

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

METABOLİK SENDROMDA ABCC8 (SUR1)
POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Yunus Emre YANDI

TRABZON-2006

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

METABOLİK SENDROMDA ABCC8 (SUR1)
POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Yunus Emre YANDI

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Orhan DEĞER

TRABZON-2006

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI

METABOLİK SENDROMDA ABCC8 (SUR1)
POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ

Yunus Emre YANDI

Tezin Enstitüye Veriliş Tarihi : 25.12.2006

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 22.12.2006

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Orhan DEĞER

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ekin ÖNDER

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Edip KEHA

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Abdülkerim BEDİR

Jüri Üyesi : Doç. Dr. S. Caner KARAHAN

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Orhan DEĞER

ARALIK 2006

TRABZON

ÖNSÖZ

TEZ Danışmanım Prof. Dr. Orhan DEĞER'E, tüm anabilim dalı hocalarıma ve özellikle her an yardımını gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Birgül Vanizor KURAL, Uzman Dr. Ilgın Hoşver, ve Mihriban AYVAZ'a değerli bilgi ve becerilerini aktardıkları için, İç Hastalıkları ABD Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Cihangir EREM ve Uzman Dr. Arif HACIHASANOĞLU'na, Mikrobiyoloji AB.D Başkanı Prof. Dr. Murat ERTÜRK ve Doç. Dr. Faruk AYDIN'a Laboratuvarlarını çalışmalarımında kullanımına açtıkları için ayrıca annem, babam, kardeşlerim, kızım ve eşime çalışmalarım esnasında göstermiş oldukları anlayışlarından dolayı teşekkür ederim.

Yunus Emre YANDI

Bu çalışma KTÜ Bilimsel Araştırma Komisyonu tarafından
(Kod No: 2005.116.001.1) desteklenmiştir

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	i
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ	vii
KISALTAMALAR LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Metabolik Sendrom	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Metabolik Sendromun Patofizyolojisi ve Tanımı	4
2.1.3. Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri	4
2.1.3.1. Obezite	5
2.1.3.2. İnsülin Rezistansı İle Birlikte Glukoz İntoleransı	6
2.1.3.3. Hipertansiyon	7
2.1.3.4. Dislipidemi	8
2.1.3.5. Protrombotik Durum	8
2.1.4. Obezite İnsülin Rezistansı ve Metabolik Sendrom	9
2.1.5. Metabolik Sendromun Tedavisi	9
2.1.6. 2.2.1. ABC Taşıyıcılarının Yapısı Ve Mekanizması	10
2.2. ABC Taşıyıcılar	10
2.2.1. ABC Taşıyıcılarının Yapısı Ve Mekanizması	11
2.2.1.1. ABC Süper Ailesi	11
2.2.1.2. ABC Taşıyıcılarının Mekanizması	12
2.2.2. ABC Taşıyıcılarının Hücresel Fonksiyonları	13
2.2.2.1. Besin Alımı	13
2.2.2.2. Hücre Dışına Protein Salınımı	14
2.2.2.3. Hücre İçi Membranlar	15
2.2.2.4. ABC Taşıyıcılarının Düzenlenmesi	15

	iii
2.2.2.5. ABC Taşıyıcılar Tarafından Düzenleme	15
2.2.3. ABC (ATP-Bağlayan Kaset) Sistemlerinin Filogenetik ve Fonksiyonel Sınıflandırılması	16
2.2.3.1. ABC Sistemlerinin Sınıflandırılması ve Detaylı Listesi	17
2.2.3.2. Canlı Organizmalarda ABC Sistemlerinin Aileleri	17
2.2.4. ABC Taşıyıcıların Domain Organizasyonu	19
2.2.4.1. Transmembran Domainler	21
2.2.4.2. ATP-Bağlayan Kaset (ABC) Domainler	22
2.2.4.2.1. ABC Domainlerinin Yapısı	22
2.2.4.2.2. Substrat Özgüllüğü	24
2.2.5. ABC Protein Ve Gen Organizasyonu	25
2.2.6. ABC Taşıyıcıların Metabolizma ve Hastalıkları	27
2.2.6.1. ABC Taşıyıcılar ile ilgili Hastalıklar	27
2.2.6.2. ATP' ye Hassas K ⁺ Kanallarının Fizyolojik Ve Patofizyolojik Roller	29
2.2.7. İnsan ABC Gen Alt Ailesinin Tanıtımı	31
2.2.8. ABCC8 Sülfoil Üre Reseptörleri: ATP-Hassas K ⁺ Kanallarını Düzenleyen ABC Taşıyıcılar	32
3. MATERYAL VE METOD	39
3.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	39
3.2. Deneyin Planlanması ve Numünelerin Toplanması	39
3.3. Otoanalizörde Çalışılan Parametreler	40
3.4. ABCC8 Dizi Analizi Çalışma Protokolü	40
3.4.1. DNA İzolasyonu	41
3.4.2. ABCC8 Ekson 16, Ekson 18 Gen Bölgelerinin PCR'(Polimeraz Zincir Reaksiyonu) İle çoğaltılması	43
3.4.3. PCR Ürünlerinin Elektrofrez	44
3.4.4. Saflaştırma	45
3.4.5. Saflaştırma Sonrası Elektrofrez	47
3.4.6. Dizi Döngüsü	47
3.4.7. NaAc ile Saflaştırma	49
3.4.8. DNA Dizi Analizi	49

	iv
3.4.9. DNA Dizi Uyum Analizi	51
4. BULGULAR	53
5. TARTIŞMA	68
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	72
7. ÖZET	73
8. SUMMARY	74
9. KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	81

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Metabolik Sendromda fizyopatoloji.	7
Şekil 2. ABC taşıyıcı proteinleri hücre membranında yerleşimi.	11
Şekil 3. Hücre membranında besinlerin taşınma mekanizmaları.	14
Şekil 4. ABC proteinlerinin domain düzeni.	19
Şekil 5. ABC taşıyıcılarının domain organizasyonu.	20
Şekil 6. ABC taşıyıcı yapısal organizasyonu.	22
Şekil 7. ABC Domainleri: Yapı- Dizi korunması.	24
Şekil 8. Tipik ABC taşıyıcı proteinin diyagramı.	26
Şekil 9. ABC gen yapısı. Bir ABC Half transporter ve full transporter diyagramı.	26
Şekil 10. K_{ATP} kanalları	32
Şekil 11. K_{ATP} kanallarının kompozisyon ve sitokiyometrisi.	33
Şekil 12. Pankreas β hücrelerindeki K_{ATP} kanalları, ve insülin salgılanma mekanizması.	37
Şekil 13. A. Hücre içine glukoz alımı ile insülin salınımı	
B. SUR1 ve K_{IR} 6.2 membran yerleşimi	38
Şekil 14. Agaroz Jel elektroforez görünümü	45
Şekil 15. A. PCR sonrası elektroforez jel görüntüsü.	
B. Saflaştırma sonrası elektroforez jel görünümü	48
Şekil 16 A. Applied Biosystem Sequence analyser.	50
Şekil 17. HSSUR116 referans dizi ile uyan kontrol grubu örnek elektroforez nükleotit dizisi kodon sırası	57
Şekil 18. HSSUR118 referans dizi ile uyan kontrol grubu örnek elektroforez, nükleotit dizisi kodon Sırası	58
Şekil 19. HSSUR118 759. kodon heterozigot c→t (ACC-ACT) polimorfizmi	59
Şekil 20. Metabolik sendromlu HSSUR116 723. kodon C/T (Y) polimorfizmi.	60
Şekil 21. Metabolik sendromlu SUR116 723. kodon C/T (Y) polimorfizmi	61
Şekil 22 Metabolik sendromlu SUR116 723. kodon C/T (Y) polimorfizmi	62

Şekil 23. HSSUR118 759. kodon heterozigot c→t (ACC-ACT) polimorfizmi	63
Şekil 24. HSSUR118 760. kodon G/C, 761. kodon t→g L761V polimorfizmi	64
Şekil 25. HSSUR118 761. kodon t→g (TTG-GTG) L761V polimorfizmi	65

TABLOLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Uluslararası kuruluşların Metabolik Sendrom için tanımlamış olduğu klinik kriterler	4
Tablo 2. Erkek ve kadınlarda VKİ, yağ yüzdesi, MS prevalansı.	6
Tablo 3. İnsanda ABC proteinleri substrat ve transport fonksiyonlarına göre tanımlanmıştır.	10
Tablo 4. ABC Sistemlerinin Sınıfları, Aileleri ve Alt Aileleri	18
Tablo 5. ABC Taşıyıcıları İle İlişkili Hastalıklar	28
Tablo 6. İnsan ABC genlerinin listesi, kromosomal yerleşimi, ve fonksiyonu.	31
Tablo 7. HSSUR1 ekson 16 ve ekson 18 için referans dizi, ulaşım (accession) numarası ve kodlayan baz dizilimi ile karşılık gelen amino asit dizisi.	52
Tablo 8. Metabolik Sendromlu hasta ve kontrol grubunda parametreler	53
Tablo 9. Metabolik sendromlu (hasta) ve sağlıklı bireylerde (kontrol) parametrelerin cinsiyete göre dağılımı	54
Tablo 10. HSSUR1 Exon 16 ve Exon 18 için tespit edilen polimorfizmlerin lokasyon, kodon, nükleotid değişimi ve amino asit değişimleri	55
Tablo 11. HSSUR1 Exon 16 kodon 723 CTT→TTT polimorfizminin genotip ve allel frekansları	55
Tablo 12. HSSUR1 exon 18 kodon 759 ACC→ACT polimorfizminin genotip ve allel frekansları	55
Tablo 13. HSSUR1 exon 18 kodon 760 GAC→GAG polimorfizminin genotip ve allel frekansları	56
Tablo 14. HSSUR1 exon 18 kodon 761 TTG→GTG polimorfizminin genotip ve allel frekansları	56
Tablo 15. SUR1 geninin ekson 16 723. kodon da C/C ve C/T allellerine	66
Tablo 16. SUR1 geninin ekson 18 760. kodon da C/C ve C/G allellerine	67
Tablo 17. SUR1 ekson 16 ve ekson 18 için tespit edilen SNP'ler ile Tip 2 Diyabet Mellitus ile ilişkisi.	70

SİMGELER VE KISALTMALAR

AACE	American Association of Clinical Endocrinologists
ABC	ATP-binding cassette protein süper ailesi
ABCC8	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 8
AKŞ	Açlık Kan Şekeri
ATP III	Adult Treatment Panel III (yetişkin tedavi paneli)
BMI	Body mass indeks (vücut kitle indeksi)
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
DKB	Diastolik kan basıncı
Glu	Glukoz
HDL-K	Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol
IDF	Internasyonal Diabetes Federasyon
KBY	Kronik Böbrek Yetmezliği
K _{IR6X}	Inward-Rectifier K ⁺ Channels
KKH	Koroner kalp hastalığı
LDL-K	Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MDR1	Human Multidrug-Resistance
MI	Miyokard infarktüsü
MS	Metabolik Sendrom
NBF	Nucleotid Binding Folds (Nükleotid Bağlayıcı Kıvrım)
NCEP	National Cholesterol Education Program(Ulusal Kolesterol Eğitim Program)
RAAS	Renin-Anjiotensin-Aldosteron-Sistem
SKB	Sistolik kan basıncı
SUR1	Sülfonil Üre Reseptörü1
SVO	Serebrovasküler olay
TG	Trigliseridemi
TK	Total Kolesterol
WHO	World Health Organization

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İlk kez 1960'lı yıllarda tanımlanan metabolik sendrom; insülin rezistansı, kompensatuar hiperinsulinemi, glukoz toleransında değişiklikler, plazma trigliserit konsantrasyonunda artış, plazma HDL kolesterol konsantrasyonunda düşüş ile karakterizedir. Santral obezite ile hipertansiyon, hiperkolesterolemi, insülin rezistansı gibi semptomların bir arada olduğu kompleks bir hastalıktır (1).

Günümüzde metabolik sendromun insidansında artmayı gösteren başlıca kriter yaygın obezitedir. Ayrıca metabolik sendrom, tip II Diyabetes Mellitus, koroner arter hastalığı, miyokard enfaktüsü, serebro vasküler olaylar, yaygın ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıkların vermiş olduğu rahatsızlıklar gibi klinik durumlarla da ilişkilendirilmiştir. Metabolik sendromun gelişmesinde genetik yatkınlık çevre ve yaşam stili faktörleri önemli rol oynar. Yaşam stili faktörleri; fiziksel inaktivite, sağlıksız ve dengesiz beslenme, yüksek doymuş yağ içerikli, yüksek glisemik indeksli, trans yağ içerikli gıdalarla beslenme ve az egzersizli yaşam obezite ve metabolik sendromun gelişimine neden olur (2).

Metabolik Sendrom Amerikan toplumunun yaklaşık % 25 ini etkilemektedir ve son verilere göre prevalansı artmaktadır. Earl S. Ford 1999-2000 yılları ile 1988'den 1994'e kadar olan verileri karşılaştırmış, metabolik sendromun yaşa bağlı prevalansını % 24'lerden %27'lere, kadınlarda bu oranın % 23,5 lardan % 29 a çıktığını bildirmiştir. Dünya sağlık örgütü 1998 de glukoz intoleransı ve insülin rezistansını takip eden kriterlerden iki veya daha fazlasını; hipertansiyon, dislipidemi, merkezi obezite ve mikroalbüminüri olması şeklinde tanımlamıştır. Daha sonra Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP) tarafından 2001 erişkin tedavi paneli (ATP) III raporuna göre metabolik sendrom tanı kriterleri olarak verilen beş kriterden en az üçünün mevcut olması gerekir. Bu kriterlerden, abdominal obezite; bel çevresinin kadınlarda 88 cm' den, erkeklerde 102 cm' den fazla, trigliserit seviyesinin 150 mg/dL den fazla, HDL-K'ün kadınlarda 50 mg/dL' nin, erkeklerde 40 mg/dL' nin altında, açlık kan şekerinin 110 mg/dL ve üstünde,

tansiyonun 130/85 mmHg ve üstünde olduğu, metabolik sendrom risk faktörlerinin ise; aterosjenik dislipidemi, yüksek arteriyal kan basıncı, insülin direnci ve/veya bozulmuş açlık kan şekeri, proinflatuar ve protrombotik durum olduğu belirtilmiştir (3).

Hücrelerde metabolik ürün, lipit, sterol ve ilaçları hücre dışı ve içine taşıyan membran proteinleri ATP- bağlayan kaset taşıyıcı (ATP-Binding Cassette Transporter) ABC süper ailesinden oluşur. İlaçlara karşı direnç gelişmiş kanser hücrelerinde bazı ABC taşıyıcılarının aşırı ekspresyonu gözlenmiştir. Kistik fibrozis, bazı nörolojik hastalıklar, retinal dejenerasyon, kolesterol ile safra taşınım defekti, anemi gibi oldukça çeşitli kalıtsal hastalıkların genetik varyasyonlar sonucu ortaya çıktığı kanıtlanmıştır. Genlerin ATP bağlayan bölgelerinde nükleotid ve protein dizi değişmesi ile süper ailenin yeni üyelerinin olduğu kanıtlanmıştır. Filogenetik analizlerle, bilinen 48 insan ABC taşıyıcı proteinlerinin yedi ayrı alt ailesi olduğu ortaya konmuştur. Her bir gen için insan kromozomları üzerinde yerleşim haritası, ekspresyon verileri, süper aile içindeki konumu tanımlanmıştır. Bu veriler, her bir proteinle ilişkili potansiyel fonksiyonları veya hastalık fenotiplerini tahmin etmeye izin verir. ABCC alt ailesi iyon taşıma, hücre yüzey reseptörü, ve toksin salınım aktivitesi dahil çok çeşitli fonksiyon spektrumu olan 12 tam taşıyıcı protein içerir. Bunlardan ABCC8 (SUR1) sülfonilüre bağlar ve insülin salgılanması ile ilişkili potasyum kanallarını düzenler. ABCC8 geni 11p15.1 kromozomunda yer alan ABCC9 (SUR2) ile oldukça ilişkili tam taşıyıcı moleküldür (4, 5, 6). ABCC8 geni sülfonilüre ilaçları için yüksek afiniteli reseptörün sentezini kodlar. Sülfonilüre, tip 2 diabetes mellitus hastalarında insülin salınımını arttırmada yaygın olarak kullanılan bir ilaç sınıfıdır. Bu ilaçlar SUR1'i bağlamakta ve K⁺-ATP kanalını inhibe etmektedir (7).

Bu bilgilerin ışığında metabolik sendromun koroner kalp hastalığı için çok önemli bir risk faktörü olduğu, metabolik sendromun insülin salınımı ile ilişkisi nedeni ile de sülfonilüre reseptörü ve bu reseptörü sentezleyen gen lokusunun metabolik sendroma yaklaşım açısından aydınlatılması gerektiğine inanılmıştır. Literatür bilgilerinin arasında bu konuda bir çalışmaya rastlanmadığından metabolik sendrom'da ABCC8 gen bölgesinin Ex 16 ve Ex 18 exonlarının mutasyon analizleri yapılarak polimorfizminin ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Metabolik Sendrom

2.1.1. Tarihçe

Patogenezinde insülin rezistansının sorumlu olduğu Metabolik sendrom 1960'lı yıllarda tanınmaya başlanmış ve artık bileşenleri daha iyi anlaşılmıştır (1).

İlk kez 1988 yılında Reaven, abdominal obezite, insülin rezistansı, hipertansiyon, hipertrigliseridemi ve düşük HDL kolesterol, bozuk karbonhidrat toleransı ve/veya Tip II diabetes mellitus (DM) ile karakterli semptomlar kompleksini tanımlamış ve patogenezini tam olarak açıklanamayan bu tabloyu "Sendrom X" olarak adlandırmıştır. Reaven'in tanımlamış olduğu Sendrom X'in yanı sıra 1973 de Kemp tarafından normal koroner arteriogramlı kişilerde anjinal sendrom olarak tanımlanan Sendrom X de vardır. Kardiyolojik Sendrom X ile endokrinolojik Sendrom X birbirine karıştırılmaması için endokrinolojik Sendrom X için Metabolik sıfatı kullanılarak kardiyak Sendrom X 'den ayrılmıştır (8).

Metabolik sendromun başlıca kriteri insülin rezistansıdır. Vücut dokuları insüline cevap verememektedir. Bunun sonucunda insülin seviyesi yükselen vücutta, insüline direnç gelişmektedir (9). Yükselen insülin seviyesi direk veya indirek olarak metabolik anormalliklere yol açar. Sıklıkla insülin rezistansı, tip II Diyabetes Mellitus ile birlikte görülür eğer kişide diyabet varsa kardiyovasküler komplikasyon riski yükseldikçe yükselir (10).

2000 li yılların başlarında yapılan araştırmalarda Amerikan halkının % 25'i metabolik sendromdan etkilenmiş olduğu bildirilmiştir (3). 2010 yılına kadar 50 ile 75 milyon veya daha fazla kişinin metabolik sendromlu olabileceği Undurti N. Das tarafından öngörülmüştür (11).

2.1.2. Metabolik Sendromun Patofizyolojisi ve Tanımı

Metabolik sendrom uluslar arası kuruluşlar tarafından tanımlanmış ve kriterleri ortaya konmuştur. Bu kuruluşlar NECP ATP III (Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Yetişkin Tedavi Paneli III), WHO (Dünya Sağlık Örgütü), AACE (Amerikan Klinik Endokrinoloji Birliği), Avrupa Hipertansiyon Birliği, Avrupa Kardiyoloji Birliği, Uluslar arası Hipertansiyon Birliği, IDE (Uluslar arası Diyabet Kurumu) (12,13).

2.1.3. Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri

Tablo 1. Uluslararası kuruluşların Metabolik Sendrom için tanımlamış olduğu klinik kriterler (Tablo içeriği 12,13 literatürlerinden uyarlanmıştır).

	NCEP ATP III	IDF	AACE	WHO
OBEZİTE	Bel çevresi	Bel çevresi	BMI >25 Kg /m ²	BMI>30 Kg/m ²
	Erkek > 102 cm	Erkek ≥ 94 cm		Bel / kalça oranı
	Kadın > 88 cm	Kadın ≥ 80 cm		Erkek > 0,9; Kadın >0.8
DISLİPİDEMI	TG	≥150 mg/dL	≥ 150 mg/dL	≥ 150 mg/dL
	HDL-K	Erkek< 40 mg/dL Kadın< 50 mg/dL	Erkek< 40 mg/dL Kadın< 50 mg/dL	Erkek< 40 mg/dL Kadın< 50 mg/dL
TANSİYON	≥130/≥85 mmHg	≥ 130/≥85 mmHg	≥130/≥85 mmHg	≥140/≥90 mmHg
A. K. Ş.	> 110 mg/dL	≥100 mg/dL	110-126 mg/dL	≥126 mg/dL

Çalışmamızda bu kuruluşların belirlediği kriterler Türk toplumuna uygun şekilde seçilerek Tablo 1’ de belirtilen NCEP ATP III kriterlerinde olduğu gibi çalışmaya uyarlanmıştır. Bu kriterlerin en az üçünün birlikte olduğu birey “*Metabolik Sendrom*” lu kabul edilebilir.

Uluslar arası kuruluşların tümü metabolik sendrom kriteri olarak hipertansiyon, dislipidemi (yüksek trigliserid, düşük HDL, yoğun LDL), obezite (artmış bel çevresi, artmış vücut kitle indeksi, bel kalça oranı) ve hiperglisemi bileşenlerini içermektedir. Dünya Sağlık Örgütünün kriterleri arasında diğerlerinden farklı olarak mikroalbuminüri ilave edilmiştir. Bu tanımlar göz önüne alındığında metabolik sendrom, insülin rezistansı

ve artmış oksidatif stres, vasküler endotelyal disfonksiyon, trombozis ve atherosklerotik hastalıklar ile ilişkili vasküler enflamasyon mekanizmaların aktivasyonunu ortaya çıkarır (2). Avrupa hipertansiyon birliği Avrupa kardiyoloji birliği uluslar arası hipertansiyon birliği rehberinde kardiyovasküler morbidite ve mortalitesi için güçlü bir tahmin kriteri olan C-Reaktif proteininin 1 mg/dL' den büyük olduğu eklenmiştir (14). Metabolik sendromun her bir bileşenine ek olarak dört veya daha fazla bileşene sahip hastalar, kardiyovasküler riskinin dramatik olarak arttığı, tek bir bileşene sahip olanlarla karşılaştırıldığında beş kat daha fazla olduğu ilave edilmiştir. Bu kardiyovasküler risk faktörü bileşenlerinin birden fazlasının birbirleriyle etkileşimli olarak bir arada olması kadar her bir risk faktörünün devamlılığına da kalıtsal olarak bağlıdır (15).

Yetişkin Tedavi Paneli III metabolik sendromun altı bileşenini ve ABD'de metabolik sendrom için kullanılan bir rehber tarif edilmiştir. Bu bileşenler abdominal obezite, atherojenik dislipidemi, artmış kan basıncı, insülin rezistansı ile birlikte glukoz intoleransı, proinflamatuvar durum ve protrombotik durum (12).

2.1.3.1. Obezite

Amerikan toplumunun %66'dan fazlası aşırı kiloludur (VKİ >25 kg/m²) % 31'i aşikar obezdir (VKİ >30 kg/m²). 1991 - 2001 yılları arasında VKİ >30 kg/m² olanların prevalansı ABD'de artmıştır (2). Obezite kardiyovasküler riskle büyük ölçüde ilişkilidir. Metabolik sendromun tanımında VKİ kadar bel çevresi de göz önünde bulundurulmuştur. Kardiyovasküler hastalık riski açısından MS' lu hastalarda bu kriterler birbirinden bağımsızdır (16). Vücut Kitle İndeksi yaştan, cinsiyetten, sigara içiminden, miyokard infarktüsü öyküsü veya hipertansiyondan bağımsız olarak koroner kalp hastalığı ciddiyetini etkiler farklı toplumlarda odds ratio (olma veya olmama olasılığı) değişir (17). VKİ genellikle ikincil kriter olarak kullanılır, örneğin insülin rezistansının insidansı artmış olan Asyalı toplumlarda VKİ sınırı 21 iken anstabil anjina ve MI riski artmış ABD toplumlarında VKİ 22 olarak kullanılır. VKİ 22 Kg/m² olanların anstabil anjina ve MI olma olasılığı 1,2 iken VKİ 40 Kg/m² olanların 4,6 dir. Bel çevresi ve VKİ ne ek olarak obezitenin tanımında vücut ağırlığı, bel kalça oranı ve vücut yağ yüzdesinde kullanılır. Siyah ırkta erkek ve kadınlarda metabolik sendromun prevalansı VKİ, vücut yağ kütlesiyle anlamlı ilişkisi olduğu bildirilmiştir. Erkeklerde VKİ 30 kg/m² üzerinde ve %29 yağ yüzdesinde MS' un prevalansı %60.2 bildirilmiştir. 35 Kg/m² üzerinde ise vücut yağ

yüzdesi %36 prevelansı %90'ın üzerinde bildirilmiştir. Kadınlarda VKİ 30 Kg/m²'nin üzerinde ve yağ yüzdesi %37 prevelansı % 60,2 olarak bildirilmiştir. VKİ 35 Kg/m²'nin üzerinde ise yağ yüzdesi %43, prevelansı %90'nın üzerinde olduğu bildirilmiştir. Tablo 2. (2)

Tablo 2. Erkek ve kadınlarda VKİ, yağ yüzdesi, MS prevelansı. (2)

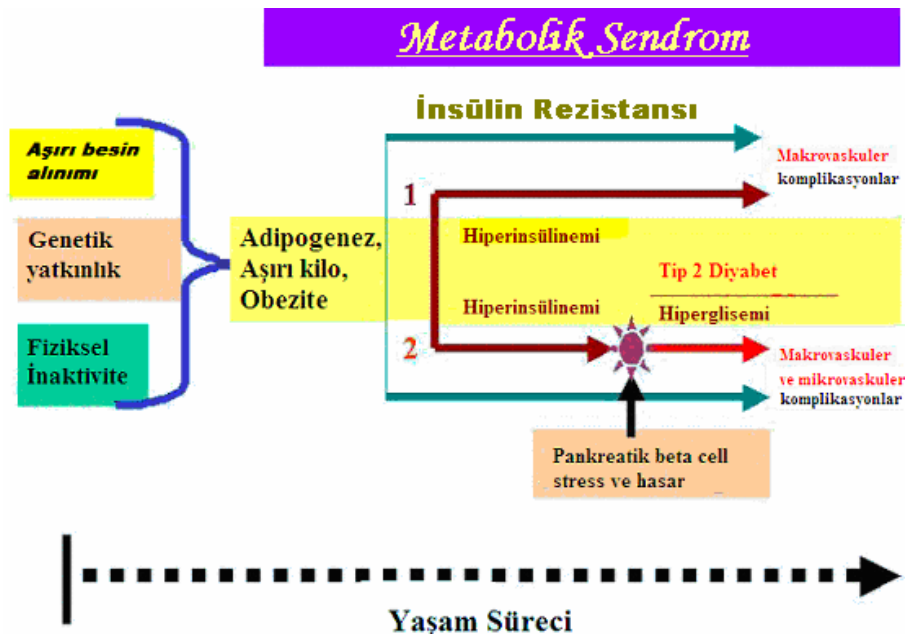
	VKİ	Yağ Yüzdesi	MS prevelansı
Erkek	>30 Kg/m ²	%29	%60,2
	>35 Kg/m ²	%36	>%90
Kadın	>30 Kg/m ²	%37	%60,2
	>35 Kg/m ²	%43	>%90

Birçok çalışma göstermiştir ki bel çevresi, VKİ den kardiyovasküler risk faktörünü, kardiyovasküler mortalite ve morbititesini ve de Metabolik Sendromu tahmin ettirme açısından daha iyidir. Fakat bel çevresi ile hipertrigliseridemi beraber değerlendirilirse Metabolik Sendromun tahmini daha güçlü olabilir. Bel çevresi, açlık triaçilgliserol konsantrasyonu ile beraber vücut yağ birikimini göstermekte güvenilir bir kriterdir. Obezitenin hipertansiyonla yüksek korelasyonu vardır (18, 19, 20).

