

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NONALKOLİK YAĞLI KARACİĞER
HASTALIĞI VE KRONİK HEPATİT C' Lİ
OLGULARDA ADİPONEKTİNİN VE İNSÜLİN
DİRENCİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

ZEYNEP AYŞEN AKIN

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

İZMİR
2007

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NONALKOLİK YAĞLI KARACİĞER
HASTALIĞI VE KRONİK HEPATİT C 'Lİ
OLGULARDA ADİPONEKTİNİN VE İNSÜLİN
DİRENCİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

ZEYNEP AYŞEN AKIN

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
PROF. DR. CANAN ÇOKER

Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı tarafından
2005.KB.SAG.005 sayı ile desteklenmiştir.

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı Ve Kronik Hepatit C`li Olgularda Adiponektinin Ve İnsülin Direncinin Değerlendirilmesi isimli bu tez 22/01/2008 tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı bulunmuştur.

Prof.Dr. Canan ÇOKER
(Jüri Başkan)
(DEÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD)

Prof.Dr. Banu ÖNVURAL
(Jüri Üyesi)
(DEÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD)

Prof.Dr. Nevbahar TURGAN
(Jüri Üyesi)
(EÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD)

Doç.Dr. Sezer UYSAL
(Jüri Üyesi)
(DEÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD)

Doç.Dr. Halil RESMİ
(Jüri Üyesi)
(DEÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD)

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TABLO LİSTESİ	I
ŞEKİL LİSTESİ	II
GRAFİK LİSTESİ.....	II
KISALTMALAR	III
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	1
SUMMARY	3

BİRİNCİ BÖLÜM

1.GİRİŞ VE AMAÇ	5
------------------------------	----------

İKİNCİ BÖLÜM

2.GENEL BİLGİLER	7
2.1. NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI (NAYKH)	7
2.1.1. Tanımı ve Sınıflandırılma.....	7
2.1.2. Epidemiyolojik Özellikler	8
2.1.3. Fizyopatoloji.....	9
2.1.4. Patoloji.....	10
2.1.5. Klinik Özellikler	11
2.1.6. Biyokimyasal Bulgular	12
2.1.7. Prognoz.....	12
2.2. KRONİK HEPATİT C	12
2.2.1. Hepatit C Virüsü.....	12
2.2.1.1. Hepatit C Virus Enfeksiyonu.....	12
2.2.1.2. Hepatit C Virüs Genotipleri.....	13
2.2.1.3. Epidemiyoloji	13
2.2.1.4. Tedavi	13
2.2.1.5. HCV'ye bağlı Kronik Hepatitte Histopatoloji.....	14

2.2.1.6. HCV ve steatoz.....	14
2.2.1.7. HCV ve fibroz	15
2.3. İNSÜLİN DİRENCİ SENDROMU	15
2.3.1 Tanım.....	15
2.3.2 Prevelans.....	19
2.3.3 İnsülin Direnci Sendromunun Major ve Sekonder Klinik Sonuçları	19
2.3.4 İnsülin Direnci Sendromu Bileşenleri	19
2.3.4.1. IRS ve Tip 2 DM	19
2.3.4.2. IRS ve Dislipidemi	20
2.3.4.3. IRS ve Obezite	21
2.3.4.4. IRS ve Hipertansiyon	22
2.3.4.5. IRS ve Endotel Disfonksiyonu	22
2.3.4.6. IRS ve Pro-inflamatuar Durum	22
2.1.4.7. IRS ve Pro-trombotik Durum	23
2.4. ADİPOSİTOKİNLER	23
2.4.1. Adiponektin	23
2.5. LİPOPROTEİNLER.....	26
2.5.1. Apolipoproteinler	27
2.5.2. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler	29

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3. ARAÇ-GEREÇ VE YÖNTEMLER	31
3.1. ARAÇ ve GEREÇLER.....	31
3.1.1. Cihazlar.....	31
3.1.2. Kimyasal Maddeler	32
3.1.3. Kitler	32
3.2. OLGULARIN SEÇİMİ, ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI	32
3.2.1. Olguların Seçimi.....	32
3.2.2. Örneklerin Alınması, Toplanması ve Saklanması	34

3.3. FİZİKSEL ÖZELLİKLERİN ÖLÇÜMÜ.....	34
3.3.1. Arteriyel Tansiyon Ölçümü.....	34
3.3.2. Vücut Ağırlığı ve Boy Ölçümü.....	34
3.4. BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	35
3.4.1. Biyokimyasal Analizler.....	35
3.4.2. Adiponektin Düzeylerinin Ölçümü.....	36
3.4.3.HDL-K, HDL2-K ve HDL3-K Ölçüm Yöntemleri.....	36
3.5. İNSÜLİN DİRENCİ ÖLÇÜM YÖNTEMİ (HOMA MODELİ).....	37
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	37

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4. BULGULAR.....	38
4.1. TANIMLAYICI BULGULAR.....	38
4.2. IRS KRİTERLERİNE AİT BULGULAR.....	38
4.3. İNSÜLİN DİRENCİ BELİRTEÇLERİNE AİT BULGULAR.....	43
4.4. ADİPONEKTİN DÜZEYLERİNE AİT BULGULAR.....	45
4.5. OBEZİTE İLE İNSÜLİN DİRENCİ VE ADİPONEKTİN İLİŞKİSİ.....	46
4.6. KAN LİPİD PROFİLİNE AİT BULGULAR.....	49
4.7. DİĞER BİYOKİMYASAL KORONER RİSK FAKTÖRLERİNE AİT BULGULAR.....	50
4.8. KORELASYON ANALİZLERİ.....	52

BEŞİNCİ BÖLÜM

5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	53
----------------------------------	-----------

ALTINCI BÖLÜM

6. KAYNAKLAR.....	62
--------------------------	-----------

TABLO LİSTESİ

- Tablo 1** :Dünya Sağlık Örgütü -1999, Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri
- Tablo 2** :NCEP-ATP III 2001, IRS tanı kriterleri
- Tablo 3** :Uluslararası Diyabet Federasyonu 2005 IRS kriterleri
- Tablo 4** :IRS’da Lipid, Lipoprotein, Apolipoprotein, Enzim ve Proteinlerdeki Değişimler
- Tablo 5** :Adiponektinin başlıca metabolik etkileri
- Tablo 6** :İnsan plazmasındaki lipoproteinler ve özellikleri
- Tablo 7** :İnsan plazma lipoproteinlerinin apolipoproteinleri
- Tablo 8** :Fiziksel özellikler
- Tablo 9** :NAYKH, KHC ve kontrol gruplarında IRS kriterleri
- Tablo 10** :IRS (+) ve IRS (-) NAYKH olgularında IRS kriterleri
- Tablo 11** :IRS (+) ve IRS (-) KHC olgularında IRS kriterleri
- Tablo 12** :İnsulin direnci belirteçleri
- Tablo 13** :NAYKH, KHC ve kontrol gruplarının adiponektin düzeyleri
- Tablo 14** :VKİ’ne göre hastaların sınıflandırılması
- Tablo 15** :Obezite ile insulin direnci ve adiponektin ilişkisi
- Tablo 16** :NAYKH, KHC ve kontrol gruplarının kan lipid profilleri
- Tablo 17** :NAYKH, KHC ve kontrol gruplarında ferritin, homosistein ve hs-CRP değerleri
- Tablo 18** :IRS (+) ve IRS (-) NAYKH olgularında ferritin, homosistein ve hs-CRP değerleri
- Tablo 19** :IRS (+) ve IRS (-) KHC olgularında ferritin, homosistein ve hs-CRP değerleri
- Tablo 20** :IRS bileşenlerinin prevalansları
- Tablo 21** :NAYKH ‘da obezite ve hiperlipidemi prevalansı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1 : HDL metabolizmasının şematik gösterimi

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1 : NAYKH grubunda kriterlerin görüldüğü hastaların toplam hasta sayısına oranları.

Grafik 2 : NAYKH grubunda sahip oldukları kriter sayısına göre hastaların kümelenmesi

Grafik 3 : HCV grubunda kriterlerin görüldüğü hastaların toplam hasta sayısına oranları

Grafik 4 : HCV grubunda sahip oldukları kriter sayısına göre hastaların kümelenmesi

Grafik 5 : NAYKH, KHC ve kontrol grubunda HOMA-IR düzeyleri

Grafik 6 : NAYKH, KHC ve kontrol grubunda HbA1c düzeyleri

Grafik 7 : NAYKH, KHC ve kontrol grubunda insülin değerleri

Grafik 8 : NAYKH ve kontrol grubunda adiponektin düzeyleri

Grafik 9 : Obez NAYKH ve non-obez KG'unda insülin, adiponektin ve HOMA-IR karşılaştırılması

Grafik 10 : Obez KHC ve non-obez KG'unda insülin, adiponektin ve HOMA-IR karşılaştırılması

Grafik 11 : NAYKH, KHC ve kontrol gruplarının HDL-K, HDL₂-K, HDL₃-K düzeylerinin karşılaştırılması

Grafik 12 : NAYKH ve kontrol grubunda homosistein değerleri

KISALTMALAR

NAYKH	: Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı
NASH	: Non alkolik steatohepatit
KHC	: Kronik hepatit C
IRS	: İnsülin Rezistansı/Direnci Sendromu
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
HOMA-IR	: İnsülin Direnci Ölçüm Yöntemi
CRP	: C-reaktif protein
hs- CRP	: Yüksek duyarlılık C-reaktif protein
Apo-A1	: Apolipoprotein A1
Apo-B	: Apolipoprotein B
AYKH	: Alkolik yağlı karaciğer hastalığı
ASH	: Alkolik steatohepatit
ALP	: Alkalen fosfataz
AST	: Aspartat transaminaz
ALT	: Alanin transaminaz
GGT	: Gama glutamil transpeptidaz
AMA	: Antimitokondriyal antikor
ANA	: Anti nükleer antikor
ASMA	: Anti düz kas antikor
HCV	: Hepatit C virusu
VKİ	: Vücut kitle indeksi
NCEP	: Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı
ATP III	: Üçüncü Erişkin Tedavi Paneli
DM	: Diyabetes Mellitus
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein
IDL	: Orta dansiteli lipoprotein
TG	: Trigliserid
TK	: Total kolesterol

METSAR	: Türkiye Metabolik Sendrom Araştırması
TEKHARF	: Türkiye’de Erişkinlerde Kalp Hastalığı Ve Risk Faktörleri Sıklığı
ASKVH	: Aterosklerotik kardiyovasküler hastalık
NHANES	: Erişkin Amerikalı Kadın Ve Erkeklerde Yapılan Ulusal Sağlık Ve Beslenme Çalışması
PI-3k	: Fosfotidil inositol 3- kinaz
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitörü
PPAR	: Peroksizom Prolifator Aktivated reseptör
ACC	: Koenzim A karboksilaz
TNF	: Tümör nekroze edici faktör
LPL	: Lipoprotein lipaz
HL	: Hepatik lipaz
LCAT	: Lesitin kolesterol açıl transferaz
UCP-2	: Uncoupling protein 2

TEŞEKKÜR

Biyokimya doktora eğitimim sırasında bana her türlü yardım ve katkıda bulunan D.E.Ü.T.F. Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Banu Önvural'a, değerli öğretim üyelerine ve çalışanlarına;

Tez çalışmalarım süresince gerek bilimsel gerekse manevi katkılarından dolayı varlığını daima yanımda hissettiğim ve destek aldığım danışmanım Sayın Prof. Dr. Canan Çoşker'e;

Tez çalışmalarım süresince örneklerin toplanmasında ve analizlerin yapılması sırasında bana büyük bir özveriyle yardımcı olan Sayın Araş. Gör. Dr. Öznur Ersoy'a;

Tez çalışmalarım süresince bazı analizlerin yapılmasında bana yardımcı yardımcı olan Sayın Faruk Turgay'a;

Tez çalışmalarım süresince olguların toplanmasında ve yönlendirilmesinde emeği geçen Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda görevli tüm hekimlere;

Beni bugünlere getiren, her zaman varlıklarını yanımda hissettiğim sevgili aileme ve bana destek veren eşim Sayın Uzm. Dr. Ali Akın'a ve canım oğlum A. Emre Akın'a teşekkür ederim..

Uzm. Dr. Z. Ayşen Akın

ÖZET

NON ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI VE KRONİK HEPATİT C' Lİ OLGULARDA ADİPONEKTİNİN VE İNSÜLİN DİRENCİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ayşen AKIN¹, Canan Çoker¹, Öznur ERSOY¹, Mesut AKARSU², Hale AKBAYLAR²

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı,² Gastroenteroloji Bilim Dalı

NAYKH (non alkolik yağlı karaciğer hastalığı) diffüz yağ infiltrasyonu, lobuler inflamasyon ve presinüzoidal fibrozis ile karakterize kronik bir karaciğer hastalığıdır. NAYKH toplumda sık görülmesi, siroz ve karaciğer yetmezliğine ilerlemesi nedeniyle önem taşımaktadır. Son yıllarda, NAYKH ve yanı sıra kronik hepatit C (KHC)'deki steatoz gelişiminde temel patofizyolojik faktörün insülin direnci olabileceği ileri sürülmektedir. IRS (insülin rezistansı/direnci sendromu), hipertansiyon, abdominal obezite, bozulmuş glukoz intoleransı ve dislipidemi ile karakterize, kardiyovasküler hastalık (KVH) riskinin arttığı bir durumdur. Yağ dokusunda sentezlenen adiponektin gibi adipositokinlerin düzeyindeki değişimlerin bu sendromun patogenezinde ve KVH oluşum sürecinde rol oynadığı ileri sürülmektedir. Adiponektin, insüline duyarlı dokulardaki karbonhidrat ve lipid metabolizmasının modülasyonunda önemli rol oynadığı düşünülen ve insülin direncinde artışa yol açan durumlarda, plazma düzeyleri anlamlı ölçüde azalan bir proteindir. Bu çalışmanın amacı NAYKH ve kronik hepatit C de adiponektini ve bu molekülün insülin direnci ve KVH risk faktörleri ile ilişkisini değerlendirmektir.

Çalışmaya 23 NAYKH, 18 KHC ve 21 sağlıklı kontrol olgusu alındı. Tüm grupların bel çevresi ölçüldü, vücut kitle indeksi hesaplandı, lipid parametreleri, homosistein, hs-CRP, ferritin düzeyleri ölçüldü; insülin direnci HOMA-IR indeksi hesaplanarak değerlendirildi. Serum adiponektin düzeyleri ELİSA yöntemiyle ölçüldü. Gruplar arasındaki farklılığın analizi için Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. Korelasyon analizleri Spearman testi ile yapıldı. Farklılık ve korelasyon analizlerinde anlamlılık için $p < 0.05$ düzeyi temel alındı.

NAYKH hastalarında kontrol grubuna kıyasla TA ($p=0,000$), bel çevresi ($p=0,010$), homosistein ($p= 0,019$), HOMA-IR ($p=0,000$) düzeyleri yüksek; adiponektin düzeyleri ($p=0,001$) düşük saptandı. KHC grubunda TA ($p=0,000$), HOMA-IR ($p=0,001$) düzeyleri yüksek; total kolesterol ($p=0,037$) ve Apo B ($p=0,035$) düzeyleri düşük saptandı. KHC

hastalarında kontrol grubuna kıyasla adiponektin düzeyleri düşük olmasına rağmen anlamlı bir fark yoktu. NAYKH ve KHC hastalarını karşılaştırdığımızda ise her iki grup arasında adiponektin ve HOMA-IR değerleri açısından anlamlı bir fark yoktu. NAYKH grubunda hs-CRP (p=0.000), total kolesterol (p=0,047), trigliserid (p=0,006) değerleri KHC grubuna göre yüksek, HDL2-K değeri (p=0,004) düşük bulundu.

Sonuç olarak, NAYKH da daha belirgin olmak üzere NAYKH ve KHC hastalarında insülin direncinin bulunduğu saptanmıştır. NAYKH grubunda adiponektinin anlamlı düşük olması hepatik steatoz ile adiponektin arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. NAYKH da adiponektin ile insülin direnci arasındaki ilişkinin ve adiponektinin olası fizyopatolojik rolünün aydınlatılması için daha ileri çalışmalara gerek vardır.

Anahtar Kelimeler: NAYKH, CHC, adiponektin, insülin resistansı

SUMMARY

EVALUATION OF ADINOPECTİN AND INSULIN RESISTANCE IN CHRONIC HEPATITIS C AND NON ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Ayşen AKIN¹, Canan Çoker¹, Öznur ERSOY¹, Mesut AKARSU², Hale AKBAYLAR²

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, ²Gastroenteroloji Bilim Dalı

Non alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a chronic liver disease characterized with diffuse fat infiltration, lobular inflammation and presinusoidal fibrosis. It's high prevalence, progression to cirrhosis and hepatic insufficiency makes NAFLD an important health problem. In recent years, it is postulated that insulin resistance may be the major pathophysiological factor for development of steatosis in NAFLD as well as in chronic hepatitis C (CHC). Insulin resistance syndrome (IRS) is characterized with hypertension, abdominal obesity, impaired glucose intolerance, dislipidemia and thus increased cardiovascular morbidity. It is assumed that the changes in the levels of adipocytokines such as adiponectin synthesized by fat tissue may play an important role in this syndrome and progression of cardiovascular disease. Adinopectin is a protein which is thought to effect the modulation of carbohydrate and lipid metabolism in insulin sensitive tissues and it's plasma levels decrease significantly in insulin resistance. The objective of this study is to evaluate adiponectin and its association to insulin resistance and cardiovascular risk factors in NAFLD and CHC.

23 NAFLD, 18 CHC patients and 21 healthy controls were included in the study. Following the measurement of abdominal circumference and calculation of BMI, the analysis of lipid parameters, homocystein, hs-CRP and ferritin was performed in all groups. Insulin resistance was evaluated by calculating HOMA-IR index. Serum adinopectin levels were determined with ELİSA method. Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U test was applied for statistical evaluation of the difference between the groups. Correlation analysis was done by Spearman rank correlation test. $p < 0.05$ was considered as significant.

NAFLD patients had higher levels of TA ($p=0,000$), abdominal circumference ($p=0,010$), homocystein ($p= 0,019$), HOMA-IR ($p=0,000$) and lower levels of adiponectin ($p=0,001$) compared to controls. CHC patients had higher levels of TA ($p=0,000$), HOMA-IR

($p=0,001$) and lower levels of total cholesterol ($p=0,037$) and Apo B ($p=0,035$) compared to controls. In CHC group, although adiponectin levels were lower than the control group the difference was not significant. Comparing NAFLD and CHC groups, no significant difference was observed regarding adiponectin vs HOMA-IR. In NAFLD group hs-CRP ($p=0,000$), total cholesterol ($p=0,047$), triglyceride ($p=0,006$) levels were higher and HDL2-K ($p=0,004$) levels were lower compared to CHC group.

Insulin resistance was observed both in NAFLD and CHC patients although more profound in NAFLD. Significantly low levels of adiponectin in NAFLD patients support the association between hepatic steatosis and adiponectin. Further studies are necessary to elucidate the possible pathophysiological role of adiponectin and its relationship to insulin resistance in NAFLD.

Key words: NAFLD, CHC, adiponectin, insulin resistance.

BİRİNCİ BÖLÜM

1. GİRİŞ VE AMAC

Adiponektin beyaz yağ dokusunda sentezlenen kollajen benzeri bir proteindir, adipozit farklılaşması sırasında miktarı artar ve serumda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Adiponektinin, insüline duyarlı dokulardaki karbonhidrat ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. İnsülin direncinde artışa yol açan durumlarda, plazma adiponektin düzeyleri anlamlı ölçüde azalmaktadır.

NAYKH (Non Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı), basit steatozdan, steatohepatit, ileri derecede fibrozis ve siroza kadar giden karaciğer hasarını tanımlamaktadır. NASH (Non Alkolik Steatohepatit) bu spektrum içerisinde bir evredir ve diffüz yağ infiltrasyonu, lobuler inflamasyon ve presinüzoidal fibrozis ile karakterize kronik bir karaciğer hastalığıdır. Günümüzde NAYKH'nın gelişiminde temel patofizyolojik faktörlerden birinin insülin direnci olduğu ileri sürülmektedir. NAYKH toplumda sık olarak görülmesi, siroz ve karaciğer yetmezliğine ilerlemesi nedeniyle klinik önem taşımaktadır. NAYKH'lı olguların %10'u karaciğer sirozuna ilerlemektedir. Patogenezle ilgili bilgiler giderek artmakla birlikte henüz NAYKH patogenezini tam olarak açıklayamamıştır. Bunun yanısıra henüz NAYKH için kesin ve etkin bir tedavi yoktur. Bu nedenle patogenezin aydınlatılması ve buna bağlı olarak etkin tedavinin geliştirilmesi önem taşımaktadır.

Hepatit C'ye bağlı karaciğer hastalıkları ise sık görülmekte ve klinik önem taşımaktadır. NAYKH, genel popülasyona göre hepatit C'den daha sık görülmektedir. Kronik hepatit C'de karaciğer biyopsilerinde steatoz görülme oranları %30-%70 arasında değişmektedir ve bu oran genel popülasyondan 2.5 kat fazladır. Diğer taraftan Hepatit C ile karşılaşan olguların %60-%85'inde kronik hepatit gelişmekte ve bunların %20'si siroza ilerlemektedir. Kronik hepatit C, hepatosellüler karsinom ve son dönem karaciğer yetmezliğinin en sık nedenlerinden birisidir. Bu çalışmada kronik hepatit C'de gelişen karaciğer yağlanması insülin direnci ile ilişkisi adiponektin üzerinden değerlendirilmeye çalışılacaktır. Kronik hepatit C patogenezinin aydınlatılması, bu olgularda ortaya çıkan karaciğer hasarının önlenmesi ve tedavisi açısından büyük önem taşımaktadır.

Hepatik steatozun insülin rezistansı ile bağlantısı tam olarak açıklanamamıştır. Bu çalışmanın amacı adiponektinin NAYKH ve kronik hepatit C'deki karaciğer yağlanması ile

ilişkinin incelemek ve farklı nedenlere bağlı karaciğer yağlanması insülin direnci sendromu (IRS) ile bağlantısını bu molekül etrafında değerlendirmek.

Aynı zamanda düşük adiponektin düzeyleri ile aterosklerotik lipid profili arasında ilişki kurulmaktadır. IRS'lu hastalar hiperinsülinemi ve insülin direncinin eşlik ettiği, plazma serbest yağ asitlerinin artışı, hipertrigliseridemi, apolipoprotein B (apo-B) ve "küçük-yoğun" LDL (sd-LDL) düzeylerinde yükseklik, özellikle HDL₂ fraksiyonunda olmak üzere HDL düzeylerinde düşüklük ile karakterize bir dislipidemi tablosu gösterirler. Çalışmamızda IRS ile ilişkili olduğunu düşündüğümüz NAYKH ve kronik hepatit C de, IRS tanı kriterlerinden biri olan HDL düşüklüğü HDL subfraksiyonları açısından değerlendirilecek ve adiponektinin HDL ve subfraksiyonları ile ilişkisi de irdelenecektir.

