	105 (100-117)	0.0001*
İnsülin (µIU/mL)	5.99 (3.39-14)	17 (10-26)	0.0001*
HOMA-IR	1.28 (0.760-2.98)	4.19 (2.92-7.18)	0.0001*

.p; "Student t" testine göre ve sonuçlar, $X \pm SD$ şeklinde verildi.

*p; "Mann-Whitney U" testine göre ve sonuçlar, medyan (IQR) şeklinde verildi. ($p < 0.05$)

Hasta ile kontrol grubu arasında TG, TK, LDL-K, HDL-K, glukoz, insülin ve HOMO-IR değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Hasta grubunda TG, TK, LDL-K, glukoz, insülin ve Homeostatic Model of Assessment-Insulin Resistance (HOMO-IR) düzeyleri anlamlı olarak yüksek (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.002$, $p=0.003$, $p=0.0001$, $p=0.0001$, $p=0.0001$), HDL-K düzeyi anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0.0001$).

4.2. Çalışma Grubuna Ait OTTT Analizleri

Çalışmamıza katılan hasta ve kontrol grubuna 12 saatlik açlığı takiben OTTT uygulandı. Buna göre hasta ve kontrol grubunda, açlık (0.saat) ve postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde saptanan TG düzeyi, miRNA ekspresyon seviyesi, Apo B48, MTTP, Apo A1, ABCA1 proteinlerinin seviyeleri ve şilomikron partikül boyutu parametrelerine ait ortalama/ortanca ölçüm değerleri ve ilgili analizler aşağıda yer almaktadır.

4.2.1. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Zamana Göre TG Düzeyleri ve OTTT Grafiği

OTTT uygulanan hasta ve kontrol grubunun serum TG düzeyleri açısından zamana göre değerlendirilmesi Tablo 14 ve Şekil 15'te verildi.

Tablo 14. MetS ile kontrol grubunun saatlere göre TG değerleri

Parametreler	Kontrol (n=22)	MetS (n=22)	p
TG (mg/dL) 0.saat	85±21	235±67	0.0001
TG (mg/dL) 2.saat	127±31 ^a	283±81 ^a	0.0001
TG (mg/dL) 4.saat	133±33 ^a	320±91 ^{a, b}	0.0001
TG (mg/dL) 6.saat	118±37 ^{a, c}	281±87 ^{a, c}	0.0001
p	0.0001*	0.0001*	
AUC	723±161	1722±464	0.0001

p; "student t test " testine göre ve sonuçlar, $X \pm SD$ şeklinde verildi.

*p: "tekrarlı ölçümlerde varyans analizi " testine göre verildi. Grup içindeki zamanlar arası posthoc değerlendirmeler "paired sample t" testine göre yapıldı.

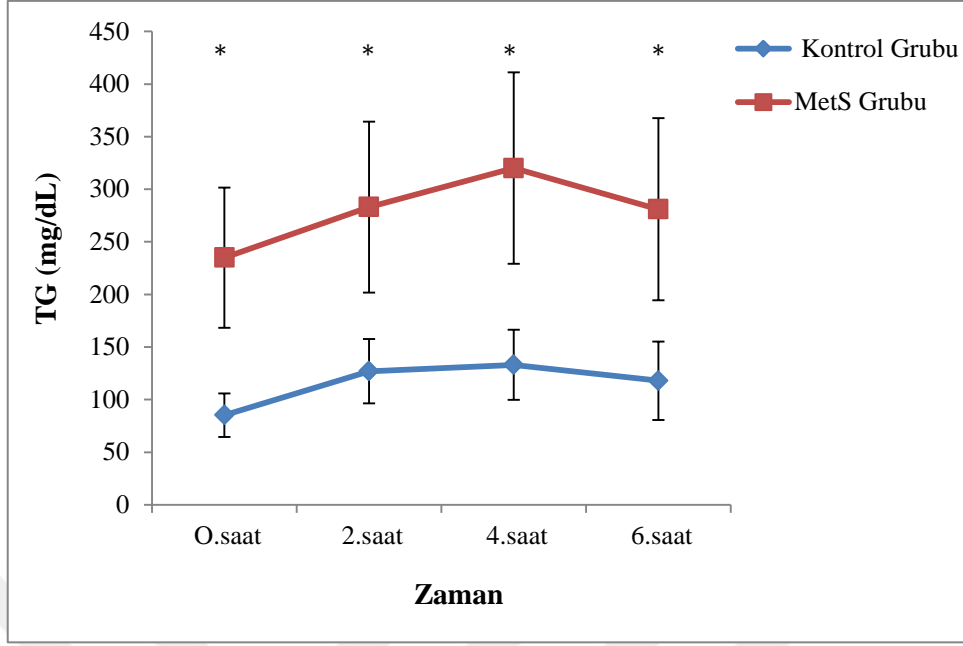
a: 0. saate göre anlamlı farklı,

b: 2. saate göre anlamlı farklı,

c: 4. saate göre anlamlı farklı olarak değerler verildi. ($p < 0.05$)

Kontrol grubunun OTTT testi sonucunda, TG seviyelerinin zamana göre seyrinde istatistiksel olarak anlamlı değişim görüldü ($p=0.0001$). Kontrol grubunda açlık (0. saat) ile karşılaştırıldığında TG seviyesinde postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde anlamlı artış görüldü (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.0001$, $p=0.0001$). Postprandiyal 2. saat ile karşılaştırıldığında TG seviyesinde 4. ve 6. saatlerde anlamlı fark görülmedi (sırasıyla $p=0.180$, $p=0.199$). Postprandiyal 4. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında TG seviyesinde 6. saatte anlamlı azalış görüldü ($p=0.007$).

Hasta grubunun OTTT testi sonucunda, TG seviyelerinin zamana göre seyrinde istatistiksel olarak anlamlı değişim görüldü ($p=0.0001$). Hasta grubunda açlık (0. saat) ile karşılaştırıldığında TG seviyesinde postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde anlamlı artış görüldü (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.0001$, $p=0.002$). Postprandiyal 2. saat ile karşılaştırıldığında TG seviyesinde 4. saatte anlamlı artış görülürken, 6. saatte anlamlı fark görülmedi (sırasıyla $p=0.003$, $p=0.896$). Postprandiyal 4. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında TG seviyesinde 6. saatte anlamlı azalış görüldü ($p=0.0001$).



Şekil 15. MetS ile kontrol grubunun OTTT grafiği [*MetS grubunun TG değerleri kontrol grubuna göre yüksek bulundu (p=0.0001)]

Her iki grupta da serum TG seviyelerinin postprandiyal 4. saatte pik değerine ulaştığı görülmektedir. Hasta grubunda TG seviyeleri kontrol grubuna göre açlık (0. saat) ve postprandiyal tüm zamanlarda (2, 4 ve 6. saatler) anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.0001). Hasta grubunda saatler arası TG seviyelerindeki değişim miktarının da kontrol grubuna göre yüksek olduğu görülmektedir.

Hasta grubunda AUC değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.0001).

4.2.2. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Zamana Göre TK Düzeyleri

OTTT uygulanan hasta ve kontrol grubunun serum TK düzeyleri açısından zamana göre değerlendirilmesi Tablo 15'te verildi.

Tablo 15. MetS ile kontrol grubunun saatlere göre TK değerleri

Parametreler	Kontrol (n=22)	MetS (n=22)	p
TK (mg/dL) 0.saat	185±35	219±35	0.002
TK (mg/dL) 2.saat	182±37	215±35	0.004
TK (mg/dL) 4.saat	181±35	216±35	0.002
TK (mg/dL) 6.saat	186±36	222±34	0.001
p	0.096*	0.085*	

p: "student t test " testine göre ve sonuçlar, X ± SD şeklinde verildi.

*p: "tekrarlı ölçümlerde varyans analizi " testine göre verildi.

Hasta ve kontrol grubunun OTTT testi sonucunda, TK seviyelerinin zamana göre seyirinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi (sırasıyla p=0.085, p=0.096).

Hasta grubunda TK seviyeleri kontrol grubuna göre açlık (0. saat) ve postprandiyal tüm zamanlarda (2, 4 ve 6. saatler) anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla p=0.002, p=0.004, p=0.002, p=0.001).

4.2.3. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Zamana Göre MikroRNA Ekspresyon Değerleri

OTTT uygulanan kontrol grubunun grup içinde zamana göre plazma miRNA ekspresyon seviyelerinin değişimi Tablo 16 ve Şekil 16'da, hasta grubunun grup içinde zamana göre plazma miRNA ekspresyon seviyelerinin değişimi Tablo 17 ve Şekil 17'de verildi. Hasta ve kontrol grubu arasındaki miRNA ekspresyon seviyelerinin analizi Tablo 18 ve Şekil 18'de verildi.

Tablo 16. Kontrol grubunda saatlere göre mikroRNA ekspresyon düzeyleri

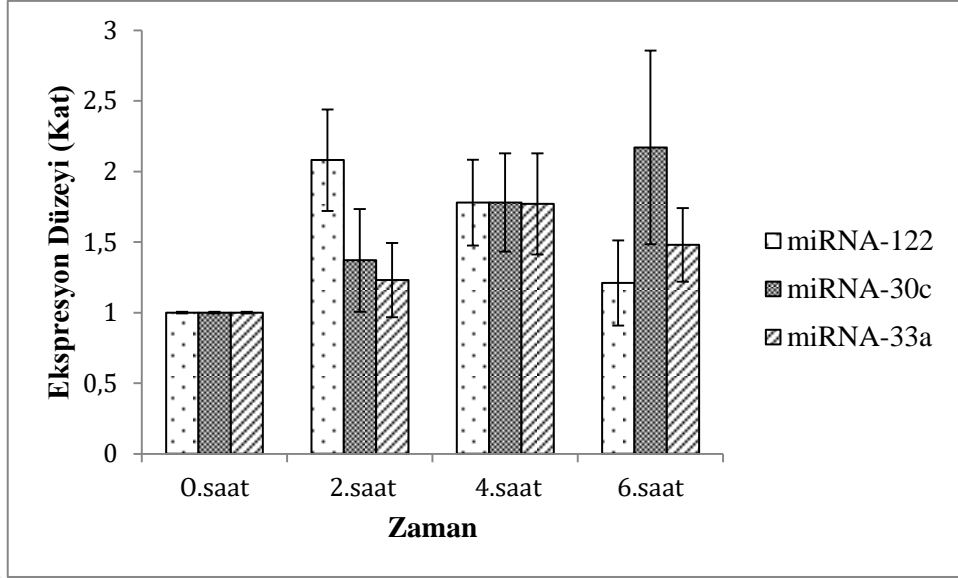
Parametreler	0.saat	2.saat	4.saat	6.saat	p
miRNA 122	1.00±0	2.08±0.360 ^a	1.78±0.304 ^{a, b}	1.21±0.301 ^{a, b, c}	0.0001
miRNA 30c	1.00±0	1.37±0.363 ^a	1.78±0.348 ^{a, b}	2.17±0.686 ^{a, b, c}	0.0001
miRNA 33a	1.00±0	1.23±0.263 ^a	1.77±0.358 ^{a, b}	1.48±0.260 ^{a, b, c}	0.0001

p: "tekrarlı ölçümlerde varyans analizi " testine göre ve X ± SD şeklinde verildi. Grup içindeki zamanlar arası posthoc değerlendirmeler "paired sample t" testine göre yapıldı.

a: 0. saate göre anlamlı farklı,

b: 2. saate göre anlamlı farklı,

c: 4. saate göre anlamlı farklı olarak değerler verildi. (p<0.05)



Şekil 16. Kontrol grubunun zamana göre mikroRNA değerleri

Kontrol grubunda miRNA-122, miRNA-30c ve miRNA-33a parametrelerinin üçünün de ekspresyon düzeylerinde zamana göre anlamlı değişim görüldü ($p=0.0001$).

Kontrol grubunda miRNA-122 seviyesi postprandiyal 2. saatte pik düzeye çıkıp 4. ve 6. saatlerde anlamlı bir azalış seyri göstermektedir ($p=0.0001$). Açlık (0. Saat) ile karşılaştırıldığında miRNA-122 seviyesinde postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde anlamlı artış görüldü (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.0001$, $p=0.004$). Postprandiyal 2. saat ile karşılaştırıldığında miRNA-122 seviyesinde 4. ve 6. saatlerde anlamlı azalış görüldü (sırasıyla $p=0.004$, $p=0.0001$). Postprandiyal 4. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında miRNA-122 seviyesinde 6. saatte anlamlı azalış görüldü ($p=0.0001$).

Kontrol grubunda miRNA-30c seviyesi postprandiyal 2, 4 ve 6. saatler arasında zamanla birlikte anlamlı artış seyri göstermektedir ($p=0.0001$). Açlık (0. saat) ile karşılaştırıldığında miRNA-30c seviyesinde postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde anlamlı artış görüldü (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.0001$, $p=0.0001$). Postprandiyal 2. saat ile karşılaştırıldığında miRNA-30c seviyesinde 4. ve 6. saatlerde anlamlı artış görüldü (sırasıyla $p=0.001$, $p=0.0001$). Postprandiyal 4. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında miRNA-30c seviyesinde 6. saatte anlamlı artış görüldü ($p=0.026$).

Kontrol grubunda miRNA-33a seviyesi postprandiyal 4. saatte pik düzeye çıkıp 6. saatte anlamlı bir azalış seyri göstermektedir ($p=0.0001$). Açlık (0. saat) ile karşılaştırıldığında miRNA-33a seviyesinde postprandiyal 2, 4. ve 6. saatlerde anlamlı artış

görüldü (sırasıyla $p=0.001$, $p=0.0001$, $p=0.0001$). Postprandiyal 2. saat ile karşılaştırıldığında miRNA-33a seviyesinde 4. ve 6. saatlerde anlamlı artış görüldü (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.007$). Postprandiyal 4. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında miRNA-33a seviyesinde 6. saatte anlamlı azalış görüldü ($p=0.009$).

Tablo 17. MetS grubunda saatlere göre mikroRNA ekspresyon düzeyleri

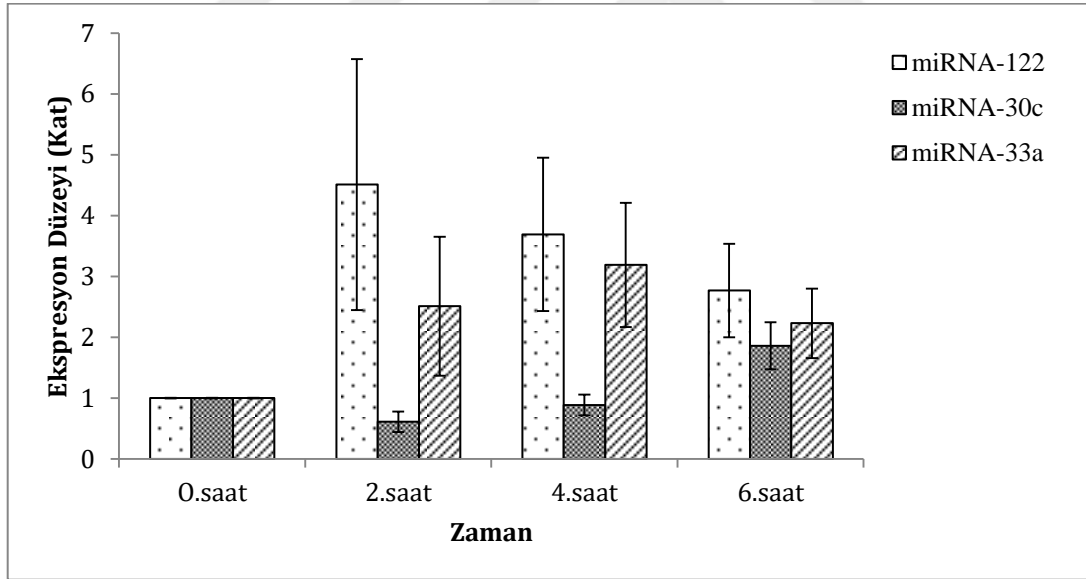
Parametreler	0.saat	2.saat	4.saat	6.saat	p
miRNA-122	1.00±0	4.51±2.06 ^a	3.69±1.26 ^{a, b}	2.77±0.769 ^{a, b, c}	0.0001
miRNA-30c	1.00±0	0.611±0.167 ^a	0.887±0.170 ^{a, b}	1.86±0.387 ^{a, b, c}	0.0001
miRNA-33a	1.00±0	2.51±1.14 ^a	3.19±1.02 ^a	2.23±0.570 ^{a, c}	0.0001

p: "tekrarlı ölçümlerde varyans analizi" testine göre ve sonuçlar $X \pm SD$ şeklinde verildi. Grup içindeki zamanlar arası posthoc değerlendirmeler "paired sample t" testine göre yapıldı.

a: 0. saate göre anlamlı farklı,

b: 2. saate göre anlamlı farklı,

c: 4. saate göre anlamlı farklı olarak değerler verildi ($p<0.05$).



Şekil 17. MetS grubunun zamana göre mikroRNA değerleri

Hasta grubunda da miRNA-122, miRNA-30c ve miRNA-33a parametrelerinin zamana göre ekspresyon düzeylerinde anlamlı değişim görüldü ($p=0.0001$). Hasta grubunda miRNA-122 ve miRNA-33a parametrelerinin ekspresyon seviyelerinin zamana göre seyri kontrol grubuyla benzerlik göstermektedir. miRNA-30c seviyesi ise öncelikle postprandiyal 2. saate doğru azalış sonra 4. ve 6. saatlere doğru artış seyri göstermektedir.

