

Obez Çocuklarda Small Dense LDL, Endotelin-1 ve Lipokalin-2 Seviyelerinin Değerlendirilmesi

İhsan Çetin¹, Sabahattin MUHTAROĞLU², Birsen YILMAZ¹, Selim KURTOĞLU³

¹Batman Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Batman, Türkiye

²Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya A.B.D., Kayseri, Türkiye

³Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatri ve Endokrinoloji A.B.D., Kayseri, Türkiye

Özet

Çocukluk obezitesinin artan hızı ve ilişkili olduğu sağlık sonuçları, tıbbi araştırmaların ve sağlık politikalarının bu konuya ilgisini artırmıştır. Obez kişilerde abdominal obezite ile Small Dense LDL (sdLDL) düzeylerinin ilişkili olduğu ve plazma endotelin-1 (ET-1) seviyelerinin yükseldiği vurgulanmıştır. Lipokalin-2 (Lip-2), termoregülasyonda rol oynamaktadır ve obezite ile ilişkilendirilmektedir. Bu sebeple çalışmamızda obez çocuklarda sdLDL, ET-1 ve Lip-2 seviyelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamıza yaşları 6-15 arasında olan 51 obez ve 40 sağlıklı çocuk alınmıştır. Obezite, yaş ve cinsiyet göz önüne alınarak, 95 persentil ve üzerindeki (Beden kütle indeksi) BKİ ile belirlenmiştir. Serum Lip-2 ile plazma ET-1 enzim bağılı immünoassay ile ölçülmüştür, sdLDL ölçümü süpernatant elde edilmesini takiben otoanalizörde LDL ölçüm kiti kullanılarak tayin edilmiştir. Obez çocukların boy uzunluğu, vücut ağırlığı ve BKİ değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). İki grup karşılaştırıldığında; sdLDL, ET-1 ve Lip-2 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Obez erkek çocukları ile karşılaştırıldığı zaman obez kız çocuklarının lip-2 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). İleriki süreçte yapılacak deneysel ve hücresele çalışmalar ile obez kız çocuklarında artmış lip-2 düzeylerinin açıklığa kavuşturulması, obezitenin cinsiyet üzerindeki etkisini ortaya çıkartmak için katkı sağlayabileceğini öne sürebiliriz.

Anahtar kelimeler: Çocukluk obezitesi, BKİ, sdLDL, ET-1, Lip-2

Evaluation of Small Dense LDL, Endothelin-1 And Lipocalin-2 Levels in Obese Children

Abstract

The high prevalence of childhood obesity and related health consequences have received increasing attention in medical studies and health policies. It is emphasized that abdominal obesity and the level of small dense LDL (sdLDL) are related each other and, the level of ET-1 have increasing in obese population. Lipocalin-2 (LCN-2) plays a role in thermoregulation and is associated with obesity. Therefore, we aim to evaluate sdLDL, ET-1 and Lip-2 levels in obese children. Our study included 51 obese children and 40 healthy controls aged 6-15 years. Obesity was defined as a body mass index (BMI) \geq 95th percentile for age and gender. Serum LCN-2, plasma endothelin-1 were measured by enzyme-linked immunosorbent assays, and the measurement of sdLDL were determined using the LDL measurement kit in autoanalyzer followed by obtaining supernatant. The height, weight and BMI of obese children was significantly higher than that of the control group ($p<0,05$). When the two groups were compared; there was no statistically significant difference among sdLDL, ET-1 and LCN-2 levels ($p>0,05$). Lip-2 levels were found to be statistically significantly higher in the obese girls compared to obese boys ($p<0,05$). We suggest that clarification of the increased lip-2 level of girls with future experimental and cellular studies may contribute to the understanding of the impact of obesity on gender.

Keywords: Childhood obesity, BMI, sdLDL, ET-1, LCN-2

1. Giriş

Obezite, vücut yağ dokusundaki aşırı artış olarak tanımlanan, genetik, çevresel, metabolik ve hormonal faktörler ile oluşan bir halk sağlığı sorunudur [1,2]. Çocukluk ve gençlik döneminde ortaya çıkan şişmanlığın, gelecekte bu bireylerde birçok sağlık sorununun ortaya çıkmasına neden olacağı düşünülmektedir [1].

