

T.C
FATİH ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİMDALI

METABOLİK SENDROMDA ENDOTEL DİSFONKSİYONU VE
ATEROSKLEROZ RİSKİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN OKSİDATİF
STRES VE NİTRİK OKSİT METABOLİZMASI ÜZERİNDEN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. FATMA ERDOĞMUŞ

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. M. RAMAZAN YİĞİTOĞLU

ANKARA- 2007

TEŞEKKÜR

Hastanemizde eğitimin ve bilimsel çalışmaların düzenli bir şekilde yürütülmesi için gerekli ortamı sağlayan, bize her türlü desteği veren çok değerli Sayın Başhekimimiz Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. M.Ramazan Yiğitoğlu'na, tezimin tüm aşamalarında desteğini esirgemeyen sağladığı hoşgörü ve diyalog ortamıyla, asistanlığım boyunca her zaman yanımda olan sayın Laboratuvar Sorumlusu Yrd. Doç. Dr. Cemile Koca'ya, eğitimime olan katkılarından dolayı sayın Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Mustafa Ulukanlıgil'e, hasta toplamamda yardımları bulunan Endokrin Hastalıkları Uzmanı sayın Yrd. Doç. Dr. Feridun Karakurt'a, Uzm. Dr. Ayşe Çarlıoğlu'na ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen birlikte uyum içinde çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşım Dr. Murat Aydın'a çok teşekkür ederim. Pek çok konuda yardımı olan, desteğini hissettiğim baş teknisyenimiz Nazan Nar'a, çalışan tüm teknisyen arkadaşlarıma, laboratuvar sekreterimize yardımsever yaklaşımlarından dolayı teşekkür ederim. Varlıklarıyla her zaman yanımda hissettiğim, sevgilerini ve yardımlarını benden asla esirgemeyen sevgili annem ve babama şükranlarımı sunarım.

Zor çalışma dönemimde bana her zaman destek olan gösterdiği anlayış ve yardımı için değerli eşim Osman Erdoğan'a, varlığıyla hayatıma renk ve anlam katan sevgili oğlum Mert Hikmet'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER.....	v
TABLOLAR.....	vi
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Metabolik Sendrom	3
2.2.Serbest Radikaller.....	20
2.3.Metabolik Sendrom ve Oksidatif Stres İlişkisi.....	30
2.4.Nitrik Oksit.....	31
2.5.ADMA.....	35
2.6.Metabolik Sendrom ve ADMA İlişkisi	39
2.7.ADMA ve Oksidatif Stres İlişkisi	40
2.8.Homosistein.....	43
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER	46
3.1 Deney Grupları	46
3.2.Kullanılan Gereçler.....	47
3.3.Yöntemler	47
4.SONUÇLAR.....	50
4.1.Sonuçların Analizi ve İstatistik.....	51
5.TARTIŞMA.....	54
6.ÖZET.....	65
7.SUMMARY	66
8.KAYNAKLAR.....	67

ŞEKİLLER

Şekil1. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu ...	24
Şekil2. Birikmiş yağ dokuda ROS üretimi ve Metabolik sendrom	30
Şekil3. Endojen Metilarjininlerin Yapısı	36
Şekil4. ADMA Sentezi, Metabolizması	37
Şekil5. ADMAnın katıldığı biyokimyasal yollar	38
Şekil 6. ADMA ile insülin direnci ve aterosklerozis ilişkisi	42
Şekil 7. ADMAnın Sentezi, Metabolizması ve hücre içi etkileri.....	45

TABLÖLAR

Tablo 1: NCEP ATP III metabolik sendrom kriterleri	6
Tablo 2:AACE metabolik sendrom kriterleri.....	8
Tablo 3: IDF metabolik sendrom kriterleri.....	10
Tablo 4:Metabolik sendromun klinik yansımaları.....	15
Tablo 5. Nitrik oksit fonksiyonları.....	34
Tablo 6.Gruplardaki bireylerin demografik özellikleri ve rutin laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması.....	50
Tablo 7.Grupların ölçülen parametrelerinin karşılaştırılması.....	50
Tablo 8.Grupların tüm parametrelerinin Korelasyonu.....	53

1.GİRİŞ

Metabolik Sendrom dünyada ve Türkiye’de giderek daha fazla sayıda insanı etkileyen önemli bir morbidite nedenidir.

Metabolik sendrom birden fazla kardiyovasküler risk faktörünün kümelendiği bir hastalık grubudur. Kardiyovasküler hastalıkların en önemli morbidite nedenlerinin başında olması metabolik sendromu önemli hale getirmiştir. Genetik ve çevresel faktörler sonucu meydana geldiği düşünülen metabolik sendromun temelini insülin direnci oluşturmaktadır.

Metabolik Sendromda görülen insülin direnci ile kardiyovasküler hastalık arasındaki ilişkinin oksidatif stres üzerinden olduğu düşünülmektedir. Metabolik sendromda oksidatif stres artmıştır. Artan oksidatif stresin endotel disfonksiyonuna neden olarak vasküler hasar ve ateroskleroz plağı oluşumunu tetiklediği düşünülmektedir.

Vasküler yapının ve tonusunun devam ettirilmesinde endotel çok önemli rol oynar. Endotel fonksiyonu endotel kaynaklı vazodilatatör ve vazokonstriktör faktörler tarafından düzenlenmektedir. Bu faktörler arasında endotel fonksiyonunun düzenlenmesinde anahtar rolü olan molekülün nitrik oksit(NO) olduğu düşünülmektedir. NO L-Arjinin aminoasitinden NO sentaz(NOS) enzimi ile sentezlenir. Endotel disfonksiyonu tanımı ile vazodilatatör ve vazokonstriktör faktörler arasındaki dengesizlik belirtilmektedir. Endotel disfonksiyonu aterosklerozun başlangıç lezyonu olarak kabul edilmektedir.

L-arjinin hücre içi metiltransferazlarla metillenerek metillenmiş L-arjinin metaboliti asimetrik dimetil arjinine (ADMA) dönüşür. ADMA NOS enziminin endojen yarışmalı inhibitörüdür.

Yapılan çalışmalarda Metabolik Sendromun bileşenleri olan hiperkolesterolemi, hipertansiyon, diyabetin yanısıra kronik böbrek yetmezliği, tiroid fonksiyonu bozukluğu ve hiperhomosisteinemi gibi patolojik durumlarla ADMA yüksekliği arasında ilişki

olduğu gösterilmiştir. Artmış ADMA düzeyleri kardiyovasküler risk artışının göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Bu çalışmada metabolik sendromda oluşan endotel disfonksiyonu ve kardiyovasküler risk artışı, kardiyovasküler hastalık risk belirteci olarak görülen serum ADMA seviyeleri ve oksidatif stres belirteçleri ile değerlendirildi. Çalışmanın amacı metabolik sendrom hastalarında ateroskleroz başlangıç patolojisi endotel disfonksiyonuna erken tanı koyabilmek, oksidatif stres ile ADMA ilişkisini incelemek, serum ADMA düzeylerinin kardiyovasküler risk belirteci olarak kullanılabilirliğini görmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. METABOLİK SENDROM

Metabolik Sendrom dünyada giderek daha fazla sayıda insanı etkileyen önemli bir morbidite nedenidir. Hareketsiz hayat tarzının benimsenmesi ve beslenme alışkanlığında değişme gibi çevresel etkenler yanında, kalıtımla gelen bazı özellikler de rol oynamaktadır.²

Metabolik Sendrom (MS) birden fazla kardiyovasküler risk faktörünün bir araya gelmesi sonucu oluşur. MS'un başlıca bileşenleri glukoz intoleransı, hipertansiyon, dislipidemi, visseral obezite, hiperkoagulabilite olarak sıralanabilir.¹

Metabolik sendrom ile eş anlamlı kullanılan başlıca terimler^{1,2,3}

Plurimetabolik Sendrom
Yeni Dünya Sendromu
İnsülin Direnci Sendromu
Dismetabolik Sendrom
Sendrom X
Ölümcül Dörtlü

2.1.1. Metabolik Sendrom Tarihçesi

İsviçreli doktor Kylin, metabolik sendromu hipertansiyon, hiperglisemi, gut kümeleşmesi olarak 80 yıl önce tanımlamıştır. 1947 de Vague ve arkadaşları tarafından obezite fenotipi android ve jinoid tip obezite olarak sınıflandırılmıştır. Çalışma sonucunda android obezitenin diabet ve koroner hastalığı ile jinoid tip obeziteye kıyasla daha fazla ilişkili olduğu saptanmıştır. 1988'de Reaven tarafından metabolik anormalliklerin birleştiği bir sendrom olarak tanımlanmış, "Sendrom X" olarak adlandırılmıştır. Reaven

çeşitli risk faktörlerinin sıklıkla bir arada bulunduğuna dikkat çekmiş ve bu beraberliğin kardiyovasküler hastalıkların gelişme riskini arttırdığını belirtmiştir.

Reaven 'ın yaptığı orijinal tanıma göre Sendrom X; obezite, insülin direnci, hipertansiyon, bozulmuş glukoz toleransı, diabet, hiperinsülinemi ve dislipidemi (yüksek trigliserid, düşük HDL) ile karakterizedir. İnsülin direnci temel nedendir¹¹⁸.

Metabolik sendrom bileşenleri bireylerde toplanma eğilimindedir. Bu faktörlerin bireylerde kümelenmesi tek tek olmasından daha zararlıdır. Prospective Cardiovascular Münster (PROCAM) çalışmasında 40-65 yaş grubu erkeklerde 4 yıllık miyokard infarktüsü riski, hipertansiyon veya Tip 2 diabet varlığında 2.5 kez artmıştır. Bu iki risk faktörünün birlikte bulunması durumunda risk 8 kat artmaktadır ve bu iki faktöre bozulmuş bir lipid profili de eklenirse risk 19 katına çıkmaktadır^{3,4,5,7}.

2.1.2. Metabolik Sendromun Tanımı

ABD Ulusal Kalp, Akciğer ve Kan Enstitüsü (NHLBI) güncel metabolik sendrom tanımı ile ilgili raporunda, Üçüncü Erişkin Tedavi Paneli (ATP III), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği (AACE) tanımlarının özetini yapmaktadır.

A.Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Tanımlaması

1998'de WHO ilk evrensel tanımlamasını yayınlarken en yaygın kullanılan dört tanımlamadan birini yapmıştır. WHO tanımlamasında oral glukoz tolerans testi (OGTT) esas alınmıştır. Tanımlamaya göre normal OGTT varlığında insülin direnci ölçümü gerekmektedir. Buna göre mutlaka bulunması gereken insülin direncini gösteren Tip2 diabet veya glukoz tolerans bozukluğuna ek olarak abdominal obezite, hipertrigliseridemi, HDL kolesterol düşüklüğü, albüminüri veya hipertansiyon kriterlerinden en az ikisinin daha bulunması gereklidir. Bu tanımlama hem diabeti olan hem de diabeti olmayan bireyleri bir arada kapsamaktadır ve kriterler arasında mikroalbuminüri yer almaktadır⁶.

WHO tanımlamasına göre Tip2 diabeti olmayan hastalarda insülin direncini göstermek için genellikle oral glukoz tolerans testi (OGTT) ya da hiperinsülinemik/öglisemik klemp testi gerekmektedir. Bu testler klinik kullanıma her zaman uygun olmayabilir ve maliyetleri yüksektir.^{9, 119,120}

WHO kriterlerine göre aşağıdaki bulgulardan en az ikisinin insülin direncine eşlik etmesi gerekmektedir ;

1. Tip 2 diabet
2. Bozulmuş açlık glukozu
3. Bozulmuş glukoz toleransı
4. Antihipertansif tedavi veya kan basıncı sistolik ≥ 140 mmHg , diastolik ≥ 90 mmHg
5. Trigliserid ≥ 150 mg/dl
6. HDL kolesterol erkekte < 35 , kadında < 39 mg/dl
7. Vücut Kitle İndeksi (BMI) > 30 kg/m² veya abdominal obezite (bel-kalça oranı erkekte > 0.9 , kadında > 0.85)
8. Üriner albumin atılımı ≥ 20 ug/dk veya albumin/kreatinin oranı ≥ 30 mg/g

B. Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu (EGIR)

EGIR kılavuzunda “insülin direnci sendromu” isminin kullanılması önerilmekte, WHO kılavuzuna benzer şekilde glukoz tolerans testine ağırlık verilmektedir. EGIR’ a göre de altta yatan temel sebep insülin direncidir. Açlık insülin değeri öglisemik klemp yerine insülin direnci ile ölçülmelidir. İnsülin direncinin kolay ve güvenilir ölçülmesi gereklidir. WHO kriterleri arasında Tip2 diabet olması tanımlamanın güvenilirliğini azaltmaktadır. Bu nedenle diabetli kişiler EGIR tanımlamasından çıkarılarak sendrom dışı kabul edilmiştir. EGIR kriterlerinin pratikte kullanımı daha kolaydır. Açlık hiperinsülinemisine ek olarak bozulmuş açlık glukozu, hipertansiyon, hipertrigliseridemi, HDL kolesterol düşüklüğü veya abdominal obezite kriterlerinden (bel çevresi ölçümü ile) en az ikisinin bulunması gerekmektedir. EGIR’ın tanımlamasında bel çevresi erkeklerde 94 cm, kadınlarda 80 cmdir. EGIR’a göre de kan basıncı $> 140/90$ mmHg olmalıdır^{9,11,119}.

C.Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Üçüncü Erişkin Tedavi Paneli(NCEP ATP III Tanımlaması)

EGIR tanımlamasından 2 yıl sonra 2001'de Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP), erişkinlerde yüksek kan kolesterolü tespiti, değerlendirme ve tedavisi raporunu hazırlamıştır. Bu rapor Üçüncü Erişkin Tedavi Paneli (ATP III) olarak adlandırılmıştır. Raporda Metabolik Sendrom tanısı için beş kriter belirlenmiştir (Tablo1). Hipertrigliseridemi, HDL kolesterol düşüklüğü, hipertansiyon, serum glukozunun ≥ 110 mg/dl olması ve abdominal obezite kriterlerini içermektedir. Tanı için beş kriterden üçünün varlığı yeterli kabul edilmiştir. Yine obezite göstergesi olarak bel çevresi ölçümü kullanılmaktadır. Bunun bel çevresi için sınır değerleri EGIR dan daha yüksek, erkekte 102 cm, kadında 88 cmdir. Bu tanımlamaya göre metabolik sendrom tanısı için insülin direncinin gösterilmesi gerekmemektedir. Bugün için ATP III tanımı daha yaygın olarak kabul görmekte ve kullanılmaktadır. Çünkü klinikte ve araştırma laboratuvarında kullanımı daha kolaydır^{5,6,7,9}.

Tablo 1. NCEP ATP III Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri

Bel çevresi	Kadınlarda >88 cm Erkeklerde >102 cm
Trigliserid	>150 mg/dl
HDL	Kadınlarda <50 mg/dl Erkeklerde <40 mg/dl
Kan Basıncı	>130/85 mmHg veya üç aydan önce tedavi edilmiş hipertansiyon
Açlık Kan Şekeri	>110 mg/dl

Framingham Kalp Çalışması sonuçlarına göre Tip 2 diabetli erkeklerin çoğunluğunda ATP III kriterleriyle 10 yıllık mutlak koroner risk sınırı %20'yi geçerken, metabolik sendromlu erkeklerin çoğunluğu ise orta riskli, (10 yıllık risk %10-%20 arası) kabul edilmektedir. Metabolik Sendromlu kadınların çoğunluğu ise daha düşük risk altında

kabul edilirken, yaş ilerledikçe diabet ve koroner arter komplikasyon riski artmaktadır. Lipid düşürücü tedavi için uygun risk değerlendirilmesi Framingham kardiyovasküler risk değeri ile yapılmaktadır ve sigara kullanımı, kan basıncı, yaş, total kolesterol ve HDL kolesterol gibi 5 ölçümün toplam riskini içermektedir.

Tablo1'deki 5 kriterden 3'ünün mevcut olması ile metabolik sendrom tanısı konulabilmektedir. Abdominal obezitenin de bu tabloya alınması sendromun patogenezindeki önemini bir kez daha ortaya koymaktadır. Özellikle genetik yatkınlığı olan gruplarda bel çevresindeki küçük bir artış dahi bir çok risk faktörünü tabloya dahil eden bir tetik görevi görebilmektedir. ATP III'e göre Metabolik Sendrom tanımını yapabilmek için yüksek açlık glukozunu göstermek yeterlidir. İnsülin direncinin gösterilmesi gerekli değildir.^{5,7,8,9,12}

D. Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği (AACE) Tanımlaması

ATP III tanımı üzerine AACE insülin direnci sendromu tanımlamasını geliştirmiştir. Bu tanımlamada da insülin direnci temel özelliktir. Buna göre, insülin direncinin görüldüğü çeşitli durumlardan en az birinin varlığına ek olarak hipertrigliseridemi, HDL kolesterol düşüklüğü, hipertansiyon, bozulmuş açlık glukozu ve bozulmuş glukoz toleransı kriterlerinden en az ikisinin bulunması insülin direnci sendromu olarak tanımlanmaktadır. AACE tanımına göre göre kan basıncı $\geq 130/85$ mm/Hg olmalıdır.(Tablo2.)

Obezite, hipertansiyon tanısı gibi faktörler dışında gestasyonel diabet, kardiyovasküler hastalık, ailede diabet hikayesi, Avrupa dışı soy, 40 yaş üzeri sedanter yaşam da listede yer almıştır. Bunlar da sendrom olasılığını arttırmaktadır.

AACE 'ye göre de abdominal obezite insülin direncinin gelişmesine katkıda bulunan bir faktördür. Daha çok ATP III ve WHO kriterlerinin kombinasyonu şeklinde olan bu değerlendirme, metabolik sendrom tanısı için gerekli kriterlerin sayısını vermeyip, klinisyenin yorumuna bırakmaktadır^{5,6,9}.

Tablo 2. Metabolik sendrom için AACE Tanı Kriterleri

Fazla kilo/obezite	BMI >25kg/m ²
Trigliserid değeri	>150 mg/dl
HDL değerleri	Kadınlarda <50 mg/dl Erkeklerde <40 mg7dl
Kan Basıncı ölçümü	>130/85 mm/Hg
2 saatlik OGTT sonucu	

Diğer risk faktörleri

Ailede Tip 2 diyabet, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalık öyküsü

Polikistik over sendromu

Sedanter hayat tarzı

İleri yaş

Tip 2 diyabet veya kardiyovasküler hastalık için yüksek riskli etnik gruba dahil olmak olarak

sayılabilir.

Çeşitli metabolik sendrom tanımlamalarında her bir bileşenin sınır değeri (cut off value) ve kombine bileşenlerin ortalama değerleri farklıdır. Farklı populasyonlarda metabolik sendrom görülme sıklıklarının karşılaştırılması da zor olmaktadır.

Uzman çalışma grupları arasında açıkça bir karışıklık vardır. Sonuçta bu durum klinisyenlerde de karışıklık oluşturmuştur. ATP III kolaylık bakımından üst seviyededir sadece açlık glukoz değerlendirmesi vardır.

Pratik, kolay uygulanabilir olan, kardiyovasküler hastalık ve DM yüksek riskini tanımlayabilen uluslararası standardize edilmiş bir tanımlamaya acil ihtiyaç olması Uluslararası Diyabet Birliğini (IDF) harekete geçirmiştir. IDF'in primer amacı çeşitli ülke ve populasyonların metabolik sendrom araştırmaları için pratik bir tanımlama geliştirmektir^{6,7,8,9,11}.

E. Uluslararası Diabet Birliği (IDF) Tanımlaması

Bu tanımlama Metabolik Sendromun en iyi saptayıcısı olarak abdominal obeziteyi göstermektedir. Bel çevresi, metabolik sendromun diğer komponentleri ve kardiyovasküler hastalık riski arasında güçlü bir ilişki vardır. Abdominal obezite temel bileşendir. IDF ortak grubu tüm etnik gruplara uygulanabilir olduğu için abdominal obeziteyi bel çevresi ölçümü ile saptamayı önermiştir.

Yeni belirtilen tanı kriterlerinde en çarpıcı değişiklik, bel çevresi için daha önce erkeklerde belirtilen 102cm kadınlarda 88 cm rakamlarının değişmesidir. Bel çevresinin varlığı toplumdan topluma farklılık gösterir.

Bir Çinli ile İsveçlinin fiziki yapısı aynı olamaz. O nedenle her toplum için bel çevresi belirlenip, kriterler ona uygunluk gösterecek şekilde düzenlenmelidir. Ülkemizde bu konuda yapılmış kabul edilebilir bir çalışma olmayıp, Avrupa toplumu için belirlenmiş rakamlar kabul edilmektedir. Son olarak 2005 yılının Nisan ayında Uluslararası Diyabet Birliği tarafından Berlin’de düzenlenen “1.Uluslararası Metabolik Sendrom Kongresinde” Metabolik Sendrom tanı kriterlerine son şekli verilmiştir^{5,6,7}.(Tablo3.)

Buna göre;

IDF Tanımlaması Berlin 2005 tanı kriterleri şu şekildedir;

Bel çevresi etnik gruplara özgü olarak listelenmiştir.

Avrupa toplumunda bel çevresi erkekte ≥ 94 cm kadında ≥ 80 cmdir.

ve ek olarak aşağıdaki kriterlerden en az ikisi olmalıdır.

Tablo 3. Metabolik Sendrom için IDF tanı kriterleri

Trigliserid değeri	>150 mg/dl veya lipid anormalliği için spesifik tedavi
HDL değeri	Kadınlarda <50 mg/dl erkeklerde <40 mg/dl veya lipid anormalliği için spesifik tedavi
Kan Basıncı	>130/85 mm/Hg veya hipertansiyon tanısı ile ilaç kullanmak
AKŞ	>100 mg/dl veya Tip 2 DM tanısı

IDF tanımlamasında glukoz intoleransı gerekli değildir. İnsülin direncinin (IR) doğru olarak ölçümü pratikte zor olduğundan insülin ölçümünü tanımlamadan çıkarmıştır. Bu tanımlamaya göre bel çevresi kalınlığı ve hipertrigliseridemi gibi bileşenler yüksek olarak IR ile koreledir. Diğer bileşenleri ATP III ile benzerdir. Yakın zamanda Amerikan Diabet Birliği (ADA) tavsiyesi ile AKŞ için sınır değer 100 mg/dl kabul edilmiş ve 100 mg/dl üzeri bozulmuş açlık glukozu olarak adlandırılmıştır. IDF grup raporunda, metabolik sendromun gelecekteki tanımlamaları için ileri araştırmaları tavsiye etmekte ve ek bileşenlerin de ilave edilebileceğini önermektedir. Visseral adipoz dokunun tomografik değerlendirilmesi, karaciğer yağı saptanması, adipoz doku belirteçleri (adiponektin, leptin), ApoB seviyeleri, LDL partikül boyutu, insülin direnci ölçümü, oral glukoz tolerans testi, endotel disfonksiyon belirteçleri, üriner albümin konsantrasyonu, inflamatuvar belirteçler (CRP, TNF-alfa, IL-6) trombotik faktörler (PAI-1, fibrinojen) önerilen ek bileşenlerdir^{5, 6, 7, 8, 9, 15}.

