

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PEDİATRİK OBEZİTE İLE İLİŞKİLİ YAĞLI
KARACİĞER HASTALIĞINDA
METABOLİK, OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN
SİSTEMİK BELİRTEÇLERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

YELİZ ANGIN

**BİYOKİMYA PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

İZMİR-2009

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PEDİATRİK OBEZİTE İLE İLİŞKİLİ YAĞLI
KARACİĞER HASTALIĞINDA
METABOLİK, OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN
SİSTEMİK BELİRTEÇLERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**BİYOKİMYA PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

YELİZ ANGIN

Tez Danışmanı PROF. DR. FİLİZ KURALAY

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından
2007.KB.SAG.048 sayı ile desteklenmiştir

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
KISALTMALAR	V
TEŞEKKÜR	VI
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1 OBEZİTE TANIMI VE SIKLIĞI	7
2.2 ADİPOZ DOKU VE OBEZİTE.....	8
2.3 YAĞ HÜCRELERİNDE ve KASTA İNSÜLİN DİRENCİ	9
2.4 KLASİK İNFLAMASYON VE DOĞAL BAĞIŞIKLIK.....	10
2.5 OBEZİTE İLE İLİŞKİLİ İNFLAMASYON	11
2.5.1 Çocuklarda Obezite Ve İnflamasyon	12
2.5.2 Obezitede Görülen İnflamasyonun Moleküler Temelleri	13
2.6 NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI.....	14
2.6.1 Tanımı, Prevelansı , Etyopatogenezi	14
2.6.2 NAFLD’de Yağ Dokusu ve Normal Lipid Metabolizması.....	16
2.6.3 NAFLD’nin Patogenezi ve Moleküler Temelleri.....	18
2.6.4 Adipoz Dokudan Salınan Sitokinler ve İnflamatuar Belirteçler.....	24
2.7 OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDANLAR	28
2.7.1 KoenzimQ ₁₀ (CoQ ₁₀).....	29
2.7.2 α- Tokoferol.....	29
2.7.3 Retinol.....	30
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, OLGU VE KONTROL GRUPLARININ OLUŞTURULMASI, ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI.....	33
3.2.1. Olguların Seçimi	33
3.3 PARAMETRELERİN ÇALIŞILMASI	35
3.3.1 İnsülin Direncinin Saptanması.....	36
3.3.2 Yağ Doku Sitokinlerinin Çalışılması	36
3.3.3 Oksidasyon Göstergelerinin Çalışılması	38
3.3.4 Plazma Antioksidan Düzeylerinin Belirlenmesi.....	43
3.4 İSTATİSTİKSEL ANALİZ	45
4. BULGULAR	46
4.1 TANIMLAYICI BULGULAR.....	46
4.2 OKSİDASYON GÖSTERGELERİNE AİT BULGULAR	50
4.2.1 MDA Bulguları.....	50
4.2.2. Oksidasyon Göstergelerine Ait Bulgular	52
4.3 PROİNFLAMATUAR SİTOKİNLER ve İNFLAMASYON GÖSTERGESİNE AİT BULGULAR	54
4.3. ANTİOKSİDAN PARAMETRELERE AİT BULGULAR	57
4.4 YAĞ DOKU SİTOKİNLERİNE AİT BULGULAR	61
3.4 IR (+) OLGULAR ve IR (-) OLGULARIN TÜM PARAMETRELER YÖNÜNDEN KARŞILAŞTIRILMASI.....	64
4.5 KORELASYON ANALİZLERİ	65
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	67
KAYNAKLAR	76

TABLO LİSTESİ

- Tablo 1.** NAFLD (+) ve NAFLD (-) obez grupları ile kontrol grubuna ait antropometrik ve sosyodemografik özellikler.
- Tablo 2.** Obez ve kontrol gruplarına ait antropometrik ve sosyodemografik özellikler.
- Tablo 3.** NAFLD (-) obez, NAFLD (+) obez ve kontrol gruplarına ait rutin biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması.
- Tablo 4.** Obez ve kontrol gruplarına ait rutin biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması.
- Tablo 5.** IR (+) obez olgular ve IR (-) obez olguların rutin biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması.
- Tablo 6.** NAFLD (-) obez, NAFLD (+) obez ve kontrol gruplarına ait oksidasyon göstergelerinin (ox-LDL ve MDA) karşılaştırılması.
- Tablo 7.** Obez ve kontrol gruplarına ait oksidasyon göstergelerinin (ox-LDL ve MDA) karşılaştırılması.
- Tablo 8.** NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait proinflamatuvar parametrelerin (IL-6, TNF- α) ve CRP'nin karşılaştırılması.
- Tablo 9.** Obez ve kontrol gruplarına ait proinflamatuvar parametrelerin (IL-6, TNF- α) ve CRP'nin karşılaştırılması.
- Tablo 10.** NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol grubuna ait plazma antioksidan (CoQ₁₀, retinol ve α -tokoferol) düzeylerinin karşılaştırılması.
- Tablo 11.** Obez ve kontrol grubuna ait plazma CoQ₁₀, retinol ve α -tokoferol düzeylerinin karşılaştırılması.
- Tablo 12.** NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait serum adipositokin (leptin, adiponektin ve rezistin) düzeylerinin karşılaştırılması.
- Tablo 13.** Obez ve kontrol gruplarına ait adipositokin (leptin, adiponektin ve rezistin) düzeylerinin karşılaştırılması.
- Tablo 14.** IR (+) obez olgular ile IR (-) obez olgulara ait leptin ve IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması.
- Tablo 15.** Parametreler arası korelasyon analizleri.

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1.** Hücre içi potansiyel inflamatuvar sinyal yolları.
- Şekil 2.** Normal lipid metabolizması.
- Şekil 3.** Hepatik steatozun moleküler mekanizması.
- Şekil 4.** Karaciğer hücrelerinde ROS oluşumu ve lipid peroksidasyonu.
- Şekil 5.** Mitokondriyel fonksiyon bozukluğu ve artmış mitokondriyal ROS oluşumunda muhtemel mekanizmalar.
- Şekil 6.** MDA kalibrasyon grafiği.
- Şekil 6.** MDA kalibrasyon grafiği.
- Şekil 7.** MDA standardına ait kromatogram.
- Şekil 8.** Bir örneğe ait MDA kromatogramı.
- Şekil 9.** NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait plazma ox-LDL düzeylerinin karşılaştırılması.
- Şekil 10.** NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait plazma MDA düzeylerinin karşılaştırılması.
- Şekil 11.** NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait plazma IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması.
- Şekil 12.** NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait plazma TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması.
- Şekil 13.** NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait serum CRP düzeylerinin karşılaştırılması.
- Şekil 14.** Retinol Kalibrasyon Eğrisi.
- Şekil 15.** α -Tokoferol Kalibrasyon Eğrisi.
- Şekil 16.** Ubikinon Kalibrasyon Eğrisi.
- Şekil 17.** NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait plazma CoQ₁₀, retinol ve α -tokoferol düzeylerinin karşılaştırılması.
- Şekil 18.** NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol grubuna ait serum adiponektin ve rezistin düzeylerinin karşılaştırılması.
- Şekil 19.** NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol grubuna ait serum leptin düzeylerinin karşılaştırılması.

KISALTMALAR

- ACC1** : Asetil Co A karboksilaz 1
- AGE** : İleri glikozilasyon son ürünleri (advanced glycation end product)
- ChREBP** : Karbohidrat yanıt elementi bağlanma proteini (carbohydrate response element-binding protein)
- CPT-1** : Karnitin açıl transferaz 1
- CRP** : C reaktif protein
- DNL** : De novo lipogenez
- HDL** : Yüksek dansiteli lipoprotein
- HOMA** : Homeostasis Model Assessment
- IL-6** : İnterklökin-6
- IRS 1** : İnsülin reseptör substrat 1
- LDL** : Düşük dansiteli lipoprotein
- MDA** : Malondialdehit
- MS** : Metabolik Sendrom
- NAFLD** : Non- alkolik yağlı karaciğer hastalığı
- NEFA** : Esterleşmemiş yağ asitleri (non esterified fatty acid)
- NF- κ B** : Nükleer Transkripsiyon faktör kappa B
- PKC** : Protein Kinaz C
- PPAR** : Peroksizom proliferatif aktive reseptörü (peroxisome proliferative activated receptor)
- RAGE** : İleri glikozilasyon son ürünleri için reseptör (receptor for advanced glycation end products)
- ROS** : Reaktif oksijen türleri
- SREBP1-c**: Sterol düzenleyici element bağlanma proteini (Sterol regulatory element-binding proteini)
- Ox-LDL** : Okside LDL
- TNF- α** : Tümör Nekrozis Faktör Alfa
- VLDL** : Çok düşük dansiteli lipoprotein

TEŞEKKÜR

Biyokimya Yüksek Lisans eğitimim süresince, manevi desteklerini ve güler yüzlerini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve tüm çalışanlarına;

Tez konumun seçiminde ve çalışmalarım süresince bilimsel açıdan yardımcı olan ve kolaylık sağlayan danışmanım Sayın Prof. Dr. Filiz Kuralay'a; her zaman bilimsel ve manevi açıdan desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Banu Önvural'a,

Tez çalışmalarım sırasında hasta seçimiyle bizzat ilgilenen ve her zaman bilimsel desteğini tereddütsüz sunan Sayın Doç. Dr. Nur Arslan'a, hastalardan kan örneklerinin toplanmasında çok fazla emeği geçen Sayın Nimet hemşireye,

Tez örneklerini çalışma süresince bana kolaylık sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Memduh Bülbül'e ve Araştırma Laboratuvarlarımızın imkânlarından sonuna kadar yararlanmamı sağlayan ve her konuda yardımcı olmaya çalışan Sayın Doç. Dr. Halil Resmi ve Sayın Prof. Dr. Gül Güner'e;

Tez çalışmalarım sırasında ben olmadığım zamanlarda örneklerimin toplanmasında emeği geçen ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen tüm arkadaşlarıma, yüksek lisans arkadaşlarıma ve özellikle Ali Burak'a,

Son anda çıkan aksiliklere çözüm getirilmesinde yardımcı olan Sayın Yrd.Doç.Dr.Murat Örmene, Sayın Öğr.Gör.Uzm. Dr. Ali Rıza Şişman'a, Sayın Uzm. Dr. Tuncay Küme'ye ve merkez laboratuvar çalışanlarına,

Güler yüzleriyle desteklerini esirgemeyen, adı geçmeyen tüm arkadaşlara, enstitü çalışanlarına, Hale ve Fulya ablama, Anabilim Dalı sekreterimiz Eda ablama,

Ve son olarak beni bugünlere getiren, her zaman yanımda olan, bana duyduğum inanç ve güvenlerini hiçbir zaman yitirmeyen, manevi desteklerini esirgemeyen canım aileme en içten dileklerle teşekkür ederim.

Yeliz Angın

Pediatric Obesity İle İlişkili Yağlı Karaciğer Hastalığında Metabolik, Oksidan Ve Antioksidan Sistemik Belirteçlerin Değerlendirilmesi

Yeliz ANGIN

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Programı

yelizangin@hotmail.com

Amaç: Obez ve obeziteye ikincil gelişen alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) olan çocuklarda proinflatuar sitokinler olan interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) inflamasyon göstergesi olan C-reaktif protein (CRP), oksidasyon göstergeleri olan okside LDL (oxLDL) ve malondialdehid (MDA), antioksidan savunma mekanizmalarının sistemik parametreleri olan alfa-tokoferol (α -tokoferol: E vitamini), retinol (A vitamini) ve ubikinon (UQ) ve yağ dokusuyla ilgili hormonlar olan leptin, adiponektin, rezistin düzeylerini ölçerek kontrol grubu düzeyleriyle karşılaştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Gastroenteroloji ve Beslenme-Metabolizma Polikliniği'nde eksojen obezite tanısı alan (BMI $>$ %95 olan) yaşları 11 ile 18 arasında değişen, 47 obez hasta ve 19 sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplam 66 olgu alındı. Antropometrik verilerine göre obezite tanısı alan çocuklarda, karaciğer ultrasonografisi yapılarak NAFLD yağlı karaciğer varlığı arandı. Olgular NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve sağlıklı kontrol grubu olarak üçe ayrıldı. On iki saat açlıktan sonra tüm hastalardan sodyum sitratlı tüpe ve düz tüpe alınan kanlar santrifüj edildi ve analize kadar -80°C'de saklandı. Tüm olguların rutin biyokimyasal analizleri olan glukoz, karaciğer enzimleri, lipid profili, CRP, insülin ve hemogramları çalışıldı. İnsülin ve açlık glukoz değerlerinden elde edilen HOMA indeksi sonuçlarına göre (2,7'nin üzerindeki olgular) insülin direnci olan hastalar belirlendi. Plazma MDA düzeyleri floresan dedektörlü HPLC sistemi ile, antioksidan vitaminler UV dedektörlü HPLC sistemi ile, diğer proinflatuar sitokinler (TNF- α , IL-6) ile oksidasyon göstergelerinden ox-

LDL ve adipokinler (adiponektin, leptin, rezistin) ise sandviç ELISA yöntemi ile ölçüldü. İstatistiksel analiz SPSS 15.0 programında gerçekleştirildi.

Bulgular ve Sonuç: Çalışma grupları yaş ortalamaları arasında anlamlı fark yoktur. Antropometrik verilerden BMI ve boya göre ağırlık oranları her iki obezite grubunda kontrol grubuna göre anlamlı yüksektir. Rutin biyokimyasal analizlerden karaciğer fonksiyon testleri (AST, ALT, GGT), insülin, HOMA indeksi ve lipid parametrelerden TG düzeyleri obez grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksektir. Obez gruba ait TKOL, HDL ve LDL düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmakla birlikte istatistiksel olarak farklı değildir. Yağlı karaciğeri olmayan obez grupta TNF- α , CRP ve leptin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek ve adiponektin düzeyleri ise anlamlı olarak düşük iken; yağlı karaciğeri olan obezlerde bu parametrelere ilaveten IL-6 düzeyleri de anlamlı olarak artmıştır. Retinol düzeylerindeki kontrol grubuna göre anlamlı artış ise sadece yağlı karaciğeri olan obez olgularda saptanmıştır. Sonuç olarak obezite ve obezite ile ilişkili karaciğer yağlanması ayırımında karaciğer ultrasonografisi yanısıra inflamatuvar belirteçlerden IL-6 ve antioksidan belirteçlerden retinol düzeylerinin değerlendirilmesi yararlıdır.

Anahtar kelimeler: Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, obezite, adipokinler, oksidasyon, inflamasyon.

**Evolution of Metabolic, Oxidant and Anti-Oxidant Systemic
Determinants in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Relevant to
Pediatric Obesity**

Yeliz ANGIN

Dokuz Eylul University Health Science Institute Biochemistry Programme
İnciraltı, 35340, İzmir /TURKEY

Objectives: Comparing the levels of C-reactive protein (CRP), interleukin 6 (IL-6), oxidized LDL (ox-LDL), malondialdehyde (MDA), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), the systemic indicators of oxidation and inflammation, alpha-tocopherol (α -tocopherol: vitamin E), retinol (vitamin A), ubiquinone (UQ), the antioxidant defence mechanisms, leptin, adiponektin, rezistin, the adipokines of obese children and children with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) secondary to obesity with the healthy control group.

Patients and Methods: A total of 47 obese children [n=20, NAFLD (+)obese, n=27, NAFLD (-) obese] and 30 healthy children with age interval 11-18 years, diagnosed as exogen obesity (BMI>%95) at the department of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Metabolism, Medical School of Dokuz Eylul University were enrolled to the study. The presence of fatty liver was identified by liver ultrasonography in obese children diagnosed according to antropometric data.

Study cases were divided into three groups as NAFLD (+) obese, NAFLD (-) obese and healthy control. Routine biochemical analyses such as glucose, liver enzymes, lipid profile, CRP, insulin and hemogram were carried out. Patients with insulin resistance were determined by HOMA index results (over 2.7) obtained from insulin and fasting glucose values. The levels of plasma MDA and antioxidant vitamins were measured by HPLC systems with UV-dedector, other proinflammatory cytokins (TNF- α , IL-6), oxidation indicator (ox-LDL) and adipokines released from adipose tissue (adiponektin, leptin, rezistin) by sandwich ELISA. Statistical analyses were performed by SPSS 15.0 programme.

Results and Conclusion: There is no significant difference between average ages of study groups. BMI and the percentages of weight to height of antropometric data are significantly higher in both obese groups than the control group. Liver function tests (AST, ALT, GGT), insulin, HOMA index and TG levels of routine biochemical analyses are significantly higher in obese group [NAFLD (+) obese plus NAFLD (-) obese] than the control group. Total cholesterol, HDL and LDL levels of obese group are higher than the control group, however, this difference is not statistically significant. While TNF- α , CRP and leptin levels are significantly increased and adiponectin levels are significantly decreased in obese patients without fatty liver compared to the control group; in addition to these parameters IL-6 levels are also significantly increased in obese children with fatty liver. Significant increase in retinol levels compared to the control group is determined only in obese cases with fatty liver. In conclusion, the evaluation of the levels of retinol, antioxidant marker, and IL-6, inflammatory marker, is beneficial in discriminating obesity and obesity related hepatic steatosis in addition to liver ultrasonography.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, obesity, adipokines, inflammation.

1. GİRİŞ VE AMAC

Obezite, çocuk ve adolesanların %25-30'unu etkileyen önemli bir beslenme problemidir. Çocukluk çağı obezitesi özellikle gelişmiş ülkelerde olmakla beraber bütün dünyada artan bir prevalansa sahiptir. Obeziteye bağlı problemlerin yanı sıra, çocukluk çağında obez olanlarda, erişkin dönemde morbidite ve mortalitenin artması durumu ile adolesan döneme obez girenlerin % 50'sinin erişkin dönemde de obez olması durumu, çocukluk çağı obezitesini önemli bir sağlık sorunu yapmaktadır (1).

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı 'NAFLD' (Non-alcoholic fatty liver disease), alkol almayan kişilerde alkole bağlı yağlı karaciğer hastalığının histolojik bulgularının olduğu bir karaciğer hastalığıdır. 1980'lerden sonra dünyada görülme sıklığı hızla artan, yetişkinlerin yaklaşık %30'unu, çocukların %20'sini etkileyen ve özellikle endüstrileşmekte olan ülkelerde artan prevalans gösteren metabolik bir hastalık olan NAFLD, basit steatozdan (karaciğer yağ hücrelerinin trigliserit ile dolması) steatohepatit, ilerlemiş fibrozis ve siroza kadar ilerleyen geniş spektrumlu bir karaciğer hasarını tanımlar (2).

Yağlı karaciğer ve siroz gibi fibrotik karaciğer hastalıklarının altında yatan belli başlı nedenler obezite ve insülin direncidir. Günümüzde çocuklarda obezite ve insülin direncinin prevalansı giderek artmaktadır. Bu durum da, NAFLD'yi çocuklarda potansiyel olarak en yaygın görülecek karaciğer hastalığı yapmaktadır (2). Bu nedenle progresif seyreden ve ciddi etkileri olan NAFLD'nin altında yatan patofizyolojik mekanizmaları anlamak ve etkin tedavi stratejileri geliştirmek önemlidir.

Bu çalışmanın amacı, 1) pediatrik obez ve yağlı karaciğer hastası olan NAFLD'li grupta proinflamatuvar sitokinler olan interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), inflamasyon göstergesi olan C reaktif protein (CRP); oksidatif stresin sistemik parametreleri olan tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddelerden malondialdehit (MDA), okside LDL (oxLDL), ve antioksidan savunma mekanizmalarının sistemik parametreleri olan α -tokoferol (E vitamini), retinol (A vitamini), ubikinon (UQ); adipokinler olan leptin, adiponektin, rezistin düzeylerinin

tespit edilmesi, 2) metabolik belirteçler olan ve rutin olarak gerçekleştirilen karaciğer fonksiyon testleri, glukoz ve insülin değerlerinden yola çıkılarak belirlenen insülin direnci (IR) değeri, lipit parametrelerine ilişkin değerler (HDL-K, LDL-K), boya göre ağırlık (weight for height) verilerini kontrol grubununkilerle karşılaştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 OBEZİTE TANIMI VE SIKLIĞI

Obezite yağ dokusu fazlalığından kaynaklanan ve sağlık üzerine olumsuz etkileri olan bir durumdur ve kısalmış yaşam süresi, artmış mortalite ve morbidite, azalmış üretkenlik ve çalışabilirlik, bireysel sosyal ve ekonomik dışlanma gibi olumsuz sonuçlar doğurur. İnsülin direnci, tip 2 diyabet, aterosklerotik kalp hastalıkları, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, hipertansiyon ve hiperlipidemi de çoğu zaman obeziteye eşlik etmektedir. Bununla birlikte obezitenin patogenezi tam aydınlatılmamıştır. Genellikle kabul edilen yağ dokunun, enfeksiyon ve otoimmün hastalıklarda görülene benzer şekildeki inflamatuvar belirteçlerle birlikte olan metabolik aktivitesiyle ilişkilidir (3) .

Obezite genetik ve çevresel bileşenleri olan multifaktöriyel bir hastalıktır. Toplumlarda obezitenin prevalansı, vücutta aşırı yağ birikimi olan insanları ifade etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre obezite insidansı 1990'dan buyana giderek hızla artmaktadır (4). Daha önce yapılan bölgesel çalışmalar Türkiye'de obezitenin yaş, cinsiyet ve sosyoekonomik duruma göre değişen prevalansı hakkında bilgi vermektedir (5-7). İşleri A. ve Arslan N.'ın 2007 yılında yedi bölgeden, yaş dağılımı 20 ila 85 arasında değişen 4205 kişi ile yaptıkları kesitsel çalışmada, popülasyonun % 51'nin kilolu olduğunu göstermişlerdir (8). Gülay Koçoğlu ve arkadaşlarının 2003 yılında Sivas şehrinde 11-14 yaş aralığındaki çocuklar ile yaptıkları çalışmada ise, beslenme yetersizliğinin obeziteden daha büyük bir sorun olduğunu göstermişlerdir (9).

Obezitenin Değerlendirilmesi

Beden kütle indeksi boy ile ağırlık (BMI: ağırlık/boy²) arasındaki ilişkiyi veren ve kişinin obezite durumunu değerlendiren bir ölçümdür. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) sınıflandırmasına göre; BMI'i 18.5 altındakiler zayıf, 18.5-25 arası normal, 25 üzeri ise kilolu kabul edilmektedir. BMI'i 25-30 arasında olanlar obez öncesi, 30-35 arası olanlar I. sınıf obez, 35-40 arası olanlar II.sınıf obez ve 40 üzeri olan kişiler ise III.sınıf obez kabul edilirler (10). Obeziteyi değerlendirmede ikinci bir

ölçüm ise, ideal kilodan % 120 fazla olunmasıdır. Çocukluk çağı obezitesinin değerlendirilmesinde ise genelde kullanılan, hesaplanan beden kütle indekslerinin, aynı cinsteki çocukların beden kütle indeksi persantilleri ile karşılaştırılıp, 95 persantilin üzerinde olanların obez olarak kabul edilmesidir (10).

2.2 ADİPOZ DOKU VE OBEZİTE

Yağın aktif metabolik bir doku olduğunu ileri süren ilk bildiri Von Gierke tarafından yayınlanmıştır (11). Şimdilerde ise yağın endokrin bir organ ve hem metabolizma hem de inflamasyon için anahtar bir düzenleyici olduğu göz önünde bulundurulmaktadır (12). Yetişkin memelilerde adipoz dokunun büyük bir hacmi yağ ile dolu olan adipositlerin gevşek yerleşimidir. Bu adipositler stromal vasküler hücreler, fibroblastik bağ doku hücreleri, lökositler makrofajlar ve henüz yağ ile dolmamış pre adipositleri içeren kollojen bir ortam içinde bir arada tutulurlar. Yaklaşık olarak beyaz yağ dokusunun %60 dan %85 'e kadar olan ağırlığı lipid, bunun %90-%99'u ise TAG dır. Az miktarda serbest yağ asitleri, digliseridler, kolesterol ve fosfolipidlerde bulunur. Adipoz doku yaşamın herhengi bir döneminde sınırsız büyüme potansiyeline sahip olan tek organdır. Adipoz doku kütesinin büyüklüğü adiposit sayısı ve adiposit büyüklüğünün her ikisinin birden fonksiyonudur. Yağ dokusu sayıca hiperplastik ve adiposit büyüklüğü hipertrofik olarak genişleyebilir, büyüyebilir. Hipertrofi birincil olarak hücre içinde lipid birikimiyle olur ve geri dönüşümü vardır. Bununla birlikte adipositler bir kez hiperplazi olursa yaşam boyu değişmeden öyle kalır. Adipositler enerjinin serbest yağ asidi formunda alımına ve salımına özellikle adapte olmuşlardır. Serbest yağ asitleri adipositler içinde TAG formuna dönüştürülürler. Serbest yağ asitleri kalori bolluğu durumunda yakıt fazlalığı olarak TAG formunda biriktirilir ve kalori eksikliği ve besin sıkıntısı süresince-açlık, uzun süren egzersiz- ihtiyaç halinde NEFA(esterleşmemiş serbest yağ asitleri) olarak dolaşıma geri verilir (13).

İnsülin yağ dokusunun gelişiminde ve fonksiyonunun kontrolünde büyük bir rol oynar. Sadece lipogenezi regüle etmez aynı zamanda lipoliz hızını ve NEFA akış hızını da düzenler. Yetişkinlerde adipoz doku, dokunun yerleşimine bağlı olarak iki

tipe ayrılır: subkutan ve viseral (intraperitoneal: omental ve mesenterik yağ). Her iki yağ dokusunda patofizyolojide farklılaşır. İnsülin etkisi subkutan adipoz dokuya kıyasla omental de körleşir. Viseral adipozite NAFLD/MS ile daha güçlü bir korelasyon gösterir ve bel/kalça oranı ile ölçülür (14).

2.3 YAĞ HÜCRELERİNDE ve KASTA İNSÜLİN DİRENCİ

Normal kiloda olan bir kişide yemekten sonra kan glukozundaki orta dereceli bir artış, pankreas beta hücrelerinden bir miktar insülin salınımına neden olur. İnsülin adiposit ve kas hücreleri yüzeyindeki reseptörüne etkiyerek, insülin reseptör substratlarının (IRSs) fosforilasyonunu tetikler. Fosforile insülin reseptör substratı, fosfotidil inozitol 3- kinaz ve Akt/ protein kinaz B yi aktive eder, sonuçta intraselüler glukoz havuzunda duran glukoz taşıyıcısı GLUT-4 ün adiposit ve miyosit plazma membranına hareket etmesine neden olur. GLUT-4'lerin adiposit ve kas hücresi plazma membranında çokca eksprese olması etkili bir glukoz alımına neden olur, böylece plazma glukoz artışı ve neticede de insülin artışı önlenmiş olur (15).

Bununla birlikte obez insanlarda adipositler daha az GLUT-4 taşıyıcısı üretirler. Daha da önemlisi yağ ile dolu adipositler ve yağdan fakir olan kas hücrelerinin ikisi birden insülin reseptörünün sinyal etkilerine karşı dirençlidir (15).

Açıl KoA veya serbest yağ asitlerinden türevlenen diğer metabolitlerin, IRS ve fosfatidil inozitil 3- kinaz aktivasyonunu sınırlayabilecekleri ileri sürülmüştür. (15). Muhtemel mekanizmalardan biri Jun-N terminal kinazın aktivasyonunu ve sonrasında serin fosforilasyonunu ve sonuçta da IRSs nin inaktivasyonunu kapsar (16). GLUT-4 taşıyıcısının yetersiz miktarda plazma membranına yerleşmesi, adiposit ve miyositlerin glukoz alımını sınırlar (17). Bu yetersiz glukoz alımı kan glukoz miktarının artmasına neden olur, akabinde insülinin beta hücrelerinden zorunlu olarak salınımına yol açar (17). Bazı olgularda zorunlu olarak salınan insülin bu miktarı da yeterli değilken, bazılarında ise insülin etkisinde başarısızdır ve diyabet gelişir. Bu yüzden adiposit ve kaslarda insülin direnci, insülin ve glukoz düzeylerini artırma yolundadır.