Ülkemizde 2009 yılında Türkiye Okul Çağı Çocuklarında Büyümenin İzlenmesi (TOÇBİ) Projesi Araştırması beslenme ile ilgili göstergelerin izlenmesini sağlamıştır. TOÇBİ Araştırmasında hedef grup olan 6-9 yaş grubu çocuklar arasında şişmanlık sıklığı % 6,5 olarak bulunmuştur. TOÇBİ (2009) araştırmasının sonuçlarına göre ülkemizde her beş çocuktan biri kilolu olma ile ilişkili hastalıklar açısından risk altındadır [3].

Obez kişilerde abdominal obezite ile dislipideminin ve small dense LDL (sdLDL) düzeylerinin ilişkili olduğu vurgulanmıştır [4]. Obez çocuklarda eğlenceli kilo verme aktivitelerini içeren çalışmalardan bir tanesinde, kilo verme ile LDL partikül çapı arasında ilişki olduğu bulunmuştur [5]. Obez çocuklarda yapılan başka bir çalışmada ise sdLDL prevalansının obez çocuklarda yüksek olduğu, LDL çapı ile abdominal obezitenin ilişkili olduğu bulunmuştur [6].

Yağ dokusu, endotelin-1 (ET-1) salgılayan endotel dokunun da dâhil olduğu vasküler hücreler tarafından çevrilmiştir. Obez kişilerde, plazma ET-1 seviyelerinin yükseldiği bulunmuştur [7]. ET-1 yağ hücrelerini doğrudan etkilemektedir. *İn vitro* çalışmalarda uzun süre ET-1'e maruz bırakılan yağ hücrelerindeki insülin reseptörlerinde duyarsızlaşmanın olduğu bunun sonucunda glukozun hücre içerisine alımının azaldığı ve preadipositlerin adipositlere dönüşümünün inhibisyona uğradığı bulunmuştur [8,9].

Termoregülasyonda rol oynayan lipokalin-2 (Lip-2), yağ dokusundan salgılanan, adipokin sınıfına ait bir bileşiktir. *İn vivo* çalışmalarda, Lip-2'nin lipit metabolizması, termoregülasyona uyum sağlama, diyet ile oluşan obezite ve insülin direnci (IR) üzerinde kritik rol oynadığı ortaya konulmuş ve kahverengi yağ dokusunda oksidatif fosforilasyonun düzenleyicisi olduğu bulunmuştur [10]. İnflamasyon, oksidatif stres, enfeksiyon, iskemi ve

kardiyak cerrahi gibi patolojik durumlarda Lip-2 sentezinin arttığı saptanmıştır. Yağ dokudan sentezlenen ve akut faz proteini olarak da sınıflandırılan Lip-2 obezitenin ve inflamasyonun etkileriyle pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir [11]. Obez kişilerde ve deney hayvanlarında Lip-2 konsantrasyonunda artış görülmüş ayrıca dolaşımda Lip-2 konsantrasyonunun beden kütle indeksi (BKİ), açlık kan glukozu, hiperinsülinemi ve IR ile önemli düzeyde ilişkili olduğu bildirilmiştir [12].

Bildiğimiz kadarıyla şu ana kadar obez çocuklarda sdLDL, ET-1 ve Lip-2 düzeylerinin birlikte incelendiği bir çalışma yapılmamıştır. Bu sebeple çalışmamızda, obezite tanısı konulan çocuklarda sdLDL, ET-1 ve Lip-2 düzeylerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metod

Çalışmamıza 2011 Nisan- Haziran tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Endokrinoloji Bilim Dalı Polikliniği'ne başvuran, yaşları 6-15 yıl arasında değişen ve obezite tanısı alan 23 erkek ve 28 kız, toplam 51 çocuk alındı. Çalışmaya Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi klinik araştırmalar etik kurulundan, etik kurul onayı (karar no: 2010-141) alındıktan sonra başlanmıştır.

Sistemik hastalığı olmayan 20 erkek ile 20 kız, toplam 40 çocuk kontrol grubu olarak seçildi. Türk çocukları için belirlenmiş olan persentil eğrilerinden yararlanılarak; obez çocukların ve kontrol grubunun, cinsiyet ve yaşa göre persentil değerleri hesaplandı ve 5-85 persentil arasında olan çocuklar kontrol, 95 persentilin üzerindeki ise obez grubu olarak belirlendi [13].