Hasta grubunda kontrol grubuna benzer olarak miRNA-122 seviyesi postprandiyal 2. saatte pik düzeye çıkıp 4. ve 6. saatlerde anlamlı bir azalış seyri göstermektedir (p=0.0001). Açlık (0. saat) ile karşılaştırıldığında miRNA-122 seviyesinde postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde anlamlı artış görüldü (sırasıyla p=0.0001, p=0.0001, p=0.0001). Postprandiyal 2. saat ile karşılaştırıldığında miRNA-122 seviyesinde 4. ve 6. saatlerde anlamlı azalış görüldü (sırasıyla p=0.035, p=0.0001). Postprandiyal 4. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında miRNA-122 seviyesinde 6. saatte anlamlı azalış görüldü (p=0.001).

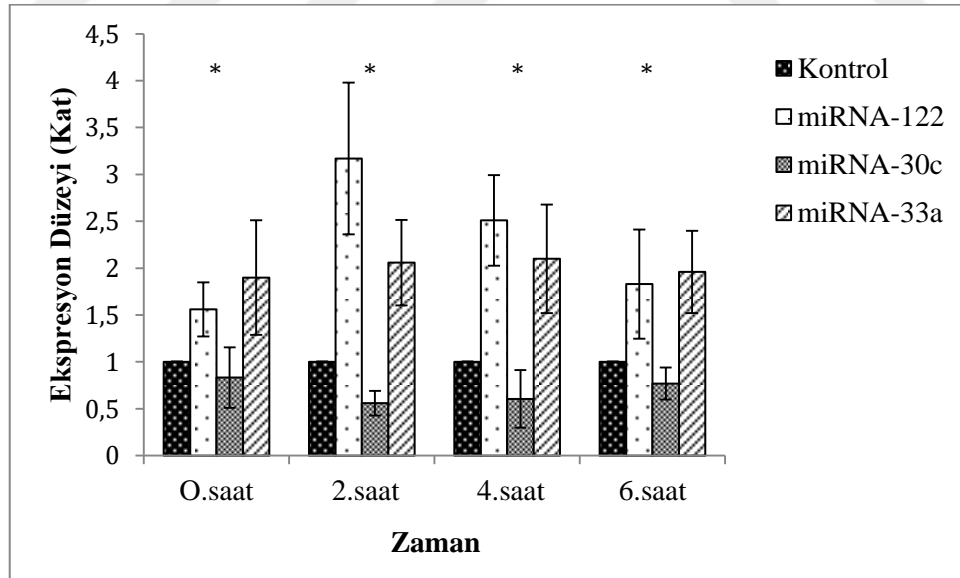
Hasta grubunda miRNA-30c seviyesi postprandiyal 2. saate doğru azalış sonrasında 4. ve 6. saatlere doğru artış seyri göstermektedir (p=0.0001). Açlık (0. saat) ile karşılaştırıldığında hasta grubunda miRNA-30c seviyesi 2. ve 4. saatlerde anlamlı azalış, 6. saatte anlamlı artış göstermektedir (sırasıyla p=0.0001, p=0.005, p=0.0001). Postprandiyal 2. saat ile karşılaştırıldığında miRNA-30c seviyesinde 4. ve 6. saatlerde anlamlı artış görüldü (sırasıyla p=0.0001, p=0.0001). Postprandiyal 4. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında miRNA-30c seviyesinde 6. saatte anlamlı artış görüldü (p=0.0001).

Hasta grubunda kontrol grubuna benzer olarak miRNA-33a seviyesi postprandiyal 4. saatte pik düzeye çıkıp 6. saate doğru anlamlı azalış seyri göstermektedir (p=0.0001). Açlık (0. saat) ile karşılaştırıldığında miRNA-33a seviyesinde postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde anlamlı artış görüldü (sırasıyla p=0.001, p=0.0001, p=0.0001). Postprandiyal 2. saat ile 4. saat karşılaştırıldığında miRNA-33a ekspresyon seviyesindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,060). Postprandiyal 2. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında miRNA-33a seviyesinde 6. saatte azalış görülürken bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,173). Postprandiyal 4. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında miRNA-33a seviyesinde 6. saatte anlamlı azalış görüldü (p=0.0001).

Tablo 18. MetS ve kontrol grubu arasında saatlere göre mikroRNA ekspresyon düzeyleri

Parametreler	Zaman	Kontrol	MetS	p
miRNA-122	0.saat	1.00±0	1.56±0.289	0.0001
miRNA-122	2.saat	1.00±0	3.17±0.809	0.0001
miRNA-122	4.saat	1.00±0	2.51±0.484	0.0001
miRNA-122	6.saat	1.00±0	1.83±0.582	0.0001
miRNA-30c	0.saat	1.00±0	0.833±0.323	0.020
miRNA-30c	2.saat	1.00±0	0.559±0.131	0.0001
miRNA-30c	4.saat	1.00±0	0.605±0.308	0.0001
miRNA-30c	6.saat	1.00±0	0.769±0.171	0.0001
miRNA-33a	0.saat	1.00±0	1.90±0.612	0.0001
miRNA-33a	2.saat	1.00±0	2.06±0.456	0.0001
miRNA-33a	4.saat	1.00±0	2.10±0.579	0.0001
miRNA-33a	6.saat	1.00±0	1.96±0.439	0.0001

p; "student t test" testine göre ve $X \pm SD$ şeklinde verildi ($p < 0.05$).



Şekil 18. MetS grubunun kontrol grubuna göre miRNA ekspresyon düzeyleri

Hasta grubu ile kontrol grubunun miRNA ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında açlık ve postprandiyal tüm zamanlarda tüm miRNA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark vardır. Hasta grubunda miRNA-122 ve miRNA-33a ekspresyon seviyeleri 0, 2, 4 ve 6. saatlerde kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p=0.0001$). Hasta grubunda 0, 2, 4 ve 6. saatlerde miRNA-30c ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu (sırasıyla $p=0.020$, $p=0.0001$, $p=0.0001$, $p=0.0001$).

4.2.4. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Zamana Göre Apo B48 ve MTTP Seviyeleri

Şilomikronun yapısında bulunan Apo B48 ve MTTP proteinlerinin seviyeleri ELISA yöntemiyle ölçüldü. OTTT uygulanan kontrol grubunun grup içinde zamana göre serum Apo B48 ve MTTP seviyelerinin değişimi Tablo 19 ve Şekil 19'da, hasta grubunun grup içinde zamana göre serum Apo B48 ve MTTP seviyelerinin değişimi Tablo 20 ve Şekil 20'de verildi. Hasta ve kontrol grubu arasındaki serum Apo B48 ve MTTP seviyelerinin analizi Tablo 21, Şekil 21 ve Şekil 22'de verildi.

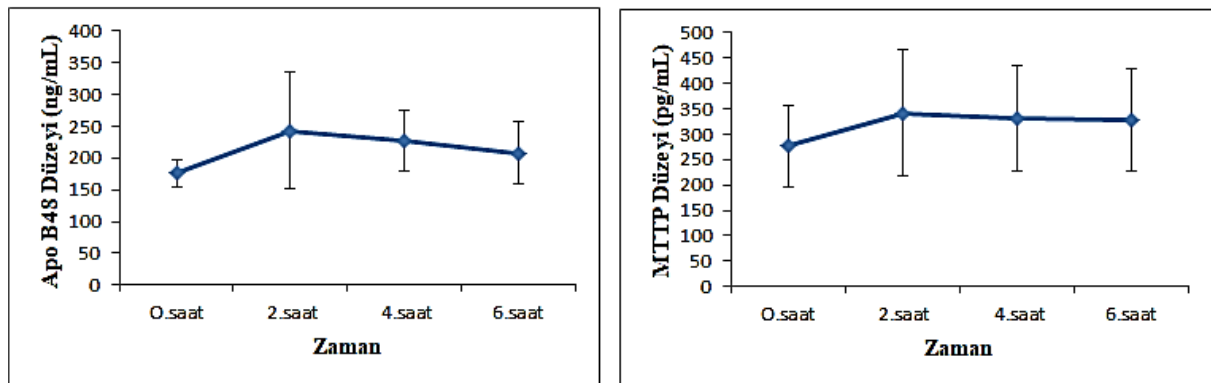
Tablo 19. Kontrol grubunda saatlere göre Apo B48 ve MTTP değerleri

Parametreler	0.saat	2.saat	4.saat	6.saat	p
Apo B48 (ng/mL)	176±20.7	243±91.3 ^a	227±47.0 ^a	208±49.0 ^a	0.001
MTTP (pg/mL)	277±80.7	342±125 ^a	332±104 ^a	328±102 ^{a, b}	0.021

p; "tekrarlı ölçümlerde varyans analizi" testine göre ve sonuçlar $X \pm SD$ şeklinde verildi. Grup içindeki zamanlar arası posthoc değerlendirmeler "paired sample t" testine göre yapıldı.

a: 0. saate göre anlamlı farklı,

b: 2. saate göre anlamlı farklı olarak değerler verildi ($p<0.05$).



Şekil 19. Kontrol grubunda zamana göre Apo B48 ve MTTP değerlerinin grafiği

Kontrol grubunda serum Apo B48 ve MTTP seviyelerinde zamana göre (0, 2, 4 ve 6. saatler arası) anlamlı değişim görüldü (sırasıyla $p=0.001$, $p=0.021$). Her iki parametrede de aılıktan postprandiyal 2.saate geçişte artış, postprandiyal dönemde ise zamanla azalış seyri görülmektedir. Ancak postprandiyal dönemdeki (2, 4 ve 6. saatler arası) Apo B48 ve MTTP seviyelerinin azalış seyri istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla $p=0.195$, $p=0.422$).

Kontrol grubunda, aılık (0. saat) ile karşılaştırıldığında postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde Apo B48 seviyesinde anlamlı artış görüldü (sırasıyla $p=0.002$, $p=0.0001$, $p=0.002$). Postprandiyal 2. saat ile karşılaştırıldığında Apo B48 seviyesinde 4 ve 6. saatlerde anlamlı bir fark görülmedi (sırasıyla $p=0.345$, $p=0.128$). Postprandiyal 4. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında Apo B48 seviyesinde anlamlı bir fark görülmedi ($p=0.199$).

Kontrol grubunda, aılık (0. saat) ile karşılaştırıldığında postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde MTTP seviyesinde anlamlı artış görüldü (sırasıyla $p=0.004$, $p=0.020$, $p=0.013$). Postprandiyal 2. saat ile karşılaştırıldığında MTTP seviyesinde 4. ve 6. saatlerde anlamlı bir fark görülmedi (sırasıyla $p=0.726$, $p=0.586$). Postprandiyal 4. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında MTTP seviyesinde anlamlı bir fark görülmedi ($p=0.842$).

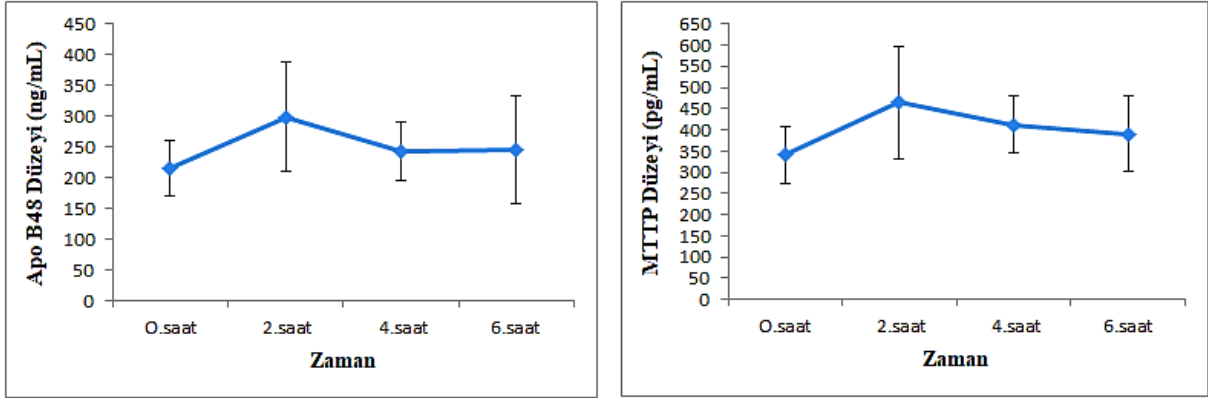
Tablo 20. MetS grubunda saatlere göre Apo B48 ve MTTP değerleri

Parametreler	0.saat	2.saat	4.saat	6.saat	p
Apo B48 (ng/mL)	215±45.0	299±88.4 ^a	243±47.0 ^{a,b}	246±88.1 ^b	0.002
MTTP (pg/mL)	341±67.9	465±133 ^a	413±67.1 ^a	391±87.8 ^{a,b}	0.001

p; "tekrarlı ölçümlerde varyans analizi " testine göre ve sonuçlar $X \pm SD$ şeklinde verildi. Grup içindeki zamanlar arası posthoc değerlendirmeler "paired sample t" testine göre yapıldı.

a: 0. saate göre anlamlı farklı,

b: 2. saate göre anlamlı farklı olarak değerler verildi ($p<0.05$).



Şekil 20. MetS grubunda zamana göre Apo B48 ve MTTP değerlerinin grafiği

Hasta grubunda da kontrol grubuna benzer olarak serum Apo B48 ve MTTP seviyelerinde zamana göre (0, 2, 4 ve 6. saatler arası) anlamlı değişim görüldü (sırasıyla $p=0.002$, $p=0.001$). Kontrol grubuna benzer olarak hasta grubunda da postprandiyal dönemdeki (2,4 ve 6. saatler arası) Apo B48 ve MTTP seviyelerinin değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla $p=0.280$, $p=0.113$).

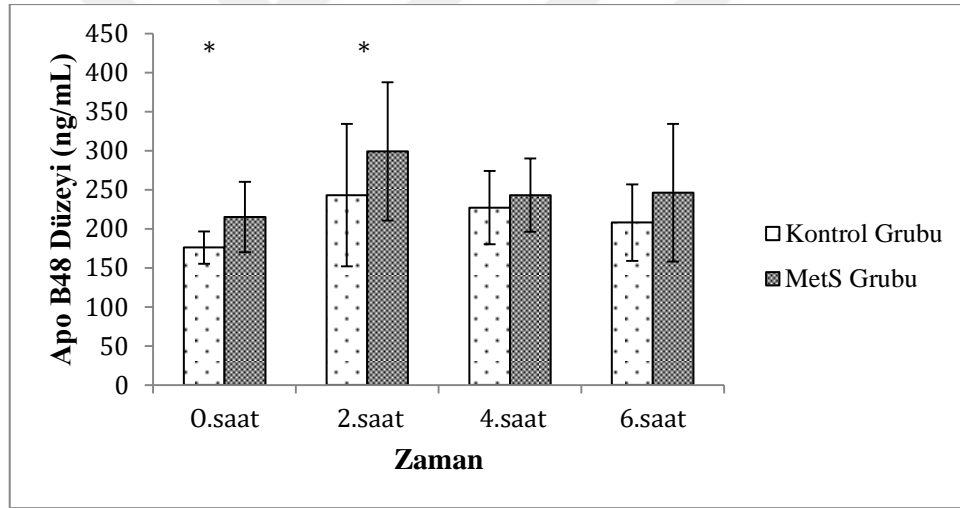
Hasta grubunda, açlık (0. saat) ile karşılaştırıldığında postprandiyal 2. ve 4. saatlerde Apo B48 seviyesinde anlamlı artış görülürken, postprandiyal 6. saatteki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.065$, $p=0.161$). Postprandiyal 2. saat ile karşılaştırıldığında Apo B48 seviyesinde 4. ve 6. saatlerde anlamlı bir azalış görüldü. (sırasıyla $p=0.019$, $p=0.013$). Postprandiyal 4. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında Apo B48 seviyesinde anlamlı bir fark görülmedi ($p=0.886$).

Hasta grubunda, açlık (0. Saat) ile karşılaştırıldığında postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde MTTP seviyesinde anlamlı artış görüldü (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.004$, $p=0.012$). Postprandiyal 2. saat ile karşılaştırıldığında MTTP seviyesinde 4. saatte anlamlı bir fark görülmezken, 6. saatte anlamlı azalış görüldü (sırasıyla $p=0.132$, $p=0.009$). Postprandiyal 4. saat ile 6. saat karşılaştırıldığında MTTP seviyesinde anlamlı fark görülmedi ($p=0.471$).