Obezite sıklıkla insülin direnci ve normal olmayan glukoz homeostazisi ile ilişkilidir. Son zamanlarda hayvan modellerinde yapılan çalışmalar TNF- α 'nın yağ dokuda fazlaca eksprese olması yoluyla obezite durumunda görülen insülin direncine aracılık ettiğini ortaya koymaktadır (18-22). Bununla birlikte obeziteyi insülin direncine ve tip iki diyabete bağlayan mekanizmalar tam aydınlatılamamıştır. Bütün organizmalarda olduğu gibi TNF- α aracılı insülin direncinin en azından kısmen de olsa insülin reseptöründen kaynaklanan hücre içi sinyalizasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. (23,24). Ayrıca bu inhibisyon in vivo da TNF- α nın nötralizasyonu ile terse çevrilebilir (23). Hotamışlıgil G. ve arkadaşlarının 1995 de menopoz öncesi durumdaki on dokuz obez kadın ve bunların on sekiz zayıf kontrollü ile TNF- α mRNA'sının adipoz dokudaki ekspresyon paternini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada, obez olan bu kişilerin yağ dokusunda zayıf olan kontrollerine kıyasla 2.5 kat daha fazla TNF- α mRNA'sı eksprese edildiğini ortaya koymuştur (25). Yine aynı hastalarda hiperinsülinemi ve yağ dokudan eksprese edilen TNF- α mRNA'sı arasında anlamlı pozitif bir korelasyon bulunmuştur.

2.4 KLASİK İNFLAMASYON VE DOĞAL BAĞIŞIKLIK

Klasik inflamatuvar yanıt temel olarak makrofajların fonksiyonudur. İnflamasyon makrofajlarda Toll-like reseptör ailesi yoluyla tetiklenir. Bu ailenin on üyesi tanımlanmıştır. Bunların her birinin çeşitli bakteri ve fungal proteinleri tanıyan spesifik ligand tanıma bölgeleri vardır. Lipopolisakkarit (LPS) ligandları tanıyan Toll-like reseptör 4 (TLR-4) bu aileyi en iyi tanımlayan reseptördür. LPS ligand, TLR-4 reseptörü ile tanındığında makrofaj içinde bir sinyal kaskadını başlatır. Bu kaskat nükleer faktör kB (NF-kB)'nin nükleer yer değişimine neden olur. Mitojen aktive edici protein kinazı da kapsayan diğer yollar, inflamatuvar yanıtın devamına katılırlar. Sinyal yolağı LPS'ler ile başlatılır. LPS'ler IL-6, TNF-alfa ve IL-1'i içeren hızla üretilmiş proinflamatuvar sitokin aralığını kapsar. İşte bu erken sitokinler (proinflamatuvar), ikinci bir inflamatuvar kaskadı yani IL-10 gibi anti-inflamatuvar sitokinleri, reaktif oksijen türleri ve hücre adezyon moleküllerinin dahil olduğu geç inflamatuvar kaskadı başlatırlar (26,27).

Klinik olarak erken sitokinler prokoagülan bir etkiyi indüklerler ve hepatik protein sentezini akut faz yanıt proteinlerine değiştirirler ve bunlar hasar sonrasında homeostazın yeniden sağlanmasında önemli olan bir dizi hepatik proteindir (28). Kemokinler lökositleri enfeksiyon veya hasar bölgelerine yöneltirler (29). Geç yanıt sitokinleri sıklıkla bu kaskatı down regüle eder, inflamatuvar durumun dereceli olarak azalmasına dolaşımdaki inflamatuvar sitokinlerin ve akut faz proteinlerinin normal düzeylerine dönmesine izin verir.

2.5 OBEZİTE İLE İLİŞKİLİ İNFLAMASYON

Obezite, dolaşımdaki sitokin ve akut faz reaktanlarıyla birlikte olan visceral obezite ile, BMI'nin birlikteliğini ortaya koyan çalışmalarda gösterildiği gibi sistemik inflamasyon ile birlikte (30-33). Her ne kadar karaciğer obezitenin sistemik inflamasyonuna katılsa da; klasik inflamatuvar yanıtın aksine, baskın kontrol organı adipoz dokudur.

Daha önceki çalışmalar obez olan farelerin zayıf olan türlerine göre sayıca daha fazla TNF-alfa mRNA sına sahip olduklarını göstermiştir (34). Aynı zamanda obez insanların adipoz dokularında da artmış TNF-alfa mRNA'sı saptanmıştır (35). Önemli bir şekilde obez sıçanlarda TNF- α 'nın nötralizasyonu, periferik dokularda insülin ile uyarılan glukoz alımını düzenlediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (34). Bu çalışmanın akabinde TNF- α 'nın insülin reseptör substratı IRS-1'in serin kalıntısının fosforillenmesi yoluyla IRS-1 proteinin insülin reseptörü ile kompleks oluşturma yeteneğini inhibe ettiği ve böylece insülin direncine yol açtığı gösterilmiştir (36-38). İnsülin direnci gelişimine katılan pek çok diğer faktör vardır ve insülin direnci, obezite ile ilişkili olan inflamasyonun vücut üzerindeki etkisini en iyi şekilde açıklayan birincil mekanizmadır.

İnflamasyonun birkaç sitokin aracısı adipoz doku tarafından üretilir. Adipoz doku bağ doku matriksi içine gömülü olan adipositlerden oluşur. Bağ doku fibroblastları, preadipositleri (adiposit öncülleri), makrofajları ve vasküler dokuları içirir. Adipositlerin (yağ hücrelerinin) temel fonksiyonu enerjiyi trigliserit formunda depolamak ve salmaktır. Adipoz dokunun bu tutumu organizmanın fizyolojik

durumuna yanıt olarak adipositlerin regülasyonu yoluyla gerçekleştirilir. Bu olayın karşılığında pankreas, karaciğer, hipotalamus, iskelet kası ve endotelin regülasyonu da adipoz dokunun endokrin, parakrin ve otokrin sinyallerinin kompleks bir sistemi ile sağlanır. Adipositler anahtar düzenleyici faktörler üretirler. Bunlar leptini, sitokinleri, tamamlayıcı alternatif yolların bileşenlerini ve esterleşmemiş yağ asitlerini kapsar. Bu araçlar yoluyla adipositler hipotalamik pitüiter adrenal eksen (pituitary-adrenal axis), sempatik sinir sistemi ve hipotalamik pitüiter gonodal eksen (pituitary-gonodal axis) ile etkileşir (39). Adiposit öncülleri (pre-adipositler) olgunlaşırken bakteri hücre duvarındaki ürünlere karşı yanıt verme kapasitesini, sitokin kaskadını indüklemeye ve sitokin ile akut faz reaktanları salgılamasını yapan makrofajlara benzer fonksiyonlar kazanırlar (40). Obezite durumunda artan adiposit büyüklüğü, gerek artan sitokin aracı üretimine ve gerekse sistemik kronik inflamasyona neden olan normal düzenleyici yollardaki dengesizliklere neden olur (41).

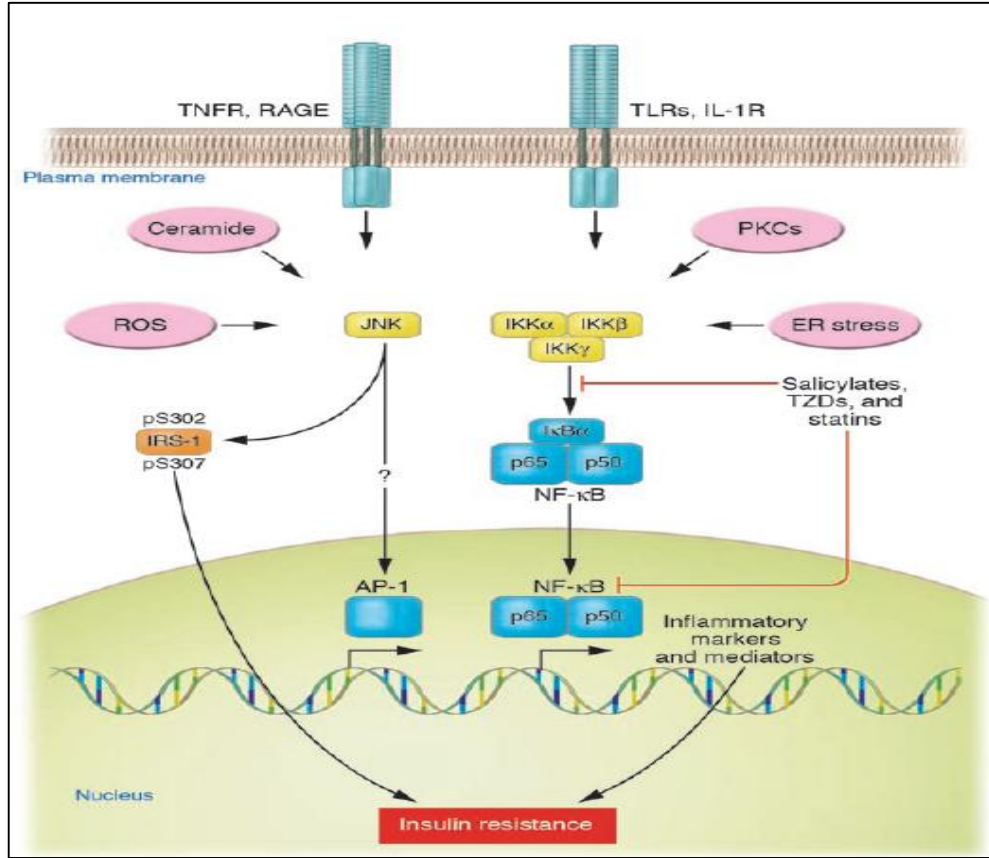
2.5.1 Çocuklarda Obezite ve İnflamasyon

Her yastan obez çocukta düşük düzeyde kronik bir inflamasyon olduğuna dair kanıtlar vardır. Bu bağlamda en genç obez çocuk bile, obez olan bir yetişkinden farklı değildir (3). Bazı durumlarda, dolaşımdaki akut faz reaktanları ve sitokinler ile ölçülen inflamasyonun derecesi, insülin direnci, dislipidemi, alkolik olmayan yağlı karaciğer, aterosklerozis, hiperkoagülasyon gibi obeziteye eşlik eden pek çok hastalıkla korelasyon gösterir. Özellikle insülin direnci ve aterosklerozisin patogenezinde doğrudan klinik kanıtlar inflamasyon için nedensel bir rol ileri sürer.

Obez çocuklarda dolaşımdaki inflamatuvar sitokin CRP ile obezite komplikasyonları arasındaki korelasyon daha önce çalışılmıştır ve farklı sonuçlar vardır. “National Health and Nutrition Examination Survey” den elde edilen verilere göre BMI, tüm yaş, cinsiyet ve etnik gruplar arasında dolaşımdaki artan CRP düzeyleri için en iyi belirleyicidir (42-44). Bu bulgu diğer geniş populasyon çalışmalarıyla da doğrulanmıştır. (45-49). Bazı obez çocuklarda artmış serum TNF-alfa düzeyleri bulunurken (50-52) diğerlerinde bulunamamıştır (53). IL- 6 BMI ile

doğrudan korelasyon gösterir ve adiponektin ise BMI ile negatif korelasyon gösterir (52,54).

2.5.2 Obezitede Görülen İnflamasyonun Moleküler Temelleri



Şekil 1. Hücre içi potansiyel inflamatuvar sinyal yolları (Shoelson S.E. ve ark 2006).

Obezite ve yağ içeriği yüksek olan diyet, adipositlerde, hepatositlerde ve ilişkili makrofajlarda IKKβ/NF-κB ve JNK yollarını aktive eder. TNF-α, IL-1, Toll veya AGE reseptörleri (TNFR, IL-1R, TLR, veya RAGE), hücre içi stres (ROS ve Endoplazmik Retikulum Stres), seramid ve protein kinaz C'nin (PKC) pek çok izoformunun metabolik disregülasyon durumunda bu sinyal yollarını aktive ettiği gösterilmiştir (Şekil 1).

Obezitenin indüklediği IKK β aktivasyonu, NF- κ B translokasyonuna ve insülin direncine yol açabilen inflamasyonun potansiyel araçları ile birlikte, daha pek çok belirtecin artmış düzeydeki ekspresyonuna yol açar. Obezitenin indüklediği JNK aktivasyonu, IRS-1'in serin kalıntısından fosforilasyonunu tetikler ve bu durum normal insülin reseptörü/IRS-1 eksenini yoluyla oluşan insülin sinyalizasyonunu ters yönde etkiler (55).

2.6 NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI

2.6.1 Tanımı, Prevelansı , Etyopatogenezi

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) karaciğer ile ilişkili olan mortalite ve morbiditenin giderek tanınan bir nedenidir. Karaciğer yağlanması (hepatik steatos), geçmişte benign bir durumken, şimdilerde bu yağlanmanın nekroz, Mallory cisimcikleri, nötrofillerin de dahil olduğu inflamatuvar hücre infiltrasyonuna, fibrosise ve hatta bazı hastalarda siroza ilerleyen bir durum olduğu kabul görmektedir (56.57).

NAFLD pek çok hastalığa ikincil olarak gelişebilir ancak NAFLD hastalarının büyük çoğunluğu obez olanlar ya da metabolik sendromun diğer bileşenlerini (hipertansiyon, dislipidemi, diyabet) taşıyanlardır. Bu birincil NAFLD olarak adlandırılır ve insülin direnci hastalığının patogeneziinde anahtar bir rol oynar. Obezite durumunda kronik bir inflamasyon altında olan genişlemiş bir yağ dokusu söz konusudur (58). Bu durum yağ dokunun normal depolama ve endokrin fonksiyonlarını bozar. Yağ dokunun otokrin, parakrin fonksiyonuyla sekrete edilen sekretomlarda (adipositokinler, sitokinler, serbest yağ asitleri ve diğer lipid bileşenleri) katlanarak bir artma olur ve bu sekretomların özellikle karaciğerdeki sistemik etkileri insülin direnci ile birlikte değişmiş metabolik duruma yol açar. İnsülin direnci hiperglisemi ve reaktif hiperinsülinemiye yol açar. Bunlar lipid birikim sürecini stimüle eder ve karaciğer lipid metabolizmasını bozar. İnsülin direnci, inhibe edilemeyen lipoliz nedeniyle yağ dokusu depolarından serbest yağ asitlerinin karaciğere taşınmasını artırır. Bu değişiklikler karaciğerde anormal yağ birikimine

neden olur (58). Bu durumu karaciğerde insülin direncinin başlaması ve tüm vücudun değişmiş olan metabolik durumunun ileri düzeyde kötüye gitmesine takip edebilir.

Hepatik steatozis yani karaciğer yağlanması artmış diyetsel yağ dağılımı ve fiziksel inaktivite ile de tanımlanabilir. İnsülin direnci ve NAFLD'nin obezitedeki aşırı yağlanmaya bağlı olarak ortaya çıktığı görüşüne zıt olarak çoğu lipodistrofik durumlarda da görülür. Dolayısıyla adipoz dokunun değişmiş fizyolojisi, insülin direnci, metabolik sendrom ve NAFLD gelişiminde merkezidir.

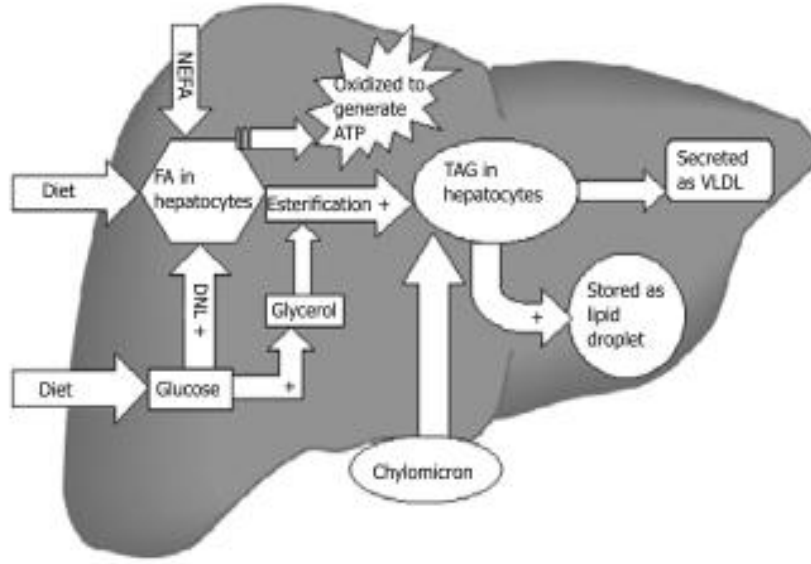
NAFLD nin prevalansı US popülasyonunun yaklaşık % 20'si (%17'den %30'a) civarındadır (51) Japonya ve İtalya popülasyonlarında da benzer veriler elde edilmiştir (59,60). NAFLD de karaciğer lezyonları; hepatositlerde yani karaciğer hücrelerinde basitçe triaçilgliseridlerin birikiminden (steatozis, hepatic steatosis, HS) hastalığın ileriki evrelerinde fibrozis ve siroza neden olabilen inflamasyon ve hepatoselüler balonlaşma hasarının (alkolik olmayan steptohepatits, non-alcoholic steatohepatitis; NASH) olduğu morfolojik bir spektrumu tanımlar (61). NAFLD'nin teşhisinde aşırı alkol kullanımı (kadınlarda günde 20 mg üzeri ve erkeklerde günde 40 mg üzeri) dışlanmalıdır (62). NAFLD, US'de de karşılaşılan vakaların yaklaşık % 80'inde anormal karaciğer fonksiyon testlerinin en sık karşılaşılan nedenidir. Her ne kadar artmış karaciğer enzimleri, kronik karaciğer hasarının -steatozis ve fibrozis- derecesi ile zayıf olarak korele olsa da; süregen yüksek alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri, daha ileri tanısal değerlendirilme için bir ipucudur. Yeni ALT standardının kabul edilmesiyle birlikte (erkeklerde ≥ 30 U/L, kadınlarda ≥ 19 U/L), NAFLD erken evrelerde saptanabilir. NASH'ın teşhisini doğrulamada hemen ardından karaciğer biyopsisi gereklidir.

2.6.2 NAFLD'de Yağ Dokusu ve Normal Lipid Metabolizması

Yemek sonrasında diyet ile alınan triaçilgliseritler şilomikronlar aracılığıyla barsaktan karaciğere taşınırlar. Ek olarak yemek sonrası serumdaki insülinin etkisi ile yağ asitleri ve gliserolden hepatic triaçilgliserol (TAG) sentezide gerçekleşir. TAG ler çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL) ile, ya yeniden TAG'a esterifiye olarak adipoz dokuda depolanmak ya da yağ asitlerine parçalanıp enerji kaynağı

olarak kullanılmak üzere kana salınırlar. Karaciğerdeki aşırı TAG hepatositler içerisinde yağ damlacıkları olarak depolanabilirler (Şekil 1). Hepatik TAG oluşumu için gerekli yağ asidi kaynağı ya plazma havuzundan sağlanan esterifiye olmamış yağ asitleri (non esterified fatty acid: NEFA), ya da de novo sentez –lipogenez- (de novo lipogenesis, DNL) yoluyla karaciğerde yeniden sentezlenen yağ asitlerinden karşılanır. DNL metabolik yolu önemlidir, regüle edilebilir ve mitokondriyi kapsar (63). Yemek sonrası enerji (Adenozin tri fosfat ATP) fazlalığı durumunda, fazla olan glukoz yağ asidi substratı olarak kullanılır. Glukoz pirüvata dönüşümü yoluyla mitokondrideki Krebs çemberine girer. Krebs döngüsünde oluşan sitrat, ATP sitrat enzimi aracılığıyla Asetil KoA'ya dönüşeceği sitozole geçer. Sitozolda Asetil KoA karboksilaz 1 (ACC1) enzimi asetil KoA'yı daha sonra farklı uzunluklardaki yağ asitlerinin sentezinde kullanılmak üzere malonil KoA dönüştürür. Non esterifiye yağ asidi havuzundan –NEFA- yağ asitlerinin hepatik geri alımı regüle edilmez ve plazma yağ asidi konsantrasyonuna bağlı olarak doğrudan geri emilimin bir sonucudur. Modern zamanın zengin diyetleri sonucunda diyet ile alınan fazla TAG, serbest yağ asitleri (FA), aynen glukoz gibi (DNL'in substratı) hepatositler içinde fazla yağın birikmesine neden olurlar. Yemek sonrası artmış inüslin düzeyleri hepatik yağ birikiminin tüm bu basamaklarını destekler (63).

Yağ asitlerinin oksidasyonu mitokondride, peroksizomlarda ve mikrozosomlarda oluşur. Kısa ve orta zincirli yağ asitleri sadece mitokondride okside olur (64). Uzun ve çok uzun zincirli yağ asitleri ilk önce ekstra mitokondriyal yani mikrozosom ve peroksizomlarda kısalırlar ve daha sonra mitokondri hız sınırlayan basmaktır. Yağ asitleri sitoplazmada yağ açıl KoA sentaz aracılığıyla Yağ açıl KoA'ya aktive edilmelidirler. Yağ açıl KoA'nın mitokondriye transportu mitokondri dış zarına oturmuş bir enzim olan karnitin açıl transferaz 1 (CPT-1) aracılığıyla (65).



Şekil 2. Normal lipid metabolizması (Qureshi K. ve ark. 2007).

Lipid metabolizmasının üç aracı molekülü vardır. Bunlar:

1. Sterol düzenleyici element bağlanma proteini (Sterol regulatory element-binding protein, SREBP1-c), 2. Karbohidrat yanıt elementi bağlanma proteini (carbohydrate response element-binding Protein, ChREBP) ve 3. Peroksizom proliferatif aktive reseptörü (peroxisome proliferative activated receptor, PPAR)

İnsülin, DNL'ye dahil olan pek çok geni transkripsiyonel olarak aktive eden hepatosit hücre membranı üzerindeki SREBP1-c ye etkir (66). SREBP1-c aynı zamanda mitokondri membranında malonil KoA oluşturan ve ACC'nin bir izoformu olan ACC-2'yi aktive eder (67). Malonil KoA'daki artış β oksidasyonu azaltır çünkü malonil KoA yüksek konsantrasyonda CPT-1'i inhibe eder ve bu yüzden serbest yağ asitlerinin birikmesine neden olur (68).

Hiperglisemi aynı zamanda glikolizin anahtar enzimlerinden biri olan karaciğere özgü pürivat kinazın (liver type pyruvate kinase; L-PK) gen ekspresyonunu indükleyen ChREBP'yi doğrudan aktive ederek lipogenezi stümüle etmiş olur. L-PK, fosfoenol prüvatın, pürivata dönüşümünü kataliz eder, pürivat ise sitratı oluşturmak için Krebs döngüsüne girer. Sitrat yağ asidi (fatty acid; FA) sentezinde kullanılan asetil KoA'nın temel kaynağıdır. ChREBP, DNL e dahil olan çoğu enzimin gen

ekspresyonunu stimüle eder. Bu sebepten hiperglisemi glikoliz ve lipogenezin ikisini birden sitümüle eder. Böylece fazla enerji koşulları altında glukozun yağ asidine dönüşümünü kolaylaştırır (69).

PPAR- γ karaciğerde oldukça düşük düzeylerde sentezlenir; bununla birlikte IR ve yağlı karaciğerin olduğu hayvan modellerinde ekspresyonu belirgin olarak artmıştır. Çalışmalar SREBP1-c nin transkripsiyonel olarak PPAR- γ 'yı aktive ettiğini göstermiştir. ob/ob farelerin karaciğerinde hepatik PPAR- γ 'nın genetik yoksunluğu hiperinsülinemi ve hipergliseminin varlığından bağımsız olarak hepatik steatoz gelişimini önemli ölçüde azaltır. PPAR- γ 'nın aracı olduğu hepatik TAG oluşumunu destekleyen moleküler olaylar henüz tam aydınlatılmamıştır. Aynı zamanda insan yağlı karaciğerinde PPAR- γ ekspresyonunun olup olmadığı tam bilinmemektedir (70).

2.6.3 NAFLD'nin Patogenezi ve Moleküler Temelleri

Non alkolik steatohepatit, alkol kullanmayan kişilerde görülen ve alkolik karaciğer hastalığına benzer histolojik bulgular gösteren ve eninde sonunda karaciğer sirozuna ilerleyen bir karaciğer hastalığıdır. NASH obezite ve insülin direnci ile yakın ilişkisi olması yönünden iyi bilinir. NASH patogenezi multifaktöriyeldir; oksidatif stresi, demir depolanmasını, sitokrom P450E1'in aşırı ekspresyonunu ve TNF-alfa, mitokondriyel anormallikleri içermesine rağmen tam anlamıyla aydınlatılmamıştır (71).

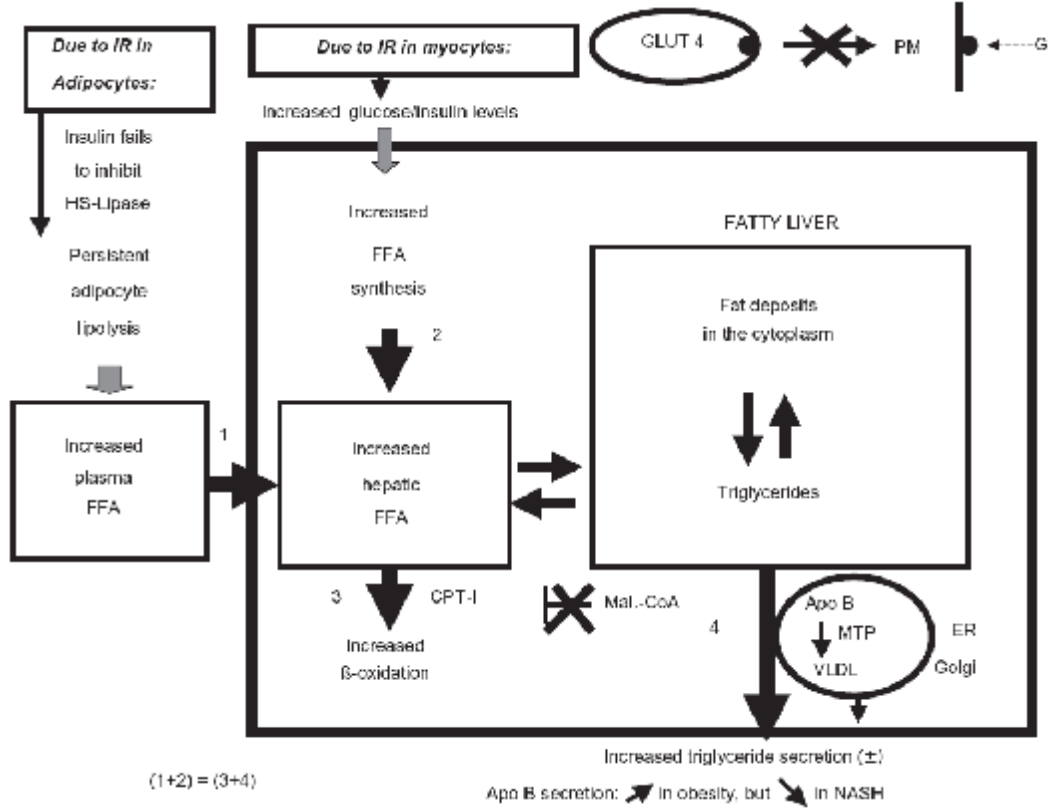
Son zamanlarda çoğu karaciğer hastalığında yaygın patojenik mekanizma olarak oksidatif strese odaklanılmıştır ve NASH'ın patogenezinde de büyük bir rolü olduğu dikkate alınmaktadır. Mitokondri sadece yağ oksidasyonunda ve enerji üretiminde büyük bir rol oynamaz, aynı zamanda reaktif oksijen türlerinin ana kaynağıdır da. .ROS aracılığıyla indüklenen lipid peroksidasyon ürünleri solunum zincirini bozar (ETC), ileriki aşamada da mitokondriyal ROS üretimi artar. Ek olarak, ROS fazlası antioksidanların tükenmesini indükler, reaktif oksijen türlerinin inaktivasyonuna zarar verir . Bu yüzden de mitokondriyal fonksiyon bozukluğu (aşırı mitokondriyal ROS oluşumu yoluyla) steatozun steatohepatite progresyonuyla yakından ilişkilidir (71).