Araştırmaya alınan 51'i obez, toplam 91 çocuğun vücut ağırlığı G-TECH marka elektronik tartı ile ve boy uzunluğu ölçümleri vertikal pozisyonda çıplak ayak ile ayaklar bitişik ve paralel, omuz ve gluteal bölge cihaza temas edecek şekilde stadiyometre ile ölçüldü.

Beden kütle indeksi = vücut ağırlığı (kg) / boy uzunluğu (m²) olarak hesaplandı.

Kan örnekleri, 12 saat açlıktan sonra 08.00-10.00 saatleri arasında, serum için antikoagülsüz, plazma için EDTA'lı tüplere alındı. Oda sıcaklığında yarım saat bekletilen

kanlar 4000 g’de 10 dakika santrifüj edildikten sonra ET–1 plazmada diğer parametreler ise serumda çalışılmak üzere analiz anına kadar -70 °C’ de muhafaza edildi.

Small dense LDL ölçümü Hirano ve ark. (2004) tarafından geliştirilen metoda göre süpernatant elde edilmesini takiben otoanalizörde LDL ölçüm kiti kullanılarak tayin edildi [14]. Lipokalin–2 analizi, (Boster marka / Katalog No:EK0853) ELISA kiti kullanılarak yapıldı. Endotelin-1, (BACHEM marka / Katalog No.S-1156) ELISA kiti ile ölçüldü.

İstatistiksel analiz, SPSS 15.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Veriler, aritmetik ortalama \pm standart sapma ($X \pm SS$) olarak gösterildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Obez çocuk ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında bağımsız örneklem t-testi ve Mann-Whitney U Testi kullanılırken, iki grup arası orantısal değerlerin karşılaştırılması Ki-Kare Testi ile yapıldı.

3. Bulgular

Tablo 1’de obez ve kontrol grubuna ait tanımlayıcı değişkenler verilmiştir. İki grup arasında, cinsiyet dağılımı ve yaşları açısından anlamlı bir fark bulunmazken, obez çocukların boy uzunluğu, vücut ağırlığı ve BKİ değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek olduğu bulundu.

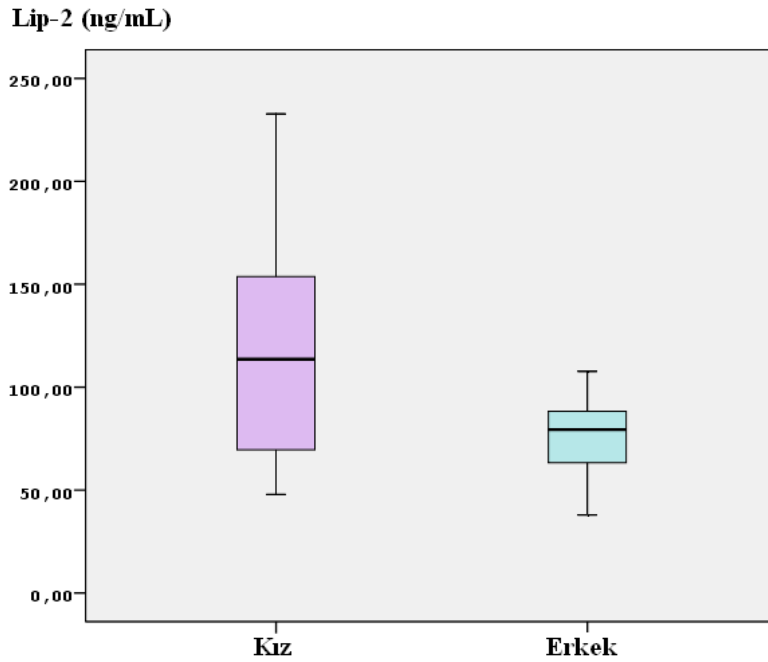
Tablo 1. Obez ve kontrol grubuna ait tanımlayıcı değişkenler

Parameters	Obese Children						Controls						p
	Total		Boys (n 23)		Girls (n 28)		Total		Boys (n 20)		Girls (n 20)		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Age	11.7	2.15	1.9	1.9	12.1	2.1	10.7	2.9	10.2	2.54	12.0	2.7	>0.05
Height (cm)	150.2^a	13.9	152.1	14.8	151.8	10.6	139.1	19.3	136.4	19.7	146.1	16.9	<0.05
Weight (kg)	66.6^b	19.4	71.3^b	22.4	66.3^b	15.2	35.2	13.3	32.4	11.9	40.6	13.4	<0.001
BKİ	29.0	4.85	30,2	5,4	28,4	4,2	17.5	2.65	16,8	2,3	18,4	3,0	<0.001

Tablo 2’de obez ve kontrol gruplarına ait biyokimyasal değerler gösterilmiştir. Small dense LDL, ET-1 ve Lip-2 düzeyleri açısından gruplar incelendiğinde; obez çocuklarda bu moleküllerin düzeyleri daha yüksek bulunmuştur ancak gruplar arasında bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$).