2.1.3.2. İnsülin Rezistansı İle Birlikte Glukoz İntoleransı

Diabetes Mellitus Amerika'da ölüm sebepleri arasında 6. sıradadır. 1990-2001 yılları arasında prevelansı %3,5 -7,0'ler den %61 arttığı bildirilmiştir. 2002 yılında Amerikan toplumunun %9'unu oluşturan 17 milyon diyabetli olduğu kaydedilmiştir. Diyabet kardiyovasküler hastalıklar, kalp hastalığı, miyokard enfarktüsü gibi pek çok hastalığın durumunu 2 kat arttırmaktadır. Özellikle mikroalbüminüri varlığında Tip II Diabetes Mellitus hastalarının yaklaşık %70'i hipertansiftir. Pek çok çalışma açlık kan şekeri ile 2 saatlik oral glukoz tolerans testinin kardiyovasküler hastalıkla ilişkisini göstermekte kullanılmıştır. Ortalama 12,4 yaş ve üzerindeki 95783 kişide yapılan Hamilton çalışmasında kardiyovasküler mortalitenin bağıl riski %33 yükselerek açlık kan şekeri 75 mg/dL 'den 110 mg/dL'ye (p=0,056) ve kardiyovasküler mortalite %58 yükselerek 2 saatlik oral glukoz tolerans testi 110 mg/dL'den 140 mg/dL'ye (p=0,064) yükselmiş olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte açlık kan şekerindeki 75 mg/dL'den başlayarak 1 mg/dL artışı için kardiyovasküler olayda %2 olduğu bildirilmiştir. Diabetik vakaların % 93

'ü insülin rezistansı nedeni ile beslenme ve egzersiz alışkanlığı kötü ve obezitesi olan Tip II Diabetes Mellitus'u olan hastalardır. Açlık ve yemek sonrası sırası ile öglisemiden glukoz intoleransına geçiş vardır ve insülin rezistansı derecesi değişkenlik gösterir. Glukoz intoleransının Diabetes Mellitusa dönüşmesi her yıl %10 oranında artarak 10 ile 20 yıl arasında bir süreci kapsar. Tip II Diabetes Mellitus patofizyolojisi değişkenlik gösterir. İnsülin rezistansı ve pankreatik β hücre disfonksiyonu ile ilişkilidir. (Şekil 1). (2, 21)



Şekil 1. Metabolik Sendromda fizyopatoloji. Yaşam sürecinde, sebep sonuç ilişkisi bakımından metabolik sendrom ile insülin rezistansı ve tip 2 diyabetin çakıştığı ve ayrıldığı noktalar gösterilmiştir (21).

2.1.3.3. Hipertansiyon

Hipertansiyon, sistolik kan basıncı 140 mmHg' nın ve diastolik kan basıncı 90 mmHg 'nın üzerinde olduğu durumdur. Metabolik Sendromu olan hastalarda, anlamlı, güçlü, bağımsız ve değişebilir kardiyovasküler risk faktörüdür. Hipertansiyon, ateroskleroz, periferik arteriyel hastalık, serebro vasküler olay (SVO), koroner kalp hastalığı (KKH), Miyokard Infarktüsü (MI), Kronik Böbrek Yetmezliği (KBY) riskini artırır. 115 / 75 mmHg dan başlayarak her 20 / 10 mmHg artış uç organda hastalık riskini iki katına çıkarır.(2)

2.1.3.4. Dislipidemi

Yetişkin Tedavi Paneli III rehberinde Metabolik Sendromda dislipidemi için Trigliserit (TG) seviyesi >150 mg/dL erkeklerde High Density Lipoprotein Kolesterol (HDL-K) <40 mg/dL kadınlarda <50 mg/dL olarak bildirilmiştir (12). Aterojenik Dislipidemi Metabolik Sendromun karakteristiğidir, spesifik fenotipi vardır bu fenotip artmış serbest yağ asidi, geniş VLDL partikül boyutu ve küçük kalıntı VLDL 'li serum TG seviyesinde artma, HDL -K seviyesinde düşme küçük HDL partikül boyutu. Low Density Lipoprotein Kolesterol (LDL-K) seviyesinde az miktar artma ve küçük yoğun LDL partiküllerinin sayısında artma olarak bildirilmiştir (22). Bu Lipid fenotipi sırası ile lipoprotein partiküllerinin fazla üretilmesi, bozulmuş lipoprotein partikül kleransı, çekirdek lipoprotein partikül kompozisyonunda dinamik değişiklikler ve partikülün taşıdığı kolesterol miktarında çeşitliliğe bağlıdır. İnsülin rezistansı, Metabolik Sendrom ve Tip II Diabetes Mellitus'u olan hastalarda geleneksel lipid testleri lipoprotein partikül sayısı ve büyüklüğünün heterojenliğinin tam manasıyla ölçümünü sağlayamaz. Geniş VLDL protrombotiktir ve indirekt olarak aterojeniktir. Küçük yoğun VLDL'de artma total HDL' de ve boyutu küçülen HDL' nin konsantrasyonunda azalmaya neden olur. Küçük yoğun LDL kolesterol çok aterojeniktir. Dört mekanizması vardır (23).

1. Küçük boyutta subintimal alana giriş hızı artar.
2. Oksidatif modifikasyona yatkınlık artar.
3. Subintimal bağ dokusuna yapışmada artma.
4. Makrofaj köpük hücrelerine scavenger reseptör tarafından alımın artışı.

Klinik pratikte MS ve insulin rezistansının tam ve hızlı bir şekilde tespitinde lipid parametreleri çok önemlidir. TG/HDL oranı sensitivitesi ve spesifite en fazla olan kriterdir. İnsülin rezistansının tanımlanmasında TG/HDL oranı>3 olması halinde sensitivitesi %71, spesifitesi %68, olarak bildirilmiştir. (2)

2.1.3.5. Protrombotik Durum

Metabolik Sendrom koagulyasyonda ve fibrinolitik yolda klinik durumu değişken bir protrombotiktir. Fibrinolitik yol plazminojen aktivatör inhibitör1 (PAI 1) seviyesinin

artmasını trombin, faktör IX, X, protrobin, fibrinojen, doku faktörü, artmış faktör VII aktivasyonu ve insülin rezistansı ile ilişkili gelişmiş platelet agregasyonu, PI-3 kinaz yolu MAPK yolu, RAAS özellikle anjiotensin II içerir. Bu anormallikler tromboembolik komplikasyonlara (koroner kalp hastalığı, miyokart infaktüsü, kardiyovasküler olay) eğilimi artırır (2).

2.1.4. Obezite İnsülin Rezistansı ve Metabolik Sendrom

İnsülin rezistansının, hem kalıtsal genetik defekt, hem de obezitenin sonucu olduğu düşünülmüştür. Triglisrerit seviyesi, glukoz seviyesi sistolik, diastolik kan basıncının yükselmesi ve HDL-K seviyesinin düşmesi insülin rezistansına yol açar. Lata Palaniappan ve arkadaşları, 2004 yılında Diabetes Care' de yayınlanan çalışmalarında obezite için, Metabolik Sendrom İnsidansını, direk insülin sensitivitesini ölçmekten daha iyi tahmin ettirici kriter olduğu sonucuna varmışlardır. Metabolik Sendromun merkezindeki bileşenlerden obezite, bozulmuş glukoz toleransından sorumlu tutulmuştur. Obezite ve insülin rezistansı çok yakın ilişkilendirilmiştir. Palaniappan ve arkadaşlarının çalışmalarının bulguları, insülin rezistansının gelişmesine obezitenin öncülük ettiğini desteklemiştir. Metabolik Sendromun gelişmesindeki bu faktörlerin ilişkisini ortaya koyacak ileri düzeyde araştırmaya ihtiyaç vardır (24).

2.1.5. Metabolik Sendromun Tedavisi

Metabolik Sendromun korunma ve tedavisinden bahsetmek için insülin rezistansı ve metabolik sendromun ölçülmesinin önemi, global risk faktörünün tayini, kardiyovasküler hastalık riskinin devamlılığı, beslenme ve gen ilişkisi kavramı, beslenme tavsiyeleri ve klinik beslenme tedavileri, kilo kontrolünün rolü, egzersiz, vitamin, antioksidan, mineral, mikrobesein ve farmosotikal ilaç tedavisi gibi beslenme takviyelerini göz önünde bulundurmak gerekir.(2) Metabolik Sendromlu ve diyabetli hastalar, makrovasküler komplikasyonlar ve ölümden, risk faktörlerinin tanınması ve tedavisi ile korunabilirler (21).

2.2. ABC Taşıyıcılar

Bütün hücreler ve hücrenin bölümleri lipit ikili tabakasıyla sarılmıştır. Hücre hayatı bu membranlardan özel moleküllerin geçişi için seçiciliği gerektirir. Sadece besinler değil hücre içi bazı atık ürünler de bu hücre zarını geçmek zorundadır. Membran taşımasının önemi; yaklaşık %20 olarak E.Coli genlerinin taşıma fonksiyonları ile ilişkisi aydınlatılarak örneklendirilmiştir. Membran içi taşıma, membranla ilgili özel proteinler aracılığıyla yapılmaktadır. Bu proteinlerin karakterizasyonu ve hücre fizyolojisindeki rolleri uzun yıllar hassas çalışmaları gerektirmiştir. Şimdi bu sayısız membran taşıma sistemi sınırlı sayıda ailelere gruplandırılabilir. Herhangi bir aile içinde üyeler birbiri ile dizi ve moleküler mekanizma ve muhtemel kalıtsal kaynak bakımından ilişkilidir. ABC taşıyıcılar (hem prokaryot hem ökaryotlarda) birçok biyolojik işlemle ilişkisi olduğu kadar kistik fibrozis ve kanserin çoklu ilaç rezistansı gibi klinik problemlerle ilişkileri dikkati çekmiştir. Bilinen 50' nin üzerinde ABC taşıyıcısı vardır. Büyük bir çoğunluğu prokaryotik türlerden gelmektedir. Ökaryotik türlerde de artarak rapor edilmektedir. Tipik olarak ABC taşıyıcıları konsantrasyon gradientine karşı substratları membrandan geçirmek için enerji olarak ATP hidrolizini kullanırlar. Muhtemel istisnalar aşağıda tartışılmıştır. Her ABC taşıyıcısı verilen substrat için spesifiktir. Değişik taşıyıcılar tarafından substratların çeşitliliği ele alınmıştır. ABC taşıyıcıları, substratları hücre içine alan (import), diğerleri hücreden dışarı çıkartan (export) olmak üzere iki grupta incelenmiştir, henüz her iki yönlü pompa olanları tanımlanmamıştır (Tablo 3), (25).

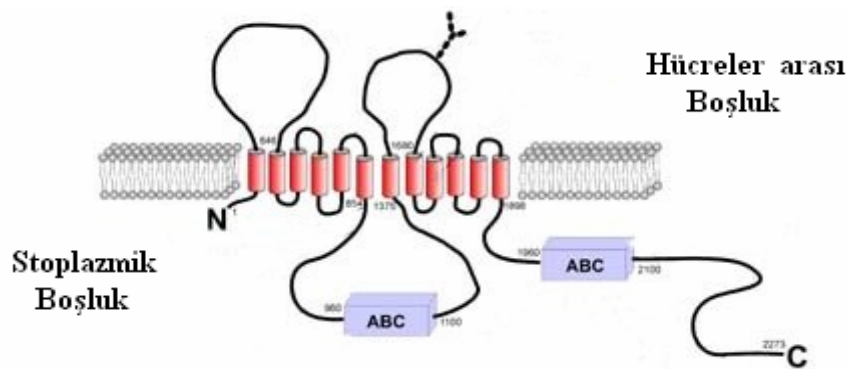
Tablo 3. İnsanda ABC proteinleri substrat ve transport fonksiyonlarına göre tanımlanmıştır.

Sistem	Substrat	Import/export
CFTR	Klorür	Kanal
MDR1	Hidrofobik ilaçlar	Export
PMP70	polipeptidler	Peroxisome'a import
RING4-11	Peptidler	Endoplasmik Retikulum

2.2.1. ABC Taşıyıcılarının Yapısı Ve Mekanizması

2.2.1.1. ABC Süper Ailesi

ATP bağlayan motif ya da kaset karakteristiklerinden ötürü ABC (ATP-binding cassette transporter)(ATP bağlayan kaset taşıyıcı) ismini alan pompa ailesi ABC süper ailesi olarak adlandırılmıştır. ATP–Bağlayan Kaset Taşıyıcılar besinlerin alımı, sinyal moleküllerinin ve toksinlerin klasik olmayan salınımı, çoklu ilaç direnci ve insanlardaki hastalıkların gelişimi gibi bir çok fizyolojik işlemin merkezindedirler (4). Küçük iyonlardan büyük proteinlere geniş substrat çeşitlerinin ATP bağımlı Pompa ve Kanallardan geçerek taşınması bu işlemlere örnek verilebilir. Bu proteinlerin fonksiyonel mekanizmalarının aydınlatılmasında ABC taşıyıcılarının tanımının ve ABC domeinlerinin izole edilmesinin önemi vardır. 1982’de Giovanna Ames laboratuvarında ilk ATP – Bağlayan Kaset Taşıyıcısı ABC domaini olan Histidin Permeaz (HisP) klonlanmış ve dizi analizi yapılmıştır. Bu noktadan hareketle ABC taşıyıcılarının ailesi giderek büyümüşür ve bir çok organizmada transmembran proteinlerin en geniş ailesini oluşturur. Örneğin *Escherichia coli* genomunun % 2’si 80 ABC taşıyıcısı içerirken, *Saccharomyces cerevisiae* genomu 31, insan genomu 48 ABC taşıyıcısı içermektedir (26). Bu taşıyıcıları kodlayan genlerdeki defektler çeşitli hastalıklara sebep olur (Kistik Fibrozis, Stargardt hastalığı, adrenolökodistrofi, Tangier hastalığı gibi) (26, 27, 28, 29,30).



Şekil 2. ABC taşıyıcı proteinleri hücre membranında yerleşimi. (31)

Tipik bir ABC taşıyıcısı iki tane transmembran (TM) domain ve iki sitozolik ATP bağlama (ABC) domaini içerir. Her biri membranı kat eden 6 α -heliks iki TM domainin, membranlardan substrat taşınması için yol oluşturduğu düşünülmüştür. (Şekil 2.)

ABC taşıyıcıları, bakterilerde amino asitleri, şekerleri, inorganik iyonları, peptit, protein gibi substratları taşır. Lipidleri hücre içi ve dışına flip (döndürme) eder. Ökaryotlarda substrat taşınmasında bilinmeyen bir çok fonksiyonu vardır. ABC taşıyıcılar yalnızca hücrenin içine ve dışına substratları taşımakla kalmaz hücre içi kompartmanlar arasında taşımada da kullanılır. ABC taşıyıcıları adrenolökodistrofi, Stargardt, macular dystrophy, X-bağımlı sideroblastik anemi ve ataxia, Dubin Johnson Sendromu, bare lymphocyte sendromu, kalıcı virüs gibi patofizyolojik işlemlerde önemli rol oynar. Örneğin ABC taşıyıcı multidrug resistance protein 1(MDR1) tümör hücrelerinin kemoterapiye direncinden sorumludur ve ABC taşıyıcı kistik fibrozis transmembrane conductance regulator (CFTR) mutasyonu kistik fibroze yol açar. Bu hastalıklar çok sık rastlanan ölümcül kalıtsal hastalıklardır (26).

2.2.1.2. ABC Taşıyıcılarının Mekanizması

Bütün ABC taşıyıcılar biyolojik membranların katedilmesini, vektoryal taşınımını kataliz ederler, fakat substratları çok farklıdır. Bunlar küçük organik iyonlar ile aminoasit, şeker, peptit ve antikanser ilaçlar ve klorür gibi inorganik iyonlardan büyük proteinlere kadar değişkenlik gösterir (30). Substratların çeşidine bakılmaksızın taşıma işleminin enerjisi bütün bu sistemlerde ATP hidrolizi tarafından karşılanır. Her bir molekül substratın geçişi için 1 molekül ATP hidroliz edilir, fakat ATP hidrolizinin transferin hangi safhasında cereyan ettiği ve kimyasal enerjiyi nasıl güce çevirdiği sonuçta neyin substratı membranın karşısına geçirdiği bir başka değişle ATP' nin bağlanması ve inorganik fosfatın parçalanmasını tetiklediği bilinmemektedir.

Bir başka kafa karıştıran soru da iki ABC Domainin gerekliliği ile ilgilidir. Bütün ABC taşıyıcılar ATP bağlayan 2 nükleotid bağlayıcı domain (NBD) içermektedir. Vanadat (Vanadyumun tuzu) inhibisyon çalışmasında maltoz içeri taşıyıcılarının ATP-bağlayan domainlerinden yalnızca birinin vanadat tarafından işgal edildiği görülmektedir.

Aynı çalışmada MDR 1 üzerinde yapılmış ve görülmüş ki MDR1 ve onun bakteriyal homoloğu olan LmrA iki silindirik makine gibi çalışmaktadır. Bu sıralı mekanizma birbiri ile uyumlu, simetrik nasıl bağladığı açılanmaya muhtaç iki ATP-bağlayan dimer yapı içerir. Bu yüzden ATP yi nasıl bağladığı ve nasıl hidroliz ettiği açık değildir. ABC taşıyıcılar Maltoz taşıyıcı veya LmrA gibi birbirinin kopyası iki tane nükleotid bağlayan domain içerir. İki nükleotid bağlayan domainin yüzleri bir birine

dönüktür. ATP olmadığı zaman proteinin kristalize halde olması için aralarında bir takım bağlar vardır. Nükleotid bağlamamış olan yapıda nükleotid bağlayan domainler arasındaki mesafe 50 \AA dan fazladır. Diğer taraftan, maya ABC taşıyıcı Pdr5 de olmak üzere bazı mantar ABC taşıyıcıları insan ABC taşıyıcısı CFTR ve TAP gibi iki nükleotid bağlayan domainden birinde dejenere C-loop içerir. Bu gözlemler sonucunda iki nükleotid bağlayan domainden biri fonksiyoneldir, diğerinin düzenleyici fonksiyonu olabilir. Son zamanlarda yayınlanan MDR1'in düşük çözünürlüklü yapısı ATP bağlanmasının transmembran domainle (TMD) konformasyonel değişikliğe neden olduğunu desteklemiştir. Bütün bunlarla birlikte birbirlerine nasıl bağlandığı, substratı nasıl taşıdığı açık değildir (26).

2.2.2. ABC Taşıyıcılarının Hücresel Fonksiyonları

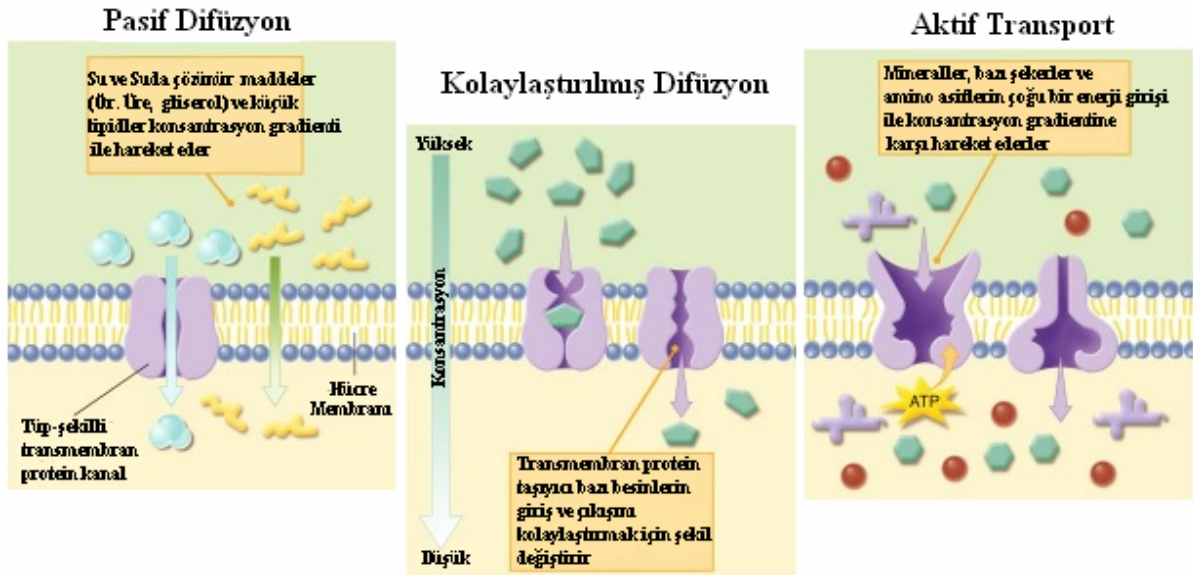
ATP-taşıyıcılar hücre içine taşıma (import), hücre dışına taşıma (export) ve peroksizom içine taşıma gibi çok çeşitli hücresel rollere hizmet edebilir. Kısmi fizyolojik ve mekanistik noktaları ile genel anlamda ele alınabilir.

2.2.2.1. Besin Alımı

Bakterilerin büyüme yeteneği tamamen besinlere ulaşım ve etkinliğine bağlıdır. Tanımlanmış ortamlarda büyüeyebilen *E. Coli* gibi bakteriler için dahi büyüme, aminoasitler gibi besinlerle desteklendiğinde daha hızlıdır. Enerji açısından bileşikler dışardan almak hücre içinde sentezlemekten daha avantajlıdır. Örneğin Histidin sentezi için 41 ATP gerekiyken, histidin hücre içine taşınması 1-2 ATP ile olabilmektedir. Bu yüzden bakterinin büyüme için gerekli substratları bol besinden sağlaması sürpriz değildir. Bakterilerde ATP taşıyıcılarının yanında bir çok aktif taşıyıcı tanımlanmıştır (25).

Enerjisi membranı karşıdan karşıya geçen substratların fosforilasyonu tarafından karşılanan PTS (phosphotransferase) sistemlerinin substrat aralığı şekerler ve onların türevleri ile sınırlıdır. Bunun aksine oniki-membranı- kateden- sarmallı transporter hem pro ve hem de ökaryotik canlılarda bulunan ve geniş farklı substrat aralığını tutabilen ABC taşıyıcılara benzer. Elektro kimyasal olarak enerji elde etmelerine göre ABC taşıyıcılardan ayrılırlar. *E. Coli* de bazı substratlar hem ABC taşıyıcılar hem de oniki- membranı kateden- sarmallı - transporterlar için bulunur (25).

Genel bir kural olarak oniki-membranı kateden- sarmallı - transporterlar termodinamik sebeplerden dolayı düşük afiniteli fakat yüksek kapasiteli sistem olmasına rağmen büyük konsantrasyon gradientine karşı substratları geçiremezler. Büyüme için kaynak olan karbon ve azotun bol miktarda alımına uygundurlar. ABC taşıyıcılar düşük kapasiteli fakat yüksek afiniteli sistemlerdir ve çok büyük konsantrasyon gradientine karşı substratları geçirebilirler (>10000 kat). (Şekil 3.) Scavenging rolü için en uygundur. Şeker ve diğer büyüme substratları (laktoz, ksiloz ve prolin gibi) oniki- membranı kateden-sarmallı transporter taşırken, nadir ve küçük miktarlarda ihtiyaç olan substratlar(vitamin B12, demir şelatları gibi) ATP taşıyıcılar tarafından taşınır.



Şekil 3. Hücre membranında besinlerin taşınma mekanizmaları. Pasif difüzyon, kolaylaştırılmış difüzyon ve aktif taşıma (32).

Hücreler için dışarıdan alınan besinlerin ulaşılabilirliği düzensiz değiştiğinden veya scavenge işine ihtiyaç duyulmadığından ABC taşıyıcılarının besin alımı rolü daha az görülebilir. Bu memelilerin hücreleri için kesindir. Bu hücrelerde besin alımı ABC taşıyıcılardan daha çok iyon gradientine bağlıdır. İlave olarak endositozis memeli hücrelerinde spesifik alım sistemlerinin büyük değişkenliği için gerekli görülebilir (25).

2.2.2.2. Hücre Dışına Protein Salınımı

Hem pro-hem de ökaryotik hücrelerden protein salınımı, büyük bir kısmı prokürsör olarak sentez edilen sinyal peptid ile hücre dışı hedeflerine yönlendirilerek olur.

Bakterilerde sinyal peptid bağımlı protein salınımına Sec protein kompleksi tarafından aracılık eder. Sec protein kompleksi salınım için yola güzergah oluşturur. Çok az sayıda protein salınımı Sec protein kompleksinden bağımsızdır. Sinyal peptid-bağımsız salınım ABC taşıyıcılar tarafından aracılık edilir. Ökaryotik hücrelerde bir çok salınımında, proteinler sinyal peptide daha az bağlanabilir. Bu yüzden tahminen basma kalıp olmayan mekanizmalar tarafından transloke edilirler (25).

2.2.2.3. Hücre İçi Membranlar

Bir çok ABC taşıyıcı stoplazmik membrandan içeriye ve dışarıya taşınmaya aracılık eder. Bununla beraber ABC taşıyıcılarının neden intraselüler membrandan karşıya geçmeye aracılık etmediğine dair kalıtsal bir sebep yoktur. Bir ABC proteini peroksizom membranının ana bileşenidir ve proteinleri bu organelden içeri alabilir. Plasmodium'un pfMDR sindirimle ilgili hücre içindeki boşluk membran üzerinde yerleşmiştir ve intraselüler veziküllerin membranında fonksiyonu olan CFTR protein desteklenmiştir. Bir ABC proteinin en iyi örneği intraselüler fonksiyonlu endoplazmik retikulumun ana peptid taşıyıcısıdır (33).

2.2.2.4. ABC Taşıyıcılarının Düzenlenmesi

ABC taşıyıcılarının bir çoğunun spesifik hücre tiplerinde sentezi ve ifade seviyesinde düzenlenmesi sürpriz değildir. Örneğin; bakteriyel alım sistemlerinde yalnızca onların spesifik substratları mevcut olduğu zaman ifade edilirler. ABC taşıyıcılarının aktivitesi düzenlenebilir. Örneğin; protein kinaz aracılıklı fosforilasyon, kistik fibrozis gen ürünlerinin aktivitesini düzenler. (25)

2.2.2.5. ABC Taşıyıcılar Tarafından Düzenleme

ABC taşıyıcılar, transport spesifik düzenleme molekülleri ile adapte olabilir, böylece hücre fizyolojisini düzenlerler. Örneğin; B. Suptilis' in SpoOK bölgesi sporilasyonun inhibisyonu için gerekli olan ABC taşıyıcısını kodlar. (25, 34)

2.2.3. ABC (ATP-Bağlayan Kaset) Sistemlerinin Filogenetik ve Fonksiyonel Sınıflandırılması

ATP bağlayan kaset sistemleri en geniş üyeye sahip protein ailesindedir. Transloke Nükleik asit dizi veri bankalarında iki binden fazla ABC ATPaz nüfuz bölgesinin veya proteininin varlığı gösterilmiştir. ATPaz' ların partnerleri miktarın içine alınacak olursa toplam sayının altı bin proteini bulduğu ileri sürülmektedir. 1990-2000 yılları arasında bu geniş ailenin üyelerinin birçok özelliği ele alınarak yayınlanmıştır. En baskın karakteristikleri büyük ölçüde korunmuş ATPaz nüfuz bölgeleridir ATP yi bağlar ve hidroliz eder. Bu yolla biyolojik işlemlerin bir çoğuna enerji sağlarlar. Bu proteinlerin aminosit dizileri başlıca korunmuş üç motifte görünür. Walker A, Walker B motifleri ve bağlayıcı peptit olarak da bilinen LSGG- özel imza motifi ile yaygın olarak bulunur. Bazı ABC proteinlerinin kristal yapısı ortaya konulmuştur. ABC sistemleri yalnızca geniş çeşitlilikte maddelerin hücre içine ve hücre dışına transferinde değil aynı zamanda birçok hücrel işlemlerle de ilgilidir. Hücre içine taşıyıcılar, başlıca substrat bağlayıcı proteinlere bağımlı (BPB) prokaryotik taşıyıcılardan oluşur. Hücre dışına taşıyıcılar ise hem prokaryotlarda hem ökaryotlarda hücre dışına toksinlerin ve membran bileşenlerinin salınmasında rol oynarlar. Taşıyıcı olmayan üçüncü ABC sistemi DNA tamiri, translasyon veya gen ekspresyonunun düzenlenmesi gibi hücre içi işlemlerde fonksiyon görür. ATP prensip olarak sitozol' de bulunduğundan hücre dışından içine moleküllerin taşınması sırasında içe dönük bir kanalla taşınması tarif edilmiştir. Bir molekülün hücre içinden dışına yer değiştirerek taşınması ile son geldiği yer hücre içi organeldir. Üçüncü tip ABC sistemleri, bileşenlerinin dizaynına göre ayırt edilebilirler. Bütün taşıyıcılar dört yapısal kısımdan oluşur; iki hidrofobik membran kat eden veya integral membran kısmı ve iki hidrofilik stoplazmik etki alanı membranın sitozolik tarafı üzerinde periferal olarak integral membranla ilişkilidir (35).