IRS'nin her bir parametresi kardiyovasküler hastalık gelişimi için bağımsız bir risk faktörüdür. Enflamatuvar bir süreç olan aterosklerozda C-reaktif proteinin (CRP) arttığı bilinmektedir. Çalışmamızda NAYKH ve kronik hepatit C'li hastalarda hs-CRP'nin insülin direnci, adiponektin ve ateroskleroz ile ilişkisini de inceleyeceğiz. Hiperhomosisteinemi de prematür aterosklerozla ilişkili olarak diyabetli hastalarda bulunmaktadır. İnsülin rezistansı ile hiperhomosisteinemi arasında da bağlantı olabileceğini gösteren çalışmalar vardır ve yağlı karaciğer hastalığında ve kronik karaciğer yetmezliğinde artmış düzeyler kanıtlanmıştır. Halbuki NAYKH ve kronik hepatit C'de homosistein düzeyleri ile ilgili yeterli veri yoktur. Çalışmamızda aynı zamanda bu hastalıklar ile homosistein düzeyleri arasında ilişki olup olmadığını bulmaya çalışacağız.

Tüm bu bilgiler ışığında; düşük adiponektin düzeylerinin obezite, insülin direnci, KAH ve dislipidemiyle ilişkili olması bu proteinin insülin direnci sendromunda ve IRS ile ilişkili hastalıklarda yeni ve önemli bir risk belirteci olabileceğini düşündürmektedir. Bunun ötesinde eksik adiponektinin yerine konulması, insülin direnci sendromu ve ilişkili hastalıklar için yeni bir tedavi stratejisi olabilir. Bu çalışmada hepatik steatoz ile karakterli NAYKH ve KHC hasta gruplarında adiponektin ve bu molekülün insülin direnci ve KAH risk faktörleri ile ilişkisi irdelenecektir.

İKİNCİ BÖLÜM

2. GENEL BİLGİLER

2.1. NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI (NAYKH)

2.1.1. Tanım ve Sınıflandırma

Hepatosteatoz karaciğerde yağ miktarının, özellikle trigliseridlerin, karaciğer ağırlığının %5-10'undan fazla olması veya histopatolojik incelemede hepatositlerin %5'ten fazlasının yağ vakuolleri ile dolu olması olarak tanımlanır (1).

Karaciğer yağlanması çok değişik nedenlere bağlı olarak gelişebilmesinden dolayı "Yağlı Karaciğer Hastalıkları" terminolojik olarak 3 ana grupta toplanabilir.

1. Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalıkları (AYKH)
 - Alkolik yağlı karaciğer (alkolik steatoz)
 - Alkolik steatohepatit (ASH)
2. Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalıkları (NAYKH)
 - Non-alkolik yağlı karaciğer (non-alkolik steatoz)
 - Non Alkolik steatohepatit (NASH)
3. Yağlı Siroz

NAYKH alkole bağlı olmayan tüm karaciğer yağlanmalarını kapsar. Bu genel tanım içerisinde yer alan 'steatoz' selim seyirlidir, karaciğerde basit yağlanma vardır, ancak iltihabi infiltrasyon henüz gelişmemiştir. Buna karşılık, NASH ise hiç alkol kullanmayan veya az miktarda (günde 20-30 gr'ın altında) alkol kullanan, histolojik bulguları alkolik karaciğer hastalığından ayırt edilemeyen, yağlanma ile birlikte nekroinflamasyon ve fibrozun geliştiği kronik seyirli klinik tabloyu ifade eder. Mikst tipte iltihabi infiltrasyonun dışında, hepatositlerde balonlaşma ve bazılarında Mallory cisimcikleri (zon-3'te balonlaşmış hepatositler içinde yer alan asidofilik yapılar) ve fibroz gibi bulgular gelişmiştir. Her ne kadar bu iki grup birbirinden farklı gibi görünürse de, klinik spektrumun ilk basamağını steatoz oluşturmaktadır. Daha sonra çeşitli faktörlerin etkisiyle gelişen inflamasyon, klinik olarak daha önemli olan, siroza kadar ilerleyebilen, hatta ölüme yol açabilen olaylar dizisini başlatmaktadır.

Son yıllarda yapılan sınıflamaya göre, NAYKH etiyolojik faktörlerine göre 3 gruba ayrılabilir (2).

2.1. Primer NAYKH

• İnsülin rezistans sendromu ile ilgili hastalıklar; tip 2 diyabet, obezite ve hiperlipidemi nedeniyle ortaya çıkan karaciğer yağlanması.

2.2. Sekonder NAYKH

- İlaçlar
- Cerrahi
- Metabolik/Genetik
- Diğer faktörlere bağlı ortaya çıkan karaciğer yağlanması

2.3. Gruplandırılmayan NAYKH

- İntestinal bakteriyel aşırı gelişim
- Demir yüklenmesi
- Kronik HCV hepatitinde görülen karaciğer yağlanması

2.1.2 Epidemiyolojik Özellikler

NAYKH yaygın bir sorundur. Hastalığın sıklığı, asemptomatik olması nedeniyle tam olarak bilinmemektedir.

ABD’de genel popülasyonda yaklaşık %5 sıklıkta görülen NAYKH en yaygın karaciğer hastalığı olarak tanımlanmaktadır (3). Artmış serum transaminazlarının nedenini araştırmak için karaciğer biyopsisi yapılan hastaların %11’inde NASH tanısı konmuştur. Obez hastalarda prevalans %19 iken, zayıflarda sadece %2.7’dir. Son yıllarda yapılan TURDEP çalışmasının sonuçlarına dayanarak erişkin Türk toplumunun %7.2’sinin tip 2 diyabetli ve %22.3’ünün obez olduğu gerçeği göz önüne alındığında, ülkemizde NAYKH sıklığının küçümsenmeyecek oranlarda olması gerektiği görülmektedir (4-6). Bütün bu çalışmalardan anlaşılacağı üzere bazı faktörler NAYKH sıklığını arttırmaktadır. NAYKH risk faktörleri aşağıda görülmektedir:

NAYKH risk faktörleri

- Tip 2 diyabet veya bozulmuş glukoz toleransı
- Obezite (BKİ ≥ 30 kg/m², santral obezite)
- Dislipidemi (hipertrigliseridemi, düşük HDL düzeyi)
- İleri yaş (>45)
- Ailede steatohepatit öyküsü
- Hızlı zayıflama

2.1.3.Fizyopatoloji

NAYKH'nın patogenezi halen tam olarak belli değildir. Günümüzde temel fizyopatolojik faktörün insülin direnci olduğu kabul edilmektedir. İnsülinin - normalde olması gereken- lipolizi suprese edici (antilipolitik) etkisine karşı gelişen periferik direnç nedeniyle, yağ asitlerinin visceral yağ dokusundan mobilizasyonu ve karaciğer hücrelerine gelişi artar. İnsülin direncine bağlı olarak; hepatositlerde glikoliz ve yağ asidi oluşumu artar, mitokondriyal yağ asidi oksidasyonu inhibe olur, yağ asidi yıkımı azalır ve sonuçta karaciğer hücrelerinde yağ birikimi olur. Hepatik steatoza yol açan olayları şöyle özetleyebiliriz:

Eksojen faktörler:

- Yağ alımında artma
- Glukoz, fruktoz, galaktoz alımında artma

Endojen faktörler:

- Periferik yağ dokusunda yağ yıkımında artma
- Hepatositlerde yağ metabolizmasında azalma
- Hepatositlerde yağ sentezinde artma
- Hepatositlerden atılan yağ miktarında azalma

Normalde karaciğerde lipidlerin %15'ini oluşturan trigliseridlerin yapımı %50'ye kadar varan oranda artar. Kolesterol ve esterlerinin artışı daha geri plandadır. Trigliseridler hepatositlerde yağ asitlerinden sentezlenir. Karaciğere gelen yağ asitleri açlıkta periferik yağ dokusundan hidroliz ile oluşurken, toklukta diyetle alınan trigliseridler veya şilomikronlardan serbestleşmek suretiyle oluşur. Hepatositlere gelen yağ asitleri ya oksidasyona uğrayarak enerji oluşumunda kullanılmakta, veya diğer moleküllerin sentezinde değerlendirilmektedir.

Hepatositlerde sentezlenen trigliserid VLDL içerisinde dolaşıma dönmektedir. Sonuç olarak yağlanmaya neden olan olaylar:

1. Hepatositlere ulaşan yağ asidi miktarında artışa (örn. diyabet, obezite, akut açlık, protein enerji malnütrisyonu gibi)
2. Yağ asidi oksidasyonunda azalmaya (örn. hiperinsülinemi ve toksisite durumları gibi) veya
3. Trigliseridlerin hepatosit dışına taşınmasında azalmaya (örn.jejuno-ileal bypass, TPN) yol açmak suretiyle bu olayda rol oynar.

Bu olaylar sonucunda birbirinden çok farklı kliniği olan 2 değişik histolojik formdan birisi gelişebilir. Karaciğerde basit yağlanmadan sonra oluşan seyir farklılığı, fizyopatolojinin daha karmaşık olduğu ve insülin direncine ek olarak başka etkenlerin de rol oynadığı görüşünü desteklemektedir. Bu nedenle ileri atılan “İki Aşamalı Hasar Hipotezi” ne (two hits hypothesis) göre yağlanmaya neden olan metabolik faktörler (insülin direnci) ilk darbeyi, mikrozomal CYP2E1 enzim indüksiyonu, serbest radikallerin salınımı, çeşitli sitokin ve endotoksinler ile oluşan oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu gibi olaylar ise steatozdan steatohepatite dönüşüme rol oynayan ikinci darbeyi oluşturmaktadır (7). Son zamanlarda hangi faktörlerin rol oynadığı net olarak ifade edilmemiş olsa da “üçüncü/dördüncü darbe” ile de siroz ve hepatasellüler kanserin geliştiği ileri sürülmektedir (8).

Birikmiş yağ asidinin kendisi toksiktir ve çeşitli mekanizmalar ile oksidatif stres ve lipid peroksidasyonuna yol açar. Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonundaki artış sonucu salgılanan medyatörler ve sitokinler hücrede;

- Kollajen sentezinde artışa,
- Dokuda inflamasyon ve hücre ölümüne,
- Karaciğer hücrelerinde koruyucu etkinlik sağlayan antioksidan kapasitede azalmaya neden olurlar (9).

2.1.5.Patoloji

NAYKH'nın kesin tanısı karaciğer biyopsisi ile konulmasına rağmen, hastalığın etkili bir tedavi yönteminin bulunmaması nedeniyle rutin olarak önerilmemektedir. Ancak hastalığın şiddeti ve prognozunun belirlenmesinde yardımcıdır, etyolojiyi belirlemez. NAYKH, histolojik olarak alkole-bağlı karaciğer hastalığından ayırt edilemez. Yağ depositleri ve portal ve/veya lobüler inflamasyon tek başına NAYKH tanısını desteklemez.

Biyopside makroveziküler yağlanma daha fazla olmak üzere, ağırlıklı olarak zon-3'te yoğun karışık inflamatuvar infiltrasyon saptanır. Lobüler inflamasyon ile hepatositlerde balonlaşma tanı için şarttır. Hepatosit nukleuslarında glikojen cisimcikleri, lipogranülomlar, Mallory cisimcikleri, dev mitokondriler ile demir birikimi eşlik edebilir. Başlangıçta zon-3'te perivenüler ve perisinüzoidal alanlarda fibroz saptanırken, daha sonra köprüleşme fibrozu ve siroz oluşur (10-11).

Hastalığın histopatolojik olarak değerlendirilmesinde Brunt ve ark'nın önerdiği steatozu derecelendirme ve fibrozu evrelendirme sistemi en yaygın kullanılanıdır (12).

Brunt Sınıflaması

A. Steatozun Derecelendirilmesi

• Grade 1 (Hafif): Biyopsi materyalinin %66'sına kadar makroveziküler yağlanmanın ön planda olduğu steatoz, zon 3 hepatositlerde balonlaşma nadir, polimorf nüveli lökositlerin bazen de lenfositlerin varlığı ile karakterize intraasiner inflamasyon. Portal inflamasyon yok veya hafiftir.

• Grade 2 (Orta): Herhangi bir derecede yağlanma, biyopsi materyalinin %66'sını geçebilir. Zon 3 hepatositlerde balonlaşma belirgin, intraasiner infiltrasyon daha yoğun, zon 3 perisellüler fibrozis, hafif-orta derecede portal inflamasyon vardır.

• Grade 3 (Ciddi): >%66 hepatositte, pansiner steatoz, zon 3 hepatositlerde balonlaşma ve düzensizlik, intraasiner ve portal inflamasyon daha yoğundur.

B. Fibrozun Evrelendirilmesi

- Evre 1: Zon-3 ile sınırlı (perivenüler, perisinüzoidal, perisellüler; fokal veya yaygın)
- Evre 2: Evre 1'e ek olarak, fokal veya yaygın periportal fibroz
- Evre 3: Fokal veya yaygın köprüleşen fibroz
- Evre 4: Siroz

2.1.6.Klinik Özellikler

Hastaların çoğunda (%45-90) tanı anında karaciğer hastalığı ile ilgili semptom yoktur. Semptomatik olanlarda ise sağ üst kadranda ağrısı, yorgunluk ve halsizlik mevcuttur. Hepatomegali hemen daima tek fizik muayene bulgusu olup hastaların yaklaşık %12-75'inde saptanır (13). Hastaların %25'inde splenomegali görülebilir (14-15).

2.1.7. Biyokimyasal Bulgular

Çoğu zaman saptanan tek laboratuvar bulgusu alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST) veya her ikisinde normalin üst sınırının (NÜS) 2-3 katını aşmayan artışlardır. AST/ALT oranının 1'den küçük olması alkolik karaciğer hastalığından ayırımında yardımcıdır. Ancak fibrozun ilerlemesi ve siroz gelişimi ile de bu oran 1'den büyük olabilir (16). Olguların yarısından azında alkalin fosfataz (ALP) ve γ -glutamil transpeptidaz (GGT) NÜS'ün 2-3 katı civarına yükselebilir. Hepatik steatozu olan hastaların %35'inde ALT yüksek iken, NASH'i olan hastaların %20'sinde ALT normal sınırlardadır.

NAYKH 'de serum ve karaciğer demir içeriği artar. Bazı olgularda, antinükleer antikor (ANA) değeri, 1/40 ile 1/320 oranında pozitif bulunabilir. Düz kas antikoru (SMA) da az titrede artabilir. Seruloplazmin ve alfa-1 antitripsin seviyeleri normaldir. Antimitokondriyal antikor (AMA) ve karaciğer böbrek mikrozomal antikorları negatiftir (13).

2.1.8 Prognoz

NAYKH progresyonu yavaş olmakla beraber %50 oranında fibroza ve %15 oranında siroza ilerler. Siroz gelişenlerin %3'ünde de dekompanse karaciğer sirozu gelişir (10). NASH prognozu HCV'den kötüdür. Beş yıl içinde siroz gelişimi HCV'de %10'lar civarındayken, NASH'da bu oran %10-15'tir. Beş yıl içinde dekompanasyon ise, HCV'de %5-10 iken, NASH'da %10-15 arasındadır (10).

2.2. KRONİK HEPATİT C

2.2.1. Hepatit C Virüsü

2.2.1.1 Hepatit C Virus Enfeksiyonu

Hepatit C virüsü kronik hepatite yol açabilen başlıca hepatotropik virüslerden biridir. HCV ile enfeksiyon tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Dünyada HCV'ye bağlı kronik hepatit prevalansı ortalama %3'dür. Ülkemizde ise anti-HCV pozitifliği %1 civarındadır. HCV ile enfeksiyon %80 gibi yüksek oranda kronikleşme göstermektedir. Bu nedenle HCV kronik hepatit ve sirozun önemli sebeplerinden birisidir. Tüm dünyada kronik hepatit, siroz, hepatosellüler karsinom gibi karaciğer hastalıklarına bağlı ölümlerin %35-

75'inden HCV sorumludur (17-18).Ülkemizde kronik karaciğer hastalıklarının ise %25'inden HCV sorumludur (19).

HCV'nin 1989 da bulunuşundan günümüze kadar geçen 18 yıllık süreçte, HCV'ye bağlı enfeksiyonlar izlenmiş ve HCV enfeksiyonunun oldukça yavaş ilerleyici bir seyir gösterdiği tesbit edilmiştir. İnfekte şahısların %20'si spontan iyileşir, yaklaşık %25'inin karaciğer transaminaz düzeyleri normal seyrederek ancak karaciğerde ilerleme göstermeyen hafif düzeyde histolojik değişiklikler görülür, geriye kalan grupta ise karaciğer sirozuna doğru ilerleyici seyir meydana gelmektedir (20-21).

2.2.1.2 HCV genotipleri

HCV genomunda DNA ya da protein dizisi benzerliklerine göre grup ve subgruplara sınıflandırma yapılmıştır. Bu sınıflandırma ile genotipler ortaya çıkmıştır. Genomlar arası benzerlik %85'den fazla olanlar subtip; subtipler arasındaki benzerliklere göre de tip olarak gruplandırılırlar. Aynı tip fakat farklı subtipler %77-80 benzerlik gösterirken, farklı tiptekiler %68'den az benzerlik gösterir. Altı ana genotip vardır ve nümerik olarak 1'den 6'ya doğru sıralanır. Her genotip alfabetik olarak "a", "b", "c",...subtiplerine ayrılır (22).

2.2.1.3. Epidemiyoloji

HCV kan ve kan ürünlerinin verilmesi ile parenteral yolla geçer. Gelişmiş ülkelerde hemofili ve hipogamaglobulinemili hastalar, hemodiyaliz hastaları ve intravenöz ilaç bağımlıları yüksek risk grubunu oluşturur. Bulaşma yolu bilinen HCV enfeksiyonlarının %30-40'ını iv ilaç bağımlıları oluşturur. Kan merkezlerindeki rutin HCV antikor taramaları ile kan transfüzyonu ile bulaşma yaklaşık %0-1 arasına indirilebilmiştir. Perkutan yolla meslekle ilgili bulaşma olabilir. İnfeksiyonun büyük bir bölümünde ise bulaşma yolu saptanamamaktadır (23-24).

2.2.1.4. Tedavi

Kronik HCV'ye bağlı enfeksiyonlarda bugün için bilinen en etkili tedavi peg-interferon ve ribavirin kombinasyonudur. Bu tedavi oldukça pahalı, yan etkileri olan bir tedavidir ve hastaların sadece %50'sinde kalıcı cevap elde edilir.

2.2.2. HCV'ye bağlı Kronik Hepatitte Histopatoloji

Kronik HCV infeksiyonlu hastaların karaciğer histolojisi bulguları minimal periportal lenfositik inflamasyondan, köprüleşen fibroz ve hepatosit nekrozuyla seyreden aktif hepatite ve siroza kadar olan geniş bir dağılım gösterir. HCV'ye bağlı hepatitte nekroinflamasyon ve fibroz gibi genel hepatit bulguları görülmekle beraber bazı patolojik değişiklikler daha sık görülür. Bunlar; sinuzoidlerde daha sık lenfositoz, mallory cisimcikleri bulunması, hafif derecede makro ve mikroveziküler steatozun eşlik etmesi, portal alanlarda lenfositik infiltrasyondur. Özellikle steatoz biyopsilerin yaklaşık % 30-70'inde rapor edilir (25, 26).

2.2.2.1. HCV ve steatoz

Kronik Hepatit C'de steatoz varlığının hem nekroinflamatuvar aktiviteyi hem de fibroza ilerleme hızını arttırdığı saptanmıştır. Neden bir steatoz modeli olan non-alkolik steatohepatit (NASH) dışında, kronik hepatitler arasında steatoz varlığı en fazla kronik HCV ile ilişkilidir sorusuna yanıt bulabilmek için pek çok çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmalar ışığında HCV'de saptanan steatozun virüse veya konağa ait faktörlere bağlı olabileceği düşünülmektedir (27). Viral faktörlere bağlı steatoz araştırmalarında HCV'nin kor proteininin mikrozomal trigliserid transfer protein aktivitesini engelleyerek karaciğerin VLDL alım ve atılımını yönlendirdiği ileri sürülmüştür (28-29). Ayrıca steatoz HCV'nin başlattığı hipobetalipoproteineminin de bir sonucu olabilir (30). Viral yük ile steatozun şiddeti arasındaki ilişki konusunda çelişkili yayımlar vardır; viral yük arttıkça steatozun şiddetlenebileceği (31-32) gibi viral yük ile steatoz arasında ilişkinin saptanmadığı çalışmalar da vardır (27, 29, 33, 34). Konağa ait faktörler araştırıldığında birbirinden farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Vücut kitle indeksi (VKİ) ile steatoz arasında ilişki saptandığı (26, 29, 31, 34-36) gibi; Adinolfi ve ark.'nın yaptığı çalışmada olduğu gibi VKİ ile steatoz arasında ilişki saptanmadığı ama bel çevresi ölçümü ile belirlenen viseral obesite ile steatoz şiddeti arasında ilişkinin bulunduğu çalışmalar vardır (27). Hasta yaşı arttıkça steatoz evresinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (31). Steatoz evresi ile fibrozis evresi arasında (27, 26, 34-35) ve histolojik aktivite indeksi arasında korelasyon saptanmıştır (27, 31). İnsüline bağımlı olmayan diyabetiklerde steatoz daha fazla bulunmuştur (36). HCV'ye bağlı kronik hepatitte insüline bağımlı olmayan diyabet diğer kronik hepatitlere oranla çok daha sıktır. Narita ve ark.'ına göre hem insülin direnci hem de beta hücre disfonksiyonu kronik HCV hastalarındaki glukoz intoleransından sorumludur (38). Bressler ve ark.'ına göre şişmanlık (VKİ>30) genotipten ve

siroz varlığından bağımsız olarak tedaviye yanıtızsızlık için risk faktörüdür (39). Yine yapılan bir çalışmaya göre kilo verme (hem VKİ hem de bel çevresi ölçümünde gerileme) tek başına ve genotipten bağımsız olarak hem steatozu hem de fibrozu geriletmektedir (40).

2.2.2.2. HCV ve fibroz

Kronik hepatit C'nin siroza ilerlemesi onlarca yıl sürebilecek durmak bilmeyen bir süreçtir. Pek çok faktör fibroz ilerleme hızını etkileyebilir. İyi bilinen faktörler erkek cinsiyeti, uzun süre ve yoğun (>50g/gün) alkol kullanımı, hastalık yaşı, hastanın yaşı (>50 yıl) HIV ile koenfeksiyon ve şişmanlıktır (41, 42). Hasta yaşı arttıkça fibroz evresinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (27, 32-34). Son zamanlarda karaciğer histopatolojisinde steatoz varlığının fibroz ilerlemesini hızlandırdığı üzerinde durulmaktadır (27, 26, 35-37). Özellikle steatoz varlığında viral yük de yüksekse (HCV RNA $\geq 3 \times 10^6$ eq/ml) fibroz skoru ve histolojik aktivite indeksi daha yüksektir (33). Şişmanlarda fibroz ilerleme hızını etkileyen faktörlerden en önemlisi insülin direncidir. Hickman ve ark.'ı VKİ yüksek olgularda insülin seviyesinin yüksek bulunmasını fibroz ile ilişkilendirmişlerdir (43). Glukoz yüksekliğinin hastalık yaşından bağımsız olarak fibroz skorunu arttırdığı saptanmıştır (44).