Parameters	Obese Children						Controls						p
	Total		Boys (n 23)		Girls (n 28)		Total		Boys (n 20)		Girls (n 20)		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
sdLDL (mg/dL)	20,9	11,1	20.6	10.9	21.1	11.7	17,2	6,47	16.4	6.3	16.8	6.8	>0.05
ET-1 (ng/mL)	0,27	0,19	0.25	0.18	0.27	0.19	0,25	0,11	0.25	0.12	0.23	0.11	>0.05
Lip-2 (ng/mL)	102,5	47,3	87.0*	34.6	115.9	53.3	98,3	34,0	99.2	30.9	101.2	37.9	>0.05

Şekil 1’de obez kız ve erkek çocuklarında Lip-2 düzeyleri gösterilmiştir. Kız ve erkek çocuklarında Lip-2 düzeyleri karşılaştırıldığında kız çocuklarının Lip-2 seviyelerinin, erkek çocukların Lip-2 seviyelerinden anlamlı düzeyde ($p<0.05$) yüksek olduğu bulunmuştur.



Şekil 1: Obez kız ve erkek çocuklarında Lip-2 düzeyleri

4. Tartışma ve Sonuç

Obezite prevalansı hem gelişmiş, hem de gelişmekte olan ülkelerde artmakta ve erişkinler kadar çocukları da gün geçtikçe daha fazla etkilemektedir. Bugün obezite ile hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar (KVH), tip 2 diyabet (T2D), gibi birçok hastalık arasında sıkı bir ilişki olduğu vurgulanmıştır. Obez kişilerde hayat süresinin kısaldığı, ayrıca erişkin obezlerin büyük çoğunluğunda bu durumun başlangıcının çocukluk yaşlarına uzandığı iyi bilinmektedir [1,15].

Obez popülasyonlarda KVH risk faktörleri içerisinde dislipidemi, hipertansiyon ve IR sayılabilir. Son yıllarda bu risk faktörleri arasına sdLDL de dâhil edilmiştir [16]. Arisaka ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada sdLDL'nin insülin direnci ve metabolik sendrom ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır [17]. sdLDL prevalansı normal ağırlıklı çocuklarda % 9,3 iken Miyaçhita ve ark. (2006) obez çocuklar üzerinde yaptıkları çalışmada dLDL prevalansının % 40 civarında olduğu bildirilmişlerdir [18,19].

Çalışmamızda obez çocuk ve kontrol grubu, sdLDL düzeyleri açısından incelendiğinde gruplar arasında farklılık bulunmuştur. Fakat literatürde yapılan çalışmalardan farklı olarak gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı bulunmuştur [18,19].

Small dense LDL oluşumunda çevresel faktörlerin rol oynadığı, besin içeriği ile LDL partikül boyutu arasında ilişki olduğu ve sdLDL'nin genetik etkiyle otozomal dominant bir şekilde geçiş yaptığı literatürde ifade edilmiştir [20,21,22]. Çalışmamızda obez ve kontrol grubunda dLDL düzeylerinin anlamlı fark göstermemesi, çocuklarda dLDL oluşumunun çevresel faktörler ile birlikte genetik etkinin de rol oynadığı söylenebilir. Bu düşüncemizi kuvvetlendiren bir çalışma da Taşçılar ve ark. (2000) Türk çocuklarında yaptıkları çalışmadır. Bu çalışmada Taşçılar ve ark. (2000) bizim çalışmamıza benzer şekilde obez çocuklarda sdLDL düzeylerini yüksek bulmalarına rağmen anlamlı düzeyde bir fark olmadığını göstermişlerdir [23].

