

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

BARIATRİK CERRAHİNİN OBEZİTE İLE İLİŞKİLENDİRİLMİŞ
MİKRORNA DÜZEYLERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Samet YIĞMAN

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Erkan YARDIMCI

İSTANBUL – 2020

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

BARIATRİK CERRAHİNİN OBEZİTE İLE İLİŞKİLENDİRİLMİŞ
MİKRORNA DÜZEYLERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Samet YIĞMAN

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Erkan YARDIMCI

Bu Çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Merkezi
Tarafından Desteklenmiştir.

İSTANBUL – 2020

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nın tıpta uzmanlık öğrencisi Samet YIĞMAN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “Bariatrik Cerrahinin Obezite ile İlişkilendirilen MikroRNA Düzeylerine Etkisi” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi Erkan YARDIMCI
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Adem AKÇAKAYA
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr.
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr.
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr.
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr.
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Teslim Tarihi :/...../2020
Savunma Tarihi :/...../2020

TEŐEKKÜR SAYFASI

Uzmanlık eğitimim sürecinde teorik ve pratik eğitimimde öğreten, yol gösteren, vizyon katan, emek veren; beni sadece öğrencileri değil aynı zamanda kardeşleri gibi gören en başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Adem AKÇAKAYA olmak üzere, Prof. Dr. Yeliz Emine ERSOY' a, Doç. Dr. Kamuran Cumhuri DEĞER' e, Doç. Dr. Fatma Ümit MALYA' ya, Doç. Dr. Enver KUNDUZ' a, tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Erkan YARDIMCI' ya, Uzm. Dr. Naim MEMMİ ve Uzm. Dr. Hüseyin Kazım BEKTAŐOĞLU' na;

Tez sürecinde verdiği destek ve fikirleri ile çalışmama birçok katkısı olan Dr. Beyza Servet GÖNCÜ' ye;

Berber uyum içinde severek çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma;

Hayatım boyunca desteklerini benden esirgemeyen sevgili anneme, babama ve kardeşime;

Her zaman varlığını yanımda hissettiğim, hayat enerjim, sevgili eşime teşekkürü borç bilirim.

Samet YIĞMAN

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 12.2016/9 numaralı proje ile desteklenmiştir.

BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Samet YİĞMAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BEYAN FORMU.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR ve SİMGELER	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Obezite.....	3
2.1.1 Obezite tanımı ve sınıflandırması	3
2.1.2 Obezite epidemiyolojisi.....	4
2.1.3 Obezite etiyolojisi	6
2.1.4 Obezite ile ilişkili hastalıklar	7
2.1.5 Obezite tedavisi	9
2.1.6 Bariatrik cerrahi prosedürleri	10
2.1.6.1 Laparoskopik ayarlanabilir gastrik bant	10
2.1.6.2 Laparoskopik Roux-en-Y gastrik bypass	11
2.1.6.3 Tek anastomozlu gastrik bypass.....	12
2.1.6.4 Laparoskopik sleeve gastrektomi	13
2.1.6.5 Biliopankreatik diversiyon ile birlikte duodenal switch.....	14
2.2 MikroRNA	16
2.2.1 MikroRNA tanımı	16
2.2.2 MiRNA'nın keşfi, yapısı ve önemi	16
2.2.3 MiRNA oluşumu ve etki mekanizması.....	17
2.2.4 MiRNA ile obezite ve tip II diyabetes mellitus ilişkisi	18

3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
3.1 Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri.....	21
3.2 Hastaların çalışmaya dahil edilmeme kriterleri.....	21
3.3 Kan ve yağ dokudan RNA izolasyonu.....	22
3.3.1 Kandan RNA izolasyonu	22
3.3.2 Yağlı dokudan RNA izolasyonu.....	23
3.4 Elde edilen RNA'ların konsantrasyon ve kalitesinin tayini	24
3.5 cDNA sentezi.....	24
3.6 Primerlerin erime sıcaklıklarının optimizasyonu	25
3.6.1 Agarozjel elektroforezi	25
3.6.1.1 10X'lik tris-borik asit-etilen diamintetraasetat hazırlanması ..	25
3.6.1.2 %2'lik agaroz jel hazırlanması	25
3.7 Real-Time PCR	26
3.8 İstatistiksel analiz	26
4. BULGULAR.....	27
4.1 Real-Time PCR bulguları.....	31
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ.....	41
KAYNAKLAR	42
EKLER.....	48

KISALTMALAR ve SİMGELER

Ago	: Argonaute proteini
cDNA	: Komplementer Deoksiribonükleik Asit
DM	: Diabetes Mellitus
EWL	: Excess Weight Loss
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik asit
miRNA	: Mikro Ribonükleik asit
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Pre-miRNA	: Prekürsör MikroRNA
Pri-miRNA	: Primer MikroRNA
RISC	: RNA Inducing Silencing Complex
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1 : DSÖ tarafından yapılan VKİ sınıflaması.....	3
Tablo 2 : Obezite ile ilişkilendirilen hastalıklar	7
Tablo 3 : Bariatrik cerrahi endikasyonları ve kontrendikasyonları	9
Tablo 4 : Bariatrik cerrahi prosedürleri	10
Tablo 5 : cDNA sentezi karışım miktarları	24
Tablo 6 : Real-time PCR karışım miktarları.	26
Tablo 7 : Real-time PCR reaksiyon aşamalarının sıcaklık ve süre değerleri	26
Tablo 8 : Hastalara ait demografik veriler ve postoperatif 6. ay %EWL değerleri.....	27
Tablo 9 : Preoperatif ve postoperatif kan örneklerinin ve yağ doku örneklerinin konsantasyon ve saflık değerleri.	28
Tablo 10 : MiRNA primerlerinin seçilen erime sıcaklıkları	29

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1 : 2016 yılına ait 18 yaş üzeri kadınlarda obezite prevalans durumu	5
Şekil 2 : 2016 yılına ait 18 yaş üzeri erkeklerde obezite prevalans durumu	5
Şekil 3 : Laparoskopik ayarlanabilir gastrik bant prosedürü	11
Şekil 4 : Laparoskopik Roux-en-Y gastrik bypass prosedürü	12
Şekil 5 : Tek anastomozlu gastrik bypass prosedürü	13
Şekil 6 : Laparoskopik sleeve gastrektomi prosedürü	14
Şekil 7 : Biliopankreatik diversiyon ile birlikte duodenal switch prosedürü	15
Şekil 8 : MiRNA oluşumu ve etki mekanizması	18
Şekil 9 : <i>RNU6-2</i> için yapılan <i>gradient</i> PCR örneklerinin elektroforez sonucu	29
Şekil 10 : <i>MiR27b-3p</i> için yapılan <i>gradient</i> PCR örneklerinin elektroforez sonucu	29
Şekil 11 : <i>MiR122-5p</i> için yapılan <i>gradient</i> PCR örneklerinin elektroforez sonucu	30
Şekil 12 : <i>MiR223-3p</i> için yapılan <i>gradient</i> PCR örneklerinin elektroforez sonucu	30
Şekil 13 : <i>MiR27b-3p</i> için preoperatif ve postoperatif rölatif ekspresyon sonuçları	31
Şekil 14 : <i>MiR122-5p</i> için preoperatif ve postoperatif rölatif ekspresyon sonuçları	31
Şekil 15 : <i>MiR223-3p</i> için preoperatif ve postoperatif rölatif ekspresyon sonuçları	32
Şekil 16 : Yağ dokudan elde edilen üç miRNA'ya ait ekspresyon düzeyleri	32
Şekil 17 : Grup-1'deki hastaların preoperatif ve postoperatif kan örneklerindeki miRNA ekspresyonları	33
Şekil 18 : Grup-2'deki hastaların preoperatif ve postoperatif kan örneklerindeki miRNA ekspresyonları	34
Şekil 19 : Grup-3'teki hastaların preoperatif ve postoperatif kan örneklerindeki miRNA ekspresyonları	34
Şekil 20 : Tip II DM olmayan hastaların yağ dokusundaki miRNA gen ekspresyonları	35
Şekil 21 : Tip II DM bulunan hastaların yağ dokusundaki miRNA gen ekspresyonları	36

BARIATRİK CERRAHİNİN OBEZİTE İLE İLİŞKİLENDİRİLMİŞ MİKRORNA DÜZEYLERİNE ETKİSİ

ÖZET

Amaç: Obezite ile ilişkilendirilmiş olan miRNA ekspresyon düzeyleri ile kilo kaybı arasındaki ilişkinin değerlendirilerek, hastaların postoperatif ne kadar kilo verebileceğini öngörmek ve planlanan cerrahiden maksimum fayda edinilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Mayıs 2017-Temmuz 2018 yılları arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD Obezite ve Metabolik Cerrahi Polikliniği'nde bariatrik cerrahi için endikasyon konulan ve laparoskopik sleeve gastrektomi planlanan 17 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı. Hastalardan preoperatif ve postoperatif 6. ay kan örneği ile intraoperatif yağ doku örneği alınarak obezite ile ilişkilendirilmiş miRNA (*miR27b-3p*, *miR122-5p*, *miR223-3p*) ekspresyon düzeylerine bakıldı. MiRNA'lar kan ve yağ dokudan izole edilip gerçek zamanlı polimeraz zincirleme tepkimesi (RT-PCR) yöntemi kullanılarak kantite edilip incelendi. Hastaların postoperatif 6. ay vücut fazla kilo kaybı oranları (%EWL) %0-50 (grup-1), %50-70 (grup-2), %70-90 (grup-3) olarak üç gruba ayrılarak değerlendirildi. MiRNA ekspresyonlarının kan ile yağ dokuları arasındaki farklılıkları, cinsiyet, kilo kaybı oranları ve diyabetes mellitus ile ilişkisi incelendi.

Bulgular: Hastaların 4'ü erkek (%23,5), 13'ü kadın (%76,4), erkek/kadın oranı: 0,3, ortalama yaş $41 \pm 11,6$, ortalama vücut kitle indeksi $49,1 \pm 7,6$ kg/m² idi. Altı hastada (%35,2) diyabetes mellitus mevcut olup bu hastaların ortalama glukoz ve HbA1c değerleri sırasıyla $133 \pm 59,4$ mg/dl ve $6,4 \pm 1,3$ idi. Altıncı ay % EWL oranı ortalama $62,7 \pm 17$ olup grup-1, 2 ve 3'te sırasıyla 4, 7 ve 6 hasta mevcut idi.

Preoperatif gruplar arasında *miR223-3p*'nin ekspresyonu tüm gruplar için anlamlı şekilde yüksek bulundu (grup-1 için $p=0,0046$; grup-2 için $p<0,0001$; grup-3 için $p=0.0017$). Grup-2 ve grup-3'teki hastaların preoperatif ve postoperatif kan değerlerinde bakılan *miR223-3p* gen ekspresyon düzeylerinin *miR27b-3p* ve *miR122-5p* gen ekspresyon düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu tespit edildi (grup 2 için p değerleri sırasıyla $p=0,0335$ ve $p=0,0328$; grup 3 için p değerleri sırasıyla $p=0.0446$ ve $p=0.0441$). Ayrıca yağlı dokuda bakılan *miR122-5p* gen ekspresyonunun diabetes mellitusu olan olgularda diğer miRNA'lardan daha az eksprese olduğu tespit edildi ($p=0,0062$).

Sonuç: Morbid obez hastalarda *miR223-3p* ekspresyonunun özellikle %EWL değeri 50 ve üzerinde olan hastalar ile korele olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle bariatrik cerrahi sonrası kilo kaybını ön görmede *miR223-3p* geni olası bir biyobelirteç olarak kullanılabilir. Böylece cerrahiden daha fazla fayda görecek hasta grubu önceden belirlenip cerrahinin etkinliği artırılabilir. Aynı zamanda cerrahiden fayda görmeyecek olan gruplar belirlenip, bu hastalarda da restriktif bariatrik cerrahi prosedürleri yerine kombine (restriktif + malabsorbatif) veya malabsorbatif cerrahi prosedürler tercih edilebilir. Ancak vaka sayısının ve miRNA tiplerinin fazla olduğu ve farklı bariatrik cerrahi prosedürlerinin uygulandığı ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Obezite, mikroRNA, sleeve gastrektomi

THE EFFECT OF BARIATRIC SURGERY ON OBESITY ASSOCIATED MICRORNA LEVELS

SUMMARY

Objective: In this study, it was aimed to evaluate the relationship between miRNA expression levels associated with obesity and weight loss, to predict how much weight patients can lose postoperatively and to get maximum benefit from planned surgery.

Materials and Methods: Between May 2017-July 2018, 17 patients who were indicated for bariatric surgery and planned laparoscopic sleeve gastrectomy at Bezmialem Vakıf University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Obesity and Metabolic Surgery Polyclinic were included in this study. The study was approved by Bezmialem Vakıf University Faculty of Medicine Ethics Committee. Preoperative and postoperative 6th month blood samples and intraoperative adipose tissue samples were obtained. The expression levels of miRNA (*miR27b-3p*, *miR122-5p*, *miR223-3p*) associated with obesity were examined. The miRNAs were isolated from blood and adipose tissue and quantitated and analyzed by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) method. Postoperative 6th month excess weight loss rates (%EWL) were evaluated in three groups as %0-50 (group-1), %50-70 (group-2), %70-90 (group-3) respectively. The differences of miRNA expressions between blood and adipose tissues, gender, excess weight loss rates, and relationship with diabetes mellitus were examined.

Results: 4 of the patients were male (%23.5), 13 were female (%76.4), male/female ratio 0.3, average age $41 \pm 11,6$, average body mass index $49,1 \pm 7,6$ kg/m². Diabetes mellitus was present in 6 patients (35.2%) and their mean glucose and HbA1c values were 133 ± 59.4 mg / dl and 6.4 ± 1.3 %, respectively. The sixth month EWL rate was an average of $\%62.7 \pm 17$. There were 4, 7 and 6 patients in groups 1, 2 and 3, respectively. The expression of *miR223-3p* was found significantly higher among all

preoperative groups ($p = 0.0046$ for group-1; $p < 0.0001$ for group-2; $p = 0.0017$ for group-3). *MiR223-3p* gene expression levels evaluated in preoperative and postoperative blood samples in group-2 and group-3 were found to be statistically significantly higher than *miR27b-3p* and *miR122-5p* gene expressions (p values for group-2 are $p = 0.0335$ and $p = 0.0328$ respectively, p values for group-3 are $p = 0.0446$ and $p = 0.0441$ respectively). In addition, *miR122-5p* gene expression in fatty tissue was found to be less expressed than other miRNAs in patients with diabetes mellitus ($p = 0.0062$).

Conclusion: Expression of *miR223-3p* has been shown to correlate with morbidly obese patients, particularly with patients with an EWL of 50% and above. For this reason, *miR223-3p* gene can be used as a possible biomarker in predicting weight loss after bariatric surgery. Thus, the group of patients who will benefit more from surgery can be determined in advance and the effectiveness of surgery can be increased. In addition, groups that will not benefit from surgery can be identified and combined (restrictive + malabsorbtive) or malabsorbtive surgical procedures may be preferred instead of restrictive bariatric surgery procedures in these patients. However, further studies with high number of cases, more types of miRNA and applied different bariatric surgery procedures are needed.

Keywords: Obesity, microRNA, sleeve gastrectomy

1. GİRİŞ ve AMAÇ

MikroRNA'lar (miRNA) ortalama 21-24 nükleotid uzunluğundaki küçük RNA molekülleridir. Protein kodlamasına katılmamaktadırlar ancak protein oluşum sürecinde protein kodlayan genlerin mesajcıRNA (mRNA)'sına bağlanıp translasyon aşamasını inhibe ederek ya da mRNA'nın yıkımına neden olarak protein oluşum sürecinde önemli rol oynamaktadırlar (1,2).

Memeli canlıların genomunda kodlanan birçok miRNA bulunmaktadır. Bu miRNA'lar hedef genler ile hedef hücrelerin hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu, apoptozu, immunitesi ve anjiogenezisi gibi birçok temel olayları düzenlemekte önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle miRNA ekspresyonlarında oluşan değişiklik birçok hastalık patogenezinde yer almaktadır (3,4).

Günümüzde diabetes mellitus (DM), hiperlipidemi, malign hastalıklar, obezite gibi hastalıklarda miRNA ekspresyon düzeylerinde değişiklik olduğu bildirilmiş olup bu hastalıkların bazı spesifik miRNA'lar ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (5,6,7).

Obezite insidansı özellikle son yıllarda sıklığı tüm dünyada artış göstermekte olan önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Obezite tedavisinde cerrahinin rolü giderek artmakta olup hemen hemen en etkin tedavi haline gelmiştir. Bu cerrahi prosedürlerinden birisi olan sleeve gastrektomi prosedürü günümüzde en sık yapılan bariatrik cerrahi girişimlerden birisidir (8).

Bariatrik cerrahi prosedürü uygulanan hastalar daha sonraki kilo kaybı açısından farklılık gösterebilmektedir. Buna etki eden faktörler arasında yaş, diyete uyum, preoperatif vücut kompozisyon dağılımı, egzersiz, uygulanan cerrahi tipi yer almakla birlikte kesin bir neden henüz ortaya konulamamıştır (9,10). Ancak postoperatif altı aylık dönem içerisinde kilo kaybına majör etki eden faktörün uygulanan cerrahi prosedür ile ilgili olduğu gösterilmiştir (11,12,13).

Çalışmamızda obezite cerrahisi planlanan hastaların postoperatif kilo kayıp oranlarını öngörebilmek, hangi hasta grubunun yapılması planlanan cerrahiden ne kadar fayda göreceğini belirlemek ve hasta seçimini optimum düzeyde yaparak planlanan cerrahiden maksimum fayda alınması amaçlanmıştır. Böylece cerrahiden beklenen faydayı görmeyecek hasta gruplarının belirlenip, bu hastalarda cerrahinin morbidite ve mortalitesinin önüne geçmek veya bariatrik cerrahi prosedür seçiminin buna göre planlanması mümkün olacaktır. Bu bağlamda obezite ile ilişkilendirilmiş olan bazı miRNA tiplerinin preoperatif ve postoperatif dönemdeki ekspresyon düzeyleri karşılaştırılarak, yapılan cerrahinin miRNA ekspresyon düzeyine etkisi, miRNA ekspresyon düzeyleri ile kilo kaybı arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Obezite

2.1.1 Obezite tanımı ve sınıflandırması

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından obezite, sağlığı bozacak ölçüde vücutta aşırı yağ birikmesi olarak tanımlanmaktadır. Aynı zamanda obezite, diyet ile alınan kalori miktarının harcanan kalori miktarından fazla olması ve bu fazla kaloringin vücutta yağ olarak depolanması nedeniyle oluşan, kişinin yaşam kalitesini olumsuz etkileyen ve komorbid hastalıklara neden olabilen hastalık olarak da tanımlanmaktadır.