2.3.İNSÜLİN DİRENCİ SENDROMU

İnsülin direnci sendromu (IRS); kardiyovasküler hastalık (KVH) riskinin yükseldiği, hiperglisemi, dislipidemi, hipertansiyon ve obezitenin bir arada bulunduğu multifaktoriyel bir durumdur (45). IRS altında yatan esas etkenin insülin direnci olduğuna geniş ölçüde inanılmaktadır. İnsülin direnci, insülin duyarlılığındaki azalmaya bağlı olarak insülinin plazma glukoz düzeyini azaltma fonksiyonunun bozulduğu durum şeklinde tanımlanmaktadır (46).

2.3.1. Tanım

İnsülin direnci sendromu, ortak genetik ve çevresel ortamlarda gelişen aterosklerotik risk faktörlerinin bir arada bulunmasıyla karakterize bir hastalıktır. IRS ilk kez 1923 yılında Kylin tarafından hipertansiyon, hiperglisemi ve gut hastalığının bir arada olma eğilimi olarak tanımlanmıştır (47). Daha modern tanımlama 1960' lı yıllarda obezite, hipertansiyon, diyabet ve hiperlipidemi birlikteliği olarak önerilmiştir. 1970'li yıllarda Alman araştırmacılar (Haller

ve ark.) ilk kez ‘Metabolik sendrom’ terimini kullanmışlar ve aynı zamanda sendromun aterosklerozla ilişkisini araştırmışlardır (48). 1990’lı yılların başında Ferrannini ve ark.’ı insülin direnci ve hiperinsülineminin arteriyel hipertansiyonun patogeneğinde rol aldığını belirlemişlerdir. Reaven bu sendromun altta yatan nedeni olarak insülin direncini ileri sürmüştür. Ferrannini “insülin rezistans sendromu ” terimini, Reaven ise “Sendrom X ” terimini kullanmıştır (49-50). Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitimi Programı (NCEP) Üçüncü Erişkin Tedavi Paneli (ATP III) durumu tanımlamak için “metabolik sendrom ” terimini kullanmaktadır (51).

Günümüzde insülin direnci sendromu veya metabolik sendrom isimleriyle anılan bu metabolik bozuklukların birlikteliğine dair farklı organizasyonlara ait değişik tanımlamalar bulunmaktadır. Bu tanımlamaların temel bileşenleri abdominal obezite, insülin direnci, artmış kan basıncı ve lipid bozuklukları oluşturmaktadır.

En yaygın kullanılan tanımlamalardan biri 1998 de Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılmıştır (52). Burada oral glukoz tolerans testi esas alınmıştır ve normal glukoz tolerans testi varlığında insülin direncinin değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir. Buna göre; insülin direnci gösteren tip 2 diabetes mellitus (DM) veya bozulmuş glukoz toleransı ve buna ek olarak abdominal obezite, trigliserid (TG) yüksekliği veya HDL- K düşüklüğü, albuminüri veya hipertansiyon kriterlerinden en az ikisi daha bulunmalıdır (53). (Tablo 1)

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü -1999, Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri

- Aşağıdakilerden en az biri :
 - ✓ İnsülin direnci
 - ✓ Bozulmuş glukoz toleransı
 - ✓ Aşikar DM

- Aşağıdakilerden en az ikisi :
 - ✓ HT (Kan basıncı \geq 140/90 mmHg veya ilaç kullanıyor olmak)
 - ✓ Dislipidemi (TG $>$ 150 mg/dL veya HDL-K erkekte $<$ 35 mg/dL, Kadında $<$ 39 mg/dL)
 - ✓ Santral obezite (Vücut Kitle Endeksi (VKİ) $>$ 30 kg/m² veya bel/kalça oranı erkekte $>$ 0,90 kadında $>$ 0,85)
 - ✓ Mikroalbimünüri (İdrar albümin atılımı $>$ 20 μ g/dk veya albümin /keratin oranı $>$ 30 mg/g)

ATP III, IRS tanısı için beş kriter belirlenmiştir (51). Bu kriterler abdominal obezite, hipertrigliseridemi, HDL-K düşüklüğü, hipertansiyon ve serum glukozunun $>$ 110 mg/dL olmasıdır. Bunlardan herhangi üçünün birlikte bulunması IRS olarak tanımlanmıştır. Tanı kriterleri arasında yer almamakla birlikte, proinflamatuvar ve protrombotik durum da MS başlığı altında alınmıştır. ATP III'de, IRS tanısı için insülin direnci'nin gösterilmesi gerekmemektedir (Tablo- 2).

Son olarak Uluslar arası Diyabet Federasyonu 2005 yılında 1.Metabolik Sendrom Kongresi'nde santral obezitenin mutlaka IRS kriterlerinden biri olması gerektiğini vurgulanmıştır (54) (Tablo- 3).

Tablo 2. NCEP-ATP III 2001, IRS tanı kriterleri

- Aşağıdakilerden en az üçü:
 - ✓ Abdominal obezite (Bel çevresi:erkeklerde > 102 cm, kadında > 88 cm)
 - ✓ Hipertrigliseridemi (>150 mg/dL)
 - ✓ Düşük HDL-K (erkeklerde < 40 mg/dL, kadında < 50 mg/dL)
 - ✓ Hipertansiyon (Kan basıncı> 130/80 mmHg veya ilaç kullanıyor olmak)
 - ✓ Hiperglisemi (110 mg/dL > açlık plazma glukozu)

Tablo 3. Uluslararası Diyabet Federasyonu 2005 IRS kriterleri

- Santral obezite(bel çevresi:erkeklerde> 94 cm,kadında > 80 cm)
- Ek olarak aşağıdaki 4 faktörden ikisi:
 - ✓ TG yüksekliği (150 mg/dL veya üzeri veya TG düşürücü tedavi alıyor olmak)
 - ✓ Düşük HDL-K (erkeklerde < 40 mg/dL, kadında < 50 mg/dL)veya HDL-K yükseltici özel tedavi alıyor olmak
 - ✓ Hipertansiyon (Kan basıncı≥ 130/85 mmHG veya antihipertansif ilaç kullanıyor olmak)
 - ✓ Açlık kan glukozunun ≥ 100 mg/dL veya önceden Tip 2 DM tanısı almış olmak.

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

2.3.2. Prevelans

IRS sıklığı, ileri yaş ve vücut ağırlığı artışıyla artar, aynı zamanda kullanılan kriterler ve incelenen toplumlara göre de değişkenlik göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 20 yaş ve üzeri kişilerde IRS sıklığı %27 bulunmuş ve kadınlarda daha hızlı olmak üzere artmakta olduğu saptanmıştır (55).

Ülkemizde, 2004 yılında yapılan METSAR (Türkiye Metabolik Sendrom Araştırması) sonuçlarına göre 20 yaş ve üzerindeki erişkinlerde MS sıklığı %35 olarak saptanmıştır. Bu araştırmada kadınlarda IRS sıklığı erkeklere göre daha yüksek bulunmuştur (kadınlarda %41.1, erkeklerde %28.8) (56). Geniş kapsamlı diğer bir çalışma olan TEKHARF (Türkiye'de Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı) çalışmasında ise IRS sıklığı 30 yaş ve üstü kadınlarda %45, erkeklerde %28 olarak tespit edilmiştir (57).

2.3.3. İnsülin Direnci Sendromunun Major ve Sekonder Klinik Sonuçları

Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığın (ASKVH), IRS'nun majör klinik sonucu olduğuna dair genel bir konsensus bulunmaktadır. Diğer yandan bu sendrom, tip II diyabetin oluşması ile kuvvetli şekilde ilişkilidir. IRS bunlara ek olarak; yağlı karaciğer, kolesterol safra taşları, polikistik over hastalığı ve uyku apnesi gibi başka durumlarla da ilişkilidir. Bu durumların herbiri ile olan ilişki tam olarak anlaşılammış olup, IRS'nun bu durumların sebebi mi olduğu, ya da ortak metabolik anormallikler nedeni ile bu durumlarla arasında bir ilişki mi olduğu kesin olarak bilinmemektedir.

2.3.4. İnsülin Direnci Sendromu Bileşenleri

2.3.4.1. IRS ve Tip 2 DM

Tip 2 diyabetes mellitus (DM), insülin etkinliğinde bozulma veya insülin sekresyonunda bir defekt ya da her ikisinin birlikteliği ile karakterize bir hastalıktır.

IRS'da plazma glukoz değerlerinin yükselmesi, tipik olarak ileri evrelerde olur. Plazma glukoz seviyelerinde artış, bozulmuş glukoz toleransı veya aşikar diyabet şeklinde olabilir (58). IRS ile glukoz toleransı arasında güçlü bir birliktelik vardır. Batnia çalışmasında normal glukoz toleransı olan kişilerde IRS prevalansı %10 iken IGT olan kişilerde bu oran %50 ve tip 2 diyabeti olanlarda da %80 olarak bulunmuştur (59). Tip 2 DM gelişme sürecinde öncelikle ortaya çıkan, dokuların insülinin etkilerine karşı direnç geliştirmesidir. Hiperglisemi daha

sonra belirir. Dokuların duyarlılıkları birbirinden farklı olduğundan, insülin direnci başladığında öncelikle iskelet kaslarında glukoz alımı azalır ve postprandial hiperglisemi ortaya çıkar (58, 60). İskelet kasında insüline direnç postreseptör düzeyde olur. Normalde kas hücresinde glukozun hücre içerisine alınması için, insülinin hücre yüzeyindeki reseptöre bağlanması ve insülin sinyal yolunun aktifleşmesi gerekir. Böylece glukoz, hücre zarından geçer ve glikojen şeklinde depolanır. Daha sonrada glikoliz ile laktata parçalanır ya da enerji için mitokondride okside olur. Kas hücresinde glukoz metabolizmasında bozulma, insülin direnci patogenezinde önemli rol oynar. İnsülin sinyal yolunun bozulması ve glukoz transportunda azalma, insülin direncini tetikleyen biyokimyasal aksaklıklara örnektir (58).

2.3.4.2. IRS ve Dislipidemi

IRS'lu hastalar hiperinsülinemi ve insülin direncinin eşlik ettiği, plazma serbest yağ asitlerinin artışı, hipertrigliseridemi, apolipoprotein B (apo-B) ve “küçük-yoğun” LDL (sd-LDL) düzeylerinde yükseklik, özellikle HDL₂ fraksiyonunda olmak üzere HDL düzeylerinde düşüklük ile karakterize bir dislipidemi tablosu gösterirler (Tablo 4) (61-63).

Tablo 4. IRS'da Lipid, Lipoprotein, Apolipoprotein, Enzim ve Proteinlerdeki Değişimler

LİPİDLER	LİPOPROTEİNLER	APOLİPROTEİNLER	ENZİMLER, PROTEİNLER
↑ SYA	↑ VLDL ve SD-LDL	↑ Apo-B100 ve Apo-B48	↓ Lipoprotein Lipaz
↑ TG	↓ HDL	↓ Apo-A	↑ Hepatik Lipaz ve CETP

Aterojenik dislipidemide temel bozukluk apolipoprotein-B (Apo-B) içeren lipoproteinlerin dolaşıma verilmesindeki artıştır. İnsülin direnci varlığında, yağ dokusunda hormon duyarlı lipaz aktivitesi baskılanamaz. Bu nedenle yağ dokusundan SYA çıkışında artış olur. Bu lipoproteinlerin aşırı üretimindeki asıl neden ise SYA'lerinin aşırı miktarda karaciğere gelmesidir. Karaciğere gelen aşırı SYA'leri ya mitokondri içine girerek okside olurlar ya da TG şeklinde sentezlenerek Apo-B içeren TG'den zengin VLDL yapımının artışına neden olurlar (65, 60).

IRS' da LDL-K düzeyi yüksek olmasada sd-LDL patikülleri miktarı artmıştır ve bu da ateroskleroz riskini artırır. LDL partikülleri çaplarına göre iki farklı yapı gösterirler. Çapı 25,5 nm'den büyük olanlar büyük LDL, küçük olanlar ise sd-LDL olarak isimlendirilir. Kolesterol ester transfer protein (CETP) enzimi ile VLDL'deki TG'lerin LDL ve HDL'ye

aktarımı sonucu TG'den zengin LDL ve HDL meydana gelir ve HDL ve LDL'deki kolesterol esterlerinde azalma olur (66).

Obez kişilerde hepatik lipaz aktivitesi de artmıştır (67). HDL'deki fosfolipidleri degrade ederek HDL'nin çapını küçültür ve özellikler HDL'nin antiaterojenik etkilerini sağlayan HDL₂ düzeylerini düşürür (Şekil- 4) (68).

2.3.4.3.IRS ve Obezite

Obezite, sıklıkla IRS'nin çeşitli komponentleri ile ilişkilidir ve sendromun gelişmesinde kritik bir önemi olabilir. İdeal kilonun %35-40'ı üzerine çıktığında IR oluşmaktadır.

VKİ (kilogram cinsinden vücut ağırlığının metre cinsinden boyun karesine bölünmesi ile elde edilir) oranının 30 kg/m² ve üzerinde olması obezite olarak tanımlanır. Fazla kiloluluk VKİ'nin 25-29,9 arasında olmasıdır (69). Abdominal obezite ise erkeklerde bel çevresinin 102 cm'den, kadınlarda da 88 cm'den geniş olmasıdır (63).

Erişkin Amerikalı kadın ve erkeklerde yapılan ulusal sağlık ve beslenme araştırma çalışması III (NHANES III) verilerine göre normal kilolularda MS sıklığı %5 iken, kilo fazlalığı olan kişilerde %22, obezlerde %60'a varan düzeylerde görülmektedir (70). Framingham çalışmasında 16 yıllık izlemde 2.25 kg ve üzerindeki kilo artışı MS gelişimi için önemli bir risk faktörü olarak görülmüştür (71). Pouliot ve ark.'ları abdominal obezitenin MS'un olası sebeplerinden birisi olduğunu vurgulamışlardır (72). Obezite, insülin direnci ve KVH ilişkisini değerlendiren bir çalışmada VKİ arttıkça, insülin direncinin de aynı oranda arttığı saptanmıştır (73).

Vücut ağırlığından çok vücuttaki yağ dağılımı, IR ve KVH açısından daha iyi bir göstergedir. İnsülin direnci tip 2 diyabet ve HT, yağ dokusunun santral dağılımıyla, yağ kitlesindeki genel artışa göre daha çok ilişkilidir (74). Bel çevresi, intraabdominal yağ dokusunun klinik göstergesi olarak kullanılır (75).

Abdominal yağ dokusundan yüksek düzeyde salgılanan SYA'leri portal dolaşım yoluyla karaciğere taşınarak çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) yapımına ve hepatositlerde TG depolanmasına neden olur. Bu durum karaciğer metabolizmasında bozulmaya yol açar, hiperinsülinemi, insülin direnci ve dislipidemi gelişimine neden olur ve hepatik glukoz üretiminde artış meydana gelir (76).

2.3.4.4. IRS ve Hipertansiyon

Hipertansiyon, tip 2 DM ve dislipideminin birlikteliği uzun yıllardır bilinmektedir. IRS olan bireylerdeki kan basıncı yükselmeleri genellikle yüksek-normal kategorisindedir. IRS'a eşlik eden yüksek kan basıncının mekanizmaları tam olarak açıklanmamıştır. Birden fazla faktörün söz konusu olması muhtemeldir (77-78). Reaven kan basıncı yüksekliğinin, insülin direnciyle ve plazma insülin konsantrasyonu ile doğrudan ilişkili olduğunu ve bu ilişkinin yaş, cinsiyet ve obezite derecesinden bağımsız olduğunu belirtmiştir (79). Ayrıca hipertansif hastaların ortalama %50'si obezdir ve VKİ arttıkça HT gözlenme olasılığı artmaktadır (80).

2.3.4.5. IRS ve Endotel Disfonksiyonu

Endotel, vasküler tonusu, vasküler yeniden şekillenmeyi, kanın akışkanlığını belirlemede önemli rol oynar (81). Bu fonksiyonu karşıt etkiler gösteren düzenleyiciler salgılayarak yapar. Nitrik oksit endotel hücrelerinden salgılanan en potent vazodilatördür. Endotelin-1 en potent vazokonstriktördür.

Endotel disfonksiyonu, vazokonstriktörler ve vazodilatörler, büyümeyi uyarıcı ve baskılayan faktörler, proaterojenik ve antiaterojenik faktörler, prokoagülan ve antikoagülan faktörler arasındaki dengenin kısmi veya tam kaybı olarak tanımlanabilir (58, 66).

Hücre düzeyinde, insülin ile uyarılmış glukoz alımı ve NO üretimi fosfatidilinositol-3 kinaz (PI-3k) yolu üzerinden gerçekleşir ve bu yolak vasküler endotelde NO sentazın aktivitesini artırır. İnsülin direnci ve tip 2 DM olan kişilerin iskelet kasında PI-3k yolunun baskılandığı gösterilmiştir (82). Hiperinsülineminin endotel hücrelerinde endotelin-1 üretimini uyarıp PI-3k yolunu baskılayarak insülin direncini daha da arttırdığını, NO ile yarışarak ve süperoksit üretimini artırarak endotel disfonksiyonunu tetiklediğini düşündüren çalışmalar vardır (83).

2.3.4.6. IRS ve Pro-inflamatuar Durum

Hem primer insülin direncinin hem de obezitenin serum sitokinlerindeki artışlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (84). Yeni kanıtlar obez insanlardaki adipoz dokusunun, dolaşımdaki sitokinlerin majör kaynağı gibi görülen makrofajlarla infiltre olduğunu göstermektedir (85). Dolaşımdaki artmış sitokinlerin, endotel hücrelerini, arter duvarına makrofaj infiltrasyonunu arttıran hücre yüzey faktörlerini anormal miktarlarda üretecek şekilde aktive ettikleri düşünülmektedir. Buna ek olarak, yüksek sitokin seviyelerinin, yüksek hassasiyetli testler ile

ölçülebilen C-reaktif proteinin (CRP), karaciğer tarafından artmış miktarlarda salgılanmasına sebep olmaları mümkündür. Yüksek sensitiviteli CRP biyobelirtecinin (hs-CRP) artmış akut koroner riski ile ilişkili olduğuna dair birçok bildiri mevcuttur (86). Hs-CRP dolaşımdaki toplam inflamatuvar sitokinlerin bir göstergesi olduğundan, pro-inflamatuvar bir durumun belirleyicisi gibi gözükmemektedir (86).

2.1.4.7. IRS ve Pro-trombotik Durum

IRS olan kişilerde koagülasyon fibrinolitik sistemlerde, birden çok minör anormalliklerin olduğu bulunmuştur (87, 88). Plazminojen aktör inhibitörü (PAI-1) seviyelerindeki artış en fazla görülenlerden biridir. Adipoz dokusunun dolaşıma salgılanan fazla PAI-1'in kaynağı olduğuna inanılmaktadır. Fibrinojen seviyeleri çoğu zaman artmaktadır. Fibrinojen bir akut faz reaktanı olduğundan artışları, bir pro-inflamatuvar durumun belirtilerinden biridir. Diğer anormalliklerin kökenleri iyi bir şekilde ortaya konamamış olup, artmış olduğu bilinenler arasında, faktör VII, VIII, IX, X, XII A ve B alt üniteleri, F1 ve F2 pro-trombin fragmanları, alfa 2 anti-plazmin ve Von Willebrand faktörü yer almaktadır.

2.4. ADİPOSİTOKİNLER

Adipoz doku fonksiyonları açısından kompleks bir yapıya sahiptir. Adipositler pek çok sinyal molekülü salgılar, bunlara adipositokin veya adipokin adı verilir.

Adipokinler üç grupta toplanır.

1. İnflamasyonda rol alanlar (IL-1B, IL-6, IL-8, IL10, TNF- α , TGF- β)
2. Akut faz reaktanları (serum amiloid A , PAI-1, ASP)
3. İnsülin direnciyle ilişkili hormonlar (leptin, adiponektin, resistin, visfatin, apelin)'dir.

Aşağıda konumuzla ilişkili olan adiponektinden ayrıntılı bahsedilecektir.

2.4.1. Adiponektin

Adiponektin 1996 yılında tanımlanmıştır. Adipositlerde sentezlenen ve 247 aminoasit ve 4 domainden oluşan protein yapıda bir moleküldür. Adiponektin geni AMP1(Localizasyonu 3q27) adipoz dokuda eksprese edilir. Adiponektinin protein yapısı kollojene benzeyen N-

Terminal fibröz domain ve kompleman C1q'a benzeyen C-Teminal globüler domainden oluşur (89).

Adiponektin molekülü, heksamer şeklinde (180 kDa'lık düşük molekül ağırlıklı) ve multimer şekilde (400-600 kDa'lık yüksek molekül ağırlıklı) olmak üzere iki majör formdan oluşur (89). Adiponektin plazmada diğer hormonlara ve sitokinlere göre oldukça yüksek konsantrasyonda bulunur. Toplam plazma proteinlerinin % 0.01 ini oluşturur ve dolaşımdaki konsantrasyonu $500-30.000 \mu\text{g} / \text{L}$ dir (90).

İki adet adiponektin reseptörü tanımlanmıştır. Adipo R1 globüler yapıdaki adiponektin için olan reseptör formudur ve iskelet kasında eksprese edildiği saptanmıştır. Adipo R2 ise tam zincir adiponektin için olan reseptör formudur ve esas olarak karaciğerde eksprese edilmektedir (89, 90). Adiponektin reseptörlerinin fizyolojik rolleri ve sinyal transdüksiyon yolları henüz tam olarak tanımlanamamıştır.

Adiponektin, yağ hücresinden salgılanan diğer hormonların aksine insülin direncini azaltır. Adiponektin verilince insülin direncinde azalma, lipid düzeylerinde düşme ve ateroskleroz progresyonunda azalma olmaktadır.

Aşağıdaki tabloda adiponektinin metabolik etkileri gösterilmiştir.

Tablo 5: Adiponektinin başlıca metabolik etkileri

1. İnsülin sensitivitesini artırır
 - a. Preadipositlerin duyarlılığını azaltır
 - b. Yağ asitlerinin sentezini azaltır
 - c. Glukoneogenezi azaltır
 - d. İnsülin reseptörünü doğrudan etkileyebilir
2. Antiaterosklerotik etkisi vardır
 - a. TNF- α 'nın etkilerini antagonize eder
 - b. NF- κB 'yi inhibe eder
 - c. Makrofajlarda kolesterol ester oranını düşürür, köpük hücre oluşumunu azalır
 - d. Vasküler adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltır.

Adiponektin karaciğerde AMPK/AMP kinaz PPAR- α (Peroksizom proliferatör aktive edilmiş resptör- α)'yı aktive ederek yağ asit oksidasyonunu artırır ve glukoneogenez baskılar. Böylece hepatik glukoz oluşumu ve karaciğerde trigliserid birikimini engelleyerek insülin duyarlılığını sağlamış olur. Globüler kısmı kas dokusunda AMPK (AMP kinaz) PPAR- α 'ya ilave olarak asetil koenzim-A karboksilazı (ACC) kullanarak aynı etkiyi oluşturur. Ayrıca adiponektin endotel hücrelere monosit adezyonu ve makrofajların köpük hücresine dönüşümünü engelleyerek anti-aterojenik etki sağlar (91).