Yan ve ark. (2007) ile Kanaka-Gantenbein ve ark. (2008) yaptıkları farklı araştırmalar ve daha birçok klinik, hayvansal ve hüresel çalışmalarda Lip-2'nin obezite, diyabet,

inflamasyon gibi komplikasyonlarla ilişkili olan ve adipokin ailesinin yeni bir üyesi olduğu bildirilmiştir [12,24]. Hemdahl ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada Lip-2'nin aterosklerotik plak ve miyokard infarktüsünde arttığını bildirmiştir [25]. Wang ve ark. (2007) ise yaptıkları araştırmada obez kişilerin Lip-2 konsantrasyonlarının, normal kilodaki bireylere göre daha yüksek olduğunu ayrıca Lip-2 seviyelerinin dislipidemi, hiperinsülinemi, hiperglisemi ve IR ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir [26].

Çalışmamızda obez çocukların Lip-2 seviyeleri incelendiğinde, kontrol grubu Lip-2 değerlerinden yüksek olduğu bulunmuştur ancak bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir. Corripio ve ark. (2010) prepübertal obez çocukları üzerinde yaptıkları çalışmada obez çocuklar ve kontrol grubu karşılaştırıldığında obez çocukların Lip-2 düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulmuşlardır [27]. Aynı çalışmada 2 yıllık izleme sonucunda kilo veren çocuklarda ölçülen Lip-2 düzeylerinde ise anlamlı oranda bir fark bulamamışlardır. Bizim çalışmamızda, Kanaka-Gantenbein ve ark. (2008) bulguları ile uyumlu olarak obez çocuk ve kontrol grubu arasında anlamlı düzeyde fark gözlenmemiştir [24].

Obez çocuklarda cinsiyet farkı göz önüne alınarak sdLDL, Lip-2 ve ET-1 düzeyleri açısından yapılan değerlendirmede, obez kız ve erkek çocukları arasında sadece Lip-2 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark bulunmuştur. Kız çocuklarında Lip-2 seviyelerinin erkek çocuklarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır. Kirchengast ve ark. (2008) obez çocuklarda yağ dokusu üzerine cinsiyet farklılığını araştırdığı çalışmada obez kız çocuklarında yağ dokusunun ve dağılım alanlarının erkek çocuklara göre daha farklı olduğunu erkeklerde ise kas kütlelerinin anlamlı düzeyde kız çocuklarından fazla olduğunu bildirmişlerdir [28]. Benzer şekilde Komiya ve ark. (2000) kız çocuklarında yağ doku yüzdesini ve dağılımını erkek çocuklardan anlamlı düzeyde farklı bulmuşlardır [29].

Literatürde bildirilen Lip-2'nin bir adipokin olarak yağ dokusu ile ilişkili olması ve Kirchengast ve ark. (2008) ile Komiya ve ark. (2000) yaptıkları farklı çalışmalar ile ortaya çıkarttıkları, kız çocuklarının yağ dokusu yüzdelерinin ve dağılım alanlarının erkek çocuklardan farklı olduğu bilgisi göz önüne alındığında; çalışmamızda obez kız çocuklarında erkek çocuklara göre yüksek bulunan Lip-2 düzeylerinin kız çocuklarında vücuttaki total yağ miktarı ve vücuttaki yağların dağılım alanları ile ilişkilendirilebilir [28,29].

Metabolik ve hemodinamik homeostaziste, NO ve ET-1 üretiminin dengesi çok önemlidir, bu nedenle NO'in yanında ET-1 düzeylerinin de değerlendirilmesi endotel doku dolayısıyla KVH açısından önem taşımaktadır [30,31]. Obezite anında dolaşım ET-1 kaynağı tam olarak bilinmese de obez bireylerde, plazma ET-1 seviyelerinin yükseldiğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır [7]. Bu çalışmalardan birisinde van Harmelen ve ark. obez ve normal kilolu bireyleri karşılaştırılmışlar ve obezite ile birlikte ET-1 düzeylerinin de arttığını bulmuşlardır [32].

