

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**HİPERLİPİDEMİ OLAN OBEZ ÇOCUKLARDA DENATÜRE
GRADİENT JEL ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ İLE APO A-1
MspI POLİMORFİZMİ İLE LİPİD PROFİLLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

BAHAR TOPTAŞ

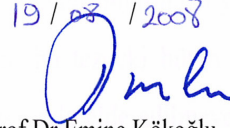
**DANIŞMAN
PROF. DR. TURGAY İSBİR**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2008

TEZ ONAYI

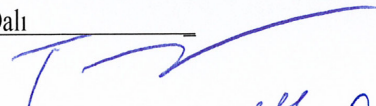

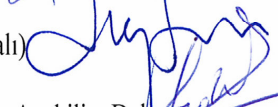


Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

19 / 08 / 2008

 Prof. Dr. Emine Kökoğlu
 Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
 Program Adı : MOLEKÜLER TIP
 Programın seviyesi : Yüksek Lisans Doktora
 Anabilim Dalı : MOLEKÜLER TIP
 Tez Sahibi : BAHAR TOPTAŞ
 Tez Başlığı : HİPERLİPİDEMİ OLAN OBEZ ÇOCUKLARDA DENATÜRE GRADİENT JEL ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ İLE APO A-1 MspI POLİMORFİZMİ İLE LİPİD PROFİLLERİNİN KARŞILAŞTIRMASI
 Sınav Yeri : MOLEKÜLER TIP
 Sınav Tarihi : 18 / 08 / 2008

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1. Prof. Dr. Turgay İsbir, İ.Ü. DETAE Moleküler Tıp AD 
2. Prof. Dr. Ayşen Yarat, M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Biyokimya AD 
3. Prof. Dr. Aysun Pabuccuoğlu (Ege Ü. Eczacılık Fak. Biyokimya Anabilim Dalı) 
4. Prof. Dr. Feyza Darendeliler (İ.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı) 
5. Doç. Dr. Bedia Ağaçhan (İ.Ü. DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı) 

BEYAN

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

BAHAR TOPTAŞ



İTHAF

Tezimi sevgili kardeşim Caner TOPTAŞ'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başladığım günden itibaren her zaman desteğini hissettiğim, danışmanlığımı üstlenen İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam, Sayın Prof. Dr. Turgay İsbir'e,

Tezim için gerekli hasta örneklerinin sağlanmasındaki katkılarından ve hertürlü desteğinden dolayı İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Büyüme Gelişme ve Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Feyza Darendeliler'e,

Tez çalışmam süresince laboratuvar çalışmaları ve tezle ilgili diğer çalışmalarda gösterdiği destekten ve katkılarından dolayı Dr. Hakan Gürkan 'a,

Tez çalışmam süresince yardımlarından ve desteklerinden ötürü Moleküler Tıp Anabilim Dalı çalışanlarına,

Tez çalışmam süresince desteğini ve sevgisini benden esirgemeyen başta annem ve babam olmak üzere değerli aileme *sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.*

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1704

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiv
GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Obezitenin Tanımı ve Sınıflandırılması	3
2.1.1 Obezite Dağılımı.....	3
2.2.1 Ekzojen Obezite Oluşumunu Etkileyen Faktörler	5
2.2.1.1 Genetik.....	5
2.2.1.3 Cinsiyet.....	6
2.2.1.4. Beslenme Alışkanlıkları	6
2.2.1.5. Fiziksel Aktivite	6
2.3.Obezitenin Komplikasyonları.....	6
2.3.1.1.1 Tip 1 Hiperlipoproteinemi	7
2.3.1.3. Tip2b ailesel kombine hiperlipidemi.....	7
2.3.1.4. Tip 3 ailesel Disbetalipoproteinemi	7
2.3.1.5. Tip 4 ailesel hipertrigliseridemi	8
2.3.1.6. Tip 5 ailesel hipertrigliseridemi	8
2.4.1 Apolipoprotein B (Apo B).....	9
2.4.3. Apolipoprotein D (Apo D)	10
2.4.4. Apolipoprotein E (Apo E)	10
2.4.5. Apolipoprotein A-II	10
2.5.1 Apo A-1 molekül yapısı	11

2.5.2. Apo A-1 Sentezi.....	11
2.5.3. HDL ve Apo A-1 katabolizması	12
2.5.4. ApoA-1 Geni	13
2.5.4.1 ApoA-1 geni polimorfizmleri	14
2.5.4.2 Apo A-1 MspI polimorfizmi.....	14
3.GEREKÇE VE YÖNTEM.....	16
3.2.1.2 Kimyasal maddeler ve sarf malzemeler	17
3.3. Çalışmada kullanılan laboratuvar yöntemleri.....	17
3.11. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatiksel Yöntemler.....	30
4. BULGULAR.....	31
KAYNAKLAR	52
HAM VERİLER.....	57
İSTATİSTİK VERİLERİ.....	65
FORMLAR	98
ETİK KURUL KARARI.....	101
ÖZGEÇMİŞ.....	103

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Obezitenin temel sınıflandırılma biçimleri.....	3
Tablo 3.1: PCR için uygun Apo A-1 geni primerleri	18
Tablo 3.2: PCR karışımının hazırlanması	18
Tablo 3.3: GC Klemp Eklenmiş İleri ve Geri Primer Kullanımı ile I. PCR uygun bağlanma ısısını belirleme denemesinin yapılması	19
Tablo 3.4: GC Klemp Eklenmiş İleri ve Geri Primer Kullanımı ile II. PCR uygun bağlanma ısısını belirleme denemesinin yapılması	20
Tablo 3.5: GC Klemp Eklenmiş İleri ve Geri Primer Kullanımı ile III. PCR Uygun bağlanma ısısını belirleme denemesinin yapılması.....	21
Tablo 3.6: DNA Dizi Analizi'nde Kullanılmak Üzere GC Klemp Eklenmemiş İleri ve Geri Primer Kullanımıyla hazırlanan PCR aşamaları ve protokolü.....	25
Tablo 3.7: Dizileme Reaksiyon Uygulamasının aşamaları ve protokolü.....	28
Tablo 4.1: Çalışma Gruplarına Ait Demografik Bilgiler.....	30
Tablo 4.2: Hasta ve kontrol grupları G-75A polimorfizmine ait genotipFrekanslarının karşılaştırılması.....	36
Tablo4.3: Hasta ve kontrol grupları G-75A polimorfizmine ait allel frekanslarının karşılaştırılması.....	37
Tablo 4.4 Çalışma gruplarında Apo A-1 geninin G-75A polimorfizmine ait genotiplerin biyokimyasal parametrelerle karşılaştırılması.....	39
Tablo 4.5: Cinsiyet ayrımına göre çalışma gruplarında biyokimyasal parametreler.....	40

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 2.1:** Apo A-I, Apo C-III , Apo A-IV gen kümesi yapısı13
- Şekil 3.1:** GC klempli Apo A-1 geni primerleriyle, 62 °C bağlanma ısısı uygulanarak çoğaltılan PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.19
- Şekil 3.2:** GC klempli Apo A-1 geni primerleriyle, 55 °C bağlanma ısısı Uygulanarak çoğaltılan PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.20
- Şekil 3.3:** GC klempli Apo A-1 geni primerleriyle çoğaltılan 433 bç'lik PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.21
- Şekil 3.4:** Apo A-1 geni promotor, DGGE uygulanan GC klempli I. PCR ürünlerinin Kodak EL Logic 100 görüntüleme sistemi ile görüntülenmesi22
- Şekil 3.5:** GC klempsiz Apo A-1 geni primerleriyle çoğaltılan 433 bç'lik PCR ürünlerinin %1,5'luk agaroz jeldeki görüntüsü.26
- Şekil 3.6:** GC klempsiz Apo A-1 geni primerleriyle çoğaltılan 433 bç'lik II. PCR ürünlerinin saflaştırma işleminin sonrası %1,5'luk agaroz jeldeki görüntüsü.27
- Şekil 4.1:** Adolesan Erkeklerin Yaşa Bağlı Serum Lipid Düzeyleri İçin Sınır Değerler.....31
- Şekil 4.2:** Adolesan Kızların Yaşa Bağlı Serum Lipid Düzeyleri İçin Sınır Değerler.....32

Şekil 4.3: 5 no'lu I. kontrol örneğine ait DNA dizi analizi ve kromotogram görüntüsü.....	33
Şekil4.4: Bio-Edit programında Apo A-1 referans dizisi ile 5 no'lu I. kontrolün karşılaştırılması.....	34
Şekil 4.5: 6. kontrol örneğine ait DNA dizi analizi ve kromotogram görün.....	35
Şekil 4.6: Bio-Edit programında Apo A-1 referans dizisi ile 6, no'lu I. kontrolün karşılaştırılması.....	35
Şekil 4.7: Hasta grubu, I. kontrol grubu ve II. kontrol grubunda G-75A allel frekanslarının karşılaştırılması	37

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- Apo A-1: Apolipoprotein A-1
- LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein
- VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
- HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
- IDL: Orta yoğunluklu lipoprotein
- LPL: Lipoprotein lipaz
- HL: Hepatik lipaz
- LCAT: Lesitin Kolesterol Açıltransferaz
- CETP: Kolesterol Ester Transfer Protein
- FH: Ailesel hiperkolesterolemi
- FCHL: Ailesel Birleşik Hiperlipidemi
- mRNA: Mesajcı RNA
- TGLRP: Trigliceridden zengin lipoprotein
- SR-BI: Çöpçü reseptör sınıf B-tip I
- CAD: Koroner Arter Hastalığı
- bp: Baz çifti
- cDNA: Komplementer DNA
- DGGE:Denatüre Gradient Jel Elektroforezi

ÖZET

TOPTAŞ B. (2008). HİPERLİPİDEMİ OLAN OBEZ ÇOCUKLARDA DENATÜRE GRADİENT JEL ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ İLE APO A-1 MspI POLİMORFİZMİ İLE LİPİD PROFİLLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp AD. Yüksek Lisans. İstanbul.

Çocukluk döneminde gelişen obezite, ileri yaşlarda görülen kardiovasküler hastalıklar için risk faktörü olan pek çok metabolik bozukluğa sebep olmaktadır. Bu faktörlerden bazıları, lipid düzeylerinin değişimi, glukoz toleransının bozulmasıdır. Bu değişimler yetişkin dönemde görülen kronik kalp hastalıklarının başlangıcı olan aterosklerotik plak oluşumuna sebep olabilmektedir. Apo A-I, ters kolesterol taşınmasında rol oynamaktadır. Apo A-I plazmada lipidlerin taşınmasını sağlar bu sebepten Apo A-I geninde oluşan değişimler plazma lipid konsantrasyonlarının değişimine sebep olmaktadır. Çalışmamızda, hiperlipidemik obez çocuklar hasta grubu; birincisi hiperlipidemisi olmayıp obez olan, ikincisi de obezite bulgusu ve hiperlipidemisi olmayan sağlıklı çocuklardan oluşan iki farklı grup kontrol grubu olarak seçilmiştir. Çalışmamızda çocukluk çağı ve adolesan dönemde Apo A-I MspI polimorfizmi ile plazma lipid profillerinin birarada incelenmesi ve Türk toplumunda bu konudaki olası ilişkilerin araştırılması amaçlanmıştır. Apo A-1 geninde, promotor bölgedeki MspI polimorfizmi ile diğer olası polimorfizmleri saptayabilmek için, ilgili gen dizisinin PCR ile çoğaltılıp, olası mutasyonlar Denatüre Gradient Jel Elektroforezinde (DGGE) farklı paternler de gözlemlendikten sonra, otomatize DNA dizi analiz cihazı ile dizilemesi yapılarak, sonuçlar değerlendirilmiştir. DGGE ve dizileme sonrasında Apo A-I geninin promotor bölgesinde iki polimorfik bölge saptanmıştır. Çalışma gruplarında MspI polimorfizmi G-75A olarak bilinen tek nükleotid değişimine ait genotipler incelenmiştir. Obez kontrol grubumuzda mutant A allelinin görülme sıklığı istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde artmıştır (p:0,035). Obez kontrol grubunda GA genotipine sahip bireylerin total kolesterol düzeyleri, GG genotipli bireylere göre istatistiksel olarak yüksek belirlenmiştir (p<0,05). Sağlıklı kontrol grubunda GG genotipi taşıyan bireylerin VLDL düzeylerinin GA genotipi taşıyanlara göre artmış olduğu belirlenmiştir (p<0,05).

Çalışmamızda G-75A polimorfizmiyle HDL düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki belirlenememiştir.

Anahtar Kelimeler : Apo A-1, hiperlipidemi, obezite, DGGE, polimorfizm

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 1704

ABSTRACT

TOPTAŞ B. (2008). Comparioson of lipid profiles with Apo A-I MspI polymorphism on obese children with hyperlipidemia by using DGGE.

İstanbul University, Institute of Health Science, Molecular Medicine. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

In childhood obesity also seems lead to the apperance of a number of cardiovascular risk factors, such as altered lipid levels, impaired glucose tolerance which could contribute to atheroma plaque development and lead to the development of coronary heart disease in adult life. Apo A-I is a lipid binding protein which plays an important role in cholesterol transportation and the transport of lipids in plasma. Defects or variations of these apolipoprotein genes are also associated with altered plasma concentrations of lipids and lipoproteins. For our study, we built three separate groups; one of them was the group of obese children with hyperlipidemia, second one was the group of obese children without hyperlipidemia and the last group contained of healthy children neither with hyperlipidemia nor obesity. In our study, we aimed to evaluate Apo A-I MspI polymorphism and plasma lipid parameters altogether in childhood and adolescence cases and this study in Turkey to determine possible relationships of all discussed parameters. We amplified the related gene segments by using polymerase chain reaction (PCR) and determined different patterns by using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and also applied automatic sequence analysis. This analysis results that two polymorphisms exist at the promotor region. There were two or three nucleotide polymorphism on promotor region of Apo A-I gene, known as MspI polymorphism. This polymorphisms; (G-75A), C+83/T and G+83A. We observed that in comparison to the obese control group -75GA genotype had a significantly higher than the -75GG genotype ($p:0,035$). Our investigations on the obese control group showed that individuals carrying -75 GA genotype had higher plasma total-cholesterol levels than the carries of GG genotypes ($p<0,05$). Our investigations on the healthy control group showed that individuals carrying GG genotype had higer plasma VLDL-cholesterol levels than the carries of GA genotypes ($p<0,05$). No relationship between this polymorphism and HDL- cholesterol levels in the patiens and control groups.

Key Words: Apo A-1, hyperlipidemia, obesity, DGGE, polymorphism

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 1704

GİRİŞ VE AMAÇ

Çocukluk döneminde görülen obezite hem kültürel hem de tıbbi bir sorundur (1). Obezite, vücutta depolanan yağ miktarının fazla olması biçiminde tanımlanabilmektedir.

Obezite ve genetik etmenler üzerinde yapılan araştırmalarda her iki ebeveyn obez ise çocuğun obez olma şansı %80, yalnızca biri obez ise oran %50, ikisi de obez değilse oran %9 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar obezite olgularında genetik faktörlerin ne denli önemli olduğunu kanıtlamaktadır. Bugün obezitenin sosyal psikolojik sorunlar doğurmasının yanı sıra hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, diabetes mellitus, dejeneratif artrit, gibi birçok önemli hastalıkla ilişkisi olduğu, ayrıca şişman kişilerde hayat süresinin kısaldığı iyi bilinmektedir (1-3).

Çocukluk döneminde görülen obezite ile ilişkili en çok rastlanan komplikasyonların başında hiperlipidemi, hipertansiyon ve uzun dönemde etkileri görülen kardiyovasküler hastalıklar gelmektedir. Yapılan çalışmalarda obez bireylerde çocukluk döneminden itibaren erken aterosklerotik bulguların var olduğu gösterilmiştir. Çocuklarda görülen hiperlipideminin en başta gelen ikincil sebepleri arasında obezite bulunmaktadır (2). Ülkemizde obezitenin sıklığı ile ilgili çalışmalar sınırlıdır.

Hiperlipidemi kanda kolesterol yada trigliseridlerin yada her ikisinin yüksek olmasıdır (4). Lipidlerin dokulara dağıtımında temel fonksiyon gören lipoprotein, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) dir. Dokulardan karaciğere lipidlerin ters transportunda görev alan lipoprotein ise yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) dir. LDL yada HDL yapısında veya reseptörlerinde oluşan genetik yada fizyolojik bir hasar plazmadaki lipid oranının yükselmesine ve buna bağlı olarak hiperlipidemi oluşumuna sebep olmaktadır. Hiperlipidemili kişilerde LDL ve apoB düzeylerinin arttığı, HDL ve ApoA-1 düzeylerini ise azaldığı belirlenmiştir (4,5).

HDL 5-17 nm lik çapı ile en küçük lipoproteindir. Yapısında %50 oranında protein ve lipid bulunmaktadır. HDL'nin yapısındaki proteinlerin %70'ini ApoA-1 oluşturmaktadır. HDL'nin yapısında bulunan ApoA-1 karaciğer ve barsakta sentezlendikten sonra triaçilgliserolden zengin lipoproteinlere gevşek bağlanarak dolaşıma aktarılır. Plazmaya ulaştığında kendiliğinden lipoproteinlerden ayrılarak sadece ApoA-1 veya yapısında çok az fosfolipid içeren ApoA-1 diskleri şeklinde bulunmaktadır. HDL, plazmadaki şilomikron ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL)'nin triaçilgliserollerin hidrolizi sırasında açığa

çıkan ApoA-1 ve bu lipoproteinlerin kabuklarındaki fosfolipidlerin bir araya gelmesiyle plazmada da oluşabilmektedir (5-7).

ApoA-1 geni 11. kromozomun uzun kolunda 11q23-q24 te, ApoC-3 ve ApoA-4 genleri ile kombine halde bulunmaktadır. Bu genler birbirleri ile yakın ilişkili olup evrimsel olarak aynı atadan geldikleri düşünülmektedir. ApoA-1 geninde 2 intron ve 4 ekzon bulunmaktadır.

ApoA-1 geni polimorfizmleri: 5' flanking bölgede (C -2500 T) (XMNI), promoter bölgede (G-75A)MspI, (C+83)(MspI), intergenik bölgede: PSTI,T3213C, A3235C, T3287C, A5132C polimorfizmleri bulunmaktadır. XMNI-x2 allelinin Ailesel Kombine Hiperlipidemi olgularında arttığı, MspI (G -75 A) A allelinin ApoA-1 gen transkripsiyonunu arttırdığı, ApoA-1 ve HDL seviyesini yükselttiği ve plazma trigliserid seviyesini arttırdığı (19-22), MspI (C+83) C allelleri ile artmış HDL kolesterol seviyesi ile ilişkili olduğu, PstI varyantlarının hiperlipidemi ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda hiperlipidemi ve buna bağlı olarak gelişen koroner arter hastalıklarında yüksek LDL seviyelerinin yanında düşük HDL ve ApoA-1 seviyelerinin de risk faktörü için bir belirteç olabileceği öngörülmeğe başlanmıştır (8-12).

Çalışmamızda, çocukluk çağı ve adolesan dönemde ApoA-1 MspI polimorfizminin yanında, lipid düzeylerinin incelenmesi ve bu ilişkinin yaygınlığı yanında ilişkisinin saptanması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Obezitenin Tanımı ve Sınıflandırılması

Obezite vücutta aşırı yağ depolanması ile ortaya çıkan ve beraberinde çeşitli fiziksel ve ruhsal sorunlara neden olabilen genel bir enerji metabolizması bozukluğu olarak tanımlanmıştır (13).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yapılan obezite tanımı ise: “Sağlığı bozacak ölçüde yağ dokularında anormal veya aşırı miktarda yağ birikmesidir” (14). Obezite, genelde pozitif enerji dengesi sonucu ortaya çıkmakla birlikte, etyolojisindeki farklılıklar ve sonucunda bulguların aynı olmaması nedeniyle birkaç şekilde sınıflandırılabilir (Tablo 2.1) (1,2,15).

Bu sınıflandırma;

Tablo 2.1. Obezitenin temel sınıflandırılma biçimleri (1,2,15).

Hücre sayısı ve büyüklüğüne göre:	Hiperplastik Hipertrofik
Vücutta yağ birikiminin lokalizasyonuna göre:	Android tip obezite Gynoid tip obezite
Etyolojiye göre obezite:	Basit (eksojen) obezite Sekonder obezite

2.1.1 Obezite Dağılımı

Yapılan bir çok çalışmada çocukluk çağı obezitesinin görülme sıklığının son yıllarda artmakta olduğu gösterilmiştir. Bu durumun temel sebebi modern yaşamın getirdiği beslenme alışkanlıklarında yağların ve karbonhidratların fazla miktarda tüketilmesi ve çocukların fiziksel aktiviteden yoksun bir şekilde televizyon ve bilgisayar oyunları ile büyümesidir (1,16). Çocuklukta obezite yaşamın ilk yılı, 5-6 yaş arası ve ergenlik döneminde artış göstermektedir (2). Obez çocukların 1/3’ü, obez adölesanların ise %80’i erişkin yaşa ulaştıklarında da obez kalmaktadırlar (14). Diğer yandan erişkin yaşta görülen obezite vakalarının %30 kadarında başlangıcın çocukluk çağlarına dayandığı bilinmektedir (15). Düşük yada iri doğum ağırlıklı bebeklerin çocukluk ve erişkin döneminde obez olma riskleri yüksek olduğu açıklanmıştır. Bu durumun nedeni oldukça karmaşık olmakla birlikte

en temel açıklaması maternal dönemdeki hipergliseminin amniyotik sıvıda ki insülin konsantrasyonunu arttırması ve böylece pankreas beta hücre aktivitelerinin kalıcı bir şekilde etkilenmesi olduğu açıklanmıştır (2,15). Ülkemizde obezitenin sıklığı ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıda olmakla birlikte, Kocaoğlu ve Köksal'ın (17). Araştırmasında 11-15 yaş arasındaki adölesanlarda yüksek sosyo ekonomik düzeydeki çocukların %7,4'ü, düşük sosyoekonomik düzeydeki çocukların ise %15,3'ü obez olarak saptanmıştır. Kanbur ve arkadaşları 2000 yılında 6462 ergenlerde (9-16yaş) yaptığı bir araştırmada obezite sıklığını %2,3 olarak bulmuştur. Soylu ve arkadaşları 2002 yılında 1024 prepubertal ilkokul çağı çocuklarında yaptıkları bir taramada yüksek gelirli aile çocuklarında obezite görülme sıklığı %1,7, orta gelirli aile çocuklarında %1,9 ve dar gelirli aile çocuklarında %0,5 olarak bulunmuştur (18,19).

Obezite olgusunun temelinde tüketilenden daha fazla enerji alınması bulunmaktadır. Obezite; bazal metabolizma hızı, fiziksel aktivite, vücutta ısı oluşumu (termogenez) süreçlerinden bir yada bir kaçının bozulması ile ortaya çıkmaktadır. Bu bozulmalara genetik ve çevresel faktörler sebep olabileceği belirlenmiştir (20). İnsanlarda obezite genelde aileseldir. İkizler ile yapılan çalışmalarda, farklı ortamlarda yetişen ikizler arasında belirgin VKİ farkı olmaması, obezite gelişimi üzerindeki genetik etkiyi gösteren güzel bir örnektir (2,14).

Alınan aşırı kalori metabolik süreçte termogenez arttırılarak yok edilmektedir. Karaciğer başta olmak üzere dokulardaki bazı kimyasal olaylar sırasında da termogenezle kalori harcanmaktadır (20,21). Obezite oluşumunda son zamanlarda adaptif termogenez bozukluklarının rol aldığı ileri sürülmektedir. Obezlerin bir kısmında bu termik yanıtın bozuk olduğu, bazı araştırmacılar tarafından saptanmıştır (21). Yağ dokusu organizmanın temel enerji deposu olan dokudur. Bu dokudan salgılanan önemli hormonlardan birisi de leptindir. NPY'nin sentez ve salınımını inhibe ederek iştahı azaltır, dolayısı ile kilo alımını engeller. Leptin ob geni tarafından kodlanan leptin, vücut ağırlığı ve metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Leptin adipositlerde üretildikten sonra kan-beyin bariyerini aşarak arkuat nükleustaki leptin reseptörlerine bağlanarak, Nöropeptid-Y salgısını baskılar ve bu yolla tokluk hissini sürdürmektedir. Arkuat nükleustaki nöronlar lateral hipotalamus ile etkileşir ve melanokortikotropin hormon ve orexin salgılayarak serebral korteks üzerinden iştah ve yeme davranışını düzenlemektedir. Aynı nöronlar paraventriküler nükleuslarla etkileşerek, otonom sinir sistemi ve nöroendokrin sistem yoluyla enerji kullanımını etkilemektedir (16).

Obezlerde leptin sinyalinde bir bozukluğa ya da leptin etkisine oluşan dirence bağlı serum leptin düzeyleri artmaktadır (14,21). Obezite oluşumuna en temel sebep olan çok yemenin mekanizmasında hipotalamusun iştah merkezi önemli rol oynamaktadır. Besin alımını etkileyen peptidler; kolesistokinin, ürokortin ve nöropeptid Y (NPY)' dir. Kolesistokinin ve ürokortin besin alımını azaltırken, NPY ise besin alımını artırmaktadır. NPY beyin pek çok bölgesinde, özellikle de hipotalamus, hipokampus, korteks ve beyin sapı nukleuslarında bulunmaktadır. Birçok obezite modelinde paraventriküler ve arkuat nükleus arkında NPY ve NPY mRNA artımı vardır. NPY kortikotropin salgılatıcı hormon ve kortikotropin salınımını artırır ve insülin ile sürekli etkileşim halinde olduğu belirlenmiştir. Yağ hücre kütlelerinin büyümesi ve insülin gereksiniminin artmasına karşın reseptör sayısının azalması insülin direncine yol açmaktadır. Bu nedenle özellikle son yıllarda sıklığının gittikçe artmasıyla gündeme gelen adolesan çağda tip II diabetes mellitus hastalığının obez çocuklarda ortaya çıkışı kolaylaşmaktadır (2,13,14,20,21).

2.2.1 Eksojen Obezite Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Organizmada kalori alımı, alınan kaloringin harcanması ve depo edilmesi belli bir denge içinde olmaktadır. Bu dengenin bozulması ile obezite oluşmaktadır. Altta yatan başka hastalığın olmadığı bu tip obezite “eksojen obezite” olarak isimlendirilir ve obezlerin çoğu bu gruba girmektedir. Obezite kalori alımı ile kullanımı arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıksa da, eksojen obezite oluşumunda aşağıda değinilen faktörler de etkilidir (1,2,13,17,20,22).

2.2.1.1 Genetik

Çocukluk yaş grubundaki obezitede genetik faktörler ve aile etkisi çeşitli araştırmalarla ortaya konulmuştur. İkizlerde yapılan çalışmalarda, obezitede genetik eğilim görüşünü desteklemektedir (2).

2.2.1.2. Yaş

Obez bebeklerin 5 yaşında obez olma olasılığı normal bebeklere göre 5 kat fazla olduğu bildirilmiştir. Ancak bebeklik döneminde başlayan obezitenin yaşla birlikte kendiliğinden düzelmesi mümkün olmasına karşın çocukluk ve adolesan dönemde başlayan obezitenin erişkin dönemde devam etme riski yüksektir (2).

2.2.1.3 Cinsiyet

Ergenlik dönemindeki kızlarda obezitenin başlama ve devam etme riski ergenlik dönemindeki erkeklere göre daha fazladır. Bu farklılığa cinsiyet hormonlarının kas ve yağ metabolizması üzerindeki etkilerinin sebep olduğu düşünülmektedir (2).

2.2.1.4. Beslenme Alışkanlıkları

Obezitede en önemli etmen aşırı yeme davranışıdır. Çocuklukların bol şekerli ve unlu besinler ile beslenmesi obezite oluşumunu kolaylaştırmaktadır. Obeziteden korunabilmek için çocukluk dönemlerinden itibaren diyetin dengeli ve yeterli olması, diyetteki doymamış yağ oranının, tuzun ve rafine karbonhidratların alımının azaltılması oldukça önemlidir.

2.2.1.5. Fiziksel Aktivite

Obezite oluşmasında besin alımı kadar enerji harcaması da önemlidir, hareketsiz yaşam şekli çocukluk dönemi obezite riskini arttıran nedenlerden biridir. Yapılan araştırmalarda obez çocukların obez olmayanlara göre %30 daha fazla kalori aldığını ayrıca %30 daha az fiziksel aktivitede blulundukları belirlenmiştir.

2.3.Obezitenin Komplikasyonları

Obezite mortalite ve morbidite gelişiminde başlıbaşına bir risk faktörüdür. Obezite yalnızca görünüm sorunu değil, aynı zamanda kronik hastalıkları hazırlayıcı bir etmendir (11). Çocukluk ve adölesan dönem obezitesinin erişkin dönem hastalıkları ile ilişkisi bunda önemli rol oynamaktadır. Obezitenin erişkin sağlığını olumsuz etkileyen pekçok hastalığa sebebiyet verdiği bilinmektedir. Bu hastalıklardan en yaygın ve yüksek mortaliteye sebebiyet veren çeşitlerinin başında, hiperlipidemi, azalmış HDL düzeyi, tip 2 diabet, insülin rezistansı, hipertansiyon, koroner kalp hastalığı, kanser ve çeşitli akciğer hastalıkları gelmektedir (2,3,11).

2.3. Hiperlipidemi

Hiperlipidemi, hiperkolesterolemi ve hipertrigliseridemiyi içeren bir genel bir lipid metabolizması bozukluğudur. Obez çocuklarda görülen hiperlipidemi ileriki yaşlarda görülen kardiovasküler hastalıkların en büyük nedenidir. Çocuklarda görülen hiperlipideminin en başta gelen ikincil sebepleri arasında obezite, diabetes mellitus, hipotiroidizm, nefrotik sendrom, hepatik glukogenezis, karaciğer tıkanıklıkları gibi lipid metabolizmasında temel rol oynayan organ ve dokuların fonksiyonunu etkileyen hastalıklarda görülmektedir. Obezite ile ilişkili lipid anormallikleri; trigliserid düzeyinin yükselmesi, düşük HDL düzeyi, LDL yapısının bozulması ile karakterizedir. Ergenlik öncesi çocuklarda serum kolestrol düzeyinin 200mg/dl den az olması, serum trigiliserid düzeylerinin 120mg/dl den az olması normal lipid düzeylerine sahip olduğunu gösteren bir belirteç olarak kabul görmüştür (2,5,22,23).