Artmış adiposit doku, proinflamatuvar sitokin olan TNF- α 'nın salınımını artırırken, adiponektin düzeylerinin düşmesine sebep olur. Bu iki molekül NF- κ B adlı nükleer transkripsiyon faktörünün stimülasyonunda antagonistik olarak hareket ederler. TNF- α aracılıklı NF- κ B indüksiyonu sonucu oksidasif stres özellikle de LDL oksidasyonu ve dislipidemi indüklenir. Adiponektin, NF- κ B nin TNF- α tarafından aktivasyonunu inhibe ederek endotel üzerindeki inflamatuvar etkisini baskılar (89).

Adiponektin yağ asitlerinin ve trigliseridlerin plazma düzeyini azaltır. Adiponektinin bu etkisi yağ asidi metabolizmasında görevli açıl-KoA oksidaz ve ayrıştırıcı (uncoupling) protein 2 (UCP-2) proteinleri artırarak yapabilir (92). Adiponektinin hormona duyarlı lipaz üzerine etkisi yoktur. Adiponektin PPAR- μ metabolizmasını doğrudan veya dolaylı olarak etkileyebilir ve bu şekilde lipid düzeylerini modüle edebilir (93). Adiponektinin insülin duyarlılığını artırıcı etkisi yağların oksidasyonunu artırması, insülin reseptörüne doğrudan etkisi, glukoneogenezin inhibisyonu ve yağ dokusunda TNF- α sinyalini inhibe etmesi gibi özelliklere bağlı olabilir. Adiponektinin sentez ve salınımı aşırı kalori alımında, örneğin leptin yetmezliğinde azalır (94).

Normal adipositler insülin duyarlılığını arttıran hormon ve sitokinleri salgırlar. Yüksek yağ içeren diyetin indüklediği hipertrofiye olmuş adipositler ise insülin duyarlılığını artırıcı hormonların salınımını azaltırken, insülin direncine neden olan hormon ve sitokinlerin sentezini arttırlar (89).

Adiponektin düzeyinin regülasyonu subkutan yağ dokusundan çok omental yağ dokusuna belirlenir. Abdominal yağ dokusu artmış obez ve aşırı kilolu bireylerde plazma adiponektin düzeyleri daha düşüktür (89).

Adiponektin düzeylerindeki azalmanın birçok hastalıkla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Serumda azalmış adiponektin düzeyleri tip 2 DM, metabolik sendrom ve endotel disfonksiyonu ile ilişkilidir (90).

2.5. LİPOPROTEİNLER

Serbest yağ asitleri dışında bütün lipidler (kolesterol, TG, fosfolipid gibi kompleks lipidler) kanda lipoprotein adı verilen suda çözünür makromolekül kompleksleri halinde taşınırlar. Lipoproteinler çözünmeyen lipidlerin kanda çözünebilir kompleksler halinde taşınması için bir araç fonksiyonu görürler. Lipoproteinler, iç kısmında TG ve kolesterol esterlerinden oluşan nonpolar bir çekirdek, dış yüzeyinde ise fosfolipid, serbest kolesterol ve apolipoproteinlerden oluşan polar bir kabuğun olduğu küresel bir partikül şeklindedir. Plazma lipoproteinleri, flotasyon hızlarına (sf), hidrate dansitelerine (d), büyüklüklerine ve elektroforetik mobilitelerine göre şilomikron, VLDL, orta dansiteli lipoprotein (IDL), LDL, HDL ve LP(a) olmak üzere altı değişik lipoprotein sınıfına ayrılmaktadır (95, 96, 97).

Tablo 6: İnsan plazmasındaki lipoproteinler ve özellikleri

LP	Kaynak	Çap (nm)	Dansite	Sf	Protein %	Total lipid %	TG %	FL %	EK %	SK %	SYA %
Şilomikron	Barsak	90-1000	<0.950	>400	1-2	98-99	88	8	3	1	-
VLDL	Karaciğer Barsak	30-90	0.950- 1.006	20- 400	7-10	90-93	56	20	15	8	1
IDL	VLDL şilomikron	25-30	1.006- 1.019	12- 20	11	89	29	26	34	9	1
LDL	VLDL	20-25	1.019- 1.063	2-12	21	79	13	28	48	10	1
HDL ₂	Karaciğer barsak VLDL?	10-20	1.063- 1.125	-	33	67	16	43	31	10	-
HDL ₃	Şilomikron	7.5-10	1.125- 1.210	-	57	43	13	46	29	6	6
Alb-SYA	Adipoz doku	-	>1.281	-	99	1	0	0	0	0	100

Lipoproteinler; şilomikronlar, şilomikron kalıntıları, VLDL, IDL, LDL, LP (a), HDL ve alt grupları olan HDL₁, HDL₂, HDL₃ ve çok yüksek dansiteli lipoprotein (VHDL) esas olarak karaciğer ve barsaklarda sentezlenirler (95).

Açlık kanında yapılan total kolesterol ve TG ölçümleri, bu lipidlerin tüm lipoprotein tiplerinde bulunan konsantrasyonlarının toplamını verir. Serum lipid değerlerindeki değişimler genellikle lipoprotein konsantrasyonlarındaki ve bu lipoproteinlerin kimyasal yapılarındaki değişiklikleri yansıtır. Normal koşullarda IDL veya şilomikron kalıntılarının plazma konsantrasyonları göreceli olarak düşük olduğu için ihmal edilmektedir. Ancak bunlar hiperlipideminin bazı tiplerinde, serum kolesterol ve TG'in başlıca belirleyicisi olabilirler. Plazma lipid ve lipoprotein değerleri yaş, kalıtım, cinsiyet gibi intrinsek faktörlerden ve diyet, vücut ağırlığı, fiziksel aktivite gibi değişebilen faktörlerden etkilenir (98).

2.5.1. Apolipoproteinler

Apoproteinler (apolipoproteinler) lipidlerin suda çözünürlüklerini arttırarak kanda taşınmalarını sağlayan yapılardır (98). Lipoproteinlerin yüzeylerindeki özgül apolipoproteinler lipoproteinlerin akıbetini belirler. Çeşitli lipoproteinler ile ilişkili olan ve apolipoprotein adı verilen yaklaşık 10 değişik protein yapısı bulunmaktadır (Tablo 2).

Lipoproteinlerin içinde mevcut olan apoproteinlerin başlıca üç fonksiyonu vardır (98):

1. Fosfolipidler ile reaksiyona girerek kolesterol esterlerinin ve TG'lerin çözünürlüğünü sağlamak,
2. Lipidlerin LCAT, lipoprotein lipaz (LPL) ve hepatik lipaz (HL) gibi enzimlerle olan reaksiyonlarını düzenlemek,
3. Hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak lipoprotein içeriklerinin özellikle de kolesterolün alınmasını (uptake) ve parçalanma hızlarını belirlemek.

Tablo 7. İnsan plazma lipoproteinlerinin apolipoproteinleri (96)

Apolipoprotein	Lipoprotein	Molekül kütlesi (Da)	Fonksiyonları
A-I	HDL, şilomikronlar	28000	LCAT aktivatörü
A-II	HDL, şilomikronlar	17000	Disülfid köprüsü ile birleşmiş iki eşdeğer monomer. LCAT inhibitörü?
B-100	LDL, VLDL, IDL	550000	Karaciğerde sentezlenir LDL reseptörü için ligand
B-48	Şilomikronlar, şilomikron artıkları	260000	Barsakta sentezlenir
C-I	VLDL, HDL	7600	Muhtemelen LCAT aktivatörü
C-II	VLDL,HDL, şilomikronlar	8800	Ekstrahepatik LPL aktivatörü
C-III	VLDL,HDL, şilomikronlar	8750	Sialik asid içeriğine bağlı olarak birkaç polimorfik şekil gösterir
D	HDL'nin alt Fraksiyonları	20000	Olasılıkla CETP proteinine idantik
E (Arjininden zengin)	VLDL,HDL, şilomikronlar, şilomikron artıkları	34000	Tip III hiperlipoproteinemili hastaların β -VLDL sinde aşırı miktar dâbulunur. Diyetle hiperkolesterolemi oluşturulan hayvanların HDL-C inde bulunan biricik apoproteindir. Karaciğerde ve LDL reseptöründe şilomikron artık reseptörü için ligand

Çalışmamız parametreleri içinde yer alması nedeniyle aşağıda lipoproteinlerden yüksek dansiteli lipoproteinlerden biraz daha detaylı söz edilecektir.

2.5.2.Yüksek Dansiteli Lipoproteinler

Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) lipidlerin lipoproteinler ve hücreler arasında yeniden dağıtılmasında işlev görür. HDL'nin HDL₁, HDL₂ ve HDL₃ olmak üzere üç alt grubu vardır. HDL₁ miktarı küçük olduğu için ihmal edilebilir. HDL'deki proteinlerin %90'ından fazlası Apo-A dır. TG den zengin lipoproteinlerin (şilomikron, VLDL, vb.) lipolizi sırasında yüzey elemanlarının serbest bırakılması HDL₃ ün HDL₂ ye dönüşümünü hızlandırır (95).

HDL sentezinine ait başlıca üç kaynak bulunmaktadır:

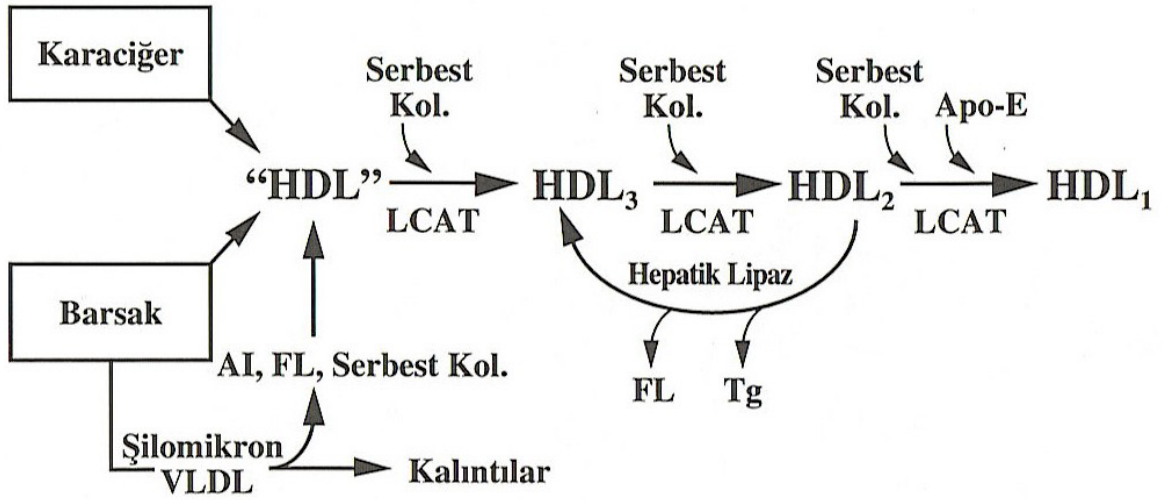
Karaciğer “olgunlaşmamış HDL” olarak adlandırılan bir Apo-A1 fosfolipid diski salgılar. Barsaklar da küçük bir Apo-A1 HDL partikülünü doğrudan sentez edebilir. Şilomikron ve VLDL, LPL tarafından etkilenerek TG'den zengin çekirdeği hidrolize olur. Bu şekilde ortaya çıkan fosfolipid ve serbest kolesterolden oluşan yüzey maddesi Apo-A1 ile birlikte küçük HDL diskini şekillendirir. “HDL diskleri” hücrelerden ve diğer lipoproteinlerden lipid ve özellikle serbest kolesterol toplarlar. Bu durum serbest kolesterol bakımından zenginleşmiş Apo-A1 fosfolipid disklerini meydana getirir. LCAT kolesterolü esterleştirir. Böylece HDL'nin çekirdeğini oluşturmaya başlayan kolesterol esterleri meydana gelir. Daha fazla kolesterol esterleştirildikçe disk, HDL₃ adı verilen küçük bir partikül haline dönüştürülür (küçük olgun HDL). HDL₃ serbest kolesterolün alıcısıdır. HDL₃e alınan ve esterleştirilen serbest kolesterol miktarı arttıkça partikülün boyutu büyür ve HDL₂ meydana gelir. HDL₂ esas olarak ester kolesterol alıcısıdır (95, 97) (Şekil 1).

HDL ve alt fraksiyonları tıbbi açıdan son derece önemlidir. HDL ateroskleroz prosesinde arter duvarındaki köpük hücrelerinden kolesterolü alıp, karaciğere taşıyarak (reverse kolesterol taşınması) antiaterojenik bir rol oynar (95). HDL'nin ayrıca, antioksidan, fibrinolizi arttırıcı, LDL reseptörü ile yarışarak endotel hücreleri tarafından LDL alınmasını düşürücü, in vitro olarak da LDL tarafından trombositlerin aktivasyonunu engelleyici etkileri bulunmaktadır.

Serum HDL ve HDL₂ düzeyi ile iskemik kalp hastalığı riski arasında negatif ilişki saptanmıştır (22). Düşük HDL değeri (<35 mg/dl) ateroskleroz risk faktörü olarak gösterilmektedir. HDL düzeyi üzerinde sigaranın olumsuz etkiye sahip olduğu (95, 98) yeterli

sıklık ve sürede yapılan aerobik egzersizlerin ise HDL düzeyini arttırdığı belirtilmektedir (96, 99, 100).

Serum HDL₂-K ve HDL₃-K konsantrasyonları büyük ölçüde, plazmada mevcut olan dört enzimin stimulan etkisi ile belirlenir. Bunlar LCAT, kolesterol ester transfer proteini (CETP), hepatik trigliserid lipazı (HTL) ve LPL'dir (95, 98, 96).



Şekil 1: HDL metabolizmasının şematik gösterimi (95)

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3. ARAÇ GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. ARAÇ ve GEREÇLER

3.1.1. Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Marka	Model	Üretici Firma/ Ülke
Otoanalizör	Hitachi	DP Moduler sistem	Boehringer Mannheim Co, Almanya
Otoanalizör	Immulyte	One	Diagnostic Producs Corporation, İngiltere
Spektrofotometre	Shimadzu	UV 160 A	Shimadzu Japonya
ELİSA plak okuyucu	Biotek	Synergy HT	A.B.D
ELİSA plak yıkayıcı	Thermo wellwash	4 MK2	Çin
ELİSA plak çalkalayıcı	Heidolph	Vibromax 100	Almanya
Vorteks	IKA	VIBRAX	Almanya
Derin dondurucu (-80°C)	Thermo Electron	Forma -86 C ULT freezer	ThermoElectron Corporation A.B.D.
Santrifüj	Hereaus	20 RS	Thermo Scientific A.B.D.
Otomatik Pipetler	Jencons	Sealpette 100-1000 µL Sealpette 10-200 MI	Jencons Scientific Ltd, İngiltere
Tansiyon aleti	ERKA		Türkiye

3.1.2.Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasallar

Madde Adı	Kimyasal Formül	Firma	Katalog No
Polietilen glikol (MA:20.000)	HO(C ₂ H ₄ O) _n H	Sigma	T 550
Disodyum hidrojen fosfat %99	Na ₂ HPO ₄	Riedel de Haen	D-3016-1
Sodyum dihidrojen fosfat %99	NaH ₂ PO ₄	Riedel de Haen	180687

3.1.3.Kitler

Çalışmada kullanılan kitler

Kit Adı	Yöntem	Firma	Katalog No
Adiponektin	Enzim İmmünassay	Linco	EZHADP-61K

3.2. OLGULARIN SEÇİMİ, ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI

3.2.1. Olguların seçilmesi:

Araştırmaya DEÜTF Gastroenteroloji Polikliniği ile yapılan işbirliğine rağmen yeni tanı konmuş NAYKH ve kronik hepatit C hasta sayısındaki sayısal yetersizlik nedeniyle daha önceden tanı almış ve tedavi almayan hastalar ile DEÜTF Gastroenteroloji Polikliniğine başvuran ve biyopsi ile NAYKH tanısı almış 23 hasta (13 kadın, 10 erkek), biyopsi ile kronik hepatit C tanısı almış 18 hasta (10 kadın, 8 erkek) ve yaş, cinsiyet ve VKİ uyumlu 21 kişilik (11 kadın, 10 erkek)sağlıklı kontrol grubu katılmıştır.

NAYKH tanısı için transaminaz düzeyleri (3 ay yada daha uzun süre ile normal değerinin >1.5 kat) yüksek seyreden ya da transaminaz değerleri normal ya da yüksek olup USG tetkiki ile karaciğer yağlanması saptanan hastalara NAYKH dışındaki hastalıkları ekarte etmek için viral hepatit markerları (Anti HAV Ig M, Anti HAV Ig G, HbsAg, Anti HBs, Anti HBc IgM, Anti HBc total, HBeAg, Anti HBe, AntiHCV), otoimmün markerlar (ANA,

ASMA, AMA), TSH, ALT, AST, GGT, albumin, total bilirubin bakıldı. Kesin tanı için karaciğer biyopsisi yapıldı ve biyopsi materyallerinin histopatolojik incelemesi Brunt'ın önerdiği derecelendirme ve evreleme sistemine göre gerçekleştirildi.

NAYKH olarak değerlendirilen olgularda AKŞ, HbA1c, açlık insülin, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid, Apo-A1, Apo-B1, hs CRP, ferritin, homosistein düzeyleri ölçüldü. Ayrıca boy, ağırlık, bel çevresi, sigara kullanımı, alkol kullanımı, fizik aktivite, ilaç kullanımı bilgilerini içeren hasta formları dolduruldu.

Kronik hepatit C grubu için, HCV'si pozitif hastalardan transaminaz değerleri 6 ay yüksek seyreden ve HCV RNA'sı pozitif olan hastalara viral hepatit markerları (Anti HAV Ig M, Anti HAV Ig G, HbsAg, Anti HBs, Anti HBc IgM, Anti HBc total, HBeAg, Anti HBe, AntiHCV), otoimmün markerlar (ANA, ASMA, AMA), TSH, ALT, AST, GGT, albumin, total bilirubin bakıldı. Kesin tanı için karaciğer biyopsisi yapıldı ve biyopsi materyallerinin histopatolojik değerlendirmesi için Knodell skoru kullanıldı.

Kronik hepatit C olarak değerlendirilen olgularda AKŞ, HbA1c, açlık insülin, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid, Apo-A1, Apo-B1, hs CRP, ferritin, homosistein düzeyleri ölçüldü. Ayrıca boy, ağırlık, bel çevresi, sigara kullanımı, alkol kullanımı, fizik aktivite, ilaç kullanımı bilgilerini içeren hasta formları dolduruldu.

Her iki gruptaki hastalar NCEP ATP III kriterlerine göre insülin direnci sendromu olanlar ve olmayanlar olarak sınıflandırıldı. Serum TG düzeyi 150 mg/dL ve üzerinde, açlık kan glukozu 110 mg/dL ve üzerinde, serum HDL-K düzeyi erkekte 40 mg/dL ve altında, kadında 50 mg/dL ve altında, kan basıncı 130/80 mm Hg ve üzerinde ve erkekte bel çevresi 102 cm ve üzerinde, kadında 88 cm ve üzerinde olup bu kriterlerden üçüne sahip olanlar insülin direnci sendromu olarak değerlendirildi.

40 gr/hf dan fazla alkol kullananlar, bilinen yada geçirilmiş bir malign hastalığı, pankreas, adrenal hastalığı olanlar, kronik hormon kullanımı olanlar, beş ay öncesine kadar lipid düşürücü ilaç alanlar çalışmaya alınmadı.

Bu kriterler ile seçilerek hazırlanan olgulara çalışmanın amacı ve yapılan işlemlerin kısaca açıklandığı bir bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldıktan sonra çalışmaya dahil edildi.(Proje başlamadan önce etik kurul onayı alındı.)

VKİ tüm hasta ve kontrol grubunda ağırlık (kg) / boy² (m²) formülü ile hesaplandı. VKİ'yi 30 kg / m² olanlar obez olarak değerlendirildi. İnsülin direnci ölçümü için homeostaz model değerlendirilmesi (HOMA-IR= Homeostasis Model Assessment) kullanıldı. HOMA= açlık insülin değeri (µIU/ml) x açlık glukoz değeri (mg/dL) / 405.

3.2.2. Örneklerinin alınması,Toplanması ve Saklanması

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden 12 saatlik gece açlığını takiben sabah 08.00-12.00 saatleri arasında DEÜTF Merkez Laboratuvarı Kan alma Birimi'nde örnekler alınarak Merkez Laboratuvarında değerlendirildi. Her hastadan 10 ml venöz kan kırmızı kapaklı tüplere, ayrıca HbA1c için mor kapaklı tüpe 2-3 ml venöz kan alındı.

Tüpler 1500 g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları elde edildi. Ayrılan serumdan ALT, AST, GGT, albumin, total bilirubin, viral hepatit markerları (Anti HAV Ig M, Anti HAV Ig G, HbsAg, Anti HBs, Anti HBc IgM, Anti HBc total, HBeAg, Anti HBe, AntiHCV), otoimmün markerlar (ANA, ASMA, AMA), hs CRP, TSH, ferritin, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid, Apo A1, ApoB1, AKŞ, HbA1c, açlık insülin, C peptid aynı gün çalışıldı. Ayrıca HDL subfraksiyonları ve adiponektin düzeylerinin ölçümü için ayrı bir tüpe alınan venöz kan örnekleri santrifüj edildikten sonra serum örnekleri -80 °C de saklandı.

3.3. FİZİKSEL ÖZELLİKLERİN ÖLÇÜMÜ

3.3.1. Arteriyel Tansiyon Ölçümü

Arteriyel Tansiyon Ölçümleri, hasta formu doldurulurken 10 dakikalık dinlenme sürecinden sonra ve otururken yapıldı.

3.3.2.Vücut Ağırlığı ve Boy Ölçümü

Ölçümler, hastanın kıyafetleri üstünde ve ayakta olduğu durumda yapıldı. Hastalar ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin boyları ve vücut ağırlıkları duvar metrajı ve tartı aleti kullanılarak ölçüldü.