Yetişkin erkeklerde vücut ağırlığının %15-18'ini, kadınlarda ise %20-25'ini yağ dokusu oluşturmaktadır. Her ne kadar obezite vücutta yağ oranının fazla olması olarak tanımlansa da vücut yağ oranını pratik olarak etkin şekilde ölçecek bir yöntem bulunmamaktadır. Bu nedenle obezite, aşırı kilo olarak tanımlanmakla olup kilo durumu vücut kitle indeksine (VKİ) göre sınıflandırılmaktadır.

VKİ, kişinin kilogram cinsinden ağırlığının, kişinin boy uzunluğunun metre cinsinden karesine bölünmesiyle ortaya çıkan değerdir. VKİ 'ye göre kişinin sınıflanması tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo-1: DSÖ tarafından yapılan VKİ sınıflaması (14).

VKİ (kg/m ²)	Durum
<18.5	Zayıf
18.5-24.9	Normal kilolu
25.0-29.9	Fazla kilolu
30.0-34.9	1.derecede obez hasta
35.0-39.9	2.derecede obez hasta
>40	3.derecede obez hasta

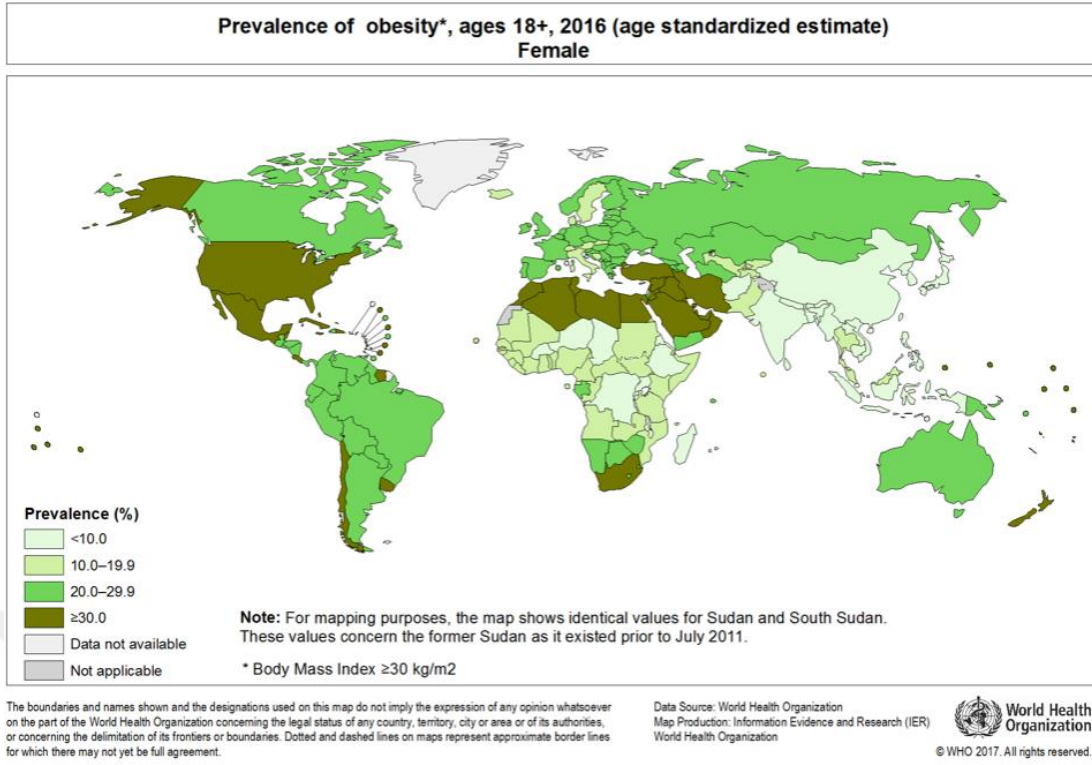
2.1.2 Obezite epidemiyolojisi

Obezite gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin en önemli sağlık problemi arasında yer almaktadır.

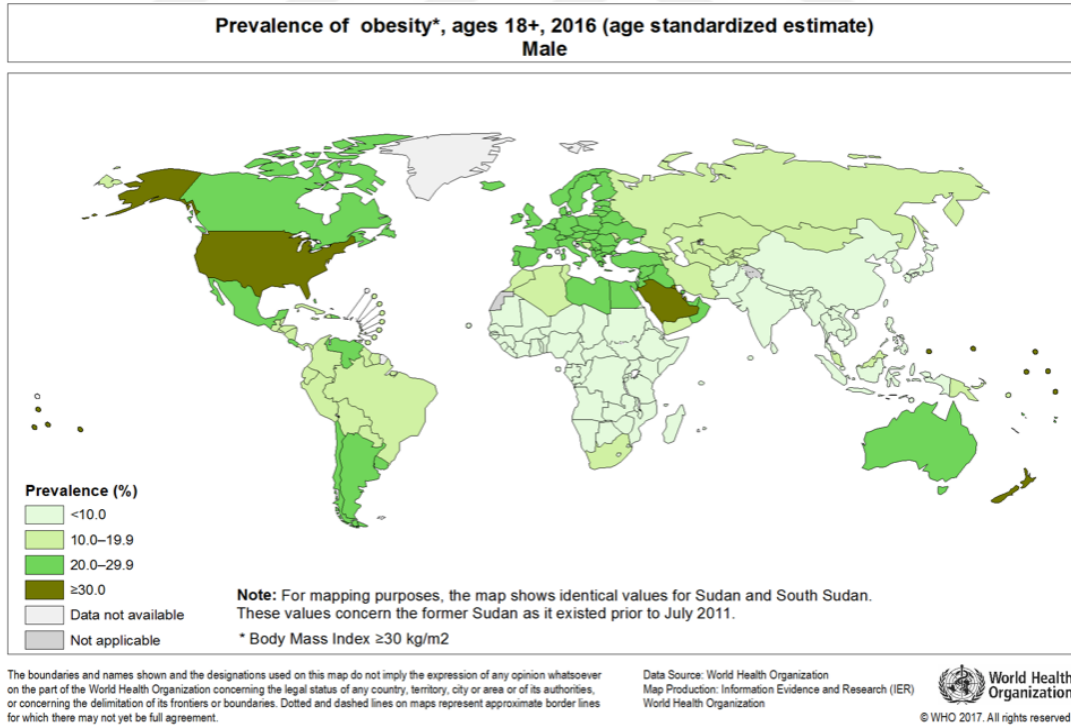
Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2016 verilerine göre 18 yaş üstü 1,9 milyar yetişkinin fazla kilolu ve bu kişilerin 650 milyonunun obezite kategorisinde olduğu belirtilmektedir. Bu verilere göre 18 yaş ve üzeri yetişkin nüfusunun %39'unun fazla kilolu ve %13'ünün obez olduğu görülmüştür (15).

Obezite çocuk ve adölesanlarda da ciddi artış göstermekte olup yine DSÖ 2016 verilerine göre beş yaş altı 41 milyon çocuğun fazla kilolu ve obez kategorisine girdiği; 5-19 yaş aralığındaki çocuk ve adölesanlarda ise bu kategorilere giren sayının 340 milyon üzerinde olduğu görülmektedir. Şekil 1 ve 2'de 2016 yılında DSÖ tarafından oluşturulan obezite prevalansının dünya haritası üzerindeki durumu gösterilmiştir.

Ülkemizde de obezite görülme sıklığı dünyada artış gösterdiği gibi artmaktadır. Hatta *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD) ülkeleri arasında ülkemiz obezite yaygınlığında ABD ve Suudi Arabistan'dan sonra üçüncü en yüksek ülke durumuna gelmiştir. Avrupa ülkeleri arasında ise birinci sırada yer almaktadır. Ülkemizde 15 yaş ve üstü obez hasta oranı %19 olarak görülmekte olup yine aynı grupta kadın – erkek oranı sırası ile %23,9 ve %15,2 olarak görülmektedir (16).



Şekil-1: 2016 yılına ait 18 yaş üzeri kadınlarda obezite prevalans durumu (17).



Şekil-2: 2016 yılına ait 18 yaş üzeri erkeklerde obezite prevalans durumu (18).

2.1.3 Obezite etiyolojisi

Obeziteye genetik, çevresel, fizyolojik, biyokimyasal, sosyokültürel ve psikolojik birçok faktör neden olabilmektedir. Tüm dünyada özellikle çocukluk ve adölesan çağda görülen obezite artışı sadece çevresel faktörler ile açıklanamamakta olup genetik faktörlerin de obezite oluşumunda önemli faktör olduğu kabul edilmektedir.

Özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde görülmesinden dolayı sanayi üretiminin artması ve bununla bağlantılı olarak, kaloriden zengin batı tipi diyet alımı (yüksek glisemik indeksli diyet), sedanter yaşam tarzı obezite gelişiminde önemli faktör olarak kabul edilmektedir. Tüm bu faktörler haricinde aşırı ya da düzensiz beslenme, kişinin eğitim düzeyi, gelir durumu, sosyokültürel özellikler, hormonal ve metabolik durumu, psikolojik hali, antidepresan gibi kullanılan bazı ilaçlar, sigara-alkol bağımlılığı, anne sütü ile beslenme durumu da etiyolojide yer alan faktörlerdir.

Sadece çevresel faktörlere maruz kalan tüm hastalar obez hale gelmemesinden dolayı bazı genetik mekanizmaların bireysel düzeyde çalıştığı öngörülmüş olup yapılan ikiz kardeş, aile ve evlat edinme çalışmalarında VKİ 'nin kalıtsallık oranının %40-70 arasında olduğu görülmüştür (19).

Obezite hastalığının genetik faktörüyle ilgili çalışmalar ilk olarak 1962 yılında Neel tarafından ortaya atılmıştır. Temel olarak bu çalışmada diabetes mellitus hastalığının evrimsel olarak nasıl korunduğu “tutumlu gen hipotezi” ile açıklanmak istenmiştir. Bu hipotezde obezite hastalığı ile ilişkili genlerin, adipogenezi arttıran ve uzamış açlıkta sağ kalımı arttıran genler ile bağlantılı olduğu görülmüştür. Bu daha sonra yapılan genetik modellemelerde kısmen doğru olarak gösterilmiş ancak farklı genetik mekanizmaların da obezite genetiğinde rol oynadığı görülmüştür (20).

Genetik faktörler arasında yapılan çalışmalarda miRNA ekspresyon düzeylerindeki değişikliklerin, obezite ve bazı metabolik hastalıklar ile korele olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalar incelendiğinde *miR27*, *miR223*, *miR224*, *miR935*, *miR4772*, *miR126*, *miR122*, *miR143* gibi birçok miRNA'nın obezite ve Tip II DM gibi metabolik hastalıklar ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (21,22). Bununla birlikte miRNA ekspresyon düzeylerinin diyet ve yaşam tarzı ile düzenlenebileceğini öne süren çalışmalar da mevcuttur (23,24,25,26).

2.1.4 Obezite ile ilişkili hastalıklar

Obezite, morbidite ve mortaliteye etki eden önemli faktörlerden olup özellikle kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere çoğu hastalık ile ilişkili bulunmuştur. Obezite ile ilişkilendirilmiş hastalıkların başında DM (%80-85), HT (%60-74), HL (%60-70), OSAS (%25-45) görülmekte olup, tablo 2’de sistemlere göre olan ilişkili hastalıklar listelenmektedir.

Genel olarak görmezden gelinen bir diğer durum ise hastalığın, psikososyal duruma etki etmesi ile kişinin toplumda yalnızlaşmasına, hayat kalitesinin düşmesine neden olmasıdır (27).

Obezite için uygulanan bariatrik cerrahi sonrası oluşan uzun dönem kilo kaybının tüm hastalıklar ile ilişkili morbidite ve mortalitede azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (28).

Tablo-2: Obezite ile ilişkilendirilen hastalıklar (29).

Kardiyovasküler hastalıklar	Koroner arter hastalığı
	Miyokard enfarktüsü
	Konjestif kalp yetmezliği
	Hipertansiyon
	Serebrovasküler hastalıklar
	Sol ventrikül hipertrofisi
	Varis hastalıkları, derin ven trombozu, pulmoner emboli
Metabolik hastalıklar	Tip 2 diabetes mellitus
	İnsülin direnci
	Dislipidemiler
	Metabolik sendrom
	Hiperürisemi, GUT
	Kolesterol safra taşları
	Düşük derecede enflamasyon
Malign hastalıklar	Özofagus, ince barsak, kolon, rektum, karaciğer, safra kesesi, böbrek, pankreas, lenfoma, prostat, meme, over, endometrium ve serviks kanserleri
	Polikistik over sendromu, adet düzensizlikleri, hiperandrojenizm

Endokrin hastalıklar	İnfertilite
	Seks hormon bağlayıcı globülünde azalma
	Akantozis nigrikans
	Östrojen düzeyinde azalma
	Testesteron düzeyinde azalma (erkek hastalarda)
	Büyüme hormonunda azalma
	Prolaktin hormonuna yanıtta azalma
	Kortizol üretiminde artma
Pulmoner hastalıklar	Fonksiyonel rezidüel kapasitede azalma
	Ekspiratuar rezerv volüm ve total akciğer kapasitesinde azalma
	Rezidüel volüm ve diffüzyon kapasitesinde artma
	Maksimum ekspiratuar akış hızında azalma (erkek hastalarda)
	OSAS, pickwickian sendromu ve astım
Romatolojik hastalıklar	Osteoartrit
	Tuzak nöropatiler
	İmmobilité
Gastrointestinal hastalıklar	Kolelitiazis
	Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı
	Gastroözofageal reflü hastalığı
	Hiatal herni
Üriner sistem hastalıkları	Üriner stres inkontinansı
	Obezite ilişkili glomerülopati
Psikososyal bozukluklar	Anksiyete, depresyon, özgüvende azalma
	Beden-imaj bozukluğu
	Sosyal damgalanma, asosyal kişilik, işsizlik
Diğer	Demans, idiyopatik intrakranial hipertansiyon
	Nefrotik sendrom, proteinüri
	Selülit, intertrigo, karbonkül, cilt enfeksiyonları
	Lenfödem, bacaklarda staz hiperpigmentasyonu
	Periodontal hastalıklar
	Anesteziye ait komplikasyonlar
	Gebeliğe ait komplikasyonlar

2.1.5 Obezite tedavisi

Önlenebilir sağlık sorunlarında ve ölüm nedenleri arasında sigaradan sonra ikinci sıklıkta etken olan obezite hastalığı, diyet, egzersiz, yaşam tarzı değişikliği, bazı farmakolojik tedaviler, endoskopik yolla uygulanan prosedürler ve bariatrik cerrahi prosedürleri ile tedavi edilebilmektedir. Bu tedaviler yalnız kilo vermeye değil, obezite ile ilişkilendirilen ve ortaya çıkmış ya da çıkması mümkün olan hastalıkları önlemede de etkilidir (30,31). Bu tedavi seçenekleri arasında özellikle morbid obezite tanısı alan hastalarda en etkin tedavi bariatrik cerrahi prosedürleridir. Ancak yine de tüm hastalara tedavide ilk seçenek olarak bariatrik cerrahi prosedürleri uygulanmamaktadır (32,33). Bariatrik cerrahi endikasyonları ve kontrendikasyonları tablo 3'te listelenmiştir.

Tablo-3: Bariatrik cerrahi endikasyonları ve kontrendikasyonları (34).

Endikasyonlar	<ul style="list-style-type: none">• VKİ ≥ 40 kg/m²• VKİ 35-39,99 kg/m² arasında olup aşağıda listelenen obezite ilişkili komorbid hastalıklardan bir ya da daha fazlasının bulunması<ul style="list-style-type: none">* hipertansiyon, hiperlipidemi, OSAS, tip 2 DM* nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı,* astım, venöz staz hastalıkları,* ciddi üriner inkontinans, artrit,* oldukça bozulmuş yaşam kalitesi• VKİ 30-34,99 kg/m² arasında olup ciddi metabolik sendromlu hastalar *
Kontrendikasyonlar	<ul style="list-style-type: none">• İleri derecede kalp yetmezliği• Unstabil koroner arter hastalığı• Son dönem akciğer hastalıkları• Aktif malign hastalık bulunması• Portal hipertansiyon• İlaç/alkol/madde bağımlılığı• Bozulmuş zihinsel kapasite, majör depresyon, psikoz• Barrett özofagusu bulunması(rölatif)• Anestezi açısından yüksek riskli hastalar

*: bu hastalar opere edilebilmekle birlikte uzun dönem sonuçlarını göstermek için yeterli veri henüz bulunmamaktadır.

2.1.6 Bariatrik cerrahi prosedürleri:

Bu prosedürler mide rezervini küçülterek diyet/kalori kısıtlamasına neden olan restriktif cerrahiler, gıda pasajını küçülterek emilimi azaltan malabsorbtiif cerrahiler ve bunların kombine edildiği restriktif-malabsorbtiif cerrahiler olarak temel olarak üç kategoriye ayrılmakta olup, bu prosedürler tablo 4'te yer almaktadırlar.

Tablo-4: Bariatrik cerrahi prosedürleri (35).

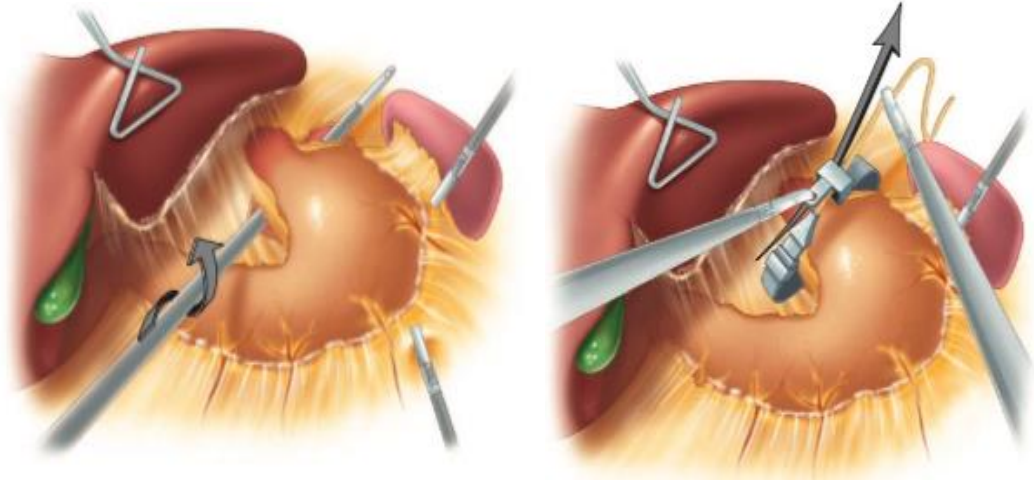
Restriktif prosedürler	<ul style="list-style-type: none">• Laparoskopik ayarlanabilir gastrik bant• Laparoskopik sleeve gastrektomi• Laparoskopik vertikal bant gastroplastisi
Malabsorbtiif prosedürler	<ul style="list-style-type: none">• Biliopankreatik diversiyon• Jejunioileal bypass
Kombine prosedürler	<ul style="list-style-type: none">• Roux-en-Y gastrik bypass• Biliopankreatik diversiyon ile birlikte duodenal switch• Tek anastomozlu gastrik bypass

Günümüzde bu prosedürlerden laparoskopik sleeve gastrektomi ve laparoskopik Roux-en-Y gastrik bypass en çok tercih edilen cerrahi prosedürlerdendir (36).

