

İnsan Yağ Dokusunda Yeni Bir Adipokin: Omentin

A New Adipokin in Human Adipose Tissue: Omentin

Dr. Hakan TEREKECİ,^a
Dr. Cihan TOP^a

^aİç Hastalıkları Kliniği,
GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi,
İSTANBUL

Geliş Tarihi/Received: 21.09.2007
Kabul Tarihi/Accepted: 12.12.2007

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Cihan TOP
GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi,
İç Hastalıkları Kliniği, İSTANBUL
tpcihan@hotmail.com

ÖZET Günümüzde leptin, rezistin ve adiponektin gibi adipositokinler tip 2 diyabet, lipid metabolizması, endotel disfonksiyonu ve inflamatuvar hastalıklarda geleceğin potansiyel ilaç hedefleri olarak araştırılmaktadır. Santral obezite periferel obeziteye oranla, insülin rezistansı, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar ile daha yakından ilişkilidir. Visseral dokuda yağ birikimi, karaciğer ve kas dokusunda trigliserid birikimine yol açmaktadır. Bu durum ise insülin rezistansı ile sonuçlanmaktadır. Fakat alta yatan patofizyolojik mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. 2003 yılında omentin adlı yeni bir cDNA (AY 549722) tanımlanmış olup insan omental adipoz dokuda spesifik olarak eksprese edildiği rapor edilmiştir. Döngüsel DNA havuzunda omentin geni; perilipin, leptin, adiponektin gibi diğer adipokinleri üreten genler kadar yaygın olarak bulunmaktadır. Protein sekans analizleri omentin mRNA'sının 313 aminoasitlik bir proteini kodladığını göstermiştir. Bu aminoasid yapısı sekretuar sinyal sekansı ve fibrinojen ile ilişkili bir parçadan oluşmaktadır. Yang ve ark. 2006 yılında omentinin, adipositlerdeki insülin aracılı glukoz uptake'ini artırdığını göstermişlerdir. Dahası, omentinin predominant olarak subkutan değil, visseral adipoz dokuda eksprese edildiğini buldular; ancak, adipoz dokudaki stromal hücreler omentinin temel kaynağını teşkil ediyordu. Omentin insan serumunda Western Blot yöntemiyle tespit edilir. Rekombinant omentinin in vitro eklenmesi bazali etkilememiş, ancak insülinle-stimule glukoz alımını hem subkutan, hem de omental insan adipozitlerinde arttırmıştır. Omentin, insülin varlığında ve yokluğunda Akt fosforilasyonunu arttırmaktadır. Netice olarak omentin, omental adipoz hücrelerce eksprese edilen ve insülin aktivitesini regüle edebilen yeni bir adipokindir.

Anahtar Kelimeler: İntra-abdominal yağ, omentin protein, obezite

ABSTRACT Adipokines such as leptin, resistin and adiponectin are currently investigated as potential future drug targets in type 2 diabetes mellitus (T2D), lipid metabolism, endothelial dysfunction and inflammatory diseases. Central (visceral) obesity is more closely associated with insulin resistance, type 2 diabetes, and cardiovascular disease than peripheral obesity, but the underlying mechanism for this pathophysiological difference is largely unknown. In 2003, a new cDNA named "omentin" (gene bank accession number: AY549722) was described and reported to be expressed specifically in human omental adipose tissue. Omentin expressed sequence tags (ESTs) were more abundant than many known adipose genes, such as perilipin, adiponectin, and leptin in the cDNA library. Protein sequence analysis indicated that omentin mRNA encodes a peptide of 313 amino acids, containing a secretory signal sequence and a fibrinogen-related domain. Yang et al. demonstrated that omentin is capable of enhancing insulin-mediated glucose-uptake in adipocytes in 2006. Furthermore, they found that omentin is predominantly expressed in visceral but not in subcutaneous adipose tissue, however, with adipose tissue stromal cells being the main source of omentin. Omentin is detectable in human serum by Western blot analysis. Addition of recombinant omentin in vitro did not affect basal but enhanced insulin-stimulated glucose uptake in both subcutaneous and omental human adipocytes. Omentin increased Akt phosphorylation in the absence and presence of insulin. In conclusion, omentin is a new adipokine that is expressed in omental adipose tissue in humans and may regulate insulin action.