3.4. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

3.4.1. Biyokimyasal analizler

Parametre	Ölçüm Yöntemi/Prensibi	Ölçüm için kullanılan cihaz/Kit
Glukoz	End Point (enzimatik, kolorimetrik)	Roche Diagnostics Modular DP Tokyo Japan
HbA1c	Total Hb=Kolorimetrik HbA1c-immunoturbodinamik	İntegra 400
İnsülin	Solid Faz –sandwich kemiluminesan immunometrik ölçüm	İmmulite 2500
ALT	Kinetik (enzimatik, kolorimetrik)	Roche Diagnostics Modular DP Tokyo Japan
AST	Kinetik (enzimatik, kolorimetrik)	Roche Diagnostics Modular DP Tokyo Japan
GGT	Kinetik (enzimatik, kolorimetrik)	Roche Diagnostics Modular DP Tokyo Japan
T.Kolesterol	End point (enzimatik, kolorimetrik)	Roche Diagnostics Modular DP Tokyo Japan
Trigliserid	End point (enzimatik, kolorimetrik)	Roche Diagnostics Modular DP Tokyo Japan
HDL -K	End point (enzimatik, kolorimetrik)	Roche Diagnostics Modular DP Tokyo Japan
LDL- K	End point (enzimatik, kolorimetrik)	Roche Diagnostics Modular DP Tokyo Japan
Apo A1	Immuniturbidimetrik	İntegra 400
Apo B	Immuniturbidimetrik	İntegra 400
Ferritin	Immuniturbidimetrik	İntegra 400
HsCRP	Immuniturbidimetrik	İntegra 400
Homosistein	Solid Faz –kompetatif kemiluminesan enzim immun ölçüm	İmmulite 2500
ANA	IFAT (İndirekt fluorescent antibody technique)	Nikon Diaphot 200 Floresan mikroskop Zeus
ASMA	IFAT (İndirekt fluorescent antibody technique)	Nikon Diaphot 200 Floresan mikroskop Zeus
AMA	IFAT (İndirekt fluorescent antibody technique)	Nikon Diaphot 200 Floresan mikroskop Zeus
HBsAg	Kemiluminesan Mikropartikül enzimimmünojik yöntem (CMIA)	Architect i2000SR Architect
Anti Hbs	Direk sandviç kemilüminisan immun yöntem (CLIA)	Liaison
Anti HBc IgM	kemilüminisan immun yöntem (CLIA)	Liaison
Anti HBc Total	İki basamaklı kompetatif kemilüminisan immun yöntem (CLIA)	Liaison
HBeAg	Direk sandviç kemilüminisan immun yöntem (CLIA)	Liaison
Anti HBe	Kompetatif sandviç kemilüminisan immun yöntem (CLIA)	Liaison
Anti HCV	Kemiluminesan Mikropartikül enzimimmünojik yöntem (CMIA)	Architect i2000SR Architect
TSH	Solid Faz –sandviç kemiluminesan immunometrik ölçüm	İmmulite 2500

3.4.2. Adiponektin Düzeylerinin Ölçümü

Adiponektin düzeyi serum örneklerinde sandviç ELISA yöntemi ile ölçüldü. Üretici firmanın adiponektin kiti için verdiği çalışma içi varyasyon katsayısı (İnter assay CV) % 7,4 çalışmalar arası varyasyon katsayısı (İnter assay CV) % 2,4 olarak belirtilmiştir.

Ölçümde kullanılan kitin içeriğindeki plak üzerinde yer alan kuyucukların iç düzeyi adiponektin molekülüne özgü monoklonal antikolar ile kaplıdır. Serum örnekleri spesifik fare anti-adiponektin antikoları ile birlikte bu kuyucukların içinde inkübe edilir. Antijen-antikor kompleksi oluşur. İnkübasyonun ardından bağlanamayan moleküller kuyucuklar yıkanarak ortamdan uzaklaştırılır. Daha sonra bağlı adiponektinin tespiti için kuyucuklara “horseradish” peroksidaz ile işaretli antikolar eklenir. İnkübasyon süresi bitiminde bir yıkama işlemi ile serbest kalan konjugat ortamdan uzaklaştırılır. Peroksidaz ile reaksiyona giren tetrametil benzidin (TMB) substratı kuyucuklara eklenerek enzimatik reaksiyon başlatılır. Belirlenen inkübasyon süresinin bitiminde enzimatik reaksiyon durdurularak oluşan sarı renkli çözelti 450 ve 590 nm’de okunur. Absorbans farkları hesaplanır ve kalibrasyon eğrisi çizilerek adiponektin konsantrasyonları belirlenir.

3.4.3. HDL-K, HDL₂-K ve HDL₃-K Ölçüm Yöntemleri

HDL ve HDL₃’ün süpernatantları ve kolesterol içerikleri Kostner ve ark.’nın (76) yöntemine göre yapılmıştır. HDL nin üç alt grubundan HDL₁ sağlıklı kişilerde göreceli olarak çok küçük olduğundan hesaplamalarda ihmal edilmektedir.

Örnekteki HDL ve HDL₃ diferansiyel bir presipitasyon işlemi ile süpernatantlara izole edilmektedir. Yöntem, pH ve reaktifin polietilen glikol (PEG 20 000) polimer konsantrasyonları değiştirilerek lipoproteinlerin selektif presipitasyonuna dayanır.

A reaktifi (HDL) için: Ağırlıkça % 9.5 PEG 20 000 (pH=6.5) çözeltisi kullanıldı. Bunun için 0.1 mol/L Na₂HPO₄ tamponu 0.1 mol/L NaH₂PO₄ tamponu ile pH= 6.5 olacak oranda karıştırıldı. 9.5 g PEG 20000, 100 mL lik bu tampon çözeltisi içerisinde çözülerek hazırlandı.

B reaktifi (HDL₃) için: Ağırlıkça % 15 PEG 20 000 (pH=7.5) çözeltisi kullanıldı. 15 g PEG 20000 yukarıda belirtilen şekilde elde edilen ve pH=7.5 olan 100 mL 0.1 mol/L Na-fosfat tamponu içinde çözülerek hazırlandı.

Bu metoda göre A reaktifi serumdaki VLDL ve LDL lipoproteinlerini çöktürmektedir. Tüm ApoB içeren lipoproteinleri (Lp(a) dahil) çöktürdüğü kabul edilmektedir (19).

HDL için (A), HDL₃ için ise (B) reaktifleri kullanılarak her bir fraksiyonda aşağıdaki işlemler ayrı ayrı gerçekleştirildi. Önce 0.1 mL serum ve 0.2 mL reaktif A veya B, 1.5 mL lik kapaklı plastik Eppendorf tübüne konarak iyice karıştırıldı. Bu karışımlar oda sıcaklığında 10 dk enkübe edildi. Sonra 5000 g de oda sıcaklığında 5 dk santrifüjlendi. Tüm örnekler için berrak, ancak biraz yoğun süpernatantlar elde edildi. Her bir süpernatanın (HDL ve HDL₃) kolesterol içerikleri enzimatik kolorimetrik yöntemle ticari kolesterol kiti kullanılarak otoanalizörde gerçekleştirildi.

3.5. İNSÜLİN DİRENCİ ÖLÇÜM METODU (HOMA MODELİ)

İnsülin direnci normal konsantrasyondaki insülinin normalden daha az biyolojik yanıt oluşturması durumudur. İnsülin direnci çeşitli teknikler ile belirlenebilmektedir. Öglisemik-hiperinslünemik klemp tekniği, insülin direncinin tespitinde altın standart kabul edilir; ancak karmaşık ve uygulaması pratikte güç bir işlem olduğu için, insülin direnci yüksek olan popülasyonlarda yaygın kullanım için uygun değildir.

İnsülin direnci için homeostaz modeli değerlendirmesi (HOMA-IR= Homeostasis Model Assesment) diyabetik olan ve olmayan kişilerde, kişide ölçülen glukoz ve insülin değerleri kullanılarak beta hücre fonksiyonunu ve insülin direncini pratik bir şekilde inceleme imkanı sağlayan bir modeldir.

$$\text{HOMA} = \text{açlık insülin değeri } (\mu\text{IU/mL}) \times \text{açlık glukoz değeri } (\text{mg/dL}) / 405$$

Normal bireylerde HOMA değeri 2,7'den düşük olarak bildirilmektedir. 2,7'nin üzeri insülin direncini yansıtır.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Tüm istatistiksel analizler SPSS 11.0 paket istatistik programıyla yapıldı. 3 grup arasındaki farklılığın analizi için Kruskal-Wallis test kullanıldı. Anlamlı farklılık çıkması halinde iki grup arasındaki anlamlılığın belirlenmesi için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Korelasyon analizleri Spearman Srho'a göre yapıldı. Farklılık ve korelasyon analizlerinde anlamlılık için p< 0.05 düzeyi temel alındı.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4. BULGULAR

4.1.TANIMLAYICI BULGULAR

NAYKH, kronik hepatit C ve kontrol grubunun fiziksel özellikleri aşağıdadır. (Tablo8)

Tablo 8: Fiziksel özellikler

	NAYKH(n=23)	KHC (n=18)	KG (n=21)	p değeri
Cinsiyet K/E	13/10	10/8	11/10	AD
Yaş (Ort±SD)	53,3±9,91	55,94±12,27	54,45±10,53	AD
VKİ (Ort±SD)	30,54±4,65	27,78±4,44	28,26±4,92	AD
Boy (Ort±SD)	164,08±11,64	164,08±11,64	165,42±13,65	AD
Ağırlık (Ort±SD)	82,30±14,96	75,72±12,15	77,61±15,67	AD

Yapılan istatistiksel analizde her üç grup arasında fiziksel özellikler açısından anlamlı farklılık bulunmadı.

4.2 IRS KRİTERLERİNE AİT BULGULAR

Hasta ve kontrol grupları NCEP ATP III kriterleri göz önüne alınarak insülin rezistan sendrom kriterleri açısından karşılaştırıldı. Hasta grubunda kriterlerin dağılım yüzdeleri ve IRS kriterlerinden kaçına sahip oldukları araştırıldı.

NAYKH grubunda bel çevresi ölçümü, sistolik ve diastolik kan basıncı değerleri, açlık glukoz değerleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunurken, açlık HDL-K değeri anlamlı düşük bulundu. KHC grubunda ise bel çevresi ölçümü, sistolik ve diastolik kan basıncı değerleri ve glukoz değerleri kontrol grubuna göre yüksek bulunurken, açlık HDL-K ve açlık TG değeri düşük bulundu ancak sadece sistolik ve diastolik kan basıncı değerlerinde gözlenen fark anlamlı idi. NAYKH ve KHC grupları IRS kriterleri açısından birbirleri ile

karşılaştırıldığında ise TG değerleri (p=0,000) dışında diğer parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 9).

Hasta grupları, kriterlerin dağılım yüzdeleri ve hastaların insülin rezistan sendrom kriterlerinden kaçına sahip oldukları açısından değerlendirildiğinde NAYKH grubunda yoğunluk en fazla üç kriter taşıyan hasta popülasyonunda izlendi (n=8, %57), bunu ikinci sırada dört kriter taşıyan popülasyon (n=4, %29), en son sırada ise beş kriter taşıyan hasta popülasyonu izledi (n=2, %14) (Grafik 1 ve 2).

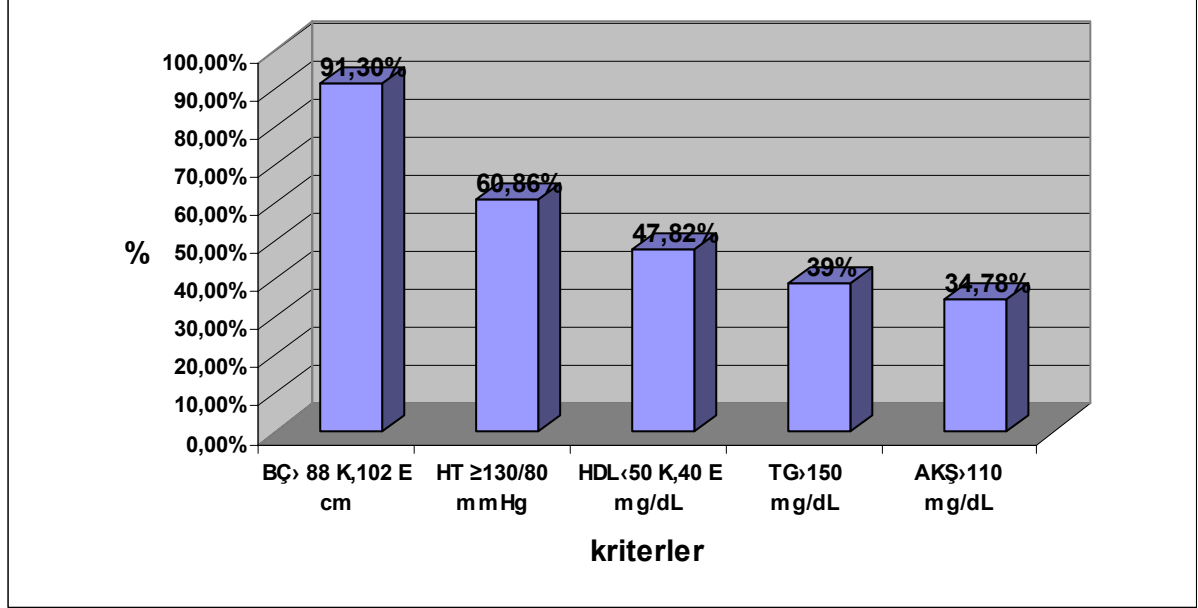
Kronik HCV grubunda da yoğunluk en fazla üç kriter taşıyan hasta popülasyonunda izlendi (n=5, %62), bunu ikinci sırada dört kriter taşıyan popülasyon (n=3, %38), beş kriter taşıyan hasta popülasyonunda ise hiç hasta bulunmuyordu (n=0, %0) (Grafik 3 ve 4).

Tablo 9- NAYKH , KHC ve kontrol gruplarında IRS kriterleri

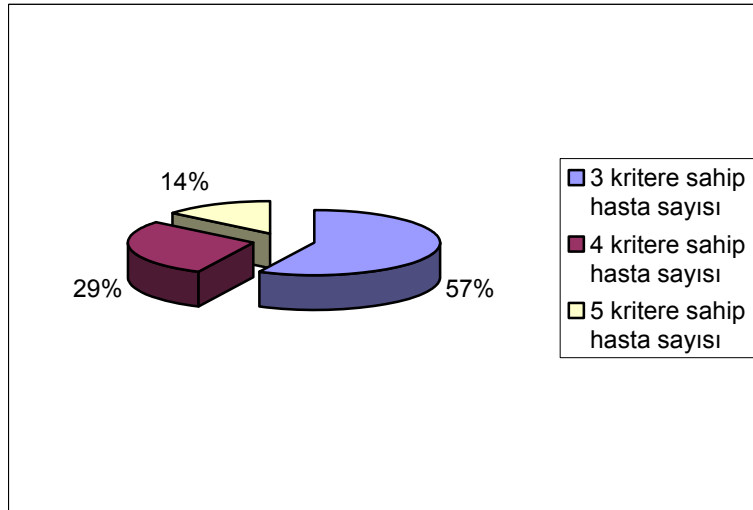
	NAYKH(n=23) (Ort±SD)	KHC(n=18) (Ort±SD)	KG(n=21) (Ort±SD)
Bel çevresi (cm)	104,7±15,3°	96±4,4	93,4±15,8
Sistolik kan basıncı (mmHg)	131±10,1 ^a	136,9±13,7 ^a	112±9,4
Diastolik kan basıncı (mmHg)	88±8,8 ^a	89,2±8 ^a	71,1±6,3
Açlık glukoz düzeyleri (mg/dL)	114,2±43 ^a	100±19,5	91,8±9,9
Açlık TG düzeyleri (mg/dL)	180,3±122,5 [*]	104,7±33,8	122,2±53,1
Açlık HDL-K düzeyleri (mg/dL)	45,7±12,6 ¹	51,05±15,40	53,2±12,7

a: p=0,000 (KG göre) o: p=0,025 (KG göre) 1:p=0,040 (KG göre)
*: p=0,000 (KHC göre)

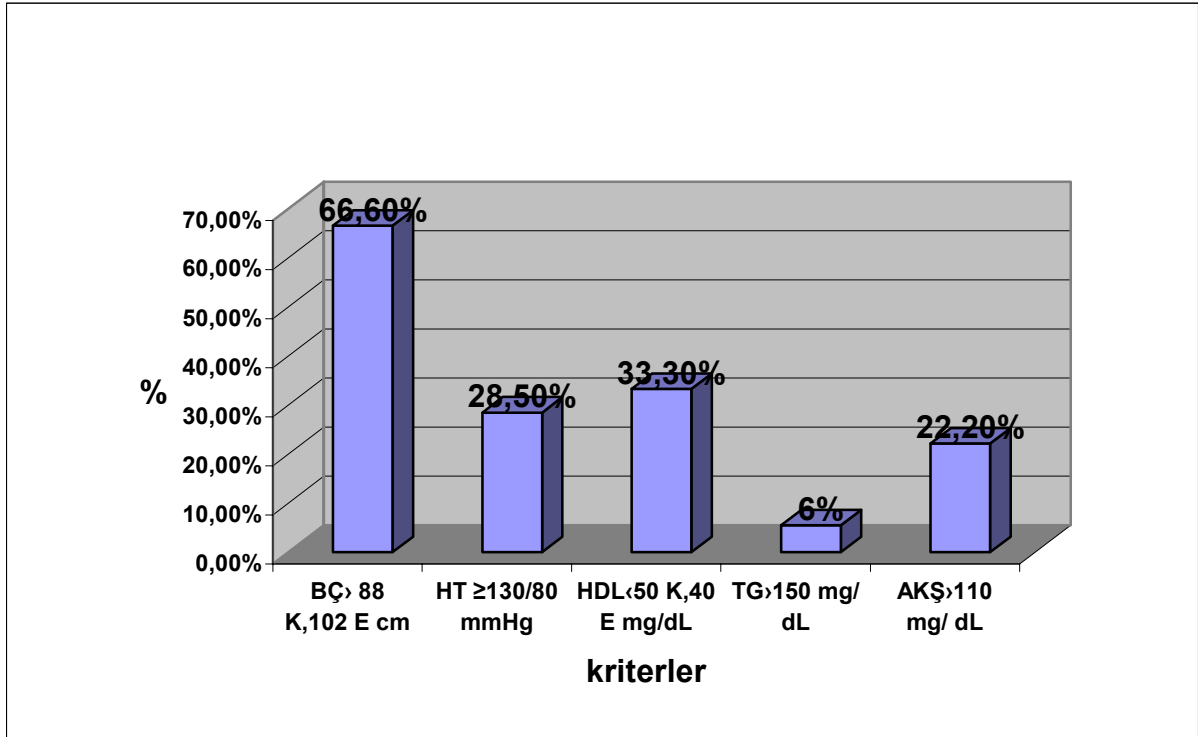
Grafik 1: NAYKH grubunda kriterlerin görüldüğü hastaların toplam hasta sayısına oranları.



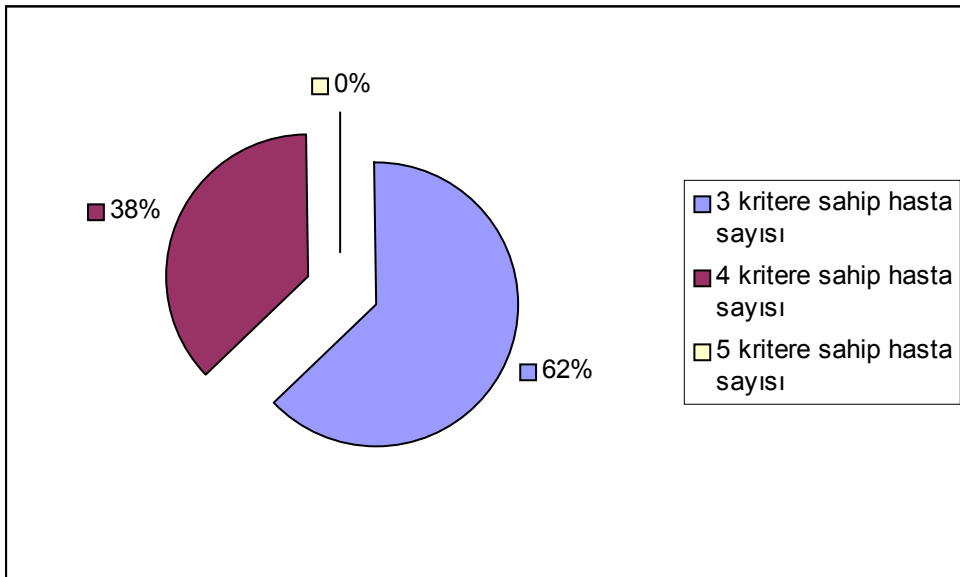
Grafik 2: NAYKH grubunda sahip oldukları kriter sayısına göre hastaların kümelenmesi.



Grafik 3: HCV grubunda kriterlerin görüldüğü hastaların toplam hasta sayısına oranları.



Grafik 4: HCV grubunda grubunda sahip oldukları kriter sayısına göre hastaların kümelenmesi



NAYKH grubu kendi içinde IRS mevcut olanlar ve olmayanlar olarak ikiye ayrılıp NCEP ATP III kriterleri göz önüne alınarak insülin rezistan sendrom kriterleri açısından karşılaştırıldığında IRS olan grupta bel çevresi ölçümü, sistolik ve diastolik kan basıncı değerleri, açlık TG ve glukoz değerleri IRS olmayan gruba göre yüksek bulunurken, açlık HDL-K değeri düşük bulundu. Sistolik ve diastolik kan basıncı ve açlık glukoz düzeylerinde gözlenen fark istatistik olarak anlamlı idi (Tablo 10).

Tablo 10- IRS (+) ve IRS (-) NAYKH olgularında IRS kriterleri

	NAYKH (n=14)IRS(+) (Ort±SD)	NAYKH (n=9)IRS (-) (Ort±SD)	p değeri
Bel çevresi (cm)	108,6±18,0	98,7±6,7	AD
Sistolik kan basıncı (mmHg)	138,2±6,4	121,6±5,6	0,00
Diastolik kan basıncı (mmHg)	93,9±4,5	78,9±5,4	0,00
Açlık glukoz düzeyleri (mg/dL)	124,6±52,2	91,5±7,7	0,01
Açlık TG düzeyleri (mg/dL)	219,3±143,6	119,6±31	AD
Açlık HDL-K düzeyleri (mg/dL)	44,5±12,9	47,6±12,5	AD

Kronik HCV grubu kendi içinde IRS mevcut olanlar ve olmayanlar olarak ikiye ayrılıp NCEP ATP III kriterleri göz önüne alınarak insülin rezistan sendrom kriterleri açısından karşılaştırıldığında IRS (+) olan grupta bel çevresi ölçümü, sistolik ve diastolik kan basıncı değerleri, açlık TG ve glukoz değerleri IRS (-) gruba göre yüksek bulunurken, açlık HDL-K değeri düşük bulundu. Sadece HDL-K değerlerinde gözlenen farklılık istatistiksel anlamlı idi. (Tablo 11)

Tablo 11- IRS (+) ve IRS (-) KHC olgularında IRS kriterleri

	KHC(n=8) IRS (+) (Ort±SD)	KHC (n=10) IRS (-) (Ort±SD)	p değeri
Bel çevresi (cm)	99,75±8,71	92,90±12,12	AD
Sistolik kan basıncı (mmHg)	140,62±14,50	134,00±13,08	AD
Diastolik kan basıncı (mmHg)	91,87±5,30	87,00±9,48	AD
Açlık glukoz düzeyleri (mg/dL)	109,87±25,10	92,10±8,69	AD
Açlık TG düzeyleri (mg/dL)	109,62±27,54	102,00±22,49	AD
Açlık HDL-K düzeyleri (mg/dL)	43,11±5,24	57,41±18,04	0,021

4.3. İNSÜLİN DİRENCİ BELİRTEÇLERİNE AİT BULGULAR

NAYKH , KHC ve KG'da insülin direnci ölçüm metodlarından olan açlık insülin ile HOMA-IR düzeyi ve vücut kan şeker düzeyinin bir göstergesi olan HbA1c ölçümleri karşılaştırıldı (Tablo 12).