Erkeklerde daha sık gözlenen abdominal yağ dağılımı (elma şekli), kadınlarda daha sık gözlenen gluteofemoral yağ dağılımından (gözyaşı şekli), kardiyovasküler açıdan daha fazla risk oluşturmaktadır. Abdominal obezite, umblikus seviyesinden ölçülen bel çevresi olarak ya da umblikus seviyesinden ölçülen bel çevresinin, en geniş kısımdan ölçülen kalça çevresine oranı (bel/kalça oranı) olarak tanımlanır^{9, 10, 93, 99, 100}.

2.1.3. Epidemiyoloji

Metabolik Sendrom 2000’li yılların epidemisi olarak kabul edilmektedir. Ülkemizde farklı çalışmalar yapılmış olmakla birlikte en etkin çalışmanın Türkiye Metabolik Sendrom Araştırması (METSAR) olduğu söylenebilir. 2004 yılında yapılan METSAR sonuçlarına göre 20 yaş ve üzerindeki erişkinlerde Metabolik Sendrom sıklığı %35 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada kadınlarda Metabolik Sendrom sıklığı erkeklere göre daha yüksek bulunmuştur(kadınlarda %41, erkeklerde %28.8). Çalışmada dikkati çeken sonuçlardan biri de ilerleyen yaşla birlikte Metabolik Sendrom sıklığının artmasıdır. 20-29 yaş grubunda yüzde 10’lar civarında seyreden risk, 30-39 yaş grubuna gelince yüzde 30’lara çıkmaktadır. 40-49 yaş grubunda her iki kişiden biri Metabolik Sendrom tanımına uymaktadır. Sonraki yaş gruplarında ise yüzde 60’lar civarında görülme oranı vardır. Yaş grupları tablosu ayrıntılı değerlendirildiğinde, kadınların erkeklere göre daha az risk altında olduğu yaşlar sadece 20-29 yaşlarıdır. Yıllar geçtikçe risk faktörü her üst yaş diliminde daha da belirginleşerek hep kadının aleyhine çalışmaktadır. Metabolik Sendrom sıklığı ilerleyen yaş ve vücut ağırlığı artışı ile artmakta aynı zamanda kullanılan kriterler ve incelenen toplumlara göre de değişkenlik göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri’nde 20 yaş ve üzeri kişilerde Metabolik Sendrom sıklığı %27 bulunmuş Metabolik Sendrom sıklığının kadınlarda daha hızlı olmak üzere artmakta olduğu saptanmıştır.^{11, 13,20,101}

Geniş kapsamlı diğer bir çalışma olan “Türkiye’de Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı (TEKHARF)” çalışmasında ise Metabolik Sendrom sıklığı 30 yaş ve üstü erkeklerde % 28, kadınlarda %45 olarak tespit edilmiştir. TEKHFARF ve Türk Kalp Çalışması’nda Metabolik Sendrom bileşenlerinden biri olan HDL kolesterol düzeylerinin Türk halkında düşük olduğuna dair veriler elde edildiği bildirilmiştir. METSAR’da ise erişkin toplumumuzda HDL kolesterol ortalaması 49 mg/dl bulunmuştur. Türkiye Diabet Epidemiyolojisi(TURDEP) çalışmasında erişkinlerimizin %7.2’sinde diabet, %6.8’inde glukoz tolerans bozukluğu %22’sinde obezite saptanmıştır.

TEKHARF çalışmasında obezite sıklığı erkeklerde %21.1, kadınlarda %43 oranında bulunmuş, insülin direnci göstergesi olan açlık insülin konsantrasyonlarının >10mIU/l olma sıklığı her beş kişiden ikisinde saptanmıştır. Kadınlarda abdominal obezite (bel çevresi >88 cm) yaklaşık %90 sıklıkta bulunmuştur.

Tüm dünyadaki verilere bakıldığında sıklığın yüzde 25-35 arasında değiştiğini söylemek mümkündür. Metabolik Sendrom ABD’de ortalama olarak populasyonun %24’nü etkilemektedir. ABD’de 3. Ulusal Sağlık ve Beslenme Taraması (NHANES III) kriterlerine göre 47 milyon bireyde Metabolik Sendrom mevcuttur ve bu kişilerin %44’ü de 50 yaş ve üstü gruptadır. Normal glukoz toleransı olan erkeklerin %15’inde, kadınların %10’nunda, bozulmuş açlık glukoz toleransı olan erkeklerin %64’ü ve kadınların %42’sinde ve Tip 2 diabeti olan erkeklerin %84’ü, kadınların da %78’inde Metabolik Sendroma rastlanılmaktadır^{11, 101}.

Toplumun hareketliliğine ve yeme biçimine göre oranlar değişebilmektedir. Örnek vermek gerekirse Çin’de risk düşük iken, aynı Çinli Amerika’daki yaşam şartlarına uyduğunda oran birdenbire değişmektedir. Aynı şekilde Okyanusya bölgesinde medeniyetin girmediği bölgelerde oran son derece düşük, ancak Batı yardımı alan medeni bölgelerde oldukça yüksektir. Özetle Metabolik Sendrom sıklığı yaşam stili ile çok yakın bir ilişki göstermektedir.^{3, 12, 15}

2.1.4. Metabolik Sendromun Fizyopatolojisi

Metabolik Sendromun etiyolojisinde esas sebep insülin direncidir. Metabolik Sendrom bileşenlerinin (dislipidemi, hiperglisemi, hipertansiyon, obezite) temelinde insülin direncinin rolü bulunmaktadır.

İnsülin Direnci ve Glukoz Metabolizması

İnsülin, hücrede besinlerin hücreye alımından, depolanmasından ve hücrede kullanımından sorumlu temel hormondur.

Metabolik Sendromda vücutta yağ, karaciğer ve kas dokularında insülin direnci olmaktadır. İnsülin direnci hücre ve dokularda, karaciğerde, endojen ve ekzojen insülinin normal düzeylerine beklenenden daha az yanıt olması halidir^{13,14}. Temelinde yatan esas olay hedef dokuların glukozu kullanamamasıdır. İnsülin direnci olan bireylerde belirli bir metabolik fonksiyonun yerine getirebilmesi için ihtiyaç duyulan insülin miktarı artmıştır.

İnsülin, karaciğerde glukoneogenezi ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Vücutta insülin direnci başladığında öncelikle kaslarda insülin aracılığı ile glukoz alımı gerçekleşemez ve karaciğerde artan glikojenoliz ve glukoneogenez ile karaciğerden glukoz çıkışı artmaktadır. Artan kan glukoz seviyelerini dengelemek üzere pankreas beta hücrelerinden artan insülin salgısı ile de hiperinsülinemi meydana gelmektedir. İnsülin konsantrasyonunu kanda sürekli yüksek düzeyde tutmak zorunda kalan pankreas beta hücreleri, zaman içinde sentez ve sekresyon kapasitesini yitirmekte, yükselen kan şekeri beta hücre desensitizasyonu yapmaktadır. Sonuçta insülin düzeyi azalmakta, kan glukoz düzeyleri artmaktadır^{14,16,121}.

Bazı bireylerin insülin direncine genetik olarak yatkınlığı vardır. Bu insanlarda akkiz faktörlerin de (obezite, fiziksel inaktivite, kötü diyet alışkanlığı) araya girmesiyle insülin direnci aşikar hale gelmekte ve metabolik sendrom gelişimine yatkınlık oluşmaktadır.^{16,28} Özellikle obez kişilerde kan şekerini belli bir düzeyde tutmak için nonobez kişiye nazaran daha fazla insüline gerek vardır. Ancak her obez olanda insülin direnci olmadığı veya

insülin direnci olanlarda Metabolik Sendromun değişik fenotiplerinin görülmesi, genetik miras etkisinin araştırılmasına neden olmuştur. Farklı etnik gruplarda yapılan çalışmalar bunu doğrular niteliktedir. Örneğin; obezite ve insülin direncinin sık görüldüğü bir popülasyon olan Pima yerlilerinde; Tip2 diabet sıklığı artmışken, hiperlipidemi ya da hipertansiyon görülme sıklığı yüksek değildir. MS'un temel bileşenlerinden olan aterosjenik dislipidemi, hipertansiyon, diabet ve protrombotik durum kardiyovasküler hastalık riskinin artmasına neden olmaktadır. MS'u oluşturan beş ana bileşen dışında temelinde insülin direncinin rol oynadığı düşünülen birçok klinik tablo bu sendromun klinik yansımaları olarak kabul edilmektedir(Tablo 4.)^{1,2,3,,13,14,16,19}.

Metabolik Sendroma sahip olanlarda insülin direnci değerlendirmesinde “öglisemik klemp testi” yanında duyarlılık testlerinden “Homestaz Modeli Değerlendirmesi (Homeostasis Model Assesment-HOMA indeksi)” ve “Kantitatif İnsülin Duyarlılığı Kontrol İndeksi (Quantitative InsulinSensitivity Index-QUICKI)” metodları kullanılabilir. Bu basitleştirilmiş insülin duyarlılık testlerinde tek bir açlık insülin ve glukoz ölçümü yeterli olmaktadır ve yakın zamanda metabolik sendrom kılavuzlarında yer alabileceği düşünülmektedir^{141,142}.

Tablo 4. Metabolik Sendrom'un Klinik Yansımaları

- Diabet
- Osteoporoz
- Esansiyel Hipertansiyon
- Hiperkoagulabilite
- Abdominal Obezite
- Dislipidemi
- Yağlı Karaciğer Sendromu
- Uyku Apnesi
- Polikistik Over Sendromu

İnsülin Direnci ve Hipertansiyon

Hiperinsülinemi, sempatik sinir sistemi aktivitesini artırarak vasküler cevabı vazokonstriksiyon yönüne kaydırıp sodyum tutulumuna yol açarak kan basıncı yüksekliğine neden olur. Hipertansiyonlu hastaların %50sinde insülin direnci ve hiperinsülinemi bulunmaktadır^{29,35}.

Lipid metabolizması

Metabolik Sendromlu hastalarda dislipidemi; HDL kolesterol düşüklüğü ve trigliserid yüksekliği ile karakterizedir. LDL kolesterol genellikle normal düzeydedir. İnsülin direncinde omentumda ve barsak çevresinde biriken visseral yağ dokusu, periferik yağ dokusuna göre insülinin metabolik etkilerine karşı daha dirençlidir. Fazla miktarda ortaya

çıkan serbest yağ asitleri portal sistem yoluyla karaciğere ulaşarak trigliserid sentezinde kullanılır.

İnsülin direnci ile Lipoprotein lipaz(LPL)enzim aktivitesi azalır. Lipoprotein lipaz enzimi VLDL klerensinde rol oynar. İnsülin direncinde TG'den zengin VLDL partiküllerinin artması anormal HDL metabolizmasına neden olur. Kolesterol ester transfer proteini(CETP) VLDL deki TG'lerin HDL'deki kolesterol esterleri ile değişimini sağlayarak kolesterol esterinden zengin VLDL ve TG'den zengin HDL oluşumu ile sonuçlanır. Sonuçta TG den zengin lipoproteinlerin (VLDL,VLDL kalıntıları, LDL kalıntıları, şilomikron kalıntıları) düzeylerinde artış meydana gelir. Artık lipoproteinler damar endotelinde köpük hücre oluşumuna, lokal enflamasyona, plak oluşumuna sebep olur. Bu yüzden artık lipoproteinler de aterojeniktir. Artan metabolizma nedeni ile HDL seviyelerinde normalin altında değerler görülür^{13,25,70}.

HDL antiaterojenik aktiviteye sahiptir. Antiinflatuar, antitrombotik etki ile beraber ters kolesterol transport işlevi görür. HDL partikülleri güçlü antioksidan aktiviteye sahiptir. Gerçekte HDL'nin antioksidan etkisi kardiyoprotektif etkisinde yer alan temel mekanizmasıdır.

Bu sendromda LDL seviyelerinde artış gözlenmez ancak LDL partikülleri daha küçük ve yoğundur .Tüm bu değişiklikler aterojenik potansiyeli arttırmaktadır^{115,118,121}.

İnsülin Direnci ve Obezite İlişkisi

Obezite gelişiminde genetik yatkınlık, beslenme ve fiziksel aktivite rolü önemlidir. Obezitenin düşük dereceli bir inflamasyon durumu olduğu da kabul edilmektedir. Periferik yağ dokusuna kıyasla, intraabdominal yağ dokusu(visseral obezite) insülinin metabolik etkilerine daha dirençli olma eğilimindedir. Kardiyovasküler riski daha çok artırır.

Visseral obezitenin klinik belirtisi olan bel çevresi kalınlığı insülin direncinin kesin göstergesi olmasa da, insülin direnci ve derecesi hakkında bilgi verir.^{3,4,10,14,16,19,95}

Çeşitli çalışmalarda yağ dokusunun sadece enerji deposu değil aynı zamanda çeşitli biyolojik aktif molekülleri üreten ve sekrete eden (adipositokinler, peptidler gibi) bir endokrin organ gibi çalıştığı saptanmıştır. Yağ dokusundan salınan PAI-1 (Plazminojen aktivatör inhibitör -1), Tümör nekrozis faktör alfa(TNF- α), IL-6, rezistin, leptin, adiponektin gibi çeşitli aktif moleküller “adipositokin” olarak adlandırılır. Obez kişilerde Metabolik Sendromun (glukoz intoleransı, dislipidemi, hipertansiyon ve aterosklerozis) gelişmesinde adipositokinlerin düzensiz üretiminin rolü vardır^{17,18}.

Yakın zamanda elde edilen veriler obezite, insülin direnci, kardiyovasküler hastalıklar, Tip2 diabetes ve hipertansiyon gibi metabolik sendromun çeşitli bileşenlerinde düşük dereceli inflamasyon ve doğuştan immünite etkilerinin olduğu gösterilmiştir. İnsüline bağımlı glukoz kullanımına direncin bulunması diğer metabolik bozuklukların da bulunma olasılığını arttırmaktadır. Aterojenik dislipidemi olarak da adlandırılan TG yüksekliği, HDL kolesterol düşüklüğü, küçük yoğun LDL oranının artışı insülin direnci ile birlikte bulunabilir¹⁹.

Adipositokinler

Adiponektin: Yağ dokusundan salınan, antiaterosklerotik özellikleri olan bir plazma proteini. Plazmadan glukoz, trigliserid, serbest yağ asitlerinin temizlenmesini kolaylaştırır. Karaciğerde glukoz sentezini azaltır. Hasarlı damar duvarında inflamasyon mediyatörlerinin etkilerini bloke eder ve antiaterosklerotik etki gösterir.

Adiponektin düzeyi obez bireylerde azalmıştır ve ilginç olarak adiponektin seviyelerinin düzenlenmesi subkütan yağ dokusundan çok omental yağ dokusunda yapılmaktadır. Bu durum visseral adipozitenin metabolik sendrom ve insülin direnci ile olan bağlantısında uyumlu bir mekanizmadır.^{17,18,137,138,141,}

Leptin: Leptin yağ hücreleri tarafından sentezlenen, iştahı baskılayan ve termogenezi artıran, vücutta yağ dağılımını ve metabolizmasını etkileyen bir proteindir. Beslenme ve insülin seviyeleri ile sentezi değişir. Obez kişilerde ve insülin direnci olanlarda seviyeleri

artar. Özellikle kadınlarda daha fazla artmaktadır. Leptin eksikliğinde iştah artışı olur. Konjenital leptin eksikliği olan kişilerde ciddi obezite ve karaciğer yağlanması saptanması, leptinin insanlardaki enerji dengesini sağlamadaki önemini göstermiştir. Leptin IL-6, IL1 ve TNF- α üretimini artırır. TNF- α adipositlerde sentezlenir ve dokularda insülin direncine yol açar. Leptin insülin reseptör substratın (IRS) tirozin fosforilasyonuna sebep olarak insülin direnci oluşturması bakımından önemlidir. Plazma leptini için kardiyovasküler olayların gelişme riskini gösterdiği yönünde çalışmalar mevcuttur¹⁷.

Rezistin: Yakın zamanda tanımlanmıştır. Rezistin yağ hücresinden salgılanan 114 aminoasitli polipeptit yapıda bir hormondur. Artmış yağ dokusu ve insülin direnci ile ilişkilidir. Rezistinin glukoz metabolizmasına etkili, insülin antagonisti gibi çalışan hormon olarak görev yaptığı sanılmaktadır. Rezistin, farelerde intraperitoneal enjeksiyonu hedef hücrelerin glukoz toleransını ve insüline duyarlılığını azalttığı görülmüştür. Reseptörü henüz bilinmediğinden hedef hücreler ve dokular saptanamamıştır, karaciğer ve kasların hedef organ olabileceği düşünülmektedir. Rezistin farede en yüksek miktarda dişi gonadal yağ dokusunda ve erkek epididimal beyaz yağ dokusunda bulunur. Obezitenin derecesi ile yağ hücresi rezistin mRNA miktarı arasında korelasyon saptanmıştır^{30,31,32,33,34}.

İnsülin direnci ve hiperkoagulabilite

Hiperinsülinemi, karaciğerde fibrinojen ve plazminojen aktivatör inhibitörü 1 (PAI-1) yapımını uyarmaktadır, bu ikisi de aterogeneze rolü olan protrombotik durumu ortaya çıkarmaktadır. İnsülin direnci olan hastalarda arteriyel trombozis ve inflamasyonu uyaran koagülasyon faktörlerinde değişiklikler oluşur. Yaygın olarak endotel hücrelerinin aktivasyonu, LDL oksidasyon uyarımı, faktörVII, IX ve X, protrombin ve PAI-1 düzeylerinde artma olmaktadır.^{4,19}

İnsülin direnci ve peroksizom proliferasyonunu aktive edici reseptör (PPAR):

PPAR, Metabolik Sendrom, diabet ve dislipidemide anahtar rol oynayan bir reseptör grubudur. Transkripsiyon faktörleri olarak çok sayıda genin ekspresyonunu düzenlerler. PPAR'ın alfa(α), gama(γ), delta (δ) izoformları bulunmaktadır. PPAR- γ aterojenik dislipidemi ve inflamasyonda rol oynar. PPAR- γ ligandının aktivasyonu yağ asidi bağlayıcı protein gibi hedef genlerin transkripsiyonunu uyararak karaciğerde yağ asidi metabolizmasını kolaylaştırır. İnsülin duyarlılığının, lipid metabolizması, vasküler tonus, inflamasyon, kan basıncı üzerinde düzenleyici etkileri vardır. PPAR- γ izoformunun uyarılması insülin direncini önemli ölçüde azaltır ve ateroskleroz sürecini yavaşlatır.^{3,4,19}

İnflamasyon

Metabolik Sendromun düşük dereceli sistemik bir inflamatuvar süreç olduğuna ve immün sistemi aktive ettiğine dair ipuçları bulunmaktadır. İnflamasyon, doku hasarına karşı bölgesel koruyucu bir cevap oluşturarak IL-6 ve TNF alfa gibi sitokinler ile akut faz proteinleri olan CRP, kompleman, serum amiloid A, alfa 1 asid glikoprotein, haptoglobin ve fibrinojeninin sentezini uyarır. Endotel aktivasyonu veya endotel disfonksiyonu ile hücre adhezyon molekülü artar, monosit kemotaksisi ve subendotelyal bölgeye geçişi artar, endotelyal NO sentezi azalır. İnflamasyonun mu süreci başlattığı yoksa inflamasyonun insülin direnci ile ortaya çıkan endotel hasarının bir sonucu mu olduğu henüz net değildir.^{1,14,16, 94}

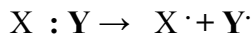
2.2. SERBEST RADİKALLER

Atomlarda elektronlar orbital adı verilen yörüngelerde dönerler. Her orbitalde normal şartlarda birbirine zıt yönde dönen elektronlar bulunur. Atomik yada moleküler yapıda çiftlenmemiş tek elektron bulunmasına ‘serbest radikal’ denir. Bu da en sık olarak elektron transfer zincirinde oluşan elektronların transferi ile oluşur. Serbest radikallerin bir başka oluşma şekli moleküldeki bağların homolitik olarak parçalanması sonucu elektronlardan her birinin farklı atomlar üzerinde kalması ile gerçekleşmektedir. Ayrıca iyonize radyasyonda serbest radikal oluşumuna sebep olur.

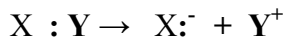
Serbest radikallerin temel kaynağı moleküler oksijendir. Oksijen molekülü reaktif olmamasına rağmen diğer radikallerle reaksiyona girme özelliğine sahiptir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere “oksidan moleküller” veya reaktif oksijen türleri (ROS) denir. Moleküler oksijenin indirgenmesi sonucunda süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türleri oluşur. Serbest oksijen radikalleri endojen olarak vücutta sentezlenen metabolik yan ürünlerdir. Vücutta normal veya patolojik olarak serbest radikaller üretilir. Bu ürünler hemen sentez edildikleri yerde detoksifiye edilmezler ise zararlı etkilerini oluştururlar⁷³.

Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler.

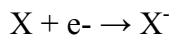
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birinin kaldığı homolitik bölünme



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi



Serbest oksijen radikalleri veya ROS birçok kompleks hastalığın (hipertansiyon, diabet, ateroskleroz, metabolik sendrom gibi) patogenezinde yer almaktadır.^{73,75}

Serbest radikaller membran enzimlerine ve reseptörlerine kovalent bağlanarak onların antijenik özelliğini ve taşıma fonksiyonunu bozar, poliansatüre yağ asidi/protein oranını değiştirirler.

Serbest radikal oluşumu lipid peroksidasyonu ile başlar ve zar yapısında yer alan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olur. Lipid peroksidasyonuna bağlı olarak organellerde fonksiyon bozukluğu oluşur, lizozomal fragilite artışı ile mikrozomal enzimlerde değişiklikler oluşur ve sonuçta hücre ölümü gerçekleşir. Serbest oksijen radikalleri özellikle hücre zarında hasara yol açarak lipid geçirgenliğini artırır ve lipoproteinlerin kana geçişine neden olur. Bu durum monosit ve makrofajların damar duvarına geçişini arttırarak aterogenezi hızlandırır. Serbest oksijen radikalleri damar düz kas hücrelerinin büyüme ve çoğalmasını uyarır, kovalent bağları etkileyerek protein, nükleik asit ve lipidlerin yapı ve fonksiyonlarını bozmaktadır.^{62,64,75,111}

Organizmada pek çok türde ROS oluşabilir:

1.Radikaller

Süperoksit radikali(O_2^-)

Hidroksil radikali (OH^-)

Alkoksil radikal (LO^-)

Peroksil radikal (LOO^-)

2.Radikal Olmayanlar

Hidrojen peroksit(H_2O_2)

Lipid hidroperoksit (LOOH)

Hipoklorik asit (HOCl)

3.Singlet Oksijen

Hidrojen peroksit membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir, fakat çiftlenmemiş elektrona sahip olmadığından radikal olarak adlandırılmaz. Bu nedenle "reaktif oksijen partikülleri", süperoksit gibi radikaller, ayrıca hidrojen peroksit gibi radikal olmayanlar için ortak olarak kullanılan bir terimdir. Oksijen

molekölü, orbitalinde çiftlenmemiş elektron taşıyorsa süperoksit radikali olarak adlandırılır. Normal oksijenden çok daha hızlı bir biyolojik molekül olan singlet oksijen molekülü yapısında iki adet çiftlenmemiş elektron taşır. Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksidlerin oluşumuna yol açar.

Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarının derecesi hücre içindeki koruyucu sistemlerin etkinlik derecelerine bağlıdır.^{91,105,106}

Reaktif Oksijen Partiküllerinin Kaynakları:

I - Normal biyolojik işlemler

- 1 - Oksijenli solunum
- 2 - Katabolik ve anabolik işlemler

II - Oksidatif stres yapıcı durumlar

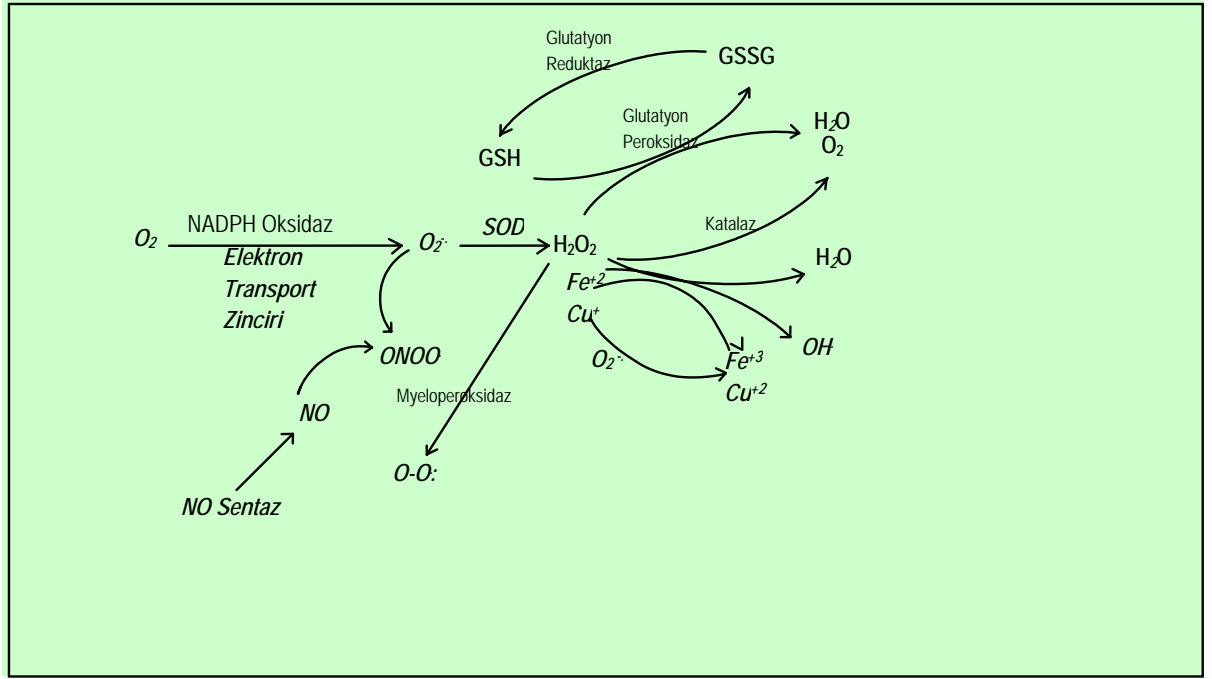
- 1 - İskemi - hemoraji - travma - radyoaktivite -intoksikasyon
- 2 - Ksenobiotik maddelerin etkisi
 - a-) İnhale edilenler
 - b-) Alışkanlık yapan maddeler
 - c-) ilaçlar
- 3 - Oksidan enzimler
 - a-) Ksantin oksidaz
 - b-) İndolamin dioksigenaz
 - c-) Triptofan dioksigenaz
 - d-) Galaktoz oksidaz
 - e-) Siklooksigenaz
 - f-) Lipooksigenaz
 - g-) Monoamino oksidaz
- 4 - Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu
- 5 - Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma (nötrofil, monosit, makrofaj, eosinofil, endotelial hücreler)
- 6 - Uzun süreli metabolik hastalıklar

7 - Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara

İşkemi, hemoraji, travma ve radyoaktivite gibi durumlarda mitokondrilerdeki aerobik oksidatif fosforilasyon dengesi etkilenir ve elektron taşıma sisteminden elektron kaçakları daha fazla olur ve ROS düzeyi artar. ROS'ların düzeyi, yaşlanma süreci ile paralel bir artış gösterir.

Glukoz gibi maddeler ROS'ları oluşturacak şekilde proteinlerle reaksiyona girerler. Diabetik hastalarda uzun süre yüksek kan glukozuna maruziyet yan etkileri kolaylaştırıcı "oksidatif stress" oluşumuyla sonuçlanır. İnfeksiyöz olaylarda lökotrien, prostaglandin gibi mediyatör maddeler nötrofil, eosinofil ve makrofajları aktive ederler, membrana bağlı NADPH oksidaz enzimi yoluyla ROS salınımına yol açarlar. İnfeksiyöz ajanlarla savaş için gerekli olan ROS'lar kan hücreleri tarafından aşırı miktarda sentezlenecek olurlarsa bu kez yarar yerine zararlı olmaya bařlarlar¹⁰⁶.

Nitrik Oksit(NO) bir adet çiftlenmemiş elektrona sahiptir ve bu nedenle ROS olarak kabul edilebilir. Vasküler endotel aynı zamanda az miktarda süperoksit radikali sentez yeteneğine de sahiptir. Hem NO hem de süperoksit radikali ile reaksiyon sonucu oluşabilecek bazı yan ürünler sitotoksik olmasına karşın NO ve süperoksit radikali etkileşiminin vasküler tonüs düzenlenmesi üzerine yararlı etkilerinin olduğu da bildirilmiştir^{107,108}.



Şekil 1. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu⁶²

1.Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$): Moleküler oksijenin indirgenmesi ile oluşur ve oluştuğu yerden fazla uzağa diffüze olamaz. Bu radikalin moleküler düzeyde önemli özelliği, sekonder olarak ürettiği radikallerdir (Şekil 1).

Doğal oksijen molekülünün başka bir molekülden elektron almış hali olan $O_2^{\cdot-}$ mitokondriyal elektron transfer zincirinde redükte nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)'in okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+)'e çevrilmesi ile üretilir. $O_2^{\cdot-}$ genel olarak anyon şeklinde tarif edildiği halde, ortamın pH'ına bağlı olarak protonlanarak katyon haline dönüşebilir. Bu durumda perhidroksi radikali (HO_2^{\cdot}) ismini alır. $O_2^{\cdot-}$ bir serbest radikal olmakla birlikte, kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemli olan, H_2O_2 kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. $O_2^{\cdot-}$, nötrofillerin bakterisidal aktivitesi, apoptozis, inflamasyon ve vasküler fonksiyonların regülasyonu

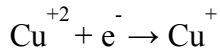
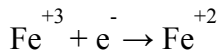
gibi yararlı etkilere sahiptir. Azalmış $O_2^{\cdot -}$ düzeyleri, bakteriyal enfeksiyonlara artmış bir yatkınlığa yol açabilir^{64,80,81,104}.

Artmış $O_2^{\cdot -}$ düzeyleri ise süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene dönüştürülerek azaltılır. Böylece hücrel süperoksit düzeyleri sıkı kontrol altındadır^{62,64}.

2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) : Doğal oksijen molekülü başka bir molekülden iki elektron almışsa peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki H molekülü ile birleşirse H_2O_2 oluşur. H_2O_2 süperoksidin süperoksit dismutaz enzimi ile dismutasyonu sonucu veya spontan olarak da üretilebilmektedir. H_2O_2 radikal değildir. Ancak üretildiği bölgede kalan $O_2^{\cdot -}$ aksine membranları geçen, sitozole diffüze olan ve uzun ömürlü bir oksidan olarak bilinir. Süperoksitle reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. H_2O_2 başka bir şekilde de serbest Fe^{+2} ile reaksiyona girerse demir okside olurken hidroksil radikali oluşur^{62,64,75}.

3. Hidroksil Radikali (OH^{\cdot}) : Hidroksil iyonu, bilinen en reaktif radikaldir. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler ile reaksiyona girebilir. Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H^{+} 'in birleşmesinden oluşur. Gamma radyasyona maruz kalan dokularda da hidroksil radikali oluşabilir^{62,64,74,76}

Geçiş Metalleri



gibi bir elektronun alınması ve verilmesi durumlarında bu serbest metal iyonları radikal reaksiyonunu hızlandırır. Metal iyonları lipid peroksidasyonu esnasında rol oynarlar. Oluşmuş lipid hidroperoksitlerin parçalanmalarını ve lipid peroksidasyonunun zincir

reaksiyonunu katalize eder. Böylece daha az zararlı olan radikalleri daha zararlı hale getirirler^{57,92}(Şekil 1).

Lipid Peroksidasyonu

Membranda bulunan yağ asitleri(araşidonik asit) ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olabilir. Serbest radikallerin hücre zarlarındaki yağ asitleri ile reaksiyona girerek sonuçta zar bütünlüğünün bozulması ile sonuçlanan reaksiyon dizisine lipid peroksidasyonu denir. Bu sürecin başladığını gösteren en iyi gösterge malondialdehid (MDA)dir^{60,69}.

İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve ‘lipid radikalini’ oluşturur. Lipid radikali de oksijenle reaksiyona girerek ‘lipid peroksil radikalini’ oluşturur. Lipid peroksil radikali de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur^{64,69}. Ayrıca lipid peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek ‘lipid hidroperoksidleri’de oluştururlar. Lipid peroksidler daha sonra (MDA) ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler.

Lipid peroksidasyonunun başlıca son ürünlerinden MDA oksidan hasarı değerlendirmede sıklıkla kullanılır. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar.

Lipid peroksidasyonu hücrenel bileşenlere en çok zarar veren reaksiyonlardan biridir. Lipid peroksidasyonunun kontrolü çok önemlidir. Bu amaçla hem endojen hem de eksojen kaynaklı antioksidanlar kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda antioksidan suplementasyonu plazma antioksidan düzeylerini önemli derecede arttırmaktadır.^{102,108,109}

Antioksidan Enzimler

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir. Oksidanları tutarak daha zayıf bir moleküle dönüştürmektedirler. Antioksidan savunma elemanları hücre içi ve hücre dışı ortamda farklıdır. İnsanda bellibaşlı **hücre içi** antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleridir. SOD'un yapısında bakır, çinko ve manganez; GPx'de ise selenyum iyonu bulunduğundan bu enzimler 'metalloenzim' olarak da adlandırılırlar^{52, 54,55}.

Hücre içi ortamın aksine **hücre dışı** ortamda antioksidan savunmadan E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin, bilirubin, P karoten ve α -1 antitripsin sorumludur. Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler.

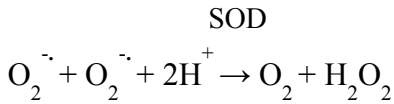
1. Scavenging (temizleme) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki enzimler tarafından yapılır.
2. Quencher (baskılama) etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olan bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır.
3. Onarma etkisi
4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metaller şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır.^{52,60}

1. Süperoksit Dismutaz (SOD): Süperoksidin hidrojen peroksit dismutasyonunu katalize eden bir metalloenzimdir. 3 tür SOD enzimi vardır. Birincisi mitokondride lokalize Mn-SOD, ikincisi sitozolde lokalize Cu-Zn SOD ve üçüncüsü de Cu içeren ve plazmadaki süperoksit radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu-SOD'dır . Oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunan SOD ve GPx enzimleri serbest oksijen radikal toksisitesine karşı önemli defans mekanizmalarını oluştururlar. SOD, Glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimler serbest radikallerin oluşmasını ve lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyen enzimlerdir⁵⁵.

SOD enzimi toksik süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Vücutta üretilen bir serbest radikal olan O_2^- anyonu SOD tarafından H_2O_2 'e çevrilir.

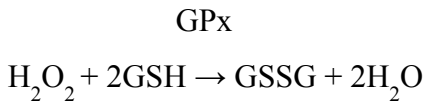
H_2O_2 'in kendisi serbest radikal olmadığı halde OH^- radikali üretimine yol açtığından toksik etki gösterir. H_2O_2 CAT ve GPx tarafından temizlenir. Bu enzimler enzimatik antioksidan savunma sistemini oluştururlar. Normal koşullarda hücrede oluşan hidrojen peroksidin detoksifikasyonunda esas olarak bir selenoenzim olan GPx fonksiyona sahiptir.

52,60,67



2.Katalaz (CAT): Peroksizomlarda lokalizedir. SOD'ın oluşturduğu H_2O_2 'i katalaz peroksidazlarla beraber oksijen ve suya parçalar. GPx'in H_2O_2 'e karşı K_m 'i katalaza göre daha düşüktür. Yani düşük konsantrasyonlarda H_2O_2 'i GPx parçalar, yüksek konsantrasyonlarda ise CAT aktivite kazanır. Katalaz aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğundur.^{60, 74,76}

3.Glutatyon Peroksidaz (GPx): Redükte glutatyonu(GSH) yükseltirken H_2O_2 'i de suya çevirir ve böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korur.



E vitamini yetersiz olursa membranı peroksidasyona karşı korur. Eritrositlerde en kuvvetli antioksidandır. GPx yetersizliği selenyum eksikliği sonucu olabilir. Çünkü selenyum bu enzimin integral parçasıdır.

GSH(redükte glutatyon) enzimatik olmayan savunma sistemi elemanlarından olup GPx aktivitesi için gereklidir. GPx iyi bilinen doğal bir antioksidandır.

GPx organik peroksitleri indirgenmiş GSH ile elimine eder. GPx toksik hidroperoksitlerin alkol ve suya indirgenmesini okside glutatyon(GSSG) ile meydana getirir. GSSG tekrar NADPH yardımı ile GSH'a dönüşür(Şekil1).

Antioksidan enzimlerin aktivitesi ile zararlı oksijen kaynaklı hidroksil radikalinin oluşumu engellenir^{62,64}.

4. Glutatyon Redüktaz: Yükseltgenmiş(Okside) glutatyonu indirgenmiş hale çevirir. Glutatyonun indirgenme reaksiyonu sırasında sıklıkla elektronlar NADPH'dan FAD'ye transfer edilir.Daha sonra GSHın iki sisteini arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle okside glutatyona aktarılmış olur .^{69,73}

5. Glutatyon S-Transferaz (GST): Toksik metabolitlerle glutatyonun konjugasyonunu katalizleyen GST enzimi de toksik metabolitlerin detoksifikasyonunu sağlayan başka bir antioksidan enzimdir⁶⁹.

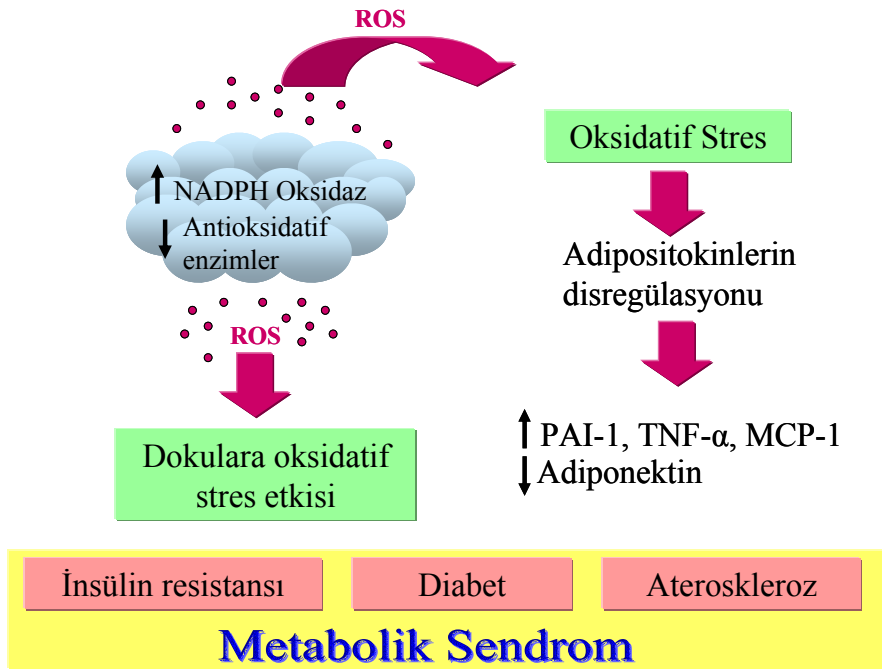
E ve C vitamini de hücre içi antioksidan özelliğe sahiptir. Her ikisi de hücre membranlarındaki lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kıran antioksidanlardır. Antioksidan savunma sistemi üretilen serbest radikalleri temizlemekte yetersiz kaldığı zaman serbest radikallerin hücre komponentlerine saldırması ile hasar ve sonuçta hücre ölümü meydana gelir. E ve C vitamininin düşük plazma konsantrasyonları ile birlikte olan artmış myokardial infarktüs sıklığı bunu kanıtlamaktadır. Bununla birlikte C vitamini hidrojen peroksit varlığında demir veya bakır iyonlarıyla birlikte reaksiyona girerek oksidan özellik de göstebilir.^{76,92,107}

2.3. METABOLİK SENDROM VE OKSİDATİF STRES İLİŞKİSİ

Birikmiş yağda artmış oksidatif stres obezite ile ilişkili Metabolik Sendromun en önemli patojenik mekanizmasını oluşturmaktadır. Oksidatif stres prooksidan ve antioksidan faktörlerin prooksidanlardan yana dengesizliği şeklinde tanımlanmıştır. Obezitede birikmiş yağdan periferal kana ROS sekresyonu artmıştır^{48,54}. Birikmiş yağda artan oksidatif stres sistemik oksidatif stresi indüklemektedir. Bu durum iskelet kasında ve adipoz dokuda insülin direncine neden olmaktadır (Şekil 2.)^{21,37,53,56,58}.

Oksidatif stres pankreas beta hücrelerinden insülin sekresyonunu ve hücre içine glukoz alınımını bozar. Hipertansiyon ve aterosklerozis damar duvarının artmış oksidatif stres ile etkilemesinden kaynaklanmaktadır. Sistemik oksidatif stres vücut kitle indeksi(BMI)ile orantılı olarak artmaktadır. Plazma adiponektin seviyeleri sistemik oksidatif stres ile ters rantlı olarak koreledir^{63, 64,78,85,86}.

Oksidatif stres niçin birikmiş yağda artmıştır? Obez farelerin beyaz yağ dokusunda NADPH oksidaz alt birimlerinin mRNA sentezi artmıştır. Antioksidan enzimlerin aktiviteleri ve mRNA sentezi ise azalmıştır^{79,87,88,89,90,110,114}.



Şekil2. Birikmiş yağ dokusundaki ROS üretimi metabolik sendroma nasıl sebep olur?⁵⁸

2.4. NİTRİK OKSİT

Endotelyal gevşetici bir faktörün varlığı ve bu faktörün nitrik oksit (NO) olduğu ilk kez Palmer ve arkadaşları tarafından 1987 yılında gösterilmiştir. 1988 yılında NO'nun vücutta haberci bir molekül olarak fonksiyon gördüğü merkezi sinir sisteminde gösterilmiştir. Bir yıl sonra NO'yi sentezleyen enzimin varlığı gösterilmiş ve 1990 yılında enzim beyin homojenatlarından saflaştırılmıştır. NO sentezi için kullanılan öncül molekül L-arjinin amino asididir. NO'nun arjinden sentezi Nitrik Oksit Sentaz(NOS) enzimi ile iki basamakta gerçekleşir. Tepkimenin ilk basamağında L-arjinin aminoasiti guanidin-nitrojen terminalinden NOS enzimi tarafından hidroksillenir. Bu ara ürün oldukça stabildir. Enzime sıkı bağlı olan ara ürün ikinci aşamada sitrülün ve NO'ye çevrilir. NO endotelyal hücre yüzeyine etki eden uyarıcılara yanıt olarak üretilir. L-arjinden NO sentezi için NOS ve kofaktörleri (BH₄, FAD, FMN ve NADPH) gereklidir^{22,23}.

NO salınımına neden olan uyarıcılar

Asetilkolin, Katekolaminler

Kan akımı (*shear stress*)

Bradikininler

Serotonin, ADP, ATP

Histamin, platelet aktive edici faktör

Trombin

Kan damarlarında kanın akış hızının artması endotel hücreler üzerinde mekanik bir kuvvet (*shear stress*) oluşturarak NO'nun sentez ve salınımını artırır²⁴. *Shear stress* potasyum kanallarının aktivasyonuna neden olarak hiperpolarizasyona, hiperpolarizasyon ise Ca⁺² girişine neden olarak NO sentezini artırır. Bunun yanında epinefrin, norepinefrin, histamin, vazopressin, asetilkolin, bradikinin, ADP, ATP, trombin, insülin, endotelin ve 5-hidroksitriptamin gibi moleküller endotel hücre reseptörlerine bağlanarak fosfolipaz C enzimini aktive ederek sonunda Ca⁺² aracılığı ile eNOS enzim aktivasyonuna yol açarlar. NO sentezini artırırlar^{22,23}. NO renksiz bir gaz olup serbest radikal özelliğine sahip bir

moleküldür. Dış orbitalinde paylaşılmamış tek elektron bu moleküle radikal özelliği kazandırır. NO diğer radikaller aksine kendi reaktivitesini baskılar bu nedenle reaktivitesi son derece düşüktür, stabildir ve sentezlendiği yerden daha uzak mesafelere difüzyonu kolaydır. Fizyolojik koşullarda dayanıksız olup hızla nitrit ya da nitrata oksitlenerek ortamdan kaybedilir²².

2.4.1. Nitrik Oksit Sentaz Enziminin İzofomları

Nitrik oksit sentezini katalizleyen NOS enzimlerinin a)konstitütif (cNOS) b)indüklenebilir (iNOS) olmak üzere iki temel izoformu bulunur. İki çeşit konstitütif enzim bulunmaktadır. Bunlardan birisi endotelial NOS(eNOS), diğeri nöronal NOS(nNOS)dur. eNOS ağırlıklı olarak zarsal bir enzimdir ve endotel kaynaklı gevşeme faktörünün (EDRF) sentezinden sorumludur. eNOS, iki globuler protein molekülünden oluşmaktadır (redüktaz ve oksijenaz segmentleri). Bu iki segment esnek protein yapı ile birbirine bağlanmıştır. Oksijenaz segmenti, NO üretimi için gerekli olan katalitik merkezden oluşur. L-arjinin, tetrahidrobiopterini (BH4) bağlar. Redüktaz segmenti, NO sentezi için NADPH'a bağlanarak dehidrojenasyonu katalize etmek için gerekli olan elektronları üretir. Elektronlar esnek protein yapıdan oksijenaz segmentine transfer edilir. Bu elektron transferi kalmodulinin (CaM), esnek protein parçasındaki spesifik bağlanma bölgesine kalsiyum aracılığıyla bağlanmasıyla aktive edilir.

nNOS, MSS ve nöronlarda haberci molekül olarak kullanılan NO sentezinden sorumludur. Konstitütif enzimlerin aktiviteleri mutlak olarak Ca^{++} /kalmodulin bağımlıdır. NOS enzimlerinin indüklenebilir olan izoformu (iNOS, NOS III) alt birim olarak kalmoduline ihtiyaç duyar. Aktivitesi için Ca^{++} 'a ihtiyaç yoktur. iNOS enziminin sentezini lipopolisakkaritler gibi çeşitli bakteriyel ürünler ile inflamatuvar sitokinler indüklerler (INF- γ , IL-1,IL-2,TNF- α gibi). iNOS sadece fagositik lökositlere özgü olmayıp uygun indüksiyonla tüm çekirdekli hücreler tarafından sentezlenebilir. NOS enzimlerinin aktiviteleri tamamıyla koenzimlere bağımlıdır ve NO sentezini katalizlemeleri için dimer yapı oluşturmaları gerekir. Bu enzimler alt birim başına FAD, FMN ve THB'e (tetrahidrobioptine) gereksinim duyarlar.^{22,23}

Nitrik Oksit Fonksiyonları

Endotel hücresi tarafından sentezlenen NO, difüzyonla düz kas hücrelerine geçerek guanilat siklazı aktive edip cGMP seviyesini artırır. cGMP düz kas hücresi içindeki cGMP bağımlı protein kinazı aktive eder. Bunun sonucunda potasyum kanalları fosforile, Ca^{+2} kanalları hiperpolarize olur. Hücre içi Ca^{+2} miktarı azalır ve bu da düz kas hücresinde gevşemeye yol açar. NO, cGMP yolundan başka sodyum ve potasyum kanallarını doğrudan aktive ederek de vazodilatasyona katkıda bulunur.

