

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**“HİPERLİPİDEMİ OLAN OBEZ ÇOCUKLARDA DENATÜRE
GRADİENT JEL ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ İLE APO B-100
EcoRI POLİMORFİZMİ İLE LİPİD PROFİLLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI”**

“ÖZLEM TİMİRCİ”

**DANIŞMAN
“PROF.DR. TURGAY İSBİR”**

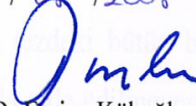
**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2008

TEZ ONAYI

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

18 / 08 / 2008

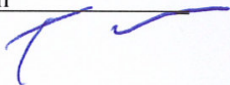
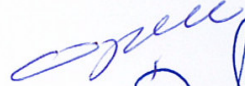
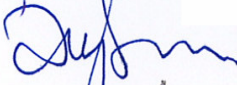




Prof.Dr.Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
 Program Adı : MOLEKÜLER TIP
 Programın seviyesi : Yüksek Lisans Doktora
 Anabilim Dalı : MOLEKÜLER TIP
 Tez Sahibi : ÖZLEM TİMİRCİ
 Tez Başlığı : HİPERLİPİDEMİ OLAN OBEZ ÇOCUKLARDA DENATÜRE GRADİENT JEL ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ İLE APO B-100 EcoRI POLİMORFİZMİ İLE LİPİD PROFİLLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI
 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. Dişhekimliği 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.

ÖZLEM TİMİRCİ



İTHAF

Değerli hocalarıma ve sonsuz desteklerinden dolayı anneme, babama ve ağabeyime 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 Başkını değerli hocam, Sayın Prof. Dr. Turgay İsbir'e,

Tezım 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 tüm Moleküler Tıp Anabilim Dalı çalışanlarına,

Hiçbir zaman desteğini ve sevgisini benden esirgemeyen değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1688

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 LİPOPROTEİN METABOLİZMASINA GENEL BAKIŞ.....	4
2.1.1 PLAZMA LİPİD VE LİPOPROTEİNLER.....	4
2.1.2 APOLİPOPROTEİNLER	5
2.1.3 LİPOPROTEİN METABOLİZMASI	7
2.2 LİPİD VE LİPOPROTEİN SEVİYELERİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER.....	9
2.2.1 DİYET, ÇEVRESEL FAKTÖRLER, YAŞ, CİNSİYET VE OBEZİTE.....	9
2.2.2 LİPOPROTEİNLERLE İLGİLİ HASTALIKLAR.....	11
2.2.2.1 HİPERLİPİDEMİLER.....	11
2.2.2.1.1 Primer Hiperlipidemiler.....	12
2.2.2.1.2 Sekonder Hiperlipidemiler.....	15
2.3 APOLİPOPROTEİN B : YAPISI VE FONKSİYONU.....	16
2.3.1 APO B GENİNİN YAPISI.....	16
2.3.2 APO B mRNA DÜZENLEMESİ.....	17
2.3.3 APO B PROTEİNİNİN YAPISI.....	18
2.3.4 APO B FONKSİYONLARI VE FONKSİYON DOMENLERİ.....	20
2.3.4.1 LİPİD BAĞLAMA DOMENİ.....	20
2.3.4.2 RESEPTÖR BAĞLAMA DOMENİ.....	21
2.3.5 APOLİPOPROTEİN B' NİN METABOLİZMASI.....	22

2.3.5.1 APO B SENTEZİ.....	22
2.3.5.2 APO B İÇEREN LİPOPROTEİNLERİN İNTRAVASKULER METABOLİZMASI.....	23
2.3.5.3 APO B İÇEREN LİPOPROTEİNLERİN RESEPTÖR ARACILI VE RESEPTÖR BAĞIMSIZ METABOLİZMASI.....	23
2.3.6 APOLİPOPROTEİN B-100 GENİ EKZON 29 POLİMORFİZMLERİ.....	26
2.3.6.1 APO B-100 GENİ EKZON 29 Glu4154Lys EcoRI POLİMORFİZMİ.....	27
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1 SEÇİLEN ÖRNEKLERİN TANIMI.....	28
3.2. GEREÇLER.....	31
3.2.1. Çalışmamızda Kullanılan Cihazlar, Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler.....	31
3.2.1.2. Cihazlar.....	31
3.2.1.3 Kimyasal maddeler ve sarf malzemeler.....	31
3.3 ÇALIŞMADA KULLANILAN LABORATUAR YÖNTEMLERİ.....	31
3.3.1 DNA İzolasyonu.....	31
3.3.2 Genomik DNA'ların Agaroz Jelde Test Elektroforezi.....	32
3.3.3 Genomik DNA'ların Spektrofotometrik Ölçümleri	32
3.3.4 I. PCR Uygulaması	32
3.3.5 Agaroz Jelde I. PCR Ürünlerinin Test Elektroforezi.....	34
3.3.6 Agaroz Jel'in Amplifikasyon Açısından Translüminatör İle Değerlendirilmesi...34	
3.3.7 GC Klempli PCR Ürünlerine Denatüre Gradient Jel Elektroforezi (DGGE) Uygulanması.....	34
3.3.8 DGGE Uygulanan Ürünlerin SNP Açısından Değerlendirilmesi.....	36
3.3.9 Jelin Görüntüleme Sistemine Aktarılması ve Mutasyon Paterni Düşünülen Örneklerin Tekrar Değerlendirilmesi.....	37
3.3.10 DNA Dizi Analizi'nde Kullanılmak Üzere GC Klemp Eklenmemiş İleri ve Geri Primer Kullanımı ile II. PCR Uygulamasının Yapılması.....	37
3.3.11 II. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezine Tabi Tutulması ve Agaroz Jel'in Amplifikasyon Açısından Değerlendirilmesi.....	38
3.3.12 II. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması.....	38
3.3.13 II. PCR Ürünlerinin Saflaştırılmasının Kontrolü.....	38
3.3.14 Saflaştırılmış Olan II. PCR Ürünlerinin Tekrar Kullanılarak, DNA Dizi Analizi'nde Kullanılmak Üzere Dizileme Reaksiyon Uygulamasının Yapılması.....	38

3.3.15 Dizileme Reaksiyonundan Alınan Örneklerin Saflaştırılması.....	39
3.3.16 Saflaştırılmış Ürünlerin DNA Dizi Analizi Cihazına Yüklenmesi.....	39
3.3.17 DNA Dizi Analizi Sonuçlarının Bilgisayar Yardımı İle Değerlendirilmesi.....	39
3.3.18 Plazma Lipid Profillerinin Ölçülmesi.....	40
3.3.19 Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatiksel Yöntemler.....	40
4. BULGULAR.....	41
4.1 PROJE İLE İLGİLİ YÖNTEMLERİN KURULMASI İLE İLGİLİ BULGULAR.....	41
4.1.1 Apo B-100 geni Ekzon 29 bölgesi I. PCR Ürünü ile ilgili Bulgular.....	41
4.1.2 Apo B-100 geni Ekzon 29 bölgesi DGGE Ürünü ile ilgili Bulgular.....	41
4.1.3 Apo B-100 geni Ekzon 29 bölgesi II. PCR Ürünü ile ilgili Bulgular.....	42
4.1.4 Apo B-100 geni Ekzon 29 bölgesi II. PCR Ürününün Saflaştırılması ile ilgili Bulgular.....	43
4.2 DNA DİZİ ANALİZİ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR.....	43
4.3 İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR.....	46
5. TARTIŞMA	53
KAYNAKLAR	63
HAM VERİLER.....	80
FORMLAR	107
ETİK KURUL KARARI.....	109
ÖZGEÇMİŞ	111

TABLolar LİSTESİ

- Tablo 2.1** İnsan plazma lipoproteinlerinin yerleşimi ve özellikleri
- Tablo 2.2** Apolipoproteinlerin özellikleri ve fonksiyonları
- Tablo 2.3** Diyet, Çevresel Faktörler, Yaş, Cinsiyet ve Obezitenin Lipid ve Lipoprotein Seviyeleri Üzerine Etkisi
- Tablo 2.4** Apo B-100 geninin 29. ekzonunda görülen polimorfizmler ve RFLP sonucu isimlendirmeleri
- Tablo 3.1** I. PCR için uygun Apo B-100 geni primerleri
- Tablo 3.2** I. PCR karışımının hazırlanması
- Tablo 3.3** I. PCR aşamaları ve protokolü
- Tablo 3.4** II. PCR aşamaları ve protokolü
- Tablo 3.5** Dizileme Reaksiyon Uygulamasının aşamaları ve protokolü
- Tablo 4.1** Çalışma Gruplarına Ait Demografik Bilgiler
- Tablo 4.2** Hasta ve kontrol grupları G4154A polimorfizmine ait genotip frekanslarının karşılaştırılması
- Tablo 4.3** Hasta ve kontrol grupları G4154A polimorfizmine ait allel frekanslarının karşılaştırılması
- Tablo 4.4** Çalışma gruplarında Apo B-100 geninin G4154A polimorfizmine ait genotiplerin biyokimyasal parametrelerle karşılaştırılması
- Tablo 4.5** Cinsiyet ayrımına göre çalışma gruplarındaki biyokimyasal parametreler

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 Diyetsel Lipidlerin Transportu

Şekil 2.2 LDL yapısı

Şekil 2.3 LDL yüzeyinde yer alan Apo B-100'ün yapısı

Şekil 2.4 Apo B'nin pentapartid yapısı

Şekil 2.5 LDL'nin hücre içine alınışı

Şekil 2.6. LDL reseptör yolu ve kolesterol metabolizmasının düzenlenmesi

Şekil 3.1 Adolesan Erkeklerin Yaşa Bağlı Serum Lipid Düzeyleri İçin Sınır Değerler

Şekil 3.2 Adolesan Kızların Yaşa Bağlı Serum Lipid Düzeyleri İçin Sınır Değerler

Şekil 4.1 GC klempli Apo B-100 geni primerleriyle çoğaltılan 390 bç'lik PCR ürünlerinin % 2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

Şekil 4.2 Apo B-100 geni ekzon 29, DGGE uygulanan GC klempli I. PCR ürünlerinin Kodak EL Logic 100 görüntüleme sistemi ile görüntülenmesi

Şekil 4.3 GC klempsiz Apo B-100 geni primerleriyle çoğaltılan 390 bç'lik II. PCR ürünlerinin % 1,5'luk agaroz jeldeki görüntüsü

Şekil 4.4 Saflaştırılması yapılmış 390 bç'lik II. PCR ürünlerinin % 1,5'luk agaroz jeldeki görüntüsü

Şekil 4.5 17 no'lu I. kontrol örneğine ait DNA dizi analizi ve kromotogram görüntüsü

Şekil 4.6 Bio-Edit programında Apo B-100 referans dizisi ile 17 no'lu I. kontrolün karşılaştırılması

Şekil 4.7 38 no'lu hasta örneğine ait DNA dizi analizi ve kromotogram görüntüsü

Şekil 4.8 Bio-Edit programında Apo B-100 referans dizisi ile 38 no'lu hasta örneğinin karşılaştırılması

Şekil 4.9 Hasta grubu, I. kontrol grubu ve II. kontrol grubunda G4154A allel frekanslarının karşılaştırılması

Şekil 4.10 Hasta grubunda genotip dağılımına göre total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Apo B: Apolipoprotein B

LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein

IDL: Orta yoğunluklu lipoprotein

Lp (a): Lipoprotein (a)

LDLR: Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü

LRP-1: Düşük yoğunluklu lipoprotein ilişkili protein-1

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: Trigliseridden zengin lipoprotein

SRB-I: Çöpçü reseptör sınıf B-tip I

CAD: Koroner Arter Hastalığı

bp: Baz çifti

cDNA: Komplementer DNA

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

DGGE: Denatüre Gradient Jel Elektroforezi

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

SDS: Standart Deviasyon Skoru

ÖZET

TİMİRCİ Ö. (2008). HİPERLİPİDEMİ OLAN OBEZ ÇOCUKLARDA DENATÜRE GRADİENT JEL ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ İLE APO B-100 EcoRI POLİMORFİZMİ İLE LİPİD PROFİLLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

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

Çocukluk döneminde başlayan ve daha ileri yaşlarda devam eden obezite, morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde etkilemektedir. Obezitenin çocukluk çağındaki etiyopatogenezinde çevresel faktörlerden etkilenme riski azaldığından genetik bozukluklar daha çok dikkate alınmaktadır. Apo B-100 lipoprotein metabolizmasında bulunan serum kolesterol seviyelerinin homeostazında kilit rol oynayan bir glikoproteindir. Lipoprotein metabolizmasındaki genlerin, obezite ile ilişkili koroner arter hastalığı gelişim sürecinde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu nedenle 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 B-100 EcoRI polimorfizmi ile plazma lipid profillerinin birarada incelenmesi ve Türk toplumunda ilk defa bu konudaki olası ilişkilerin araştırılması amaçlanmıştır. Apo B-100 geninde, 29. ekzondaki EcoRI polimorfizmi ile diğer olası polimorfizmleri saptayabilmek için, ilgili gen dizisinin PCR ile çoğaltılıp, olası mutasyonlar Denatüre Gradient Jel Elektrofrezinde (DGGE) farklı paternler de gözlemlendikten sonra, otomatize DNA dizi analiz cihazı ile dizilemesi yapılarak, dizileme sonuçları bilgisayar yazılım programı (Proseq, BioEdit) yardımıyla değerlendirilmiştir. DGGE ve dizileme sonrasında Apo B-100 geninin 29. ekzonunda sadece bir tek nükleotid değişimine (SNP) rastlanmıştır. Çalışma gruplarında EcoRI polimorfizmi (G4154A) olarak bilinen bu tek nükleotid değişimine ait genotipler incelendiğinde sağlıklı kontrol grubumuzda mutant A alleleline rastlanmamıştır. Hasta grubunda ise genotip ile lipid profilleri karşılaştırıldığında, GA genotipi taşıyanlarda total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri mutant A alleli taşımayan GG genotipine sahip hastalara göre yüksek olarak bulunmuştur.

Çalışmamız sonucunda, obezite ve mutant A alleli taşıyan çocuklarda A allelinin hiperlipidemi geliştirme riskini arttırabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Apo B-100, hiperlipidemi, obezite, DGGE, polimorfizm

Bu alışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1688

ABSTRACT

Timirci, O. (2008). COMPARISON OF LIPID PROFILES WITH APO B-100 EcoRI POLYMORPHISM ON OBESE CHILDREN WITH HYPERLIPIDEMIA BY USING DENATURATING GRADIENT GEL ELECTROPHORESIS

İstanbul University, Institute of Health Science, Molecular Medicine. Master's Thesis. İstanbul.

Obesity, especially the cases starting from childhood, causes high morbidity and mortality. In childhood obesity, the environmental factors are not assumed to be effective as genetic factors, so genetic factors should be taken care of much more than in adult cases. Apo B-100 is a glycoprotein that is one of the important factors in cholesterol homeostasis. Dislipidemia is important in the pathogenesis of atherosclerosis; so genes related to lipoprotein metabolism are thought to be responsible for the development of coronary artery diseases. 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 B-100 EcoRI polymorphism and plasma lipid parameters altogether in childhood and adolescence cases and this will be the first such study in Turkey to determine possible relationships of all discussed parameters. We amplified the related gene segment by using polymerase chain reaction (PCR) and determined different patterns by using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and also applied automatic sequence analysis. All results were examined by Proseq, BioEdit computer programme. There was a single nucleotide polymorphism on 29th exon of ApoB-100 gene, known as EcoRI polymorphism (G4154A). While we examine genotypic changes for this single gen chance as known as EcoR1 (G4154A) polymorphism in study groups, we couldnt find mutant A allele in healthy control group. On the other hand, we found mutant A allele in patient group and a correlation between total cholesterol and LDL-cholesterol levels, and GA genotype.

At the end of this study, the outcomes made us think, obese children patients having A allele could have a higher risk to have hyperlipidemia in future.

Key Words: Apo B-100, hyperlipidemia, obesity, DGGE, polymorphism

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 1688

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hiperlipidemi kanda kolesterol yada trigliseridlerin yada her ikisinin normalden yüksek olmasıdır. İnsanda plazma lipid düzeyleri ile birlikte çeşitli komplikasyonlar oluşmaktadır (1). Hiperlipidemiye bağlı olarak gelişen bu komplikasyonların başında obezite, nefrotik sendrom, aterosklerozise bağlı olarak gelişen koroner arter hastalıkları gelmektedir (2).

Lipoproteinlerin tanecik boyutlarının, yoğunluklarının ve kimyasal içeriklerinin farklı olmasından kaynaklanan birçok alt sınıfı mevcuttur. Lipidlerin dokulara dağıtımında temel fonksiyon gören lipoprotein düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) olarak tanımlanır. Dokulardan karaciğere lipidlerin ters transportunda görev alan lipoprotein ise yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)'dir. LDL yada HDL yapısında, reseptörlerinde oluşan genetik yada fizyolojik bir hasar plazmadaki lipid oranının yükselmesine ve buna bağlı olarak hiperlipidemi oluşumuna sebep olmaktadır (3). Metabolik sendromlu hastalarda özellikle abdominal bölgede depolanan aşırı yağ dokusu ile ilişkili olarak hipertrigliseridemi, apolipoprotein B düzeyinde ve küçük yoğun LDL partiküllerinde artış olması aterojenik lipoprotein profilini göstermektedir.

LDL, plazmada başlıca kolesterol taşıyıcı lipoproteindir; total plazma kolesterolünün yaklaşık %70 'i LDL'dir. LDL yaklaşık % 75 lipid (%35 kolesterol esteri, %10 serbest kolesterol, %10 trigliserid ve %20 fosfolipid) ve %25 proteinden meydana gelmektedir ve yapılarında Apo B-100 proteinini taşıdıkları gösterilmiştir (3). LDL, reseptörleri aracılığıyla endositozla hücre içine alınarak kolesterol içeriğini karaciğer dışı dokulara bırakırlar. Ek olarak LDL, VLDL ile birlikte aterojenik lipoprotein olarak tanımlanır.

Lipoproteinler, yapısında bulunan apolipoproteinler sayesinde organizmada farklı fonksiyonlar kazandığı klasik bilgilerimiz içerisinde yer almaktadır. Bu fonksiyonlar arasında plazma apolipoprotein B düzeylerinin hiperlipidemik hastalıkların riski için lipidlerin üzerinde bir gösterge olduğunu kanıtlayan erişkinlerde önemli çalışmalara literatürde sık olarak rastlanmaktadır (4,5). Ancak literatürde aterosklerotik risk faktörlerinden hiperlipidemi ile çocukluk dönemi obezitesinin ilişkilendirildiği çalışmalar oldukça yetersiz kalmaktadır.

Çocukluk çağı obezitesinin bilinen birçok nedeni vardır; bunlar genetik, endokrin/prenatal erken dönem, fiziksel aktivite ve sosyoekonomik nedenler olarak

sıfırlanabilir. Obezitenin çocukluk çağındaki prevalansı erişkinlerinkine benzer; ancak erken yaşlarda başlayan şişmanlığın etiopatogenezinde çevresel faktörlerden etkilenme riski azaldığından genetik bozukluklar daha çok dikkate alınmaktadır (6,7).

Son zamanlarda yapılan birçok epidemiyolojik çalışmada serum apolipoprotein düzeylerinin kardiyovasküler risk değerlendirilmesinde önemli parametreler oldukları tespit edilmiştir. Özellikle plazmadaki aterosklerotik kolesterol parçacıklarının göstergesi olarak diğer kolesterol parametrelerine göre apolipoprotein B düzeyinin daha iyi bir marker olduğu düşünülmektedir (8).

İnsan plazmasında yer alan Apo B, kromozom 2'nin kısa kolunda yer alan aynı genden türemiş Apo B-100 ve Apo B-48 gibi iki şekilde bulunmaktadır. Moleküler ağırlığı yaklaşık 270.000 dalton'dur. Düzenleyici bir protein veya proteinler insan bağırsağında Apo B mRNA'sını etkileyerek bir nükleotid değişikliğine neden olmakta ve böylece değişikliğe uğramış mRNA Apo B'nin kısa (Apo B-48) şeklinin yapımını yönlendirmektedir. İnsanlarda bu oluşum yalnız bağırsakta gözlenmektedir. Ancak bu olayın karaciğerde Apo B-100 şeklinde gerçekleştiği gösterilmiştir (9,10).

Apo B-100 karaciğerde sentezlenir ve VLDL için yapısal bir protein olarak işlev görmektedir. Ayrıca IDL ve LDL'nin başlıca protein içeriğidir. Yapısal rolüne ilaveten Apo B-100 LDL reseptörü için bir ligand olarak görev yapmaktadır. Apo B-100'ün karboksil ucu bu proteinin reseptörüne bağlanmasında kritik bölge olarak gösterilmektedir. Ayrıca Apo B-100 LDL reseptörü için ligand olma görevini Apo E ile paylaşır. Ancak plazmada predominant etkide olan apolipoprotein Apo B-100 olduğu bilinmektedir (11).

Apo B-100'ün reseptöre bağlanma bölgesinde tek bir aminoasitlik değişikliğin LDL'nin LDL reseptörüne bağlanmasını ciddi derecede bozduğunun saptanması, bağlanma alanı olarak Apo B'nin bu bölgesine dikkat çekmiştir. LDL reseptörüne normal bağlanmamaya bağlı olarak gelişen yüksek LDL seviyelerinin geliştiği hiperkolesterolemili ve hiperlipidemili hastalarda Apo B'nin defektif formu bulunmuştur (12).

Hiperlipidemiye neden olan çeşitli Apo B polimorfizmleri tanımlanmıştır. Hiperlipidemi ile ilişkili olarak gösterilmiş ilk kalıtsal Apo B bozukluğu, Ailesel Defektif Apolipoprotein B (FDB) olarak isimlendirilen ve 3500. kodonda argininin glutamine değişimine neden olan A → G transisyonudur (13). Diğer iki Apo B mutasyonu, Ailesel Defektif Apolipoprotein B hastalığına benzer klinik bulguları olan

hastalıkların oluşumuna yol açar. Bunlardan ilki Apo B Arg₃₅₃₁ → Cys mutasyonu, ikincisi ise Apo B Arg₃₅₀₀ → Trp mutasyonu olarak tanımlanmıştır (12). Bu mutasyonlar orjinal FDB mutasyonuna göre daha nadir gerçekleşmektedir.

Apo B polimorfizmlerinden EcoRI polimorfizmi, Apo B geninin 29. ekzonunda Glu4154Lys transisyonu görülen mature proteindeki Apo B geni aminoasit dizisi değişimidir. Bu değişikliğin meydana getirdiği fonksiyonel değişiklikler hala bilinmemektedir. Fakat birkaç çalışmayla EcoRI polimorfizminin serum total kolesterol ve Apo B seviyelerini nasıl değiştirdiğini gösteren muhtemel mekanizmaların varlığı gösterilmiştir (14).

Houlston ve arkadaşlarının beş farklı populasyonda yaptıkları “Apo B polimorfizmi ve LDL kinetiği arasındaki ilişki” çalışmasında bu beş populasyondan dördünde polimorfizm taşıyan bireylerde LDL fraksiyon katabolizmasının düşük olduğu gösterilmiştir (15).

Bu bilgilerin ışığında Apo B genindeki varyasyonların LDL mekanizmasını ve EcoRI polimorfizminin LDL katabolizmasını önemli ölçüde etkilediği anlaşılmaktadır. Bu polimorfizmin tam olarak etkilerinin anlaşılması için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Bu nedenle çalışmamızda, çocukluk çağı ve adolesan dönemde Apo B-100 EcoRI polimorfizmi ile plazma lipid profillerinin birarada incelenmesi ve daha önce Türk toplumunda çalışılmamış bu ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 LİPOPROTEİN METABOLİZMASINA GENEL BAKIŞ

2.1.1 PLAZMA LİPİD VE LİPOPROTEİNLER

Vücuttaki ana lipidlerin trigliseridler, kolesterol (serbest kolesterol yada kolesterol esterleri) ve fosfolipidler olduğu klinik bilgiler arasında yer almaktadır (16). Trigliseridler enerji kaynağı olarak hizmet eder ve adipoz dokuda depolanır. Kolesterol hücre membranının bir bileşeni olarak ve steroid hormonların ve safra asitlerinin prekürsörü olarak görev almaktadır. Fosfolipidler ise hücresel membranların ve lipid taşıyıcı lipoproteinlerin ana bileşenidir.

Hidrofobik bileşikler olan kolesterol ve trigliseridler plazmada direk olarak çözünemediklerinden lipoprotein adı verilen makromolekül kompleksleri halinde taşınırlar. Temel olarak tüm lipoproteinler, nötral lipidlerden (Trigliserid ve Kolesterol esteri) oluşan bir hidrofobik çekirdek, polar lipidlerden (Serbest kolesterol ve Fosfolipid) oluşan hidrofilik bir yüzey tabakası ve apolipoprotein olarak adlandırılan protein içeriklerinden meydana gelmektedir (17).

Lipid ve apolipoprotein kompozisyonları, boyutları, yoğunlukları ve fraksiyonları değişkenlik göstermektedir. Bu heterojenite ile farklı lipoprotein ana sınıfları tanımlanmıştır. Klasik sınıflandırma ultrasantrifügasyon esnasında yüzen lipoproteinlerin yoğunluğuna göre yapılmıştır. Bunlar şilomikronlar, çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL), orta yoğunluklu lipoproteinler (IDL), düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL) ve yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL) olmak üzere beş gruba ayrılmaktadır (Tablo 2.1.) (18). Ayrıca lipoproteinler, partikül boyutu, elektroforetik mobilite yada apolipoprotein içeriği temel alınarakta sınıflandırılabilir. Lipoprotein fraksiyonlarından özellikle LDL ve HDL fraksiyonları yoğunluk, partikül boyutu yada apolipoprotein içeriğindeki farklılıklara göre alt sınıflara ayrılmıştır (19,20). Klasik beş lipoproteine ek olarak, Lipoprotein(a) olarak isimlendirilen LDL benzeri bir lipoprotein sınıfı tanımlanmıştır (21).

Tablo 2.1. İnsan plazma lipoproteinlerinin yerleşimi ve özellikleri (18)

Özellikleri	Şilomikronlar	VLDL	IDL	LDL	HDL
Yoğunluk (g/ml)	0.95	0.95-1.006	1.006-1.019	1.019-1.063	1.061-1.210
Elektroforetik mobilite	Orijin	pre- Beta (β)	Yavaş pre-Beta (β)	Beta (β)	Alfa (α)
Başlıca lipid içerikleri	Trigliserid (ekzojen)	Trigliserid (ekzojen), Fosfolipid	Kolesterol ester, Fosfolipid	Trigliserid, Kolesterol ester	Fosfolipid, Kolesterol
Apolipoprotein içerikleri	Apo AI, Apo AII, ApoIV, Apo CI, Apo CII, Apo CIII, Apo B-48	Apo B-100 , Apo CI, ApoCII, Apo CIII, Apo E	Apo B-100 , Apo E	Apo B-100	Apo AI, Apo AII, Apo CII, Apo E

2.1.2 APOLİPOPROTEİNLER

Apolipoproteinler lipoproteinlerin spesifik protein bileşenleridir. Bunların, lipoproteinlerin yapısal lipid bağlayıcı bileşenleri olarak (Apo A-I, Apo A-II, Apo B-48 ve Apo B-100), lipoprotein reseptörleri için ligand olarak (Apo A-I, Apo B-100 ve Apo E), lipoprotein-reseptör etkileşimleri için inhibitör olarak (Apo C-I, Apo C-III), lipoprotein metabolizmasında enzim aktivitesi içeren modülatör olarak (Apo A ailesi ve Apo C ailesi) ve lipoproteinler arasında lipid taşımada kofaktör olarak (Apo A-IV) görev aldıkları gösterilmiştir (22).

Yukarıda belirttiğimiz sınıflandırma dışında Apo (a), Apo D, Apo F, Apo G, Apo H (beta₂-glikoprotein), Apo I (serum amiloid A), Apo J (Clusterin) olarak isimlendirilen farklı apolipoproteinler tanımlanmıştır (23). Ancak bunların fizyolojik rolleri hala bilinmemektedir.

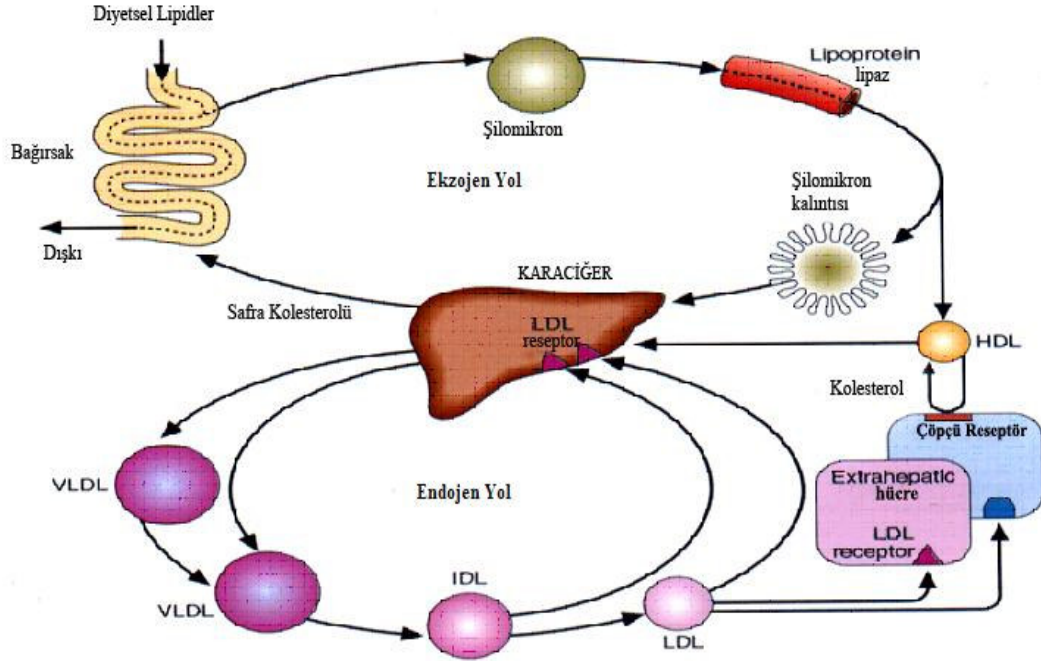
Apolipoproteinlerin karakteristik ve fizyolojik özellikleri Tablo 2.2.'de özetlenmiştir.

Tablo 2.2. Apolipoproteinlerin özellikleri ve fonksiyonları (23)

Apolipoprotein	Molekül ağırlığı (Dalton)	Kromozomal lokalizasyonu	Plazma konsantrasyonu (mg/100 ml)	Fonksiyonu
AI	28.000	11	6-160	Yapısal (HDL), LCAT aktivasyonu, Reseptör ligandı (SR-BI), Kolesterol akış promotörü
AII	17400	1	20-55	Yapısal (HDL). Lipoprotein lipaz ve Hepatik lipaz aktivasyonu, LCAT aktivatörü
AIV	44500	11	15	LCAT aktivatörü, LPL modülatörü, Lipid transportu
B-48	264000	2	0-2	Şilomikronların sekresyonu
B-100	550000	2	60-160	VLDL'nin sekresyonu, LDL'nin yapısal proteini, LDLR ligandı
CI	6000	19	3-11	LRP ve LDLR etkileşim inhibitörü, LCAT aktivatörü
CII	8850	19	1-7	Lipoprotein lipaz aktivasyonu
CIII	8800	11	3-23	Şilomikronların ve VLDL'nin hepatik alımının engellenmesi
D	33000	3	6-10	?Lipoproteinler arasında ester kolesterol ve trigliserid taşınımı
E	34000	19	2-6	Şilomikron kalıntılarının ve IDL'nin hepatik klirensi, hücre sel lipoprotein alımı
F	28000	?	2	?
G	72000	?	?	?
H	43000-54000	?	20	?
J	70000	8	10	?Lipid transportu ?Membran koruyucusu
(a)	300000-700000	6	1-100	? Fibrinolizin inhibitörü, Yara iyileşmesi

2.1.3 LİPOPROTEİN METABOLİZMASI

Lipid ve lipoprotein metabolizması, diyetel lipidlerin taşınmasını içeren ekzojen ve endojen yol olmak üzere iki yola ayrılmaktadır (Şekil 2.1) (16).