Tablo 21. MetS ile kontrol grubu arasında Apo B48 ve MTTP değerleri

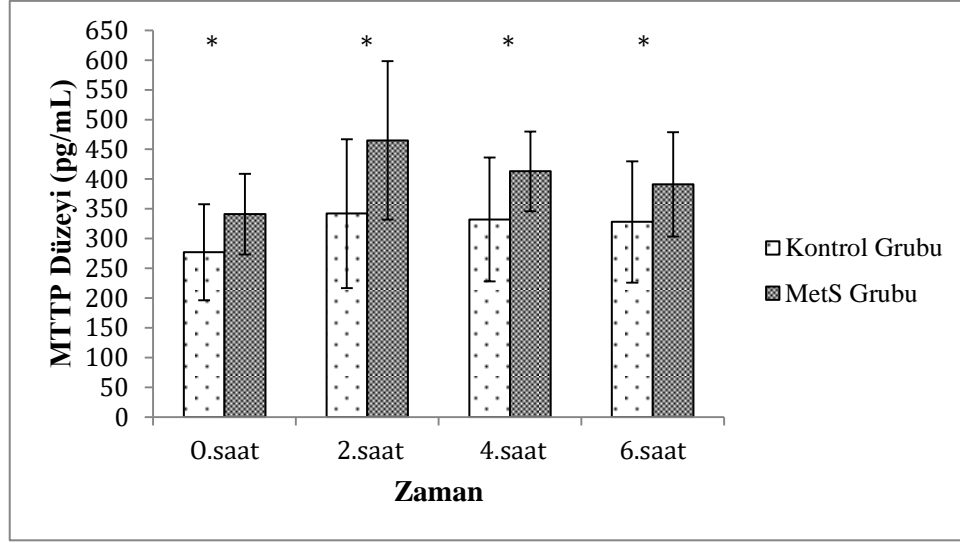
Parametreler	Zaman	Kontrol	Hasta	P
Apo B48 (ng/mL)	0.saat	176±20.7	215±45.0	0.008
Apo B48 (ng/mL)	2.saat	243±91.3	299±88.4	0.044
Apo B48 (ng/mL)	4.saat	227±47.0	243±47.0	0.133
Apo B48 (ng/mL)	6.saat	208±49.0	246±88.1	0.082
MTTP (pg/mL)	0.saat	277±80.7	341±67.9	0.012
MTTP (pg/mL)	2.saat	342±125	465±133	0.006
MTTP (pg/mL)	4.saat	332±104	413±67.1	0.005
MTTP (pg/mL)	6.saat	328±102	391±87.8	0.015

p: "paired-sample t test " testine göre $X \pm SD$ şeklinde verildi ($p < 0.05$).



Şekil 21. MetS ile kontrol grubunun zamana göre Apo B48 değerleri

Hasta ile kontrol grubunun Apo B48 seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunun 0. ve 2. saat değerleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p=0.008$, $p=0.044$). Ancak hasta grubunun 4. ve 6.saat Apo B48 değerleri kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla $p=0.133$, $p=0.082$).



Şekil 22. MetS ile kontrol grubunun zamana göre MTTP değerleri

Hasta ile kontrol grubunun MTTP seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunun MTTP seviyeleri kontrol grubuna göre açlık (0. saat) ve postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla $p=0.012$, $p=0.006$, $p=0.005$, $p=0.015$).

4.2.5. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Zamana Göre Apo A1 ve ABCA1 Seviyeleri

Çalışmamızda Apo A1 ve ABCA1 proteinlerinin açlık ve postprandiyal 4. saat seviyeleri ELISA yöntemiyle ölçüldü. Oral trigliserid tolerans testi uygulanan kontrol grubunun grup içinde 0. ile 4.saat arasındaki serum Apo A1 ve ABCA1 seviyelerinin değişimi Tablo 22’de, hasta grubunun grup içinde 0. ile 4.saat arasındaki serum Apo A1 ve ABCA1 seviyelerinin değişimi Tablo 23’te verildi. Hasta ve kontrol grubu arasındaki serum Apo A1 ve ABCA1 seviyelerinin analizi Tablo 24, Şekil 23 ve Şekil 24’te verildi.

Tablo 22. Kontrol grubunda saatlere göre ApoA1 ve ABCA1 değerleri

Parametreler	0.saat	OTTT 4.saat	p
Apo A1 (ng/mL)	54.8±12.6	73.4±16.0	0.004
ABCA1 (ng/mL)	2.21±1.35	3.79±1.69	0.003

p; "paired-sample t test " testine göre ve sonuçlar $X \pm SD$ şeklinde verildi ($p<0.05$).

Kontrol grubunda serum Apo A1 ve ABCA1 seviyeleri postprandiyal 4.saatte açlık durumuna göre (0. saat) anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla p=0.004, p=0.003).

Tablo 23. MetS grubunda saatlere göre Apo A1 ve ABCA1 değerleri

Parametreler	0.saat	4.saat	p
Apo A1 (ng/mL)	38.7±13.6	50.7±9.07	0.007
ABCA1 (ng/mL)	1.64±0.992	2.94±0.597	0.001

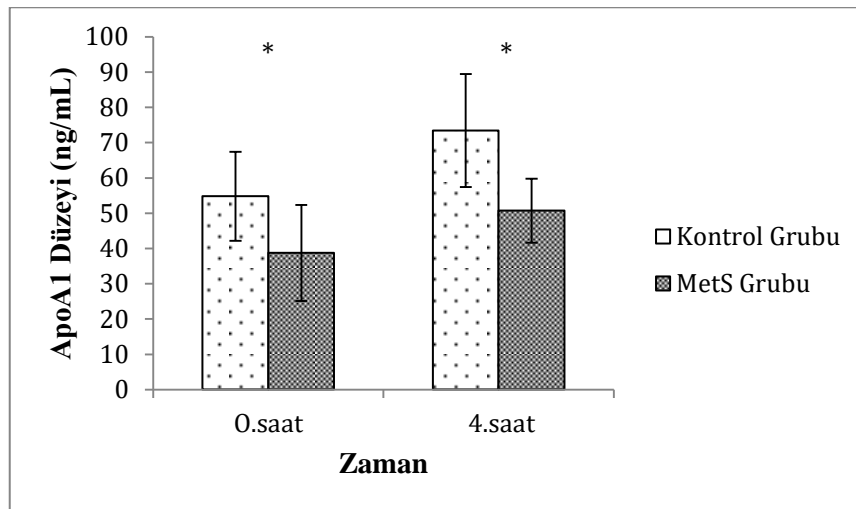
p; "paired-sample t test " testine göre ve sonuçlar X ± SD şeklinde verildi (p<0.05).

Hasta grubunda serum Apo A1 ve ABCA1 seviyeleri kontrol grubuna benzer şekilde postprandiyal 4. saate açlık durumuna göre anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla p=0.007, p=0.001).

Tablo 24. MetS ile kontrol grubu arasında Apo A1 ve ABCA1 değerleri

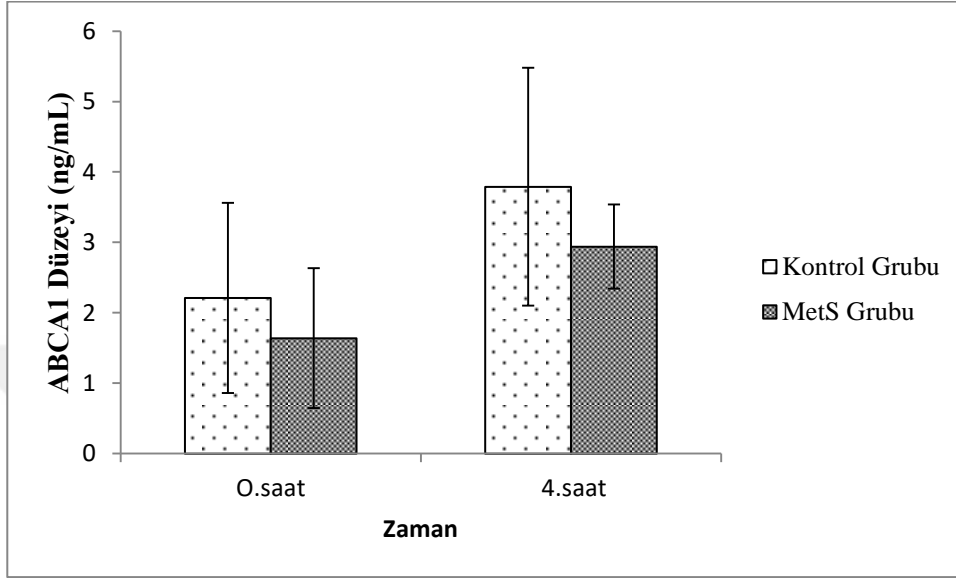
Parametreler	Zaman	Kontrol	Hasta	P
Apo A1 (ng/mL)	0.saat	54.8±12.6	38.7±13.6	0.0001
Apo A1 (ng/mL)	4.saat	73.4±16.0	50.7±9.07	0.0001
ABCA1 (ng/mL)	0.saat	2.21±1.35	1.64±0.992	0.181
ABCA1 (ng/mL)	4.saat	3.79±1.69	2.94±0.597	0.116

p; "paired-sample t test " testine göre ve sonuçlar X ± SD şeklinde verildi (p<0.05).



Şekil 23. MetS ile kontrol grubunun zamana göre Apo A1 değerleri

Hasta grubu ile kontrol grubunun Apo A1 seviyeleri karşılaştırıldığında hasta grubunda Apo A1 parametresinin 0 ve 4. saat değerleri kontrol grubuna göre anlamlı düşüktür (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.0001$).



Şekil 24. MetS ile kontrol grubunun zamana göre ABCA1 değerleri

Hasta grubu ile kontrol grubunun ABCA1 seviyeleri karşılaştırıldığında, ABCA1 parametresinin 0. ve 4. saat değerleri hasta grubunda kontrol grubuna göre düşüktür ancak istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (sırasıyla $p=0.181$, $p=0.116$).

4.2.6. Metabolik Sendromlu Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Postprandiyal 4. Saat Şilomikron Partikül Boyutları

OTTT uygulanan hasta ve kontrol grubu arasındaki postprandiyal 4.saat şilomikron partiküllerinin çap farklılıklarının analizi Tablo 25'te verildi.

Tablo 25. MetS ve Kontrol grubunun postprandiyal 4.saat ŞM partikül boyutu

Parametreler	Zaman	Kontrol	Hasta	p
ŞM çap (nm)	4. saat	191 (151-246)	305 (263-448)	0.0001

p; "Mann-Whitney U" testine göre ve sonuçlar medyan (IQR) şeklinde verildi p<0.05.

Hasta grubu ile kontrol grubunun plazma şilomikron partikül boyutları karşılaştırıldığında hasta grubunun 4. saat şilomikron çap değerleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (p=0.0001).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Postprandiyal lipemi tokluk döneminde TG bakımından zengin ŞM ve ŞM remnantlarının arttığı bir durumdur. Bu durum MetS ve DM hastaları için önemli bir risk faktörüdür (92). MetS'nin artan obezite düzeyleri ile paralel olarak arttığı ve tüm dünya için önemli bir sorun olduğu bilinmektedir. TEKHARF tarafından 2002 yılında ülkemizde yapılan çalışmada MetS sıklığı erkeklerde %27, kadınlarda %38.6 bulunmuştur (77). MetS önemli özelliklerinden biri olan dislipidemi olup, yüksek TG değerleri, serbest yağ asitlerinin artması, artmış Apo B ve düşük HDL-K seviyeleri ile ilgilidir (8).

Günümüzde insanların gıda tüketim alışkanlıkları değişmiştir ve yeme sıklığına bağlı olarak kişiler günün yaklaşık 18 saatlik zaman dilimini tokluk durumunda geçirirler. Plazma TG seviyeleri bazal seviyelere inmeden önce insanların TG yönünden zengin öğünlerin tüketilmesine devam ettiği görülmektedir. Bu nedenle insanların TG seviyelerinde lipemi derecesinde sürekli bir dalgalanma meydana gelmektedir (2). Açlık kan TG seviyeleri, diyetin içeriği ve metabolik aktivitenin kümülatif etkilerini gösterse de, gün içinde tüketilen yiyeceklerin veya öğünlerin etkisini tam olarak yansıtmazlar (9). Literatürde yer alan çalışmaların çoğu açlık TG seviyeleriyle ilgilidir ve klinisyenler sıklıkla açlık TG değerini kullanmaktadır (3). Açlık veya postprandiyal hipertrigliseridemi ateroskleroz ve kalp damar hastalıkları gelişimi için bağımsız bir risk faktörüdür (4, 5, 93). Açlık durumunun gün içinde kısa bir zaman dilimini kapsadığı düşünüldüğünde, risk değerlendirmesinde postprandiyal lipid profilini kullanmak açlık lipid profilini kullanmaktan daha yararlı olabilir (92).

Postprandiyal lipemi ile plazma miRNA ekspresyon ilişkisini incelemeyi amaçladığımız bu çalışmada dislipidemi olan 22 metabolik sendromlu hasta ve 22 sağlıklı kontrole OTTT uyguladık. MiRNA düzeyleri birçok faktörden etkilendiği için çalışmamızda hasta ve sağlıklı kontrol seçimine ayrı bir özen gösterildi. Gebelik, akut-kronik böbrek yetmezliği, karaciğer rahatsızlığı, sindirim-emilim bozukluğu, koroner arter hastalığı, kanser, menopoz, lipid düzeyini etkileyen ilaçlar, sigara ve alkol kullanımı dışlama kriteri olarak belirlendi. Literatürde postprandiyal lipeminin yaş ve cinsiyet faktörlerinden etkilendiği gösterilmiştir (32, 94). Bundan dolayı çalışmamızda hasta ve kontrol grubunun özellikle yaş ve cinsiyet dağılımının yakın olmasına özen gösterildi. Çalışmamızdaki hasta ve kontrol grubunun cinsiyet dağılımı eşittir ve yaş ortalamaları da

birbirine çok yakındır ($p=0.638$). Böylelikle çalışmamızın gücünü ve güvenilirliğini arttırdığımız kanaatindeyiz.

Metabolik Sendrom tanısı için çeşitli organizasyonlar tarafından farklı tanı kriterleri tanımlanmıştır. Ülkemize ait organizasyon olan Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği'nin yayınladığı 2005 kılavuzunda yer alan kriterlere göre çalışmamızın hasta grubu oluşturuldu. Bu derneğin Metabolik Sendrom Çalışma Grubu; insülin direncinin tanı kriterleri arasında olması gerektiğini savunmaktadır. Bu nedenle 1999-Dünya Sağlık Örgütü tanı kriterleriyle, daha sıkı metabolik eşik değerler hedefleyen 2001-NCEP ATP III tanı kriterlerinden oluşturulan yeni bir MetS tanı kılavuzu yayınlamıştır. İnsülin direncini belirlemek için klinik pratikte en sık HOMA formülü kullanılmaktadır. Sağlıklı kişilerde HOMA değeri 2.7'den düşüktür, bu değer 2.7'nin üzerinde olması insülin direncini yansıtır (86). Çalışmamıza katılan MetS'li hasta grubunun ve sağlıklı kontrol grubunun verileri Tablo 14 ve 15'te görülmektedir ve veriler metabolik sendromlu hasta ve sağlıklı kişileri yansıtacak şekilde literatürde yer alan tanı kriterleri ile uyumludur.

OTTT postprandiyal lipemi cevabını belirleyebilmek için kişilere yüksek yağlı diyet verilen bir test yöntemidir. Postprandiyal gliseminin değerlendirildiği oral glukoz tolerans testi (OGTT) uygulamasına benzer olarak böyle bir testin kullanılabilceği düşüncesi doğmuştur. OGTT uygulaması için resmi kılavuzlar mevcut iken OTTT uygulaması için standardize edilen resmi bir kılavuz bulunmamaktadır. Literatürde yer alan genel uygulamaya göre genellikle 2 saatte bir kan alımı gerçekleştirilir ve test toplamda 6 saat sürer (95). Literatürde yer alan genel uygulamalar doğrultusunda çalışmamızda toplam 6 saatlik süre zarfında gerçekleştirildi. OTTT öncesi (açlık) ve OTTT sonrası postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde alınan kan örnekleri değerlendirildi.

OTTT'de kullanılması gereken toplam yağ miktarını belirleyebilmek için doza bağlı çalışmalar yapılmıştır. Dubois ve ark. yaptığı çalışmada 0, 15, 30, 40 ve 50 g yağ içeren öğün kullanılmıştır. Sağlıklı erişkinlerde postprandiyal lipemi ve lipoproteinler üzerine 15 g ve altı yağ içeriğinin etkisi olmadığını, bu miktar üzerindeki öğünlerde ise yağ değerleri arttıkça serum TG ve ŞM seviyelerinin kademeli olarak arttığını göstermişlerdir (96). Kolovou ve ark. tarafından değerlendirilen 113 klinik çalışmanın yer aldığı meta analizde, OTTT yapılan klinik araştırmalar, kullandıkları yağ miktarına göre <40 g ile ≥ 120 g arasında 10 g fark olacak şekilde sınıflandırılmıştır. Bu meta analiz sonucunda, sağlıklı bireylerde postprandiyal lipemi araştırması için bir OTTT öğününde tüketilmesi

gereken ortalama yağ miktarının 60-79 g olması önerilmiştir (97). Yine Kolovou ve ark. tarafından 2010 yılında yapılan uzman panelinde, sağlıklı bireylerde postprandiyal lipemi araştırması için bir OTTT öğününde tüketilmesi gereken ortalama yağ miktarının 70-80 g (yaklaşık 75 g) olması önerilmiştir (87). Çalışmamızda da kişilere bu panelin önerileri doğrultusunda 75 g yağ, 25 g karbohidrat ve 10 g proteinden oluşan yaklaşık 815 kcal olacak şekilde hazırlanan öğün verildi.