2.1.6.1 Laparoskopik ayarlanabilir gastrik bant:

Bu işlemde ilk olarak gastroözofageal bileşke eksplere edilir. Omentum minus diseke edildikten sonra gastroözofageal bileşkenin posterioru kat edilerek diğer taraftan çıkılır ve tünel oluşturulur. Oluşturulan bu tünelden bandın bir ucu geçirildikten sonra bant kilit mekanizması ile kilitlenir. Bant fundusu saracak şekilde yerleştirildikten sonra fundusa pilike edilerek tespit edilir (Şekil-3 a,b).

Şişirilerek bandın çapının ayarlanmasını sağlayan port kısmı ise tercihen trokar yeri alanında cilt altına tespit edilir. Hastanın semptomları ve kilo kaybına göre port vasıtası ile bant çapı ayarlanır.



a

b

Şekil-3: Laparoskopik ayarlanabilir gastrik bant prosedürü.

a) Gastroözofageal bileşke posteriorundan tünel oluşturulması (37).

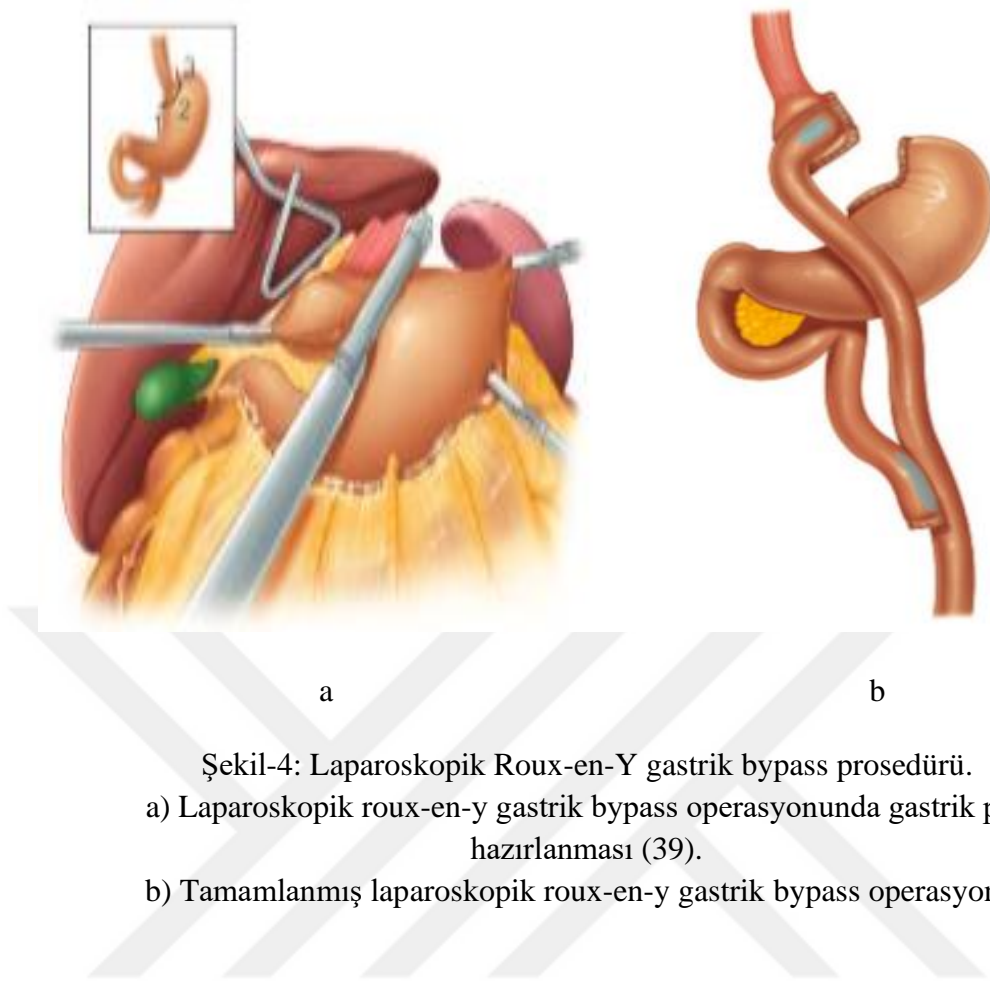
b) Bandın fundusa pilike edilerek tespit edilmesi (38).

2.1.6.2 Laparoskopik Roux-en-Y gastrik bypass:

Bu operasyonun en büyük özelliği oldukça küçük (<20 ml) bir proksimal mide poşunun distal mideden ayrılmış olmasıdır. İlk olarak ters trendelenburg ve supin pozisyonda hastaya beş adet çalışma portu ve karaciğer ekartörü için *nathanson* ya da *T-boone* ekartör yerleştirilir. Harmonik bistüri peritonu his açısı etrafından ayırır. Ardından mide küçük kurvaturu boyunca gastroözofageal bileşkenin 3 cm distal kısmından bir alan açılır. Stapler buradan midenin yan çaprazına transvers olarak atışılır ve proksimal mide poşunu geri kalan mideden tamamen ayırmak için art arda stapler ile atışlemeye devam edilir ve proksimal mide kesesi oluşur.

Treitz ligamentinin 50-100 cm distalinden mezenter diseksiyonu sonrasında proksimal jejunum ayrılır. Ardından roux bacağı proksimal mide poşunun üstüne getirilir ve lineer veya sirküler stapler ile mide poşu ile anastomoz edilir. Stapler defekti sütür ile kapatılır.

Roux bacağının uzunluğunu ayarlamak için bu aşamada hesaplama yapılır (genellikle 75-150 cm). Ardından roux bacağı yukarıda belirlenen biliopankreatik bacağın proksimal ucuna tutturulur ve lineer stapler kullanılarak anastomoz edilir. Stapler defekti sütür ile kapatılır (Şekil- 4 a,b).

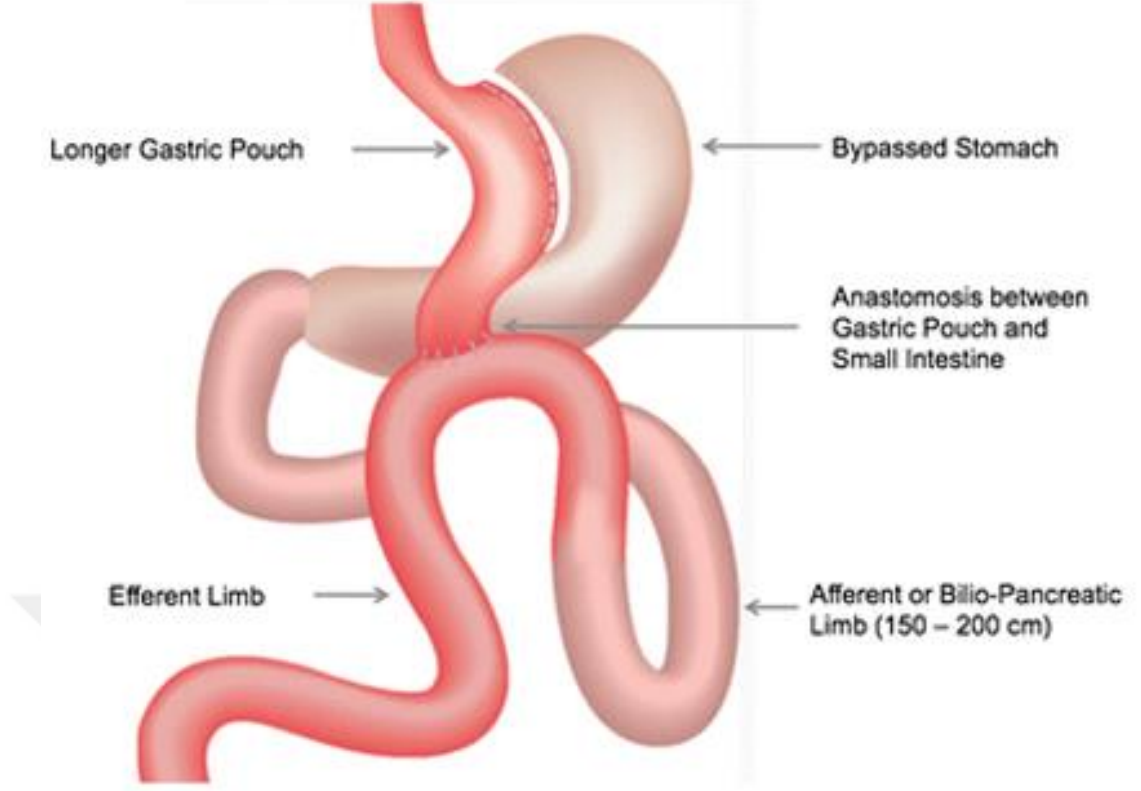


Şekil-4: Laparoskopik Roux-en-Y gastrik bypass prosedürü.
a) Laparoskopik roux-en-y gastrik bypass operasyonunda gastrik poş hazırlanması (39).
b) Tamamlanmış laparoskopik roux-en-y gastrik bypass operasyonu (40).

2.1.6.3 Tek anastomozlu gastrik bypass:

Teknik açıdan Roux-en-Y gastrik bypass'a göre daha kolay olan bu operasyon tipinde tek anastomoz bulunmaktadır. İlk olarak küçük kurvatur boyunca klavuz tüp yerleştirildikten sonra incisura angularis düzeyinden tüp klavuzluğunda stapler yardımı ile mide kapatılıp kesilir ve mini gastrik poş ve remnant mide oluşturulur.

Mini gastrik poşun distal kısmı ile treitz ligamentinden 150-200 cm distal kısımdaki ince barsak ansı antimezenterik kısmı arasında anastomoz uygulanır (Şekil-5).



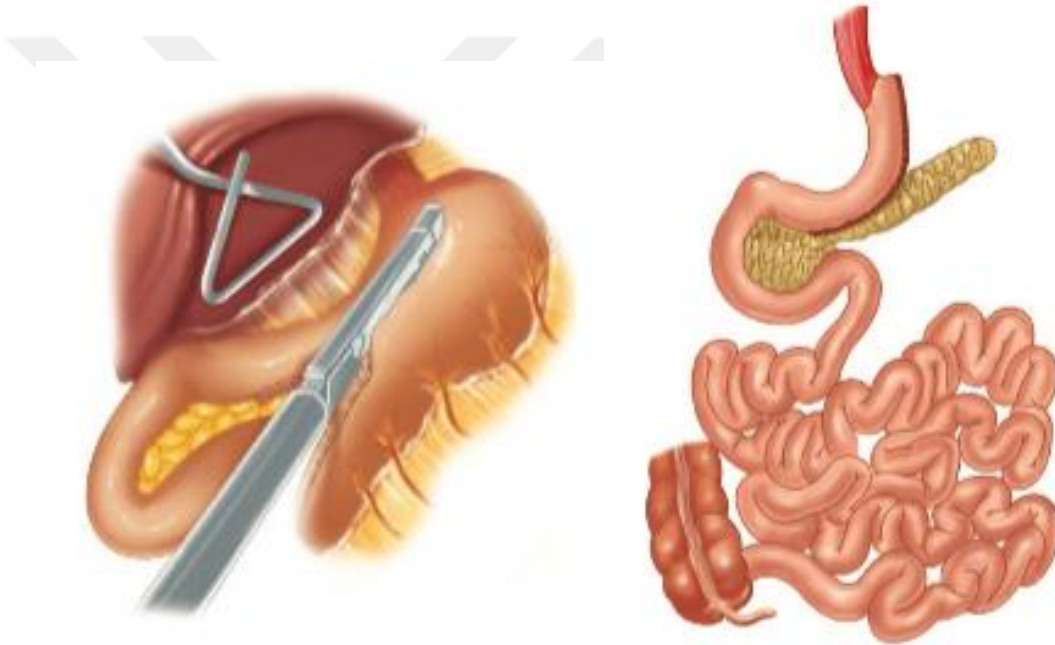
Şekil-5: Tek anastomozlu gastrik bypass prosedürü (41).

2.1.6.4 Laparoskopik sleeve gastrektomi:

Temel olarak morbidite ve mortaliteyi azaltmak için duodenal switch operasyonunun gastrik rezeksiyon kısmı ilk basamak (sleeve gastrektomi), malabsorbsiyon kısmı ise ikinci basamak operasyon olarak kullanılmakta idi. Ancak daha sonra yapılan değerlendirmelerde ilk basamak operasyonun iyi sonuçlar vermesi üzerine ikinci basamak operasyon kullanılmamaya başlanmış olup sleeve gastrektominin ana cerrahi operasyon olarak seçilme fikri ile ortaya çıkmıştır.

Hasta ters trendelenburg pozisyonunda ayaktan destek verilerek supin pozisyonda ayarlanır. Dört ya da beş çalışma portu ve karaciğer ekartörü için *nathanson* ya da *T-boone* ekartör yerleştirildikten sonra pilorun yaklaşık olarak 2-4 cm proksimalinden büyük kurvatur devaskularize edilerek başlanır. Bu işleme diafragmanın sol krusuna dek devam edilir. Daha sonra bu bölgede fundusun tam mobilizasyonu için posterior fibröz liflerin midenin antrum ve korpusuna yaptığı bağlantılar ayrılır.

Tercihe göre 32-39 French kalınlığında bir tüp mide pilor kısmına değin yerleştirilir ve tüp klavuz alınarak stapler yardımı ile mide kapatılıp kesilir. Mide antrum kısmı proksimale göre daha kalın olduğundan bu kısımlar daha kalın stapler ile kapatılıp kesilir. His açısını göreceğ şekilde stapler ile kapatılıp kesme işlemine devam edilir ve işlem tamamlandığında stapler hattı bütünlüğü ve hemostazı kontrol edilir (Şekil-6). İntraoperatif kaçak testleri (metilen mavisi, endoskopi gibi) ile stapler hattındaki olası kaçak alanları tespit edilebilir ancak rutin olarak kaçak testlerinin uygulaması ile ilgili tartışmalar devam etmektedir (42). Stapler hattı güçlendiricileri (semguard, sütür, tissel doku yapıştırıcısı gibi) olası komplikasyonları önlemek için uygulanabilir ancak yine standart ve rutin uygulama ile ilgili bir konsensus bulunmamaktadır (43).

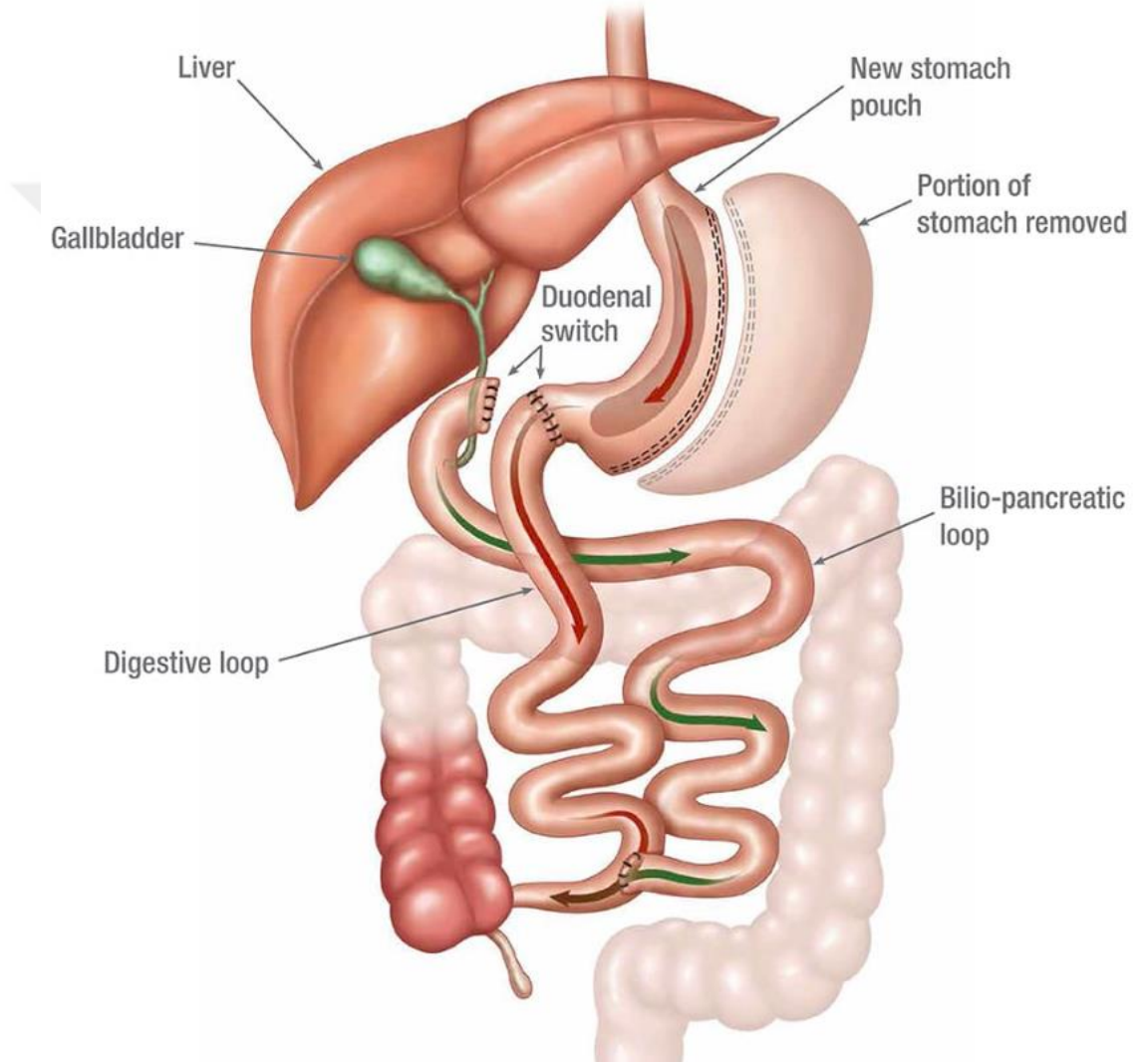


Şekil-6: Laparoskopik sleeve gastrektomi prosedürü (44).