Çalışmamızda obez çocukların ET-1 düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu gözledik ancak Van Harmelen ve ark. (2008) yaptıkları çalışmadan farklı olarak anlamlı düzeyde bir değişiklik tespit etmedik [32]. ET-1 düzeylerinin literatürde belirtildiği üzere yetişkin obezlerde yüksek olmasına rağmen çalışmamızdaki obez çocuklarda kontrol grubu ile benzer sonuçların alınmasında yaş faktörünün etkili olduğunu düşünmekteyiz. Bu düşüncemiz Sato ve ark. (1993) yaptıkları çalışmalar ile uyumlu gözükmektedir [33]. Bu çalışmalarda yaş artışı ile birlikte ET-1 seviyelerinin arttığı buna bağlı olarak endotel disfonksiyon sıklığında da artışın olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde yaşın endotel doku üzerine olan etkisini araştırıldığı bir çalışmada Toprakçı ve ark. (2000) farklı yaş gruplarının dâhil edildiği sağlıklı bireyler üzerinde yaptıkları çalışmada NO düzeylerinin yaş ile birlikte azaldığını bildirmişlerdir [34].

Sonuç olarak çalışmamızda, obez çocukların sdLDL, ET-1 ve Lip-2 değerlerinin; kontrol grubuna göre yüksek olduğu ancak iki grup arasında fark olmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte, bundan sonra yapılacak çalışmaların, daha fazla sayıda bireyin katılımının sağlandığı ve daha uzun süreyi kapsamasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Köksal G., Özel G.H. 2008. Çocukluk Ve Ergenlik Döneminde Obezite, (1 nd ed), Klasmat Matbaacılık, Ankara, s. 8-9.
2. "Türkiye Çocukluk Çağı (7-8 Yaş) Şişmanlık Araştırması (COSI-TUR), 2013" Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Milli Eğitim Bakanlığı, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 920, Ankara, 2014.
3. Türkiye'de Okul Çağı (6-10 Yaş Grubu) Çocuklarında Büyümenin İzlenmesi (TOÇBİ) Projesi Araştırma

- Raporu, Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Milli Eğitim Bakanlığı, Sağlık Bakanlığı Yayın No:834, Ankara, 2011.
4. Krayenbuehl P.A., Wiesli P., Schmid C., et al. 2008. Insulin sensitivity in type 2 diabetes is closely associated with LDL particle size. *Swiss Medical Weekly*. 138: 275–80.
 5. King R.F., Hobkirk J.P., Cooke C.B., Radley D., Gately P.J. 2008. Low-density lipoprotein sub-fraction profiles in obese children before and after attending a residential weight loss intervention. *Journal of Atherosclerosis Thrombosis*. 15: 100–7.
 6. Miyashita M., Okada T., Kuromori Y., Harada K.2006. LDL particle size, fat distribution and insulin resistance in obese children. *European Journal of Clinical Nutrition*. 60: 416–20.
 7. Chai S.P., Juan C.C., Kao P.H., Wang D.H., Fong J.C. 2012. Synergistic induction of interleukin-6 expression by endothelin-1 and cyclic AMP in adipocytes. *International Journal of Obesity (Lond)*. 31. doi: 10.1038/ijo.2012.11.
 8. Hauner H., Petruschke T., Gries F.A. 1994. : Endothelin–1 inhibits the adipose differentiation of cultured human adipocyte precursor cells. *Metabolism* 43: 227–32.
 9. Usui I., Imamura T., Babendure J.L., et al. 2005. G protein-coupled receptor kinase 2 mediates endothelin-1-induced insulin resistance via the inhibition of both Galphaq/11 and insulin receptor substrate-1 pathways in 3T3–L1 adipocytes. *Molecular Endocrinology*. 19: 2760–68.
 10. Guo H., Jin D., Zhang Y., et al. 2010. Lipocalin 2 deficiency impairs thermogenesis and potentiates diet-induced insulin resistance in mice. *Diabetes* 59: 1376–85.
 11. Wang Y., Lam K.S., Kreagen E.W., et al. 2007. Lipocalin–2 is an inflamatuar marker closely associated with obesity, insulin resistance and hyperglysemia in humans. *Clinical Chemistry* 53: 34–41.
 12. Yan Q.W., Yang Q., Mody N., et al. 2007. The adipokine lipocalin 2 is regulated by obesity and promotes insulin resistance. *Diabetes* 56: 2533–40.
 13. Bundak R., Furman A., Günöz H., et al. 2006. Body mass index for Turkish children. *Acta Paediatrica* 95: 194–8.
 14. Hirano T., Ito Y., Koba S., et al. 2004. Clinical significance of small dense lipoprotein cholesterol levels determined by the simple precipitation method. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*. 24: 558–63.
 15. Adıyaman P., Berberoğlu M., Gülnar B.S., Öcal G., Şimşek F. ve Ulukol B. 2005. Ankara’da bir ilköğretim okulu ve lisede obezite sıklığı. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 58:163-166.
 16. Daniels S.R., Greer F.R. 2008. Lipid screening and cardiovascular health in childhood. *Pediatrics*. 122:198–208.
 17. Arisaka O., Fujiwara S., Yabuta K., Mokuno H., Mitugi Y., Miyake N. 1997. Characterization of low-density lipoprotein subclasses in children. *Metabolism* 46: 146–8.