Key Words: Intra-abdominal fat; human omentin protein; obesity

Santral ve periferik obezite arasındaki farklılığın moleküler temelini ortaya koymak amacı ile insan omental yağ dokusundan 10.437 adet döngüsel DNA sekansı ekleri incelenmiş ve yeni bir visseral yağ dokusu kaynaklı, depo özellikli adipokin izole edilmiş olup, bu yeni adipokine omentin adı verilmiştir. Döngüsel DNA havuzunda omentin geni; perilin, leptin, adiponektin gibi diğer adipokinleri üreten genler kadar yaygın olarak bulunmaktadır. Protein sekans analizleri omentin mRNA'sının 313 aminoasitlik bir proteini kodladığını göstermiştir. Bu aminoasit yapı sekretuar sinyal sekansı ve fibrinojen ile ilişkili bir parçadan oluşmaktadır. Northern analizine göre omentin mRNA'sının insan ve Rhesus türü maymunlarda subkutan yağ dokusuna göre visseral yağ dokusunda daha fazla miktarda üretildiği tespit edilmiştir. Kantitatif eş zamanlı PCR tetkiki ile omental yağ dokusundan izole edilen örneklerde omentinin stromal vasküler hücrelerde üretildiği, yağ hücrelerinde üretilmediği, ayrıca subkutan yağ dokusunda 150 kez daha az miktarda üretilmiş olduğu tespit edilmiştir. Omentin, omental adipoz hücrelerce eksprese edilen ve insülin aktivitesini regüle eden yeni bir adipokindir.¹

Obezite yağ dokusunun vücutta dağılımı ile ilgili bir heterojen durumdur. Visseral (santral) obezitede yağ, omental dokuda ve mezenterik yağ depolarında birikirken, periferik obezitede bu birikim subkutan dokuda olmaktadır. Birçok epidemiyolojik çalışma visseral obezitenin, insülin rezistansı, tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, dislipidemi gibi obezite ile ilgili komorbiditeler açısından periferik obeziteden daha fazla risk taşıdığını göstermektedir.¹⁻⁴ Fakat altta yatan temel fizyopatolojik mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte, visseral yağ dokusunun farklı biyolojik özellikleri nedeniyle santral obezitede bu risk artışının olduğu tahmin edilmektedir. Örneğin artmış kortizol miktarı, tercihi olarak visseral yağ dokusunun büyümesine neden olmakta, ayrıca HIV ile enfekte kişilerin proteaz inhibitörleri ile tedavi edilmesi de subkutan yağ doku kaybına, visseral yağ akümülyasyonuna neden olmaktadır.^{5,6}

İn vitro çalışmalarda abdominal visseral yağ dokusunun, insülinin antilipolitik etkisine relatif

olarak dirençli⁷ ve katekolaminlerin lipolitik etkilerinin stümülyasyonuna, daha duyarlı olduğu gösterilmiştir.⁸ Moleküler düzeyde visseral yağ dokusunun subkutan yağ dokusuna göre yüksek düzeylerde IL-8,⁹ plazminojen aktivatör inhibitör-1,¹⁰ anjiotensinojen¹¹ moleküllerini sekrete ettiği bilinmektedir.

Her iki yağ dokusunun moleküler ve biyolojik özellikleri incelendiğinde birçok soru yanıtız kalmaktadır. Örneğin obezitede sistemik insülin rezistansı mevcut olduğu halde neden visseral adipoz dokuda, yağ birikimi devam etmektedir. Daha kapsamlı olarak sorgulandığında her iki yağ dokusunun değişik hormonlara ve sitokinlere değişik yanıt vermesindeki moleküler temel nedir? Buldukları yağ dokusuna göre farklı etkiler (depo bağımlı etki) gösteren ve bir bütün olarak düşünüldüğünde metabolik sendrom olarak adlandırılan tabloyu oluşturan başka depo spesifik moleküller var mıdır?