2.1.6.5 Biliopankreatik diversiyon ile birlikte duodenal switch

Bu teknikte ilk olarak sleeve gastrektomi operasyonundaki gibi mide küçük kurvatur boyunca tüp klavuz alınarak stapler yardımı ile kapatılıp kesilerek midenin yaklaşık olarak %80'lik kısmı rezeke edilir. Ardından kalan mide kısmı piloru koruyacak şekilde yine stapler yardımı ile duodenumdan kesilerek ayrılır. Kesilen duodenumun distal kısmı güdük olarak bırakılarak gastrointestinal kısmının üst kısmı biliyer ve pankreatik içerikten korunur.

İnce barsak ansları total uzunluğa göre değişmek ile birlikte ileoçekal valvin 200-250 cm proksimalinden mezenter diseksiyonunu takiben kesilir. Distaldeki ince barsak ansı ile duodenum arasında anastomoz uygulanarak yeni sindirim kanalı oluşturulur. Proksimal kısımda kalan kesilmiş ince barsak ansı ise ileoçekal valvin 50-100 cm proksimalindeki ileal ans ile anastomoz edilerek biliopankreatik bacağın gastrointestinal sisteme tekrar katılması sağlanır (Şekil-7).



Şekil-7: Biliopankreatik diversiyon ile birlikte duodenal switch prosedürü (45).

2.2 MikroRNA

2.2.1 MikroRNA tanımı:

MiRNA'lar yaklaşık 21-24 nükleotid uzunluğunda tüm çekirdekli hücrelerde bulunan RNA molekül çeşididir. MiRNA'lar gen ekspresyonunun transkripsiyon aşamasının sonrasında rol oynamaktadırlar.

Genom üzerinde protein kodlamayan alanlardaki RNA genlerinden ve protein kodlamada rol alan ekzon ve intron bölgelerinden transkripsiyonu sağlanan, ancak translasyonu gerçekleştirilmeyen, işlev olarak gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan kısa RNA molekülleridir (46,47).

2.2.2 MiRNA' nın keşfi, yapısı ve önemi:

MiRNA'lar 1993 yılında Lee ve ark. tarafından *Caenorhabditis Elegans*'ın larval gelişimi ile yapılan çalışmalarda keşfedilmiştir. MiRNA'lar hedef mRNA'nın kodlamayan 3' ucuna bağlanarak hedef genin ekspresyonunu inhibe etmektedirler (48,49). Örneğin ilk miRNA olan lin-4'ün 22 ve 61 nükleotidlik protein kodlamayan RNA çiftini kodladığı ve bu RNA dizilerinin lin-4'ün 3'UTR ucundaki tekrar diziler ile tamamlayıcı olduğu; lin-4'ün, lin-14 proteininin ekspresyonunu azalttığı bulunmuştur (50). Bu düzenleyici RNA'lar ilk olarak 2001'de miRNA olarak sınıflandırılmıştır (51).

Daha sonra yapılan çalışmalarda ise miRNA'ların hücre ve organ gelişimi, farklılaşması, apoptozisi, tümör oluşumu, sinyal iletimi, hematopoetik kök hücre farklılaşması gibi birçok önemli aşamada rol oynadığı bildirilmiştir (52,53).

MiRNA'lar insan genomunda genlerin yaklaşık olarak %2-3'ünü oluşturmakta olup yaklaşık 23000 genin 1/3'ünün düzenlenmesinden sorumludur. MiRNA'lar hücreye, dokuya ve hastalığa spesifik olarak eksprese olduğundan, bu ekspresyonların azalması ya da artması biyolojik sürecin ya da hastalığın patofizyolojisini göstermektedir (54). Bu özelliklerden yararlanılarak birçok miRNA miRBase veri tabanında tanımlanmış olup bunlar çeşitli kanserler, obezite, diyabet gibi birçok hastalık için sınıflandırılmışlardır (55,56).

2.2.3 MiRNA oluşumu ve etki mekanizması:

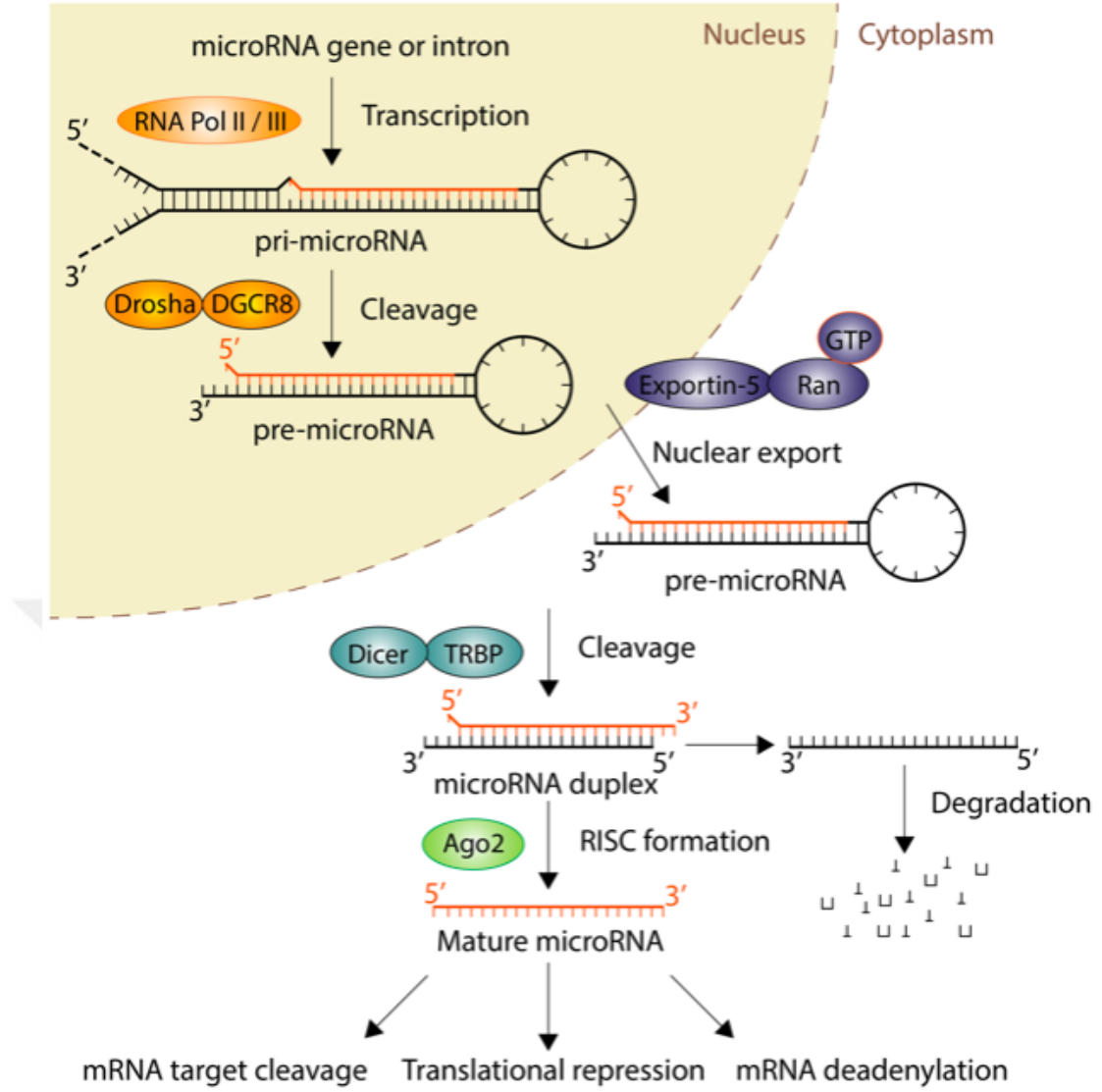
MiRNA'lar öncelikle RNA polimeraz II enzimi vasıtasıyla miRNA gen kısmından ya da intron bölgesinden transkribe edilerek, yaklaşık 2 kb uzunluğundaki pri-miRNA'lar ile oluştururlar. Bu yapılar 5' baş kısmında şapka yapısı ve 3' uç kısmında poli A kuyruğu içermekte olup saç tokası şeklindedirler (57,58).

Oluşan pri-miRNA'ların Drosha ve Pasha ailelerindeki enzimler vasıtası ile (RNA polimeraz III ve *DiGeorge critical sendrom region-8* (DGCR-8)) yaklaşık 70 nükleotid uzunluğundaki pre-miRNA'ya dönüşümleri sağlanır (59,60). Ekspresin-5 enzimi aracılığı ile oluşan pre-miRNA'lar enerji bağımlı mekanizma ile nükleustan sitoplazmaya gönderilir. Sitoplazmada bulunan RNase III enzimi olan Dicer1 ile parçalanarak yaklaşık 22 nükleotid içeren çift sarmallı dubleks yapı oluşturulur. Oluşan bu yapının tek zinciri Argonaute proteini (Ago) ile *RNA inducing silencing complex* (RISC) oluştururken diğer zincir ise degrade olur (61,62).

RISC'e bağlanan zincir komplementer baz ile eşleşerek birlikte hedef mRNA'lara bağlanırlar ve mRNA degradasyonuna yol açarak translasyonu inhibe ederler. Bu bağlanma miRNA'ların 5' ucunda bulunan yedi nükleotidlik alanın hedef mRNA'nın 3' ucundaki translasyona uğramayan komplementer baz eşleşme bölgesine, bağlanma bölge sayısına ve bu bölgelerin serbest enerji durumuna göre belirlenmektedir (63). Eğer komplementer baz ile eşleşme sürecinde hata oluşmuş ise bu bağlanma gerçekleşmeyecek ve miRNA'nın translasyon üzerine etkisi olmayacaktır.

MiRNA'ların mRNA'ya bağlanması, mRNA'nın degradasyonu veya translasyon ve protein sentezinin inhibisyonu ile hedef genin ekspresyonunda azalmaya neden olur. MiRNA'lar hedef mRNA'yı GW182 proteini ve Ago proteini ile degrade ederek, translasyonu inhibe ederek ya da her ikisini yaparak transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunu düzenlerler. Ek olarak miRNA'ların azalmış ekspresyon düzeyi direkt olarak artmış hedef gen ekspresyonuna yol açabilmektedir (63,64).

Ayrıca hedef mRNA'ların 3'UTR kısmına bağlanan miRNA'lar birden çok mRNA'yı hedef alabilir; bununla birlikte herhangi mRNA, birden fazla miRNA için birden çok bağlanma bölgesine sahip olabilmektedirler (65).



Şekil-8: MiRNA oluşumu ve etki mekanizması (66).

2.2.4 MiRNA ile obezite ve tip II diyabetes mellitus ilişkisi

Obezitenin hastalığı oluşumunda çevresel, beslenme alışkanlığı, yaşam biçimi, genetik yatkınlık gibi birçok faktör rol oynamaktadır. Ancak, obezite oluşuma yol açan faktörlerin moleküler düzeydeki fizyolojisi ve genetik temeli tamamen aydınlatılamamıştır (67).

Bunun için birçok genetik çalışma yapılmış olup miRNA keşfiyle birlikte araştırmalar kanser, diyabet, obezite gibi birçok hastalığın temelindeki genetik düzenlemelerde miRNA'ların etkisi olduğunu göstermiştir.

Obezitede adipogenezis, lipoprotein sentezi, kolesterol taşınımı ile bağlantılı olarak dislipidemiler ve lipid metabolizması, insülin sekresyonunun düzenlenmesi ve miRNA'ların glukoz metabolizmasında rolleri olduğu bildirilmiştir (68). Bu nedenle bu düzenleyici miRNA dengesizlikleri obezite ve obeziteye sekonder olarak gelişen hastalık ve komplikasyonlarının gelişiminde rol oynamaktadırlar (69,70).

Yağ dokusu obezite hastalığında oldukça gelişmiş olup içeriğinde fazla miktarda adipokin adı verilen biyobelirteçleri barındırmaktadır. Leptin, adiponektin, resistin, apelin gibi önemli adipokinler bunlara örnek olup bu adipokinler adipogeneziste rol oynayan miRNA'ların ekspresyonunu düzenleyerek adipoz doku fonksiyonunun bozulmasını ya da hedef organlarda adipoz doku fizyolojisini değiştirerek etki göstermektedirler (56,71).

Ek olarak obezite hastalığında var olan düşük dereceli kronik enflamasyon metabolik sendromun başlamasında rol oynamaktadır (72,73). Bu aşamada bazı miRNA'lar İnterlökin-8 (IL-8), Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF- α), Monosit Kemoatraktan protein-1(MCP-1), Nükleer Faktör-kappa B (NF-kappaB) gibi enflamatuar belirteçlerin ekspresyonunu düzenleyici rol oynamaktadırlar. Yapılan hayvan ve insan çalışmalarında yağ dokusunda miRNA'ların ekspresyonunun obezitedeki kronik enflamasyon ile düzenlendiği gösterilmiştir (74,75,76,77).

Bu enflamatuar süreçlerin Tip II DM'a yol açan glukoz homeostaz defektiyle ilişkili olduğu belgelenmiştir. Özellikle proenflamatuar sitokinler, insülin sekresyonunda bozulmaya ve periferik organlarda insülin direncine neden olmaktadır. Bu açıdan miRNA'lar metabolik sendrom etiyojisi açısından yeni aktör olarak kabul edilmektedirler (78). Bu bağlamda miRNA'lar insülin sentezinde, salgılanmasında ve duyarlılığında rol oynamaktadırlar. Yapılan çalışmalarda miRNA biyogenezinde rol oynayan dicer'lerin ablasyonunun, glukoz ile uyarılmış insülin sekresyonunda ve insülin sentezinde bozulmaya yol açarak diyabet oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir (79,80,81). Yine miRNA biyogenezinde rol alan proteinlerden Ago'nun yokluğu insülinin sekresyonunda ve/veya sentezlenmesinde önemli olduğu ileri sürülmektedir (82,83). Ek olarak miRNA'lar iskelet kasında glukoz taşıyıcı tip 4 (GLUT4) seviyelerinde azalmaya neden olan peroksizom proliferatör-aktive reseptörlerini (PPAR) hedefleyerek ya da bazı miRNA'ların doğrudan ya da dolaylı olarak GLUT4 mRNA'sının, peroksizom proliferatör reseptörleri gibi bazı transkripsiyon faktörleri

ile GLUT4 ekspresyonununda görev alarak insülin direncinin fizyolojisinde rol almaktadırlar (84).

Bu verilere dayanarak miRNA'lar bazı endokrin ve metabolik fonksiyonların ana düzenleyicisi olarak rol oynamaktadırlar. Yapılan çalışmalarda miRNA'ların birçok mekanizma ve metabolik hastalıklar ile ilişkisi bildirilmiştir. Bu yüzden miRNA ekspresyon düzeyleri bu hastalıklar için tanı ya da prognozu belirlemede biyobelirteç olarak kullanılabilir (85).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın etik kurul onamı Bezmialem Vakıf Üniversitesi Yerel Etik Kurulu'ndan alındı (16.11.2016 tarihli Etik Kurul Karar No: 71306642-050.01.04-18464). Çalışmamız için gereken bütçe için Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi'ne (BAP) başvuruldu ve çalışma için destek alındı. (05.12.2016/ Bap No: 12.2016/9)

%95 güven aralığında yapılan power analiz sonrasında preoperatif ve postoperatif 6. ayda alınan kan ve intraoperatif alınan yağ doku örneklerinden seçilmiş üç adet miRNA örneğinin (*miR27b-3p*, *miR122-5p*, *miR223-3p*) çalışılması için bariatrik cerrahi planlanan 17 morbid obez hasta üzerinde çalışılması planlandı.

3.1 Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri

- 18-65 yaş arasında olmak
- Çalışma için onamı olanlar
- VKİ > 40 kg/m² olması veya VKİ > 35 kg/m² olup obezite ilişkili en az bir komorbid hastalığı (Tip II DM, HT, hiperlipidemi, uyku apne sendromu) olanlar
- Sleeve gastrektomi planlanan hastalar

3.2 Hastaların çalışmaya dahil edilmeme kriterleri

- Revizyon cerrahisi planlanan hastalar
- Çalışma için onamının olmaması
- Postoperatif dönemde spor ve egzersizi engelleyecek düzeyde osteoartiküler patoloji bulunması
- Bariatrik cerrahi ile eş zamanlı operasyon planlananlar
- Kanser öyküsü olanlar
- Sleeve gastrektomi dışında bariatrik cerrahi prosedürü planlananlar
- <18 yaş ve >65 yaş olan hastalar

Hastaların demografik özellikleri (yaş, cinsiyet, boy (cm), ağırlık (kg), VKİ (kg/m²), vücut yağ kompozisyonu) ve ek hastalıkları kaydedildi. Tüm hastalara laparoskopik sleeve gastrektomi ameliyatı uygulandı. İntraoperatif ve postoperatif herhangi bir komplikasyon tespit edilmedi. Hastaların postoperatif 6. aydaki poliklinik kontrollerinde boy (cm), ağırlık (kg), vücut yağ kompozisyonu ölçüldü ve VKİ (kg/m²) ile %EWL hesaplanarak kaydedildi. Hastalardan preoperatif ve postoperatif 6. ayda venöz kan ve intraoperatif rutin olarak umblikus üzerindeki trokar yerinden bir gram yağ doku örnekleme yapıldı. Alınan tüm örnekler numaralandırılmış ve sınıflandırılmış olup “*RNA later solüsyonu*” içerisinde soğuk zincir kuralına uygun olarak Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Merkezi Laboratuvarı’ndaki -80°C derin dondurucuda saklandı. Alınan örneklerde preoperatif ve postoperatif dönemde ekspresyon düzeylerinde değişiklik olabileceği düşünülen obezite ile ilişkilendirilmiş *miR27b-3p*, *miR122-5p*, *miR223-3p* gen ekspresyonları incelendi. Çalışmanın kendi içinde tutarlılığını ortaya koymak ve ekspresyon düzeyleri arasındaki farklılığın belirlenebilmesi için evrimsel devamlılığı olan, tüm hücre, doku ve organizmada değişmeyen seviyede ekspresyon gösteren, böylece asıl tespit edilecek genin ekspresyon düzeyinin yorumlanmasına olanak sağlayan *housekeeping* gen kullanılmıştır. Çalışmamızda literatürde miRNA ekspresyonları için en sık kullanılan referans gen olan *RNU6-2* tercih edilmiştir (86).