2.3.1. Hiperlipidemi sınıflandırması

Dünya sağlık örgütünün yaptığı sınıflandırmaya göre hiperlipidemi 6 temel sınıfa ayrılmaktadır (5).

2.3.1.1.1 Tip 1 Hiperlipoproteinemi

Lipoprotein Lipaz yada Apo C-II eksikliği sebebi ile şilomikron ve trigiliseridlerin plazma düzeyinin aşırı yükselmesi ile karakterizedir.

2.3.1.2. Tip 2a ailesel hiperkolestrolemi

LDL- kolesterol yüksekliği ve HDL – kolesterol düşüklüğü ile karakterize olup, ApoB-100 defekti yada LDL resptör defekti en temel sebeptir, bu hastalığa sahip bireylerde kalp hastalıkları riski çok fazladır.

2.3.1.3. Tip2b ailesel kombine hiperlipidemi

LDL- kolestrol ve trigiliserid düzeyinin yüksekliği, HDL –kolestrol düşüklüğü ile karakterizedir. Otozomal dominant geçişlidir.

2.3.1.4. Tip 3 ailesel Disbetalipoproteinemi

VLDL kalıntılarının temizlenmesindeki defektler sonucu oluşmaktadır. Apo E sentezindeki bozukluk temel sebeptir. Plazma kolesterol ve trigliserid düzeylerinin birlikte yüksekliği ile karakterizedir. Otozomal resesiftir geçişlidir.

2.3.1.5. Tip 4 ailesel hipertrigliseridemi

Trigliserid yüksekliği ile karakterize olup plazma VLDL ve Apo A-I düzeyleri çok artmıştır. Genellikle diabetes mellitus, nefrozis, alkolizm, şişmanlık gibi hastalıklar ile beraber görülmektedir.

2.3.1.6. Tip 5 ailesel hipertrigliseridemi

Şilomikron ve VLDL yükselmesi ile karakterize olup VLDL lipolizindeki defekt yada aşırı VLDL üretimi ile ilişkilidir. Genetik kökenli olabileceği gibi diabet mellitus, obezite, alkolizm ile ilişkili olabileceği görüşü ileri sürülmektedir.

2.3.2. Obez, Hiperlipidemik bireylerde HDL ve Apo A-1 düzeyi düşüklüğü sebepleri

HDL kolesterol ve özellikle de apolipoprotein A-1 düşüklüğü kalp hastalıklarının en önemli risk faktörlerinin başında gelmektedir. Obezite, çevresel faktörler, yaşam tarzı, beslenme alışkanlıkları, sigara alkol tüketimi, genetik faktörler ve bu faktörler içerisinde özellikle de Apo A-1 genindeki mutasyonlar HDL-kolesterol düşüklüğünün en temel nedeni olabileceği görüşleri ileri sürülmüştür.

Araştırmalara göre obezite, HDL ve Apo A-1 düzeyinin düşüklüğünde en önemli sebeplerin başında gelmektedir. Obezite ve hiperlipidemi olgularında özellikle Apo A-1 ve HDL alt gruplarından HDL₂ plazma düzeyi düşmektedir. ApoA-1 düzeyinin düşüklüğüne, Apo A-1 in artan katabolizma oranı sebep olmaktadır. HDL₂, HDL grupları arasında kalp için en yaralı olan alt gruptur. Obez bireylerde HDL₂ nin düşüklüğüne iki faktörün sebep olduğu düşünülmektedir, bu faktörler VLDL trigliserid plazma miktarının artışı ve insülin rezistansı sonucu artan glisemi düzeyidir. Normal metabolik süreçte Kolesterol Ester Transferaz Proteini (CETP) aktivitesi ile HDL içindeki kolesterol esterleri VLDL'ye, VLDL içindeki Trigliseridler (TG)'de HDL içine taşınmaktadır. Obez ve hiperlipidemik bireylerde dolaşımda artmış yağ asit düzeyleri VLDL' nin yapısında birikmektedir. Bu durumda doku ve arterlerden aşırı kolesterolün toplanmasında görevli olan HDL, VLDL üzerindeki aşırı Trigliseridleri kendi üzerine almaktadır. Trigliserid oranı çok artan HDL ise hepatik lipazın (HL) ana substratıdır. HL tarafından hidrolize olan HDL katabolik sürece girmektedir ve bu sebepten dolayı HDL' nin plazmadan temizlenme oranı, yapım oranına göre artmaktadır. Normal metabolik süreçte HDL₂ de apolipoprotein A-1 yüksek düzeyde

bulunmaktadır.Yapılan çalışmalara göre Apo A-1 düzeyinin ateroskleroz için HDL düzeyinden daha önemli bir belirteç olduğu bilinmektedir.

Araştırmalar sonucu obez bireylerde Apo A-1'in yıkım oranı, üretim oranına göre daha fazla artmaktadır. Hiperlipidemik bireylerde HDL kolestrol düşüklüğü ve artan Apo A-1 katabolizmasının en temel sebebi azalan lipoprotein lipaz ve artan HL aktiviteleridir. Hiperlipidemik bireylerde özellikle HDL₂ alt gruplarının ApoA-1 içeriğinin azaldığı belirlenmiştir. Lipoprotein lipaz aktivitesi de HDL döngüsünü bozmaktadır. Bu ise organizmada HDL' nin, görevini yapamadan dolaşımdan temizlenmesine sebep olmaktadır (3,5,25,26).

2.4. Apolipoproteinlerin genel özellikleri

2.4.1 Apolipoprotein B (Apo B)

HDL dışındaki lipoproteinlerin temel apolipoproteinidir. Apo B-100 ve Apo B-48 olarak isimlendirilen iki formu mevcuttur. Molekül ağırlığı 512 kDA olan Apo B-100, Apo B'nin en çok bulunan şeklidir. Karaciğerde sentezlenen VLDL'nin ve VLDL'den oluşan IDL ve LDL'nin en önemli yapısal apoproteinidir. Ağırlığı 241 kDA olan Apo B-48 ise, ince barsakta sentezlenir ve şilomikronların (ŞM) yapısında ve açlık plazmasında saptanmamaktadır. Artmış serum Apo B düzeyi bulunan bireylerde ölümcül miyokard infarktüsü geçirme riski artmıştır. LDL partikülünün ana lipoproteini olan Apo B pozitif yüklü bir protein olup, ekstraselüler matriksi oluşturan negatif yüklü yapılar ile etkileşime girer. Bu sebepten Apo B düzeyi ateroskleroz oluşumu için ana bir faktördür (5).

2.4.2. Apolipoprotein C (Apo C)

ŞM'ların, VLDL ve HDL'nin yapısında bulunan düşük molekül ağırlıklı bir proteindir. Sentez yerinin karaciğer olduğu sanılmaktadır. Apo C'nin üç şekli vardır Apo C-I, 57 amino asitten oluşur. İşlevi bilinmemektedir. Apo C-II, 78 amino asitten oluşur. Ekstrahepatik lipoprotein lipazın (LPL) kofaktörüdür. Apo C-III, 79 amino asitten oluştuğu ve LPL'nin inhibitörü olduğu belirlenmiştir. Trigliseridden zengin lipoproteinlerin katabolizmasında fonksiyon gösterir. Apo C-II ve Apo E eksikliği, VLDL katabolizmasının azalmasına dolayısı ile hipertrigliseridemiye sebep olmaktadır. HDL'nin yapısında bulunan

Apo C yeni sentezlenen şilomikron ve VLDL'ye transfer edilir. ŞM ve VLDL hidrolize uğradıktan sonra Apo C-II bu lipoproteinlerden HDL'ye transfer edilir (5).

2.4.3. Apolipoprotein D (Apo D)

Glikoprotein yapısında olup sentezi ve katabolizması hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. HDL'nin yapısında yer alarak kolesterol ester transfer protein (CETP)'nin kofaktörü olarak görev yaptığı sanılmaktadır (5).

2.4.4. Apolipoprotein E (Apo E)

Glikoprotein yapısında olup karaciğerde sentezlenir. Yeni sentezlenen HDL'nin yapısında yer alır ve hızla VLDL'ye transfer edilir. Apo E, hepatositlerdeki spesifik reseptörler aracılığıyla ŞM kalıntıları ve IDL'nin tanınması ve yıkımında rol oynar (5)

2.4.5. Apolipoprotein A-II

ApoA-II başlıca karaciğerde yapılır. LpAI/AII partikülleri olarak anılan HDL alt grupları üzerinde ApoA-1 ile birlikte bulunur. ApoA-II'nin molekül ağırlığı 17 kDA'dur. HDL nin ikinci ana proteindir. ApoA-II'nin hepatik lipaz aktivasyonu ve LCAT inhibisyonunda rol oynadığı ileri sürülmektedir (5).

2.4.6. Apolipoprotein A-IV

Apo AIV geni üç ekzon ve iki introndan oluşmuştur. 396 residürlük preprotein olarak barsaklarda sentezlenmektedir. Özellikle şilomikronların yapısında yer almaktadır, lesitin kolestrol asil transferazın aktivatörüdür. Apo A-4'ün lipid absorpsiyonunda rolü olduğu düşünülmektedir (5).

2.5. Apolipoprotein A-I (Apo A-I)

Apolipoprotein A-1 insan HDL' sinin ana bileşenidir, plazmada az miktarda serbest halde bulunmaktadır. Şilomikron yapısında da bulunmaktadır, ayrıca lesitin kolesterol açıltransferaz (LCAT) aktivatörüdür, bu sebepten hücrel kolestrol hemostazında oldukça önemli rol oynamaktadır. ApoA-1'in yüzeyindeki yükler LCAT aktivasyonunda rol oynamaktadır (27). Lipoprotein metabolizmasında HDL'nin temel rolü ters kolesterol taşınmasını sağlamasıdır. Apo A-1 ters kolestrol taşımada, periferel dokulardan kolestrolü ABCA1 Aracılığı ile almaktadır. HDL ve yapısında ki ApoA-1, antioksidan, anti-trombotik, anti- enflamatuar, özelliklere de sahip olduğu pek çok çalışma ile belirlenmiştir (28).

2.5.1 Apo A-1 molekül yapısı

Apo A-I'in molekül ağırlığı 28.200 daltondur, ApoA-1, 8-9 alfa heliksten oluşmuş amfipatik bir moleküldür. ApoA-1'in polipeptid zincirinin C-terminal ucuna yakın α -heliks yapısındaki bölge HDL'nin hücre yüzeyi ile ilişkisinden sorumludur. Apolipoprotein A-1 molekülü lipidler ile N-terminal ve C-terminal uçlar aracılığı ile etkileşmektedir. LCAT'ı aktifleyen bölüm ise ApoA-1 polipeptid zincirlerinin orta bölümleridir. N-terminal bölge lipidlere bağlanmasını yanında özellikle lipidsiz Apo A-1 molekülünün stabilizasyonundan sorumludur. ApoA-1 bu etkileşimler sebebi ile esnek bir yapıya sahiptir. Yapılan analizlerde ApoA-1 heliks yapısının yüklerine göre 6 farklı sınıfa ayrılmış olup her sınıf farklı görevler üstlenmektedir (8,9).

2.5.2. Apo A-1 Sentezi

Apo A-1 molekülü ApoA-1 hem karaciğer hem de bağırsakta 267 amino asitten oluşan bir preproprotein olarak sentezlenmektedir. Prepeptid 18 amino asitten (MKAAVLTAVFLTGSQA) oluşmaktadır. Propeptid 6 amino asitten (RHFWQQ) oluşmaktadır. Sinyal peptidazlar tarafından pre- pro- protein kesilerek pro- peptid haline dönüşür ve bu şekilde plazma yada lenf sıvısına aktarılmaktadır. Pro-Apo A-1 tam olarak anlaşılabilen bir mekanizma ile ABCA1'e bağlanmaktadır. Pro- Apo A-1 in yapısı incelendiğinde 20 amino asitlik tekrarların bulunduğu görülmektedir. Bu yapı, ön kalıntıyı ayırmada ve ayrıca ApoA-1 in ikincil yapısının stabilizasyonunda rol oynamaktadır. Bu tekrarlar ile ApoA-1 HDL ile etkileşime girmektedir. ApoA-1 in lipidler ile etkileşimi kemer modeli ile açıklanmaktadır. Kemer modelinde ApoA-1'in C-terminal α -heliksleri çoklu moleküler arası etkileşimler ile lipidleri kemer gibi sarmaktadır (8-12). Apo A-I geni ifade düzeyi, sentez öncesi ve sentez sonrası süreçlerle düzenlenmektedir. Apo A-I promotor bölgesi TATA motifi içermektedir. Bu motif çeşitli cis elementler ile ilişkilidir. Cis elementlerde hormonal sinyaller tarafından düzenlenmektedir. Tiroid hormonu, glukokortikoidler, östrojen, insülin Apo A-I sentezini arttırıcı özellik göstermektedir (10).

Beslenme şeklide Apo A-I in üretim düzeyini etkilemektedir. Düşük yağlı beslenme Apo A-I üretimini sentez sonrası düzenlemelerde etkileyip, Apo A-I üretiminin azalmasına sebep olmaktadır (10).

2.5.3. HDL ve Apo A-1 katabolizması

HDL nin katabolik sürece girmesini düzenleyen en önemli etken HDL yapısında bulunan kolesterol miktarıdır. HDL nin azalan kolesterol içeriği, katabolizmasının hızlanmasına sebep olmaktadır. Artan katabolizma oranına karşın, HDL üretiminin bu açığı telafi edecek kadar artmaması sonucunda plazma HDL düzeyleri azalmaktadır. Ters kolesterol taşınması ile HDL fazla kolesterolünün bir kısmını VLDL ve LDL'ye vermektedir. HDL düzeylerinin azaldığı durumlarda ise dolaylı olarak plazma LDL ve VLDL düzeyleri de değişmektedir.

Apolipoprotein A-1 karaciğer ve böbreklerde yıkıma uğramaktadır. Lipidden fakir olan Apo A-1 glomeruluslardan filtre edilebilir ve proksimal renal tübül epitel hücrelerinden katabolize edilmektedir. Bu sürecin mekanizmasında kübilin proteini görev almaktadır. Bu protein renal tübül hücrelerde sentezlenen ekstraselüler bir protein olup, Apo A-1'i yüksek affinite ile bağlamaktadır ve LDL reseptör ailesinin bir üyesi olan Megalin adlı proteine Apo A-1'i aktarmaktadır. Bu protein Apo A-1'i alır ve degrade edememektedir (28).

Apo A-1 in katabolizmasında hız sınırlayıcı basamak glomerüler filtrasyondur. Olgun HDL filtrasyon için çok büyük olduğundan lipidden fakir alt gruplarının ve lipidsiz Apo A-1 in katabolizma oranı oldukça yüksektir (29,30). LCAT enzimi HDL nin kolesterol kazanmasındaki en önemli enzimlerden biridir ve bu sebepten LCAT geni yada LCAT enzimi başlıca aktivatörü olan Apo A-1 genindeki Apo A-1 sentezini etkileyen mutasyonlar plazma Apo A-1 ve dolayısı ile plazma HDL düzeyinin azalmasına sebep olmaktadır (30).

Hepatik lipaz enzimi HDL'nin kolesterolden fakir, trigliseridden zengin hale dönüşmesini sağladığı için katabolik sürecin hızlanmasını sağlayan bir enzim olduğu belirlenmiştir (28).

HDL'nin hepatik alınımlarının mekanizması hakkında fazla bilgi yoksa da bu sürecin ApoE ile ilişkili olduğu düşünülmektedir, HDL yapısına Apo E nin katılması ile hepatosit yüzeyinde bulunan LDL reseptörleri (LDLR)'ne bağlanabilmektedir. Bu süreç HDL'nin karaciğer tarafından alınmasına aracılık eden mekanizmalardan biridir (28,29).

2.5.4. ApoA-1 Geni

ApoA-1 geni 11. kromozomun uzun kolunda 11q23-q24 te, Apo C-3, Apo A-4 genleri ile kombine halde bulunmaktadır. Bu genler birbirleri ile yakın ilişkili olup evrimsel olarak aynı atadan geldikleri düşünülmektedir. ApoA-1 genin de 2 intron, 4 ekzon bulunmaktadır (8-12).

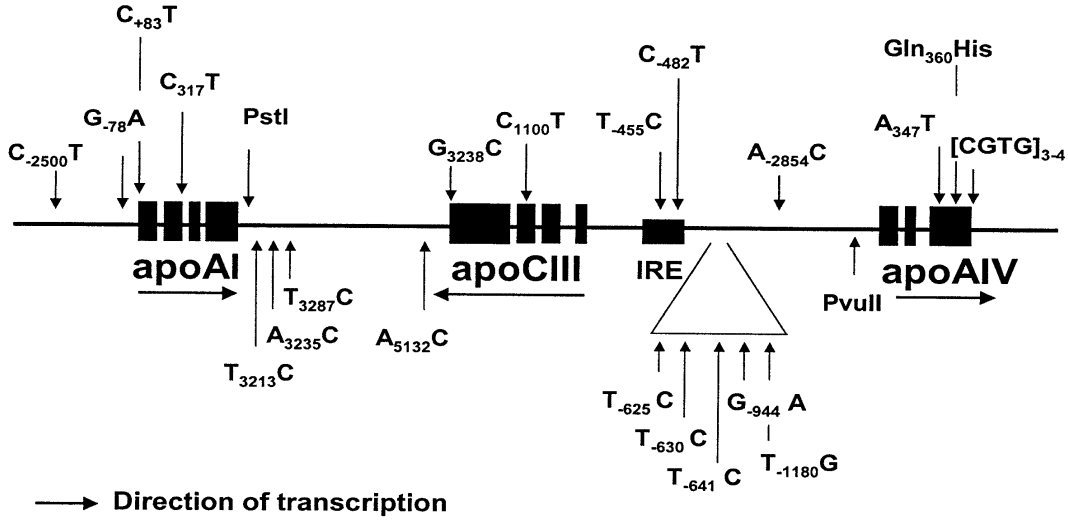
Apo A-1 geni promoter bölgesi hakkında iki farklı model öne sürülmüştür.

Birinci model Zannis ve ark. tarafından öne sürülen model olup, Element A -22 bp ile + 17 bp dir. Element B -18 bp ile -77 bp de olup element D -220 bp ile -190 bp de dir ve her ikisinde hormonal cevap elementidir. Element C ise -175 bp ile -148 bp de olup CCAAT bağlayıcı bölgesini içerir bu bölge enhancer in bağlayıcı proteinin C/EBP bağlar. Ayrıca element D PPARX response element bölgesini (PPRE) içerir. Hepatosit nükleer faktör 4 (HNF-4) ise B ve D elementlerine bağlanabilmektedir (30,31).

Promoter bölge ile ilgili öne sürülen ikinci model ise Apo A-1 promoter bölgesi Site A -214 bp ile -192 bp; site B -169 bp ile -146 bp; site C -134 bp ile -119 bp de bulunmaktadır. Bu modelde A ve C siteleri HREs leri içerip HNF-4 leri tanımaktadır. Bu modelde PXR/PPARx sadece A sitesine bağlanmaktadır (31,32).

Site B ye ise HNF-3B ve CCAAT enhancer bağlayıcı protein C/EBP bağlanmaktadır. Östrojen benzeri bileşikler de etkilerinin sadece site B üzerinden üzerinden göstermektedir. İnsülin hormonu enhancer bögede insülin response core element (IRCE) bağlanarak, spesifik protein1(Sp1)'i aktive ederek RAS-RAF, yolağı üzerinden apoA-1 transkripsiyonunu arttırmaktadır (32).

Apo A-1 geni barsaklarda sadece apo A-1 Promoter/ enhancer bölgesi tarafından regüle edilmez. Apo C-III Enhancer bölgesi de bu regülasyonda oldukça önemli rol oynamaktadır (31, 32). Tablo2.1 de Apo A-I, Apo C-III, Apo A-IV gen kümesi yapısı görülmektedir (12).



Şekil 2.1: Apo A-I, Apo C-III , Apo A-IV gen kümesi yapısı (12).

2.5.4.1 ApoA-1 geni polimorfizmleri

5' flanking bölgede (C -2500 T) (XMNI), promoter bölgede(G-75A) (MspI), (C+83)(MspI) intergenik bölgede: PSTI, T3213C, A3235C, T3287C, A5132C polimorfizimleri bulunmaktadır (Şekil 2.1). XMNI-x2 alleli bulgularının ile Ailesel Kombine Hiperlipidemi olgularında arttığı, MspI (G-75A), A allelinin Apo A-1 gen transkripsiyonunu arttırdığı, ApoA-1 ve HDL seviyesini yükselttiği ve plazma trigliserid seviyesini arttırdığı, MspI (C+83) allelleri ile artmış HDL kolesterol seviyesi ile ilişkili olduğu, PstI varyantlarının hiperlipidemi ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Pek çok çalışma ile hiperlipidemi ve buna bağlı olarak gelişen koroner arter hastalıklarında yüksek LDL seviyelerinin yanında düşük HDL ve Apo A-1 seviyelerinin de risk faktörü için bir belirteç olabileceği öngörülmeye başlanmıştır (9-12).

2.5.4.2 Apo A-1 MspI polimorfizmi

Apolipoprotein A-1, C-III, A-IV proteinleri lipid bağlayıcı proteinler olup, plazmada lipidlerin transportunu sağlarlar. Bu apolipoproteinlerde ki bozukluk yada varyasyonlar, plazma lipid ve lipoprotein konsantrasyonlarının değişmesine sebep olmaktadır.

Yapılan araştırmalarda plazma Apo A-1 düzeyinin belirlenmesinde, Apo A-1 üretim oranının , katabolizma oranından daha önemli bir belirteç olduğu belirlenmiştir (10)

Apo A-1 geni promotor bölgesinde bulunan bu polimorfizmler -75 bp de Guanin - Adenin değişimidir. Bu bölge transkripsiyonun başlangıç bölgesidir. A allelinin apo A-1 gen transkripsiyonunu indükleyerek Apo A-1 in sentezini arttırmaktadır. Bu mutasyona sahip bireylerde HDL düzeyi daha yüksek olmaktadır. -75 bp de G allel varlığı plazma trigliserid düzeyi yüksekliği ile ilişkilendirilmiştir. İn vivo çalışmalarda Apo A-1 -75bp A allelinin artmış Apo A-1 ve HDL kolesterol seviyeleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Diğer bir MspI varyantı olan +83 polimorfizminde sitozin-timin değişimi bulunmaktadır bir diğer MspI polimorfizmi olan + 84 bp de Guanin(G)/ adenin (A) değişimi görölmektedir. Her üç polimorfizm de plazma lipoproteinlerinin düzeyleri, Apo A-I düzeyleri kroner arter hastalıklarının gelişimi ile ilişkili bulunmuştur (8-12).

3.GEREKÇE VE YÖNTEM

3.1. SEÇİLEN ÖRNEKLERİN TANIMI

Çalışmaya alınan çocuklar, İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Büyüme Gelişme ve Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı'nda takip edilen 8-15 yaşları arası kız çocuk ve 9-16 yaşları arası erkek çocuk hastalardan seçilmiştir. Çalışmada, hasta grubu olarak hiperlipidemik obez çocuklar, I.kontrol grubu olarak hiperlipidemik olmayan obez çocuklar ve II.kontrol grubu olarak obez olmayan ve hiperlipidemisi bulunmayan sağlıklı çocuklar alınmıştır.

Tartı ve boy ölçümleri Harperder Stavoliometre ile Oksolog (MŞ) tarafından standart yöntemlerle, hafif iç çamaşırı ile alınmıştır. Tartı ve boy ölçümlerine dayanarak vücut kitle indeksi (VKİ), tartı (kg) / boy (m²) olarak hesaplanmıştır. Çocukların yaşları yıl ve ay olarak ifade edilmiştir. Çocuk yaş grubunun büyüme özelliği olduğu için VKİ değerleri, standart deviasyon skor (SDS) olarak ifade edilmiştir (97). SDS o yaş ve cins için bir parametrenin normalden ne kadar saptığını göstermek için hesaplanan bir skordur. SDS hesaplanması aşağıdaki şekilde yapılmaktadır:

$$SDS = \frac{X - \bar{X}}{SD}$$

X: Çocuğun ölçümü

–

X: O yaş ve cins için toplum ortalaması

SD: O yaş ve cins için toplumun SD değeri

Obezite kriteri olarak, VKİ'nin +2 SDS'den daha büyük olması alınmıştır.

3.2. GEREÇLER

3.2.1. Çalışmamızda Kullanılan Cihazlar, Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler

3.2.1.1. Cihazlar

ABI PRISM 310 Otomatik DNA Dizileme Cihazı, BIO- RAD Denatüre Gradient Jel Elektroforez (DGGE) Sistemi, Güç kaynağı, Roche MagNa Pure Compact DNA izolasyon cihazı, Thermal Cycler: Techne ve 9700 Applied Biosystems, Midicell Primo EC330 Yatay Elektroforez Sistemi, Jel görüntüleme sistemi (Kodak EL LOGIC 100 görüntüleme sistemi), Pipet takımı (Eppendorf), Isıtıcıli manyetik karıştırıcı (Elektromag), Hassas terazi, Mikrosantrifüj , Soğutmalı Santrifüj (Hettich), (-) 20 °C derin dondurucu, (+) 4 °C soğutucu

3.2.1.2 Kimyasal maddeler ve sarf malzemeler

Roche DNA İzolasyon Kiti (MagNa Pure Compact Nükleik Asit İzolasyon KitI), Taq DNA polimeraz, DNA size marker (50 bp DNA ladder, 100 bp DNA ladder plus), Fermentas dNTP seti, Fermentas 10 X Buffer, Fermentas MgCl₂, Roche High Pure PCR Product Pürifikasyon Kiti, Quigen SYBR PCR mix, DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit (Amersham), Sodyum asetat, Template suppression reagent solüsyonu, %40 akrilamid/bis (37.5:1), Tris baz, Asetik asit, EDTA(dihidrat), 50 x TAE buffer, Üre, Deiyonize formamid, %10 Amonyum persülfat, TEMED (tetrametilendiamin), Etidium bromür, DCode boyama solüsyonu.

3.3. Çalışmada kullanılan laboratuvar yöntemleri

Apo A-1 geni, promotor bölgesindeki MspI polimorfizmi ve diğer olası polimorfizmleri saptayabilmek için, ilgili gen sekansının PCR ile çoğaltılıp, otomatik DNA dizi analiz cihazı ile dizilemesi yapılmıştır. Dizileme sonuçları bilgisayar yazılım programı (Proseq, BioEdit) yardımıyla değerlendirilmiştir. Çalışma beş ana basamak çerçevesinde yorumlanmıştır: DNA izolasyonu, PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), Denatüre Gradient Jel Elektroforezi (DGGE), DNA Dizileme, Sonuçların Analiz Programlarıyla Değerlendirilmesi.

3.3.1. DNA İzolasyonu

Obezite tanısı konmuş hasta ve sağlıklı kontrol olgularından 2.5 cc periferik venöz kan, 5 cc'lik EDTA'lı tüpe alınmıştır. Kandan DNA izolasyonu için Roche DNA izolasyon kiti (MagNa Pure Compact Nükleik Asit İzolasyon Kit-I) kullanılmıştır. Kitin içerisindeki prosedür Roche MagNa Pure Compact DNA izolasyon cihazına uygun olarak uygulanmıştır.

Bu kapalı sistem içerisinde DNA izolasyon işlemi 40 dakika içerisinde gerçekleşti ve bu işlem sonunda yaklaşık 200 µl DNA elde edilmiştir.

3.3.2 Genomik DNA'ların Agaroz Jelde Test Elektrofrez

DNA izolasyonu sonucunda yeterli miktarda genomik DNA elde edilip edilmediğinin saptanması ve DNA'ların kalitatif özelliklerini görebilmek için 2,5 µl etidium bromid içeren %2'lik agaroz jele, her bir kuyucuğa 5 µl genomik DNA + 5 µl yükleme tamponu içerecek şekilde yükleme yapılmıştır. 100 V, 30 dakika elektroforez uygulanmış olu, bu sürenin sonunda agaroz jel, UV transluminatör aracılığı ile genomik DNA içeren kuyucuklarda oluşan bantların özelliklerine göre değerlendirilmiştir.

3.3.3 Genomik DNA'ların Spektrofotometrik Ölçümleri :

Genomik DNA'lar UV spektrofotometre ile 260-280 nm dalga boylarında ölçülerek ve çalışmaya $A_{260/280 \text{ nm}} = 1.6-1.8$ arasında olan olgular dahil edilmiş olup, ölçümler sonucunda çalışmamızda kullanılan hasta ve kontrol DNA değerlerinin µl'de 25-250 ng arasında değiştiği saptanmıştır.

3.4. GC klempli PCR Uygulaması

Apo A-1 geninin polimorfizmi araştırılacak segmenti tek parça halinde, uygun primerler ve PCR protokolü kullanılarak çoğaltılmıştır (şekil 3.3). DGGE uygulamasına uygun olarak sentezlenen GC klempli primer (İleri primer) (Tablo3.1) ile PCR uygulaması yapılmıştır (33). En iyi PCR sonucunu elde etmek için çeşitli sıcaklık değerleri denenmiştir (Tablo3.3,Tablo3.4,Tablo3.5).yapılan PCR denemelerinde elde edilen bantlar gösterilmiştir. (şekil3.1,şekil3.2, şekil3.3)

3.4.2. Agaroz Jel'in Amplifikasyon Açısından Transluminatör İle Değerlendirilmesi

PCR sonucunda amplifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediğinin saptanması için, 2,5 µl etidium bromür içeren %2'lik agaroz jele, her bir kuyucuğa 10 µl PCR ürünü + 5 µl yükleme tamponu içerecek şekilde yükleme yapıldı. 110 V'da 25 dakika elektroforez uygulandı. Agaroz Jel'de elektroforez uygulanan III. PCR ürünlerinin doğru amplifikasyonu gerçekleştirdiğiUV transluminatör aracılığı ile belirlenmiştir (Şekil 3.3).