2.6.3.1 Hepatik Steatozun Moleküler Temelleri

Kas hücrelerinde ve adipositlerde gelişen insülin direnci hepatik steatoza neden olabilir. Normalde insülin adipositlerdeki hormona duyarlı lipazı inhibe eder böylece adipoz dokudaki lipolizi inhibe eder. Adipositlerde oluşan insülin direnci karşısında, insülin bu fonksiyonunu gerçekleştirilmede yetersiz kalır. Adipoz dokuda sürekli gerçekleşen lipoliz dolaşımdaki FFA'lerin artmasına, bu durumda karaciğerin artmış FFA alımına yol açar. Kas hücrelerinde gelişen insülin direncine bağlı olarak ise, insülin glukoz taşıyıcısı GLUT 4'ün hücre içinden plazma membranına taşınmasını tam anlamıyla gerçekleştiremez. Glukozun hücre içine yetersiz alımı, plazma glukoz ve insülin düzeylerini artırır; bu durum da karaciğerde FFA sentezinin artmasına neden olur (72). Bu etki kısmen SREBP-I ve PPAR- α transkripsiyonel faktörleri yoluyla. (Açıl KoA karboksilaz ekspresyonunu ve yağ asidi sentezini artırır). Karaciğerdeki artmış FFA sentezi ve dolaşımdan FFA alımının artması, karaciğer FFA içeriğini artırır (72, 73, 74) (Şekil 3).

Karaciğerin artmış yağ asidi içeriği, farklı mekanizmalar ile lipidlerin karaciğerden uzaklaştırılması yoluyla dengelenmeye çalışılır. Bu mekanizmalardan biri artırılan mitokondriyal β oksidasyonudur. Artmış yağ asidi oksidasyonu genetik olarak obez olan ob/ob farelerde ve ayrıca NASH hastalarında gösterilmiştir (74). Birinci mekanizmada FFA'ların mitokondriye girişleri artırılır (Şekil 2). Bu durum mitokondri dış membranında bulunan ve uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri içine alınmasını sağlayan karnitin palmitoil transferaz I (CPT-I) enziminin ekspresyonunun artması ve bu enzimin inhibitörü olan malonil Co-A'nın azalması yoluyla. PPAR- α mRNA'sının karaciğerdeki ekspresyonu çoğu obez murin modellerde gösterilmiştir. PPAR- α 'nin mitokondriyal ve peroksizomal β -oksidasyonunda görev alan enzimlerinin ekspresyonunu arttırdığı bilinir (73,74). Olasılıkla, karaciğerdeki PPAR- α aktivasyonu, karaciğerdeki CPT-I'nin ve uncoupling proteinin (UCP-2) artmış ekspresyonunda ya da aktivitesinde bir rol oynamaktadır. UCP-2 mitokondriyal membran potansiyelini azaltır ve solunum zincirindeki elektronların akışına izin verir, böylece mitokondriyal solunumu artırır (76). Arttırılmış solunum hızı NADH'in

NAD⁺'ya yeniden, daha da iyi oksidasyonuna izin verir. NAD⁺'nin artan yenilenmesi mitokondriyal β -oksidasyon hızının artmasına olanak sağlar. Yağlı karaciğere sahip olan hastalarda yağ asidi oksidasyonunu artıran mekanizmalardan bir diğeri de karaciğer peroksizomlarının çoğalması ve genişlemesi olabilir (74).

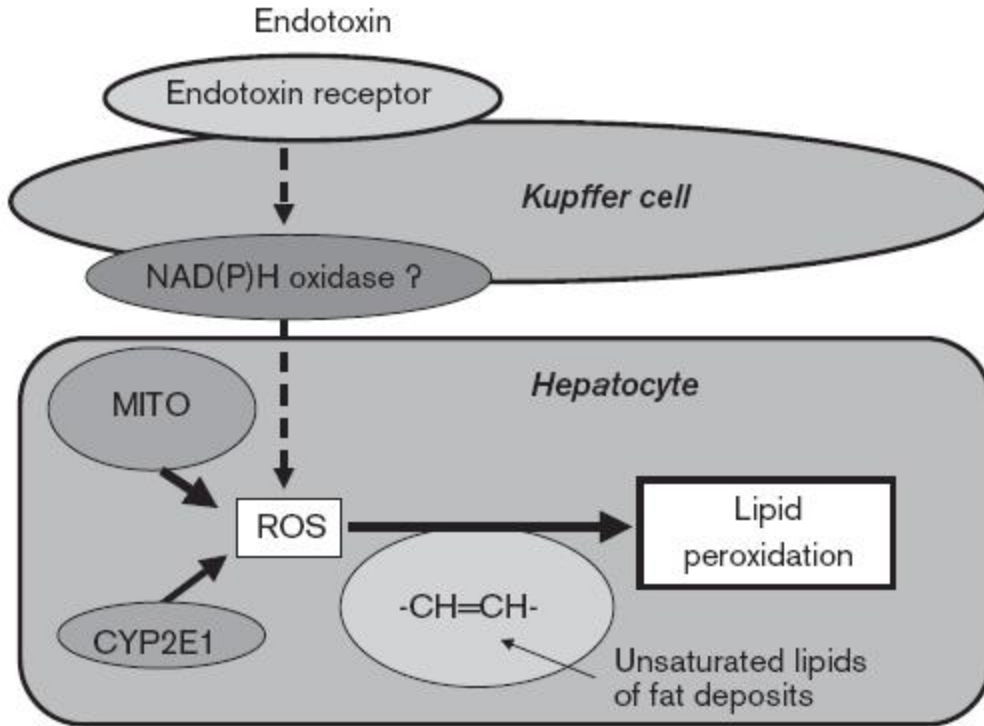


Şekil 3. Hepatik steatozun moleküler mekanizması (Pessayre D. ve ark. 2004).

Yağların karaciğerden uzaklaştırılmasında ikinci yol, VLDL salgılanmasıdır. Endoplazmik retikulum ve golgi aparatının lümeninde bulunan mikrozomal trigliserid transfer protein (microsomal triglyceride transfer protein, MTP) apolipoprotein B'nin VLDL partikülü içine katılımını sağlar. Obez ve NASH'lı olgularda karaciğerden artmış trigliserid salınımının olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte Apo B salınımı obez hastalarda, insülin direncinin daha yüksek olduğu NASH'lı hastalardan daha fazladır (Şekil 3).

2.6.3.2 Lipid Peroksidasyonu ve Mitokondriyal Fonksiyon Bozukluğu

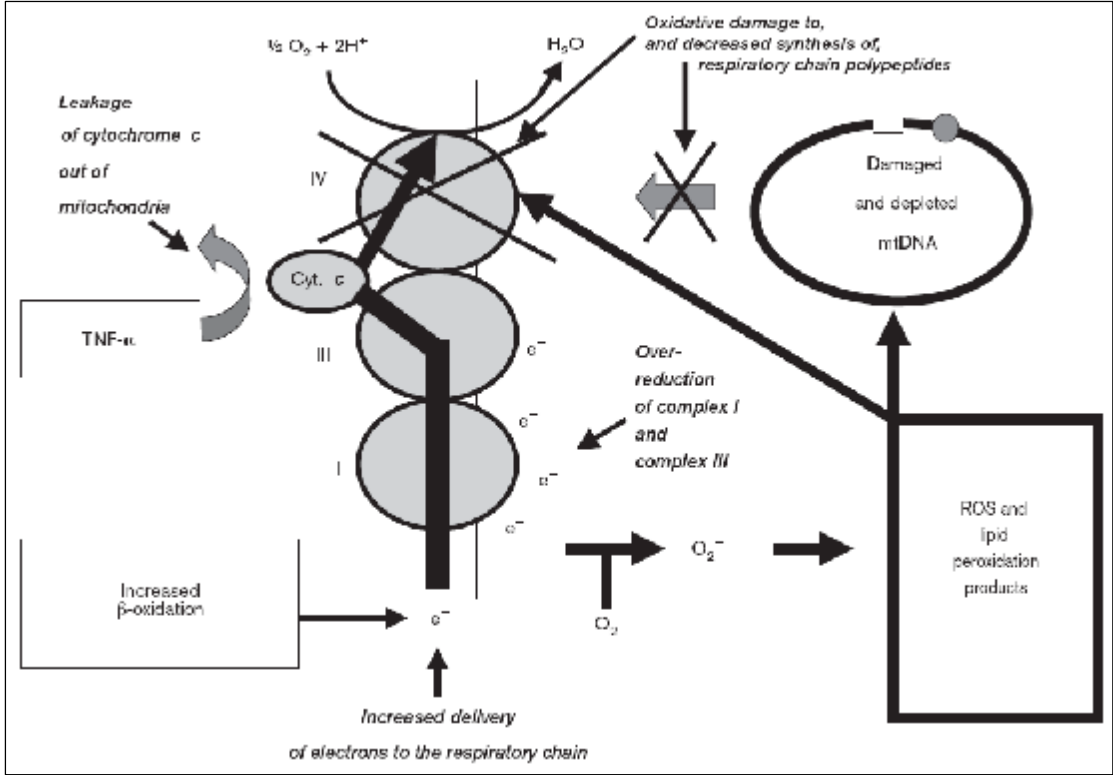
Karaciğer hücreleri olan hepatositler bazal durumda (yağ ile dolmamışken) dahi çok miktarda ROS üretirler. Bu ROS'lar mikrozomal sitokrom P-450 2E1 (CYP2E1) ve mitokondriyal solunum zincirinde oluşturulur. Basal durumdaki ROS oluşumu yağlı karaciğerlerde artar (Şekil 3). İlk olarak mitokondriyal ROS oluşumu artabilir. NASH'lı hastalar artmış düzeyde hepatik CYP2E1'e sahiptirler (77,78). Kupffer hücreleri üzerindeki endotoksin reseptor hem obezite aracılı hem de alkolün neden olduğu hepatik steatozda artar. Bakteriyel endotoksinlere karşı Kupffer hücrelerinin artmış duyarlılığı NAD(P)H oksidazı aktive edebilir ve böylece karaciğer makrofajlarında ROS oluşumu artar. Bu fazlaca ROS oluşumu yağ depolarındaki doymamış lipidleri okside ederek , lipid peroksidasyonuna neden olur (Şekil 3).



Şekil 4. Karaciğer hücrelerinde ROS oluşumu ve lipid peroksidasyonu (Pessayre D. ve ark. 2004).

Sadece steatozis lipid peroksidasyonunu tetiklemez. Obeziteye ikincil gelişen NAFLD durumunda TNF- α 'nın artmış ekspresyonları söz konusudur. Bu sitokin yağ ile dolu adipositlerden sentezlenir (79). Aynı zamanda ROS'un uyardığı yağdan fakir karaciğer hücreleri tarafından da sentezlenir (80). Kupffer hücrelerinin yüzeyinde artmış olan endotoksin reseptörlerinin bir sonucu olarak endotoksin ile uyarılan Kupffer hücrelerinden de sentezlenir.

Hem lipid peroksidasyon ürünleri hem de TNF- α mitokondriye zarar verebilir. Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu NASH durumu gözlenmeyen NAFLD hastalarında da oluşur. Hem lipid peroksidasyon ürünleri hem de ROS, sitokrom c oksidazın da dâhil olduğu mitokondrideki solunum zinciri bileşenlerine doğrudan saldırabilir ve inaktive edebilir. Solunum zincirindeki elektron akışını bloke eden bir diğer faktör ise kısmen TNF- α 'dır. TNF- α karaciğer üzerindeki kendi reseptörüne etkiyerek mitokondriyal membran geçirgenliğini artırır. Bu durum sitokrom c'nin mitokondri membranlar arası boşluktan çıkarak sitozole geçişine neden olur. Böylece TNF- α kısmen de olsa solunum zincirinde sitokrom c üzerinden olacak olan elektron akışını bloke etmiş olur (81, 82).



Şekil 5. Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve artmış mitokondriyal ROS oluşumunda muhtemel mekanizmalar (Pessayre D. ve ark. 2004).

Steatohepatit de artmış mitokondriyal ROS oluşumu pek çok döngünün karşılıklı tetiklenmesine neden olabilir. ROS ilk olarak, doğrudan mitokondriyal DNA'ya solunum zinciri polipeptidlerine ve mitokondriyal kardiyolipinlere zarar verir. Sonraki etkisi mitokondriye de zarar verecek olan lipid peroksidasyon ürünlerinin salınmasıdır. Bu ters etkiler elektronların solunum zincirindeki akışına engel olur ve sonrasında mitokondriyal ROS üretiminin artmasına yol açar. İkinci olarak, ROS NF- κ B yolunun aktivasyonuna neden olur ki bu yol TNF- α 'nın karaciğerdeki sentezini indükler. Üçüncü olarak ROS bazı antioksidanların tükenmesine ve ileriki aşamada ROS ile indüklenen hasarın şiddetlenmesine neden olur. Yapılan çalışmalarda steatohepatiti olan obez çocuklarda düşük vitamin E düzeyleri saptanmıştır. Bu çocuklarda vitamin E verilmesinin obez taransaminaz düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (83, 84).

Sonuçta ROS, basit steatozun NASH'a seyrinde merkezi bir rol oynamaktadır. ROS 4-hidroksinonenal (4-HNE) ve malondialdehit (MDA) gibi reaktif aldehitlerin salınımına neden olan lipid peroksidasyonundan sorumludur. ROS aynı zamanda pek çok sitokinin ekspresyonunu artırır (transforming growth factor- β , TGF- β ; interleükin-8, IL-8; TNF- α v eFas ligandı).

2.6.4 Adipoz Dokudan Salınan Sitokinler ve İnflamatuar Belirteçler

Adipositokinlerin besin alımı, enerji harcanması ve metabolizma üzerine geniş çeşitlilikte etkileri vardır. Bir hücreden sentezlenen bu adipositokinler ya kendi fonksiyonlarını (otokrin etki) ya da komşu hücre fonksiyonlarını (parakrin etki) değiştirmek üzere salınırlar.

2.6.4.1 Leptin

Tanımlanan ilk adipokindir (85). “ob” geni tarafından kodlanır. Vücut yağ kütleindeki değişiklikler ve besinsel duruma yanıt olarak, birincil olarak olgun adipositlerden sentezlenir ve dolaşıma salınır. Leptin hipotalamusta anorexigenic yolları uyarır ve besin alımını azaltır (85).

Leptinin dolaşımdaki düzeyleri obezlerde yüksektir ve BMI'ne oransaldır (86, 87). Leptin düzeyleri açlık veya enerji alımı kısıtlaması durumunda azalır (88). Leptinin düşük düzeyleri negatif enerji dengesinin sinyali gibi davranır. Adiposit boyutu ve anatomik olarak yerleşimi (subkutanöz) leptin mRNA ekspresyonunun ve salınımının en önemli belirleyicisi gibi gözükmektedir. Aşırı beslenme ve obezite, glukokortikoid, glukoz ve insülin verilmesi dolaşımdaki leptin düzeylerinin artmasına neden olurken (89, 90) açlık, uzamış egzersiz, soğuğa maruziyet ve kilo kaybı leptin düzeylerinin azalmasına neden olur (91, 92). Leptin insülin duyarlılığını artırıcı hormon gibi etkir ve miyositlerin, hepatositlerin ve pankreatik β hücrelerinin lipid içeriğini azaltır (93). Kaslarda insülin duyarlılığının artırılması yağ asitlerinin mitokondriye geçişini artıran malonil Co-A sentazın inhibisyonu yoluyla gerçekleştirilir (94). Leptin doğrudan, ATP kazanılan katabolik yolları (Beta

oksidasyonu, glikoliz) aktive eden ve ATP tüketen anabolik yolları inhibe eden adenozin monofosfat kinazı uyarır (95). Leptin etkisinden yoksun hayvanlara (leptin geni mutasyonunun olduğu ob/ob fareler, leptin reseptör gen mutasyonunun olduğu db/db fareler ve fa/fa sıçanlar) leptin enjeksiyonu yağlı karaciğerlerini ve metabolik anormalliklerini azaltsada, onlar obezdirlir, insülin dirençleri vardır ve hepatik steatosa sahiptirler (96, 97).

Obez olan NAFLD hastalarında leptin düzeyleri artmıştır ve hepatik steatozun şiddetiyle doğrudan korelasyon gösterir (99). Bu durum leptin direncini gündeme getirir (100). Leptinin insülin duyarlılığını artırıcı (insülin duyarlaştırıcı) ve anti-steatotik davranışı obezite durumunda körelir. Bu duruma sebebiyet veren durum tam anlaşılamamıştır ve belki de kan beyin bariyerinden leptin geçişinin bozulması veya sinyal iletimindeki bozukluktan kaynaklanmaktadır (101). Hayvan modellerinde leptin kritik olan fibrogenik bir faktördür . Bu durum transforme edici büyüme faktörü [(TGF)-beta] aracılı ya da doğrudan hepatik stellat hücreleri ile ilgilidir. Hepatik stellat hücreleri uyarıldıklarında leptin üretirler. Leptin fibrojenезisi daha da uyarır. Hem G0 da olan hem de etkinleştirilmiş hepatik stellat hücreleri leptin reseptörlerini eksprese eder (102, 103).

2.6.4.2 Adiponektin

Adiponektin antilipogenik ve insülin duyarlılığını artıran proteindir ve hemen hemen sadece beyaz yağ dokusuna ait adipositlerden sentezlenir. Dolaşımda yüksek düzeylerde bulunur (104, 105). Diğer adipokinlere zıt olarak ekspresyonu ve dolaşımdaki düzeyleri obezitede ve çeşitli insülin direnci durumlarında azalır (106). Obez farelerde adiponektinin hücresel mRNA sı ve dolaşımdaki düzeyleri düşüktür (107, 108). Besin kısıtlaması yoluyla vücut ağırlığının azaldığı durumlarda adiponektin düzeylerinin hızlıca arttığı görülür (106). Benzer şekilde ters korelasyonlar BMI ve adiponektin düzeyleri arasında Pima Hintlilerinde gözlenmiştir (109, 110). IL-6 ve TNF- α adiponektin ekspresyonunun potensiyel inhibitörleridir ve bu sitokinlerin hem NAFLD'de hem de obezitede dolaşımdaki yüksek düzeyleri

adiponektin ile bu sitokinler arasındaki ilişkiyi açıklar. Adiponektin düzeylerindeki gerileme, insülin direnci başlangıcına denk gelmektedir (107, 111) ve dolaşımdaki düşük adiponektin düzeyleri ile artmış yağ içeriği ve hepatik insülin direnci arasında çeşitli bağlantılar ileri sürülmüştür (112, 113). Obez ve diyabetin olduğu fare modellerinde adiponektin verilmesi insülin direncini iyileştirir (114). Adiponektinin insülin duyarlılığını artırıcı etkisi, hepatositlerde, miyositlerde ve lokal olarak adipositlerde onun AMPK aktive etme yeteneğine bağlıdır. Karşılığında karaciğerdeki yağ asidi oksidasyonunun artması ile birlikte, glukoz üretimine insülinin baskılanması(114), ayrıca miyositlerde yağ asidi oksidasyonunu (ACC-1 in inaktivasyon ile) ve adipoz dokuda lipolizi artırır. Adiponektin ayrıca antiinflamatuvar etkiye sahiptir ve TNF- α ile IFN nin lokal üretimini inhibe eder. Düşük adiponektin düzeyleri karaciğerin hücre nekrozisine uygun hale gelmesinde etkindir. Adiponektin NASH'ın ciddiyeti ile ve karaciğer enzim anormallikleriyle korelasyon gösterir (115).

2.6.4.3 Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF- α)

TNF- α visceral adipositler, stromavasküler hücreler, endotoksin ile aktive olmuş makrofajlar tarafından sentezlenir ve salınırlar (116). Uyarılmamış adipoz doku rölatif olarak düşük miktarlarda TNF- α salar (117). TNF- α 'nın etkisi TNF- α reseptörleri ile etkileşimine ve ayrıca yirmiden fazla farklı sitokin reseptörüne bağlıdır. TNF- α reseptörleri de ayrıca adipositler tarafından sentzlenir. TNF-R1 apoptozis ve lipolize aracılık ederken TNF-R2 insülin direnci indüksiyonuna katılır (118). TNF- α esasen adipoz dokuda otokrin-parakrin modelde etki eder. Kemirgenlerde insülin direnci gelişiminde merkezi bir rol oynar. Bunu doğrudan GLUT-4'ün mRNA ekspresyonunu azaltarak, lipoprotein lipaz aktivitesini azaltarak ve adipoz dokuda hormona duyarlı lipazın ekspresyonunu artırarak yapar. Ayrıca TNF- α , JNK aracılığıyla IRS proteinlerinin serin fosforilasyonu yoluyla insülin sinyal yolağını bozar (38). TNF- α , PPAR- γ 'nın aktivasyonuna neden olur. Adipositokinlerden leptinin ekspresyonunu ve salgılanmasını azaltır. İnsan adipoz

dokusunda yapılan in-vivo alışmalar TNF- α 'nın doğrudan metabolik dengenin bozulmasına neden olan bu olayları yaptığına dair net bir kanıt göstermemiştir. Dolaşımdaki TNF- α düzeyleri obezler ve diyabetik farelerde artarken, kilo kaybı TNF- α 'nın düzeylerini azaltır. Adiposit TNF- α mRNA'sının düzeyleri, beden kütle indeksi ile, vücut yağı ve hiperinsülinemi ile iyi korelasyon gösterir. Bugüne kadar hiçbir alışma TNF- α 'nın portal ven aracılığıyla karaciğere ulaşıp hepatik hasara yol açıp açmadığını göstermemiştir. Bununla birlikte Kupffer hücrelerinden TNF- α 'nın lokal retimi, NASH/NAFLD nin patogenezinde anahtar rol oynadığı ileri sürülmüştür. Ob/on farelerde, yağlı karaciğer lezyonları TNF- α üretiminin inhibisyonu ile ya da anti- TNF- α antikörlerinin infüzyonu ile anlamlı olarak iyileşmiştir (120).

2.6.4.4 Interlökin -6

IL-6, B ve T hücre fonksiyonlarının regülasyonu ile inflamasyonun konakçı savunmasından doku hasarına kadar pek çok sistemik etkisi olan endokrin bir sitokindir(121). Dolaşımdaki IL-6'ların yaklaşık olarak %33' adipoz dokudan kaynaklanır. Adipoz doku matriksinin % 90'ı immün hücreler (monositler), fibroblastlar ve endotel hücrelerden oluşur. Omental yağ subkutan yağdan 3 kat daha fazla IL-6 sentezler. Bununla birlikte subkutan yağdaki IL-6 ekspresyonu yemeği, egzersizi ve kilo değişikliklerini takiben hızla değişir. Plazma IL-6 düzeyleri obezitede artar ve tip 2 diyabet, metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde ngrcdr (122, 123). Adipogenezis zerine zayıf inhibitör etkisi vardır. Parakrin fonksiyonunda, çevredeki (surrounding) adipositlerden adiponektin salınımını azaltır, endotel hücreler üzerindeki lipoprotein lipazı inhibe eder, (egzersiz sonrası) lipolizi aktive eder.

2.6.4.5.Rezistin

Rezistin yağ dokusundan sentezlenen 114 amino asitlik bir diğer adipositokindir. Rezistinin insülin direnci gelişimine katıldığına dair başta ileri sürülenler şimdilerde aydınlatılması gerekir. Bazı bildirilerde abdominal depolardaki rezistin mRNA'sının ve protein ekspresyonu gluto-femoral bölgedeki yağa kıyasla artmış bulunurken, diğer çalışmalarda insan miyositlerinde, adipositlerinde ve biyopsiden elde edilen adipoz dokuda rezistin saptanamamıştır. Yine normal, insülin dirençli veya tip 2 diyabetli örnekler arasında fark bulunmamıştır (124, 125). İnsanlardaki serum rezistin konsantrasyonu hakkındaki bilgiler azdır ve insanlardaki rolünü açıklığa kavuşturmak için geniş populasyon çalışmaları hala yetersizdir.

2.7 OKSİDATİF STRES VE ANTIOKSİDANLAR

Oksidatif stresin insan sağlığı üzerine etkisi hakkında bilinenler son birkaç on yıldır artış göstermektedir. Oksijen serbest radikal oluşumu ve bu radikallerin antioksidanlar tarafından süpürülmesi arasındaki bozulmuş denge olarak tanımlanan oksidatif stresin, pek çok dejeneratif hastalığın veya ateroskleroz, kanser, obezite gibi pek çok kronik hastalığın patogenezinin katıldığı bilinmektedir. İnsanlar da diğer aerobik organizmalarda olduğu gibi, reaktif oksijen türlerinin potansiyel toksik etkilerinden kendilerini koruyabilmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Katalaz, süperoksit dimutaz gibi enzimleri içeren antioksidan kompleksler, DNA glikozilaz gibi enzimleri onarırlar. Askorbik asit (vitamin C), α - tokoferol (vitamin E), karotenoidler, retinol (vitamin A) ve koenzimQ10 gibi yağ ve suda çözünen vitaminlerin de antioksidan özellikleri vardır. İnsan plazmasındaki antioksidan düzeylerinin bilinmesi sağlık durumunun değerlendirilmesinde ve ciddi hastalıkların tedavisinde yardımcı olur. Son otuz yıldır gelişmiş ülkelerde antioksidan alımında gözlenebilir derecede bir azalma olduğuna dair bir hipotez vardır ve diyetel paterndeki değişiklikler oksidatif strese neden olabilir. Klinik ve biyolojik örneklerdeki lipofilik vitaminlerin miktar tayini tıp, epidemiyoloji ve bilgisayarlı açıdan önemlidir (126).

2.7.1 KoenzimQ10 (CoQ10)

Lipofilik bir antioksidan olan CoQ₁₀ oksidatif hasarın etkili bir inhibitörüdür. Lipoproteinlerde, lipofilik hücre partiküllerinde bulunur ve besinlerle alındığı gibi endojen olarak da sentezlenebilir. Ubikinol-10, CoQ₁₀'in indirgenmiş formudur ve çöpçü peroksil radikallerinin lipid peroksidasyonunu inhibe eder. CoQ₁₀'in okside formu, ubikinon-10 olarak bilinir. CoQ₁₀'un rejenere olabilme ve antioksidan etkinliği, ubikinol-10'a indirgenme hızına bağlıdır. Ubikinol-10, LDL oksidanlara maruz kaldığında ilk oksitlenen lipofilik antioksidandır. Bu yüzden de ubikinol-10/ubikinon-10 oranının, insan kanındaki oksidan/antioksidan arasındaki dağılımın değerlendirilmesinde bir belirteç olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür. Oksidatif hasar ile ilişkili hastalıklarda azalmış ubikinol-10/ubikinon-10 oranı saptanmıştır (128, 129).

2.7.2 α -Tokoferol

Vitamin E, kimyasal yapı itibarı ile bir tokol olup yağda çözünen önemli bir antioksidandır ve özellikle hücre zarları ve lipoproteinlerde önemli antioksidan fonksiyonları vardır. LDL'nin korunmasında peroksil radikallerinin etkisizleştirilmesinde, hücre membranında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidasyondan korunmasında görevlidir.

E vitamini aktivitesi gösteren farklı tokoferol (tokol veya tokotrienol) bileşikleri vardır. Bu bileşiklerin içerisinde en aktifi ise alfa-tokoferoldür. α -Tokoferol, zarlarda yaklaşık bir moleküle bin lipid molekülü oranında bulunur. Fitol kuyruğu sayesinde, yüzeye yakın olan aktif kroman halkasıyla birlikte zar alt tabakasında konumlanmak gibi eşsiz bir yeteneğe sahiptir. Bu hem lipid antioksidanı olarak iş görmesine hem de diğer antioksidanlarla etkileşime geçerek oksitlenmiş halinden kendi haline yeniden dönüşmesine imkân sağlar. Diğer antioksidanlarla, özellikle de suda çözünenlerle sinerjisi, antioksidan sistemin önemli bir özelliğidir (85, 130).