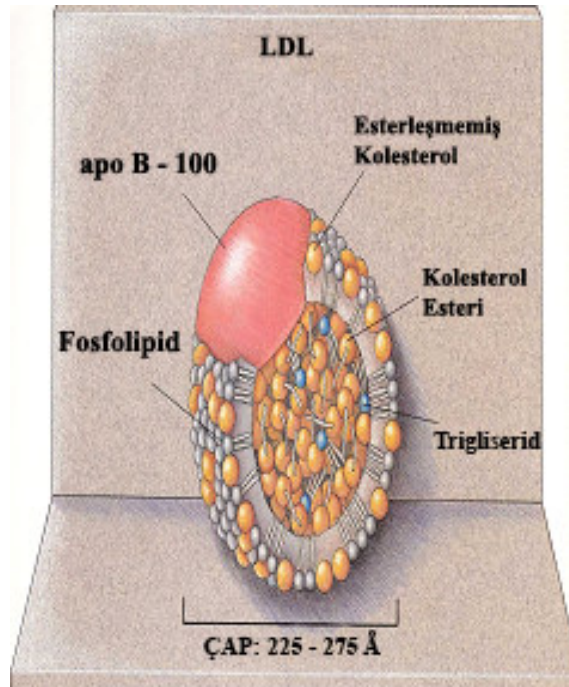


Şekil 2.1. Diyetel Lipidlerin Transpörtü

Barsakta, absorblanmış ve tekrar esterlenmiş trigliseridler, kolesterol esterleri ve fosfolipidler Apo B-48 içeren şilomikron içerisinde paketlenirler ve lenf dolaşımı aracılığıyla salgılanırlar (24). Bundan sonra şilomikron trigliseridlerinin bir kısmı hızlı olarak lipoprotein lipaz tarafından ve bazıları da hepatik lipaz tarafından hidroliz edilir. Bu süreçte partiküllerin apolipoprotein içeriği ve lipid içindeki diğer değişiklikler ile birlikte kolesterolden zengin daha küçük şilomikron kalıntıları ortaya çıkmaktadır. Şilomikron kalıntıları, başlıca karaciğerde LDLR tarafından ve az bir kısmında LRP-1 aracılığıyla yada hücre yüzey proteoglikanları aracılığıyla plazmadan temizlenir (25). Normal koşullar altında, şilomikron tarafından taşınan, absorbe edilmiş trigliseridin çoğu ekstrahepatik dokularda kullanılırken kolesterolün hemen hemen hepsi karaciğere taşınır. Ayrıca şilomikron kalıntılarının küçük bir kısmında periferel dokularda temizlenir (26).

Endojen lipid taşınma sistemi iki alt sisteme ayrılmaktadır. Bunlar Apo B-100 lipoprotein sistemi (VLDL, IDL ve LDL) ve Apo A-1 lipoprotein sistemi (HDL) olarak tanımlanmaktadır.

Apo B-100 sistemi, Apo B-100 içeren VLDL partiküllerinin karaciğere gelmesi ve salgılanması ile başlar (16). Bundan sonra VLDL trigliseridleri LPL tarafından periferel dokularda hidrolize edilir ve partiküller trigliseridleri alınmış daha küçük kalıntılara çevrilmektedir. VLDL kalıntılarının bir kısmı direk olarak karaciğerden ve muhtemelen bir kısmında periferel reseptör aracılı mekanizmalar tarafından plazmadan temizlenir (25). Artan partiküller VLDL-IDL-LDL kaskadının içerisine girer. Pek çok trigliserid çekirdeği, IDL ve LDL oluşumunda önde gelen LPL ve HL tarafından hidroliz edilir. Hidroliz sonrasında partiküllerin bir kısmı LDL partiküllerine dönüştürülür (Şekil 2.2) (16). LDL partiküllerinin çoğu LDLR ve diğer reseptörler ve az bir kısmında tam olarak tanımlanamamış reseptör bağımsız mekanizmalar aracılığıyla karaciğerden temizlenmektedir (16,27).



Şekil 2.2. LDL yapısı

Apo A-1 içeren HDL partiküllerinin metabolizması, hem ekzojen hemde endojen lipid taşınma yolları ile yakından ilişkilidir. HDL partikülleri karaciğer ve barsak tarafından salgılanan kompleks prekürsör komplekslerinden sekrete edilirler. Bunlar ters kolesterol transport sisteminin başlıca araçlarıdır. Bu sistem periferik hücrelerde sentezlenmiş yada depolanmış kolesterolü karaciğere geri getirir (28). Bu işlem hücre membranında, serbest kolesterolün HDL partiküllerine verilmesi ve LCAT tarafından serbest kolesterolün esterleşmesi ile başlar. Bundan sonra kolesterol esteri HDL partikülünün hidrofobik çekirdeğine transfer edilir. Bu süreç içerisinde, yeni oluşan HDL'ler küresel lipidden zengin HDL'lere dönüştürülür. HDL çekirdeğinin kolesterol esterlerinden oluşan kısmı, Apo B-48 veya Apo B-100 içeren lipoproteinlere CETP aracılığıyla aktarılır ve karşılığında trigliserid alınır. HDL partiküllerinden kalan kolesterol esterleri LDLR, LRP-1 veya varolduğu düşünülen HDL holopartikül reseptörü tarafından Apo E içeren HDL partikülleri ile reseptör aracılı endositoz yoluyla veya HDL kolesterol esterlerin hepatik çöpçü reseptör BI tarafından selektif temizlenmesi ile hepatositlere alınır (16). Bu sırada diğer lipoproteinlerden HDL'ye transfer edilen trigliseridler hepatik lipaz tarafından hidroliz edilir ve bu olay trigliseridden zengin HDL₂'nin trigliseridden fakir HDL₃'e çevrilmesi, serbest Apo A-1 ve lipidden fakir HDL'nin ters kolestrol transport döngüsünde yeniden kullanılması için serbestlenmesine öncülük etmektedir (20). Kolesterol esterleriyle trigliseridlerin yerdeğiştirmesi işleminin arkasında ters kolesterol transportunda diğer apolipoproteinler ve fosfolipidler gibi diğer komponentlerin değişiminide içeren HDL'nin diğer lipoproteinlerle etkileşim içerisinde olduğu bilinmektedir. HDL partiküllerinin, plazmada Apo B-100 ve Apo B-48 içeren lipoproteinler için lipid ve apolipoprotein rezervuarı olarak işlev gördüğü düşünülmektedir (16,25).

2.2 LİPİD VE LİPOPROTEİN SEVİYELERİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

2.2.1 DİYET, ÇEVRESEL FAKTÖRLER, YAŞ, CİNSİYET VE OBEZİTE

Lipid ve lipoproteinlerin plazma seviyeleri ve metabolizmaları çeşitli genetik olmayan faktörler tarafından etkilenir. Bunlar hem beslenme şekli hemde yaş, cinsiyet ve vücut yağ dağılımı ve derecesi gibi diğer faktörleri kapsar. Bu faktörlerin plazma lipid ve lipoprotein seviyeleri üzerindeki etkilerinin özeti Tablo 2.3'de gösterilmiştir.

Tablo 2.3. Diyet, Çevresel Faktörler, Yaş, Cinsiyet ve Obezitenin Lipid ve Lipoprotein Seviyeleri Üzerine Etkisi

	Total Kolesterol	Trigliserid	LDL kolesterol	HDL kolesterol
Yaş	↑	↑	↑	↑
Cinsiyet (Erkek)	↑	↑	↑	↓
Obezite	↑	↑	↑	↓
Diyet:				
Yağ asitleri:				
Doymuş Yağ Asitleri	↑		↑	↑
Çoklu Doymamış Yağ Asitleri	↓	↓	↓	↓
Tekli Doymamış Yağ Asitleri	↓		↓	↑
Karbonhidrat	↓	↑	↓	↓
Lifli	↓		↓	↓
Protein	↓		↓	↑
Alkol		↑	↓	
Yüksek Kalori Alımı	↑	↑		
Sigara İçimi	↑	↑	↑	↓
Fiziksel Aktivite		↓	↓	↑
Stres	↑		↑	↑

Tüm diyet bileşenlerinin içerisinde, yağ asitleri ve kolesterol miktar ve kompozisyonunun serum lipid ve lipoprotein metabolizmasının en önemli modülatörleri olduğu görülmektedir ve bu sebeple koroner arter hastalığı riskinde ve lipoprotein seviyelerinin düşürülmesi gerekliliğinde önerilecek diyetlerde hedef rol oynamaktadırlar.

Diyetteki yağlar doymuş, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitlerinden oluşmaktadır. Bunlardan doymuş yağ asitleri , LDL temizlenmesini bozarak serum total kolesterol ve LDL-kolesterol seviyelerini artırır. Oysa tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri, doymuş yağ asitlerinin aksine kolesterol seviyelerini azaltmaktadır (29). Bu sebeple total kalorinin % 30'nun yağlardan karşılanması ve tekli ve çoklu yağ asitlerinin miktarının artırılması ile doymamış yağ asitlerinin %10 çekilmesinin yararlı olduğu düşünülmektedir (30).

Diyetsel kolesterolün plazma lipoproteinleri üzerine etkisi değişkenlik göstermektedir (30,31). Fakat genellikle kolesterolün yüksek seviyede tüketimi tüm lipoprotein sınıflarında kolesterolün yüksek seviyede tüketimi ile ilişkilidir. Diyetsel yağ asitleri ve lipid ve lipoproteinlerdeki kolesterol seviyelerinin etkileri karbonhidrat, çözünebilir lifler ve proteinler ile karşılaştırıldığında major diyetsel ihtiyaçlar olmadığı görülmektedir (32,33).

Alınan alkol trigliserid ve HDL-kolesterol seviyelerini artırırken, LDL-kolesterol seviyesini düşürür (34). Çok yüksek kalori alımı hepatik VLDL sentezini artırır ve bunun da hipertrigliseridemi ve hiperkolesterolemiye neden olduğu bilinmektedir (32).

Ayrıca diyet ve sigara içimi, fiziksel aktivite ve psikolojik stres gibi çevresel faktörler lipid ve lipoprotein seviyelerindeki değişimlerle ilişkilidir (35,36). Bunların yerine yaş, cinsiyet, kadınlarda menstural siklus ve menapoz, vücut yağ dağılımı ve derecesi, lipid ve lipoprotein seviyelerindeki genetik varyasyonların açıklanmasında daha çok kullanılmaktadır (37,38,39,40).

Ek olarak, diabetes mellitus, endokrinolojik, renal ve hepatik hastalıkların ve ilaç kullanımının lipid metabolizmasındaki etkileri şuanda iyi bilinmektedir (32,41) ve buna bağlı olarak genler gibi diğer faktörlerin lipidlere olan etkisi düşünülürken bu hastalıklar dikkate alınmalıdır.

2.2.2 LİPOPROTEİNLERLE İLGİLİ HASTALIKLAR

2.2.2.1 HİPERLİPIDEMİLER

Hiperlipidemiler, LDL artışıyla karakterize dislipidemilerdir. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation-WHO) Frederickson sınıflaması, altı sınıfa ayrılmış primer hiperlipidemiler ve sekonder hiperlipidemiler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (17). Bu sınıflandırmaya göre hiperlipidemilere ait özellikler aşağıda özetlenmiştir:

2.2.2.1.1 Primer Hiperlipidemiler

a) Tip I Hiperlipidemi (Ailesel Şilomikronemi):

Şilomikronlar normalde yemek sonrasında incebarsak duvarında sentezlenir ve lipoprotein lipaz enzimi (LPL) aktivitesi ile plazmadan oldukça hızlı bir şekilde uzaklaştırılırlar. LPL eksikliği olan hastalarda anormal düzeyde şilomikronlar toplanmaktadır. Apo CII LPL'nin kofaktörü olduğundan Apo CII eksikliği de LPL eksikliğine benzer etkiler göstermektedir. LPL eksikliği otozomal resesif olarak kalıtım göstermektedir (17).

Şilomikronların birikimi trigliserid düzeylerinde aşırı bir yükselmeye neden olur. Eğer trigliserid düzeyi 2000 mg/dl'yi aşarsa vücudun değişik bölgelerinde ksantomalar oluşabilir ve retinada lipidler toplanabilir. Hastalarda ayrıca pankreatit, hepatomegali ve splenomegali gözlenebilir. Aynı göstergeler diabet, hipotiroidizm ve hiperglobulinemide de gözlenmektedir. Tedavi için düşük yağ içeren bir rejim önerilmektedir.

b)Tip II Hiperlipidemi (Primer Hiperkolesterolemi)

Primer Hiperkolesterolemi'nin üç şekli vardır:

- 1) Poligenik Hiperkolesterolemi
- 2) Ailesel Hiperkolesterolemi (FH)
- 3) Ailesel Birleşik Hiperlipidemi (FCHL).

Hüresel LDL alımındaki azalmadan dolayı her üç grupta da serum LDL düzeylerinde bir artış gözlenmektedir (17).

1) *Poligenik Hiperkolesterolemi:*

Burada bilinen bir monogenik bozukluk tanımlanmamıştır. Hastalığın çevresel faktörlerin etkisiyle meydana geldiği düşünülmektedir. Bu tip olgularda LDL yüksekliği ile birlikte tipik olarak total kolesterol düzeyleri de 300 mg/dl'den yüksektir. Bazı olgularda koroner arter hastalığında gözlenen artışla birlikte tendon ksantomaları da gözlenmektedir (17).

2) Ailesel Hiperkolesterolemi (FH):

Otozomal dominant olarak kalıtım gösterdiği için homozigot ve heterozigot şekilleri bulunmaktadır. Bu genetik bozukluk inaktif veya var olmayan reseptörle sonuçlanmaktadır. Bütün olgularda LDL'nin hücre zarına bağlanma yeteneği zarar görmüştür (42). Sonuç olarak LDL katabolizması bozulmuştur, ayrıca LDL sentezi de artmıştır. Homozigot hastalarda yoğun LDL-kolesterol birikimi gözlenmektedir. Bir çok araştırmacı LDL düzeylerinde yükselmeye birlikte diğer lipoprotein ve apolipoproteinlerin metabolizmasında da karmaşık anormallikler tanımlamışlardır. Örneğin VLDL yapısı ve metabolizması normaldir fakat IDL'nin katabolizması gecikmiştir. Homozigot hastalarda HDL ile ilgili anormallikler de bildirilmiştir. HDL₂ alt sınıfının hemen hemen hiç olmadığı rapor edilmiştir. Plazma apolipoproteinlerinden ise özellikle Apo B ve Apo E dikkat çekicidir. Prematüre ateroskleroz gelişen ailesel hiperkolesterolemili hastalarda yaygın olarak hayatın erken evrelerinde ciddi hastalıklar veya ölüm gözlenir. Homozigotlar çok erken yaşlarda tendon ksantomaları ve elektrokardiyografik testlerle belirlenebilen koroner arter hastalığı problemleri gösterirler. Özellikle LDL reseptör aktivitesinde total eksiklik olan bireylerde çok düşük reseptör aktivitesi (% 2-25) olanlardan daha yüksek oranda koroner ölüm gözlenir. Heterozigot olgularda LDL düzeylerindeki artıştan dolayı aşıl tendonu üzerinde (tendon ksantomalarından dolayı) ve özellikle orta ve yüzük parmaklarındaki ekstensör tendonlarda nodüler düzensizlikler tanımlanmıştır. Tip IIb karışıklıkları sıklıkla yaş ve obezite ile birlikte artmaktadır. Bunların başlangıcında çoğunlukla genetik sebebe dayanmayan karaciğer hastalıkları görülür (17).

3) Ailesel Birleşik Hiperlipidemi (FCHL):

Ailesel birleşik hiperlipidemi apolipoprotein B-100'ün aşırı üretimi sonucu hem kolesterol hemde trigliserid düzeylerinin artmasıyla karakterize olan bir lipid metabolizması bozukluğudur. Burada apo B düzeylerindeki yükselme ile birlikte plazmada apolipoprotein içeren lipoproteinlerin seviyelerinde de artış gözlenmektedir (17,43).

Ailesel birleşik hiperlipidemi çevresel ve genetik bir çok faktörün etkisiyle gelişmektedir (43). Primer bozukluğun karaciğer tarafından Apo B içeren VLDL artışından ileri geldiği düşünülmektedir. Bu hastalarda prematür koroner arter hastalığı riskinde de bir artış vardır (17).

c) Tip III Hiperlipidemi (Ailesel Disbetalipoproteinemi) :

Tip III hiperlipoproteinemi artmış plazma total kolesterol ve trigliserid düzeyleri (300-400 mg/dl), palmar tuberoeruptif ksantoma ve prematür kardiyovasküler hastalıkla karakterize edilmektedir (44). Bu bozuklukta aterojen lipoproteinlerden LDL'nin genellikle düşük olduğu ve hiperlipideminin özellikle şilomikron ve VLDL kalıntıları düzeyinde meydana gelen yükselme ile oluştuğu görülür. Ultrasantrifüj ile yapılan ayırmalarda d<1.006 kolesterol: trigliserid oranının 0,3'ten fazla olduğu gözlenmiştir. Oysa bu oranın normal insanlarda 0,3'ten az olduğu gösterilmiştir (45).

d) Tip IV Hiperlipidemi (Ailesel Hipertrigliseridemi) :

Ailesel hipertrigliseridemi otozomal dominant olarak kalıtım göstermektedir. Ayrıca ailesel birleşik hiperlipidemi sendromunun bir parçası olarak kabul edilmektedir. VLDL artışıyla birlikte olan hipertrigliseridemilerin birincil ve ikincil sebeplerinin her ikisi de tanımlanmıştır. Birincil karışıklıklarda VLDL'nin üretiminde artış ve serumdan uzaklaştırılmasında bir azalma veya her ikisi birlikte gözlenmektedir. Karakteristik klinik semptomlar genellikle çocuklukta görülmez fakat ilerleyen yaşlarda ortaya çıkabilir. Hastalığın ikincil şekli alkolizm, obezite ve nefrotik sendrom gibi diğer hastalıklarla ilişkilidir (43).

Laboratuvar sonuçlarında normal veya hafifçe artmış kolesterol ile birlikte yüksek trigliserid ve VLDL düzeyleri gözlenir (17).

e) Tip V Hiperlipidemi (Ailesel Birleşik Hiperlipidemi):

Ailesel birleşik hiperlipidemi trigliserid açısından zengin lipoproteinlerin serumdan uzaklaştırılma yeteneğinin bozulması, bu partiküllerin üretiminin artması veya her ikisinin birlikte olması durumunda ortaya çıkan bir lipid metabolizması bozukluğudur. Tip V hiperlipideminin de genetiği henüz bilinmeyen ailesel bir şekli vardır. Bu hastalarda apo CIII ile birlikte apo E4 izoformunun arttığı saptanmıştır (46).

Şilomikron ve VLDL'nin birlikte yükseldiği durumlarda serumun üst kısmında bulanık, kaymak görünümünde bir çizgi meydana gelir. Lipoprotein elektroforezinde

ağır şilomikron ve pre-Beta bantları gözlenir. LDL ve HDL fraksiyonları normale göre düşük olabilir. Serum kolesterol ve trigliserid düzeyleri de artmıştır (17).

Hastalar genelde 20-50 yaşları arasında semptomları gösterirler. Bu hastalardaki klinik bulgular eruptif ksantoma ve pankreatitle birlikte seyreden abdominal (karın bölgesi) ağrılarıdır (17).

f) Ailesel Hiperalfalipoproteinemi:

Beklenildiği gibi ailesel hiperalfalipoproteinemili hastalarda koroner arter hastalığı riskinde bir azalma gözlenir. Yüksek HDL kolesterol düzeyleri zararlı etkileri yerine yararlı etkileri olan hafif yüksek kolesterol seviyelerine neden olur. Bu hastalar artan lipoprotein lipaz enzim aktivitesine sahiptirler ve bu yüzden VLDL ve şilomikronların klirensinin bu hastalarda hızlandığı gözlenmiştir (17).

2.2.2.1.2 Sekonder Hiperlipidemiler

Yüksek lipid düzeyleri bazen primer karışıklıklarla birlikte olduğu için sekonder (ikincil) hiperlipidemi olarak tanımlanırlar. Bu olgularda hiperlipidemi primer karışıklığın tedavisinin başarılı olması durumunda düzelir (43). Çok yaygın olan sekonder hiperlipidemiler periferik hücre düzeyinde lipid metabolizması veya karaciğerin lipid metabolizmasındaki fonksiyonunun fiziksel veya kimyasal olarak bozulması sonucu meydana gelmektedir (17).

2.3 APOLİPOPROTEİN B: YAPISI VE FONKSİYONU

İnsanlarda Apo B'nin, herikisinde lipidlere bağlı olarak bulunan Apo B-48 ve Apo B-100 olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır. Apo B-100 konsantrasyonu 60-120 µg/ml iken Apo B-48 plazmada çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. Apo B-100 karaciğerde sentezlenir ve VLDL, IDL ve LDL 'nin yapısal proteinidir. Apo B-100 'ün %90'nından fazlası LDL fraksiyonunda bulunmaktadır. Apo B-48 ise barsakta sentezlenir ve şilomikronun yapısal bileşenidir.

Apo B'nin büyük boyutu, aşırı hidrofobitesi ve bundan dolayı sıvı çözeltilerde çözünebilirliğinin azlığı, agregasyona eğilimi ve degradesyona duyarlılığı Apo B yapısını direk çalışmayı zorlaştırmaktadır (47).

Apo B geninin klonlanmasından ve proteininin nükleotid ve aminoasit dizisinin ortaya çıkartılmasının ardından Apo B 'nin yapısını ve fonksiyonel domenlerini aydınlatan detaylara sahip olunmuştur.

2.3.1 APO B GENİNİN YAPISI

Apo B geni 2. kromozomun kısa kolunda yer almaktadır (48,49). Komplementer DNA (cDNA) ve intronik nükleotid parçasının dizisi ve aminoasit dizisine kadar Apo B'nin moleküler organizasyonu bilinmektedir (50-52). İnsanlarda Apo B geni başlıca karaciğer hepatosit hücrelerinde ve barsak epitelyal hücrelerinde eksprese edilmektedir (49). Küçük bir kısmının insan genindeki ekspresyonuna, aynı zamanda kalpte, aortik endotelyal hücrelerde, fibroblastlarda ve bunların dışında böbrek, kolon ve midede rastlanmaktadır (53,54).

Apo B geni 43 kb üzerinde bir ağırlığa sahip olan ve 29 ekzon ve 28 intron içeren bir yapıdır. Ekzonlardan ikisi ; ekzon 26 (7572 bp) ve ekzon 29 (1906 bp) son derece büyüktür. Apo B cDNA'sı sırasıyla 128 ve 304 bp'lik 5' ve 3' kodlanmayan bölgeler (intron) ile 14121 nükleotidden oluşmaktadır (51). Apo B geninde bunlardan başka yaklaşık 100 bp'lik 3' geniyle yaklaşık 5,2 kb'lık gene kadar sıralanmış iki 5' ve bir 3' nuklear matriks ilişkili bölgeler tanımlanmıştır (55). Bu 47,5 kb'lık domenin hem regülatör elementleri hemde genin kodlayan bölgesini (ekzon) içeren topolojik olarak ayrılmış fonksiyon birimi olarak gösterilen bir bölge olduğu öne sürülmektedir (55). Bununla beraber, insan Apo B geni ekspresyonuyla ilgili transgenik farelerle yapılan son çalışmalarda, karaciğerde Apo B geninin ekspresyonu için 47,5 kb domenin

yeterli olduğu; bunun yanısıra kalp ve barsak ekspresyonunun 54 ve 62 kb arasında 5' ucuna yerleşmiş yapısal gen ve bu matriks ilişkili domen dışında lokalize olmuş bir enhancer elemente bağlı olduğu gösterilmiştir (56). Apo B geninin 47,5 kb'lık 5' ucunun transkripsiyonel başlama bölgesi, 60 bp içeren TATA box ve CAAT box bölgesine kadar klasik promotör yapılarını içerir (50).

Apo B geninin 3' ucu gen ekspresyon regülasyonu ile ilişkili olarak muhtemel iki bölge içerir : İlki ekzon 29'da translasyon stop kodonunun yaklaşık 80 bazlık ötesinde genin 3' ucunda intron bölgesine yerleşmiştir ve ikincisi AT'den zengin oldukça değişken bölgenin ortasına yerleşmiştir (57).

Ekzon 29 bölgesinin transkripsiyonun sonlanmasında bir role sahip olduğu kabul edilmektedir. Fakat transkripsiyon esnasında DNA'nın topolojik durumunu değiştiren bir enzim olan topoizomeraz II aktivitesi için VNTR (Variable number tandem repeats) bölgesine yerleşmiş bir DNA parçası lokalize edilmiştir (57). Bu regülatör bölgeler ve motifler ve bu regülatör bölgeleri bağlayan bazı nükleer proteinler tanımlanmış olmasına rağmen Apo B eksprese eden dokularda, gen ekspresyon seviyesini düzenleyen faktörler ve mekanizmalar çok fazla bilinmemektedir (58,59).

Erişkin insanlarda Apo B üretim seviyesinin değiştirdiği durumlarda bile mRNA seviyesinin değişmeyen durumu ile Apo B geninin eksprese olduğu görülmektedir (60).

2.3.2 APO B mRNA DÜZENLEMESİ

Apo B-48 mRNA düzenlemesi olarak adlandırılan mekanizma aracılığıyla Apo B-100 gibi aynı gen tarafından üretilmektedir. Bu işlemde, 6666. nükleotidde normal sitozinin urasille yerdeğişimi, kodon 2153'de CAA'dan UAA'ya bir değişim olması ve normal Glutamin sonlanma kodonuyla yer değiştirmesi sonucu Apo B mRNA'sı posttranskripsiyonel olarak deaminasyona uğramaktadır (61,62). Böylece Apo B'nin yaklaşık % 48'lik ve 2152 aminoasit içeren bölgesi ile bir Apo B proteini üretilmektedir.

mRNA düzenleme mekanizması, Apo B mRNA düzenleme enzim katalitik kompleks-1 (APOBEC-1) olarak adlandırılan spesifik bir mRNA bağlayan sitidin deaminazı ve APOBEC-1'e mRNA düzenlemesinde yardımcı olan editozom kompleks olarak isimlendirilen yardımcı faktörler içermektedir. Kromozom 12'de yerleşmiş olan insan APOBEC-1 geni klonlanmıştır (63,64). Erişkin insanlarda ve tavşanlarda,

APOBEC-1 ekspresyonu gastrointestinal epitelyal hücrelerde sınırlandırılmaktadır. Oysa sıçanlarda ve farelerde gen çok daha geniş ölçüde eksprese edilmektedir.

Apo B mRNA düzenlemesinde gerekli olan yardımcı protein faktörleri, çoğu Apo B sentezlemeyen memeli dokularında geniş ölçüde dağılım göstermektedir (65). Şuanda Apo B mRNA düzenlemesiyle ilgili olduğu sanılan bir APOBEC-1 bağlayıcı protein klonlanmıştır ve diğer bazıları da kısmen tanımlanmıştır (65).

Bugüne kadar insan barsağında defektif Apo B mRNA düzenlemesinin bir hastalığa sebep olduğu bilinmemektedir. İnsan APOBEC-1’inde bir polimorfizm tanımlanmıştır ; fakat bu polimorfizm fonksiyonel olarak sessiz görülmektedir (66). Aynı şekilde düzenleme bölgesine yakın ve düzenleme sürecine etkisi olan hiçbir Apo B varyantı lokalize edilmemiştir.

2.3.3 APO B PROTEİNİNİN YAPISI

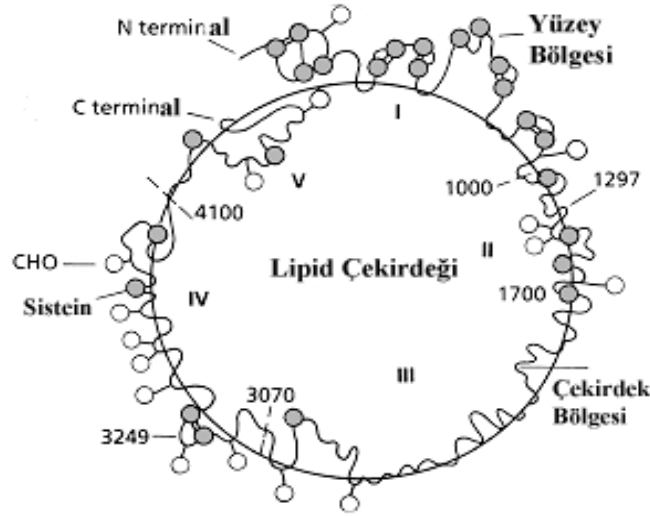
Barsak ve karaciğer Apo B mRNA’sı sırasıyla 2176-2181 aminoasit ve 4560-4565 aminoasit içeren proteini kodlar. Önce bu peptidlerin herbiri endoplazmik retikuluma transloke edilir.

Apo B-100 proteini 4536 aminoasitten oluşur ve moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 550 kDa olarak hesaplanmıştır ve moleküler ağırlığı 264 kDa olan Apo B-48 ise 2152 aminoasitten oluşur (67,68).

Apo B polipeptid zincir dizisi özeldir. Mikrozomal trigliserid transfer proteini (MTP) ve vitollegenin gibi diğer proteinler ile homoloji bulunmuştur (69,70). Ek olarak Apo B polipeptid dizisi çeşitli uzun internal tekrarlar içerir (69). Apo B lipoproteinler içerisinde glikozillenmektedir. Apo B molekülünün % 4-9 ‘luk kısmı asparagin kalıntılarıyla bağlantılı karbonhidratlar içermektedir (71). Apo B’nin N-bağlı glikozilasyon bölgelerinin bir kısmının glikozillenmiş olduğu gösterilmiştir (72). Glikozillenmiş asparagin dağılımı asimetriktir ve LDLR bağlama bölgesinin yakınında toplanmıştır. Fakat bu toplanmanın LDLR bağlanmasında bir role sahip olduğu bilinmemektedir (73).

Apo B, 16 ‘sı molekülün sistein köprülerini oluşturan disülfid formda olduğu bilinen 25 sistein kalıntısı içermektedir. Ancak bu sisteinlerin dağılımı düzgün değildir (74). Bunların 12’si ilk 500 aminoasitte bulunmakta ve hepside sistein köprüsü oluşumunda görev almaktadır (74). Sistein köprülerinin aminoterminalinin, Apo B’nin

aminoterminal ucunun globüler bir domen olarak stabilize etmekle görevli oldukları inanılmaktadır (74). Bu domenin doğru katlanmasının, proteinin yapımının ve sekresyonunun doğru olmasını sağladığına inanılmaktadır (75). Ek olarak 218. -234. sisteinler arasındaki disülfid bağının, Apo B katlanmasında lipoprotein yapımı aşamasında önemli olduğu bilinmektedir. 3167. ve 3297. rezidüleri arasındaki sistein köprüsünün de, Apo B'nin LDLR bağlanma bölgesinin uygun organize olmasında rolü olduğu bilinmektedir (67). Ayrıca, Apo B sistein 4326 ve Apo (a) sisteini 4057 arasındaki disülfid bağda Lp(a) oluşumunda rol almaktadır (76).