3.3 Kan ve Yağ dokudan RNA izolasyonu

3.3.1 Kandan RNA izolasyonu

Tüm kan örneklerinden total RNA izolasyonu ticari olarak alınan *Total RNA Purification Kit* protokolüne göre gerçekleştirildi. -80°C derin dondurucuda *DNA/RNA Shield Blood Collection Tube* içinde birlikte dondurulmuş olan örnekler buz üzerinde çözünmeye bırakıldı. Tamamen çözünme sonrasında bu örneklerden 100 µl alınarak RNAase-free mikrosantrifüj tüpüne konuldu. Her bir ml *Buffer RL* içine 10 µl β-mercaptoethanol eklenerek daha sonra kullanılmak üzere *Buffer RL* karışımı hazırlandı. 100 µl kan örneği bulunan tüp içerisine 350 µl *Buffer RL* konuldu ve 10 saniye boyunca vortekslenerek karıştırıldı. Ardından karışım üzerine 200 µl %96-100 etanol konuldu ve yine 10 saniye boyunca vortekslenerek karıştırıldı.

Ardından filtreli tüp toplama tüpüne yerleştirildi ve oluşan karışımdan 600 µl eklendikten sonra 4000 g de bir dakika boyunca santrifüj uygulandı. Santrifüj sonrasında filtre altında kalan kısım atıldı. Ardından bu işlem tekrar edilerek tüm lizat hacminin filtre edilmesi sağlandı. Filtreli tüp ayrı bir toplama tüpüne yerleştirildi ve üzerine 400 µl %96-100 ethanol eklendikten sonra yine 4000 g de bir dakika boyunca santrifüje edildi. Filtre altında kalan kısım atıldı ve bu işlem iki defa tekrar edildi. Filtreli tüp tekrar boş olan toplama tüpüne yerleştirildi ve üzerine herhangi bir solüsyon eklenmeden iki dakika boyunca 4000 g de santrifüj uygulandı ve tamamen filtrenin kuruması sağlandı. Filtre kit ile birlikte verilen 1,7 ml hacmindeki tüpe yerleştirildi. Ardından yine kit ile birlikte verilen 50 µl Elution Solution A konulduktan sonra ilk olarak iki dakika boyunca 200 g de, ardından bir dakika boyunca 14000 g'de santrifüj uygulandı ve filtre içinde saklanan RNA'ların elüsyonu sağlandı. Örnekler -80°C de sonraki deney aşamasına kadar saklanmak üzere derin dondurucuya yerleştirildi.

3.3.2 Yağlı dokudan RNA izolasyonu

Tüm yağ dokusu örneklerinden total RNA izolasyonu ticari olarak satın alınan Fatty Tissue RNA Purification Kit protokolüne göre gerçekleştirildi. -80°C derin dondurucuda *RNA later* solüsyonu ile birlikte saklanmış olan yağlı doku örneklerinden yaklaşık 40mg örnek tartıldı ve çözünmeden sıvı nitrojen ile sahanda ezilerek homojenize hale getirildi. Sonraki aşamada kullanılacak olan *wash solution A* %96-100 ethanol kullanılarak hazırlandı. Daha sonra her bir ml *Buffer RL* içine 10µl β-mercaptoethanol eklenerek *Buffer RL* karışımı hazırlandı. Homojenize hale getirilen örnekler tüpe alınarak üzerine 300 µl Buffer RL eklendi ve iki defa 15 saniye boyunca vorteks cihazı kullanılarak homojenize edildi. Pipet kullanılarak örnek *RNAase-free* mikrosantrifüj tüpüne konuldu ve üzerine 15 µl *Lysis additive B* eklendikten sonra karıştırılmak üzere 15 saniye vorteks cihazına konuldu. Daha sonra 300 µl *RNAase-Free water* örnek üzerine eklenerek 15 saniye vorteks cihazı ile karıştırıldı. Örnek sonrasında filtreli tüpe aktarıldı ve 14000 rpm de üç dakika boyunca santrifüj edildi. Süzülen kısım atıldı ve filtreli olan kısım başka bir tüpe yerleştirildi. Ayrı bir tüpte 200 µl *Buffer RL* ve 500 µl %96-100'lük ethanol hazırlandı ve karıştırılmak üzere vorteks uygulandı.

Yeni tüpe alınan filtrede tutulmuş lizat üzerine hazırlanan karışımdan yaklaşık olarak 650 µl konuldu ve bir dakika boyunca 4000 g de santrifüje edildi. Buraya kadar olan son iki aşama iki defa tekrar edildi. Daha sonra filtrelenmiş olan kısım yine ayrı bir tüpe alındı. Üzerine 400 µl *wash solution A* eklendikten sonra yine 4000 g de bir dakika boyunca santrifüje edildi. Süzölmüş kısım atıldıktan sonra bu işlem yine iki defa tekrar edildi. Ardından filtre üzerine herhangi bir solüsyon eklenmeden filtre kısmını iyice kurutmak amacı ile 2 dakika boyunca 4000 g de tekrar santrifüj uygulandı. Filtreli tüp yine kitle birlikte verilen 1,7 µl lik tüpe yerleştirildi. Ardından 50 µl *Elution Solution A* eklendi ve 200 g de iki dakika, 14000 g de bir dakika santrifüj uygulanarak RNA elüsyonu tamamlandı ve -80°C de sonraki deney aşamasına kadar saklanmak üzere derin dondurucuya yerleştirildi.

3.4 Elde edilen RNA'ların konsantrasyon ve kalitesinin tayini

Kan ve yağlı dokudan izole edilen tüm RNA örneklerinden iki µl alındı ve bu RNA'lar *MultiscanGO* cihazı vasıtasıyla 260 nm ve 280 nm dalga boylarında absorbansları ölçülerek konsantrasyon ve kalite tayini gerçekleştirildi.

3.5 cDNA Sentezi

Elde edilen total RNA'lardan cDNA sentezi, ticari kit *miScript II RT Kit* kullanılarak kit protokolündeki talimatlarına uygun olarak yapıldı. Her bir örnek için tablo 5'te belirtilen miktarlara uyularak karışım hazırlandı.

Tablo-5: cDNA sentezi karışım miktarları.

Karışım	Miktar
5x <i>miScriptHiFlexBuffer</i>	4 µl
10x <i>NucleicsMix</i>	2 µl
<i>RNase-free</i> water	Değişken
<i>miScriptReverseTranscriptaseMix</i>	2 µl
Template RNA (1µg)	Değişken
Toplam Hacim	20 µl

Sentez protokolündeki tüm karışım işlemleri buz üzerinde uygulandı. 20 µl'lik karışım hazırlandıktan sonra örnekler konvansiyonel PCR cihazına konulup 37°C de 60 dakika ardından 95°C'de beş dakika bekletildi. Elde edilen cDNA'lar -20°C'lik derin dondurucuda saklanmak üzere kaldırıldı.

3.6 Primerlerin erime sıcaklıklarının optimizasyonu

Bir cDNA örneği üzerinden ticari olarak temin edilen PCR Master Mix kiti kullanılarak *gradient*- PCR işlemi uygulandı. Referans gen de dahil olmak üzere üç miRNA primeri (*RNA, U6 small nuclear 6, pseudogene, Entrez Gene ID:26826, Transcript(s):NR_002752 (107 bp); hsa-miR-27b-3p (miRBase ID: hsa-miR-27b-3p, miRBase Accession: MIMAT0000419; hsa-miR-122-5p (miRBase ID: hsa-miR-122-5p, miRBase Accession: MIMAT0000421 ve hsa-miR-223-3p (miRBase ID: hsa-miR-223-3p, miRBase Accession: MIMAT000028)*) 55-64°C aralığında sekiz sıcaklık değeri üzerinden değerlendirildi. Sırasıyla 98 °C’de 30 saniye; 98 °C’de 10 saniye; 55-64 °C arası sıcaklık değerlerinde 30 saniye; 72 °C’de 60 saniye ve son uzama aşaması için 72 °C ‘de 180 saniye olmak üzere 30 siklus olarak tamamlandı.

3.6.1 Agaroz jel elektroforezi

3.6.1.1 10X’lik tris-borik asit-etilen diamintetraasetat hazırlanması

Sırası ile tris bazdan 121,1 gr; borik asitten 61,8 gr ;0,02 M EDTA’dan 7,4 gr şişeye alındı ve üzerine 500 ml ddH₂O eklendi ve bu karışım manyetik karıştırıcıda çözünmesi sağlandı.

3.6.1.2 %2’lik agaroz jel hazırlanması

Hazırlanan 10X TBE tampon 1X’e dilüe edildi. 1X TBE kullanılarak %2’lik agaroz final hacim 100 ml olacak şekilde hazırlandı. Karışım mikrodalga fırında 2,5 dakika boyunca ısıtılıp kaynatıldı ve çözeltiliye 1µl EtBr ilave edildi. Hazırlanan karışım jel yatağına döküldü. Dökülen çözeltiliye tarak vasıtasıyla yükleme kuyucukları oluşturuldu ve donmaya bırakıldı. Donma işlemi sonrası tarak çıkartıldı ve jelöz karışım 1X TBE içeren yükleme tankına yerleştirildi. *Gradient* PCR sonucu elde edilen örneklerin her birinden dokuz µl alınıp yükleme tamponundan bir µl alınarak karıştırıldı. Örnekler sırası ile jele yüklendi. Elektroforez tankına yerleştirilen jel 100 Voltta ayarlanan güç kaynağına bağlandı ve 40 dakika boyunca yürütüldü. Yürütülen agaroz UV ışık altında görüntüleme cihazında incelendi.

3.7 Real-Time PCR

17 hastanın kan ve yağ doku örneklerinden üç miRNA çalışılmak üzere toplam 51 örnek için hazırlanmış olan cDNA'lar kit protokolüne uygun şekilde RT-PCR uygulandı. Hazırlanmış karışım miktarları tablo 6'da gösterilmektedir. Referans gen *RNU-6* ile *mir27b-3p*, *mir122b-5p*, *mir223-3p* primerleri için *miScript Primer Assay* kullanılmıştır. RT-PCR aşamaları tablo 7 de gösterilmiştir.

Tablo-6: RT-PCR karışım miktarları.

Karışım	Miktar
2x QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix	12.5 µl
10x miScript Universal Primer	2.5 µl
10x miScript Primer Assay	2.5 µl
RNase-free water	5.5 µl
Template cDNA	2 µl
Toplam Hacim	25 µl

Tablo-7: RT-PCR reaksiyon aşamalarının sıcaklık ve süre değerleri.

Reaksiyon Aşamaları	Sıcaklık	Süre
Ön denatürasyon	95 °C	15 dakika
Denatürasyon	94 °C	15 saniye
Bağlanma	Değişken*	30 saniye
Uzama	70 °C	30 saniye
Siklus sayısı	40 siklus	

*Bağlanma sıcaklıkları referans gen *RNU6-2* için 56°C olarak, *miR27b-3p*; *miR122-5p* ve *miR223-3p* için ise 56,7°C olarak belirlenmiştir.

3.8 İstatistiksel analiz

Kan ve yağ doku örneklerine ait *miR27b-3p*, *miR122b-5p*, *miR223-3p* hedef genleri ile referans gen *RNU6-2* için CT değerleri belirlendi. Genlerin artış ve azalış oranları $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm gruplara ait *miR27b-3p*, *miR122b-5p*, *miR223-3p* için gen ekspresyon değişimlerinin demografik verilere göre ve kilo kayıp oranlarına göre (%EWL) kıyaslaması *one-way ANOVA*, *Sidak's multiple comparison test*, *Mann Whitney U* testleri ile yapılmıştır. Anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak belirlenmiştir. İstatistiksel analizler GraphPad Prism 7.04 ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 17 hastanın 4'ü erkek (%23,5), 13'ü kadın (%76,4), erkek/kadın oranı 0,3 olup ortalama yaş $41 \pm 11,6$ ve ortalama vücut kitle indeksi $49,1 \pm 7,6$ kg/m² idi. Altı hastada (%35,2) diyabetes mellitus mevcut olup bu hastaların ortalama glukoz ve HbA1c değerleri sırasıyla $133 \pm 59,4$ mg/dl ve $6,4 \pm 1,3$ idi. Hastaların altıncı ay % EWL oranı ortalama $62,7 \pm 17$ idi. Hastalara ait demografik veriler ve postoperatif 6. aydaki kilo %EWL değerleri tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo-8: Hastalara ait demografik veriler ve postoperatif 6. ay %EWL değerleri.

Hasta No	Yaş	Cinsiyet	VKİ (kg/m ²)	%EWL	Tip 2 DM
#1	55	Erkek	47	64,8	
#2	37	Kadın	50,3	66,7	+
#3	34	Kadın	44,2	54	+
#4	22	Erkek	52,3	46	
#5	54	Kadın	40,9	79	+
#6	46	Erkek	58	46	+
#7	47	Kadın	40	89	
#8	40	Kadın	41,9	40	
#9	35	Kadın	43,5	89	+
#10	23	Kadın	48,5	70	
#11	46	Erkek	44,3	63	
#12	22	Kadın	46,6	64	
#13	51	Kadın	41,9	73	
#14	46	Kadın	57,4	33	+
#15	59	Kadın	38,2	59	
#16	52	Kadın	52	62	
#17	38	Kadın	46,2	78	

Kan örneklerinden (n=34) ve yağ doku örneklerinden (n=17) elde edilmiş total RNA'ların konsantrasyon ve saflık değerleri sırasıyla tablo 9'da gösterilmektedir.

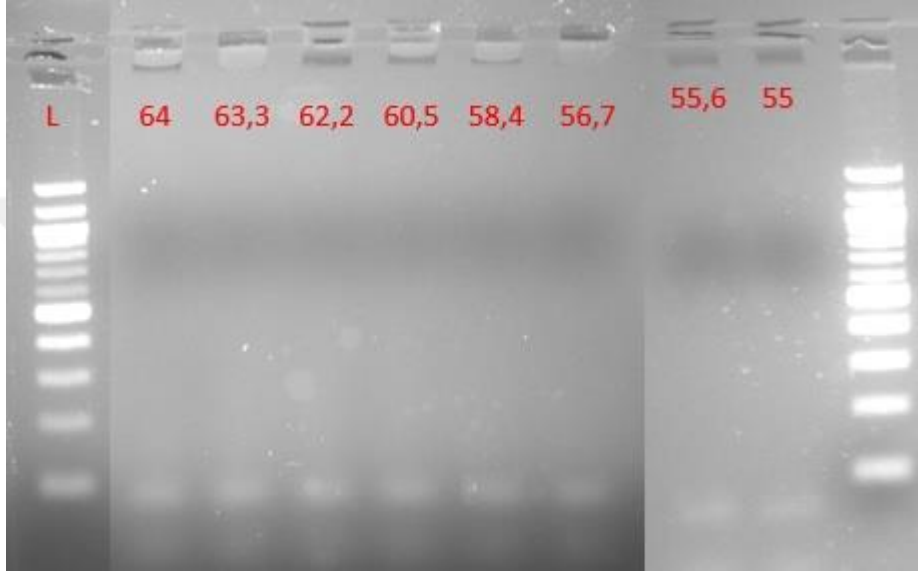
Tablo-9: Preoperatif ve postoperatif kan örneklerinin ve yağ doku örneklerinin konsantrasyon ve saflık değerleri.

Örnek No	Preoperatif Kan Örneği		Postoperatif Kan Örneği		Yağ Doku Örneği	
	Konsantrasyon	A260/A280	Konsantrasyon	A260/A280	Konsantrasyon	A260/A280
#1	12,77	1,844	6,04	1,919	23,77	1,920
#2	9,46	1,857	14,89	1,752	93,89	1,935
#3	7,96	1,815	10,04	2,234	101,85	1,945
#4	9,84	1,850	35,97	1,831	72,97	2,010
#5	8,19	1,993	9,92	1,815	117,15	1,979
#6	9,46	1,894	85,04	1,882	21,20	1,955
#7	15,54	1,981	86,50	1,846	121,45	1,949
#8	12,20	1,802	26,12	1,908	39,31	1,890
#9	20,93	1,820	8,31	1,862	41,12	1,967
#10	10,88	1,952	6,58	1,719	96,16	2,018
#11	13,04	1,794	7,39	1,847	93,23	2,032
#12	8,54	1,835	10,66	1,912	60,89	1,924
#13	8,19	1,902	6,04	1,849	53,81	1,945
#14	15,04	1,927	7,04	1,953	70,93	1,968
#15	11,58	1,813	8,58	1,845	82,12	2,028
#16	8,31	1,894	13,61	1,446	90,85	1,960
#17	15,81	1,650	9,42	1,980	61,85	1,966

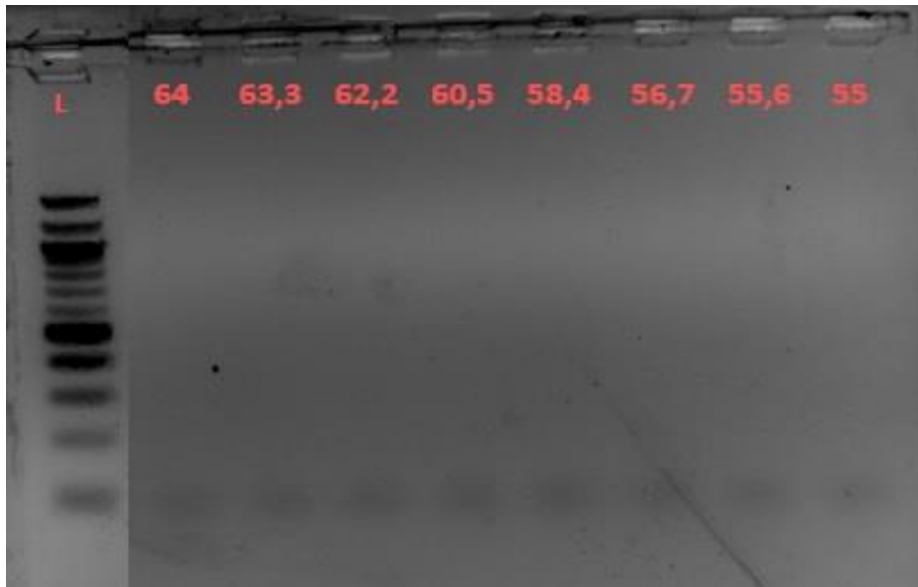
Gradient PCR ile elde edilen örnekler %2'lik agaroz jel elektroforezinde görüntülenerek her miRNA primerine ait erime sıcaklığı belirlendi (Tablo-10) ve genlere ait *gradient* PCR elektroforez sonuçları şekil 9,10,11,12'de gösterildi.

Tablo-10: MiRNA primerlerinin seçilen erime sıcaklıkları.