Endotel disfonksiyonunun esas göstergesi, NO tarafından sağlanan, endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasıdır. Endotelden elde edilen NO vasküler tonüsü etkiler, vazodilatasyona sebep olur. Nitrik oksit endotel bağımlı vazodilatasyonu; Anjiyotensin II ve endotelin gibi endotel kaynaklı vazokonstriktörlerin etkisine karşı koyarak sağlar. Trombosit aktivasyonunu, nörotransmisyonu, savunma mekanizmasını düzenler. Vasküler duvara hücrel adhezyonu önler, platelet agregasyonunu inhibe eder.

NO, lökosit endotel hücre adezyonunu inhibe eder. NO'in adezyon moleküllerinin sentezini baskılamasının nükleer transkripsiyon faktörü olan NFkB üzerindeki inhibitör etkisi aracılığı ile gerçekleştiği kabul edilmektedir. NO mast hücrelerinden degranülasyon ile histamin salınımını ve PAF sentezini, platelet aktivasyonu ve agregasyonunu inhibe eder. Bu etki hücre içinde cGMP ve 'cGMP bağımlı protein kinaz aktivite kontrolü' ile olmaktadır. NO LDL modifikasyonunda değişme, platelet ve lökosit fonksiyonları, düz kas hücre proliferasyonu ve vasküler homostazisin devam ettirilmesinde rol alır. NO vasküler düz kas hücre proliferasyonunu(neointimal hiperplazi gelişimi) inhibe eder. Bu etkisini düz kas hücrelerinin apoptozisini indükleyerek yapar.

NO, yukarıda sayılan tüm bu etkilerinden dolayı güçlü antiaterojenik özelliklere sahiptir^{22,24}.(Tablo 5.)

Tablo5. Nitrik Oksit Fonksiyonları

Antioksidan fonksiyonu
Platelet agregasyonunun inhibisyonu
Antiinflamatuvar etkileri
Düz kasların gevşemesi
TNF toksisitesine karşı etkileri
Hücre adezyonunun kontrolü
Damar geçirgenliğine etkileri
İmmün sistemdeki fonksiyonlar

Nitrik Oksit Regülasyonu

Tetrahidrobiopterin(BH4) eNOS aktivitesini düzenleyen bir kofaktördür. Sağlıklı insanlarda bu kofaktörün uygulanması herhangi bir etki oluşturmaz, fakat hiperkolesterolemik veya sigara içen kişilerde bozulmuş olan NO aktivitesini düzeltebildiği gösterilmiştir. NO sentezi için BH4 kofaktör olarak gereklidir. NOS substratı olan L-arjinin ve BH4 yetmezliği; eNOS'un ayrışmasına yol açar. Reaksiyon NO yerine süperoksit (O_2^-) üretimiyle sonuçlanır. Bu etki 'NOS uncouplingi' olarak adlandırılır^{23,24}.

NO aktivitesinin en önemli düzenleyicilerinden biri O_2^- anyonudur. O_2^- anyonları çoğunlukla NADPH oksidaz ile sentezlenir. NO'nin kararsızlığına neden olurlar. O_2^- ve NO unstabil moleküllerdir ve reaksiyona girerek peroksinitrit bileşimini oluştururlar. Peroksinitritten diğer serbest oksijen radikali türleri oluşur. NO bu durumdan antioksidan özellikteki endotele bağlı süperoksid dismutaz (eSOD) enzimi ile korunmaktadır. Normal metabolizmanın bir ürünü olarak tüm hücrelerde devamlı sentezlenen süperoksit anyonu diğer serbest radikallerle reaksiyona girebilir veya süperoksit dismutaz tarafından hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürülebilir.^{22,23,24}

2.5. Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA)

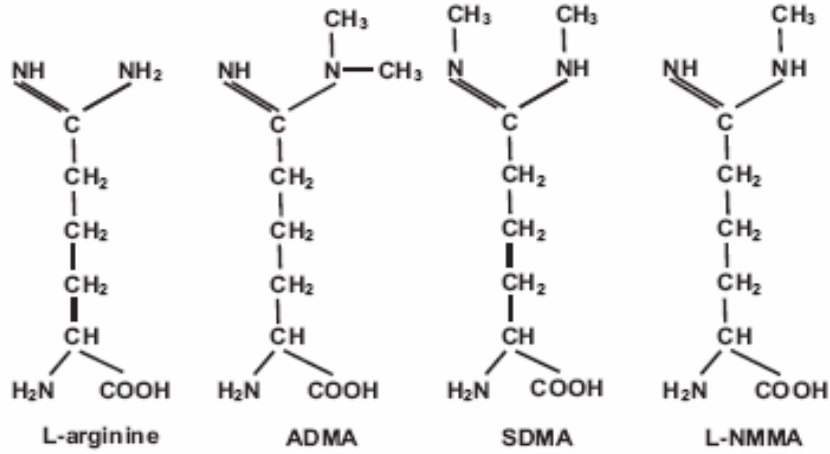
Endotel, vasküler yapının ve tonusun devam ettirilmesinde önemli rol oynar. Endotelden elde edilen temel vazoaaktif maddelerden biri nitrik oksittir. Asimetrik dimetil arjinin (ADMA), NO sentezini sağlayan NOS enziminin endojen yarışmalı inhibitörüdür. Arjinin aminoasitinin posttranslasyonel modifiye formudur. L-arjininin hücre içi metiltransferaz enzimleri ile metillenmesiyle üretilmektedir. Metillenme protein arjinin metil transferaz 1 ve 2 (PRMT) enzimi ile olmaktadır. PRMT enzimleri, S-Adenozil metioninden (SAM) metil grubunu L-arjinine transfer ederek proteinlerdeki arjinin rezidülerinin guanidin gruplarına metil gruplarının eklenmesini sağlar(Şekil 4). Metil grubu vericisi SAM, S-Adenozil homosisteine (SAH) dönüşür. SAH, homosisteine hidrolize olur.^{23,26,27,122}

Metillenmiş proteinlerin proteolitik katabolizması ile serbest metilarjinin rezidüleri salınır. ADMA, Simetrik dimetilarjinin (SDMA) ve N-monometil-L-arjinin(L-NMMA) sentezlenir. SDMA ve L-NMMA ADMA'nın izomerleridir. (Şekil3.) ADMA NOS enziminin üç formunu da kompetatif olarak inhibe eder. L-Arjininin yüksek konsantrasyonları ile bu inhibisyon geriye döndürülebilir. Bu olaya 'arjinin paradoksu' denilmektedir. L-NMMA, ADMA kadar güçlüdür. NOS aktivitesini azaltır. Ancak plazma konsantrasyonu ADMA konsantrasyonundan 10 kat daha düşüktür. ADMA ile eşit konsantrasyonlarda üretilen SDMA'nın NOS aktivitesine etkisi yoktur¹²².

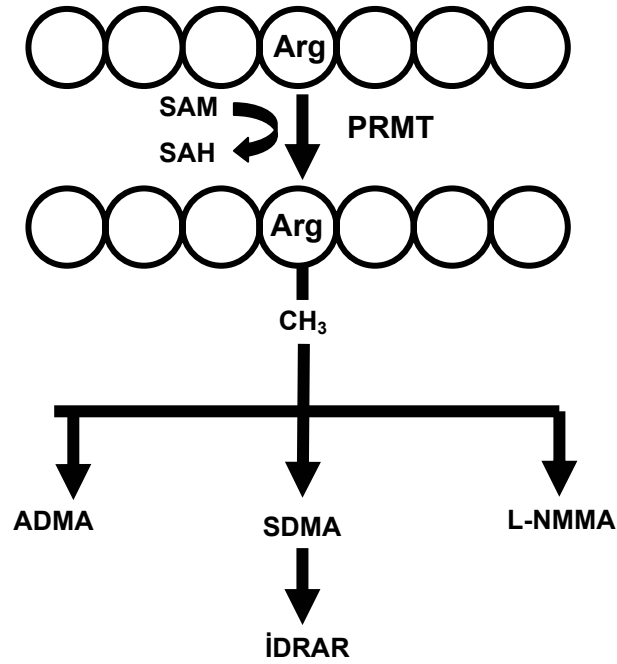
Metil arjininlerin sentezinden sorumlu PRMT enzimleri iki çeşittir. PRMT1 enzimi ile L-NMMA ve ADMA oluşur. PRMT 2 enzimi ile L-NMMA ve SDMA oluşur. Metillenme irreversibldir. Bu metillenen proteinler nükleusta bulunur ve RNA'nın işlenmesinde ve transkripsiyonel kontrolünde rol oynar. Üç metil arjinin de (ADMA, SDMA ve L-NMMA) endotel hücrelerine katyonik aminoasit taşıyıcısı (y taşıyıcısı) ile girer. Bu taşıyıcının aktivitesi kaveolin bağlı NOS ile düzenlenir. Üç metilarjininden her biri hücreye giriş için arjininle yarışa girer. ADMA'nın yüksek konsantrasyonları L-arjininin hücre içine taşınmasını engeller. NO sentezinde azalma ile sonuçlanır. Y taşıyıcı

aktivitesi metil arjininlerin lokal konsantrasyonlarında önemlidir. Bu taşıyıcı sistem metilarjininleri endotel hücrelerinde konsantre eder. Bu nedenle hücre içi konsantrasyonları sirkülasyondan daha fazladır. Y taşıyıcı sisteminde defekt olması sirkülasyonda daha fazla ADMA konsantrasyonlarına yol açar. Azalmış NO biyosentezi ile sonuçlanır.^{38,39}

Serbest metilarjininlerin miktarı hücrenin protein turnover hızı ve metabolik aktivitesi ile ilişkilidir. İskemik kalp, diyabet, muskuler distrofi gibi çeşitli hastalıklarda protein katabolizması artmıştır. Artan metilarjininler NOS'ı inhibe eder. Artmış kan basıncı, azalmış kan akımı ile sonuçlanır. Artmış ADMA konsantrasyonları endotel disfonksiyonunu gösterir, ve kardiyovasküler mortalite ve morbiditeyi tahmin etmede uygun bir gösterge olarak kabul edilmektedir.^{40,46}



Şekil3.Endojen metilarjininlerin yapısı¹²²



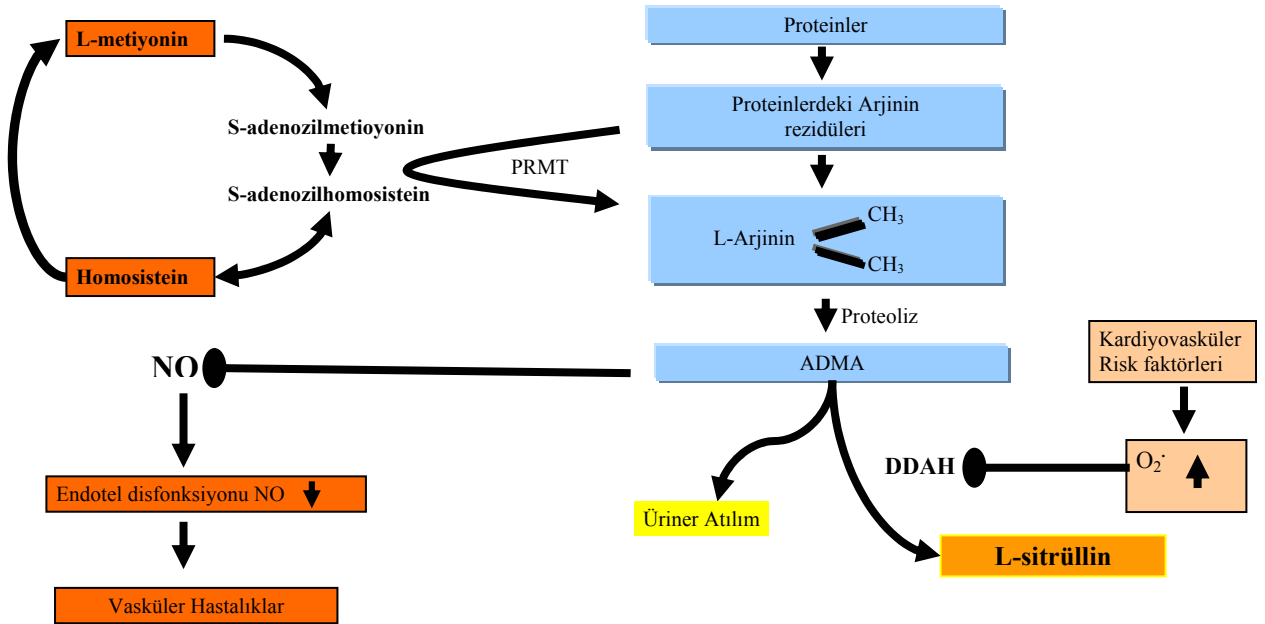
Şekil 4. ADMA Sentezi ve Metabolizması ve ilişkili bileşikler¹²²

ADMANIN REGÜLASYONU

ADMA ve L-NMMA'nın %90'ından fazlası dimetilarjinin dimetil amino hidrolaz (DDAH) enzimi ile metabolize olur. DDAH metilarjininleri sitrülün ve dimetilamine veya monometilamine parçalar(Şekil5). DDAH enziminin iki izoformu vardır. Bu izoformlar benzer gen yapısı ve benzer enzim aktivitesine sahiptirler ancak dağılımları farklı dokulardadır. DDAH1 enzimi nöronal NOS eksprese eden dokularda, yüksek olarak beyin, karaciğer, adrenal bez, testis ve böbrekte, DDAH 2 enzimi, kalp, aorta, plesanta gibi endotel NOS ve indüklenebilir NOS eksprese eden dokularda bulunmaktadır. DDAH enziminin farmakolojik inhibisyonu ADMA konsantrasyonunu artırır, NO üretimini azaltır. DDAH aktivitesi oksidatif strese aşırı duyarlıdır. İnflamasyon ve oksidatif stres DDAH aktivitesini azaltır. DDAH aktivitesi TNF- α veya okside LDL ile indüklenebilir oksidatif stres ile de azalmaktadır. DDAH enziminin inaktivasyonu ADMA eliminasyonu

bozulmasına ve ADMA seviyelerinin artmasına ve NO üretiminin azalmasına sebep olur.^{26,40,43,44,50,129}

ADMA normalde plazmada 1uM den daha azdır. Kronik renal yetmezlikte ise belirgin olarak ADMA konsantrasyonu artmaktadır. Son dönem böbrek yetmezliğinde konsantrasyonu 10 kat artar. Artmış ADMA seviyeleri renal yetmezlikli hastalarda kardiyovasküler olayları tahmin etmeye yardımcı eder^{83,117,122}. ADMA'nın hayvan modellerinde direkt olarak aterosklerozisi artırdığı gösterilmiştir. ADMA'nın plazma seviyelerini 9 kat arttıran infüzyonu ile kan basıncı %15-20 artmış, kan akımı ise azalmıştır⁵⁰.



Şekil 5. ADMA'nın biyokimyasal yolları³⁸

Eksojen L-arjinin verilmesi NOS enzim aktivitesine neden olur. Çalışmalarda L-arginin verilerek, hiperkolesterolemik kişilerde endotel fonksiyonun önemli derecede düzeldiği, ADMA'nın zararlı etkilerinin ters çevrildiği gösterilmiştir. Yine yüksek ADMA konsantrasyonuna sahip kalp yetmezliği olan hastalara L-arginin suplementasyonu Larginin/ADMA oranını 2 kat arttırmış ve endotele bağlı vazodilatasyon düzelmiştir⁵⁹. Sağlıklı kişilere (düşük ADMA konsantrasyonuna sahip) L-arjinin verilmesi endotele bağlı vazodilatasyonu etkilememiştir L-arjinin ADMA'yı NOS'ın aktif bölgesinden çıkartarak etki göstermektedir^{46,47,97}

ADMA nın birikimi; 1.PRMT enzimi ile proteinlerin artmış metilasyonu,

2. Şekillenmiş metilarjininlerin Artmış proteolizi ve salınımı

3.Bozulmuş renal atılım

4.DDAH ile bozulmuş metabolizma olmak üzere dört yolla olmaktadır(Şekil5)^{40,43}. Tüm ciddi hastalıklarda, şiddetli inflamasyon ve organ yaralanmalarında proteolizis artmıştır. Artmış proteolizis, azalmış eliminasyon ADMA birikimine sebep olur. Ciddi hepatik yetmezlikli hastalarda plazma ADMA konsantrasyonu yükselmektedir. Bu durum ADMA metabolizmasında karaciğerin önemli rolü olduğunu düşündürmektedir^{40,44}

2.6. METABOLİK SENDROM ve ADMA İLİŞKİSİ

Metabolik sendrom bileşenlerinden hiperkolesterolemi ve hipertansiyonda, arterial darlıklarda, hipertiroidizm, kronik renal yetmezlik , preeklampsi, Tip2 diabet, gestasyonel diabetde ADMA seviyeleri yükselmiştir. Endotel disfonksiyonu aterosklerozun erken evresini gösterir. ADMA endotel disfonksiyon belirteci olarak kardiyovasküler hastalık riskini tahmin etmede önemlidir⁴⁴.

Hiperinsülinemi veya hiperlipidemi ya ADMA üretimini stimüle etmekte veya ADMAnın yıkım veya üretiminden sorumlu enzimlerin aktivite veya seviyesinde değişiklik oluşturmaktadır(Şekil6). Yakın zamanda hipergliseminin, ADMA yıkımını katalizleyen DDAH seviyelerini azaltarak ADMA seviyelerinde artışa sebep olduğu

gösterilmiştir. Yine yapılan çalışmalarda Metabolik sendromun çeşitli metabolik anormalliklerine hedef önlemlerin alınması, insülin sensitize edici tedavilerin uygulanması ADMA seviyelerini azaltmıştır^{39,42}. Glukoz ADMA'yı arttırır, hiperglisemik insülin eksikliği olan ratlarda insülin tedavisi glukozu azaltmış ve yüksek seviyelerdeki ADMA düzeylerini normal seviyeye getirmiştir^{41,49}.

Endotelin1 (ET1) ve NO birbirlerinin antagonisti olarak vasküler tonusun saptanmasında birlikte fonksiyon görürler. NO antiaterosklerotik olarak ET1 proaterosklerotik etkilidir.^{42,44} NO ve ET1 arasında dengenin bozulması vasküler tonusu etkilemektedir. Kültüre edilmiş endotel hücrelerinde insülin ET1 üretimine ve salınımına neden olmuştur. Hiperinsülinemi ile sirkülasyondaki ET1 düzeyleri artmıştır^{45,49,5140,43}. BH4 NOS enziminin kofaktörüdür. Dislipidemi veya hiperinsülinemi BH4ün oluşumunu etkilemektedir. İnsülinin fosfatidil inositol -3 kinaz bağımlı etkisi BH4 üretimini stimüle eder. İnsülin direncinde bu etki bozulmuştur. İnsülin direncinin derecesi ile doğru orantılı olarak ADMA seviyeleri artmaktadır^{36,44,45,51}

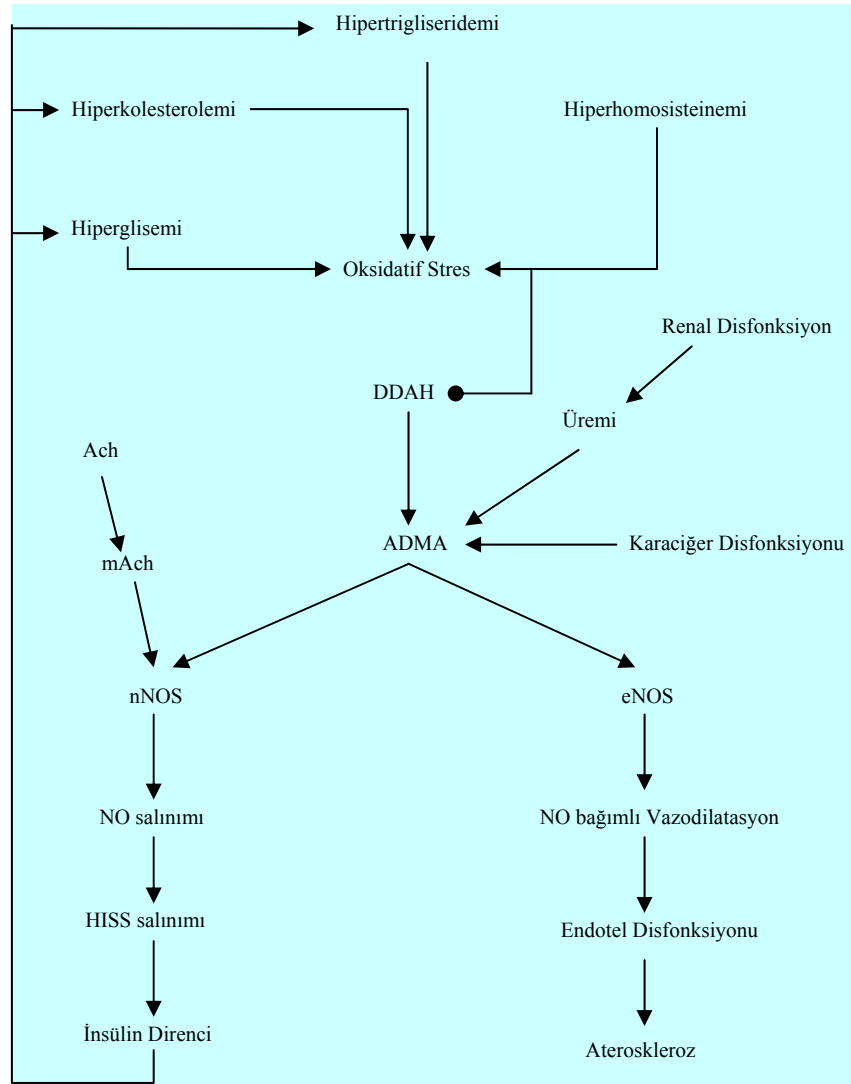
2.7. ADMA VE OKSİDATİF STRES İLİŞKİSİ

Endotel disfonksiyonu, aşikar koroner ateroskleroza olan veya kardiyovasküler hastalık açısından riskli hasta grubunda bulunmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda endotel fonksiyonun periferden ve koroner sirkülasyondan değerlendirilmesinin gelecekteki kardiyovasküler olaylar için önemli bilgi sağlayacağı saptanmıştır^{47,66,83}.