OTTT'nin 6 saat gibi uzun sürmesi ve yüksek yağlı diyetin sabah aç karnına tüketilmesi gibi faktörler nedeniyle hastaların uyum sorunu göstermesi, yüksek maliyet ve iş yükü bu testin klinik kullanımını zorlaştırmaktadır. Test süresini ve kan miktarını azaltmak böylece klinik kullanımı kolaylaştırmak amacıyla çeşitli araştırmalar yapılmıştır (95). Weiss ve ark. farklı günlerde tekrarlayan çalışmalarla postprandiyal 8 saatlik dönemi değerlendirmiş ve 4. saat lipemik cevabın en iyi değerlendirmeyi sağladığını bulmuşlardır (98). Rector ve ark. yine benzer şekilde postprandiyal 8 saatlik dönemi içeren bir çalışma yapmışlar ve 4. saat TG konsantrasyonları ve AUC değerlerinin postprandiyal lipemi cevabının değerlendirmesi için yeterli olabileceğini bildirmişlerdir (99). Kolovou ve ark. tarafından incelenen 113 klinik araştırmanın meta analiz sonucuna göre ise postprandiyal 4 ve 6. saat değerinin TG cevabının en iyi temsil ettiği belirtilmiştir (97). Yine Kolovou ve ark. tarafından 2010 yılında yapılan uzman paneline göre, OTTT'de postprandiyal dönemde tek bir zamana ait TG ölçümünün özellikle büyük gruplarla yapılan çalışmalarda bu işlemi kolaylaştıracağı, bunun için en uygun zamanın ise test sonrası 4. saat olacağı belirtilmiştir. (32, 87). Literatürde yer alan araştırmaların büyük çoğunluğunda olduğu gibi, çalışmamızda da hem hasta hem kontrol grubunda serum TG seviyelerinin postprandiyal 4. saatte pik değere ulaştığı görüldü. Postprandiyal süreçte rol alan ve çalışmamızda incelediğimiz diğer parameterelerin pik düzeylerinin genellikle 2 veya 4. saatlerde olduğu görüldü. Bu parametreler aşağıda ayrıntılı olarak tartışılmıştır.

Genel klinik kullanımda normal açlık TG düzeyleri <150 mg/dL olarak tanımlanır. Ancak yapılan araştırmalar her üç kişiden birisinde TG seviyelerinin bu düzeyin üzerinde olduğunu göstermiştir (6, 100). Açlık TG düzeyleri 150-499 mg/dL arasındaysa hafif hipertrigliseridemi, 500-880 mg/dL arasında ise orta hipertrigliseridemi ve >880 mg/dL olması durumunda şiddetli hipertrigliseridemi olarak tanımlanır (6, 101). Ancak son yıllarda yapılan araştırmalar, tokluk TG değerlerinin de açlık değerleri kadar tutarlı ve anlamlı sonuçlar verdiği belirtilmektedir. Tokluk TG değerleri, KAH riskini açlık TG

değerlerine göre daha güçlü bir şekilde öngördüğü bildirilmiştir (5, 6, 102). Bu bilgiler ışığında sağlıklı yetişkinlerde toklukta ölçülen TG seviyesi <175 mg/dL olmalıdır (6, 103). Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği tarafından yayınlanan 2019 yılı Dislipidemi Tanı ve Tedavi Kılavuzunda, tokluk TG düzeyi >440 mg/dL olması halinde lipid profili ölçümünün aç olarak tekrarlanması tavsiye edilmiştir (6). Kolovou ve ark. tarafından yapılan uzman paneline göre sağlıklı kişilerde açlık plazma TG seviyeleri 89-180 mg/dL (1-2 mmol/L) arasında olmalıdır. Sağlıklı kişilerde OTTT sonrası postprandiyal herhangi bir zaman diliminde TG konsantrasyonu \leq 220 mg/dL (2.5 mmol/L) olmalıdır. TG konsantrasyonu >220 mg/dL olan değerler postprandiyal hipertrigliseridemi olarak belirtilmiştir (87).

Çalışmamızda yer alan sağlıklı kontrol grubunun açlıktaki serum TG değerleri <125 mg/dL ve postprandiyal 2, 4 ve 6. saatteki tüm TG değerleri <200 mg/dL olarak ölçüldü. MetS'li hasta grubunda ise açlık TG değerleri >150 mg/dL ve herhangi bir zamandaki postprandiyal TG değerleri >220 mg/dL olarak ölçüldü. Çalışmamızda yer alan hasta ve sağlıklı kişilerin açlık ve postprandiyal dönemdeki TG değerlerinin literatür bilgileriyle uyumlu olduğu görülmektedir.

Kolovou ve ark. tarafından metabolik sendromlu erkeklerde yapılan bir araştırmada, OTTT ile postprandiyal 8 saatlik dönem değerlendirilmiştir. MetS'li hasta grubunun OTTT grafiği AUC değeri sağlıklı kontrole göre 2.5 kat yüksek bulunmuştur (104). Çalışmamızdaki hasta ile sağlıklı kontrol grubuna ait OTTT grafiği karşılaştırıldığında MetS grubunda AUC değeri bu çalışmaya benzer şekilde 2.4 kat yüksek bulundu (p=0.0001).

Diabetes mellitus ve MetS gibi metabolik hastalıklarda görülen postprandiyal TG seviyelerinin yüksekliği trigliseridce zengin lipoproteinlerin aşırı üretimi ve/veya azalmış katabolizmasıyla ilişkilidir (7). Postprandiyal dönemde ŞM'lerin sentezlenme hızı hipertrigliserideminin büyüklüğünü ve süresini etkiler (1).

James ve ark. tarafından yapılan bir araştırmada, insülin direnci olan obez erkeklerin 10 kilo kaybetmelerine rağmen ŞM remnantları, Apo B48, ve OTTT grafiğinin AUC değerleri fazla değişmemiştir (105). Buna karşılık Geltner ve ark. yaptığı çalışmada insülin ile tedavi edilen Tip II DM hastalarında açlık plazma TG seviyelerinde %28, postprandiyal TG seviyelerinde %38 oranında azama ile birlikte HDL-K'da %17, lipoprotein lipaz aktivitesinde %21 artış olduğu belirtilmiştir (106). MetS'li hastalarda

açlık ve postprandiyal TG seviyelerinin yüksekliği insülin direncine bağlı ŞM metabolizmasını etkileyen metabolik anormalliklerle ilişkilidir. İnsülin direnci karaciğerde LDL reseptör ekspresyonunu azaltarak ŞM remnantları ile LDL'nin karaciğere alımında yarıya neden olur. Bu durum dolaşımdan ŞM remnantlarının temizlenmesini azaltır. Bu nedenle MetS hastalarında dolaşımda yüksek TG seviyeleri görülmektedir (107).

Çalışmamızda yer alan metabolik sendromlu hasta grubunun serum TG seviyeleri sağlıklı kontrol grubuna göre, açlık (0. saat) ve postprandiyal tüm zamanlarda (2, 4 ve 6. saatler) anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.0001$). Ayrıca aynı miktarda yağlı öğün alınmasına rağmen hasta grubunda saatler arası TG seviyelerindeki değişim miktarının kontrol grubuna göre fazla olduğu görülmektedir. Çalışmamızda metabolik sendromlu hastaların OTTT grafiğinde postprandiyal dönemde TG seviyelerinde dalgalanma görülürken, sağlıklı kontrol grubunun 2-6 saatler arası postprandiyal TG değerleri daha stabil seyretmektedir.

MikroRNA, gen ekspresyonun düzenlenmesinde rol oynayan, yaklaşık 20-23 nükleotit uzunluğunda, tek iplikçikli endojen RNA molekülüdür. MiRNA'lar hem fizyolojik hem de patolojik süreçleri kontrol eden gen ifadesinin önemli düzenleyicileridir ve birçok hücrel yol, miRNA'ların düzenleyici işlevinden etkilenmektedir (11, 60). MiRNA'lar insanlarda en çok bulunan gen düzenleyicilerinden biridir. Obezite ve diyabet de dahil olmak üzere geniş bir yelpazedeki fizyolojik ve patolojik süreçlerle ilişkili olduğu belirtilmektedir (67).

Dolaşımda bulunan extrasellüler miRNA'lar, hücre içi miRNA'ların ve hücre dışı ortamda birkaç saniye içinde parçalanan diğer RNA türlerinin aksine oldukça stabildir. Dolaşıma verilen sentetik miRNA'lar (miRNA spike) ise birkaç saniye içerisinde degradasyona uğrarlar. Mitchell ve ark. serum miRNA'larının 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletildiğinde bile qPCR ile tespit edilebildiğini göstermiştir (108). Chen ve ark. donma-çözme döngüsünün 10 defa tekrarlandığında bile miRNA ların etkilenmediğini göstermişler. Yine aynı araştırmada 3 saat boyunca RNAaz-A ile muamele edildiği halde diğer endojen RNA'ların (28s RNA, 18s RNA, β -aktin, GAPDH ve U6) aksine degrades olmadığını saptamışlardır (109). Plazma miRNA'larını dolaşımdaki endojen RNaz aktivitesinden koruyan birkaç mekanizma öne sürülmüştür. Dolaşımdaki miRNA'ların hem DNAaz hem de RNaz aktivitesinden koruyacak protein (AGO protein kompleksler) ile konjuge oldukları, lipid veya lipoprotein kompleksleri (HDL) ile taşınarak korundukları

araştırmalarda yer almaktadır. Ayrıca miRNA'ların hücre dışı ortamda apoptotik cisimler, eksozomlar ve mikropartiküller ile hücre dışına salgılandıkları gösterilmiştir. RNAaz'lara karşı oldukça kararlı olmalarının dışında kaynama, yüksek veya düşük pH, uzun süreli saklama ve donma-çözölme döngüleri gibi sert koşullara maruz kalsalar bile kararlı bir yapıda kaldıkları belirtilmektedir (66).

MikroRNA'ların fizyolojik ve patolojik süreçleri kontrol eden düzenleyici rolünün ve fiziksel özelliklerinin (serum/plazma miRNA'ların kararlı yapısının) postprandiyal dönemdeki lipid metabolizmasının aydınlatılması yolunda çalışmamıza değer kattığı ve bir avantaj sağladığı düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda ekzojen lipid metabolizması üzerine rol aldığı bilinen miRNA-122, miRNA-30c ve miRNA-33a parametrelerinin postprandiyal süreçteki etkilerini tespit etmeyi amaçladık. Buna bağlı olarak bu miRNA'ların açlık, postprandiyal 2, 4 ve 6. saat plazma ekspresyon seviyelerini ve ilişkili oldukları proteinlerin seviyelerini inceledik. Literatürde bu alanda yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanılmadı.

Mikrozomal trigliserid transfer proteini, hepatositlerde Apo B100 ve enterositlerde Apo B48 vasıtasıyla lipoproteinlerin yapısına TAG, kolesterol esterlerini ve fosfolipidleri eklemektedir. Mikrozomal trigliserid transfer protein, lipidlerin lipoprotein partiküllerine transferine yardımcı olur ve Apo B'nin uygun olmayan konformasyonlarda katlanmasını ve proteazomlar tarafından yıkıma uğramasını engeller. Eğer MTTP aracılığıyla lipid transferi azalırsa veya durursa, Apo B48 degrades olur. Buna bağlı olarak enterositlerde şilomikron sentezlenemez (51). MTTP sentezine miRNA-122 ekspresyonu arttırıcı, miRNA-30c ekspresyonu ise baskılayıcı yönde etki etmektedir (16, 70).

MikroRNA-122 karaciğer ve intestinal epitel hücrelerinden eksprese olmaktadır (16, 110). MiRNA-122 karaciğerde bol bulunup; kolesterol metabolizması, karaciğer kanseri, stres cevabı ve viral hepatit gibi karaciğer fonksiyon ve hastalıklarında önemli rol oynar. miRNA-122 inhibisyonunun plazma kolesterol ve trigliserid seviyelerini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Normal farelerle yapılan bir çalışmada miRNA-122 inhibisyonu, plazma kolesterol seviyelerinin düşmesine, hepatik yağ asidi oksidasyonunun artmasına ve hepatik yağ asidi ve kolesterol sentez hızlarında azalmaya neden olmuştur. MiRNA-122'nin kolesterol metabolizmasına etkisinin HMGCS1 ve HMGCR enzimleri üzerinden, TG metabolizmasına etkisinin ise MTTP üzerinden olduğu bulunmuştur (16).

Çalışmamızda yer alan metabolik sendromlu hasta ile sağlıklı kontrol grubunun plazma miRNA-122 ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunun miRNA-122 seviyeleri kontrol grubuna göre açlık ve postprandiyal tüm saatlerde anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.0001$) (Tablo 18), (Şekil 18). Bu yükseklik açlıkta 1.56 kat ve postprandiyal 2, 4, 6. saatlerde ise sırasıyla 3.17, 2.51 ve 1.83 kat olarak bulundu. Pirola ve ark. miRNA-122'nin serum ekspresyon seviyelerinin obez kişilerde normal kişilere göre üç kattan yüksek olduğunu göstermiştir (72). Çalışmamızda da hasta grubumuzun obez olduğu düşünüldüğünde bu çalışma ile aynı yönde sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Ancak çalışmamızda açlık miRNA-122 ekspresyon seviyeleri Pirola ve ark. tarafından yapılan çalışmada ki kadar yüksek oranda değildir. Bu durum çalışma gruplarının VKİ değerlerinin farklı olmasından kaynaklanabilir. Açlık durumuna ek olarak araştırdığımız postprandiyal sürece ait verilerin literatüre önemli bir katkı sağlayacağı kanaatindeyiz. Postprandiyal dönemde metabolik sendromlu kişilerde miRNA-122 ekspresyon seviyelerinin sağlıklı kişilere göre daha da fazla yükselmesi, bu dönemde MTTP'nin aşırı aktivasyonuna ve buna paralel olarak serum ŞM ve TG seviyelerinde normalden fazla artışa neden olduğu düşünülebilir.

Çalışmamızda hem hasta hem de kontrol grubunda miRNA-122 seviyesi postprandiyal 2. saatte pik düzeye çıkıp 4 ve 6. saatlerde anlamlı bir azalış seyri göstermektedir ($p=0.0001$), (Tablo 16, 17), (Şekil 16, 17). Yemek sonrası ilk saatlerde MTTP aktivasyonunun artması beklenen bir durumdur. Postprandiyal dönem ilerledikçe ŞM sentezi azalacağından MTTP aktivasyonunda da giderek azalma beklenen bir durumdur. Hem hasta hem de kontrol grubunda miRNA-122 seviyesinin zamana bağlı bu seyri bilinen mekanizma ile uyumludur. Burada farklı olan iki grup arasındaki artış oranlarıdır. Özellikle metabolik sendromlu hastalarda postprandiyal 2. saatteki miRNA-122 ekspresyon seviyelerindeki artış dikkat çekicidir. Kontrol grubunda postprandiyal 2. saatte miRNA-122 ekspresyon seviyeleri açlığa göre 2,08 kat artarken hasta grubunda 4,51 kat artmıştır. Bu durum, metabolik sendromlu hastalarda görülen TG yüksekliğine neden olan önemli etkenlerden biri olabilir.

MikroRNA-30c karaciğer, kalp, böbrek, kemik, iskelet kası ve intestinal epitel hücreleri gibi birçok dokudan eksprese edilmektedir (70, 111). MiRNA-30c lipid metabolizması üzerinde olan etkisini MTTP'nin mesajcı RNA (mRNA)'sının 3' translasyona uğramamış bölgesine bağlanarak göstermektedir (13). Özellikle miRNA-

30c'nin, transkripsiyon sonrası MTTP'nin mRNA'sını yıkıma uğratarak bu proteinin aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. Bu sebepten dolayı MTTP aktivitesinde ve Apo B salınımında azalma görülür (14). Soh ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda, Western diyetle beslenen Apo E -/- farelerinde miR-30c'nin aşırı ekspresyonu ile açlık plazma kolesterol, TG ve plazma Apo B seviyelerinde önemli düşüşler gösterilmiştir. Üstelik bu farelerde aterosklerotik lezyonların daha az oldukları hatta bu lezyonların küçüldükleri görülmüştür. Bu çalışmalar ile miRNA-30c'nin lipid biyosentezini ve lipoprotein sekresyonunu azaltarak, hepatik ve plazma lipid seviyelerini düzenlediği gösterilmiştir (13, 71).

Çalışmamızda yer alan metabolik sendromlu hasta ile sağlıklı kontrol grubunun plazma miRNA-30c ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunun 0, 2, 4 ve 6. saatlerde miRNA-30c ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna göre düşük bulundu (sırasıyla $p=0.020$, $p=0.0001$, $p=0.0001$, $p=0.0001$) (Tablo 18), (Şekil 18). Literatürde yer alan araştırmalara göre miRNA-30c ekspresyon seviyelerinin artışı MTTP aktivitesini baskılayarak TG değerlerini düşürmektedir (13, 14, 71). MetS'li hasta grubunun açlık ve postprandiyal tüm zamanlarda TG değerlerinin sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek olduğu düşünüldüğünde, hastalarda miRNA-30c ekspresyon seviyelerinin tüm zamanlarda düşük olması literatürde yer alan mekanizmayla uyumludur. Bu sonuç ŞM sentezi için kontrol basamaklarından biri olan miRNA-30c mekanizmasının hastalarda işlevini tam olarak yerine getiremediğinin bir kanıtı olabilir.