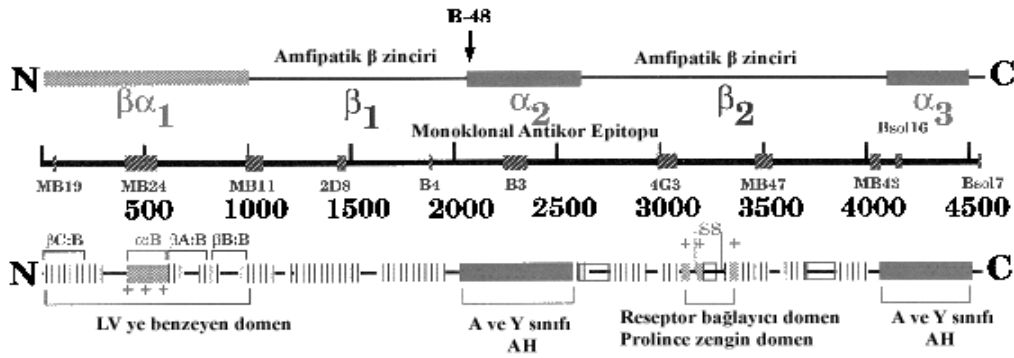


Şekil 2.3. LDL yüzeyinde yer alan Apo B-100'ün yapısı

Lipoprotein partiküllerindeki Apo B'nin tersiyer yapısı ve konformasyonu farklı yöntemlerle araştırılmıştır. Bazı analizler Apo B-100'ün 5 adet geniş domenin olduğunu göstermektedir (72). Apo B-100 ve LDL yapısını araştıran çalışmalarla edinilen bilgiler sonucunda şu model ortaya konmuştur: Apo B'nin kısmen partikülün içinde kısmen partikülün yüzeyinde olan Apo B dizileriyle birlikte, kemerimsi ve lipoprotein partikülünden uzaklaşan globüler bir terminal ucu içerdiği gösterilmiştir (72). Son yapılan çalışmalarda Apo B'nin ilk %89'luk kısmının LDL partikülünün etrafını şerit gibi sardığını karboksi terminal % 11'lik kısmının ise bu şeriti çaprazlayan ve Apo B'nin bu kısmını varsayılan LDLR bağlanma bölgesine yaklaştıran bir yay şeklinde olduğu gösterilmiştir (Şekil 2.3) (77).

Apo B'nin primer dizisi ile ilgili spektroskopik analizlerine dayanılarak LDL Apo B'sinin hem α -heliks hemde β -tabaka yapısında olduğu bilinmektedir (67). Apo B -100

üzerindeki amfipatik α -heliks ve β -tabaka oluşturabilen aminoasit dizilerini araştıran çalışmalar LDL içindeki Apo B'nin pentapartid (5 parçalı) yapıda olduğunu göstermiştir (Şekil 2.4). NH_2 - α_1 - β_1 - α_2 - β_2 - α_3 - COOH ile α_1 globuler aminoterminal domeni göstermektedir (78). Bu sebeple şilomikron Apo B-48'i sadece globuler aminoterminal α_1 domeni ve amfipatik β -tabaka birikiminden oluşmuş ikinci bir domenden oluşmaktadır.



Şekil 2.4. Apo B'nin pentapartid yapısı

2.3.4 APO B FONKSİYONLARI VE FONKSİYON DOMENLERİ

2.3.4.1 LİPİD BAĞLAMA DOMENİ

Apo B'nin bütün fonksiyonları lipid bağlama özelliklerine göre değişir. Apo B-48 ve Apo B-100'ün eksikliğinde homozigot Abetalipoproteinemilerde ve homozigot hipobetalipoproteinemilerin bazı şekillerinde olduğu gibi, şilomikron ve VLDL partikülleri oluşturulamaz; lipid absorpsiyonu ve taşınması bozular (79).

Apo B'nin lipidleri bağlama özelliği, protein boyunca uzanan birçok hidrofobik domeni sayesinde olur (67). Farklı boyutlarda kırılmış Apo B proteinlerinin çalışıldığı hücre kültürü çalışmalarında bunu göstermektedir. Daha küçük Apo B proteini varlığında sekrete edilen lipoprotein çekirdeğinde daha az lipid bulunmaktadır. Amfipatik α -heliks 2 ve 3 ve amfipatik β -tabaka birikintileri yüksek lipid bağlama potansiyeline sahiptir. α birikintileri lipidleri geri dönüşümlü, β birikintileri ise lipidleri geri dönüşümsüz bağlama özelliğini göstermektedir (78).

Apo B'nin lipid bağlaması üzerine yapılan analizler, β domenlerinin lipoprotein yapısının iskeletini oluşturan Apo B'nin değişmeyen kısımlarını oluşturduğunu, amfipatik α -heliks domenlerinin ise lipoprotein oluşumu ve intravasküler metabolizma sürecinde farklı miktarlarda içermesini sağlayan değişken lipid bağlama bölgelerini oluşturduğunu göstermiştir (80).

Lipid bağlama dizilerinin geniş dağılımı Apo B'nin, sadece bir veya iki olası lipid bağlama domeni içeren ve lipoproteinler arasında yerdeğıştiren, diğer apolipoproteinlerin tersine lipoprotein partikülleri arasında yerdeğıştirenemeyen bir apolipoprotein olduğunu göstermektedir (16).

2.3.4.2 RESEPTÖR BAĞLAMA DOMENİ

LDL partiküllerinde Apo B-100 LDLR için bir ligand olarak görev almaktadır (27). Birçok farklı gözlem sonucu Apo B molekülünün karboksi terminal kısmının reseptör bağlayıcı kısım olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmalar arasında karboksi terminal kesimli doğal Apo B varyantları ile yapılan çalışmalar, LDL ve LDLR'nin bağlanmasında defekte sebep olan Apo B mutasyonlarının kullanıldığı çalışmalar (81), LDLR'nin ligand bağlayan domenindeki negatif yüklü bölgelerle etkileşen pozitif yüklü bölgelerin tanımlandığı Apo B dizi analizi çalışması (67), diğer LDLR ligandı Apo E'nin reseptör bağlama bölgesi ile dizi homolojisinin tanımlanması çalışması (67) ve Apo B'nin LDLR'ye bağlanmayı engelleyen pozitif yüklü arjinin ve lizin aminoasit kalıntılarının kimyasal modifikasyonu ile ilgili çalışmalar mevcuttur (82).

Apo B'nin LDLR bağlayan domeninin 3167. ve 3297. sisteinler arasında disülfid bağı içeren ve bu sayede bu iki kısa aminoasit dizisini birbirine yaklaştıran arginin ve lizin kalıntılarında zengin iki bölge arasında olduğu düşünülmektedir. [3147-3157 (Bölge A) ve 3359 -3367 (Bölge B)] (83). Ancak başka çalışmalarda 2285-4081 veya 2935-4189 arasında uzanan aminoasitlerden oluşan proteinin daha büyük bir kısmında olabileceği gösterilmiştir.

İnsan Apo B apolipoproteinlerinin mutant formlarına sahip transgenik fare çalışmalarında B bölgesinin LDLR bağlamada daha önemli olduğunu ve gerçek bağlama bölgesini oluşturduğu gösterilmiştir (84). Gerçek LDLR bağlama bölgesi dışında Apo B'nin karboksi terminal ucunda LDLR bağlama konusunda etkili olduğu gösterilmiştir. Bazı çalışmalar da Apo B'nin 4050. aminoasit rezidülerinden başlayan

karboksi terminal ucunun LDL'nin bir hemisferinden başlayıp Apo B'nin 3000-3500 aminoasit rezidüleri arasındaki düz şeridimsi parçasını geçtiğini ve Apo B'nin karboksi terminal parçasını gerçek LDLR bağlama bölgesine yaklaştırdığını göstermiştir (77).

Gen odaklı fare çalışmaları Apo B'nin % 20'lik karboksi terminalinin çıkartılması sonucu normal reseptör negatif VLDL'nin LDLR'ye bağlanmasını arttırdığını göstermektedir (84). Bunun yanında Apo B'nin bu % 20'lik kısmının, reseptöre bağlanmanın bozulduğu Apo B Arg3500Gln mutasyonunda da rol oynadığı düşünülmektedir (84).

Apo B-100'ün karboksi terminalinin normalde VLDL Apo B-100'ü ile LDLR arasındaki ilişkiyi inhibe ettiği bilinmekte fakat trigliseridden zengin VLDL'nin, daha küçük ve kolesterolden zengin LDL'ye dönüşmesinden sonra Arg 3500 etrafını saran bir bölge ile olan etkileşimi LDLR ile gerçek reseptör bağlayan bölgenin etkileşimine izin verecek şekilde, karboksi kuyruğun konfirmasyonunu modifiye etme özelliğine sahip olduğu gösterilmiştir. Arg3500Gln mutasyonunda olduğu gibi bu modülatör elementteki bir mutasyon etkileşimi bozabilir ve buda LDL'nin LDLR'ye bağlanmasında soruna sebep olmaktadır (84).

Apo B içeren lipoproteinlerin çöpçü reseptörlerine (85), lipolizin stimüle ettiği reseptörlere (86) ve açiloglikoprotein reseptörüne (87) bağlandığı gibi LDLR süper ailesinin (25) diğer reseptörlerine de bağlandığı gösterilmiştir. Fakat hem LDLR bağlama bölgesi hemde lipoprotein yapısındaki Apo B'nin sahip olduğu diğer bölgeler hakkında ve bu reseptör ligand etkileşimleri hakkında bildiklerimiz sınırlıdır.

2.3.5 APOLİPOPROTEİN B' NİN METABOLİZMASI

2.3.5.1 APO B SENTEZİ

İnsanlarda Apo B içeren lipoproteinler başlıca karaciğer hepatosit hücrelerinde ve barsak epitelyal hücrelerinde sentez edilir (88). Apo B'nin az bir kısmının lipoprotein sentezinin ve sekresyonunun yapıldığı kalp gibi diğer dokularda üretildiği (89) ve aortik endotelyal hücreler gibi diğer bazı dokularda ise üretilmediği gösterilmiştir (54).

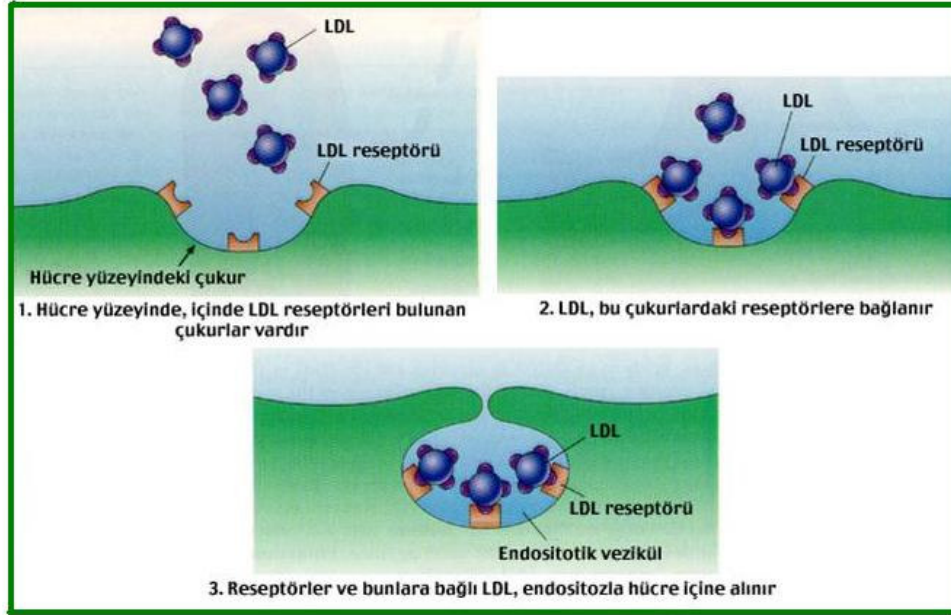
Apo B içeren lipoproteinlerin sentezi ve sekresyonu, temporal diziyide içine alan Apo B polipeptidi ile lipid ilişkisini gerektiren karmaşık bir süreçtir (24). Apo B sentezi granüllü endoplazmik retikulumda (RER) gerçekleşir.

2.3.5.2 APO B İÇEREN LİPOPROTEİNLERİN İNTRAVASKULER METABOLİZMASI

Şilomikron partiküllerinin barsaklarda lenfatiklerden ve VLDL partiküllerinin de karaciğerde disse aralığından sekresyonundan sonra, bütün bu trigliseridden zengin partiküller dolaşımdan lipoprotein reseptörlerince temizlenmeden önce, lipid ve apolipoprotein kompozisyonlarını değiştiren bazı modifikasyonlara uğrarlar (16,25). Bu modifikasyonlar, çekirdek trigliseridlerinin hidrolizi, yüzey komponentlerinin HDL'ye geri verilmesi, apolipoprotein içeriklerinin değişmesi ve HDL partiküllerinden alınan kolesterol esterleriyle hidrolize olmamış trigliseridlerin yerdeğiştirmesini içerir. Bu modifikasyonlar VLDL prekürsörlerinden, daha küçük ve kolesterol esterlerince zengin IDL ve LDL gibi partiküllerin oluşumuna neden olur. İntravasküler metabolizma sırasında bu lipoproteinlerin lipid ve protein kompozisyonundaki değişikliklere rağmen metabolik kaskad boyunca primer Apo B içerikleri değişmez. Bu işlemler süresince Apo B'nin tersiyer yapısı modifikasyonlara uğrar. Bu konformasyonel değişiklikler lipoprotein reseptörlerine veya prostaglandinlere olan afinitelerinde değişikliklerle kendini gösterir.

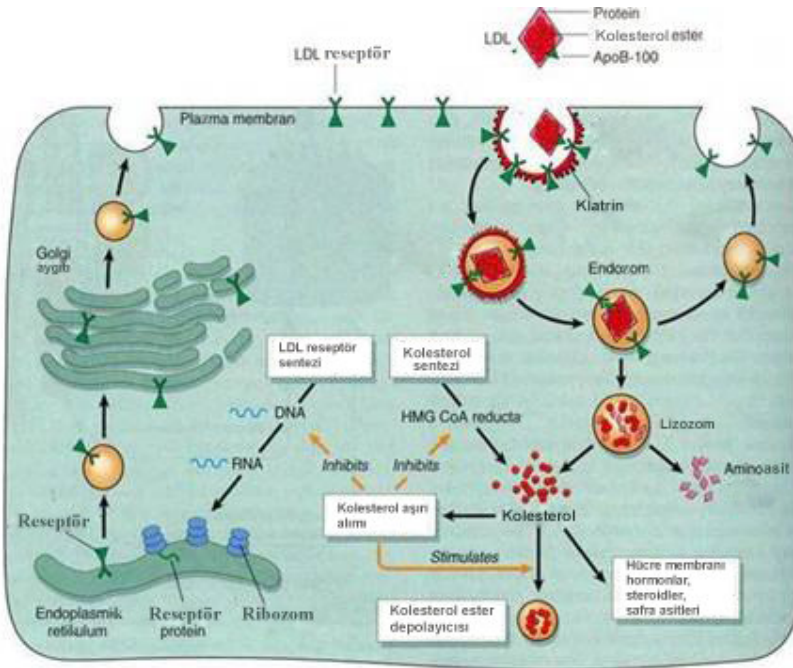
2.3.5.3 APO B İÇEREN LİPOPROTEİNLERİN RESEPTÖR ARACILI VE RESEPTÖR BAĞIMSIZ METABOLİZMASI

Lipoproteinlerin hepatik ve periferik hücrelerde LDLR'ye bağımlı alımı lipoprotein metabolizmasındaki ana mekanizmayı oluşturur (27). Bu işlemde Apo B içeren partiküller, hücre yüzey glukozaminoglikanları ve muhtemelen LPL ve HL ile LDLR'ye bağlanır (25). Reseptörlere bağlanmış lipoproteinler endositozla hücre içerisine alınır ve lizozoma taşınır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. LDL'nin hücre içine alınışı

Lipoprotein partiküllerinden alınan kolesterol, LDLR ekspresyonunu down-regüle ederek, kolesterol sentezini azaltarak ve kolesterol esterleşmesini artırarak hücre kolesterol homeostazını düzenler (Şekil 2.6) (27).



Şekil 2.6. LDL reseptör yolu ve kolesterol metabolizmasının düzenlenmesi

LDL'deki LDLR ligandı Apo B'dir. Diğer Apo B içeren lipoproteinlerde Apo E molekülleri Apo C'ler tarafından inhibe edilir. Buda reseptörle olan etkileşimlerini sağlar (25). Sadece Apo E içeren lipoproteinler, sadece Apo B-100 içeren LDL'ye oranla reseptöre daha kolay bağlanır ve daha kolay katabolize olurlar (27). Periferik LDLR, diğer lipoprotein reseptörleri ve reseptörden bağımsız diğer mekanizmalar LDL partiküllerinin plazmadan temizlenmesinde küçük bir rol oynar, fakat LDL'nin plazmadan temizlenmesinde en önemli faktör hepatik LDLR'dir (16,27). LDLR mekanizması, hepatik lipoprotein atıkları katabolizması için ana yolu oluşturur (25).

Son yıllarda LDLR'yle bağlantılı farklı hücresele reseptörlerde tanımlanmıştır (90). Hepsi Apo E'ye ve reseptör bağımlı protein (RAP) olarak isimlendirilen bir proteine yüksek afinite göstermektedirler. Fakat bunların dokulardaki dağılımı ve ligandları farklılık göstermektedir ve insanlarda lipoprotein metabolizmasındaki fizyolojik rolleri hala tam olarak bilinmemektedir. Bu LDLR reseptör ailesinde, LDL reseptör bağımlı proteininin (LRP-1) karaciğerde LDLR'den bağımsız lipoprotein artışı katabolizmasında rol oynadığı düşünülmektedir ve ayrıca VLDL reseptörünün de (91) büyük şilomikron ve VLDL atıklarının periferik dokularca temizlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir.

LDL endositozu invitro koşullarda düzenleyen fakat ana ekstravasküler ekspresyonunun invivo koşullarda LDL'nin kandan direk olarak uzaklaştırılmasını sağlayan (LRP-2) ve bunun dışında lipoprotein metabolizmasında rol oynadığı düşünülen iki LDLR bağımlı reseptör proteininin olduğu bilinmektedir. Buradan yola çıkarak lipolizle stimule olan reseptörün büyük TGLRP'nin karaciğere alınımında rol oynadığı düşünülmektedir (86). Fakat hepatik asialoglikoprotein reseptörünün lipoprotein metabolizmasındaki rolü tam olarak bilinmemektedir (25).

Aterosklerotik plaklardaki kolesterolün büyük bir kısmı özel reseptörlerce monosit makrofajlarına alınır. Bu reseptörlerin iki farklı tipi tanımlanmıştır. Reseptör sınıflarından bir tanesi şilomikron gibi TGLRP'lerin Apo E'ye bağımlı alımını düzenler ve bu sayede köpüksü hücreler oluşur (92). Çöpçü reseptör olarak bilinen diğer makrofoj reseptör sınıfının (oksidasyon gibi farklı süreçlerle modifiye olan) köpüksü hücreler oluşumunda daha fazla rolü olduğu düşünülmektedir. Makrofajlar dışında bu reseptörlerin endotelial ve vasküler düz kas hücreleri gibi diğer hücrelerde de bulunduğu bilinmektedir. LDLR yolunun tersine lipoproteinlerin çöpçü reseptörlerce temizlenmesi down-regülasyona yol açmaz ; hatta bazı türleri okside LDL tarafından

up-regüle edilir. Çöpçü reseptör BI (SR-BI), HDL partiküllerinden karaciğer ve stereoidogenik dokulara serbest kolesterol alımı ve periferik dokulardan HDL'ye kolesterol aktarılması görevleri dışında, LDL ve VLDL'yi de invitro koşullarda yüksek afiniteyle bağlar (93). Aşırı SR-BI'yı eksprese eden transgenik farelerde LDL ve Apo B seviyelerinin düştüğü görülmüştür, invitro çalışmalarla LDL kolesterol esterlerinin SR-BI tarafından selektif temizlenmesi gösterilmiştir (93). İnsanlarda SR-BI reseptörünün lipoprotein metabolizmasındaki rolü tam olarak anlaşılmamasına rağmen bu reseptörün genindeki varyasyonların LDL ve HDL kolesterol seviyelerini değiştirdiği gösterilmiştir. SR-BI dışındaki çöpçü reseptörlerin sadece modifiye (çoğunlukla okside) Apo B içeren lipoproteinleri tanıdığı bilinmektedir. Bu sebeple normal lipoprotein katabolizmasında çok büyük rolleri olmadığı düşünülmektedir.

Lipoprotein partiküllerinin az bir kısmının reseptörden bağımsız yollarla katabolize edildiği düşünülmektedir. Bu muhtemel mekanizmalar arasında, çeşitli hücre yüzey heparan sülfat prostoglandinler tarafından LDL'nin direk hücre içine alımı ve işlenmesi ve SR-BI dışındaki proteinler tarafından hepatik ve periferik hücrelere bağlanan LDL'den selektif kolesterol esterleri alımının olduğu düşünülmektedir (94). Ek olarak hücre yüzey proteoglikanlarınca düzenlenen sıvı endositoz, adzortif endositoz gibi spesifik olmayan düşük afiniteli mekanizmalarında lipoprotein temizlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (16).

Bu mekanizmaların fizyolojisi hala tam olarak açıklığa kavuşmamıştır.

2.3.6 APOLİPOPROTEİN B-100 GENİ EKZON 29 POLİMORFİZMLERİ

Çeşitli çalışmalar sonucu Apo B'yi kodlayan gen klonlanmış ve dizisi belirlenmiştir. Yapılan restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) çalışmalarıyla tüm Apo B-100 geni üzerinde yaklaşık 24 polimorfik bölge tanımlanmıştır (95). Ancak Apo B-100 geninin 29. ekzon bölgesine ait polimorfik çalışmalar oldukça sınırlı kalmıştır (Tablo 2.4).

Tablo 2.4. Apo B-100 geninin 29. ekzonunda görülen polimorfizmler ve RFLP sonucu isimlendirmeleri

Apo B-100 geni ekzon bölgesi	SNP (Tek Nükleotid Polimorfizm)	Aminoasit Değişimi	RFLP (Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi)
Ekzon 29	C12264T	Arg4019Trp	MspI +/-
Ekzon 29	G12510A	Val4101Met	
<i>Ekzon 29</i>	<i>G12669A</i>	<i>Glu4154Lys</i>	<i>EcoRI +/- t/z</i>
Ekzon 29	T12922C	Val4238Ala	
Ekzon 29	T12935C	Tyr4242Tyr	RsaI -/+
Ekzon 29	G12937C	Arg4243Thr	
Ekzon 29	A13141G	Asn4311Ser	Eco57I -/+ y/x
Ekzon 29	G13569A	Ala4454Thr	

2.3.6.1 APO B-100 GENİ EKZON 29 Glu4154Lys EcoRI POLİMORFİZMİ

EcoRI polimorfizmi, Apo B-100 geni, ekzon 29 ve 12669. nükleotidde G/A baz değişimi sonucu Lizin aminoasidinin Glutamin yerine geçmesi ile oluşan tek nükleotid polimorfizmidir. Bu değişikliğin meydana getirdiği fonksiyonel değişiklikler hala bilinmemektedir. Fakat birkaç çalışmayla EcoRI polimorfizminin serum total kolesterol ve Apo B seviyelerini nasıl değiştirdiğini gösteren muhtemel mekanizmalar gösterilmiştir (14).

3.GEREÇ 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 olarakta obez olmayan ve hiperlipidemisi bulunmayan sağlıklı çocuklar alınmıştır.

Tartı ve boy ölçümleri Harperder Stavoliometre ile Oksolog (MŞ) tarafından standart yöntemlerle (96) 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). Standart deviasyon skor, 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

\bar{X} : O yaş ve cins için toplum ortalaması

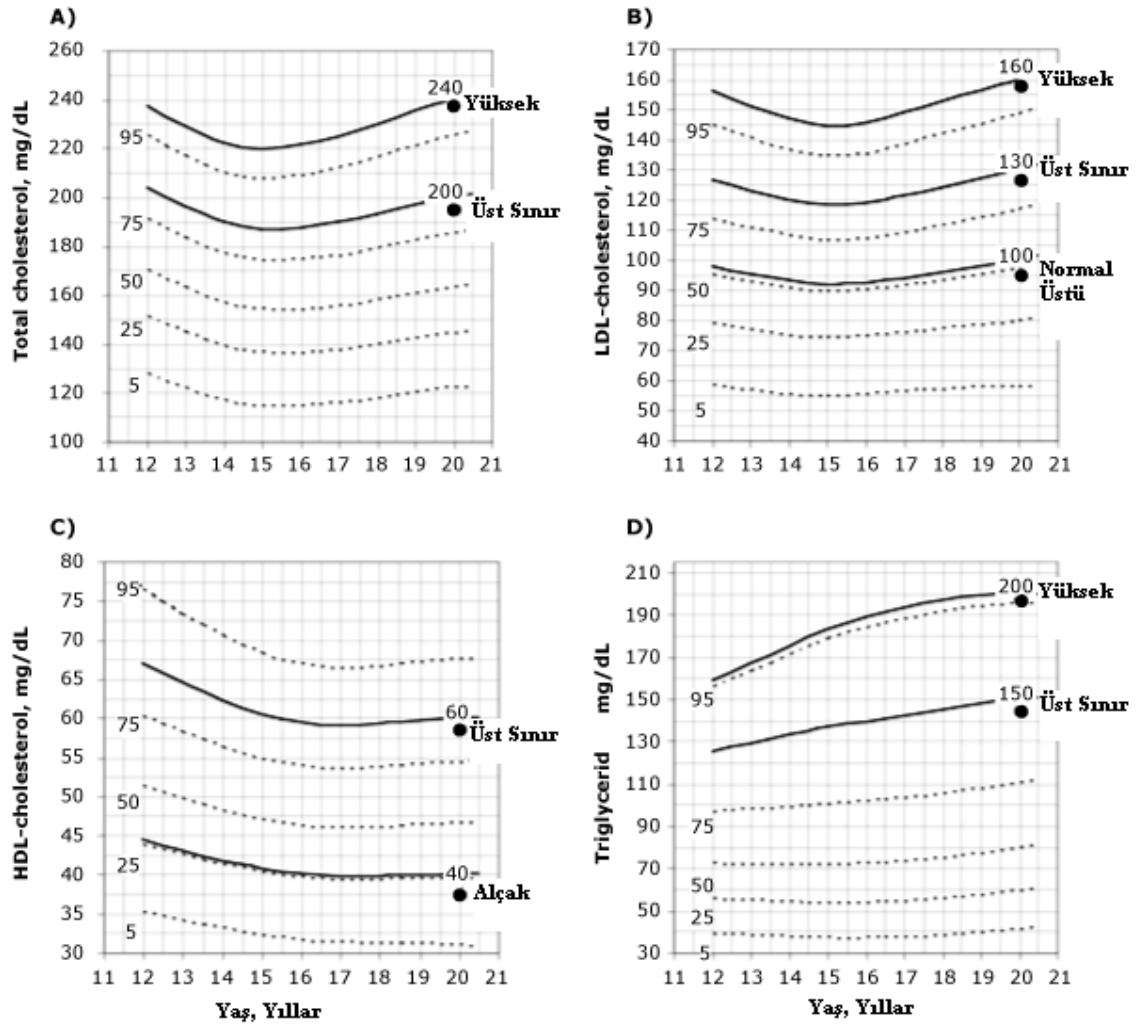
SD: O yaş ve cins için toplumun SD değeri

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

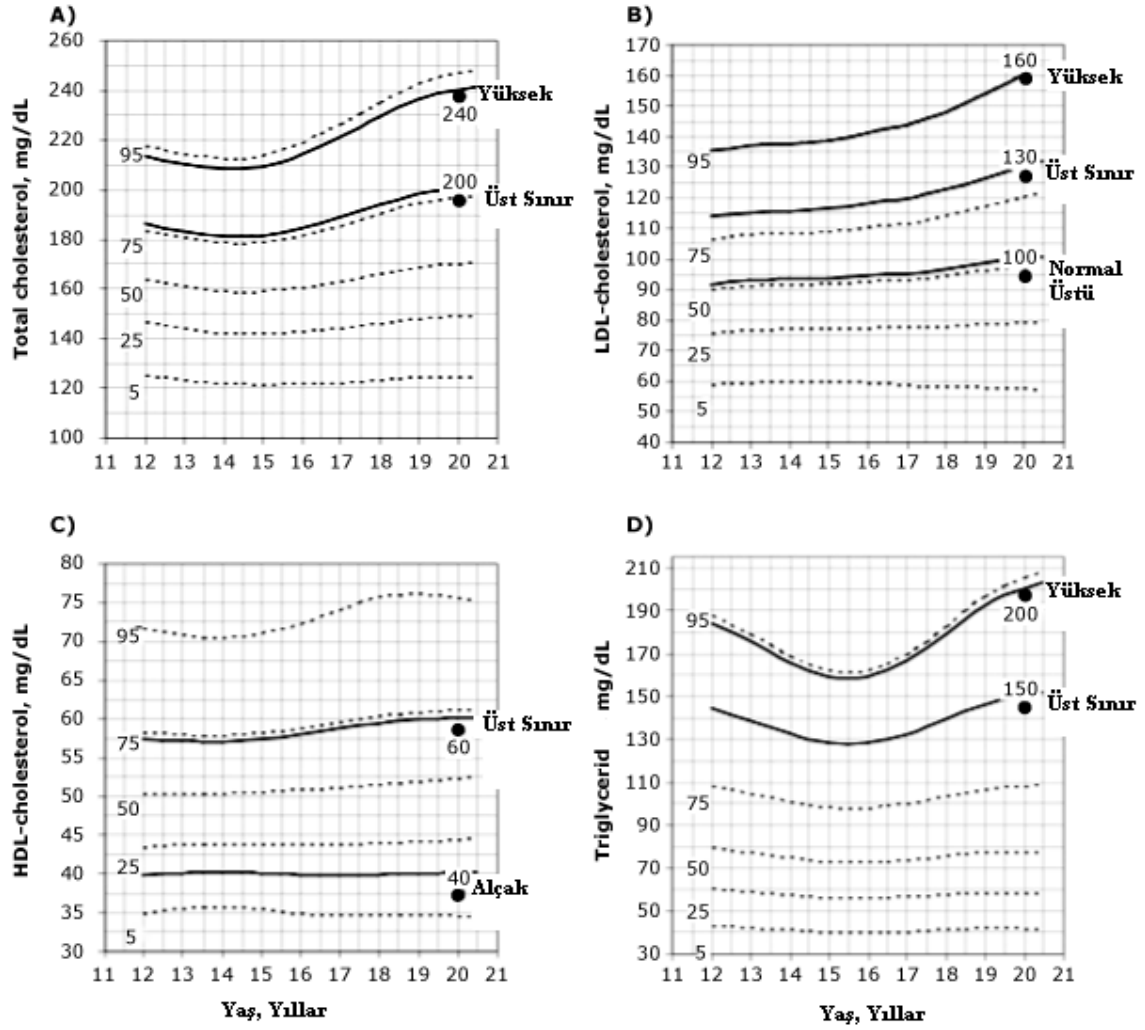
Kolesterol ve trigliserid değerleri çocukluk döneminde değiştiği için yaşa ve cinse göre persantil verileri kullanılmış ve sınır değer olarak 95. persantil alınmıştır (98) (Şekil 3.1 ve şekil 3.2). Hiperlipidemi ölçütü, serum kolesterol ve/veya trigliserid değerlerinin 95. persantil üzerinde olması olarak tanımlanmıştır.

Kontrol grubu VKİ değerleri +2 SDS'den ve serum kolesterol ve/veya trigliserid düzeyleri 95. persantilden düşük olan çocukları içeriyordu.

Çalışma ve kontrol grubundaki bireylerin ailelerinden izin alınarak 8-10 saat sabah açlıktan sonra alınan kan örnekleri steril EDTA'lı ve kuru tüplere alınmıştır. Apo B-100 geni EcoRI 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.