Endotelial NOS sentezinde veya aktivitesinde azalma, oksijen türevi serbest radikallerin sentezinde artma endotel disfonksiyonuna neden olan faktörlerdir. Hipertansiyonda, hiperlipidemide, hiperhomosisteinemide, koroner arter hastalığında, periferik arter darlıklarında, konjestif kalp yetmezliğinde, stroke, pulmoner hipertansiyon ve son dönem böbrek yetmezliğinde ADMA seviyeleri artmıştır. ADMA ile oluşan endotel disfonksiyonu mekanizması; vasküler NO elde edilebilirliğinin azalması, vasküler süperoksit seviyelerinin artması ile olmaktadır.^{61,65,68}

Endotelden elde edilen gevşetici faktör NO güçlü antiaterosklerotik özelliklere sahiptir. Aterosklerozisi başlatan ve arttıran tüm durumlarda NO in mutlak veya relatif eksikliği vardır.

Damarlar normal şartlarda süperoksid salınımı yaparlar. Patofizyolojik durumlarda ROS üretimi artar¹⁰³. Vasküler duvarda süperoksid kaynakları NADPH oksidaz , ksantin oksidaz, mitokondrial NADH dehidrogenaz, sitokrom P450, siklooksijenaz, lipooksijenazdır⁸⁴. Bu enzimlerin yanında lipid peroksidasyonu, lipoprotein oksidasyonu, hidrojen peroksit, peroksinitrit ve myeloperoksidazın da vasküler NO elde edilebilirliğinde önemi vardır.^{81,82} ADMA katabolizmasından sorumlu olan DDAH enziminin aktif bölümünde sistein aminoasiti olup oksidasyona duyarlıdır. ROS ile oksidasyon sonucu enzim aktivitesi azalmaktadır^{84,113}. ADMA, myeloperoksidaz(MPO) ve paroksanaz1(PON 1) direkt olarak aterosklerozisin patogenezi oksidatif stres veya NO üretiminde değişik ile etkilemektedir. MPO vasküler inflamasyonda aktive granülositlerden salınan oksidan enzimdir. MPO enziminin yüksekliği de ADMA gibi endotel disfonksiyonu ve aterosklerozisin gelişmesi ile ilişkilidir^{68,146}. Lipidlerde ve proteinlerde şiddetli oksidatif hasara neden olan güçlü oksidan enzimdir. LDL peroksidasyonuna yol açar, metalloproteinazların aktivasyonu ile plak oluşumlarına katkıda bulunur. MPO aynı zamanda NO parçalanmasına katkıda bulunarak NO kaybını artırır^{61,65,68}.



Şekil6.ADMA eNOS ve nNOS inhibisyonu ile insülin direnci ve aterosklerozise sebep olmaktadır. ¹³⁴

2.8. HOMOSİSTEİN

Homosistein(Hcy) metiyonin metaboliti ,sülfür içeren bir aminoasittir. Sağlıklı kişilerde normal homosistein seviyeleri 5-15 µmol /L düzeyinde olup 16 µmol/L üzerindeki değerler hiperhomosisteinemi olarak kabul edilmektedir. Hiperhomosisteinemi kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörüdür. Plazmada hem sülfürlü indirgenmiş hem de disülfüdü oksitlenmiş homosistein formları bulunur. Homosisteinin okside formu plazma total homosisteinin %98-99'unu oluşturur.^{123,124}

Homosistein yüksekliği trombozis, inme, koroner kalp hastalığı kronik renal yetmezlik gibi birçok hastalıkla ilgilidir. Plazma homosisteinin konsantrasyonunda 5µmol/L'lik artış koroner arter hastalık riskini yaklaşık 2 kat arttırmaktadır. Ateroskleroz başlangıcında endotel hasarı kritik rol üstlenir. Hcy direkt olarak endotel hücreye hasar verdiği gibi, endotelial antikoagulan özelliği prokoagulan özelliğe çevirir, beraberinde vasküler düz kas hücresinde proliferasyona yol açar. Homosistein oksidatif stresi artırarak insülin direncine yol açmaktadır. Karaciğerden kolesterol sentezini arttırmaktadır.^{126,127,135}

Homosistein Metabolizması

Homosistein metioninin demetilasyonu ile oluşur. Metionin hayvansal proteinlerden diyet yoluyla alınır veya endojen proteinlerin bozulması ve homosisteinin remetilasyonu ile oluşur. Metioninin görevi metil verici olarak bazı sentezlere katılmaktır. Metionin, adenzin trifosfat(ATP) ile reaksiyona girerek adenzil takısına kükürt aracılığıyla bağlanır. Oluşan aktif metionin S-adenzil metionin(SAM) metil grubunu vermek üzere transmetilasyon reaksiyonlarına katılır. Metioninden metil grubu ayrıldıktan sonra, adenzil takısı hidrolizle ayrılır ve geriye homosistein kalır. Homosisteinin yaklaşık yarısı yeniden metillenerek metionine dönüşebilir. Kalanı transsülfürasyona uğrar¹³⁰. Homosistein, 5-metil tetra hidrofolat

varlığında (MTHF) B12 vitaminine bağlı metionin sentaz tarafından metionine remetile olurken, Tetra hidrofolat (THF), folat döngüsüne girerek tekrar MTHF'a dönüştürülür. Karaciğer ve böbrekte homosistein remetilasyonu betain-homosistein metil transferaz (BHMT) aracılığıyla da gerçekleştirilir¹³⁵. Metionin döngüsünde, diyetle alınan metionin, metil transferaz için metil grubu vericisi olarak yardım eden S-Adenozil Metionine dönüşür. Bu reaksiyonda oluşan diğer bir ürün, S-adenozil homosistein hidrolaz tarafından homosistein ve adenezine hidrolizlenen S-adenozil homosisteindir (SAH). Homosistein, B6'ya bağımlı sistationin β-sentaz ile sistationine dönüştürülür. Sistationin ise yine B6'ya bağımlı bir enzim olan sistationaz aracılığıyla sisteine dönüşür. Oluşan sistein daha sonra inorganik sülfata dönüştürülerek idrarla atılır. Bu reaksiyonlar hücrelerdeki ve kandaki total homosistein konsantrasyonunu düşürmektedir.^{131,132}

Plazma Homosistein Düzeyini Etkileyen Faktörler

Genetik faktörler

Diabet, hipotiroidi, malignite

İlaç kullanımı (metotreksat, antikonvülzanlar)

Yaşlanma,

Yaşam tarzı (alkol, kahve, çay, sigara kullanımı, fiziksel aktivite düzeyi)

Gebelik

olarak sıralanabilir.

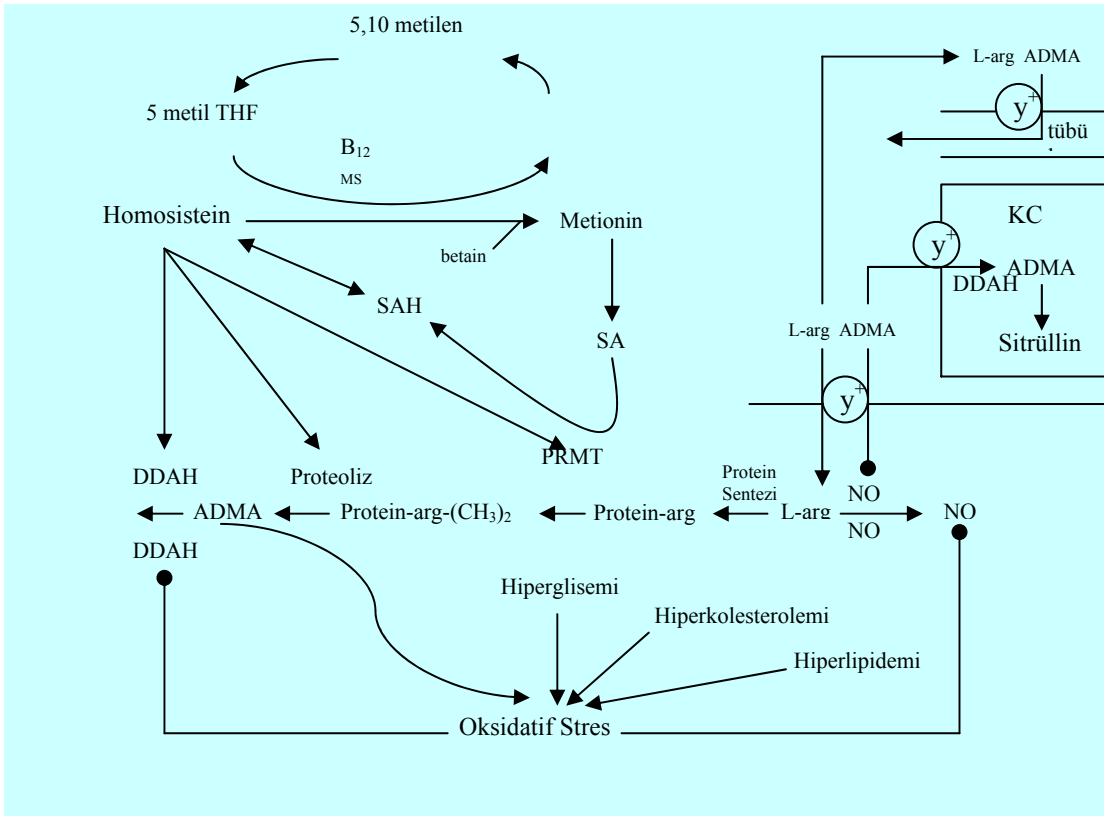
Plazma homosistein konsantrasyonu yaş ve cinsiyet ile yakın ilişkilidir. Yaşa bağlı olarak plazma homosistein seviyesi hafif artma gösterir. Erkeklerde kadınlara göre 1 µmol / L daha yüksek olabilir.

Homosistein endotel disfonksiyonuna neden olmaktadır. Homosisteinin etkilerini oksidatif hasar oluşturarak gösterdiğini ortaya koyan çalışmalar vardır. Homosistein

okside olurken ROS oluşarak lipid peroksidasyonunu başlatır. Endotelden salınan NO homosisteinin zararlı etkilerini elimine eder. Ancak uzun dönem hiperhomosisteinemide NO salınımı bozulur^{74,99}.ADMA ve homosisteinin metabolik yolları birkaç noktada birleşir;

Metioninden homosistein oluşumu sırasında SAM metil grubu vericisidir. Tüm PRMT ler SAM kullanır. ADMA 2 metil grubu içerir. ADMA sentezi sırasında homosistein oluşur. Homosistein protein yapıları destabilize eder, oksidatif stresi artırarak protein parçalanmasını artırır. Metillenmiş proteinlerden serbest ADMA'nın salınımını artırır(Şekil 7.)^{102,107}. DDAH enzimi ADMA'yı metabolize eder. Homosistein bu enzim aktivitesini inhibe ederek ADMA konsantrasyonlarının artmasına neden olur.⁹⁶

S-adenozil Homosisteinin (SAH) homosisteine enzimatik hidrolizi önemlidir ve geri dönüşümlüdür. SAH hidrolizi ve sentezi denge halindedir. Homosistein yükseldiğinde hücre içi SAH de yükselir. SAH transmetilasyon reaksiyonlarının güçlü bir inhibitörüdür. Artmış SAH seviyeleri proteinlerdeki arjinin rezidülerinin metilasyonunu inhibe eder^{98,135,140}.



Şekil 7. ADMA'nın Sentezi, Metabolizması ve hücre içi etkileri ile Homosistein ilişkisi¹³⁴

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı merkez laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1 Deney Grupları

Hasta grubu Fatih Üniversitesi Dahiliye ve Endokrinoloji polikliniğine gelen metabolik sendrom özelliklerini taşıyan obez kişilerden oluşturulmuştur. Hastalar NCEP ATP III kriterlerine göre seçilmiştir. Obezite göstergesi olarak bel çevresi kullanılmıştır.

Bel çevresi kadında >88 cm

Erkeklerde >102 cm

Tansiyonu 130/85 mm/Hg üzeri ,

Açlık kan şekeri >110 mg/dl

Trigliserid >150 mg/dl

HDL kadında <50mg/dl

erkeklerde <40 mg/dl

kriterlerine sahip, metabolik sendrom komponentleri dışında hastalığı olmayan, 40-60 yaşları arasında 10 erkek ve 36 kadından oluşan 46 kişi hasta grubu olarak, yine herhangi bir hastalık ve ilaç öyküsü olmayan sağlıklı bireylerden aynı yaş grubunda zayıf 28 kadın ve 11 erkekten oluşan 39 kişi kontrol grubu olarak seçilmiştir.

Fizik muayene esnasında en az 5 dakika dinlenme sonrası sağ koldan kan basınçları ölçüldü ve bel çevreleri kaydedildi. Kan örnekleri en az 10, en çok 16, ortalama 14 saatlik açlık sonrası EDTA'lı tüp, heparinli tüp ve düz tüp olmak üzere hasta ve kontrol grubundan alındı. Kanlar yarım saat bekledikten sonra santrifüj edilerek serum, heparinli plazma, EDTA'lı plazma elde edildi. Serum ve plazmalar ikiye bölünerek ependorf tüplere konuldu. Numuneler -80C de dondurularak çalışma gününe kadar saklandı. Rutin biyokimyasal parametrelerden BUN, kreatinin, glukoz, kolesterol, HDL, LDL, VLDL, trigliserid düzeyleri ile tam kan sayımı kanın alındığı gün çalışıldı. Diğer parametrelerden ADMA, Glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, homosistein, nitrit, nitrat, malondialdehit düzeyleri tüm hasta ve kontrol grupları toplandıktan sonra çalışıldı.

3.2. Kullanılan Gereçler

3.2.1 Deneylerde Kullanılan Araçlar

Santrifüj (Heraeus Labofuge 400, Hermle Z-300))

Soğutmalı santrifüj (Selecta)

Hassas Terazı (Metler Toledo AB204-S)

Vorteks(Labnet Vx100)

Manyetik karıştırıcı (Echo Therm modelHS10)

Spektrofotometre (Schimadzu, UV-1700-UV visible spectrophotometer)

Mikro santrifüj(ependorf santrifüjü) (Sigma)

Eliza cihazı (Dynex)

Otoanalizör (Hitachi 912), Roche

Otoanalizör (Cobas İntegra 800), Roche

Kan sayımı cihazı (HMX), Beckmann Coulter

Derindondurucu -80C

3.3.Yöntemler

3.3.1. Serum MDA Düzeylerinin Ölçümü

Serum MDA düzeyleri Uchiyama-Mihara'nın metoduna göre tayin edildi. Bu metod, lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'nın Tiyobarbütirik asit(TBA) ile verdiği reaksiyon sonucu oluşan pembe rengin şiddetinin ölçümü esasına dayanır.

Reaktifler

%0.67 lik TBA

%20 lik TCA

n-butanol

250 µl serum üzerine 1.25 ml %20lik TCA ve 0.5 ml %0.67 lik TBA eklendi.

Vortekslendikten sonra karışım 30 dakika kaynatıldı. Sonra hızlı bir şekilde soğutuldu.

Üzerine 2 ml n-butanol eklenip 3000 g de 5 dakika santrifüj edildi. Üstteki faz alınıp 532 nm de spektrofotometrede n-butanole karşı okundu.

Standart olarak 0.5 nmol /0.5 ml Tetrametoksipropan kullanıldı.

$$\text{Hesap: } \frac{\text{Numune OD}}{\text{standart OD}} \times \text{Standart konsantrasyonu} \times \frac{1}{\text{Numune miktarı}} = \text{nmol MDA/ml}$$

3.3.2. Nitrik Oksit (NO) Tayini

NO ürünleri olan nitrit,nitrat GRİESS Yöntemi ile çalışıldı.Önce stok solusyonlar hazırlandı.

VCl₃ (80 mg+ 50 ml 1M HCl de çözülür.

%0.1 lik NEDD (50 mg NEDD +50 cc distile suda çözülür)

%2 lik Sülfanilamide (1 gr Sülfanilamid +50 ml %5 lik HCL de çözülür.)

Standartlar Total nitrat için ve nitrit için hazırlandı. Çalışmada öncelikle 250ul heparinli plazmaya 500 µl %96lık etil alkol eklendi, vortekslenip 14000 rpm de 5 dak santrifüj edildi.

Total Nitrat tayini; 200 µl santrifüjlenen numuneden alınıp üzerine 200µl VCl₃, 100µl sülfanilamide, 100µl NEDD eklendi. 37°C de 30-45 dakika bekletildi, 540 nmde spektrofotometrede okutuldu..

Nitrit tayini; 200µl numune üzerine 100µl Sülfanilamide, 100 µl NEDD eklenip. 37° C de 30-45 dakika bekletildi, 540 nm de spektrofotometrede okutuldu.

Total Nitrattan nitrit çıkarılarak nitrat değeri bulundu. Sonuç µmol/litre olarak verildi.

SOD (Süperoksit Dismutaz) Ölçümü; EDTAlı plazmada Cayman'ın Superoxide Dismutase Assay Kiti ile Eliza cihazında çalışılmıştır. Birimi units/ml dir. Ölçüm aralığı 0.025-0.25units /ml SOD

Glutasyon Peroksidaz (Gpx) Ölçümü; Heparinli tam kandan Randox firmasının Glutathione Peroxidase kiti ile çalışıldı. Kit Hitachi 912 (Roche)cihazına apliance edildi.

Önce Drabkins solusyonu hazırlandı. Drabkins solusyonu hazırlarken 9.87 gr potasyum ferrisiyanid, 2.47 gr potasyum siyanid, 6.8 gr mono potasyum fosfat ve 2,5 ml triton X eklendi. Çalışma solusyonu 1 volüm konsantre Drabkin 49 volüm distile su ile hazırlandı.

1 ml dilüe edici ajan ile 0.05 ml heparinli tam kan eklendi. Üzerine 1 ml drabkins solusyonu koyuldu. 20 dakika içinde çalışıldı.

ADMA Ölçümü; Serumda DLD firmasının ADMA kiti ile eliza cihazında çalışıldı. Birimi $\mu\text{mol/l}$ dir. Ölçüm aralığı 0.4-0.75 $\mu\text{mol/l}$

Homosistein Ölçümü; EDTAlı plazmada Axis Shield firmasının Homocysteine EIA kiti ile Eliza cihazında çalışılmıştır. Birimi $\mu\text{mol/L}$ dir. Ölçüm aralığı 1-50 $\mu\text{mol/L}$

Açlık kan şekeri Ölçümü; Roche Cobas İntegra 800 cihazında enzimatik heksokinaz referans metodu ile çalışılmıştır. Sonuçlar mg/dl cinsinden belirtilmiştir.

Trigliserid Ölçümü; Roche Cobas İntegra 800 cihazında enzimatik kolorimetrik gliserol fosfat oksidaz ve 4-aminopherazon yöntemi ile çalışılmıştır. Birimi mg/dl dir.

Total kolesterol Ölçümü; Roche Cobas İntegra 800 cihazında enzimatik kolorimetrik kolesterol esteraz, kolesterol oksidaz ve 4-aminoantipyrine yöntemi ile çalışılmıştır. Birimi mg/dl dir.

4.SONUÇLAR

Tablo 6. Grupların demografik ve rutin laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması

parametre	kontrol	MS
kişi sayısı	39	46
cinsiyet	28 k/11e	36k/10e
Yaş(yıl)	49.7±9.7	49.1±5.33
belçevresi(cm)	82.5±6.1	113.4±14.7
SKB (mm-Hg)	107.3±12.4	141.9±13.9
DKB(mm_Hg)	57±7.67	90.6±7.9
AKŞ (mg/dl)	83.6±7.1	109±29.2
TC (mg/dl)	175.3±29.5	201.6±32.9
TG (mg/dl)	77.1±31.06	211.6±86.6
HDL (mg/dl)	60.6±13.5	40.1±10.06
LDL (mg/dl)	101±32.5	114.5±30.8

SKB: Sistolik kan basıncı, DKB:Diastolik kan basıncı, TC:Total kolesterol

Tablo 7:Grupların ölçülen parametrelerinin karşılaştırılması

	MS	Kontrol	p
ADMA (µmol/L)	0.80 ± 0.39	0.62 ± 0.34	0.032
Hcy (µmol/L)	19.18 ± 4.05	12.18 ± 3.99	<0.02
GPx (units/gm Hb)	44.99 ± 9.19	47.50 ± 5.45	0.123
MDA (nmol MDA /ml)	14.03±5.02	4.06±1.94	0.01
SOD (U/ml)	8.96 ± 4.9	12.28 ± 8.8	0.033
Nitrat (µmol/L)	43.6 ±12.82	45.2 ± 17.7	0.6
Nitrit (µmol/L)	8.14 ± 2.62	13.12 ± 3.83	<0.01

p< 0.05 anlamlı kabul edilmiştir.

4.1.Sonuçların Analizi

Verilerin istatistiksel analizi SPSS13 istatistik programı ile yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında Student t testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma(SD) şeklinde verildi. Gruplar kendi içinde pearson linear korelasyon analizi ile değerlendirildi. $p<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 6 ve 7 de grupların genel demografik verileri ve biyokimyasal parametreleri ort ± SD şeklinde verilmiştir. Hasta grubu ve kontrol grubu yaş ortalamaları birbirine yakındır(sırasıyla 49.7 ± 9.7 ve 49.1 ± 5.33 yıl).