Tablo12: NAYKH , KHC ve kontrol gruplarında insulın direnci belirteçleri

	NAYKH	KHC	KG
Açlık insülin(µIU/L)	13,97±5,85 ^o	15,82±10,55 ¹	7,20±6,66
HOMA-IR	4,11±3,58 ^a	3,79±2,78 ^o	1,61±1,59
HbA1c (%)	6,2±1,38 ^a	5,81±0,92 ^a	5,12±0,33

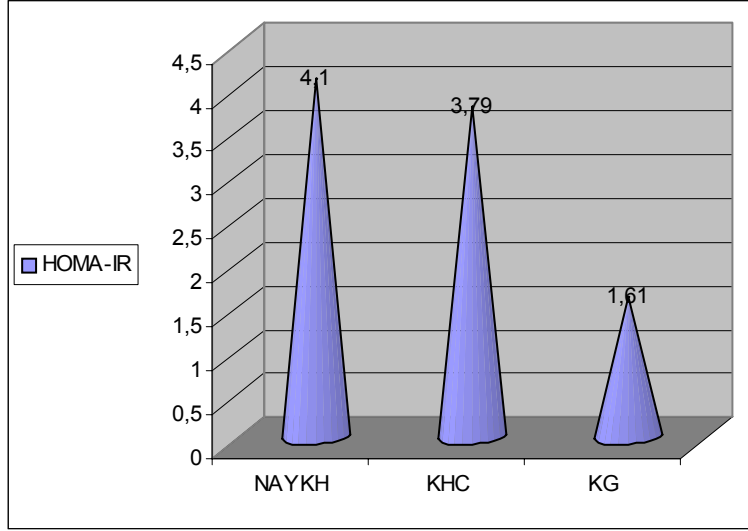
a: p=0,00 (KG göre)

o: p=0,01 (KG göre)

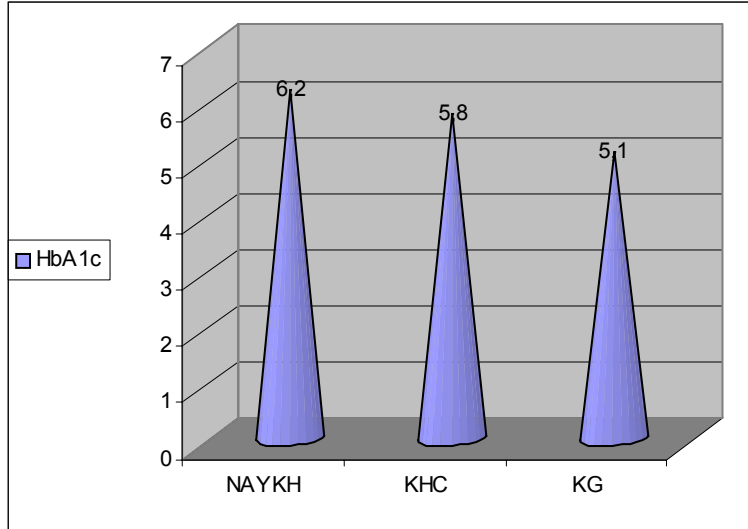
1: p=0,012 (KG göre)

NAYKH ve KHC grubunda insülin, HOMA-IR, HbA1c değerleri kontrol grubuna göre yüksek ve istatistiksel olarak anlamlıyken NAYKH ve KHC grupları arasında insülin, HOMA-IR, HbA1c değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi (Grafik 5, 6, 7).

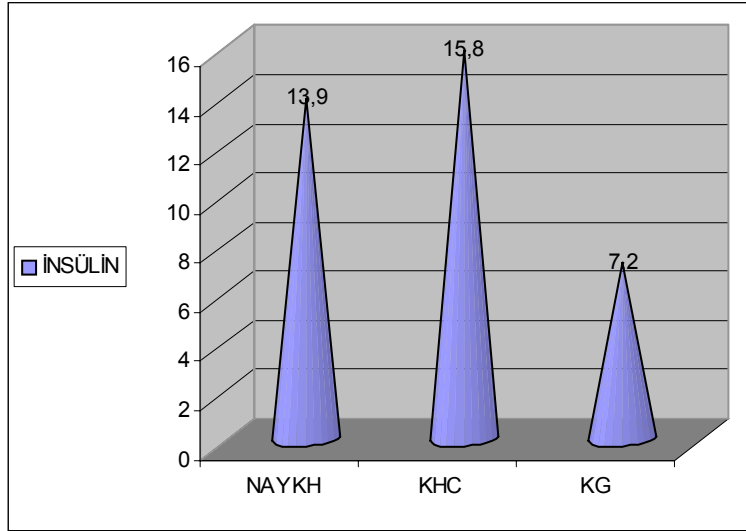
Grafik 5: NAYKH ($p=0,000$), KHC ($p=0,001$) ve kontrol grubunda HOMA-IR düzeyleri



Grafik 6: NAYKH ($p=0,000$), KHC ($p=0,000$) ve kontrol grubunda HbA1c düzeyleri



Grafik 7: NAYKH (p=0,001), KHC (p=0,012) ve kontrol grubunda insülin değerleri



NAYKH ve KHC grupları IRS olup olmamasına göre incelendiğinde sadece NAYKH grubunda KG ile karşılaştırıldığında HOMA-IR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p=0,025).

4.4. ADİPONEKTİN DÜZEYLERİNE AİT BULGULAR

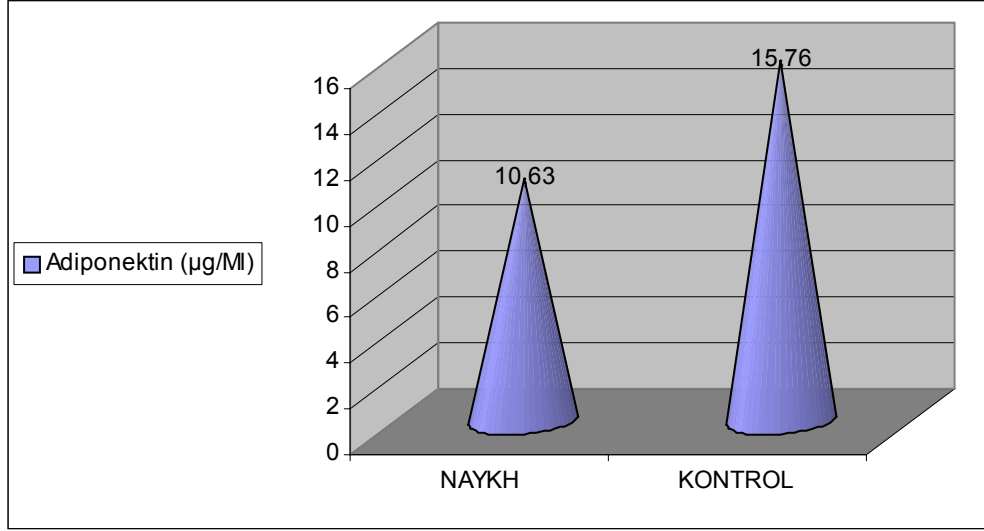
NAYKH grubunda adiponektin değerleri kontrol grubuna göre düşük bulundu ve istatistiksel olarak anlamlıydı. KHC grubunda adiponektin değeri düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 13) (Grafik 8).

Tablo 13- NAYKH , KHC ve kontrol gruplarının adiponektin düzeyleri

	NAYKH	KHC	KONTROL
Adiponektin (µg/mL)	10,63±6,36 ^a	12,76±5,65	15,76±5,53

a: p=0,001 (KG göre)

Grafik 8: NAYKH ve kontrol grubunda adiponektin düzeyleri (p=0,001)



NASH grubu IRS olan ve olmayan olarak incelendiğinde adiponektin değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

4.5. OBEZİTE İLE İNSÜLİN DİRENCİ VE ADİPONEKTİN İLİŞKİSİ

Hasta ve kontrol grupları VKİ'ne göre sınıflandırıldı.

VKİ: 20-24,9 olanlar normal kilolu

VKİ: 25-29,9 olanlar şişman

VKİ: 30 ve üzeri olanlar obez olarak değerlendirildi.

Tablo 14- VKİ'ne göre hastaların sınıflandırılması

	NAYKH (n=23)	KRONİK HCV (n=18)	KG (n=21)
Normal kilolu/şişman/obez	1/12/10	5/5/8	6/8/7

NAYKH , KHC ve kontrol grupları obez olanlar ve olmayanlar olarak ayrılıp adiponektin, insülin ve HOMA değerleri açısından karşılaştırıldı (Tablo 15).

Tablo 15- Obez ve non obez tüm gruplarda obezite ile insulin direnci ve adiponektin ilişkisi

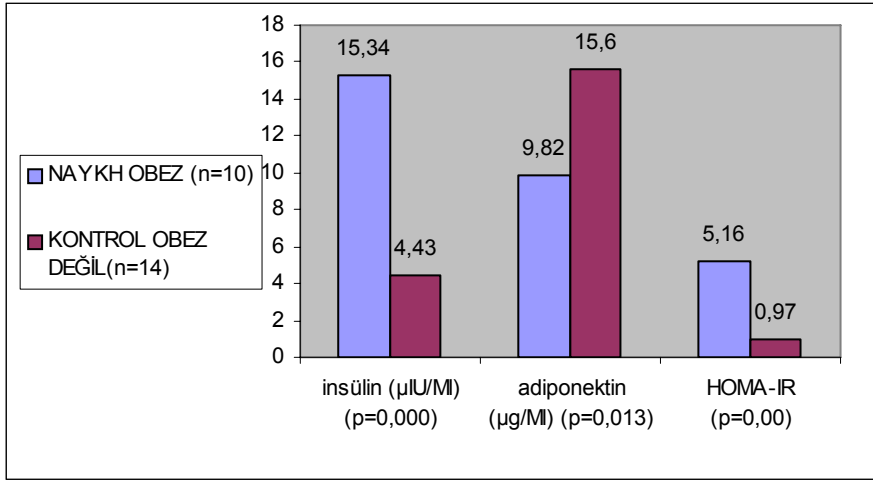
	HOMA-IR	ADİPONEKTİN (µg/mL)	İNSÜLİN (µIU/L)
NAYKH obez (n=10)	5,16±5,09	9,82±4,82	15,34±10,34
NAYKH non-obeز (n=13)	5,92±3,12	11,25±7,47	11,54±4,74
KHC obez (n=8)	3,12±1,72	12,37±6,38	13,31±6,57
KHC non-obeز (n=10)	4,32±3,40	13,08±5,33	17,82±5,33
Kontrol obeز (n=7)	2,89±2,22	16,10±5,58	12,76±9,12
Kontrol non-obeز (n=14)	0,97±0,52	15,60±5,71	4,43 ±2,25

NAYKH ve KHC grubu kendi içlerinde obez ve non obez olarak ayrılıp incelendiğinde her iki grupta tüm veriler açısından anlamlı bir fark gözlenmedi. Kontrol obez grubunda ise bu ayırım sonucu HOMA-IR ($p=0,011$) ve insülin ($p=0,017$) değerlerinde istatistiksel bir anlamlılık gözlenirken, adiponektin değerlerinde bir farklılık gözlenmedi.

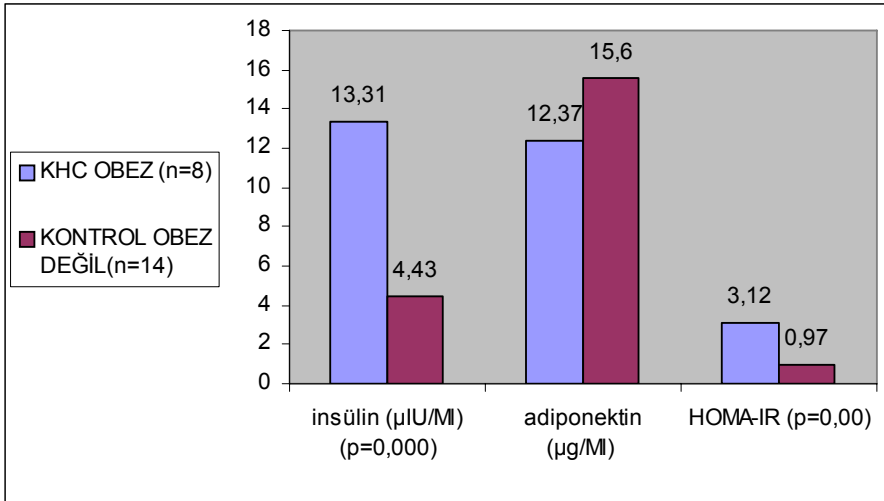
NAYKH obez grubunda insülin, HOMA-IR değerleri kontrol obez olmayan gruba göre yüksek ve istatistiksel olarak ($p= 0,000$) anlamlıydı. Adiponektin değerleri ise düşük ve istatistiksel olarak ($p=0,013$) anlamlıydı (Grafik 9).

KHC obez grubunda insülin, HOMA-IR değerleri kontrol obez olmayan gruba göre yüksek ve istatistiksel olarak ($p= 0,000$) anlamlıydı. Adiponektin değerleri ise düşüktü fakat istatistiksel olarak bir anlam taşııyordu (Grafik 10).

Grafik 9 : Obez NAYKH ve non-obez KG'ında insülin, adiponektin ve HOMA-IR karşılaştırılması



Grafik 10:Obez KHC ve non-obez KG'ında insülin, adiponektin ve HOMA-IR karşılaştırılması



4.6 KAN LİPİD PROFİLLERİNE AİT BULGULAR

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, NAYKH grubunun serum TK, LDL-K, TG ve HDL₃-K düzeyleri daha yüksekti, fakat fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. HDL-K (p=0,040), HDL₂-K (p=0,002) değerleri ise anlamlı olarak daha düşük bulundu. APO-A1 ve APO-B değerleri düşük fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 16, Grafik 11).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, KHC grubunun serum TK, LDL-K, HDL-K, TG, HDL₃-K, APO-B değerleri daha düşük, HDL₂-K, APO-A1 değerleri ise daha yüksekti. Ancak sadece TK (p=0,037) ve APO-B (p=0,035) değerindeki farklılık istatistiksel olarak anlamlı idi (Tablo 16, Grafik 11)

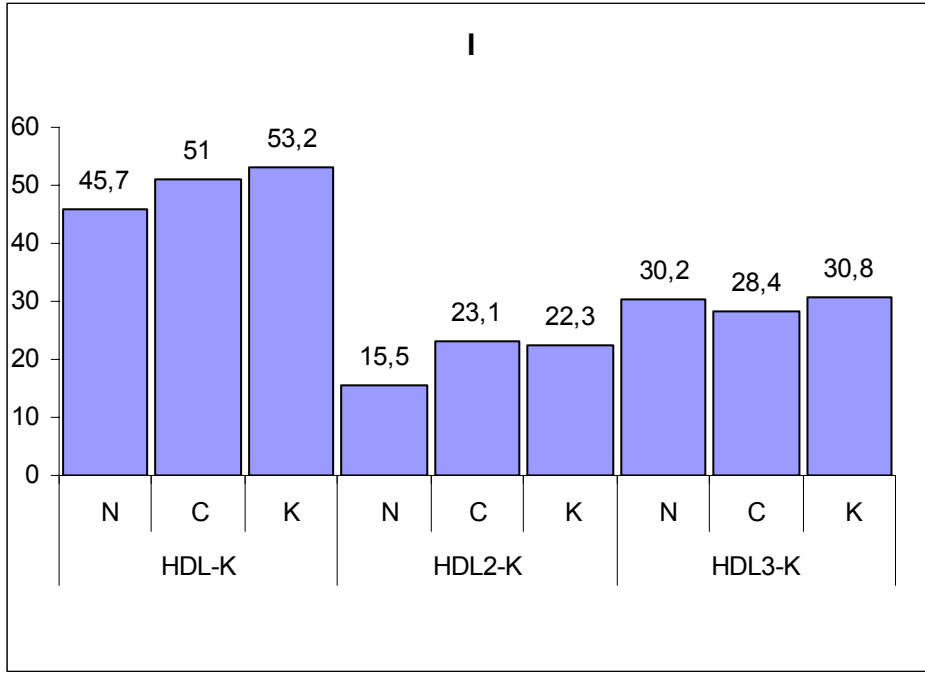
Tablo 16- NAYKH , KHC ve kontrol gruplarının kan lipid profilleri

	NAYKH (n=23) (Ort±SD)	KHC (n=18) (Ort±SD)	KG (n=21) (Ort±SD)
TK (mg/dL)	220,75±51,44	183,07±41,81 ^a	217,43±41,59
LDL-K (mg/ dL)	140,88±55,88	111,06±36,61	139,85±44,66
HDL-K (mg/ dL)	45,7±12,6 ^a	51,05±15,40	53,2±12,7
TG (mg/ dL)	180,3±122,5	104,7±33,8	122,2±53,1
HDL ₂ -K (mg/dL)	15,53±7,49 ^a	23,16±8,38	22,32±6,98
HDL ₃ -K (mg/ dL)	30,21±6,43	28,40±8,57	30,84±6,45
APO A1 (mg/dL)	144,54±31,34	155,28±28,52	152,19±22,04
APO B (mg/ dL)	90,46±41,93	70,99±23,64 ^a	93,80±34,36

a: p<0.05

NAYKH grubu ile KHC grubunun lipid profilleri karşılaştırıldığında HDL₂-K değerinin NAYKH da KHC den anlamlı düşük (p=0,004); TK'ün ise anlamlı yüksek (p=0,047) olduğu saptandı. HDL-K, HDL₃-K ve diğer lipid parametreleri açısından farklılık yoktu (Grafik 11).

Grafik 11:Hasta (NAYKH ve KHC) ve kontrol gruplarının HDL-K, HDL₂-K, HDL₃-K düzeylerinin karşılaştırılması



N:NAYKH
C:KHC
K:Kontrol

4.7. DİĞER BİYOKİMYASAL KORONER RİSK FAKTÖRLERİNE AİT BULGULAR

NAYKH grubunda hs-CRP değerleri KHC grubuna göre yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlıydı. NAYKH grubunda homosistein değerleri kontrol grubuna göre yüksek ve istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo 17 , Grafik 12)

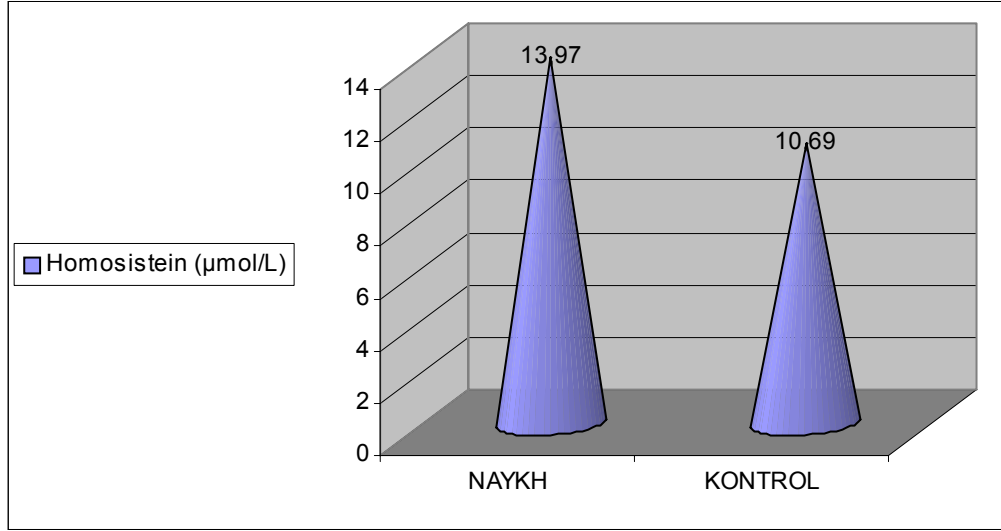
Tablo 17- NAYKH , KHC ve kontrol gruplarında ferritin, homosistein ve hs-CRP değerleri

	NAYKH (n=23) (Ort±SD)	KHC (n=18) (Ort±SD)	KG (n=21) (Ort±SD)
Ferritin (ng/mL)	75,17±52,79	152,57±148,3	87,17±84,76
Homosistein (µmol/L)	13,97±5,85 ^o	14,90±11,06	10,69±2,26
hs-CRP (mg/L)	5,10±4,46 ^a	1,46±1,27	3,14±2,72

a: p=0.000 (KHCV göre)

o: p= 0,019 (KG göre)

Grafik 12: NAYKH ve kontrol grubunda homosistein değerleri (p=0,019)



Hasta grupları İRS olanlar ve olmayanlar olarak ayrıldıktan sonra aynı parametreler açısından karşılaştırıldı. NAYKH grubunda IRS olanlarda hs-CRP değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenirken, homosistein, ferritin arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi (Tablo 18). KHC grubunda İRS olanlarda homosistein, hs-CRP, ferritin arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 19).

Tablo 18- IRS (+) ve IRS (-) NAYKH olgularında ferritin, homosistein ve hs-CRP değerleri

	NAYKH (n=14) IRS (+) (Ort±SD)	NAYKH (n=9) IRS (-) (Ort±SD)	p
Homosistein(µmol/L)	13,71±7,24	14,37±2,94	AD
hs-CRP (mg/L)	6,03±3,27	3,65±5,78	0,007
Ferritin (ng/mL)	59,83±37,24	99,03±66,01	AD

Tablo 19- IRS (+) ve IRS (-) KHC olgularında ferritin, homosistein ve hs-CRP değerleri

	KHC (n=8) IRS (+) (Ort±SD)	KHC (n=10) IRS (-) (Ort±SD)	P
Homosistein (µmol/L)	11,11±6,11	17,93±13,39	AD
hs-CRP (mg/L)	1,54±0,94	1,40±1,53	AD
Ferritin (ng/mL)	117,10±95,45	99,03±66,01	AD

4.8 KORELASYON ANALİZLERİ

Adiponektin, homosistein, ferritin, hs-CRP, lipid profili ve insülin direnci belirteçleri arasındaki ilişki incelendiğinde bulunan anlamlı korelasyonlar aşağıda belirtilmektedir:

- NAYKH grubunda adiponektinin homosistein ($r=0,642$, $p=0,001$) ile ve HDL₃K' ün hs-CRP ($r=0,439$, $p=0,036$) ile pozitif korelasyon gösterdiği,
- KHC' de adiponektinin ferritin ile ($r=0,476$, $p=0,046$), HDL-K ($r=0,530$, $p=0,024$) ve HDL₃-K' ün ($r=0,613$, $p=0,007$) insülin ve HOMA ($r=0,593$, $p=0,009$) ($r=0,649$, $p=0,004$) ile negatif korelasyon gösterdiği,
- NAYKH IRS(+) grupta adiponektinin homosistein ile ($r=0,642$, $p=0,001$), hs-CRP nin insülin ile ($r=0,534$, $p=0,049$) pozitif, HDL-K ($r=0,645$, $p=0,013$), HDL₂K ($r=0,548$, $p=0,043$) ve HDL₃ K ($r=0,610$, $p=0,020$) nın HOMA ile negatif korelasyon gösterdiği,
- KHC IRS(+) grupta adiponektinin HDL₂ K ($r=0,762$, $p=0,028$) ile pozitif korelasyon gösterdiği,
- KHC IRS(-) grupta adiponektinin HDL-K ($r=0,650$, $p=0,042$) ile pozitif ve ferritin ($r=0,709$, $p=0,022$) ile negatif, ferritin Apo B ($r=0,636$, $p=0,048$) ile negatif, hsCRP ile LDL K nın ($r=0,770$, $p=0,009$) pozitif korelasyon gösterdiği saptandı.