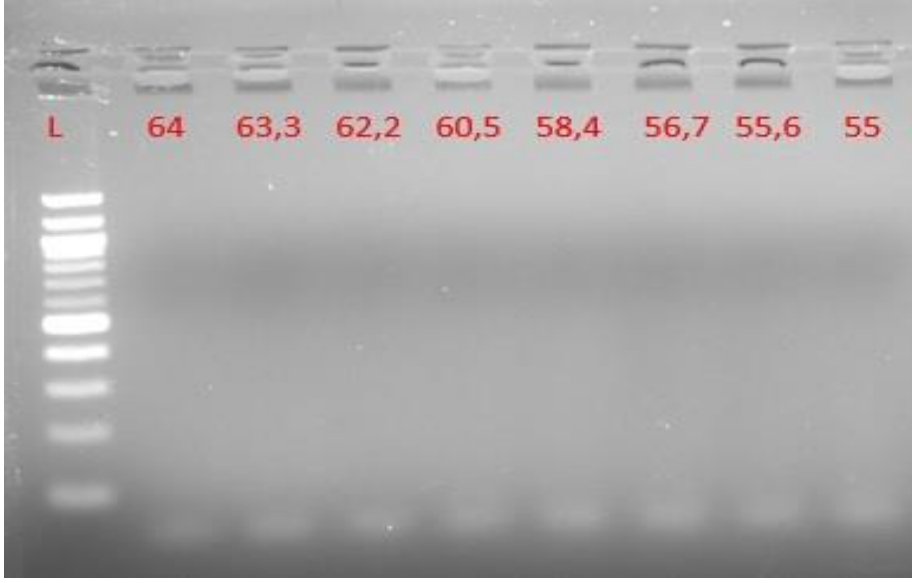
Primerler	Erime sıcaklığı (Tm)
RNU6-2	56 °C
MiR27b-3p	56,7 °C
MiR122-5p	56,7 °C
MiR223-3p	56,7 °C



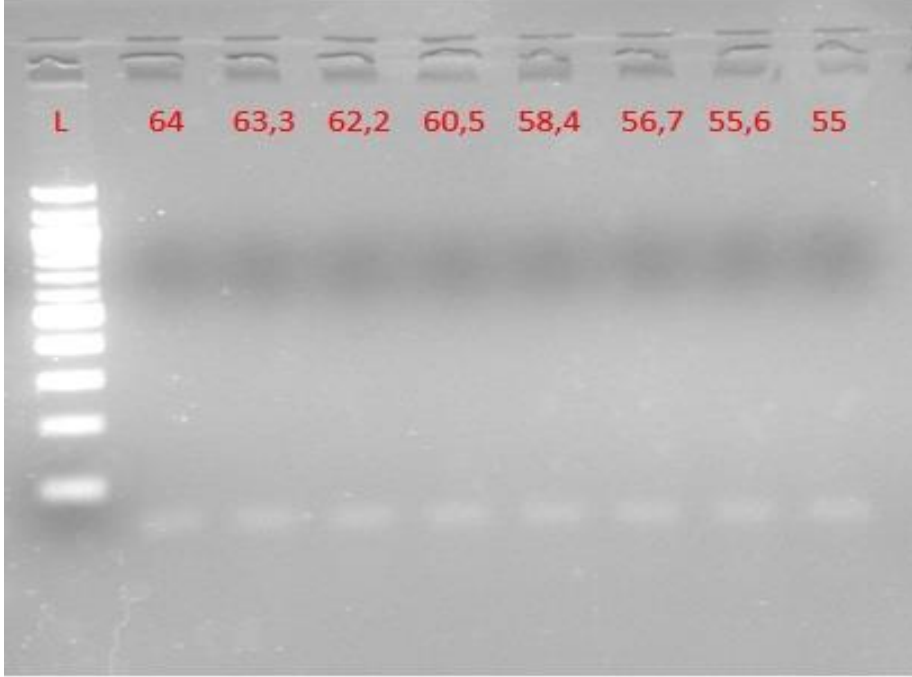
Şekil-9: *RNU6-2* için yapılan *gradient* PCR örneklerinin elektroforez sonucu.



Şekil-10: *MiR27b-3p* için yapılan *gradient* PCR örneklerinin elektroforez sonucu.



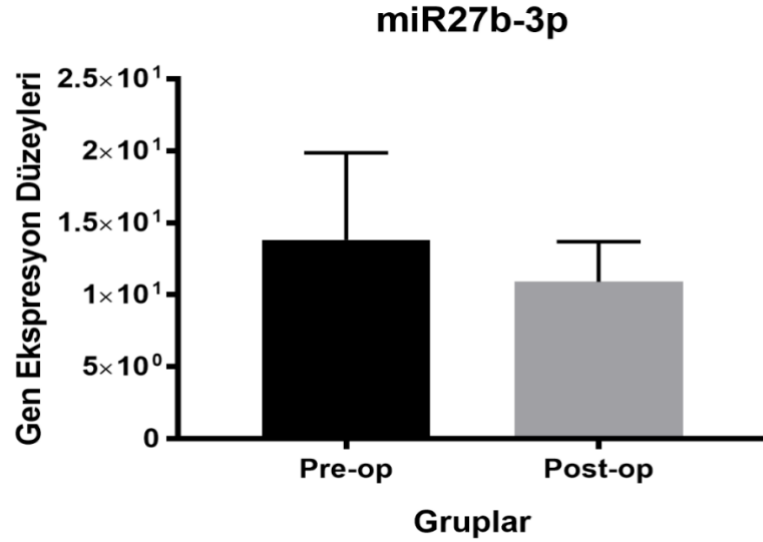
Şekil-11: *MiR122-5p* için yapılan *gradient* PCR örneklerinin elektroforez sonucu.



Şekil-12: *MiR223-3p* için yapılan *gradient* PCR örneklerinin elektroforez sonucu.

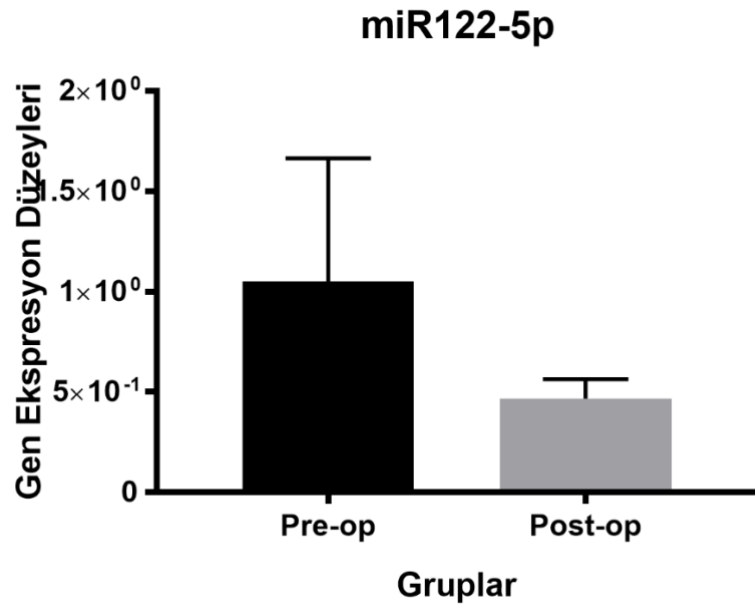
4.1. Real-Time PCR Bulguları

Referans gen *RNU6-2* kullanılarak *miR27b-3p* için rölatif ekspresyon sonucu preoperatif ve postoperatif kandan elde edilen 34 örnek için p değeri 0,7 olduğu gözlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil-13).



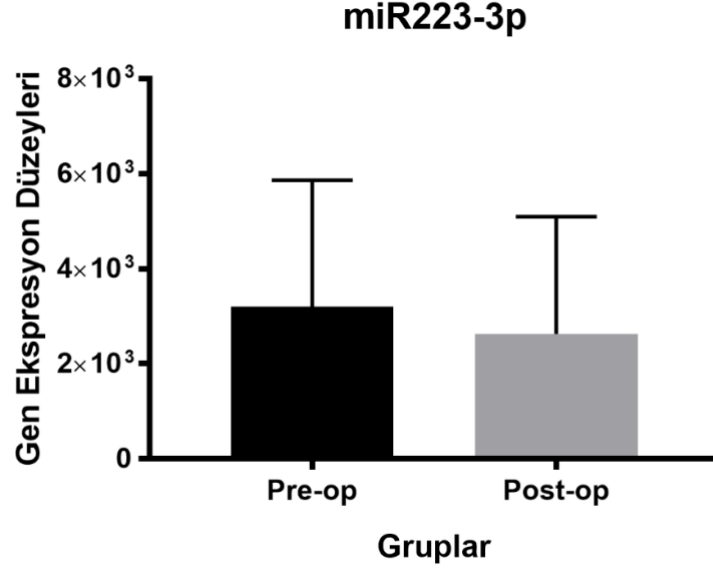
Şekil-13: *MiR27b-3p* için preoperatif ve postoperatif rölatif ekspresyon sonuçları.

Referans gen *RNU6-2* kullanılarak *miR122-5p* için rölatif ekspresyon sonucu preoperatif ve postoperatif kan örneğinden elde edilen 34 örnek için p değeri 0,3850 olduğu belirlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil-14).



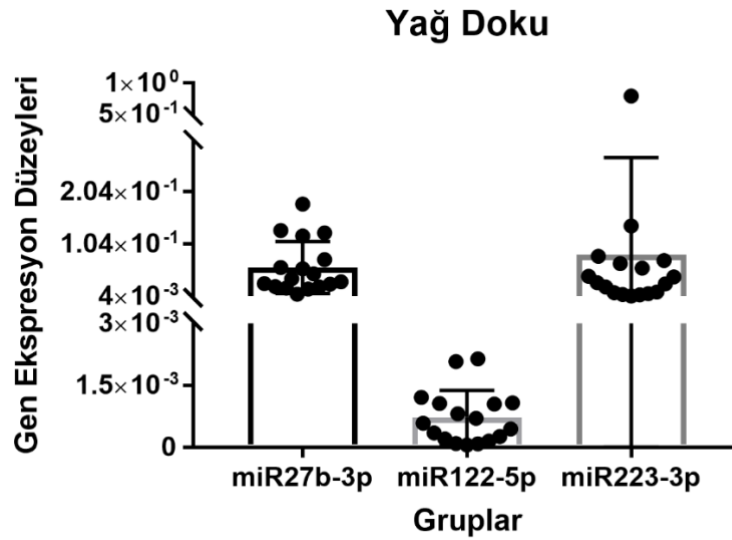
Şekil-14: *MiR122-5p* için preoperatif ve postoperatif rölatif ekspresyon sonuçları.

Referans gen *RNU6-2* kullanılarak *miR223-3p* için rölâtif ekspresyon sonucu preoperatif ve postoperatif kandan elde edilen 34 örnek için p değeri 0,6243 olduğu gözlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil-15).



Şekil-15: *MiR223-3p* için preoperatif ve postoperatif rölâtif ekspresyon sonuçları.

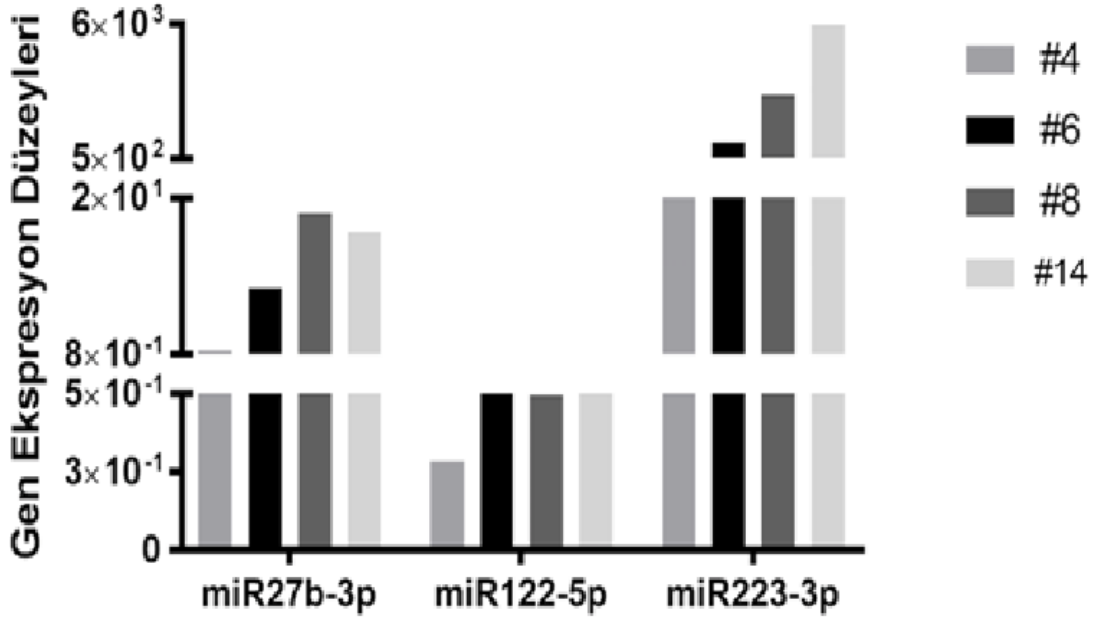
17 hastaya ait yağ doku örneklerinden elde edilen miRNA'lar rölâtif ekspresyon sonuçları karşılaştırıldığında yalnızca bir hastada *mir223-3p* diğer miRNA'lara oranla anlamlı şekilde yüksek ekspresyon seviyesi gözlenmiştir ($p < 0.001$). Diğer 16 örnekte anlamlı değişiklik gözlenmemiştir ($p > 0.05$) (Şekil-16).



Şekil-16: Yağ dokudan elde edilen üç miRNA'ya ait ekspresyon düzeyleri.

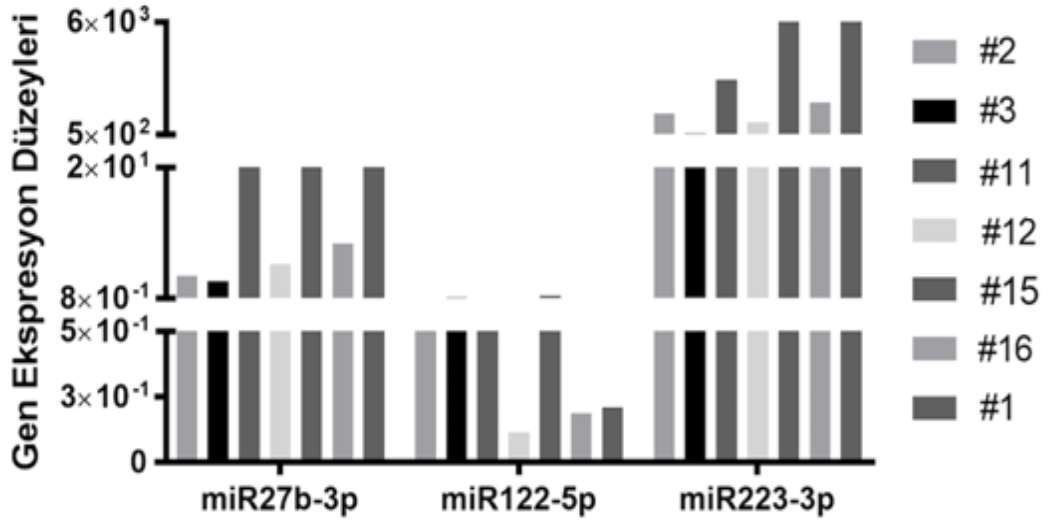
Kilo kayıp oranlarına göre belirlenen gruplar arasında miRNA ekspresyon düzeylerine bakıldığında;

Grup-1'deki 4 hastanın preoperatif ve postoperatif kan örneklerinde bakılan *miR27b-3p*, *miR122-5p*, *miR223-3p* gen ekspresyon değerlerinde anlamlı değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$) (Şekil-17).



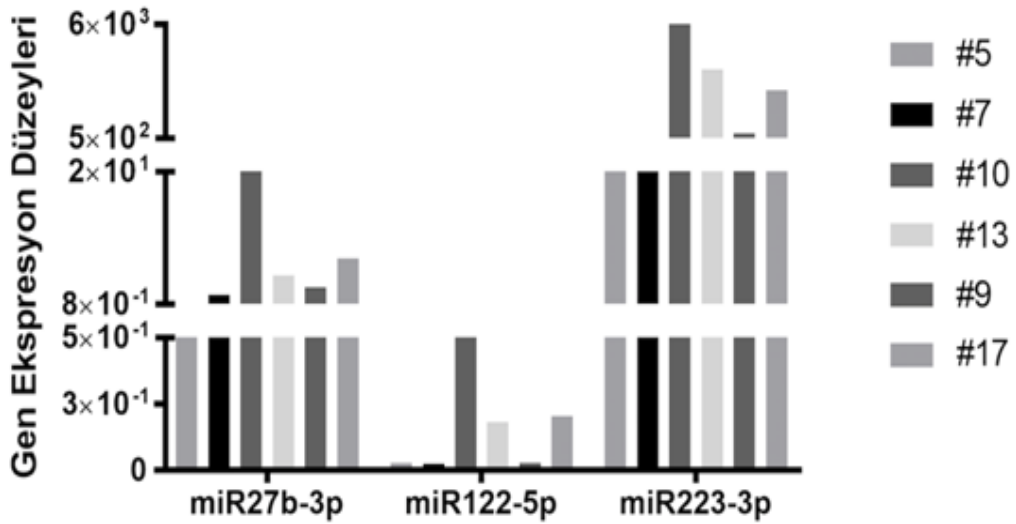
Şekil-17: Grup-1'deki hastaların preoperatif ve postoperatif kan örneklerindeki miRNA ekspresyonları.

Grup-2'deki 7 hastanın preoperatif ve postoperatif 6. ay kan örneklerinde bakılan *miR223-3p*'ün gen ekspresyon düzeyleri *miR27b-3p* ve *miR122-5p*'den istatistiksel anlamlı olacak şekilde yüksek bulundu (*miR27b-3p* için $p=0.0335$; *miR122-5p* için $p=0.0328$) (Şekil-18).



Şekil-18: Grup-2'deki hastaların preoperatif ve postoperatif kan örneklerindeki miRNA ekspresyonları.

Grup-3'teki 6 hastanın preoperatif ve postoperatif 6. ay kan örneklerinde bakılan miRNA gen ekspresyonları karşılaştırıldığında *miR223-3p*'ün gen ekspresyon düzeyleri *miR27b* ve *miR122-5p* 'den istatistiksel anlamlı olacak şekilde yüksek bulundu (*miR27b-3p* için $p=0.0446$; *miR122-5p* için $p=0.0441$) (Şekil-19).