Tablo 3.1: PCR için uygun Apo A-1 geni primerleri (34)

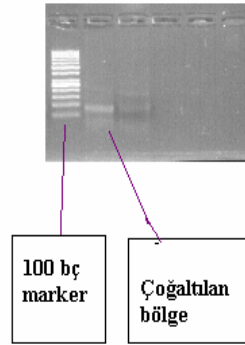
GC klempli İleri Primer (F):
5'- GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCG CGC GCA GGG ACA GAG CTG ATC CTT GAA CTC TTA AG - 3'
Geri Primer (R):
5'- TTA GGG GAC TGTACC TAC GGA AGA GCA - 3'

Tablo 3.2: PCR karışımının hazırlanması

Distile su : 36 µl
10xBuffer : 3 µl
MgCl ₂ : 4 µl
dNTP : 3 µl
Primer Mix R : 1
Primer Mix F : 1
Taq Polimeraz : 1µl
Genomik DNA: 1 µl

Tablo 3.3: GC Klempli Eklenmiş İleri ve Geri Primer Kullanımı ile I. PCR uygun bağlanma ısısını belirleme denemesinin yapılması

AŞAMA	BASAMAK	SICAKLIK	SÜRE	SİKLUS
1.	Başlangıç Denatürasyonu	96 °C	1 dak.	1 siklus
2.	Denatürasyon	96 °C	30 sn.	35 siklus
	Bağlanma	62 °C	30 sn.	35 siklus
	Uzama	72 °C	1 dak.	35 siklus
3.	Uzama	72 °C	8 dak.	1 siklus

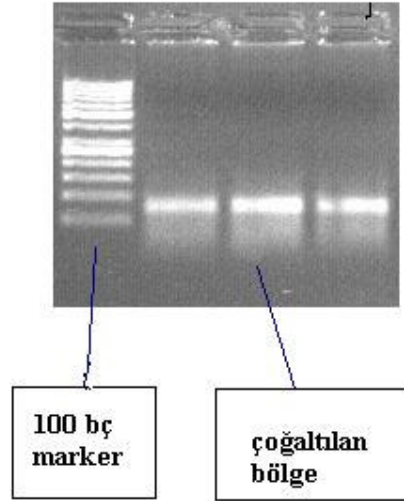


Şekil 3.1: GC klempli Apo A-1 geni primerleriyle, 62 °C bağlanma ısısı uygulanarak çoğaltılan PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. Marker: MBI Fermentas 100 bç DNA marker.

Sonuç: GC klempli Apo A-1 geni primerleriyle, 62 °C bağlanma ısısı uygulanarak çoğaltılan PCR ürünleri, çalışmada araştırılacak promoter bölgeye ait ürünler değildir.

Tablo 3.4:GC Klemp Eklenmiş İleri ve Geri Primer Kullanımı ile II. PCR uygun bağlanma ısısını belirleme denemesinin yapılması

AŞAMA	BASAMAK	SICAKLIK	SÜRE	SİKLUS
1.	Başlangıç Denatürasyonu	95 °C	4 dak.	1 siklus
2.	Denatürasyon	94 °C	30 sn.	35 siklus
	Bağlanma	55 °C	30 sn.	35 siklus
	Uzama	72 °C	1 dak.	35 siklus
3.	Uzama	72 °C	8 dak.	1 siklus

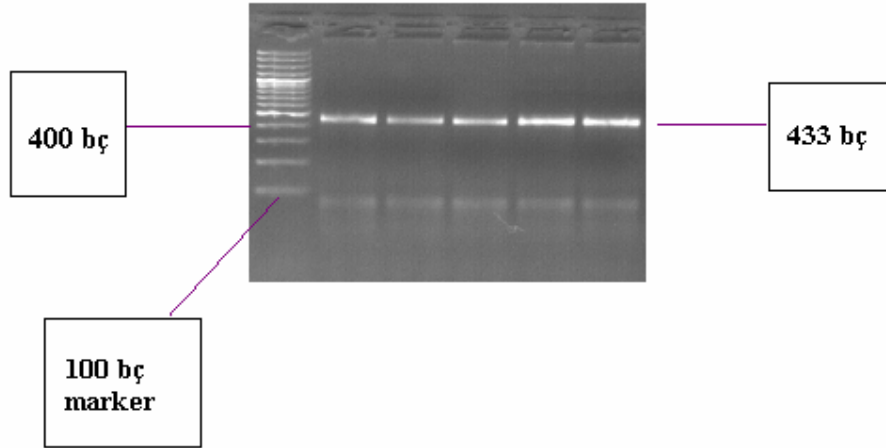


Şekil 3.2: GC klempli Apo A-1 geni primerleriyle, 55 °C bağlanma ısısı uygulanarak çoğaltılan PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. Marker: MBI Fermentas 100 bç DNA marker.

Sonuç: GC klempli Apo A-1 geni primerleriyle, 55 °C bağlanma ısısı uygulanarak çoğaltılan PCR ürünleri, çalışmada araştırılacak promoter bölgeye ait ürünler değildir.

Tablo 3.5: GC Klempli Eklenmiş İleri ve Geri Primer Kullanımı ile III. PCR uygun bağlanma ısısını belirleme denemesinin yapılması

AŞAMA	BASAMAK	SICAKLIK	SÜRE	SİKLUS
1.	Başlangıç Denatürasyonu	95 °C	4 dak.	1 siklus
2.	Denatürasyon	94 °C	30 sn.	35 siklus
	Bağlanma	58 °C	30 sn.	35 siklus
	Uzama	72 °C	30sn.	35 siklus
3.	Uzama	72 °C	8 dak.	1 siklus

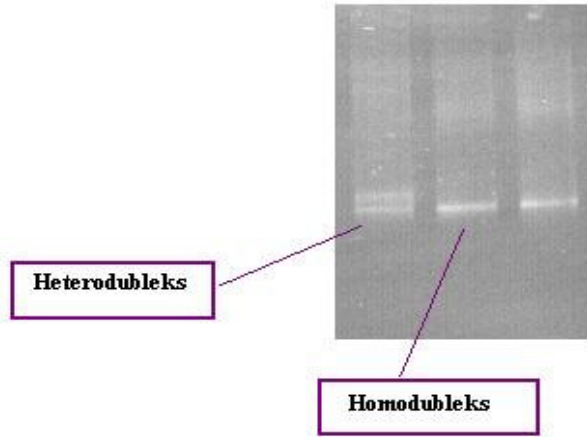


Şekil 3.3: GC klempli Apo A-1 geni primerleriyle çoğaltılan 433 bç'lik PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. Marker: MBI Fermentas 100 bç DNA marker

Sonuç: GC klempli Apo A-1 geni primerleriyle, 58 °C bağlanma ısısı uygulanarak çoğaltılan PCR ürünlerinin, çalışmada araştırılacak promöter bölgeye ait ürünler olduğu belirlenmiştir (33).

3.4.3. Apo A-1 geni promotor bölgesi DGGE Ürünü ile ilgili değerlendirmeler

Apo A-1 geninin polimorfik bölgelerini belirlemek için GC klempli PCR ürünleri, % 6'lık akrilamid jel konsantrasyonunda, denatüran madde derişimi %40 ve %60'lik çözeltileri ile hazırlanan poliakrilamid jele yüklenip Denatüre Gradient Jel Elektforezi yapılarak kontrol edilmiştir. DGGE uygulaması ile iki farklı paternde bant gözlemlenmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4: Apo A-1 geni promotor, DGGE uygulanan GC klempli I. PCR ürünlerinin Kodak EL Logic 100 görüntüleme sistemi ile görüntülenmesi (Örnek numarası (soldan- sağa): 66,65,64).

3.5.GC Klempli PCR Ürünlerine Denatüre Gradient Jel Elektforezi (DGGE) Uygulanması:

3.5.1. DGGE'nin uygulanış prensibi :

Elektroforez uygulamasına başlamadan önce hazırlanacak olan jelin volümü şu esaslara göre belirlenmiştir:

- 1- Sistemdeki mevcut camların ebatlarına uygun jel büyüklüğünün belirlenmesi,

- 2- GC klemppli PCR ürünlerinin jeldeki kuyucuklara yeterli miktarlarda yüklenebilmesi için, kuyucuklarda gerekli hacmi sağlayacak uygun kalınlıkta tarağın belirlenmesi,
- 3- Kullanılacak olan tarağın kalınlığına ve camların yüksekliklerine uygun, iki cam arasındaki (cam sandviç) mesafeyi sağlayacak olan aksesuar kalınlıklarının belirlenmesi,
- 4- Belirlenen jel büyüklüğüne uygun volümü oluşturabilmek için gerekli olan denatüran madde (düşük ve yüksek konsantrasyonlardaki) miktarlarını belirlemek,

Denatüre edici madde olarak konsantrasyonu %40 olan formamid ve konsantrasyonu 7M olan üre kullanıldı. Bu tanıma göre, Apo A-1 geni jel gradienti için %40 ve %60'lik denatüran madde solüsyonları hazırlandı. Akrilamid konsantrasyonu, denatüran madde konsantrasyonunun %40 ve %60 olduğu solüsyonlarda % 6 olarak ayarlandı.

➤ **%6'lik akrilamid jel'de kullanılmak üzere, 100 ml %40'luk denatüran çözelti hazırlanması:**

-%40 Akrilamid/Bis (37.5:1) 15 ml, 50 x TAE buffer 2 ml, Deiyonize formamid 16 ml
-Üre 16,8 gr,d H₂O 100 ml'ye tamamlayacak şekilde ilave edilir. Hazırlanan solüsyon koyu renkli şişe içerisinde + 4 °C'de yaklaşık 1 ay süre ile muhafaza edilebilir.

➤ **%6'lik akrilamid jel'de kullanılmak üzere 100 ml %60'lik denatüran çözelti hazırlanması:**

%40 Akrilamid/Bis (37.5:1) 15 ml, 50 x TAE buffer 2 ml, Deiyonize formamid 24 ml
Üre 25,2 gr, d H₂O 100 ml'ye tamamlayacak şekilde ilave edilir. Hazırlanan çözelti koyu renkli şişe içerisinde + 4 °C'de yaklaşık 1 ay süre ile saklanabilir.

Bu hazırlık aşamasının ardından iki adet deney tüpü (50 ml'lik falkon tüp) alınarak bir tanesi “düşük (%40), (2 numaralı tüp)” diğeri ise “yüksek (%60), (1 numaralı tüp)” konsantrasyon tüpü olarak belirlenmiştir. DGGE için hazırlayacağımız jelin volümünü 30 ml olarak hesaplanmıştır ve 1 numaralı tüpe %60'lik stok denatüran solüsyondan 20.5 ml, 2 numaralı tüpe ise %40'luk stok denatüran solüsyondan 9.5 ml eklenmiş olup.

1 numaralı tüpe, yüksek konsantrasyondaki solüsyonun:

- Her 10 ml'si için 5 µl (toplam olarak ~ 10 µl) TEMED,
- Her 10 ml'si için 100 µl (toplam olarak ~ 200 µl) %10 Amonyum Persülfat ekledik.

2 numaralı tüpe, düşük konsantrasyondaki solüsyonun:

- Her 10 ml'si için 5 µl (toplam olarak ~ 5 µl) TEMED,
- Her 10 ml'si için 100 µl (toplam olarak ~ 100 µl) %10 Amonyum Persülfat eklenmiştir.

Daha sonra her bir tüpteki solüsyon sistemde mevcut olan iki ayrı enjektöre çekilerek, gradient oluşturucu cihaza monte edildi. Jelin donması için yaklaşık olarak 60-90 dakika beklenmiştir. Jel donduktan sonra, tarak iki camın arasından çıkarılarak oluşan kuyucuklar kontrol edilmiştir. Elektroforez için uygun olduğuna karar verilen jel, sistemdeki uygun aksesuarlar yardımı ile yeterli miktarda (~ 7 lt.) 1x TAE tamponu içeren elektroforez tankına yerleştirildi. Daha sonra tankın üzerine denatürasyon için gerekli sabit ısıyı (60 °C) ve elektroforezi sağlayacak, sisteme ait ikinci bir aksesuar yerleştirilerek, denatürasyona uygun minimum ve maksimum ısı ayarları yapılmıştır.

1x TAE tamponu içeren çözeltinin 60 °C'ye ulaşması beklenmiş olup, Sistem 60 °C'ye ulaştıktan sonra, sistemin devir-daim pompası kapatılarak, en son yerleştirilen aksesuar üzerindeki bölmeden 15 µl GC klempili PCR ürünü + 5 µl DCode boyama solüsyon pipet yardımı ile her bir kuyucuğa yüklenmiştir. Yükleme işlemi tamamlandıktan sonra kapatılan devir-daim pompası tekrar açılarak, sistem güç kaynağına bağlandı ve örnekler 5 saat süre ile 140 volt'da elektrik akımı uygulanmıştır. Bu süre içerisinde elektroforez tankının ısı 60 °C'de sabit tutulmaktadır.

Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra sandviçler tankın içerisinden alınmıştır. 1x TAE tamponu içeren derin bir kap içerisinde camlar birbirinden dikkatlice ayrılarak jelin serbest kalması sağlanmıştır. Jel 1x TAE tamponu içerisindeyken üzerine 8 µl (40 ml 1x TAE içerisinde 1 mg/ml olacak şekilde) Etidium bromid (EtBr) eklenek 15 dakika, daha sonra da dH₂O içeren başka bir kaptaki 10 dakika bekletilmiştir. Bu sürenin ardından jel, asetatlar yardımı ile UV.'yi geçirebilecek kalınlıkta şeffaf dosya üzerine transfer edilmiştir(34).

3.6. Jelin Görüntüleme Sistemine Aktarılması ve Mutasyon Paterni Düşünülen Örneklerin Tekrar Değerlendirilmesi

Jel dikkatli bir şekilde görüntüleme sistemine aktarılarak yeterli sayıda görüntü elde edilmiştir. Bu işlemlerin ardından şeffaf dosya içerisindeki jel, gerekli görüldüğünde tekrardan değerlendirilmesine imkan verecek şekilde, şeffaf dosyanın etrafı bantlanarak, jelin hava ile temasını engellenmiş olup, (+) 4 °C'de muhafaza edilmek üzere buzdolabına kaldırılmıştır.

3.6.2 DNA Dizi Analizi'nde Kullanılmak Üzere GC Klemp Eklenmemiş İleri ve Geri Primer Kullanımı ile II. PCR Uygulamasının Yapılması

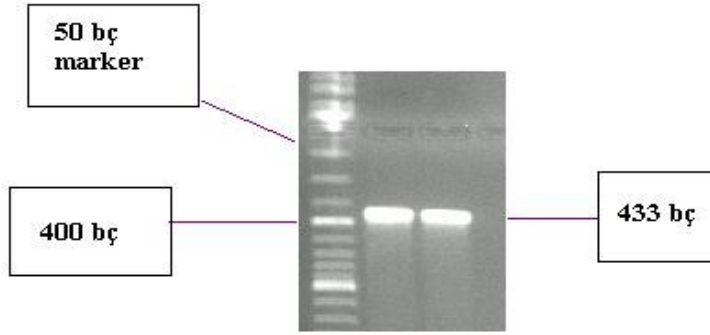
- DNAz / RNAz içermeyen ddH₂O : 4,5 µl
- SYBR PCR karışımı: 12,5 µl
- İleri Primer: 3 µl
- Geri Primer: 3 µl
- Genomik DNA: 3 µl

Tablo 3.6: DNA Dizi Analizi'nde Kullanılmak Üzere GC Klemp Eklenmemiş İleri ve Geri Primer Kullanımıyla hazırlanan PCR aşamaları ve protokolü

AŞAMA	BASAMAK	SICAKLIK	SÜRE	SİKLUS
1.	Başlangıç Denatürasyonu	94 °C	4 dak.	1 siklus
2.	Denatürasyon	95 °C	30 sn.	35 siklus
	Bağlanma	60 °C	30 sn.	35 siklus
	Uzama	72 °C	1 dak.	35 siklus
3.	Uzama	4 °C	sonsuz	

3.7.1 Apo A-1 geni promotor bölgesi dizileme öncesi PCR Ürünü ile ilgili değerlendirmeler

DNA dizi analizi'nde kullanılmak üzere GC klemp eklenmemiş ileri ve geri primer kullanımı ile PCR uygulaması yapılmıştır . Apo A-1 geni promotor bölgesi PCR ürünleri %1.5'luk agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiştir. Agaroz jelde 433 bç'lik özgül PCR ürününe ait bant elde edildiği gözlemlendikten sonra saflaştırma gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5: GC klempsiz Apo A-1 geni primerleriyle çoğaltılan 433 bç'lik PCR ürünlerinin %1,5'luk agaroz jeldeki görüntüsü. Marker: 50 bç DNA marker

3.7.2. DNA Dizi Analizi'nde Kullanılmak Üzere GC Klemp Eklenmemiş PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrezine Tabi Tutulması ve Agaroz Jel'in Amplifikasyon Açısından Translüminatör İle Değerlendirilmesi:

PCR sonucunda amplifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediğinin saptanması için, 2 µl etidium bromür içeren %1,5'luk agaroz jele, her bir kuyucuğa 5 µl PCR ürünü + 5 µl yükleme tamponu içerecek şekilde yükleme yapılmıştır. 120 V'da 15 dakika elektroforez uygulanmıştır. Agaroz Jel'de elektroforez uygulanan II. PCR ürünleri doğru amplifikasyon açısından UV translüminatör aracılığı ile değerlendirilmiş olup II. PCR ürünlerinin istediğimiz bölgede olduğu tespit edilmiştir

3.7.2.1 PCR Ürünlerinin Saflaştırılması

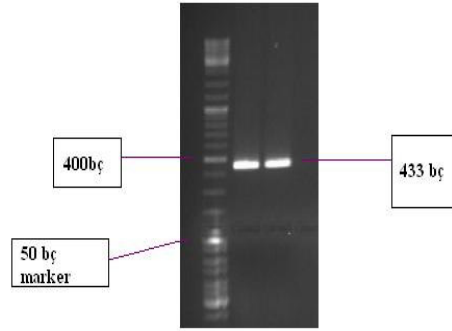
Dizileme reaksiyonu öncesi non spesifik bantları ortamdaki kaldırmak için Roche High Pure PCR Product Purification Kiti kullanıldı. Kiti prosedürüne uygun olarak işlem gerçekleştirilmiştir.

3.7.2.2.PCR Ürünlerinin Saflaştırılmasının Kontrolü

% 1,5'luk agaroz jel elektroforez uygulaması ile ürünün net olup olmadığı kontrol edilmiştir.

3.7.2.3 Apo A-1 geni promotor bölgesi PCR Ürününün Saflaştırılması ile ilgili değerlendirmeler

Promotor bölgenin PCR ürünlerinin saflaştırılmasından sonra örnekler %1.5'luk agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi. Agaroz jelde 433 bç'lik özgül PCR ürününe ait bant elde edildiği gözlemlendikten sonra dizileme reaksiyonu gerçekleştirildi (Şekil 3.6).



Şekil 3.6: GC klemsiz Apo A-1 geni primerleriyle çoğaltılan 433 bç'lik II. PCR ürünlerinin saflaştırma işlemleri sonrası %1,5'luk agaroz jeldeki görüntüsü. Marker: 50 bç DNA marker

3.8. Saflaştırılmış Olan II. PCR Ürünlerinin Tekrar Kullanılarak, DNA Dizi Analizi'nde Kullanılmak Üzere Dizileme Reaksiyon Uygulamasının Yapılması

- DNAz /RNAz içermeyen ddH₂O : 2,4 µl
- Dizileme karışımı: 4 µl
- Primer (İleri primer): 0,6 µl
- II. PCR ürünü : 3 µl

Tablo 3.7: Dizileme Reaksiyon Uygulamasının aşamaları ve protokolü

AŞAMA	BASAMAK	SICAKLIK	SÜRE	SİKLUS
1.	Denatürasyon	95 °C	20 sn.	35 siklus
	Bağlanma	50 °C	25 sn.	35 siklus
	Uzama	60 °C	2 dak.	35 siklus
2.	Uzama	4 °C	sonsuz	

3.9.1. Dizileme Reaksiyonundan Alınan Örneklerin Saflaştırılması

Dizileme reaksiyonu bittikten sonra her tüpe 1 µl 1,5 M sodyum asetat, 250 mM EDTA (pH 8) tamponu, 10 µl dH₂O ve 80 µl % 100 etanol eklenmiş ve 10 saniye karıştırılmıştır. Tüpler 12500 rpm'de 15 dk (20 °C) santrifüj edilir ve sıvı faz vakum yardımı yada mikropipet ile çekilerek atılmıştır. Dibe çöken kısmın üzerine 200 µl %70 etanol eklenir, vortekslemeden 12500 rpm'de 3 dk. (20 °C) santrifüj edilidikten sonra Sıvı faz vakum (mikropipet) ie çekildikten sonra dibe çöken kısım termomikser cihazında 56 °C'de 10 dk. kurutulur. Çökeltinin üzerine 15 template suppression reagent eklenir. Tüpler 10 sn karıştırıldıktan sonra kısaca santrifüjlenerek Otomatik DNA Dizi Analizi cihazı ABI 310'a yüklenmiştir.

3.9.2 Saflaştırılmış Ürünlerin DNA Dizi Analizi Cihazına Yüklenmesi

Saflaştırılmış örneklerin dizilemesi kapiler sistemli ABI PRISM 310 otomatik DNA dizileme cihazında, Sanger tarafından geliştirilen enzimatik sentez yöntemi kullanılarak yapılmaktadır. Boya terminasyon işaretleme adı verilen bir metod kullanılarak farklı bazlarda (A, G, T, C) sonlanan DNA sentez ürünlerine floresan işaretli boyalar iliştilir. Elektroforez, örnekle bir kapillerden geçirilirken uygulanmaktadır. Floresan işaretli boyaları uyararak için lazer, boyaların yaydığı ışığı toplamak içinse bir CCD kamera kullanılmaktadır. Böylece, lazer uyarımının ardından dört boya tarafından yayılan farklı dalga boylarındaki ışık tek kulvarda ayırt edilmiştir. Floresan miktarlarının ölçülmesi ve yorumlanmasının ardından DNA örneğindeki baz dizisi saptanmıştır.

3.9.3 DNA Dizi Analizi Sonuçlarının Bilgisayar Yardımı İle Değerlendirilmesi:

ABI PRISM 310 otomatik DNA dizileme cihazından alınan örneklere ait ileri ve geri nükleotid dizileri, başka bir bilgisayara aktarılarak, önce Proseq yazılım programında eşlendi. Elde edilen ortak eşlenik dizi aynı bilgisayardaki BioEdit yazılım programına aktarılarak, Gen Bankası (NCBI)'ndan elde edilen Apo A-1 geni promotor bölgesine ait MspI polimorfik referans nükleotid ile karşılaştırıldı ve olası nükleotid değişimleri belirlenmiştir

3.10. Lipid Profillerinin Tayini

Plazma total kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol düzeyleri klinik otoanalizör ile enzimatik yöntemler ile tayin edilmiştir.

3.11. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatiksel Yöntemler

Bu çalışmanın istatistiksel analizi SPSS 8.5 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak alınmıştır. Vücut kitle indekslerinin belirlenmesinde Student's t-testi, genotip ve allellerin görülme sıklığının gruplar arası farklılıklarının değerlendirilmesinde Ki kare (χ^2) testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 PROJE İLE İLGİLİ YÖNTEMLERİN KURULMASI İLE İLGİLİ BULGULAR

Çalışma gruplarımıza ait demografik bilgiler Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: Çalışma Gruplarına Ait Demografik Bilgiler

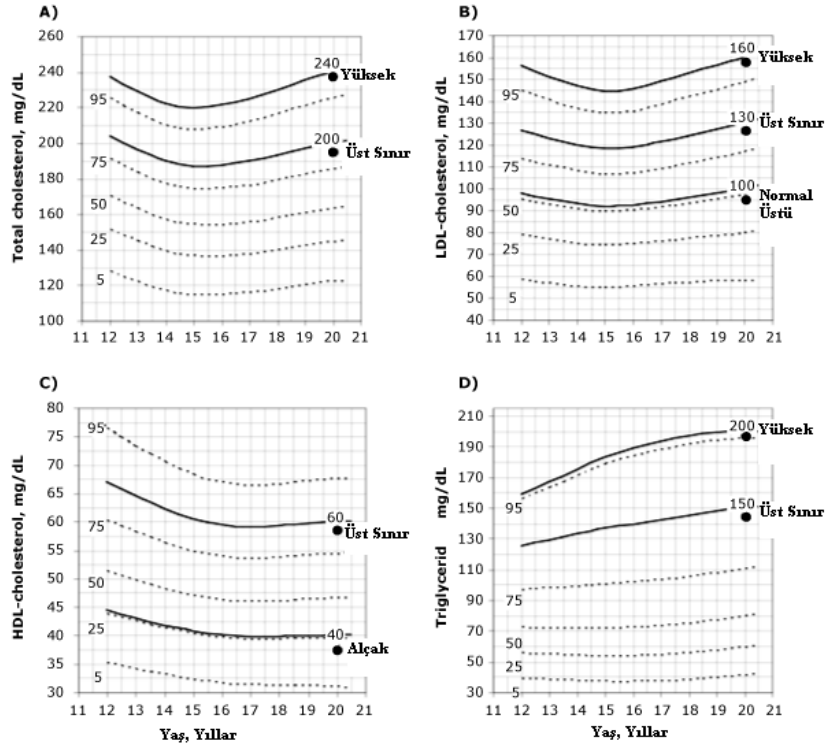
	Hasta grubu n= 38	I. Kontrol Grubu n= 37	II. Kontrol Grubu n= 13	Tüm Grup n= 88
Cinsiyet (Kız/Erkek)	26/12	24/13	5/8	55/33
Yaş (yıl)	11,50±3,61	11,51±3,30	8,15±2,15	11,01±3,48
Vücut Kitle İndeksi (kg/m ²)- SD	6,27±2,79	6,18±3,07*	0,14±1,06	5,29±3,49
Trigliserid (mg/dl)	149,92±64,54*	77,92± 22,87	80±32,67	110±58,63
Total Kolesterol (mg/dl)	181,79±35,6*	145,97±18,19	164±33,49**	164,10±33,29
HDL-kolesterol (mg/dl)	49,58±13,24	49,62±10,04	56,18 ±10	50,44±11,65
LDL-kolesterol (mg/dl)	104,11±26,25*	81,86±15,07	89,64±28,37	92,69±24,52
VLDL-kolesterol (mg/dl)	30,50±13,36**	19,81±27,24	18,36±6,65	24,35±20,68
Total Kolesterol/HDL- kolesterol (mg/dl)	3,89±1,23**	3,03±0,57	2,94±0,51	3,40±1,01

n:birey sayısı, Hasta grubu: Hiperlipidemik obez çocuk, I.Kontrol grubu: Hiperlipidemik olmayan obez çocuk, II.Kontrol: Sağlıklı çocuk. Tablodaki değerler $X \pm SD$ olarak verilmiştir Gruplararası farklılık Student t testi ile incelenmiştir. * $p < 0,001$, ** $p > 0,05$

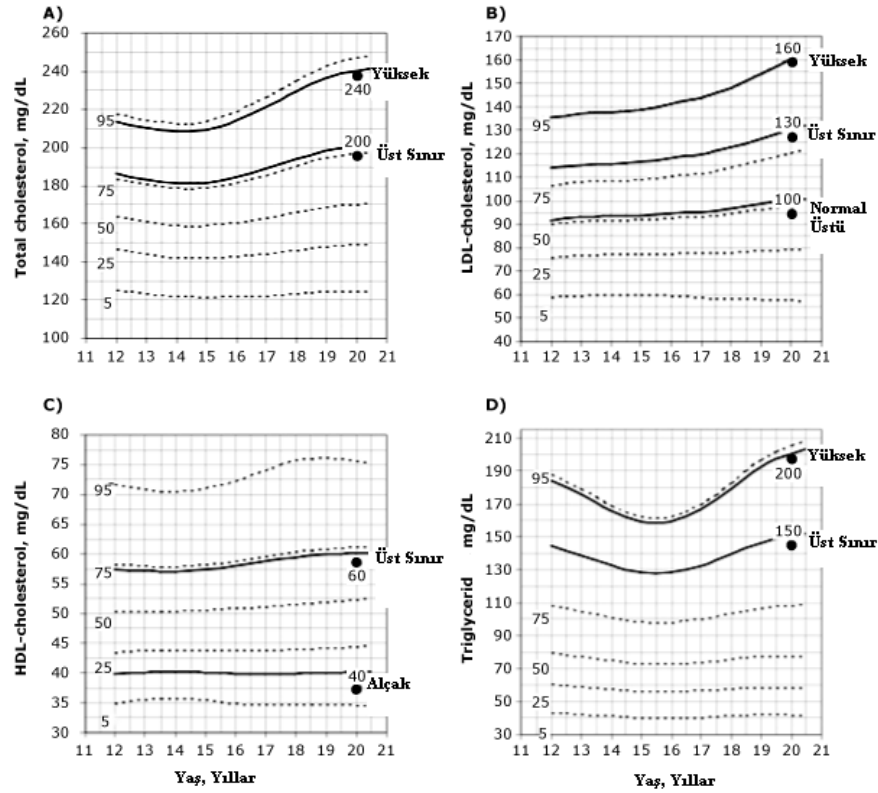
4.1.1 Çalışma ve kontrol grubunun lipid profillerinin değerlendirilmesi

Çalışma ve kontrol grubundaki bireylerin ailelerinden izin alınarak 8-10 saat sabah açlığından sonra alınan kan örnekleri steril EDTA'lı ve kuru tüplere alınmıştır. Apo A-1 geni MspI polimorfizmini saptamak için EDTA'lı tüplerdeki periferik kan lökositlerinden DNA örnekleri elde edilmiştir. Kuru tüplere alınan kan örneklerinden santrifüjleme ile elde edilmiş ve daha sonra ependorf tüplere aktarılmış serumlardan total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol tayinleri yapılmıştır

Kolesterol ve trigliserid değerleri çocukluk döneminde değiştiği için yaşa ve cinse göre persantil verileri kullanılmış ve sınır değer olarak 95. persantil alınmıştır (36). (Şekil 4.1 ve şekil 4.2). Hiperlipidemi ölçütü, serum kolesterol ve/veya trigliserid değerlerinin 95. persantil üzerinde olması olarak tanımlanmıştır. Kontrol grubu VKİ değerleri +2 SDS'den ve serum kolesterol ve/veya trigliserid düzeyleri 95. persantilden düşük olan çocukları içermektedir.



Şekil 4.1: Adölesan Erkeklerin Yaş Bağlı Serum Lipid Düzeyleri İçin Sınır Değerler (36).



Şekil 4.2: Adölesan kızların yaşa bağlı serum lipid düzeyleri için sınır değerler (36).

Yapılan istatistiksel incelemede çalışmaya dahil olan hasta grubundaki çocukların %31,6'sında sadece total kolesterol, % 31,6'sında sadece trigliserid ve % 34,2'sinde ise hem total kolesterol hemde trigliserid düzeyleri yüksek olarak saptanmıştır.