Eksprese edilen DNA sekanslarının analizleri, yeni genleri tanımlamada ve belirli bir dokudaki global gen ekspresyonunu tespit etmede güçlü bir yöntemdir.^{12,13} Yağ dokusunda 1999 yılından bu yana yapılmakta olan gen analiz sonuçlarının yetersiz kaldığının anlaşılması ile beraber bu konuda yeni bir çalışma başlatılarak insan omental yağ dokusundaki döngüsel DNA havuzu- global gen ekspresyonunu inceleyip dikkate değer yeni bir gen sekansı tespit edilmesi amaçlanmıştır. 10.437 adet döngüsel DNA sekansı ekleri incelemesinin biyoinformatik analizi neticesinde yeni bir visseral yağ dokusu kaynaklı, adipokin izole edilmiş olup, bu yeni adipokine omentin adı verilmiştir. Bu bağlamda omentinin insan serumunda da tespit edilebilen depo spesifik sekretuar bir protein olduğu, biyolojik olarak insülin etkisini kuvvetlendirebildiği tespit edilmiştir. Bu veri omentinin insan enerji metabolizmasında yer alan ve vücut yağ dağılımını etkileyen bir molekül olabileceğini işaret etmektedir.

Omentinin İdentifikasyonu: Özellikle ve sıklıkla eksprese edilmekte olan genleri tespit etmek amacı ile insan omental yağ dokusundan elde edilmiş olan halkasal DNA parçaları PCR metodu ile bakteriel DNA'ların 5' ucu ile muamele edilip çoğ-

altılarak DNA pilakaları oluşturulmuştur. 15.300 adet DNA sekansı bakteri kolonilerindeki DNA ların 5' uçları ile PCR yöntemi ile işleme konularak, 10.437 adet analiz edilebilir DNA sekansları elde edilmiştir. Bir küme eksprese DNA sekansının yaygınlığı ve daha önce elde edilmiş olanlardan farklılığı göze çarpmıştır. Bu gen kümesi 39 eksprese DNA sekansı içermektedir. Diğer omental dokuda yaygın olan genler ve bu genlerin ürünleri ile karşılaştırıldığında; örneğin perilin (12 eksprese DNA sekansı), adiponektin (7 eksprese DNA sekansı), leptin (1 eksprese DNA sekansı), daha fazla eksprese DNA sekansı içerdiği görülmektedir. Ayrıca bu yeni molekül herhangi bir gen ailesi ile sekans homolojisi göstermemektedir. Öncelikle bu yeni molekül yağ dokusunun EST 2'si (Fat EST 2), FEST2 olarak adlandırılmış, daha sonra ismi omentin olarak değiştirilmiştir.¹

Omentin toplam 313 aminoasidden oluşan bir proteindir. Peptidin aminoterminal kısmı yüksek oranda hidrofobik olup, bu uçtan itibaren 17 ve 18'nci aminoasitlerin arasındaki bölünme neticesi 296 aminoasitlik asid sekresyon fonksiyonu olan bölüm elde edilmektedir. Bu 296 aminoasitlik yapının moleküler ağırlığı 33 kDa'dır. Proteinin aminoterminal kısmı beta ve gama zincir yapılı fibrinojen, PGAR (Peroksizom Proliferator Aktive Reseptör Gama anjiopoetin-related) ve tenazin¹⁴ gibi globuler yapıdaki proteinlere benzemektedir.

Omentin molekülünün fonksiyonel karakterizasyonu ile ilgili olarak birçok müellif tarafından intelektin,¹⁵ endotelial lektin HL-1,¹⁶ intestinal laktoferrin reseptör¹⁷ gibi omentine benzer yapıdaki moleküllerin aynı gen tarafından kodlanan ortak protein sekanslarının mevcut olduğu bildirilmiştir.