2.7.3 Retinol

A vitamini Retinol olarak da bilinir. Retinol hücre farklılaşmasında, reaktif oksijen türlerinin nötralizasyonunda ve immünolojik reaksiyonlarda fonksiyon gösterir. Antioksidan ve anti-inflamatuar ajan olarak anılır. Son yıllarda BMI ve bel çevresindeki artışlarla birlikte serum retinol konsantrasyonlarının azaldığına dair çalışmalar vardır (130). A vitamini dokuların bakım ve onarımı, yeni hücrelerin gelişmesi, kemiklerin ve dişlerin oluşumu için de önemlidir. Antioksidan olarak faaliyet yaparak hücreleri kansere ve diğer hastalıklara karşı korur, deride kollajen liflerinin yapımına yardımcı olarak yaşlanma sürecini yavaşlatır, yağ depolanmasına yardımcı olur. A vitamininin vücut açısından diğer bir önemi, proteinlerin Retinol olmadan kullanılamamasıdır. (131).

3. ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 ARAÇ VE GEREÇLER

3.1.1. Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Marka	Model	Üretici Firma
HPLC cihazı	Shimadzu	Shimadzu VP serisi	Shimadzu
pH metre	Hanna	H19321 microprocessor	Hanna Instrument
ELISA plak okuyucu	Biotek	Synergy HT	Biotek
ELISA plak yıkayıcı	Thermo	Wellwash 4 MK2	Thermo
Soğutmalı santrifüj	Sigma	2K15C	Sigma

3.1.2. Kimyasal Maddeler

Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Madde Adı	Kimyasal Formül	Katalog No
A-tokoferol		T3251 Sigma
Koenzim Q ₁₀		C-a538
Retinol	C ₂₀ H ₃₀ O	R-7632
Dipotasyum hidrojen fosfat	K ₂ HPO ₄	Fluka 60355
Potasyum hidrojen fosfat	KH ₂ PO ₄	Fluka 60230
Sodyum hidroksit	NaOH	Fluka 71689
Sodyum dodesil sülfat		Fluka 71728
n-butanol	C ₄ H ₉ OH	Fluka 34867
Etanol	C ₂ H ₅ OH	Fluka 34870
Metanol	CH ₃ OH	Fluka 34860
Hegzan		Fluka 34859

3.1.3. Kitler

Çalışmada Kullanılan Kitler

Kit Adı	Yöntem	Firma	Katalog No
Leptin	Sandwich ELISA	Biosource/Invitrogen	KAC2281
Adiponektin	Sandwich ELISA	Linco Research	EZHADP-61K
Rezistin	Sandwich ELISA	Millipore	EZHR-95K
Interlökin 6	Sandwich ELISA	Biosource/Invitrogen	KCH0061
TNF- α	Sandwich ELISA	Biosource/Invitrogen	KHC3011
Okside LDL	Sandwich ELISA	Biomedica	BI-10042

3.2 OLGULARIN SEÇİMİ, OLGU VE KONTROL GRUPLARININ OLUŞTURULMASI, ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI

3.2.1. Olguların Seçimi

3.2.1.1 Antropometrik Değerlendirme

Araştırmaya yaşları 11-18 arasında değişen 47 obez çocuk dahil edilmiştir. Tüm hastaların fizik incelemeleri ve antropometrik (boya göre ağırlık ve beden kütle indeksi) ölçümleri yapılmıştır. Hastaların hesaplanan vücut kütle indeksleri (Body mass index; BMI, ağırlık/boy²), aynı cinsteki çocukların vücut kütle indeksi persantilleri ile karşılaştırılıp, 95 persantilin üzerinde olanlar obez olarak kabul edilmiştir. Boya göre ağırlık (göreceli ağırlık) çocuğun ağırlığını ideal ağırlık ile karşılaştıran bir yöntemdir. Yaşa ve cinse göre düzenlenmiş boy ve vücut ağırlığını içeren tablolardan yararlanarak çocuğun boy yaşına uygun vücut ağırlığı bulundu. Boyun 50 persantilinde olduğu yaşın 50 persantilindeki ağırlığı, o çocuğun ideal ağırlığı olarak kabul edildi. Çocuğun ölçülen ağırlığının ideal oranlanması ile rölatif ağırlık hesaplandı. Rölatif ağırlığın % 120'nin üstünde olması obesite olarak değerlendirildi.

3.2.1.2 Hasta gruplarının oluşturulması

DEU Tıp Fakültesi Çocuk Gastroentoloji ve Beslenme Metabolizması Polikliniğine kilo fazlalığı yakınması ile başvuran ve antropometrik verilerine göre obezite tanısı alan tüm hastalara yağlı karaciğerin varlığını tespit etmek için batın ultrasonografi (USG) rutin olarak yapılmıştır. Ayrıca, yine obezite tanısı alan tüm hastalardan açlık kan şekeri, insülin testi, lipid profili, karaciğer fonksiyon testleri, tam kan sayımı, tiroid fonksiyon testleri gerçekleştirildi. Karaciğer enzimlerinde bozulma ve/veya USG ile yağlı karaciğer saptanan tüm hastalardan enfeksiyöz, metabolik ve otoimmün kaynaklı karaciğer patolojilerini ekarte etmek amacı ile

aşağıdaki parametrelerin çalışılması kısmında belirtilmiş olan incelemeler rutin olarak yapıldı.

USG sonuçlarına göre 47 obez çocuktan 20'sinde derecesi 1 ile 3 arasında değişen yağlı karaciğer hastalığı tespit edilmiştir. Olgular yağlı karaciğeri olan obez hastalar [NAFLD (+)] ve yağlı karaciğeri olmayan obez hastalar [NAFLD (-)] olarak iki gruba ayrıldı. Kontrol grubunun oluşturulmasında rutin sağlık kontrolü için çocuk polikliniğine başvuran, yaş ve cinsiyet olarak hasta gruplarına benzer olan 20 sağlıklı çocuk araştırmaya dahil edilmiştir.

3.2.1.3 Olguların Araştırmaya Dahil Olma ve Araştırmaya Alınmama Kriterleri

Çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Gastroenteroloji ve Beslenme-Metabolizma polikliniğine kilo fazlalığı yakınması ile başvuran ve eksojen obesite tanısı alan, 11–18 yaş arası hastalar alınmıştır. Bu çocuklar arasında Cushing Sendromu, steroid kullanma öyküsü, büyüme hormonu eksikliği, tip 1 diyabet ve hipotiroidi saptanan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

3.2.1.4 Hastalardan Örnek Toplanması

Hasta ve ebeveynlerine sözlü ve yazılı bilgi verilip ve onamları alındıktan sonra, hastaların rutin biyokimyasal incelemeleri, oksidasyon göstergeleri (ox-LDL, MDA), proinflamatuvar sitokinler (IL-6, TNF- α) ve yağ doku sitokillerinden (leptin, adiponektin, rezistin) için 12 saatlik açlıktan sonra antikoagülsüz tüplere 5 mL kan alınmıştır. Tam kan sayımı için K₂-EDTA'lı tüpe 2 mL kan alınmıştır. Antioksidan (retinol, tokoferol, ubikinon) parametrelerin çalışılması için 0.2 mL %3.8'lik sodyum sitrat içeren tüplere 9:1 oranında 3 mL kan alınmıştır. Kan örnekleri 4°C'de 10-15 dakika 3000 g'de santrifüj edildikten sonra plazmaları 300 μ L hacimlerde fraksiyonlanıp -80°C'lik derin dondurucuda analize kadar saklanmıştır.

3.3 PARAMETRELERİN ÇALIŞILMASI

DEU Tıp Fakültesi Çocuk Gastroenteroloji ve Beslenme Metabolizması Polikliniğine kilo fazlalığı yakınmasıyla gelen ve antropometrik ölçümlerine göre obezite tanısı alan hastaların tam kan sayımı, açlık kan şekeri, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transpeptidaz (GGT), total kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-K), düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (LDL-K), trigliserid düzeyleri rutin olarak bakılmıştır. ALT ve AST değerinin 5-45 U/L sınırları içinde olması normal olarak kabul edilmektedir. Bu düzeyin üzerinde ALT veya AST değeri olan hastalarda ve USG'de yağlı karaciğer ile uyumlu görünüm saptanan hastalarda, standard karaciğer fonksiyon testleri olarak total protein, albumin, total bilirubin ve protrombin zamanı test edilecek, enfeksiyöz, metabolik ve immunolojik kaynaklı karaciğer patolojilerini ekarte etmek amacı ile hepatit B ve C virüsü ve TORCH serolojileri, serum bakır ve seruloplazmin düzeyi, serum alfa 1-antitripsin düzeyi, otoantikolar (anti nükleer antikor, anti düz kas antikor, anti karaciğer böbrek mikrozomal-1 antikor) ve tiroid fonksiyon testleri rutin olarak yapılmıştır.

Çalışmamızda bu aşamaları tamamlamış ve yağlı karaciğere sahip olduğu belirlenmiş grupta ve obez çocuk grubunda oksidasyon göstergeleri, proinflamatuvar sitokinler, inflamasyon göstergelerinin, antioksidanların ve adipositokinlerin serum veya plazmadaki düzeyleri tayin edilmiştir.

Oksidasyon göstergeleri (ox-LDL), proinflamatuvar sitokinler (IL-6, TNF- α), adipokinler (leptin, adiponektin, rezistin) ELISA yöntemi ile, antioksidan (retinol, tokoferol, ubikinon) parametreler UV-dedektörlü HPLC sistemi ile ve oksidasyon göstergelerinden MDA ise floresan-dedektörlü HPLC sistemi ile çalışılmıştır.

3.3.1 İnsülin Direncinin Saptanması

İnsülin direnci homeostaz modeli değerlendirilmesi (HOMA-IR= Homeostasis Model Assessment) 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.

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

Normal bireylerde HOMA değeri 2,7'den düşük olarak bildirilmektedir. 2,7'nin üzeri insülin direncini yansıtır (132).

3.3.2 Yağ Doku Sitokinlerinin alışılması

3.3.2.1 Adiponektin Düzeylerinin Ölçümü:

Adiponektin düzeyleri serum örneklerinde sandviç ELISA yöntemi ile ölçüldü. Üretici firmanın yöntem için verdiği çalışma içi varyasyon katsayısı (intra-assay % CV) %7.4, alışmalar arası varyasyon katsayısı ise (inter-assay % CV) %8.4'dür.

Serum Adiponektin düzeylerini ölçmek için kullanılan kit içersindeki 96 kuyucuklu plakanın iç yüzeyi adiponektin molekülüne özgü monoklonal antikorlar ile kaplıdır. Olgu ve kontrol grubu örnekleri ile adiponektin içeriği bilinen standart örnekleri, spesifik adiponektin antikorları ile birlikte bu kuyucukların içinde inkübe edilir. Antijen-antikor kompleksi oluşur. İnkübasyonun ardından bağlanamayan moleküller kuyucuklar yıkanarak ortamdaki uzaklaştırılır. Plazma örneklerindeki bağlı olan adiponektin düzeylerini tespit etmek için kuyucuklara horseradish peroksidaz enzimi ile işaretli antikorlar, ikincil monoklonal antikorlar eklenir. İnkübasyon süresi bitiminde bir yıkama işleminin serbest kalan konjugat ortamdaki uzaklaştırılır. Peroksidaz ile reaksiyona giren tetrametil benzidin substratı kuyucuklara eklendiğinde enzimatik reaksiyon başlatılmış olur. Belirlenen inkübasyon süresinin bitiminde enzimatik reaksiyon durdurularak on kuyucuklarında oluşan sarı renkli çözeltinin 450 ve 590 nm'de absorbansı okunur. Renk yoğunluğu doğrudan örnekteki ikincil antikora bağlı adiponektin miktarıyla orantılıdır.

3.3.2.2 Leptin Düzeylerinin Ölçümü:

Leptin düzeyleri serum örneklerinde sandviç ELISA yöntemi ile ölçüldü. Üretici firmanın yöntem için verdiği çalışma içi varyasyon katsayıları (intra-assay % CV) ortalama ve standart sapması giderek artan 3 örnek için düşük değerden başlayarak sırasıyla: %3.0, % 3.8, % 3.9 olarak verilmiştir. Yine aynı şekilde artan düzeyler için çalışmalar arası varyasyon katsayısı (inter-assay % CV) % 3.9, % 5.3, %4.6 olarak verilmiştir.

Serum leptin düzeylerini ölçmek için kullanılan bu kit içerisindeki 96 kuyucuklu plakanın iç yüzeyi insan leptin antijenine spesifik olan antikor ile kaplıdır. Olgu ve kontrol grubu örnekleri ile leptin içeriği bilinen standart örneklerin uygun kuyucuklara eklenmesinin ardından, biyotinli monoklonal sekonder antikor her bir kuyucuk içerisindeki ayrı örnek ortamına eklenir. Böylece ve antijen leptin birincil ve ikincil antikor ile inkübe edilir. İlk inkübasyon sırasında insan leptin antijeni kuyucuklara immobilize olan birincil antikora bir yanından bağlanırken diğer yanından ise solüsyon fazındaki biyotinli antikora bağlanır, böylece leptin antijeni iki antikor arasında sıkışmıştır. İnkübasyon süresi sonunda bağlanmayan ikincil antikorlar yıkanarak ortamdan uzaklaştırılır. Plazma örneklerindeki bağlı leptin düzeylerini tespit etmek için ortama streptavidin peroksidaz enzimi eklenir. Bu enzim biyotinli antikora bağlanır ve dört üyeli bir sandwich oluşur. İkinci bir inkübasyonun ardından bağlanamayan enzimin uzaklaştırılması, ikinci yıkama işlemi yapılır. Bağlı olan peroksidaz enzimi ile reaksiyona girerek renk oluşumuna neden olan enzim substratı tetrametil benzidin ortama eklenir ve böylece reaksiyon başlatılmış olur. Belirlenen inkübasyon süresinin sonunda oluşan rengin 450 nm'deki absorbansı ölçülür. Renk yoğunluğu doğrudan örnekteki ikincil antikora bağlı antijen leptin miktarlarıyla orantılıdır.

3.3.2.3 Rezistin Düzeylerinin Ölçümü

Rezistin düzeyleri serum örneklerinde sandviç ELISA yöntemi ile ölçüldü. Üretici firmanın yöntem için verdiği çalışma içi varyasyon katsayısı (intra-assay % CV) %4.0, çalışmalar arası varyasyon katsayısı ise (inter-assay % CV) %7.7'dir.

Serum rezistin düzeylerini ölçmek için kullanılan kit içerisindeki 96 kuyucuklu plakanın iç yüzeyi rezistin molekülüne özgü monoklonal antikolar ile kaplı olup, olgu ve standart örnekler spesifik rezistin antikoları ile birlikte bu kuyucukların içinde inkübe edilerek antijen-antikor kompleksi oluşturulur. İnkübasyonun ardından bağlanamayan moleküller, kuyucuklar yıkanarak ortamdan uzaklaştırılır. Plazma örneklerindeki bağlı olan rezistin düzeylerini tespit etmek için kuyucuklara horseradish peroksidaz enzimi ile işaretli antikolar, ikincil monoklonal antikolar, eklenir. İnkübasyon süresi bitiminde bir yıkama işlemi ile serbest kalan konjugat ortamdan uzaklaştırılır. Peroksidaz ile reaksiyona giren tetrametil benzidin substratı kuyucuklara eklendiğinde enzimatik reaksiyon başlatılmış olur. Belirlenen inkübasyon süresinin bitiminde enzimatik reaksiyon durdurularak, reaksiyon ortamında, kuyucuklarda oluşan sarı renkli çözelti nin 450 ve 590 nm'de absorbansı okunur. Renk yoğunluğu doğrudan örnekteki ikincil antikora bağlı rezistin miktarıyla orantılıdır.

3.3.3 Oksidasyon Göstergelerinin Çalışılması

3.3.3.1 Okside LDL Düzeylerinin Ölçümü

Okside LDL düzeyleri serum örneklerinde sandviç ELISA yöntemi ile ölçüldü. Üretici firmanın yöntem için verdiği çalışma içi varyasyon katsayıları (intra-assay % CV) ortalama ve standart sapması düşük düzey için % 7.6, yüksek düzey için % 4.0'dür. Yine günler arası varyasyon katsayısı (inter-assay % CV) sırasıyla %10,7, % 6,2 olarak verilmiştir.

Serum okside LDL düzeylerini ölçmek için kullanılan kit içerisindeki 96 kuyucuklu plakanın iç yüzeyi insan okside LDL' sine spesifik olan antikor ile kaplıdır. Olgu ve kontrol grubu örnekleri ile okside LDL içeriği bilinen standart örnekleri uygun kuyucuklara eklenerek inkübasyona bırakılır. İlk inkübasyon sırasında insan okside LDL antijeni kuyucuklara immobilize olan birincil antikora bir yanından bağlanır. İnkübasyon sonrasında bağlanamayan örnek fazlası yıkanarak uzaklaştırılır. Anti-okside LDL ikincil antikorunu içeren konjugat solüsyonu eklenir ve ikinci inkübasyona geçilir. İnkübasyon sırasında serum okside LDL'nin diğer ucuna solüsyon içinde olan ve üzerinde HRPO enzimi bağlı bulunduran anti-okside LDL bağlanır. Böylece okside LDL antijeni iki antikor arasında sıkışmıştır. İnkübasyon sonrasında bağlanmayan ikincil antikorlar yıkanarak ortamdaki uzaklaştırılır. Plazma örneklerindeki bağlı ox-LDL düzeylerini tespit etmek için bağlı olan peroksidaz enzimi ile reaksiyona girerek renk oluşumuna neden olan enzim substratı tetrametil benzidin ortama eklenir ve böylece reaksiyon başlatılmış olur. Belirlenen inkübasyon süresinin sonunda reaksiyon durdurularak oluşan rengin 450 nm deki absorbansı okunur. Renk yoğunluğu doğrudan örnekteki ikincil antikora bağlı antijen ox-LDL miktarlarıyla orantılıdır.

3.3.3.2 Malondialdehit (MDA) tayini

MDA tayininde kullanılan çözeltiler:

2.8 mmol/l bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) etanolde çözülerek hazırlandı.

TBA+Asetik asit karışımı :8g/L TBA, 200mL/1 lik asetik asite 1:1 oranında dilue edilir ve karışım pH'sı 2 M NaOH ile 3.5'e ayarlandı.

%8.1'lik sodyumdodesil sülfat (SDS)

Mobil faz: KH_2PO_4 (potasyum hidrojen fosfat) ve K_2HPO_4 (dipotasyum hidrojen fosfat) konjuge baz çifti ile hazırlanan pH= 7 olan tampon çözeltisinden oluşur.

KH_2PO_4 , 1.361 g/L; 0.6805 g/500 mL %30 metanol içerecek şekilde 250 mL hazırlandı.

K_2HPO_4 , 1.7418 g/L; 0,8709 g/mL %30 metanol içerek şekilde 75 mL hazırlandı ve pH=7 ye gelecek şekilde iki fosfat tamponu karıştırılarak çözücü tampon hazırlandı.

MDA tayininde kullanılan standart çözeltilerinin hazırlanması:

1,1,3,3 tetraethoksiopropan (%97, d=0.92 Sigma T9889) 247 μL 'lik stok standart çözeltisi 100 mL ye tamalanarak (Seyreltmeler saf su ile yapıldı)

10 mM 1. ara stok standart hazırlandı. Birinci ara stoktan,

1/10 seyreltme ile 1000 μM 'lık 2. ara stok, ikinci ara stoktan,

1/10 seyreltme ile 100 μM 'lık 3. ara stok hazırlandı.

100 μM 'lık stok kullanılarak aşağıdaki tabloda verilen seyreltmelerle MDA standart çözeltileri hazırlandı.

MDA standart çözeltisi konsantrasyonu (μM)	100 μM 'lık çözeltiden seyreltilen hacim (μL)	Eklenen saf su (μL)
50	500	500
40	400	600
20	200	800
10	100	900
5	50	950
3	30	970
1.5	15	985
0.75	7.5	992.5

Örneklerin hazırlanması:

MDA ölçümünde reaksiyon prensibi MDA'nın alkali pH'da tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan bileşiğin floresans ışımaya yapmasına dayanır. HPLC

sisteminde eksitasyon dalga boyu 515 nm, emisyon dalga boyu 535 nm ve akış hızı 0.8mL/dakika olarak uygulanmıştır.

Olgu ve kontrol gruplarında serum MDA tayini, aşağıda verilen işlem sırasına göre yapılmıştır.

40µL serum örneğine sırasıyla, 100 µL saf su, 20 µL 2.8 mmol/L BHT, 40 µL %8.1'lik SDS ve 600 µL TBA+ Asetik asit karışımı eklendi. Örnekler 95°C'lik su banyosunda bir saat bekletildiler. İnkübasyonun ardından tüm örnekler buz üzerine alınarak soğutuldu. Sırasıyla 200 µL saf su, 1000 µL butanol/pridin karışım çözeltisi eklenerek bir dakika vorteksledi, ardından tüpler 2-3 dakika bekletildi. Pembe renkli bir üst fazın oluştuğu gözlemlendi. Üst fazlar ependorflara alındı ve 15,000 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatantdan 10 µL alınarak HPLC sistemine enjekte edildi (133).

3.3.3.3 Interlökin-6 (Il-6) Düzeylerinin Belirlenmesi

Interlökin-6 düzeyleri plazma örneklerinde sandviç ELISA yöntemi ile ölçüldü. Üretici firmanın yöntem için verdiği çalışma içi varyasyon katsayıları (intra-assay % CV) ortalama ve standart sapması giderek artan 3 örnek için düşük değerden başlayarak sırasıyla: %7.7, % 5.7, % 5.1'dir. Yine aynı şekilde artış için çalışmalar arası varyasyon katsayısı (inter-assay % CV) % 9.3, % 6.5, %7.8 olarak verilmiştir.

Plazma IL-6 düzeylerini ölçmek için kullanılan bu kit içerisindeki 96 kuyucuklu plakanın iç yüzeyi insan IL-6' sına spesifik antikolarla kaplı olup olgu ve standartlara ait örneklerin kuyucuklara eklenmesinin ardından, biyotinli monoklonal sekonder antikolar kuyucuklara eklenir. Böylece IL-6, birincil ve ikincil antikolar ile inkübe edilmiş olur. İlk inkübasyon sırasında insan IL-6 antijeni kuyucuklara immobilize olan birincil antikora bir yanından bağlanır. Diğer yanı ise solüsyon fazındaki biyotinli antikora bağlanır, böylece IL-6 antijeni iki antikor arasında sıkışmıştır. İnkübasyon sonrasında bağlanmayan ikincil antikolar yıkanarak ortamdan uzaklaştırılır. Plazma örneklerindeki bağlı IL-6 düzeylerini tespit etmek için ortama

streptavidin peroksidaz enzimi eklenir. Bu enzim biyotinli antikora bağlanır ve dört üyeli bir sandviç oluşur. İkinci bir inkübasyonun ardından bağlanamayan enzimin uzaklaştırılması içinde ikinci yıkama işlemi yapılır. Bağlı olan peroksidaz enzimi ile reaksiyona girerek renk oluşumuna neden olan enzim substratı tetrametil benzidin ortama eklenir ve böylece reaksiyon başlatılmış olur. Belirlenen inkübasyon süresinin sonunda oluşan rengin 450 nm deki absorbansı ölçülür. Renk yoğunluğu doğrudan örnekteki ikincil antikora bağlı antijen IL-6 miktarlarıyla orantılıdır.

3.3.3.4 Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF- α) Düzeylerinin Ölçümü

TNF- α düzeyleri serum örneklerinde sandviç ELISA yöntemi ile ölçüldü. Üretici firmanın yöntem için verdiği çalışma içi varyasyon katsayıları (intra assay % CV) ortalama ve standart sapması giderek artan 3 örnek için düşük değerden başlayarak sırasıyla: %5,2, % 4,1, % 3,9'dur. Yine aynı şekil olan artış için, çalışmalar arası varyasyon katsayısı (inter assay % CV) % 8,5, % 8,2, % 5,9 olarak verilmiştir.

Plazma TNF- α düzeylerini ölçmek için kullanılan bu kit içerisindeki 96 kuyucuklu plakanın iç yüzeyi insan TNF- α ' ya spesifik olan antikor ile kaplıdır. Olgu ve kontrol grubu örnekleri ile TNF- α içeriği bilinen standart örneklerin uygun kuyucuklara eklenmesinin ardından inkübasyona geçilir. İlk inkübasyon sırasında örneklerdeki antijen TNF- α ile kuyucuk yüzeyine immobilize TNF- α ya spesifik antikor kompleks oluşturur. Inkübasyon sonunda yıkama ile ortamdaki kalıntılar uzaklaştırılarak, TNF- α ya spesifik biyotinli monoklonal sekonder antikorlar ile inkübe edilir. İkinci inkübasyon sırasında immobilize monoklonal antikora bir yanından bağlı olan insan TNF- α antijeni diğer yandan ise solüsyon fazındaki biyotinli antikora bağlanır, böylece TNF- α antijeni iki antikor arasında sıkışmıştır. Inkübasyon sonrasında bağlanamayan ikincil antikorlar yıkanarak ortamdan uzaklaştırılır. Plazma örneklerindeki bağlı TNF- α düzeylerini tespit etmek için ortama streptavidin peroksidaz enzimi eklenir. Bu enzim biyotinli antikora bağlanır ve

dört üyeli bir sandviç oluşur. Üçüncü bir inkübasyonun ardından bağlanamayan enzimin uzaklaştırılması için de üçüncü bir yıkama işlemi daha yapılır. Bağlı olan peroksidaz enzimi ile reaksiyona girerek renk oluşumuna neden olan enzim substratı tetrametil benzidin ortama eklenir, böylece reaksiyon başlatılmış olur. Belirlenen inkübasyon süresinin ardından reaksiyon durdurulur ve oluşan rengin 450 nm deki absorbansı ölçülür. Renk yoğunluğu doğrudan örnekteki ikincil antikora bağlı antijen TNF- α miktarlarıyla orantılıdır.

3.3.4 Plazma Antioksidan Düzeylerinin Belirlenmesi

Yöntem:

KoenzimQ10, alfa-tokoferol ve retinol antioksidan vitaminlerin plazma düzeylerinin tespitinde UV dedeksiyonlu ters faz RP-HPLC (Reversed Phase- High Performance Liquid Chromotography) sistemi ile üç farklı dalga boyunda çalışılmıştır.

Retinol, α -tokoferol ve koenzim Q10 analizleri sırasıyla 324, 292 ve 276 nm'lerde karakteristik maksimum UV soğurumu yaparlar. Analizin seçicilik ve duyarlılığını arttırmada HPLC-UV dedeksiyonu için bu analitik dalga boyu uzunlukları seçildi. İyi pik alanı ve en iyi ayırmayı yapmak için dakikada 1 mL'lik akış hızında (1 mL/dakika) 72.28 oranlarında metanol ve n-hegzan içeren mobil faz kullanıldı. Bu antioksidan vitaminlerin UV dedektörlü HPLC sistemi ile ayrılmasında, vitaminlerin aşağıda belirtilen HPLC kolonunda alıkonma süreleri dikkate alınarak izokratik program uygulanmıştır. Buna göre 324 nm'de karakteristik soğurum yapan retinol için cihaz 0 ila 2.8 dakikaları arasında 324 nm de ölçüm yapmıştır. Diğer antioksidanların alıkonma sürelerine bağlı olarak oluşturulan izokratik program ve soğurum yaptıkları absorbans değerleri aşağıda verilmiştir.