Çalışmamıza hasta grubu olarak 38 hiperlipidemisi olan obez çocuk, I. kontrol grubu olarak 37 hiperlipidemisi olmayan obez çocuk ve II. kontrol grubu olarak obez olmayan ve hiperlipidemisi bulunmayan 13 sağlıklı çocuk katılmıştır. Demografik bilgilerine göre hasta grubunu, I.ve II.kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda, hem I.kontrol grubuna hem de II.kontrol grubuna göre total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol ($p<0.001$), VLDL kolesterol düzeyleri ve total kolesterol/HDL-kolesterol oranı ($p<0.05$) istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Her iki kontrol grubunu kendi arasında karşılaştırdığımızda ise II.kontrol grubunda total kolesterol ($p<0.05$), I.kontrol grubunda ise VKİ-SD ($p<0.001$) düzeyleri anlamlı yüksek saptanmıştır (Tablo4.1).

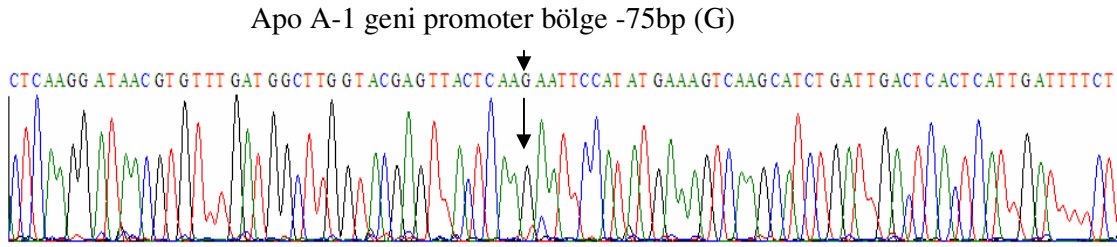
Çalışmamızda, hiperlipidemisi olan obez çocuk hastalarında ve kontrol gruplarında Apo A-1 geninin promotor bölgesinin DNA dizi analizi yapılarak, tüm gruplar tek nükleotid polimorfizmi (SNP) açısından incelenmiştir.

4.2 DNA DİZİ ANALİZİ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR

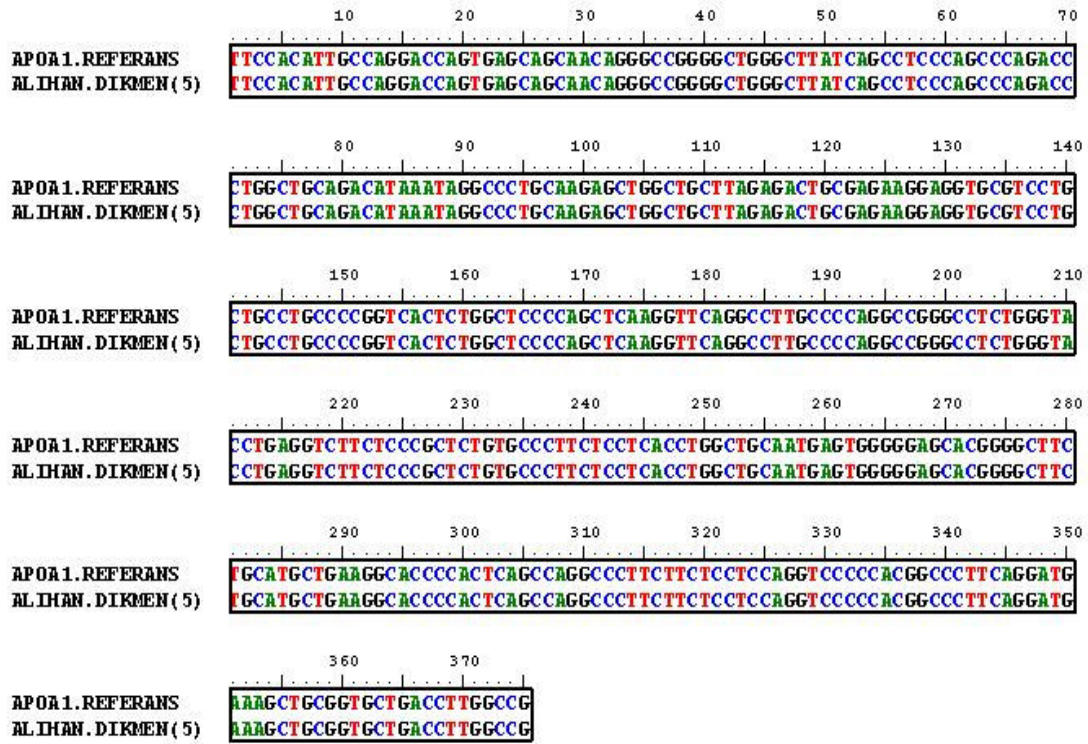
Denatüre Gradient Jel Elektroforez (DGGE) sonucu farklı bant paterni (homodupleks, heterodupleks) gösteren örnekler için DNA Dizi Analizi yapılmıştır [ABI PRISM 310 Otomatik DNA Dizileme Cihazı].

Dizileme sonuçları Proseq ve Bio-Edit bilgisayar programları kullanılarak değerlendirilmiştir. Bio-Edit programında Ensemble referans dizimiz (37). Proseq programından elde ettiğimiz dizileme verilerimiz ile karşılaştırılmıştır ve olası tek nükleotid değişimleri belirlenmiştir.

Ensembl referans dizimize göre (37). Apo A-1 geninin promotor bölgesinde daha önceden belirlenmiş olan -75bp G/A polimorfizm gözlenmiştir. DNA Dizi Analizi farklı paternlerden birini (1 bant) GG homozigot sağlam olarak gösterirken (Şekil 4.3 ve şekil 4.4), diğer paterni (1 bant) ise GA heterozigot mutant (Şekil 4.5 ve şekil 4.6) olarak göstermiştir.

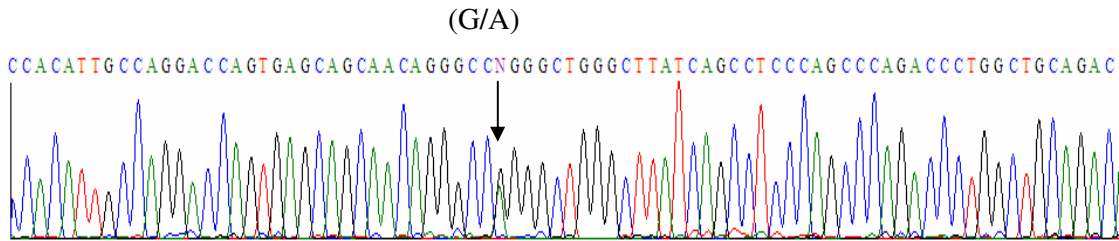


Şekil 4.3: 5 no'lu I. kontrol örneğine ait DNA dizi analizi ve kromotogram görüntüsü

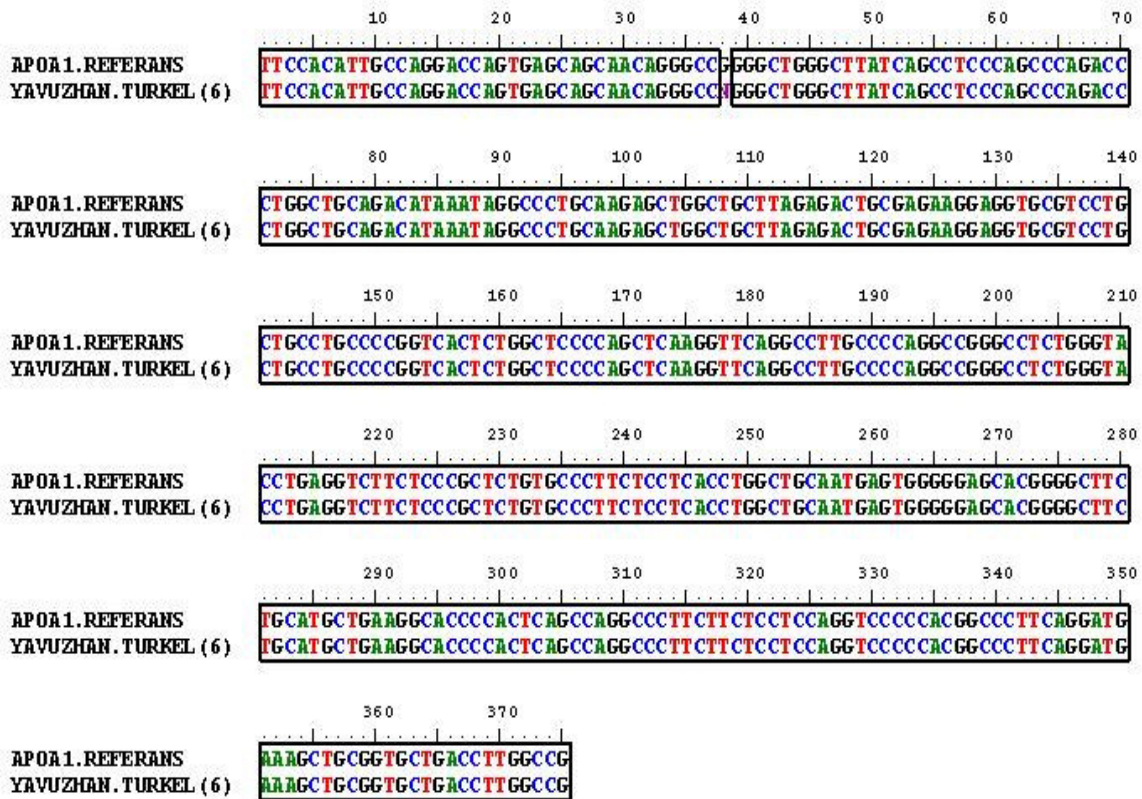


Şekil 4.4: Bio-Edit programında Apo A-1 referans dizisi ile 5 no'lu I. kontrolün karşılaştırılması

DNA dizi analizi sonuçlarına göre 5 no'lu, kontrol I grubuna ait olan 'Alihan DİKMEN' isimli çocuğun Apo A-1 Geni promotor bölgesinde -75bp de ki genotipi homozigot sağlam yani GG dir. Aynı bireyin PCR örnekleri DGGE metodu ile elektroforeze tabi tutulduğunda elde edilen bant tek banttır (Şekil 4.3, Şekil 4.4).



Şekil 4.5: 6. kontrol örneğine ait DNA dizi analizi ve kromotogram görüntüsü



Şekil 4.6: Bio-Edit programında Apo A-1 referans dizisi ile 6, no'lu I. kontrolün karşılaştırılması

DNA dizi analizi sonuçlarına göre 6 no'lu, kontrol I grubuna ait olan 'Yavuzhan TÜRKOĞLU' isimli çocuğun Apo A-1 Geni promotor bölgesinde -75bp de ki genotipi heterozigot mutant yani GA dir. Aynı bireyin PCR örnekleri DGGE metodu ile elektroforeze tabi tutulduğunda elde edilen bant çift banttır (Şekil 4.5, Şekil 4.6).

4.3 İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR

Çalışma grupları G-75A genotip dağılımları açısından karşılaştırıldığında, G-75A polimorfizmine ait allel frekansları hiperlipidemisi olan obez çocuk hasta grubunda, GG %81,6 , GA %15,8, AA %2,6 iken, I. kontrol grubunda; GG % 59.5, GA % 40.5, AA % 0 ve II. kontrol grubunda GG % 69.2, GA % 30.8, AA % 0 olarak bulunmuştur. Çalışma gruplarından sadece hasta grubunda mutant AA genotipine rastlanmıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: Hasta ve kontrol grupları G-75A polimorfizmine ait genotip frekanslarının karşılaştırılması

Apo A-1 geni promoter bölge SNP'leri	Genotip	Hasta grubu n= 38	I. Kontrol grubu n= 37	II. Kontrol grubu n= 13
-75. bp	GG	31(%81,6)	22(%59.5)	9(%69,2)
G /A (G-75A)	GA	6(%15,8)	15(%40.5)	4(%30.8)
SNP	AA	1(2,6)	-	-

n:birey sayısı, Hasta grubu: Hiperlipidemik obez çocuk,

I.Kontrol grubu: Hiperlipidemik olmayan obez çocuk, II.Kontrol: Sağlıklı çocuk.

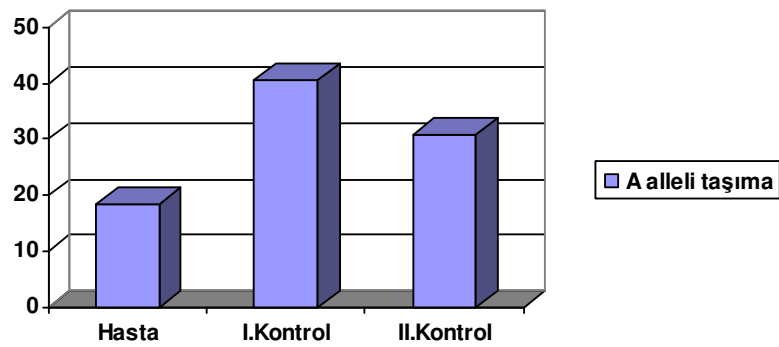
Çalışma grupları G-75A polimorfizmi allel frekansları açısından karşılaştırıldığında, I. kontrol grubunda A alleli (GA+AA genotipleri) taşıma oranı hasta grubuna göre istatistiksel anlamlılık düzeyinde artmış olarak fark saptanmıştır (p:0,035, χ^2 : 4,425, OR:3,019, %95CI: 1,056-8,632) (Tablo 4.3) (Şekil 4.7).

Ayrıca aynı gen bölgesinde görülen diğer bir polimorfizm olan +84C/T değişimi hasta grubundaki 4 vakada (2 kız ve 2 erkek) gözlenmiştir. Bu vakaların hepsinin TT mutant genotipine sahip olduğu saptanmıştır. Ancak vaka sayısı yetersiz olduğu için istatistiksel bir değerlendirme yapılamamıştır.

Tablo 4.3: Hasta ve kontrol grupları G-75A polimorfizmine ait allel frekanslarının karşılaştırılması

Apo A-1 geni promotor bölge SNP'leri	Allel	Hasta grubu n= 38	I. Kontrol grubu n= 37	II. Kontrol grubu n= 13
-75 bp promotor bölge	(GG+GA)			
	G	37 (%81,6)	37 (%100)	13 (%100)
G /A (G-75A) SNP	(AA+GA)			
	A	7(%18.4)	15(%40.5)*	4(%30.8)

n:birey sayısı, Hasta grubu: Hiperlipidemik obez çocuk, I.Kontrol grubu:Hiperlipidemik olmayan obez çocuk, II.Kontrol: Sağlıklı çocuk. *(p:0,035, χ^2 : 4,425, OR:3,019, %95CI: 1,056-8,632)



Şekil 4.7: Hasta grubu, I. kontrol grubu ve II. kontrol grubunda G-75A allel frekanslarının karşılaştırılması (Hasta: %18.4 , I.Kontrol: %40.5, II.Kontrol:%30.8).

Genotiplere göre lipid profilleri karşılaştırıldığında, GA genotipi taşıyan hasta grubunda I. kontrol grubuna göre trigliserid, LDL-kolesterol ve VLDL kolesterol düzeyleri anlamlı yüksek olarak saptanmıştır ($p<0.05$).

GG genotipi taşımaya göre ise hasta grubunda I. kontrol grubuna göre total kolesterol, trigliserid ve LDL düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.001$) (Tablo 4.9).

Hasta ve II. kontrol grubunda GA ve GG genotipi taşıyan bireylerde genotip ayrımı yapılmaksızın trigliserid ve VLDL-kolesterol düzeyleri ile VKİSD değerleri ($p<0,05$) hasta grubunda anlamlı yüksek olarak gözlenmiştir (Tablo 4.9).

Her iki kontrol grubunda genotiplere göre lipid profillerini karşılaştırdığımızda GG genotipi taşıyanlarda II.kontrol grubunda Total kolesterol ve VKİ-SD değerleri ($p<0.05$) I.kontrol grubuna göre, GA genotipi taşıyanlarda I.kontrol grubunda VKİ-SD düzeyleri ($p<0.001$) II.kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Tablo 4.9).

Çalışma gruplarını kendi içlerinde değerlendirdimizde ise, I.kontrol grubunda GA genotipi taşıyanlarda total kolesterol düzeylerinin GG taşıyanlara göre istatistiksel olarak arttığı ($p<0.05$), II.kontrol grubunda GG genotipi taşıyanlarda GA genotipi taşıyanlara göre VLDL-kolesterol düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır ($p<0.05$), (Tablo 4.9).

Tablo 4.4 Çalışma gruplarında Apo A-1 geninin G-75A polimorfizmine ait genotiplerin biyokimyasal parametrelerle karşılaştırılması

GRUP	Hasta	Grubu		I.Kontrol	Grubu	II.Kontrol	Grubu
		GA	AA***				
G-75A genotipleri	GG (n=31)	GA (n=6)	AA*** (n=1)	GG (n=22)	GA (n=15)	GG (n=9)	GA (n=4)
Trigliserid (mg/dl)	145,23 ±68,27*	174,67 ±44,47**	147	78,23 ±24,93	77,47 ±20,31	89,29 ±35,80	63,75 ±20,99
Total Kolesterol (mg/dl)	184,81 ±31,04*	164,17 ±56,24	194	139,82 ±17,25	155 ± 16,06*	164,29 ±38,06*	163,50 ±29,01
HDL-kolesterol (mg/dl)	50,13 ±14,03	51,40 ±10,78	55	48,41 ±9,56	51,40 ±10,79	57,71 ±11,05	53,50 ±8,58
LDL-kolesterol (mg/dl)	103,03 ±28,28*	108,67 ±16,23**	110	78,41 ±13,42	86,93 ±16,37	85,86 ±32,10	96,25 ±22,99
VLDL-kolesterol (mg/dl)	29,58 ±13,90	32,83 ±10,34**	45	22,09 ±35,29	16,47 ±4,41	21 ±6,78*	13,75 ±3,30
VKİ (kg/m²)-SD	6,33 ±2,91*	5,36 ±2,06*	8,81	6,25 ±3,49	6,08 ±2,48**	0,26 ±1,13*	0,12 ±0,95

n:birey sayısı, Hasta grubu: Hiperlipidemik obez çocuk, I.Kontrol grubu: Hiperlipidemik olmayan obez çocuk, II.Kontrol: Sağlıklı çocuk, Gruplararası farklılık Student t testi ile incelenmiştir. Tablodaki değerler X ± SD olarak verilmiştir. *p<0,001, ** p>0,05, ***AA genotipi taşıyan tek bir olgu olduğundan sonuçlar X ± SD olarak verilememiştir

Tablo 4.5’de gösterildiği üzere cinsiyet ayırımına göre grupları değerlendirdiğimizde hasta grubunda yer alan erkek çocuklarda VKİ-SD değerleri kız çocuklara göre artmış olarak saptanmıştır ($p<0.05$). II.kontrol grubunda ise kız çocuklarda LDL-kolesterol düzeyleri erkek çocuklara göre anlamlı yüksek olarak bulunmuştur ($p<0.05$).

Tablo 4.5: Cinsiyet ayırımına göre çalışma gruplarında biyokimyasal parametreler

GRUP	Hasta Grubu		I. Kontrol Grubu		II. Kontrol Grubu	
	Kız (n= 26)	Erkek (n=12)	Kız (n=24)	Erkek (n=13)	Kız (n=5)	Erkek (n=8)
Trigliserid (mg/dl)	146± 51,44	158,42± 87,77	82,13± 22,02	77,15± 23,22	94,75± 32,36	71,57± 32,05
Total Kolesterol (mg/dl)	182,12± 37,19	181,08± 33,61	142,04± 17,23	153,23± 18,34	187,50± 25,96	150,57± 30,89
HDL- kolesterol (mg/dl)	48,92± 11,55	51± 16,83	48,83± 9,74	51,08± 10,80	55,50± 7,33	56,57± 11,80
LDL-kolesterol (mg/dl)	108,96± 24,87	93,58± 27,12	79,46± 14,41	86,31± 15,83	113± 20,22	76,29± 23,77
VLDL- kolesterol (mg/dl)	29,12± 10,37	33,5± 18,48	15,71± 4,51	27,38± 45,73	18,75± 6,50	18,14± 7,24
VKİ (kg/m²)- SD	5,28± 1,77	8,24± 3,45	6,04± 3,25	6,43± 2,83	0,19± 0,94	0,11± 1,19

n:birey sayısı, Hasta grubu: Hiperlipidemik obez çocuk, I.Kontrol grubu: Hiperlipidemik olmayan obez çocuk, II.Kontrol: Sağlıklı çocuk. Gruplararası farklılık Student t testi ile incelenmiştir. Tablodaki değerler X ± SD olarak verilmiştir

5. TARTIŞMA

Polimeraz zincir reaksiyonu, DNA üzerinde istenilen gen bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan bir yöntemdir. Ancak bu metod, belirli uzunluktaki gen bölgelerinin çoğaltılması için ideal olup büyük gen bölgelerindeki mutasyonların saptanmasında yetersiz kalmaktadır. Bu mutasyonların saptanması için kullanılan tekniklerden bir tanesi Denatüre Gradient Jel Elektroforezi (DGGE) tekniğidir.

Çalışmamızda Apo A-1 geni promotor bölgesindeki MspI polimorfizmi ile diğer olası mutasyonların saptanması için Denatüre Gradient Jel Elektroforezi kullanılmıştır.

DGGE metodu, mutasyonun araştırılacağı DNA molekülünün PCR ile çoğaltılması ve denatüre edici madde içeren jel içinde, bu maddenin doğrusal olarak artan konsantrasyonuna karşı elektroforeze tabi tutulması esasına dayanır. Denatüre edici madde olarak çalışmamızda deiyonize formamid ve üre kullanılmıştır. Jel ortamında DNA molekülü denatüre edici konsantrasyon bölgesine eriştiğinde çift sarmal yapısı çözülmeye başlar. Çözülmenin başlayacağı noktayı esas olarak DNA molekülünün baz dizilimi belirler. Bu noktadaki konsantrasyon, o DNA molekülünün en kolay çözülen bölgesinin erime derecesine (Tm) karşılık gelir. Tm, DNA çift sarmalındaki ipliklerin yarı yarıya çözüldüğü sıcaklık derecesini ifade etmektedir.

DGGE tekniği ile, aralarında tek baz farklılığı olan iki DNA segmentini dahi jel içerisinde ayırabilmek mümkündür. Tek nükleotid polimorfizmi (single nucleotide polymorphism; SNP) tayini için heterozigot olan bir bireyin, PCR ile çoğaltılan DNA'sı DGGE ile incelendiğinde jelde 4 ayrı bant ayırt edilebilir. Bunların ikisi normal ve mutant homodupleksler, diğer ikisi de PCR reaksiyonu sırasında ortaya çıkan yanlış eşleştirilmiş (mismatch) baz çiftini içeren heteroduplekslerdir.

Heterodupleks DNA molekülleri, elektroforez sırasında homodupleks DNA moleküllerin gerisinde kalırlar. Yöntemin ana sorunlarından biri aranan mutasyonun DNA dizisinin yüksek Tm'li bölgesi içerisinde kalabilmesidir. Böyle bir durumda mutasyonu içeren ve içermeyen DNA dizileri DGGE'de ayırt edilemeyeceklerdir. Bu sorunu aşmak için incelenecek diziyeye özgü olarak PCR'da kullanılan primerlerden bir tanesine Tm'i yüksek olduğu bilinen 40 baz çifti uzunluğundaki 5'GC dizileri ve böylece mutasyonun araştırılacağı DNA segmenti ise tümüyle düşük Tm bölgesinde kalacaktır.

Çalışmamızda denatüre edici madde olarak konsantrasyonu %40 olan formamid ve konsantrasyonu 7M olan üre kullanılmıştır. Bu tanıma göre, Apo A-1 geni jel gradienti için %40 ve %60'lik denatüran madde solüsyonları hazırlanmıştır. Akrilamid konsantrasyonu,

denatüran madde konsantrasyonunun %40 ve %60 olduğu solüsyonlarda %6 olarak ayarlanmıştır.

Çalışmamızda DGGE uygulaması sonucunda elde ettiğimiz farklı bant paternlerinin ne ifade ettiğini belirlemek için Apo A-I geni promotor bölge ve birinci ekzonun dizi analizi yapılmıştır. Ensembl referans dizimize göre Apo A-I geni MspI polimorfizimlerini araştırmak için kullandığımız pirimerin çoğalttığı bölgede;

Promoter bölge ; -75 bp de Guanin (G)/ Adenin (A) değişimi

Birinci ekzonda; +83 bp Sitozin (C)/ Timin (T) değişimi,

+84 bp de Guanin (G)/ Adenin (A) değişimi

+122bp de Guanin(G)/ Timin(T) değişiminin

olduğu saptanmıştır.

Çalışma grubumuzda +83bp ve +122bp değişimlerine ait bulgular elde edilmemiştir. Yapılan literatür taramalarında Apo A-I birinci ekzon +122 bp değişiminin incelendiği bir çalışma bulunamamıştır.

Çalışmamızda kullandığımız örneklerde -75 bp G/A ve + 83bp C/T polimorfizmine ait değişimlere sahip örnekler belirlenmiştir. Çalışma grubumuzun sayıca azlığı sebebiyle, -75 bp G/A polimorfizmine göre daha seyrek görülen + 83bp (37). Polimorfizmi, hasta grubunda 4 vakada (2 kız, 2 erkek) gözlenmiştir. Bu vakaların hepsinin TT mutant genotipine sahip olduğu saptanmıştır. Ancak vaka sayısı yetersiz olduğu için istatistiksel bir değerlendirme yapılamamıştır.

Bu sebeple çalışmamızda çocukluk çağı ve adolesan dönemde Apo A-I MspI polimorfizmlerinden -75bp G/A değişimi ile plazma lipid profillerinin birarada incelenmesi ve Türk toplumunda bu konudaki olası ilişkilerin incelenmesi yapılmıştır.

Çocukluk döneminde gelişen obezite, ileri yaşlarda görülen kardiovasküler hastalıklar için risk faktörü olan pek çok metabolik bozukluğa sebep olmaktadır. Çocukluk döneminde başlayan bu bozukluklar zamanında fark edilip önlem alınmazsa ileri yaşlarda görülen aterosklerozun başlıca sebepleri olarak tanımlanmışlardır (38,39). Obezite, mortalite ve morbidite gelişiminde tek başına bir risk faktörü olup yalnızca görünüm sorunu değil, aynı zamanda kronik hastalıkları hazırlayıcı bir etmendir (40). Çocukluk ve adolesan dönem obezitesinin erişkin dönem hastalıkları ile ilişkisi bunda önemli rol oynamaktadır.

Ülkemizde obezitenin sıklığı ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıda olmakla birlikte, Kocaoğlu ve Köksal'ın (17) çalışmasında 11-15 yaş arasındaki adolesanlarda yüksek sosyo

ekonomik düzeydeki çocukların %7,4'ü, düşük sosyoekonomik düzeydeki çocukların ise %15,3'ü obez olarak saptanmıştır.

Kanbur ve ark. 2000 yılında 6462 ergende (9-16 yaş) yaptığı bir araştırmada obezite sıklığını %2,3 olarak bulmuştur (18).

Soylu ve ark. 2002 yılında 1024 prepubertal ilkökul çağı çocuklarında yaptıkları bir taramada yüksek gelirli aile çocuklarında obezite görülme sıklığını %1,7, orta gelirli aile çocuklarında %1,9 ve dar gelirli aile çocuklarında %0,5 olarak bulmuşlardır (19).

Türk populasyonunda çocuklarda plazma HDL-kolesterol düzeyleri diğer toplumların plazma HDL-kolesterol düzeyleri ile benzerlik göstermektedir. Ancak Türkler'de yetişkinlik dönemi ile beraber sosyo-ekonomik şartlara bağlı olarak plazma HDL-kolesterol düzeylerinde azalma gözlenmektedir. Yeni doğan Türk çocuklarında plazma HDL-kolesterol batı toplumuna paralel olarak yaklaşık 30 mg/dl seviyesindedir. Yetişkinlik dönemi başlangıcı ile beraber özellikle sosyo-ekonomik durumu yüksek olan ve Avrupa toplumuna benzer diyetle beslenen çocuklarda plazma HDL-kolesterol düzeyi neredeyse yetişkinlere yakın bir düzeye gelecek şekilde bir azalma göstermektedir. Bu azalma erkek çocuklar için plazma HDL- kolesterol düzeyinde yaklaşık 20mg/dl, kız çocuklar için ise yaklaşık 13 mg/dl'lik bir düşüşe karşılık gelmektedir. Bu azalmaya androjen/östrojen dengesindeki değişimler ve sosyoekonomik statüde ki farklılıkların neden olabileceği düşünülmektedir (41).

Carmen Garces ve ark nın 1048 sağlıklı, 6-8 yaş arası İspanyol çocukla yaptıkları çalışmada obezitenin çocukların lipid düzeyleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışmada obez çocukların cinsiyet farkı olmaksızın, obez olmayan çocuklara göre daha yüksek plazma trigliserid ve daha düşük plazma HDL düzeylerine sahip oldukları. Ayrıca aterogenik bir belirteç olarak kabul edilen toplam kolesterol/ HDL oranının obez erkek çocuklarda daha yüksek olduğu belirlenmiştir (42).

Çalışmamıza hasta grubu olarak 38 hiperlipidemisi olan obez çocuk, I. kontrol grubu olarak 37 hiperlipidemisi olmayan obez çocuk ve II. kontrol grubu olarak obez olmayan ve hiperlipidemisi bulunmayan 13 sağlıklı çocuk dahil edilmiştir. Yapılan değerlendirmede hasta grubundaki çocukların %31,6'sında sadece total kolesterol, % 31,6'sında sadece trigliserid ve % 34,2'sinde ise hem total kolesterol hemde trigliserid düzeyleri yüksek olarak saptanmıştır.

Çalışma gruplarımız demografik bilgilerine göre karşılaştırıldığında hasta grubunda yer alan obez ve hiperlipidemisi bulunan çocuklarda I.ve II.kontrol grubuna göre cinsiyet ayrımı yapılmaksızın total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol ($p<0.001$), VLDL kolesterol düzeyleri ve total kolesterol/HDL-kolesterol oranı ($p<0.05$) istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

Çalışma gruplarını cinsiyet ayrımına göre değerlendirdiğimizde hasta grubunda yer alan erkek çocuklarda VKİ-SD değerleri kız çocuklara göre artmış olarak saptanmıştır ($p<0.05$). II.kontrol grubunda ise kız çocuklarda LDL-kolesterol düzeyleri erkek çocuklara göre anlamlı yüksek olarak bulunmuştur ($p<0.05$).