BEŞİNCİ BÖLÜM

5. TARTIŞMA VE SONUC

NAYKH hasta grubu, KHC hasta grubu ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKİ), vücut ağırlığı (VA) ve boy ölçümleri arasında anlamlı bir fark bulunmaması çalışma ve kontrol gruplarımızın fiziksel özellikler açısından benzer olduğunun kanıtıdır.

Her iki hasta grubu ve kontrol grubu IRS kriterleri açısından karşılaştırıldığında, NAYKH grubunda trigliserid dışında tüm IRS kriterlerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı farklı olduğu gözlemlendi. KHC grubunda ise IRS kriterlerinden sadece sistolik ve diastolik kan basıncı kontrol grubuna kıyasla anlamlı farklılık gösterdi.

IRS bileşenlerinin dağılım yüzdeleri ilgili olarak yapılan pek çok çalışma vardır. Bizim ülkemizde yapılan TEKHARF ve METSAR çalışmaları ile Amerikan toplumunda yapılan NHANES (101, 102) çalışmaları ve bizim çalışma gruplarımızın IRS bileşenlerinin prevalansları tablo da görülmektedir (Tablo 20). Çalışmamızda her iki grupta en sık bileşen abdominal obezite olarak bulunmuş, bunu NAYKH'de, yüksek kan basıncı, düşük HDL-K, yüksek TG ve yüksek AKŞ izlerken KHC'de düşük HDL-K, yüksek kan basıncı, yüksek AKŞ, yüksek TG izlemiştir. ABD'de IRS'nin en yaygın bileşeni abdominal obezitedir ve bunu yüksek kan basıncı, düşük HDL-K, yüksek TG ve yüksek AKŞ izlemektedir. Buna karşılık bizim toplumumuzdaki abdominal obezite prevalansı ABD toplumuna göre daha düşükken diğer parametreler daha yüksek bulunmuştur. Gruplar arasında bileşenlerin dağılımındaki farklılığın sebebi toplumsal, genetik ve çevresel etkenler olabilir. Aynı zamanda yöntem, popülasyon özellikleri ve yaş aralıklarındaki farklılıklar nedeniyle bu çalışmalar arasında karşılaştırmalar yapılması güç olmaktadır.

Tablo 20: IRS bileşenlerinin prevalansları

	Abdominal obesite %	HT %	HDL düşüklüğü %	TG yüksekliği %	AKŞ yüksekliği %
TEKHARF Genel popul. (n=3687)	74	88,5	92	68	17
METSAR Genel popul. (n=4259)	36,2	55,7	44,1	35,8	27,6
METSAR IRS'li popul. (n=1442)	75	88,6	63,5	69,1	57,4
NHANES Gen popul (ABD) (n= 1677)	44	39,2	37,9	32,6	13,1
NAYKH (n=23)	91,3	60,8	47,8	39	34,7
KHC (n=18)	66,6	28,5	33,3	6	22,2

NAYKH grubundaki kriterlerin sayısal olarak kümelenmesini incelediğimizde olguların %57'sinin 3 kritere, %29'unun 4 kritere, %14'ünün ise 5 kritere sahip olduğu gözlemlendi. IRS'nun 3 veya daha fazla özelliğini bulunduran olguların oranı ise %60,8 olarak belirlendi. KHC grubundaki kriterlerin sayısal olarak kümelenmesini incelediğimizde olguların %62'sinin 3 kritere, %38'inin 4 kritere, %0'ının ise 5 kritere sahip olduğu gözlemlendi. IRS'nun 3 veya daha fazla özelliğini bulunduran olguların oranı ise %44,4 olarak belirlendi. Bu bulgular Senti ve ark'nın 2404 kişilik genel populasyon ile yaptıkları çalışmada elde edilen bulgulara benzerdi; üç kritere sahip hasta yüzdesi %53,8, dört kritere sahip hasta yüzdesi %34,6, beş kritere sahip hasta yüzdesi %11,6 idi (103). Marno C.R ve ark'larının NAYKH'lı 46 olgu ile yaptığı çalışmada olguların %65'inde IRS'nun 3 veya daha fazla özelliği bulunmuşken (104) bu oran

Moon KW ve ark'larının 25 olgu ile yaptığı çalışmada %56 saptanmıştır (105). Bu oranlar bizim çalışmamızdaki NAYKH grubu ile uyumlu olup, KHC'de bu oranı daha düşük olduğu gözlenmektedir.

NAYKC ve NAYKH'li olguları obezite ve hiperlipidemi varlığına göre sınıflandıran çeşitli çalışmalarda elde edilen veriler, bizim NAYKH grubumuzla beraber aşağıdaki tabloda özetlenmektedir (Tablo 21). Olgularımızı sınıflandırırken obezite için VKİ'nin > 30, hiperlipidemi için TG'in >200 mg/dL olduğu değerler esas alınmıştır. Bu oranlardaki farklılığın sebebi gruplardaki sayısal, etnik ve genetik farklılıklar olabilir. NASH'in biopsi serilerine dayanan araştırmalardaki görülme oranları %4,8 ile %49 arasında olduğunu düşündüğümüzde bu verilerden ortaya çıkarılabilecek bir sonuç NASH'in obezite ve hiperlipidemi varlığında toplum genelindeki yaygınlığının çok daha ötesinde bir sıklıkla bulunduğu ve bu nokta bu hastalıkların patogenezinin anlaşılmasında önemli bir başlangıç noktası oluşturmaktadır.

Tablo 21. NAYKH'da Obezite ve Hiperlipidemi Prevalansı

	Obezite (%)	Hiperlipidemi (%)
Ludwig NASH (3) (n=20)	90	67
Angulo NASH (16) (n=144)	60	27
Matteoni NAYKH (107) (n=132)	70	92
NAYKH (n= 23)	43,4	30,4

NAYKH ve KHC grubunu kendi içinde IRS mevcut olanlar ve olmayanlar olarak ikiye ayrılıp IRS kriterleri açısından karşılaştırdığımızda IRS (+) olgularda; NAYKH'de sadece sistolik ve diastolik kan basıncı ve glukoz değerlerindeki yüksekliğin, KHC'de ise sadece HDL-K düşüklüğünün istatistiksel anlam taşıması ve diğer kriterlerdeki farklılığın anlamlı olmaması, her iki hastalık grubunda da bir süre sonra olguların çoğunda IRS kriterlerinin yerleşeceğinin göstergesi olabilir (Tablo 10, 11).

IRS'unu başlangıç noktası aldığımızda, öncelik kazanan konu insülin direncinin karaciğer yağlanması bulunan olgularda araştırılması olacaktır. İnsülin direncinin varlığı prediyabetik dönemin karakteristik özelliğidir (106). İnsülin direnci; insülinin normalden daha az biyolojik yanıt oluşturmasıdır. Reaven insülin direncinin IRS oluşumunda kritik öneme sahip olduğunu belirtmiştir (107). Artmış glukoz düzeylerini ve insülin etkisindeki duyarsızlığı kompanse etmek amacı ile insülin salınımı artar ve plazma açlık insülin düzeyleri yükselir. Çalışmamızda da NAYKH ve KHC hasta grubunda açlık insülin değerleri (Tablo 12) kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Obez ya da diyabetik olmayan karaciğer yağlanmalı olgularda da insülin direnci bulunabileceğine ilişkin veriler mevcuttur. Yapılan bir çalışmada diyabetik olmayan obez ve non-obez NASH'li hastaların açlık insülin düzeylerinin aynı cins ve VKI'ne sahip ancak yağlanması olmayan kendi kontrollerine göre anlamlı olarak daha yüksek bulunduğu saptanmıştır (108). Bizim çalışmamızda da hem obez hem de non-obez NAYKH grubunda açlık insülin düzeylerinin KG'na göre anlamlı olarak daha yüksek bulunması bize NAYKH'li hastalarda obeziteden bağımsız insülin direnci olduğunu göstermektedir. İnsülin direncini belirlemede en yaygın ve pratik kullanımı olan metodlardan biri HOMA modelidir (109). Çalışmamızda da NAYKH ve KHC hasta grubunda HOMA-IR değerleri ortalamalarının sırasıyla $4,11\pm 3,58$ ve $3,79\pm 2,78$ olarak saptanmış olması insülin direnci varlığını yansıtmaktadır. Aynı zamanda KG ile karşılaştırdığımızda her iki hasta grubunda da anlamlı olarak yüksektir (Tablo 12). Bugianesi E ve ark'larının 174 NAYKH hastası ile yaptığı (110) ve Chitturi S ve ark'larının 66 NASH hastası ile yaptığı çalışmalarda (111) HOMA-IR değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0,0006$; $p<0,001$).

KHC'li hastalarda da karaciğer yağlanmasının nedenlerinden birisinin insülin direnci olduğu düşünülmektedir. Kawaguchi ve ark'larının anti-HCV pozitif ($n=31$) ve anti-HCV negatif ($n=44$) olgularla yaptığı bir çalışmada anti-HCV pozitif olguların artmış HOMA-IR değerlerine sahip oldukları görülmüştür ve takiplerinde 3 kat daha fazla DM geliştiği gözlenmiştir. Bu sonucun HCV enfeksiyonu ile tip 2 DM gelişimi arasında muhtemel bir ilişkiyi gösterdiği düşünülmüştür (112). Pandya ve ark'larının KHC'de metabolik sendrom varlığının hepatik histolojiye olumsuz etkilerini incelediği 38 kişilik bir çalışmada olgular IRS (+) ve (-) olarak ayrıldığında, IRS kriterine sahip 20 kişinin VKI ($p=0.001$) ve HOMA-IR ($p=0.012$) değerleri yüksek iken, yaş, adiponektin ve hs-CRP'de değişiklik saptanmamıştır. IRS (+) olguların biopsilerinde daha yüksek oranda steatoz ve fibroz görülmüştür (113).

Bizim çalışmamızda da IRS kriterine sahip 8 KHC'li hastanın HOMA-IR (p=0,001) değeri yüksek iken, adiponektin, hs-CRP, VKİ değerlerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu bulgular VKİ dışında Pandya ve ark'larının çalışması ile uyumludur.

İnsülin direnci ve obezitenin fizyopatolojik mekanizmalarının aydınlatılmasında, yağ dokusunun sanıldığı gibi sadece yağ depolama işlevinin olmadığı ve salgıladığı adipositokinlerle adeta bir endokrin organ gibi fonksiyon gördüğünün anlaşılması önemli gelişmeler sağlamıştır (114, 115). IRS'nun etyopatogenezinde rol oynayan etmenlerden birinin abdominal obezite olması adipositokinleri IRS ve IRS ilişkili hastalıkların araştırmalarında güncel konu haline getirmiştir (116). Adiponektin yalnızca adipoz doku tarafından salgılansa da, paradoksal biçimde, obez kişilerdeki adiponektin düzeyleri normal bireylere göre daha düşüktür (117); bunun ötesinde adiponektin düzeylerindeki azalma ile insülin direnci arasında yakın bir bağlantı saptanmıştır (118). Diğer taraftan son yıllarda obezitedeki NAYKH prevalansı ile ilgili farklı çalışmalar göze çarpmaktadır. Obez hastalarda basit steatoz %60, NASH ise %20-30 oranında bildirilmiştir (119). Bunun ötesinde bazı yayınlarda, obezite NAYKH beraberliği %60-90'dı (120). Bizim olgularımızın %43,4'ünde ise VKİ'nin obezite sınırı olan 30'un üzerinde olduğu saptanmıştır.

Son yıllarda NAYKH' da adiponektin düzeylerinin düşük olduğunu gösteren güncel çalışmalarda bu durumun IR ve obezite ile bağlantısı irdelenmektedir (121, 122).

Bizim çalışmamızda da NAYKH grubunda adiponektin değerleri kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu. Çalışmamızda NAYKH grubunu obez olanlar ve olmayanlar olarak iki gruba ayırıp incelediğimizde iki grup arasında anlamlı fark bulunmaz iken NAYKH obez grupta adiponektin değerleri hem obez hem de non obez kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü. Tüm bu bulgular obezitenin yanı sıra NAYKH'nın de kendi başına adiponektin düşüklüğü ile bağlantısını düşündürmektedir (Tablo 15).

NAYKH'da hipoadiponektinemi ve TNF- α aktivasyonunun önemini ve bu markırların histolojik değişikliklerinin şiddeti ile ilişkisini inceleyen 80 NASH'li, 29 steatozlu toplam 109 olguyu kapsayan bir çalışmada NASH'li olgularda azalmış adiponektin ve artmış TNF- α değerleri saptanmış; diğer taraftan basit yağlanma ile karşılaştırıldığında NASH daha düşük adiponektin düzeyleri ve yüksek HOMA-IR ile ilişkiliyken TNF- α seviyesinde önemli bir farklılık bulunmamıştır. NASH'li olguların çoğunluğunun (%77) adiponektin düzeyleri 10 mg/mL den az ve HOMA-IR 3 üniteden fazla iken saf steatozuların sadece %33'ünün bu bulgulara sahip olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada NASH'li grupta gözlenen

hipoadiponektineminin NAYKH'deki artmış insülin rezistansından (HOMA-IR) bağımsız olduğu, diğer taraftan hepatik nekroinflamasyonun şiddeti ile ilişkili olduğu bildirilmiş ve hipoadiponektineminin insülin rezistansından bağımsız olarak NASH'in bir özelliği olduğu ileri sürülmüştür (123). Bizim çalışmamızda IRS (+) ve IRS (-) NAYKH olgularının adiponektin düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmaması bu düşüncüyü desteklemektedir.

Adiponektinin NAYKH de diğer parametreler ile ilişkisine bakıldığında HDL-K düzeyleri ile pozitif; VKİ, HOMA, TG ve insülin düzeyi ile negatif korelasyon gösterdiğini ileri süren çalışmalar dikkati çekmektedir (94, 124, 125, 121). Ancak çalışmamızda yaptığımız korelasyon analizlerinde NAYKH grubunda adiponektin düzeyleri ile literatürlerde belirtilen korelasyonları saptayamadık. Bunun sebebi grubumuzun küçük olması ve bu nedenle istatistiksel anlamlılık elde edememiz olabileceği gibi adiponektinin yukarıda belirttiğimiz üzere obeziteden ve IR'dan ve /veya dislipidemiden bağımsız bir faktör olması da olabilir. Bizim çalışmamızda KHC grubunda adiponektin düzeyleri düşük olmakla beraber kontrol grubundan anlamlı farklılık saptanmamıştır. Adiponektinin KHC'de düşük olduğunu bildiren güncel çalışmalarda adiponektinin hepatik steatoz ve fibrozite ile ilişkisi irdelenmiştir. Bu çalışmalarda azalmış plazma adiponektin seviyesinin karaciğer steatozuyla yakından ilişkili olduğu saptanmıştır (126, 127). Buna karşın Johnson ve ark'ları KHC'li hastalarda fibroz evresi ile adiponektin düzeyleri arasında ilişki saptamamıştır (127).

IRS'nun metabolik risk faktörlerinden biri de aterosjenik dislipidemidir. Bu bozukluk, yüksek apolipoprotein B (Apo-B), küçük-yoğun LDL, hipertrigliseridemi ile azalmış HDL-K özellikle HDL₂ fraksiyonu ile karakterizedir. Tip 2 diyabetiklerdeki düşük HDL düzeyinin KAH ile güçlü ilişkisi vardır. Bu hastalarda hangi HDL subfraksiyonunun KAH ile daha güçlü ilişkisi olduğunu saptamak için yapılan bir çalışmada HDL₂'nin HDL'deki değişiklikleri daha iyi yansıttığı, KAH da HDL'nin koruyucu rolünün HDL₂ fraksiyonu üzerinden olduğu bulunmuştur (128). Bu çalışmayı destekleyen birçok çalışma mevcuttur (129, 130, 131). Bunun yanında sadece KAH olan kişilerde yapılan çalışmalarda HDL₃ K'ün KAH görülme insidansı ile güçlü bir ters ilişki gösterdiği saptanmıştır (132). Çalışmamızda NAYKH grubunda IRS ile paralel hipertrigliseridemi, LDL yüksekliği ve istatistiksel olarak anlamlı HDL-K ve HDL₂-K düşüklüğü saptandı. Bu sonuç bize NAYKH'in özellikle HDL₂-K değerleri üzerinden bakıldığında kardiyovasküler bir risk faktörü olduğunu düşündürmektedir.

Buna karşın KHC grubunda TK ve Apo-B de istatistiksel anlamlı düşüklük göze çarpmakta idi. Bunun nedeni HCV'nin başlattığı hipobetalipoproteinemi olabilir (30). KHC de Apo-A1 ve HDL₂K değerlerinin de anlamlı olmasa da kontrol grubundan yüksek bulunması KHC'deki lipid profilinin IRS'a uymadığını ve aterojenik nitelikte olmadığını düşündürmektedir. KHC olgularında insülin direnci belirteçlerinin (insülin, HOMA-IR ve HbA_{1c}) KG'a göre anlamlı yüksek olmasına rağmen diğer biyokimyasal koroner risk faktörleri açısından da anlamlı bir fark olmaması KHC'de IR'nın başladığı fakat henüz KVH açısından aterojenik sürecin tam olarak başlamadığını ifade edebilir.

ABD'nde erişkinlerde serum ferritini ve metabolik sendrom riskini araştıran M.Jehn ve ark'larının yaptığı 6044 erişkini kapsayan kesitsel bir çalışmada metabolik sendrom, en yüksek ferritin değerine sahip olanlarda en düşük değere sahip olanlara göre daha sık görülmüştür (133). Bazı bulgular, yükselmiş demir depoları ile insülin direnci arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. Diyabeti olmayan hastalar (134), diyabeti olan hastalar (135) ve talasemi hastaları (136) gibi bazı farklı popülasyonlarda, serum ferritin düzeyleri, bazı insülin duyarlılığı ölçütleri ile korelasyon göstermektedir. İki ileriye dönük çalışmada, demir depolarının artışı ile rastlantısal diyabet arasında ilişki bulunmuştur. Bu çalışmalar Finlandiyalı erkeklerde (137) ve ABD hemşirelerinde (138) yürütülmüş olup her ikisi de serum ferritin değerlerindeki artışın diyabet gelişiminden önce görüldüğünü ortaya koymuşlardır. Aşırı demir yükü NASH patogenezinde rol oynayabilmektedir. Aşırı demir yükü ile metabolik sendrom (139) ya da ilerlemiş karaciğer hastalığı (140) arasında bir ilişki gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda NAYKH, KHC ve kontrol grubunun ferritin ortalama düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bununla birlikte KHC grubunda adiponektin ile ferritin arasında negatif korelasyon gözlenmesi dikkati çekmektedir.

Bir çok çalışmada elde edilen veriler ATP III kriterlerine göre, artan metabolik risk faktörü sayısı ile beraber CRP'nin artış gösterdiğini ve metabolik sendromun pro-inflamatuar bir durum olduğunu düşündürmektedir (141). Epidemiyolojik çalışmalardan biri olan Mexico City Diabet Study'de 729 kadında metabolik sendrom gelişimi ve CRP arasında ilişki bulunurken, 515 erkekte böyle bir ilişki gösterilememiştir (141). Bizim çalışmamızda hs-CRP düzeylerine baktığımızda NAYKH ve KHC hasta grupları ile KG arasında fark bulunmazken, IRS (+) NAYKH hasta grubunun hem IRS (-) NAYKH hasta grubundan hem de KG'dan anlamlı farklı olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda bu grupta hs-CRP ile açlık insülin düzeyleri arasında pozitif korelasyon gösterilmiştir ($r=0,534$; $p=0,049$). İnsülin

karaciğerde hs-CRP sentezini azaltıcı etkiye sahip olup, insülin direncinde bu etkinin ortadan kalktığı ve hs-CRP ile insülin direnci arasında bir ilişki olduğu düşünülebilir. Bizim bulgularımız da bu varsayımı destekler niteliktedir.

Son çalışmalarda homosistein düzeylerinin obez hiperinsülinemik kişilerde ve insülin rezistansı varlığında arttığı gösterilmiştir (142, 143). Giltay ve ark'ları plazma homosistein düzeylerinin non-obez IR'ı olan olgularda da arttığını göstermiştir (144). Fakat bazı çalışmalarda homosisteinin metabolik sendromla ilişkisi gösterilemediği gibi bu bulgulara zıt veriler elde edilmiştir (145). Diğer taraftan 20 NAYKH hastası ve 20 KG ile yapılan bir çalışmada homosistein düzeyleri önemli derecede yüksek bulunmuştur (143). Bizim çalışmamızda da NAYKH grubunda homosistein değerleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p=0,019$). KHC grubu ile KG arasında ise anlamlı bir fark yoktu. Homosistein değerlerindeki bu artış NAYKH'deki metabolik bozukluklarla ilişkili olabileceği gibi bunlardan bağımsız olarak hepatik steatozla da ilişkili olabilir. Bizim çalışmamızda IRS (+) ve (-) NAYKH olguları arasında anlamlı bir fark bulunmaması bu düşüncüyü desteklemektedir.

SONUÇLAR

- NAYKH ve KHC de HOMA IR değerlerini göz önüne alarak insülin direncinin bulunduğunu söylemek mümkündür. Bununla birlikte IRS kriterleri açısından değerlendirildiğinde NAYKH'da insülin direncinin daha belirgin ve obeziteden bağımsız olduğu ileri sürülebilir.
- Adiponektin düzeylerinin hem NAYKH hem de KHC olgularında kontrol grubuna göre düşük olması ve bu farkın NAYKH da istatistiksel anlam taşıması hepatik steatozda adiponektinin rolü olabileceğini düşündürmektedir.
- Adiponektin düşüklüğü obeziteden ve insülin direncinden bağımsız olarak NAYKH'nın bir özelliği olabilir.
- NAYKH'da lipid profili insülin direnci ile uyumlu iken KHC'de uyumlu değildir. NAYKH' da aterojenik lipid profili gözlenmiştir.
- Homosistein değerlerinin NAYKH grubunun tümünde ve IRS (+) NAYKH olgularında kontrol grubundan anlamlı yüksek bulunması, hs-CRP değerlerinin ise sadece IRS (+) NAYKH olgularında kontrol grubuna kıyasla anlamlı yüksek olması NAYKH'ında KVVH riskinin artmış olduğunun ve bu riskin insülin direnci gelişen olgularda daha fazla olduğunun göstergesidir.
- NAYKH ve KHC'de adiponektin ile lipid profili parametreleri ve diğer KVVH risk parametreleri arasında ilişki gözlenmemiştir.
- NAYKH'ında insülin direnci gelişiminin, lipid profilindeki ve diğer KVVH risk faktörlerindeki değişimin ve adiponektinin bu parametreler ile ilişkisinin aydınlatılması için daha geniş hasta serilerinde uzun süreli izleme dayanan çalışmalara gerek olduğu kanısındayız.