Çalışmamızda sağlıklı kontrol grubunda miRNA-30c ekspresyon seviyesi açlıktan itibaren postprandiyal 2, 4 ve 6. saatler arasında zamanla birlikte anlamlı artış seyri göstermektedir ($p=0.0001$) (Tablo 16), (Şekil 16). MiRNA-30c'nin, transkripsiyon sonrası MTTP'nin mRNA'sını yıkıma uğratarak MTTP'nin aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (52). MTTP miktarı arttıkça yıkım mekanizmasının da devreye girmesi bu nedenle miRNA-30c'nin postprandiyal dönemde artış göstermesi artan miRNA-122'ye bir cevap olabilir. Literatürde miRNA-30c'nin postprandiyal seviyelerini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Sağlıklı kişilerde artan aşırı MTTP aktivitesini baskılamak ve fazla ŞM oluşumunu engellemek için postprandiyal dönemin başlangıcında bu mekanizmanın devreye girmesi ve postprandiyal dönemin sonlarına doğru bazal seviyenin üzerindeki MTTP aktivitesini baskılamak için miRNA-30c ekspresyon seviyelerinin artarak devam etmesi bu sonuçları açıklayabilir. MetS'li hasta grubunda ise miRNA-30c

ekspresyon seviyesi açlıktan postprandiyal 2. saate geçişte önce bir düşüş sonrasında 4 ve 6. saatlere doğru artış seyri göstermektedir ($p=0.0001$) (Tablo 17), (Şekil 17). MetS hastalarının postprandiyal 2 ve 4. saat miRNA-30c ekspresyon seviyeleri açlık durumuna göre düşük, 6. saat değeri ise açlık seviyesinden yüksektir. Mekanizmayı sağlıklı kişilerden alınan verileri baz alarak yorumlamak daha doğru olacaktır. Çünkü MetS'li kişilerde bulduğumuz miRNA-30c ekspresyon seviyelerinin sağlıklı gruba göre düşüklüğü, patolojik bir durumun ifadesi olabilir. Bu hasta grubunda miRNA-30c kontrol mekanizmasının devreye tam olarak giremediğinden dolayı aşırı MTTP aktivitesini baskılanamamış buna bağlı ŞM sentezi devam ederek serum TG seviyeleri yükselmiş olabilir. Yukarıdaki paragrafta yer verildiği üzere hasta grubunda miRNA-30c ekspresyon seviyelerinin sağlıklı kişilere göre düşük olması, hastalarda miRNA-30c'nin kontrol mekanizmasının normal olmadığını destekleyen diğer bir bulgu olarak yorumlanabilir.

Postprandiyal dönemde çalışma grubumuzun her ikisinde de görülen miRNA-122 ekspresyon seviyelerinin artışının sonucu olarak MTTP seviyelerinin de artması beklenir. Bu öngörüğü destekler nitelikte MTTP seviyeleri hem MetS'li hasta hem de sağlıklı kontrol grubunda postprandiyal 2. saate pik düzeye çıkıp 4 ve 6. saatte doğru azalış seyri göstermektedir. Çalışmamızda miRNA-122 ekspresyon düzeylerinin seyri de aynı şekildedir. Aynı zaman dilimi içerisinde meydana gelen benzer yöndeki değişiklikler miRNA-122 ekspresyonunun MTTP sentezi üzerine etkisini çok kısa bir süre içerisinde gösterdiğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda hem hasta hem de kontrol grubunun MTTP seviyeleri postprandiyal dönemin tamamında açlık durumuna göre yüksek bulundu. Açlık durumundaki MTTP seviyelerinin bazal düzeyi temsil ettiği söylenebilir. Bu sonuçlar her iki grupta da postprandiyal 6 saatlik zaman diliminin tamamında görülen TG yüksekliğini desteklemektedir. Bu durum ŞM sentezinin postprandiyal 6 saat boyunca devam ettiğini göstermektedir.

Çalışmamızda yer alan MetS'li hasta ile sağlıklı kontrol grubunun MTTP seviyeleri karşılaştırıldığında hasta grubunun MTTP seviyeleri kontrol grubuna göre açlık (0. saat) ve postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde anlamlı olarak yüksektir (sırasıyla $p=0.012$, $p=0.006$, $p=0.005$, $p=0.015$), (Tablo 21), (Şekil 22). Bu sonucun metabolik sendromlu hastalarda ŞM sentezi ve boyutlarında daha fazla artışa neden olarak serum TG seviyelerini yükseltmesi beklenir. Çalışmamızda da bu sonucu destekler nitelikte metabolik sendromlu

hasta grubunun tüm zamanlar için TG, ve postprandiyal 4. saat için şilomikron çap değerleri sağlıklı kontrol grubundan yüksektir.

Çalışmamızda dikkat çeken diğer bir bulgu, sağlıklı bireylerde 2. saatte pik düzeye çıkmış MTTP değerinin MetS'li hastalarda ancak bazal seviye düzeyine denk gelmesidir. Bu sonuç MetS'li hastalarda görülen açlık TG yüksekliğini açıklayan nedenlerden biri olabilir.

Şilomikron partikülünde bulunan Apo B48, Apo B100'ün N-terminalinin %48'inin translasyona uğradığı apolipoproteindir. Yetişkin insan ve ratların bağırsaklarında sentezlenen tek Apo B şeklidir. MTTP vasıtasıyla Apo B48 üzerinden TG, fosfolipid ve kolesterol esterleri ŞM yapısına katılır (39). Bu bilgiler ışığında MTTP aktivitesi artıkcça Apo B48 sentezinin ve/veya aktivitesinin artması beklenir.

Çalışmamızda yer alan MetS'li hasta ile sağlıklı kontrol grubunun Apo B48 seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda tüm zamanlarda Apo B48 seviyeleri sağlıklı kontrol grubuna göre yüksektir. Ancak bu yükseklik açlık ve postprandiyal 2. saatte istatistiksel olarak anlamlı iken postprandiyal 4 ve 6. saatlerde anlamlı değildir (sırasıyla $p=0.008$, $p=0.044$, $p=0.133$, $p=0.082$) (Tablo 21), (Şekil21). Bu sonuç hem literatür bilgilerinde yer alan hem de çalışmamızda görülen doğrultuda MetS'li hastalardaki TG yüksekliği ile uyumludur (80, 86). Ayrıca Apo B48 seviyelerinin yüksekliği hasta grubunda ŞM partikül boyutu artışının yanı sıra ŞM sayısının da fazlalığına işaret ediyor olabilir.

Postprandiyal dönemde çalışma grubumuzun her ikisinde de görülen MTTP seviyelerinin artışına paralel olarak Apo B48 seviyelerinin ve/veya aktivitesinin de artması beklenir. Bu öngörüğü destekler nitelikte ve MTTP düzeylerini gösteren OTTT grafiğinde olduğu gibi Apo B48 seviyeleri hem MetS'li hasta hem de sağlıklı kontrol grubunda postprandiyal 2. saate pik düzeye çıkıp 4 ve 6. saatte doğru azalış seyri göstermektedir. Ancak Apo B48 seviyelerinde açlık durumuna göre postprandiyal dönemde anlamlı artış görülse de, postprandiyal süreçteki (2, 4 ve 6 saatler arası) azalışı anlamlı değildir. Postprandiyal dönemde yeni sentezlenecek ŞM partiküllerinin yapısına Apo B48 proteini katılacağı için diyet sonrası ilk saatlerde bu protein seviyelerinin artışı olağandır. Çalışmamızda da her iki grupta Apo B48 seviyelerinin postprandiyal 2. saatte pik değere ulaşması bu durumu desteklemektedir. Hayashi ve ark. farelerde yaptığı çalışmada, yağca zengin beslenmenin ince bağırsakta üretilen ŞM sayısını arttırmadığı ancak büyüklüğünü

arttırdığını göstermiştir (112). Bu çalışma, öğün içeriğindeki yağ miktarı ne kadar fazla olursa olsun yemek sonrası sabit miktarda ŞM sentezleneceğini ancak alınan yağ miktarına bağlı olarak ŞM partikül boyutunun artacağını göstermektedir. Postprandiyal dönemde MTTP aracılığıyla Apo B48 üzerinden yeni sentezlenen ŞM partiküllerinin yapısına daha fazla TG eklenerek partiküllerin boyutu artacaktır. ŞM sayısı belirli bir oranda sabit kalacağı için postprandiyal 2, 4 ve 6 saatler arası Apo B48 seviyesindeki değişimin anlamlı olmaması literatürle uyumludur. Bu dönemde MTTP ve Apo B48 için sayısal değişikliklerden daha çok aktivite değişikliklerinin ön plana çıktığı yorumu yapılabilir.

Çalışmamızda TG seviyeleri için pik değer olan postprandiyal 4. saate hasta ve kontrol grubunun ŞM boyutları ölçüldü. MetS'li hasta ile sağlıklı kontrol grubunun şilomikron partiküllerinin çap değerleri karşılaştırıldığında, hasta grubunun postprandiyal 4. saat şilomikron çap değeri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p=0.0001$), (Tablo 25).

Çalışmamızda gösterdiğimiz MetS'li hastalarda postprandiyal dönemde artmış MTTP, Apo B48, ŞM partikül boyutları ve TG yüksekliği birbirini destekleyen sonuçlardır.

Postprandiyal dönemde ince barsaklarda ŞM lipoproteininin yanı sıra HDL sentezi de gerçekleşmektedir. HDL-K seviyelerinin düşüklüğü aynı zamanda MetS'de görülen dislipidemilerden biridir. Bu nedenle çalışmamızda HDL sentezinde rol alan Apo A1 ve ABCA1 proteinleri ile ABCA1 ekspresyonunda görev alan miRNA-33a düzeylerinin açlık ve postprandiyal 4. saat değerlerini de analiz ettik.

Karaciğer ve bağırsak hücrelerinin bazolateral membranında bulunan ABCA1 proteininin en önemli görevi, kolesterolün Apo A1 vasıtasıyla HDL'ye transfer edilmesine aracılık etmesidir (54, 55). ABCA1 mRNA'sı ve proteini 1-2 saat kadar çok kısa bir yarı ömre sahiptir. Bu durum de-novo transkripsiyonunun ve translasyonunun kontrolün önemini daha da artırmaktadır (58).

Apolipoprotein A1 HDL'nin major yapısal proteindir. Karaciğer ve ince bağırsakta sentezlenir. Olgun formu dolaşımda tekli polipeptit olarak bulunur. Ters kolesterol taşınımında ve hücrel kolesterol homeostazında önemli fonksiyona sahiptir. Görevi, ABCA1 üzerinden gelen kolesterol ve fosfolipidlerin HDL partikülünün yapısına katmaktır (113).

Kolesterol metabolizmasında görevli miRNA-33, lipid metabolizmasının anahtar transkripsiyonel düzenleyicilerinden olan SREBP genlerinin içinde lokalize olan intronik bir miRNA'dır (16). MiRNA-33a ekspresyonunun artmasıyla ABCA1 ekspresyonunda azalma görülür ve Apo A1 üzerinden HDL'ye kolesterol akışı bozulur. Böylece HDL-K seviyelerinde azalma görülür (12).

Çalışmamızda yer alan metabolik sendromlu hasta ile sağlıklı kontrol grubunun miRNA-33a ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda miRNA-33a ekspresyon seviyeleri 0, 2, 4 ve 6. saatlerde kontrol grubuna göre anlamlı yüksektir ($p=0.0001$), (Tablo 18), (Şekil 18). Hasta ile kontrol arasında tüm zamanlarda aynı oranda (2 kat) fark olması dikkat çekmektedir. Hasta grubunda miRNA-33a ekspresyon seviyelerindeki artış ABCA1 ekspresyonunu azaltacağı için bu sonucun HDL-K değerlerinde düşüş yönünde etki etmesi beklenir. Bu sonuç MetS'li hasta grubumuza ait düşük HDL-K düzeyleri ile uyumludur. HDL sentezi için kontrol basamaklarından biri olan miRNA-33a mekanizmasının MetS'li kişilerde sabit bir oranda yüksek olması, metabolik yolaktaki sabit bir patolojiyi işaret ediyor olabilir.

Çalışmamızda hem hasta hem de kontrol grubunda miRNA-33a seviyesi postprandiyal 4. saatte pik düzeye çıkıp 6. saate doğru anlamlı azalış seyri göstermektedir ($p=0.0001$), (Tablo16, 17), (Şekil 16, 17). Burada iki grup arasındaki fark, zamanlar arası artış oranlarıdır. Özellikle miRNA-33a ekspresyon seviyelerindeki pik değeri olan postprandiyal 4. saatteki artış değerlendirildiğinde, bu artış kontrol grubunda açlığa göre 1.77 kat iken, hasta grubunda 3,19 kat olarak ölçülmüştür. Bu durum, MetS'li hastalarda görülen HDL-K düşüklüğünün patolojik nedenlerinden biri olabilir.

Çalışmamızda hem hasta hem de kontrol grubunun Apo A1 ve ABCA1 seviyeleri, postprandiyal 4.saatte açlık durumuna göre anlamlı yüksektir. Bu sonuçlar hasta ve sağlıklı kişilerde, postprandiyal dönemde beklenen bir durum olan yeni HDL partiküllerinin oluşumunu işaret etmektedir.

Çalışmamızda yer alan MetS'li hasta ile sağlıklı kontrol grubunun ApoA1 seviyeleri karşılaştırıldığında hasta grubunda Apo A1 parametresinin 0 ve 4. saat değerleri kontrol grubuna göre anlamlı düşüktür (sırasıyla $p=0.0001$, $p=0.0001$), (Tablo 24), (Şekil 23). Apo A1 seviyesinin düşüklüğüne bağlı daha az kolesterol HDL partikülüne taşınacaktır. Buna bağlı olarak sonuçlarımız MetS'li hastalarda görülen dislipidemi tablosundan biri olan HDL-K düşüklüğü ile tutarlılık göstermektedir.

Çalışmamızda yer alan MetS'li hasta ile sağlıklı kontrol grubunun ABCA1 seviyeleri karşılaştırıldığında, ABCA1 parametresinin 0 ve 4. saat değerleri hasta grubunda kontrol grubuna göre düşüktür ancak istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (sırasıyla $p=0.181$, $p=0.116$), (Tablo 24), (Şekil 24). ABCA1 seviyesinin düşüklüğüne bağlı olarak Apo A1 ile daha az bir etkileşime girmesi dolayısıyla daha az kolesterolün HDL partikülüne taşınması olasıdır. MetS'li hastalarda ABCA1 protein seviyelerinin sayısal azlığı istatistiksel olarak anlamlı çıkmasa da bu sayısal seviyedeki azlık aktivite yönünden anlamlı değişimlere neden olabilir. Ayrıca ABCA1 proteininin 1-2 saat kadar çok kısa bir yarı ömre sahip olması beklenen değerleri yansıtmayabilir.

Sonuç olarak; çalışmamızda incelediğimiz miRNA-30c haricindeki parametrelerin (miRNA-122, miRNA-33a, MTTP, Apo B48, Apo A1, ABCA1, TG) zamana bağlı grafiksel seyirlerinin hasta ve kontrol grubunda benzer şekil gösterdiği görülmüştür. MikroRNA-122, MTTP, Apo B48 düzeyleri postprandiyal 2. saatte pik yaparken, miRNA-33a ve TG düzeyi postprandiyal 4. saatte pik yapmaktadır. Hem hasta hem de kontrol grubunda bu parametrelerin zamana bağlı aynı seyri göstermesi, metabolik basamaklardaki standart işleyiş düzeninin bozulmadığının işareti olabilir. Bu yollarda her molekül kendi görev zamanında metabolik devreye girmektedir. Patolojinin kaynağı gruplar arası sayısal seviye farkı veya aktivite farklılığından kaynaklanıyor olabilir. MetS'li hastalarda miRNA-30c'nin farklı bir seyir göstererek postprandiyal ilk saatlerde düşüş göstermesi ise bu hastalığa özel sistemsel bir patoloji lehine yorumlanabilir.

Metabolik sendromlu hastalarda sağlıklı kontrole göre 0, 2, 4 ve 6. saatlerde ölçülen TG, Apo B48, MTTP, miRNA-122 ve miRNA-33a seviyeleri anlamlı yüksek iken miRNA-30c seviyesi anlamlı düşüktür. MetS'li hastalarda sağlıklı kontrole göre 0 ve 4. saatlerde ölçülen Apo A1 değeri anlamlı düşük, ABCA1 değeri de düşük ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir. MetS'li hastalarda sağlıklı kontrole göre 4. saatte ölçülen ŞM çap ölçümü anlamlı yüksek bulundu.

Bu sonuçlar ışığında, MetS'li hastalarda görülen dislipideminin tedavisi amacıyla özellikle miRNA-30c başta olmak üzere miRNA-122 ve miRNA-33a hedeflenebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Postprandiyal TG cevabı bozuk olan hasta ve normal olan sağlıklı kontrol grubunun 6 saatlik postprandiyal lipemi sürecini incelediğimiz çalışmamızda;

1. MetS hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre 0, 2, 4 ve 6. saatlerdeki miRNA-122 ve miRNA-33a ekspresyon seviyeleri yüksek, miRNA-30c ekspresyon seviyesi düşük bulundu.

2. MiRNA-122 ve miRNA-33a zamana bağlı ekspresyon düzeylerinin grafiği hem MetS hastalarında hem de sağlıklı kişilerde aynı yönde seyretmektedir. miRNA-122 ekspresyon seviyesi postprandiyal 2. saatte, miRNA-33a ekspresyon seviyesi postprandiyal 4. saatte pik yapmaktadır.

3. MiRNA-30c ekspresyon seviyesinin sağlıklı kontrol grubunda açlıktan itibaren postprandiyal 2, 4 ve 6. saatler arasında zamanla birlikte artış seyri gösterdiği bulundu. MetS hastalarında ise öncelikle açlıktan postprandiyal 2. saate doğru azalış, daha sonra 4. ve 6. saate doğru artış seyri gösterdiği bulundu. Bununla birlikte miRNA-30c ekspresyon seviyesi MetS hastalarında açlık durumuna göre postprandiyal 2 ve 4. saatte düşük ölçüldü.