Metabolik sendrom hasta grubunda bel çevresi, sistolik ve diastolik kan basınçları, Triglicerid seviyeleri kontrol grubun göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur($p<0.05$). HDL düzeyleri de kontrol grubunda metabolik sendromlu hasta grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Çalışma Gruplarının Serum ADMA Düzeyleri

Metabolik sendromlu hasta grubunda serum ADMA düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Sırasıyla 0.80 ± 0.39 $\mu\text{mol/L}$; 0.62 ± 0.34 $\mu\text{mol/L}$, ($p=0.032$)

Serum Glutasyon peroksidaz düzeyleri kontrol grubunda hasta grubuna göre yüksektir ancak bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($p=0.138$)

Metabolik sendrom hastalarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük serum SOD aktivitesine sahip oldukları görülmüştür. Sırasıyla metabolik sendromlu hasta grubu SOD aktivitesi 8.96 ± 4.9 U/ml kontrol grubu SOD aktivitesi 12.28 ± 8.8 U/ml , ($p=0.033$)

Serum MDA düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Sırasıyla 8.37 ± 13.7 nmol MDA/ml ; 3.54 ± 6.7 nmol MDA/ml ($p=0.048$)

Serum homosistein düzeyleri metabolik sendroma sahip hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Hasta grubu Hcy düzeyi 19.18

± 4.05 $\mu\text{mol/L}$ kontrol grubu Hcy düzeyi 12.18 ± 3.99 $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçülmüştür. (p=0.30)

Serum Nitrat ve nitrit düzeyleri

Nitrat seviyeleri metabolik sendromlu hasta grubunda daha düşüktür ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir. Sırasıyla 43.6 ± 12.82 , 45.2 ± 17.7 $\mu\text{mol/L}$ (p=0.62)

Nitrit seviyeleri belirgin olarak hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Hasta grubu 8.14 ± 2.62 $\mu\text{mol/L}$ kontrol grubu 13.12 ± 3.83 $\mu\text{mol/L}$ (p=0.01)

Sonuçlara göre ADMA düzeylerinin bel çevresi, sistolik ve diastolik kan basıncı ile pozitif korelasyonu vardır. Korelasyon değerleri ADMA ve bel çevresi için $r=0.222$ $p=0.042$, ADMA ile sistolik kan basıncı için $r=0.236$ $p=0.030$, ADMA ve diastolik kan basıncı için $r=0.313$ $p=0.004$. Hcy düzeyleri ile bel çevresi, sistolik ve diastolik kan basıncı, AKŞ arasında pozitif korelasyon vardır. Hcy ve sistolik kan basıncı için ($r=0.691$ $p=0.01$), Hcy ile sistolik kan basıncı ($r=0.525$ $p=0.01$), Hcy ve diastolik kan basıncı için ($r=0.519$ $p=0.01$), Hcy ile AKŞ arasında ($r=0.483$ $p=0.01$) korelasyon değerleri bulunmaktadır. Lipid peroksidasyon ürünü MDA ile sistolik kan basıncı ve AKŞ arasında pozitif korelasyon vardır. MDA ile sistolik kan basıncı için ($r=0.226$ $p=0.038$), MDA ile AKŞ için ($r=0.269$ $p=0.013$) dir. Nitrit seviyesi bel çevresi, sistolik, diastolik kan basıncı, TG, ADMA seviyeleri, Hcy ve AKŞ ile negatif koreledir. Korelasyon değerleri Nitrit ile bel çevresi $r= -0.427$ $p=0.01$, nitrit ile sistolik kan basıncı $r= -0.509$ $p=0.01$, nitrit ile diastolik kan basıncı için $r=-0.389$ $p=0.01$, nitrit ile trigliserid için $r=-0.448$ $p=0.01$, nitrit ile ADMA için $r=-0.254$ $p=0.019$, nitrit ile Hcy için $r=-0.480$ $p=0.01$, nitrit ile AKŞ için $r=-0.385$ $p=0.01$ dir. SOD düzeyi TG ile negatif koreledir ($r=-0.263$ $p=0.015$) Homosistein konsantrasyonları TG ile pozitif korele ($r=0.386$ $p=0.01$) HDL ile negatif koreledir ($r=-0.322$ $p=0.003$). GPx ile HDL arasında pozitif korelasyon ($r=0.226$ $p=0.038$) GPx ile Hcy arasında ise negatif korelasyon ($r=-0.255$ $p=0.018$) bulunmuştur. (Tablo 8.)

Tablo 8. Tüm test parametrelerinin korelasyonu

Parametre	ADMA	SOD	GPX	mda	nitrat	nitrit	Hcy	Yaş	SKB	DKB	AKŞ	TC	TG	HDL	LDL	Belçevresi
Grup	-0,233	0,232	0,162	-0,215	0,054	0,613										
Yaş	0,026	0,071	0,017	-0,101	0,073	0,178	0,184	*	0,067	0,005	0,048	0,133	-0,023	0,039	0,152	-0,01
SKB	0,236	-0,151	-0,074	0,226	-0,068	-0,509	0,008	0,067	*	0,852	0,457	0,27	0,537	-0,603	0,227	0,674
DKB	0,313	-0,166	-0,097	0,157	-0,064	-0,389	-0,093	0,005	0,852	*	0,419	0,267	0,525	-0,597	0,224	0,672
AKŞ	0,073	-0,206	-0,189	0,269	0,14	-0,385	-0,012	0,048	0,457	0,419	*	0,122	0,548	-0,463	0,005	0,458
TC	0,004	-0,05	0,099	-0,106	0,012	-0,173	-0,132	-0,13	0,27	0,267	0,122	*	0,441	-0,166	0,881	0,273
TG	0,161	-0,263	-0,178	0,144	0,081	-0,448	-0,011	-0,02	0,537	0,525	0,548	0,441	*	-0,613	0,127	-0,023
HDL	-0,182	0,165	0,226	-0,163	0,157	0,414	-0,109	0,039	-0,603	-0,6	0,463	0,166	-0,613	*	-0,23	-0,491
LDL	-0,002	0,038	0,116	-0,126	-0,08	-0,055	-0,128	-0,15	0,227	0,224	0,005	0,881	0,127	-0,23	*	0,173
Bel çevresi	0,222	-0,07	-0,199	0,164	-0,085	-0,427	-0,209	-0,01	0,674	0,672	0,458	0,273	0,533	-0,491	0,173	*
ADMA	*	-0,121	0,053	0,042	-0,089	-0,254	-0,09	0,026	0,236	0,313	0,073	0,004	0,161	-0,182	0,002	0,222
SOD	-0,121	*	0,179	-0,121	-0,131	0,145	-0,206	0,071	-0,151	-0,17	0,206	0,215		0,165	0,038	-0,07
GPX	0,053	0,179	*	0,002	0,163	0,062	-0,03	0,017	-0,074	-0,1	0,189	0,099	-0,178	0,226	0,116	-0,199
MDA	0,042	-0,121	0,002	*	0,075	-0,159	-0,15	-0,1	0,226	0,157	0,269	0,106	0,144	-0,163	0,126	
NİTRAT	-0,089	-0,131	0,163	0,075	*	0,272	-0,096	0,073	-0,068	-0,06	0,14	0,012	0,081	0,157	0,165	-0,085
NİTRİT	-0,254	0,145	0,062	-0,159	0,272	*	0,013	0,178	-0,509	-0,39	0,385	0,173	-0,448	0,414	0,055	-0,427
Hcy	-0,09	-0,206	-0,03	-0,15	-0,096	0,013	*	0,184	0,008	-0,09	0,012	0,143	-0,011	-0,109	0,128	-0,209

5.TARTIŞMA

Metabolik sendrom gittikçe daha fazla sayıda insanı etkileyen önemli bir morbidite nedenidir. İnsülin direncinin en fazla etkisi kardiyovasküler sistem üzerine olmaktadır. İnsülin direnci endotel fonksiyonunu bozmakta, kardiyovasküler hastalıklara eğilim oluşturmaktadır. Endotel disfonksiyonu kardiyovasküler hastalıkların kökeninde yer almakta ve prognozunda etkili olmaktadır. Endotele etki eden mediyatörler arasındaki dengenin vazokonstrüksiyon yönünde bozulması nedeni ile oluşan endotele bağlı vazodilatasyonun bozukluğu endotel disfonksiyonun temelini oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalarda yaş, hipertansiyon, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar açısından aile öyküsü ve hiperlipidemi gibi klasik risk faktörlerinin oksidatif stres üzerinden endotel disfonksiyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Endotel disfonksiyonuna oksidatif stres dışında L- arginin analogu ADMA'nın yükselmesi de neden olmaktadır. ADMA NO oluşumunu inhibe ederek vasküler fonksiyonu bozmaktadır^{134, 141}.

Bildiğimiz kadarıyla metabolik sendrom ile ADMA arasındaki ilişki şu ana kadar incelenmemiştir. Bu çalışmadaki amaç kardiyovasküler hastalık risk belirteci olarak görülen serum ADMA seviyelerinin endotel disfonksiyonu ve artmış kardiyovasküler riskle seyreden metabolik sendrom hastalarındaki düzeylerini görmek, hastalarda olası endotel disfonksiyon ve kardiyovasküler risk arasındaki bağlantı yollarını araştırmaktır. Bu nedenle kilit mekanizma olduğu düşünülen oksidatif stres ile ADMA arasındaki ilişki incelenmiştir.

Vallance ve arkadaşları ilk kez endojen ADMA'nın endotele bağlı vazodilatasyonu antagonize ettiğini göstermişlerdir. Plazma ADMA konsantrasyonu endotel disfonksiyonu ve aterosklerozis için risk faktörleri taşıyan hastalarda yüksek saptamışlardır¹⁵⁵. Zoccali ve arkadaşları plazma ADMA seviyelerini kardiyovasküler morbidite ve mortalitede güçlü bağımsız bir risk faktörü olarak tanımlamıştır¹¹⁷. Böger ve arkadaşları yaptıkları çeşitli çalışmalar sonucunda ADMA'yı yeni bir kardiyovasküler risk faktörü olarak tanımlamıştır. Hiperkolesterolemili hastalarda normal kontrollere göre plazma ADMA konsantrasyonunu 2 kat yüksek gözlemlemişlerdir¹³³. Kielstein ve arkadaşlarının çalışmasında klinik olarak belirgin ateroskleroz hastalığı olan diyaliz hastalarında ateroskleroz hastalığı olmayanlara göre

ADMA seviyeleri daha yüksek bulunmuştur. Yüksek ADMA seviyeleri bu hastalarda yüksek kardiyovasküler morbiditeye neden olmaktadır⁵⁰. Cooke ve arkadaşlarına göre ADMA endotel disfonksiyonuna katkıda bulunur ve hiperkolesterolemi, periferik vasküler hastalık, hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıkların gelişimi ile ilişkilidir⁸³.

Achan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ADMA'nın intraarteriyel infüzyonu önkol kan akımını azaltmış ve endotel disfonksiyonuna sebep olmuştur. Hayvan deneylerinde ADMA'nın infüzyonu plazma ADMA seviyelerinde 9 kat, kan basıncında %15-20 artışa neden olmuştur.¹⁵⁰ Chan ve arkadaşları ADMA'nın 2.6 µM gibi düşük doz konsantrasyonlarında kalp hızında azalma, periferik vasküler dirençte artma, kardiyak outputta azalma, kan basıncında artma gibi hemodinamik etkilere sebep olduğunu saptamışlardır.⁴¹

Çeşitli çalışmalarda ADMA sentezinden sorumlu olan Protein arjinin N-metil transferaz aktivitesinin LDL veya okside LDL kolesterol ile arttığını gösterilmiştir. Bu sonuç hiperlipidemide yüksek ADMA seviyelerini açıklayabilir^{71,144}.

Bu çalışmada metabolik sendromlu hastalarda endotel disfonksiyonu aracılığı ile artan kardiyovasküler risk mekanizmasını incelemek üzere oksidatif stres ve ADMA arasındaki ilişki araştırıldı. Bu amaçla antioksidan enzimlerden SOD, GPx ve lipid peroksidasyon göstergesi olarak MDA seviyeleri incelendi. Araştırmada oksidatif stres ve antioksidan sistem parametreleri dışında serum ADMA, homosistein, NO metabolitlerinden nitrit ve nitrat düzeylerine bakıldı. Bu parametrelerin serum ADMA düzeyleri ile ilişkisi, korelasyonu incelendi. ADMA NO sentaz enzim inhibitörü olarak endotel disfonksiyonu tahmin etmede oldukça önemli role sahiptir. Bu nedenle yeni bir kardiyovasküler risk belirteci olarak değerlendirilmektedir⁷⁷.

NCEP ATP III kriterlerine göre seçilen Metabolik sendromlu abdominal obezitesi olan hasta grubunda ADMA konsantrasyonları istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı bulunmuştur. Ek olarak Metabolik sendromlu kişilerde ADMA seviyeleri, sistolik, diastolik kan basıncı ile pozitif olarak koreledir. Bu sonuçlar göre metabolik

sendrom bileşenleri ile ADMA düzeyleri arasında pozitif korelasyonun varlığı, hasta grubundaki endotel disfonksiyonunda ADMA'nın rolü olabileceği görüşünü desteklemektedir.

İnsülin direnci olan bireylerde NO üretimi azalmıştır. NO'ye bağlı vazodilatasyon obez ve insülin direnci olan hastalarda bozulmuştur. Tüm çalışmalarda NO ve insülin sensitivitesi arasında uyumluluk bulunmuştur¹⁴¹. Stühlinger ve arkadaşları insülin direncinin derecesi ile doğru orantılı olarak ADMA konsantrasyonunun arttığını saptamışlardır. Hiperinsülinemi ve hiperlipidemi ADMA üretimini stimüle ederek ya da ADMA'nın yıkım veya üretiminden sorumlu enzimlerin aktivite veya seviyesinde değişikliklere neden olarak etki göstermektedir. Yine Stühlinger ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada Tip 2 diabetli ratlarda DDAH aktivitesinin azaldığı ve plazma ADMA seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Yüksek glukoz seviyelerine uzun süre maruz kalmak kültürdeki endotel hücrelerinde DDAH aktivitesini doza bağlı olarak azaltmaktadır. Bu çalışmada yüksek glukoz konsantrasyon etkilerinin hücre içi antioksidanlar ile döndürülebileceği de saptanmıştır¹⁴⁰

Lin ve arkadaşları çalışmalarında kültürdeki endotel hücrelerinde glukoz ile inkübasyonun DDAH aktivitesini bozduğunu ve ADMA konsantrasyonlarının artmasına neden olduğunu bulmuşlardır^{51,53}.

Xiong ve arkadaşlarına göre Metabolik Sendromun çeşitli metabolik anormalliklerine hedef önlemlerin alınması insülin sensitize edici tedaviler genel olarak ADMA seviyelerini azaltmaktadır. Hiperglisemik insülin eksikliği olan ratlarda insülin tedavisi ile glukoz normal seviyeye gelmiş ve ADMA konsantrasyonları azalmıştır. Tip2 diabetli kişilerde insülin sensitize edici ilaçlardan rosiglitazon ve metformin ADMA seviyelerini azaltmıştır.¹⁵⁸

Garg ve arkadaşları obez kişilere insülin sensitivitesini sağlayan Troglitazon vermişler ve bu tedavinin LDL oksidasyonunu inhibe ettiğini, ROS seviyelerini de azalttığını tespit etmişlerdir¹³⁹. Wang ve arkadaşları metabolik sendromlu diabeti olmayan kişilerde Rosiglitazonla tedaviden 8 hafta sonra endotelde vazodilatasyon ile CRP, endotelin1, ADMA plazma seviyelerinde azalma ve brakial arterin akım aracılı dilatasyonunda düzelme kaydetmişlerdir.⁴⁴

Krzyzanowska ve arkadaşlarının çalışmasında, obez kişilerle zayıf kişiler karşılaştırıldığında obezlerde NO'ye bağlı vazodilatasyon azalmıştır. Artmış ADMA

konsantrasyonları obezitedeki endotelial disfonksiyondan ve artmış kardiyovasküler riskten sorumlu tutulmuştur. Morbid obezlerde kilo kaybı sonrası yüksek ADMA konsantrasyonları azalmış ve metabolik parametrelerde düzelme görülmüştür.⁴²

Maffeis ve arkadaşlarınca obez genç kadınların alındığı bir çalışmada, bel çevresi ile plazma insülini ve insülin direnci arasında korelasyon saptanmıştır. Metabolik sendrom saptanan kişilerde bel çevresi kalınlığı da bulunmaktadır. Kişinin bel çevresinin kalın olması o kişinin metabolik sendrom olma olasılığını 8 kat arttırmaktadır¹⁰.

Sistemik oksidatif stres abdominal obezite (visseral yağ birikmesi) ile orantılı olarak artmaktadır. Kültür ortamındaki adipositlerde yağ asitlerinin yükselmesi NADPH oksidaz aktivasyonu yolu ile oksidatif stresi arttırmakta, antioksidatif enzim sentezini azaltmaktadır.

Oksidatif stres yağ dokusundan adipositokinlerin (adiponektin, plazminojen aktivatör inhibitör-1, IL-6 ve monosit kemotaktik protein) düzensiz üretimine sebep olmaktadır. Obez farelerde NADPH oksidaz inhibitörü ile tedavi adipoz dokudan ROS üretimini azaltmıştır. Bununla birlikte adipositokinlerin düzensiz salınımı azalmış, diabet, hiperlipidemi ve hepatik yağlanma düzelmiştir.⁷⁸

Obezitedeki birikmiş yağ mı sistemik oksidatif stresi indükler oksidatif stres mi obesiteyi indükler tam olarak altta yatan mekanizma anlaşılamamıştır. Çalışmalar oksidatif stresin obesiteyi indüklediği yönündedir.

Serbest radikaller hücre membranlarındaki kolesterole, araşidonik asite bağlanır ve lipid peroksidasyonunu başlatır. Bu sürecin başladığının en iyi göstergelerinden olan MDA seviyelerinde artış olmakta ve artan MDA renal harabiyete ve kardiyovasküler bozukluklara neden olmaktadır¹⁴³.

Bu çalışmada, serbest radikallerin reaktif yapıları ve kısa ömürlü oluşları direkt tayinlerini güçleştirdiği için oksidatif stres belirteci olarak serum MDA değerlerini incelendi. Metabolik sendromlu hasta grubunda sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde MDA seviyelerinin arttığı saptandı. (p=0.039)

Furukawa ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda visseral yağ birikiminin sistemik oksidatif stres belirteçleri ile doğru orantılı olduğunu göstermişlerdir. Obez farelerin yağ dokusunda H₂O₂ üretimi artmıştır. Bu artış iskelet kasında ve adipoz dokuda insülin direncini indüklemektedir⁵⁸. Iwaki ve arkadaşlarına göre birikmiş yağdaki oksidatif stres adipositokinlerin düzensiz salınımına neden olmakta ve sistemik oksidatif stresi arttırarak obesiteyle ilişkili metabolik sendroma aracılık etmektedir¹³⁸. Keaney ve arkadaşlarının çalışmalarında metabolik sendromlu abdominal obeziteye sahip kişilerde serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun arttığı gösterilmiş ve oksidatif stresin metabolik sendroma neden olduğu bildirilmiştir. Olusi ve arkadaşları sistemik oksidatif stresin BMI ile orantılı olarak arttığını saptamışlardır^{78,79}. Davi ve arkadaşları abdominal yağ birikimi derecesi ile artmış lipid peroksidasyonu arasında ilişki olduğunu göstermiştir⁸⁵. Tam tersi olarak Myara ve arkadaşları çalışmalarında böyle bir korelasyon olmadığını belirtmişlerdir¹⁶¹. Holvoet ve arkadaşlarına göre bel çevresi ve BMI, sirkülasyondaki okside LDL konsantrasyonlarını tahmin ettiren en güçlü göstergelerdir⁷¹. BMI yüksekliği ile sistemik oksidatif stres ilişkilidir. Oksidatif stres belirteçlerinin visseral yağ birikimi ile pozitif yönde korele olduğu bulunmuştur⁷⁸. Dietle, cerrahi müdahale veya farmakolojik ajanlarla total vücut yağında azalma sağlandığında oksidatif stres belirteçlerinde de azalma gözlenmiştir. Bir hipoteze göre oksidatif stres düşük dereceli sistemik inflamasyonu indükler. İnflamasyon serbest radikal üretimine ve artmış lipid peroksidasyonuna yol açar. Burada oksidatif stresin bir sebep mi yoksa metabolik sendromun bir sonucu mu olduğu sorusuna hala cevap aranmaktadır.

Shimomura ve arkadaşları ile Hotamışlıgil ve arkadaşları, Offensive (kötü –sürekli saldıran) adipositokinler, PAI-1, TNF- α , IL6 ve anjiotensinojen ile defensive (koruyucu) adipositokinlerin(adiponektin ve leptin gibi) düzensiz salınımının metabolik sendromun patogenezinde kritik rol aldığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada nondiyabetik kişilerde yağ birikimi açıkça sistemik oksidatif stres markırları ile korele bulunmuştur. Obez farelerin beyaz yağ dokusunda NADPH oksidaz mRNA ekspresyonu artmıştır. Antioksidan enzimlerin aktiviteleri ve mRNA ekspresyonu ise azalmıştır. Yine beyaz yağ dokuda transkripsiyon faktör PU1 mRNA ekspresyonu da yüksek seviyededir. NADPH oksidaz geninin transkripsiyonunu arttırmaktadır^{136,137}.

Weisberg ve arkadaşları obez farelerin adipoz dokularında makrofajların infiltre olduğunu saptamışlardır. Makrofajlar inflamatuvar sitokinlerin en önemli kaynağı olup aynı zamanda ROS üretmektedirler. İnfiltrate makrofajlar artmış NADPH oksidaz ile artmış ROS üretimine neden olmaktadır¹⁶⁵. Sorescu ve arkadaşları ise adipositlerde H₂O₂ üretiminin arttığını bulmuşlardır. Bu çalışma sonuçlarına göre adipoz dokuda NADPH oksidaz enzim sentezi ve aktivitesi yüksektir, yağ asitleri artmıştır, ROS üretimi indüklenmektedir. Tüm bu sonuçlar oksidatif stresin birikmiş yağda neden arttığının cevabı olabilir⁸⁰.

Pesler ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada oksidatif stres adipositlerde direkt olarak insülin etkisini bozmuştur ve antioksidan alfa lipoik asit verilerek bu etki azalmıştır⁸⁷. El Midaoui ve arkadaşları glukoz ile kronik olarak beslenen ratlarda insülin direnci ve hipertansiyon gelişimini alfa lipoik asit vererek önlemişlerdir⁸⁸. Cavarape ve arkadaşlarının çalışmasında fruktoz ile beslenen ratlarda insülin direnci gelişmiş ve antioksidan enzim ekspresyonu azalmıştır⁸⁹. Perticone ve arkadaşlarının çalışmasında obez insülin direnci olan kişilere antioksidan özellikteki Vitamin C verildiğinde endotel disfonksiyonu düzelmiştir⁹⁰.

Fujita ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada metabolik sendromu olanlarda sistemik oksidatif stres markırları kontrol grubuna göre önemli oranda yüksek bulunmuştur. Visseral yağ oranı ile sistemik oksidatif stres göstergeleri arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır²¹.

Hansel ve arkadaşları metabolik sendromlu nondiabetik insülin direnci olan kişilerde yaptıkları çalışmada HDL alt gruplarının antioksidan kapasitesi ile sistemik oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve oksidatif stresin artması ile HDL alt gruplarının bozulmuş antioksidan kapasitesi arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir. HDL partiküllerinin (HDL3b ve 3c) antioksidatif, antiinflamatuvar etkisi Metabolik Sendromu olan kişilerde bozulmuştur. HDL'nin antioksidan kapasitesinde azalma sistemik oksidatif streste belirgin artışa yol açmıştır. Metabolik sendromda HDL nin bozulmuş antioksidan kapasitesi özellikle hipertrigliseridemi, hiperinsülinemi ve insülin direnci ile ilişkilidir³⁷.

Kalinowski ve arkadaşlarına göre endotel disfonksiyonu oksidatif stres ile ilişkilidir. Endotel hücrelerinde esas süperoksid üretim kaynağı NADPH oksidaz yoludur. ROS sentezi endotel disfonksiyonun başlamasını ve ilerlemesini etkiler⁸¹. Cai ve arkadaşları ile Mohazzab ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda kan damarlarının tüm tabakalarında süperoksid anyonu içeren ROS üretiminin olduğunu ve endotelin oksidatif stresin ana kaynağı olduğunu göstermişlerdir^{82,162}. Lteif ve arkadaşlarına göre oksidatif stres, endotel fonksiyonuna direkt zarar vererek aterogenezisde etkili olmaktadır. Bunun yanısıra NO'in direkt tüketimine neden olarak ve BH₄ elde edilebilirliğini azaltarak da etki göstermektedir⁴.

ADMA'nın yüksekliği sadece artmış ADMA sentezinden kaynaklanmaz, aynı zamanda azalmış ADMA yıkımından da kaynaklanır. ADMA metabolizmasından sorumlu enzim DDAH enziminin aktivitesi oksidatif stresin etkisiyle azalmaktadır. Hipertansiyon, hiperglisemi, hiperkolestrolemi ve hiperhomosisteinemi durumlarında DDAH aktivitesi azalmıştır.

Leiper ve arkadaşlarına göre kültür ortamındaki endotel hücrelerinde artmış ADMA konsantrasyonları, artmış ROS üretimi ve endotel disfonksiyonu ile birlikte bulunmuştur.