OMENTİN GEN EKSPRESYONU İNSANLARDA VE PRİMATLARDA YAĞ DOKUSU DEPOSUNA ÖZELDİR

Birçok dokunun Northern analizi, omentinin en fazla miktarda insan omentum yağ dokusunda üretildiğini, daha az oranda da bağırsakta, akciğerde ve kalpte üretildiğini göstermiştir. Böbrekte ve kas dokusunda ise üretimi en az orandadır. Bu durum tersine leptin daha önceki çalışmalar ile uyumlu olarak, subkutan yağ dokusunda omental

yağ dokusuna oranla daha az oranda üretilmektedir.¹⁸⁻²⁰

11 adet Rhesus türü maymunla yapılan bir çalışmada, maymunların tümünde omentinin omental yağ dokusunda, subkutan yağ dokusuna oranla daha fazla miktarda üretildiği tespit edilmiştir. Adipoz dokuda bulunan stromal vasküler hücreler tarafından omentin üretimi gerçekleşmektedir. Bu durumu tespit etmek amacı ile omentum ve subkutan depo doku hücreleri adipositlere ve stromal vasküler hücrelere ayrıştırılmış, qRT-PCR tekniği kullanılmıştır. Omentin mRNA'sının 150-350 kez fazla miktarda, adipositlerde bulunan stromal vasküler hücrelerde üretildiği gözlenmiştir. Ayrıca omentin ekspresyonu, stromal vasküler hücrelerde diğer tüm dokulardan daha fazla oranda tespit edilmiştir. Bu çalışmada omentinin sekrete edilen bir protein olup olmadığını tespit etmek amacı ile molekülün karboksi terminal ucu memeli HEK-293T hücrelerinde işaretlenmiş, omentin-F adı verilen moleküller oluşturulmuş, bunlar 48 saat boyunca mediumda bekletilerek immünoblotting yöntemi ile analiz edilmiştir. Omental dokuya ait vasatlarda, subkutan doku ile kıyaslandığında, immünblot analizi değerlendirmesine göre band saptanmış olup subkutan dokuda benzer durum gözlenmemiştir. Dolayısı ile omentinin sekrete edilebilen bir molekül olduğu anlaşılmaktadır. Omentinin serumda tespit edilip edilemeyeceğini saptamak için, 3 bireyden serum alınmış, omentine ait antikorlar ile immünopresipitasyon yöntemi kullanılarak Western analizi incelemesi yapılmıştır. Kontrol serumları ile karşılaştırıldığında başlangıçta incelemeye alınan bireylerin immünpresipitasyon analizi ile dar bir şerit oluşturduğu ve bu durumun serumda omentin varlığı ile ilişkili olduğu değerlendirilmiştir. İlginç olarak incelemeye alınan 3 bireyin de bant yoğunluklarının farklı olduğu ve bu durumun da farklı konsantrasyonlarda omentin varlığına işaret ettiği düşünülmüştür.¹

Omentin, insan adiposit hücrelerinde insülin ile stimüle edilmiş glukoz uptake'ini ve Akt fosforilasyonunu arttırmaktadır. Omentin molekülünün fonksiyonel özelliklerini tespit etmek amacı ile insan HEK-293T hücrelerinde rekombinant omentin üretimi yapılmış ve kromatografik yöntemle mole-