(İzokratik program/Alıkonma süreleri)

- I 0-2,8 dakika 324 nm / Retinol 2.55 dakika
- I 2,8-4,5 dakika 292 nm / α -Tokoferol 3.1 dakika, α -Tokoferol Asetat 3.8 dakika.
- I 4,5-8 dakika 276 nm / Ubikinon 6.78 dakika

Biyolojik örneklerde Retinol, α -tokoferol ve koenzim Q10'nun örneklerdeki miktarının belirlenmesinde, her üçü için ayrı ayrı oluşturulan standartların konsantrasyonuna karşı gelen pik alanlarından kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Bu eğeri kullanılarak örneklerdeki antioksidan vitamin konsantrasyonları hesaplanmıştır.

Vitamin tayininde kullanılan stok çözeltiler:

0.58 mM CoQ₁₀; 1.20 mM γ -TP; 1.15 mM α -TP stok solüsyonları hazırlanırken substratların uygun miktarları n-hegzanda çözülerek hazırlandı. Retinolün 1.75mM'lık stok solüsyonu etanolün uygun miktarında çözülerek hazırlandı. Analitlerin çalışma solüsyonları stok solüsyonlarının uygun miktarının n-hegzan içinde çözülmesiyle hazırlandı. Tüm standart solüsyonları analize kadar -20°C de saklandı.

Örnek Toplanması:

Kan örnekleri en son yemekten en az 12 saat sonra sabah 8–10 arasında toplanmıştır. Kan örnekleri 0.2 mL %3.8'lik sodyum sitrat içeren test tüplerine 9:1 oranında alınır. Kan örnekleri 4 °C de 15dakika 3000 g'de de santrifüj edilir. Elde edilen süpernatantlar - 80°C de analize kadar saklanır.

Örneklerin Hazırlanması:

Donmuş örnekler analiz öncesinde çözülmesi için oda sıcaklığına getirildi. Ardından çözünen plazma örnekleri aşağıda bahsedilen prosedüre göre işlemlendi.

0.25 mL'lik plazma örnekleri ependorf mikrosantrifüj tüplerine pipetlendi ve 0.5 mL metanol ile deproteinize edildi. Ardından 0.75 mL n-hegzan eklendi. Oluşturulan çözeltiler 3 dakika vortekslenip ardından ve 6000 g'de de 5-10 dakika santrifüj edildi. Sonra temiz hegzan tabakası başka bir tübe aktarılıp, plazma vitaminleri 0.75 mL n-hegzan ile yeniden ekstrakte edildi. Ekstraktlar tek ependorfta toplandı. Plazma ekstraktları nitrojen gazı altında buharlaştırıldı. Kuru kalıntı 0.25 mL'lik mobil faz içinde çözülüp ve HPLC sistemine enjekte edildi (127).

3.4 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 15.0 Windows programı kullanıldı. Olgu ve kontrol gruplarına ait tanımlayıcı bulgular ve rutin biyokimyasal parametrelere ait değerlerin aritmetik ortalamaları, bu değerlerin grup içi dağılımını yansıtmak için standart sapma ile birlikte verilmiştir (Ortalama değer \pm standart sapma, $ort \pm SD$). Olgu ve kontrol gruplarına ait çalışılan diğer tüm parametrelerin aritmetik ortalamasının gruplar arasında karşılaştırılmasında, ortalama değerler standart hata ile birlikte verilmiştir (ortalama değer \pm standart hata, $ort \pm SEM$). Grup ortalamalarının birbirlerine göre anlamlı derecede farklılığının araştırılmasında hasta sayıları dikkate alınarak nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Olgu ve kontrol gruplarının tümünde korelasyon analizi için "Pearson korelasyon testi" kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık değeri $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 TANIMLAYICI BULGULAR

Çalışmaya yaşları 11 ile 18 arasında değişen 47 çocuk (21 kız çocuk, 26 erkek çocuk) dâhil edildi. Bu çocukların 20'si USG ile derecesi 1 ile 3 arasında değişen yağlı karaciğer tanısı almıştır. Yaş ve cinsiyet dağılımı olarak olgu grubuna benzer olan 19 sağlıklı çocuk kontrol grubunu oluşturdu. Kontrol, NAFLD (-) obez ve NAFLD (+) obez grubuna ait antropometrik veriler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. NAFLD (+) ve NAFLD (-) obez grupları ile kontrol grubuna ait antropometrik ve sosyodemografik özellikler.

Gruplar	NAFLD(+) obez	NAFLD (-) obez	Kontrol
n	20	27	19
Erkek çocuk	10	15	11
Kız çocuk	10	12	8
Yaş	13.85 ± 2.02	12.55± 2.02	14.82± 1.81
Ağırlık (kg)	79.94 ± 16.42 ^{a,*}	68.8 ± 16.36 [#]	57.87± 13.61
Boy (cm)	163.20± 10.51 [*]	156.28± 12.27 [#]	165.86±13.04
Boya göre ağırlık (%)	147.04±17.16 ^a	146.23±14.95 ^b	107.50±14.58
BMI (kg/m ²) ^{&}	29.74±3.67 ^a	28.23±3.57 ^b	20.75±2.93

^ap<0.001 NAFLD (+) obez ile kontrol grupları arasında anlamlı fark vardır.

^{*} p<0.05 NAFLD(+) obez ile NAFLD (-) obez grupları arasında anlamlı fark vardır.

[#] p<0.05 NAFLD (-) obez ile kontrol grupları arasında anlamlı fark vardır.

^bp<0.001 NAFLD (-) obez ile kontrol grupları arasında anlamlı fark vardır.

& Adolesan çağda VKI'leri arasında karşılaştırma yapmak uygun görülmediği için boya göre ağırlık istatistiksel olarak karşılaştırmaya tabi tutulmuştur (10).

NAFLD (-) obez ve NAFLD (+) obez grupları beraber “obez” grup olarak birleştirildiğinde, bu gruba ve kontrol grubuna ait antropometrik ve sosyodemografik özellikler Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Obez ve kontrol gruplarına ait antropometrik ve sosyodemografik özellikler.

Gruplar	Obez	Kontrol
Erkek çocuk (n=36)	25	11
Kız çocuk (n=30)	22	8
Yaş	13.10±2.10	14.8±1.81
Ağırlık (kg)	73.54±17.13*	57.87±13.61
Boy (cm)	159.28±11.93*	165.86±13.04
Boya göre ağırlık (%)	146.58±15.76 ^a	107.51±14.59
BMI (kg/cm ²)	28.90±3.65 ^a	20.75±2.93

p<0.05; ^a p<0.001 düzeylerinde obez ile kontrol grupları arasında anlamlı fark vardır.

Tablo 3. NAFLD (-) obez, NAFLD (+) obez ve kontrol gruplarına ait rutin biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması.

Gruplar	NAFLD(+) obez	NAFLD (-) obez	Kontrol
Glukoz (mg/dL)	88.30±8.29	86.55±7.59	90.73±7.21
İnsülin (µU/mL)	16.77±8.37 ^{*,a}	9.67±5.20	7.28±2.62
HOMA	3.73±1.91 ^{*,a}	2.06±1.14	1.57±0.65
AST (U/L)	25.05±7.98 ^a	21.27±4.85 ^c	17.38±4.89
ALT (U/L)	37.60±11.05 ^{*,a}	20.59±11.52 ^b	11.06±3.45
GGT (U/L)	22.46±7.63 ^{*,a}	16.4±5.24 ^c	12.16±1.60
TG (mg/dL)	165.95±90.60 [*]	107.66±44.02 ^b	72.00±32.76
TKOL (mg/dL)	169.3±25.82 [#]	179±32.06 ^c	147.36±31.74
HDL-K (mg/dL)	56.65±66.10	50.11±12.98	47.71±10.07
LDL-K (mg/dL)	95.35±26.77	107.67±21.82	85.14±24.7

* p <0.05 düzeyinde NAFLD (+) obez ile NAFLD (-) obez grupları arasında anlamlı fark vardır.

^ap<0.001 düzeyinde NAFLD (+) ile kontrol; [#] p<0.05 düzeyinde NAFLD (+) ile kontrol grupları arasında anlamlı fark vardır.

^bp<0.001 düzeyinde NAFLD (-) ile kontrol; ^cp< 0.05 düzeyinde NAFLD (-) ile kontrol grupları arasında anlamlı fark vardır.

Tablo 4. Obez ve kontrol gruplarına ait rutin biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması.

Gruplar	Obez	Kontrol
Glukoz (mg/dl)	87.30±7.86	90.73±7.21
İnsülin (µU/mL)	12.67±7.52 *	7.28±2.64
HOMA	2.77±1.71 *	1.57±0.65
AST (U/L)	23.35±6.76 ^a	17.38±4.89
ALT (U/L)	27.83±21.16 ^a	11.06±3.45
GGT (U/L)	19.21±7.05 *	12.16±1.60
TG (mg/dL)	132.47±73.03 ^a	72.00±32.76
TKOL (mg/dL)	175.06±29.69	147.36±31.74
HLD-K (mg/dL)	52.89±43.70	47.71±10.07
LDL-K (mg/dL)	102.42±24.55	85.14±24.73

^ap< 0.001, * p< 0.05 düzeylerinde obez ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.

Obez ve kontrol grubu arasında glukoz ve kolesterol parametreleri dışındaki diğer rutin parametreler olan insülin, HOMA, AST, ALT, GGT ve TG anlamlı olarak farklıdır. Özellikle AST, ALT ve TG düzeylerine ait anlamlılık düzeyi daha yüksek bulunmuştur (p<0.001, Tablo 4).

Çalışmaya alınan obez olgular IR yönünden yeniden gruplanarak IR (+) yani HOMA>2.7 olan olgular ile IR(-) yani HOMA<2.7 olan olgular rutin parametreler yönünden kıyaslanmıştır. Tablo 5’de görüldüğü gibi insülin direnci olan obez olguların rutin biyokimyasal testleri, insülin direnci olmayan obez olgular ile karşılaştırıldığında, IR (+) obez gruba ait glukoz, insülin ve HOMA değerleri sırasıyla anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (p<0.001, p<0.05, p<0.05). IR (+) obez ile IR (-) obez grupları arasında anlamlı fark olmayan rutin biyokimyasal parametreler Tablo 5’de gösterilmemiştir.

Tablo 5. IR (+) obez olgular ve IR (-) obez olguların rutin biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması.

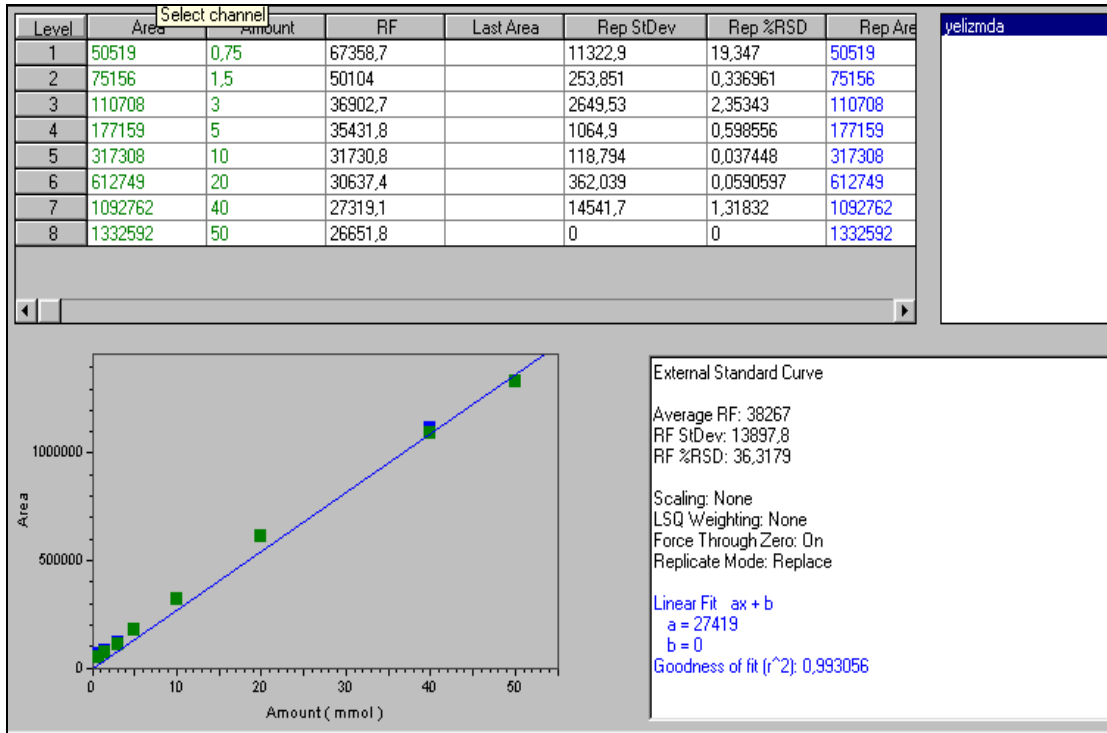
Gruplar	IR (+) Obez	IR (-) Obez
Glukoz (mg/dL)	90.72±7.75 ^a	85.52±6.81
İnsülin (µU/mL)	20.33±5.45 [*]	7.56±2.91
HOMA	4.55±1.22 [*]	1.58±0.57

^ap< 0.001, * p< 0.05 düzeylerinde IR (+) obez ile IR (-) obez grupları arasında anlamlı fark vardır.

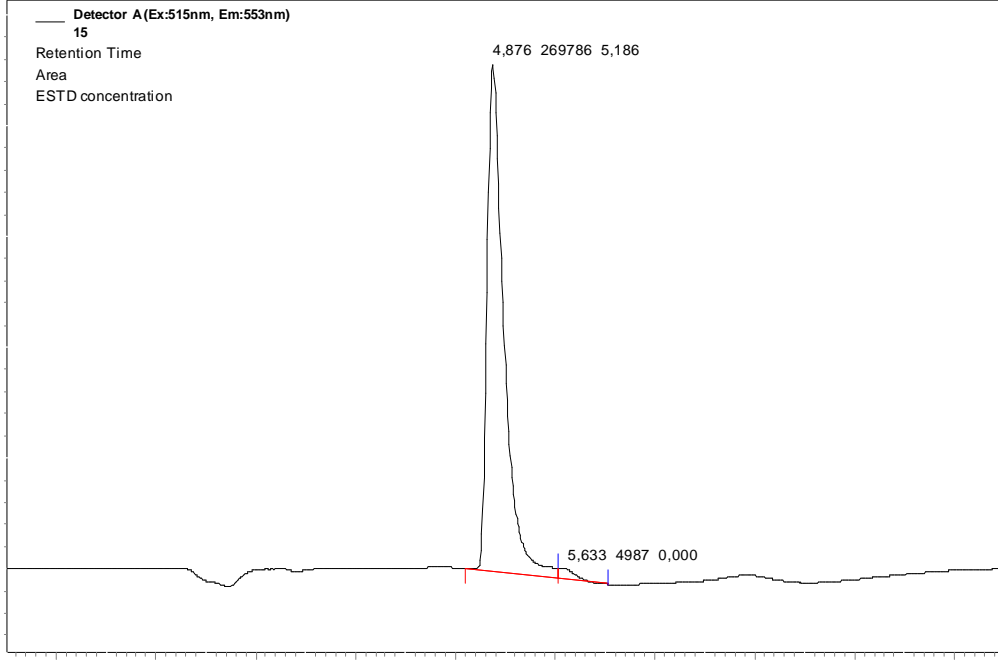
4.2 OKSİDASYON GÖSTERGELERİNE AİT BULGULAR

4.2.1 MDA Bulguları

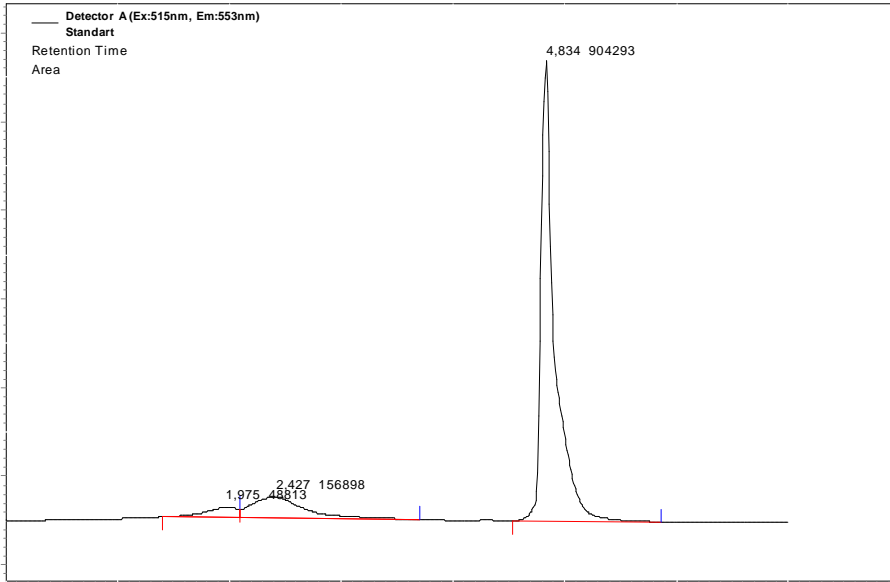
MDA standartlarına ait floresans ölçüm değerleriyle oluşturulan kalibrasyon grafiği aşağıdaki gibidir.



Şekil 6. MDA kalibrasyon grafiği.



Şekil 7. Bir MDA standardına ait kromatogram.



Şekil 8. Bir örneğe ait MDA kromatogramı.

4.2.2. Oksidasyon Göstergelerine Ait Bulgular

Oksidasyon göstergelerinin her ikisi de hem NAFLD (+) obez, hem de NAFLD (-) obez olgu grubunda kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Ox-LDL düzeylerinin NAFLD (+) obez olan grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür (Tablo 6).

Tablo 6. NAFLD (-) obez, NAFLD (+) obez ve kontrol gruplarına ait oksidasyon göstergelerinin (ox-LDL ve MDA) karşılaştırılması.

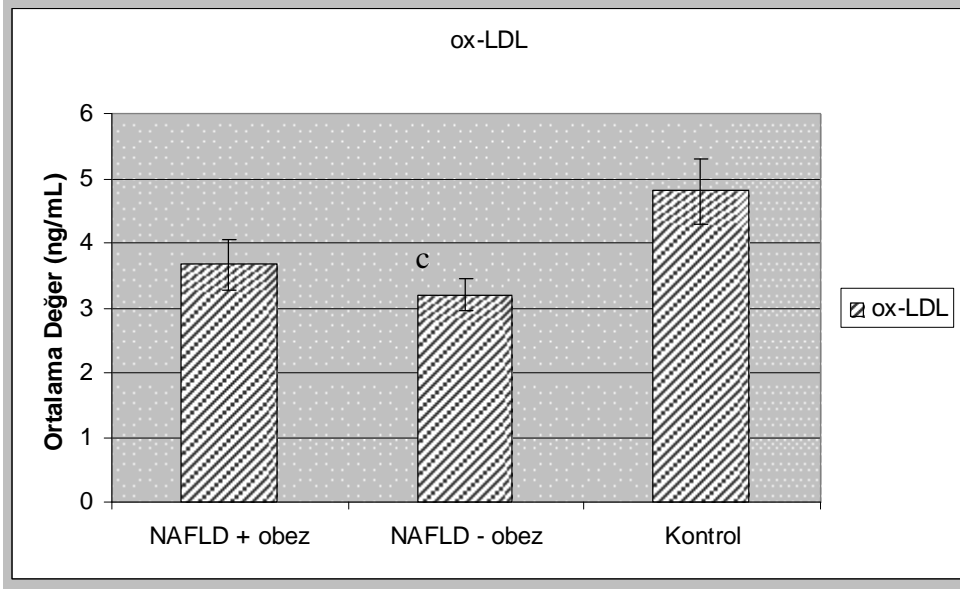
Gruplar	NAFLD (+) obez	NAFLD (-) obez	Kontrol
n	20	27	19
ox-LDL (ng/mL)	3.67±0.40	3.20±0.24*	4.80±0.51
MDA (µmol/L)	4.02±0.24	4.20±0.15	4.51±0.21

*p<0.05 düzeyinde NAFLD (-) obez ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.

Obez grup tüm olarak değerlendirildiğinde, ox-LDL ve MDA düzeyleri kontrol grubunda daha yüksektir. ox-LDL düzeylerindeki artış anlamlıdır (p<0.05) ve bu artış yağlı karaciğeri olmayan obez çocuklardan kaynaklanmaktadır (Tablo 7).

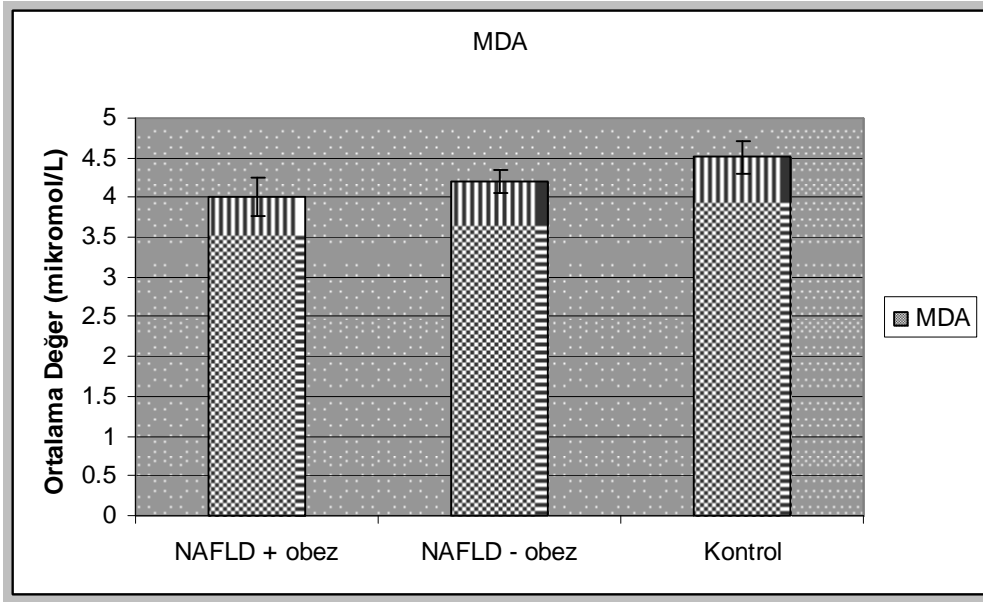
Tablo 7. Obez ve kontrol gruplarına ait oksidasyon göstergelerinin (ox-LDL ve MDA) karşılaştırılması.

	Obez grup (n=47)	Kontrol grubu (n=19)	p değeri
ox-LDL (ng/mL)	3.40±0.22	4.80±0.51	< 0.05
MDA (µmol/L)	4.12±0.13	4.51±0.21	Anlamlı değil



Şekil 9. NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait plazma ox-LDL düzeylerinin karşılaştırılması.

^cp < 0.05 düzeyinde NAFLD (-) obez ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.



Şekil 10. NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait plazma MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

4.3 PROİNFLAMATUAR SİTOKİNLER ve İNFLAMASYON GÖSTERGESİNE AİT BULGULAR

NAFLD (+) olan obez olgularda, TNF- α , IL-6 ve CRP düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (Tablo 8, Şekil 11, 12, 13). NAFLD (-) olan obez olgularda NAFLD (+) obez grubundan farklı olarak, sadece IL-6 düzeylerindeki artış kontrol grubuna göre anlamlı farklı değildir (Tablo 8). Proinflamatuvar parametreler açısından iki olgu grubu kendi içinde değerlendirildiğinde de anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 8. NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait proinflamatuvar parametrelerin (IL-6, TNF- α) ve CRP'nin karşılaştırılması.

Gruplar	NAFLD (+) obez	NAFLD (-) obez	Kontrol
n	20	27	19
IL-6 (pg/mL)	4.5 \pm 0.51 [#]	4.33 \pm 0.55	2.75 \pm 0.62
TNF- α (pg/mL)	4.42 \pm 0.85 [#]	4.70 \pm 0.91 ^c	1.56 \pm 0.70
CRP (mg/L)	2.45 \pm 0.35 ^a	3.57 \pm 0.54 ^b	0.95 \pm 0.43

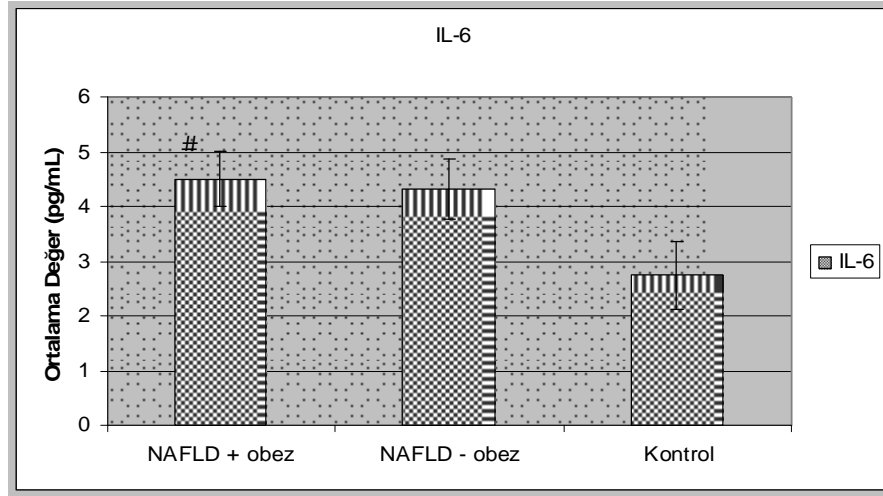
^ap<0.001 düzeyinde NAFLD (+) obez ile kontrol; [#] p<0.05 düzeyinde NAFLD (+) ile kontrol grupları arasında anlamlı fark vardır.

^bp<0.001 düzeyinde NAFLD (-) obez ile kontrol; ^c p< 0.05 düzeyinde NAFLD (-) ile kontrol grupları arasında anlamlı fark vardır.

Obez ve kontrol grupları proinflamatuvar parametreler ve inflamasyon göstergesi yönünden değerlendirildiğinde, IL-6, TNF- α ve CRP'nin obez grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 9).

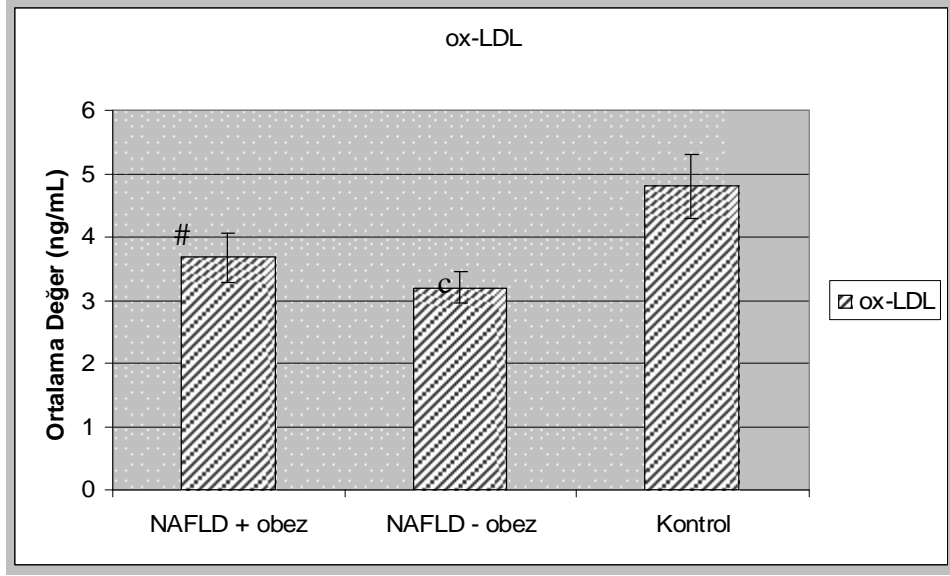
Tablo 9. Obez ve kontrol gruplarına ait proinflatuar parametrelerin (IL-6, TNF- α) ve CRP'nin karşılaştırılması.