- a. Hücre içine taşıyıcılar genel olarak dört etki alanına sahiptirler bunlar birbirinden bağımsız polipeptittir ve fonksiyonları için bir hücre dışı substrat bağlayan proteine ihtiyaç duyarlar.
- b. Hücre dışına taşıyıcılar, taşıma mekanizması ile karakterize edilebilirken, membranı geçen kısmı ABC etki alanı ile birbirinden ayırt edilemez.
- c. Taşımadan çok hücre içi işlemlere dahil olan sistemin integral membran domaini yoktur ve iki ABC domainin birleşmesinden oluşur.

2.2.3.1. ABC Sistemlerinin Sınıflandırılması ve Detaylı Listesi

ABC sistemlerinin kompleksliliğini ve genişliliğini anlamak için bilgisayar yardımı metodu birçok yazar tarafından uygulanmıştır. Bu metotlar süper ailenin ilk dizisinin karşılaştırılması temeli üzerine kurulmuş enstrümantal metotlardır. Bununla beraber birçok durumda verilen organizmaların ABC proteinleri veya ABC sistemleri ile fonksiyonel benzerliği açık bir şekilde karşılaştırılmıştır. Yüksek korunmalı ATPaz etki alanının varlığı daha global karşılaştırmalara izin verir. Özellikle ABC süper ailesini bölen ilk genel filogenetik çalışmalar son zamanlarda altı yüz ATPaz proteininin veya etki alanının analizini içermektedir. Filogenetik ağaçta dizilerin ayrımı otuz üç sınıfta gösterilmiştir. Bazı sınıflar fonksiyonları benzeyen birbiri ile ilişkili proteinlerden oluşmuştur. Sonuç olarak yirmi dokuz alt aile sıralanmıştır. (35)

2.2.3.2. Canlı Organizmalarda ABC Sistemlerinin Aileleri

ABC proteinleri veya domainlerine göre üç ana alt gruba veya sınıfa ayrılırlar:

Etki alanlarına göre:

SINIF 1. ABC ve IM,

SINIF 2. ABC ve ABC,

SINIF 3. Bağımsız polipeptit zinciri bulunan integral membran ve ABC dir.

Fonksiyonlarına göre:

SINIF 1. Hücre dışına taşıyan,

SINIF 2. Hücre içi işlemlere katılan ve antibiyotik rezistansı,

SINIF 3. Hastalığın karakterini belirleyen fonksiyonlarla ilgili proteinlerdir.

Bu sınıflandırma fonksiyonu bilinmeyen ilkel dizi benzeşmesinin open reading frames (ORFs)'inin yaklaşık fonksiyonunu tahmin etmede kullanışlıdır. Bu düşünce benzer fonksiyonları olan protein veya protein domainlerinin aynı filogenetik demete katılmaları gerçeğiyle desteklenmiştir. Bununla beraber bu demette farklı subsratların proteinleri açıkça ayrılmıştır. Bu sınıflandırmanın iki önemli konusu yaşayan organizmaların evrensel sınıflandırmasını yansıtmamasıdır (35).

Tablo 4. ABC Sistemlerinin Sınıfları, Aileleri ve Alt Aileleri (35)

Aile	Alt Aile	No	Fonksiyon	Model	HGNC	TC	Taxon
Sınıf 1 dışarı çıkarıcı sistemler (dış. çık.)							
FAE		24	çok uzun zincirli yağ asidi dışarı çıkarır	ALD_HUMAN	ABCD	FAT	BE
DPL		272	ilaç, peptiler ve lipidleri dışarı çıkarır				ABE
	LAE	24	Lantibiyotikleri çıkarır	NIST_LACLA		Pep1E	B
	BAE	21	Bakteriocinleri çıkarır	MESD_LEUME		Pep2E	AB
	CYD	10	Sitokrom bd biyogenez	CYDC_ECOLI			B
	HMT	17	[Fe/S] demet dışarı çık.	ATM1_YEAST	ABCB	HMT	BE
	CHV	4	β -1,2-glucan dışarı çık.	CHVA_AGRTU		GlucanE	B
	MDL	9	Mitokondriyal peptid	MDL1_YEAST	ABCB		E
	SID	4	Siderofor biyogenez	YBTP(T17437)			B
	LIP	18	Lipid A veya gliserofosfolipid dış. çık.	MSBA_ECOLI		LipidE	B
	PED	12	Prokaryot ilaç dış. çık.	LMRA_LACLA		DrugE2	AB
	LLP	19	LIP- benzeri dış. çık.	YFIB_BACSU			AB
	ARP	9	Antibiyotik direnci	STRW(S57562)		Drug E3	B
	PRT	20	Proteaz, lipazlar dış. çık.	PRTD_ERWCH		Prot2E	B
	HLY	19	RTX toksin dış. çık.	HLYB_ECOLI		Prot1E	B
	TAP	19	Peptid dış. çık.	TAP1_HUMAN	ABCB	TAP	E
Aile	Alt Aile	No	Fonksiyon	Model	HGNC	TC	Taxon
	Pgp	65	Ökaryotik çoklu ilaç direnci ve lipid dış. çık.	MDR1_MAUSE	ABCB	MDR	E
OAD		65	Organik anyon ve konjüge ilaç dış. çık.				E
	CFTR	13	Klorür anyon kanalı	CFTR_HUMAN	ABCC	CFTR	E
	MRP	44	Konjüge ilaç dış. çık.	MRP1_HUMAN	ABCC	CTI-2	E
	SUR	8	Potasyum kanal düzenlenmesi	SUR1_HUMAN	ABCC		E
EPD		66	Göz pigment öncülü ve ilaçlar				BE
	WHI	34	Göz pigment öncülü ve ilaçlar	WHIT_DROME	ABCG	EPP	BE
	PDR	32	Pleitropik ilaç direnci	PDR5_YEAST		PDR	E
CCM		13	Sitokrom C biyogenez	CCMA_ECOLI		HemeE	ABE
MCM		4	Bilinmiyor	ATWA(D64507)			A
Sınıf 2 tansmembran domeini olmayan, transport dışı hücre içi işlemlere ve antibiyotik dirence dahil olan sistemler							
RLI		12	RNaz L inhibitör	RNASELI(S63672)	ABCE		AE
ART		66	Antibiyotik direnci ve translasyon düzenleme				ABE
	EF3	7	Translasyon uzama	EF3_YEAST			E
	REG	39	Translasyon düzenleme	GC20_YEAST	ABCE		BE
	ARE	18	Makrolid antibiyotik direnci	MSRA_STAEP		DrugRA2	B
UVR		29	DNA tamir ve ilaç direnci	UVRA_ECOLI			AB
Sınıf 3 tranmembran ve ATP bağlayan domainlerin birbirinden ayrı olduğu, bağlama proteini bağımlı içeri alıcılar.							
MET		41	Metaller	ZNUC_ECOLI		MZT	AB
ISVH		55	Demir sideroforlar vitamin B12 ve Hemin	PHUNC_ECOLI		(4)	AB
OSP		98	Oligosakkaritler ve polyoller	MALK_ECOLI		CUT1	AB
MOI		116	Mineral ve organik iyonlar	POTD_ECOLI		(2)	AB
Aile	Alt Aile	No	Fonksiyon	Model	HGNC	TC	Taxon
OTCN		50	Taurine, cyanate, ve nitrat fosfonatlar	TAUB_ECOLI		(3)	AB
OPN		93	Oligopeptidler ve Nikel	OPPD_SALTY		PepT	AB
PAO		57	Polar aminoasidler	HISP_SALTY		PAAT	AB
HAA		23	Hidrofobik aminoasid	LIVG_ECOLI		HAAT	AB
MOS		54	Monosakkarit	RBSA_ECOLI		CUT2	AB
Sınıf 3 dışarı çıkarıcı olabilecek sistemler							
DRA		67	İlaç ve antibiyotik rezistansı				ABE
	DRR	28	Polyketid ilaç direnci	DRRA_SRPE		DrugE1	AB
	NOD	10	Nodülasyon	NOD1_RHISM		LOSE	B
	NAT		Na ⁺ çıkartanlar	NATA_BACSU			AB
	ABCA		Lipid alış verişi	ABC1_HUMAN	ABCA	CPR	E

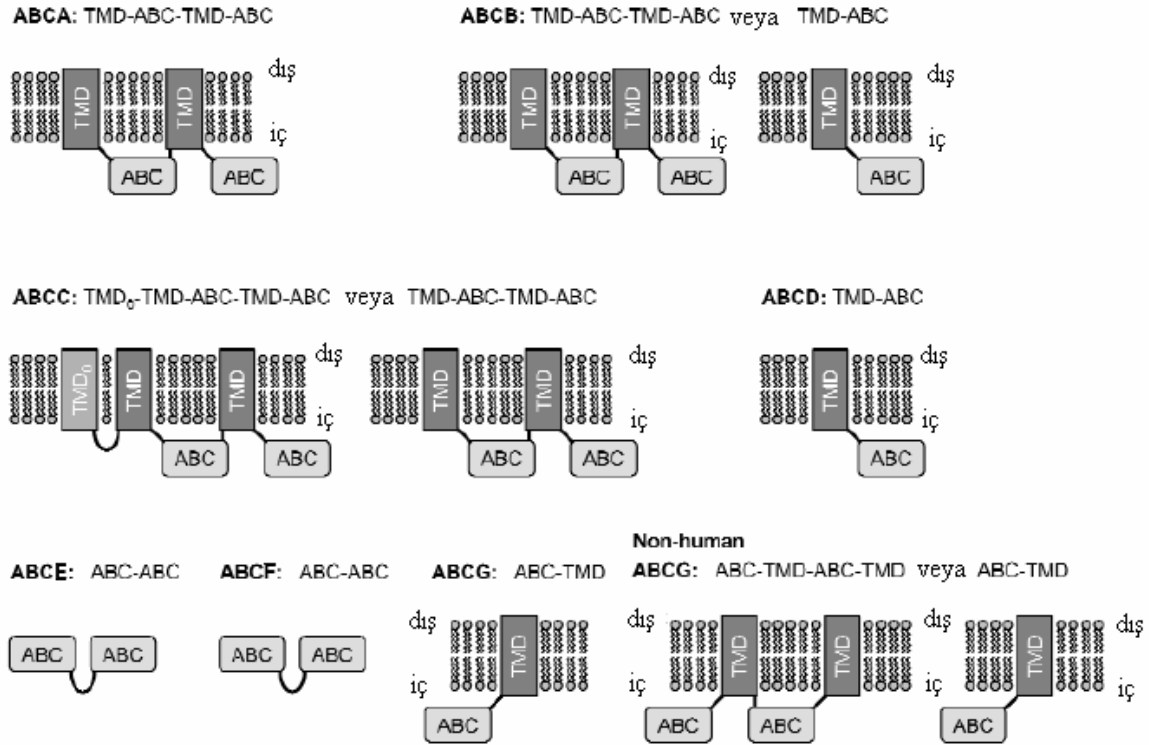
SINIF 1. ABC ve IM (İntegral Membran) domeinlerinin yapışık sistemi

SINIF 2. İki ABC domeininin birarada olduğu ve IM domeininin olmadığı sistem

SINIF 3. IM ve ABC domeininin bağımsız polipeptid zincirleri ile taşıdığı sistem

Aile isimleri subsrat veya biyolojik işlem ele alınarak kısaltılmıştır. Fonksiyonları bilinmeyen sistem

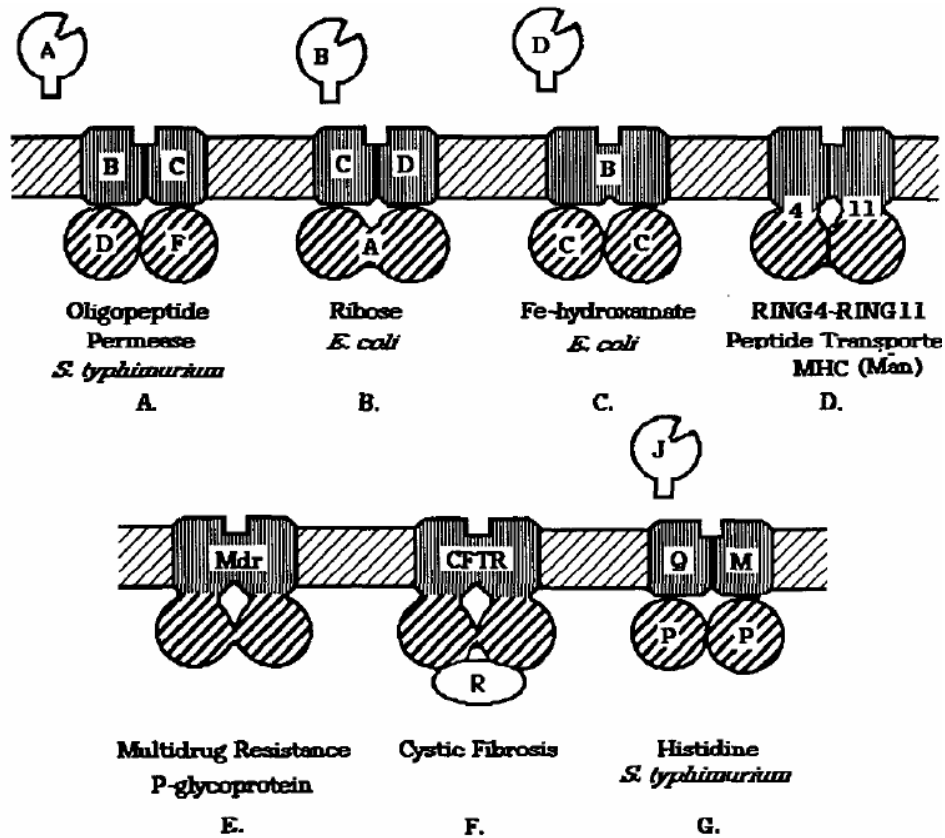
aileleri için keyfi isimler verilmiştir. Aile ve alt ailelerin numaraları (No) verilmiştir. Bunu özelliklerinin çok kısa tanımları (fonksiyon) izlemiştir. Her aile ve alt aile için tipik bir ABC proteini (model) insan gen isimlendirme komitesi tarafından verilen isimler (HGNC) Ayrıca transport komisyonu tarafından yapılan isimlendirme gösterilmiştir. Alt ailelerine ayrılan subsrat tiplerine göre transport komitesi tarafından bazı flogenetik aileler bu tabloda tanımlanmıştır.



Şekil 4. ABC proteinlerinin domain düzeni. TMD' ler koyu gri dikdörtgenler ile ABC domainler açık gri köşesi yuvarlak dikdörtgenler ile gösterilmiştir. Aktif ABC taşıyıcıların temel sistemi iki TMD ve iki ABC domain içeren dört alt üniteden oluşmuştur. (36)

2.2.4. ABC Taşıyıcıların Domain Organizasyonu

ABC taşıyıcılar karakteristik şekilde organize olmuş polipeptid veya protein domainlerinin fonksiyonlarını gerektirir. Tipik taşıyıcı, dört membranla birleşmiş domain içerir. Bu domainlerin ikisi çok hidrofobiktir ve membranı kat eden altı tane kısım içerir. Bu domainler membranı geçen substratlara taşıyıcıların spesifikliğini sağlar. Diğer iki domain membranın stoplazmik yüzüne yerleşmiştir ATP bağlar ve taşıma mekanizmasının ATP hidrolizi ile eşleşmiştir. Bu ATP bağlayan domainler polipeptitlerle ayrılmış olarak ifade edilir (Şekil 4). Özellikle prokaryotik türlerde (Örneğin; *S. Typhimurium*'nın oligopeptit permeası) bununla birlikte multifonksiyonel polipeptid olan birçok geniş domain örneği vardır. Akla gelen kaynaşma tiplerinin hemen hepsi rapor edilmiştir. Örneğin; ribose taşıyıcının, iki ATP bağlayan domaini kaynaşmış, iki kat büyüklükte bir protein olmuştur (RbsA) (25).



Şekil 5. ABC taşıyıcılarının domain organizasyonu. Tipik bir ABC taşıyıcı dört domain içerir, iki yüksek ölçüde hidrofobik membran boyunca uzanan domain (ince aralıklarla taranmış) yer değişimi ile ve iki membran kenarındaki domain (kalın aralıklarla taranmış) transport işlemine ATP hidrolizi ile eşleşmiştir. Membran dışı domain (taranmamış) (25)

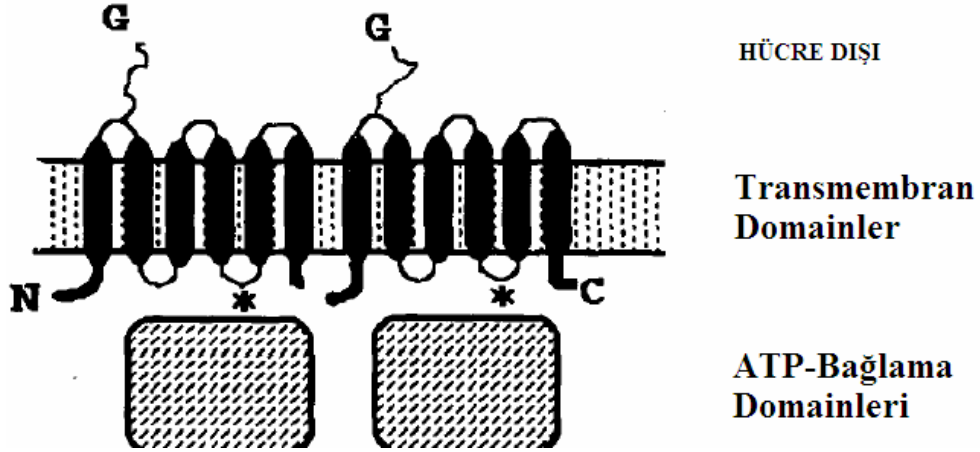
E. Colideki Demir-hidroksamat taşıyıcının membran kat eden iki domaini kaynaşarak tek bir polipeptid olmuştur (FhuB; Şekil 5C). MHC' nin varsayılan peptit taşıyıcısı iki polipeptid içerir, RİNG4 ve RİNG11, her biri N-terminal'de Hidrofobik domain C-terminal'de ATP bağlayan domain içerir. (Şekil 5D) Benzer olarak beyaz ve kahverengi *Drosophila* gen ürünleri ATP bağlayan domeinle kaynaşmış bir hidrofobik domein içerir: Bu proteinlerde, ATP bağlayan domein N-terminalde hidrofobik domein C-terminaldedir. Son olarak çoğu ökaryotik ABC taşıyıcılar, insan multidrug rezistans P-glikoprotein gibi (Şekil 5E) ve kistik fibrozis gen ürünü (Şekil 5F) dört domeini de bir tek polipeptid kaynaşmıştır. Domeinlerin doğal kaynaşma ve ayrışması deneysel olarak çıkartılabilir. Böylece *S. Typhimurium*'nin iki ATP bağlayan domeini peptit taşıyıcı (OppD ve OppF) tek bir fonksiyonel polipeptit vermek üzere bir araya gelerek kaynaşabilir. Benzer olarak maya STE6 faktör peptit eksport sistemi, normal olarak dört domeinin tek polipeptidi tutma fonksiyonu olan iki yarım olarak ifade edilebilir (25, 34).

Dört çekirdek domein, katıların membrandan geçirilmesine yarayan makine gibidir. Bununla beraber mevcut ABC taşıyıcılar düzenleyici veya diğer periferik olan ilave domeinlere sahiptirler. Örneğin; kistik fibrozis gen ürünü CFTR beş domeine sahiptir. Diğer ABC taşıyıcılarında eşleniği olmayan R-domeini düzenleme fonksiyonuna sahiptir. Maltoz taşıyıcının ATP bağlayan domeini (MalK) C-terminal uzantısında taşıma işleminden bağımsız enzimatik fonksiyonu olduğu görülür. Bütün bakteriyel ABC taşıyıcılar katıların alımına aracılık eder. Periplazmik boşlukta sitoplazmik membranın dış yüzüne doğru proteinin substrat bağlama bölgesine sahiptirler. Bu periplazmik bileşenler taşıyıcıların fonksiyonu için gereklidir. Her ne kadar katılar membranı kat etme işlemine katılmasalar dahi bu işlemle ilişkilidir. Son olarak birçok bakteriyel taşıyıcılar taşıyıcının içinde domeinle birlikte ifade edilen yan protein bileşenlerine sahiptirler. Örneğin; hemolizini stoplazmik iç membrandan karşıya geçiren HlyB proteini, hemolizini dış membrandan karşıya geçiren kısım HlyD proteiniyle ifade edilebilir. Benzer olarak *E. coli*'nin bileşeni maltoz maltodeks ile beraber transkrip edilen lamB geni stoplazmik iç membrandan karşıya aktif taşıma için gerekli değildir fakat maltodekstrinlerin dış membrandan içeriye geçişini kolaylaştırırlar.

2.2.4.1. Transmembran Domainler

ABC taşıyıcıların iki Transmembran domaini hidrofobiktir. Her biri dizisinden tahmin edilebilen membranı geçebilen çok kısımlı α -sarmal parça içerir. Taşıyıcıların ana kısmı, her bir domainde membranı geçen altı parçadır. N- ve C- terminali membranın stoplazmik yüzeyinde 3 tane hücre dışı 2 tane hücre içi loop vardır (Şekil 6).

Ulaşılabilen deneysel veriler çok az taşıyıcı ile sınırlı olmasına rağmen tahminlerle uyumludur. *S.typhimurium*'un oligopeptit permeasının her bir domaininin altı tane tahmin edilen membranı geçen kısmı hem biyokimyasal hem de genetik teknikler kullanılarak deneysel olarak aydınlatılmıştır (34).



Şekil 6. ABC taşıyıcı yapısal organizasyonu. Tipik ABC taşıyıcılarının çekirdek domainleri ayrı polipeptidler olarak çizilmiştir. (Bazen bir arada da olabilirler) iki transmembran domain her biri membranı altı defa geçer. Toplamda taşıyıcı başına on iki transmembran parça vardır. Bu taşıyıcılar arasında korunan kısa dizi motifi her domainin dördüncü ve beşinci transmembran parçası arasında * ile gösterilen stopplasmik loop üzerindedir. Bu kısım ATP bağlayan domainle etkileşime dahil olabilir. Ökaryotik ABC taşıyıcılarının potansiyel glukozilasyon bölgesi (G) membranın hücre dışına bakan yüzündedir. ATP bağlama domainleri membranın stopplasmik yüzünün kenarında yerleşmiştir (25).

2.2.4.2. ATP-Bağlayan Kaset (ABC) Domainler

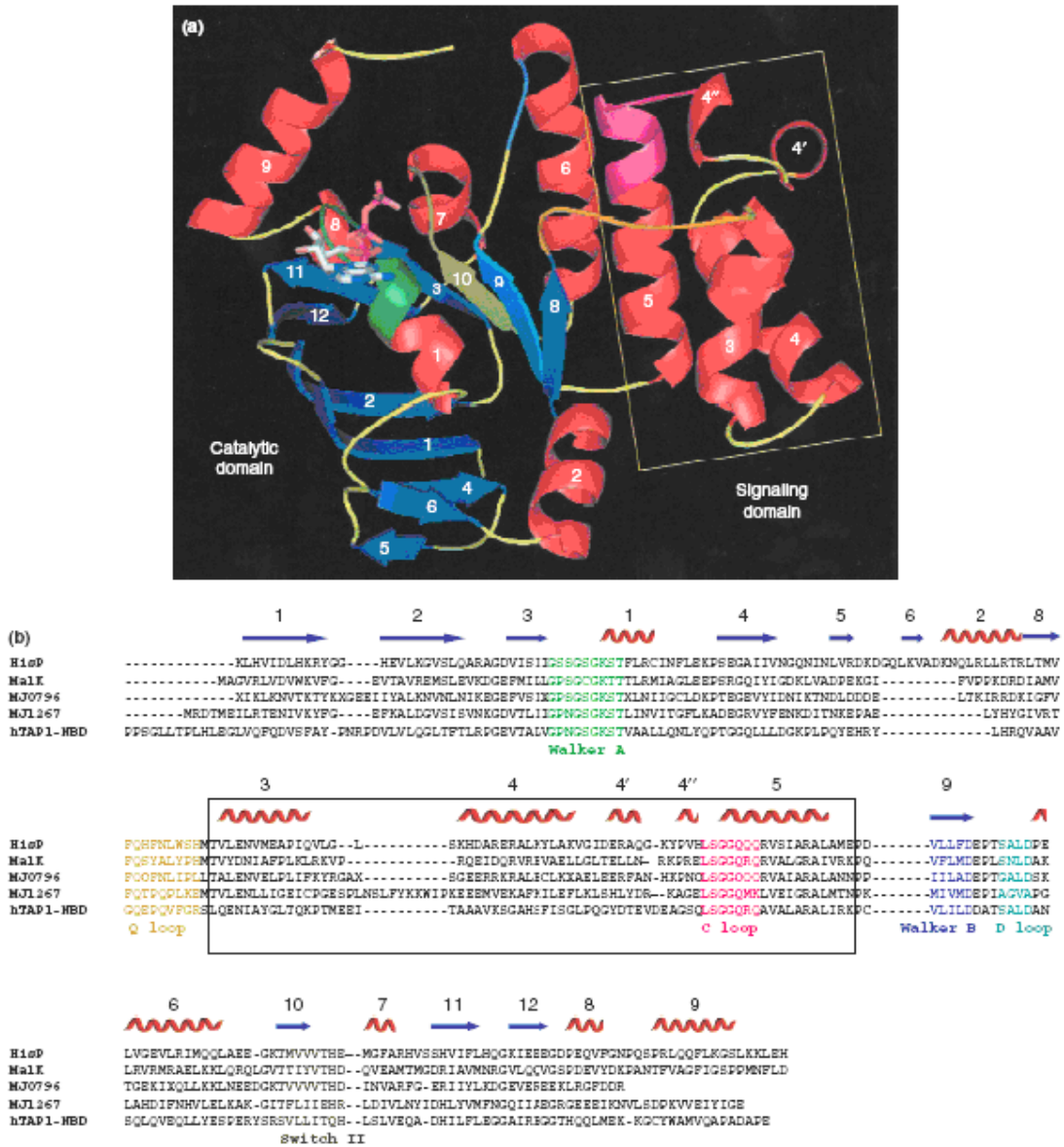
ABC taşıyıcılarının ATP-Bağlayan domainleri onların en karakteristik özellikleridir. Her domain yaklaşık 200 a.a uzunluğunda ve önemli dizi özdeşliğini paylaşan farklı taşıyıcılardan oluşur ve bunlarında tanınması %30-50 arasındaki farklılaşmanın karşılaştırılmasına bağlıdır. Ayırt edici dizi iki ATP-bağlayan domain arasında farklı taşıyıcılardan domainler bu fonksiyonel sınırlamanın yansıması veya birlikte gelişmenin sonucu olabilir. ATP-bağlayan domainler arasında bir çok nükleotid bağlayan proteinle ilişkili, sırası korunmuş iki kısa motif içerir (Walker motifleri). Bununla beraber iki kısa Walker motifinden daha çok bütün domainlerin dizi özdeşliğinden bahsetmek önemlidir (37).

2.2.4.2.1. ABC Domainlerinin Yapısı

Histidin Permeazın nükleotid bağlayan domaini ABC Domaini HisP'nin yüksek çözünürlüklü yapısı ilk olarak 1998'de rapor edilmiştir. His P'nin iki domaine sahip olduğu gösterilmiştir. Domain I (katalitik domain) α/β yapısına sahiptir ve nükleotid

bağlayan bölge içermektedir. Nükleotid bağlayan bölge Walker A motiflidir. (Walker A motifi: Bu heliksin ilk üç kalıntısının heliks I 'in önüne eklenmesiyle oluşur.) Buna ek olarak bu sıklıkla karşılaşılan dizi (ATPaz ve GTPaz' larda gözlenen) arm I Walker B motifi içerir. (Walker B motifi: 9 zincir içine yerleşmiştir ve γ fosfat sensörü olarak fonksiyon gösteren korunan bir histidin içerir. Zincir 10 ve heliks 7 arasında bulunan switch II olarak adlandırılan bölgede yer alır). ABC domaininin dizi sırası şekil 7'de gösterilmiştir.