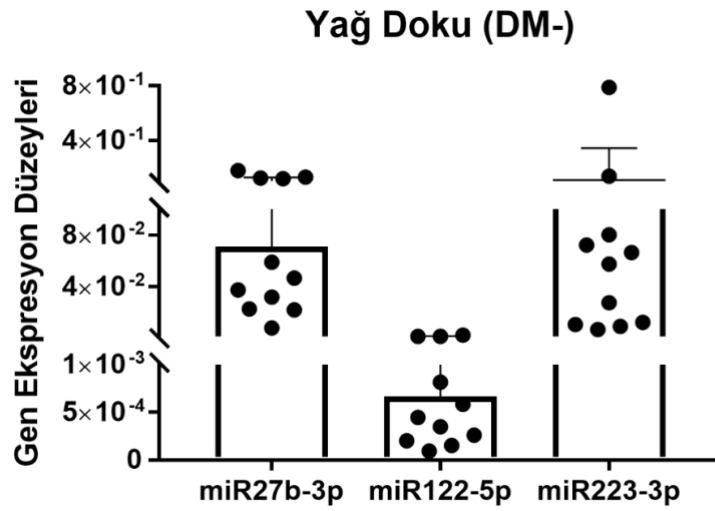


Şekil-19: Grup-3'teki hastaların preoperatif ve postoperatif kan örneklerindeki miRNA ekspresyonları.

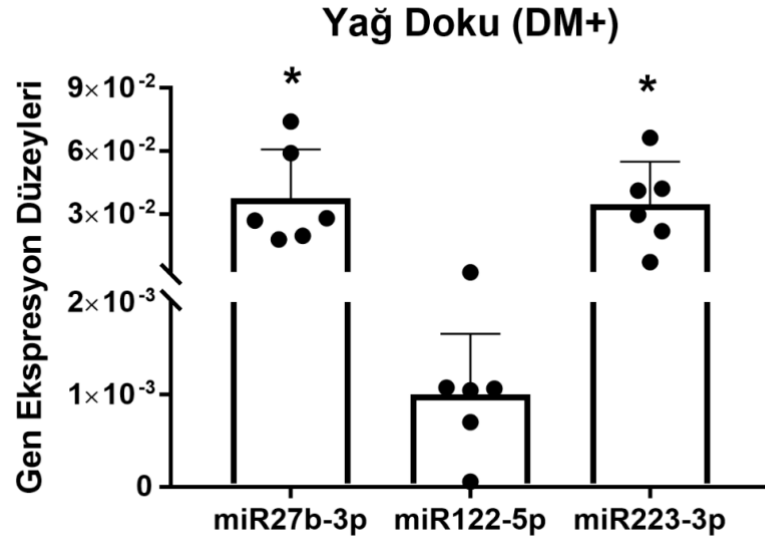
Çalışmadaki 17 hastanın 6'sında (%35,2) tip II DM mevcut idi. Tip II DM olan ve olmayan hastaların preoperatif ve postoperatif 6. ay kan örneklerindeki *miR27b-3p*, *miR122-5p* ve *miR223-3p*' ye ait gen ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç tespit edilmedi ($p>0.05$).

Tip II DM olmayan hastalarda yağ dokusundan alınan örneklerdeki miRNA ekspresyonları arasında istatistiksel anlamlı farklılık görülmedi ($p>0.05$) (Şekil-21).

Ancak Tip II DM olan hastaların yağ dokularındaki örneklerde miRNA ekspresyonları incelendiğinde *miR27b-3p* ve *miR223-3p*'ün *miR122-5p*'ye göre istatistiksel anlamlı olacak şekilde yüksek oranda eksprese olduğu bulundu ($p=0.0062$) (Şekil-22).



Şekil-20: Tip II DM olmayan hastaların yağ dokusundaki miRNA gen ekspresyonları.



Şekil-21: Tip II DM bulunan hastaların yağ dokusundaki miRNA gen ekspresyonları.

5.TARTIŞMA

Özellikle son yıllarda obezite insidansı tüm dünyada artış göstermekte olup önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Obezitenin tedavisinde diyet, egzersiz, medikal tedavi, yaşam tarzı değişiklikleri gibi birçok tedavi olmakla birlikte bariatrik cerrahinin en etkin tedavi yöntemi olduğu kabul edilmektedir (87).

Bariatrik cerrahinin başarısında hastanın yaşı, diyetle uyumu, egzersiz yapma yapmaması gibi faktörlerle ilişkili iken erken dönem oluşan kilo kaybından majör olarak cerrahinin tipi sorumlu tutulmaktadır (11,12,13). Ancak erken dönem kilo kaybı, bireyler arasında farklılık göstermekte olup bu duruma neden olabilecek faktörler arasında genetik kompozisyonun önemi araştırılmaktadır. Literatürde farklı dokulardan alınan örneklerde obezite ve metabolik sendrom ile ilişkilendirilmiş birçok miRNA PCR Array yöntemi kullanılarak kantite edilip incelenerek bariatrik cerrahinin miRNA'lar üzerinde oluşturduğu etki, miRNA'ların kilo kaybına olan etkisi, preoperatif ve postoperatif dönemdeki miRNA'ların ekspresyon düzeyleri araştırılmıştır. Bu çalışmalar incelendiğinde *miR27*, *miR223*, *miR224*, *miR935*, *miR4772*, *miR126*, *miR122*, *miR143* gibi birçok miRNA'nın obezite ve Tip II DM gibi metabolik hastalıklar ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (21,22).

MiRNA'lar hücreler arası iletişimin önemli araçları olup anjiogenez, diferansiyasyon, bağışıklık yanıtı dahil olmak üzere birçok biyolojik fonksiyonu kontrol etmektedirler. MiRNA'lar, dolaşımdaki bozulmaya karşı dirençleri ve dolaşımdaki miRNA'ların kaynağını ortaya çıkararak belirli dokulardaki yüksek ekspresyonları nedeniyle güvenilir biyobelirteç olarak karşımıza çıkmaktadır (88). Çalışmamız, bu miRNA'lar ile kilo kaybı arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı, böylece hastaların preoperatif olarak kilo kayıp oranını öngörmeyi ve operasyondan maksimum fayda görecektir hasta gruplarını belirlemeyi amaçlamıştır. Bu amaçla hastalardan preoperatif ve postoperatif kan örneklerinden ve intraoperatif yağ doku örneklerinden “*Qiagen miSCRIPT II RT kit*” ile izole edilen *miR27b-3p*, *miR122-5p* ve *miR223-3p* PCR Array yöntemi kullanılarak kantite edilip incelenmiş ve bu miRNA'lar ile obezite ilişkili çalışmaların literatürdeki örnekleri taranmıştır.

Bariatrik cerrahi planlanan morbid obez hastalarda preoperatif ve postoperatif miRNA ekspresyonlarını kan ve yağ dokudan alınan örneklerde incelendiği çalışmamızda cinsiyetler arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Literatürde de buna örnek olarak; *miR223-5p*'nin sağlıklı erkek bireylerde anlamlı derecede yüksek eksprese olduğuna dair çalışmalar görülse de *miR223-5p* ve *miR27b-3p* gen ekspresyonlarının obez bireylerle olan ilişkisi ile ilgili veri bulunmamaktadır. *MiR122-5p* açısından ise Vogt ve ark. larının sağlıklı ve hasta bireylerdeki karaciğer hasarı için *miR122-5p*'nin çalışılabileceğini gösterdiği çalışmasında ve Raitoharju ve ark. larının lipid metabolizması ve yağlı karaciğer ile miRNA'lar arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacı ile yapmış olduğu çalışmada *miR122-5p* seviyelerinin yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksinden bağımsız olduğu gösterilmiştir (89,90).

Willeit ve ark.'nın yapmış olduğu çok merkezli çalışmada, *mir122-5p* ile ilişkili metabolik yolları tanımlama amacıyla normal popülasyon temel alınarak 2000'den fazla insandan alınan kan örneklerinde çeşitli miRNA ekspresyonlarına bakılmış ve *miR122-5p* gen ekspresyon seviyelerinin genel popülasyonda gelecekte meydana gelebilecek metabolik sendrom ve Tip II DM ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (91). Bu açıdan *miR122-5p*'nin obezite ve kilo kaybı açısından biyobelirteç olabileceği düşünülmüş ve buna yönelik çalışmalar planlanmıştır. Bu çalışmalardan Ortega ve ark.'larının yapmış olduğu çalışmada obezite nedeniyle bariatrik cerrahi uygulanan hastalarda, kan doku örneklerinde bakılan *miR122-5p* düzeyinin kilo kaybından sonra bakılan değerlerde anlamlı derecede yüksek olduğu ve *miR122-5p* düzeyi ile VKİ ve yağlanma arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir. Ancak çok değişkenli regresyon analizi sonrasında obezitenin değil de kahverengi adipoz doku aktivitesinin *miR122-5p* için bağımsız belirleyicisi olduğunu ortaya koymuştur (92). Bu nedenle *miR122-5p* seviyesiyle obezite arasında daha önceden bazı çalışmalarda bildirilmiş korelasyonun büyük oranda VKİ'nin derecesinden ziyade kahverengi yağlı doku aktivasyonundan kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda da *miR122-5p* için rölatif ekspresyon sonuçları preoperatif ve postoperatif olarak karşılaştırıldığında kilo kaybı ile arasında anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüş olup literatürü bu konuda destekler niteliktedir ($p=0,385$).

Zhuang ve ark. yaptığı hayvan deneyinde yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerdeki yağ dokusunda *miR223-3p*'nin normal diyet ile beslenen farelere göre önemli derecede yüksek bulunduğu gösterilmiştir (93). Buna karşılık Zampetaki ve ark. yaptığı

çalışmada ise obez hastalarda daha düşük *miR223-3p* düzeyleri bulunmuş olup *miR223-3p* seviyelerinin obezite ve tip II DM olan hastalarda hastalığı öngörmede etkili olabileceği düşünülmüştür (94). Wen D. ve ark.'larının yapmış olduğu bir diğer çalışmada ise obez bireylerde yaşam tarzı değişikliği sonrasında kilo kaybı görülmesi ile *miR223-3p* ekspresyonunun önemli derecede arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle bu çalışmalar sonucunda *miR223-3p* ekspresyonunun obezite gelişiminde bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (95).

Obezite hastalığına sahip gastrik bypass operasyonu planlanan hastalarda preoperatif ve postoperatif ciltaltı yağlı doku ve omental yağlı doku örneklerinde miRNA ekspresyon seviyelerinin incelendiği çalışmada *miR223-3p* ekspresyonunun operasyon sonrasında kilo kaybının omental yağlı dokuda azaldığı gösterilmiştir (96). Ayrıca Kurtlowicz ve ark.'nın bariatrik cerrahi sonrası kilo kaybının yağ dokudaki moleküler düzeydeki değişiklikleri ortaya koymak için yapmış olduğu çalışmada da *miR223-3p*'nin down regüle olduğu bildirilmiştir (97). Çalışmamızda postoperatif kan örneklerinde bakılan *miR223-3p* ekspresyon düzeylerinin down regüle olduğu görülmüştür ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,6243).

İncelediğimiz *miR27b-3p*, *miR122-5p* ve *miR223-3p* genlerinin de ele alındığı; Sriviya Vadsu ve ark. tarafından miRNA'ların diabetin önemi ve komplikasyonları ele alınmış olup bu hastalıkların oluşumunu önceden tespit ederek engellemek ya da etkilerini azaltmak amacı ile birçok çalışmanın incelendiği derlemede metabolik sendromlu hastalara üç aylık süreçte kilo kaybı müdahalesinden sonra *miR223-3p* ve *miR27b-3p* ekspresyonlarının kaybedilen kilo kaybı ile korele olduğu gösterilmiştir (98). Çalışmamızda *miR223-3p* ekspresyon yüksekliğinin *miR27b-3p* ve *miR122-5p*'ye göre özellikle %EWL değeri 50 ve üzerinde olan hastalar ile korele olduğu gösterilmiştir. Ancak çalışmamızda *miR27b-3p* ve *miR122-5p*'ye ait benzer bir sonuca ulaşamamıştır.

Elena ve ark.'nın glukoz metabolizması ile miRNA arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için yapmış olduğu çalışmada *miR122-5p*'nin diabeti olmayan kişilerde 30 aylık takipte glisemik bozukluğa ilerlemesi açısından negatif korele olduğu gösterilmiştir (99). Ek olarak Okamatsu ve ark. serum *miR122-5p* seviyeleri ile kahverengi yağlı doku aktivitesi arasında bağlantıyı gösteren çalışmada da bu ilişkinin negatif korele olduğu gösterilmiştir (100). Ayrıca *miR122-5p*'nin Tip II DM olan

morbid obez hasta grubundan alınan yağ doku örneklerinde *miR27b-3p* ve *miR223-3p*'ye oranla daha az eksprese olduğu bulundu ($p=0,0062$). Bu bulgu, Tip II DM olan obez hastalarda *miR122-5p* ekspresyonunun dokular arasında farklılık göstermesi bakımından literatüre eklenen yeni bir bilgi olması açısından önem taşımaktadır.

Bulgularımız ve literatürden alınan örnekler doğrultusunda; miRNA'lara yönelik yapılan çalışmalar, miRNA'ların gen ekspresyonunda anahtar role sahip olduğunun fark edilmesi ile ciddi artış göstermiş olup hücre siklusunda ve proliferasyonunda, onkogen ya da tümör baskılayıcı gen aktivasyonundaki etkileri gibi birçok hastalıkta ne tip etki gösterdiklerine yönelik çok fazla çalışma alanı doğmuştur. Bu sonuçlar insanlarda kapsamlı çalışmalardan elde edilen mevcut miRNA sekanslama mikro dizileri ve kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu verileri ile derlenmiş olup metabolik hastalıklara yönelik ilerleyişi öngörmede ve gelecekte farklı miRNA'ların potansiyel olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle miRNA ekspresyon düzeyleri obezite hastalığının etkin tedavisi konusunda aydınlatılmamış genetik faktörlere ışık tutabilecek bir konudur. Aynı zamanda veri örneklerinin toplanması, miRNA tespit teknolojilerinin gelişimi ve standartlaşması, hastalıkların süreci ile birlikte izlenmesi terapötik müdahale stratejilerini ve tanısal etkinliğini öngörmeyi ve geliştirilmesini sağlayacaktır.

6.SONUÇ

MiR223-3p'nin *miR27b-3p* ve *miR122-5p* ekspresyonlarına göre kıyaslandığında yüksek ekspresyon gösterdiği morbid obez hastalarda postoperatif %EWL oranının >%50'den daha fazla olduğu görüldü. Bu bağlamda bariatrik cerrahi sonrası kilo kaybını ön görmede *miR223-3p* geni olası bir biyobelirteç olarak kullanılabilir. Böylece cerrahiden daha fazla fayda görecektir hasta grubu önceden belirlenip cerrahinin etkinliği artırılabilir. Aynı zamanda planlanan cerrahiden fayda görmeyecek olan gruplar da belirlenip bu hasta gruplarında restriktif bariatrik cerrahi prosedürleri yerine kombine (restriktif + malabsorbantif) veya malabsorbantif cerrahi prosedürler tercih edilebilir. Bunun için daha fazla hasta grupları içeren, daha çok miRNA tipinin farklı dokularda bakıldığı, uzun dönem takip gerektiren ve farklı bariatrik cerrahi prosedürlerinin karşılaştırıldığı ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR:

1. Bartel, D. P. (2009). *MicroRNAs: target recognition and regulatory functions*. *Cell*, 136(2), 215-233.
2. Korzeniewski, N., Tosev, G., Pahernik, S., Hadaschik, B., Hohenfellner, M. ve Duensing, S. (2015). *Identification of cell-free microRNAs in the urine of patients with prostate cancer*. *Urol Oncol*, 33(1), 16 e17-16 e22.
3. O'Connell RM., Rao DS., Chaudhuri AA., Baltimore D. (2010). *Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system*. *Nature Review Immunology*, 10, 111-122.
4. Chen, JF ve ark.: *Nat Genet*, (2006) *The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation* 38, 228-233.
5. Abente EJ, Subramanian M, Ramachandran V, Najafi-shoustari SH. (2016) *MicroRNAs in obesity-associated disorders*. *Archive of biochemistry and biophysics*; 589:108-19
6. Arner, P. & Kulyté, A. (2015) *MicroRNA regulatory networks in human adipose tissue and obesity* *Nat. Rev. Endocrinol.* advance online publication
7. *A Pilot Study: The Effect of Roux-en-Y Gastric Bypass on the Serum MicroRNAs of the Type 2 Diabetes Patient* *OBES SURG* (2015) 25:2386–2392
8. Scozzari G, Passera R, Benvenega R, Toppino M, Morino M. (2012) *Age as a long-term prognostic factor in bariatric surgery*. *Ann Surg.* Nov;256(5):724-8
9. Maggard MA, Shugarman LR, Suttorp M, et al. (2005) *Meta-analysis: surgical treatment of obesity*. *Ann Intern Med.* 142:547–559.
10. Lutfi R, Torquati A, Sekhar N, et al. (2006) *Predictors of success after laparoscopic gastric bypass: a multivariate analysis of socioeconomic factors*. *Surg Endosc.* 20:864–867
11. Campos, G. M., Rabl, C., Mulligan, K., Posselt, A., Rogers, S. J., Westphalen, A. C., Lin, F., & Vittinghoff, E. (2008). *Factors associated with weight loss after gastric bypass*. *Archives of surgery (Chicago, Ill.: 1960)*, 143(9), 877–884. 67-2
12. Still, C. D., Wood, G. C., Chu, X., Manney, C., Strodel, W., Petrick, A., Gabrielsen, J., Mirshahi, T., Argyropoulos, G., Seiler, J., Yung, M., Benotti, P., & Gerhard, G. S. (2014). *Clinical factors associated with weight loss outcomes after Roux-en-Y gastric bypass surgery*. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 22(3), 888–894. 67-3
13. Cadena-Obando, D., Ramírez-Rentería, C., Ferreira-Hermosillo, A. et al. (2020) *Are there really any predictive factors for a successful weight loss after bariatric surgery?* *BMC Endocr Disord* 20. 67-4
14. BMI classification table retrieved from WHO data https://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood_what/en/