4. MetS hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre 0, 2, 4 ve 6. saatlerdeki MTTP seviyeleri yüksek bulundu. MTTP seviyesi, MetS'li hasta ve sağlıklı kontrol grubunun her ikisinde de açlık durumuna göre postprandiyal 2, 4 ve 6. saatlerde yüksek bulundu.

5. MetS hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre 0 ve 2. saatlerdeki Apo B48 seviyeleri yüksek bulundu. Apo B48 seviyesi, MetS'li hasta ve sağlıklı kontrol grubunun her ikisinde de açlık durumuna göre postprandiyal 2 ve 4. saatlerde yüksek bulundu.

6. MetS hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre 4. saatteki ŞM partikül boyutu yüksek bulundu.

7. MetS hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre 0 ve 4. saatlerdeki Apo A1 seviyeleri düşük bulundu. MetS hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre 0 ve 4. saatlerdeki ABCA1 seviyeleri düşük bulunmasına rağmen bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. ApoA1 ve ABCA1 seviyeleri MetS'li hasta ve sağlıklı kontrol grubunun her ikisinde de açlık durumuna göre postprandiyal 4. saatte yüksek bulundu.

8. Mekanizmayı bir bütün olarak değerlendirdiğimizde, miRNA-122 ve miRNA-30c seviyelerinin MTTP, Apo B48, ŞM partikül boyutu ve plazma TG seviyeleriyle, miRNA-

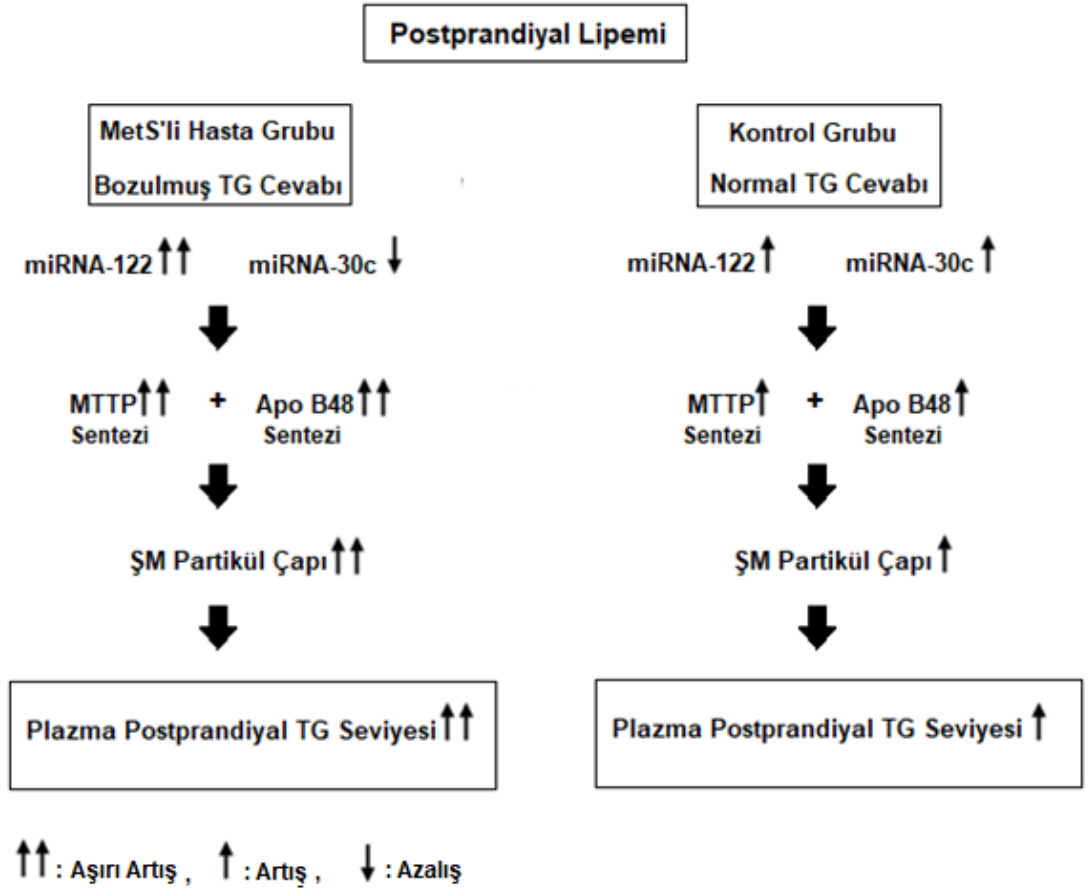
33a'nın ise Apo A1, ABCA1 ve plazma HDL-K düzeyleri ile ilişkili olabileceği gözlemlendi (Şekil 25, 26).

9. Postprandiyal hipertrigliseridemili kişilerde yukarıda gözlemlenen ve tarif edilen ilişkinin postprandiyal dönemde patolojik düzeyde etkilendiği ve bozulduğu görüldü. Bu bozukluk sadece bazal seviyede değil postprandiyal çeşitli evrelerde de bariz olarak görülmektedir. Özellikle ŞM ve TG düzeylerinde etkili olan MTTP ve Apo B48 proteinlerinin düzenlenmesinde rolü olan miRNA-122'de aşırı artış görülürken bu olayda dengeleyici olan miRNA-30c'nin bu etkisini tam olarak yapamadığı göze çarpmaktadır.

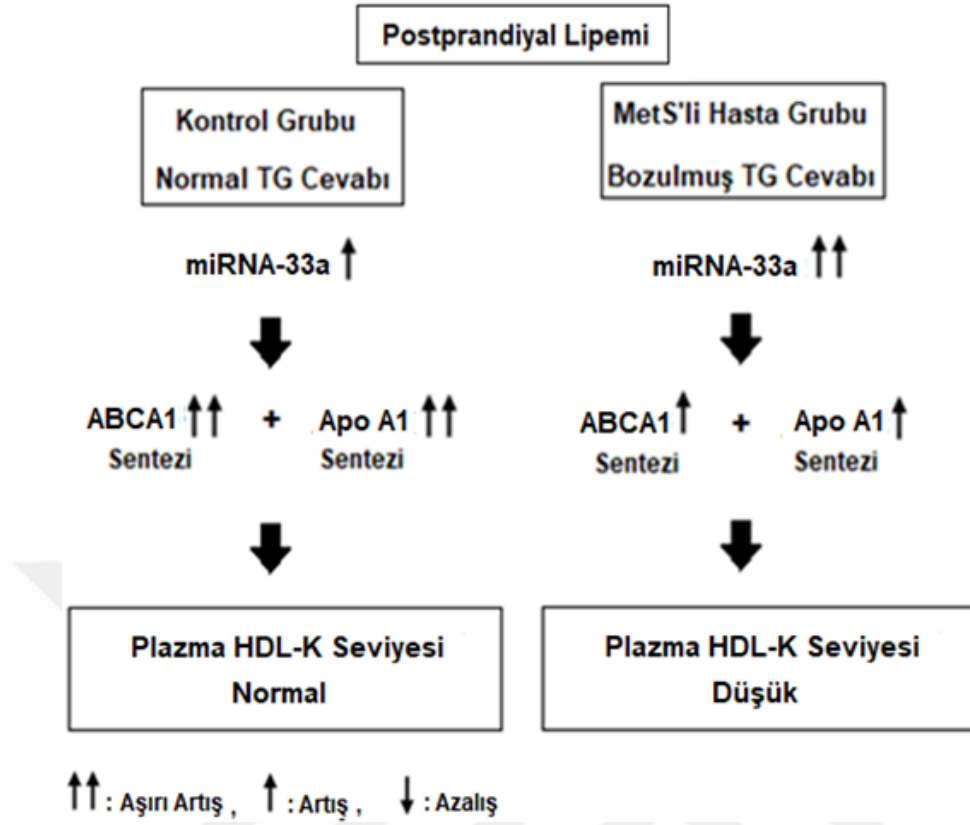
Çalışmamızda elde edilen sonuçların doğrultusunda;

MikroRNA'ların (miRNA-122, miRNA-30c ve miRNA-33a) postprandiyal dönemin farklı zaman dilimlerine ait lipid metabolizması üzerinde oldukça önemli bir düzenleyici rolü olduğu kanaatindeyiz. Özellikle postprandiyal hipertrigliseridemili hastalarda görülen dislipidemi tablosunda da bu düzenleyicilerin etkin rol aldığı düşüncesindeyiz. Bu metabolizmada rol oynayabilecek diğer miRNA'ların tespiti ve bunların etkin mekanizmalarının aydınlatılabileceği ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Böylelikle metabolik etki mekanizmaları daha ayrıntılı belirlenebilir.

Gelecek çalışmalarda miRNA-122 düzeylerini azaltıcı ve miRNA-30c düzeylerini artıran projeler üzerine odaklanarak postprandiyal lipeminin kontrolünün sağlanmasında önemli olduğunu düşünmekteyiz.



Şekil 25. Postrandiyal TG cevabı bozuk olan hasta ve normal olan sağlıklı kontrol grubuna ait miRNA-122, miRNA-30c, MTTP, Apo B48, ŞM boyutu ve TG seviyelerinin postprandiyal değişimi



Şekil 26. Postrandiyal TG cevabı bozuk olan hasta ve normal olan sağlıklı kontrol grubuna ait miRNA-33a, ABCA1, Apo A1 seviyelerinin postprandiyal değişimi

7. KAYNAKLAR

1. Jackson KG, Sally DP, Minihane AM (2012). Postprandial lipemia and cardiovascular disease risk: Interrelationships between dietary, physiological and genetic determinants. *Atherosclerosis* 220: 22-33.
2. Hyson D, Rutledge JC, Berglund L (2003). Postprandial lipemia and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 5: 437-444.
3. Kannel WB, Vasan RS (2009). Triglycerides as vascular risk factors: new epidemiologic insights for current opinion in cardiology. *Curr Opin Cardiol* 24: 345
4. Nordestgaard BG (2016). Triglyceride-rich lipoproteins and atherosclerotic cardiovascular disease: new insights from epidemiology, genetics, and biology. *Circulation Res* 118: 547-563.
5. Bansal S, Buring JE, Rifai N, Mora S, Sacks FM, Ridker PM (2007). Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA* 298: 309-316.
6. Altay M, Aslan İ, Aydoğdu A, Bayram F, Bozkırlı E, Can S, Cesur MF, Çarlıoğlu A, Demirci İ, Ünal AD, Eren MA, Ersoy C, Ezgü FS, Güldiken S, Haymana C, Gözü HI, Torun Aİ, Kıyıcı S, Öruk G, Yetkin DÖ, Özkaya M, Sabuncu T, Soyaltın UE, Sönmez A, Şimşir İY, Üçler R (2019). Dislipidemi klavuzu. *Türkiye endokrinoloji ve metabolizma derneği*. Nisan, 15-34.
7. Borén J, Matikainen N, Adiels M, Taskinen MR (2014). Postprandial hypertriglyceridemia as a coronary risk factor. *Clin Chim Acta* 431: 131-142.
8. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Cokkinos DV (2005). Pathophysiology of dyslipidaemia in the metabolic syndrome. *Postgrad. Med J* 81: 358-366.
9. Dias CB, Moughan PJ, Wood LG, Singh H, Garg ML (2017). Postprandial lipemia: factoring in lipemic response for ranking foods for their healthiness. *Lipids Health Dis* 16: 178.
10. Mattick JS, Makunin IV (2005). Small regulatory RNAs in mammals. *Hum Mol Genet* 14(suppl1): 121-132.
11. Bartel DP (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 116: 281-297.
12. Aryal B, Singh AK, Rotllan N, Price N, Fernández-Hernando C (2017). MicroRNAs and lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 28: 273.

13. Soh J, Hussain MM (2013). Supplementary site interactions are critical for the regulation of microsomal triglyceride transfer protein by microRNA-30c. *Nutr Metab* 10: 56.
14. Zhou L, Irani S, Sirwi A, Hussain MM (2016). MicroRNAs regulating apolipoprotein B-containing lipoprotein production. *BBA-Mol Cell Biol L* 1861: 2062-2068.
15. Fernández-Hernando C, Suárez Y, Rayner KJ, Moore KJ (2011). MicroRNAs in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 22: 86.
16. Yang Z, Cappello T, Wang L (2015). Emerging role of microRNAs in lipid metabolism. *Acta Pharm Sin B* 5: 145-150.
17. Desmarchelier C, Borel P, Lairon D, Maraninchi M, Valéro, R (2019). Effect of Nutrient and Micronutrient Intake on Chylomicron Production and Postprandial Lipemia. *Nutrients* 11: 1299.
18. Zilversmit DB (1979). Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation* 60: 473-485.
19. Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D (2007). Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Brit J Nutr* 98: 458-473.
20. Thomsen C, Rasmussen O, Lousen T, Holst JJ, Fenselau S, Schrezenmeir J, Hermansen K (1999). Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 69: 1135-1143.
21. Mekki N, Charbonnier M, Borel P, Leonardi J, Juhel C, Portugal H, Lairon D (2002). Butter differs from olive oil and sunflower oil in its effects on postprandial lipemia and triacylglycerol-rich lipoproteins after single mixed meals in healthy young men. *J Nutr* 132: 3642-3649.
22. Dubois C, Armand M, Mekki N, Portugal H, Pauli AM, Bernard PM, Lafont H, Lairon D (1994). Effects of increasing amounts of dietary cholesterol on postprandial lipemia and lipoproteins in human subjects. *J Lipid Res* 35: 1993-2007.
23. Cohen JC, Berger GM (1990). Effects of glucose ingestion on postprandial lipemia and triglyceride clearance in humans. *J Lipid Res* 31: 597-602.
24. Grant KI, Marais MP, Dhansay MA (1994). Sucrose in a lipid-rich meal amplifies the postprandial excursion of serum and lipoprotein triglyceride and cholesterol concentrations by decreasing triglyceride clearance. *Am J Clin Nutr* 59: 853-860.

25. Harbis A, Perdreau S, Vincent-Baudry S, Charbonnier M, Bernard MC, Raccach D, Senft M, Lorec AM, Defoort C, Portugal H, Vinoy S, Lang V, Lairon D (2004). Glycemic and insulinemic meal responses modulate postprandial hepatic and intestinal lipoprotein accumulation in obese, insulin-resistant subjects. *Am J Clin Nutr* 80: 896-902.
26. Mamo JCL, James AP, Soares MJ, Griffiths DG, Purcell K, Schwenke JL (2005). A low-protein diet exacerbates postprandial chylomicron concentration in moderately dyslipidaemic subjects in comparison to a lean red meat protein-enriched diet. *Eur J Clin Nutr* 59: 1142.
27. Mortensen LS, Hartvigsen ML, Brader LJ, Astrup A, Schrezenmeir J, Holst JJ, Thomsen C, Hermansen K (2009). Differential effects of protein quality on postprandial lipemia in response to a fat-rich meal in type 2 diabetes: comparison of whey, casein, gluten, and cod protein. *Am J Clin Nutr* 90: 41-48.
28. Lia A, Andersson H, Mekki N, Juhel C, Senft M, Lairon D (1997). Postprandial lipemia in relation to sterol and fat excretion in ileostomy subjects given oat-bran and wheat test meals. *Am J Clin Nutr* 66: 357-365.
29. Cara L, Dubois C, Borel P, Armand M, Senft M, Portugal H, Pauli AM, Bernard PM, Lairon D (1992). Effects of oat bran, rice bran, wheat fiber, and wheat germ on postprandial lipemia in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 55: 81-88.
30. Gill JMR, Mees GP, Frayn KN, Hardman AE (2001). Moderate exercise, postprandial lipaemia and triacylglycerol clearance. *Eur J Clin Invest* 31: 201-207.
31. Sharrett AR, Heiss G, Chambless LE, Boerwinkle E, Coady SA, Folsom AR, Patsch W (2001). Metabolic and lifestyle determinants of postprandial lipemia differ from those of fasting triglycerides: The Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 275-281.
32. Orem A, Yaman SO, Altinkaynak B, Kural BV, Yucesan FB, Altinkaynak Y, Orem C (2018). Relationship between postprandial lipemia and atherogenic factors in healthy subjects by considering gender differences. *Clin Chim Acta* 480: 34-40.
33. Jackson KG, Knapper-Francis, JME, Morgan LM, Zampelas A, Williams CM (2003). Exaggerated postprandial lipaemia and lower post-heparin lipoprotein lipase activity in middle-aged men. *Clin Sci* 105: 457-466.