kül izole edilmiştir. Omentinin (300 ng/ml) bazal glukoz uptake'ı üzerine bir etkisi yoktur. İnsüline bağımlı glukoz uptake'ini yaklaşık olarak % 50 düzeyinde arttırmaktadır. Bazal seviye ile karşılaştırıldığında insülin ile adiposit içerisine glukoz girişi yaklaşık %47 oranında artış göstermiş iken, bu oran ortama omentin eklendiğinde %105'in üzerine çıkmaktadır. Omentinin insan obezitesi ve insülin rezistansı ile ilişkili olup olmadığı merak konusudur. Omental dokuda omentin lokal olarak fazlaca üretildiğinde muhtemelen sistemik dolaşıma geçerek subkutan dokuya ve diğer omentin üretimi olamayan dokulara ulaşmakta ve belki de böylelikle tüm vücutta obezite ve ilişkili komplikasyonlar gözlemlenmektedir. Obezitede omentin seviyelerinin nasıl değişim gösterdiği bilinmemektedir. Obezitede diğer adipokinlerden leptin seviyesinin artış gösterdiği, adiponektin seviyesinin azaldığı bilinmektedir. Visseral yağ dokusunda yakın zamanda tanımlanmış bir adipokin olan visfatin²¹ ile omentin karşılaştırıldığında; her iki adipokinin de glukoz metabolizması ile ilgili olarak insulin etkisini module ettikleri, ancak omentinin visfatinden farklı olarak yalnızca insülin ile uyarılmış glukoz uptake'ini etkilerken, bazal glukoz transportuna bir etkisinin olmadığı bilinmektedir. Ayrıca birçok çalışma sonucuna göre visfatinin üretim yeri (subkutan ve visseral yağ dokusunda) omentinde olduğu gibi farklılık göstermemektedir.²²

Yağ dokusunda omentin ekspresyonu, stromal vasküler hücrelerde olmakta iken, visfatinin üretim ve salınım yeri bilinmemektedir. Omentin bugüne kadar bulunmuş olan adipokinler içerisinde depo spesifik özelliği olan ilk adipokindir. Depo spesifik etkinin lokal hormonlara, adipokinlere, büyüme faktörlerine bağlı olabileceği bilinmektedir. Bu faktörlerin tespiti için ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir. Omentin ile ilgili bir diğer ilgi çekici nokta, omentin gen bölgesinin 1q22-q23 de yer aldığıdır. Bu bölgenin aynı zamanda birçok popülasyonda genetik olarak tip 2 diyabet ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir. Dolayısı ile omentin gen bölgesinin tespiti ile bu bireylerde, tip 2 diyabete pozisyonel bir yatkınlık olabileceği düşünülebilir.²³⁻²⁶

İnsan obezitesi, insülin rezistansı ve omentin arasındaki ilişki cevaplanması gereken önemli bir sorudur. Obezitede omentin düzeylerinde ne gibi değişiklikler olduğu henüz bilinmemektedir. Omentinin biyolojik etkilerinin ileri analizi, ayrıca obeziteye bağlı komorbiditeleri bulunan bireylerde ve non-obez bireylerde, omental dokuda ve dolaşımda omentin seviyesi ölçümü, hastalıkların patogenetik temellerini aydınlayabilecektir. Gelecekte yapılacak bu araştırmalar obezite ile ilgili komorbiditelerin patogeneğinde omentinin rolüne ışık tutarken aynı zamanda omental ve subkutan doku arasındaki moleküler farklılıkları da ortaya koyabilecektir.¹

KAYNAKLAR

1. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, et al. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290:E1253-61.
2. Björntorp P. Metabolic implications of body fat distribution. *Diabetes Care* 1991;14:1132-43.
3. Brunzell JD, Hokanson JE. Dyslipidemia of central obesity and insulin resistance. *Diabetes Care* 1999;22 Suppl 3:C10-3.
4. Lemieux S. Contribution of visceral obesity to the insulin resistance syndrome. *Can J Appl Physiol* 2001;26:273-90.
5. Carr A. HIV protease inhibitor-related lipodystrophy syndrome. *Clin Infect Dis* 2000;30 Suppl 2:S135-42.
6. Polo R, Verdejo J, Martinez-Rodriguez S, Madrigal P, Gonzalez-Muñoz M. Lipodystrophy, fat accumulation, and mixed syndrome in protease inhibitor-naïve HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000;25: 284-6.
7. Van Harmelen V, Lönnqvist F, Thörne A, Wennlund A, Large V, Reynisdottir S, et al. Noradrenaline-induced lipolysis in isolated mesenteric, omental and subcutaneous adipocytes from obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997;21:972-9.
8. Fried SK, Lavau M, Pi-Sunyer FX. Variations of glucose metabolism by fat cells from three adipose depots of the rat. *Metabolism* 1982; 31:876-83.
9. Bruun JM, Lihn AS, Madan AK, Pederson SB, Schott KM, Fain JN, et al. Higher production of IL-8 in visceral vs. subcutaneous adipose tissue. Implication of nonadipose cells in adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286: E8-E13.
10. Alessi MC, Peiretti F, Morange P, Henry M, Nalbano G, Juhan-Vague I. Production of plasminogen activator inhibitor 1 by human adipose tissue: possible link between visceral fat accumulation and vascular disease. *Diabetes* 1997;46:860-7.
11. Karlsson C, Lindell K, Ottosson M, Sjöström L, Carlsson B, Carlsson LM. Human adipose tissue expresses angiotensinogen and enzymes required for its conversion to angiotensin II. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83: 3925-9.
12. Adams MD, Kelley JM, Gocayne JD, Dubnick M, Polymeropoulos MH, Xiao H, et al. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. *Science* 1991;252:1651-6.
13. Boguski MS. The turning point in genome research. *Trends Biochem Sci* 1995;20: 295-6.