Şekil 3.1 Adolesan Erkeklerin Yaşa Bağlı Serum Lipid Düzeyleri İçin Sınır Değerler



Şekil 3.2 Adolesan Kızların Yaşa Bağlı Serum Lipid Düzeyleri İçin Sınır Değerler

3.2. GEREÇLER

3.2.1. Çalışmamızda Kullanılan Cihazlar, Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler

3.2.1.2. 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, NanoDrop ND 1000 spektrofotometre, Midicell Primo EC330 Yatay Elektroforez Sistemi, Jel görüntüleme sistemi (Kodak EL LOGIC 100 görüntüleme sistemi), Pipet takımı (Eppendorf), Isıtıcı manyetik karıştırıcı (Elektromag), Hassas terazi (Mettler), Mikrosantrifüj, Soğutmalı Santrifüj (Hettich), (-) 20 °C derin dondurucu, (+) 4 °C soğutucu

3.2.1.3 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 ÇALIŞMADA KULLANILAN LABORATUAR YÖNTEMLERİ

29 ekzon ve 28 introndan oluşan, 2. kromozomun kısa kolunda yer alan Apo B-100 geninde, 29. ekzondaki EcoRI polimorfizmi ve diğer olası polimorfizmleri saptayabilmek için, ilgili gen sekansının PCR ile çoğaltılıp, otomatize DNA dizi analiz cihazı ile dizilmesi yapılarak, dizileme sonuçları bilgisayar yazılım programı (Proseq, BioEdit) yardımıyla değerlendirilmiştir. Çalışmamızın beş ana basamağı vardır: 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 gerçekleşmiş ve bu işlem sonunda yaklaşık 200 µl DNA elde edilmiştir.

3.3.2 Genomik DNA'ların Agaroz Jelde Test Elektroforezi: DNA izolasyonu sonucunda yeterli miktarda genomik DNA elde edilip edilmediğinin saptanması ve DNA'ların kalitatif özelliklerini görebilmek için 2,5 µl etidium bromür 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 uygulanmıştır. 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 $A_{260/280} = 1.6-1.8$ arasında olan olgular dahil edilmiştir. Ölçümler sonucunda çalışmamızda kullanılan hasta ve kontrol DNA değerlerinin µl'de 25-250 ng arasında değiştiği tespit edilmiştir.

3.3.4 I. PCR Uygulaması: Apo B-100 geninin polimorfizm araştırılacak segmenti tek parça halinde, uygun primerler (Tablo3.1) ve PCR protokolü (Tablo 3.3) kullanılarak çoğaltılmıştır. DGGE uygulamasına uygun olarak sentezlenen GC klempli primer (İleri primer) ile I. PCR uygulaması yapılmıştır (99).

Apo B-100 geninin 29. ekzon bölgesini çoğaltmak amacıyla I. PCR uygulamasının optimizasyonunda farklı protokoller denenmiştir. İlk deneme protokolünde Su; 28 µl, 10xBuffer; 3µl, MgCl₂; 3µl, dNTP (1mM); 5µl, Primer (100pmol); 2µl , Taq; 1µl alınarak PCR karışımı hazırlanmış; fakat istenilen sonuç elde edilememiştir. İkinci denememizde; sadece primer konsantrasyonu değiştirilerek 10 pmol primer mixi PCR karışımına eklenmiş; fakat yine istenilen sonuç elde edilememiştir. Üçüncü denememizde PCR karışımının uygun olarak değiştirilmesi sonucu istenilen bölge çoğaltılmıştır (Tablo 3.2).

Tablo 3.1 I. PCR için uygun Apo B-100 geni primerleri (99)

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 TCG ACG TGA GGT TCC AGA AAG CA - 3'
Geri Primer (R):
5'- GAA AGG AAG TGT AAT CAC TAG GTC TT - 3'

Tablo 3.2 I. PCR karışımının hazırlanması

Distile su : 30 µl
10xBuffer : 3 µl
MgCl ₂ : 5 µl
dNTP (1mM) : 5 µl
Primer (10pmol) Mix : 2
Taq Polimeraz : 2µl
Genomik DNA: 3 µl

Tablo 3.3 I. PCR aşamaları ve protokolü

AŞAMA	BASAMAK	SICAKLIK	SÜRE	DÖNGÜ
1.	Başlangıç Denatürasyonu	94 °C	4 dak.	1 döngü
2.	Denatürasyon	95 °C	30 sn.	35 döngü
	Bağlanma	62 °C	30 sn.	35 döngü
	Uzama	72 °C	1 dak.	35 döngü
3.	Uzama	72 °C	10 dak.	1 döngü
		4 °C	sonsuz	

3.3.5 Agaroz Jelde I. PCR Ürünlerinin Test Elektroforezi: 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 yapılmıştır. 110 V'da 25 dakika elektroforez uygulanmıştır.

3.3.6 Agaroz Jel Sonrası Amplifikasyon Ürünlerinin Değerlendirilmesi: Agaroz Jel'de elektroforez uygulanan I. PCR ürünleri doğru amplifikasyon açısından UV transluminatör aracılığı ile değerlendirilmiş ve PCR ürünlerinin istediğimiz bölgede olduğu saptanmıştır.

3.3.7 GC Klempli PCR Ürünlerine Denatüre Gradient Jel Elektroforezi (DGGE) Uygulanması:

DGGE, "GRADIENT DELIVERY SYSTEM" ile gerçekleştirilmiştir. Elektroforez uygulamasına başlamadan önce hazırlanacak olan jelin hacmi şu esaslara göre belirlenmiştir:

- 1- Sistemdeki mevcut camların ebatlarına uygun jel büyüklüğünün belirlenmesi,
- 2- GC klempli 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 kullanılmıştır. Uygun gradient çözeltileri saptamak için farklı konsantrasyonlarda çözeltiler denenmiştir. İlk deneme olarak %30 ve % 60 denatüran solüsyonları denenmiş; fakat DGGE uygulaması sonucunda hiçbir sonuç elde edilememiştir. İkinci denememizde, Apo B-100 geni jel gradienti için %30 ve %50'lik denatüran madde solüsyonları hazırlanmış ve istenilen bantlar görüntülenmiştir. Akrilamid konsantrasyonu, denatüran madde konsantrasyonunun %30 ve %50 olduğu solüsyonlarda % 8 olarak ayarlanmıştır.

➤ **%8'lik akrilamid jel'de kullanılmak üzere, 100 ml %30'luk denatüran çözeltisinin hazırlanması:**

- %40 Akrilamid/Bis (37.5:1) 20 ml
- 50 x TAE buffer 2.0 ml
- Deiyonize formamid 12 ml
- Üre 12,6 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.)

➤ **%8'lik akrilamid jel'de kullanılmak üzere 100 ml %50'lik denatüran çözeltisinin hazırlanması:**

- %40 Akrilamid/Bis (37.5:1) 20 ml
- 50 x TAE buffer 2.0 ml
- Deiyonize formamid 20.0 ml
- Üre 21.0 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.)

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

1 numaralı tüpe, yüksek konsantrasyondaki çözeltinin:

- 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 eklenmiştir.

2 numaralı tüpe, düşük konsantrasyondaki çözeltinin:

- 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 çözelti sistemde mevcut olan iki ayrı enjektöre çekilerek, gradient oluşturucu cihaza monte edilmiştir. Sistem tarafından sağlanan düzenekle oluşturulan cam sandviçin içerisine, gradient oluşturucu cihaz yardımı ile sabit bir hızla her iki enjektördeki denatüran madde doldurulmuş ve herhangi bir sızıntıya karşı gerekli kontroller yapıldıktan sonra daha önceden belirlemiş olduğumuz tarağımız iki camın arasına yerleştirilmiştir. 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 yerleştirilmiştir. 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 beklenmiştir. Sistem 60 °C'ye ulaştıktan sonra, sistemin devir-daim pompası kapatılarak, en son yerleştirilen aksesuar üzerindeki bölmeden 7 µl GC klempli 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 bağlanmış ve örneklere 16 saat süre ile 70 volt'da elektroforez uygulanmıştır. Bu süre içerisinde elektroforez tankının ısısı 60 °C'de sabit tutulmuştur.

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 bromür (EtBr) eklenerek 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.

3.3.8 DGGE Uygulanan Ürünlerin SNP Açısından Değerlendirilmesi:

Translüminatör üzerine yerleştirilen jel, UV. ışık altında incelenerek, mutasyon paterni gösteren bantlar ve ait oldukları kuyucuklar belirlenmiştir.

3.3.9 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 teması engellenmiş ve (+) 4 °C'de saklanmıştır.

3.3.10 DNA Dizi Analizi'nde Kullanılmak Üzere GC Klemp Eklenmemiş İleri ve Geri Primer Kullanımı ile II. PCR Uygulamasının Yapılması: DNA Dizi Analizi öncesi dizileme reaksiyonunda kullanılacak olan II. PCR ürünlerinin uygulamasına ait karışım aşağıda gösterilmektedir.

- 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

II. PCR uygulamasına ait protokol Tablo 3.4 'de gösterilmiştir.

Tablo 3.4. II. PCR aşamaları ve protokolü

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

3.3.11 II. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezine Tabi Tutulması ve Agaroz Jel'in Amplifikasyon Açısından Değerlendirilmesi: II. 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 uygulandı. % 1,5'luk agaroz jel'de elektroforez uygulanan II. PCR ürünleri doğru amplifikasyon açısından UV transluminatör aracılığı ile değerlendirildi ve II. PCR ürünlerinin istediğimiz bölgede olduğu saptanmıştır.

3.3.12 II. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması: Dizileme reaksiyonu öncesi non spesifik bantları ortamdan kaldırmak için Roche High Pure PCR Product Purification Kiti kullanıldı. Kitin prosedürüne uygun olarak işlem gerçekleştirilmiştir.

3.3.13 II. PCR Ürünlerinin Saflaştırılmasının Kontrolü: % 1,5'luk agaroz jel elektroforez uygulaması ile ürünün net olup olmadığı kontrol edilmiştir.

3.3.14 Saflaştırılmış Olan II. PCR Ürünlerinin Tekrar Kullanılarak, DNA Dizi Analizi'nde Kullanılmak Üzere Dizileme Reaksiyon Uygulamasının Yapılması: Dizileme reaksiyonuna ait karışım aşağıda gösterilmiştir.

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

Dizileme reaksiyon uygulamasına ait protokol Tablo 3.5'de gösterilmiştir.

Tablo 3.5. Dizileme Reaksiyon Uygulamasının aşamaları ve protokolü

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

3.3.15 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 eklenir ve 10 saniye vortekslenir. Tüpler 12500 rpm'de 15 dk (20 °C) santrifüj edilir ve sıvı faz vakum yardımı yada mikropipet ile çekilerek atılmaktadır. Dibe çöken kısmın üzerine 200 µl %70 etanol eklenir, vortekslemeden 12500 rpm'de 3 dk. (20 °C) santrifüj edilir. Sıvı faz vakum (mikropipet) ile çekildikten sonra dibe çöken kısım termomikser cihazında 56 °C'de 10 dk. kurutulur. Çökeltinin üzerine 15 template suppression reagent eklenir. Tüpler 10 sn vortekslemeden sonra kısaca santrifüjlenerek Otomatik DNA Dizi Analizi cihazı ABI 310'a yüklenmektedir.

3.3.16 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 yöntem kullanılarak farklı bazlarda (A, G, T, C) sonlanan DNA sentez ürünlerine floresan işaretli boyalar iliştilir (103). Elektroforez, örnekle bir kapillerden geçirilirken uygulanır. Floresan işaretli boyaları uyarmak 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 edilebilir. Floresan miktarlarının ölçülmesi ve yorumlanmasının ardından DNA örneğindeki baz dizisi saptanmaktadır.

3.3.17 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 eşlenmiştir. Elde edilen ortak eşlenik dizi aynı bilgisayardaki BioEdit yazılım programına aktarılarak, Gen Bankası (NCBI)'ndan elde edilen Apo B-100 geni ekzon 29'a ait EcoRI polimorfik referans nükleotid ile karşılaştırılmış ve olası nükleotid değişimleri belirlenmiştir.

3.3.18 Plazma Lipid Profillerinin Ölçülmesi: Total kolesterol, trigliserid, VLDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol düzeyleri klinik otoanalizör ile enzimatik yöntemlerle ölçülmüştür.

3.3.19 Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Bu çalışmanın istatistiksel analizi SPSS 8.5 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p<0,05$ olarak alınmıştır.

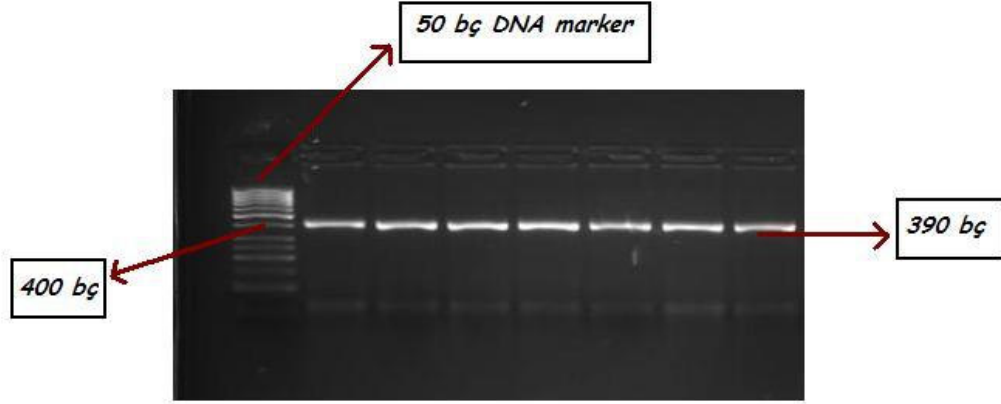
Vücut kitle indekslerinin belirlenmesinde Standart Deviasyon Skoru, Student's t-testi, genotip ve allellerin görülme sıklığının gruplararası farklılıklarının değerlendirilmesinde Ki kare (χ^2) testi kullanılmıştır. Klinik ve klinik olmayan parametrelerin allellerle karşılaştırılmasında Student's t-testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 PROJE İLE İLGİLİ YÖNTEMLERİN KURULMASI İLE İLGİLİ BULGULAR

4.1.1 Apo B-100 geni Ekzon 29 bölgesi I. PCR Ürünü ile ilgili Bulgular

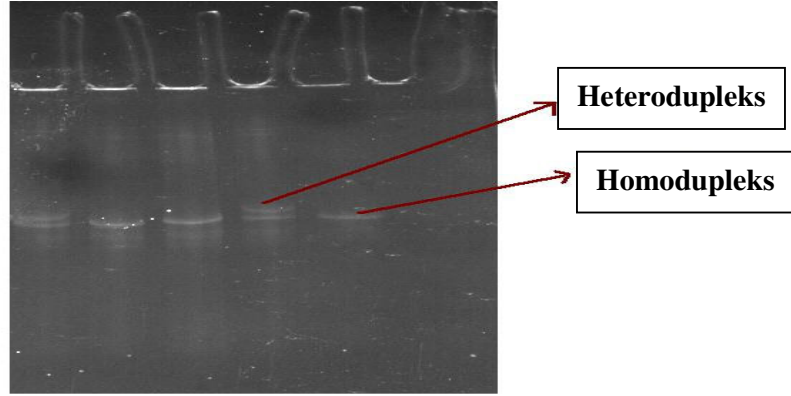
Apo B-100 geni ekzon 29 bölgesinin PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiştir. Agaroz jelde 390 bç'lik özgül PCR ürününe ait bant elde edildiği gözlemlendikten sonra DGGE uygulaması gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. GC klempli Apo B-100 geni primerleriyle çoğaltılan 390 bç'lik PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. Marker: MBI Fermentas 50 bç DNA marker

4.1.2 Apo B-100 geni Ekzon 29 bölgesi DGGE Ürünü ile ilgili Bulgular

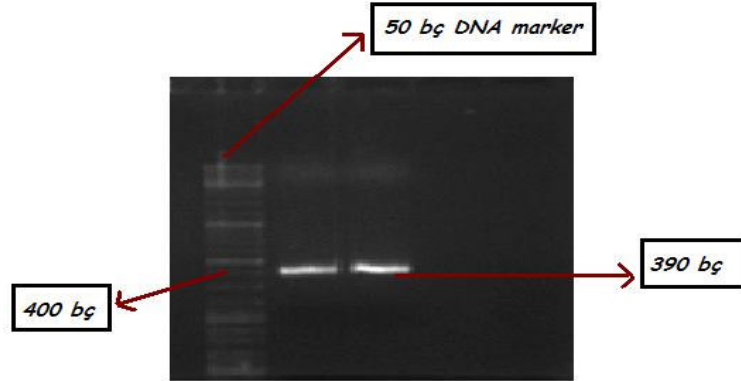
Apo B-100 geninin polimorfik bölgelerini belirlemek için GC klempli I. PCR ürünleri, jel gradienti %30 ve %50'lik denatüran çözeltileri ile hazırlanmış % 8'lik akrilamid jel konsantrasyonunda Denatüre Gradient Jel Elektrofrez yapılarak kontrol edilmiştir. DGGE uygulaması ile iki farklı paternde bant gözlemlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Apo B-100 geni ekzon 29, DGGE uygulanan GC klempli I. PCR ürünlerinin Kodak EL Logic 100 görüntüleme sistemi ile görüntülenmesi

4.1.3 Apo B-100 geni Ekzon 29 bölgesi II. PCR Ürünü ile ilgili Bulgular

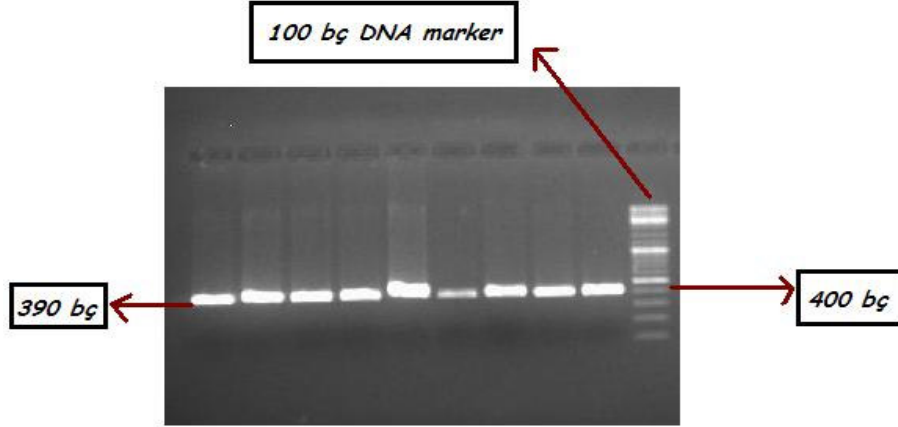
DNA dizi analizi'nde kullanılmak üzere GC klemp eklenmemiş ileri ve geri primer kullanımı ile II. PCR uygulaması yapılmıştır. Apo B-100 geni ekzon 29 bölgesinin II. PCR ürünleri %1.5'luk agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiştir. Agaroz jelde 390 bç'lik özgül II. PCR ürününe ait bant elde edildiği gözlemlendikten sonra saflaştırma gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. GC klemplsiz Apo B-100 geni primerleriyle çoğaltılan 390 bç'lik II. PCR ürünlerinin % 1,5'luk agaroz jeldeki görüntüsü. Marker: 50 bç DNA marker

4.1.4 Apo B-100 geni Ekzon 29 bölgesi II. PCR Ürününün Saflaştırılması ile ilgili Bulgular

Ekzon 29 bölgesinin II. PCR ürünlerinin saflaştırılmasından sonra örnekler %1.5'luk agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiştir. Agaroz jelde 390 bç'lik özgül II. PCR ürününe ait bant elde edildiği gözlemlendikten sonra dizileme reaksiyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Saflaştırılması yapılmış 390 bç'lik II. PCR ürünlerinin %1,5'luk agaroz jeldeki görüntüsü. Marker: 100 bç DNA marker

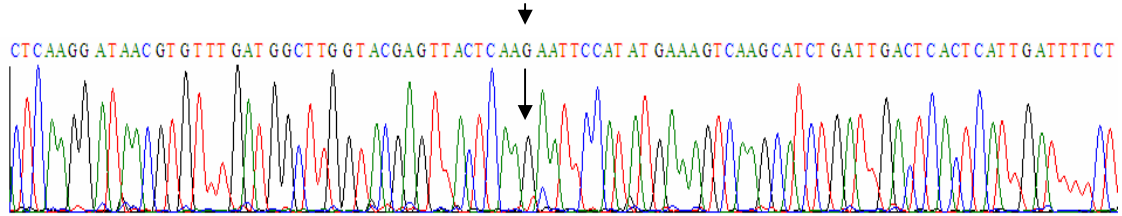
4.2 DNA DİZİ ANALİZİ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR

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

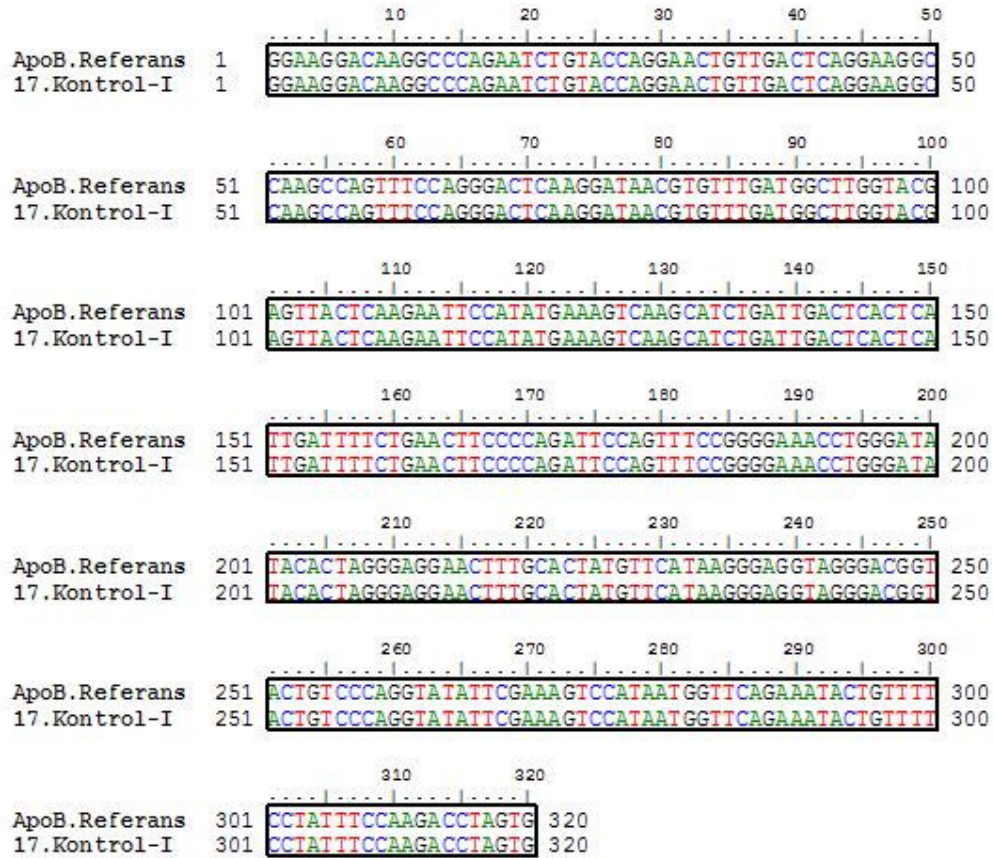
Dizileme sonuçları Proseq ve Bio-Edit bilgisayar programları kullanılarak değerlendirilmiştir. Bio-Edit programında Ensembl referans dizimiz (105) Proseq programından elde ettiğimiz dizileme verilerimiz ile karşılaştırılmış ve olası tek nükleotid değişimleri belirlenmiştir.

Ensembl referans dizimize göre Apo B-100 geninin 12669. nükleotidinde bir polimorfizm gözlenmiştir. DNA Dizi Analizi farklı paternlerden birini (2 bant) GA heterozigot mutant olarak gösterirken (Şekil 4.7 ve şekil 4.8), diğer paterni (1 bant) ise GG homozigot sağlam (Şekil 4.5 ve şekil 4.6) olarak göstermiştir.

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G)

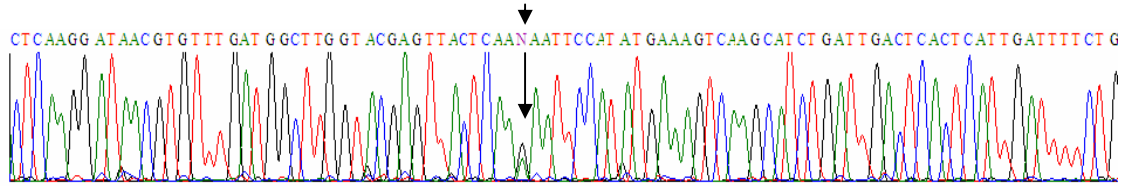


Şekil 4.5 17 no'lu I. kontrol örneğine ait DNA dizi analizi ve kromotogram görüntüsü

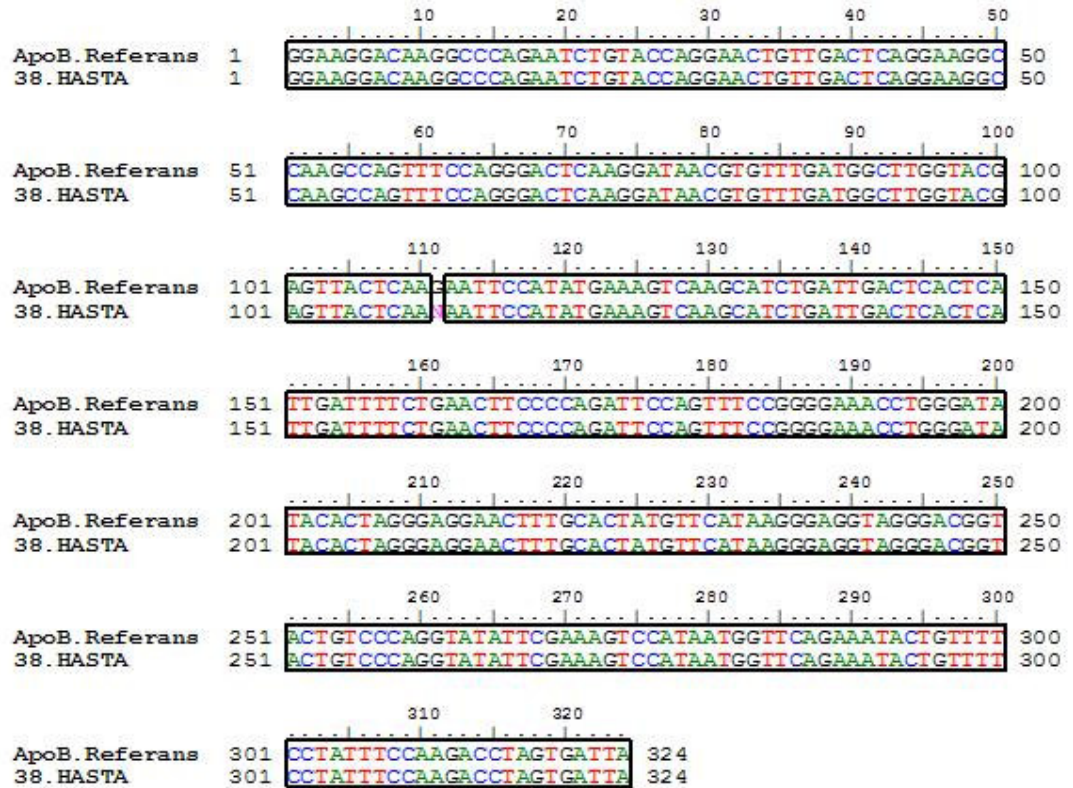


Şekil 4.6 Bio-Edit programında Apo B-100 referans dizisi ile 17 no'lu I. kontrolün karşılaştırılması

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G/A)



Şekil 4.7 38 no'lu hasta örneğine ait DNA dizi analizi ve kromotogram görüntüsü



Şekil 4.8 Bio-Edit programında Apo B-100 referans dizisi ile 38 no'lu hasta örneğinin karşılaştırılması

4.3 İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR

Çalışma gruplarımıza ait demografik bilgiler Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Çalışmamıza hasta grubu olarak 38 hiperlipidemisi olan obez çocuk, I. kontrol grubu olarak 39 hiperlipidemisi olmayan obez çocuk ve II. kontrol grubu olarak obez olmayan ve hiperlipidemisi bulunmayan 13 sağlıklı çocuk katılmıştır.

Tablo 4.1 Çalışma Gruplarına Ait Demografik Bilgiler

	<i>Hasta Grubu</i> <i>n= 38</i>	<i>I. Kontrol Grubu</i> <i>n= 39</i>	<i>II. Kontrol Grubu</i> <i>n= 13</i>	<i>Tüm Grup</i> <i>n= 90</i>
<i>Cinsiyet</i> <i>(Kız/Erkek)</i>	26/12	24/15	5/8	55/35
<i>Yaş (yıl)</i>	11,50±3,61	11,43±3,23	8,15±2,15	10,98±3,44
<i>Vücut Kitle</i> <i>İndeksi (kg/m²)-</i> <i>SDS</i>	6,51±3,10	6,26±3,12	0,14±1,06	5,48±3,63
<i>Trigliserid</i> <i>(mg/dl)</i>	149,92±64,53	80,33± 24,80	86,69±38,74	110,63±57,80
<i>Total Kolesterol</i> <i>(mg/dl)</i>	181,78±35,64	145,87±18	161,53±31,29	163,30±32,83
<i>HDL-kolesterol</i> <i>(mg/dl)</i>	49,57±13,23	48,84±10,34	54,53 ±9,98	49,97±11,64
<i>LDL-kolesterol</i> <i>(mg/dl)</i>	104,10±26,25	82,01±14,97	88,84±26,19	92,32±24,13
<i>VLDL-kolesterol</i> <i>(mg/dl)</i>	30,50±13,35	20,48±26,79	18,30±6,19	24,40±20,34
<i>Total</i> <i>Kolesterol/HDL-</i> <i>kolesterol</i> <i>(mg/dl)</i>	3,96±1,14	3,09±0,63	2,99±0,48	3,44±0,97

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 $X \pm SD$ olarak verilmiştir.

Yapılan istatistiksel incelemede çalışmaya dahil olan hasta grubundaki çocukların %32,4'ünde sadece total kolesterol, % 32,4'ünde sadece trigliserid ve % 35,1'inde ise hem total kolesterol hemde trigliserid düzeyleri yüksek olarak saptanmıştır.

Hasta grubu ile I. kontrol grubu demografik bilgilere göre karşılaştırıldığında hasta grubunda total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol ($p<0,001$) ve VLDL-kolesterol ($p<0,05$) düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur. Hasta grubu ve I. kontrol grubu arasında yaş açısından anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 4.1).

Hasta grubunda II. kontrol grubuna göre yaş, trigliserid, VLDL-kolesterol ve VKİ düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 4.1).

I. kontrol grubu ve II. kontrol grubu karşılaştırıldığında I. kontrol grubunda yaş, VKİ ($p<0,001$) ve total kolesterol düzeyleri ($p<0,05$) anlamlı yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda, hiperlipidemisi olan obez çocuk hastalarında ve kontrol gruplarında Apo B-100 geninin ekzon 29 bölgesinin DNA dizi analizi yapılarak, tüm gruplar tek nükleotid polimorfizmi (SNP) açısından incelenmiştir.

Hasta grubu ve I. kontrol grubunda Apo B-100 geninin 29. ekzonunda 12669. nükleotidde G/A baz değişimi olan bir polimorfizm (G4154A) saptanmıştır.

G4154A polimorfizmine ait genotip frekansları hiperlipidemisi olan obez çocuk hasta grubunda , GG % 89,5, GA % 10,5, AA % 0 iken, I. kontrol grubunda; GG % 89,7, GA % 10,3, AA % 0 ve II. kontrol grubunda GG % 100, GA % 0, AA % 0 olarak bulunmuştur (Tablo 4.2).