HDL karaciğerde, barsaklarda de novo olarak sentezlendiği gibi VLDL'nin ve şilomikronların yüzey maddesinden üretilmektedir. Apo A-1 fosfolipid diskleri şeklinde bulunan olgunlaşmamış HDL hücrelerden, ABCA1 ve Apo A-1 membran proteinleri aracılığı ile diğer lipoproteinlerden kolesterol toplamaktadır. Bu yapılar, Lesitin Kolesterol Açıl Transferaz (LCAT) enzimi etkisi ile bünyelerine aldıkları kolesterolü esterleştirerek HDL₃'e dönüşürler. HDL₃ kolesterol aldıkça hacmi büyür ve HDL₂'ye dönüşür. HDL₂'nin Apo E ile birleşmesi sonucu HDL₁ meydana gelmektedir. Apo E içeren HDL lipoprotein reseptörleriyle etkileşebilme yeteneğine sahiptir. Bu şekli ile taşıdığı kolesterolün bir kısmını scavenger receptor class B type B1 (çöpçü reseptör sınıf B tip I, SR-BI) plazma reseptörleri aracılığı ile karaciğer ve adrenal bezlere taşıyarak 'Ters kolesterol Transportu' olarak bilinen mekanizmada önemli rol oynamaktadır. Bunun yanı sıra LDL' nin oksidatif modifikasyonu ve endotel hücrelerde sitokin aracılı hücrel adezyon moleküllerinin ekspresyonunu da inhibe ederek kardiovasküler hastalıkların oluşma riskini azaltıcı rol oynamaktadır. Bu özellikler HDL'nin antiaterojenik bir lipoprotein olarak kabul edilmesini sağlamıştır (43). ApoA-1, Apo C-III, Apo A-IV proteinleri lipid bağlayıcı proteinlerin önemli bir sınıfının ekspresyonunu sağlar, bu proteinler plazmada lipidlerin taşınmasını ve lipidlerin süreçlere katılmasını sağlar, dolayısıyla bu proteinlerin ekspresyonunu sağlayan kümesindeki varyasyonlar plazma lipid düzeylerinin değişmesi ile ilişkilendirilir (44). Apo A-1 geni 11. kromozomun uzun kolunda Apo C-III ve apo A-IV genleri ile küme halinde bulunmaktadır. Yapılan birçok çalışmaya göre bu gen kümesindeki mutasyonlar çeşitli lipid anormallikleri ve artan koroner arter hastalıkları riski ile ilişkili bulunmuştur (45,46). HDL ve Apo A-1 plazma düzeyinin yaş, beslenme tarzı, egzersiz, cinsiyet, alkol, ve

sigara kullanımı, vücut kütle indeksi gibi pek çok çevresel faktörden etkilendiği yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (47).

Apo A-1 geni promoter bölgesi -75 bp deki Guanin (G) bazının Adenin (A) bazına değişiminin plazma Apo A-1 ve HDL konsantrasyon düzeyi ile ilişkili olduğu pek çok çalışma ile belirlenmiştir (37,48). Promotor bölge, transkripsiyonun başlangıç bölgesidir. A allelinin Apo A-1 gen transkripsiyonunu arttırdığı çalışmalarda belirlenmiştir. Bu mutasyona sahip bireylerde HDL düzeyi daha yüksek olmaktadır (49). -75 bp de G allel varlığı plazma trigliserid düzeyi yüksekliği ile ilişkilendirilmiştir (49). İn vivo çalışmalarda Apo A-1 -75bp A allelinin artmış Apo A-1 ve HDL kolesterol seviyeleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca aynı gen bölgesinde diğer bir MspI varyantı olan sitozin (C)/timin (T) değişimi ile tanımlanan +83 ve aynı yerde + 84 bp de Guanin(G)/ Adenin (A) değişimi ile tanımlanan bir polimorfizm daha bulunmaktadır. Her üç polimorfizm de kalp hastalıklarının gelişimi ile ilişkili bulunmuştur (50-52).

Qing- He Meng ve ark. Finli 42 erkek ve 44 kadından oluşan çalışmada dietsel değişimler ve Apo A-1 promoter bölge polimorfizminin cinsiyet üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada düşük yağlı kolesterol ve düşük yağlı diet ile beslenen ve G-75A polimorfizmi A alleli taşıyan erkeklerde plazma HDL ve Apo A-1 konsantrasyonlarının ($p < 0,01$) yüksek kolesterol ve yağ içeren diet ile beslenen erkeklere göre daha yüksek plazma Apo A-I ve daha düşük plazma trigliserid düzeyine sahip ($p < 0,05$) olduğunu belirtmişlerdir. Kadınlarda böyle bir bulguya rastlamamışlardır. G-75A polimorfizmi A allelinin Apo A-1 gen ekspresyonunu artırabileceğini böylece Apo A-1 ve HDL' nin plazma konsantrasyonunu artırabileceğini bildirmişlerdir. Cinsiyetler açısından değerlendirme yapıldığında kadınlarda bulunan östrojen hormonu aracılığı ile Apo A-1'ni sentezinin doğuştan yüksek olduğu bildirilmiştir (52).

Zou Yangchun ve ark. 92 Koroner arter hastası ve 45 sağlıklı kontrolden oluşan çalışma grubunda, Apo A-1 geni G-75A ve C+83T polimorfizmlerinin bu bireylerdeki plazma lipid düzeyleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışmada hasta ve kontrol gruplarında allel dağılımı anlamlı derecede farklı bulunmuş olup, kontrol grubunda -75bp A alleli ($p < 0,05$) ve +83T alleli ($p < 0,05$) varlığı hasta grubuna göre daha yüksek belirlenmiştir. -75bp A alleli ve +83T alleli taşıyan bireylerde plazma Apo A-1 ve HDL- kolesterol düzeylerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma sonucuna göre -75bp A alleli ve +83T alleli varlığı koroner arter hastalığı gelişimi için koruyucu bir faktör olduğu ileri sürülmüştür (51).

Çalışma gruplarımızı G-75A polimorfizmi allel frekansları açısından karşılaştırdığımızda, I. kontrol grubunda A alleli (GA+AA genotipleri) taşıma oranını (%40.5) hasta grubuna göre istatistiksel anlamlılık düzeyinde artmış olarak saptanmıştır (p:0,035, χ^2 : 4,425, OR:3,019, %95CI: 1,056-8,632). Bununla beraber, II.kontrol grubunda da A alleli taşıma sıklığı (%30.8) hasta grubuna (%18.4) göre artmıştır. Ama bu farklılık istatistiksel bir değer taşımamakla beraber Zou Yangchun ve ark yaptığı genotip dağılımına benzer olduğu gözlenmiştir.

Yan Qing Ma ve ark. Tip 2 diyabet'li obez 482 hasta ve 167 kontrolden oluşan çalışma grubunda Apo A-1 geni G-75A ve C83T polimorfizmlerinin bu bireylerde HDL kolesterol ve obezite ile ilişkisini incelemiştir. -75A ve +83T allel sıklığı tip 2 diabetli hasta grubu ve kontrol grubunda benzer çıkmıştır. Kontrol grubunda HDL kolesterol seviyeleri -75AA homozigot genotipe sahip bireylerde GG/GA genotipine sahip bireylere göre daha yüksek çıkmıştır (1,74 +/- 0,58 vs. 1,45 +/- 0,58 mmol/l, p<0,001). C83T polimorfizmi, CT heterozigot genotipe sahip sağlıklı erkeklerde HDL kolesterol düzeyi CC homozigot genotipe sahip bireylere göre daha yüksek belirlenmiştir (1,71 +/- 0,57 vs. 1,25 +/- 0,30 mmol/l, p: 0,001). Bu ilişki kadınlarda belirlenmemiştir. Diyabet hastalarında CT heterozigot genotipli bireylerin, CC homozigot genotipli bireylere göre vücut kitle indekslerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir (BMI; 23,8+/- 3,9 vs. 25,4 +/- 4,7kg/ m², P =0,048) (144). Bu çalışmada +83 C/T polimorfizmi obezite ile ilişkilendirilmiştir (52).

Rafael F. Carmena- Ramon ve ark. nın 69 ailesel hiperkolesterolemili hasta üzerinde yaptıkları çalışmada günlük beslenme programlarında 300mg kolesterol ve %10 doymuş yağ tüketen hastaların dördüncü hafta sonundaki lipid değerleri ölçülmüş ve Apo A-I -75 bp polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, GA genotipine sahip bireylerin total kolesterol (p<0,0036) ve LDL-kolesterol (p=0,0023) düzeylerinin GG genotipine sahip bireylere göre cinsiyetten bağımsız olarak daha düşük olduğunu saptamışlardır (53).

X.L. Wang. ve ark. 18-67 yaş arası 243 sağlıklı yetişkin ve 6-12 yaş arası 100 sağlıklı çocuktan oluşan çalışma gruplarında Apo A-I geni MspI polimorfizmlerinin plazma lipid düzeyleri üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada, +83 bp C/T polimorfizminin yetişkin erkek ve cinsiyet ayrımı gözetmeksizin çocuklarda, trigliserid ve LDL- kolesterol düzeyleri ile ilişkili olmadığını, kadınlarda ise +83 CT genotipine sahip bireylerin, CC genotipine göre HDL- kolesterol düzeylerinin %18.3 oranında daha yüksek olduğunu (p< 0,01). Ayrıca yetişkinlerde -75 AA genotipine sahip olan yetişkin bireylerin HDL-

kolesterol düzeylerinin GG genotipli bireylere göre daha yüksek olduğunu gözlemlemiştirlerdir ($p<0,05$). Bu bilişki çocuklarda gözlemlenmiştir. -75 bp G/A polimorfizmi ile plazma trigliserid, LDL-Kolesterol düzey değişimleri arasında ilişki bulamamışlardır. Çalışmanın sonucunda + 83 C/T polimorfizminin -75G/ polimorfizmine göre plazma HDL-kolesterol düzey değişikliği üzerinde daha fazla etkili olduğunu saptamışlardır (54).

Çalışmamızda, X.L Wang ve ark. yaptığı çalışmaya karşıt bulgular elde edilmiştir. genotip dağılımlarına göre lipid profilleri karşılaştırıldığında, GA genotipi taşıyan hasta grubunda I. kontrol grubuna göre trigliserid, LDL-kolesterol ve VLDL kolesterol düzeyleri, II. kontrol grubuna göre ise trigliserid, VLDL-kolesterol düzeyleri ile VKİSD değerleri ($p<0,05$) anlamlı yüksek olarak saptanmıştır ($p<0,05$).

Çalışma gruplarını kendi içlerinde değerlendirdiğimizde ise, I.kontrol grubunda GA genotipi taşıyanlarda total kolesterol düzeylerinin GG taşıyanlara göre istatistiksel olarak arttığı ($p<0,05$), II.kontrol grubunda ise GG genotipi taşıyanlarda GA genotipi taşıyanlara göre VLDL-kolesterol düzeylerinde artış olduğu gözlenmiştir($p<0,05$).

Yaptığımız istatistiksel değerlendirmede çalışma gruplarında genotip dağılımı ile HDL-kolesterol düzeyleri arasında bir ilişki bulunamamıştır. Bizim bulgularımızın aksine Yan Qing Ma ve ark. (53), Zou Yangchun ve ark. (52) ve XL Wang ve ark.(54) yaptıkları çalışmalarda -75AA genotipi ve A alleli ile yüksek HDL-kolesterol düzeyleri arasında ilişki saptamışlardır.

Chun-Fang Xu ve ark. nın 8-11 yaş arası 204 İtalyan çocuk ile yaptıkları çalışmada; Apo A-I geni -75 bp G/A polimorfizmi ile çocukların plazma lipid düzeyleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda düşük kolesterol ve düşük yağlı diet ile beslenen erkek çocuklarda A allelini taşımanın plazma kolesterol ve LDL- kolesterol düzeylerinin daha yüksek olması ile ilişkili olduğunu belirlemiştirlerdir. Kız çocuklarında böyle bir ilişkiye rastlanmamıştır. Ayrıca çalışmada her iki cinsiyet için, A allel varlığı ile plazma HDL-kolesterol düzeyi değişimi ile anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (55).

Çalışmamızda, Chun-Fang Xu ve ark. (55) çalışmasına benzer bulgular elde edilmiş olup, -75GA genotipi taşımanın obeziteden bağımsız olarak çocuklarda artmış plazma trigliserid, LDL-kolesterol ve VLDL kolesterol düzeyleri ile ilişkili olduğu izlenimi elde edilmiştir.

E. de França ve ark.'nın 414 Brezilyalı sağlıklı çocukla yaptığı çalışmada (5-15 yaş, ortalama 8,09-/+ 2,9 yaş) Apo A-I G-75A ve C+84T polimorfizmlerinin çocuklarda serum lipid düzeyleri ile anlamlı bir ilişki belirlenememiştir (56).

Bu çalışmalardan farklı olarak Jonathan D. Smith ve ark. yaptıkları çalışmada ise

-75A allel varlığının Apo A-I üretim oranını azalttığı belirlenmiştir. Bu durumun olası mekanizması hakkında iki temel görüş ne sürülmektedir;

1-A allel varlığının apo A-I geni promoter bölgesine bağlanan trans-acting faktörlerin bağlanma afinitesini azaltıyor olabilmektedir.

2- Genin transkripsiyon bölgesindeki protein-protein etkileşimlerini, DNA'nın ikincil yapısını değiştirdiğini

Bu sebeple ise -75 A alle varlığının plazma Apo A-I ve dolayısı ile HDL düzeylerini azalttığı düşünülmektedir (57).

Kısaca: Apo A-I geni promotor bölge – 75 bp G/A polimorfizmi ile I. ekzonda yer alan (56), +83 C/T ve +84 G/A polimorfizmlerinin plazma lipid düzeyleri ile yakında ilişkili olduğu fakat bu değişimlerin beslenme, yaş, cinsiyet, genetik özellikler ile değişim gösterebildiği belirlenmiştir.

Sonuç olarak;

- Yapılan değerlendirmede hasta grubundaki çocukların %31,6'sında sadece total kolesterol, % 31,6'sında sadece trigliserid ve % 34,2'sinde ise hem total kolesterol hemde trigliserid düzeyleri yüksek olarak saptanmıştır.
- Hasta grubunda yeralan obez ve hiperlipidemisi bulunan ocuklarda I.ve II.kontrol grubuna göre cinsiyet ayrımı yapılmaksızın total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol ($p<0.001$), VLDL kolesterol düzeyleri ve total kolesterol/HDL-kolesterol oranı ($p<0.05$) istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.
- Hasta grubunda yer alan erkek ocuklarda VKİ-SD değerleri kız çocuklara göre artmış olarak saptanmıştır ($p<0.05$).
- II.kontrol grubunda ise kız ocuklarda LDL-kolesterol düzeyleri erkek çocuklara göre anlamlı yüksek olarak bulunmuştur ($p<0.05$).

- I. kontrol grubunda A alleli (GA+AA genotipleri) taşıma oranını (%40.5) hasta grubuna göre istatistiksel anlamlılık düzeyinde artmış olarak saptanmıştır (p:0,035, χ^2 : 4,425, OR:3,019, %95CI: 1,056-8,632).
- GA genotipi taşıyan hasta grubunda I. kontrol grubuna göre trigliserid, LDL-kolesterol ve VLDL kolesterol düzeyleri, II. kontrol grubuna göre ise trigliserid, VLDL-kolesterol düzeyleri ile VKİSD değerleri (p<0,05) anlamlı yüksek olarak saptanmıştır (p<0,05).
- I.kontrol grubunda GA genotipi taşıyanlarda total kolesterol düzeylerinin GG taşıyanlara göre istatistiksel olarak arttığı (p<0,05) gözlenmiştir.
- II.kontrol grubunda ise GG genotipi taşıyanlarda GA genotipi taşıyanlara göre VLDL-kolesterol düzeylerinde artış olduğu gözlenmiştir(p<0,05).
- İstatistiksel değerlendirmede çalışma gruplarında genotip dağılımı ile HDL-kolesterol düzeyleri arasında bir ilişki bulunamamıştır.
- Çalışmamızda -75GA genotipi taşımanın obeziteden bağımsız olarak çocuklarda artmış plazma trigliserid, LDL-kolesterol ve VLDL kolesterol düzeyleri ile ilişkili olduğu izlenimi elde edilmiştir

Çalışmamızda DGGE yöntemine göre yeni polimorfizm belirlenmemiş olup, -75 GA genotipine sahip çocukların obeziteden bağımsız olarak plazma total kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserid, VLDL-kolesterol düzeylerindeki artış ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda -75 GA genotipinin HDL-kolesterol düzeyi ile ilişkisi saptanmamıştır. Gerek daha önce yapılan çalışmalar gerekse bizim çalışmamızda Apo A-I geni promotor bölge polimorfizmlerinin, metabolik süreçte ekzojen lipidlerin metabolizmasında, plazma lipid düzeyleri üzerinde etkili olabilmektedir. Metabolik süreçte Apo A-I üretimini değiştiren promotor bölge polimorfizminin yanında, Apo A-I in plazma yarı ömrü de önem kazanmaktadır. Apo A-I in plazma ömrünü etkileyen en önemli faktörlerin başında beslenme gelmektedir. Yaptığımız çalışmada, araştırmaya katılan çocukların beslenme durumları değerlendirmeye alınmamıştır.

Bu çalışmanın hasta ve kontrol sayısı arttırılarak çalışılması ile bulguların istatistiksel olarak geçerliliği arttırılacaktır. Ayrıca vaka sayısı arttırılarak bu çalışmada gözlemlenmemiş olan diğer Apo A-I MspI polimorfizmlerinin de, Türk çocuklarında lipid değerlerine etkisinin daha anlamlı bir biçimde araştırılması amaçlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Strauss R, Childhood obesity; *Curr Probl Pediatr* 1999; **29**:5-29.
2. Rosenbaum M, Leibel R; Obesity in childhood ; *pediatrics*.1989; **2**:151-159.
3. Chant A, Albers H., Brunzell JD, Very low density lipoprotein overproduction in genetic forms of hypertriglyceridemia. *Eur J Clin Invest* 1980; **10**:17.
4. Koba S, Sasaki J, Treatment of hyperlipidemia from japanes evidence. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*;2006; **13**:267-280.
5. Thomas N. Tulenko, Anne E. Sumner, The physiology of lipoproteins. *J Nucl Cardiol* 2002; **9**:638-49
6. Barter P, Kastelein J, Nunn A, Hobbs R, High density lipoproteins and atherosclerosis:the unanswered questions *Atherosclerosis* 2003; **168**:195-211.
7. Fazio S, Linton M, Apolipoprotein AI as therapy for atherosclerosis: does the future of preventive cardiology include weekly injections of the HDL protein. *Molecular interventions* 2003; **3**:8.
8. Brouillette C, Anantharamaiah G M, Engler J, Borhani D, Structural models of human apolipoprotein A-I: a critical analysis and review. *Biochimia et Biophysica Acta* 2001; **1531**:4-46.
9. Frank P G, Marcel Y. L, Apolipoprotein A-I: structure–function relationships; *Journal of Lipid Research* 200; **41**.
10. Arshag D. Mooradian, Michael J. Haas, Norman C. W. Wong. The Effect of Select Nutrients on Serum High-Density Lipoprotein Cholesterol and Apolipoprotein A-I Levels; *Endocrine Reviews* 27; **1**:2–16.
11. Suviolahti E, Lijia H, Pajukanta P, Unraveling the complex genetics of familial combined hyperlipidemia, *Annals of Medicine* 2006; **38**:337-351.
12. Groenendijk M, . Cantor R, Tjerk W.A. de Bruin, Geesje M. Dallinga-Thie, The apoAI-CIII-AIV gene cluster; *Atherosclerosis* 2000; **157**:1–11.
13. Richard J. Deckelbaum and Christine L. Williams. Childhood obesity: the health issue. *Obes Res*. 2001; **9**:239S–243S.
14. Alemzadeh R, Lifshitz F, Marcel Dekker, Childhood obesity In: *Pediatric Endocrinology* 2003; **4**: 823-858.
15. Lobstein T, Baur L, Obesity in children and young people a crisis in public health; *obesity reviews* 2004; **5**:4-85.

16. Noller D. T, Paulk D, Childhood obesity Curbing an American epidemic; *JAAPA* 2005; **18**; 12.
17. Kocaoğlu B, Köksal O,. Sosyo-Ekonomik Koşulların Adölesanlarda Büyüme, Gelişme ve Şişmanlık Üzerine Etkisi. *Beslenme ve Diet Dergisi* 1985; **14**: 25-37.
18. NO Kanbur ve ark. Int. J Adolesc. Med. Health 2002; *Jan-Mar*; **14**; **1**: 61-65.
19. Soylu A. ve ark. *Pediatr. Int.* 2000, *Feb*; **42**; **1**: 37-42.
20. Weiss R, The metabolic consequences of childhood obesity; *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2005; **19**; 405-419.
21. Nisoli E, Carruba M, Emerging aspects of pharmacotherapy for obesity and metabolic syndrome, *Pharmacological research* 2004; **50**; 453-469.
22. Lobstein T, Baur L, Obesity in children and young people a crisis in public health; *obesity reviews* 2004; **5**; 4-85.
23. June K. Lloyd. Hyperlipidaemia in children; *British Heart Journal*, 1975; **37**; 105-II4.
24. Jain K, Kathiravan M, somani R, Shishoo C, The Biology of hyperlipidemia, *Bioorganic & Medical Chemistry* 2007; **15**; 4674-4699.
25. Rashid S, Genest J. Effect of Obesity on High-density Lipoprotein Metabolism; *Obesity* 2007; **15**; . 12
26. Slyper A, Childhood obesity adipose tissue distribution and the pediatric practitioner *Pediatrics* 1998; **102**; 1-10.
27. Kontush A, Chapman M. J. Functionally Defective High-Density Lipoprotein: A New Therapeutic Target at the Crossroads of Dyslipidemia, Inflammation, and Atherosclerosis; *Pharmacol Rev* 2006; **58**; 342–374,
28. Daniel J. Rader. Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies; *Citation for this article: J. Clin. Invest.* 2006: **116**: 3090–3100 2006.
29. Lewis G, Rader D, New insights the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport, *Circ Res* 2005; **96**; 1221-1232.
30. Shah P, Chyu K, Apoipoprotein A-I mimetic peptides: potential role in atherosclerosis managment, *Trends Cardiovasc Med* 2005; **15**; 291-296.32.
31. Dullens S, Plat J, Mensink R, Increasing apoA-I production as a target for CHD risk reduction; *Nutrition Metabolism & Cardiovascular Diseases* 2007; **17**; 616-628.
32. Hargrove G, Junco A, Wong N, Hormonal regulation of apolipoprotein AI, *Journal of molecular endocrinology* 1999; **22**; 103-111.

33. Meng Q, Pajukanta P, Valsta L, Pietinen P, Tikkanen M, Influence of apolipoprotein polymorphism on lipid levels and responses to dietary change Finnish adults; *Journal of Internal Medicine* 1997; **241**; 373-378.
34. Abrams ES, Tanton VP. Use of denaturing gradient gel electrophoresis to study conformational transitions in nucleic acids. *Meth Enzymol* 212: **71-104** (1992).
35. Jolliffe, CJ, Janssen, I. Distribution of lipoproteins by age and gender in adolescents. *Circulation* 2006; 114:1056.
36. www.ensembl.org.
37. Wang X.L, Liu S-X, McCredie R.M, Wilcken D.E.L., polymorphisms at the 5'-end of the apolipoprotein AI gene and severity of coronary artery disease, *J. Clin. Invest* 1996; **98**; 372-377.
38. Friedland O, Nemet D, Gorodnitsky N, Wolach B, Eliakim A. Obesity and lipid profiles in children and adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2002; **15**: 1011– 6.
39. Freedman DS, Khan LK, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics.* 2001; **108**: 712– 8.
40. Seidman DS, Laor A, Gale R, Stevenson DK, Dang YL. A Longitudinal study of birth weight and being overweight in late adolescence. *Am J Dis Child* 1991; **145**: 782-785.
41. Mahley RW, Arslan P, Pekcan G, Pepin GM, Agacdiken A, Karaoglu N ve ark. Plasma lipids in Turkish children: impact of puberty, socioeconomic status, and nutrition plasma cholesterol and HDL *J lipid Res* 2001; **42(12)**: 1996-2006.
42. Carmen Garce´s, Gutierrez-Guisado J, Benavente M, Cano B, Viturro E, Ortega H, Obesity in Spanish Schoolchildren: Relationship with Lipid Profile and Insulin Resistance, *Obes Res.* 2005; **13**: 959 –963.
43. Calabresi L, Gomaschi M, Franceschini G, Endothelial Protection by High-Density Lipoproteins: From Bench to Bedside; *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; **23**; 1724-1731.
44. Rye K, Barter P, Formation and Metabolism of Prebeta-Migrating, Lipid-Poor Apolipoprotein A-I; *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; **24**; 421-428
45. Yancey P.G, Bortnick A.E, Kellner-Weibel G, Philips M, Rothblt G, Importance of cellular cholesterol efflux, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; **23**; 712-729.

46. F Cardona, F J Tinahones, E Collantes, A Escudero, E Garcí'a-Fuentes, F J Soriguer., Contribution of polymorphisms in the apolipoprotein AI-CIII-AIV cluster to hyperlipidaemia in patients with gout; *Ann Rheum Dis* 2005;**64**:85–88.
47. Meng Q, Pajukanta P, Valsta L, Pietinen P, Tikkanen M, Influence of apolipoprotein polymorphism on lipid levels and responses to dietary change Finnish adults; *Journal of Internal Medicine* 1997;**241**:373-378.
48. Vollbach H, Heun R, Morris C, Edwardson J, Jessen F, Maier W, ApoAI polymorphism influences risk for early-onset nonfamilial AD, *Ann Neurol.* 2005;**58**:436-441.
49. Sigurdsson JR G, Gudnason V, Sigurdsson G, Humphries SE, Interaction between a polymorphism of the apo A-1 promoter region and smoking determines plasma levels of HDL and apo A-I, *Arterioscler Thromb* 1992;**12**:1017-22.
50. Shioji K, Mannami T, Kokubo Y, Goto Y, Nonogi H, Iwai N, An association analysis between apoA1 polymorphisms and the high-density lipoprotein (HDL) cholesterol level and myocardial infarction (MI) in Japanese *J. Hum. Genet.* 2004;**49**:433-439.
51. Yangchun Z, Dayi H, Xinchun Y, Xingyuan J, Lefeng W, Liang C, Xiaohu L, Mingming G, Zhimin X, Relationship among apolipoprotein A1 gene polymorphisms lipid levels and coronary atherosclerosis disease, *Chinese Medical Journal* 2003;**116**(5):665-668.
52. Yan Qing Ma, G Neil Thomas, Maggie C. Y. Ng, Julian A. J. H. Critchley, Clive S. Cockram, Juliana C. N. Chan and Brian Tomlinson, Association of two apolipoprotein A-I gene *MspI* polymorphisms with high density lipoprotein (HDL)-cholesterol levels and indices of obesity in selected healthy Chinese subjects and in patients with early-onset type 2 diabetes; *Clinical Endocrinology* (2003) **59**, 442–449.
53. Carmena R, Ordovas J, Ascaso J, Real J, Priego M, Influence of genetic variation at the apo A-I gene locus on lipid levels and response to diet in familia hypercholesterolemia *Atherosclerosis* 1998;**139**:107-113.
54. X.L. Wang, R. Badenhop, K.E. Humphrey, and D.E.L. Wilcken, New *MspI* Polymorphism at +83 bp of the Human Apolipoprotein AI Gene: Association With Increased Circulating High Density Lipoprotein Cholesterol Levels; *Genetic Epidemiology* 1996; **13**:1-10.
55. Chun-Fang Xu, Angelico F, Maria Del Ben, Humphries, Role of genetic variation at the Apo AI-CIII-AIV gene cluster in determining plasma Apo AI levels in boys and girls, *Genetic Epidemiology* 1992;**14**:140-145.

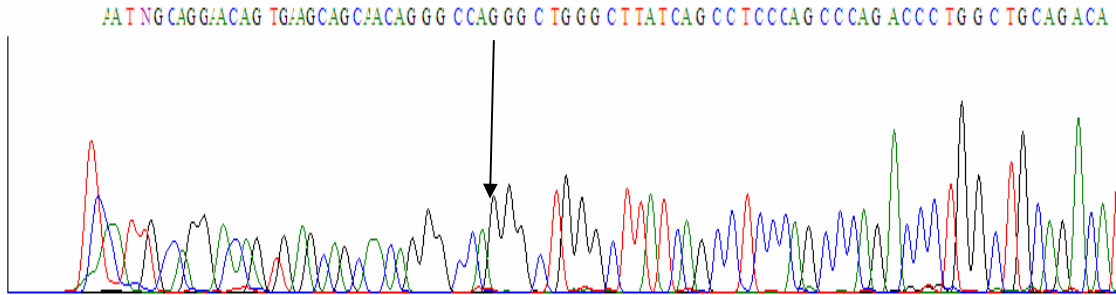
56. E. de França, J.G.B. Alves² and M.H. Hutz¹, APOA1/C3/A4 gene cluster variability and lipid levels in Brazilian children; *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2005; **38**: 535-541.

57. Smith J, Brinton E, Breslow J, polymorphism in the human apolipoprotein A-I gene promoter region *J. Clin. Invest.* 1992;**89**:1796-1800.