ATP'nin fosfat parçacıklarının etkileşimi Walker A motifinin kalıntılarıyla kurallı modda olmaktadır. ATP'nin aromatik halka sistemi ile protein arasındaki ilk temas π - π etkileşimi yoluyla tirozin veya fenilalanin kalıntısı korunarak meydana gelir. Bu, yapısal terimlerde neden ABC domain ve ABC taşıyıcılarının yalnız nükleotid fosfatlar için öncelikle söylenmediğini açıklar. Domain II'ye sinyal domaini de denir, C-Loop veya signature motif 5 sarmalın içine devam eden α sarmalın bütününden oluşur. Bu domainin Transmembran Domain ile (TMD) etkileşim içinde olduğu düşünülmüştür. Domain I'in üç boyutlu yapısı Domain II ile yapısal homoloji göstermediği gözlemlenmiştir.



Current Opinion in Structural Biology

Şekil 7. ABC Domainleri: Yapı- Dizi korunması. a) HisP 'nin yapısı (PDB kod 1BUO). Heliks kırmızı ile gösterilmiştir. Standartlar mavi ile gösterilmiştir. ATP modeli koyu kalın gösterilmiştir. b) X-ray yapıları rapor edilen NBD' lerin dizi eşleşmesi. korunmuş motifler renkli etiketle gösterilmiştir. Yukarıda HisP ile eşleşmeleri gösterilen ikincil yapı elementleridir. Kutu kol II nin konumunu gösterir, a'da da kutu içine alınarak gösterilmiştir. Bütün şekiller MOLSCRIPT ve PYMOL kullanılarak hazırlanmıştır. (<http://pymol.sourceforge.net/>) (26)

2.2.4.2.2. Substrat Özgüllüğü

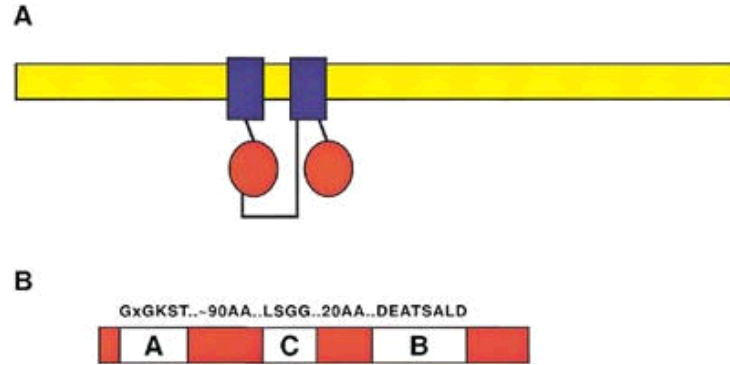
ABC taşıyıcılar şekerler, peptidler, inorganik iyonlar, aminoasitler, oligopeptidler, polisakkaritler ve proteinler gibi substrat sınıfları için tanımlanmıştır. Bu substratlar

yalnızca kimyasal olarak değil boyut olarak ta birbirinden farklıdır. Bu mekanizma ile her taşıyıcı kendisine ait substrat için yüksek derecede seçiciliğini korurken böyle farklılık kazanması problemi ilgi çekici hale getirir. Bakterilere ait uptake sistemi için periplasmik-bağlayan proteinler substrat özgüllüğünü belirlemede önemli rol oynarlar. Bununla beraber, bağlama proteini- bağımsız mutantlar olarak hala substrat seçiciliği gösterir ve dört membranla ilişkili bileşen rol oynar. Sistemler için bağlama proteinleri olmadığı, membranla-ilişkili domainlerin bağlayabileceği bildirilmiştir. Membranı kateden domainler noktasında substrat özgüllüğünü belirlemede primer olarak ATP bağlama domainlerinden daha fazla delil vardır. Bazı mutasyonlar değişik taşıyıcıların Transmembran domeinlerinin seçiciliğinde değişikliklere yol açarlar. Örneğin ; S. Typhimurium' nin histidin taşıyıcılarının (HisM transmembran domeinin membranı geçen kısmından dört amino asidin silinmesi) L-histidin' de L -histidinol' e değişmesine sebep olur. Bu genetik verilerin ışığında biyokimyasal deliller P-glikoprotein Transmembran domainin değişik substratlar tarafından ve substrat analogları tarafından özgül olarak etiketlenebildiğini ve substrat bağlamaya dahil olduklarını göstermişlerdir. ATP taşıyıcılarının ATP bağlayan domain' lerinin substrat özgüllüğüne doğrudan katkısı olduğuna dair kanıt yoktur. (25, 34, 39)

2.2.5. ABC Protein Ve Gen Organizasyonu

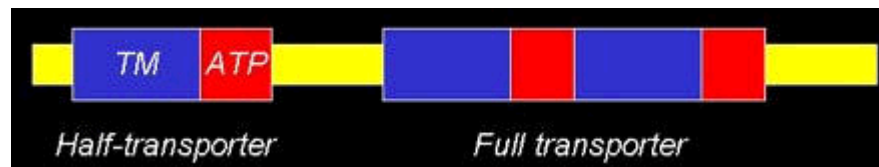
ATP -bağlayan kaset (ABC) genler transmembran proteinlerin geniş bir ailesini gösterir. Bu proteinler ATP bağlar ve çeşitli moleküllerin hücre membranlarından transferinde enerji için kullanır. Proteinler ABC taşıyıcılar şeklinde nükleotit bağlayan kıvrım (NBFs) olarak ta bilinen ATP-bağlayan domainlerinin organizasyonuna ve dizisine göre sınıflandırılmıştır. NBFs 'in her ATP-bağlayan proteinde bulunan, yaklaşık 90-120 amino asid tarafından ayrılan karakteristik motifleri (Walker A ve B) vardır. ABC genleri Walker B nin üst kısmında yerleşen (C) ile gösterilen motif bir ilave parça da içerirler. Fonksiyonel protein tipik olarak iki NBFs ve iki TM domain bulundurur. TM domainleri 6-11 membranı kat eden α -heliks bulundurur ve substrat için spesifite sağlar (şekil 8). NBFs sitoplasmada yerleşmiştir ve substratın membrandan içeri taşınmasında kullanılan enerjiyi taşır. ABC pompaları genellikle tek yönlüdür. Bakteride hücre içine diffüzyon ile taşınamayan (şeker, vitaminler, metal iyonlar vb) temel bileşenlerin taşınmasında çoğunlukla anlaşılammıştır (4). Ökaryotlarda, ABC genlerinin çoğu bileşikleri

stoplazmadan hücre dışına veya hücre içi kompartmanlara taşır (Endoplazmik retikulum mitokondri, peroksizom). Ökaryot ABC taşıyıcılarının bilinen fonksiyonlarının pek çoğu her hangi bir metabolik işlevin parçası olarak ya hücrede hidrofobik bileşiklerin mekik gibi taşınmasını yada diğer organlara taşınması için veya vücutta hücre dışına salgılanması için taşınmasını sağlar.



Şekil 8. Tipik ABC taşıyıcı proteininin diyagramı. A. Temsili bir ABC proteininin yapısının şekli sarı renkle lipid çift tabaka, mavi olarak TM domain ve kırmızı olarak NBFs domainleri gösterilmiştir. B. En sık kabul edilen düzenleme N-TM-NBF-TM-NBF-C düzenlenmiş biçimlerle full transporter olmakla birlikte NBF-TM-NBF-TM, TM-NBF gibi motiflere de rastlanılmıştır (4).

Bir ABC geninin NBFs i Walker A ve bütün ATP - bağlayan proteinlerde bulunan B motiflerini içerir. Ayrıca bir sinyal veya C motifi de mevcuttur. Üstteki diyagram bu motiflerde bulunan çok sık görülen amino asitlerdir. Alt aileler bunlardaki karakteristik residuleri ve diğer bölgeleri içerir.



Şekil 9. ABC gen yapısı. Bir ABC Half transporter ve full transporter diyagramı. Bir half transporter homo yada heterodimer olabilir. Halbuki full transporter bir transkript halinde olabilir (4).

Ökaryotik ABC genleri ya iki TMs ve iki NBFs içiren full transporter olarak yada half transporter olarak düzenlenirler (Şekil 9). İkincisi ya homodimer yada bir fonksiyonel taşıyıcı oluşturmak için heterodimer olmalıdır. ABC genlerine geniş çapta ökaryotik genomlarda rastlanır. Bu genlerin pek çoğu ökaryotik evrimin başlangıcından beri mevcut

olmuş olduğu görülüp türler arasında korunmuştur. Genler full transporter veya half transporter yapılarındaki benzeşmeye, domainlerin sırasına ve baz dizisindeki benzeşmeye dayalı olarak ayrılırlar. Beş tanesi *Saccharomyces cerevisiae* genomunda bulunan yedi tane ABC super ailesi vardır. Bütün insan ve fare ABC genlerinin ABC gen araştırmaları toplantısında Humon Genome Organization (HUGO) tarafından geliştirilmiş olan standart isimlendirilmesi vardır. İsimlendirmenin detaylı şeması internette; <http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/genefamily/abc.html> adresinde bulunabilir. ABCC7/CFTR, ABCB2/TAP1 ve ABCB3/TAP2 üzerine çalışan araştırmacılar kendi orijinal gen isimlendirmelerinin korunmasını temenni etmişlerdir. Resmi gen sembolleri kullanılmışsa da bilinen bütün sinonimleri araştırmacıların literatüre atıfta bulunmasına izin verir.

2.2.6 ABC Taşıyıcıların Metabolizma ve Patofizyolojisi

2.2.6.1. ABC Taşıyıcılar İle İlişkili Hastalıklar

Aktif taşıyıcıların ATP-bağlayan kaset (ABC) süper ailesi yaklaşık 50 fonksiyonel değişik prokaryotik ve ökaryotik transmembran proteinlerden oluşmuştur. Bu proteinler çeşitli substratların membrandan taşınmasına temel teşkil eder. İnsanda ABC taşıyıcıların filogenetik analizleri proteinlerin alt ailelerinin yedi farklı gruba bölünmesi için kullanılmıştır. Alt aileler ABCA-ABCG olarak isimlendirilmiştir. Bu taşıyıcıların ondördündeki defekt onüç genetik hastalığa yol açar. Kistik fibrozis, Stargardt hastalığı, adrenoleukodystrophy ve Tangier hastalığı.

ABCA alt ailesi

şimdiye kadar 12 ABCA geni tanımlanmış fakat yalnızca 4 tanesitam olarak karakterize edilmiş. Filogenetik analizlerde ve intron yapısına göre iki guruba ayrılır. İlk grup 6 farklı kromozom üzerinde 7 gen içerir. ABCA1 (9q22-q31), ABCA2 (9q34), ABCA3 (16p13,3), ABCA4(1p22), ABCA7 (19p13,3), ABCA11 (4p16), ABCA12(2q35) ikinci grup 17q24 kromozomu üzerine yerleşmiş 5 genden (ABCA5, ABCA6, ABCA8, ABCA9 ve ABCA10) oluşur.

ABCA1, ters kolesterol taşımının kapıcısı 2261 amino adiden oluşan integral membran protein. ABCA1 hücrel kolesterol ve fosfolipitleri hücre yüzeyine bağlı apolipoproteinlere taşırlar. ABCA1 polimorfizmleri plazma lipid seviyesi üzerine etkilidir.

ABCG alt ailesi

İnsanda 5 tane tamamen karakterize edilmiş üyesi olan ABCG veya white alt ailesi aktif membran taşıyıcıları oluşturmak için dimerize olur. Yarı boyut molekül için ABCG proteinlerin domain organizasyonu kısmen karakterize edilmiştir. N - terminalde nükleotid bağlayan protein ve onu takip eden altı tane Transmembran spanning domain vardır. Bu grubun bulunan ilk üyesi ABCG1 drosophila geninin insan homoloğu olarak tarif edilmiştir. 12 a.a bağlayan bölge ATP bağlayan kaset ile Transmembran bölge arasında bağlantı noktası ABCG1'in oluşmasına bağlıdır. Memelilerin ABCG1'i kolesterol ve fosfolipidlerin makrofajlarda taşınması ile ilişkilidir. ABCG1 ABCA alt ailesi ile özellikle ABCA1 ile en yüksek filogenetik ilişkiyi gösterir. İnsan monosit ve makrofajlarında ABCA1 ve ABCG1'in sterole bağımlı düzenlenmesi ve farklılaşması birbirine benzer. ABCG1' in kolesterol ve fosfolipid taşınması ile ilişkili olduğuna dair deneysel veri olmasına rağmen, ABCG1' in fizyolojik fonksiyonunu açıklamaya yardımcı olacak tanımlanmış ABCG1 geninin fonksiyon mutasyonu yoktur. İkinci bilinen ABCG alt ailesi üyesi ABCG2' dir, farklı bir yaklaşımla aydınlatılmıştır. Bir göğüs kanseri rezistans proteini plesentaya özgü ABC olarak bilinir. Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5. ABC Taşıyıcıları İle İlişkili Hastalıklar

Hastalık	Taşıyıcı
Kanser	ABCB1 (MDR1), ABCC1(MRP1), ABCG2(MXR)
Kistik fibrozis	ABCC7 (CFTR)
Stargardt hastalığı ve AMD	ABCA4 (ABCR)
Tangier Hastalığı ve Ailesel HDL düşüklüğü	ABCA1 (ABC1)
İlerleyen intrahepatik kolestasis	ABCB11(SPGP), ABCB4(MDR2)
Dubin-Johnson syndrome	ABCC2 (MRP2)
<i>Pseudoxanthoma elasticum</i>	ABCC6 (MRP6)
çocuklarda inatçı hipoglisemi	ABCC8 (SUR1), ABCC9(SUR2)
Sideroblastik anemi ve ataksi	ABCB7 (ABC7)
Adrenoleukodystrophy	ABCD1 (ALD)
Sitosterolemi	ABCG5, ABCG8
İmmun yetmezlik	ABCB2 (Tap1), ABCB3 (Tap2)

2.2.6.2. ATP' ye Hassas K⁺ Kanallarının Fizyolojik Ve Patofizyolojik Rollerini

ATP'ye hassas K⁺ kanalları K_{ATP} pankreatik adacık hücreleri, kalp, iskelet kası, vasküler düz kas, beyin gibi bir çok dokuda mevcuttur. Çeşitli hücrel fonksiyonlarda membran potansiyeli hücrenin metabolik durumuna göre değişir. K_{ATP} kanalları iki alt üniteden oluşmuş heterooktomerik yapıdadır. Por oluşturan alt ünite K_{IR6.x} (K_{IR6.1} veya K_{IR6.2}) ve regülatör alt ünite sülfonil üre reseptörü SUR (SUR 1 veya SUR 2) K_{IR6.x} K⁺ kanal ailesinin içe dönük doğrultucu (inward rectifier) alt ünitesidir. H5 bölgesinde Gly-Tyr-Gly motifi K⁺ iyon seçiciliğinde kritiktir ve K⁺ kanallarının içe dönük kısmında bu aminoasit dizisi korunmuştur. Hem K_{IR6.2} hem de K_{IR6.1} de Gly-Phe-Gly motifi K_{IR6.x} üyelerine aittir. SUR ATP bağlayıcı kaset protein süper ailesindedir. Kir6.x veya Kir6.2 ve SUR1 veya SUR2 varyantlarının farklı kombinasyonlarının heterolog ifadeleri K_{ATP} kanallarının farklı tipleri oluşması ile elektrofizyolojik özellikleri, nükleotid ve farmakolojik hassasiyetleri kaynak dokusundaki K_{ATP} kanallarının çeşitliliğine karşılık gelir. Önceleri K_{ATP} kanallarının fizyolojik ve patofizyolojik rolleri K_{ATP} kanal bloke edicileri ve K⁺ kanal açıcıları kullanılarak çalışılmıştır, fakat birçok önemli hücrel cevapta K_{ATP} kanal kanallarının rolleri ili ilgili direk delil yoktur. Buna ilaveten insan geninin mutasyon gözleme analizleri genetik manipulasyonla üretilmiş farelerin fenotiplerinin tanımlanması çeşitli gen ürünlerinin fonksiyonlarının açıklanmasında başarılı olmuştur. Son zamanlarda genetik olarak değişik farelerin K_{ATP} kanallarından yoksun olan (knockout mice) ve K_{ATP} kanalları mutant olan fare çeşiti (transgenic mice) üretilmiştir. İnsanda doğal olarak meydana gelmiş mutasyonları gözleyerek ve farelerin genetik manipulasyonlarından K_{ATP} kanallarının fizyolojik ve patofizyolojik rolleri öğrenilebilir. ATP' ye hassas K⁺ kanalları ilk olarak kalpde bulunmuştur (Noma 1983). Pankreatik beta hücreleri dahil birçok hücre tiplerinde beyin, iskelet, düz kaslar, böbrek gibi birçok dokuda geniş olarak dağılmıştır. K_{ATP} kanalları hücre içi ATP ve aktive MgADP tarafından inhibe edilirler. Hücre içi adeninnükleotid konsantrasyonunda ki değişikliklere hassasiyet göstererek hücre membran potansiyelinin metabolik durumuna eşlik eder. K_{ATP} kanalları hiperglisemi, hipoglisemi, iskemi ve hipoksi gibi metabolik olaylara göre değişik dokuların hücrel cevabında önemli rol oynarlar. K_{ATP} kanallarının fizyolojik rolleri pankreatik beta hücrelerinde insulin salınımıyla en iyi şekilde karakterize edilmiştir. Pankreatik beta hücrelerinde glukoz metabolizmasındaki artış ATP artışına sebep olur. K_{ATP} kanallarına yakındır beta hücreleri membranı depolarize olur, voltaj

bağımlı Ca kanallarının açılmasına sebep olur bu da Ca²⁺ un hücre içine alınmasına sebep olur. Ca²⁺ un hücre içi konsantrasyonunu artışında beta hücrelerinde insülin taşıyan granülleri hücre dışına açılması ile sonuçlanır. Beta hücrelerinde K_{ATP} kanallarının glukoz bağımlı insülin salınımının düzenlenmesinde kritik olduğu görüşü vardır. Talbutamide ve glibenklamide gibi sülfonilüre reseptör inhibitörleri Tip 2 diabetin tedavisinde geniş olarak kullanılırlar doğrudan K_{ATP} kanallarının kapanmasıyla insülin salınımını situmile ederler. Diazoksit gibi K⁺ kanal açıcıları ise K_{ATP} kanallarının açılmasıyla insülin salınımını inhibe ederler. Kardiyovasküler sistemde K_{ATP} kanalları özellikle hücre içi ATP konsantrasyonunun azaldığı iskemi ve hipoksi gibi metabolik stres durumlarında önemli rol oynarlar. Kalpde K_{ATP} kanalları K⁺ un hücre dışına çıkması ve aksiyon potansiyelinin kısalması ile ilişkilidir, her ikisinde aritmilere yol açabilen elektrofizyolojik rahatsızlıklarda başlıca faktördür. İskemi boyunca kalpte K_{ATP} kanallarının aktivasyonu iskemik ön koşulları tarafından minimize kardiyak hasar olduğunu düşündürmüştür. Vasküler sistemde vasküler düz kaslarının gevşemesi nedeniyle K⁺ kanal açıcıları tarafından glibenklamid hassas K akımının aktivasyonu ile ilişkilidir. K_{ATP} kanallarının vasküler düz kasların tonusunu düzenlediği düşünülmüştür. Bunun içinde kan basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Koroner arterlerde K_{ATP} kanallarının açılması, iskemi boyunca vazodilatasyona cevap olduğuna inanılmıştır. İskemi ve hipoksi sırasında vazodilatasyona cevap olarak K_{ATP} kanalları glibenklamid tarafından bloklanabilir. Beyinde K_{ATP} kanalları hipokanpal nöronlar dahil birçok hücre tipinde (gliyal hücreleri, dorsal vagal nöronlar, hipotalamik nöronlar ve substantia nigra) farklı özellikleri ile tespit edilmiştir. Metabolik stres altında beyinde K_{ATP} kanallarının açılması, nöronal hasar ve nörodejenarasyona karşı korumayı desteklemiştir. K_{ATP} kanallarının bu fizyolojik rolleri önceleri K_{ATP} bloker ve açıcıları gibi farmakolojik ajanlar kullanılarak hücresel cevapları üzerinde çalışılarak önerilmiştir. K_{ATP}'nin mevcut fizyolojik rollerini ortaya koymaya daha gerçekçi bir yaklaşım K_{ATP} kanalları genetik olarak motifiye edilmiş fareler bunların fenotiplerinin incelenmesiyle olmuştur. Farklı dokularda K_{ATP} kanallarının beklenen ve beklenmeyen rolleri, K_{ATP} kanal alt ünitesi çıkarılmış fareler ve mutant K_{ATP} kanal alt ünitesi oluşturan transjenik fareler kullanılan çalışmalarda gösterilmiştir.

2.2.7. İnsan ABC Gen Alt Ailesinin Tanıtımı

Bilinen bütün insan ABC gen alt ailesinin bir listesi tablo 6 da gösterilmiştir (28).
Genom dizisinin analizinde en az 19 pseudogenes'in varlığı belirtilmiştir.

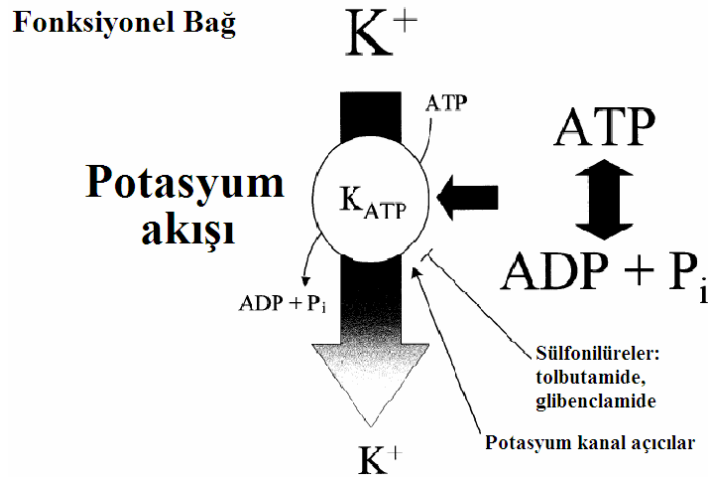
Tablo 6. İnsan ABC genlerinin listesi, kromosomal yerleşimi, ve fonksiyonu.

Sembol	Diğer Adı	Yerleşimi	Fonksiyonu
ABCA1	ABC1	9q31.1	HDL üzerine kolesterol taşınımı
ABCA2	ABC2	9q34.3	İlaç direnci
ABCA3	ABC3, ABCC	16p13.3	surfaktant salınımı?
ABCA4	ABCR	1p21.3	N-Retinylidione-PE-taşınımı
ABCA5		17q24.3	
ABCA6		17q24.3	
ABCA7		19p.13.3	
ABCA8		17q24.3	
ABCA9		17q24.3	
ABCA10		17q24.3	
ABCA12		2q34	
ABCA13		7p12.3	
ABCB1	PGY1, MDR	7q21.12	Multidrug rezistansı
ABCB2	TAP1	6p21.3	peptide taşıma
ABCB3	TAP2	6p21.3	peptide taşıma
ABCB4	PGY3	7q21.12	PC taşıma
ABCB5		7p21.1	
ABCB6	MTABC3	2q35	demir taşıma
ABCB7	ABC7	Xq21-q22	Fe/S cluster taşınması
ABCB8	MABC1	7q36.1	
ABCB9		12q24.31	
ABCB10	MTABC2	1q42.13	
ABCB11	SPGP	2q24.3	Bile tuz taşınımı
ABCC1	MRP1	16p13.12	İlaç direnci
ABCC2	MRP2	10q24.2	Organik anyon salınımı
ABCC3	MRP3	17q21.33	İlaç rezistansı
ABCC4	MRP4	13q32.1	Nükleosit taşınımı
ABCC5	MRP5	3q27.1	Nükleosit taşınımı
ABCC6	MRP6	16p13.12	
ABCC7	CFTR	7q31.31	Klorür iyon kanalı
ABCC8	SUR	11p15.1	Sülfonil üre reseptörü
ABCC9	SUR2	12p12.1	K(ATP) kanal düzenlenmesi
ABCC10	MRP7	6p21.1	
ABCC11		16q12.1	
ABCC12		16q12.1	
ABCD1	ALD	Xq28	VLCFA taşınımı düzenlenmesi
ABCD2	ALDL1, ALDLR	12q11	
ABCD3	PXMP1, PMP70	1p22.1	
ABCD4	PMP69, P70R	14q24.3	
ABCE1	OABP, RNS4	4q31.31	oligoadenilat bağlayan protein
ABCF1	ABC50	6p21.1	
ABCF2		7q36.1	
ABCF3		3q27.1	
ABCG1	ABC8, White	21q22.3	kolesterol taşınımı
ABCG2	ABCP, MXR, BCRP	4q22	Toksin salınımı, ilaç direnci
ABCG4	White2	11q23	
ABCG5	White3	2p21	sterol taşınımı
ABCG8		2p21	sterol taşınımı

NBF domaininin amino asid dizisinin sıralanması ile ve çok sayıda metodlar ile filogenetik analizlerin yapılması ile mevcut ökaryotik genler yedi ana alt aileye ayrılabilirler. Çok az gen bu alt aileye uymaz, ve alt ailelerin çoğu alt gruplara ayrılabilirler.

2.2.8. ABCC8 Sülfonil Üre Reseptörleri: ATP-Hassas K^+ Kanallarını Düzenleyen ABC Taşıyıcılar

Sülfonil üre reseptörleri ile $K_{IR6.X}$ alt ünitelerinin ATP-hassas K^+ kanallarını oluşturmak için birlikteliği transport ATP az ailesinin üyeleri için belki bilinen en nadir fonksiyonudur. Bu iki protein alt ünitesinin bütünleşmesi sülfonil üreye hassasiyeti artırır. Son çalışmalar SUR- $K_{IR6.X}$ etkileşiminin kalite kontrol, tüm yüzeysel ekspresyon, kanal kinetikleri, Mg-nükleotidler tarafından inhibisyon ve sitümlasyon, hem sülfonil üre gibi kanal blokerlerine hem de potasyum kanal açıcılarına cevap gibi özellikler dahil asıl K_{ATP} kanalları ile ilişkili özelliklerin tümü için kritik olduğunu göstermiştir. K_{ATP} kanalları bir transport ATP azın fizyolojik ve medikal öneminin bir tek örneğidir ve ailenin diğer üyeleri diğer iyon kanalları ile nasıl etkileşebildiğine bir örnek teşkil eder.



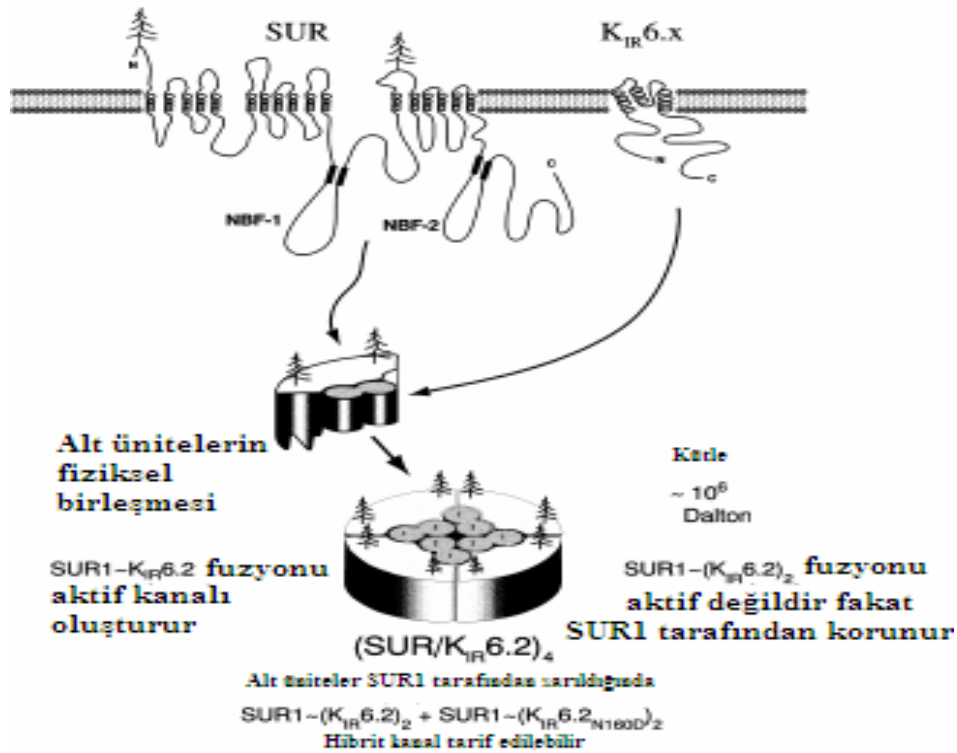
Şekil 10. K_{ATP} kanalları konsantrasyon gradientiyle oluşan K^+ akımını düzenlemek için ATP/ADP değişikliklerine cevap verir. ATP hidrolizi, K_{ATP} kanallarının düzenlenmesinin bir parçası olarak meydana geldiğine fakat K^+ hareketine etkili olmadığına inanılmıştır (Joseph Bryan Biochimica et Biophysica Acta 1461 (1999) 285-303).