Çalışma grupları G4154A genotip frekansları açısından karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2 Hasta ve kontrol grupları G4154A polimorfizmine ait genotip frekanslarının karşılaştırılması

<i>Apo B-100 geni</i> <i>ekzon 29</i> <i>SNP'leri</i>	<i>Genotip</i>	<i>Hasta</i> <i>grubu</i> <i>n= 38</i>	<i>I. Kontrol</i> <i>grubu</i> <i>n= 39</i>	<i>II. Kontrol</i> <i>grubu</i> <i>n= 13</i>
12669. nükleotidde G /A (G4154A) SNP	GG	n - % 34 - %89,5	n - % 35 - % 89,7	n - % 13 - % 100
	GA	4 - %10,5	4 - %10,3
	AA

n:birey sayısı, Hasta grubu: Hiperlipidemik obez çocuk, I.Kontrol grubu: Hiperlipidemik olmayan obez çocuk, II.Kontrol: Sağlıklı çocuk.

G4154A polimorfizmine ait allel frekansları hiperlipidemisi olan obez çocuk hasta grubunda , G alleli (GG+GA) % 89,5, A alleli (AA+GA) % 10,5, I. kontrol grubunda; G alleli (GG+GA) % 89,7, A alleli (AA+GA) % 10,3, AA % 0 ve II. kontrol grubunda G alleli (GG+GA) % 100, A alleli (AA+GA) % 0 olarak saptanmıştır (Tablo 4.3).

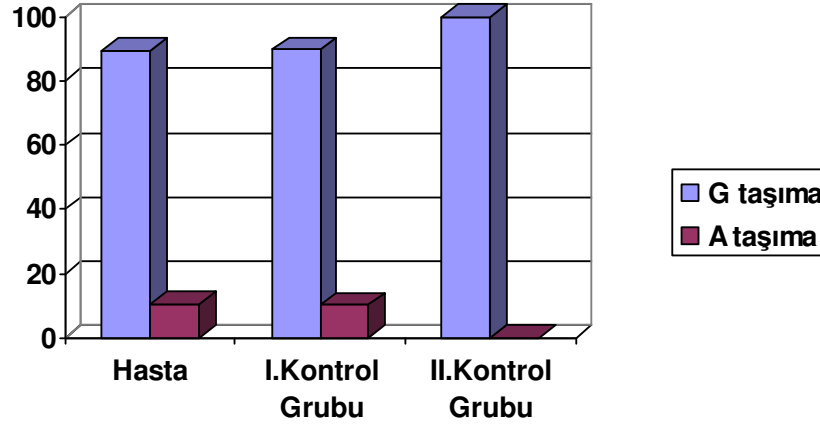
Her üç grubun G4154A polimorfizmi allel frekansları açısından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 Hasta ve kontrol grupları G4154A polimorfizmine ait allel frekanslarının karşılaştırılması

<i>Apo B-100 geni</i> <i>ekzon 29</i> <i>SNP'leri</i>	<i>Allel</i>	<i>Hasta</i> <i>grubu</i> <i>n= 38</i>	<i>I. Kontrol</i> <i>grubu</i> <i>n= 39</i>	<i>II. Kontrol</i> <i>grubu</i> <i>n= 13</i>
12669. nükleotidde G /A (G4154A) SNP	(GG+GA) G	n - % 34 - %89,5	n - % 35 - % 89,7	n - % 13 - % 100
	(AA+GA) A	4 - %10,5	4 - %10,3

n:birey sayısı, Hasta grubu: Hiperlipidemik obez çocuk, I.Kontrol grubu: Hiperlipidemik olmayan obez çocuk, II.Kontrol: Sağlıklı çocuk.

Çalışma grupları arasında yapılan allel frekansları karşılaştırmasına göre II. kontrol grubunda mutant “A” alleleine rastlanmamıştır (Tablo 4.3) (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 Hasta grubu, I. kontrol grubu ve II. kontrol grubunda G4154A allel frekanslarının karşılaştırılması

Genotiplere göre gruplararası lipid profilleri karşılaştırıldığında, GA genotipi (“A” alleli) taşımaya göre hasta grubunda I. kontrol grubuna göre total kolesterol ($p:0,013$) ve LDL-kolesterol düzeyleri ($p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır (Tablo 4.4).

II. kontrol grubunda AA ve GA genotipine rastlanılmadığı için AA+GA taşıma açısından lipid profilleri ile çalışma grupları arasında karşılaştırma yapılamamıştır.

GG genotipi taşımaya göre çalışma grupları ile lipid profilleri karşılaştırıldığında hasta grubunda I. kontrol grubuna göre total kolesterol, trigliserid ve LDL-kolesterol düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 4.4).

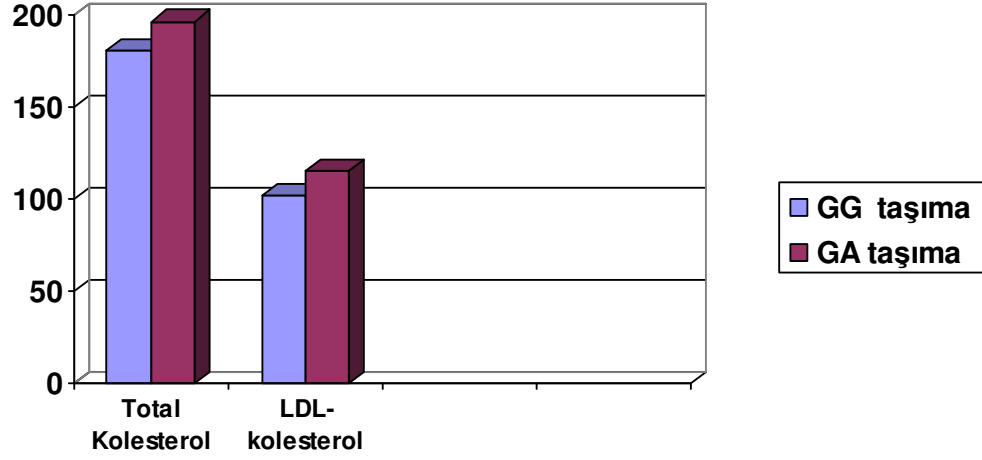
Hasta grubu II. kontrol grubuna göre biyokimyasal parametrelerle karşılaştırıldığında trigliserid, VLDL-kolesterol ve VKİ hasta grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4 Çalışma gruplarında Apo B-100 geninin G4154A polimorfizmine ait genotiplerin biyokimyasal parametrelerle karşılaştırılması

GRUP	Hasta Grubu			I.Kontrol Grubu			II.Kontrol Grubu		
	GG (n=34)	GA (n=4)	AA (n=0)	GG (n=35)	GA (n=4)	AA (n=0)	GG (n=13)	GA (n=0)	AA (n=0)
Trigliserid (mg/dl)	153,17± 64,20	122,25± 69,84	80,71± 25,28	77± 23,02	86,69± 38,74
Total Kolesterol (mg/dl)	180,05± 36,69	196,50± 23,17	145,94± 18,41	145,22± 16,11	161,53± 31,29
HDL-kolesterol (mg/dl)	48,38± 12,85	59,75± 13,81	48,71± 10,85	50± 4,16	54,53± 9,98
LDL-kolesterol (mg/dl)	102,82± 26,63	115± 22,80	82,18± 15,26	80,50± 13,91	88,84± 26,19
VLDL- kolesterol (mg/dl)	31,55± 13,35	21,50± 10,90	21,05± 28,23	15,50± 4,43	18,30± 6,19
VKİ (kg/m²)-SDS	6,57± 3,24	6,03± 1,57	6,37± 3,19	5,32± 2,65	0,14± 1,06
Total Kolesterol/HDL- kolesterol (mg/dl)	4,02± 1,16	3,42± 0,87	3,11± 0,66	2,90± 0,21	2,99± 0,48

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.

Hasta grubu içerisinde genotip ve lipid profilleri karşılaştırıldığında, GA genotipi taşıyan hastaların mutant A alleli taşımayan GG genotipine sahip hastalara göre total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri yüksek bulunmuştur (Tablo 4.4 ve Şekil 4.10). Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.



Şekil 4.10 Hasta grubunda genotip dağılımına göre total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri

Çalışma gruplarında cinsiyet ayrımına göre lipid profillerini değerlendirdiğimizde hasta grubuna ait erkek çocuklarda kız çocuklarına göre VKİ'sinin istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır (p:0,038) Diğer gruplardaki değerlendirmelerde, cinsiyet ayrımına göre lipid profilleri karşılaştırıldığında hiçbir anlamlı farklılığa rastlanmamıştır (Tablo 4.5).

Tablo 4.5 Cinsiyet ayrımına göre çalışma gruplarındaki biyokimyasal parametreler

<i>GRUP</i>	<i>Hasta Grubu</i>		<i>I. Kontrol Grubu</i>		<i>II. Kontrol Grubu</i>	
	<i>Kız</i> (n= 26)	<i>Erkek</i> (n=12)	<i>Kız</i> (n=24)	<i>Erkek</i> (n=15)	<i>Kız</i> (n=5)	<i>Erkek</i> (n=8)
<i>CİNSİYET</i>						
<i>Trigliserid</i> (mg/dl)	146± 51,43	158,41± 88,77	82,12± 22,02	77,46± 29,3	91,40±29	83,75± 45,46
<i>Total</i> <i>Kolesterol</i> (mg/dl)	182,11± 37,19	181± 33,6	142,04± 17,22	142,04± 17,22	178± 30,62	151± 28,64
<i>HDL-</i> <i>kolesterol</i> (mg/dl)	48,92± 11,4	51± 16,8	48,83± 9,74	48,86± 11,58	53,20± 8,16	55,37± 11,43
<i>LDL-</i> <i>kolesterol</i> (mg/dl)	108,96± 24,8	93,5± 27,1	79,45± 14,41	86,09± 15,43	105,6± 24,08	78,37± 22,78
<i>VLDL-</i> <i>kolesterol</i> (mg/dl)	29,11± 10,36	33,5± 18,4	15,70± 4,5	28,13± 42,58	19,2± 5,7	17,75± 6,7
<i>VKİ (kg/m²)-</i> <i>SDS</i>	5,71± 2,6	8,24± 3,4	5,95± 3,2	6,76± 3,03	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 ile mutasyonun araştırılacağı DNA bölgesi büyük miktarlarda çoğaltılabilir ve daha sonra nükleotid dizisi incelenebilir. Ancak uzun DNA dizileri söz konusu olduğunda bu uygulama zorlaşmaktadır. Bu nedenle, hedef DNA molekülünün bölümler halinde incelenerek, bunların hangisinde mutasyon olduğunun araştırılması esasına dayanan Single Strand Conformational Polymorphism (SSCP), allel spesifik amplifikasyon, RNAz kesimi gibi mutasyon tespit yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden bir diğeri de Denatüre Gradient Jel Elektrofrez (DGGE) yöntemidir.

Çalışmamız da Apo B-100 geninin 29. ekzon bölgesindeki EcoRI polimorfizmi ve diğer olası polimorfizmleri gözlemleyebilmek ve hastalığıdaki polimorfizm sıklığını inceleyebilmek için mutasyon tarama sistemi olarak bilinen Denatüre Gradient Jel Elektrofrez (DGGE) yönteminin kullanılması tercih edilmiştir.

Bu yöntem, mutasyonun araştırılacağı çift sarmal DNA molekülünün PCR ile çoğaltılmasına ve denatüre edici madde içeren jel içinde, bu maddenin lineer olarak artan konsantrasyonun karşı elektroforeze tabi tutulması esasına dayanmaktadır. Denatüre edici madde olarak çoğunlukla deiyonize formamid ve üre birlikte kullanılmaktadır. DNA molekülü jel içerisinde ilerlerken, belirli bir konuma eriştiğinde sarmal çözülmeye (denatürasyon) başlar. Bu noktadan itibaren DNA'nın jel içindeki hareketi son derece yavaşlar. Çözülmenin denatüre edici maddenin hangi konsantrasyonunda başlayacağını esas olarak DNA molekülünün baz dizilimi belirler. Bu konsantrasyon, o DNA molekülünün en kolay çözülen bölgesinin erime derecesine (T_m) karşılık gelir. T_m , DNA çift sarmalındaki ipliklerin yarı yarıya çözüldüğü derecedir. GC baz çiftlerinden zengin dizilerde T_m yüksek, AT baz çiftlerinden zengin dizilerde ise T_m düşüktür. Bir DNA dizisinin "erime haritası"nın çıkartılmasında, yani yüksek ve düşük T_m 'li bölgelerinin belirlenmesinde ve PCR reaksiyonunda kullanılacak primerlerin tasarımında MELT87, SQHTX gibi bilgisayar programlarından yararlanmak mümkündür (100-102).

DGGE ile, aralarında yalnızca tek bir baz farklılığı olan iki DNA segmentini dahi jel içerisinde ayırabilmek mümkündür. Örneğin bir "tek nükleotid polimorfizmi (single nucleotide polymorphism; SNP) için heterozigot olan 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 (103).

Heterodupleks DNA molekülleri, T_m 'leri daha düşük olduklarından elektroforez sırasında homodupleks DNA moleküllerin gerisinde kalırlar. Ancak yöntemin uygulanmasındaki bir sorun, aranan mutasyonun DNA dizisinin yüksek T_m 'li bölgesi içerisinde kalabilmesidir. Böyle bir durumda mutasyonu içeren ve içermeyen DNA dizileri DGGE'de aynı elektroforetik davranışı gösterecekler ve birbirlerinden ayırt edilemeyeceklerdir. İncelenecek diziyeye T_m 'i yüksek olduğu bilinen 40 baz çifti uzunluğundaki GC dinükleotid dizilerinin eklenmesi ile bu sorunun üstesinden gelinebileceği düşünülmüştür. Bu amaçla PCR reaksiyonunda kullanılan primerlerden bir tanesi 5'GC kıskacı içerecek şekilde tasarlanabilir ve böylelikle PCR ürünü olan DNA molekülünün bir ucunda yüksek T_m 'li GC bölgesi yer alacak, mutasyonun araştırılacağı DNA segmenti ise tümüyle düşük T_m bölgesinde kalacaktır. Bu şekilde, mutasyon tespit oranı %100'e yaklaştırılabilmektedir (104).

Çalışmamızda DGGE uygulaması sonrasında gördüğümüz farklı bant paternlerinin ne anlam ifade ettiğini görmek için Apo B-100 geninin 29. ekzon bölgesinin DNA dizi analizi yapılmıştır. Dizileme sonucunda, ensembl referans dizimize göre (105) Apo B geninin 12669. nükleotidinde bir polimorfizm gözlenmiştir. DNA Dizi Analizi farklı paternlerden birini (2 bant) GA heterozigot mutant olarak gösterirken, diğer paterni (1 bant) ise GG homozigot sağlam olarak göstermiştir.

Günümüzde obezitenin sıklığı tüm yaş gruplarında artış göstermektedir. Çocukluk döneminde başlayan ve daha ileri yaşlarda da devam eden obezite, morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde etkilemektedir. Son yıllarda kardiyovasküler hastalıkların çocukluk döneminde başladığına ilişkin kanıtlar bulunmaktadır. Bu nedenle çocukluk döneminde kardiyovasküler hastalıklar yönünden olası risk faktörlerinin belirlenmesi son derece önemlidir. Son yıllarda obez çocuklarda serum lipid profili düzeylerinin kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörü olup olmadığını aydınlatmak; kardiyovasküler hastalık yönünden risk faktörü olarak bilinen hiperlipidemi ile ilişkisini incelemek amacı ile çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu nedenle de çalışmalar, kardiyovasküler riski arttıran lipid ve lipoprotein konsantrasyonlarındaki bozukluklar üzerine yoğunlaşmıştır (106-108).

Obezite ve lipid bozuklukları arasındaki ilişkiye bakıldığında, trigliserid düzeyindeki yükselme, HDL-kolesterol düzeyinde düşme ve LDL-kolesterolde niteliksel değişiklik (küçük yoğun LDL) gibi tipik özellikler ortaya çıkmaktadır. Artmış serbest yağ asidi sentezi, karaciğerde trigliseridden zengin VLDL partiküllerinin sentezini artırır. Yüksek VLDL düzeyleri, VLDL'nin HDL ve LDL ile kolesterol ester alışverişine girerek bir yandan HDL düzeyini düşürmesine, diğer yandan küçük yoğun LDL oluşumunu arttırmasına neden olur. LDL-kolesterol düzeyinde artış daha az görülmekle birlikte küçük yoğun LDL yönündeki niteliksel değişim diğer lipid anormallikleri ile birlikte koroner kalp hastalığı gelişme riskini artırır (107). Bogalusa Kalp çalışma grubundaki araştırmacılar, aterosklerotik lezyon oluşumunun total kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserid düzeylerinde artış ve HDL-kolesterol düzeyinde azalma ile ilgili olduğunu göstermişlerdir. Diğer önemli bir bulgu olarak, aterosklerotik lezyonların artışı ile kardiyovasküler risk faktörü olan dislipidemi, yüksek kan basıncı ve obezite arasında pozitif korelasyon bulmuşlardır (108). Yapılan çalışmalarda obez bireylerde çocukluk döneminden itibaren lipid bozuklukları ile birlikte gelişen aterosklerotik bulguların var olduğu gösterilmiştir. Fakat çocuklarda bu bulguların direkt takibi yada başlangıç bulguların belirlenmesi zor olduğundan dolayı eğilim çalışmalarıyla henüz sorun kliniğe yansımadan bireysel bazda değerlendirmelerin geliştirilmesi önemlidir. Bu tür hastalıklar multifaktöriyel olup hem çevresel hemde genetik faktörlerin katılımı ile gelişmeye başlar.

Biz çalışmamızda obezite ve/veya hiperlipidemi eğilimi olan çocuklarda Apo B-100 geni açısından polimorfik bir farklılık olup olmadığını değerlendirmeyi amaçladık. Fakat çalışmamızın amacına ulaşabilmesi için elde ettiğimiz bulgularla hasta takipleri yapılacak ve daha geniş gruplarda farklı parametreler eklenerek çalışmalara devam edilecektir.

Çocukluk çağı hiperlipidemisi üzerine yapılmış daha önceki tüm çalışmaların prospektif olduğu belirlenmiştir. Çünkü çocukluk döneminde belirtilerine rastlanmış olan bu patolojilerin asıl ileride yaratabileceği komplikasyonlar morbidite ve mortalite üzerine direkt etkilidir. Bu şekilde süregiden çalışmalara baktığımızda;

Bogalusa Kalp çalışma grubu ve Muscatine çalışma grubu yüksek kolesterol seviyelerine sahip çocukların yaklaşık %70'nin yetişkinlik döneminde de yüksek kolesterol seviyelerine sahip olduklarını göstermişlerdir (109,110).

Bütün bu çalışmalar, çocukluk ve adolesan dönemde ortaya çıkan kolesterol konsantrasyonlarındaki yüksekliğin yetişkinlikte aterosklerozis ve kardiyovasküler riski artırma yönünde bir ilişki olduğunu göstermektedir.

Cinsiyet ile kolesterol konsantrasyonları arasındaki ilişkinin farklılığını ortaya koyan bazı çalışmalar mevcuttur. Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırma (NHANES) grubunun 1988-1994 yılları arasında yaptıkları araştırmanın sonucunda, kız çocuklarında total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerinin erkek çocuklarından daha yüksek olduğu gösterilmiştir (111).

Çocukluk çağı obezitesi yetişkinlik döneminde lipid, lipoprotein, kan basıncı ve insülin seviyeleri ile direkt ilişkilidir (5). Muscatine çalışma grubu, adolesan dönemde ve genç yetişkinlerde başlayan obezitenin yetişkinlikte lipid ve lipoprotein seviyeleri üzerinde zararlı etkisinin olduğunu göstermiştir (109).

Obez çocukların yetişkinlik döneminde obez olma riski ile ilgili birçok bulguya rastlanılmaktadır. David S. ve arkadaşlarının 2001 yılında yürüttükleri bir çalışmada VKİ'si 95 persantilin üzerinde olan 186 çocuğun (Obez çocuk), 144'ünün (%77) yetişkinlikte VKİ'nin 30 kg/m² üzerinde olduğu gösterilmiştir. Fakat bu çalışmada cinsiyet ve ırk açısından bir anlamlılığa rastlanmamıştır. Buna bağlantılı olarak Harvard Büyüme çalışma grubunun yaptığı bir çalışmada, adolesan obez erkeklerin yetişkinlikte VKİ'den bağımsız olarak kardiyovasküler riski arttırdığı gösterilmiştir (112).

Hiperlipidemi, yetişkinlerde aterosklerozis ile ilgili komplikasyonlar için bir risk faktörü olarak bilinen, hipertrigliseridemi ve hiperkolesterolemi olarak gösterilen lipid ve lipoprotein konsantrasyonlarındaki yüksektir. Çocuklarda hiperlipidemi ise, çoğunlukla hiperkolesterolemi olarak bilinmektedir (113).

Çalışmamızda, çalışma gruplarına ait parametrelerin istediğimiz kriterlere uygun olup olmadığını anlamak için demografik bilgilerin istatistiksel değerlendirilmesi yapılmıştır. Hasta grubundaki çocukların %32,4'ünde sadece total kolesterol, % 32,4'ünde sadece trigliserid ve % 35,1'inde ise hem total kolesterol hemde trigliserid düzeyleri yüksek olarak saptanmıştır.

Hasta grubu ile I. kontrol grubu karşılaştırıldığında hasta grubunda total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol (p<0,001) ve VLDL-kolesterol (p<0,05) düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur. Ancak hasta grubu ve I. kontrol grubu arasında yaş açısından anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Hasta grubunda II. kontrol grubuna göre yaş, trigliserid, VLDL-kolesterol ve VKİ düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur

($p<0,001$). I. kontrol grubu ve II. kontrol grubu karşılaştırıldığında ise, I. kontrol grubunda yaş, VKİ ($p<0,001$) ve total kolesterol düzeyleri ($p<0,05$) anlamlı yüksek saptanmıştır.

Tershokovec ve arkadaşları hiperkolesterolemi ile çocuklarda obezitenin gelişimi arasındaki ilişkiyi incelemişler. Bu çalışmaya 58 obez olmayan ve LDL-kolesterolü 75 persantilin üzerinde olan hiperkolesterolemik çocuklar ve 215 obez olmayan ve LDL-kolesterolü 60 persantilin altında olan hiperkolesterolemisi bulunmayan çocuk katılmıştır. 6 yıl boyunca takibi yapılan bu çocukların VKİ, hiperkolesterolemik olan kız çocuklarında hiperkolesterolemisi bulunmayan kız çocuklarından daha yüksek bulunmuştur. Erkek çocuklarında ise anlamlı bir farklılığa rastlanmamıştır. Sonuç olarak yaş ile birlikte hiperkolesterolemik kızların VKİ'nin arttığı gösterilmiştir (114). Bu bulgulara karşıt olarak diğer literatürlerde obezitenin dislipidemi gelişimine öncülük ettiği gösterilmiştir (115-117).

Çalışmamızda cinsiyet ayırımına göre lipid profillerini değerlendirdiğimizde erkek çocuklarda kız çocuklarına göre VKİ'sinin istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır. Fakat prevalans çalışmalarının çoğu daha fazla sayıda örnek ile yapıldığından istatistiksel olarak daha doğru bir değerlendirme yapabilmemiz için hasta sayımızı arttırmayı hedefliyoruz.

Birçok çalışma çocukluk çağı obezitesinin, yetişkin dönemde hiperkolesterolemi olma olasılığı açısından bir risk faktörü olduğunun dikkate alınması gerektiğini vurguluyor (118).

Bao ve arkadaşları çocuklukta görülen LDL-kolesterol yüksekliğinin yetişkinlik döneminde heriki cinste de obezite ve dislipidemi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (119).

Figen Narin ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları çalışmanın sonucunda, Apo B seviyesindeki artış ile ilişkili olarak çocukluk çağı obezitesinin kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde risk faktörü olduğu gösterilmiştir (120).

Obezitenin çocukluk çağındaki prevalansı erişkinlerinkine benzer ; ancak erken yaşlarda başlayan şişmanlığın etiyopatogenezinde çevresel faktörlerden etkilenme riski azaldığından genetik bozukluklar daha çok dikkate alınmaktadır.

Dislipidemi aterosklerotik sürecin başlamasında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynar ve yüksek LDL ve Apo B seviyeleri koroner arter hastalığı geliştirme riskini artırır. Plazma lipid ve lipoprotein seviyeleri ailesel geçiş gösterir ve yeni başlamış

koroner arter hastası bireylerin yarısından fazlasında ailesel lipoprotein bozuklukları görülmektedir (121). Bu sebeple, özellikle ana apolipoproteinleri kodlayan genler olmak üzere lipoprotein metabolizmasındaki genlerin, koroner arter hastalığı gelişim sürecinde rol oynadığı düşünülmektedir.

Apo B lipoprotein metabolizmasında bulunan, serum kolesterol seviyeleri homeostazının sağlanmasında kilit rol oynayan bir glikoproteindir. Apo B şilomikron, VLDL, IDL, LDL ve Lp(a) gibi bir çok lipoprotein yapısındaki yapısal komponentidir. Kolesterolün hücre alınımları için LDL reseptör ligandı olarak önemli bir işlev görmektedir (5).

Apo B'yi kodlayan gen klonlanmış ve dizilenmiştir. Bu gen 2. kromozomun kısa kolunda yer almaktadır ve dizisi tam olarak tanımlanmıştır (122). Apo B-100 geni serum lipid homeostazı üzerine direkt etkili bir glikoprotein olduğu için, bu proteinin yapısındaki değişikliklerin söz konusu homeostaz üzerinde yaratabileceği dengesizliklerin irdelenmesi gerekmektedir.

Biz de Apo B-100 geni düzeyindeki bazı değişikliklerin lipid homeostazı ve buna bağlantılı olarak henüz çevresel faktörlerden yetişkin düzeyinde etkilenmediği varsayılan çocukluk yaş grubu bireylerinin farklı gruplar halinde değerlendirmesini amaçladık. Apo B-100 geninin, restriksiyon enzimlerinin kesim bölgelerine göre isimlendirilen lokusun 3' ucundaki XbaI ve EcoRI polimorfizmleri gibi 24 polimorfik bölgesi bulunmaktadır (95). Bütün bu polimorfizmlerin, total kolesterol, LDL-kolesterol, Apo B ve trigliserid miktarları ile ve dolayısıyla koroner arter hastalığı riskiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (5).

EcoRI polimorfizmi, Apo B geninin 29. ekzonunda 12669. nükleotidde 4154. kodonda G→A (G4154A) baz değişimi sonucu Glutamin aminoasidinin yerine Lizin aminoasidinin geçmesi ile oluşan bir nokta mutasyonudur. EcoRI polimorfizminde, normal konfigürasyonda G alleli görünürken, mutant formda A alleli ortaya çıkmaktadır.

Yapılan çalışmalarla AA genotipi veya A alleli ile miyokard enfarktüs ve koroner arter hastalığı riski arasında ilişki rapor edilmiştir. Fakat sadece bir çalışmada ciddi bağlantıları olduğu gösterilmiştir (111).

Nadir homozigot AA ile koroner arter hastalığı riski arasındaki bağlantının araştırıldığı, 1721 hastanın ve 1959 kontrolün çalışıldığı 14 çalışmanın (7 geniş kapsamlı çalışma [5,121,123-127] ve 7 dar kapsamlı çalışma [123, 128-133]) meta

analizi yapılmıştır. Kontrol grubundaki bireylerin genotiplerinin % 2,7 AA, %27,2 GA, %70,1 GG olduğu gösterilmiştir. Kontrol grubunun genotip sıklıkları Hardy-Weinberg equilibriumuna uygun bulunmuştur. Çalışmaların çoğunda benzer bulgularla karşılaşılmış ve sonuç olarak hiçbir önemli istatistiksel farklılığa ulaşılamamıştır.

Homozigot AA ve heterozigot GA genotiplerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde benzer bulgulara rastlanılmıştır. İki araştırma (129,132) dışında tüm çalışmalarda AA ve AA/GA genotipi taşıyan bireylerde miyokard enfarktüs ve koroner arter hastalığı riskinde artış görülmüştür.

Kardiyovasküler hastalıkların hiperlipidemi düzeyleri ile direkt bağlantısı değindiğimiz gibi kabul edilen bir gerçektir. Bu tür polimorfizm çalışmalarıyla lipid metabolizmasında görev alan proteinlerin genetik değişikliklerinin kardiyovasküler patolojilerle ilişkileri irdelenmiştir. Biz çalışmamızı çocukluk yaş grubu dahilinde yaptığımızdan dolayı kardiyovasküler komplikasyonlara değil daha çok obezite ve hiperlipidemi ile bağlantılara değindik. Hasta grubumuzun sağlık takiplerine devam edildiği takdirde kardiyovasküler sistem üzerine etkileri daha sağlıklı değerlendirilebilecektir.

EcoRI polimorfizminin meydana getirdiği fonksiyonel değişiklikler hala bilinmemektedir. Fakat birkaç çalışmayla EcoRI polimorfizminin serum total kolesterol ve Apo B seviyelerini nasıl değiştirdiğini gösteren muhtemel mekanizmalar gösterilmiştir (14).

Houlston ve arkadaşlarının beş farklı popülasyonda yaptıkları “ Apo B polimorfizmi ve LDL kinetiği arasındaki ilişki “ çalışmasında bu beş popülasyondan dördünde polimorfizm taşıyan bireylerde LDL fraksiyon katabolizmasının düşük olduğu gösterilmiştir (15).

Bu bilgilerin ışığında Apo B genindeki varyasyonların LDL mekanizmasını ve EcoRI polimorfizminin LDL katabolizmasını önemli ölçüde etkilediği anlaşılmaktadır.

Fakat Gallagher ve Myant yaptıkları çalışmayla bu hipotezin doğruluğunu desteklemediler (134). Gallagher ve Myant, LDL'nin plazmadan temizlenmesinin ana yolunun LDL'deki Apo B-100'ün LDL reseptörü bağlanması bilgisinden faydalanılarak yaptıkları insan deri fibroblastları ve LDL partikülleri arasındaki bağlanma afinitelerinin, polimorfizm taşıyan ve taşımayan bireylerde farklılık göstermemesi bulgusuna dayanarak bu polimorfizmin LDL'nin plazmadan temizlenmesinde farklılık yaratmadığını göstermişlerdir.

Yapılan çalışmalarda, EcoRI polimorfizminin plazma kolesterolün ve Apo B'nin LDL reseptörüne bağlanmasını değiştirdiği yada başka bir olasılıkta LDL reseptörüne bağlanmasını değiştirerek değilde Apo B sentezini etkileyerek veya Apo B katabolizmasını alternatif bir şekilde bağlanma sonrası basamaklarda modifiye ederek değiştiriyor olabileceği kanısına varılmıştır. Bu polimorfizmin tam olarak etkilerinin anlaşılması için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Pouliot ve arkadaşları 1994 yılında yaptıkları çalışmada, EcoRI polimorfizmi ile bölgesel adipoz doku ve plazma lipoprotein seviyeleri arasındaki ilişkiye bakmışlar. Bu çalışma için 56 sağlıklı erkek birey seçilmiştir. Çalışmanın sonucunda sağlam alleli taşıyan homozigot birey sayısı 40 ve polimorfik alleli taşıyan heterozigot birey sayısı ise 16 olarak gösterilmiştir. Yaş ve vücut yağ oranı (VKİ) farklılıkları hesaplandıktan sonra polimorfik alleli taşıyan heterozigot bireylerin sağlam alleli taşıyan bireylere göre total kolesterol düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Ayrıca polimorfik alleli taşıyan heterozigot bireylerde abdominal viseral yağ doku fazlalığı saptanmıştır (14).