	Obez grup (n=47)	Kontrol grubu (n=19)	p değeri
IL-6 (pg/mL)	4.40 \pm 0.38	2.75 \pm 0.62	<0.05
TNF- α (pg/mL)	4.58 \pm 0.63	1.56 \pm 0.69	<0.005
CRP (mg/L)	3.08 \pm 0.35	0.95 \pm 0.43	<0.001



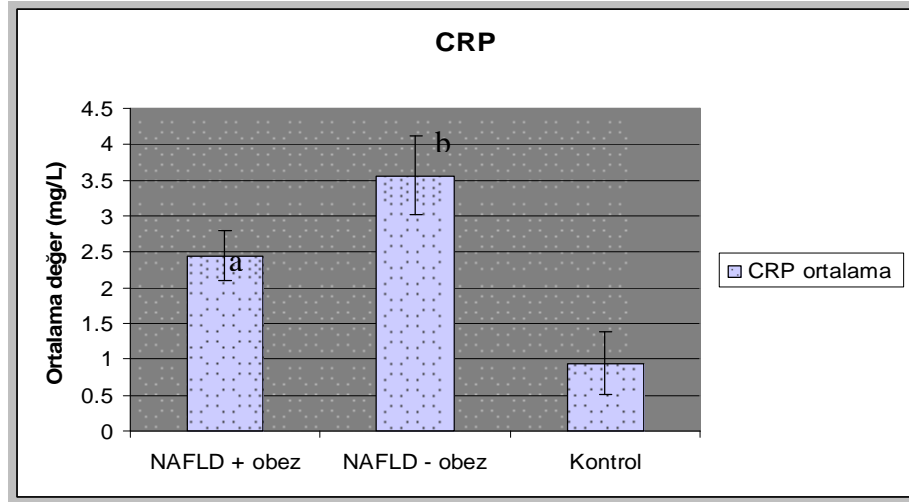
Şekil 11. NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait plazma IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması.

p<0.05 düzeyinde NAFLD (+) obez ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.



Şekil 12. NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait plazma TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması.

[#]p<0.05 düzeyinde NAFLD (+) obez ile kontrol; ^cp< 0.05 düzeyinde NAFLD (-) obez ile kontrol grupları arasında anlamlı fark vardır.

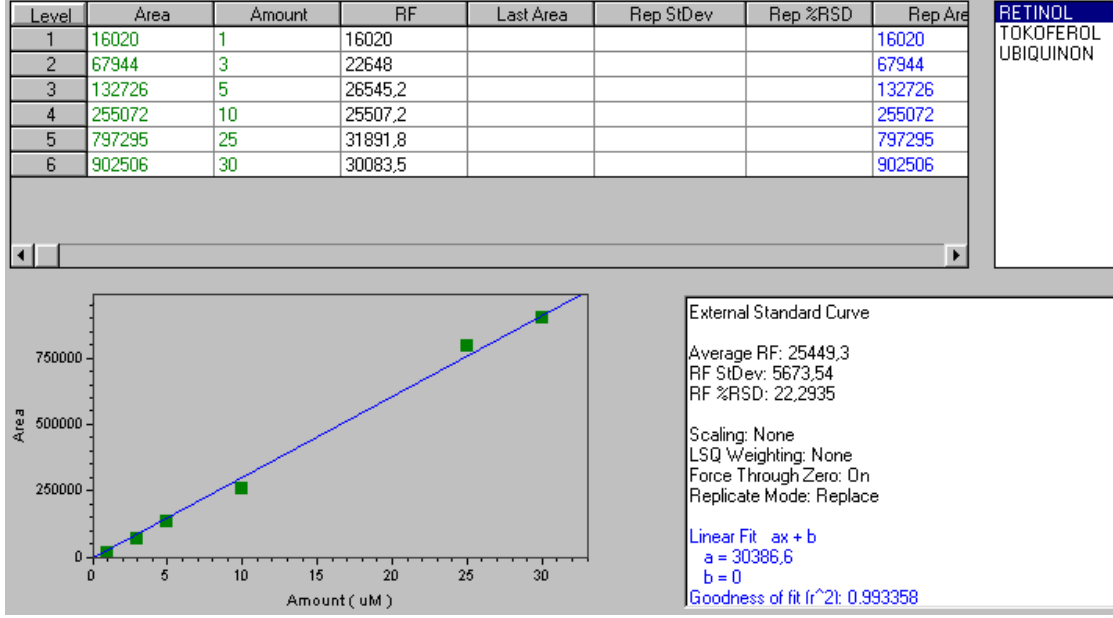


Şekil 13. NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait serum CRP düzeylerinin karşılaştırılması.

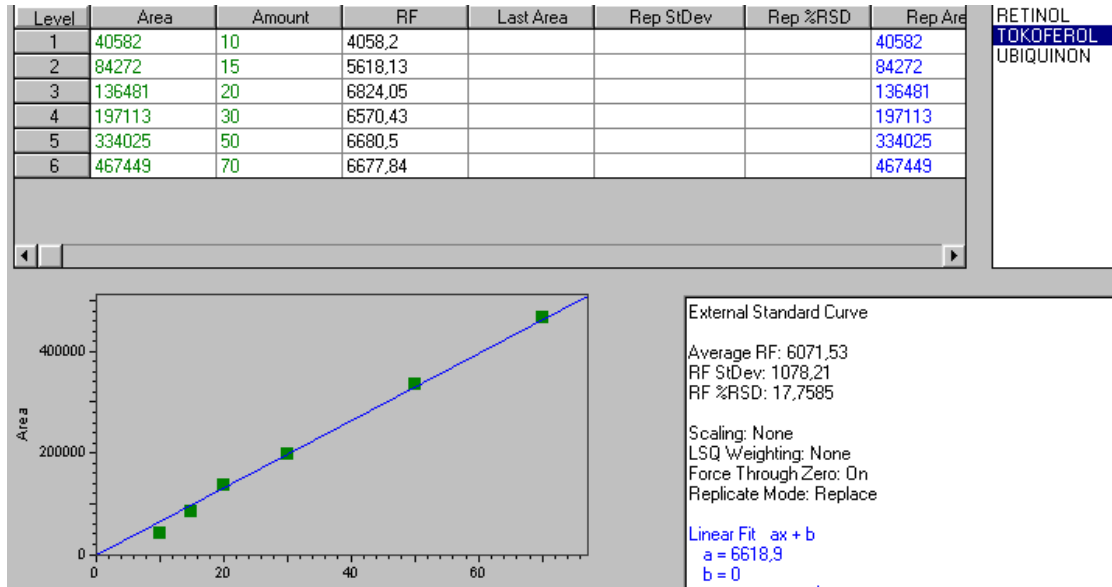
^ap<0,001 düzeyinde NAFLD (+) obez ile kontrol; ^bp<0,001 düzeyinde NAFLD (-) obez ile kontrol grupları arasında anlamlı fark vardır.

4.3. ANTIÖKSİDAN PARAMETRELERE AİT BULGULAR

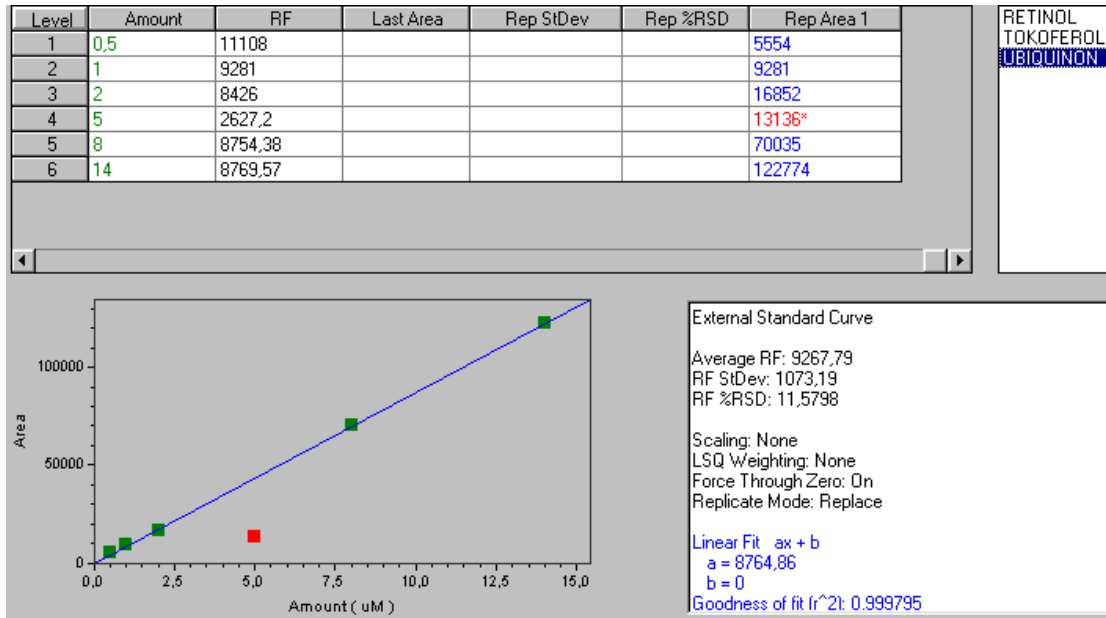
Antioksidanların UV-dedeksiyonlu HPLC ile tayini için oluşturulan kalibrasyon eğrileri aşağıda verilmiştir.



Şekil 14. Retinol Kalibrasyon Eğrisi.

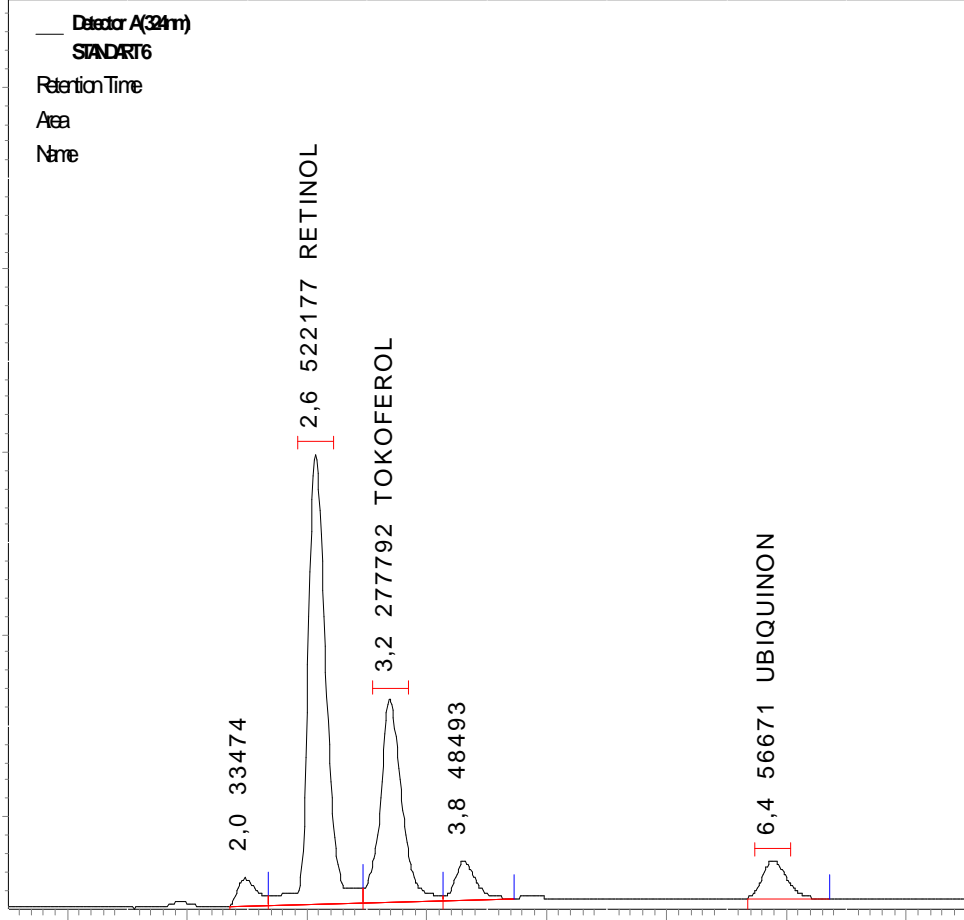


Şekil 15. α -Tokoferol Kalibrasyon Eğrisi.



Şekil 16. Ubikinon Kalibrasyon Eğrisi.

Antioksidan standartlarına ait kromatogram aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 17. Antioksidan standartlarına ait kromatogram.

Antioksidan parametrelerden sadece retinol düzeylerinde anlamlı fark bulunmuştur. NAFLD (+) obez grubuna ait retinol düzeyleri, kontrol grubununkine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). NAFLD (+) obezler ile NAFLD (-) obezler arasında antioksidan parametreleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Yine NAFLD (-) obezler ile kontrol grubu arasında da aynı parametreler açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 10, Şekil 17).

Tablo 10. NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol grubuna ait plazma antioksidan (CoQ₁₀, retinol ve α -tokoferol) düzeylerinin karşılaştırılması.

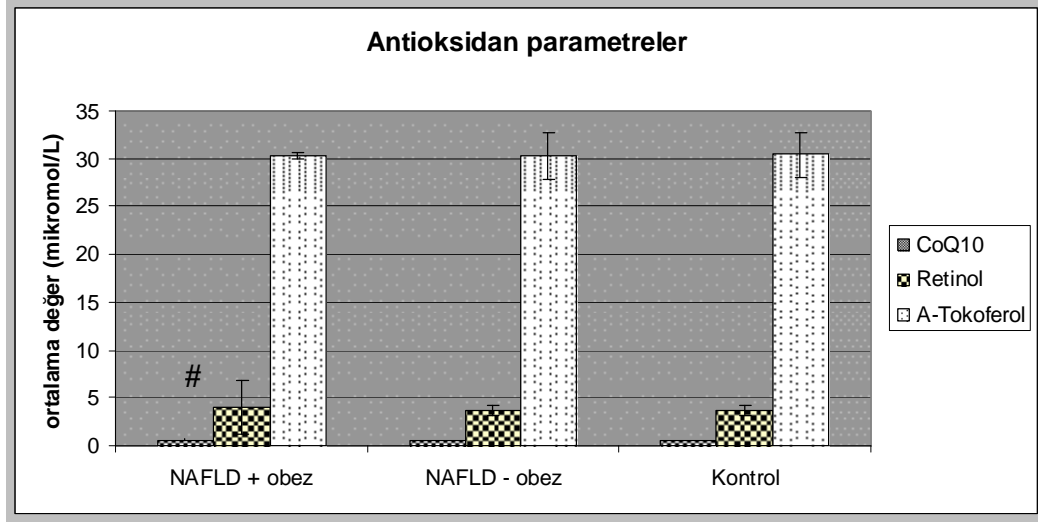
Gruplar	NAFLD (+) obez	NAFLD (-) obez	Kontrol
n	20	27	19
CoQ ₁₀ (μ mol/L)	0.55 \pm 0.10	0.58 \pm 0.11	0.516 \pm 0.06
Retinol (μ mol/L)	3.95 \pm 0.34 [#]	3.68 \pm 0.54	3.63 \pm 0.52
α -tokoferol (μ mol/L)	30.27 \pm 2.79	30.29 \pm 2.40	30.45 \pm 2.42

[#] p<0.05 düzeyinde, NAFLD (+) obez ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.

Çalışma grupları obez ve kontrol grupları olarak ele alındığında ise antioksidan parametrelerin hiçbirinde anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 11).

Tablo 11. Obez ve kontrol grubuna ait plazma CoQ₁₀, retinol ve α -tokoferol düzeylerinin karşılaştırılması.

Gruplar	Obez grup	Kontrol grubu
n	47	19
CoQ ₁₀ μ mol/L	0.56 \pm 0.10	0.52 \pm 0.06
Retinol μ mol/L	3.79 \pm 0.48	3.63 \pm 0.52
α -tokoferol μ mol/L	30.28 \pm 2.54	30.45 \pm 2.37



Şekil 17. NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait plazma CoQ₁₀, retinol ve α-tokoferol düzeylerinin karşılaştırılması.

p<0.05 düzeyinde, NAFLD (+) obez ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.

4.4 YAĞ DOKU SİTOKİNLERİNE AİT BULGULAR

Leptin NAFLD (+) obez ve NAFLD (-) obez grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış göstermiştir (Tablo 12, Şekil 19).

Serum adiponektin düzeyleri ise her iki olgu grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır (Tablo 12, Şekil 18). Olgu gruplarının serum rezistin düzeyleri, kontrol grubuna göre azalmıştır ancak rezistin düzeylerindeki azalma anlamlı değildir (Tablo 12). NAFLD (+) obez grup ile NAFLD (-) obez grup arasında adipokinler arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Tablo 12. NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol gruplarına ait serum adipositokin (leptin, adiponektin ve rezistin) düzeylerinin karşılaştırılması.

Gruplar	NAFLD (+) obez	NAFLD (-) obez	Kontrol
N	20	27	19
Leptin (µg/mL)	41.02±4.78 ^a	40.84±3.06 ^b	8.38±2.67
Adiponektin (ng/mL)	4.50±0.77 ^a	5.80±0.64 ^c	8.81±1.16
Rezistin (ng/mL)	7.40±1.13	7.81±0.82	13.59±2.73

^ap<0.001 düzeyinde, NAFLD (+) ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.

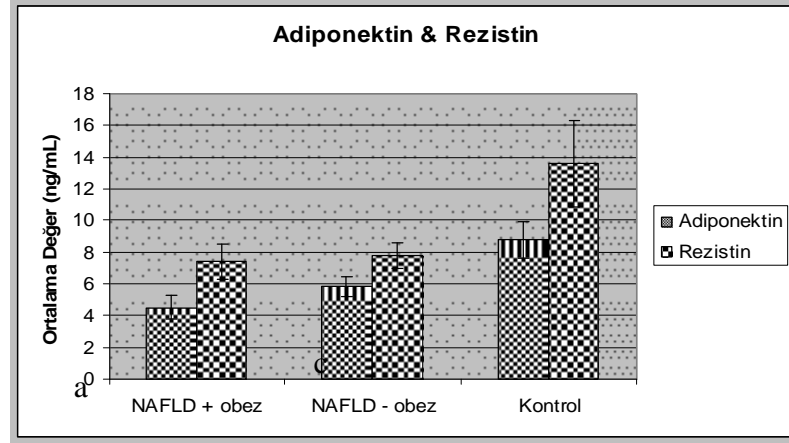
^bp<0.001 düzeyinde, NAFLD (-) ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.

^cp< 0.05 düzeyinde NAFLD (-) ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.

Çalışma obez ve kontrol grubu olarak ele alındığında, adipositokinler açısından obez grup serum leptin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek (p<0.001), adiponektin düzeyleri ise anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p<0.05). Rezistin düzeyleri için anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 13, Şekil 18).

Tablo 13. Obez ve kontrol gruplarına ait adipositokin (leptin, adiponektin ve rezistin) düzeylerinin karşılaştırılması.

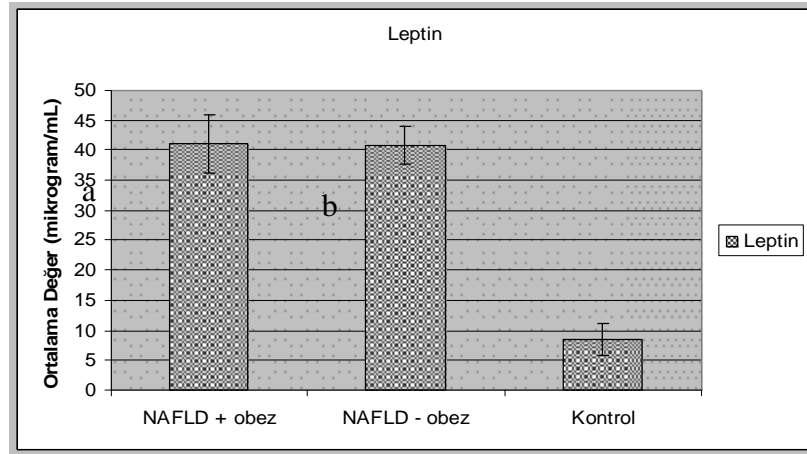
	Obez grup	Kontrol grubu	p değeri
n	47	19	
Leptin (µg/mL)	40.91±2.66	8.38±2.67	<0.001
Adiponektin (ng/mL)	5.23±0.49	8.81±1.16	<0.05
Rezistin (ng/mL)	7.64±0.66	13.59±2.73	Anlamlı değil



Şekil 18. NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol grubuna ait serum adiponektin ve rezistin düzeylerinin karşılaştırılması.

^ap<0.001 düzeyinde NAFLD (+) obez ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.

^cp<0.05 düzeyinde NAFLD (-) obez ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.



Şekil 19. NAFLD (+) obez, NAFLD (-) obez ve kontrol grubuna ait serum leptin düzeylerinin karşılaştırılması.

^ap<0.001 düzeyinde NAFLD (+) obez ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.

^bp<0.001 düzeyinde NAFLD (-) obez ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır.

3.4 IR (+) OLGULAR ve IR (-) OLGULARIN TÜM PARAMETRELER YÖNÜNDEN KARŞILAŞTIRILMASI

IR (+) olan obez olgular, IR (-) olan obez olgularla antioksidan parametreler (CoQ₁₀, α -Tokoferol, retinol), oksidasyon göstergeleri (ox-LDL, MDA), inflamasyon göstergesi (CRP,) proinflamatuvar sitokinler (IL-6, TNF- α) ve adipositokinler (leptin, rezistin, adiponektin) yönünden karşılaştırıldığında, IL-6 ve leptin dışındaki tüm parametrelerde anlamlı bir fark bulunmamıştır. IR (+) olan olguların hem leptin, hem de IL-6 düzeylerindeki anlamlı fark p<0,05 düzeyinde saptanmıştır (Tablo 14).

Tablo 14. IR (+) obez olgular ile IR (-) obez olgulara ait leptin ve IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması.

Gruplar	IR (+) obez	IR (-) obez	p değeri
Leptin (μ g/ml)	48.60 \pm 4.80	36.25 \pm 2.99	<0.05
IL-6 (pg/ml)	3.66 \pm 0.45	5.76 \pm 0.61	<0.05

IL-6 düzeyleri IR (+) olan grupta IR (-) gruba göre anlamlı düşük olduğu bulunmuştur. Leptin düzeyleri IR (+) olan grupta IR (-) olan gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

4.5 KORELASYON ANALİZLERİ

İstatistiksel olarak parametreler arası anlamlı korelasyonlar aşağıda verilmiştir.

Tablo 15. Parametreler arası korelasyon analizleri

Parametreler	R değeri	p değeri	Parametreler	R değeri	p değeri
BMI/Ağırlık	0.811	<0.001	BMI/adiponektin	-0.343	<0.05
BMI/ (W/H)*	0.828	<0.001	BMI/Leptin	0.557	<0.001
BMI/insülin	0.294	<0.05	BMI/Rezistin	-0.340	<0.05
BMI/HOMA	0.289	<0.05	BMI/AST	0.422	<0.001
BMI/ox-LDL	-0.293	<0.05	BMI/ALT	0.373	<0.05
BMI/CRP	0.286	<0.05	BMI/GGT	0.370	<0.05
İnsülin/Ağırlık	0.606	<0.0001	İnsülin/BMI	0.593	<0.001
İnsülin/HOMA	0.986	<0.0001	İnsülin/(W/H)	0.294	<0.05
İnsülin/Leptin	0.451	<0.0001	İnsülin/IL-6	0.397	<0.005
İnsülin/Adiponektin	-0.362	<0.005	İnsülin/ALT	0.383	<0.005
İnsülin/GGT	0.388	<0.005	İnsülin/AST	0.297	<0.05
HOMA/IL-6	0.378	<0.005	HOMA/Adiponektin	-0.392	<0.005
HOMA/Leptin	0.429	<0,0001	HOMA/ALT	0.368	<0,005
HOMA/TG	0.378	<0,005	(W/H)/ox-LDL	-0.293	<0,05
(W/H)/CRP	0.286	<0,05	(W/H)/Adiponektin	-0.343	<0,05

(W/H)/Leptin	0.577	<0,0001	(W/H)/Rezistin	-0.340	<0,05
Ox-LDL/Leptin	-0.314	<0.05	Ox-LDL/Adiponektin	0.247	<0.05
Ox-LDL/Rezistin	0.266	<0.05	CRP/TNF- α	0.341	<0.05
CRP/Leptin	0.344	<0.05	TNF- α /IL-6	0.268	<0.05
Leptin/IL-6	0.303	<0.05	Adiponektin/Leptin	-0.380	<0.005
CoQ ₁₀ /Adiponektin	-0.253	<0.05	CoQ ₁₀ /Leptin	0.374	<0.005
AST/Adiponektin	-0.387	<0.005	TG/Adiponektin	-0.385	<0.005
AST/Rezistin	-0.319	<0.05	TG/Leptin	0.279	<0.05
AST/ALT	0.807	<0.0001	AST/TG	0.305	<0.05
AST/GGT	0.373	<0.05	ALT/GGT	0.596	<0.0001
ALT/TG	0.341	<0.05	CRP/TKol	0.335	<0.05

(W/H)* boya göre ağırlık (%)

5. TARTIŞMA VE SONUC

Günümüzde, aşırı vücut yağ oranının neden olduğu, ciddi metabolik ve kardiovasküler komplikasyonları olan pediatrik obezite, dünya çapında hızla artmaktadır (134-136). Pediatrik obezite, yetişkinlerde görülen kardiovasküler hastalıklar ve diyabet için de anlamlı bir risk faktörüdür (137, 138).

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, obez bireylerde karaciğerin önemli bir patolojisidir. Bu hastalık, karaciğer yağlanması (hepatik steatoz) ve inflamatuvar lezyonların oluşumu (steatohepatitis) sonucunda siroza kadar ilerleyebilen bir durumdur. Pediatrik obez grupta da giderek artmakta olan NAFLD'ye ait patogeneze ve hastalığın progresyonu ile ilişkili faktörler henüz netleşmemiştir.

Pediatrik obez hastalarla ilgili çalışmalarda, artan serum ALT düzeylerinin, adiponektin düzeyleri ile kıyaslandığında anlamlı (-) korelasyon gösterdiği; ancak TNF- α ve IL-6 düzeylerinin değişmediği gösterilmiştir (139). Yine erken NAFLD bulguları olan pediatrik obezlerle ilgili başka bir çalışmada serum CRP düzeylerinin anlamlı olarak arttığı; ancak TNF- α ve IL-6 düzeylerinin artmadığı bildirilmiştir (140).

Biz bu çalışmada yaşları 11-18 arasında değişen, yaş ve cinsiyet dağılımları arasında anlamlı bir fark olmayan NAFLD (+) obez çocuklar, NAFLD (-) obez çocuklar ve sağlıklı çocuk kontrol olgularının plazma antioksidan, serum oksidasyon göstergeleri, plazma proinflamatuvar sitokinleri, inflamasyon göstergesi ve serum adipokin düzeyleri arasındaki farklılığı inceledik. Bu çocukların obezite tanı ölçütünü oluşturan antropometrik verilerine bakıldığında, BMI ve boya göre ağırlık verilerinin obez olgularda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülür (Tablo 2, $p < 0.001$). Bu anlamlı farklılık NAFLD ayrımı ile sınıflanan NAFLD (+) ve NAFLD (-) obez gruplar için de geçerli olup bu grupların her ikisi de kontrol grubuna göre $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Tablo 1).

Karaciğer fonksiyonlarını gösteren ALT, AST, GGT enzim düzeyleri ve lipid parametreleri olan TG ve TKOL düzeyleri NAFLD (-) obez ve NAFLD (+) obez grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Tablo 3). Bu parametrelerden ALT ve GGT değerlerinin iki obez grup arasında anlamlı farklı

olduğunu ve NAFLD (+) obez gruba ait değerlerin NAFLD (-) obez gruptan daha yüksek olduğunu saptadık (ALT için $p < 0,05$; GGT için $p < 0,05$, Tablo 3).