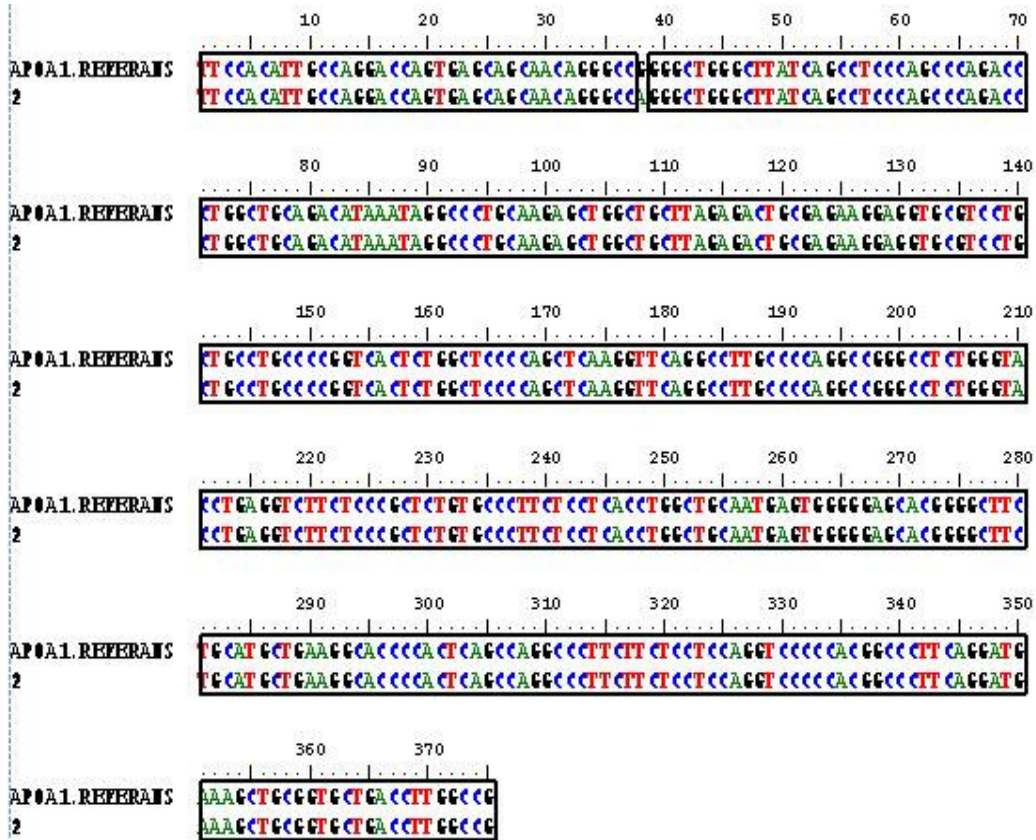
HAM VERİLER

1. Dizilemesi yapılan örneklere ait kromotogramlar

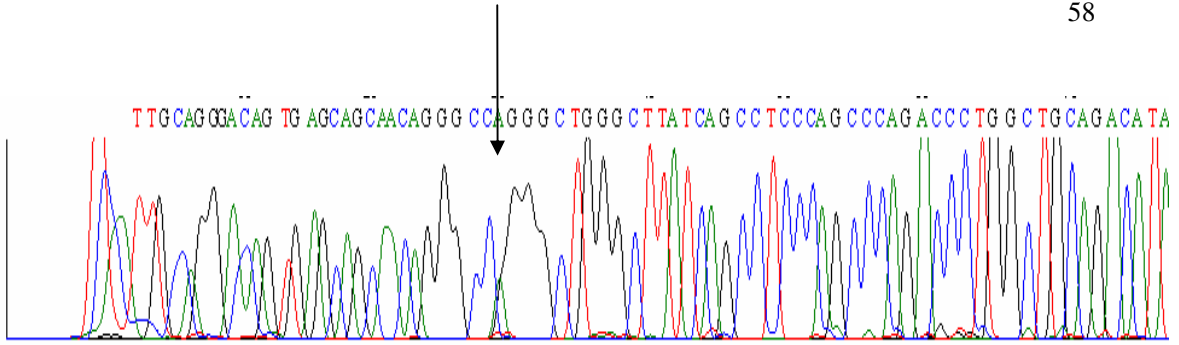
(-) 75 bp. G/A



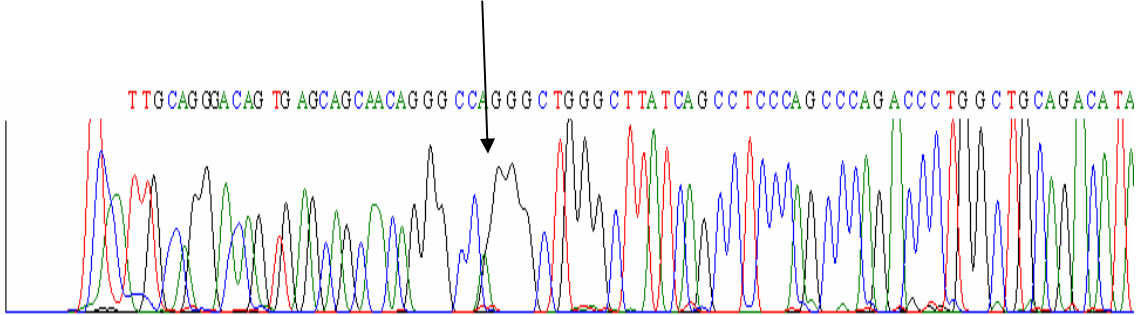
Şekil 1. 2 nolu örnek Murat SAĞLIK' a ait kromotogram



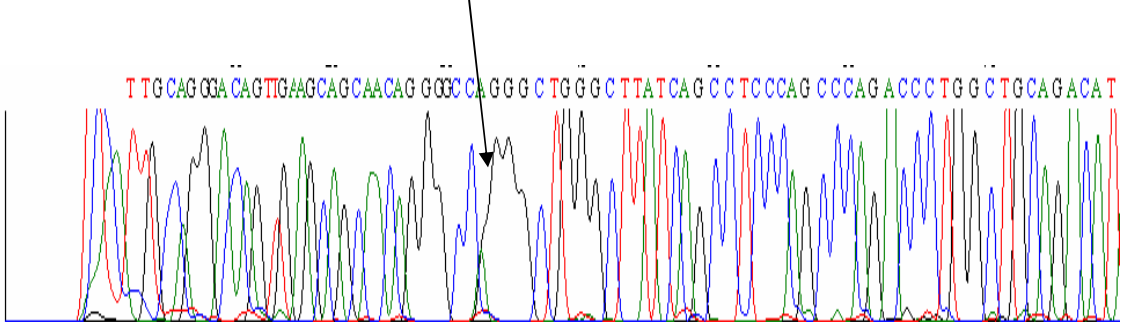
Bu örneğin dizileme sonucu: apo A-I geni promotor bölge polimorfizmi (-75 bp) homozigot mutant (AA) 'dır.



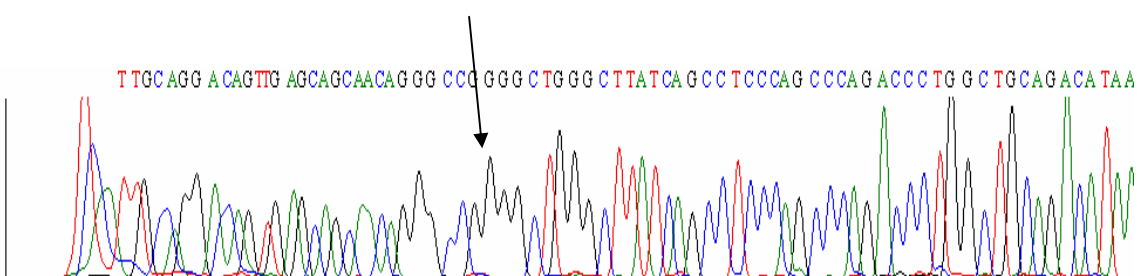
Tablo 5.1. 7 nolu örnek Betül Bursa'ya ait dizileme sonucu GA



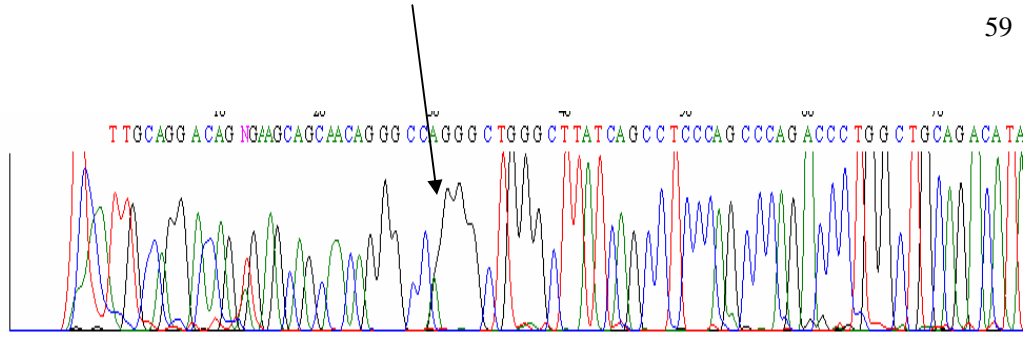
Tablo 5.2. 11 nolu örnek Şebnem Koçarlan'a ait dizileme sonucu GG



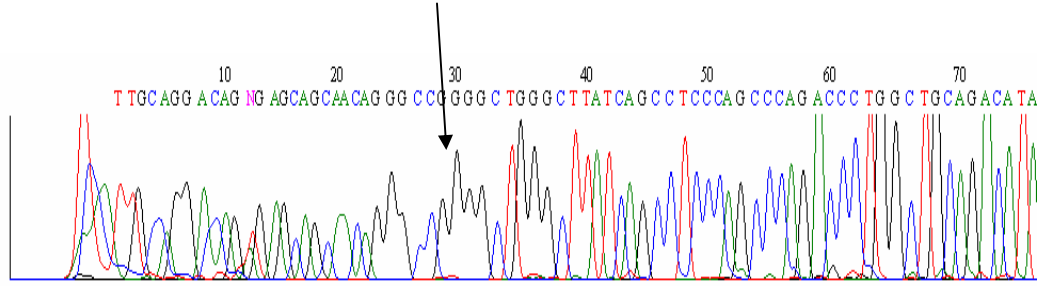
Tablo 5.3. 13 nolu örnek Berk Şenova'ya ait dizileme sonucu GA



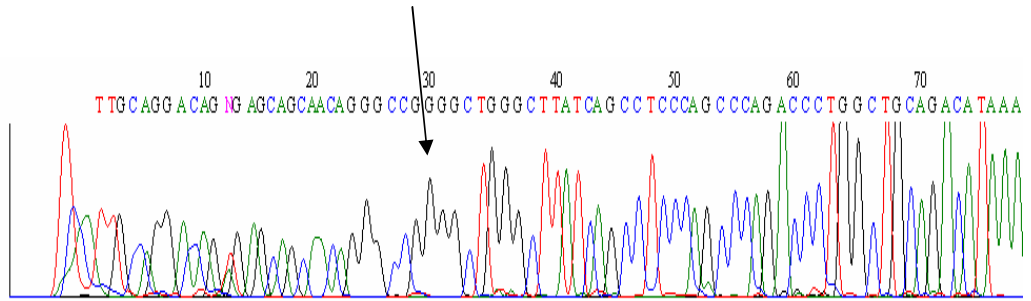
Tablo 5.4 14 nolu örnek Emre Dinç'e ait dizileme sonucu GG



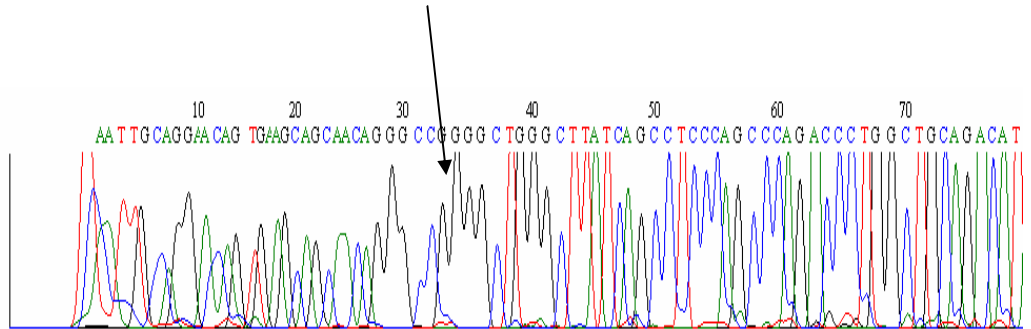
Tablo 5.6. 15 nolu örnek Eslem Nur Dişçi'ye ait dizileme sonucu GA



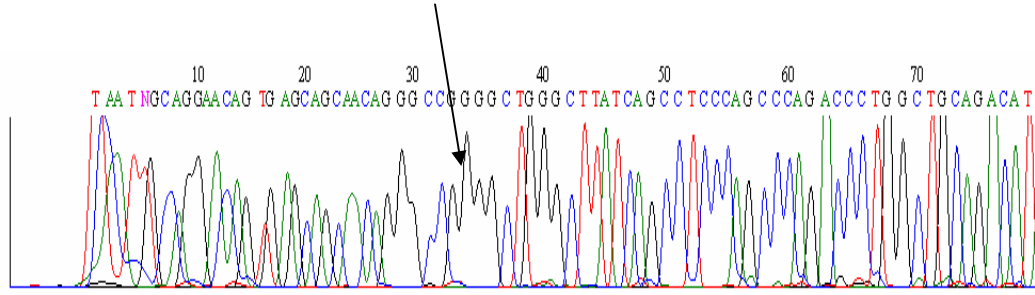
Tablo 5.7. 16 nolu örnek Elanur Güngör'e ait dizileme sonucu GG



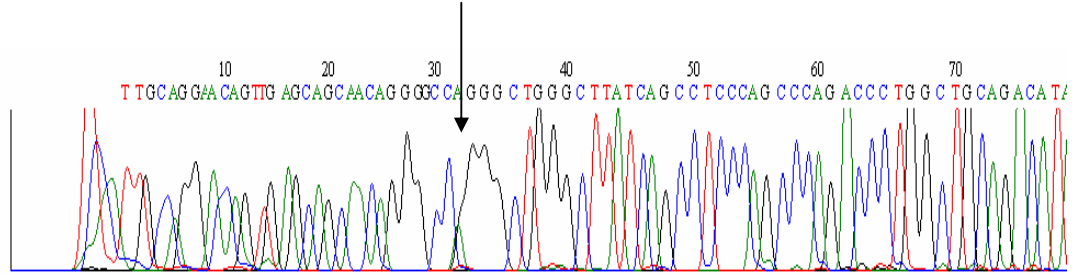
Tablo 5.8. 17 nolu örnek Ecenur Kalfa'ya ait dizileme sonucu GG



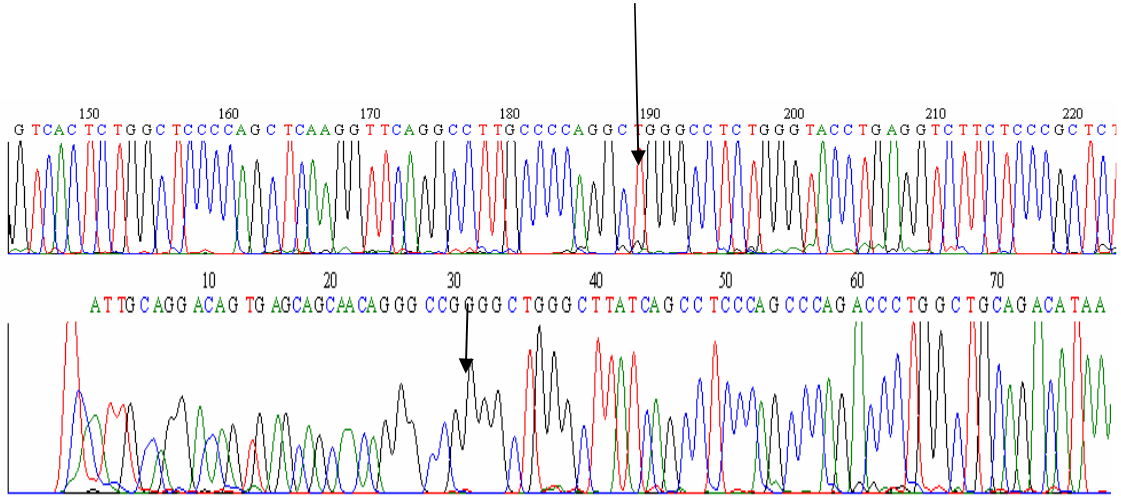
Tablo 5.9. 14 nolu örnek Emre Dinç'e ait dizileme sonucu GG



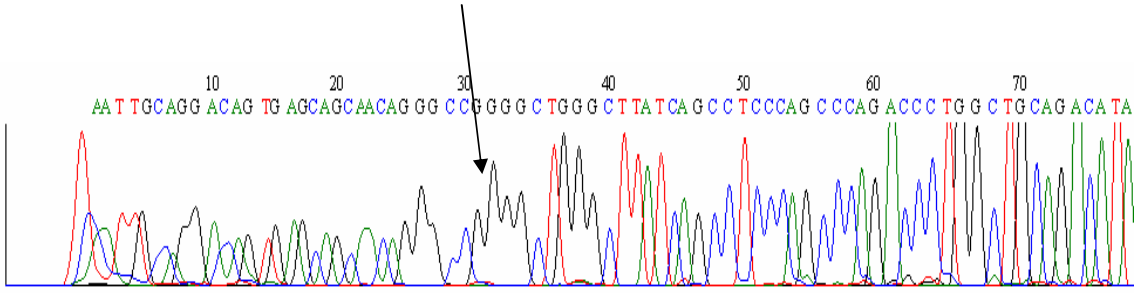
Tablo 5.10. 26 nolu örnek Aşkınbur Damla Güvenkaya'ya ait dizileme sonucu GG



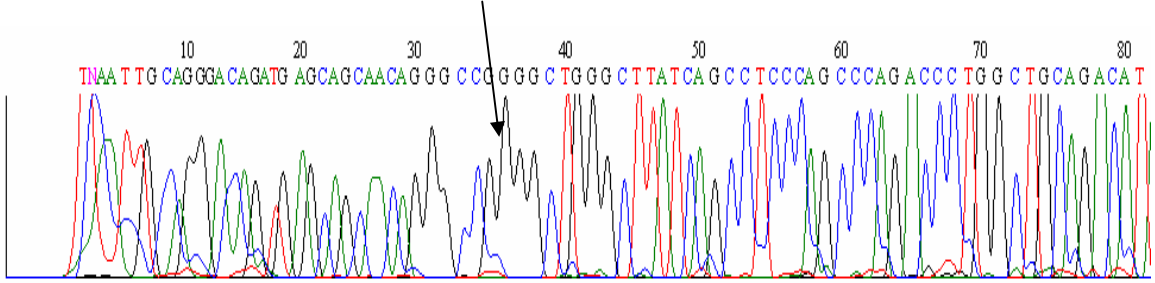
Tablo 5.11. 28 nolu örnek Damla Usanmaz'a ait dizileme sonucu GA



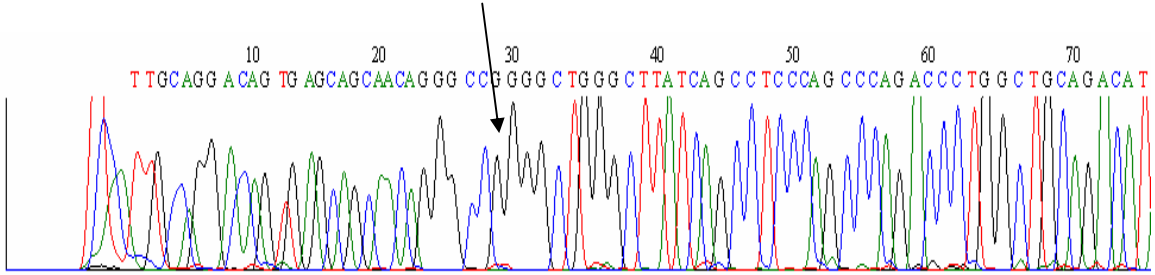
Tablo 5.12. 38 nolu örnek Rana Sert'e ait dizileme sonucu – 75 GG ayrıca bu örnekte promoter bölge +83 bp de daha önceden belirlenmiş olan bir başka polimorfizim de bulunmuştur hasta bu polimorfizme göre +83 TT homozigot mutanttır.



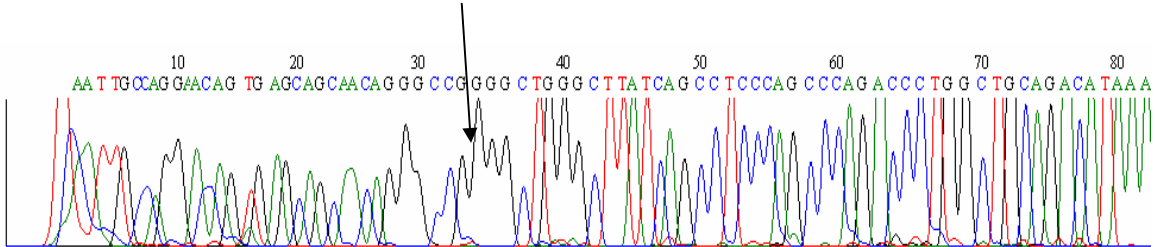
Tablo 5.13. 35 nolu örnek Canse Elmas'a ait dizileme sonucu GG



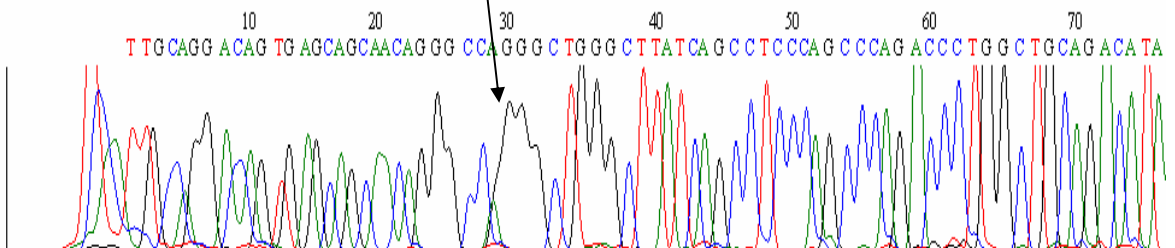
Tablo 5.14. 38 nolu örnek Rana Sert'e ait dizileme sonucu GG



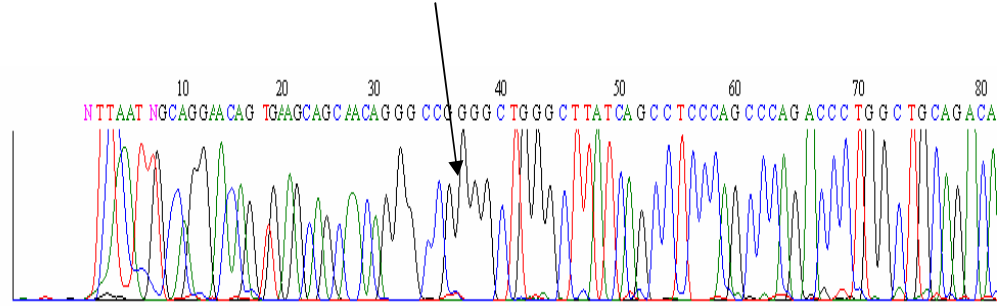
Tablo 5.15. 42 nolu örnek Ömer Faruk Akyüz'e ait dizileme sonucu GG



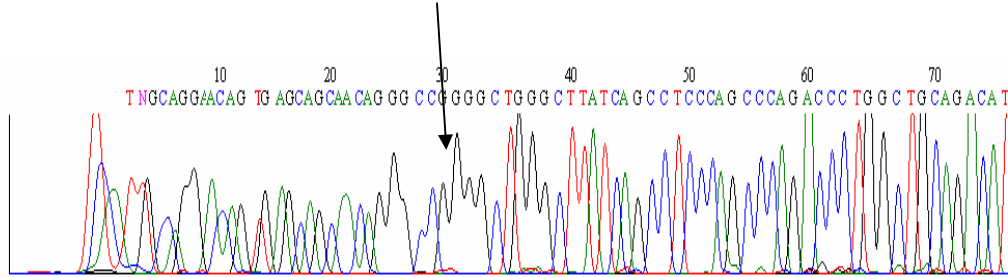
Tablo 5.16. 43 nolu örnek Ceren Acar'a ait dizileme sonucu GG



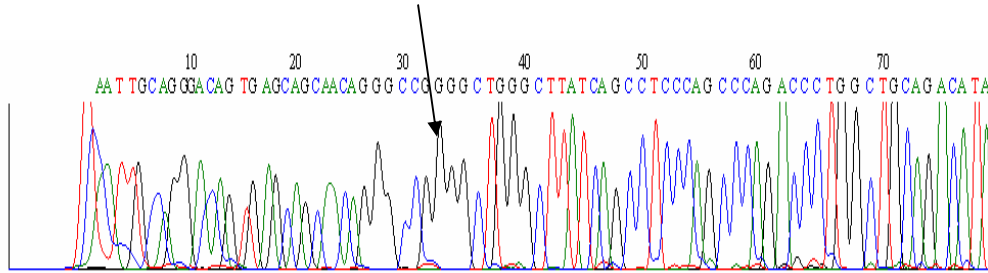
Tablo 5.17. 49 nolu örnek Cemre Güngör'e ait dizileme sonucu GA



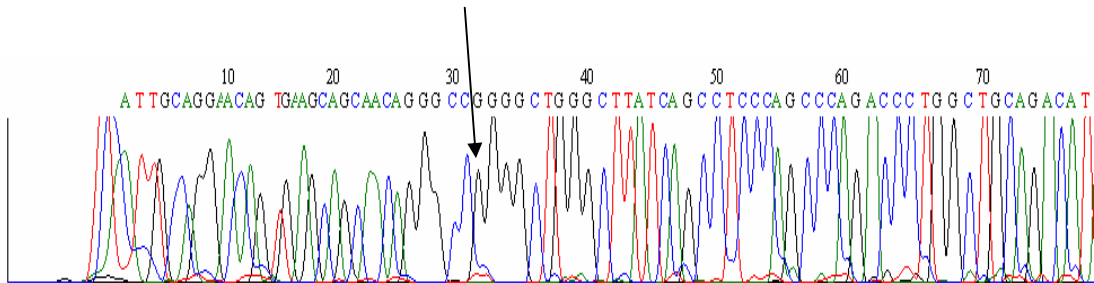
Tablo 5.18. 52 nolu örnek Kadriye İzdaş'a ait dizileme sonucu GG



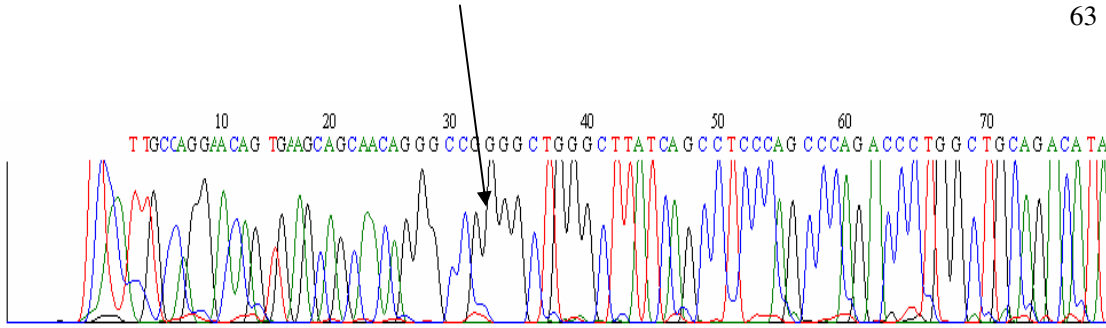
Tablo 5.19. 59 nolu örnek Büşre Doğrul'a ait dizileme sonucu GG



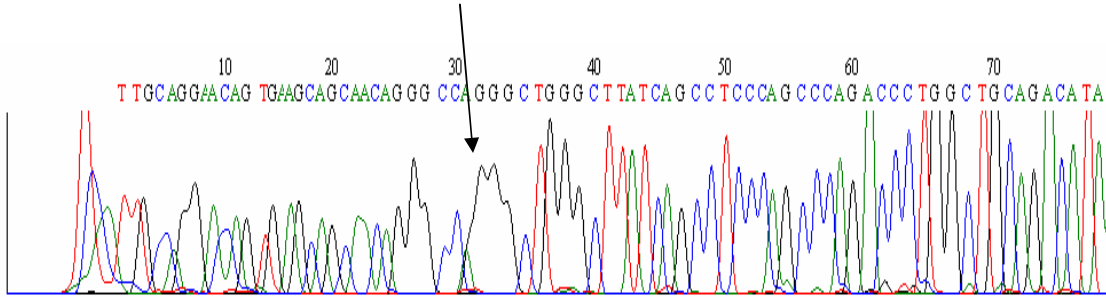
Tablo 5.20. 61 nolu örnek Doğan Çiftçi'ye ait dizileme sonucu GG



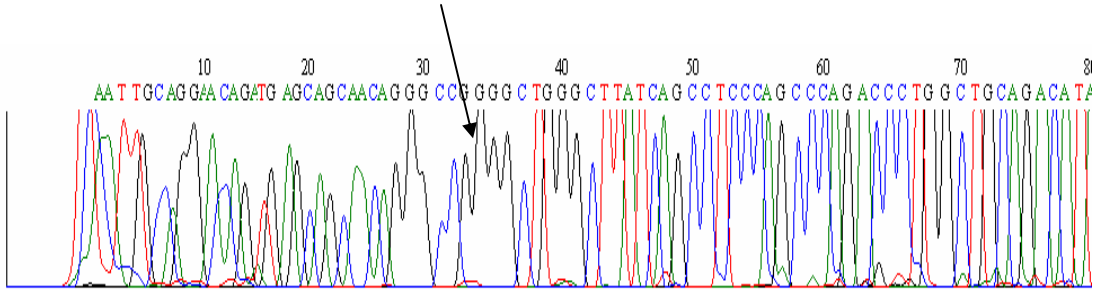
Tablo 5.21. 62 nolu örnek İbrahim Çiftçi'ye ait dizileme sonucu GG



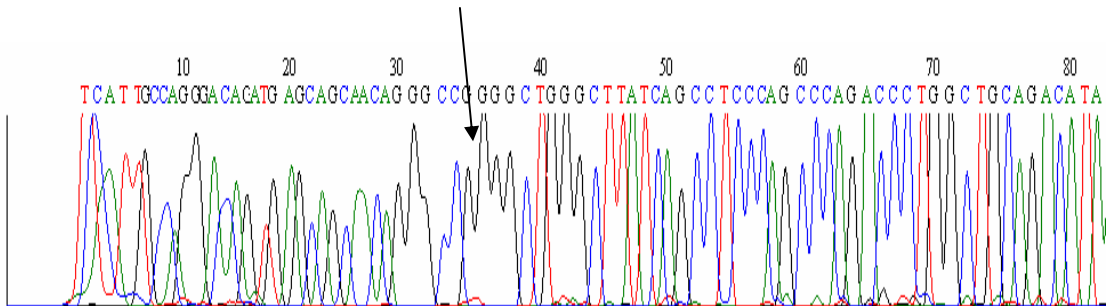
Tablo 5.22. 65 nolu örnek Zeynep Işık'a ait dizileme sonucu GG