PRMT gibi metilleyici enzimlerin aktivitesi, ADMA sentezinden sorumlu ve ADMA'yı hidrolize eden enzim DDAH'ın aktivitesi oksidatif strese duyarlıdır. Oksidatif stres ADMA üretimini uyarır veya ADMA'nın parçalanmasını inhibe eder. Bu durum antioksidanlar ile azalmaktadır¹⁵⁹. Böger ve arkadaşları ile Jiang ve arkadaşlarına göre okside LDL (ox-LDL) gibi bazı oksidanlar ADMA artışını indüklemekte, bunu PRMT I ekspresyonunu arttırarak veya DDAH aktivitesini azaltarak yapmaktadırlar^{144,145}.

Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarının derecesi hücre içindeki koruyucu sistemlerin etkinlik derecelerine bağlıdır. Savunma sistemleri çeşitli radikal tutucular ve bazı enzimlerden oluşmaktadır. SOD, GPx ve CAT gibi bazı antioksidan enzimler serbest radikallerin oluşmasını ve lipit peroksidasyonunun başlamasını önleyen enzimlerdir¹²⁸. SOD serbest oksijen radikallerinin, katalaz ve GPx ise hidrojen peroksidin metabolize olmasını sağlar. Bu enzimlerin aktivitesi ile zararlı oksijen

kaynaklı OH⁻ radikalinin oluşumu engellenir¹⁶². Oksidatif stres kardiyovasküler hastalık riskini arttırmaktadır. Peroksidazlar H₂O₂ konsantrasyonunu düşürerek H₂O₂'in sitotoksik gücünü azaltırlar. SOD enzim sistemi organizmayı serbest radikal harabiyetine karşı koruyucu bir sistemdir. Antioksidanlar burada koruma mekanizması olarak görev alırlar.

Bu çalışmada metabolik sendromlu hasta grubunda antioksidan kapasiteyi gösteren antioksidan savunma sisteminin ilk enzimi olan SOD aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Antioksidan sistemin ikinci önemli enzimi olan GPx aktivitesi de düşük bulunmuştur ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Griendling ve arkadaşları obez farelerde yaptıkları çalışmada adipoz dokuda artmış ROS düzeylerini, artmış NADPH oksidaz ve azalmış antioksidatif enzim (Cu,Zn-SOD ve katalaz) sentezi ile birlikte saptamışlardır⁸⁴.

Antioksidan enzimler içinde SOD enzimi serbest oksijen radikallerine karşı savunmada ilk basamak olup oksidatif stres ile karşılaşma sonucunda indüklenir. Çalışmamızda artmış lipid peroksidasyonuna ve ADMA düzeylerine karşı SOD ve GPx düzeylerinde azalma olduğu düşünülmektedir. Ayrıca çalışmadaki hasta gruplarının hastalık süreleri, beslenme alışkanlıkları, antioksidan içeren yiyeceklerle beslenme özellikleri antioksidan enzim aktivitelerini değiştirebilir. Yine artmış lipid peroksidasyonu azalmış SOD aktivitesinden sorumlu olabilir.

Genel olarak metabolik sendromda antioksidan savunmada azalma görülmektedir. Metabolik sendromlu hastalarda nonenzimatik sistemin yetersizliği, antioksidatif sistemde yetersizlik olması, bunun sonucu olarak da sülfüdrül grubunun azalması hücre harabiyetine neden olmaktadır. Metabolik sendrom ve aterosklerozis sonucunda gelişen doku hasarı sebebiyle antioksidan enzim sistemindeki yetersizliğe bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin (MDA) yüksek olması bu hastaların belirgin oksidatif strese maruz kaldıklarını ortaya koymaktadır. Sonuçta meydana gelen endotel disfonksiyonu da serbest radikallerin neden olduğu hasarla ilişkilidir.

Yüksek homosistein konsantrasyonları bağımsız risk faktörüdür. Hiperhomosisteinemi endotel hasarına yol açmaktadır. Homosisteinin damar toksisitesi birbirinden farklı bir çok faktörün katılımıyla ortaya çıkmaktadır. Homosisteinin, homosistin, karışık disülfidler ve tiyolaktona otooksidasyonu esnasında H₂O₂, O₂⁻ ve OH⁻ radikali gibi çeşitli sitotoksik reaktif oksijen türlerinin oluşumu artmaktadır. Bu lipid peroksidasyonunu uyararak düşük dansiteli lipoprotein(LDL) oksitlenmesine ve trombositlerin kümelenmesine yol açar¹⁶³. Endotelden serbestleşen NO süperoksit radikaliyle birleşerek tüketilir. Sonuçta NO aracılığıyla gerçekleşen endotel bağımlı vazodilatasyon bozulmuş olur. Hiperhomosisteinemi, endotelin antitrombotik özelliğini protrombotik yönde değiştirerek ateroskleroza hızlandırmaktadır⁷⁷. Kanani ye göre hiperhomosisteinemi hayvanlarda ve insanlarda bozulmuş endotel fonksiyonu ile bağlantılıdır¹⁶⁷. Tawakol ve arkadaşları ile Woo ve arkadaşları tarafından orta derecede hiperhomosisteinimli kişilerde endotele bağlı vazodilatasyonun bozulduğu gösterilmiştir¹⁵³.

Çalışmamızda hasta grubunda homosistein düzeyleri kontrollere göre istatistiksel düzeyde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Lipid peroksidasyon artışının nedenlerinden biri olabilir.

Böger ve arkadaşları metionin vererek akut hiperhomosisteinemi indüklemişler ve sağlıklı bireylerde ADMA seviyelerinin arttığını, brakial arterin akım aracılı vazodilatasyonunun bozulduğunu gözlemlemişlerdir¹³³.

Stühlinger ve arkadaşlarına göre kültür ortamındaki endotel hücrelerinde homosistein DDAH enzimini inhibe ederek NO sentezini etkilemektedir. DDAH enzimi inhibisyonu ADMA seviyelerini arttırmaktadır⁹⁶.

Maymunlarda yapılan çalışmalarda metioninden zengin diyetle beslenme sonucunda ADMA seviyeleri yükselmiştir. Metil grupları metioninden homosistein sentezi süresince oluşmuş ve ADMA sentezinde kullanılmıştır. Lentz ve arkadaşları tarafından yapılan benzer bir çalışmada metioninden zengin kolin ve folatın eksik olduğu diyetle beslenen maymunlarda endotele bağlı vazodilatasyonun bozulduğu gösterilmiştir^{151,152}. Usui ve arkadaşları yüksek doz folik asit verilmesinin akut metionin yüklemesi sonrası insanlarda endotele bağımlı vazodilatasyonu düzelttiğini göstermişlerdir. Tetra hidrobiopterin endotelial NO sentazın esansiyel kofaktörüdür.

Folik asit bu kofaktörün prekürsörüdür. Endotele bağlı vazodilatasyon üzerindeki yararlı etkisinden bu özelliği sorumlu olabilir.^{130,154,157}

Hiperhomosisteinemi hastalarda endotel disfonksiyonu artmış oksidatif stres ile açıklanmaktadır. Artmış oksidatif stresin spesifik markırı 8-izoprostoglandin $F_2\alpha$ (8-isoPGF $_2\alpha$) hiperhomosisteinemi kişilerde yüksek bulunmuştur¹⁶³. Ratlarda yapılan çalışmalarda folik asit ve B vitaminlerinin belli bir süre verilmesi endotele bağımlı vazodilatasyonu düzeltmemiş ancak homosistein konsantrasyonlarını önemli derecede azaltmıştır¹⁶⁴. L arginin verilmesi ise plazma homosistein seviyelerini etkilememiş, ADMA'nın endotel fonksiyon üzerindeki zararlı etkilerini yoketmiştir. Endotele bağlı vazodilatasyon önemli olarak düzenlenmiştir. L arginin verilmesi oksidatif stres belirteçlerinden 8-iso-PGF $_2\alpha$ 'nın üriner eksekresyonunu azaltmıştır^{153,156}.

Yakın zamandaki çalışmalarda endotel, ROS'un temel kaynağı olarak saptanmıştır. Oksidatif stres endotel disfonksiyonunda anahtar rol oynamaktadır. Endotel disfonksiyonu ise kardiyovasküler hastalıkların gelişiminin başlangıç basamağıdır. Metabolik sendromda artan oksidatif stres endotel disfonksiyonuna neden olmakta ve aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklara yol açmaktadır^{162,166}.

Çalışmamızda artmış lipid peroksidasyon ürünü MDA, azalmış antioksidan enzimler metabolik sendromda dengenin oksidatif stres yönünde bozulduğunu göstermektedir. Azalmış NO artmış ADMA düzeyleri ile birlikte bu veriler metabolik sendromlu hastalarda endotel disfonksiyonu ve artmış oksidatif stresin bir arada olduğuna işaret etmektedir.

Yapılan çalışmalar Metabolik Sendromun hiperlipidemi, hiperglisemi gibi bileşenlerinin varlığında ADMA katabolizmasının yavaşlayıp serum ADMA düzeylerinin arttığını göstermektedir^{53,155}.

Bu çalışmada Metabolik Sendrom bileşenleri (sistolik kan basıncı,diastolik kan basıncı,bel çevresi) ile ADMA düzeyleri arasında pozitif korelasyon olması Metabolik Sendrom ciddiyeti ile ADMA düzeylerinin ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Endotel fonksiyonunun periferik sirkülasyondan serum ADMA düzeylerinin ölçülmesi gibi kolay yöntemlerle değerlendirilmesi gelecekte olacak kardiyovasküler olaylar hakkında önemli bilgiler sağlayabilir. Metabolik Sendromlu hastalarda endotel

disfonksiyonunun önceden tahmin edilmesi aterosklerotik sürecin klinik bulgu vermeden durdurulmasına yönelik tedbirlerin alınmasını kolaylaştıracaktır.

6.ÖZET

Metabolik Sendrom dünyada giderek daha fazla sayıda insanı etkileyen önemli mortalite ve morbidite nedenidir. Metabolik sendrom risk faktörlerinin ateroskleroz risk faktörleri ile örtüşmesi metabolik sendromun kardiyovasküler olaylar yönünden önemini göstermektedir. Vasküler yapının ve tonusun sürdürülmesinde endotel önemli rol oynar. Nitrik oksit (NO) endotel hücrelerinin anahtar mediyatörüdür. Asimetrik dimetil arjinin (ADMA), endojen nitrik oksit sentaz(NOS)ın inhibitörüdür ve endotel disfonksiyonunda artmaktadır.

Metabolik sendromda görülen insülin direnci oksidatif stres artışına neden olmaktadır. Artan oksidatif stres endotel disfonksiyonu yolu ile kardiyovasküler hastalıklara yatkınlık oluşturmaktadır.

Bu çalışma Ulusal Kolesterol Eğitim Programı Uzman Paneli III (NCEP ATP III) kriterlerine göre 40-60 yaşlarında 46 kişiden oluşan metabolik sendrom tanısı almış hasta grubu ve 39 kişiden oluşan aynı yaşta zayıf sağlıklı kontrollerde yapıldı.

Çalışmada ADMA düzeyleri, antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri, endotel fonksiyonu ile ilişkili homosistein(Hcy), nitrit, nitrat ve oksidatif stres göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeylerine bakıldı. Hasta grubunda kontrol grubuna göre ADMA düzeyleri, Hcy ve MDA düzeyleri anlamlı olarak ($p<0.05$) yüksek saptandı. Serum SOD aktiviteleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. GPx düzeyleri hasta grubunda düşük bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Hasta grubunda ADMA, HCY ve MDA düzeylerinin yüksek, antioksidan enzim aktivitelerinin düşük bulunması metabolik sendromun oksidatif stres yolu ile endotel disfonksiyonuna neden olduğu görüşünü destekler niteliktedir.

7. SUMMARY

Novadays Metabolic syndrome is an important cause of mortality and morbidity. The endothelium plays a crucial role in the maintenance of vascular tone and structure. One endothelium-derived vasoactive mediator with major importance is nitric oxide(NO). Dysfunction of the endothelial NO pathway is a common mechanism by which risk factors mediate certain deleterious effects on the vascular wall. Insulin resistance in metabolic syndrome causes increased oxidative stress. Increased oxidative stress mediates endothelial dysfunction. Asymmetric dimethyl arginine(ADMA) is an endogenous inhibitor of NO synthase(NOS). ADMA is elevated with endothelial dysfunction causes an increase incidence of cardiovascular disease.

Decrease in SOD activity, increase in plasma ADMA, MDA, Hcy and nitrite levels may support idea of oxidative stress mediated endothelial dysfunction in metabolic syndrome patients.

In this study, 46 metabolic syndrome patients(40 to 60 years) and 39 age matched healthy subjects were participated.

In patients group serum ADMA levels, SOD, GPx activities, Hcy, nitrite, nitrate and MDA levels were found significantly different than control subjects. $p < 0.05$

Serum SOD activities were found significantly different than control subjects. GPx activities were not found significant between patient and control groups.

8.KAYNAKLAR

- ¹ Işıldak Mehlika, Güven Gülay Sain, Gürlek Alper. Metabolik Sendrom ve insülin direnci. Hacettepe Tıp Dergisi 2004;35:96-99
- ² Chan N Norman, Kong PS Alice, Chan CN Juliana. Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes :The Hong Kong Perspective. Clin Biochem Rev.2005 August;26(3): 51-57
- ³ Özbakkaloğlu M., Demirci C, Yüzyılın Salgını: Metabolik Sendrom, SSK Tepecik Hast Derg 2003 ;13(3):121-127
- ⁴ Mather K, Lteif A., Insulin resistance, metabolic syndrome and vascular disease:Update on mechanistic linkages.Can J Cardiol Vol 20 Suppl B August 2004
- ⁵ National Institutes of Health: 8Third Report of the on Detection,Evaluation treatmentof High Blood Cholesterol in Adults.Adults Treatment Panel III.Executive Summary Bethesda. MD National Institutes of Health 2001
- ⁶ Alberti KG , Zimmet PZ. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications. Part 1: Diagnosis nad Classification of Diabetes Mellitus Provisional Report of a WHO Consultation. Diabet Med. 1998;15:539-553
- ⁷ Zimmet P, Magliano D, Matsuzawa Y, Alberti G, Shaw J: The metabolic syndrome: a global public health problem and a new definition J Atheroscler Thromb. 2005;12(6):295-300
- ⁸ Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001;285(19):2486-97.
- ⁹ Grundy SM , Brewer HB Jr , Cleeman JI , Smith SC Jr , Lenfant C.Definition of Metabolic Syndrom: Report of The National Heart, Lung Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. Circulation 2004;109:433-438
- ¹⁰ Maffeis C, Corciulo N, Livieri C, et al. Waist circumference as a predictor of cardiovascular and metabolic risk factors in obese girls. Journal of Clinical Nutrition2003; S7:566-72
- ¹¹ Ford ES , Giles WH , Dietz WH. Prevalence of The Metabolic Syndrom Among US Adults: Findings From The Third National Health and Nutrition Examination Survey. JAMA. 2002;287:356-359.
- ¹² Alexander CM , Landsmann PB , Teutsch SM , Haffner SM. NCEP-defined Metabolic Syndrom, Diabetes and Prevalence of Coronary Heart Disease Among NHANES III Participants Age 50 Years and Older. Diabetes. 2003;52:1210-1214.
- ¹³.Ginsberg HN , Stahlenhoef AF. The Metabolic Syndrom: Targeting Dyslipidemia to Reduce Coronary Risk. J Cardiovasc Risk. 2003;10:121-128.
- ¹⁴ Deen Darwin Metabolic Syndrome: Time for Action.Am fam Physician2004;69:2875-82,2887

- ¹⁵ Ford Earl S. Prevalence of the Metabolic Syndrome Defined by the IDF (International Diabetes Federation Among Adults in the U.S. *Diabetes Care* 28:2745-2749,2005
- ¹⁶ Dandona P,Aljada Ahmad, Chaudhuri Ajay,Mohanty Priya,Garg Rajesh. *Metabolic Syndrome Circulation*2005;111:1448-1454
- ¹⁷ Berg AH,Coomb TP,Scherer PE.ACRP30/adiponectin:an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2002 ;13:84-9
- ¹⁸ Motoshima H,Wu XD,sinha MK,et al.Differential regulation of adiponectin secretion from cultured human omental and subcutaneous adipocytes:effects of insulin and rosiglitazone. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 ;87:5662-7
- ¹⁹ Goutham Rao, *Insulin Resistance Syndrome Am Fam Physician* 2001 ; 63:1159-63,1165-6)
- ²⁰ Metsar Çalışması (Türkiye Metabolik Sendrom Araştırması) 2005.
- ²¹ Fujita Koichi, Nishizawa Hitoshi, Funahashi Tooru. Systemic Oxidative Stress is Associated With Visceral Fat accumulation and the Metabolic Syndrome. *Circ J* 2006;70:1437-1442
- ²² Kılınç A, kılınç K. Nitrik Oksit Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. *Palme yayıncılık* 2003
- ²³ Lüscher TF, Barton M 1997 Biology of the endothelium. *Clin Cardiol*:20 (suppl II):II-3-II-10
- ²⁴ Behrendt D, Ganz P 2002 Endothelial function: from vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol* 90(suppl):40-48
- ²⁵ Van Oostrom AJ, Cabezas MC, Rabelink TJ: Insulin resistance and vessel endothelial function. *J R Soc Med* 2002,. 95(Suppl 42):54–61
- ²⁶ Hu T, Chouinard M, Cox Amy L. Sipes P. FXR Agonist reduces serum ADMA levels through hepatic DDAH-1 gene regulation. *The Journal of Biological Chemistry* 2006 October
- ²⁷ Mittermayer F, Pleiner J, Krzyzanowska K, Wiesinger F, Francesconi M, Wolzt M. Regular physical exercise normalizes elevated ADMA concentrations in patients with Type 1 Diabetes mellitus. *Wien Klin Wochenschr* (2005)117/23-24:816-820
- ²⁸ Reaven GM. Insulin resistance: A chicken that has come to roost. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 892:45-57
- ²⁹ Kannel WB, Wilson PW, Zhang TJ. The epidemiology of impaired glucose tolerance and hypertension. *Am Heart J* 1991;121:1268-73
- ³⁰ Tsigos C, Kyrou I, Tsapogas P, Tentolouris N, Diakoumopoulou E, Kirlaki E, Tsiotra PC, Raptis SA, Katsilambros N. Plasma resistin levels are elevated in obese women and correlate with insulin levels. *Int J Obes* 26 (Suppl 1); S22 2002
- ³¹ Stepan CM, Lazar MA. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2002; 13(1): 18-23

- ³² Shuldiner AR, Yang R, Gong DW. Resistin, Obesity and Insulin Resistance-The emerging role of the adipocyte as an endocrine organ. *N Engl J Med* 2001,345(18): 1345-1346
- ³³ Stepan CM, Bailey ST, Bhat S Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001, 409: 307-312
- ³⁴ Ling C, Kindblom J, Wennbo H, Billig H. Increased resistin expression in the adipose tissue of male prolactin transgenic mice and in male mice with elevated androgen levels. *FEBS letters* 2001;505:147-150
- ³⁵ Mc Laughlin T, Reaven G. Insulin resistance and hypertension. Patients in double jeopardy for cardiovascular disease. *Geriatrics* 2000;55:28-32,35.
- ³⁶ Stühlinger M., Abbasi F, Chu JW., Lamendola C., Mc Laughlin T, Cooke JP., Reaven GM, Tsao S. Relationship Between Insulin Resistance and an Endogenous Nitric Oxide Synthase Inhibitor. *JAMA*, March 20, 2002-Vol 287, No 11
- ³⁷ Hansel Boris, Giral p., Nobecourt E., Chantepie S., Bruckert E., Chapman M.J. Kontush A. Metabolic Syndrome Is Associated with Elevated Oxidative Stress and Dysfunctional HDL Lipoprotein Particles Displaying Impaired Antioxidative Activity. *JCEM&Metabolism* 89(10):4963-4971
- ³⁸ Valkonen V-P, Laaksonen R. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and acute vascular events. *Clin Chim Acta* 2004;348:9-17
- ³⁹ Tarnow L., Hovind P., Teerlink T, Stehouwer CDA, Parving, H-H: Elevated Plasma ADMA as a marker of cardiovascular morbidity in early diabetic nephropathy in Type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 765-769
- ⁴⁰ Nijveldt R.J., Siroen M.P.C., Teerlink T., and Leeuwen M.V., Elimination of Asymmetric Dimethylarginine by the Kidney and the Liver: A Link to the Development of Multiple Organ Failure., *The American Society for Nutritional Sciences J. Nutr.* 134:2848S-2852S, October 2004
- ⁴¹ Chan NN, Chan JCN: Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a potential link between endothelial dysfunction and cardiovascular diseases in insulin resistance syndrome? *Diabetologia* 45:1609–1616, 2002
- ⁴² Krzyzanowska K., Mittermayer F., Kopp H.-P., Wolzt M., Scherthaner G. (2004). Weight Loss Reduces Circulating Asymmetrical Dimethylarginine Concentrations in Morbidly Obese Women. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 6277-6281
- ⁴³ Nijveldt J. Robert, Leeuwen van paul A. Guldener van Coen, Stehouwer D.A. Coen, Rauwerda A. Jan and Teerlink Tom. Net renal extraction of ADMA and SDMA in fasting humans. *Nephrol Dial transplant* 2002 17:1999-2002
- ⁴⁴ Wang J, Sim AS, Wang XL, Salonikas C, Naidoo D, Wilcken DE. Relations between plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) and risk factors for coronary disease. *Atherosclerosis* 184(2006)383-388
- ⁴⁵ Nash t. David Insulin Resistance, ADMA Levels, and Cardiovascular Disease *JAMA*, March 20, 2002-Vol 287, No, 11