6. KAYNAKLAR

1. Robers EA. Steatohepatitis in children. *Best Pract Clin Gastroenterol* 2002; 16: 749-65.
2. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med.* 2002; 346:1221-31.
3. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB. Nonalcoholic Steatohepatitis; *Mayo Clin Proc* 1980; 55:434-8.
4. Satman I, Yilmaz T, Sengul A, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: Results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP). *Diabetes Care* 2002; 25: 1551-6.
5. Canbakan B, Ozgulle S, Hatemi I, et al. Biochemical, radiological and histological correlates in patients with nonalcoholic fatty liver disease with or without ALT elevation. *Hepatology* 2003; 38: A 663.
6. Hatemi I, Barut G, Balci H, Canbakan B, Yenice N, Senturk H. A population survey for screening chronic liver diseases in 4261 individuals from Turkey. *Hepatology* 2003; 38: A 751.
7. Day CP, James OF. Steatohepatitis: A tale of two "hits" *Gastroenterology* 1998; 114:842-5.
8. Ratziu V, Bonyhay L, Di Martino V, et al. Survival, liver failure and hepatocellüler carcinoma in obesity -related cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 2002 ; 35; 1485-93.
9. Mc Cullough AJ. Update on nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34: 255-62.
10. McCullough AJ. Update on nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34: 255-62.
11. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, Mc Cullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: A spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-9.
12. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM. Nonalcoholic steatohepatitis: A proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2467-74.
13. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BP. Nonalcoholic steatohepatitis: An expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994; 107: 1103-9.
14. Batman PA, Scheuer PJ. Diabetic hepatitis preceding the onset of glucose intolerance. *Histopathology* 1985; 9: 237-43.
15. Diehl AM. Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 221-9.

16. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999; 30: 1356-62.
17. Branch AD, Seef LB. Foreword. Hepatitis C: State of the art at the millenium. *Semin Liver Dis* 2000; 20iii.
18. Cottler SJ, Komanduri S. Hepatitis C. *Clinical perspectives in Gastroenterology* 2002; 5: 91-9.
19. Ökten A, Demir K, Kaymakoğlu S, Çakaloğlu Y ve ark. Kronik hepatitlerin etyolojik dağılımı. *Türk J Gastroenterol* 1999: 113-5.
20. Di Bisceglie A.M, Goodman Z.D, İshak K.G, et al. Long term clinical and histopathological fallow-up of chronic posttransfusion hepatitis. *Hepatology* 1991; 14: 969-74.
21. Di Bisceglie A.M. Hepatitis C. *Lancet* 1998; 251-355.
22. Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deleage G, Enomoto N, Feinstone S, Halfon P, Inchauspe G, Kuiken C, Maertens G. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2005 Oct; 42(4): 962-73.
23. Tahan V, Karaca C, Yıldırım B, Bozbas A, Ozaras R, Demir K, Avsar E, Mert A, Besisik F, Sentürk H, Cakaloğlu Y. Sexual transmission of HCV between spouses. *Am J Gastroenterol*. 2005 Apr; 100 (4): 821-4.
24. Schreiber GB. The risc of trasfusion–transmitted viral infections. *N Eng J Med* 1996; 334: 1685-1690.
25. Berenguer M. Wright T.L *Viral Hepatitis in* Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH Ed. *Sleisenger& Fordtran’s Gastrointestinal and Liver Disease* 2002 China, 7 th edition. Saunders 2002: 1313.
26. Cholet F, Nousbaum JB, Richecoeur M, Oger E, Cauvin JM, Lagarde N, Robaszkiewicz M, Gouerou H. Factors associated with liver steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterol Clin Biol*. 2004 Mar; 28 (3): 272-8.
27. Adinolfi LE, Gamberdalla M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology*. 2001 Jun; 33 (6):1358-64.
28. Moriya K, Yotsuyanagi H. Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice . *J Gen Virol* 1997; 78:1527-1531.

29. Fujie H, Yotsuyanagi H, Moriya K. Steatosis and intrahepatic hepatitis C virus in chronic hepatitis. *J Med Virol* 1999; 59 (2): 141-5.
30. Serfaty L, Andreani T, Gral P, Carbonell N. Hepatitis C virus induced hypobetalipoproteinemia: a possible mechanism for steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2001; 34 (3): 428-34.
31. Poynard T, Ratziu V, Mc Hutchison J, Manns M, Goodman Z, Zeuzem S, Younossi Z, Albrecht J. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology*. 2003 Jul; 38 (1): 75-85.
32. Muzzi A, Leandro G, Rubbia-Brandt L, James R, Keiser O, Malinverni R, Dufour JF, Helbing B, Hadengue A. Insulin resistance is associated with liver fibrosis in non-diabetic chronic hepatitis C patients. *J Hepatol*. 2005 Jan; 42 (1): 41-6.
33. Adinolfi LE, Utili R, Andreana A, Tripodi MF, Marracino M. Serum HCV RNA levels correlate with histological liver damage and concur with steatosis in progression of chronic hepatitis C. *Dig. Dis sci* 2001; 46(8): 1677-83.
34. Houigan LF, Macdonald G.A. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. *Hepatology* 1999; 29 (4) 1215-1219.
35. Hwang SJ. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C virus infection: prevalence and clinical correlation. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16 (2): 190-5.
36. Monto A, Alonzo J, Watson J.J, Grunfeld C, Wright T.L. Steatosis in chronic hepatitis C: Relative contributions of obesity, diabetes mellitus and alcohol. *Hepatology* 2002; 36 (3): 729-36.
37. Patton H.M, Patel K, Behling C, Bylund D, Blatt L.M, Vallee M, Heaton S, Conrad A, Mc Hutchison J.G. The impact of steatosis on disease progression and early and sustained treatment response in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 40 (2004) 484-490.
38. Narita R, Abe S, Kihara Y, Akiyama T, Tabaru A, Otsuki M. Insulin resistance and insulin secretion in chronic hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2004 Jul; 41 (1) :132-8.
39. Bressler BL, Guindi M, Tomlinson G, Heathcote J. High body mass index is an independent risk factor for nonresponse to antiviral treatment in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003 Sep; 38 (3): 639-44.
40. Hickman IJ, Clouston AD, Macdonald G.A, Purdie DM, Prins JB, Ash S, Jonsson JR, Powell EE. Effect of weight reduction on liver histology and biochemistry in patients with chronic hepatitis C. *Gut*. 2002 Jul; 51 (1): 89-94.

41. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Goodman Z, Mc Hutchison J, Albrecht J. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2001 May ; 34 (5): 730-9.
42. Mohsen AH, Easterbrook PJ, Taylor C, Portmann B, Kulasegaram R, Murad S, Wisalka M, Norris S. Impact of HIV infection on the progression of liver fibrosis in hepatitis C virus infected patients. *Gut.* 2003 Jul ; 52 (7): 1035-40.
43. Hickman II, Powell EE, Prins JB, Clouston AD, Ash S, Purdie DM, Jonsson JR. In overweight patients with chronic hepatitis C, circulating insulin is associated with hepatic fibrosis: implications for therapy. *J Hepatol.* 2003 Dec; 39 (6):1042-8.
44. Ratziu V, Munteanu M, Charlotte F, Bonyhay L, Poynard T; LIDO Study group. Fibrogenic impact of high serum glucose in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2003 Dec; 39 (6): 1049-55.
45. Masharani U, Karam JH, Germen MS. Pancreatic hormones and diabetes mellitus. In : Greenspan FS, Gardner DG, editors. *Basic and clinical endocrinology* 7th ed. New York: The Mc Graw-Hill Companies; 2004.p. 658-66.
46. Henry RR. Insulin Resistance: From predisposing factor to therapeutic target in type 2 diabetes. *Clin Ther* 2003 ; 25 (suppl): B47-B63.
47. Cameron AJ, Shaw JE and Zimmer PZ. The metabolic syndrome prevalence in worldwide populations. *Endocrinol. Metab Clin North Am* 2004; 33: 351-75.
48. Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM and Haffner SM. NCEP- Defined metabolic syndrome, diabetes and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. *Diabetes* 2003 ; 52: 1210-4.
49. Ferrannini E. The insulin resistance syndrome. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1992; 291-8.
50. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1597-607.
51. Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults: Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) *Jama* 2001; 285: 2486-7.
52. Bloomgarden ZT. Definitions of the insulin resistance syndrome: The 1st World Congress on the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 2004; 27: 824-30.

53. 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.
54. 1st international congress of 'Prediabetes and the Metabolic Syndrome', 13-16 April 2005. Berlin, Germany.
55. Earl S, Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing Prevalence of the Metabolic Syndrome among U.S. Adults. *Diabetes Care* 2004; 27(10): 2444-9.
56. Metabolik Sendrom Araştırma Grubu .METSAR sonuçları. XX.Ulusal Kardiyoloji Kongresi . Antalya, 2004.
57. Onat A, Sansoy V. Halkımızda kronik hastalığın baş suçlusu metabolik sendrom: sıklığı, unsurları, koroner risk ile ilişkisi ve yüksek risk kriterleri. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2002; 30: 8-15.
58. Byrne CD, Wild SH. *The Metabolic Syndrome*. John Wiley and Sons, Ltd. 1th ed. 2005.
59. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T. Cardiovascular mortality and morbidity associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001; 24:683-689.
60. Eckel RH, Grundy SM, Zimmer PZ, *The Metabolic Syndrome*. *Lancet* 2005; 365: 1415-28.
61. Despers JP, Moorjani S, Ferland M, et al. Adipose tissue distribution and plasma lipoprotein levels in obese women: importance of intra-abdominal fat. *Atherosclerosis* 1989; 9: 203-10.
62. Pouliot MC, Despers JP, Nadeau A, et al. Associations between regional body fat distribution, fasting plasma free fatty acid levels and glucose tolerance in premenopausal women. *Int J Obes* 1990; 14: 293-302.
63. Tchernof A, Lamarche R, Prud'Homme D, et al. The dense ldl phenotype: Associations with plasma lipoprotein levels, visceral obesity and hyperinsulinemia in men. *Diabetes Care* 1996; 19: 629-37.
64. Venkatesan S, Cullen P, Pacy P, et al. Stable isotopes show a direct relation between VLDL apo B overproduction and serum triglyceride levels and indicate a metabolically and biochemically coherent basis for familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler. Thromb.* 1993; 13: 1110-8.
65. Boren J, White A, Wettesten M, et al. The molecular mechanism for the assembly and secretion of Apo B-100-containing lipoproteins. *Prog Lipid Res* 1991 ; 30: 205-18.

66. Hanefeld M, Leonhardt W. The metabolic syndrome. Gustav Fischer Verlag Jena. 1st ed. 1997; p 25-38.
67. Carr MC, Brunzell JD, Deeb SS, Ethnic differences in hepatic lipase and HDL in Japanese, black and white Americans: Role of central obesity and LIPC polymorphism. *J Lipid Res.* 2004; 45: 466-73.
68. Carr MC, Brunzell JD. Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: Importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004; 89 (6): 2601-7.
69. National Institutes of Health. Clinical guidelines on the identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults-the evidence report. *Obesity Res* 1998; 6 (suppl2): 51 S-209S.
70. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 2002; 287 (3): 356-9 .
71. Despres JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome *Nature* 2006; 444:881-887.
72. Pouliot MC, Despres JP, Lemieux S, et al. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric index of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol.* 1994; 73: 460-8.
73. Mc Laughlin T, Allison G, Abbasi F, Lamendola C, et al. Prevalence of insulin resistance and associated cardiovascular disease risk factors among normal weight, overweight and obese individuals. *Metabolism* 2004; 53(4): 495-9.
74. Ruderman N, Chisholm D, Scheinoder S. The metabolically obese, normal-weight individual revisited. *Diabetes* 1998; 47: 699-713.
75. Laakso M. Type 2 diabetes epidemiology and diagnosis. Ed: Goldstein JB, Wieland 1-28.
76. Reaven GM, Lithell H, Landsberg L. Hypertension and associated metabolic abnormalities- The role of insulin resistance and sympathoadrenal system. *N Engl J Med* 1996; 334: 374-382.
77. Hall JE. The kidney, hypertension, and obesity. *Hypertension* 2003, 41 (3 pt 2): 625-633.
78. Hall JE Pathophysiology of hypertension obesity. *Curr Hypertens Rep* 2000, 2:139-147.

79. Raeven GM. Insuline resistance/compensatory hyperinsulinemia, essential hypertension, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88 (6): 2399-403.
80. Kaplan NM. *Clinical Hypertension*. Williams and Wilkins, Batiomore 1998; 41:133-246.
81. Calles-Escandon J, Cippola M. Diabetes and endothelial dysfunction; a clinical perspective. *Endoc Rev* 2001; 22:36-52.
82. Berberoğlu Z, Demirağ HNG. Metabolik sendrom: Endotel disfonksiyonu, Subklinik inflamasyon ve hiperkoagülabilite. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2006; 2 (3): 60-70.
83. Festa A, D'Agosito R, Howard G, Mykkanen L, et al. Chronic subclinical inflammation as part of the insuline resistance syndrome. *Circulation* 2000; 102: 42-47.
84. Ek I, Arner WP, Ryden M, et al: A unique defect in the regulation of visseral fat cell lipolysis in the polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 2002, 51: 484-492.
85. Weisbweg SP, Macc Cann D, et al: Obesity ia associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003, 112:1796-1808 .
86. Ridker PM, Buring JE, et al: C – reactive protein, the metabolic syndrome, and the risc of cardiovascular events. *Circulation* 2003, 107; 391-397.
87. De pergola G, Pannaciulli N: Coagulation and fibrinolysis abnormalities in obesity. *J Endoc Invest* 2002, 25: 899-904.
88. Freeman MS, Masnsfield MW, et al. nsulin resistance; an atherothrombotic syndrome. The Leeds family study. *Thromb Haemost* 2003, 89: 161-168.
89. Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism. *Clin Chem* 2004; 50 (9): 1511-1529.
90. Matsuzawa Y. Adiponectin: Identification, physiology and clinical relevance in metabolic and vascular disease. *Atherosclerosis Supplements* 2005; 67-74.
91. Ouchi N, Kihara S, et al. Novel modulator; adipocyte derived protein adiponectin .*Circulation* 1999; 100: 2473-6.
92. Fruebis J, Tsao TS et al. Adponectin increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 2005-2010.
93. Yamauchi T, Kamon J, et al. The fat derived hormone adiponektin reverses insülin resistance associated both lipoatrophy and obesity. *Nat Med* 2001; 7: 941-46.
94. Ryo M, Nakamura T, Kihara S, et al. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome *Circ J* 2004; 68: 975-81

95. Mahley RW. Aterogenezin Hücresel ve Moleküler Biyolojisi (Çev.: Gökdemir O, Paloğlu KE). İstanbul: Merck, Sharp and Dohme Yayınları; 1993.
96. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. Harper'ın Biyokimyası (Çev.: Mentesh G, Ersöz B). İstanbul: Barış Kitabevi; 1993.
97. Burtis CA and Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia: WB Saunders Co ; 1999.
98. Thompson GR. Hiperlipidemi El Kitabı (Çev. Editör: Tamuğur E). İstanbul: Merck, Sharp and Dohme, Uycan Yayınları AŞ.; 1991.
99. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connely PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. Cur Opin Lipid 1996, 7: 69-76.
100. Adkins S, Gan KN, Mody M, La Du BN. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: Glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. Am J Hum Genet 1993, 52: 598-608.
101. Hatemi Hüsrev. Türkiye'de diyabet ve metabolik sendrom epidemiyolojisi .Bayer Health Care:123-136.
102. Earl S, Ford ES, et al. İncresed prevalance of methobolic syndrome among USA adults. Diab Care 27 (10) 2444-9.
103. Senti M, Tomas M, Fito M. Antioxidant paraoxanase 1 activity in the metabolic syndrome. J Clin Endoc Metab. 2003, 88 (11): 5422-6.
104. Marno CR, Andrew MW, John S. Diabetes Care 28 (5); 1222-24.
105. Moon KW, Leem JM, Bae SS. The prevalance of metabolic syndrome in patients with nonalcoholic fatty liver disease Korean J Hepatol. 2004 Sep;10 (3); 197-206.
106. Fourbonne B, Combien F et al . Hypertriglyceridemia as a risk factor of coranary hearth disease. Diabetologica 1989:32 300-4.
107. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, et all. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. Gastroenterology 1999; 116: 1413.-9.
108. K. Pandya, S.C. Mathur, P.Callahan, P.Shah, D.Reker. The prevalance of metabolic syndrome (53%) in veterans with chronic hepatitis C virus Digestive Disease Week Los Angeles May 2006 21-24.
109. Loaks M. How good a marker is insülin level for insülin resistance. AM J.Epidem 1993: 378 : 956-65.

110. Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, Vanni E, Gastaldelli A. Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Jun; 90 (6): 3498-504.
111. Chitturi S, Abeygunasekera S et al. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome *Hepatology.* 2002 Feb; 35 (2): 373-9.
112. T. Kawaguchi, Y. Nagao, T. Yoshida, K. Tanaka 55th Annual Meeting of the American association for the study of Liver Diseases October 29-November 2, 2004 Boston, MA.
113. Loaks M. How good a marker is insulin level for insulin resistance. *AM J. Epidem* 1993: 378 : 956-65.
114. Meier V, Gressner AM Endocrine regulation of energy metabolism. *Clin Chem* 2004: 50(9) 1511-1529.
115. Wauters M, Considine RV. Human leptin from adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur.J. Endocrinol* 2000:143 (3) ;193-311.
116. Behre CJ, Gummesson A, Jernas M, et al. Dissociation between adipose tissue expression and serum levels of adiponectin during and after diet-induced weight loss in obese subjects with and without the metabolic syndrome. *Metabolism* 2007; 56(8): 1022-28.
117. Kwiterovich PO. Clinical relevance of the biochemical, metabolic and genetic factors that influence LDL heterogeneity. *The American Journal of Cardiology.* 2002; 90 (8A) 30-47.
118. Hsueh WA, Lyon CJ. Insulin resistance and the endothelium. *The American Journal of Medicine* 2004; 117: 109-17.
119. Dixon JB, Bhathal P. Nonalcoholic fatty liver disease predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology* 122: 274-280, 2002
120. Burt A.D, Mutton A, Day C. Diagnosis and interpretation of steatosis and steatohepatitis. *Seminars in Diagn Pathol* 1998; 15: 246-258.
121. Pagano C, Soardo G, et al. Plasma adiponectin is decreased in nonalcoholic fatty liver disease. *European Journal of Endocrinology* (2005) 152 113-118.
122. Giovanni T, Lorenza B, Luca S. Decrease plasma adiponectin concentrations are closely associated with nonalcoholic hepatic steatosis in obese individuals. *Clin Endoc.* 2004 (61): 700-703.

123. Jason M, Alex H, Geoffrey C.F. Beyond insulin resistance in NASH: TNF α or Adiponectin Hepatology 2004; 40: 46-54
124. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S et al. Hypoadinectomy in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hiperinsulinemia. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86: 1930-1932.
125. Cladio P, Giorgio S, Walter et al. Plasma adiponektin is decreased in nonalcoholic fatty liver disease . Europ J Endoc (2005) 152 113-118.
126. Bajaj M, Suraamornkul S, Piper P, et al. Decreased plasma adiponektin concentrations are closely related to hepatic fat content and hepatic insulin resistance in pioglitazone treated type 2 diabetic patients. J Clin Endocrinol Metab. 2004 Jan; 89 (1): 200-6.
127. Durante E, Zamponi R, Marrone A, et al. Hepatic steatoz and insulin resistance are associated with serum imbalance of adiponectin/tumour necrosis factor- α in chronic hepatitis C patients. Aliment Pharmacol Ther 24 1349-1357.
128. Bakogianni MC, Kalofoutis CA, Skenderi KI. Clinical evaluation of plasma high-density lipoprotein subfractions (HDL2, HDL3) in non-insulin dependent diabetics with coronary artery disease. J Diabetes Complications 2001 Sept- Oct: 15 (5): 265-9.
129. Gidez L, Miller J, et al. Separation and quantitation of subclasses of human plasma high density lipoproteins by simple presipitation procedure. Journal of lipid search.1982; 23: 1206-1223.
130. Wallentin L, Sundin B. HDL2 and HDL3 lipid levels in coronary hearth disease. Atherosclerosis 1985 ; 59:131-136.
131. Drexel H, Amann F, et al. Relation to the level of high density lipoprotein subfractions to the presence and extent of coronary artery disease. American Journal of Card.1992; 70: 436-440.
132. Shicheng Yu, John W, Yaenell et al. High density lipoprotein subfractions and the risk of coronary hearth disease. Atherosclerosis 166; 2003: 331-338.
133. Megan Jehn, Jeanne M.Clark, Eliseo Guallar; Diabetes Care 2004 27; 2422-2428.
134. Haap M, Fritsche A, Mensing H, Haring H: Association of high serum ferritin concentration with glucose intolerance and insulin resistance in healty people Ann Intern Med 139: 869-870, 2003.

135. Fernandez-Real JM, Penarroja G, Castro A: Blood letting in high-ferritin type 2 diabetes: effects on insulin sensitivity and beta-cell function. *Diabetes* 51: 1000-1004, 2002.
136. Wilson JG, Lindquist JH, Grambow SC : Potential role of increased iron stores in diabetes. *Am J Med Sci* 325 : 332-339, 2003.
137. Salonen JT, Tuomainen TP, Nyssonen K: Relation between iron stores and non-insulin dependent diabetes in men: case-control study. *BMJ* 317: 727, 1998.
138. Jiang R, Manson JE, Meigs JB, Ma J: Body iron stores in relation to risk of type 2 diabetes in apparently healthy women. *JAMA* 291:711-717, 2004.
139. Chitturi S, George J. Interaction of iron, insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis. *Cur Gastroenterol Rep* 5: 18-25, 2003.
140. Ludwig J, Hashimoto E, Porayko M: Hemosiderosis in cirrhosis: a study of 447 native livers, *Gastroenterology* 112: 882-88, 1997.
141. Han TS, Satar N, Williams K, et al. Prospective study of CRP in relation to the development of diabetes and metabolic syndrome in Mexico City diabetes study *Diabetes Care*, 2002, 25: 2016-21.
142. Sanchez- Margalet V, Valle M, Ruz FJ, Gascon F, Mateo J, Goberna R. Elevated plasma total homocysteine levels in hyperinsulinemic obese subjects. *J Nutr Biochem* 2002; 13:75-9.
143. Çetinkaya A, Kantarçeken B et al. Serum homocysteine levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease *Eur J Gen Med* 2007; 4 (1): 19-24.
144. Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JM, Gooren LJ, Asscheman H, Stehouwer CD. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy, non-obese subjects. *Atherosclerosis* 1998; 139: 197-8.
145. Godsland IF, Rosankiewicz JR, Proudler AJ, Johnston DG. Plasma total homocysteine concentrations are unrelated to insulin sensitivity and components of the metabolic syndrome in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:719-23.