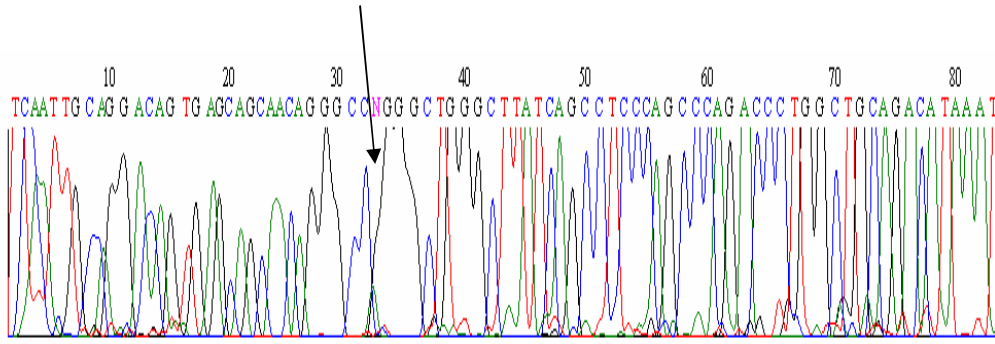
Tablo 5.23. 94 nolu örnek Esrsnur Külür'e ait dizileme sonucu GA



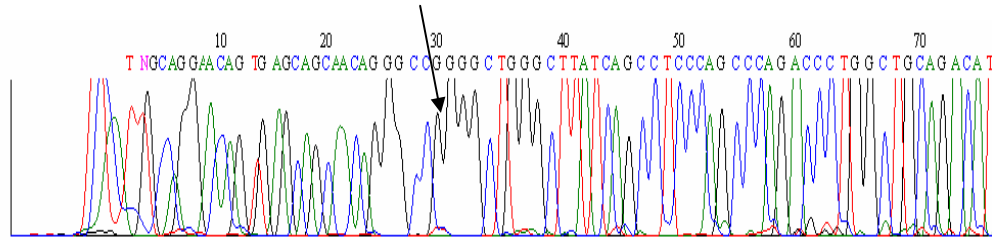
Tablo 5.24. 100 nolu örnek Sevginur Kaplan'a ait dizileme sonucu GG



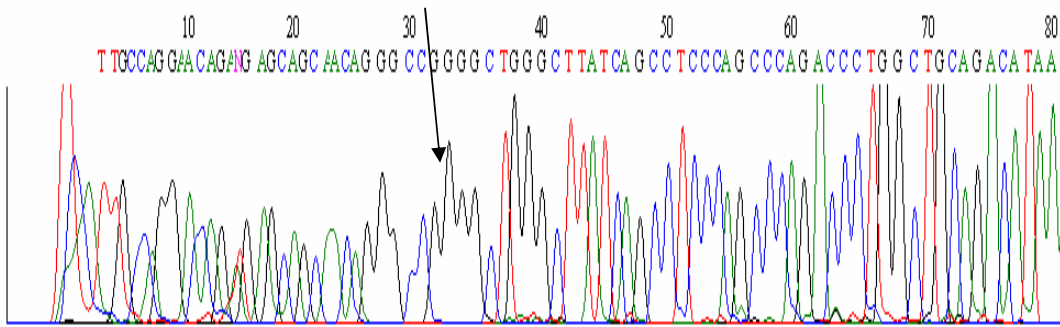
Tablo 5.26. 101 nolu örnek Cansu Serin Kuloğlu'na ait dizileme sonucu GG



Tablo 5.26. 102 nolu örnek Ramazan İşler'e ait dizileme sonucu GA



Tablo 5.27. 104 nolu örnek Barış Sınay'a ait dizileme sonucu GG



Tablo 5.27. 3 nolu örnek Aslı Görtunca'ya ait dizileme sonucu GG

İSTATİSTİK VERİLERİ

T-Test

Group Statistics

	GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol II	11	164,00	33,49	10,10
	hasta	38	181,79	35,65	5,78
TRIGLISE	kontrol II	11	80,00	32,67	9,85
	hasta	38	149,92	64,54	10,47
HDL	kontrol II	11	56,18	10,00	3,01
	hasta	38	49,58	13,24	2,15
LDL	kontrol II	11	89,64	28,37	8,55
	hasta	38	104,11	26,25	4,26
VLDL	kontrol II	11	18,36	6,65	2,01
	hasta	38	30,50	13,36	2,17
VKİSD	kontrol II	13	,1446	1,0613	,2944
	hasta	36	6,2719	2,7999	,4666
YAŞ	kontrol II	13	8,15	2,15	,60
	hasta	38	11,50	3,61	,59

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	,091	,765	-1,476	47	,147	-17,79	12,05	-42,03	6,46
	Equal variances not assumed			-1,529	17,135	,145	-17,79	11,64	-42,33	6,75
TRIGLISE	Equal variances assumed	1,428	,238	-3,449	47	,001	-69,92	20,27	-110,70	-29,14
	Equal variances not assumed			-4,864	33,724	,000	-69,92	14,37	-99,14	-40,70
HDL	Equal variances assumed	,999	,323	1,528	47	,133	6,60	4,32	-2,09	15,29
	Equal variances not assumed			1,784	21,248	,089	6,60	3,70	-1,09	14,29
LDL	Equal variances assumed	,681	,413	-1,582	47	,120	-14,47	9,15	-32,87	3,93
	Equal variances not assumed			-1,514	15,319	,150	-14,47	9,55	-34,80	5,86
VLDL	Equal variances assumed	2,508	,120	-2,895	47	,006	-12,14	4,19	-20,57	-3,70
	Equal variances not assumed			-4,110	34,326	,000	-12,14	2,95	-18,13	-6,14
VKİSD	Equal variances assumed	8,030	,007	-7,651	47	,000	-6,1273	,8008	-7,7384	-4,5163
	Equal variances not assumed			-11,106	46,788	,000	-6,1273	,5517	-7,2374	-5,0172
YAŞ	Equal variances assumed	2,335	,133	-3,139	49	,003	-3,35	1,07	-5,49	-1,20
	Equal variances not assumed			-3,997	35,553	,000	-3,35	,84	-5,04	-1,65

T-Test

Group Statistics

GRUP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol I	37	145,97	18,19	2,99
	hasta	38	181,79	35,65	5,78
TRIGLISE	kontrol I	37	77,92	22,87	3,76
	hasta	38	149,92	64,54	10,47
HDL	kontrol I	37	49,62	10,04	1,65
	hasta	38	49,58	13,24	2,15
LDL	kontrol I	37	81,86	15,07	2,48
	hasta	38	104,11	26,25	4,26
VLDL	kontrol I	37	19,81	27,24	4,48
	hasta	38	30,50	13,36	2,17
VKİSD	kontrol I	36	6,1819	3,0723	,5121
	hasta	36	6,2719	2,7999	,4666
YAŞ	kontrol I	37	11,51	3,30	,54
	hasta	38	11,50	3,61	,59

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	4,486	,038	-5,458	73	,000	-35,82	6,56	-48,90	-22,74
	Equal variances not assumed			-5,501	55,373	,000	-35,82	6,51	-48,86	-22,77
TRIGLISE	Equal variances assumed	11,623	,001	-6,405	73	,000	-72,00	11,24	-94,41	-49,60
	Equal variances not assumed			-6,473	46,370	,000	-72,00	11,12	-94,39	-49,62
HDL	Equal variances assumed	2,250	,138	,016	73	,988	4,27E-02	2,72	-5,37	5,46
	Equal variances not assumed			,016	68,899	,987	4,27E-02	2,71	-5,36	5,45
LDL	Equal variances assumed	4,879	,030	-4,483	73	,000	-22,24	4,96	-32,13	-12,35
	Equal variances not assumed			-4,514	59,305	,000	-22,24	4,93	-32,10	-12,38
VLDL	Equal variances assumed	,004	,951	-2,167	73	,034	-10,69	4,93	-20,52	-,86
	Equal variances not assumed			-2,149	52,056	,036	-10,69	4,97	-20,67	-,71
VKİSD	Equal variances assumed	,000	,991	-,130	70	,897	-9,000E-02	,6928	-1,4717	1,2917
	Equal variances not assumed			-,130	69,405	,897	-9,000E-02	,6928	-1,4719	1,2919
YAŞ	Equal variances assumed	,000	,991	,017	73	,987	1,35E-02	,80	-1,58	1,61
	Equal variances not assumed			,017	72,693	,987	1,35E-02	,80	-1,58	1,61

T-Test

Group Statistics

GRUP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol I	37	145,97	18,19	2,99
	kontrol II	11	164,00	33,49	10,10
TRIGLISE	kontrol I	37	77,92	22,87	3,76
	kontrol II	11	80,00	32,67	9,85
HDL	kontrol I	37	49,62	10,04	1,65
	kontrol II	11	56,18	10,00	3,01
LDL	kontrol I	37	81,86	15,07	2,48
	kontrol II	11	89,64	28,37	8,55
VLDL	kontrol I	37	19,81	27,24	4,48
	kontrol II	11	18,36	6,65	2,01
VKİSD	kontrol I	36	6,1819	3,0723	,5121
	kontrol II	13	,1446	1,0613	,2944
YAŞ	kontrol I	37	11,51	3,30	,54
	kontrol II	13	8,15	2,15	,60

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	9,452	,004	-2,341	46	,024	-18,03	7,70	-33,53	-2,52
	Equal variances not assumed			-1,712	11,806	,113	-18,03	10,53	-41,02	4,96
TRIGLISE	Equal variances assumed	5,217	,027	-,239	46	,812	-2,08	8,70	-19,59	15,43
	Equal variances not assumed			-,197	13,050	,847	-2,08	10,54	-24,85	20,69
HDL	Equal variances assumed	,004	,950	-1,905	46	,063	-6,56	3,44	-13,49	,37
	Equal variances not assumed			-1,909	16,479	,074	-6,56	3,44	-13,83	,71
LDL	Equal variances assumed	14,669	,000	-1,205	46	,234	-7,77	6,45	-20,75	5,21
	Equal variances not assumed			-,873	11,726	,400	-7,77	8,90	-27,22	11,68
VLDL	Equal variances assumed	,278	,601	,173	46	,863	1,45	8,34	-15,35	18,24
	Equal variances not assumed			,295	45,326	,769	1,45	4,91	-8,43	11,33
VKİSD	Equal variances assumed	5,041	,030	6,898	47	,000	6,0373	,8753	4,2765	7,7981
	Equal variances not assumed			10,222	46,988	,000	6,0373	,5906	4,8491	7,2255
YAŞ	Equal variances assumed	3,799	,057	3,415	48	,001	3,36	,98	1,38	5,34
	Equal variances not assumed			4,165	32,529	,000	3,36	,81	1,72	5,00

Descriptives tüm grup

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
YAŞ	88	2	20	11,01	3,48
KOLESTER	86	53	245	164,10	33,29
TRIGLISE	86	26	385	110,00	58,63
HDL	86	24	80	50,44	11,65
LDL	86	49	170	92,69	24,52
VLDL	86	4	178	24,35	20,68
VKİSD	85	-1,15	17,59	5,2967	3,4945
Valid N (listwise)	83				

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
GRUP * GENOTIP	88	100,0%	0	,0%	88	100,0%

GRUP * GENOTIP

Crosstab

			GENOTIP			Total
			GG	GA	AA	
GRUP	hasta	Count	31	6	1	38
		% within GRUP	81,6%	15,8%	2,6%	100,0%
	kontrol I	Count	22	15		37
		% within GRUP	59,5%	40,5%		100,0%
	kontrol II	Count	9	4		13
		% within GRUP	69,2%	30,8%		100,0%
Total		Count	62	25	1	88
		% within GRUP	70,5%	28,4%	1,1%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	6,693 ^a	4	,153
Likelihood Ratio	7,246	4	,123
Linear-by-Linear Association	1,289	1	,256
N of Valid Cases	88		

a. 4 cells (44,4%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,15.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
GRUP * ALLELA	88	100,0%	0	,0%	88	100,0%
GRUP * ALLELG	88	100,0%	0	,0%	88	100,0%

GRUP * ALLELA

Crosstab

			ALLELA		Total
			GG	GA+AA	
GRUP	hasta	Count	31	7	38
		% within GRUP	81,6%	18,4%	100,0%
	kontrol I	Count	22	15	37
		% within GRUP	59,5%	40,5%	100,0%
	kontrol II	Count	9	4	13
		% within GRUP	69,2%	30,8%	100,0%
Total		Count	62	26	88
		% within GRUP	70,5%	29,5%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	4,417 ^a	2	,110
Likelihood Ratio	4,510	2	,105
Linear-by-Linear Association	2,082	1	,149
N of Valid Cases	88		

a. 1 cells (16,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,84.

GRUP * ALLELG

Crosstab

			ALLELG		Total
			AA	GA+GG	
GRUP	hasta	Count	1	37	38
		% within GRUP	2,6%	97,4%	100,0%
	kontrol I	Count		37	37
		% within GRUP		100,0%	100,0%
	kontrol II	Count		13	13
		% within GRUP		100,0%	100,0%
Total		Count	1	87	88
		% within GRUP	1,1%	98,9%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1,331 ^a	2	,514
Likelihood Ratio	1,695	2	,429
Linear-by-Linear Association	1,027	1	,311
N of Valid Cases	88		

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,15.

Crosstabs grup 1-0

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
GRUP * ALLELA	75	100,0%	0	,0%	75	100,0%
GRUP * ALLELG	75	100,0%	0	,0%	75	100,0%

GRUP * ALLELA

Crosstab

			ALLELA		Total
			GG	GA+AA	
GRUP	hasta	Count	31	7	38
		% within GRUP	81,6%	18,4%	100,0%
	kontrol I	Count	22	15	37
		% within GRUP	59,5%	40,5%	100,0%
Total		Count	53	22	75
		% within GRUP	70,7%	29,3%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	4,425 ^b	1	,035		
Continuity Correction ^a	3,422	1	,064		
Likelihood Ratio	4,499	1	,034		
Fisher's Exact Test				,045	,032
Linear-by-Linear Association	4,366	1	,037		
N of Valid Cases	75				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 10,85.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for GRUP (hasta / kontrol I)	3,019	1,056	8,632
For cohort ALLELA = GG	1,372	1,010	1,863
For cohort ALLELA = GA+AA	,454	,209	,986
N of Valid Cases	75		

GRUP * ALLELG

Crosstab

			ALLELG		Total
			AA	GA+GG	
GRUP	hasta	Count	1	37	38
		% within GRUP	2,6%	97,4%	100,0%
	kontrol I	Count		37	37
		% within GRUP		100,0%	100,0%
Total		Count	1	74	75
		% within GRUP	1,3%	98,7%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,987 ^b	1	,321		
Continuity Correction ^a	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	1,373	1	,241		
Fisher's Exact Test				1,000	,507
Linear-by-Linear Association	,974	1	,324		
N of Valid Cases	75				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,49.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
For cohort ALLELG = GA+GG	,974	,924	1,026
N of Valid Cases	75		

T-Test a alleli tasiyan 1-0

Group Statistics

	GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol I	15	155,00	16,06	4,15
	hasta	7	168,43	52,57	19,87
TRIGLISE	kontrol I	15	77,47	20,31	5,24
	hasta	7	170,71	41,92	15,85
HDL	kontrol I	15	51,40	10,79	2,79
	hasta	7	47,14	9,39	3,55
LDL	kontrol I	15	86,93	16,37	4,23
	hasta	7	108,86	14,83	5,60
VLDL	kontrol I	15	16,47	4,41	1,14
	hasta	7	34,57	10,50	3,97
VKİSD	kontrol I	15	6,0847	2,4835	,6412
	hasta	6	5,9383	2,3194	,9469

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	4,810	,040	-,923	20	,367	-13,43	14,54	-43,77	16,91
	Equal variances not assumed			-,662	6,529	,531	-13,43	20,30	-62,13	35,28
TRIGLISE	Equal variances assumed	2,403	,137	-7,131	20	,000	-93,25	13,08	-120,52	-65,97
	Equal variances not assumed			-5,587	7,349	,001	-93,25	16,69	-132,34	-54,16
HDL	Equal variances assumed	,000	,985	,895	20	,381	4,26	4,76	-5,66	14,18
	Equal variances not assumed			,944	13,480	,362	4,26	4,51	-5,45	13,97
LDL	Equal variances assumed	,382	,543	-3,008	20	,007	-21,92	7,29	-37,13	-6,72
	Equal variances not assumed			-3,124	12,969	,008	-21,92	7,02	-37,09	-6,76
VLDL	Equal variances assumed	6,787	,017	-5,790	20	,000	-18,10	3,13	-24,63	-11,58
	Equal variances not assumed			-4,385	7,006	,003	-18,10	4,13	-27,87	-8,34
VKİSD	Equal variances assumed	,181	,675	,124	19	,903	,1463	1,1793	-2,3220	2,6146
	Equal variances not assumed			,128	9,894	,901	,1463	1,1436	-2,4054	2,6981

T-Test g alleli taşıyan 1-0

Group Statistics

	GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol I	37	145,97	18,19	2,99
	hasta	37	181,46	36,08	5,93
TRIGLISE	kontrol I	37	77,92	22,87	3,76
	hasta	37	150,00	65,42	10,76
HDL	kontrol I	37	49,62	10,04	1,65
	hasta	37	49,43	13,39	2,20
LDL	kontrol I	37	81,86	15,07	2,48
	hasta	37	103,95	26,60	4,37
VLDL	kontrol I	37	19,81	27,24	4,48
	hasta	37	30,11	13,32	2,19
VKİSD	kontrol I	36	6,1819	3,0723	,5121
	hasta	35	6,1994	2,8063	,4743

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	4,768	,032	-5,342	72	,000	-35,49	6,64	-48,73	-22,24
	Equal variances not assumed			-5,342	53,197	,000	-35,49	6,64	-48,81	-22,16
TRIGLISE	Equal variances assumed	12,599	,001	-6,326	72	,000	-72,08	11,39	-94,79	-49,37
	Equal variances not assumed			-6,326	44,671	,000	-72,08	11,39	-95,03	-49,13
HDL	Equal variances assumed	2,486	,119	,069	72	,945	,19	2,75	-5,30	5,67
	Equal variances not assumed			,069	66,747	,945	,19	2,75	-5,30	5,68
LDL	Equal variances assumed	5,408	,023	-4,394	72	,000	-22,08	5,03	-32,10	-12,06
	Equal variances not assumed			-4,394	56,961	,000	-22,08	5,03	-32,15	-12,02
VLDL	Equal variances assumed	,000	,987	-2,066	72	,042	-10,30	4,98	-20,23	-,36
	Equal variances not assumed			-2,066	52,283	,044	-10,30	4,98	-20,30	-,30
VKİSD	Equal variances assumed	,004	,952	-,025	69	,980	-1,748E-02	,6989	-1,4118	1,3768
	Equal variances not assumed			-,025	68,737	,980	-1,748E-02	,6980	-1,4101	1,3751

T-Test a alleli taşıyan grup 1-2

Group Statistics

GRUP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol I	15	155,00	16,06	4,15
	kontrol II	4	163,50	29,01	14,51
TRIGLISE	kontrol I	15	77,47	20,31	5,24
	kontrol II	4	63,75	21,00	10,50
HDL	kontrol I	15	51,40	10,79	2,79
	kontrol II	4	53,50	8,58	4,29
LDL	kontrol I	15	86,93	16,37	4,23
	kontrol II	4	96,25	23,00	11,50
VLDL	kontrol I	15	16,47	4,41	1,14
	kontrol II	4	13,75	3,30	1,65
VKİSD	kontrol I	15	6,0847	2,4835	,6412
	kontrol II	4	-,1200	,9524	,4762

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	2,214	,155	-,795	17	,438	-8,50	10,69	-31,06	14,06
	Equal variances not assumed			-,563	3,505	,607	-8,50	15,09	-52,82	35,82
TRIGLISE	Equal variances assumed	,002	,968	1,193	17	,249	13,72	11,50	-10,54	37,98
	Equal variances not assumed			1,169	4,622	,299	13,72	11,74	-17,21	44,64
HDL	Equal variances assumed	,140	,713	-,358	17	,725	-2,10	5,87	-14,49	10,29
	Equal variances not assumed			-,410	5,839	,696	-2,10	5,12	-14,70	10,50
LDL	Equal variances assumed	,617	,443	-,934	17	,363	-9,32	9,97	-30,35	11,72
	Equal variances not assumed			-,760	3,850	,491	-9,32	12,25	-43,86	25,23
VLDL	Equal variances assumed	1,199	,289	1,141	17	,270	2,72	2,38	-2,31	7,74
	Equal variances not assumed			1,354	6,220	,223	2,72	2,01	-2,15	7,58
VKİSD	Equal variances assumed	3,728	,070	4,817	17	,000	6,2047	1,2881	3,4871	8,9223
	Equal variances not assumed			7,768	13,930	,000	6,2047	,7987	4,4908	7,9185

T-Test g alleli taşıyan grup 1-2

Group Statistics

	GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol I	37	145,97	18,19	2,99
	kontrol II	11	164,00	33,49	10,10
TRIGLISE	kontrol I	37	77,92	22,87	3,76
	kontrol II	11	80,00	32,67	9,85
HDL	kontrol I	37	49,62	10,04	1,65
	kontrol II	11	56,18	10,00	3,01
LDL	kontrol I	37	81,86	15,07	2,48
	kontrol II	11	89,64	28,37	8,55
VLDL	kontrol I	37	19,81	27,24	4,48
	kontrol II	11	18,36	6,65	2,01
VKİSD	kontrol I	36	6,1819	3,0723	,5121
	kontrol II	13	,1446	1,0613	,2944

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	9,452	,004	-2,341	46	,024	-18,03	7,70	-33,53	-2,52
	Equal variances not assumed			-1,712	11,806	,113	-18,03	10,53	-41,02	4,96
TRIGLISE	Equal variances assumed	5,217	,027	-,239	46	,812	-2,08	8,70	-19,59	15,43
	Equal variances not assumed			-,197	13,050	,847	-2,08	10,54	-24,85	20,69
HDL	Equal variances assumed	,004	,950	-1,905	46	,063	-6,56	3,44	-13,49	,37
	Equal variances not assumed			-1,909	16,479	,074	-6,56	3,44	-13,83	,71
LDL	Equal variances assumed	14,669	,000	-1,205	46	,234	-7,77	6,45	-20,75	5,21
	Equal variances not assumed			-,873	11,726	,400	-7,77	8,90	-27,22	11,68
VLDL	Equal variances assumed	,278	,601	,173	46	,863	1,45	8,34	-15,35	18,24
	Equal variances not assumed			,295	45,326	,769	1,45	4,91	-8,43	11,33
VKİSD	Equal variances assumed	5,041	,030	6,898	47	,000	6,0373	,8753	4,2765	7,7981
	Equal variances not assumed			10,222	46,988	,000	6,0373	,5906	4,8491	7,2255

T-Test a allei taşıyan grup 1-2

Group Statistics

GRUP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol I	15	155,00	16,06	4,15
	kontrol II	4	163,50	29,01	14,51
TRIGLISE	kontrol I	15	77,47	20,31	5,24
	kontrol II	4	63,75	21,00	10,50
HDL	kontrol I	15	51,40	10,79	2,79
	kontrol II	4	53,50	8,58	4,29
LDL	kontrol I	15	86,93	16,37	4,23
	kontrol II	4	96,25	23,00	11,50
VLDL	kontrol I	15	16,47	4,41	1,14
	kontrol II	4	13,75	3,30	1,65
VKİSD	kontrol I	15	6,0847	2,4835	,6412
	kontrol II	4	-,1200	,9524	,4762

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTEF	Equal variance assumed	2,214	,155	-,795	17	,438	-8,50	10,69	-31,06	14,06
	Equal variance not assumed			-,563	3,505	,607	-8,50	15,09	-52,82	35,82
TRIGLISE	Equal variance assumed	,002	,968	1,193	17	,249	13,72	11,50	-10,54	37,98
	Equal variance not assumed			1,169	4,622	,299	13,72	11,74	-17,21	44,64
HDL	Equal variance assumed	,140	,713	-,358	17	,725	-2,10	5,87	-14,49	10,29
	Equal variance not assumed			-,410	5,839	,696	-2,10	5,12	-14,70	10,50
LDL	Equal variance assumed	,617	,443	-,934	17	,363	-9,32	9,97	-30,35	11,72
	Equal variance not assumed			-,760	3,850	,491	-9,32	12,25	-43,86	25,23
VLDL	Equal variance assumed	1,199	,289	1,141	17	,270	2,72	2,38	-2,31	7,74
	Equal variance not assumed			1,354	6,220	,223	2,72	2,01	-2,15	7,58
VKISD	Equal variance assumed	3,728	,070	4,817	17	,000	6,2047	1,2881	3,4871	8,9223
	Equal variance not assumed			7,768	13,930	,000	6,2047	,7987	4,4908	7,9185

Crosstabs grup 2-0

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
GRUP * GENOTIP	51	100,0%	0	,0%	51	100,0%
GRUP * ALLELA	51	100,0%	0	,0%	51	100,0%

GRUP * GENOTIP

Crosstab

			GENOTIP			Total
			GG	GA	AA	
GRUP	hasta	Count	31	6	1	38
		% within GRUP	81,6%	15,8%	2,6%	100,0%
	kontrol II	Count	9	4		13
		% within GRUP	69,2%	30,8%		100,0%
Total		Count	40	10	1	51
		% within GRUP	78,4%	19,6%	2,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1,639 ^a	2	,441
Likelihood Ratio	1,788	2	,409
Linear-by-Linear Association	,409	1	,522
N of Valid Cases	51		

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,25.

GRUP * ALLELA

Crosstab

			ALLELA		Total
			GG	GA+AA	
GRUP	hasta	Count	31	7	38
		% within GRUP	81,6%	18,4%	100,0%
	kontrol II	Count	9	4	13
		% within GRUP	69,2%	30,8%	100,0%
Total		Count	40	11	51
		% within GRUP	78,4%	21,6%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,873 ^b	1	,350		
Continuity Correction ^a	,296	1	,587		
Likelihood Ratio	,827	1	,363		
Fisher's Exact Test				,439	,285
Linear-by-Linear Association	,856	1	,355		
N of Valid Cases	51				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,80.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for GRUP (hasta / kontrol II)	1,968	,469	8,268
For cohort ALLELA = GG	1,178	,796	1,745
For cohort ALLELA = GA+AA	,599	,209	1,719
N of Valid Cases	51		

T-Test a alleli taşıyan grup 2-0

Group Statistics

	GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol II	4	163,50	29,01	14,51
	hasta	7	168,43	52,57	19,87
TRIGLISE	kontrol II	4	63,75	21,00	10,50
	hasta	7	170,71	41,92	15,85
HDL	kontrol II	4	53,50	8,58	4,29
	hasta	7	47,14	9,39	3,55
LDL	kontrol II	4	96,25	23,00	11,50
	hasta	7	108,86	14,83	5,60
VLDL	kontrol II	4	13,75	3,30	1,65
	hasta	7	34,57	10,50	3,97
VKİSD	kontrol II	4	-,1200	,9524	,4762
	hasta	6	5,9383	2,3194	,9469

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	,463	,513	-,171	9	,868	-4,93	28,88	-70,26	60,40
	Equal variances not assumed			-,200	8,992	,846	-4,93	24,60	-60,59	50,73
TRIGLISE	Equal variances assumed	,775	,402	-4,699	9	,001	-106,96	22,76	-158,45	-55,48
	Equal variances not assumed			-5,627	8,968	,000	-106,96	19,01	-149,99	-63,94
HDL	Equal variances assumed	,271	,615	1,111	9	,295	6,36	5,72	-6,59	19,30
	Equal variances not assumed			1,142	6,893	,292	6,36	5,57	-6,85	19,57
LDL	Equal variances assumed	1,159	,310	-1,119	9	,292	-12,61	11,26	-38,08	12,87
	Equal variances not assumed			-,986	4,468	,375	-12,61	12,79	-46,70	21,49
VLDL	Equal variances assumed	3,590	,091	-3,782	9	,004	-20,82	5,51	-33,28	-8,37
	Equal variances not assumed			-4,843	7,791	,001	-20,82	4,30	-30,78	-10,86
VKİSD	Equal variances assumed	2,387	,161	-4,878	8	,001	-6,0583	1,2420	-8,9225	-3,1942
	Equal variances not assumed			-5,716	7,093	,001	-6,0583	1,0599	-8,5579	-3,5587

T-Test g alleli taşıyan grup 2-0

Group Statistics

GRUP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol II	11	164,00	33,49	10,10
	hasta	37	181,46	36,08	5,93
TRIGLISE	kontrol II	11	80,00	32,67	9,85
	hasta	37	150,00	65,42	10,76
HDL	kontrol II	11	56,18	10,00	3,01
	hasta	37	49,43	13,39	2,20
LDL	kontrol II	11	89,64	28,37	8,55
	hasta	37	103,95	26,60	4,37
VLDL	kontrol II	11	18,36	6,65	2,01
	hasta	37	30,11	13,32	2,19
VKİSD	kontrol II	13	,1446	1,0613	,2944
	hasta	35	6,1994	2,8063	,4743

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	,064	,802	-1,431	46	,159	-17,46	12,20	-42,02	7,10
	Equal variances not assumed			-1,491	17,511	,154	-17,46	11,71	-42,11	7,20
TRIGLISE	Equal variances assumed	1,624	,209	-3,406	46	,001	-70,00	20,55	-111,37	-28,63
	Equal variances not assumed			-4,800	34,457	,000	-70,00	14,58	-99,62	-40,38
HDL	Equal variances assumed	1,101	,299	1,544	46	,129	6,75	4,37	-2,05	15,55
	Equal variances not assumed			1,808	21,788	,084	6,75	3,73	-1,00	14,50
LDL	Equal variances assumed	,565	,456	-1,544	46	,129	-14,31	9,27	-32,97	4,35
	Equal variances not assumed			-1,490	15,614	,156	-14,31	9,61	-34,71	6,09
VLDL	Equal variances assumed	2,202	,145	-2,807	46	,007	-11,74	4,18	-20,17	-3,32
	Equal variances not assumed			-3,955	34,445	,000	-11,74	2,97	-17,78	-5,71
VKISD	Equal variances assumed	7,167	,010	-7,539	46	,000	-6,0548	,8032	-7,6715	-4,4381
	Equal variances not assumed			-10,846	45,930	,000	-6,0548	,5583	-7,1786	-4,9310

Crosstabs grup 1-0

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
GRUP * ALLELA	75	100,0%	0	,0%	75	100,0%
GRUP * ALLELG	75	100,0%	0	,0%	75	100,0%
GRUP * GENOTIP	75	100,0%	0	,0%	75	100,0%

GRUP * ALLELA

Crosstab

			ALLELA		Total
			GG	GA+AA	
GRUP	hasta	Count	31	7	38
		% within GRUP	81,6%	18,4%	100,0%
	kontrol I	Count	22	15	37
		% within GRUP	59,5%	40,5%	100,0%
Total		Count	53	22	75
		% within GRUP	70,7%	29,3%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	4,425 ^b	1	,035		
Continuity Correction ^a	3,422	1	,064		
Likelihood Ratio	4,499	1	,034		
Fisher's Exact Test				,045	,032
Linear-by-Linear Association	4,366	1	,037		
N of Valid Cases	75				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 10,85.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for GRUP (hasta / kontrol I)	3,019	1,056	8,632
For cohort ALLELA = GG	1,372	1,010	1,863
For cohort ALLELA = GA+AA	,454	,209	,986
N of Valid Cases	75		

GRUP * ALLELG

Crosstab

			ALLELG		Total
			AA	GA+GG	
GRUP	hasta	Count	1	37	38
		% within GRUP	2,6%	97,4%	100,0%
	kontrol I	Count		37	37
		% within GRUP		100,0%	100,0%
Total		Count	1	74	75
		% within GRUP	1,3%	98,7%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,987 ^b	1	,321		
Continuity Correction ^a	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	1,373	1	,241		
Fisher's Exact Test				1,000	,507
Linear-by-Linear Association	,974	1	,324		
N of Valid Cases	75				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,49.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
For cohort ALLELG = GA+GG	,974	,924	1,026
N of Valid Cases	75		

GRUP * GENOTIP

Crosstab

			GENOTIP			Total
			GG	GA	AA	
GRUP	hasta	Count	31	6	1	38
		% within GRUP	81,6%	15,8%	2,6%	100,0%
	kontrol I	Count	22	15		37
		% within GRUP	59,5%	40,5%		100,0%
Total		Count	53	21	1	75
		% within GRUP	70,7%	28,0%	1,3%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	6,373 ^a	2	,041
Likelihood Ratio	6,894	2	,032
Linear-by-Linear Association	2,936	1	,087
N of Valid Cases	75		

a. 2 cells (33,3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,49.