34. Van Beek AP, de Ruijter-Heijstek FC, Erkelens DW, de Bruin TW (1999). Menopause is associated with reduced protection from postprandial lipemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19: 2737-2741.
35. Couillard C, Bergeron N, Prud'homme D, Bergeron J, Tremblay A, Bouchard C, Mauriège P, Despres JP (1998). Postprandial triglyceride response in visceral obesity in men. *Diabetes* 47: 953-960.
36. Rivellese AA, De Natale C, Di Marino L, Patti L, Iovine C, Coppola S, Del Prato S, Riccardi G, Annuzzi G (2004). Exogenous and endogenous postprandial lipid abnormalities in type 2 diabetic patients with optimal blood glucose control and optimal fasting triglyceride levels. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 2153-2159.
37. Klop B, Elte J, Cabezas M (2013). Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients* 5: 1218-1240.
38. Mu H, Porsgaard T (2005). The metabolism of structured triacylglycerols. *Prog Lipid Res* 44: 430-448.
39. Pan X, Hussain MM (2012). Gut triglyceride production. *BBA-Mol Cell L* 1821: 727-735.
40. Feingold KR, Grunfeld C (2018). Introduction to lipids and lipoproteins. In *Endotext* [Internet]. MDText. com, Inc.
41. Hussain MM (2014). Intestinal lipid absorption and lipoprotein formation. *Curr Opin Lipidol* 25: 200.
42. Hussain, M. M. (2000). A proposed model for the assembly of chylomicrons. *Atherosclerosis* 148: 1-15.
43. Black DD (2007). Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. I. Development of intestinal lipid absorption: cellular events in chylomicron assembly and secretion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 293: 519-524.
44. Hussain MM, Kedeas MH, Singh K, Athar H, Jamali NZ (2001). Signposts in the assembly of chylomicrons. *Front Biosci* 6: 320-331.
45. Mansbach CM, Gorelick F (2007). Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packaging and secretion of chylomicrons. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 293: 645-650.

46. Mansbach CM, Siddiqi SA (2010). The biogenesis of chylomicrons. *Annu Rev Physiol* 72: 315-333.
47. Hussain MM, Fatma S, Pan X, Iqbal J (2005). Intestinal lipoprotein assembly. *Curr Opin Lipidol* 16: 281-285.
48. White DA, Bennett AJ, Billett MA, Salter AM (1998). The assembly of triacylglycerol-rich lipoproteins: an essential role for the microsomal triacylglycerol transfer protein. *Brit J Nutr* 80: 219-229.
49. Mansbach CM, Siddiqi S (2016). Control of chylomicron export from the intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 310: 659-668.
50. Hussain M, Nijstad N, Franceschini L (2011). Regulation of microsomal triglyceride transfer protein. *J Clin Lipidol* 6: 293-303.
51. Hussain MM, Shi J, Dreizen P (2003). Microsomal triglyceride transfer protein and its role in apoB-lipoprotein assembly. *J. Lipid Res* 44: 22-32.
52. Hussain MM, Rava P, Walsh M, Rana M, Iqbal J (2012). Multiple functions of microsomal triglyceride transfer protein. *Nutr Metab* 9: 14.
53. Liu Y, Tang C (2012). Regulation of ABCA1 functions by signaling pathways. *Biochim Biophys Acta Mol Cell L* 1821: 522-529.
54. Zannis VI, Chroni A, Krieger M (2006). Role of apoA-I, ABCA1, LCAT, and SR-BI in the biogenesis of HDL. *J Mol Med* 84: 276-294.
55. Oram JF (2003). HDL apolipoproteins and ABCA1: partners in the removal of excess cellular cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23: 720-727.
56. Oram JF, Lawn RM (2001). ABCA1: the gatekeeper for eliminating excess tissue cholesterol. *J Lipid Res* 42: 1173-1179.
57. Santamarina-Fojo S, Remaley AT, Neufeld EB, Brewer HB (2001). Regulation and intracellular trafficking of the ABCA1 transporter. *J Lipid Res* 42: 1339-1345.
58. Horie T, Ono K, Horiguchi M, Nishi H, Nakamura T, Nagao K, Hasegawa K (2010). MicroRNA-33 encoded by an intron of sterol regulatory element-binding protein 2 (Srebp2) regulates HDL in vivo. *Proc Natl Acad Sci* 107: 17321-17326.
59. Wijnhoven BPL, Michael MZ, Watson DI (2007). MicroRNAs and cancer. *Brit J Surg* 94: 23-30.
60. Winter J, Jung S, Keller S, Gregory RI, Diederichs S (2009). Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nat. Cell Biol* 11: 228.

61. Almeida MI, Reis RM, Calin GA (2011). MicroRNA history: discovery, recent applications, and next frontiers. *Mutat Res-Fund Mol M* 717: 1-8.
62. miRBase (2019) Available from: http://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_summary.pl?org=hsa [Accessed March 2019].
63. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C (2018). Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Front Endocrinol* 9: 402.
64. Ha M, Kim VN (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15: 509.
65. Bhaskaran M, Mohan M (2014). MicroRNAs: history, biogenesis, and their evolving role in animal development and disease. *Vet Pathol* 51:759-774.
66. Sohel MH (2016). Extracellular/circulating microRNAs: release mechanisms, functions and challenges. *Achiev Life Sci* 10: 175-186.
67. Alrob OA, Khatib S, Naser SA (2017). MicroRNAs 33, 122, and 208: a potential novel targets in the treatment of obesity, diabetes, and heart-related diseases. *J Physiol Biochem* 73: 307-314.
68. Elmén J, Lindow M, Schütz S, Lawrence M, Petri A, Obad S, Lindholm M, Hedtjarn M, Hansen HF, Berger U, Gullans S, Kearney P, Sarnow P, Straarup EM, Gullans, S. (2008). LNA-mediated microRNA silencing in non-human primates. *Nature* 452: 896.
69. Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, Stoffel M (2005). Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. *Nature* 438: 685.
70. Irani S, Hussain MM (2015). Role of microRNA-30c in lipid metabolism, adipogenesis, cardiac remodeling and cancer. *Curr Opin Lipidol* 26: 139-146.
71. Soh J, Iqbal J, Queiroz J, Fernandez-Hernando C, Hussain MM (2013). MicroRNA-30c reduces hyperlipidemia and atherosclerosis in mice by decreasing lipid synthesis and lipoprotein secretion. *Nat Med* 19: 892.
72. Pirola CJ, Gianotti TF, Castaño GO, Mallardi P, San Martino J, Ledesma MMGL, Flichman D, Mirshahi F, Sanyal AJ, Sookoian S (2015). Circulating microRNA signature in non-alcoholic fatty liver disease: from serum non-coding RNAs to liver histology and disease pathogenesis. *Gut* 64: 800-812.
73. Ono K (2016). Functions of microRNA-33a/b and microRNA therapeutics. *J Cardiol* 67: 28-33.

74. Rayner KJ, Suárez Y, Dávalos A, Parathath S, Fitzgerald ML, Tamehiro N, Fisher EA, Moore KJ, Fernández-Hernando C (2010). MiR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis. *Sci* 328: 1570-1573.
75. Reaven G M (1988). Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37: 1595-1607.
76. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC (2009). Harmonizing the Metabolic syndrome. *Circ* 120: 1640-1645.
77. Onat A, Sansoy V, Soydan I, Tokgozoglu L, Adalet K (2000). Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı, Risk Profili ve Kalp Hastalığı. İstanbul: Ohan.
78. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC, Spertus JA, Costa F (2005). Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circ* 112: 2735-2752.
79. Grundy SM (2007). Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 399-404.
80. World Health Organization. (1999). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus (No. WHO/NCD/NCS/99.2). Geneva: World health organization.
81. World Health Organization. (2009). 2008-2013 action plan for the global strategy for the prevention and control of noncommunicable diseases: prevent and control cardiovascular diseases, cancers, chronic respiratory diseases and diabetes.
82. Balkau B (1999). Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet med* 16: 442-443.
83. National Institutes of Health (2001). ATP III guidelines at-a-glance quick desk reference. NIH Publication, 01-3305.
84. Bloomgarden ZT (2003). American Association of Clinical Endocrinologists (AACE) consensus conference on the insulin resistance syndrome: 25–26 August 2002, Washington, DC. *Diabetes care* 26: 1297-1303.
85. Alberti KGM, Zimmet P, Shaw J (2005). The metabolic syndrome-a new worldwide definition. *The Lancet* 366: 1059-1062.

- 86.** Arslan M, Atmaca A, Ayvaz G, Başkal N, Beyhan Z, Bolu E, Can S, Çorakçı A, Dağdelen S, Demirağ NG, Demirer AN, Erbaş T, Gürsoy A, Güllü S, Ilgın ŞD, Karakoç A, Kulaksızoğlu M, Şahin M, Tanacı N, Törüner F, Tütüncü NB, Üçkaya G, Yetkin İ, Yılmaz M (2009). Metabolik sendrom klavuzu. Türkiye endokrinoloji ve metabolizma derneği. Ekim 8-14.
- 87.** Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, Lairon D, Nordestgaard BG, Ooi TC, Martinez PP, Bilianou H, Anagnostopoulou K, Panotopoulos, G (2011). Assessment and clinical relevance of non-fasting and postprandial triglycerides: an expert panel statement. *Curr Vasc Pharmacol* 9: 258-270.
- 88.** Borel P, Tyssandier V, Mekki N, Grolier P, Rochette Y, Alexandre-Gouabau MC, Lairon D, Azais-Braesco, V. (1998). Chylomicron β -carotene and retinyl palmitate responses are dramatically diminished when men ingest β -carotene with medium-chain rather than long-chain triglycerides. *J Nutr* 128:1361-1367.
- 89.** Bhattacharjee S (2016). DLS and zeta potential—what they are and what they are not?. *J Controlled Release* 235: 337-351.
- 90.** Pfaffl MW (2004). Quantification strategies in real-time PCR. *AZ of quantitative PCR* 1: 89-113.
- 91.** Higuchi R, Fockler C, Dollinger G, Watson R (1993). Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotec* 11: 1026.
- 92.** Nakamura K, Miyoshi T, Yunoki K, Ito H. (2016). Postprandial hyperlipidemia as a potential residual risk factor. *J Cardiol* 67: 335-339.
- 93.** Karpe F (1999). Postprandial lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *J Intern Med* 246: 341-355.
- 94.** Issa JS, Diamant J, Forti N (2005). Postprandial lipemia: influence of aging. *Arq Bras Cardiol* 85: 15-19.
- 95.** Maraki M, Aggelopoulou N, Christodoulou N, Katsarou C, Anapliotis P, Kavouras SA, Panagiotakos D, Sidossis LS (2011). Validity of abbreviated oral fat tolerance tests for assessing postprandial lipemia. *Clin Nutr* 30: 852-857.
- 96.** Dubois C, Beaumier G, Juhel C, Armand M, Portugal H, Pauli AM, Borel P, Latgé C, Lairon D (1998). Effects of graded amounts (0–50 g) of dietary fat on postprandial lipemia and lipoproteins in normolipidemic adults. *Am J Clin Nutr* 67: 31-38.
- 97.** Mihas C, Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, Lairon D, Nordestgaard BG, OI TC, Perez-Martinez P, Bilianou H, Anagnostopoulou K, Panotopoulos, G (2011).

- Diagnostic value of postprandial triglyceride testing in healthy subjects: a meta-analysis. *Curr Vasc Pharmacol* 9: 271-280.
- 98.** Weiss EP, Fields DA, Mittendorfer B, Haverkort MD, Klein S (2008). Reproducibility of postprandial lipemia tests and validity of an abbreviated 4-hour test. *Metabolism* 57: 1479-1485.
- 99.** Scott RR, Linden MA, Zhang JQ, Warner SO, Altena TS, Smith BK, Ziogas GG, Liu Y, Thomas TR (2009). Predicting Postprandial Lipemia in Healthy Adults and in At-Risk Individuals with Components of the Cardiometabolic Syndrome. *The Journal of Clinical Hypertension* 11: 663-671.
- 100.** Kotseva K, Wood D, Backer GD, Bacquer DD, Pyörälä K, Keil U, Euroaspire Study Group (2009). EUROASPIRE III: a survey on the lifestyle, risk factors and use of cardioprotective drug therapies in coronary patients from 22 European countries. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 16:121-137.
- 101.** Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, Andreotti F, Borén J, Catapano AL, Descamps OS, Fisher E, Kovanen PT, Kuivenhoven JA, Lesnik P, Masana L, Nordestgaard BG, Ray KK, Reiner Z, Taskinen MR, Tokgözoğlu L, Hansen AT, Watts GF (2011). Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J* 32: 1345-1361.
- 102.** Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A (2007). Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *Jama* 298: 299-308.
- 103.** Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, Kolovou G, Baum H, Bruckert E, Watts GF, Sypniewska G, Wilklund O, Boren J, Chapman MJ, Cobbaert C, Descamps OS, Eckardstein A, Kamstrup PR, Pulkki K, Kronenberg F, Remaley AT, Rifai N, Ros E, Langlois M (2016). Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points—a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Eur Heart J* 37: 1944-1958.
- 104.** Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Pavlidis AN, Salpea KD, Iraklianiou SA, Tsarpalis K, Damaskos DS, Manolis A Cokkinos, D. V. (2005). Postprandial lipemia

in men with metabolic syndrome, hypertensives and healthy subjects. *Lipids Health Dis* 4: 21.

105. James AP, Watts GF, Barrett PHR, Smith D, Pal S, Chan DC, Mamo JC (2003). Effect of weight loss on postprandial lipemia and low-density lipoprotein receptor binding in overweight men. *Metabolism* 52: 136-141.
106. Geltner C, Lechleitner M, Föger B., Ritsch, A., Drexel, H., & Patsch, J. R. (2002). Insulin improves fasting and postprandial lipemia in type 2 diabetes. *European journal of internal medicine*, 13(4), 256-263.
107. Ruotolo G, Howard BV (2002). Dyslipidemia of the metabolic syndrome. *Curr Cardiol Rep* 4: 494-500.
108. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, Q'Biriant KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella R, Nelson PS, Martin DB, Tewarl M (2008). Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci* 105: 10513-10518.
109. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY (2008). Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 18: 997.
110. Runtsch MC, Round JL, O'Connell RM (2014). MicroRNAs and the regulation of intestinal homeostasis. *Front Genet* 5: 347.
111. Peck BC, Sincavage J, Feinstein S, Mah AT, Simmons JG, Lund PK, Sethupathy P (2016). miR-30 family controls proliferation and differentiation of intestinal epithelial cell models by directing a broad gene expression program that includes SOX9 and the ubiquitin ligase pathway. *J Biol Chem* 291: 15975-15984.
112. Hayashi H, Fujimoto K, Cardelli JA, Nutting DF, Bergstedt S, Tso P (1990). Fat feeding increases size, but not number, of chylomicrons produced by small intestine. *Am J Physiol-Gastr L Physiol* 259: 709-719.
113. Brouillette CG, Anantharamaiah GM, Engler JA, Borhani DW (2001). Structural models of human apolipoprotein AI: a critical analysis and review. *BBA-Mol Cell Biol L*, 1531(1-2), 4-46.



EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
KTÜ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL
BAŞKANLIĞI


Sayı : 24237859-652
Konu: Etik Kurul onay belgesi

27/11/2017

Sayın; Prof. Dr. Asım ÖREM
Tıbbi Biyokimya ABD.

"Postprandiyal Lipemi ile Plazma MikroRNA Ekspresyon İlişkisinin İncelenmesi"
başlıklı etik kurul 2017/194 protokol numaralı tez çalışması raporör ve etik kurul görüşleri
doğrultusunda; tıbbi etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilginizi ve gereğini rica ederim.


Prof. Dr. Faruk AYDIN
Etik kurul Başkanı

Ek: 1 adet onay belgesi

EK 1. (Devam)

KTÜ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSSEL ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Postprandiyal Lipemi ile Plazma MikroRNA Ekspresyon İlişkisinin İncelenmesi"		
	ARAŞTIRMANIN PROTOKOL/PLAN KODU	2017 / 194		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Asım ÖREM		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya		
	TEZ SAHİBİ/DİĞER ARAŞTIRICILAR, UNVANI/ADI/SOYADI	Arş.Gör.Serap ÖZER YAMAN, Y.Doç.Dr.Fulya BALABAN YÜCESAN, Prof.Dr.Cihan ÖREM, Prof.Dr.Birgül KURAL		
	DESTEKLEYİCİ			
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ			
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	TEZ <input checked="" type="checkbox"/>	AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ/PLANI			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>		
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>			
DİĞER:	<input type="checkbox"/>			

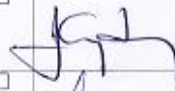

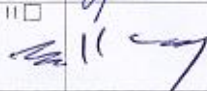


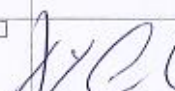

Sayfa 1

EK 1. (Devam)

KTÜ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARAR FORMU

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 8	Tarih: 20/11/2017
	Prof.Dr.Asim ÖREM'in sorumluluğunda yürütülmesi planlanan Arş.Gör.Serap ÖZER YAMAN'a ait "Postprandiyal Lipemi ile Plazma MikroRNA Ekspresyon İlişkisinin İncelenmesi" başlıklı 2017/194 no.lu ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma/tez başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına; toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	

KTÜ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU	
ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Faruk AYDIN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		İlişki *		Katılım **		İmza
Prof.Dr.Faruk AYDIN Başkan:	Tıbbi Mikrobiyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Gamze ÇAN Başkan Yrd.	Halk Sağlığı	KTÜ Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.S.Camer KARAHAN Üye:	Tıbbi Biyokimya	KTÜ Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.S. Murat KESİM Raporör:	Tıbbi Farmakoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	İZİNLI
Prof.Dr.Yılmaz BÜLBÜL Üye:	Göğüs Hastalıkları	KTÜ Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Mural LİV A OĞLU Üye:	Plastik, Rekons. ve Estetik Cer.	KTÜ Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Şafak ERSÖZ Üye:	Tıbbi Patoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	İZİNLI
Y.Doç.Dr.Demet SAĞLAM AYKUT Üye:	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	KTÜ Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Murat ÇAKIR Üye:	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	KTÜ Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

EK 2. Anket Formu

ANKET FORMU

Araştırmanın Adı: Postprandiyal Lipemi ile Plazma MikroRNA Ekspresyon İlişkisinin İncelenmesi

Adınız ve soyadınız:

Telefon numaranız:

Faks/E-mailiniz:

Adresiniz:

Doğum tarihiniz: (gün, ay ve yıl olarak)

Cinsiyetiniz: 1. Kadın 2. Erkek

SOSYODEMOGRAFİK DURUM İLE İLGİLİ SORULAR

1. Çalışma durumunuz: 1. Ücretli-maaşlı- özelde 2. Ücretli-maaşlı – kamuda
3. Emekli (çalışmıyor) 4. Ev kadını / ev kızı
5. Öğrenci 6. Serbest meslek

SAĞLIK DURUMU İLE İLGİLİ SORULAR

4. Kronik bir hastalığınız var mı?

1. Evet.....var 2. Hayır,yok

5. Herhangi bir hastalık nedeniyle kullandığınız bir ilaç var mı? Cevabınız evet ise ne kullanıyorsunuz?

1. Evet Kullanıyorum 2. Hayır kullanmıyorum

6. Herhangi bir destek ürün (vitamin – mineral vb) kullanıyor musunuz?

1. Evet Kullanıyorum 2. Hayır kullanmıyorum

7. Herhangi bir besine karşı alerjiniz/hassasiyetiniz var mı?

1. Evet var 2. Hayır yok

8. Sigara içiyor musunuz?

1. Evet.....adet/gün 2. Hayır 3. Bıraktım

BESLENME ALIŞKANLIKLARI İLE İLGİLİ SORULAR

9. Genellikle günde kaç öğün yemek yersiniz?

10. Sabahları kahvaltı eder misiniz?

Hemen hemen her sabah ederim	
Arada sırada ederim	
Sadece hafta sonları ederim	
Hiç etmem	

11. Sabah kahvaltısında içecek tüketir misiniz?

1. Evet 2. Hayır

EK 2. (Devam)

12. Sabah kahvaltısında genellikle hangi içeceği tüketirsiniz? (**İçecek tüketenlere sorulacak**)

İçecek	Miktar
Siyah çay	
Yeşil çay	
Diğer bitki çayları	
Kahve	
Süt	
Meyve suyu	
Diğer.....	