Pouliot ve arkadaşlarının öne sürdüğü bulgulara uygun olarak, bizde çalışmamızda benzer bulgulara ulaşmış bulunmaktayız. Çalışmamızda hasta grubu olarak hiperlipidemik obez çocukları tercih etmemizin sebebi, hiperlipidemilerinin gelişmesinde erişkin bir bireye oranla genotipik faktörlerin çevresel faktörlere nazaran daha baskın olacağı fikriydi. Hasta grubunun obez çocuklardan oluşmasının sebebi ise; obez bireylerin yeme alışkanlıklarının lipid profillerinde belirgin bir artışa sebep olacağı ve bu bireyler arasında mutant A allelini homozigot yada heterozigot olarak taşıyan hastalarla GG genotipine sahip hastaların muhtemel lipid profili farklılıklarını daha kolay gözlemleyebilmektir. Çalışmanın hiperlipidemik obez çocuklarla yapılmış olması, hasta birey bulma sorununu beraberinde getirmiştir.

Çalışmamızın istatistiksel olarak gruplararası genotip frekansları değerlendirildiğinde, 38 hiperlipidemik obez çocuktan oluşan hasta grubunda 34 (%89,5) GG homozigot sağlam genotipi taşıyan ve 4 (%10,5) GA heterozigot mutant genotipi taşıyan çocuğa rastlanmıştır. 39 hiperlipidemisi bulunmayan ve obez çocuktan oluşan I. kontrol grubunda da 35 (%89,7) GG homozigot sağlam genotipi taşıyan ve 4 (%10,3) GA heterozigot mutant genotipi taşıyan çocuk saptanmıştır. 13 sağlıklı çocuktan oluşan II. kontrol grubunda ise 13 (%100) GG homozigot sağlam genotipi taşıyan çocuk gözlenmiştir. Bu grupta mutant A alleli taşıyan genotip saptanmamıştır.

Bu sonuçlara bağlı olarak, EcoRI polimorfizmine ait genotip frekansları ile gruplararası karşılaştırılma yapıldığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Pouliot ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaya (14) uygun olarak hasta grubu içerisinde genotip ve lipid profilleri karşılaştırıldığında, mutant A alleli taşıyan GA genotipine sahip hastaların GG genotipi taşıyan hastalara göre total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri yüksek saptanmıştır. Ancak hasta sayımızın yetersiz olmasından dolayı istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Kontrol gruplarının kendi içerisinde genotip ve lipid profilleri karşılaştırıldığında ise anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

Sonuç olarak;

- ✓ Hasta grubu ile I. kontrol grubu demografik bilgilere göre karşılaştırıldığında hasta grubunda total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol ($p < 0,001$) ve VLDL-kolesterol ($p < 0,05$) düzeyleri anlamlı yüksek saptanmıştır.
- ✓ Hasta grubunda II. kontrol grubuna göre yaş, trigliserid, VLDL-kolesterol ve VKİ düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$).
- ✓ I. kontrol grubu ve II. kontrol grubu karşılaştırıldığında I. kontrol grubunda yaş, VKİ ($p < 0,001$) ve total kolesterol düzeyleri ($p < 0,05$) anlamlı yüksek gözlenmiştir.
- ✓ Çalışma grupları G4154A genotip frekansları açısından karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.
- ✓ Her üç grupta G4154A polimorfizmi allel frekansları açısından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.
- ✓ Çalışma grupları arasında yapılan allel frekansları karşılaştırmasına göre II. kontrol grubunda mutant "A" alleleline rastlanmamıştır.
- ✓ Genotiplere göre gruplararası lipid profilleri karşılaştırıldığında, GA genotipi ("A" alleli) taşımaya göre hasta grubunda I. kontrol grubuna göre total kolesterol ($p:0,013$) ve LDL-kolesterol düzeyleri ($p < 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır.
- ✓ GG genotipi taşımaya göre çalışma grupları ile lipid profilleri karşılaştırıldığında hasta grubunda I. kontrol grubuna göre total kolesterol, trigliserid ve LDL-kolesterol düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$).

- ✓ Hasta grubu II. kontrol grubuna göre biyokimyasal parametrelerle karşılaştırıldığında trigliserid, VLDL-kolesterol ve VKİ hasta grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$).
- ✓ Çalışma grupları cinsiyet ayrımına göre lipid profilleri açısından değerlendirildiğinde, erkek çocuklarda kız çocuklarına göre VKİ'sinin istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır ($p:0,038$).
- ✓ Hasta grubu içerisinde genotip ve lipid profilleri karşılaştırıldığında, GA genotipi taşıyanların GG genotipi taşıyanlara göre total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızın sonucunda, obezite ve mutant A alleli taşıyan çocuklarda A allelinin hiperlipidemi geliştirme riskini arttırabileceği kanısına varılmıştır. İleriye yönelik olarak hasta sayısının arttırılması ile çalışmanın istatistiksel anlamlılığının ve bulguların geçerliliğinin artacağı düşüncesindeyiz.

Geniş bir literatür taraması yapılmasına rağmen, daha önce çocukluk çağında Apo B-100 geni EcoRI polimorfizmi ile lipid profilleri ve obezite üzerine yapılmış bir çalışma olmadığından çalışmamız bu konuda Türk toplumunda yapılmış öncü bir çalışma olma niteliği taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Talmud PJ, Barni N, Kessler AM, Carlsson P, Darnfors C, Bjursell G, Galton D, Wynn V, Kirk H, Hayden MR & Humphries SE (1987) Apolipoprotein B gene variants are involved in the determination of serum cholesterol levels: a study in normo- and hyperlipidaemic individuals. *Atherosclerosis* **67**(1): 81-89.
2. Kuromori Y, Okada T, Iwata F, Hara M, Noto N, Harada K. Familial combined hyperlipidemia (FCHL) in children: the significance of early development of hyperapoB lipoproteinemia, obesity and aging. *J Atheroscler Thromb.* 2002;**9**(6):314-320
3. Grundy SM. Disorders of lipids and lipoproteins. In: Stein JH, ed. Internal Medicine, Third ed. Boston; *Little, Brown and Company*; 1990:2279-2295.
4. Aalto-Setälä K, Gylling H, Helve E, Kovanen P, Miettinen TA, Turtola H & Kontula K (1989b) Genetic polymorphism of the apolipoprotein B gene locus influences serum LDL cholesterol level in familial hypercholesterolemia. *Hum Genet* **82**(4): 305-307.
5. Genest JJ Jr, Ordovas JM, McNamara JR, Robbins AM, Meade T, Cohn SD, Salem DN, Wilson PW, Masharani U, Frossard PM & Schaefer EJ (1990) DNA polymorphisms of the apolipoprotein B gene in patients with premature coronary artery disease. *Atherosclerosis* **82**(1-2):7-17.
6. Friedland O, Nemet D, Gorodnitsky N, Wolach B, Eliakim A. Obesity and lipid profiles in children and adolescent. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2002; **15**(7): 1011-1016.
7. Sveger T, Flodmark CE, Fex G, Henningsen NC. Apolipoproteins A-I and B in obese children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; **9**(4): 497-501.

8. Hergen G, Şahin H. Kardiyovaskuler risk faktörü belirlemede Apolipoprotein B ve A-1 düzeylerinin önemi. *Erciyes Tıp Dergisi*, 1994; **16**(4): 320-323.
9. Fisher WR, Schumaker WN. Isolation and characterization of apolipoprotein B-100. *Methods Enzymol.* 1986;**128**:247-262
10. Segrest JP, Jones MK, De Loof H, Dashti N. Structure of apolipoprotein B-100 in low density lipoproteins. *J Lipid Res.* 2001 Sep; **42** (9); 1346-67. Review
11. Knott TJ, Rall SC Jr, Innerarity TL, Jacobson SF, Urdea MS, Levy-Wilson B, Powell LM, Pease RJ, Eddy R, Nakai H, Byers M, Priestley LM, Robertson E, Rall LB, Betsholz C, Shows TB, Mahley RW, Scott J. Human apolipoprotein B: structure of carboxyl-terminal domains, sites of gene expression, and chromosomal localization. *Science.* 1985;**230**:37-43.
12. Pullinger CR, Hennessy LK, Chatterton JE, Liu W, Love JA, Mendel CM, Frost PH, Malloy MJ, Schumaker VN & Kane JP (1995) Familial ligand-defective apolipoprotein B Identification of a new mutation that decreases LDL receptor binding affinity. *J Clin Invest* **95**(3):1225-1234.
13. Nissen H, Hansen PS, Faergeman O, Horder M. Mutation Screening of the codon 3500 region of the apolipoprotein B gene by denaturing gradient-gel electrophoresis. *Molecular Pathology CLIN.CHEM.* **41**(3): 419-423 (1995)
14. Pouliot MC, Despres JP, Dionne FT, Vohl MC, Moorjani S, Prud'homme D, Bouchard C and Lupien PJ. Apo B-100 gene EcoRI polymorphism. Relations to plasma lipoprotein changes associated with abdominal visceral obesity. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1994; **14**:527-523
15. Houlston RS, Turner PR, Lewis B, Humphries SE. Genetic epidemiology of differences in low density lipoprotein (LDL) cholesterol concentration: possible involvement of variation at the apolipoprotein B gene locus in LDL kinetics. *Genet Epidemiol.* 1990; **7**: 199-210

16. Ginsberg HN. Lipoprotein physiology. *Endocrin Metab Clin North Amer.* 1998;**27**:503-519.
17. Onaka L. I.: Lipids. In: Clinical Chemistry Concepts and Applications. Anderson S.C., Cockayne S. Saunders London,1993.
18. Gotto AM Jr, Pownall HJ, Havel RJ. Introduction to the plasma lipoproteins. *Methods Enzymol.* 1986;**128**:3-41.
19. Griffin BA. Low-density lipoprotein heterogeneity. *Baillière's Clin End Metab .* 1995;**9**:687-703.
20. Tailleux A, Fruchart JC. HDL heterogeneity and atherosclerosis. *Critical Rev Clin Lab Sci.* 1996;**33**:163-201.
21. Durrington PN. Lipoprotein (a). *Baillière's Clin End Metab.* 1995;**9**:773-795.
22. Patsch W, Gotto AM Jr. Apolipoproteins: pathophysiology and clinical implications. *Methods Enzymol.* 1996;**263**:3-32.
23. Alaupovic P. Significance of apolipoproteins for structure, function, and classification of plasma apolipoproteins. *Methods Enzymol.* 1996;**263**:32-60.
24. Van Greevenbroek MMJ, de Bruin TWA. Chylomicron synthesis by intestinal cells in vitro and in vivo. *Atherosclerosis.* 1998;**141**:S9-S16.
25. Chappell DA, Medh J. Receptor-mediated mechanisms of lipoprotein remnant catabolism. *Progr Lipid Res.* 1998;**37**:393-422.
26. Karpe F, Humphreys SM, Samra JS, Summers LKM, Frayn KN. Clearance of lipoprotein remnant particles in adipose tissue and muscle in humans. *J Lipid Res.* 1997;**38**:2335-2343

27. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*. 1986;**232**:34-47.
28. Kwiterovich PO Jr. The antiatherogenic role of high-density lipoprotein cholesterol. *Am J Cardiol*. 1998;**82**:13Q-21Q.
29. Kris-Etherton PM, Yu S. Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr*. 1997;**65**:1628S-1644S.
30. Schaefer EJ, Brousseau ME. Diet, lipoproteins, and coronary heart disease. *Endocrin Metab Clin North Amer*. 1998;**27**:711-732.
31. Ginsberg HN, Karmally W, Siddiqui M, Holleran S, Tall AR, Rumsey SC, Deckelbaum RJ, Blaner WS, Ramakrishnan R. A dose-response study of the effects of dietary cholesterol on fasting and postprandial lipid and lipoprotein metabolism in healthy young men. *Arterioscler Thromb*. 1994;**14**:576-586.
32. Grundy SM. Disorders of lipids and lipoproteins. In: Stein JH, ed. *Internal Medicine*, Third ed. Boston; Little, Brown and Company; 1990:2279-2295.
33. Jenkins DJA, Wolever TMS, Rao AV, Hegele RA, Mitchell SJ, Ransom TPP, Boctor DL, Spadafora PJ, Jenkins AL, Mehling C, Katzman R, Connelly PW, Story JA, Furumoto EJ, Corey P, Würsch P. Effect on blood lipids of very high intakes of fiber in diets low in saturated fat and cholesterol. *N Engl J Med*. 1993;**329**:21-26.
34. Savolainen MJ, Kesäniemi YA. Effects of alcohol on lipoproteins in relation to coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol*. 1995;**6**:243-250.
35. Freeman DJ, Packard CJ. Smoking and plasma lipoprotein metabolism. *Clin Sci*. 1995;**89**:333-342.

36. Berg A, Frey I, Baumstark MW, Halle M, Keul J. Physical activity and lipoprotein lipid disorders. *Sports Med.* 1994;**17**:6-21.
37. Reilly SL, Kottke BA, Sing CF. The effects of generation and gender on the joint distributions of lipid and apolipoprotein phenotypes in the population at large. *J Clin Epidemiol.* 1990;**43**:921-940.
38. Porkka KVK, Viikari JSA, Rönnemaa T, Marniemi J, Åkerblom HK. Age and gender specific serum lipid and apolipoprotein fractiles of Finnish children and young adults. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Acta Paediatr.* 1994;**83**:838-848.
39. Corti M-C, Barbato G-M, Baggio G. Lipoprotein alterations and atherosclerosis in the elderly. *Curr Opin Lipidol.* 1997;**8**:236-241.
40. Stevenson JC, Crook D, Godsland IF. Influence of age and menopause on serum lipids and lipoproteins in healthy women. *Atherosclerosis.* 1993;**98**:83-90.
41. Donahoo WT, Kosmiski LA, Eckel RH. Drugs causing dyslipoproteinemia. *Endocrin Metab Clin North Amer.* 1998;**27**:677-697.
42. Austin MA, Hutter MC, Zimmern RL, Humphries SE. Familial Hypercholesterolemia and Coronary Heart Disease : A Huge Association Review. *Am J Epidemiol* 2004; **160**; 421-429
43. Sullivan D.: Clinical interpretation of lipoprotein metabolism and its role in cardiovascular disease. *Clin Biochem Revs* **17** : 43-9, 1996.
44. Brewer H.B., Zech L.A., Gregg R.E., Schwartz D., Schaefer E.J.: Type III Hyperlipoproteinemia : Diagnosis, molecular defects, pathology, and treatment. NIH Conference. *Ann Intern Med* **98** (5) : 623-40, 1983.

45. Gregg R.E., Zech L.A., Schaefer E.J.: Type III Hyperlipoproteinemia : defective metabolism of on abnormal Apolipoprotein E. *Science* **211**: 584-6,1981.
46. Stuyt P.M., Stalenhoef A.F.H., Demavker P.N.M., Van't Laar A.: Hyperlipoproteinemia type V and Apolipoprotein E4. *The Lancet* **2** : 934, 1982.
47. Fisher WR, Schumaker WN. Isolation and characterization of apolipoprotein B-100. *Methods Enzymol.* 1986;**128**:247-262.
48. Chan L, VanTuinen P, Ledbetter DH, Daiger SP, Gotto AM Jr, Chen SH. The human apolipoprotein B-100 gene: a highly polymorphic gene that maps to the short arm of chromosome 2. *Biochem Biophys Res Commun* . 1985;**133**:248-255.
49. Knott TJ, Rall SC Jr, Innerarity TL, Jacobson SF, Urdea MS, Levy-Wilson B, Powell LM, Pease RJ, Eddy R, Nakai H, Byers M, Priestley LM, Robertson E, Rall LB, Betsholz C, Shows TB, Mahley RW, Scott J. Human apolipoprotein B: structure of carboxyl-terminal domains, sites of gene expression, and chromosomal localization. *Science*. 1985;**230**:37-43.
50. Blackhart BD, Ludwig EM, Pierotti VR, Caiati L, Onasch MA, Wallis SC, Powell L, Pease R, Knott TJ, Chu M-L, Mahley RW, Scott J, McCarthy BJ, Levy-Wilson B. Structure of the human apolipoprotein B gene. *J Biol Chem*. 1986;**261**:15364-15367.
51. Knott TJ, Wallis SC, Powell LM, Pease RJ, Lusic AJ, Blackhart B, McCarthy BJ, Mahley RW, Levy-Wilson B, Scott J. Complete cDNA and derived protein sequence of human apolipoprotein B-100. *Nucleic Acids Res*. 1986;**14**:7501-7503.
52. Ludwig EH, Blackhart BD, Pierotti VR, Caiati L, Fortier C, Knott T, Scott J, Mahley RW, Levy-Wilson B, McCarthy BJ. DNA sequence of the human apolipoprotein B gene. *DNA*. 1987;**6**:363-372.

53. Nielsen LB, Véniant M, Borén J, Raabe M, Wong JS, Tam C, Flynn L, Vanni-Reyes T, Gunn MD, Goldberg IJ, Hamilton RL, Young SG. Genes for apolipoprotein B and microsomal triglyceride transfer protein are expressed in the heart. Evidence that the heart has the capacity to synthesize and secrete lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;**98**:13-16.
54. Sivaram P, Vanni-Reyes T, Goldberg IJ. Endothelial cells synthesize and process apolipoprotein B. *J Biol Chem.* 1996;**271**:15261-15266.
55. Levy-Wilson B, Fortier G. The limits of the Dnase I-sensitive domain of the human apolipoprotein B gene coincide with the locations of chromosomal anchorage loops and define the 5' and 3' boundaries of the gene. *J Biol Chem.* 1989;**264**:21196-21204.
56. Nielsen LB, Kahn D, Duell T, Weier H-U, Taylor S, Young S. Apolipoprotein B gene expression in a series of human apolipoprotein B transgenic mice generated with recA-assisted restriction endonuclease cleavage-modified bacterial artificial chromosomes. An intestine-specific enhancer element is located between 54 and 62 kilobases 5' to the structural gene. *J Biol Chem.* 1998;**273**:21800-21807.
57. Levy-Wilson B. DNaseI hypersensitive sites at the 3' end of the human apolipoprotein B gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990;**171**:162-168.
58. Chuang SS, Das HK. Identification of trans-acting factors that interact with cis-acting elements present in the first nontranslated exon of the human apolipoprotein B gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;**220**:553-562.
59. Lee S-Y, Nagy BP, Brooks AR, Wang D-M, Paulweber B, Levy-Wilson B. Members of the caudal family of homeodomain proteins repress transcription from the human apolipoprotein B promoter in intestinal cells. *J Biol Chem.* 1996;**271**:707-718.
60. Selby SL, Yao Z. Level of apolipoprotein B mRNA has an important effect on the synthesis and secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins. Studies on

transfected hepatoma cell lines expressing recombinant human apolipoprotein B. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;**15**:1900-1910.

61. Chen S-H, Habib G, Yang C-Y, Gu Z-W, Lee BR, Weng S-A, Silberman SR, Cai S-J, Deslypere JP, Rosseneu M, Gotto AM Jr, Li W-H, Chan L. Apolipoprotein B-48 is the product of a messenger RNA with an organ-specific in-frame stop codon. *Science.* 1987;**238**:363-366.

62. Johnson DF, Poksay KS, Innerarity TL. The mechanism for apo-B mRNA editing is deamination. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;**195**:1204-1210.

63. Espinosa R, Funahashi T, Hadjiagapiou C, Le Beau MM, Davidson NO. Assignment of the gene encoding the human apolipoprotein B mRNA editing enzyme (APOBEC1) to chromosome 12p13.1. *Genomics.* 1994;**24**:1414-1415.

64. Fujino T, Navaratnam N, Scott J. Human apolipoprotein B RNA editing deaminase gene (APOBEC-1). *Genomics.* 1998;**47**:266-275.

65. Mehta A, Driscoll DM. A sequence-specific RNA-binding protein complements apobec-1 to edit apolipoprotein B mRNA. *Mol Cell Biol.* 1998;**18**:4426-4432.

66. Hirano K-I, Min J, Funahashi T, Baunoch DA, Davidson NO. Characterization of the human apobec-1 gene: expression in gastrointestinal tissues determined by alternative splicing with production of a novel truncated peptide. *J Lipid Res.* 1997;**38**:847-859.

67. Knott TJ, Pease RJ, Powell LM, Wallis SC, Rall SC Jr, Innerarity TL, Blackhart B, Taylor WH, Marcel Y, Milne R, Johnson D, Fuller M, Lusis AJ, McCarthy BJ, Mahley RW, Levy-Wilson B, Scott J. Complete protein sequence and identification of structural domains of human apolipoprotein B. *Nature.* 1986;**323**:734-738.

68. Yang C-Y, Chen S-H, Gianturco SH, Bradley WA, Sparrow JT, Tanimura M, Li W-H, Sparrow DA, De Loof H, Rosseneu M, Lee F-S, Gu Z-W, Gotto AM Jr, Chan L.

Sequence, structure, receptor-binding domains and internal repeats of human apolipoprotein B-100. *Nature*. 1986;**323**:738-742.

69. De Loof H, Rosseneu M, Yang C-Y, Li W-H, Gotto AM Jr, Chan L. Human apolipoprotein B: analysis of internal repeats and homology with other lipoproteins. *J Lipid Res*. 1987;**28**:1455-1465.

70. Babin PJ, Bogerd J, Kooiman FP, Van Marrewijk WJA, Van der Horst DJ. Apolipoprotein II/I, apolipoprotein B, vitellogenin, and microsomal triglyceride transfer protein genes are derived from a common ancestor. *J Mol Evol*. 1999;**49**:150-160.

71. Vauhkonen M, Viitala J, Parkkinen J, Rauvala H. High-mannose structure of apolipoprotein-B from low-density lipoproteins of human plasma. *Eur J Biochem*. 1985;**152**:43-50.

72. Yang C-Y, Gu Z-W, Weng S-A, Kim TW, Chen S-H, Pownall HJ, Sharp PM, Liu S-W, Li W-H, Gotto AM Jr, Chan L. Structure of apolipoprotein B-100 of human low density lipoproteins. *Arteriosclerosis*. 1989;**9**:96-108.

73. Fujioka Y, Taniguchi T, Ishikawa Y, Shiomi M, Yokoyama M. Relation of N-glycosylation of apolipoprotein B-100 to cellular metabolism of low density lipoprotein. *Atherosclerosis*. 1994;**108**:91-102.

74. Yang C-Y, Kim TW, Weng S-A, Lee B, Yang M, Gotto AM Jr. Isolation and characterization of sulfhydryl and disulfide peptides of human apolipoprotein B-100. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990;**87**:5523-5527.

75. Shelness GS, Thornburg JT. Role of intramolecular disulfide bond formation in the assembly and secretion of apolipoprotein B-100-containing lipoproteins. *J Lipid Res*. 1996;**37**:408-419.

76. Koschinsky ML, Côté GP, Gabel B, van der Hoek YY. Identification of the cysteine residue in apolipoprotein(a) that mediates extracellular coupling with apolipoprotein B-100. *J Biol Chem*. 1993;**268**:19819-19825.
77. Chatterton JE, Phillips ML, Curtiss LK, Milne R, Fruchart J-C, Schumaker VN. Immunoelectron microscopy of low density lipoproteins yields a ribbon and bow model for the conformation of apolipoprotein B on the lipoprotein surface. *J Lipid Res*. 1995;**36**:2027-2037.
78. Segrest JP, Jones MK, Mishra VK, Anantharamaiah GM, Garber DW. ApoB-100 has a pentapartite structure composed of three amphipathic alpha-helical domains alternating with two amphipathic A-strand domains. *Arterioscler Thromb*. 1994;**14**:1674-1685.
79. Linton MF, Farese RV Jr, Young SG. Familial hypobetalipoproteinemia. *J Lipid Res*. 1993;**34**:521-541.
80. Chauhan V, Wang X, Ramsamy T, Milne RW, Sparks DL. Evidence for lipid-dependent structural changes in specific domains of apolipoprotein B100. *Biochemistry*. 1998;**37**:3735-3742.
81. Gaffney D, Reid JM, Cameron IM, Vass K, Caslake MJ, Shepherd J, Packard CJ. Independent mutations at codon 3500 of the apolipoprotein B gene are associated with hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;**15**:1025-1029.
82. Weisgraber KH, Innerarity TL, Mahley RW. Role of lysine residues of plasma lipoproteins in high affinity binding to cell surface receptors on human fibroblasts. *J Biol Chem*. 1978;**253**:9053-9062.
83. Richardson N, Navaratnam N, Scott J. Secondary structure for the apolipoprotein B mRNA editing site. AU-binding proteins interact with a stem loop. *J Biol Chem*. 1998;**273**:31707-31717.

84. Borén J, Lee I, Zhu W, Arnold K, Taylor S, Innerarity TL. Identification of the low density lipoprotein receptor-binding site in apolipoprotein B100 and the modulation of its binding activity by the carboxyl terminus in familial defective apo-B100. *J Clin Invest.* 1998;**101**:1084-1093.
85. Krieger M, Herz J. Structures and functions of multiligand lipoprotein receptors: macrophage scavenger receptors and LDL receptor-related protein (LRP). *Annu Rev Biochem.* 1994;**63**:601-637.
86. Bihain BE, Yen FT. The lipolysis stimulated receptor: a gene at last. *Curr Opin Lipidol.* 1998;**9**:221-224.
87. Windler E, Greeve J, Levkau B, Kolb-Bachofen V, Daerr W, Greten H. The human asialoglycoprotein receptor is a possible binding site for low-density lipoproteins and chylomicron remnants. *Biochem J.* 1991;**276**:79-87.
88. Ginsberg HN. Synthesis and secretion of apolipoprotein B from cultured liver cells. *Curr Opin Lipidol.* 1995;**6**:275-280.
89. Borén J, Véniant M, Young SG. ApoB100-containing lipoproteins are secreted by the heart. *J Clin Invest.* 1998;**101**:1197-1202.
90. Schneider WJ, Nimpf J, Bujo H. Novel members of the low density lipoprotein receptor superfamily and their potential roles in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol.* 1997;**8**:315-319.
91. Sakai J, Hoshino A, Takahashi S, Miura Y, Ishii H, Suzuki H, Kawarabayasi Y, Yamamoto T. Structure, chromosome location, and expression of the human very low density lipoprotein receptor gene. *J Biol Chem.* 1994;**269**:2173-2182.
92. Ramprasad MP, Li R, Gianturco SH, Bradley W. Purification of the human THP-1 monocyte-macrophage triglyceride-rich lipoprotein receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;**210**:491-497.

93. Williams DL, Connelly MA, Temel RE, Swarnakar S, Phillips MC, de la Llera-Moya M, Rothblat GH. Scavenger receptor BI and cholesterol trafficking. *Curr Opin Lipidol*. 1999;**10**:329-339.
94. Izem L, Rassart E, Kamate L, Falstraull L, Rhainds D, Brissette L. Effect of reduced low-density lipoprotein receptor level on HepG2 cell cholesterol metabolism. *Biochem J*. 1998;**329**:81-89.
95. Chiodini BD, Barlera S, Franzosi MG, Beceiro VL, Inrona M, Tognoni G. Apo B gene polymorphisms and coronary artery disease: a meta-analysis. *Atherosclerosis* **167** (2003) 355-366
96. Brook, C.G.D (2001) Growth assesment purpose and interpretation. In C.G.D Brook, P.C. Hindmarsh eds. *Clinical Pediatric Endocrinology, Blackwell Science, London*, 115-123.
97. Cole, T.J., Bellizzi, M.C, Flegal, K.M. & Dietz, W.H (2000) Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *British Medical Journal*, **320**, 1240-1243.
98. Reproduced with permission from: Jolliffe, CJ, Janssen, I. Distribution of lipoproteins by age and gender in adolescents. *Circulation* 2006; **114**:1056. Copyright ©2006 Lippincott Williams and Wilkins.
99. Ukkola O, Savolainen MJ, von Dickhoff K & Kesäniemi YA (1993b) Apolipoprotein B gene DNA polymorphisms are associated with macro- and microangiopathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Genet* **44**(4): 177-184.
100. Fischer, S.G and L.S Lerman 1979. Length-independent separation of DNA restriction fragments in two-dimensional gel electrophoresis. *Cell* **16**: 191

101. Fischer, S.G and L.S Lerman 1983. DNA fragments differing by single base-pair substitutions are separated in denaturing gradient gels: Correspondence with melting theory. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **80** : 1579
102. Fischer, M.P and C.W Dingman. 1971. Role of molecular conformation in determining the electrophoretic properties of polynucleotides in agarose-acrylamide composite gels. *Biochemistry* **10**: 1895
103. Sambrook, Fritsch, Maniatis. *Molecular Cloning A Laboratory Manual* (Second Edition)
104. Abrams ES, Stanton VP. Use of denaturing gradient gel electrophoresis to study conformational transitions in nucleic acids. *Meth Enzymol* 212:**71**-104 (1992)
105. www.ensembl.org
106. Stephen R. Daniels, Frank R. Greer and the Committee on Nutrition Pediatrics. Lipid Screening and Cardiovascular Health in Childhood. *Pediatrics* 2008; **122**; 198-208
107. Krauss R.M, Winston M, Fletcher B.J, Grundy S.M. Obesity: Impact on Cardiovascular Disease. *Circulation* 1998; **98**; 1472-1476
108. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP III, Tracy RE, Wattigney WA, Association between multiple cardiovascular risk factors and the early development of atherosclerosis. Bogalusa Heart Study. *N Eng J Med.* 1998; **338** (23): 1650-1656
109. Lauer RM, Lee J, Clarke WR. Factors affecting the relationship between childhood and adult cholesterol levels: the Muscatine Studt. *Pediatrics.* 1988; **82**(3): 309-318

110. Webber LS, Srinivasan SR, Wattigney WA, Berenson GS. Tracking of serum and lipids and lipoproteins from childhood to adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Am J Epidemiol.* 1991; **133** (9): 884-899
111. Ye P, Chen B, Wang S. Association of polymorphisms of the apolipoprotein B gene with coronary heart disease in Han Chinese. *Atherosclerosis* 1995;**117**:43-50.
112. Must A, Jacques PF, Dallal GE, Bajema CJ, Dietz WH. Long term morbidity and mortality of overweight adolescents: a follow-up of the Harvard Growth Study of 1922 to 1935. *N Eng J Med.* 1992; **327**: 1350-1355
113. June K.Lloyd. Hyperlipidemia in children. *British Heart Journal*, 1975 **37**, 105-114
114. Tershokovec A.M, Jawad A.F, Stouffer N.O, Elkasabany A, Srinivasan S.R and Berenson G.S. Persistent hypercholesterolemia is associated with the development of obesity among girls: the Bogalusa Heart Study. *Am J Clin Nutr* 2002; **76**:730-5
115. Raitakari OT, Porkka KVK, Ronnema T, et al. The role of insulin clustering of serum lipids and blood pressure in children and adolescents. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Diabetologia* 1995; 697-706
116. Guo S, Salisbury S, Roche AF, Chumlea WC, Siervogel RM. Cardiovascular disease risk factors and body composition: a review. *Nutr Res* 1994; **11**: 1721-77
117. Smoak CG, Burke GL, Webber LS, Harsha DW, Srinivasan SR, Berenson GS. Relation of obesity of clustering of cardiovascular disease risk factors in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *Am J Epidemiol* 1987; 125:364-372
118. Horri M, Vakili R. Evaluation of Cardiovascular and Lipid Profile Abnormalities in Obese Children and Adolescents. *Iran J Med Sci* June 2006;Vol **31**; No 2; 87-90

119. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W. Precursors of cardiovascular risk in young adults from a biracial (black-white) population: the Bogalusa Heart Study. *Ann N Y Acad Sci.* 1997 May **28**;817:189-98.
120. Narin F, Atabek M.E, Karakukcu M, Narin N, Kurtoğlu S, Gümüş H, Çoksevrim B, Erez R. The association of plasma homocysteine levels with serum leptin and apolipoprotein B levels in childhood obesity. *Ann Saudi Med.* 2005; **25**(3): 209-214
121. Genest JJ, Martin-Munley SS, McNamara JR, et al. Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation* 1992;**85**:2025-2033.
122. Bøhn M, Bakken A, Erikssen J, Berg K. The apolipoprotein B signal peptide insertion/deletion polymorphism is not associated with myocardial infarction in Norway. *Clin Genet* 1994;**45**:255-259.
123. Heng CK, Saha N, Low PS. Evolution of the apolipoprotein B gene and coronary artery disease: a study in low and high risk Asians. *Ann Hum Genet* 1999;**63**:45-62.
124. Marshall HW, Morrison LC, Wu LL, et al. Apolipoprotein polymorphisms fail to define risk of coronary artery disease. Results of a prospective, angiographically controlled study. *Circulation* 1994;**89**:567-577.
125. Myant NB, Gallagher JB, Barbir M, Thompson GR, Wile D, Humphries SE. Restriction fragment length polymorphisms in the apo B gene in relation to coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1989;**77**:193-201.
126. Paulweber B, Friedl W, Krempler F, Humphries SE, Sandhofer F. Association of DNA polymorphism at the apolipoprotein B gene locus with coronary heart disease and serum very low density lipoprotein levels. *Arteriosclerosis* 1990;**10**:17-24.