Crosstabs grup 1-2

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
GRUP * GENOTIP	50	100,0%	0	,0%	50	100,0%
GRUP * ALLELA	50	100,0%	0	,0%	50	100,0%
GRUP * ALLELG	50	100,0%	0	,0%	50	100,0%

GRUP * GENOTIP

Crosstab

			GENOTIP		Total
			GG	GA	
GRUP	kontrol I	Count	22	15	37
		% within GRUP	59,5%	40,5%	100,0%
	kontrol II	Count	9	4	13
		% within GRUP	69,2%	30,8%	100,0%
Total		Count	31	19	50
		% within GRUP	62,0%	38,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,390 ^b	1	,532		
Continuity Correction ^a	,085	1	,770		
Likelihood Ratio	,398	1	,528		
Fisher's Exact Test				,742	,390
Linear-by-Linear Association	,382	1	,537		
N of Valid Cases	50				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,94.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for GRUP (kontrol I / kontrol II)	,652	,169	2,510
For cohort GENOTIP = GG	,859	,548	1,346
For cohort GENOTIP = GA	1,318	,534	3,254
N of Valid Cases	50		

GRUP * ALLELA

Crosstab

			ALLELA		Total
			GG	GA+AA	
GRUP	kontrol I	Count	22	15	37
		% within GRUP	59,5%	40,5%	100,0%
	kontrol II	Count	9	4	13
		% within GRUP	69,2%	30,8%	100,0%
Total		Count	31	19	50
		% within GRUP	62,0%	38,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,390 ^b	1	,532		
Continuity Correction ^a	,085	1	,770		
Likelihood Ratio	,398	1	,528		
Fisher's Exact Test				,742	,390
Linear-by-Linear Association	,382	1	,537		
N of Valid Cases	50				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,94.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for GRUP (kontrol I / kontrol II)	,652	,169	2,510
For cohort ALLELA = GG	,859	,548	1,346
For cohort ALLELA = GA+AA	1,318	,534	3,254
N of Valid Cases	50		

GRUP * ALLELG**Crosstab**

			ALLELG	Total
			GA+GG	
GRUP	kontrol I	Count	37	37
		% within GRUP	100,0%	100,0%
	kontrol II	Count	13	13
		% within GRUP	100,0%	100,0%
Total		Count	50	50
		% within GRUP	100,0%	100,0%

Frequencies tüm grup cinsiyet

Statistics

CINSIYET		
N	Valid	88
	Missing	0

CINSIYET

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid kadın	55	62,5	62,5	62,5
erkek	33	37,5	37,5	100,0
Total	88	100,0	100,0	

T-Test tüm grup cinsiyet-lipid

Group Statistics

	CINSIYET	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	erkek	33	10,70	3,23	,56
	kadın	55	11,20	3,64	,49
KOLESTER	erkek	32	163,09	30,29	5,35
	kadın	54	164,70	35,21	4,79
TRIGLISE	erkek	32	103,56	71,19	12,58
	kadın	54	113,81	50,08	6,82
HDL	erkek	32	52,25	13,34	2,36
	kadın	54	49,37	10,50	1,43
LDL	erkek	32	86,84	22,59	3,99
	kadın	54	96,15	25,16	3,42
VLDL	erkek	32	27,66	31,22	5,52
	kadın	54	22,39	10,26	1,40
VKİSD	erkek	33	5,5615	4,2265	,7357
	kadın	52	5,1287	2,9717	,4121

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
YAŞ	Equal variances assumed	,188	,666	-,654	86	,515	-,50	,77	-2,03	1,03
	Equal variances not assumed			-,674	74,032	,502	-,50	,75	-1,99	,98
KOLESTER	Equal variances assumed	1,144	,288	-,216	84	,830	-1,61	7,47	-16,46	13,24
	Equal variances not assumed			-,224	73,115	,823	-1,61	7,19	-15,93	12,71
TRIGLISE	Equal variances assumed	,844	,361	-,782	84	,436	-10,25	13,11	-36,32	15,82
	Equal variances not assumed			-,716	49,366	,477	-10,25	14,31	-39,01	18,50
HDL	Equal variances assumed	2,201	,142	1,110	84	,270	2,88	2,59	-2,28	8,04
	Equal variances not assumed			1,044	53,699	,301	2,88	2,76	-2,65	8,41
LDL	Equal variances assumed	,073	,788	-1,720	84	,089	-9,30	5,41	-20,06	1,45
	Equal variances not assumed			-1,769	70,928	,081	-9,30	5,26	-19,79	1,18
VLDL	Equal variances assumed	5,073	,027	1,144	84	,256	5,27	4,60	-3,89	14,42
	Equal variances not assumed			,925	35,013	,361	5,27	5,69	-6,29	16,82
VKİSD	Equal variances assumed	7,124	,009	,554	83	,581	,4329	,7810	-1,1205	1,9862
	Equal variances not assumed			,513	52,017	,610	,4329	,8433	-1,2593	2,1250

T-Test grup 1 cinsiyet lipid

Group Statistics

	CINSIYET	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	erkek	13	153,23	18,34	5,09
	kadın	24	142,04	17,23	3,52
TRIGLISE	erkek	13	70,15	23,22	6,44
	kadın	24	82,13	22,02	4,50
HDL	erkek	13	51,08	10,80	2,99
	kadın	24	48,83	9,75	1,99
LDL	erkek	13	86,31	15,83	4,39
	kadın	24	79,46	14,41	2,94
VLDL	erkek	13	27,38	45,73	12,68
	kadın	24	15,71	4,51	,92
VKİSD	erkek	13	6,4323	2,8364	,7867
	kadın	23	6,0404	3,2513	,6779

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	,207	,652	1,844	35	,074	11,19	6,07	-1,13	23,50
	Equal variances not assumed			1,809	23,419	,083	11,19	6,18	-1,59	23,97
TRIGLISE	Equal variances assumed	,153	,698	-1,549	35	,130	-11,97	7,73	-27,66	3,72
	Equal variances not assumed			-1,524	23,614	,141	-11,97	7,85	-28,20	4,25
HDL	Equal variances assumed	,112	,740	,644	35	,524	2,24	3,48	-4,83	9,32
	Equal variances not assumed			,624	22,633	,539	2,24	3,60	-5,20	9,69
LDL	Equal variances assumed	,005	,943	1,334	35	,191	6,85	5,14	-3,58	17,27
	Equal variances not assumed			1,296	22,795	,208	6,85	5,28	-4,09	17,79
VLDL	Equal variances assumed	6,112	,018	1,255	35	,218	11,68	9,31	-7,22	30,57
	Equal variances not assumed			,918	12,126	,376	11,68	12,72	-16,00	39,35
VKİSD	Equal variances assumed	,000	,989	,363	34	,719	,3919	1,0795	-1,8020	2,5858
	Equal variances not assumed			,377	28,014	,709	,3919	1,0385	-1,7353	2,5191

T-Test grup 2 cinsiyet-lipid

Group Statistics

CINSIYET		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	erkek	7	150,57	30,89	11,68
	kadın	4	187,50	25,96	12,98
TRIGLISE	erkek	7	71,57	32,05	12,11
	kadın	4	94,75	32,36	16,18
HDL	erkek	7	56,57	11,80	4,46
	kadın	4	55,50	7,33	3,66
LDL	erkek	7	76,29	23,77	8,98
	kadın	4	113,00	20,22	10,11
VLDL	erkek	7	18,14	7,24	2,74
	kadın	4	18,75	6,50	3,25
VKİSD	erkek	8	,1163	1,1903	,4208
	kadın	5	,1900	,9465	,4233

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	,174	,687	-2,008	9	,076	-36,93	18,39	-78,53	4,67
	Equal variances not assumed			-2,115	7,399	,070	-36,93	17,46	-77,76	3,90
TRIGLISE	Equal variances assumed	,010	,924	-1,150	9	,280	-23,18	20,15	-68,77	22,41
	Equal variances not assumed			-1,147	6,315	,293	-23,18	20,21	-72,04	25,68
HDL	Equal variances assumed	,730	,415	,162	9	,875	1,07	6,60	-13,85	15,99
	Equal variances not assumed			,186	8,809	,857	1,07	5,77	-12,03	14,17
LDL	Equal variances assumed	,147	,710	-2,587	9	,029	-36,71	14,19	-68,82	-4,61
	Equal variances not assumed			-2,715	7,326	,029	-36,71	13,52	-68,40	-5,02
VLDL	Equal variances assumed	,266	,619	-,138	9	,893	-,61	4,39	-10,54	9,32
	Equal variances not assumed			-,143	7,005	,890	-,61	4,25	-10,65	9,44
VKİSD	Equal variances assumed	,834	,381	-,117	11	,909	-7,375E-02	,6316	-1,4638	1,3163
	Equal variances not assumed			-,124	10,149	,904	-7,375E-02	,5969	-1,4010	1,2535

T-Test grup0 cinsiyet-lipid

Group Statistics

	CINSIYET	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	erkek	12	181,08	33,61	9,70
	kadın	26	182,12	37,19	7,29
TRIGLISE	erkek	12	158,42	88,77	25,63
	kadın	26	146,00	51,44	10,09
HDL	erkek	12	51,00	16,83	4,86
	kadın	26	48,92	11,55	2,26
LDL	erkek	12	93,58	27,12	7,83
	kadın	26	108,96	24,87	4,88
VLDL	erkek	12	33,50	18,48	5,33
	kadın	26	29,12	10,37	2,03
VKISD	erkek	12	8,2483	3,4571	,9980
	kadın	24	5,2838	1,7767	,3627

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	,013	,909	-,082	36	,935	-1,03	12,61	-26,61	24,54
	Equal variances not assumed			-,085	23,625	,933	-1,03	12,14	-26,11	24,04
TRIGLISE	Equal variances assumed	1,696	,201	,546	36	,588	12,42	22,74	-33,70	58,53
	Equal variances not assumed			,451	14,520	,659	12,42	27,54	-46,45	71,29
HDL	Equal variances assumed	2,813	,102	,445	36	,659	2,08	4,67	-7,40	11,55
	Equal variances not assumed			,387	15,968	,704	2,08	5,36	-9,29	13,44
LDL	Equal variances assumed	1,332	,256	-1,722	36	,094	-15,38	8,93	-33,48	2,73
	Equal variances not assumed			-1,667	19,881	,111	-15,38	9,22	-34,63	3,87
VLDL	Equal variances assumed	4,554	,040	,939	36	,354	4,38	4,67	-5,08	13,85
	Equal variances not assumed			,768	14,294	,455	4,38	5,71	-7,84	16,61
VKISD	Equal variances assumed	8,578	,006	3,423	34	,002	2,9646	,8662	1,2043	4,7249
	Equal variances not assumed			2,792	13,981	,014	2,9646	1,0618	,6869	5,2423

T-Test grup 0 genotipe göre lipid

Group Statistics

GENOTIP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	GA	6	164,17	56,24	22,96
	AA	1	194,00	,	,
TRIGLISE	GA	6	174,67	44,47	18,16
	AA	1	147,00	,	,
HDL	GA	6	45,83	9,56	3,90
	AA	1	55,00	,	,
LDL	GA	6	108,67	16,23	6,63
	AA	1	110,00	,	,
VLDL	GA	6	32,83	10,34	4,22
	AA	1	45,00	,	,
VKISD	GA	5	5,3640	2,0617	,9220
	AA	1	8,8100	,	,

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	,	,	-,491	5	,644	-29,83	60,75	-186,00	126,33
	Equal variances not assumed	,	,	,	,	,	-29,83	,	,	,
TRIGLISE	Equal variances assumed	,	,	,576	5	,590	27,67	48,04	-95,82	151,15
	Equal variances not assumed	,	,	,	,	,	27,67	,	,	,
HDL	Equal variances assumed	,	,	-,888	5	,415	-9,17	10,32	-35,71	17,37
	Equal variances not assumed	,	,	,	,	,	-9,17	,	,	,
LDL	Equal variances assumed	,	,	-,076	5	,942	-1,33	17,53	-46,40	43,73
	Equal variances not assumed	,	,	,	,	,	-1,33	,	,	,
VLDL	Equal variances assumed	,	,	-1,089	5	,326	-12,17	11,17	-40,88	16,55
	Equal variances not assumed	,	,	,	,	,	-12,17	,	,	,
VKISD	Equal variances assumed	,	,	-1,526	4	,202	-3,4460	2,2585	-9,7166	2,8246
	Equal variances not assumed	,	,	,	,	,	-3,4460	,	,	,

T-Test

Group Statistics

GENOTIP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	GA	6	164,17	56,24	22,96
	GG	31	184,81	31,04	5,57
TRIGLISE	GA	6	174,67	44,47	18,16
	GG	31	145,23	68,27	12,26
HDL	GA	6	45,83	9,56	3,90
	GG	31	50,13	14,03	2,52
LDL	GA	6	108,67	16,23	6,63
	GG	31	103,03	28,28	5,08
VLDL	GA	6	32,83	10,34	4,22
	GG	31	29,58	13,90	2,50
VKISD	GA	5	5,3640	2,0617	,9220
	GG	30	6,3387	2,9165	,5325

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	1,826	,185	-1,295	35	,204	-20,64	15,94	-53,01	11,73
	Equal variances not assumed			-,874	5,604	,418	-20,64	23,63	-79,46	38,18
TRIGLISE	Equal variances assumed	,989	,327	1,009	35	,320	29,44	29,17	-29,78	88,66
	Equal variances not assumed			1,344	10,247	,208	29,44	21,91	-19,22	78,10
HDL	Equal variances assumed	,673	,418	-,714	35	,480	-4,30	6,01	-16,50	7,91
	Equal variances not assumed			-,925	9,757	,377	-4,30	4,65	-14,68	6,09
LDL	Equal variances assumed	1,757	,194	,470	35	,641	5,63	11,99	-18,71	29,98
	Equal variances not assumed			,675	11,914	,513	5,63	8,35	-12,57	23,84
VLDL	Equal variances assumed	,577	,452	,542	35	,591	3,25	6,00	-8,93	15,43
	Equal variances not assumed			,663	8,926	,524	3,25	4,91	-7,86	14,36
VKISD	Equal variances assumed	1,026	,318	-,714	33	,480	-,9747	1,3654	-3,7527	1,8033
	Equal variances not assumed			-,915	7,006	,390	-,9747	1,0647	-3,4920	1,5426

T-Test

Group Statistics

	GENOTIP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	AA	1	194,00	,	,
	GG	31	184,81	31,04	5,57
TRIGLISE	AA	1	147,00	,	,
	GG	31	145,23	68,27	12,26
HDL	AA	1	55,00	,	,
	GG	31	50,13	14,03	2,52
LDL	AA	1	110,00	,	,
	GG	31	103,03	28,28	5,08
VLDL	AA	1	45,00	,	,
	GG	31	29,58	13,90	2,50
VKISD	AA	1	8,8100	,	,
	GG	30	6,3387	2,9165	,5325

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	,	,	,292	30	,773	9,19	31,54	-55,21	73,60
	Equal variances not assumed	,	,	,	,	,	9,19	,	,	,
TRIGLISE	Equal variances assumed	,	,	,026	30	,980	1,77	69,37	-139,89	143,44
	Equal variances not assumed	,	,	,	,	,	1,77	,	,	,
HDL	Equal variances assumed	,	,	,342	30	,735	4,87	14,25	-24,24	33,98
	Equal variances not assumed	,	,	,	,	,	4,87	,	,	,
LDL	Equal variances assumed	,	,	,243	30	,810	6,97	28,73	-51,71	65,64
	Equal variances not assumed	,	,	,	,	,	6,97	,	,	,
VLDL	Equal variances assumed	,	,	1,092	30	,284	15,42	14,12	-13,43	44,26
	Equal variances not assumed	,	,	,	,	,	15,42	,	,	,
VKISD	Equal variances assumed	,	,	,834	29	,411	2,4713	2,9647	-3,5923	8,5349
	Equal variances not assumed	,	,	,	,	,	2,4713	,	,	,

T-Testgrup1 genotipe göre lipid

Group Statistics

	GENOTIP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	AA	0 ^a	,	,	,
	GG	22	139,82	17,25	3,68
TRIGLISE	AA	0 ^a	,	,	,
	GG	22	78,23	24,93	5,32
HDL	AA	0 ^a	,	,	,
	GG	22	48,41	9,56	2,04
LDL	AA	0 ^a	,	,	,
	GG	22	78,41	13,42	2,86
VLDL	AA	0 ^a	,	,	,
	GG	22	22,09	35,29	7,52
VKİSD	AA	0 ^a	,	,	,
	GG	21	6,2514	3,4913	,7619

a. t cannot be computed because at least one of the groups is empty.

T-Test

Group Statistics

	GENOTIP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	GA	15	155,00	16,06	4,15
	GG	22	139,82	17,25	3,68
TRIGLISE	GA	15	77,47	20,31	5,24
	GG	22	78,23	24,93	5,32
HDL	GA	15	51,40	10,79	2,79
	GG	22	48,41	9,56	2,04
LDL	GA	15	86,93	16,37	4,23
	GG	22	78,41	13,42	2,86
VLDL	GA	15	16,47	4,41	1,14
	GG	22	22,09	35,29	7,52
VKİSD	GA	15	6,0847	2,4835	,6412
	GG	21	6,2514	3,4913	,7619

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	,160	,692	2,701	35	,011	15,18	5,62	3,77	26,59
	Equal variances not assumed			2,739	31,635	,010	15,18	5,54	3,89	26,48
TRIGLISE	Equal variances assumed	1,072	,308	-,098	35	,923	-,76	7,77	-16,53	15,01
	Equal variances not assumed			-,102	33,776	,919	-,76	7,47	-15,94	14,42
HDL	Equal variances assumed	,099	,755	,887	35	,381	2,99	3,37	-3,85	9,83
	Equal variances not assumed			,867	27,697	,394	2,99	3,45	-4,08	10,06
LDL	Equal variances assumed	,223	,639	1,736	35	,091	8,52	4,91	-1,45	18,50
	Equal variances not assumed			1,670	26,109	,107	8,52	5,10	-1,96	19,01
VLDL	Equal variances assumed	1,780	,191	-,611	35	,545	-5,62	9,20	-24,30	13,05
	Equal variances not assumed			-,739	21,954	,468	-5,62	7,61	-21,41	10,16
VKİSD	Equal variances assumed	,262	,612	-,158	34	,875	-,1668	1,0534	-2,3076	1,9740
	Equal variances not assumed			-,167	33,999	,868	-,1668	,9958	-2,1905	1,8570

T-Test

Group Statistics

	GENOTIP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	GA	15	155,00	16,06	4,15
	AA	0 ^a	,	,	,
TRIGLISE	GA	15	77,47	20,31	5,24
	AA	0 ^a	,	,	,
HDL	GA	15	51,40	10,79	2,79
	AA	0 ^a	,	,	,
LDL	GA	15	86,93	16,37	4,23
	AA	0 ^a	,	,	,
VLDL	GA	15	16,47	4,41	1,14
	AA	0 ^a	,	,	,
VKİSD	GA	15	6,0847	2,4835	,6412
	AA	0 ^a	,	,	,

a. t cannot be computed because at least one of the groups is empty.

T-Testgrup2 genotipe göre lipid

Group Statistics

GENOTIP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	GA	4	163,50	29,01	14,51
	GG	7	164,29	38,06	14,39
TRIGLISE	GA	4	63,75	21,00	10,50
	GG	7	89,29	35,80	13,53
HDL	GA	4	53,50	8,58	4,29
	GG	7	57,71	11,06	4,18
LDL	GA	4	96,25	23,00	11,50
	GG	7	85,86	32,11	12,14
VLDL	GA	4	13,75	3,30	1,65
	GG	7	21,00	6,78	2,56
VKISD	GA	4	-,1200	,9524	,4762
	GG	9	,2622	1,1397	,3799

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
KOLESTER	,731	,415	-,036	9	,972	-,79	22,13	-50,84	49,27
			-,038	7,955	,970	-,79	20,43	-47,94	46,37
TRIGLISE	4,954	,053	-1,287	9	,230	-25,54	19,83	-70,40	19,33
			-1,491	8,928	,170	-25,54	17,13	-64,33	13,25
HDL	,055	,821	-,653	9	,530	-4,21	6,45	-18,82	10,39
			-,704	7,855	,502	-4,21	5,99	-18,07	9,64
LDL	2,219	,171	,564	9	,586	10,39	18,42	-31,27	52,06
			,622	8,273	,551	10,39	16,72	-27,94	48,72
VLDL	1,262	,290	-1,975	9	,080	-7,25	3,67	-15,55	1,05
			-2,377	8,936	,042	-7,25	3,05	-14,16	-,34
VKISD	1,150	,306	-,583	11	,572	-,3822	,6561	-1,8263	1,0619
			-,627	6,975	,550	-,3822	,6092	-1,8237	1,0593

T-Test

Group Statistics

	GENOTIP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	AA	0 ^a	,	,	,
	GG	7	164,29	38,06	14,39
TRIGLISE	AA	0 ^a	,	,	,
	GG	7	89,29	35,80	13,53
HDL	AA	0 ^a	,	,	,
	GG	7	57,71	11,06	4,18
LDL	AA	0 ^a	,	,	,
	GG	7	85,86	32,11	12,14
VLDL	AA	0 ^a	,	,	,
	GG	7	21,00	6,78	2,56
VKISD	AA	0 ^a	,	,	,
	GG	9	,2622	1,1397	,3799

a. t cannot be computed because at least one of the groups is empty.

T-Test

Group Statistics

	GENOTIP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	AA	0 ^a	,	,	,
	GA	4	163,50	29,01	14,51
TRIGLISE	AA	0 ^a	,	,	,
	GA	4	63,75	21,00	10,50
HDL	AA	0 ^a	,	,	,
	GA	4	53,50	8,58	4,29
LDL	AA	0 ^a	,	,	,
	GA	4	96,25	23,00	11,50
VLDL	AA	0 ^a	,	,	,
	GA	4	13,75	3,30	1,65
VKISD	AA	0 ^a	,	,	,
	GA	4	-,1200	,9524	,4762

a. t cannot be computed because at least one of the groups is empty.

FORMLAR**Ek10: Hasta takip formu****Protokol:****Tarih:****Hasta no:****OBEZİTE HASTALARI İÇİN ÇALIŞMA PROTOKOLÜ****Obezite Formu****Adı Soyadı:****Cins:****Doğum tarihi:****Muayene tarihi:****Muayene yaşı:****TANI:****Boy:****Tartı:****Bel çevresi:****VKİ:****FM (patolojik bulgular):**

Kan basıncı:

Puberte durumu:

Laboratuvar bulguları:

Kolesterol:

Trigliserid:

HDL:

LDL:

VLDL:

Açlık kan şekeri

İnsulin (açlıkta):

Çalışma grubu:

1. Alınma kriterleri:

VKİ > 85 persantil

Lipidler: Trigliserid: > 95.P

Kolesterol: > 95.P

HDL-kolesterol: < 5.P

LDL-kolesterol: > 95. P

2. Tanılar:

Basit obezite

Konjenital adrenal hiperplazi

Polikistik over sendromu

Fonksyonel ovarien hiperandrojenemi

3. Yaş:

Kız :8-15

Erkek :9-16

4. Dışlama kriterleri:

- Endojen obezite

- Sendromik obezite (Prader Willi, Laurence-Moon-Biedle-Bardet sendromu vb)

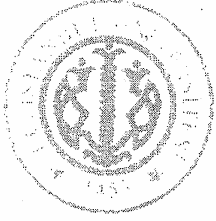
Obez- kontrol grubu:

1. VKİ > 85 persantil
Lipidler:Trigliserid: < 95.P
Kolesterol: < 95.p
HDL-kolesterol: > 5.P
LDL- kolesterol: < 95.P

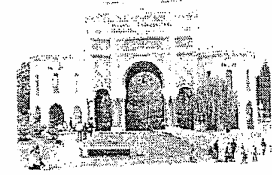
Benzer yaş ve cinste eşleşmiş; tanıları eşleşmiş

Sağlıklı – kontrol grubu

- VKİ: 5-85 persantil arası
Benzer yaş ve cinste eşleşmiş
Sağlıklı çocuk ve ergenler
Lipidler:Trigliserid: < 95.P
Kolesterol: < 95.p
HDL-kolesterol: > 5.P
LDL- kolesterol: < 95.P

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI
Yerel Etik Kurulu



Sayı : 2386

Tarih : 16/10/2007

Konu : Prof.Dr.Turgay İSBİR hk,

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

İlgi : Rektörlüğün, 03.07.2007 tarihli, 30515 sayılı yazısı,

Sorumlu araştırıcılığını Üniversitemiz Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Turgay İSBİR'in üstlendiği ve Yüksek Lisans Öğrencisi Bio.Bahar TOPTAŞ'ın yürüteceği 2007/1718 dosya no'lu "Hiperlipidemi Olan Obez Çocuklarda Denatüre Gradient Jel Elektroforoz Yöntemi İle Apo A-1 Mspl Polimorfizmi İle HDL Alt Gruplarının Araştırılması" başlıklı tez çalışması Araştırma Fonundan desteklenmek şartı ile kurulumuzun 12.09.2007 tarihli, 08 sayılı toplantısında onaylanmış olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Üniversitemiz Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Turgay İSBİR'e iletilebilmesi hususunda gereğini saygılarımla arz ederim.

Prof.Dr. Zafer ARI
İstanbul Tıp Fakültesi
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak



İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
YEREL ETİK KURUL TUTANAĞI

Toplantı Tarihi : 12/09/2007

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Etik Kurul Toplantı Salonu

Toplantı Sayısı : 8

Sorumlu araştırmacılığını Üniversitemiz Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Turgay İSBİR'in üstlendiği ve Yüksek Lisans Öğrencisi Bio.Bahar TOPTAŞ'ın yürüteceği 2007/1718 dosya no'lu "Hiperlipidemi Olan Obez Çocuklarda Denatüre Gradient Jel Elektroforoz Yöntemi İle Apo A-1 Msp1 Polimorfizmi İle HDL Alt Gruplarının Araştırılması" başlıklı tez çalışması Araştırma Fonundan desteklenmek şartı ile kurulumuzda incelendi etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr. Zafer ARI
Etik Kurul Başkanı (Dekan Yardımcısı)

Prof.Dr. A.Yağız ÜRESİN (Katılmadı)
Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Prof.Dr. Ahmet GÜL
İç Hast. A.D, Romatoloji Bilim Dalı

Prof.Dr. Berrin UMMAN
Kardiyoloji A.D.

Prof.Dr. Cahide GÖKKUŞU
Biokimya A.D

Prof.Dr. Kamil PEMBECİ (Katılmadı)
Anesteziyoloji A.D.

Prof.Dr. Sevinç EMRE
Çocuk Sağ. Ve Hast. A.D

Prof.Dr. Nuran YILDIRIM (Katılmadı)
Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D.

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN
Nöroloji A.D.

Prof.Dr. Pınar SAİP
İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Ümit TÜRKÖĞLU
Biokimya A.D

Prof.Dr. Çiçek BAYINDIR (Katılmadı)
Patoloji A.D., Nöropatolojik B.D

Prof.Dr. Yeşim ERBİL (Katılmadı)
Genel Cerrahi A.D.

Prof.Dr. Neşe ÇOLAK
İç Hast.A.D. End. Ve Metabolizma Hast. B.D.

Prof.Dr. Nurhan ENGİNAR
Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Fatma Ceyda DÖNMEZER
Sivil Toplum Örgütü Üyesi

Av. Dilek Temiz ÖZBEK
Hukukçu

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	BAHAR	Soyadı	TOPTAŞ
Doğ.Yeri	İSTANBUL	Doğ.Tar.	10/04/1981
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	16682313178
Email	bahartoptas81@hotmail.com	Tel	0212 211 1103

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İ.Ü. DETAE Moleküler Tıp AD	2008
Lisans	T.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2004
Lise	Beşiktaş Lisesi	

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜD S Puanı	(Diğer) Puanı

İngilizce	iyi	orta	iyi	70	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	87	87	86
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsof office	iyi
Spss	

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): tarih, müzik dinlemek.