13. Ara öğün tüketir misiniz?

1.Evet

2.Hayır

3.Bazen

17. Ara öğünlerde genellikle neler tüketirsiniz? (**Ara öğün tüketenlere sorulacak**)

	Miktar
Taze Meyve	
Kuru meyve	
Yağlı tohumlar (Fındık-ceviz-badem)	
Bisküvi	
Çikolata	
Cips	
Peynir – ekmek	
Poğaç – simit – börek	
Süt – yoğurt	
Meyve suyu	
Gazlı içecekler	
Siyah çay	
Yeşil çay	
Diğer bitki çayları	
Kahve	
Diğer.....	

18. Günde toplam kaç bardak çay/kahve içersiniz? Bir bardak çay / kahve içerken kullandığınız şeker miktarını belirtiniz.

.....

19. Alkollü içecekler tüketir misiniz?

1.Evet

2.Hayır

3.Bazen

20. Alkollü içeceklerden hangisini / hangilerini ne sıklıkta ve ne miktarda tüketirsiniz?

(**Alkollü içecek tüketenlere sorulacak**)

.....

21. Ortalama günlük su tüketiminiz ne kadardır?

.....

EK 2. (Devam) Anket Formu

22. Aşağıdaki yemeklerde hangi yağı kullanıyorsunuz?

	Kızartma	Sıcak yemekler	Soğuk yemekler	Salata	Pilav/makarna vb.
Ayçiçek yağı					
Fındık yağı					
Mısırözü yağı					
Zeytinyağı					
Margarin					
Tereyağ					
Diğer.....					

23. Aşağıdaki besinleri (siz kişisel olarak) ne sıklıkta tüketirsiniz?

	Her gün	Haftada 3-4	Haftada 1-2	15 günde 1	Daha seyrek	Hiç	Bilmiyor
Et ve ürünleri							
• Balık ve deniz ürünleri							
• Tavuk ve diğer kümes hayvanları							
• Kırmızı et							
• Sakatatlar							
Süt ve süt ürünleri							
• Tam yağlı							
• Yarım yağlı							
• Yağsız							
Yumurta ve yumurtalı ürünler							
Kuru baklagiller							
Beyaz ekme							
Esmer ekme							
Pirinç-makarna							
Bulgur							
Unlu mamuller (tuzlu simit,poğaç, börek)							
Unlu mamuller (tatlı kek, kurabiye, bisküvi)							
Taze sebze-meyve							
Kuru meyve							
Yağlı tohumlar (Fındık- fıstık- ceviz- vs)							
Tatlılar-şeker							
Zeytinyağı-fındık yağı							
Ayçiçeği-mısır özü yağı							
Tereyağı-margarin							
İçecekler							
• Gazlı içecekler (kola vb.)							
• Hazır meyve suları							
• Bitki çayları							

EK 2. (Devam)

FİZİKSEL AKTİVİTE DURUMU İLE İLGİLİ SORULAR

24. Düzenli fiziksel aktivite yapar mısınız?

(Bir seferde en az 30 dakika ve üzerindeki yürüyüş, yüzme, bisiklet gibi fiziksel aktiviteler)

1. Evet.....yapıyorum

2. Hayır

25. Ne sıklıkta fiziksel aktivite yapıyorsunuz? (Fiziksel aktivite yapanlara sorulacak)

Her gün	
Haftada 5 – 6	
Haftada 3 – 4	
Haftada 1 – 2	

EK 3. Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Örneği (Sağlıklı Gönüllü)

Araştırmanın Adı: Postprandiyal Lipemi ile Plazma MikroRNA Ekspresyon İlişkisinin İncelenmesi

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel

Çalışmanın amacının, yağ içeriği zengin bir öğünden sonra alınacak kan örneklerinde kan lipid değerlerini ve bunların metabolizmasını etkileyecek genleri tespit etmek olduğu tarafıma anlatıldı.

Araştırmada Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Kardiyoloji Polikliniğine başvuran gönüllü kişilerin yer alacağı bildirildi. Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı **22 hasta (metabolik sendromlu)** ve **22 sağlıklı birey** olmak üzere toplam **44 kişi** olacağı söylendi. Çalışmaya katılmak isteyen **sağlıklı gönüllü kişilerin**, Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP) Erişkin Paneli III (ATP III) ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF)'e göre belirtilen kriterleri **taşımayacağı** belirtildi.

Hamileler, akut-kronik böbrek yetmezliği, karaciğer rahatsızlığı, endokrin ve metabolik bozukluk, kanser, sindirim-emilim bozukluğu olanlar, sigara, alkol ve lipid düzeyini etkileyebilecek ilaç kullananların çalışmaya dahil edilmeyeceği tarafıma bildirildi.

Çalışmaya katılacak gönüllülerin, yağlı öğün tüketimi öncesinde, impedanslı tartı kullanılarak; vücut ağırlıkları (kg), vücut yağ yüzdeleri, vücut kütle indeksi (BMI) hesaplanacağı, bel/kalça oranı cm cinsinden ölçülerek kaydedileceği ayrıca tansiyon ölçümleri de yapılacağı anlatıldı.

Tüketilecek olan yağlı öğünün tost ve ayrandan oluşacağı, toplumsal gıda tüketim çeşitleri ve tolere edebilirlikleri göz önünde tutularak hazırlanacağı anlatıldı. Yağlı öğününün içeriğinin 75 g yağ, 25 g karbohidrat ve 10 g proteinden oluşup, yaklaşık 1000-1100 kcal değerinde olacağı, hazırlanan tostun ayran (200 mL) eşliğinde 15-20 dakikada tüketilmesi gerektiği, ve birçok insanın normal günlük tüketimi düşünüldüğünde bu miktarın tolere edilebilir bir miktar olduğu tarafıma anlatıldı.

EK 3. (Devam)

Gönüllülere 10-12 saatlik açlık dönemini takiben sabah 08:00 ile 09:00 saatleri arasında bu yağlı öğünün yedirileceği, KTÜ Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi kan alma ünitesine bir refekatçi ile birlikte gidilerek kan örneklerinin yağlı öğün öncesi (açlık), yağlı öğün sonrası 2. 4. ve 6. saatte, günde 4 kez yaklaşık 10'ar mL olmak üzere alınacağı bildirildi. Yapılacak olan bu çalışmada benden bir kereliğine mahsus olmak üzere 4 tüp kan alınacağı, konu ile ilgili biyokimyasal analizler yapılacağı ve ilgili sonuçların tarafıma bildirileceği anlatıldı. Rutin işlemleri için kan verme sırasında 4 kez yaklaşık 10'ar mL kan verme dışında hiçbir ek işlem olmayıp, bunda hiçbir tıbbi riski olmadığı tarafıma bildirildi. Araştırma sürecinde birlikte kullanılması sakıncalı ilaçların/besinlerin olmadığı söylendi.

Araştırmaya katılımın isteğe bağlı olduğu ve istediğim zaman, herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkımı kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebileceğimi veya araştırmadan çekilebileceğimi ve araştırmanın sağlığım üzerine herhangi bir tehlikesinin olmadığını biliyorum.

Bana ait tüm tıbbi ve kimlik bilgilerin gizli tutulacağı ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgilerimin verilmeyeceği, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerime ulaşabileceği ve istediğimde kendime ait tıbbi bilgilere ulaşabileceğim tarafıma anlatıldı.

Araştırmadan tıbbi olarak bir yarar sağlanması söz konusu olmadığı, ancak bu çalışmadan çıkarılan sonuçların gelecekte başka insanların yararına kullanılabileceği ve doğrudan yarar görmeyi ya da tedavinin seyrinin değiştirilmesini beklememek gerektiği tarafıma bildirildi.

Araştırma sonuçlarının, eğitim ya da bilimsel amaçlarla kullanılması sırasında benim mahremiyetime saygı gösterileceğine inanıyorum. Araştırma sırasında araştırma ile doğrudan ya da dolaylı olarak ilişkisi olan herhangi bir sağlık sorunu olduğunda bu sorunun giderileceği güvencesi verildi. Gönüllü olarak katılmaya karar verdiğim araştırmanın ekonomik sorumluluğunun bana ait olmadığı ve araştırma için öngörülen sürenin 12 ay olduğu bana söylendi.

Araştırma süresince kendimle ilgili bir olumsuzluk hissettiğimde Prof. Dr. Cihan ÖREM ve Serap ÖZER YAMAN'a nolu telefondan 24 saat ulaşabileceğimi biliyorum.

EK 3. (Devam)

Bu açıklamaları anladım ve gönüllülükle bu onamı verdim. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		
VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		
AYDINLATAN HEKİM		İMZASI
ADI & SOYADI		
TARİH		
GEREKTEĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

EK 4. Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Örneği (Hasta Gönüllü)

Araştırmanın Adı: Postprandiyal Lipemi ile Plazma MikroRNA Ekspresyon İlişkisinin İncelenmesi

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel

Çalışmanın amacının, yağ içeriği zengin bir öğünden sonra alınacak kan örneklerinde kan lipid değerlerini ve bunların metabolizmasını etkileyecek genleri tespit etmek olduğu tarafıma anlatıldı.

Araştırmada Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Kardiyoloji Polikliniğine başvuran gönüllü kişilerin yer alacağı bildirildi. Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı **22 hasta (metabolik sendromlu)** ve **22 sağlıklı birey** olmak üzere toplam **44 kişi** olacağı söylendi. Çalışmaya katılmak isteyen **hasta gönüllü kişilerin**, Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP) Erişkin Paneli III (ATP III) ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF)'e göre aşağıdaki beş kriterden en az üçünü bulunduran, böylelikle **metabolik sendrom tanısını almış gönüllü bireylerden** oluşacağı belirtildi.

- 1) Abdominal obezite (bel çevresi genişliği erkeklerde ≥ 102 cm, bayanlarda ≥ 88 cm)
- 2) Açlık plazma glukozu ≥ 100 mg/dL veya diyabet tanısı almış
- 3) HDL- kolesterol erkeklerde < 40 mg/dL, bayanlarda < 50 mg/dL
- 4) Trigliserid ≥ 150 mg/ dL
- 5) Hipertansiyon ($\geq 130/85$ mm Hg)

Hamileler, akut-kronik böbrek yetmezliği, karaciğer rahatsızlığı, başka endokrin ve metabolik bozukluk, kanser, sindirim-emilim bozukluğu olanlar, sigara, alkol ve lipid düzeyini etkileyebilecek ilaç kullananların çalışmaya dahil edilmeyeceği tarafıma bildirildi.

Çalışmaya katılacak gönüllülerin, yağlı öğün tüketimi öncesinde, impedanslı tartı kullanılarak; vücut ağırlıkları (kg), vücut yağ yüzdeleri, vücut kütle indeksi (BMI) hesaplanacağı, bel/kalça oranı cm cinsinden ölçülerek kaydedileceği ayrıca tansiyon ölçümleri de yapılacağı anlatıldı.

EK 4. (Devam)

Tüketilecek olan yağlı öğünün tost ve ayrandan oluşacağı, toplumsal gıda tüketim çeşitleri ve tolere edebilirlikleri göz önünde tutularak hazırlanacağı anlatıldı. Yağlı öğününün içeriğinin 75 g yağ, 25 g karbohidrat ve 10 g proteinden oluşup, yaklaşık 1000-1100 kcal değerinde olacağı, hazırlanan tostun ayran (200 mL) eşliğinde 15-20 dakikada tüketilmesi gerektiği ve birçok insanın normal günlük tüketimi düşünüldüğünde bu miktarın tolere edilebilir bir miktar olduğu tarafıma anlatıldı.

Gönüllülere 10-12 saatlik açlık dönemini takiben sabah 08:00 ile 09:00 saatleri arasında bu yağlı öğünün yedirileceği, KTÜ Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi kan alma ünitesine bir refekatçi ile birlikte gidilerek kan örneklerinin yağlı öğün öncesi (açlık), yağlı öğün sonrası 2. 4. ve 6. saatte, günde 4 kez yaklaşık 10'ar mL olmak üzere alınacağı bildirildi. Yapılacak olan bu çalışmada benden bir kereliğine mahsus olmak üzere 4 tüp kan alınacağı, konu ile ilgili biyokimyasal analizler yapılacağı ve ilgili sonuçların tarafıma bildirileceği anlatıldı. Rutin işlemleri için kan verme sırasında 4 kez yaklaşık 10'ar mL kan verme dışında hiçbir ek işlem olmayıp, bununda hiçbir tıbbi riski olmadığı tarafıma bildirildi. Araştırma sürecinde birlikte kullanılması sakıncalı ilaçların/besinlerin olmadığı söylendi.

Araştırmaya katılımın isteğe bağlı olduğu ve istediğim zaman, herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkımı kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebileceğimi veya araştırmadan çekilebileceğimi ve araştırmanın sağlığım üzerine herhangi bir tehlikesinin olmadığını biliyorum.

Bana ait tüm tıbbi ve kimlik bilgilerin gizli tutulacağı ve araştırma yayınlanırsa bile kimlik bilgilerimin verilmeyeceği, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerime ulaşabileceği ve istediğimde kendime ait tıbbi bilgilere ulaşabileceğim tarafıma anlatıldı.

Araştırmadan tıbbi olarak bir yarar sağlanması söz konusu olmadığı, ancak bu çalışmadan çıkarılan sonuçların gelecekte başka insanların yararına kullanılabileceği ve doğrudan yarar görmeyi ya da tedavinin seyrinin değiştirilmesini beklememek gerektiği tarafıma bildirildi.

Araştırma sonuçlarının, eğitim ya da bilimsel amaçlarla kullanılması sırasında benim mahremiyetime saygı gösterileceğine inanıyorum. Araştırma sırasında araştırma ile doğrudan ya da dolaylı olarak ilişkisi olan herhangi bir sağlık sorunu olduğunda bu sorunun giderileceği güvencesi verildi.

EK 4. (Devam)

Gönüllü olarak katılmaya karar verdiğim araştırmanın ekonomik sorumluluğunun bana ait olmadığı ve araştırma için öngörülen sürenin 12 ay olduğu bana söylendi. Araştırma süresince kendimle ilgili bir olumsuzluk hissettiğimde Prof. Dr. Cihan ÖREM ve Arş. Gör. Serap ÖZER YAMAN'a ..nolu telefonda 24 saat ulaşabileceğimi biliyorum.

Bu açıklamaları anladım ve gönüllülükle bu onamı verdim. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

EK 4. (Devam)

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		
VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		
AYDINLATAN HEKİM		İMZASI
ADI & SOYADI		
TARİH		
GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Serap ÖZER YAMAN
Uyruğu : T.C
Doğum Tarihi ve Yeri : 17.04.1984
Telefon (İş) : 0462 377 78 89
E-Posta : serapozer@ktu.edu.tr
Yazışma Adresi (İş) : KTÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora	KTÜ Tıbbi Biyokimya AbD	2019
Yüksek Lisans	KTÜ Tıbbi Biyokimya AbD	2013
Lisans	KTÜ Kimya Bölümü	2009
Lise	Tevfik Serdar Anadolu Lisesi	2002

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
1. Araştırma Görevlisi	KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya AbD	2012-2019

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

1. Orem A, Yaman SO, Altinkaynak B, Kural BV, Yucesan FB, Altinkaynak Y, Orem C (2018). Relationship between postprandial lipemia and atherogenic factors in healthy subjects by considering gender differences. Clin Chim Acta 480: 34-40.