K_{ATP} kanalları potasyum iyon kanal alt üniteleri ile transport ATP azdan oluşmuş tek kombinasyondurlar. Moleküllerin konsantrasyon gradientine rağmen membrandan karşıya geçmeleri için ATP hidrolizi eşlik eder, K_{ATP} kanalları, elektro kimyasal potansiyel tarafından yönlendirilen K^+ iyon akışını kontrol eder. Hücre içi ATP sentez ve hidrolizinden kaynaklanan sitozolik ATP ve ADP konsantrasyonunda değişikliklere cevapta kontrol sağlanır (Şekil.10).

K_{ATP} kanalları sulfonil üre reseptörleri, SUR, ve potasyum inward rectifiers (içe dönük düzeltici), KIR6.1 ve KIR6.2, geniş bir oktamerik kanal oluşturmak için (SUR/KIR6.x)₄ sitokiyometri ile birleşmesinden oluşmuştur. Sitokiyometrik modeli destekleyen bazı ayrıntılarla birlikte şekilde verilmiştir. (Şekil 11)

İnsan 11 ve 12 kromozomlarının kısa kolları üzerindeki iki gen grupları sırasıyla, SUR1 ve KIR6.2 alt üniteleri, ve SUR2 ve KIR6.1 alt ünitelerini kodladığı açıktır.

SUR2 geninde iki terminal ekzonun farklı kullanımı iki majör SUR2A ve SUR2B değişik birleşme yerleri belirler.



Şekil 11. K_{ATP} kanallarının kompozisyon ve sitokiyometrisi. K_{ATP} kanalları sulfonil üre reseptörleri, SURs, ve potasyum inward rectifiers (içe dönük düzeltici), KIR6.1 ve KIR6.2, geniş bir oktamerik kanal oluşturmak için (SUR/KIR6.x)₄ sitokiyometri ile birleşmesinden oluşmuştur. (Lydia Aguilar-Bryan Et Al. *KATP Channels&Insulln Secretion Recent Progress in Hormone Research* 56:47-68 (2001))

Ek olarak minör splice varyantlar tanımlanmıştır. Uzun incelemelere dayanarak SUR1/KIR6.2 çifti pankreatik β -hücrelerin KATP kanallarını ihtiva ettiği, nöronlar ve nöroendokrin hücrelerde de bulunduğu bilinir. SUR2A/KIR6.2 çifti kardiyak ventriküler miyosit ve iskelet kasında ki kanallarda da bir araya gelir. SUR2B KIR6.1 ve KIR6.2 ile çifti vasküler ve non-vasküler düz kasda KATP kanallar oluşturmak için bulunur.

Son raporlar desteklemiştir ki SUR1/SUR2/KIR6.1 veya SUR1/SUR2/KIR6.2 alt üniteleri çeşitli kanallar oluşturmuştur.

ABCA (ABC1)

İnsan ABCA alt ailesi 12 tam taşıyıcı ihtiva eder (Table 6) bunlar da filogenetik analizler ve intron yapısı temeli üzerine iki alt gruba ayrılır (29, 30). İlk grup altı farklı kromozom üzerine dağılmış yedi gen ihtive eder (ABCA1, ABCA2, ABCA3, ABCA4, ABCA7, ABCA12, ABCA13), halbuki ikinci grup cluster içinde 17q24 kromozom üzerinde düzenlenmiş beş gen(ABCA5, ABCA6, ABCA8, ABCA9, ABCA10) içerir. ABCA alt ailesi en geniş ABC genlerinin bazılarını içerir, bunların çoğu 2,100 amino acid ve üzeri uzunluktadır. Bu alt ailenin iki üyesi , ABCA1 ve ABCA4 (ABCR) proteinleri, yaygın olarak çalışılmıştır. ABCA1 proteini kolesterol taşıma ve HDL biosentezi hastalıkları ile ilişkilidir. ABCA4 proteini diğer çubuk fotoreseptör hücre parçalarında vitamin A türevlerini taşır ve bu nedenle görme döngüsünde çok önemli rol oynar. ABCA genleri mayada mevcut değildir; bununla beraber, evrimle ilgili çalışmalar ABCA genlerinin farklı ökaryotik nesillerde kaybolmaları ve yarı taşıyıcı olarak sonradan kopyalanmasını gösterir (31).

ABCB (MDR/TAP)

ABCB alt ailesi memelilerde hem tam taşıyıcı hem de yarım taşıyıcı içeren tek ailedir. Dört tane tam taşıyıcı ve yedi tane yarım taşıyıcı bu ailenin üyesi olarak tanımlanmıştır, ABCB1 (MDR/PGY1) klonlanan ilk insan ABC taşıyıcısıdır ve bir MDR fenotip kanser hücrelerine karar verdirilmesi ile karakterizedir. ABCB1' in fizyolojik tarafı kan beyin bariyeri ve karaciğerde bulunur. ABCB4 ve ABCB11 proteinleri her ikisinde karaciğerde bulunur ve safra asiti salınımı ile ilişkilidir. ABCB2 ve ABCB3 (TAP) genleri peptitleri ER' ye transfer eden heterodimer oluşturan ve class1 HLA molekülleri tarafından

antijen olarak gösterilen yarı taşıyıcıdır. TAPS'lerin homolojisine en yakın yarı taşıyıcı lizozomlarda yerleşmiş olan ABCB9'dur. Fe/S proteinlerinin prokürsörlerini taşıyan ve Fe metabolizmasında fonksiyonu olan ABCB6, ABCB7, ABCB8 ve ABCB10 dört adet yarı taşıyıcı mitokondride yerleşmiştir.

ABCC (CFTR/MRP)

ABCC alt ailesi Fe transportu, hücre yüzey reseptörü ve toksin salınımı aktivitelerini içeren çeşitli fonksiyonel spekturum ile 12 tane tam taşıyıcı içerir. CFTR proteini bütün ekzokrin salgınlarda rol oynayan klorür iyon kanalıdır; CFTR' de mutasyonlar kistik fibrozise sebep olur (32). ABCC8 ve ABCC9 proteinleri sülfonilüre bağlar ve insülin salgınının ayarlanması ile ilgili potasyum kanallarını düzenler. Alt ailenin geri kalanı dokuz MRP ilişkili genden ibarettir. Bunlardan ABCC1, ABCC2 ve ABCC3 ilaç konjugatlarını glutatyonin ve diğer organik anyonlara taşır. ABCC4, ABCC5, ABCC11 ve ABCC12 proteinleri diğerlerinden küçüktür. MRP1 benzeri gen ürünleri ve bir N terminal domain eksikliği transport fonksiyonu için esas değildir (33). ABCC4 ve ABCC5 proteinleri PMEA içeren nükleosidlere ve pürin analoglarına direnci belirler. Adenozintrifosfat-sensitif potasyum (K_{ATP}) kanal aktivitesi obezitede insülin direnci ve tip2 DM ile ilişkilendirilmiştir (34).

ATP'ye özgü potasyum kanalları, membran elektrik aktivitesi hücrel metabolik enerjiye bağlı olduğundan pankreatik beta hücreleri, kalp, iskelet kası ve beyin gibi birçok kolay uyarılan hücrenin plazma membranında yerleşmiştir. İki alt üiteden oluşmuşlardır; K^+ iyon seçici por (K_{ir}) ve sülfonilüre reseptörü (SUR). Buna ek olarak pankreatik beta hücreleri K_{ATP} kanallarının glukoz aracılıklı insülin salgınında merkezi rolü, K_{ATP} kanallarının insülin hedef dokularda glukoz taşınımını modüle ettiği hipotezine destek olan delildir. Glibenclamide veya gliclazide ile K_{ATP} kanallarının inhibisyonu hiperglisemi boyunca (glukozun etkisi ile) hücre içi ATP' yi artırır veya egzersiz, potasyum kanal açıcıları hipotermi (kardiyak cerrahi) veya iskemik hasar (miyokardiyal veya beyin enfarktüsü) insülin yada hiperglisemi nedeniyle azalmış glukoz alınımı tarafından kanallar aktive edilirken glukoz kullanımını kolaylaştırır. Çünkü insülin hareketi hedef hücrenin enerji seviyesine bağlı olduğu bilinmektedir, $K(ATP)$ kanalı bu bakımdan bir efektör gibi fonksiyon görebilir. Uzun zincirli acyl-CoA esterleri yağ asitlerinin metabolik olarak aktif formudur, $K(ATP)$ kanallarının en etkili ve fizyolojik olarak önemli aktivatörüdür. uzun

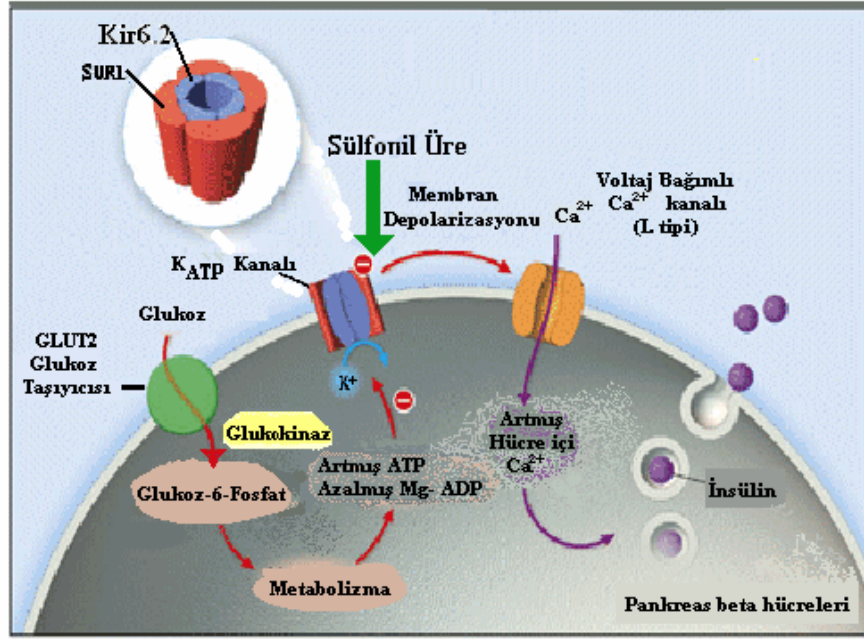
zincirli yağ acyl-CoA tarafından K_{ATP} kanallarının aktivasyonu yüzünden obezite ve tip2 diabetes mellitus'ta insulin direnci ile lipotoksisite arasında bağlantı eksik gibi görünüyor (35).

Bu alt ünitelerin birbiri ile farklı kombinasyonlar yaparak (yukarda belirtilenlere ek olarak SUR 2A veya SUR 2B alt üniteleri), farklı farmakolojik etkinlikleri ve elektrofizyolojik özellikleri kanıtlanmış, K_{ATP} kanalları doğuştan oluşur.

K_{ATP} kanallarının fizyolojik ve patofizyolojik rolleri K_{ATP} kanal kapatıcı ve açıcılar kullanılarak araştırılmış fakat doğrudan bu kanallara etkilerini gösteren bir veri elde edilememiş, buna karşılık doğal insan gen mutasyonlarının sonucu ortaya çıkan farklı genetik ürün fonksiyonlarının analizi ile bu farklılıklar açıklanabilmiştir. Son zamanlarda K_{ATP} kanalları kilitlenmiş (knockout fare) genetik değişiklikler yapılmış farelerde çalışılmıştır.

Yani obez kişinin kan şekerini belli bir düzeyde tutmak için nonobez kişiye nazaran daha fazla insüline gereksinimi vardır (21). Sürekli insülin üretimini yüksek düzeyde tutmak zorunda kalan pankreas beta hücresi zaman içinde insülin sentez ve sekresyon kapasitesini yitirmekte, daha fazla yükselen kan şekeri de beta (β)-hücre desensitizasyonu yapmakta ve azalmış karbonhidrat toleransı, NIDDM gelişebilmektedir (22). Normon Kaplan'ın ölümcül dörtlü adını verdiği MS'un klinik bir tanımlamasının komponentlerini inceledikten sonra son zamanlarda daha netleşen MS'un aterosklerotik gelişime neden olan diğer bazı elemanlarını da belirtmekte yarar vardır. Fibrinolitik sistem tromboza karşı koruyucu bir sistemdir. İnsülin rezistansı ve hiperinsülinizmde fibrinolitik plazminojen aktivatör inhibitörün (PAI-1) düzeyi artmıştır. Muhtemelen insülin PAI-1 sentezini arttırmaktadır. Yüksek PAI-1 düzeyi ile birlikte proinflamatuvar ajanlar (İnterlökin 6, interlökin – 1B, tümör nekrozis faktör ve lökositöz sonucu fibrinolitik aktivitenin azalması, damar çeperinde oluşan pıhtı çözünmesinin yetersizliğine, aterosklerotik plâğın büyümesine neden olabilir (23).

İnsülin, hücre besin depolarının kontrolü, besinin hücreye alımı, yıkımı ve depolanmasının kontrolünden birincil derecede sorumlu hormondur. İnsülinin anabolik etkileri bir taraftan glukoz, aminoasit ve yağ asitlerinin hücre içinde kullanımı ve depolanmasını uyarırken öte yandan katabolik durumlarda glukojen, protein ve yağların yıkımını inhibe eder (Şekil 12).



Şekil 12. Pankreas β hücrelerindeki K_{ATP} kanalları, ve insülin salgılanma mekanizması.

Substrat ve iyonların hücre içine taşınması, proteinlerin hücre kompartmanları arasında yer değiştirmesi, spesifik enzimlerin aktivasyonu ve inaktivasyonu ve protein miktarlarının değişimi spesifik genlerin transkripsiyon hızındaki değişim ile düzenlenir.

Sağlıklı yetişkinlerde insülin, hücre içine alınan glukoz düzeyini yaklaşık 10 kat artırır. İnsüline direnç geliştiğinde ise hücrelerde, dokularda (özellikle kas ve yağ dokusunda) karaciğer veya tüm vücutta ekzojen ve endojen insülin normal düzeyde olduğu halde cevabın (etkinin) bozulmasıyla gelişen durumdur.

Klinikte genellikle insülin direnci ile abdominal obezitenin birlikteliği dikkat çeker. İnsülin direnci, dokularda yağlanma ile karakterizedir. Şişmanlık, özellikle aşırı şişmanlık fiziksel hareketsizlik, yağ depolama defektleri, erkeklik hormonları, yaş ve genetik faktörlerin etkisi sonucu insülin aktivitesinin yetersizliği ile gelişir. İnsülin hassasiyetinin % 79 dan daha fazla azalması merkezi (abdominal) yağlanma sebebidir.

İnsüline direnç gelişen hastalarda görülen özellikler:

- Açlık glukozunda bozulma (AKŞ 111-125 mg/dL),
- Glukoz toleransında bozulma veya tip II diabet (AKŞ \geq 126 mg/dL ; 2 saat'lik OGTT 140 – 199 mg/dL),
- Hipertrigliseridemi açlık plazma trigliserit \geq 175 mg/dL,
- Düşük HDL-K açlık plazma HDL-K < 45 mg/dL,

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Buzdolabı (Arçelik)

Buz Makinesi (Scotsman AF-10)

Cam Malzemeler

Deiyonize Su Cihazı (Barnstead)

Derin Dondurucu (-85 oC Ultra/sw Freezer,Nuaire)

Etüv (Gallenkamp)

Genetik Analizör (Perkin Elmer, ABI Prism Model 310 Version 3.4.1)

Güç Kaynağı (Thermo Electron Corporation EC 250-90)

Hassas Terazı (Oertling NA164)

Karıştırıcı (Autovortex Mixer SA2)

Mikrodalga Fırın (BEKO)

Mikrosantrifüj (Beckman Coulter Microfuge 18)

pH metre (HANNA Instrument 8416)

Santrifüj (Heraeus)

Thermocycler (Gene Amp PCR System 9700 Applied Biosystem)

Thermomixer (eppendorf)

Transillüminatör (Wilber Lourmat)

3.2. Deneyin Planlanması ve Numünelerin Toplanması

Metabolik Sendrom teşhisi alan hastalarda ABCC8 polimorfizmi belirlenmek üzere planlanmış bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Biyokimya AB.D ve İç Hastalıkları AB.D Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı tarafından yürütüldü. Çalışmaya alınan Metabolik Sendrom teşhisi almış

bireyler KTÜ Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı tarafından yürütülen “Trabzon İlinde Metabolik Sendrom Prevelansı ve Prevelansı etkileyen Risk Faktörleri” adlı Epidemiyolojik çalışmada taranan 2601 kadın, 2208 erkek toplam 4809, 20 yaş ve üzeri birey arasından Ulusal kolesterol eğitim programı (NECP) 2001, erişkin tedavi paneli (ATP) III raporuna göre (1,2) metabolik sendrom tanı kriterleri olarak verilen, Abdominal obezite (Bel çevresi) kadınlarda 88 cm’ den, erkeklerde 102 cm’ den fazla, yüksek trigliserit seviyesi 150 mg/dL den fazla, düşmüş HDL-K kadınlarda 50 mg/dL’ nin altında erkeklerde 40 mg/dL’ nin altında ise, açlık kan şekeri 110 mg/dL ve üstünde, hipertansiyon 130/85 mmHg ve üstünde beş kriterden beşinin mevcut olduğu bireyler hasta grubu olarak; bu beş tanı kriterinin hiçbirini taşımayan bireyler kontrol grubu olarak kabul edildi.

3.3. Otoanalizörde Çalışılan Parametreler

Total kolesterol, trigliserid, HDL-K, LDL-K, glukoz tayinleri Roche Modular otoanalizöründe, orijinal Roche kitleri kullanılarak yapıldı. Total kolesterol; kolesterol oksidaz metodu ile, trigliserid; gliserol fosfat oksidaz metodu ile ve glukoz; glukoz oksidaz metodu ile enzimatik kolorimetrik yöntemler kullanılarak ölçüldü. HDL-K tayini polianyon ve divalan katyonların kullanımı ile serumdaki apolipoprotein B içeren lipoproteinlerin suda çözünen kompleks oluşturmaları sağlanarak nispeten HDL kolesterole spesifik polietilen glikol ile modifiye edilmiş kolesterol oksidaz ve esteraz kullanılarak enzimatik kolorimetrik yöntemle yapıldı. LDL-K tayini ise LDL kolesterol haricindeki kolesterolün noniyonik deterjan ve şeker bileşenlerinin etkisi ile enzimatik reaksiyonu azaltılıp, LDL-kolesterolün kolesterol oksidaz ve esteraz ile reaksiyona girmesi sağlanarak, enzimatik kolorimetrik yöntemle yapıldı. Tüm analizler günlük kalite kontrol çalışmalarını takiben yapıldı.

3.4. ABCC8 Dizi Analizi Çalışma Protokolü

ABCC8 Dizi analizi çalışması, Applied Biosystems BigDye Cycle Sequencing Kiti kullanılarak yapıldı.

3.4.1. DNA İzolasyonu

EDTA'lı tam kandan, Invitek, İnvisorb DNA izolasyon kiti kullanılarak yapıldı.

Kit içeriği:

- Patlatma tamponu A (25 ml)
- Bağlama tamponu A (15 ml)
- Elüsyon tamponu D (15 ml)
- Tampon EL (50 ml)
- Proteinaz K (1 ml)
- Yıkama tamponu I (30 ml)
- Yıkama tamponu II (18 ml)
- 2,0 ml. Toplama ependorfu (50 adet)
- 1,5 ml. Toplama ependorfu (50 adet)
- Ependorf filtresi (50 adet)

Çözeltilerin hazırlanması:

Proteinaz K: 1 ml distile su proteinaz K şişesine eklendi ve liyofilize haldeki enzim çözüldü. Çözülmüş haldeki proteinaz K +4°C'de 3 aya kadar saklanabilir. Daha uzun süreler için küçük aligotlara bölünerek - 20°C'de saklandı.

Yıkama tamponu I: 30 ml % 99'luk etanol, yıkama tamponu çözeltisine eklendi.

Yıkama tamponu II: 42 ml %99'luk etanol, yıkama tamponu çözeltisine eklendi.

Deneyin yapılışı:

1. Örnek sayısı kadar 1,5 ml' lik mikrosantrifüj tüpü işaretlendi.
2. 200 µl örnek tüplere eklendi 350 µl Lysis Buffer A ve 25 µl Proteinase K eklendi, vortekslendi.
3. Tüpler 70 °C de 10-15 dakika bekletildi.



200 µl EDTA'lı Kan

+ 25 µl Proteinaz K

+ 350 µl Patlatma tamponu A

Vortekslendi, ve 70 °C de 10-15 dakika bekletildi.

4. Tüpler su banyosundan çıkarıldıktan sonra üzerlerine 200 μ l bağlama tamponu A eklendi ve tekrardan vortekslendi.



+ 200 μ l Bağlama Tamponu A,
vortekslendi.

5. Tüplerin tüm içeriği ependorf filtresine aktarıldı, 1 dakika inkübasyona bırakıldı ve 12,000 rpm' de 2 dakika santrifüj edildi.



2 dakika 12.000 rpm

6. Kolonlar yeni toplama tüplerine yerleştirildi ve üzerlerine 550 μ l yıkama tamponu çözeltisi (Wash Buffer 1) konulup 12,000 rpm' de 1 dakika santrifüj edildi.



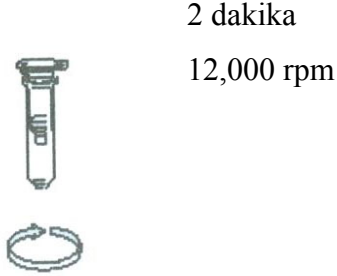
+ 550 μ l Wash Buffer 1
1 dakika 12,000 rpm

7. Santrifüj sonrası kolonlar tekrardan yeni toplama tüplerine aktarıldı ve üzerlerine 550 μ l yıkama tamponu çözeltisi (Wash Buffer II) eklenip 12,000 rpm' de 1 dakika santrifüj edildi.

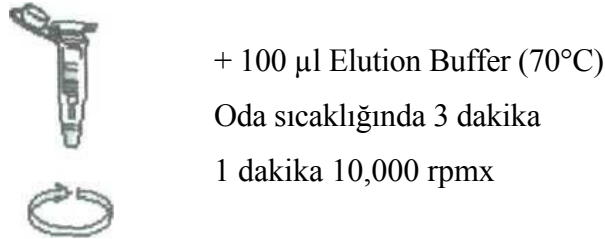


+ 550 μ l Wash Buffer
1 dakika 12,000 rpm

8. Kolonlar son kez temiz toplama tüplerine konuldu ve 12,000 rpm' de 2 dakika santrifüj edildi.



9. En son olarak kolonlar steril 1,5 ml 'lik mikrosantrifüj tüplerine konuldu ve üzerlerine 70 °C 'de ısıtılmış Elution Buffer D çözeltisinden 100 µl eklendi, oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildikten sonra 10,000 rpm' de 1 dakika santrifüj edildi.



1. İzole edilen DNA örnekleri -80 °C' de saklandı.
2. Hazır olan DNA örnekleri çalışması yapılacak test öncesi eritildi ve PCR için hazırlandı.

3.4.2. ABCC8 Ekson 16, Ekson 18 Gen Bölgelerinin PCR'(Polimeraz Zincir Reaksiyonu) İle Çoğaltılması

Taq polimeraz varlığında PCR'ı yapılacak DNA hedef bölgesinin laboratuvar ortamında hazırlanmış primerleri ile amplifikasyon, denatürasyon, primer bağlanma (annealing), sentez ve son sentez sıcaklığı döngüleri kullanılarak çoğaltılması prensibine dayanır.

ABCC8 ekzonlarının primer dizileri;

Ekzon 16 F: 5'- GGTAATGGTTGTTTCAGACTCCCC -3'

R: 5'- TGAACACAGAGTGGG CCCTC- 3'

Ekzon 18 F: 5'- AGGCTTCCCCAAGATGGG - 3'

R: 5'- GCAGGGTGATGTGGCTCC - 3'

Çözeltilerin hazırlanması:

10x Taq DNA tamponu: 100 mM Tris (pH 9), 500 mM KCl, % 1 Triton X-100

Deneyin Yapılışı:

PCR için karışım içeriği;

Madde	Hacim (µl)
Taq DNA Tamponu (10x)	5
MgCl ₂	2,5
dNTP	2
Forward primer (Ekson 16 veya 18)	2
Reverse primer (Ekson 16 veya 18)	2
Taq DNA polimeraz	0,5
ddH ₂ O	26,5
DMSO	5
Kalıp DNA	10

PCR sıcaklık ve süreleri

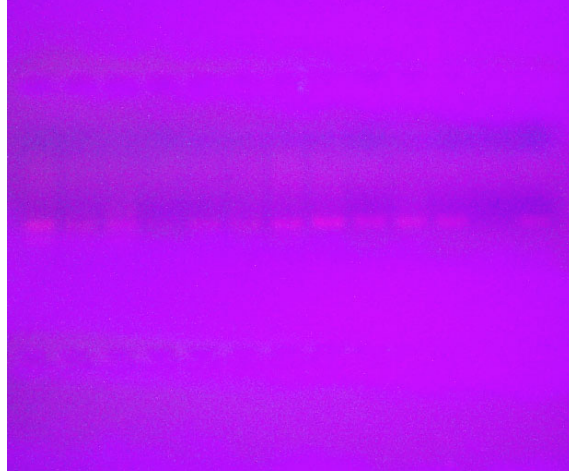
İşlem	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)
Ön denatürasyon	95	5
Denatürasyon	95	1
Yapışma (Annealing)	61	1
Uzama (extention)	72	1
	Denatürasyon uzama arası 35 tekrar	
Tamamlanma	72	7
Saklama	4	∞

3.4.3. PCR Ürünlerinin Elektroforezi

PCR ürünleri, % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edildi.

Çözeltilerin hazırlanması:

TBE (Tris-Borikasit-EDTA) Tamponu (pH 8): 27 g Tris, 13,75 g borik asit ve 10 ml 0,5 M Na₂.EDTA, 200 ml deiyonize suda çözüldü. pH 8'e ayarlandı ve deiyonize su ile 250 ml'ye tamamlandı. 10xTBE hazırlanmış oldu. Deney esnasında 1xTBE olacak şekilde seyreltilerek kullanıldı.



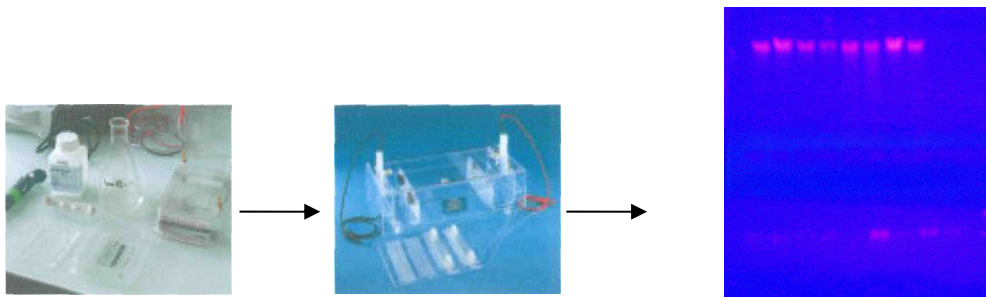
Şekil 14. Agaroz Jel elektroforez görünümü

Yükleme Tamponu (Denatüre Edici Olmayan) (pH 8) : % 50 sukroz, % 0,1 bromfenol mavisi, % 0,1 ksilen siyanol, 50 mM Na₂.EDTA.

Etidyum Bromür: 10 mg/ml olacak şekilde ana çözelti olarak hazırlanır. %3'lük agaroz içindeki konsantrasyonu 0,5 mg/ml olacak şekilde seyreltilir.

Deneyin Yapılışı:

2 g agaroz, 100ml 1xTBE ile karıştırılıp iyice kaynatılır. Üzerine 3 µl etidyum bromür eklenir ve soğutulur. 5 µl PCR ürünü 1 µl yüklem tamponu ile karıştırılarak hazırlanan jele yüklenir. 200 wt'ta 15 dakika yürütülür ve transmülatörde bakılır. Bant görünen ürünler ile çalışmaya devam edilir. Görünmeyen ürünler yeniden PCR yapılır.



Elektroforez sonrası jel görüntüsü

3.4.4. Saflaştırma

Elde bulunan hazır pürifikasyon kitleri ile PCR ürünü pürifiye edildi. (Invisorb Spin PCRapid Kiti) -Invitex kullanıldı;

1- PCR ürünü üzerine 130 μ L tampon P eklenerek tüp içeriği ependorf filtresi tüpüne aktarıldı ve oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.