- ⁴⁶ Rainer H.Böger, Renke Maas,Friedrich Schulze and Edzard Schwedhelm.Elevated levels of ADMA as a marker of cardiovascular disease and mortality.Clin chem Lab med 2005;43(10):1124-1129
- ⁴⁷ Böger R.H. ADMA, an endogenous Inhibitor of Nitric Oxide Synthase, Explains the ‘L-Arginine Paradox and Acts as a Novel Cardiovascular Risk Factor.Clinical Pharmacology Unit
- ⁴⁸ Weinbrenner T.,Schröder H.,Escuriol V.,Fito M.,Elosua,Vila J.,Marrugat J.,and Covas Maria-Isabel .,Circulation oxidized LDL is associated with increased waist circumference independent of body mass index in men and women.,Am J Clin Nutr 2006;83:30-5
- ⁴⁹ Altınova A.E.,Arslan M.,Sepici A.,Aktürk M.,Altan N.,Toruner F.B.,Uncomplicated Type 1 Diabetes Is Associated With Increased Asymmetric Dimethylarginine Concentrations.,J Clin Endocrin Metab.First published ahead of print February 20,2007
- ⁵⁰ Kielstein JT, Bode-Boger SM, Haller H, Fliser D. Functional changes in the ageing kidney: is there a role for asymmetric dimethylarginine? Nephrol Dial Transplant 2003;18(7):1245-8
- ⁵¹ Lin.Ken Y, Ito Akira,Asagami Tomoko, Tsao S.Philip, Adimoolam Shanthi,Kimoto Masumi. Impaired Nitric Oxide Synthase Pathway in Diabetes Mellitus Circulation2002;106:987
- ⁵² Bayraktar M.Nihayet, Kılıç Süleyman, Özdemir İlknur, Aydemir Songül, Ulu Ramazan.The Investigation of Serum Malondialdehyde Levels and Erythrocyte Antioxidant Enzymes in Hypertension Patients. Journal of Health Sciences14(2)76-81,2005
- ⁵³ Ruiz-Gutierrez V,Vazquez CM,Santa-Maria C.Liver Lipid composition and antioxidant enzyme activities of spontaneously hypertensive rats after ingestion of dietary fats.Biosci Rep 2001,21:271-285
- ⁵⁴ Carneado J,Alvarez de Sotomayor M, Perz –Guerrero C, et al.Simvastatin improves endothelial function in spontaneously hypertensive rats though a superoxide dismutase mediated antioxidant effect.J.Hypertens 2002, 20:429-437
- ⁵⁵ Iqbal M, Cawthon D, Beers K, et al.Antioxidant enzyme activities and mitochondrial fatty acids in pulmonary hypertension syndrome in broilers Poult Sci 2002, 81:252-260.
- ⁵⁶ Gianetti J, Pedrinelli R, Petrucci R, et al.Inverse association between carotid intima media thickness and the antioxidant lycopene in atherosclerosis.AM Heart J 2002, 143:467-474
- ⁵⁷ Yakobson MG, Antonov AR, Golovatyuk AV, et al. Iron content and parameters of blood antioxidant activity in rats with hereditary arterial hypertension during experimental myocardial infarction.Bull Exp Biol Med 2001,1041-1049
- ⁵⁸ Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M., Shimomura, I. (2004)., Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome., *J. Clin. Invest.* 114: 1752-1761
- ⁵⁹ Scalera Fortunato; Borlak Jürgen; Beckmann Bibiana; Martens Jens -Lobenhoffer; Thum Thomas; Tager Michael; Böger, Stefanie M.Bode.Endogenous Nitric Oxide Synthase Inhibitor Asymmetric Dimethyl L-Arginine Accelerates Endothelial Cell Senescence Arteriosclerosis,Thrombosis andVascular Biology.2004;24:1816

- ⁶⁰ Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T: Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 6(3-4): 92-95, 1997.
- ⁶¹ Sydow Karsten, Schwedhelm Edzard, Arakawa Naoshi, Bode Boger Mi Stefanie, Tsikas Dimitrios, Hornig Burkhard, Frölich C.Jurgen, Böger H.Rainer.ADMA and oxidative stres are responsiblefor endothelialdysfunction in hyperhomocysteinemia:effects of L-arginine and B vitamins.Cardiovascular Research 57(2003)244-252
- ⁶² Memişoğulları R. The Role of Free Radicals and the effect of Antioxidant in Diabetes. Düzce Tıp Fakültesi Tıp Dergisi 2005;3:30-39
- ⁶³ Cavarape A, Feletto F, Mercuri F, Quagliari L, Daman G, Ceriello A, High fructose diet decreases catalase mRNA levels in rat tissues.J.Endocrinol Invest 2001;24:838-45
- ⁶⁴ Memisogullari R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I: Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. Cell Biochem Func. 21: 291-296, 2003. 3. Sacks DB: Diabetes Mellitus. In: Burtis CA,
- ⁶⁵ Sydow K., Münzel Thomas ADMA and oxidative stres. Atherosclerosis Supplements 4(2003) 41-51
- ⁶⁶ Okuba K.,Hayashi K.,Wakino S.,Matsuda H.,Kubota E.,Honda M.,Tokuyama H.,Yamamoto T.,Kajiya F.,and Saruta T., Role of asymmetrical dimethylarginine in renal microvascular endothelial dysfunction in chronic renal failure with hypertension.,Hypertens Res 2005;28:181-189
- ⁶⁷ Park JB, Touyz RM, Chen X, Schiffrin El Chronic treatment with a superoxide dismutase mimet prevents vascular remodelling and progression of hypertension in salt loaded stroke prone spontaneously hypertensive rats.Am.J.Hypertens 2002, 15:78-84
- ⁶⁸ Richter B.,Niessner A., Penka M., Grdic M, Steiner S., Strassser B, Ziegler S, ZornG, , Maurer G, Simeon V, Wojta J, Huber K,Endurance training reduces circulating ADMA and MPO levels in persons at risk of coronary events.thromb Haemost 2005;94:1306-11
- ⁶⁹ Köksal C., Konukoğlu D., Ercan M.,Arslan C., Kazımoğlu K., Bozkurt K.Periferik Arter Hastalarında Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Kapasite
- ⁷⁰ Kompoti M, Anargiros M, Alevizos A, Ionnis K, Ionnis P, Eleni D,Ionnis L, Dimitrios L, Afroditi G. and Andreas M. Elevated serum triglycerides is the strongest single indicator for the presence of metabolic syndrome in patients with type 2 diabetes Cardiovascular Diabetology 2006,5:21
- ⁷¹ Holvoet Paul. Obesity, the metabolic syndrome and oxidized LDL.Am J Clin Nutr 2006 :83:1438-43
- ⁷² Ohike Y, Kozaki K,Iijima K, Eto M, Kojima T, Ohga E, Santa T, Imai K, Hashimoto M Amelioration of Vascular Endothelial Dysfunction in Obstructive Sleep Apnea Syndrome by Nasal Continuous Positive Airway Pressure.Circ J 2005;69:221-226
- ⁷³ Halliwell B, Cross CE, Gutteridge JMC.Free radicals,antioxidants and human disease:Where are we now?J Lab Clin Med.119:598-620,1992

- ⁷⁴ Redon J, Oliva MR Tormos C, et al. Antioxidant activities and oxidative stress by products in human hypertension. *Hypertension* 2003, 41:1096-1101
- ⁷⁵ Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*. 49(3):481-493, 1993
- ⁷⁶ Johnson P. Antioxidant enzyme expression in health and disease: effects of exercise and hypertension. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2002, 133:493-505
- ⁷⁷ Abbasi F, Brown BW, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM. Relationship between obesity, insulin resistance, and coronary heart disease risk. *J Am Cardiol* 2002; 40: 937-943
- ⁷⁸ Keaney JF Jr, Larson MG, Vasan RS, Wilson Pw, Lipinska I, Corey D, et al. Obesity and systemic oxidative stress: Clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:434-439
- ⁷⁹ Olusi, S.O Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord* 2002. 26:1159-1164
- ⁸⁰ Sorescu, D., et al. Superoxide production and expression of Nox family proteins in human atherosclerosis. *Circulation*. 105:1429-435
- ⁸¹ Kalinowski, L, Malinski, T, 2004. Endothelial NADH/NADPH –dependent enzymatic sources of superoxide production; Relationship to endothelial dysfunction. *Acta Biochim, Pol.* 51, 459-469
- ⁸² Cai, H., Harrison, D.G., 2000. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ. Res.* 87, 840-844.
- ⁸³ Cooke JP., 2000. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb. Vasc Biol* 20:2032-2037
- ⁸⁴ Griending KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NADPH oxidase: Role in cardiovascular Biology and disease. *Circ Res* 2000; 86:494-501
- ⁸⁵ Davi G, Guagnano MT, Ciabattini G, et al. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *JAMA* 2002; 288:2008-14
- ⁸⁶ Dandona P, Mohanty P, Ghanim H, et al. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:355-362
- ⁸⁷ Pessler D, Rudich A, Bashan N. Oxidative stress impairs nuclear proteins binding to the insulin responsive element in the GLUT4 promoter. *Diabetologia* 2001; 44:2156-64
- ⁸⁸ El Midaoui A, de Champlain J. Prevention of hypertension, insulin resistance and oxidative stress by alpha-lipoic acid. *Hypertension* 2002; 39:303-7
- ⁸⁹ Cavarape A, Feletto F, Mercuri F, Quagliario L, Daman G, Ceriello A. High fructose diet decreases catalase mRNA levels in rat tissues. *J. Endocrinol Invest* 2001; 24:838-45

- ⁹⁰ Perticone F, Ceravolo R, Candigliota M, et al. Obesity and body fat distribution induce endothelial dysfunction by oxidative stress protective effect of vitamin C. *Diabetes* 2001;50:159-65
- ⁹¹ Garg R, Kumbkarni Y, Aljada A, et al. Troglitazone reduces reactive oxygen species generation by leukocytes and lipid peroxidation and improves flow mediated vasodilatation in obese subjects. *Hypertension* 2000;36:430-5
- ⁹² Armutcu F., Gürel A., Söğüt S., Aksu N., Ünalacak M., Alkol Alışkanlığı Olanlarda Eritrosit Oksidan ve Antioksidan Parametre Düzeyleri., *Fırat Tıp Dergisi* 2004;9(2):50-53
- ⁹³ Lorenzo C, Williams K, Hunt Kelly J, Haffner Steven. The National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III, International Diabetes Federation, and the World Health Organization Definitions of the Metabolic Syndrome as predictors of Incident Cardiovascular Disease and Diabetes. *Diabetes Care* 30:8-13, 2007
- ⁹⁴ Festa A, D'Agostino R Jr, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic Subclinical Inflammation as Part of The Insulin Resistance Syndrome: The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation*. 2000;102:42-47
- ⁹⁵ Mertens I, Van Der PM, Corthouts B, et al. Visceral Fat is a Determinant of PAI-1 Activity in Diabetic and Non-diabetic Overweight and Obese Women. *Horm Metab Res*. 2001;33:602-607
- ⁹⁶ Stühlinger MC, Tsao PS, Her JH, Kimoto M., Balint RF, Cooke JP: Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of Asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2001;104:2569-2575
- ⁹⁷ Gökçe Noyan. L-Arginine and Hypertension *J.Nutr.* 134:2807S-2811S, 2004
- ⁹⁸ Güldiken S, Karadağ H., Demir M, Arıkan E, Kara M. Plasma Levels of Asymmetric Dimethylarginine and Total Homocysteine in First Degree Relatives of Type 2 Diabetic Patients. *Trakya Univ Tıp Fak Derg* 2007 ; 24(1):17-22
- ⁹⁹ Hossain P, Kavar B, Nahas M.E. Obesity and Diabetes in the Developing World. *The New England Journal of Medicine*. volume 356:213-215 January 18, 2007
- ¹⁰⁰ Bastos Barbosa J.P, Ines Lessa, Filho N.A, Magalhaes B.C, Araujo J. Criteria for central obesity in Brazilian population: impact on the metabolic syndrome *Arq Bras. Cardiol.* vol.87 no.4 Sao Paulo Oct 2006
- ¹⁰¹ Miyatake N, Kawasaki Y, Nishikawa H, Takenami S, and Numata T. Prevalence of Metabolic Syndrome in Okayama Prefecture, Japan. *Internal Medicine* .45.1509
- ¹⁰² Halliwell B., Chirico S.: Lipid Peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr* 1993;57: 715-725.
- ¹⁰³ Yung LM, Leung FP, Yao X, Chen ZY, Huang Y. Reactive oxygen species in vascular wall. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2006 Mar;6(1):1-19. Review.
- ¹⁰⁴ Reiter R.J.: Oxidative processes and antioxidative defence mechanisms in the aging brain. *The FASEB Journal* 1995; 9:526-553.

- ¹⁰⁵ McCord J.M.: Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. Clin Biochem 1993 ;26:351-357
- ¹⁰⁶ Gutteridge J.M.C.: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clinical Chemistry 1995; 41(12):1819-1828.
- ¹⁰⁷ Davies K.J.: An intracellular proteolytic systems may function as secondary antioxidant defences: an hypothesis. Free Radical Biology Medicine 1986; 2:155-173.
- ¹⁰⁸ Cheesman K.H., Mechanism and effects of lipid peroxidation. Molec Aspects Med. 14:191-197, 1993.
- ¹⁰⁹ Aruoma O., Halliwell B., Loughton MJ.: The mechanism of initiation of lipid peroxidation. Evidence against a requirement for iron complex. Biochem J 1989; 258:61-620.
- ¹¹⁰ Maxwell SR, Thomason H, Sandler D., LeGuen C., Baxter MA, Thorpe GH., Jones AF., Barnett AH.: Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent and noninsulin-dependent diabetes mellitus. Eur J Clin Invest 1997; 27:484-490
- ¹¹¹ Basaga H.S.: Biochemical aspect of free radical. Biochem Cell Biol 1990; 68: 989-998. are the strongest determinants of plasma antioxidative capacity and serum lipid resistance to oxidation in Finnish men. Atherosclerosis 1997, 130(1-2):223-233.
- ¹¹² Naghavi M., John R., Naguib S., Siadaty MS., Grasu R., Kurian KC., van Winkle WB., Soller B., Litovsky S., Madjid M., Willerson JT., Casscells W.: pH Heterogeneity of human and rabbit atherosclerotic plaques; a new insight into detection of vulnerable plaque. Atherosclerosis 2002; 164(1):27-35.
- ¹¹³ Jia Su-Jie, Jiang De-Jian, Hu Chang Ping, Zhang Xiao-Hong, Deng Han-Wu Lysophosphatidyl choline- induced elevation of ADMA level by the NADPH oxidase pathway in endothelial cells. Vascular Pharmacology 44(2006)143-148
- ¹¹⁴ Couillard C, Ruel G, Archer R, Pomerleau S, Bergeron J, Couture P Circulating Levels of Oxidative Stress Markers and Endothelial Adhesion Molecules in Men with Abdominal Obesity. J Clin Endocrinol Metab 90:6454-6459, 2005
- ¹¹⁵ Semenkovich F. Clay. Insulin resistance and atherosclerosis. The Journal of Clinical Investigation 116:1813-1822(2006)
- ¹¹⁶ Noronha T. Brian, Li Jian Mei, Wheatcroft Stephen B., Shah Mi Ajay , Kearney Mark. Inducible Nitric Oxide Synthase Has Divergent Effects on Vascular and Metabolic Function in Obesity. Diabetes 54:1082-1089, 2005
- ¹¹⁷ Zoccali Carmine, Mallamaci Francesca and Giovanni Tripepi. Novel Cardiovascular Risk Factors in End Stage Renal disease. J Am Soc Nephrol 15:S77-S80, 2004
- ¹¹⁸ Reaven GM. Role of Insulin resistance in human disease. Diabetes 37:1595-1607, 1988
- ¹¹⁹ Bloomgarden ZT. definitions of the Insulin resistance syndrome: The 1st World Congress on the Insulin resistance Syndrome. Diabetes Care 27:824-830, 2004

- ¹²⁰ World Health Organization. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications; Part 1:Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.Geneva:WHO Department of Noncommunicable Disease Surveillance ;1999
- ¹²¹ Kocabalkan F, Baykal Y, Bulucu F The effect of Age on insulin resistance and secretion. Geriatri 2(3): 132-136, 1999 Turkish Journal of Geriatrics
- ¹²² Beltowski J. , Kedra A, Asymmetric dimethylarginine (ADMA)as a target for pharmacotherapy.Pharmalogical Reports 2006,58,159-178
- ¹²³ Soysal D.,Savaş S.,Susam İ.,Çevik Ç.,Gödeli E.,Sözmen E.,Güneri S., The association of plasma homocysteine, coronary. risk factors and serum nitrite in Patients with Coronary Artery Disease,Cardiac Syndrome X and Helthy Subjects Orijinal Araştırma.,Anadolu Kardiyoloji Derg. Cilt:3 Sayı:1 Mart 2003
- ¹²⁴ Erol A.,Homosisteinin koroner mikrovasküler endotel hücre kültüründe nitric oksit salıverilmesi üzereine olan etkisi.,Ege Üniv. Tıp Dergisi 2006.
- ¹²⁵ Maas R, Böger RH. Old and new cardiovascular risk factors from unresolved issues to new opportunities. Atherosclerosis 2003; 4 (Suppl): 5–17
- ¹²⁶ Aksoy M., Akdemir İ., Aksoy N., Öç M., Yazıcıoğlu M.V., Mihmanlı M.B., Aksoy M.,Homosistein Düzeyi Yüksek olan Koroner Tedavi ile Plazma Homosistein Düzeyinde Vasküler Endotel Fonksiyonu ve Miyokard Üzerine Etkisi., Türk Kardio.Dern.Arş.2000;28:598-606
- ¹²⁷ Demirci C, Özbakkaloğlu M, Yıldırım Ali, Çakmak T, Yavuzgil C. Plasma Homocystein Levels in Acute Coronary Syndrome Patients, SSK Tepecik Eğitim hastanesi 2003;13(2),
- ¹²⁸Sezgin N, Sezgin A.T, Güllü H, Karabulut A, Özyalın F, Topal E, Gözükara E.The Effects of Cytokines , Nitric Oxide and Superoxide Dismutase on myocardial Function.Turkish Journal of Biochemistry 2004;29(2),178-182
- ¹²⁹ Hu Tonghuan, Chouinard Michael, Cox Amy L. Sipes Philip.FXR Agonist reduces serum ADMA levels through hepatic DDAH-1 gene regulation.The Journal of Biological Chemistry2006 October 25
- ¹³⁰ Lee BJ, Lin PT, Liaw YP, Chang SJ, Cheng CH, Huang YC: Homocysteine and risk of coronary artery disease: folate is the important determinant of fasting plasma homocysteine concentration. *Nutrition* 19, 577583(2003)
- ¹³¹ Temel İ, Özerol E. Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2002; 9:149-57
- ¹³² Reis RP, Azinheira J, Reis HP et al. Influence of smoking on homocysteinemia at baseline and after methionine load. Rev Port Cardiol 2000; 19: 471-4
- ¹³³ Böger RH, Ron ES; L-Arginine Improves Vascular Function by Overcoming the Deleterious Effects of ADMA, a Novel Cardiovascular Risk Factor, Altern Med Rev 2005; 10(1):14-23

- ¹³⁴ Zsuga J., Gesztelyi R., Török J., Keki S., Bereczki D., Asymmetric Dimethylarginine : A molecule responsible for the coexistence of insulin resistance and Atherosclerosis Via Dual Nitric Oxide Synthase Inhibition., *Medical Hypotheses*(2005)65,1091-1098
- ¹³⁵ Graham IM, Daly LE, Refsum HM et al. Plasma homocystein as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 1997; 277: 1775-81
- ¹³⁶ Shimomura, I, et al.. Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat. Med* (1996)2:800-803
- ¹³⁷ Hotamisligil, G.S, Shargill, N.S., and Spiegelman, B.M. 1993. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 259:87-91
- ¹³⁸ Iwaki, M., et al. Induction of adiponectin adipose derived antidiabetic and anti atherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes*. 52:1655-1663
- ¹³⁹ Garg R, Kumbkarni Y, Aljada A, et al. Troglitazone reduces reactive oxygen species generation by leukocytes and lipid peroxidation and improves flow mediated vasodilatation in obese subjects. *Hypertension* 2000;36:430-5
- ¹⁴⁰ Stühlinger MC, Tsao PS, Her JH, Kimoto M., Balint RF, Cooke JP: Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of Asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2001;104:2569-2575
- ¹⁴¹ DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*. 1991;14:173-942
- ¹⁴² Laaksonen DE, Lakka HM, Niskanen LK, Kaplan GA, Salonen JT, Lakka TA. Metabolic syndrome and development of diabetes mellitus: application and validation of recently suggested definitions of the metabolic syndrome in a prospective cohort study. *Am J Epidemiol*. 2002;156:1070-1077
- ¹⁴³ Mutlu Türkoğlu U, Oztezcan S., Telci A., et al. An increase in lipoprotein oxidation and endogenous lipid peroxides in serum of obese women. *Clin Exp Med* 2003;2:171-4
- ¹⁴⁴ Böger, R.H., Sydow K., Borlak, J., Thum, T., Lenzen, H., Schubert, B., Tsikas, D., Bode Boger S.M., 2000. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ. Res.* 87,99-105
- ¹⁴⁵ Jiang, J.L., Li, Y.J., Deng, H.W., 2002. Probucol preserves endothelial function by reduction of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. *Br. J. Pharmacol* 135, 1175-1185
- ¹⁴⁶ Fenster BE, Tsao PS, Rockson SG. Endothelial dysfunction: clinical strategies for treating oxidant stress. *Am Heart J* 2003; 146: 218-26
- ¹⁴⁷ Chan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, MacAllister R, Vallance P. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 Aug 1;23(8):1455-9

- ¹⁴⁸Xiong Y, Yuan LW, Deng HW, Li YJ, Chen BM. Elevated serum endogenous inhibitor of nitric oxide synthase and endothelial dysfunction in aged rats. *Clin.Exp.Pharmacol.Physiol.*2001Oct;28(10):842-7.
- ¹⁴⁹Leiper J, Vallance P 1999 Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 43:542-548
- ¹⁵⁰Achan V, Broad head M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, Mac Allister R, Vallance P 2003 Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23:1455-1459
- ¹⁵¹Lentz SR. Homocysteine and vascular dysfunction. *Life Sci* 1997;61:1205-1215
- ¹⁵²Lentz SR, Sobey CG, Piegors DJ et al. Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocysteinemia. *J. Clin Invest* 1996;98:24-29
- ¹⁵³Tawakol A, Omland T, Gerhard M, Nu JT, Creager MA. Hyperhomocysteinemia is associated with impaired endothelium dependent vasodilation in humans. *Circulation* 1997;95:1119-1121
- ¹⁵⁴Woo KS, Chook P, Lolin YI et al. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 1997;96:2542-2544
- ¹⁵⁵Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of NO synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339:572-575
- ¹⁵⁶LM, Cummings PM, Giddens K, Genest Jr. JJ, Nassar BA. Effect of folic acid and antioxidant vitamins on endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36:758-765
- ¹⁵⁷Usui M, Matsuoka H, Miyazaki H et al. Endothelial dysfunction by acute hyperhomocysteinemia: restoration by folic acid. *Clin Sci* 1999;96:235-239
- ¹⁵⁸Xiong Y, Fu YF, Fu SH, Zhou HH. Elevated levels of the serum endogenous inhibitor of nitric oxide synthase and metabolic control in rats with streptozotocin-induced diabetes. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003;42:191-6.
- ¹⁵⁹Leiper J, Murray-Rust J, McDonald N, Vallance P. S-nitrosylation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates enzyme activity: further interactions between nitric oxide synthase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002 ;99:13527-13532
- ¹⁶⁰Xu D, Neville R, Finkel T. Homocysteine accelerates endothelial cell senescence. *FEBS Lett.*2000;470:20-2
- ¹⁶¹Myara I, Alamowitch C, Michel O, et al. Lipoprotein oxidation and plasma vitamin E in nondiabetic normotensive obese patients. *Obes Res* 2003; 11:112-20
- ¹⁶²Mohazzab KM, Kaminski PM, Wolin MS. NADH oxidoreductase is a major source of superoxide anion in bovine coronary artery endothelium.

Am J Physiol. 1994 Jun;266(6 Pt 2):H2568-72.

¹⁶³ Kanani PM, Sinkey CA, Browning RL, Allaman M, Knapp HR, Haynes WG. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Circulation* 1999 sep14;100(11):1161-8

¹⁶⁴ Lin JY, Kang SS, Zhou JM, Wong PW. Homocysteinemia in rats induced by folic acid deficiency. *Life Sci.* 1989;44(5):319-25.

¹⁶⁵ Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003 Dec;112(12):1796-808.

¹⁶⁶ Cross C.E., Halliwell B., Borish ET.: Oxygen radicals and human disease. *Ann. Int. Med.* 1987; 107, 526-545.