127. Saha N, Tong MC, Tay JS, II, Jeyaseelan K, Humphries SE. DNA polymorphisms of the apolipoprotein B gene in Chinese coronary artery disease patients. *Clin Genet* 1992;**42**:164-170.
128. Hegele RA, Huang LS, Herbert PN, Blum CB, Buring JE, Hennekens CH, Breslow JL. Apolipoprotein B-gene DNA polymorphisms associated with myocardial infarction. *New Engl J Med* 1986;**315**:1509-1515.
129. Salazar LA, Hirata MH, Giannini SD, Forti N, Diament J, Lima TM, Hirata RDC. Seven DNA polymorphisms at the candidate genes of atherosclerosis in Brazilian women with angiographically documented coronary artery disease, *Clin. Chim. Acta* 2000;**300**:139-149.
130. Corbo RM, Vilardo T, Manruano E, Ruggeri M, Gemma AT, Scacchi R. Apolipoproteins B and E, and angiotensin I-converting enzyme (ACE) genetic polymorphisms in Italian women with coronary artery disease (CAD) and their relationships with plasma lipid and apolipoprotein levels. *Clin Genet* 1997;**52**:77-82.
131. Machado MO, Hirata MH, Bertolami MC, Hirata RDC. Apo B gene haplotype is associated with lipid profile of higher risk for coronary heart disease in Caucasian Brazilian men. *J Clin Lab Anal* 2001;**15**:19-24.
132. Peacock R, Dunning A, Hamsten A, Tornvall P, Humphries S, Talmud P. Apolipoprotein B gene polymorphisms, lipoproteins and coronary atherosclerosis: a study of young myocardial infarction survivors and healthy population-based individuals, *Atherosclerosis* 1992;92:151_64. B.D. Chiodini et al. / *Atherosclerosis* **167** (2003) 355-366 365
133. Tybjærg-Hansen A, Nordestgaard BG, Gerdes LU, Humphries SE. Variation of apolipoprotein B Gene is associated with myocardial infarction and lipoprotein levels in Danes. *Atherosclerosis* 1991;**89**:69-81.

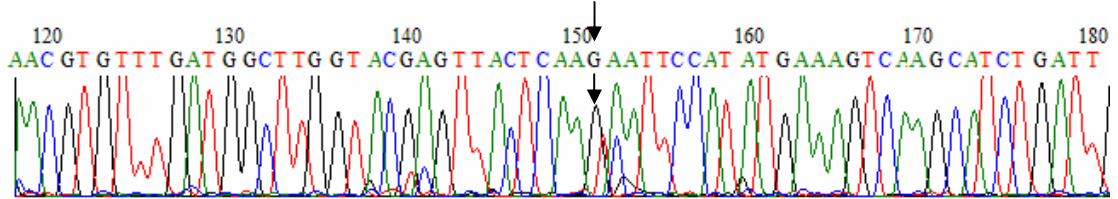
134. Gallagher JJ, Myant NB. Does the EcoRI polymorphism in the human apolipoprotein B gene affect the binding of low density lipoprotein to the low-density lipoprotein receptor? *Arterioscler Thromb.* 1992;**12**:256-260

HAM VERİLER

DNA DİZİ ANALİZİ SONUÇLARI

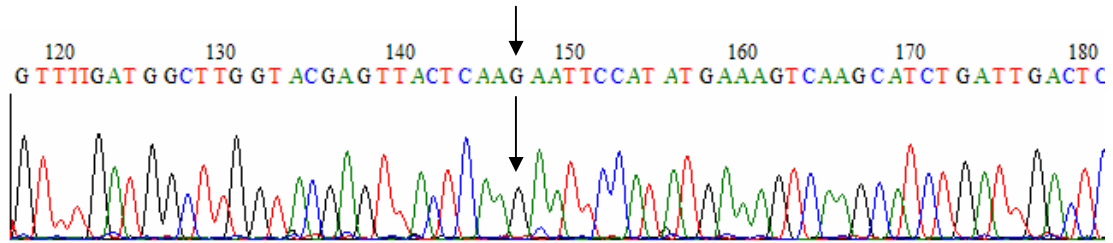
[Örnek 7]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G)



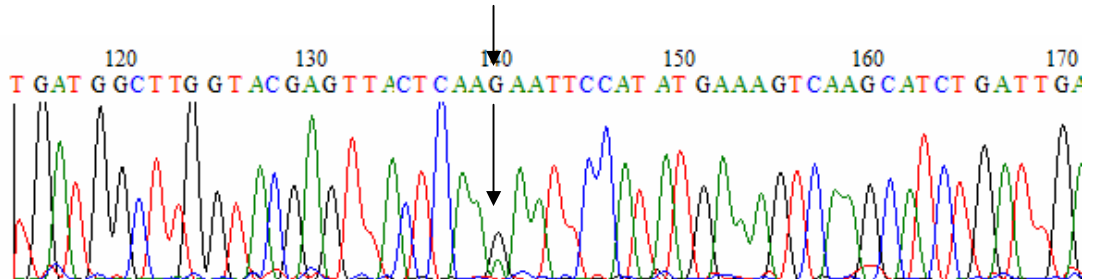
[Örnek 8]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G)



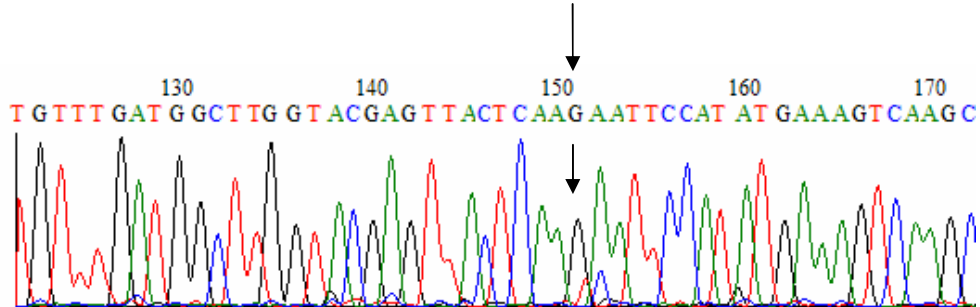
[Örnek 12]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G/A)



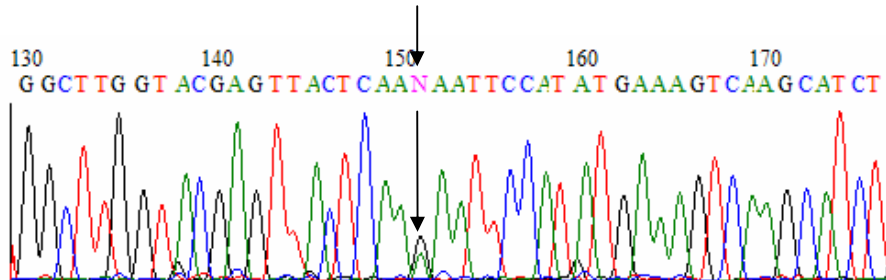
[Örnek 13]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G)



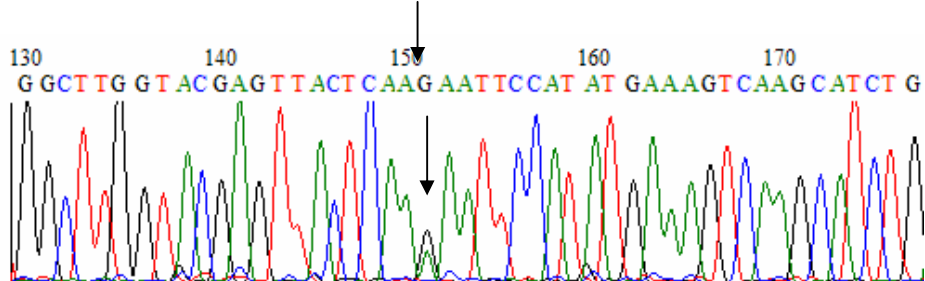
[Örnek 15]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G/A)



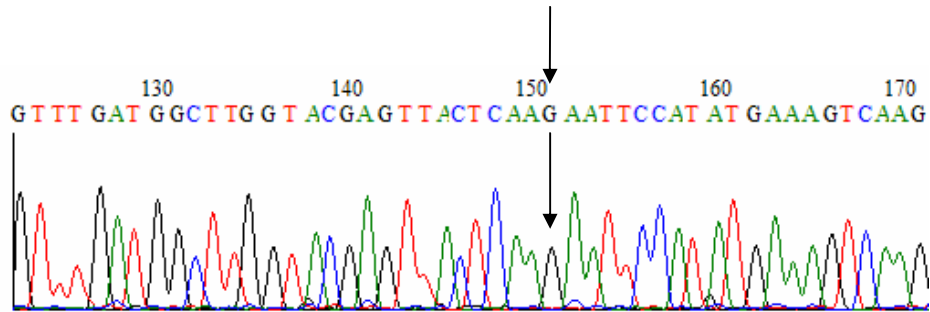
[Örnek 18]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G/A)



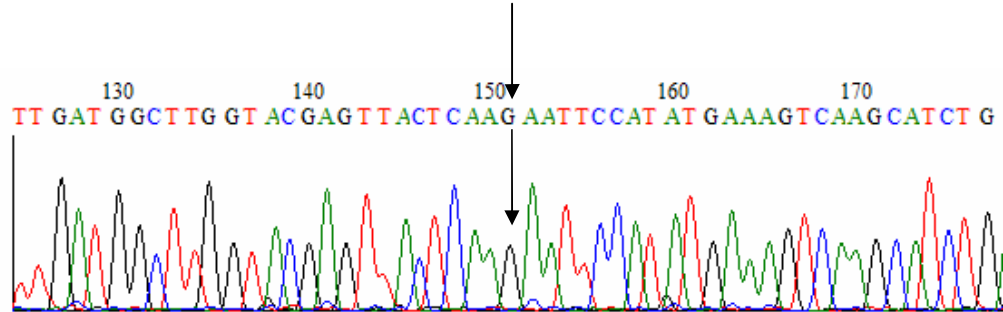
[Örnek 19]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G)



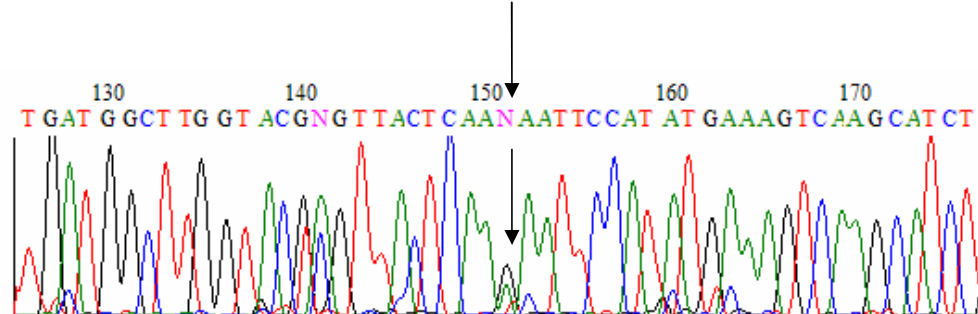
[Örnek 20]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G)



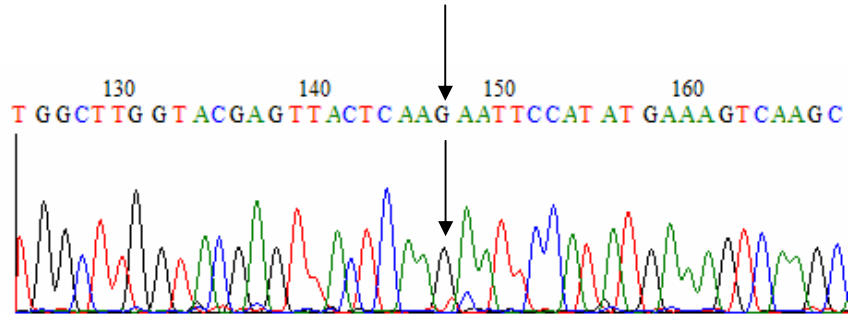
[Örnek 27]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G/A)



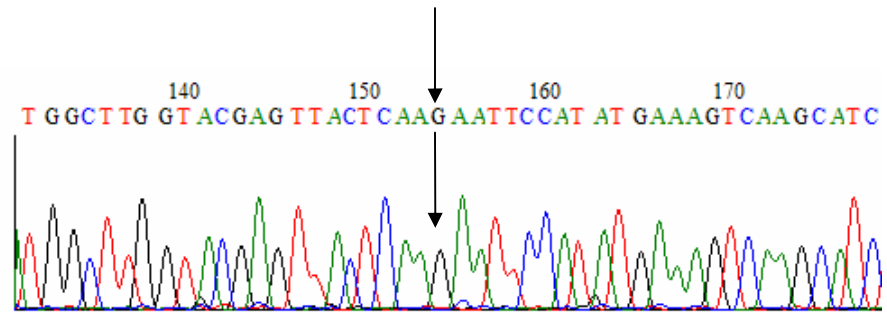
[Örnek 29]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G)



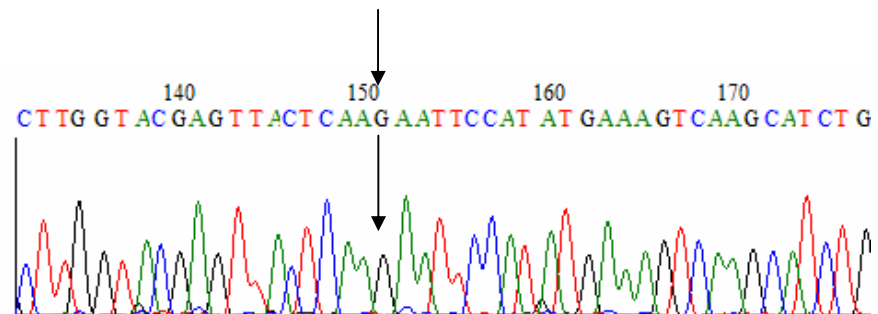
[Örnek 30]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G)



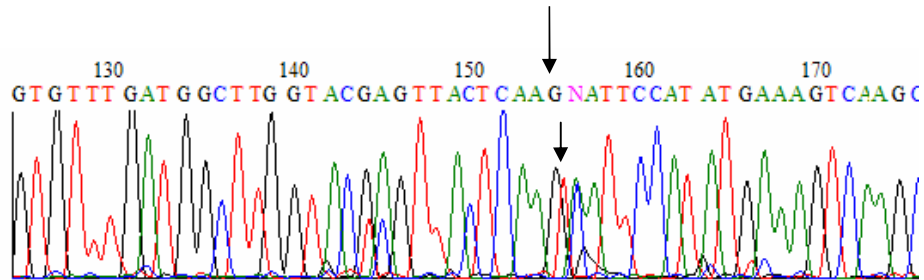
[Örnek 31]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G)



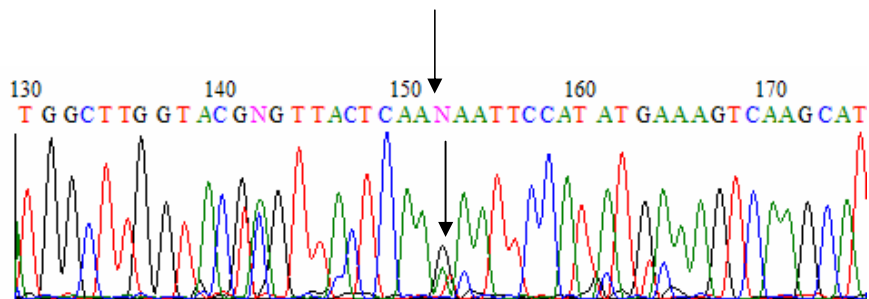
[Örnek 32]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G)



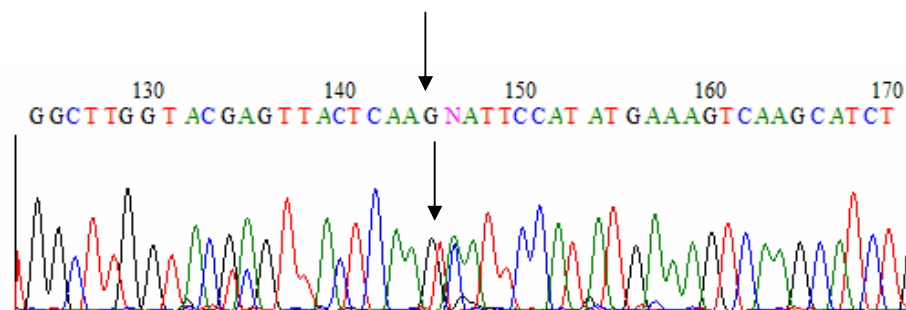
[Örnek 52]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G/A)



[Örnek 32]

Apo B-100 geni 12669. nükleotid (kodon 4154) (G)



İSTATİSTİKSEL VERİLER

Frequencies

Statistics

		GRUP	CINSİYET
N	Valid	90	90
	Missing	0	0

Frequency Table

GRUP

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	hasta	38	42,2	42,2	42,2
	kontrol I	39	43,3	43,3	85,6
	kontrol II	13	14,4	14,4	100,0
Total		90	100,0	100,0	

CINSİYET

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	kadın	55	61,1	61,1	61,1
	erkek	35	38,9	38,9	100,0
Total		90	100,0	100,0	

T-Test Hasta ve I. Kontrol

Group Statistics

		GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	kontrol I		39	11,4359	3,23464	,51796
	hasta		38	11,5000	3,61491	,58642
KOLESTER	kontrol I		39	145,8718	18,00319	2,88282
	hasta		38	181,7895	35,64704	5,78271
TRIGLİSE	kontrol I		39	80,3333	24,80379	3,97179
	hasta		38	149,9211	64,53509	10,46897
HDL	kontrol I		39	48,8462	10,34291	1,65619
	hasta		38	49,5789	13,23924	2,14769
LDL	kontrol I		39	82,0103	14,97028	2,39716
	hasta		38	104,1053	26,25323	4,25884
VLDL	kontrol I		39	20,4872	26,79441	4,29054
	hasta		38	30,5000	13,35735	2,16685
VKİSD	kontrol I		39	6,2628	3,12832	,50093
	hasta		38	6,5168	3,10027	,50293

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	,014	,906	-,082	75	,935	-,0641	,78127	-1,62047	1,49227
	Equal variances not assumed			-,082	73,621	,935	-,0641	,78241	-1,62322	1,49501
KOLESTER	Equal variances assumed	4,832	,031	-5,602	75	,000	-35,9177	6,41117	-48,68939	-23,14596
	Equal variances not assumed			-5,559	54,404	,000	-35,9177	6,46146	-48,86991	-22,96545
TRIGLISE	Equal variances assumed	10,870	,001	-6,276	75	,000	-69,5877	11,08817	-91,67648	-47,49896
	Equal variances not assumed			-6,215	47,460	,000	-69,5877	11,19707	-92,10756	-47,06788
HDL	Equal variances assumed	1,789	,185	-,271	75	,787	-,7328	2,70348	-6,11841	4,65282
	Equal variances not assumed			-,270	69,991	,788	-,7328	2,71211	-6,14194	4,67635
LDL	Equal variances assumed	5,195	,025	-4,551	75	,000	-22,0950	4,85449	-31,76564	-12,42437
	Equal variances not assumed			-4,521	58,446	,000	-22,0950	4,88713	-31,87608	-12,31394
VLDL	Equal variances assumed	,004	,950	-2,067	75	,042	-10,0128	4,84488	-19,66432	-,36132
	Equal variances not assumed			-2,083	56,108	,042	-10,0128	4,80666	-19,64131	-,38433
VKİSD	Equal variances assumed	,077	,782	-,358	75	,721	-,2540	,70992	-1,66826	1,16022
	Equal variances not assumed			-,358	74,978	,721	-,2540	,70984	-1,66810	1,16006

T-Test Hasta ve II. Kontrol

Group Statistics

GRUP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	kontrol II	13	8,1538	2,15430	,59750
	hasta	38	11,5000	3,61491	,58642
KOLESTER	kontrol II	13	161,5385	31,29061	8,67846
	hasta	38	181,7895	35,64704	5,78271
TRIGLISE	kontrol II	13	86,6923	38,74572	10,74613
	hasta	38	149,9211	64,53509	10,46897
HDL	kontrol II	13	54,5385	9,98845	2,77030
	hasta	38	49,5789	13,23924	2,14769
LDL	kontrol II	13	88,8462	26,19747	7,26587
	hasta	38	104,1053	26,25323	4,25884
VLDL	kontrol II	13	18,3077	6,19657	1,71862
	hasta	38	30,5000	13,35735	2,16685
VKİSD	kontrol II	13	,1446	1,06135	,29437
	hasta	38	6,5168	3,10027	,50293

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	2,335	,133	-3,139	49	,003	-3,3462	1,06585	-5,48806	-1,20425
	Equal variances not assumed			-3,997	35,553	,000	-3,3462	,83719	-5,04479	-1,64752
KOLESTER	Equal variances assumed	,004	,949	-1,820	49	,075	-20,2510	11,12718	-42,61191	2,10989
	Equal variances not assumed			-1,942	23,518	,064	-20,2510	10,42858	-41,79792	1,29590
TRIGLISE	Equal variances assumed	1,074	,305	-3,320	49	,002	-63,2287	19,04270	-101,496	-24,96100
	Equal variances not assumed			-4,215	35,280	,000	-63,2287	15,00262	-93,67704	-32,78045
HDL	Equal variances assumed	,843	,363	1,233	49	,224	4,9595	4,02323	-3,12547	13,04449
	Equal variances not assumed			1,415	27,534	,168	4,9595	3,50530	-2,22625	12,14528
LDL	Equal variances assumed	,158	,693	-1,810	49	,076	-15,2591	8,43099	-32,20182	1,68360
	Equal variances not assumed			-1,812	20,863	,084	-15,2591	8,42203	-32,78067	2,26245
VLDL	Equal variances assumed	3,506	,067	-3,161	49	,003	-12,1923	3,85741	-19,94406	-4,44055
	Equal variances not assumed			-4,408	44,228	,000	-12,1923	2,76566	-17,76532	-6,61929
VKİSD	Equal variances assumed	8,145	,006	-7,225	49	,000	-6,3722	,88191	-8,14449	-4,59996
	Equal variances not assumed			-10,935	48,972	,000	-6,3722	,58274	-7,54331	-5,20114

T-Test I. Kontrol ve II. Kontrol

Group Statistics

GRUP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	kontrol II	13	8,1538	2,15430	,59750
	kontrol I	39	11,4359	3,23464	,51796
KOLESTER	kontrol II	13	161,5385	31,29061	8,67846
	kontrol I	39	145,8718	18,00319	2,88282
TRIGLISE	kontrol II	13	86,6923	38,74572	10,74613
	kontrol I	39	80,3333	24,80379	3,97179
HDL	kontrol II	13	54,5385	9,98845	2,77030
	kontrol I	39	48,8462	10,34291	1,65619
LDL	kontrol II	13	88,8462	26,19747	7,26587
	kontrol I	39	82,0103	14,97028	2,39716
VLDL	kontrol II	13	18,3077	6,19657	1,71862
	kontrol I	39	20,4872	26,79441	4,29054
VKİSD	kontrol II	13	,1446	1,06135	,29437
	kontrol I	39	6,2628	3,12832	,50093

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	3,442	,069	-3,404	50	,001	-3,2821	,96427	-5,21884	-1,34527
	Equal variances not assumed			-4,151	31,241	,000	-3,2821	,79075	-4,89429	-1,66982
KOLESTER	Equal variances assumed	7,812	,007	2,230	50	,030	15,6667	7,02605	1,55444	29,77889
	Equal variances not assumed			1,713	14,738	,108	15,6667	9,14474	-3,85514	35,18847
TRIGLISE	Equal variances assumed	5,322	,025	,690	50	,493	6,3590	9,21464	-12,14918	24,86713
	Equal variances not assumed			,555	15,412	,587	6,3590	11,45663	-18,00357	30,72152
HDL	Equal variances assumed	,000	,995	1,733	50	,089	5,6923	3,28549	-,90680	12,29142
	Equal variances not assumed			1,764	21,253	,092	5,6923	3,22762	-1,01502	12,39964
LDL	Equal variances assumed	9,626	,003	1,166	50	,249	6,8359	5,86198	-4,93823	18,61002
	Equal variances not assumed			,893	14,700	,386	6,8359	7,65110	-9,50111	23,17291
VLDL	Equal variances assumed	,522	,473	-,289	50	,774	-2,1795	7,54372	-17,33150	12,97252
	Equal variances not assumed			-,472	47,315	,639	-2,1795	4,62195	-11,47601	7,11703
VKİSD	Equal variances assumed	5,630	,022	-6,881	50	,000	-6,1182	,88914	-7,90409	-4,33232
	Equal variances not assumed			-10,530	49,924	,000	-6,1182	,58102	-7,28526	-4,95115

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
GRUP * GENOTIP	90	100,0%	0	,0%	90	100,0%
GRUP * ALLELA	90	100,0%	0	,0%	90	100,0%
GRUP * ALLELG	90	100,0%	0	,0%	90	100,0%

GRUP * GENOTIP

Crosstab

			GENOTIP		Total
			GG	GA	
GRUP	hasta	Count	34	4	38
		% within GRUP	89,5%	10,5%	100,0%
	kontrol I	Count	35	4	39
		% within GRUP	89,7%	10,3%	100,0%
	kontrol II	Count	13		13
		% within GRUP	100,0%		100,0%
Total		Count	82	8	90
		% within GRUP	91,1%	8,9%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1,484 ^a	2	,476
Likelihood Ratio	2,626	2	,269
Linear-by-Linear Association	,876	1	,349
N of Valid Cases	90		

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,16.

GRUP * ALLEL A

Crosstab

			ALLELA		Total
			GG	GA+AA	
GRUP	hasta	Count	34	4	38
		% within GRUP	89,5%	10,5%	100,0%
	kontrol I	Count	35	4	39
		% within GRUP	89,7%	10,3%	100,0%
	kontrol II	Count	13		13
		% within GRUP	100,0%		100,0%
Total		Count	82	8	90
		% within GRUP	91,1%	8,9%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1,484 ^a	2	,476
Likelihood Ratio	2,626	2	,269
Linear-by-Linear Association	,876	1	,349
N of Valid Cases	90		

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,16.

GRUP * ALLEL G

Crosstab

			ALLELG	Total
			GA+GG	
GRUP	hasta	Count	38	38
		% within GRUP	100,0%	100,0%
	kontrol I	Count	39	39
		% within GRUP	100,0%	100,0%
	kontrol II	Count	13	13
		% within GRUP	100,0%	100,0%
Total		Count	90	90
		% within GRUP	100,0%	100,0%

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
GRUP * GRUP2	39	43,3%	51	56,7%	90	100,0%

GRUP * GRUP2 Crosstabulation

			GRUP2			Total
			chol	tg	chol+tg	
GRUP	hasta	Count	12	12	13	37
		% within GRUP	32,4%	32,4%	35,1%	100,0%
	kontrol II	Count	2			2
		% within GRUP	100,0%			100,0%
Total		Count	14	12	13	39
		% within GRUP	35,9%	30,8%	33,3%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3,764 ^a	2	,152
Likelihood Ratio	4,294	2	,117
Linear-by-Linear Association	2,819	1	,093
N of Valid Cases	39		

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,62.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
GRUP * ALLELA	90	100,0%	0	,0%	90	100,0%
GRUP * ALLELG	90	100,0%	0	,0%	90	100,0%

GRUP * ALLELA

Crosstab

			ALLELA		Total
			GG	GA+AA	
GRUP	hasta	Count	34	4	38
		% within GRUP	89,5%	10,5%	100,0%
	kontrol I	Count	35	4	39
		% within GRUP	89,7%	10,3%	100,0%
	kontrol II	Count	13		13
		% within GRUP	100,0%		100,0%
Total		Count	82	8	90
		% within GRUP	91,1%	8,9%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1,484 ^a	2	,476
Likelihood Ratio	2,626	2	,269
Linear-by-Linear Association	,876	1	,349
N of Valid Cases	90		

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,16.