İnsülin direncini gösteren insülin ve HOMA indeksi değerleri de, NAFLD (+) obez olan grupta hem kontrole ($p < 0,001$), hem de NAFLD (-) obez grubuna ($p < 0,05$) göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Tablo 3). Bununla birlikte NAFLD (-) olan grubun hem insülin değerleri hem de HOMA indeksleri kontrol grubununkilerden yüksek olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı değildir. Obez grubun geneline bakıldığında TG dışındaki lipid profillerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yoktur (Tablo 4).

Çalışmaya katılan obez olgular IR yönünden yeniden gruplandırıldığında insülin direnci olan 20 olgudan 13'ünün (%72) yağlı karaciğere sahip olduğu [NAFLD (+)], geri kalan 7'sinin (%28) ise NAFLD (-) grubuna dahil olduğu görüldü. IR (+) olan olguların, IR(-) olgulara göre anlamlı derecede yüksek leptin ve IL-6 değerlerine ($p < 0,5$) sahip oldukları görülür (Tablo 5).

İnflamasyon; obezite ve tip 2 diyabetin etyopatogenezinde ortak bir özelliktir. Obez çocuklarda subklinik inflamasyon sıklıkla görülen ve metabolik sendrom ile korelasyon gösteren bir durumdur (102). Yapılan birçok çalışmada prepuberte çağındaki obez çocuklarda subklinik inflamasyonun bir göstergesi olarak CRP düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. (108-112). Aeberli ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada yaştan bağımsız olarak CRP, IL-6 ve leptinin artan vücut yağ oranı ile birlikte anlamlı düzeyle arttığı; TNF- α 'nın ise değişmediği gösterilmiştir (119).

Yetişkinlerde CRP, vücut yağ oranı ve metabolik sendromun bileşenleriyle anlamlı olarak ilişkilidir (111). Yetişkinlerde, adipozite ve CRP arasında özellikle kadınlarda erkeklere göre daha güçlü bir ilişki olduğu bildirilmiştir (112-117). Bazı çalışmalarda yetişkinlerde CRP'nin, aynı zamanda insülin direnci için bir öngörücü (prediktör) olduğu da bildirilmiştir (111). Eldeki veriler daha sınırlı olmasına rağmen çocuklarda da CRP metabolik sendrom bileşenleri olan insülin, HOMA indeksi ve dislipidemi ile korelasyon gösterir (108-113). Bizim çalışmamızda ise antropometrik verilerden BMI ve boya göre ağırlık, lipid parametrelerinden Total Kolesterol, proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve adipokinlerden leptin ile CRP arasında pozitif

korelasyon bulunmuştur. Bu sonuçlar CRP düzeyinin artan obezite derecesi ile pozitif korelasyon gösteren araştırma sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Çocuklarda CRP düzeylerine ait veriler net değildir. Kanada'nın doğu eyaleti olan Quebec'de CRP konsantrasyonu 9 ile 16 yaş arasındaki kız çocuklarında aynı yaştaki erkek çocuklara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (105). İngiltere'de 9-11 yaş aralığındaki kız çocuklarda CRP konsantrasyonu erkeklerden %47 daha fazladır (109). Bunlara karşı olarak Tayvan'nın başkenti Taipei de yapılan çalışmada CRP konsantrasyonları cinsiyete bağlı olarak farklı bulunmamıştır (112). Aeberli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, ne CRP ne de IL-6 konsantrasyonları üzerine yaş ve cinsiyetin etkisi gözlenmemiştir (102). Literatürdeki bu bilgiler ışığında çalışma verilerinin -özellikle inflamasyon göstergesi CRP ve proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α ve IL-6'nın- cinse göre yeniden istatistiksel olarak değerlendirilmesi; çalışma sonuçlarının yorumunu zenginleştirecektir. Ayrıca çalışmamıza dahil olan çocukların yaş grupları 11 ila 18 arasında değişmekte olup, bu durum kimi parametrelerin dolaşımdaki düzeylerinde anlamlı değişikliklere sebep olacak bir dağılımdadır. İleriki çalışmalarda yaş grubunun prepuberte çağına çekilmesi ya da puberte öncesi ve sonrası olarak gruplandırılması, yapılan analizlerin doğruluğu açısından daha objektif olacaktır.

Bazı çalışmalarda dolaşımdaki TNF- α konsantrasyonunun obez çocuklarda anlamlı olarak arttığı gösterilirken (141, 142); bazılarında gösterilememiştir (143). TNF- α 'nın öncelikli etkisini adipositlerde transmembranal salınım ve parakrin etki tarzında gerçekleştirdiği ve daha sonra sistemik dolaşıma geçerek otokrin etki yaptığı bilinmektedir (144, 145). Bu yüzden adipoz dokudaki TNF- α ekspresyonu artsa da, obez hayvan ve insanlarda TNF- α 'nın dolaşımdaki konsantrasyonu sıklıkla tespit edilemeyecek orandadır ve kısmen arttığı düşünülür (145). Hotamışlıgil ve ark. (1998) menapoz öncesi 19 obez kadında TNF- α mRNA'sının adipoz dokudaki ekspresyon paternini değerlendirdikleri çalışmada, obez olan bu kişilerin yağ dokusunda zayıf olan kontrollerine kıyasla 2.5 kat daha fazla TNF- α mRNA'sı eksprese ettiklerini ortaya koymuştur (25) Yine aynı hastalarda hiperinsülinemi ve yağ dokudan eksprese

edilen TNF- α mRNA düzeyleri arasında anlamlı pozitif bir korelasyon bulunmuştur (25)

Dolaşımdaki IL-6 düzeyleri CRP nin hepatik sentezini uyarmaktadır. Obez çocuk ve adolesanlarda CRP ve IL-6'nın artmış konsantrasyonlarının metabolik sendrom bileşenleriyle (artan BMI, yüksek trigliserid konsantrasyonları, düşük HDL konsantrasyonları, artmış sistolik kan basıncı ve bozulmuş glukoz toleransı) korelasyon gösterdiği bildirilmektedir (42-44, 46). Çalışmamızda obezite, CRP ve TNF- α düzeylerinde anlamlı artışlara neden olurken, yağlı karaciğeri olan obez olgularda ayrıca IL-6 düzeylerinin de anlamlı olarak artmış olduğu saptanmıştır. Ayrıca, TNF- α 'nin hem CRP, hem de IL-6 düzeyleriyle pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir.

Pediyatrik obezite ile ilgili çalışmalarda MDA düzeylerinin insülin direnci olan olgularda, CRP veya diğer oksidasyon parametreleriyle birlikte korele arttığı bildirilmiştir. Ox-LDL düzeylerinin ise diğer lipid parametrelerinden bağımsız olarak insülin direnci olan olgularda artmış olduğu gösterilmiştir (154). İnsülin direnci artmış lipoliz ve artmış lipoprotein üretimi ile sonuçlanır (VLDL/LDL) (151-153). Lipoproteinlerin gecikmiş klirensleri ve dolaşımdaki uzamış ömürleri, onların oksidatif modifikasyona yatkınlığını artırır. İnsülin direncinin olduğu obez bireylerdeki plazma ox-LDL düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (154). LDL'nin oksidatif modifikasyonunun ateroskleroz gelişiminde anahtar basamak olduğu düşünülür (155). LDL'ler pek çok lipofilik antioksidan tarafından korunurlar (156). Sağlıklı yetişkinlerde yapılan kesitsel çalışmalarda obeziteyle ilişkili olarak artmış MDA düzeyleri tespit edilmiştir (160, 161). Aynı zamanda yüksek MDA düzeylerine yaşları 8 ile 18 arasında değişen obez çocuklarda da rastlanmıştır. Obez olan çocuklarda MDA düzeylerinin obez olmayan çocuklara kıyasla iki kata kadar daha fazla olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (162, 163, 164). Obez çocuklar arasında MDA düzeylerinin erkeklerde kızlardan yaklaşık %25 daha yüksek olduğu bildirilmiştir (163). Lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde MDA yaygın olarak kullanılan bir parametredir. Çalışmamızda lipid peroksidasyon ürünü olan

MDA düzeyleri beklenenin tersine kontrol grubunda diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur ancak bu yükseklik anlamlı düzeyde değildir.

İlginç olarak ox-LDL ve MDA düzeyleri kontrol grubunda her iki obez gruba göre daha yüksek bulunmuştur. Kontrol ox-LDL düzeyleri, NAFLD (-) obez gruba göre anlamlı olarak yüksektir ($p<0.05$; Tablo 6). Buna paralel olarak, olguların hepsi obez olarak değerlendirildiğinde kontrol grubu için bu yükseklik yine ox-LDL için anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$; Tablo 7). Oksidasyon göstergelerinin tümü açısından iki obez olgu grubu kendi içinde değerlendirildiğinde anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Çalışmamızda NAFLD (+) olan obez olgularda CRP, TNF- α ve IL-6 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (Tablo 8, Şekil 11, 12, 13). NAFLD (-) olan obez olgularda NAFLD (+) obez grubundan farklı olarak sadece IL-6 düzeylerindeki artış kontrol grubuna göre anlamlı farklı düzeylerde değildir (Tablo 8). Yağlı karaciğer ayrımı yapılmadan tüm obez grup ele alındığında ve oksidasyon göstergeleri, proinflamatuvar sitokinler ve inflamasyon göstergesi yönünden değerlendirildiğinde; IL-6, TNF- α ve CRP'nin obez grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, ox-LDL'nin ise azaldığı görülmüştür (Tablo 7, 9). Buna göre oksidasyon göstergeleri ile inflamasyon arasında bir ilişki bulunamamıştır. Oksidasyon göstergeleri olan ox-LDL ve MDA'nın olgu gruplarında kontrol grubuna göre düşük bulunması ve ox-LDL açısından bu farkın anlamlı olması, literatürle de çelişkilidir. Ancak oksidasyon göstergelerinin kişinin sosyo-ekonomik durumu, beslenme alışkanlıkları gibi faktörlerden etkilendiği göz önüne alındığında, olguların saydığımız özellikler yönünden değerlendirileceği bir çalışma planlanması faydalı olacaktır.

Oksidatif stres, diyabet ve insülin direncinin eşlik ettiği pek çok hastalığın patogenezinde merkezi bir rol alıp, obezitenin kendisi de oksidatif stresi indükleyebilir (126, 159). Bu durum yağ dokudan salınan adipositokinlerin disregülasyonuna ve metabolik sendrom gelişmesine kadar uzanır (52, 114, 128, 146). Obez yetişkinlerde subklinik inflamasyon oksidatif stres belirteçleriyle korelasyon gösterir. Yetişkinlerdeki obezitenin düşük düzeydeki α -tokoferol ve β - karoten ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (82, 157). Azalmış antioksidan vitamin konsantrasyonu ve

azalmış antioksidan kapasite aynı zamanda obez çocuklar için de karakteristik bir bulgu gibi gözükmektedir (155, 156, 159). Puberte çağındaki obez çocuklarda α -tokoferol konsantrasyonu normal ağırlıktaki çocuklardan anlamlı ölçüde daha düşük ve MDA konsantrasyonu ise anlamlı ölçüde daha yüksektir. Bu anormalliklerin diyet kısıtlamasıyla düzeltilebileceği de gösterilmiştir (159).

National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III), 6-19 yaş aralığındaki obez çocukların düşük plazma α -tokoferol ve β -karoten konsantrasyonlarına sahip olduğunu bildirmektedir (82). Çocukluk çağı obezitesi düşük düzeydeki plazma antioksidanlarıyla ilişkilidir. Strauss ve ark, α -tokoferol ve β -karoten gibi lipofilik antioksidanların plazma düzeylerinin obez çocuklarda anlamlı olarak düştüğünü göstermişlerdir (157).

Obezite durumunda antioksidan alımının, yararlanımının ve metabolizmasının değiştiği düşünülür (137,159). Plazma CoQ₁₀ konsantrasyonu obez çocuklarda tıpkı yetişkinlerde olduğu gibi plazma kolestrol konsantrasyonu ile anlamlı olarak korelasyon gösterir. Hem kolesterol hem de CoQ₁₀ konsantrasyonları normal ağırlıktaki çocuklarda azalmıştır (128). CoQ₁₀'nin redükte formu olan ubikinol kolayca ubikonona okside olduğundan, CoQ₁₀ redoks durumunun okside LDL modifikasyonunu saptamada erken bir belirteç olarak kullanılabileceği ileri sürülmektedir (129). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ateroskleroza yol açan hiperlipidemi gibi hastalıklarda CoQ₁₀ redoks yüzdesinin değiştiği bildirilmiştir.

İnsülin direncine sahip obez bireylerde artmış ox-LDL düzeylerinin olduğu gösterilmiştir. Lipofilik antioksidan CoQ₁₀, LDL'ye olan oksidatif hasarın etkili bir inhibitörü olarak bilinir. Bununla birlikte, bazı çalışmalarda, obez çocuklarda plazma CoQ₁₀ konsantrasyonunun azalmadığı ve bunun insülin direnciyle de ilişkili olmadığı ileri sürülmektedir (128).

NAFLD'li kişilerde plazma oksidatif hasar ve antioksidan durumunu değerlendirmek üzere yapılan bir çalışmada ise, lipid peroksidasyonunun ya da oksidatif stresin göstergesi olarak serum MDA düzeylerinin hastalığın derecesine bağlı olarak artış gösterdiğini, vitamin E ve C konsantrasyonlarının ise sağlıklı kontrollere göre NAFLD hastalarında azaldığını tespit etmişlerdir (157). NAFLD'ye

sahip hastalarda oksidatif stresin sistemik parametreleri ve antioksidan durumunun değerlendirildiği çalışmada, plazma LDL konsantrasyonunun plazma malondialdehit düzeyleriyle pozitif korelasyon gösterdiği, buna karşın CoQ₁₀, CuZn-süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidanların ise malondialdehit düzeyleriyle negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (164).

Antioksidan durumu oksidatif strese karşı savunmada kritik bir rol oynar. Önemli bir zincir kırıcı antioksidan olan α - tokoferol lipid peroksidasyonunu inhibe ederek, hücre zarında oluşacak olan hasarı ve düşük dansiteli lipoproteinlerin modifikasyonunu engeller. Karatenoidler, vitamin E ve C gibi antioksidanlar ile çinko, selenyum ve magnezyum gibi eser elementlerin kandaki düzeylerinin genellikle obez olan çocuklarda ve yetişkinlerde, obez olmayanlara göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (130).

Çalışmamızda obez grubun kontrole göre antioksidan parametreler açısından hiçbirinde anlamlı bir değişiklik göstermediği, bununla birlikte yağlı karaciğeri olan obez çocukların kontrole göre anlamlı derecede yüksek retinol düzeylerine sahip oldukları saptanmıştır ($p < 0.05$, Tablo 10).

Obezite insülin direnci ve tip 2 diyabet anormal sitokin üretimi, artmış akut faz reaktanları ile diğer mediatörler ve inflamatuvar sinyal yolları ağının aktivasyonu ile karakterize olan kronik inflamasyon ile yakından ilişkilidir (34-36). Ek olarak obez bireylerde artan leptinin proinflamatuvar olduğu gösterilmiştir (66). Yetişkinlerdeki subklinik inflamasyon tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar için daha büyük bir risk teşkil eder (67).

Obez bireylerde plazma leptin, rezistin, adiponektin ve ghrelin ile proinflamatuvar sitokinler arasındaki ilişkinin değerlendirildiği bir çalışmada IL-6 ve tümör nekrozis faktör- α reseptör düzeylerinin morbid-obezlerde, non-morbid obezlere göre daha yüksek olduğunu gösterilmiştir. (65).

İlk çalışılan adipokinlerden olan leptin, TNF- α sistemi aktivitesiyle ilişkilidir (125). Adipoz dokudan sentezlenen ve doğrudan karaciğer dokusuna etkiyerek, glukoz üretimini inhibe edici etkisi olan bir adipositokindir (123). Adiponektin anti-TNF- α etkisi ile potansiyel bir antiinflamatuardır. Adiponektinin düşük düzeyleri

yüksek orandaki visseral yağ ile ilişkilidir ve bu durum bir anlamda insülin direncini ifade eder. NASH'ın fare modellerinde adiponektin verilmesi, hepatik steatoz ve serum ALT düzeylerini azaltmaktadır (125).

Ayrıca 90 morbid obez olgusunun bulunduğu bir çalışmada plazma ALT konsantrasyonlarının adiponektin ile ters korele olduğu gösterilmiştir (125). Yine NAFLD'li obez çocuklarda da NAFLD (-) olan obez çocuklara kıyasla adiponektin düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (106). NASH durumunda karaciğerde anlamlı olarak azalmış adiponektin reseptör II mRNA'sının olduğu ve düzeylerinin serum transaminaz düzeyleri ve fibrozis skoru ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (126).

Proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α R₁-reseptörü ve IL-6 düzeylerinin morbid- obezlerde, nonmorbid-obezlere göre daha yüksek olduğu ve her ikisinin de ameliyat ile kilo kaybindan sonra kendiliğinden süreç içerisinde azaldığı gösterilmiştir. Genel olarak obez kişilerde ortalama plazma lipidlerinin artmış olduğu, morbid-obezlerin ise plazma IL-6, adiponektin, leptin ve rezistin düzeylerinin nonmorbid-obezlere göre daha yüksek olduğu, ghrelinin ise azaldığı rapor edilmiştir (115).

Çalışmamızda leptin NAFLD (+) obez ve NAFLD (-) obez grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış göstermiştir (tablo 10, şekil 14). Serum adiponektin düzeyleri ise her iki olgu grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır (tablo 10, şekil 13). Olgu gruplarının serum rezistin düzeyleri, kontrol grubuna göre azalmıştır ancak rezistin düzeylerindeki azalma anlamlı değildir. NAFLD (+) obez grup ile NAFLD (-) obez grup arasında adipokinler yönünden anlamlı bir fark saptanmamıştır. Antropometrik verilerden insülin ve HOMA indeksi leptinle pozitif, adiponektinle negatif olarak korelasyon göstermektedir. İnsülin direnci olan obezlerle, insülin direnci olmayan obez çocuklar karşılaştırıldığında, antropometrik veriler olan glukoz, insülin ve HOMA indeksi dışında leptin ve IL-6 düzeylerinin anlamlı olarak yüksek olduğu; ayrıca insülin, HOMA indeksi, leptin ve IL-6 düzeylerinin her birinin birbirleriyle pozitif yönde korele oldukları saptanmıştır.

Leptinin dolaşımdaki düzeyleri yaş ve cinsiyete göre önemli ölçüde farklılık gösterdiğinden, ileriki çalışmalarda leptin düzeylerinin cinsiyete göre ve daha dar bir

yaş aralığında anlamlılığı değerlendirilmelidir. Bunun daha güvenilir sonuçlar vereceği düşünülmektedir.

Pediyatrik obezite ve pediyatrik NAFLD ile ilgili şimdye kadar yapılan çalışmalardan ortaya konan bilgiler hala net değil, tartışmalıdır. Bu durum, pediyatrik gruplarda çalışma zorluğu, kan alınımında kısıtlayıcı etkenler, ailenin rıza göstermemesi ve etik kural sınırlamaları ile de yakından ilişkilidir.

Çalışmamızda NAFLD grubuna ait 20 olgu sayımız yetersiz olmakla birlikte, elde ettiğimiz sonuçlar obez grubun özellikleri yansıtmakta; hatta ilaveten bu grupta istatistiksel olarak önemli farklılıkları yansıtmaktadır. İleriki çalışmalarda gerek total obez, gerekse yağlı karaciğeri olan olgu sayımızı genişleterek özellikle inflamatuvar ve antioksidan parametrelerin çalışılması gerekliliği açıktır. Yağlı karaciğeri olmayan obez grupta TNF- α , CRP ve leptin düzeyleri yüksek ve adiponektin düzeyleri ise düşük iken; yağlı karaciğeri olan obezlerde bu parametrelere ilaveten IL-6 düzeyleri de anlamlı olarak artmıştır. Retinol düzeyleri ise, yağlı karaciğeri olan obez olgularda artmaktadır ve bu nedenle ayırt edici bir parametredir. Sonuç olarak obezite ve obezite ile ilişkili karaciğer yağlanması ayırımında karaciğer ultrasonografisi yanısıra inflamatuvar belirteçlerden IL-6 ve antioksidan belirteçlerden retinol düzeylerinin değerlendirilmesi yararlıdır.

KAYNAKLAR

1. Gürel S, İnan G. Çocukluk Çağı Obezitesi Tanı Yöntemleri, Prevalansı ve Etiyolojisi. ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi, 2001; 2(3): 39 – 46.
2. McCullough J. Arthur. Pathophysiology of Nonalcoholic Steatohepatitis. J Clin Gastroenterol, 2006; Vol 40.
3. Schwarzenberg SJ, Sinaiko AR. Obesity and inflammation in children. Pediatric Respiratory Reviews, 2006; 7: 239-247.
4. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Rivas G, Kontogianni MD, Zampelas A, Stefanadis C. Epidemiology of overweight and obesity in a Greek adult population: the ATTICA Study. Obes. Rev., 2004; Vol. 12, 1914–1920.
5. İşleri A, Arslan N, Obesity in adults in Turkey: age and regional effects. European Journal of Public Health, 2008; 19(1): 91–94.
6. Erem C, Arslan C, Hacıhasanoğlu A. Prevalence of Obesity and Associated Risk Factors in a Turkish Population (Trabzon City, Turkey). Obes Rev., 2004; 12: 1117-1127.
7. Delibası T, Karaarslan Y, Ustun I. National prevalence of underweight, overweight and obesity in Turkey: cross sectional study of a representative adult population. Central European Journal of Medicine, 2007; 2(3): 294-303.
8. İşleri A, Arslan N. Obesity in adults in Turkey: age and regional effects European Journal of Public Health, Vol. 19, No. 1, 91–94.
9. Kocoğlu G, Ozdemir L, Sümer H, Prevalence of Obesity among 11-14 Years Old Students in Sivas-Turkey. Pakistan Journal of Nutrition, 2003; 2 (5): 292-295.
10. Günöz H. Obezite. Ed: Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri. 1. Nobel Tıp Kitapevi, 2002; 221-226.
11. Von Gierke E, Ueber fett metabolism. Ver Deutsch Ges Path, 1906; 10: 182-185.
12. Ahima RS. Adipose tissue as an endocrine organ. Obesity (Silver Spring) 2006; 14 Suppl 5: 242-249

13. Zierath JR, Livingston JN, Thorne A, Bolinder J, Reynisdottir S, Lonnqvist F, Arner P. Regional difference in insulin inhibition of non-esterified fatty acid release from human adipocytes: relation to insulin receptor phosphorylation and intracellular signalling through the insulin receptor substrate-1 pathway. *Diabetologia*, 1998; 41: 1343-1354.
14. Van der Kooy K, Leenen R, Seidell JC, Deurenberg P, Visser M. Abdominal diameters as indicators of visceral fat: comparison between magnetic resonance imaging and anthropometry. *Br J Nutr*, 1993; 70: 47-58.
15. Shepherd PR, Kahn BB. Glucose transporters and insulin action. Implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1999; 341: 248–257.
16. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Go¨rgu¨n CZ, Uysal KT, Maeda K, et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*, 2002; 420: 353–356.
17. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, et al. NASH and insulin resistance: insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance. *Hepatology* 2002; 35:373–379
18. Folli, F., M. J. Saad, J. M. Backer, and C. R. Kahn. 1992. Insulin stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase activity and association with insulin receptor substrate 1 in liver and muscle of the intact rat. *J. Biol Chem.*, 267: 22171-22177.
19. Heydrick, S. J., D. Jullien, N. Gautier, J.-F. Tanti, S. Giorgetti, E. Van Obberghen, Y. Le Marchand-Brustel. Defect in skeletal muscle phosphatidylinositol- 3 '-kinase in obese insulin-resistant mice. *J. Clin. Invest.*, 1993; 91: 1358-1366.
20. Saad, M. J. A., E. Araki, M. Miralpeix, P. L. Rothenberg, M. F. White, C. R. Kahn. Regulation of insulin receptor substrate-1 in liver and muscle of animal models of insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 1992; 90: 1839-1849.
21. Thies, R. S., J. M. Molina, T. P. Ciaraldi, G. R. Freidenberg, J. M. Olefsky. Insulin-receptor autophosphorylation and endogenous substrate,

- phosphorylation in human adipocytes from control, obese, and NIDDM subjects. *Diabetes.*, 39: 250-259.
22. Friedenberg GR, Henry .RR, Klein H., Reichart DR, Olefsky JM. 19 Decreased kinase activity of insulin receptors from adipocytes of non-insulin-dependent diabetic subjects. *J. Clin. Invest.*, 1987; 79: 240-250.
 23. Feinstein R., Kanety H, Papa MZ, Lunenfeld B, Karasik A. Tumor necrosis factor- α suppresses insulin-induced tyrosine phosphorylation of insulin receptor and its substrates. *J. Biol. Chem.*; 1993 268: 26055-26058.
 24. Hotamisligil G. S., Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM. TNF- α inhibits signaling from insulin receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1994; 91: 4854-4858.
 25. Liu S, Tinker L, Song Y, Rifai N, Bonds DE, Hotamisligil G, Howard B. A Prospective Study of Inflammatory Cytokines and Diabetes Mellitus in a Multiethnic Cohort of Postmenopausal Women *Arch Intern Med.* 2007;167(15):1676-1685
 26. Wells CA, Ravasi T, Hume DA. Inflammation suppressor genes: please switch out all the lights. *J Leukoc Biol*, 2005; 78: 9–13.
 27. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*, 2002; 420: 885–891.
 28. Koj A. Synthesis and turnover of acute-phase reactants. In: Krebs H, ed. *Energy metabolism in trauma*. London, J.&A. Churchill, Ciba Foundation Symposium, 1970; pp. 79–101.
 29. Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med*, 2006; 354: 610–621.
 30. Das UN. Is obesity an inflammatory condition? *Nutrition*, 2001; 17: 953–966.
 31. Nanji AA, Freeman JB. Relationship between body weight and total leukocyte count in morbid obesity. *Am J Clin Pathol*, 1985; 84: 346–347.
 32. Cottam DR, Mattar SG, Barinas-Mitchell E. The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity associated with morbid obesity: implications and effects of weight loss. *Obes Surg*, 2004; 14: 589–600.

33. Sbarbati A, Osculati F, Silvagni D. Obesity and inflammation: evidence for an elementary lesion. *Pediatrics*, 2006; 117: 220–223.
34. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, 1993; 259: 87–91.
35. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factoralpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*, 1995; 95: 2409–2415.
36. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*, 2005; 115: 1111–1119.
37. Paz K, Hemi R, LeRoith D et al. A molecular basis for insulin resistance: Elevated serine/threonine phosphorylation of IRS-1 and IRS-2 inhibits their binding to the juxtamembrane region of the insulin receptor and impairs their ability to undergo insulin-induced tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem*, 1997; 272: 29911–29918.
38. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science*, 1996; 271: 665–668.
39. Mohamed-Ali V, Pinkney JH, Coppack SW. Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 1998; 22: 1145–1158.
40. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res*, 2005; 96: 939–949.
41. McPherson R, Jones PH. The metabolic syndrome and type 2 diabetes: role of the adipocyte. *Curr Opin Lipidol*, 2003; 14: 549–553. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*, 2002; 420: 885–891.
42. Ford ES, Ajani UA, Mokdad AH. The metabolic syndrome and concentrations of C-reactive protein among U.S. youth. *Diabetes Care*, 2005; 28: 878–881.
43. Ford ES. C-reactive protein concentration and cardiovascular disease risk factors in children: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2000. *Circulation*, 2003; 108: 1053–1058.