15. Obesity and overweight retrieved february 2020 from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
16. Türkiye sağlık araştırması ,2016 retrieved february 2020 from <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=24573>
17. Prevalance of obesity ages 18+ 2016(female) retrieved february 2020 from http://gamapsrver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_Obesity_2016_Female.png
18. Prevalance of obesity ages 18+ 2016(male) retrieved february 2020 from http://gamapsrver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_Obesity_2016_Male.png
19. Schwartz's Principles of Surgery 11th edition. *Chapter 27-The surgical management of obesity. The disease of obesity- causes of obesity part* Anita P.Courcoulas and Philip R. Schauer
20. Bell CG, Walley AJ, Froguel P. (2005) *The genetics of human obesity. Nat Rev Genet* 6:221-34
21. Hong Zhong, Minjuan Ma, Tingming Liang, and Li Guo (2018) *Role of MicroRNAs in Obesity-Induced Metabolic Disorder and Immune Response* Hindawi Journal of Immunology Research Volume 2018, Article ID 2835761
22. Milagro FI, Miranda J, Portillo MP, Fernandez-Quintela A, Campi3n J, Mart3nez JA (2013) *High-Throughput Sequencing of microRNAs in Peripheral Blood Mononuclear Cells: Identification of Potential Weight Loss Biomarkers.* PLoS ONE 8(1): e54319.
23. Kunej T, Jevsinek Skok D, Zorc M, Ogrinc A, Michal JJ, Kovac M, Jiang Z. (2013) *Obesity gene atlas in mammals. J Genomics.* 1:45–55.
24. Jiang Q, Wang Y, Hao Y, Juan L, Teng M, Zhang X, Li M, Wang G, Liu Y. (2009) *miR2Disease: a manually curated database for microRNA deregulation in human disease. Nucleic Acids Res.* 37(Database issue): D98–104.
25. Dumortier O, Hinault C, Van Obberghen E. (2013) *MicroRNAs and metabolism crosstalk in energy homeostasis. Cell Metab.* 18(3):312–24.
26. Palmer JD, Soule BP, Simone BA, Zaorsky NG, Jin L, Simone NL. (2014) *MicroRNAexpression altered by diet: can food be medicinal? Ageing Res Rev.* 17: 1624.
27. Satman İ. (2016) *Türkiye'de Obezite Sorunu. Turkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol Special Topics* 9(2):1-11.
28. *Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects.* N Engl J Med. (2007) 23;357(8):741-52.
29. TEMD Obezite tanı ve tedavi klavuzu 2018 ISBN: 978-605-4011-31-5 6.baskı
30. Atila K. (2014) *Morbid obezitenin cerrahi tedavisi. Archives of Clinical Toxicology* 1(1):23-27.
31. Yorgancı K, Tırnaksız B. (2007) *Morbid obezitenin cerrahi tedavisi. Hacettepe Tıp Dergisi* 38(4):218-222.
32. Dimitrov DV, Ivanov V, Atanasova M. (2011) *Advantages of bariatric medicine for individualized prevention and treatments: multidisciplinary approach in body culture and prevention of obesity and diabetes. EPMA J.* 2(3):271-6.
33. Mancini MC. (2014) *Bariatric surgery--an update for the endocrinologist. Arq Bras Endocrinol Metabol.* 58(9):875-88

34. Jonathan M. Stahl; Sandeep Malhotra. (2019) *Obesity Surgery indications and contraindications*
35. TEMD Bariatrik cerrahi klavuzu 2018 ISBN: 978-605-4011-28-5
36. bariatric surgery procedures retrieved april 2020 from <https://asmbs.org/patients/bariatric-surgery-procedures>
37. Schwartz's Principle of Surgery 11.Edition 27. Chapter Figure 27-22'den alıntılanmıştır.
38. Schwartz's Principle of Surgery 11.Edition 27. Chapter Figure 27-23A'dan alıntılanmıştır.
39. Schwartz's Principle of Surgery 11.Edition 27. Chapter Figure 27-13 ten alıntılanmıştır.
40. Schwartz's Principle of Surgery 11.Edition 27. Chapter Figure 27-8'den alıntılanmıştır.
41. gastric bypass figure retrieved from april 2020 from <https://centreforweightloss.com.au/mini-gastric-bypass>
42. Reza Fazl Alizadeh ve ark. (2018) *Risk Factors For Gastrointestinal Leak after bariatrik surgery: MBASQIP Analysis* Journal of the american college of surgeons
43. Nurullah Bülbüller ve ark. (2013) Comparison of four different methods in staple line reinforcement during laparoscopic sleeve gastrectomy Int J Clin Exp Med. 2013; 6(10)
44. Schwartz's Principle of Surgery 11.Edition 27. Chapter Figure 27-19 ve 27-20'den alıntılanmıştır.
45. duodenal switch procedure figure retrieved april 2020 from <https://weightlosssurgeon.com/surgical-weight-loss-tips/duodenal-switch>
46. Le Quesne J, Caldas C. (2010) *Micro-RNAs and breast cancer. Mol Oncol*, 4:230-41.
47. Shenouda SK, Alahari SK. (2009) *MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? Cancer Metastasis Rev.* 28:369–378.
48. Lin, S. ve Gregory, R. I. (2015). *MicroRNA biogenesis pathways in cancer. Nat Rev Cancer*, 15(6), 321-333
49. Masuda, T., Hayashi, N., Kuroda, Y., Ito, S., Eguchi, H. ve Mimori, K. (2017). *MicroRNAs as Biomarkers in Colorectal Cancer. Cancers (Basel)*, 9(9).
50. Lee, RC ve Feinbaum (1993) *The C.elegans eterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. RL. : Cell*, Cilt 75, s. 843-854.
51. Lagos-Quintana, M, Rauhut, RÜ Lendeckel, W ve Tuschl, T. (2001) *Identification of novel genes coding for small expressed RNAs.: Science*, Cilt 294, s. 853-858.
52. Huang, Y., Shen, X. J., Zou, Q., Wang, S. P., Tang, S. M. ve Zhang, G. Z. (2011). *Biological functions of microRNAs: a review. J Physiol Biochem*, 67(1), 129-139.
53. Chen JF and others (2006) *The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscleproliferation and differentiation.: Nat Genet*, Cilt 38, s. 228-233.
54. Alevizos, I ve Illei, (2010) *MicroRNAs as biomarkers in rheumatic diseases: Nat Rev Rheumatol*, Cilt 6, s. 391-398.

55. . Calin, GA ve Groce, CM. (2006) *MicroRNA signatures in human cancers: Nat Rev Cancer*, Cilt 6, s. 857-66.
56. Iacomino, G.; Siani, A. (2017) *Role of microRNAs in obesity and obesity-related diseases. Genes Nutr.* 12, 23.
57. Monteleone, N. J. ve Lutz, C. S. (2017). *miR -708-5p: a microRNA with emerging roles in cancer. Oncotarget*, 8(41), 71292-71316.
58. Lee, Y., Kim, M., Han, J., Yeom, K. H., Lee, S., Baek, S. H., ve ark. (2004). *MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. EMBO J*, 23(20), 4051-4060.
59. Huang, Y., Shen, X. J., Zou, Q., Wang, S. P., Tang, S. M. ve Zhang, G. Z. (2011). *Biological functions of microRNAs: a review. J Physiol Biochem*, 67(1), 129-139.
60. Liu, X., Luo, G., Bai, X. ve Wang, X. J. (2009). *Bioinformatic analysis of microRNA biogenesis and function related proteins in eleven animal genomes. J Genet Genomics*, 36(10), 591-601.
61. Yekta, S., Shih, I. H. ve Bartel, D. P. (2004). *MicroRNA-directed cleavage of HOXB8 mRNA. Science*, 304(5670), 594-596.
62. Ipsaro, J. J. ve Joshua-Tor, L. (2015). *From guide to target: molecular insights into eukaryotic RNA-interference machinery. Nat Struct Mol Biol*, 22(1), 20-28.
63. Bartel, DP. (2008) *MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism and function.: Cell*, Cilt 116, s. 281-297.
64. Banerjee, J, Chan, YC ve Sen, CK (2011) *MicroRNAs in skin and wound healing.. : Phsyiol. Genomics*, Cilt 43, s. 543-556.
65. Detassis, S., Grasso, M., Del Vescovo, V. ve Denti, M. A. (2017). *microRNAs Make the Call in Cancer Personalized Medicine. Front Cell Dev Biol*, 5, 86.
66. A step by step diagram of the miRNA mechanism retrived april 2020 from <https://www.vectorbiolabs.com/mirna-aav-adenovirus/>
67. Zaiou M, El Amri H, Bakillah A. (2017) *The clinical potential of adipogenesis and obesity-related microRNAs*
68. Flowers E, Froelicher ES, Aouizerat BE. (2013) *MicroRNA regulation of lipid metabolism. Metabolism.* 62:12-20.
69. Hossain, M.M.; Sohel, M.M.H.; Schellander, K.; Tesfaye, D. (2012) *Characterization and importance of microRNAs in mammalian gonadal functions. Cell Tissue Res.* 349, 679–690.
70. Derghal, A.; Djelloul, M.; Trouslard, J.; Mounien, L. (2016) *An Emerging Role of micro-RNA in the Effect of the Endocrine Disruptors. Front. Neurosci.* 10, 318.
71. Han, J.; Lee, Y.; Yeom, K.-H.; Kim, Y.-K.; Jin, H.; Kim, V.N. (2004) *The Drosha DGCR8 complex in primary microRNA processing. Genes Dev.* 18, 3016–3027.
72. Tseng, Y.-H.; Cypess, A.M.; Kahn, C.R. (2010) *Cellular bioenergetics as a target for obesity therapy. Nat. Rev. Drug Discov.* 9, 465–482.
73. Marcotorchino, J.; Tourniaire, F.; Landrier, J.-F. (2013) *Vitamin D, adipose tissue, and obesity. Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.* 15, 123–128.
74. Arner, P.; Kulyté, A. (2015) *MicroRNA regulatory networks in human adipose tissue and obesity. Nat. Rev. Endocrinol.* 11, 276–288.
75. Ge, Q.; Brichard, S.; Yi, X.; Li, Q. (2014) *microRNAs as a New Mechanism Regulating Adipose Tissue Inflammation in Obesity and as a Novel Therapeutic Strategy in the Metabolic Syndrome. J. Immunol. Res.*

76. Hulsmans, M.; De Keyzer, D.; Holvoet, P. (2011) *MicroRNAs regulating oxidative stress and inflammation in relation to obesity and atherosclerosis. FASEB J.* 25, 2515–2527
77. Chou, W.-W.; Wang, Y.-T.; Liao, Y.-C.; Chuang, S.-C.; Wang, S.-N.; Juo, S.-H.H. (2013) *Decreased microRNA-221 is associated with high levels of TNF- α in human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells from obese woman. Cell. Physiol. Biochem.* 32, 127–137.
78. Tang, X.; Tang, G.; Ozcan, S. (2008) *Role of microRNAs in diabetes. Biochim. Biophys. Acta* 1779, 697–701.
79. Melkman-Zehavi, T.; Oren, R.; Kredon-Russo, S.; Shapira, T.; Mandelbaum, A.D.; Rivkin, N.; Nir, T.; Lennox, K.A.; Behlke, M.A.; Dor, Y.; et al. (2011) *miRNAs control insulin content in pancreatic β -cells via downregulation of transcriptional repressors. EMBO J.* 30, 835–845.
80. Mandelbaum, A.D.; Melkman-Zehavi, T.; Oren, R.; Kredon-Russo, S.; Nir, T.; Dor, Y.; Hornstein, E. (2012) *Dysregulation of Dicer1 in beta cells impairs islet architecture and glucose metabolism. Exp. Diabetes Res.* 470302.
81. Kalis, M.; Bolmeson, C.; Esguerra, J.L.S.; Gupta, S.; Edlund, A.; Tormobadia, N.; Speidel, D.; Holmberg, D.; Mayans, S.; Khoo, N.K.S.; et al. (2011) *Beta-cell specific deletion of Dicer1 leads to defective insulin secretion and diabetes mellitus. PLoS ONE* 6, e29166.
82. Tattikota, S.G.; Sury, M.D.; Rathjen, T.; Wessels, H.-H.; Pandey, A.K.; You, X.; Becker, C.; Chen, W.; Selbach, M.; Poy, M.N. (2013) *Argonaute2 Regulates the Pancreatic β -Cell Secretome. Mol. Cell. Proteomics* 12, 1214–1225.
83. Tang X.; Muniappan, L.; Tang, G.; Ozcan, S. (2009) *Identification of glucose-regulated miRNAs from pancreatic {beta} cells reveals a role for miR-30d in insulin transcription. RNA* 15, 287–293.
84. Esteves, J.V.; Enguita, F.J.; Machado, U.F. (2017) *MicroRNAs-Mediated Regulation of Skeletal Muscle GLUT4 Expression and Translocation in Insulin Resistance. J. Diabetes Res.* 7267910.
85. Jean-François Landrier, Adel Derghal and Lourdes Mounien (2019) *MicroRNAs in Obesity and Related Metabolic Disorders*
86. Sauer E, Babion I, Madea B, Courts C. (2014) *An evidence based strategy for normalization of quantitative PCR data from miRNA expression analysis in forensic organ tissue identification. Forensic Sci Int Genet.* 13:217-23.)
87. John M H Bennett, Samir Mehta, and Michael Rhodes (2017) *Surgery for morbid obesity Postgrad Med J.*
88. Beltrami, C.; Angelini, T.G.; Emanuelli, C. (2015) *Noncoding RNAs in diabetesvascular complications. J. Mol. Cell Cardiol.* 89, 42–50.
89. Vogt J, Sheinson D, Katavolos P, Irimagawa H, Tseng M, Alatsis KR, et al. (2019) *Variance component analysis of circulating miR- 122 in serum from healthy human volunteers. PLoS ONE* 14(7): e0220406
90. Raitoharju, E., Seppälä, I., Lyytikäinen, L. et al. (2016) *Blood hsa-miR-122-5p and hsa-miR-885-5p levels associate with fatty liver and related lipoprotein metabolism—The Young Finns Study. Sci Rep* 6, 38262 (2016).
91. Peter Willeit and others (2017) *Circulating MicroRNA-122 Is Associated With the Risk of New-Onset Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes*
92. Ortega, F. J. et al. (2013) *Targeting the circulating microRNA signature of obesity. Clin. Chem.* 59, 781–792

93. Zhuang ve ark. (2012) *A novel regulator of macrophage activation: miR-223 in obesity-associated adipose tissue inflammation* Circulation vol 125 issue 23
94. Zampetaki, A.; Kiechl, S.; Drozdov, I.; Willeit, P.; Mayr, U.; Prokopi, M.; Mayr, A.; Weger, S.; Oberhollenzer, F.; Bonora, E.; et al. (2010) *Plasma microRNA profiling reveals loss of endothelial miR-126 and other microRNAs in type 2 diabetes. Circ. Res. 107, 810–817.*
95. Wen D, Qiao P,Wang L. (2015) *Circulating microRNA-223 as a potential biomarker for obesity* *Obes Res Clin Pract* 398-404
96. Donia Macartney-Coxson and others (2020) *MicroRNA Profiling in Adipose Before and After Weight Loss Highlights the Role of miR-223-3p and the NLRP3 Inflammasome* Obesity volume 28, Issue 3
97. Kurylowicz A, Wicik Z, Owczarz M, et al. (2018) *NGS reveals molecular pathways affected by obesity and weight loss-related changes in miRNA levels in adipose tissue. Int J Mol Sci 19: 66*
98. Vasu, S., Kumano, K., Darden, C. M., Rahman, I., Lawrence, M. C., & Naziruddin, B. (2019). *MicroRNA Signatures as Future Biomarkers for Diagnosis of Diabetes States. Cells, 8(12), 1533.*
99. Flowers, E.; Gadgil, M.; Aouizerat, B.E.; Kanaya, A.M. (2015) *Circulating microRNAs associated with glycemic impairment and progression in Asian Indians. Biomark. Res. 3, 22.*
100. Yuko Okamatsu-Ogura, Mami Matsushita, Jussiaea Valente Bariuan, Kazuki Nagaya, Ayumi Tsubota, Masayuki Saito (2019) *Association of circulating exosomal miR-122 levels with BAT activity in healthy humans 9: 13243*

EKLER

EK A: Etik Kurul Kararına İlişkin Belgeler

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bariatrik Cerrahinin Obezite ile İlişkilendirilmiş mikroRNA Düzeylerine Etkisi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

09.11.2016

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Adnan Menderes Bulvarı Vatan caddesi 34093 Fatih/İstanbul
	TELEFON	(0212) 523 22 88 - 1028
	FAKS	(0212) 533 23 26
	E-POSTA	etikkuruluz@bzmialem.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Süleyman BOZKURT			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Genel Cerrahi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP Birimi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma (akademik amaçlı)		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	-	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	07.09.2015	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

Sayfa 1 / 3

Etik Kurul Başkanı
Doç. Dr. Özcan KARAMAN

EK A**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU**

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bariatrik Cerrahinin Obezite ile İlişkilendirilmiş mikroRNA Düzeylerine Etkisi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

	Belge Adı		Açıklama
	DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	SİGORTA	<input type="checkbox"/>
ARAŞTIRMA BÜTÇESİ		<input checked="" type="checkbox"/>	28.09.2015, V.2, 02.11.2016 imza tarihli
BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU		<input type="checkbox"/>	
İLAN		<input type="checkbox"/>	
YILLIK BİLDİRİM		<input type="checkbox"/>	
SONUÇ RAPORU		<input type="checkbox"/>	
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ		<input type="checkbox"/>	
DİĞER:		<input checked="" type="checkbox"/>	-Klinik Araştırma Başvuru Formu (doküman no: KA-1, 07.09.2015) - Sorumlu araştırmacı ve yardımcı araştırmacılara ait özgeçmiş formları - Çalışmanın Helsinki Bildirgesi, İKU/İLU' ya uygun yürütüleceğine dair taahhütname - Araştırma ile ilgili yayınlar
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 15 / 19	Tarih: 09.11.2016	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

Sayfa 2 / 3



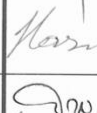




Etik Kurul Başkanı
Doç. Dr. Özcan KARAMAN

EK A

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bariatrik Cerrahinin Obezite ile İlişkilendirilmiş mikroRNA Düzeylerine Etkisi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Doç. Dr. Özcan KARAMAN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Doç. Dr. Özcan KARAMAN	İç Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Selhattin TUĞRUL	Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Harun BAŞOĞLU	Biyofizik	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ayşe Arzu ŞAKUL	Tıbbi Farmakoloji	Medipol Üniversitesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ertuğrul KAYA	Tıbbi Farmakoloji	Düzce Üniversitesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ömer UYSAL	Bioistatistik ve Tıp Bilişimi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sultan ŞİMŞEK	Çalışan	Kurum Dışı	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Avukat Aybüke EKİCİ	Hukuk	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

* :Toplantıda Bulunma

Karar: Onaylandı Reddedildi

Etik Kurul Başkanı
Doç. Dr. Özcan KARAMAN

Sayfa 3 / 3