18. Arisaka O., Kojima M., Yamazaki Y., et al. 2004. Relationship between the presence of small, dense low-density lipoprotein and plasma lipid phenotypes in Japanese children. *Journal of Atherosclerosis Thrombosis* 11: 220–3.
19. Miyashita M., Okada T., Kuromori Y., Harada K. 2006. LDL particle size, fat distribution and insulin resistance in obese children. *European Journal of Clinical Nutrition*. 60: 416–20.
20. McEneny J., McPherson P., Spence M., et al. 2012. Does a diet high or low in fat influence the oxidation potential of VLDL, LDL and HDL subfractions? *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*.
21. Rizzo M., Berneis K. 2007. The clinical significance of the size of low-density-lipoproteins and the modulation of subclasses by fibrates. *Current Medical Research Opinion* 23: 1103–11.
22. Vora A.N., Ouyang P., Bittner V., Tardif J.C., Waters D.D., Vaidya D. 2008. Racial differences of lipoprotein subclass distributions in postmenopausal women. *Ethnicity Diseases* 18: 176–180.
23. Taşçılar M.E., Özgen T., Cihan M., et al. 2010. The effect of insulin resistance and obesity on low-density lipoprotein particle size in children. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. 2: 63–6.
24. Kanaka-Gantenbein C., Margeli A., et al. 2008. Retinol-binding protein 4 and lipocalin-2 in childhood and adolescent obesity: when children are not just "small adults". *Clinical Chemistry*. 54: 1176–82.
25. Hemdahl A.L., Gabrielsen A., Zhu C., et al. 2006. Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in atherosclerosis and myocardial infarction. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 26: 136–42.
26. Wang Y., Lam K.S., Kreagen E.W., et al. 2007. Lipocalin-2 is an inflammatory marker closely associated with obesity, insulin resistance and hyperglycemia in humans. *Clinical Chemistry* 53: 34–41.
27. Corripio R., González-Clemente J.M., Pérez-Sánchez J., et al. 2010. Weight loss in prepubertal obese children is associated with a decrease in adipocyte fatty-acid-binding protein without changes in lipocalin-2: A 2-year longitudinal study. *European Journal Endocrinology*. 163: 887–93.
28. Kirchengast S. 2008. Biocultural aspects of gender differences in body composition and obesity during childhood and adolescence. *Anthropologischer Anzeiger*. 66: 337–48.
29. Komiya S., Eto C., Otoki K., Teramoto K., Shimizu F., Shimamoto H. 2000. Gender differences in body fat of low- and high-body-mass children: relationship with body mass index. *European Journal Applied Physiology*. 82: 16-23.
30. Ruba S., Brian D., David P. 2009. Silent Partner in Blood Vessel Homeostasis? Pervasive Role of Nitric Oxide in Vascular Disease. *Current Hypertension Reviews*. 5: 273–82.
31. Mather K.J., Lteif A., Steinberg H.O., Baron A.D. 2004. Interactions between endothelin and nitric oxide in the regulation of vascular tone in obesity and diabetes. *Diabetes*. 53: 2060-6.
32. Van Harmelen V., Eriksson A., Aström G., et al. 2008. Vascular peptide endothelin-1 links fat accumulation with alterations of visceral adipocyte lipolysis. *Diabetes*. 57: 378–86.

33. Sato I., Kaji K., Morita I., Nagao M., Murota S. 1993. Augmentation of endothelin-1, prostacyclin and thromboxane A2 secretion associated with in vitro ageing in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Mechanisms of Ageing and Development*. 71: 73-84.
34. Toprakçı M., Özmen D., Mutaf I., et al. 2000. Age-associated changes in nitric oxide metabolites nitrite and nitrate. *International Journal of Clinical and Laboratory Research*. 30: 83-5.