44. Ford ES, Galuska DA, Gillespie C, Will JC, Giles WH, Dietz WH. C-reactive protein and body mass index in children: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *J Pediatr*, 2001; 138: 486–492.
45. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Low-grade systemic inflammation in overweight children. *Pediatrics*, 2001; 107: E13.
46. Cook DG, Mendall MA, Whincup PH. C-reactive protein concentration in children: relationship to adiposity and other cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis*, 2000; 149: 139–150.
47. Sinaiko AR, Steinberger J, Moran A. Relation of body mass index and insulin resistance to cardiovascular risk factors, inflammatory factors, and oxidative stress during adolescence. *Circulation*, 2005; 111: 1985–1991.
48. Moran A, Steffen LM, Jacobs DR Jr. Relation of C-reactive protein to insulin resistance and cardiovascular risk factors in youth. *Diabetes Care*, 2005; 28: 1763–1768.
49. Weiss R, Dziura J, Burgert TS et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med*, 2004; 350: 2362–2374.
50. Berberoglu M. Evaluation of the correlation between serum tumor necrosis factor- α and relative body mass index (RBMI) in childhood. *J Pediatr Endocrinol*, 2001; 14: 543–547.
51. Nemet D, Wang P, Funahashi T, Matsuzawa Y, Tanaka S, Engelman L, Cooper DM. Adipocytokines, body composition, and fitness in children. *Pediatr Res*, 2003; 53: 148–152.
52. Moon YS, Kim DH, Song DK. Serum tumor necrosis factor- α levels and components of the metabolic syndrome in obese adolescents. *Metabolism*, 2004; 53: 863–867.
53. Dixon D, Goldberg R, Schneiderman N, Delamater A. Gender differences in TNF- α levels among obese vs nonobese Latino children. *Eur J Clin Nutr*, 2004; 58: 696–699.

54. Asayama K, Hayashibe H, Dobashi K. Decrease in serum adiponectin level due to obesity and visceral fat accumulation in children. *Obes Res*, 2003; 11: 072–1079.
55. Steven E. Shoelson, Jongsoo Lee, Allison B. Goldfine Inflammation and insulin resistance *J. Clin. Invest.* 2006;116:1793–1801
56. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*, 1980; 55: 34-438.
57. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 2002; 122: 1649-1657.
58. Qureshi K, Abrams AG. Metabolic liver disease of obesity and role of adipose tissue in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol*, 2007; 13(26): 3540-3553.
59. Ruhl CE, Everhart JE. Epidemiology of nonalcoholic fatty liver. *Clin Liver Dis*, 2004; 8: 501-519, vii
60. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology*, 2006; 43: 99-112.
61. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*, 1999; 94: 2467-2474.
62. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology*, 2003; 37: 1202-1219.
63. Begriche K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion* 2006; 6: 1-28
64. Rao MS, Reddy JK. Peroxisomal beta-oxidation and steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 43-55
65. Fromenty B, Robin MA, Igoudjil A, Mansouri A, Pessayre D. The ins and outs of mitochondrial dysfunction in NASH. *Diabetes Metab* 2004; 30: 121-138

66. Horton JD, Shimomura I. Sterol regulatory element-binding proteins: activators of cholesterol and fatty acid biosynthesis. *Curr Opin Lipidol* 1999; 10: 143-150
67. Horton JD. Sterol regulatory element-binding proteins: transcriptional activators of lipid synthesis. *Biochem Soc Trans* 2002; 30: 1091-1095
68. McGarry JD, Foster DW. Effects of exogenous fatty acid concentration on glucagon-induced changes in hepatic fatty acid metabolism. *Diabetes* 1980; 29: 236-240
69. Kawaguchi T, Osatomi K, Yamashita H, Kabashima T, Uyeda K. Mechanism for fatty acid "sparing" effect on glucose-induced transcription: regulation of carbohydrate-responsive element-binding protein by AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* 2002; 277: 3829-3835
70. Fajas L, Schoonjans K, Gelman L, Kim JB, Najib J, Martin G, Fruchart JC, Briggs M, Spiegelman BM, Auwerx J. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression by adipocyte differentiation and determination factor 1/sterol regulatory element binding protein 1: implications for adipocyte differentiation and metabolism. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 5495-5503
71. Kojima H., Sakurai S., Uemura M., Fukui H., Morimoto H., Tamagawa Y. Mitochondrial abnormality and oxidative stress in nonalcoholic steatohepatitis. *Clinic and Experimental Research* 2007;31:61-66.
72. Gorden ES. Non-esterified fatty acids in blood of obese and lean subjects. *Am J Clin Nutr* 1960; 8:740-747
73. Matsusue K, Haluzik M, Lambert G, Yim SH, Gavrilova O, Ward JM, et al. Liver specific disruption of PPAR- α in leptin-deficient mice improves fatty liver but aggravates diabetic phenotypes. *J Clin Invest* 2003; 111: 737-747
74. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001; 120:1183-1192

75. Shimomura I, Bashmakov Y, Horton JD. Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty livers of two mouse models of diabetes mellitus. *J Biol Chem* 1999; 274:30028–30032.
76. Brady LJ, Brady PS, Romsos DR, Hoppel CL. Elevated hepatic mitochondrial and peroxisomal oxidative capacities in fed and starved adult obese (ob/ob) mice. *Biochem J* 1985; 231:439–444
77. Chalasani N, Gorki JC, Asghar MS, Asghar A, Foresman B, Hall SD, Crabb DW. Hepatic cytochrome P450 2E1 activity in nondiabetic patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2003; 37: 544–550
78. Weltman MD, Farrell GC, Hall P, Ingelman-Sundberg M, Liddle C. Hepatic cytochrome P450 2E1 is increased in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1998; 27:128.
79. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest* 1995; 95:2111–2119.
80. Crespo J, Cayon A, Fernandez-Gil P, Hernandez-Guerra M, Mayorga M, Dominguez-Diez A, et al. Gene expression of tumor necrosis factor α and TNF-receptors p55 and p75 in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology* 2001; 34:1158–1163
81. Chen J, Schenker S, Frosto TA, Henderson GI. Inhibition of cytochrome c oxidase activity by 4-hydroxynonenal (HNE). Role of HNE adduct formation with the enzyme catalytic site. *Biochem Biophys Acta* 1998; 1380:336–344.
82. Strauss RS. Comparison of serum concentrations of α -tocopherol and carotene in a cross-sectional sample of obese and nonobese children (NHANES III). *J Pediatr* 1999; 134:160–165.
83. Lavine JE. Vitamin E treatment of nonalcoholic steatohepatitis in children: a pilot study. *J Pediatr* 2000; 136:734–738
84. Chen J, Petersen DR, Schenker S, Henderson GI. Formation of malondialdehyde adducts in livers of rats exposed to ethanol: role of

- ethanolmediated inhibition of cytochrome c oxidase. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24:544–552
85. Ahima RS, Saper CB, Flier JS, Elmquist JK. Leptin regulation of neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol*, 2000; 21: 263-307.
 86. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*, 1996; 334: 292-295.
 87. Corica F, Allegra A, Corsonello A, Buemi M, Calapai G, Ruello A, Nicita Mauro V, Ceruso D. Relationship between plasma leptin levels and the tumor necrosis factor-alpha system in obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 1999; 23: 355-360.
 88. Ahren B, Baldwin RM, Havel PJ. Pharmacokinetics of human leptin in mice and rhesus monkeys. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2000; 24: 1579-1585.
 89. Wellhoener P, Fruehwald-Schultes B, Kern W, Dantz D, Kerner W, Born J, Fehm HL, Peters A. Glucose metabolism rather than insulin is a main determinant of leptin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000; 85: 1267-1271.
 90. Mayer-Davis EJ, D'Agostino R Jr, Karter AJ, Haffner SM, Rewers MJ, Saad M, Bergman RN. Intensity and amount of physical activity in relation to insulin sensitivity: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *JAMA*, 1998; 279: 669-674.
 91. Dubuc GR, Phinney SD, Stern JS, Havel PJ. Changes of serum leptin and endocrine and metabolic parameters after 7 days of energy restriction in men and women. *Metabolism*, 1998; 47: 429-434.
 92. Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996; 81: 3419-3423.
 93. Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, Keogh JM, Lawrence E, Agwu C, Sanna V, Jebb SA, Perna F, Fontana S, Lechler RI, DePaoli AM, O'Rahilly S. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and

- neuroendocrine/ metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest*, 2002; 110: 1093-1103.
94. Muoio DM, Dohm GL, Fiedorek FT Jr, Tapscott EB, Coleman RA. Leptin directly alters lipid partitioning in skeletal muscle. *Diabetes*, 1997; 46: 1360-1363.
95. Minokoshi Y, Kim YB, Peroni OD, Fryer LG, Muller C, Carling D, Kahn BB. Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature*, 2002; 415: 339-343.
96. Kaplan ML, Leveille GA. Obesity: prediction of preobesity among progeny from crosses of ob+ mice. *Proc Soc Exp BiolMed*, 1973; 143: 925-928.
97. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor. OB-R. *Cell*, 1995; 83: 1263-1271.
98. Ebihara K, Kusakabe T, Hirata M, Masuzaki H, Miyanaga F, Kobayashi N, Tanaka T, Chusho H, Miyazawa T, Hayashi T, Hosoda K, Ogawa Y, DePaoli AM, Fukushima M, Nakao K. Efficacy and safety of leptin-replacement therapy and possible mechanisms of leptin actions in patients with generalized lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007; 92: 532-541.
99. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2002; 26: 1407-1433.
100. Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH, Lynn RB, Zhang PL, Sinha MK, Considine RV. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet*, 1996; 348: 159-161.
101. Wang Z, Zhou YT, Kakuma T, Lee Y, Kalra SP, Kalra PS, Pan W, Unger RH. Leptin resistance of adipocytes in obesity: role of suppressors of cytokine signaling. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000; 277: 20-26.

102. Honda H, Ikejima K, Hirose M, Yoshikawa M, Lang T, Enomoto N, Kitamura T, Takei Y, Sato N. Leptin is required for fibrogenic responses induced by thioacetamide in the murine liver. *Hepatology*, 2002; 36: 12-21.
103. Ikejima K, Takei Y, Honda H, Hirose M, Yoshikawa M, Zhang YJ, Lang T, Fukuda T, Yamashina S, Kitamura T, Sato N. Leptin receptor-mediated signaling regulates hepatic fibrogenesis and remodeling of extracellular matrix in the rat. *Gastroenterology*, 2002; 122: 1399-410.
104. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995; 270: 26746-26749
105. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* 1996; 271: 10697-10703
106. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257:79-83
107. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1930-1935
108. Statnick MA, Beavers LS, Conner LJ, Corominola H, Johnson D, Hammond CD, Rafaeloff-Phail R, Seng T, Suter TM, Sluka JP, Ravussin E, Gadski RA, Caro JF. Decreased expression of apM1 in omental and subcutaneous adipose tissue of humans with type 2 diabetes. *Int J Exp Diabetes Res* 2000; 1: 81-88
109. Krakoff J, Funahashi T, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, Tanaka S, Matsuzawa Y, Kobes S, Tataranni PA, Hanson RL, Knowler WC, Lindsay RS. Inflammatory markers, adiponectin, and risk of type 2 diabetes in the Pima Indian. *Diabetes Care* 2003; 26: 1745-1751

110. Louthan MV, Barve S, McClain CJ, Joshi-Barve S. Decreased serum adiponectin: an early event in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr* 2005; 147: 835-882
111. Ruan H, Hacoheh N, Golub TR, Van Parijs L, Lodish HF. Tumor necrosis factor-alpha suppresses adipocyte-specific genes and activates expression of preadipocyte genes in 3T3-L1 adipocytes: nuclear factor-kappaB activation by TNFalpha is obligatory. *Diabetes* 2002; 51: 1319-1336
112. Matsuzawa Y, Funahashi T, Nakamura T. Molecular mechanism of metabolic syndrome X: contribution of adipocytokines adipocyte-derived bioactive substances. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 892: 146-154
113. Kadowaki T, Hara K, Yamauchi T, Terauchi Y, Tobe K, Nagai R. Molecular mechanism of insulin resistance and obesity. *Exp Biol Med* (Maywood) 2003; 228: 1111-1117
114. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest* 2003; 112: 91-100
115. Xu A, Yin S, Wong L, Chan KW, Lam KS. Adiponectin ameliorates dyslipidemia induced by the human immunodeficiency virus protease inhibitor ritonavir in mice. *Endocrinology* 2004; 145: 487-494
116. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 259: 87-91
117. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest* 1995; 95: 2111-2119
118. Van der Poll T, Romijn JA, Endert E, Borm JJ, Buller HR, Sauerwein HP. Tumor necrosis factor mimics the metabolic response to acute infection in healthy humans. *Am J Physiol* 1991; 261: E457-E465

119. Aeberli I., Molinar L.i, Spinass G., Lehmann R.,Allemand D.,ZimmermannM.B.Dietary intakes of fat and antioxidant vitamins are predictors of subclinical inflammation in overweight Swiss children. *Am J Clin Nutr* 2006;84:748 –55.
120. Ofei F, Hurel S, Newkirk J, Sopwith M, Taylor R. Effects of an engineered human anti-TNF-alpha antibody (CDP571) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM. *Diabetes* 1996; 45: 881-885
121. Papanicolaou DA, Vgontzas AN. Interleukin-6: the endocrine cytokine. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1331-1333
122. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101: 1767-1772
123. Spranger J, Kroke A, Mohlig M, Hoffmann K, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, Pfeiffer AF. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes* 2003; 52: 812-817
124. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*, 2001; 409: 307-312
125. Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C, Macphee CH, Smith SA. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003; 300: 472-476
126. Sinaiko AR, Steinberger J, Moran A. Relation of body mass index and insulin resistance to cardiovascular risk factors, inflammatory factors, and oxidative stress during adolescence. *Circulation*, 2005; 111: 1985–1991
127. HPL Karpíńska J., Mikołóć B., Motkowski R., Piotrowska J-Jastrzebska J. HPLC method for simultaneous determination of retinol, α -tocopherol and

- coenzyme Q10 in human plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2006;46:232–236.
128. Overvad K, Diamant B, Holm L, Holmer G, Mortensen SA, Stender S. Coenzyme Q10 in health and disease. *Eur J Clin Nutr* 1999;53:764–70.
129. Menke T, Petra Niklowitz P, Sousa G, Reinehr T, Andler W. Comparison of coenzyme Q10 plasma levels in obese and normal weight children. *Clinica Chimica Acta* 2004;349: 121–127
130. Botella-Carretero JJ, Balsa JA, Vázquez C, Peromingo R, Díaz-Enriquez M, Escobar-Morreale HF. Retinol and α -Tocopherol in Morbid Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Obes Surg* 2008
131. F. Villarroya, R. Iglesias, M. Giralt Retinoids and Retinoid Receptors in the Control of Energy Balance: Novel Pharmacological Strategies in Obesity and Diabetes. 795-805 (11
132. Arslan M. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Metabolik Sendrom Çalışma Grubu. *Metabolik Sendrom Klavuzu*; 2003:1-3.
133. Hong YL, Yeh SL, Chang CY, Hu ML. Total plasma malondialdehyde levels in 16 Taiwanese college students determined by various thiobarbituric acid tests and an improved high-performance liquid chromatography-based method. *Clin Biochem.* 2000 Nov;33(8):619-25.
134. Hedley AA, Ogden CL, Johnson CL, Carroll MD, Curtin LR, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999–2002. *JAMA* 2004;291:2847–50.
135. Seidell JC. Obesity: a growing problem. *Acta Paediatr Suppl* 1999;88: 46–50.
136. Weiss R, Caprio S. The metabolic consequences of childhood obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005;19:405–19.
137. Dietz WH. Health consequences of obesity in youth: childhood predictors of adult disease. *Pediatrics* 1998;101:518–25.
138. Rosenbloom AL, Joe JR, Young RS, Winter WE. Emerging epidemic of type 2 diabetes in youth. *Diabetes Care* 1999;22:345–54.

139. Louthan MV, Barve S, McClain CJ, Joshi-Barve S. Decreased serum adiponectin: an early event in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr* 2005; 147: 835–838
140. Mandato C, Lucariello S, Licenziati MR et al. Metabolic, hormonal, oxidative, and inflammatory factors in pediatric obesity-related liver disease. *J Pediatr* 2005; 147: 62–66
141. Halle M, Korsten-Reck U, Wolfarth B, Berg A. Low-grade systemic inflammation in overweight children: impact of physical fitness. *Exerc Immunol Rev* 2004;10:66 –74.
142. Reinehr T, Stoffel-Wagner B, Roth CL, Andler W. High-sensitive C-reactive protein, tumor necrosis factor alpha, and cardiovascular risk factors before and after weight loss in obese children. *Metabolism* 2005; 54:1155– 61.
143. Gupta A, Ten S, Anhalt H. Serum levels of soluble tumor necrosis factor-alpha receptor 2 are linked to insulin resistance and glucose intolerance in children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005;18:75– 82.
144. Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;280:E745–51.
145. Xu H, Uysal KT, Becherer JD, Arner P, Hotamisligil GS. Altered tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) processing in adipocytes and increased expression of transmembrane TNF-alpha in obesity. *Diabetes* 2002;51:1876–83
146. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med* 2004;350:2362–74.
147. Cook DG, Mendall MA, Whincup PH, et al. C-reactive protein concentration in children: relationship to adiposity and other cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis* 2000;149:139 –50.
148. Lambert M, Delvin EE, Paradis G, O’Loughlin J, Hanley JA, Levy E. C-reactive protein and features of the metabolic syndrome in a population-based sample of children and adolescents. *Clin Chem* 2004; 50:1762– 8.

149. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Lowgrade inflammation in overweight children. *Pediatrics* 2001;107:E13– 8.
150. Wu DM, Chu NF, Shen MH, Chang JB. Plasma C-reactive protein levels and their relationship to anthropometric and lipid characteristics among children. *J Clin Epidemiol* 2003;56:94 –100
151. Jiang X, Srinivasan SR, Webber LS. Association of fasting insulin level with serum lipid and lipoprotein levels in children, adolescents and young adults: the Bologna Heart Study. *Arch Intern Med* 1995;23:190– 6.
152. Faccini FS, Hua N, Abbasi F, Reaven GM. Insulin resistance as a predictor of age-related diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3574– 8.
153. Arslanian S, Suprasongsin C. Insulin sensitivity, lipids and body composition in childhood: is syndrome X present? *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1058– 62
154. Freedman DS, Otvos J, Jeyarajah EJ, Barboriak JJ, Anderson JA, Walker JA. Relation of lipoprotein subclasses as measured by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy to coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1046– 53.
155. Heinecke JW. Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low-density lipoprotein hypothesis. *Atherosclerosis* 1998;141:1 –15
156. Hoffman RM, Garewal HS. Antioxidants and the prevention of coronary heart diseases. *Arch Intern Med* 1995;155:241–6.
157. Strauss RS. Comparison of serum concentration of a-tocopherol and b-carotene in a cross-sectional sample of obese and non obese children. *J Pediatr* 1999;134:160– 5.
158. [208] Moor de Burgos A, Wartanowics M, Ziemplanski S. Blood vitamin and lipid levels in overweight and obese woman. *Eur J Clin Nutr* 1992;46:803– 8.
159. Koruk M, Taysi S, Savas MC, et al. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Clin Lab Sci* 2004;34:57–62.

160. Olusi SO. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26: 1159–1164
161. 101 Mutlu-Turkoglu U, Oztezcan S, Telci A et al. An increase in lipoprotein oxidation and endogenous lipid peroxides in serum of obese women. *Clin Exp Med* 2003; 2: 171–174
162. 103 Mohn A, Catino M, Capanna R, Giannini C, Marcovecchio M, Chiarelli F. Increased oxidative stress in prepubertal severely obese children: effect of a dietary restriction-weight loss program. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2653–2658
163. 110 Haszon I, Papp F, Kovacs J et al. Platelet aggregation, blood viscosity and serum lipids in hypertensive and obese children. *Eur J Clin Pediatr* 2003; 162: 385–390.
164. 111 Lima SC, Arrais RF, Almeida MG, Souza ZM, Pedrosa LF. Plasma lipid profile and lipid peroxidation in overweight or obese children and adolescents. *J Pediatr* 2004; 80: 23–28.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK VE LABORATUVAR ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

Tarih ve Sayı: 19.10.2007/ 336

Etik Kurul Üyeleri

Prof.Dr.Taner ÇAMSARI
Prof.Dr.Tunç ALKIN
Doç.Dr.M.Hakan ÖZDEMİR
Doç.Dr.Ayça Arzu SAYINER
Doç.Dr.Vesile ÖZTÜRK
Doç.Dr.Mustafa SEÇİL
Doç.Dr.Murat DUMAN
Doç.Dr.Güven ASLAN
Yard.Doç.Dr.Murat ÖRMEN
Öğr.Gör.Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN
Yunus KARSLI

Etik Kurul Başkanı

Prof.Dr.Taner ÇAMSARI

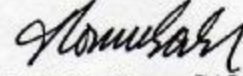
Etik Kurul Sekreteri
Hatice İĞCI

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Etik Kurulumuzun 18 Ekim 2007 tarih ve 04/22/2007 no.lu toplantısında, 293/2007 Protokol numaralı Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof.Dr.Filiz KURALAY'ın yöneticisi, Yeliz ANGIN'ın sorumlusu olduğu, "Pediatrik obezite ile ilişkili yağlı karaciğer hastalığında metabolik, oksidan ve antioksidan sistemik belirteçlerin değerlendirilmesi" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Katılanların oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.



Prof. Dr.Taner ÇAMSARI
Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları
Etik Kurul Başkanı

ONAM FORMU

Sayın anne / baba,

Kilo fazlalığı (obesite veya şişmanlık) gelişmiş ülkelerde olduğu kadar ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde de çocuklarda hızla artmaktadır. Bu artışın en önemli nedeni fazla yağ, şeker içeren, ancak vitamin ve mineral içeriği az olan besinleri tüketmemiz ve eskisi kadar çok hareket etmememizdir. Çocuklarımızın düzenli beslenmeleri ve normal kiloda olmaları, hem şimdi, hem de sonraki yaşamları boyunca sağlıklı olmaları açısından büyük önem taşımaktadır.

Kilo fazlalığının en önemli yan etkisi karaciğerde yağlanmadır. Ancak vücudun yağlanması sadece deri altı ve karaciğerle sınırlı kalmamakta, başta kalp olmak üzere damarların ve diğer organların da yağlanmasına neden olmaktadır. Eğer hastalar dengeli, vitamin ve mineral ile zengin besinlerle beslenerek diyet yapmazsa ve egzersizi de buna ekleyerek kilo vermezse, karaciğer yağlanması ilerleyerek karaciğerin yıllar içinde iş göremez hale gelmesine neden olabilmektedir. Karaciğerde yağlanmanın en önemli nedeni dengesiz beslenme ve insülin yüksekliğidir. Tüm dünyada yapılan çalışmalarda şişmanlık nedeniyle vücutta bazı zararlı oksijen artıklarının normale göre daha fazla arttığı, bu artıkları vücudumuzdan temizleyen vitaminlerin şişman hastalarda yetersiz çalışmaları nedeniyle yeterince temizlenemediği ve karaciğerde yağlanmaya katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Kilo verilmesine ek olarak, bu tür vitaminlerin alınmasının karaciğerdeki yağlanmayı azaltabildiğine dair çalışmalar devam etmektedir.

Hastanemiz Çocuk Gastroenteroloji ve Beslenme, Metabolizma polikliniğine başvuran ve obesite tanısı konulan 11- 18 yaş arası hastaların alındığı bu çalışmaya katılmanız bir kaç açıdan veri toplanmasını sağlayacaktır: İlk olarak çocuğunuzdaki bu vitamin düzeylerini ve insülin yüksekliği olup olmadığını öğrenmiş olacaksınız. İkincisi, şişmanlığın tedavisi zor ve başarısı düşüktür. Ancak hastamızın bu verileri elimizde olursa, tedavi motivasyonu konusunda çocuğunuzu ikna etmemiz daha kolay olacak ve tedaviyi daha uzun süre sürdürebilecektir. Ayrıca eksikliği saptanan vitaminlerin diyetle eklenmesi de söz konusu olacaktır.

Bu çalışmada, poliklinikte obesite (şişmanlık) tanısı alan her hastaya bakılan "kan sayımı, kan şekeri, insülin düzeyi, tiroid testleri, karaciğer fonksiyon testleri ve karaciğer yağlanması için yaptığımız ultrasonografiye" ek olarak vitamin ve antioksidan sistem ölçümü için kan alınacaktır. Kan alınması sabah aç karnına yapılacak, diğer rutin tetkikler için kan alınırken bu kanlar da alınacaktır. Olur verdikten sonra katılmaktan vazgeçerseniz, istediğiniz aşamada çalışmadan çekilebilirsiniz. Bilgiler araştırmacılar tarafından gizli tutulacak ve çocuğunuz hakkındaki veriler hiç bir şekilde isim verilerek açıklanmayacaktır.

Yukarıdaki bilgileri okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün (veli/vasi) Adı- soyadı:İmzası:

Açıklamaları yapan araştırmacının Adı- soyadı:İmzası:

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-soyadı:..... İmzası:

Görevi:

Tarih:/...../.....

ONAM FORMU

Sayın anne / baba,

Kilo fazlalığı (obesite veya şişmanlık) gelişmiş ülkelerde olduğu kadar ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde de çocuklarda hızla artmaktadır. Bu artışın en önemli nedeni fazla yağ, şeker içeren, ancak vitamin ve mineral içeriği az olan besinleri tüketmemiz ve eskisi kadar çok hareket etmememizdir. Çocuklarımızın düzenli beslenmeleri ve normal kiloda olmaları, hem şimdi, hem de sonraki yaşamları boyunca sağlıklı olmaları açısından büyük önem taşımaktadır.

Hastanemiz Çocuk Gastroenteroloji ve Beslenme, Metabolizma polikliniğinde obesite tanısı konulan çocuk hastalarda insülin düzeyi ve vitamin düzeylerinin ölçülmesi ve normal çocuklarla karşılaştırılarak değerlendirilmesi planlanmıştır. Özellikle bazı vitamin ve antioksidan maddelerin vücutta yetersiz olması şişmanlarda karaciğer yağlanmasına katkıda bulunmaktadır. Şişmanlığın tedavisi çocukların motivasyonuna ve dengeli beslenmeyi öğrenmelerine bağlıdır. Ancak tüm dünyada bu motivasyon sağlanamamaktadır. Bu nedenle özellikle karaciğer yağlanması olan şişman çocukların, bu vitamin düzeylerini normal çocuklarla karşılaştırarak onlara göstermemiz tedaviye motivasyonları açısından çok büyük önem taşıyacaktır. Bu tedaviyi düzgün yapmaları kilo vermelerini sağlayacak, karaciğer ve kalpte ileriki yaşamlarında ortaya çıkacak hastalıkları önleyecektir. Ayrıca onlara eksik olan vitamin takviyesinin de yapılması söz konusu olacaktır.

Bu çalışmaya sağlıklı çocuk olarak katılmanız birkaç açıdan önem taşımaktadır: İlk olarak çocuğunuzdaki bu vitamin düzeylerini öğrenmiş olacaksınız. İkincisi, şişman çocukların kan düzeylerinin düşük olup olmadığını anlamamız için sizinki gibi sağlıklı çocukların kan düzeyleri ile karşılaştırılması gereklidir. Üçüncüsü, şişman ve karaciğer yağlanması olan bir çocuk hastaya, tedavisine daha sıkı sarılması için, sizin çocuğunuzun normal değerleri ile kendi değerlerini karşılaştırma fırsatı vermiş olacaksınız.

Bu çalışmada, poliklinikte muayene edilen ve herhangi bir tarama için (kan sayımı, tiroid testleri, kan şekeri, hepatit taraması) için kan alınması planlanan sağlıklı çocuğunuzdan bu kanlara ek olarak vitamin ve antioksidan sistem ölçümü için kan alınacaktır. Kan alınması sabah aç karnına yapılacak, diğer istenen tetkikler için kan alınırken bu kanlar da alınacaktır. Olur verdikten sonra katılmaktan vazgeçerseniz, istediğiniz aşamada çalışmadan çekilebilirsiniz. Bilgiler araştırmacılar tarafından gizli tutulacak ve çocuğunuz hakkındaki veriler hiç bir şekilde isim verilerek açıklanmayacaktır.

Yukarıdaki bilgileri okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün (veli/vasi) Adı- soyadı:İmzası:

Açıklamaları yapan araştırmacının Adı- soyadı:İmzası:

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-soyadı:..... İmzası:

Görevi:

Tarih:/...../.....