14. Yoon JC, Chickering TW, Rosen ED, Dussault B, Qin Y, Soukas A, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma target gene encoding a novel angiopoietin-related protein associated with adipose differentiation. *Mol Cell Biol* 2000;20:5343-9.
15. Tsuji S, Uehori J, Matsumoto M, Suzuki Y, Matsuhisa A, Toyoshima K, et al. Human interlectin is a novel soluble lectin that recognizes galactofuranose in carbohydrate chains of bacterial cell wall. *J Biol Chem* 2001;276:23456-63.
16. Lee JK, Schnee J, Pang M, Wolfert M, Baum LG, Moremen KW, et al. Human homologs of the *Xenopus* oocyte cortical granule lectin XL35. *Glycobiology* 2001;11:65-73.
17. Suzuki YA, Shin K, Lönnnerdal B. Molecular cloning and functional expression of a human intestinal lactoferrin receptor. *Biochemistry* 2001;40:15771-9.
18. Masuzaki H, Ogawa Y, Isse N, Satoh N, Okazaki T, Shigemoto M, et al. Human obese gene expression. Adipocyte-specific expression and regional differences in the adipose tissue. *Diabetes* 1995;44:855-8.
19. Montague CT, Prins JB, Sanders L, Digby JE, O'Rahilly S. Depot- and sex-specific differences in human leptin mRNA expression: implications for the control of regional fat distribution. *Diabetes* 1997;46:342-7.
20. Russell CD, Petersen RN, Rao SP, Ricci MR, Prasad A, Zhang Y, et al. Leptin expression in adipose tissue from obese humans: depot-specific regulation by insulin and dexamethasone. *Am J Physiol* 1998;275(3 Pt 1):E507-15.
21. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005;307:426-30.
22. Berndt J, Klötting N, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schön MR, et al. Plasma visfatin concentrations and fat depot-specific mRNA expression in humans. *Diabetes* 2005;54:2911-6.
23. St Jean P, Husueh WC, Mitchell B, Ehm M, Wagner M, Burns D, et al. Association between diabetes, obesity, glucose and insulin levels in the old Amish and SNPs on 1q21-q23. *Am J Hum Genetic* 2000;67:332-336.
24. Elbein SC, Hoffman MD, Teng K, Leppert MF, Hasstedt SJ. A genome-wide search for type 2 diabetes susceptibility genes in Utah Caucasians. *Diabetes* 1999;48:1175-82.
25. Hanson RL, Ehm MG, Pettitt DJ, Prochazka M, Thompson DB, Timberlake D, et al. An autosomal genomic scan for loci linked to type II diabetes mellitus and body-mass index in Pima Indians. *Am J Hum Genet* 1998;63:1130-8.
26. Vionnet N, Hani EH, Dupont S, Gallina S, Francke S, Dotte S, et al. Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. *Am J Hum Genet* 2000;67:1470-80.