2- 10 000 rpm.de 30 saniye santrifüj edildi.



30 saniye 10 000 rpm

3-Kolonlar temiz alt tüplere aktarılır. Üzerine 700 μ L yıkama tamponu eklendi ve 10 000 rpm.de 30 saniye santrifüj edildi.



30 saniye 10 000 rpm

4- Filtrat atıldı kolonlar temiz alt tüplere aktarıldı , yıkama tamponundaki kolon etanolü gidermek için 3 dakika maksimum hızda (12 000-14 000 rpm.) santrifüj edildi.



30 saniye 12 000-14 000 rpm

5- En son olarak kolonlar steril 1,5 ml 'lik mikrosantrifüj tüplerine konuldu ve üzerlerine Elüsyon tamponu çözeltisinden 30 μ l eklendi, oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildikten sonra 10 000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.



1 dakika 10 000 rpm

NOT: Pürifiye edilen ürünlerin aynı gün içinde Cycle Sequencing'e konulması için gayret edildi .Ürünler bekletilecek ise en fazla 24 saat -20°C de saklandı.

3.4.5. Saflaştırma Sonrası Elektroforez

Saflaştırma sonrası ürünleri kontrol etmek amacıyla saflaştırılmış ürünlere % 2 lik agaroz jel hazırlanarak görüntü alınır.

Çözeltilerin hazırlanması ve deneyin yapılışı: 3.4.3.'deki belirtildiği üzere aynı çözeltiler hazırlanır ve aynı şekilde deney yapılır.

3.4.6. Dizi Döngüsü

The BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit kullanılarak PCR yapıldı.

Kit içeriği:

- Hazır reaksiyon karışımı
- pGEM -3Zf(+) çift zincirli DNA
- 21 M13 Kontrol Primeri(İleri)

Deneyin Yapılışı:

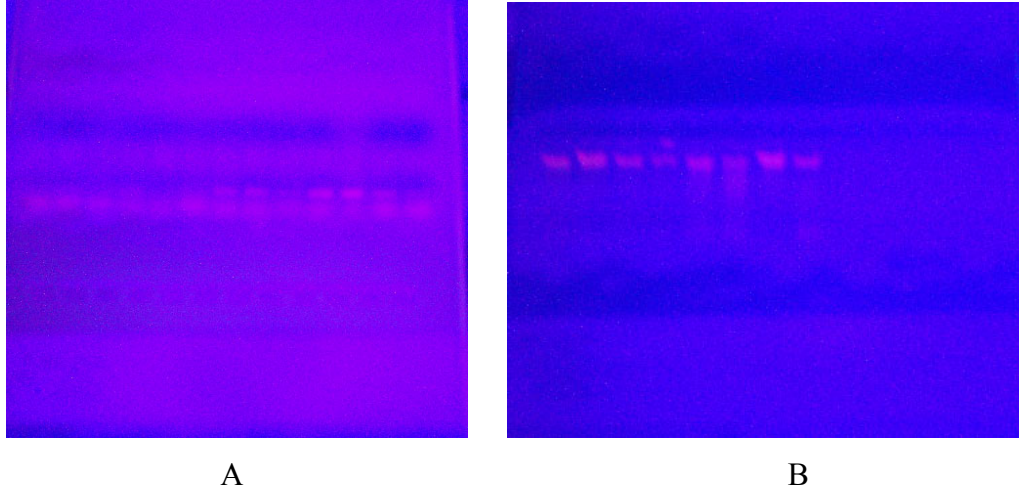
PCR sonrası dizi döngüsü hazırlanırken sadece kitin içindeki hazır reaksiyon karışımı alınarak yapıldı.

1-Kit yeni açıldığında veya örneklerin yürütülmesinde herhangi bir problem olduğunda cihazı, kiti, PCR ve kendimizi kontrol etmek amacıyla pGEM kontrol örneği hazırlandı.

PCR metod kontrol çalışması;

Hazır reaksiyon karışımı	8	μL
pGEM -3Zf(+) çift zincirli DNA	4	μL
-21 M13 Kontrol Primeri (İleri)	4	μL
ddH ₂ O	4	μL
Toplam Hacim	20	μL

2-Jelde bantlarını gördüğümüz saflaştırılmış ürünler hazır reaksiyon karışımı ile karıştırılarak dizi analizine hazırlandı (Şekil 15 A).



Şekil 15. A) PCR sonrası elektroforez jel görüntüsü. B). Saflaştırma sonrası elektroforez jel görüntüsü

Sekans analizi çalışması

Hazır reaksiyon karışımı	8	µL
Primer *- Ekzon 16	0,5	µL
Primer *- Ekzon 18		
Kalıp** (2-6 µl)	...	µL
ddH ₂ O**	...	µL
Toplam Hacim	20	µl

* primerler hem forward hem de reverse olarak iki yönde de ayrı ayrı çalışıldı.

** Elektroforez jelinde bantların parlaklığına göre bakılarak 2-6 µl arasında kalıp ilave edilir. ddH₂O miktarı ise toplam hacim 20 µl olacak şekilde ayarlanır.

3- Dizi döngüsü esnasında PCR aşamasında kullanılan İleri ve geri primerler ayrı ayrı kullanılarak dizileme için hazırlandı. Her iki primer de kullanılacak ise ileri primer ile ayrı karışım, geri primer ile ayrı karışım hazırlandı ve dizi döngüsüne koyuldu.

4- Döngü sıcaklıkları ve süreleri

<i>İşlem</i>	<i>Sıcaklık (°C)</i>	<i>Süre (saniye)</i>
Denatürasyon	96	10
Yapışma (Annealing)	50	5
Uzama (extention)	60	240
Denatürasyon, yapışma ve uzama 25 tekrar		
Saklama	4	∞

5- Dizi döngüsü sonrası ürün artıklardan temizlemek için yeniden saflaştırma işlemine tabii tutuldu. Bu aşama kit ile değil elle yapılan yöntemlerden biri olan Sodyum asetat (NaAc) ile yapıldı.

3.4.7. NaAc ile Saflaştırma

1- Elimizdeki PCR ürünü üzerine 2 µl 3mM pH:4,6 olan NaAc (Sodyum asetat)'dan eklendi.

2- Üzerine 50 µl %95'lik etanol eklendi.

3- Karışım 1,5'lik ependorf tüpüne aktarıldı, hafifçe elle vurularak karıştırıldı. Saflaştırmanın hiçbir aşamasında voteks kullanılmadı.

4- Buz üzerinde 15 dakika dinlenmeye bırakıldı.

5- Süre sonunda hiç bekletilmeden 13 000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi.

6- Üst sıvı çekildi ve üzerine 250 µl % 70'lik etanol eklendi ve yine elle hafifçe karıştırıldı.

7- 13 000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi

8- Üst sıvı tamamen atıldı ve kurumaya bırakıldı. Kurutma işlemi tüpü oda ısısında bırakarak yapıldı.

9- Liyofilize edilen DNA'lar saklanması halinde -20 °C'de 1 hafta süreyi aşmamaya gayret gösterildi.

10- İyice kuruyan örnekler üzerine 20 µL formamid eklenerek vortekslendi.

11- 95 °C de 5 dakika denatürasyon yapıldı ve hemen buza alındı 1-2 dakika buz üzerinde soğutulan örnekler dizi analizi için cihaza yüklemeye hazır hale getirildi.

3.4.8. DNA Dizi Analizi

Applied Biosystem Perkin Elmer Marka ABI 310 genetik analizörü kullanılarak DNA bazı dizi analizi yapıldı. Kapiller elektroforezin ardından software ortamında elektroferogram verileri ile elde edilen diziler standart ekzon dizileri ile karşılaştırılarak mutasyon taraması yapıldı.

3.4.9. DNA Dizi Uyum Analizi

Her bir ekson için kullanılan primerlere ait referans dizi web ortamında <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/> adresinde tarama yapılarak aşağıdaki gibi çıkarıldı. Dizi analizi yapılan örnekler ile bu referans dizi arasındaki moleküler değişim analizleri MEGA version 3.1 (Kumar, Tamura, Nei 2004) kullanılarak yapıldı (40, 41).

Bu analizler yapılırken ve değerlendirilirken uluslar arası genetik kod tablosu kodon aminoasit dönüşümü için, amino asit  harf, tek harf kısaltmaları ve IUB kodları için referans olarak kullanıldı.

İstatistik Analiz

Çalışma parametrelerinin metabolik sendromlu ve sağlıklı bireylerde ölçülen değerlerinin aritmetik ortalamaları, standart sapmaları ve diğer istatistiksel analizleri SPSS for Windows release 11.5.0 (6 Sep 2002) programı kullanılarak yapıldı.

Tablo 7. HSSUR1 ekson 16 ve ekson 18 için referans dizi, ulaşım (accession) numarası ve kodlayan baz dizilimi ile karşılık gelen amino asit dizisi.

Tanımlama	Accession	Dizi	Amino Asit
Human sulfonyleurea receptor (SUR1) gene, exon 16.	U63437	<p>ttgggtgcattctgtctgtctgtctttctgggtaatggtgttcag actccccggccccactcacatctgccaccctccctccctg caggccagctgactatgacgtggggcaggtgggctgcg gcaagctctcgctccttctagccgactgggggagatgca gaaggtctcaggggctgtcttctggagcaggaatacatgt atcctcagggcccagtgaggggaaatctcctttaacat cctcctcagttgaggatgcacacacatttattggaggccc cactctgtctcagtgaggactcaataatgctgctaattgat attctcatcatcactagtagtattcacctcttactatgcg caggtctttgcaagt</p>	QLTMIVGQVCGKSSLLAALGEMQKVSGAVFWS
Homo sapiens sulfonyleurea receptor (SUR1) gene, exon 18.	L78225	<p>accacgtggtcaggcagcagaggctccccaagatggg cacacccactctccacacctctatgcagcattgtggt acagactgggtccagggattgtaaaggcatgctcatgtg ggtggaggagctcaggatcttctggaggataggttca ctccatgagagctcagtagccttctccctgctgcagc ccagagcgggagacagcaccgactggatatcaggact gcgtcctgggaacattgccccaggtcaactccctccag ggtgctctcaccacaaggagccacatcacctgctgggc agccccagaccccagcccagttgggggaggacca gggaggg</p>	PERETATDLDI

Baz dizilerinde mavi ile gösterilen bölge primer dizilerine ait, kırmızı ile gösterilen bölgeler ise eksonda anlamlı diziyi göstermektedir.

4. BULGULAR

Hasta ve kontrol grubuna ait serum glukoz, total kolesterol (TK), trigliserit (TG), yüksek dansiteli Lipoprotein - Kolesterol (HDL-K), düşük dansiteli Lipoprotein - Kolesterol (LDL-K), sistolik kan basıncı (SKB), diastolik kan basıncı (DKB) ve bel çevresi değerleri metabolik sendromlu bireyleri sağlıklı kontrol grubu bireylerden ayırt etmek için kullanıldı. Metabolik sendromlu hastalar ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında cinsiyet hariç bu parametrelerin hepsi anlamlı düzeyde farklıydı . (Tablo 8)

Tablo 8. Metabolik Sendromlu hasta ve kontrol grubunda parametreler

	Kontrol n=43	Hasta n=58	P
Cinsiyet K/E	24/19	32/26	
Yaş	43 ± 12 (22-75)	51 ± 14 (21-80)	0,003*
Glukoz (mg/dL)	82 ± 9 (66-105)	131 ± 60 (64-345)	0,001*
TK (mg/dL)	173±17 (140-210)	196±50 (104-297)	0,001*
TG (mg/dL)	85 ± 29 (37-155)	241 ± 99 (79-506)	0,001**
HDL (mg/dL)	60 ± 12 (40-99)	41 ± 8 (28-70)	0,001*
LDL(mg/dL)	107 ± 20 (26-141)	133 ± 43 (60-222)	0,001*
SKB (mmHg)	115 ± 12 (90-140)	149 ± 22 (110-200)	0,001*
DKB (mmHg)	75±11 (50-100)	89 ± 12 (60-120)	0,001*
Bel Çevresi (cm)	84 ± 11 (66-104)	106 ± 16 (50-165)	0,001*

(*Student – t, ** mann-whitney-u)

Sağlıklı kontrol grubu ile metabolik sendromlu bireylerde kadın ve erkeklerde ayırt edici kriterlerin ortalama değerleri, minimum ve maximum değerleri ile standart sapmaları tabloda verilmiştir.

Tablo 9. Metabolik sendromlu (hasta) ve sağlıklı bireylerde (kontrol) parametrelerin cinsiyete göre dağılımı

Parametreler	Kontrol		p	Hasta		p
	X±SD (min-max)			X±SD (min-max)		
	Kadın n=24	Erkek n=19		Kadın n=32	Erkek n=26	
Yaş	40±11 (22-75)	45±13 (29-75)	A.D **	51±15 (21-80)	51±14 (29-77)	A.D **
Glukoz (mg/dL)	82±10 (60-105)	83±8 (69-96)	A.D **	135±68 (64-345)	127±50 (68-280)	A.D **
TK (mg/dL)	172±17 (140-201)	174±17 (145-210)	A.D*	198±50 (104-294)	192±50 (103-297)	A.D **
TG(mg/dL)	74±23 (37-135)	99±30 (59-155)	A.D *	253±101 (79-457)	227±96 (91-506)	A.D **
HDL-K (mg/dL)	65±11 (52-99)	54±10 (140-73)	0,001 *	44±8 (30-67)	39±9 (28-70)	0,019 *
LDL-K (mg/dL)	103±23 (26-134)	113±16 (72-141)	A.D *	136±43 (61-222)	130±44 (62-110)	A.D **
SKB (mmHg)	113±10 (100-130)	119±14 (90-140)	A.D **	147±22 (110-200)	150±22 (110-200)	A.D **
DKB (mmHg)	74±10 (50-90)	77±11 (60-100)	A.D **	87±12 (70-120)	92±12 (60-110)	0,033 **
Bel Çevresi (cm)	79±8 (66-95)	89±12 (68-104)	0,003 *	103±13 (75-130)	109±20 (50-165)	0,015 **

(* student – t, ** mann withney-u) A.D: Anlamli değil

Bu çalışmada metabolik sendromlu ve sağlıklı kişilerden izole edilen DNA örneklerinde SNP analizi ile (sekans analizi) bulunan (sağlıklı kişilerde SUR1 ekson 16 ve ekson 18'in normal dizi analizi örnekleri Şekil 17, 18'de verilmiştir. Polimorfizmlerin özellikleri aşağıdaki Tablo 16'da verilmiştir. χ^2 testlerinde 1 polimorfizm değeri bir üst gruba aktarılmıştır.

Tablo 10. HSSUR1 Exon 16 ve Exon 18 için tespit edilen polimorfizmlerin lokasyon, kodon, nükleotid değişimi ve amino asit değişimleri.

Lokasyon	Kodon	Nükleotid Değişimi	Amino Asit Değişimi
HSSUR1 Exon 16	723	CTT→TTT	Leu→Phe
HSSUR1 Exon 18	759	ACC→ACT	Thr→Thr
	759	ACC→AGC	Thr→Ser
	760	GAC→GAG	Asp→Glu
	761	TTG→GTG	Leu→Val

Bu polimorfizmlerin genotip ve allel frekansları Tablo 11 - 14' de verilmiştir.

Tablo 11. HSSUR1 Exon 16 kodon 723 CTT→TTT polimorfizminin genotip ve allel frekansları

	Kontrol	Metabolik Sendrom	χ^2	P
n	48	53		
Genotip				
C/C	48(1.00)	36 (0.68)	44.446, df=1	0.001
C/T	0	16 (0.30)		
T/T	0	1 (0.02)		
Allel				
C	96(1.00)	88 (0.92)		
T	0	18 (0.08)		

Tablo 12. HSSUR1 exon 18 kodon 759 ACC→ACT polimorfizminin genotip ve allel frekansları

	Kontrol	Metabolik Sendrom	χ^2	P
N	48	53		
Genotip				
C/C	47(0.98)	51 (0.96)	89.356, df=1	0.001
C/T	1(0.02)	2 (0.04)		
T/T	0	0		
Allel				
C	95	104		
T	1	2		

HSSUR1 exon 18 kodon 759 ACC→AGC değişimi hasta grubunda yalnız bir kişide gözlemlendi.

Tablo 13. HSSUR1 exon 18 kodon 760 GAC→GAG polimorfizminin genotip ve allel frekansları

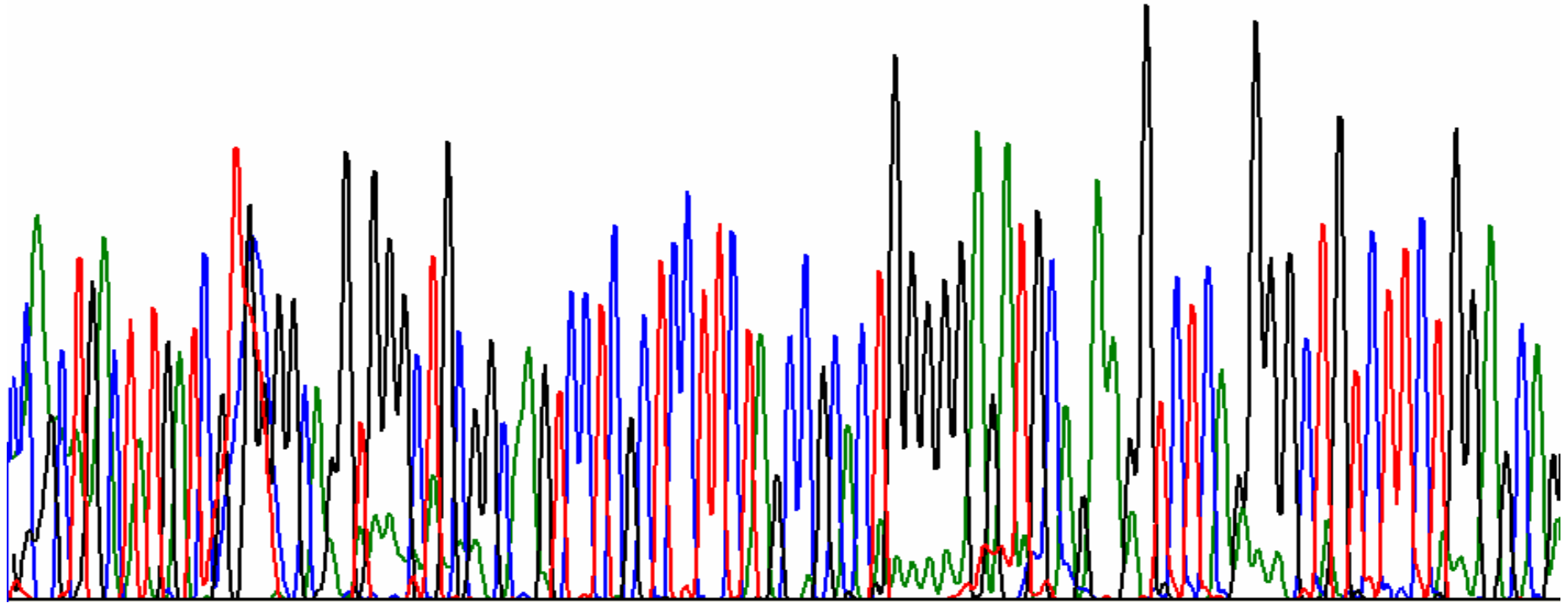
	Kontrol	Metabolik Sendrom	χ^2	P
n	48	53		
Genotip				
C/C	48 (1.0)	40 (0.75)		
C/G	0	13 (0.25)		
G/G	0	0	55.693, df=1	0.001
Allel				
C	96	93		
G	0	13		

Tablo 14. HSSUR1 exon 18 kodon 761 TTG→GTG polimorfizminin genotip ve allel frekansları

	Kontrol	Metabolik Sendrom	χ^2	P
n	48	53		
Genotip				
T/T	48 (1.0)	49 (0.93)		
T/G	0	1 (0.02)		
G/G	0	3 (0.05)	178.772, df=1	0.001
Allel				
T	96	99		
G	0	7		

Tablolardan görüldüğü gibi, sağlıklı kontrol grubunda sadece bir adet polimorfizm (ekson 18, T759T) görülürken SUR1 geninin ekson 16 kodon 723, ekson18 759, 760 ve 761. kodonlardaki polimorfizmler metabolik sendromla ilişkili bulunmuştur. Bu polimorfizmlerden 32 tanesi heterozigot (18 adet C/T, 13 adet C/G ve 1 adet T/G) iken sadece 4 tanesi homozigot (1 adet T/T, 3 adet G/G) tur. Örnek sonuç çıktıları Şekil 19-25 de verilmiştir.

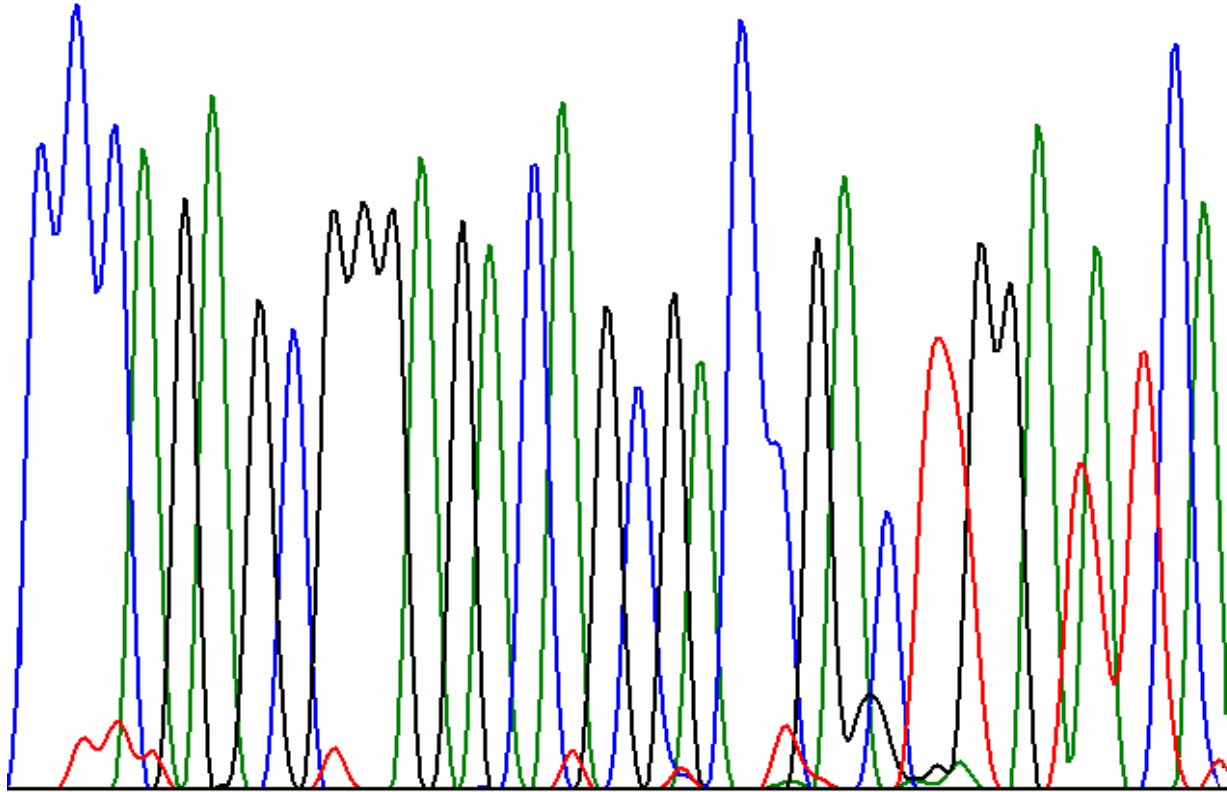
Q L T M I V G Q V G C G K S S L L L A A L G E M Q K V S G A V F W S
CCAGC TGACTATGATCGTCGGCCAGGTGGGCTGCGGCAAGTCCTCGCTCCTTCTAGCCGCACTGGGGGAGATGCAGAAAGGTCTCAGGGGCTGTCTTCTGGAGCAG
2120 2224



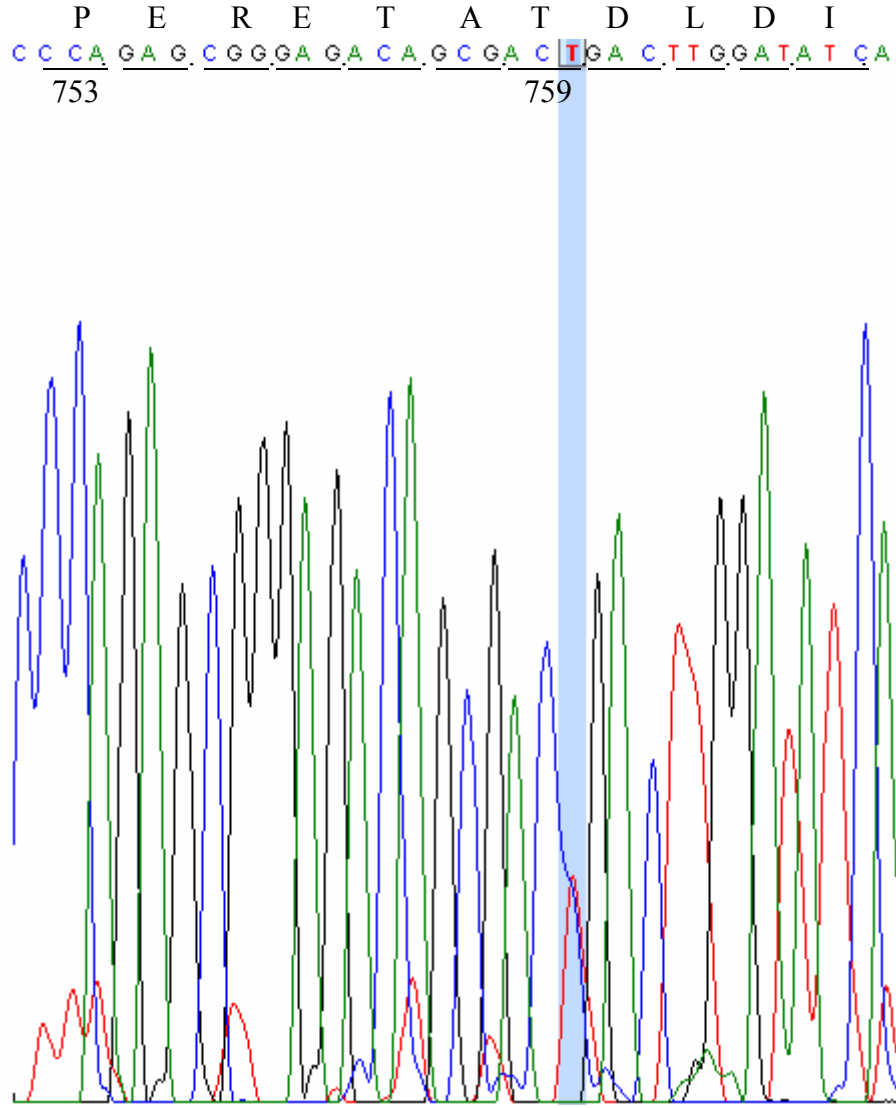
Şekil 17. HSSUR116 referans diziye uyan kontrol grubu elektrofrogam örneği nükleotit dizisi kodon sırası