GRUP * ALLEL G

Crosstab

		ALLELG		Total
		GA+GG		
GRUP	hasta	Count	38	38
		% within GRUP	100,0%	100,0%
	kontrol I	Count	39	39
		% within GRUP	100,0%	100,0%
	kontrol II	Count	13	13
		% within GRUP	100,0%	100,0%
Total		Count	90	90
		% within GRUP	100,0%	100,0%

T-Test grup 1 – genotip - lipid

Group Statistics

	ALLELA	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	GA+AA	4	14,5000	1,73205	,86603
	GG	35	11,0857	3,19348	,53980
KOLESTER	GA+AA	4	145,2500	16,11159	8,05580
	GG	35	145,9429	18,41985	3,11352
TRIGLISE	GA+AA	4	77,0000	23,02173	11,51086
	GG	35	80,7143	25,28609	4,27413
HDL	GA+AA	4	50,0000	4,16333	2,08167
	GG	35	48,7143	10,85620	1,83503
LDL	GA+AA	4	80,5000	13,91642	6,95821
	GG	35	82,1829	15,26722	2,58063
VLDL	GA+AA	4	15,5000	4,43471	2,21736
	GG	35	21,0571	28,23842	4,77316
VKİSD	GA+AA	4	5,3250	2,65318	1,32659
	GG	35	6,3700	3,19395	,53988

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	2,194	,147	2,086	37	,044	3,4143	1,63657	,09827	6,73030
	Equal variances not assumed			3,346	5,708	,017	3,4143	1,02048	,88595	5,94262
KOLESTER	Equal variances assumed	,547	,464	-,072	37	,943	-,6929	9,62893	-20,20293	18,81722
	Equal variances not assumed			-,080	3,955	,940	-,6929	8,63654	-24,77870	23,39298
TRIGLISE	Equal variances assumed	,524	,474	-,280	37	,781	-3,7143	13,25308	-30,56758	23,13900
	Equal variances not assumed			-,302	3,878	,778	-3,7143	12,27877	-38,23365	30,80508
HDL	Equal variances assumed	2,913	,096	,233	37	,817	1,2857	5,52821	-9,91550	12,48693
	Equal variances not assumed			,463	8,995	,654	1,2857	2,77501	-4,99235	7,56378
LDL	Equal variances assumed	,101	,752	-,210	37	,835	-1,6829	8,00258	-17,89762	14,53190
	Equal variances not assumed			-,227	3,876	,832	-1,6829	7,42134	-22,55132	19,18561
VLDL	Equal variances assumed	,327	,571	-,389	37	,700	-5,5571	14,30274	-34,53725	23,42297
	Equal variances not assumed			-1,056	32,896	,299	-5,5571	5,26306	-16,26620	5,15192
VKİSD	Equal variances assumed	,152	,699	-,628	37	,534	-1,0450	1,66444	-4,41748	2,32748
	Equal variances not assumed			-,730	4,066	,505	-1,0450	1,43224	-4,99614	2,90614

T-Test grup 0 - genotip - lipid

Group Statistics

	ALLELA	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	GA+AA	4	10,7500	2,21736	1,10868
	GG	34	11,5882	3,75877	,64462
KOLESTER	GA+AA	4	196,5000	23,17326	11,58663
	GG	34	180,0588	36,69608	6,29333
TRIGLISE	GA+AA	4	122,2500	69,84924	34,92462
	GG	34	153,1765	64,20539	11,01113
HDL	GA+AA	4	59,7500	13,81726	6,90863
	GG	34	48,3824	12,85116	2,20396
LDL	GA+AA	4	115,0000	22,80351	11,40175
	GG	34	102,8235	26,63499	4,56786
VLDL	GA+AA	4	21,5000	10,90871	5,45436
	GG	34	31,5588	13,35118	2,28971
VKİSD	GA+AA	4	6,0325	1,57169	,78585
	GG	34	6,5738	3,24352	,55626

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	,781	,383	-,434	36	,667	-,8382	1,93213	-4,75678	3,08031
	Equal variances not assumed			-,654	5,316	,541	-,8382	1,28246	-4,07682	2,40035
KOLESTER	Equal variances assumed	,251	,619	,870	36	,390	16,4412	18,90517	-21,90029	54,78264
	Equal variances not assumed			1,247	4,992	,268	16,4412	13,18544	-17,47003	50,35239
TRIGLISE	Equal variances assumed	,418	,522	-,904	36	,372	-30,9265	34,19714	-100,281	38,42855
	Equal variances not assumed			-,845	3,623	,451	-30,9265	36,61931	-136,912	75,05901
HDL	Equal variances assumed	,152	,699	1,663	36	,105	11,3676	6,83706	-2,49856	25,23385
	Equal variances not assumed			1,568	3,638	,199	11,3676	7,25166	-9,58077	32,31606
LDL	Equal variances assumed	,016	,900	,875	36	,388	12,1765	13,92158	-16,05780	40,41074
	Equal variances not assumed			,991	4,031	,377	12,1765	12,28273	-21,82312	46,17606
VLDL	Equal variances assumed	,086	,771	-1,445	36	,157	-10,0588	6,95892	-24,17217	4,05452
	Equal variances not assumed			-1,700	4,139	,162	-10,0588	5,91547	-26,26777	6,15012
VKİSD	Equal variances assumed	2,419	,129	-,326	36	,746	-,5413	1,65894	-3,90581	2,82316
	Equal variances not assumed			-,562	6,609	,593	-,5413	,96280	-2,84560	1,76295

T- Test grup 0

Group Statistics

	ALLELG	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	GA+GG	38	11,5000	3,61491	,58642
	AA	0 ^a	,	,	,
KOLESTER	GA+GG	38	181,7895	35,64704	5,78271
	AA	0 ^a	,	,	,
TRIGLISE	GA+GG	38	149,9211	64,53509	10,46897
	AA	0 ^a	,	,	,
HDL	GA+GG	38	49,5789	13,23924	2,14769
	AA	0 ^a	,	,	,
LDL	GA+GG	38	104,1053	26,25323	4,25884
	AA	0 ^a	,	,	,
VLDL	GA+GG	38	30,5000	13,35735	2,16685
	AA	0 ^a	,	,	,
VKİSD	GA+GG	38	6,5168	3,10027	,50293
	AA	0 ^a	,	,	,

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

T-Test grup 1**Group Statistics**

	ALLELG	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	GA+GG	39	11,4359	3,23464	,51796
	AA	0 ^a			
KOLESTER	GA+GG	39	145,8718	18,00319	2,88282
	AA	0 ^a			
TRIGLISE	GA+GG	39	80,3333	24,80379	3,97179
	AA	0 ^a			
HDL	GA+GG	39	48,8462	10,34291	1,65619
	AA	0 ^a			
LDL	GA+GG	39	82,0103	14,97028	2,39716
	AA	0 ^a			
VLDL	GA+GG	39	20,4872	26,79441	4,29054
	AA	0 ^a			
VKİSD	GA+GG	39	6,2628	3,12832	,50093
	AA	0 ^a			

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

T-Test grup 1**Group Statistics**

	GENOTIP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	GA	4	14,5000	1,73205	,86603
	GG	35	11,0857	3,19348	,53980
KOLESTER	GA	4	145,2500	16,11159	8,05580
	GG	35	145,9429	18,41985	3,11352
TRIGLISE	GA	4	77,0000	23,02173	11,51086
	GG	35	80,7143	25,28609	4,27413
HDL	GA	4	50,0000	4,16333	2,08167
	GG	35	48,7143	10,85620	1,83503
LDL	GA	4	80,5000	13,91642	6,95821
	GG	35	82,1829	15,26722	2,58063
VLDL	GA	4	15,5000	4,43471	2,21736
	GG	35	21,0571	28,23842	4,77316
VKİSD	GA	4	5,3250	2,65318	1,32659
	GG	35	6,3700	3,19395	,53988

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	2,194	,147	2,086	37	,044	3,4143	1,63657	,09827	6,73030
	Equal variances not assumed			3,346	5,708	,017	3,4143	1,02048	,88595	5,94262
KOLESTER	Equal variances assumed	,547	,464	-,072	37	,943	-,6929	9,62893	-20,20293	18,81722
	Equal variances not assumed			-,080	3,955	,940	-,6929	8,63654	-24,77870	23,39298
TRIGLISE	Equal variances assumed	,524	,474	-,280	37	,781	-3,7143	13,25308	-30,56758	23,13900
	Equal variances not assumed			-,302	3,878	,778	-3,7143	12,27877	-38,23365	30,80508
HDL	Equal variances assumed	2,913	,096	,233	37	,817	1,2857	5,52821	-9,91550	12,48693
	Equal variances not assumed			,463	8,995	,654	1,2857	2,77501	-4,99235	7,56378
LDL	Equal variances assumed	,101	,752	-,210	37	,835	-1,6829	8,00258	-17,89762	14,53190
	Equal variances not assumed			-,227	3,876	,832	-1,6829	7,42134	-22,55132	19,18561
VLDL	Equal variances assumed	,327	,571	-,389	37	,700	-5,5571	14,30274	-34,53725	23,42297
	Equal variances not assumed			-,1056	32,896	,299	-5,5571	5,26306	-16,26620	5,15192
VKISD	Equal variances assumed	,152	,699	-,628	37	,534	-1,0450	1,66444	-4,41748	2,32748
	Equal variances not assumed			-,730	4,066	,505	-1,0450	1,43224	-4,99614	2,90614

T-Test grup 0

Group Statistics

	GENOTIP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	GA	4	10,7500	2,21736	1,10868
	GG	34	11,5882	3,75877	,64462
KOLESTER	GA	4	196,5000	23,17326	11,58663
	GG	34	180,0588	36,69608	6,29333
TRIGLISE	GA	4	122,2500	69,84924	34,92462
	GG	34	153,1765	64,20539	11,01113
HDL	GA	4	59,7500	13,81726	6,90863
	GG	34	48,3824	12,85116	2,20396
LDL	GA	4	115,0000	22,80351	11,40175
	GG	34	102,8235	26,63499	4,56786
VLDL	GA	4	21,5000	10,90871	5,45436
	GG	34	31,5588	13,35118	2,28971
VKISD	GA	4	6,0325	1,57169	,78585
	GG	34	6,5738	3,24352	,55626

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	,781	,383	-,434	36	,667	-,8382	1,93213	-4,75678	3,08031
	Equal variances not assumed			-,654	5,316	,541	-,8382	1,28246	-4,07682	2,40035
KOLESTER	Equal variances assumed	,251	,619	,870	36	,390	16,4412	18,90517	-21,90029	54,78264
	Equal variances not assumed			1,247	4,992	,268	16,4412	13,18544	-17,47003	50,35239
TRIGLISE	Equal variances assumed	,418	,522	-,904	36	,372	-30,9265	34,19714	-100,281	38,42855
	Equal variances not assumed			-,845	3,623	,451	-30,9265	36,61931	-136,912	75,05901
HDL	Equal variances assumed	,152	,699	1,663	36	,105	11,3676	6,83706	-2,49856	25,23385
	Equal variances not assumed			1,568	3,638	,199	11,3676	7,25166	-9,58077	32,31606
LDL	Equal variances assumed	,016	,900	,875	36	,388	12,1765	13,92158	-16,05780	40,41074
	Equal variances not assumed			,991	4,031	,377	12,1765	12,28273	-21,82312	46,17606
VLDL	Equal variances assumed	,086	,771	-1,445	36	,157	-10,0588	6,95892	-24,17217	4,05452
	Equal variances not assumed			-1,700	4,139	,162	-10,0588	5,91547	-26,26777	6,15012
VKİSD	Equal variances assumed	2,419	,129	-,326	36	,746	-,5413	1,65894	-3,90581	2,82316
	Equal variances not assumed			-,562	6,609	,593	-,5413	,96280	-2,84560	1,76295

T-Test grup 2

Group Statistics

		GENOTIP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	GA		0 ^a	,	,	,
	GG		13	8,1538	2,15430	,59750
KOLESTER	GA		0 ^a	,	,	,
	GG		13	161,5385	31,29061	8,67846
TRIGLISE	GA		0 ^a	,	,	,
	GG		13	86,6923	38,74572	10,74613
HDL	GA		0 ^a	,	,	,
	GG		13	54,5385	9,98845	2,77030
LDL	GA		0 ^a	,	,	,
	GG		13	88,8462	26,19747	7,26587
VLDL	GA		0 ^a	,	,	,
	GG		13	18,3077	6,19657	1,71862
VKİSD	GA		0 ^a	,	,	,
	GG		13	,1446	1,06135	,29437

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

T-Test grup 2 Allel A**Group Statistics**

	ALLELA	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	GA+AA	0 ^a	,	,	,
	GG	13	8,1538	2,15430	,59750
KOLESTER	GA+AA	0 ^a	,	,	,
	GG	13	161,5385	31,29061	8,67846
TRIGLISE	GA+AA	0 ^a	,	,	,
	GG	13	86,6923	38,74572	10,74613
HDL	GA+AA	0 ^a	,	,	,
	GG	13	54,5385	9,98845	2,77030
LDL	GA+AA	0 ^a	,	,	,
	GG	13	88,8462	26,19747	7,26587
VLDL	GA+AA	0 ^a	,	,	,
	GG	13	18,3077	6,19657	1,71862
VKİSD	GA+AA	0 ^a	,	,	,
	GG	13	,1446	1,06135	,29437

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

T-Test grup 2 Allel G**Group Statistics**

	ALLELG	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
YAŞ	GA+GG	13	8,1538	2,15430	,59750
	AA	0 ^a	,	,	,
KOLESTER	GA+GG	13	161,5385	31,29061	8,67846
	AA	0 ^a	,	,	,
TRIGLISE	GA+GG	13	86,6923	38,74572	10,74613
	AA	0 ^a	,	,	,
HDL	GA+GG	13	54,5385	9,98845	2,77030
	AA	0 ^a	,	,	,
LDL	GA+GG	13	88,8462	26,19747	7,26587
	AA	0 ^a	,	,	,
VLDL	GA+GG	13	18,3077	6,19657	1,71862
	AA	0 ^a	,	,	,
VKİSD	GA+GG	13	,1446	1,06135	,29437
	AA	0 ^a	,	,	,

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

Descriptives tüm grup

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
YAŞ	90	2,00	20,00	10,9889	3,44946
KOLESTER	90	53,00	245,00	163,3000	32,83580
TRIGLISE	90	26,00	385,00	110,6333	57,80643
HDL	90	24,00	80,00	49,9778	11,64742
LDL	90	49,00	170,00	92,3267	24,13295
VLDL	90	4,00	178,00	24,4000	20,34467
VKİSD	90	-1,15	17,59	5,4863	3,63479
Valid N (listwise)	90				

Frequencies hasta

Statistics

CINSIYET

N	Valid	38
	Missing	0

CINSIYET

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid kadın	26	68,4	68,4	68,4
erkek	12	31,6	31,6	100,0
Total	38	100,0	100,0	

Frequencies

Statistics

CINSIYET

N	Valid	39
	Missing	0

CINSIYET

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid kadın	24	61,5	61,5	61,5
erkek	15	38,5	38,5	100,0
Total	39	100,0	100,0	

Frequencies kontrol 2

Statistics

CINSIYET

N	Valid	13
	Missing	0

CINSIYET

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	kadın	5	38,5	38,5	38,5
	erkek	8	61,5	61,5	100,0
	Total	13	100,0	100,0	

T-Test hasta ve kontrol1 GA taşıyanlarda lipid

Group Statistics

GRUP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol I	4	145,2500	16,11159	8,05580
	hasta	4	196,5000	23,17326	11,58663
TRIGLISE	kontrol I	4	77,0000	23,02173	11,51086
	hasta	4	122,2500	69,84924	34,92462
HDL	kontrol I	4	50,0000	4,16333	2,08167
	hasta	4	59,7500	13,81726	6,90863
LDL	kontrol I	4	80,5000	13,91642	6,95821
	hasta	4	115,0000	22,80351	11,40175
VLDL	kontrol I	4	15,5000	4,43471	2,21736
	hasta	4	21,5000	10,90871	5,45436
VKİSD	kontrol I	4	5,3250	2,65318	1,32659
	hasta	4	6,0325	1,57169	,78585

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	2,502	,165	-3,632	6	,011	-51,2500	14,11190	-85,78059	-16,71941
	Equal variances not assumed			-3,632	5,351	,013	-51,2500	14,11190	-86,82163	-15,67837
TRIGLISE	Equal variances assumed	18,773	,005	-1,231	6	,265	-45,2500	36,77267	-135,229	44,72948
	Equal variances not assumed			-1,231	3,644	,292	-45,2500	36,77267	-151,402	60,90155
HDL	Equal variances assumed	25,171	,002	-1,351	6	,225	-9,7500	7,21543	-27,40553	7,90553
	Equal variances not assumed			-1,351	3,540	,256	-9,7500	7,21543	-30,85209	11,35209
LDL	Equal variances assumed	4,860	,070	-2,583	6	,042	-34,5000	13,35727	-67,18406	-1,81594
	Equal variances not assumed			-2,583	4,962	,050	-34,5000	13,35727	-68,91433	-,08567
VLDL	Equal variances assumed	3,846	,098	-1,019	6	,347	-6,0000	5,88784	-20,40703	8,40703
	Equal variances not assumed			-1,019	3,965	,366	-6,0000	5,88784	-22,40395	10,40395
VKİSD	Equal variances assumed	,814	,402	-,459	6	,662	-,7075	1,54188	-4,48035	3,06535
	Equal variances not assumed			-,459	4,875	,666	-,7075	1,54188	-4,70189	3,28689

T-Test Hasta ve I. Kontrol GG taşıyanlarda lipid

Group Statistics

	GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol I	35	145,9429	18,41985	3,11352
	hasta	34	180,0588	36,69608	6,29333
TRIGLISE	kontrol I	35	80,7143	25,28609	4,27413
	hasta	34	153,1765	64,20539	11,01113
HDL	kontrol I	35	48,7143	10,85620	1,83503
	hasta	34	48,3824	12,85116	2,20396
LDL	kontrol I	35	82,1829	15,26722	2,58063
	hasta	34	102,8235	26,63499	4,56786
VLDL	kontrol I	35	21,0571	28,23842	4,77316
	hasta	34	31,5588	13,35118	2,28971
VKİSD	kontrol I	35	6,3700	3,19395	,53988
	hasta	34	6,5738	3,24352	,55626

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
KOLESTER	Equal variances assumed	4,752	,033	-4,902	67	,000	-34,1160	6,95995	-48,00808	-20,22385
	Equal variances not assumed			-4,859	48,322	,000	-34,1160	7,02139	-48,23100	-20,00093
TRIGLISE	Equal variances assumed	8,236	,005	-6,201	67	,000	-72,4622	11,68515	-95,78584	-49,13853
	Equal variances not assumed			-6,135	42,751	,000	-72,4622	11,81157	-96,28649	-48,63787
HDL	Equal variances assumed	,959	,331	,116	67	,908	,3319	2,86084	-5,37834	6,04220
	Equal variances not assumed			,116	64,519	,908	,3319	2,86789	-5,39644	6,06031
LDL	Equal variances assumed	4,799	,032	-3,964	67	,000	-20,6407	5,20757	-31,03502	-10,24632
	Equal variances not assumed			-3,934	52,260	,000	-20,6407	5,24643	-31,16716	-10,11419
VLDL	Equal variances assumed	,063	,803	-1,965	67	,054	-10,5017	5,34359	-21,16753	,16416
	Equal variances not assumed			-1,984	48,787	,053	-10,5017	5,29395	-21,14144	,13808
VKİSD	Equal variances assumed	,297	,587	-,263	67	,793	-,2038	,77499	-1,75072	1,34307
	Equal variances not assumed			-,263	66,866	,793	-,2038	,77517	-1,75113	1,34348

T-Test II. Kontrol ve Hasta GA taşıyanlarda lipid

Group Statistics

	GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol II	0 ^a	,	,	,
	hasta	4	196,5000	23,17326	11,58663
TRIGLISE	kontrol II	0 ^a	,	,	,
	hasta	4	122,2500	69,84924	34,92462
HDL	kontrol II	0 ^a	,	,	,
	hasta	4	59,7500	13,81726	6,90863
LDL	kontrol II	0 ^a	,	,	,
	hasta	4	115,0000	22,80351	11,40175
VLDL	kontrol II	0 ^a	,	,	,
	hasta	4	21,5000	10,90871	5,45436
VKİSD	kontrol II	0 ^a	,	,	,
	hasta	4	6,0325	1,57169	,78585

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

T-Test II. Kontrol ve Hasta GG taşıyanlarda lipid

Group Statistics

GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER kontrol II	13	161,5385	31,29061	8,67846
hasta	34	180,0588	36,69608	6,29333
TRIGLISE kontrol II	13	86,6923	38,74572	10,74613
hasta	34	153,1765	64,20539	11,01113
HDL kontrol II	13	54,5385	9,98845	2,77030
hasta	34	48,3824	12,85116	2,20396
LDL kontrol II	13	88,8462	26,19747	7,26587
hasta	34	102,8235	26,63499	4,56786
VLDL kontrol II	13	18,3077	6,19657	1,71862
hasta	34	31,5588	13,35118	2,28971
VKİSD kontrol II	13	,1446	1,06135	,29437
hasta	34	6,5738	3,24352	,5626

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	,004	,950	-1,607	45	,115	-18,5204	11,52258	-41,72804	4,68731
	Equal variances not assumed			-1,728	25,386	,096	-18,5204	10,72015	-40,58189	3,54116
TRIGLISE	Equal variances assumed	,862	,358	-3,485	45	,001	-66,4842	19,07940	-104,912	-28,05627
	Equal variances not assumed			-4,321	35,997	,000	-66,4842	15,38585	-97,68820	-35,28012
HDL	Equal variances assumed	,935	,339	1,553	45	,127	6,1561	3,96326	-1,82631	14,13853
	Equal variances not assumed			1,739	27,929	,093	6,1561	3,54005	-1,09619	13,40841
LDL	Equal variances assumed	,109	,743	-1,616	45	,113	-13,9774	8,64759	-31,39452	3,43977
	Equal variances not assumed			-1,629	22,104	,118	-13,9774	8,58244	-31,77139	3,81664
VLDL	Equal variances assumed	3,490	,068	-3,423	45	,001	-13,2511	3,87154	-21,04882	-5,45344
	Equal variances not assumed			-4,629	43,067	,000	-13,2511	2,86294	-19,02454	-7,47773
VKİSD	Equal variances assumed	9,707	,003	-6,964	45	,000	-6,4292	,92321	-8,28864	-4,56977
	Equal variances not assumed			-10,216	44,478	,000	-6,4292	,62934	-7,69718	-5,16123

T-Test I. Kontrol ve II. Kontrol GA taşıyanlarda lipid

Group Statistics

GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER kontrol I	4	145,2500	16,11159	8,05580
kontrol II	0 ^a	,	,	,
TRIGLISE kontrol I	4	77,0000	23,02173	11,51086
kontrol II	0 ^a	,	,	,
HDL kontrol I	4	50,0000	4,16333	2,08167
kontrol II	0 ^a	,	,	,
LDL kontrol I	4	80,5000	13,91642	6,95821
kontrol II	0 ^a	,	,	,
VLDL kontrol I	4	15,5000	4,43471	2,21736
kontrol II	0 ^a	,	,	,
VKİSD kontrol I	4	5,3250	2,65318	1,32659
kontrol II	0 ^a	,	,	,

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

T-Test I. Kontrol ve II. Kontrol GG taşıyanlarda lipid

Group Statistics

	GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	kontrol I	35	145,9429	18,41985	3,11352
	kontrol II	13	161,5385	31,29061	8,67846
TRIGLISE	kontrol I	35	80,7143	25,28609	4,27413
	kontrol II	13	86,6923	38,74572	10,74613
HDL	kontrol I	35	48,7143	10,85620	1,83503
	kontrol II	13	54,5385	9,98845	2,77030
LDL	kontrol I	35	82,1829	15,26722	2,58063
	kontrol II	13	88,8462	26,19747	7,26587
VLDL	kontrol I	35	21,0571	28,23842	4,77316
	kontrol II	13	18,3077	6,19657	1,71862
VKİSD	kontrol I	35	6,3700	3,19395	,53988
	kontrol II	13	,1446	1,06135	,29437

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	6,702	,013	-2,134	46	,038	-15,5956	7,30761	-30,30506	-,88615
	Equal variances not assumed			-1,691	15,199	,111	-15,5956	9,22007	-35,22532	4,03411
TRIGLISE	Equal variances assumed	4,622	,037	-,626	46	,534	-5,9780	9,54830	-25,19775	13,24170
	Equal variances not assumed			-,517	15,956	,612	-5,9780	11,56492	-30,50006	18,54401
HDL	Equal variances assumed	,079	,779	-1,686	46	,099	-5,8242	3,45478	-12,77828	1,12993
	Equal variances not assumed			-1,753	23,260	,093	-5,8242	3,32294	-12,69394	1,04559
LDL	Equal variances assumed	8,411	,006	-1,095	46	,279	-6,6633	6,08788	-18,91756	5,59096
	Equal variances not assumed			-,864	15,133	,401	-6,6633	7,71055	-23,08532	9,75873
VLDL	Equal variances assumed	,662	,420	,346	46	,731	2,7495	7,95198	-13,25706	18,75596
	Equal variances not assumed			,542	41,415	,591	2,7495	5,07314	-7,49285	12,99175
VKİSD	Equal variances assumed	5,361	,025	6,848	46	,000	6,2254	,90909	4,39549	8,05528
	Equal variances not assumed			10,124	45,761	,000	6,2254	,61491	4,98746	7,46331

T-Test Hasta ve I. Kontrol

Group Statistics

	GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TOTHDL	hasta	38	3,9619	1,14274	,18538
	kontrol I	39	3,0908	,63234	,10126

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
TOTHDL	Equal variances assumed	5,178	,026	4,153	75	,000	,8711	,20976	,45324	1,28896
	Equal variances not assumed			4,124	57,397	,000	,8711	,21123	,44819	1,29401

T-Test Hasta ve II. Kontrol**Group Statistics**

	GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TOTHDL	hasta	38	3,9619	1,14274	,18538
	kontrol II	13	2,9948	,48663	,13497

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
TOTHDL	Equal variances assumed	3,653	,062	2,946	49	,005	,9671	,32831	,30732	1,62684	
	Equal variances not assumed			4,217	46,412	,000	,9671	,22931	,50562	1,42854	

T-Test I. Kontrol ve II. Kontrol**Group Statistics**

	GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TOTHDL	kontrol I	39	3,0908	,63234	,10126
	kontrol II	13	2,9948	,48663	,13497

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
TOTHDL	Equal variances assumed	,765	,386	,499	50	,620	,0960	,19235	-,29036	,48232	
	Equal variances not assumed			,569	26,644	,574	,0960	,16873	-,25043	,44240	

Descriptives**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
TOTHDL	90	1,68	7,66	3,4447	,97170
Valid N (listwise)	90				

T-Test Hasta

Group Statistics

	GENOTIP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	GG	34	183,8235	29,03130	4,97883
	GA	4	196,5000	23,17326	11,58663
TRIGLISE	GG	34	153,1765	64,20539	11,01113
	GA	4	122,2500	69,84924	34,92462
HDL	GG	34	48,3824	12,85116	2,20396
	GA	4	59,7500	13,81726	6,90863
LDL	GG	34	102,8235	26,63499	4,56786
	GA	4	115,0000	22,80351	11,40175
VLDL	GG	34	31,5588	13,35118	2,28971
	GA	4	21,5000	10,90871	5,45436
VKISD	GG	34	6,5738	3,24352	,55626
	GA	4	6,0325	1,57169	,78585
TOTHDL	GG	34	4,0251	1,16434	,19968
	GA	4	3,4246	,87347	,43674

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	,063	,803	-,839	36	,407	-12,6765	15,11199	-43,32500	17,97206
	Equal variances not assumed			-1,005	4,197	,369	-12,6765	12,61106	-47,05119	21,69824
TRIGLISE	Equal variances assumed	,418	,522	,904	36	,372	30,9265	34,19714	-38,42855	100,28149
	Equal variances not assumed			,845	3,623	,451	30,9265	36,61931	-75,05901	136,91196
HDL	Equal variances assumed	,152	,699	-1,663	36	,105	-11,3676	6,83706	-25,23385	2,49856
	Equal variances not assumed			-1,568	3,638	,199	-11,3676	7,25166	-32,31606	9,58077
LDL	Equal variances assumed	,016	,900	-,875	36	,388	-12,1765	13,92158	-40,41074	16,05780
	Equal variances not assumed			-,991	4,031	,377	-12,1765	12,28273	-46,17606	21,82312
VLDL	Equal variances assumed	,086	,771	1,445	36	,157	10,0588	6,95892	-4,05452	24,17217
	Equal variances not assumed			1,700	4,139	,162	10,0588	5,91547	-6,15012	26,26777
VKISD	Equal variances assumed	2,419	,129	,326	36	,746	,5413	1,65894	-2,82316	3,90581
	Equal variances not assumed			,562	6,609	,593	,5413	,96280	-1,76295	2,84560
TOTHDL	Equal variances assumed	,120	,731	,994	36	,327	,6005	,60415	-,62480	1,82573
	Equal variances not assumed			1,250	4,368	,274	,6005	,48022	-,68968	1,89062

T-Test I. Kontrol

Group Statistics

	GENOTIP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOLESTER	GG	35	145,9429	18,41985	3,11352
	GA	4	145,2500	16,11159	8,05580
TRIGLISE	GG	35	80,7143	25,28609	4,27413
	GA	4	77,0000	23,02173	11,51086
HDL	GG	35	48,7143	10,85620	1,83503
	GA	4	50,0000	4,16333	2,08167
LDL	GG	35	82,1829	15,26722	2,58063
	GA	4	80,5000	13,91642	6,95821
VLDL	GG	35	21,0571	28,23842	4,77316
	GA	4	15,5000	4,43471	2,21736
VKISD	GG	35	6,3700	3,19395	,53988
	GA	4	5,3250	2,65318	1,32659
TOTHDL	GG	35	3,1119	,66203	,11190
	GA	4	2,9058	,21611	,10805

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	,547	,464	,072	37	,943	,6929	9,62893	-18,81722	20,20293
	Equal variances not assumed			,080	3,955	,940	,6929	8,63654	-23,39298	24,77870
TRIGLISE	Equal variances assumed	,524	,474	,280	37	,781	3,7143	13,25308	-23,13900	30,56758
	Equal variances not assumed			,302	3,878	,778	3,7143	12,27877	-30,80508	38,23365
HDL	Equal variances assumed	2,913	,096	-,233	37	,817	-1,2857	5,52821	-12,48693	9,91550
	Equal variances not assumed			-,463	8,995	,654	-1,2857	2,77501	-7,56378	4,99235
LDL	Equal variances assumed	,101	,752	,210	37	,835	1,6829	8,00258	-14,53190	17,89762
	Equal variances not assumed			,227	3,876	,832	1,6829	7,42134	-19,18561	22,55132
VLDL	Equal variances assumed	,327	,571	,389	37	,700	5,5571	14,30274	-23,42297	34,53725
	Equal variances not assumed			1,056	32,896	,299	5,5571	5,26306	-5,15192	16,26620
VKISD	Equal variances assumed	,152	,699	,628	37	,534	1,0450	1,66444	-2,32748	4,41748
	Equal variances not assumed			,730	4,066	,505	1,0450	1,43224	-2,90614	4,99614
TOTHDL	Equal variances assumed	2,839	,100	,613	37	,544	,2061	,33653	-,47573	,88800
	Equal variances not assumed			1,325	11,699	,210	,2061	,15556	-,13377	,54604

FORMLAR**HASTA TAKİP FORMU**
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI**Protokol:****Tarih:****Hasta no:****OBEZİTE HASTALARI İÇİN ÇALIŞMA PROTOKOLÜ**
OBEZİTE 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:

VKİ > 85 persantil

Lipidler: Trigliserid: < 95.P

Kolesterol: < 95.p

HDL-kolesterol: > 5.P

LDL- kolesterol: < 95.P

Benzer yaş ve cinstе eşleşmiş; tanıları eşleşmiş

Sağlıklı – kontrol grubu:

VKİ: 5-85 persantil arası

Benzer yaş ve cinstе 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 : 2471

Tarih : 23/10/2007

Konu : Prof.Dr.Turgay İSBİR hk,

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

İlgi : Rektörlüğün, 03.07.2007 tarihli, 30516 sayılı yazısı,

Sorumlu araştırmacılığını Üniversitemiz Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Turgay İSBİR'in üstlendiği ve Tıpta Uzmanlık Öğrencisi Bio.Özlem TİMİRCİ'nin yürüteceği 2007/1717 dosya no'lu "Hiperlipidemi olan obez çocuklarda denatüre gradient jel elektroforez yöntemi ile apo B-100 EcoRI polimorfizmi ile LDL alt gruplarının araştırılması" başlıklı tez çalışması Araştırma Fonundan desteklenmek şartı ile kurulumuzun 12.09.2007 tarihli, 08 sayılı toplantısında onaylanmış olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Rektörlük Kanalı ile 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 Tıpta Uzmanlık Öğrencisi Bio.Özlem TIMIRCI'nin yürüteceği 2007/1717 protokol numaralı "Hiperlipidemi olan obez çocuklarda denatüre gradient jel elektroforez yöntemi ile apo B-100 EcoRI polimorfizmi ile LDL 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 PEMBEÇİ (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 TÜRKOĞLU

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	ÖZLEM	Soyadı	TİMİRCİ
Doğ.Yeri	İSTANBUL	Doğ.Tar.	30.10.1983
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	21715115148
Email	ozlemtim@gmail.com	Tel	0505 903 63 00

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İST. TIP FAK. SAĞ. BİL. ENST. MOLEKÜLER TIP AD	2008
Lisans	İ.Ü FEN FAKÜLTESİ BİYOLOJİ BÖLÜMÜ	2005
Lise	KURTULUŞ SÜPER LİSESİ	2001

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Uzman	İ.Ü. DETAE MOLEKÜLER TIP AD	2006.-...
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi	65 (ÜDS)	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	59,163	58,130	57,097
ALES Puanı	77,501	76,674	75,265

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi
SPSS	İyi

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri**Poster Sunumları:**

Nilüfer Bozkurt, Bülent Yigit, **Özlem Timirci**, Canan Cacına, Melih Kara, İbrahim Berber, İzzet Titiz, Turgay İsbir. Relationship between Sirolimus and Tacrolimus usage and MDR C3435T polymorphism on Graft Rejection in Renal Transplant Patients. 2. Congress of Molecular Medicine. 24-26 March 2007, Istanbul

Uluslararası Yayınlar:

1. H.Arzu Ergen, Fehmi Narter, **Özlem Timirci** And Turgay İsbir. Effects Of Manganase Superoxide Dismutase Ala-9val Polymorphism On Prostate Cancer: A Case-Control Study. *Anticancer Research* 27: 1227-1230, 2007
2. Atike Tekeli, Selim İsbir, Arzu Ergen, Uzay Görmüş, Nilüfer Bozkurt, **Özlem Timirci**, Sinan Arsan ve Turgay İsbir. APE1 and XRCC3 polymorphism and Myocardial Infarction. *In vivo* 22: (2008)

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Fotoğrafçılık