HSSUR118

P E R E T A T D L D I
C C C A G A G C G G G A G A C A G C G A C C G A C T T G G A T A T C A
2256 753 759 2290

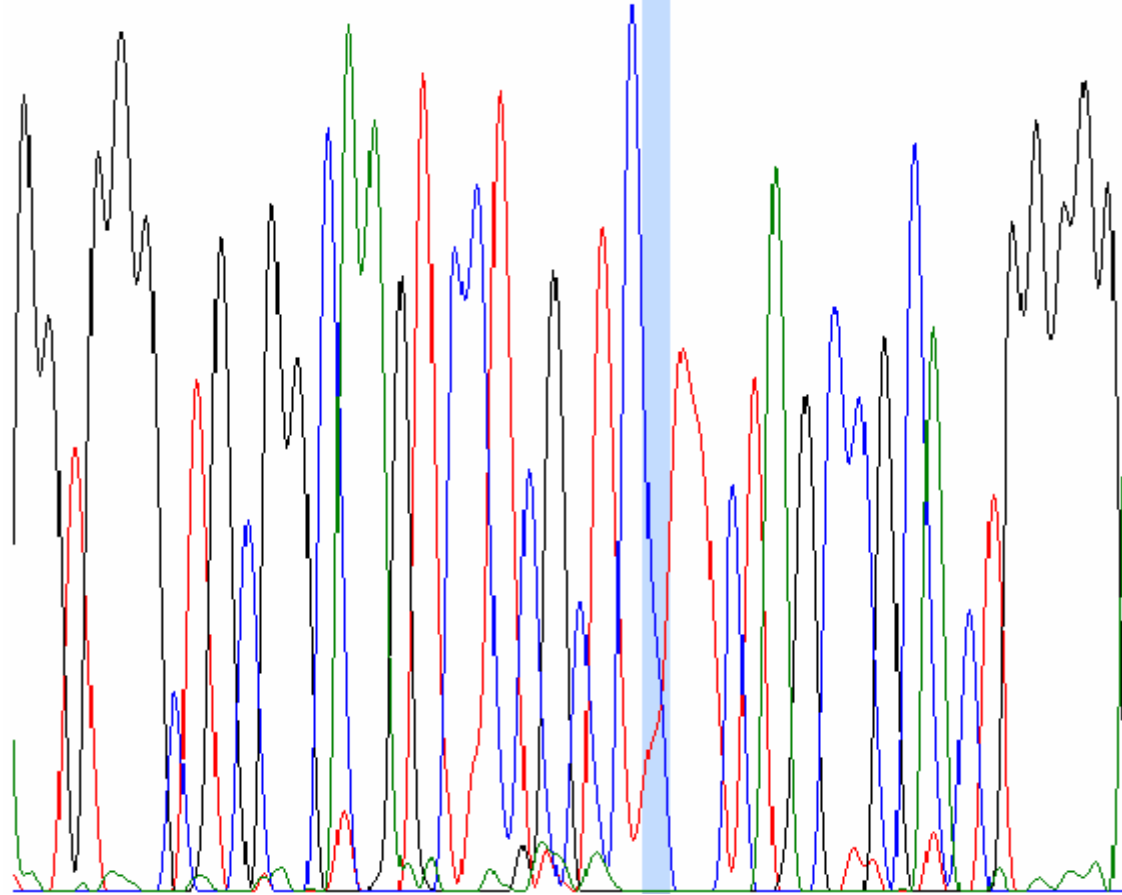


Şekil 18. HSSUR118 referans diziye uyan kontrol grubu elektroforam örneği nükleotit dizisi kodon sırası

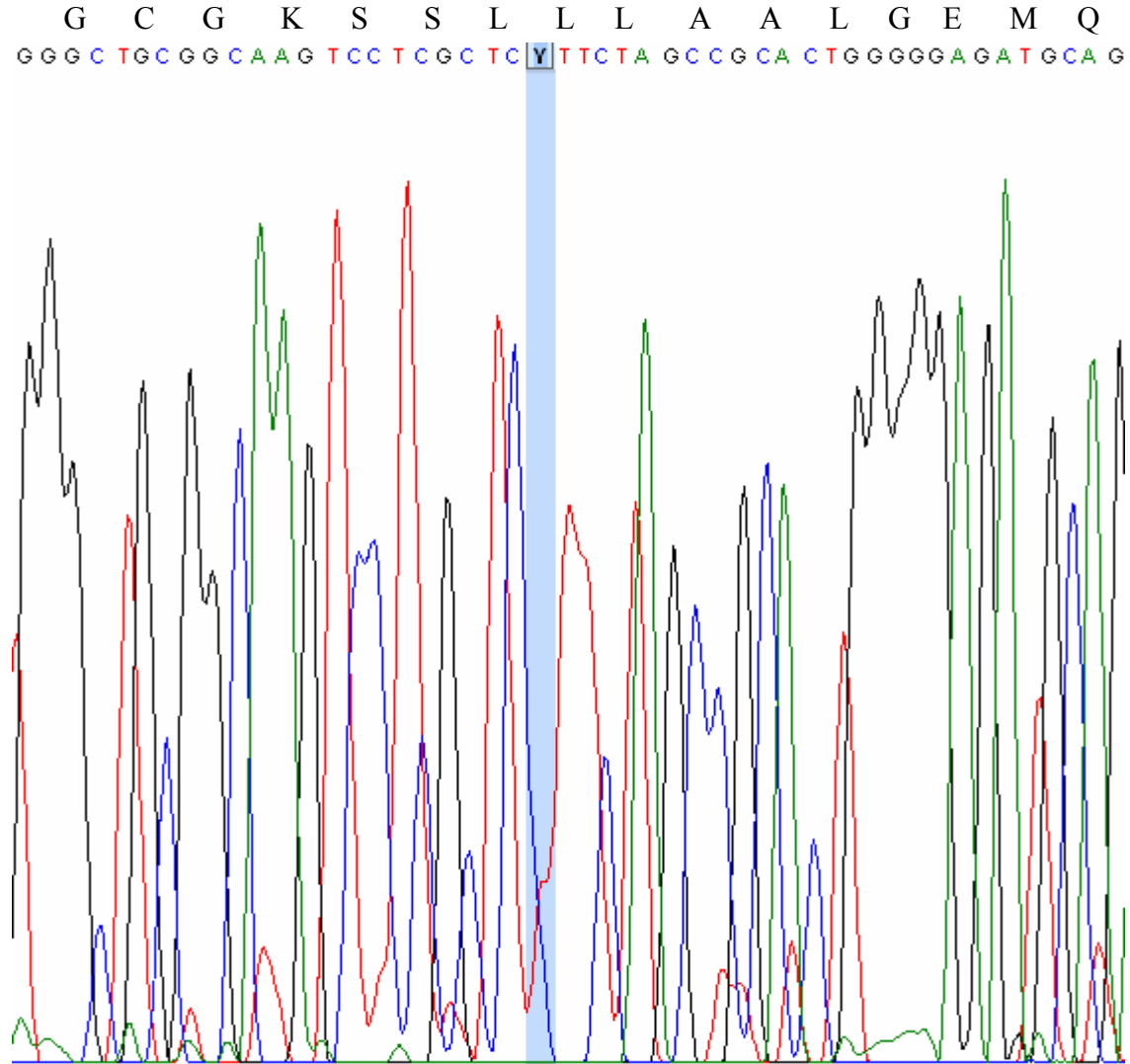


Şekil 19. HSSUR118 759. kodon heterozigot c→t (ACC-ACT) polimorfizmi
N.B.(45Y) kadın

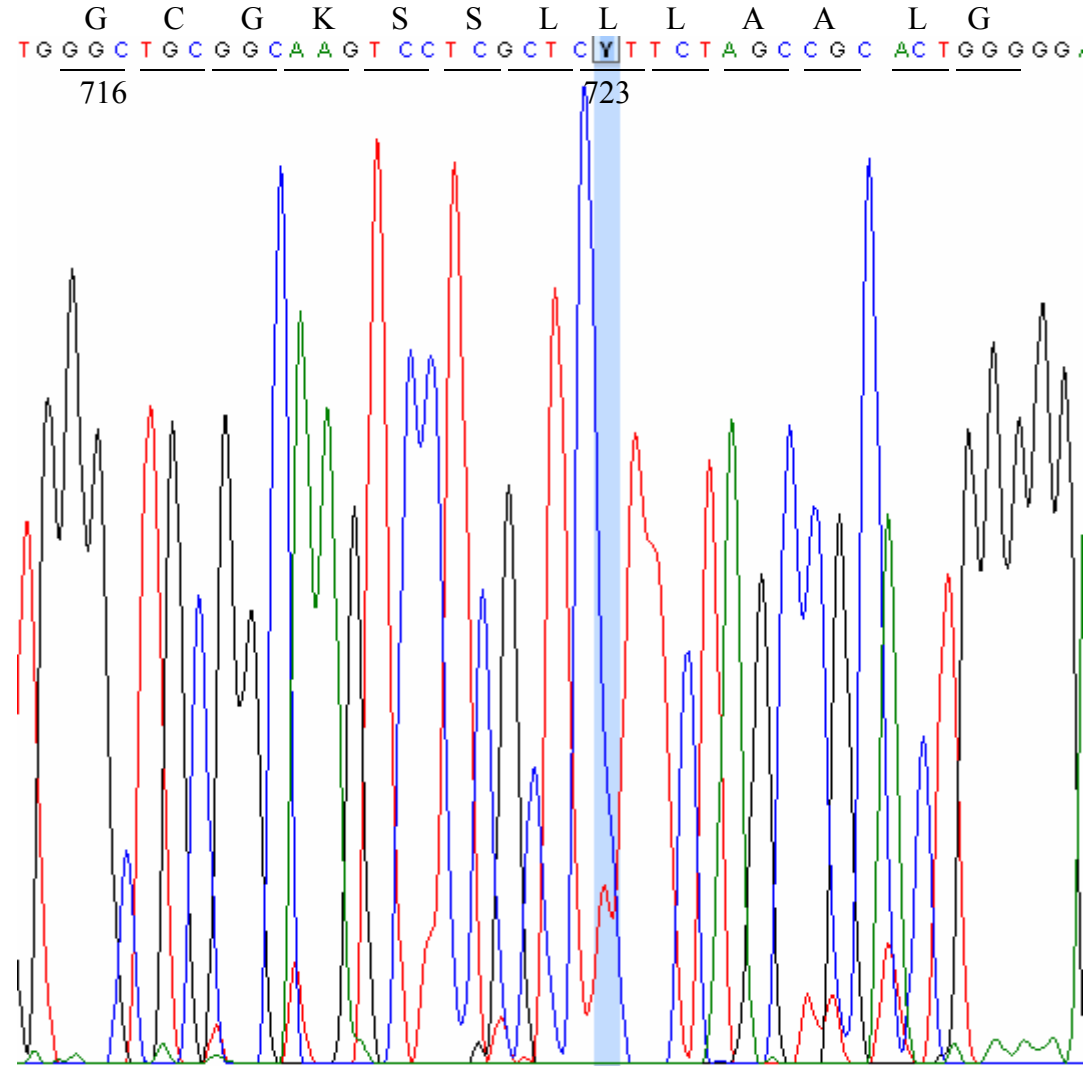
V G C G K S S L L L A A L G
GGTGGGCTGCGGCAAGTTCCTCGCTCCTTCTAGCCGCACTGGGGG
716 723



Şekil 20. Metabolik sendromlu HSSUR116 723. kodon C/T (Y) polimorfizmi. F.Y (76 Y) kadın

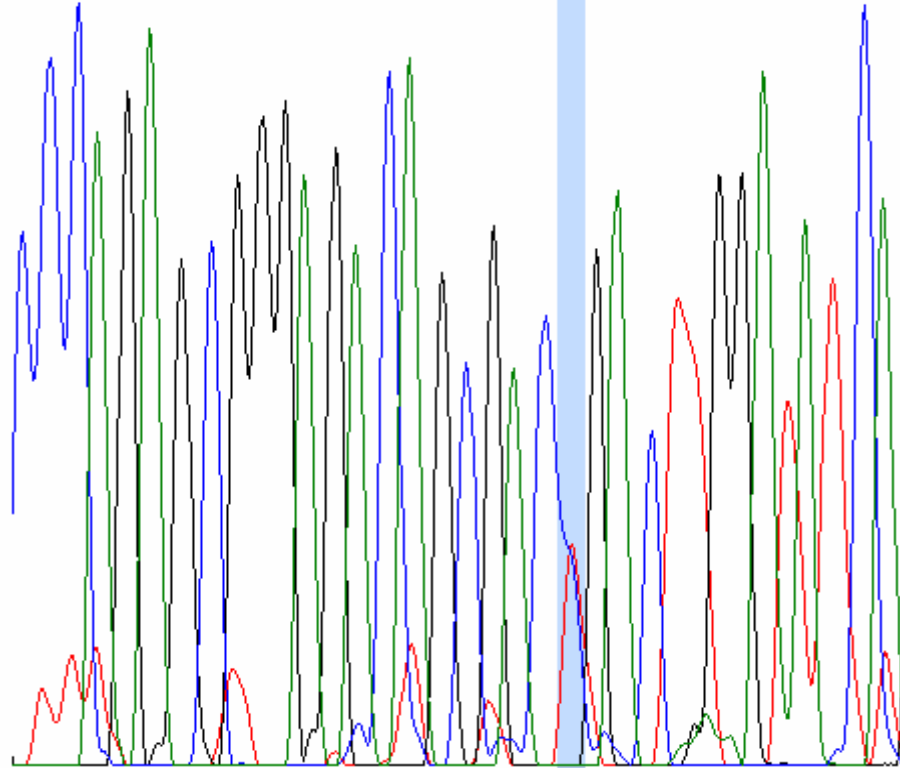


Şekil 21. Metabolik sendromlu SUR116 723. kodon C/T (Y) polimorfizmi S. G. (27 Y) kadın



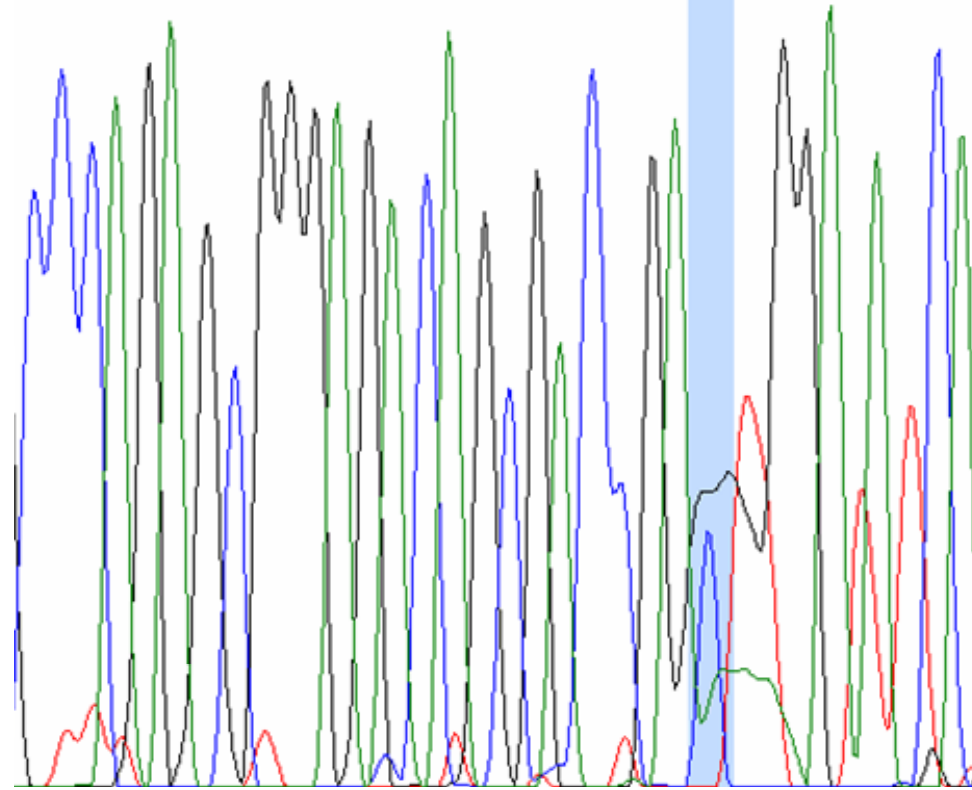
Şekil 22 Metabolik sendromlu SUR116 723. kodon C/T (Y) polimorfizmi F.A. (31Y) kadın

P E R E T A T D L D I
C C C A G A G C G G G A G A C A G C G A C T G A C T T G G A T A T C A



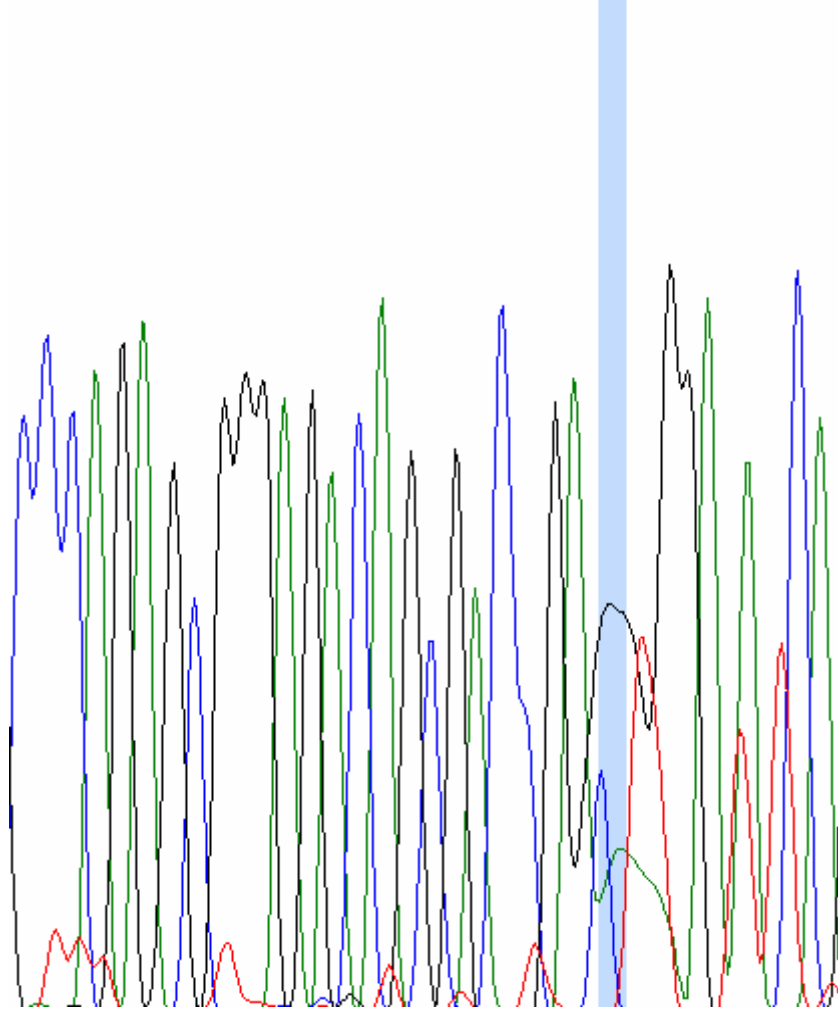
Şekil 23. HSSUR118 759. kodon heterozigot c→t (ACC-ACT) polimorfizmi N.B.(45Y) kadın

P E R E T A T D V D I
C C C A G A G C G G G A G A C A G C G A C C G A S G T G G A T A T C A



Şekil 24. HSSUR118 760. kodon G/C, 761. kodon t→g L761V polimorfizmi İ.B. (60Y) erkek

P E R E T A T D V D I
C C C A G A G C G G G A G A C A G C G A C C G A C G T G G A T A T C A C



Şekil 25. HSSUR118 761. kodon t→g (TTG-GTG) L761V polimorfizmi K.B. (58Y) kadın

Metabolik sendrom grubunda yer alan bireylerin allellerine göre çalışma parametreleri ve karşılaştırmaları Tablo 15’de verilmiştir.

Tablo 15. SUR1 geninin ekson 16 723. kodon da C/C ve C/T allellerine göre çalışma parametrelerinin ortalamaları.

SUR1 ekson 16 kodon 723	Allel	
	C/C n = 36	C/T n =17
Glukoz (mg/dL)	130.7 ± 67.6	132.1 ± 38.7
HDL-K(mg/dL)	42.1 ± 8.1	40.6 ± 10.2
TK (mg/dL)	192.6 ± 45.0	213.8 ± 54.4
TG (mg/dL)	255.3 ± 164.9	253.9 ± 98.7
LDL-K (mg/dL)	133.4 ± 40.2	142.2 ± 44.5
SKB (mmHg)	147.6 ± 21.9	150.0 ± 22.9
DKB (mmHg)	88.3 ± 11.0	90.9 ± 14.2
BEL ÇEVRESİ (cm)	105.2 ± 19.0	105.9 ± 10.9

Tablodaki parametrelerin istatistiksel karşılaştırmasında gerek student-t testi gerekse mann withney-u testinde (glukoz ve trigliserit için) anlamlılık bulunmamakla birlikte, ekson 16 da 723. kodonda C/T alleleline sahip olanların daha yüksek total kolesterol, LDL-K, SKB, DKB ve daha düşük HDL-K düzeyleri olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 16’da Metabolik sendromlu bireylerin ekson 18 760. kodonda C/C ve C/G allellerine göre çalışma parametreleri ve karşılaştırmaları verilmiştir.

Tablo 16. SUR1 geninin ekson 18 760. kodon da C/C ve C/G allellerine göre çalışma parametrelerinin ortalamaları.

SUR1 ekson 18 kodon 760	Allel	
	C/C n = 40	C/G n =13
Glukoz (mg/dL)	136.0 ± 64.0	116.1 ± 41.1
HDL-K(mg/dL)	41.9 ± 8.2	41.0 ± 10.6
TK (mg/dL)	201.7 ± 47.0	192.3 ± 55.2
TG (mg/dL)	260.6 ± 158.9	237.4 ± 98.8
LDL-K (mg/dL)	140.5 ± 41.6	122.9 ± 9.2
SKB (mmHg)	148.4 ± 21.4	148.5 ± 24.8
DKB (mmHg)	88.6 ± 10.9	90.8 ± 15.5
BEL ÇEVRESİ (cm)	106.0 ± 18.3	103.8 ± 11.3

Tablodaki parametrelerin istatistiksel karşılaştırmasında gerek student-t testi gerekse mann withney-u testinde (glukoz ve trigliserit için) anlamlılık bulunmamakla birlikte, ekson 18 de 760. kodonda C/G alleleline sahip olanların daha düşük glukoz, total kolesterol, trigliserit, LDL-K ve Bel çevresi değerleri olduğu anlaşılmaktadır.

5. TARTIŞMA

Metabolik sendrom bir biri ile çok yakından ilişkili bir grup atherosklerotik kardiyovasküler hastalık risk faktörlerinin bir arada olduğu, genetik ve çevresel faktörlerin hastalık riskini doğrudan etkileyebildiği ve patofizyolojisinde insülin direncinin merkezi bir rol oynadığı kompleks bir sendromdur. (9)

Metabolik Sendrom ile ilgili Trabzon ve çevresinde KTÜ Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim dalı Endokrinoloji Bilim Dalı ve Biyokimya Anabilim dalının ortaklaşa yürüttükleri Metabolik Sendrom prevalansı ve ilişkili faktörler çalışmasının bir alt grup çalışması olarak metabolik sendrom genetiğine yönelik bu çalışma planlandı. Adı geçen projede metabolik sendrom prevalansı Trabzon ve çevresinde taranan 2601 kadın (% 54.1) ve 2208 erkek (% 45.9) olmak üzere toplam 4809 kişi dahil edilmiştir (42). Projenin bir diğer çalışmasında metabolik sendrom oksidatif stres parametreleri ile (okside LDL, okside LDL'ye karşı antikolar, total lipid peroksidleri ve antioksidatif kapasite) ilişkili bulundu. Metabolik sendromlularda oksidatif stres dolayısı ile lipid oksidasyonunun arttığı, buna karşılık antioksidan sistemin zayıfladığı sonucuna varıldı. (43, 44)

Genellikle diyabet, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar gibi hastalıkların kalıtsal geçişli şekilleri olup olmadığına dair farklı bölgeler ve etnik topluluklar için sonuçların farklı çıkması doğaldır. Çünkü veri sayısı, farklı seçim kriterleri, fenotipik değişkenleri belirlemede kullanılan yöntem farklılıkları, etnik farklılıklar gibi parametrelerin göz önüne alınması gerekir. Örneğin UCP II geni ile ilgili çalışmaları gözden geçirdiğimizde; a) Urhammer ve ark. obez tip 2 diyabet ile ilişki olduğunu, (45) b) Otabe ve ark. normoglisemik tip 2 diyabet ile bir ilişki olmadığını, (46) c) Cassell ve ark. varyant BMR artışı ile ilişkili olduğunu, diyabetle ise ilişkili olmadığını (47) d) Esterbauer ve ark. promotor bölgesindeki polimorfizmin orta yaşlılarda obezite riskini azalttığını, (48) e) Klannemark ve ark. ALA 55 VAL varyantının obezite veya metabolik sendrom ile ilişkili olmadığını (49) ileri sürerken f) Kubota ve ark. (50) ve g) Shiinoki ve ark. (51) diyabetle ilişkinin net olmadığını bildirmişlerdir.

Metabolik Sendrom için aday genler konuyla ilişkisi bakımından şunlar olabilir:

- I. Monogenik obezite genleri (leptin, leptin reseptörü, melanokortin reseptör 4, proopiomelanokortin)
- II. Lipoliz, FFA metabolizmasını regüle eden genler (β adrenerjik reseptörler, yağ asidi bağlayıcı protein- FABP-2, lipazlar-HSL, LPL-, UCP' ler)
- III. İnsülin duyarlılığını etkileyen genler (TNF- α , PPAR- γ , glikoprotein PC-1, IRS' ler, glikojen sentaz)

Metabolik Sendrom genetiği ile en yoğun çalışanlardan Klannemark birinci çalışmasında yukarıda bahsedilen UCP2 yi Metabolik sendrom ile ilişkili bulmamıştır (49). İkinci çalışmasında HSL (hormona sensitif Lipaz) genindeki mikrosatellit markeri 235 diyabetli hastada kontrollere (n=146) göre farklı bulmuştur. Mutasyon taramasında 9. ekzonda bulunan C756T polimorfizminin metabolik sendromlular ile kontrol grubu arasında farklılık göstermediğini kaydetmiştir (52). Üçüncü çalışmasında LPL genindeki Asn291Ser varyantı çalışılmıştır. (192 diyabetli hasta, 226 kontrol). Normoglisemik ser taşıyıcılarının taşıyıcı olmayanlardan üç kat fazla hipertriglisiderolemi olduğunu göstermiştir (53). Dördüncü çalışmasında PPAR- γ Pro12Ala polimorfizmini tip 2 DM riskini azalttığını, ABCC8 genindeki 22. ekzonda C/T varyantı olduğunu ileri sürmüştür (54). Beşinci çalışmasında PDE 3B genindeki ekzon 4 de G1389A polimorfizmi tespit etmiştir (55). Diğer yoğun çalışanlardan biri olan Bosse birinci çalışmasında LDL partikül büyüklüğü heterojenliğini ve bununla ilişkili metabolik sendromlu 707 kişide kromozom 15 de bir kantitatif trait locus bulunduğunu bildirmiştir. İkinci çalışmasında gen fibrozil tedavisine cevap olarak PPAR α L162V polimorfizmi ile modüle edildiğini ileri sürmüştür. Üçüncü çalışmasında PPAR α L162V polimorfizminin adipoziteyi azalttığını bildirmiştir. Dördüncü çalışmasında Quebec aile çalışmasındaki PPAR γ P12A ve PPAR α L162V polimorfizimleri incelenmiştir (56-60). Bu iki araştırmacı metabolik sendrom genetiği ile çalışmalarına rağmen bu çalışmalarda kullandıkları deneklerin tümü tip 2 DM hastalarıdır. Bizim çalışmamızda ise 53 metabolik sendromlunun 22'si (% 42) tip II DM dolayısı ile bizim çalışmamız Metabolik Sendrom için daha bilgi vereceği inancındayız.

Sülfonil Üreler, Pankreas β hücrelerinden eksprese edilen membran reseptörüne (sülfonil üre reseptör tip 1- SUR1-) bağlanarak insülin sekresyonunu uyarırlar (61). SUR1 bir ABC üyesidir (ABCC8 olarak da sınıflandırılır) ve pankreas β hücrelerinin ATP'ye duyarlı K kanalının (K_{ATP}) fonksiyonel bir alt birimidir. K_{ATP} glikozla indüklenmiş insülin sekresyonunda rol aldığından metabolik sendrom ile ilişkili olabileceğini düşündük ve bu çalışmayı planladık.

Bu çalışmada ekson 16 ve ekson 18 deki polimorfizmlerin (SNP'ler) belirlenmesi seçilmiştir. Bu eksonların seçilmesindeki ana etken daha önceki SUR1 geni ile ilgili çalışmalarda (özellikle PHHI hastalarında) en çok bu eksonlarda belirlenmiş olmasıdır.

Literatürde SUR1 varyantları (ABCC8 polimorfizmi) metabolik sendromda çalışılmamıştır. Tip II diyabet ile ilgili ekson 16 ve ekson 18 polimorfizm çalışmaları Tablo 17'de verilmiştir.

Tablo 17. SUR1 ekson 16 ve ekson 18 için tespit edilen SNP'ler ile Tip 2 Diyabet Mellitus ile ilişkisi

Ekson	SNP	İlişki	Kaynak	Yıl
16(nt-3) 18	c→t T759T	- +	T. Hansen (62)	1998
16(nt-3) 18	c→t T759T	+ -	L.M. 't Hart (63)	1999
16(nt-3) 18	c→t T759T	+ -	J. Rissanen (64)	2000
16(nt-3) 18	c→t T759T	- -	A.F.Reis (65)	2000
16(nt-3)	c→t	+ (sülfonilüre veya insülin tedavisi ile ilişkili değil)	M.J. Zychma (66)	2002
16(nt-3) 18	c→t T759T	- -	A.L.Gloyn (67)	2003
16(nt-3) 18	c→t T759T	- -	R. M. Van Dam (68)	2005

Tablo 17'den görüldüğü gibi, ekson 16 için tespit edilen en önemli polimorfizm kodlama bölgesinden önceki 3. nükleotitte görülen SNP dir. Çalışmamızda primer seçimimizden dolayı bu SNP'yi tespit edemedik. Ekson 18 deki T759T polimorfizmi bizim vakalarımızda 2 kişide bulunmuştur. Çalışmamızda tip 2 diyabet mellituslu vaka sayısının az olduğu göz önüne alındığında bu sayının azlığı açıklanabilir.

Çalışmamızda en önemli polimorfizmler ekson 16 daki kodon 723 CTT-TTT polimorfizmi ve ekson 18 deki kodon 760 GAC-GAG polimorfizmleridir. Bu polimorfizmler gerek metabolik sendrom gerekse tip 2 DM için ilk defa gösterilmektedir. Ayrıca ekson 18 kodon 761 deki TTG-GTG polimorfizmide dikkat çekmektedir. 18. ekson için hem 759, hem 760 hem de 761. kodonlarda polimorfizmler bulunması da enteresandır.

Ekson 16 723 kodonundaki polimorfizm vakaları kan glukozlarının düzeylerine göre sınıflandırıldığında C/C polimorfizmi olanlarda 126 mg /dL nin altında düzeyi olanlar 26 kişi, üstünde olanlar 10 kişi iken (oran 2.6); C/T polimorfizmi taşıyanlarda 126 mg /dL nin altında düzeyi olanlar 8 kişi, üstünde olanlar 9 kişidir (oran 0.9). Dolayısı ile bu polimorfizmin kan glukozu regülasyonunda olumsuz rol aldığı speküle edilebilir. 18. ekson 760. kodondaki polimorfizm benzer şekilde sınıflandırıldığında bu oranlar sırası ile 1.3 ve 2.5 bulunmuştur. Yani ekson 16 daki polimorfizmin aksine ekson 18 deki bu polimorfizmin olumlu rolü ileri sürülebilir. Nitekim Tablo 16'da da görülebileceği gibi C/G polimorfizmine sahip olanların C/C olanlara göre daha düşük glukoz, total kolesterol, trigliserit, LDL-K ve bel çevresi değerleri olduğu anlaşılmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Metabolik sendromlu olgularda ABCC8 için ekson 16 ve ekson 18 deki çeşitli polimorfizmler DNA dizi analizi yöntemi ile çalışılmıştır.
2. Ekson 16 kodon 723 de CTT-TTT polimorfizmi kontrol grubunda bulunamazken metabolik sendromlu 17 kişide tespit edildi. Bu durum gen frekansları yönüyle anlamlı farklılık gösterdi.
3. Ekson 18 kodon 759 ACC-ACT polimorfizmi kontrol grubunda 1 kişide metabolik sendromlu 2 kişide tespit edildi.
4. Ekson 18 kodon 759 ACC-AGC değişimi sadece 1 metabolik sendromlu kişide tespit edildi.
5. Ekson 18 kodon 760 GAC-GAG polimorfizmi metabolik sendromlu 13 kişide tespit edildi. Bu durum gen frekansları yönüyle anlamlı farklılık gösterdi.
6. Ekson 18 kodon 761 TTG-GTG polimorfizmi metabolik sendromlu 4 kişide tespit edildi.
7. Tespit edilen bu polimorfizmler kan glukozu, HDL-K , TK, TG, LDL-K, SKB, DKB ve bel çevresi değerlerine göre sınıflandırıldığında metabolik sendromla ilişkili olabilecekleri söylenebilir.
8. çalışma metabolik sendromun genetik temelli olabileceğine ABCC8 proteini polimorfizmleri ile katkıda bulunmuştur.

7. ÖZET

METABOLİK SENDROMU TEŞHİSİ ALMIŞ HASTALARDA ABCC8 POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ

Metabolik sendrom, insülin direncine bağlı hiperinsulinemi, glikoz metabolizma değişiklikleri, plazma trigliserit konsantrasyonunda artış, plazma HDL kolesterol konsantrasyonunda düşüş ile karakterize; santral obezite, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi ve hiperglisemi ile semptomlarının bir arada olduğu kompleks bir hastalıktır. Amerikan Ulusal kolesterol eğitim programı 2001, erişkin tedavi paneli III raporuna göre bireyde metabolik sendromdan bahsedebilmek için aşağıda belirtilen metabolik sendrom tanı kriterlerinin beşinden en az üçünün mevcut olması gerekir. Bu tanı kriterleri, abdominal obezite (bel çevresinde artış, kadınlarda >88 cm, erkeklerde >102 cm), yüksek trigliserit seviyesi (>150 mg/dL) düşük HDL-K (kadınlarda <50 mg/dL; erkeklerde < 40 mg/dL), yüksek açlık kan şekeri (>110 mg/dL), hipertansiyon (>130/85 mmHg) olmasıdır. Koroner kalp hastalığı ile ilişkisi açısından metabolik sendromda insülin salınımı düzenleyen sülfonil üre reseptörü ve bu reseptörü sentezleyen gen lokusunun aydınlatılmasının önemi ortadadır. Mevcut literatürde bu konuda bir çalışmaya rastlanmadığından çalışmamızda, metabolik sendromda ABCC8 polimorfizminin ortaya konması amaçlanmıştır. Bu amaçla, daha önce Trabzon ve çevresinde metabolik sendrom prevalans çalışması amacı ile taranan 4809 kişiden, yaşları 21- 80 arası metabolik sendrom tanı kriterinden beşi pozitif 58 kişi (hasta), yaşları 22-75 arası kriterlerin beşi negatif olan 43 bireyin (kontrol) DNA ları izole edildi; Metabolik sendromlu olgularda ABCC8 için ekson 16 ve ekson 18 deki çeşitli polimorfizmler DNA dizi analizi yöntemi ile çalışılmıştır. Ekson 16 (accession no U63437), ekson 18 (accession no L78225) referans dizileri karşılaştırılarak polimorfizm taraması yapıldı. Çalışmanın sonunda, HSSUR1 geni ekson 16 723. kodonda, ekson 18 759, 760, 761. kodonlarında tespit edilen polimorfizmler, normal bireylerde çok farklı, tip II diyabetle ilişkisi incelenmiş olan SUR 1 geninin ekson 18 759. kodonundaki polimorfizmi ile kısmen farklı olduğu tespit edildi.

8. SUMMARY

DETERMINATION OF ABCC8 (SUR1) POLYMORPHISM IN METABOLIC SYNDROME

Metabolic syndrome is a complex disease characterized by insulin dependent hyperinsulinemia, changes of glucose metabolism, increase of plasma triglycerides concentration, decrease of plasma HDL cholesterol concentration; combined with symptoms central obesity, hypertension, hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia and hyperglycemia. Diagnosis of metabolic syndrome was made by having at least three criteria of five metabolic syndrome criteria according to report of National Cholesterol Education Program 2001, the diagnostic criteria are abdominal obesity (increase of waist circumference; female >88 cm, male >102 cm), high level of triglycerides (>150 mg/dL) low of level HDL-K (female <50 mg/dL; male < 40 mg/dL), high level of fasting blood glucose (>110 mg/dL), hypertension (>130/85 mmHg). Due to opinion about metabolic syndrome is a preparatory of coronary heart disease it is apparent that consideration of clarification sulphonyl urea receptor regulate insulin secretion and gene loci synthesized this protein. We could not found any file about this issue in literature. Aim of the study was investigated SUR1 polymorphism and gene loci in metabolic syndrome. Subjects were chosen among 4809 persons which study had been performed to determine prevalence of metabolic syndrome in Trabzon. 101 subjects between 21-80 years old (56 female, 45 male) among those screened subjects were included to the study. Control group was consisted of 43 subjects (24 female, 19 male); metabolic syndrome group was 58 subjects (32 female, 26 male). All patients with metabolic syndrome had five diagnostic criteria of NCEP ATP III. Sequence was alignment and scan for polymorphism with reference (for exon 16 HSSUR116 with accession no U63437, for exon 18 HSSUR118 with accession no L78225) by MEGA 3.1 programme. At the end of study, we established there were significant differences polymorphism of gene loci (exon 16 codon 723 heterozygote C/T and exon 18 T759T, D760E, L761F) between groups.

9. KAYNAKLAR

1. Tabel Y., Mir S. Obez ve Hipertansiyonlu Çocukları Bekleyen Önemli Bir Sorun. *Metabolik Sendrom Nefroloji D.* 13 (3): 140-143, 2004.
2. Houston M. C., Egan B. M. Metabolic syndrome contributing factors *J. Ame. Nutra. Assoc.* 8 (2) , 1-83, 2005.
3. Downer K., Metabolic Syndrome: a.k.a. Insulin Resistance Syndrome? *Clinical Laboratory News Oct.*, p.24, 2004
4. Dean M. The Human ATP-Binding Cassett (ABC) Transporter Superfamily November 18, 1-50, 2002.
5. Dean M. Rzhetsky A., and Allikmets R. The Human ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter Superfamily *Genome Res.*, 11:1156–1166, 2001.
6. Dean M., Hamon Y., and Chimini G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily *J. of Lipid Res.* 42: 1007-1017, 2001.
7. Müller G. The Molecular Mechanism of the Insulin-mimetic/ sensitizing Activity of the Antidiabetic Sulfonylurea Drug Amaryl *Mol. Med.* 6(11): 907–933, 2000
8. T. Cheng. The metabolic syndrome, formerly called metabolic “Syndrome X”. *The Amer. J. Cardiol.*, 94 (1), 148-149, 2004.
9. James B. Meigs Invited Commentary: Insulin Resistance Syndrome? Syndrome X? Multiple Metabolic Syndrome? A Syndrome At All? Factor Analysis Reveals Patterns in the Fabric of Correlated Metabolic Risk Factors *Am J Epidemiol*;152:908–919, 2000.
10. Fogoros R. N., Metabolic Syndrome X [http://heartdisease.about.com /cs/cholesterol/a/ met_synx.htm](http://heartdisease.about.com/cs/cholesterol/a/met_synx.htm)
11. DAS U. N. Is Metabolic Syndrome X an Inflammatory Condition? *Exp Biol Med* 227:989–997, 2002
12. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program(NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) *JAMA*, May 16, 285 (19) 2486-2497, 2001.

13. Grundy S. M., Brewer H. B., Cleeman J. I., Smith S. C., Jr, Lenfant C., Definition of Metabolic Syndrome Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. *Circulation*.109:433-438, 2004.
14. Sattar N., Gaw A., Scherbakova O., Ford I., Denis St.J. O'Reilly, Haffner S. M., Isles C., Macfarlane P. W., Packard C. J., Cobbe S. M., Shepherd J., Metabolic Syndrome With and Without C-Reactive Protein as a Predictor of Coronary Heart Disease and Diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study *Circulation*. 108:414-419, 2003.
15. Ridker P. M., Buring J. E., Cook N. R., Rifai N., C-Reactive Protein, the Metabolic Syndrome, and Risk of Incident Cardiovascular Events An 8-Year Follow-Up of 14 719 Initially Healthy American Women. *Circulation*. 107:391-397, 2003.
16. Han T. S., Williams K., Sattar N., Hunt K. J., Lean M. E.J. and Haffner S. M., Analysis of Obesity and Hyperinsulinemia in the Development of Metabolic Syndrome: San Antonio Heart Study. *Obesity Res*. 10: (9) September 923-931, 2002.
17. Bakris G. L., Optimal Management of Hypertension and Obesity in the Metabolic Syndrome Date of release: December 7, 1-44, 2001.
18. Goodpaster B. H., Krishnaswami S., Harris T. B., Katsiaras A., Kritchevsky S. B., Simonsick E. M., Nevitt M., Holvoet P., Newman A. B., Obesity, Regional Body Fat Distribution, and the Metabolic Syndrome in Older Men and Women *Arch Intern Med*. 165:777-783, 2005.
19. Fonarow G. C. Role of Neurohormonal Antagonists in Management of Patients With Hypertension, Metabolic Syndrome, and Diabetes. *Prevent. Med. In Managed Care* 4: 9-16, 2004.
20. Varughese GI, Lim HS, Lip GYH, Beevers DG and Blann AD.The association between type 2 diabetes mellitus, coronary, heart disease risk and the metabolic syndrome in patients with hypertension. *Diabetes UK/Servier Type 2 diabetes research award. Diabetic Medicine*, 22 (suppl.2), 1-9 2005.
21. Tenenbaum A., Fisman E. Z. and Morto M. Metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus: focus on peroxisome proliferator activated receptors (PPAR) *Cardiovascular Diabetology*, 2:4 1-7, 2003.
22. International Diabetes Federation. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. www.idf.org
23. Taskinen M.R., Diabetic dyslipidaemia: from basic research to clinical practice. *Diabetologia* 46:733.749, 2003.
24. Palaniappan L., Carnethon M. R., Wang Y., Hanley A. J.G., Fortmann S P., Haffner S M., and Wagenknecht L. Predictors of the Incident Metabolic Syndrome in Adults The Insulin Resistance Atherosclerosis Study *Diabetes Care*, 27: (3), 788-793, 2004.
25. Higgins C. F. ABC TRANSPORTERS: From Microorganisms to Man *Annu. Rev. Cell Biol.*8: 67-113, 1992.

26. Schmitt L. and Tampe R., Structure and mechanism of ABC transporters *Current Opinion in Structural Biology*, 12:754-760, 2002.
27. Lewis HA, Buchanan SG, Burley SK, Connors K, Dickey M, Dorwart M, Fowler R, Gao X, Guggino WB, Hendrickson WA, Hunt JF, Kearins MC, Lorimer D, Maloney PC, Post KW, Rajashankar KR, Rutter ME, Sauder JM, Shriver S, Thibodeau PH, Thomas PJ, Zhang M, Zhao X, Emtage S. Structure of nucleotide-binding domain 1 of the kistik fibrozis transmembrane conductance regulator. *The EMBO J.*; 23(2):282-93, 2004.
28. Štefková J., Poledne R., Hubáček J. A., ATP-Binding Cassette (ABC) Transporters in Human Metabolism and Diseases. *Physiol. Res.* 53: 235-243, 2004.
29. Ashcroft F. M., ATP-sensitive potassium channelopathies: focus on insulin secretion *The J. Clin. Invest.* 115: (8) 2047- 2058, 2005.
30. Dean M. The Genetics of ATP-Binding Cassette Transporters *Method In Enzymology.* 400: 409-429, 2005.
31. <http://www.ruhr-uni-bochum.de/tierphys/img/ABC-Transporter.jpg>
32. Insel P., Turner R. E., Ross D., Chapter 3: Digestion and Absorption. *Nutrition*, Second Edition. 2005
33. Kamijo K., Taketani S., Yokota S., Osumi T., and Hashimoto T., The 70-kDa Peroxisomal Membrane Protein Is a Member of the Mdr (P-glycoprotein)-related ATP-binding Protein Superfamily *The J. Biol. Chem.* 265: (3), pp. 4534-4540, 1990.
34. Rudner, D Z, LeDeaux, J R, Ireton, K, Grossman, A D The spo0K locus of *Bacillus subtilis* is homologous to the oligopeptide permease locus and is required for sporulation and competence. *J. Bacteriol.* 173: 1388-1398, 1991.
35. Dassa E., Phylogenetic and Functional Classification of ABC (ATP-Binding Cassette) System. *ABC Proteins: From Bacteria to Man* : 3-35, 2003.
36. Lorkowski S. and Cullen P., ABCG subfamily of human ATP-binding cassette proteins *Pure Appl. Chem.*, 74: (11), pp. 2057–2081, 2002.
37. C van der Does, R Tampé How do ABC transporters drive transport? *Biol. Chem*, 385: 927-933, 2004.
38. Luckie D. B., Wilterding J. H., Krha M. and Krouse M. E. CFTR and MDR: ABC Transporters with Homologous Structure but Divergent Function *Current Genomics* 4, 109-121, 2003.
39. Glavinas H., Krajcsi P., Cserepes J. and Sarkadi B., The Role of ABC Transporters in Drug Resistance, Metabolism and Toxicity. *Current Drug Delivery*, 1, 27-42, 2004.
40. S Kumar, K Tamura, and M Nei MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150-163. 2004.

41. Altschul, Stephen F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schäffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402. 1997.
42. Hacıhasanoğlu M. A. Trabzon İlinde Metabolik Sendrom Prevalansı Ve Prevalansı Etkileyen Risk Faktörleri İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji Ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı KTÜ Tıp Fakültesi Yan dal uzmanlık tezi Trabzon 2006.
43. Hoşver I. Metabolik Sendromda Oksidatif Durumun Laboratuvar İncelenmesi. Biyokimya ABD KTÜ Tıp Fakültesi Uzmanlık Tezi Trabzon 2006
44. Aktaş N Metabolik Sendromda Okside LDL Düzeyleri Biyokimya ana bilim dalı KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Y.Lisans Tezi Trabzon 2006
45. Urhammer SA, Dalgaard LT, Sørensen TIA, Müller AM, Andersen T, Tybjørng-Hansen, A, Hansen T, Clausen JO, Vestergaard H, Pedersen O. Multiallelic analysis of the coding region of the uncoupling protein 2 gene in obese NIDDM patients: impact of a common amino acid polymorphism on juvenile and maturity onset of obesity and insulin resistance. *Diabetologia* 40: 1227 - 1230.,1997.
46. Otabe S, Clement K, Rich N, Warden C, Pecqueur C, Neverova M, Raimbault S, Guy-Grand B, Basdevant A, Ricquier D, Froguel P, Vasseur F., Mutation screening of the human UCP2 gene in normoglycaemic and NIDDM morbidly obese patients. *Diabetes* 47: 840-842, 1998.
47. Cassell PG, Neverova M, Janmohamed S, Uwakwe N, Qureshi A, McCarthy MI, Saker PJ, Albon L, Kopelman P, Noonan K, Easlick J, Ramachandran A, Snehalatha C, Pecqueur C, Ricquier D, Warden C, Hitman GA. 1999. An uncoupling protein 2 gene variant is associated with a raised body mass index but not type II diabetes. *Diabetologia* 42:688–692.
48. Esterbauer H, Schneitler C, Oberkofler H, Ebenbichler C, Paulweber B, Sandhofer F, Ladurner G, Hell E, Strosberg AD, Patsch JR, Krempler F, Patsch W A common polymorphism in the promoter of UCP2 is associated with decreased risk of obesity in middleaged humans. *Nat Genet* 28(2):178–183, 2001.
49. Klannemark M, Orho M, Groop L. No relationship between identified variants in the uncoupling protein 2 gene and energy expenditure. *Eur J Endocrinol*, 139:217–2, 1998.
50. Kubota T, Mori H, Tamori Y, et al. Molecular screening of uncoupling protein 2 gene in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus or obesity. *J Clin Endocrinol Metab*;83:2800–4, 1998.
51. Shiinoki, T., Suehiro, T., Ikeda, Y., Inoue, M., Nakamura, T., Kumon, Y., Nakauchi, Y. and Hashimoto, K. Screening for variants of the uncoupling protein 2 gene in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 48, 581–584, 1999.
52. Klannemark M., Orho M., Langin D., Laurell H., Holm C., Reynisdottir S., Arner P., Groop L., The putative role of the hormone-sensitive lipase gene in the pathogenesis of Type II diabetes mellitus and abdominal obesity *Diabetologia* 41: 1516-1522, 1998.

53. M. Klannemark, L. Suurinkeroinen, M. Orho-Melander, L. Groop, M. -R. Taskinen Interaction between the Asn291Ser variant of the LPL gene and insulin resistance on dyslipidaemia in high risk individuals for Type 2 diabetes mellitus *Diabetic Med.* 17:8 599, 2000.
54. Altshuler D, Hirschhorn J N., Klannemark M, Lindgren C. M., Vohl M.C., Nemesh J., Lane C. R., Schaffner S. F., Bolk S., Brewer C., Tuomi T., Gaudet D., Hudson T. J., Daly M., Leif Groop & Eric S. Lander The common PPAR γ Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes *Nat. Genet.* 26, 76 – 80, 2000.
55. Klannemark M., Genetics of Type 2 Diabetes And The Metabolic Syndrome. Faculty of Medicine Lund University Doctoral Dissertation. Malmö 2001.
56. Bosse Y, Feitosa MF, Despres JP, Lamarche B, Rice T, Rao DC, Bouchard C, Perusse L, Vohl MC. Detection of a major gene effect for LDL peak particle diameter and association with apolipoprotein H gene haplotype. *Atherosclerosis.* Oct;182(2):231-9, 2005.
57. Bosse Y, Bouchard L, Despres JP, Bouchard C, Perusse L, Vohl MC., Haplotypes in the phospholipid transfer protein gene are associated with obesity-related phenotypes: the Quebec Family Study. *Int J Obes (Lond).* Nov; 29(11):1338-45, 2005.
58. Bosse Y, Despres JP, Bouchard C, Perusse L, Vohl MC., The peroxisome proliferator-activated receptor alpha L162V mutation is associated with reduced adiposity. *Obes Res.* Jul; 11 (7) : 809 - 16. 2003.
59. Bosse Y, Weisnagel SJ, Bouchard C, Despres JP, Perusse L, Vohl MC., Combined effects of PPAR γ 2 P12A and PPAR α L162V polymorphisms on glucose and insulin homeostasis: the Quebec Family Study. *J Hum Genet.*;48(12):614-21, 2003.
60. Ann-Marie Paradis, Bénédicte Fontaine-Bisson, Yohan Bossé, Julie Robitaille, Simone Lemieux, Hélène Jacques, Benoît Lamarche, André Tchernof, Patrick Couture, and Marie-Claude Vohl The peroxisome proliferator-activated receptor α Leu162Val polymorphism influences the metabolic response to a dietary intervention altering fatty acid proportions in healthy men *Am J Clin Nutr.* 81:523–30. 2005
61. Shi NQ, Ye B, Makielski JC., Function and distribution of the SUR isoforms and splice variants. *J Mol Cell Cardiol.* Jul;39 (1):51-60, 2005.
62. Hansen T, Echwald SM, Hansen L, Moller AM, Almind K, Clausen JO, Urhammer SA, Inoue H, Ferrer J, Bryan J, Aguilar-Bryan L, Permutt MA, Pedersen O., Decreased tolbutamide-stimulated insulin secretion in healthy subjects with sequence variants in the high-affinity sulfonylurea receptor gene. *Diabetes.* Apr;47(4):598-605,1998.
63. 't Hart LM, De Knijff P, Dekker JM, Stolk RP, Nijpels G, Vanderdoes FEE, Ruige JB, Grobbee DE, Heine RJ, Maassen JA: Variants in the sulphonylurea receptor gene: association of the exon 16–3t variant with Type II diabetes mellitus in Dutch Caucasians. *Diabetologia* 42:617–620, 1999

64. Rissanen J, Markkanen A, Karkkainen P, Pihlajamaki J, Kekalainen P, Mykkanen L, Kuusisto J, Karhapaa P, Niskanen L, Laakso M., Sulfonylurea receptor 1 gene variants are associated with gestational diabetes and type 2 diabetes but not with altered secretion of insulin. *Diabetes Care*. Jan;23(1):70-3, 2000.
65. Reis AF, Hani EH, Beressi N, Robert JJ, Bresson JL, Froguel P, Velho G. Allelic variation in exon 18 of the sulfonylurea receptor 1 (SUR1) gene, insulin secretion and insulin sensitivity in nondiabetic relatives of type 2 diabetic subjects. *Diabetes Metab*. 2002 Jun;28(3):209-15.
66. Zychma MJ, Gumprecht J, Strojek K, Grzeszczak W, Moczulski D, Trautsolt W, Karasek D., Sulfonylurea receptor gene 16-3 polymorphism - association with sulfonylurea or insulin treatment in type 2 diabetic subjects. *Med Sci Monit*. Jul;8(7):CR512-5, 2002.
67. Gloyn, A.L., Weedon, M.N., Owen, K., Turner, M.J., Knight, B.A., Hitman, G.A., Walker, M., Levy, J.C., Sampson, M., Halford, S., McCarthy, M.I., Hattersley, A.T., Frayling, T.M. Large-scale association studies of variants in genes encoding the pancreatic beta-cell K-ATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) confirm that the KCNJ11 E23K variant is associated with type 2 diabetes. *Diabetes*. Feb;52(2):568-72, 2003.
68. van Dam RM, Hoebee B, Seidell JC, Schaap MM, de Bruin TW, Feskens EJ., Common variants in the ATP-sensitive K⁺ channel genes KCNJ11 (Kir6.2) and ABCC8 (SUR1) in relation to glucose intolerance: population-based studies and meta-analyses. *Diabet Med*. May; 22(5):590-8, 2005.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Doğum Tarihi: 27/11/1974
Doğum Yeri : ANKARA
Medeni Hali : Evli

Adresi :
Karadeniz Teknik Üniversitesi Lojmanları
34/8 61080 TRABZON

Tel: 0462 3255435
0535 5559882 (cep)

e-mail : yunusemre.yandi@gmail.com

Öğrenim Durumu

1980-1985 Remzi Oğuz Arık İlkokulu
(Ceyhan/ADANA)

1985-1988 Cumhuriyet Ortaokulu
(TRABZON)

1988-1991 Trabzon Lisesi
(TRABZON)

1992-1996 Atatürk Üniversitesi Fen
Edebiyat Fakültesi Kimya Lisans
(Erzurum)

1996-2000 Karadeniz Teknik Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya ABD
Y.Lisans
(TRABZON)

Yabancı Dil
İngilizce (UDS 72,5)

BİLİMSEL KURULUŞLARA ÜYELİKLER

Türk Biyokimya Derneği
Klinik Biyokimya Derneği
Serbest Radikaller ve Antioksidanlar
Araştırma Derneği

Araştırma Alanları

Klinik Biyokimya

Oksidan Antioksidan Denge ve
Serbest Radikaller

Kromatografik Teknikler

Nörobiyokimya

Metabolik Sendrom, Obezite ve
ABC Proteinleri

Moleküler Biyoloji Teknikleri

Araştırmacı Olarak Çalıştığı Projeler

Behçet hastalığında ox-LDL antikor ve
lipoprotein düzeyleri arasındaki ilişkinin
incelenmesi
KTÜ Araştırma Fonu 1998-2000

Metabolik Sendromda ABCC8 (SUR1)
Polimorfizminin incelenmesi

KTÜ Araştırma Fonu 2004-
Proje kod no 2005.116.001.1

Akademik Görevler

1998 – 2000 Karadeniz Teknik Üniversitesi
Araştırma Görevlisi

Diğer Görevler

KOŞGEB İstihdam desteği ile Yılmaz gıda
Çay ve Un Fabrikası Türk Gıda Kodeksine
Uygun Üretimden Sorumlu Yöneticilik
Haziran- Aralık 2003

ÖDÜLLER BURSLAR

2000 Biyokimya Derneği Bilimsel Teşvik İZMİR / 1 poster

2002 TÜBİTAK Uluslar Arası Bilimsel Yayınları Teşvik TRABZON/ 1 yayın

2003 TÜBİTAK Uluslar Arası Bilimsel Yayınları Teşvik TRABZON/ 2 yayın

“TÜBİTAK Uluslar arası Bilimsel Yayınları Teşvik Programı”
çerçevesinde ödüllendirilen yayınlar

1. The evaluation of autoantibodies against oxidatively modified low-density lipoprotein (LDL), susceptibility of LDL to oxidation, serum lipids and lipid hydroperoxide levels, total antioxidant status, antioxidant enzyme activities, and endothelial dysfunction in patients with Behcet's disease.
Clin Biochem. 2002 May; 35(3): 217-24.
Yılı Yazar Sayısı Yayın Tipi
2002 5 Makale
2. Evaluation of the atherogenic tendency of lipids and lipoprotein content and their relationships with oxidant-antioxidant system in patients with psoriasis.
Clin Chim Acta. 2003 Feb; 328(1-2): 71-82.
Yılı Yazar Sayısı Yayın Tipi
2003 6 Makale
3. Plasma homocysteine and its relationships with atherothrombotic markers in psoriatic patients.
Clin Chim Acta. 2003 Jun; 332(1-2): 23-30.
Yılı Yazar Sayısı Yayın Tipi
2003 6 Makale