

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**OBEZ ÇOCUKLARDA PLAZMA MİR-103 VE MİR-107  
SEVİYELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TUBA TUZLUKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. F. HÜMEYRA YERLİKAYA AYDEMİR

“Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 151318002 proje numarası ile desteklenmiştir.”

KONYA 2016

## BEYANAT

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

Tarih:

Öğrenci: **Tuba TUZLUKAYA**

İmza:

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Tuba TUZLUKAYA'nın " Obez çocuklarda plazma miR-103 ve miR-107 seviyelerinin araştırılması" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

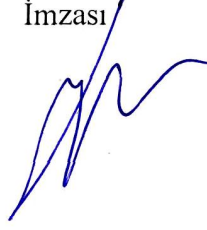
Konya / 26 Mayıs 2016

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Fatma Hümeysra YERLİKAYA AYDEMİR

Necmettin Erbakan Üniversitesi

İmzası



Jüri Üyesi

Prof.Dr. Mehmet GÜRBİLEK

N.E. Ü. Meram Tıp Fakültesi

Biyokimya ABD

İmzası



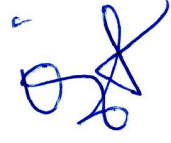
Jüri Üyesi

Doç. Dr. Bahadır ÖZTÜRK

Selçuk Ü. Tıp Fakültesi

Biyokimya ABD

İmzası



Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 05.05/2016 tarih ve 10../.06.. sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

## APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled "Investigation of plasma miR-103 and miR-107 levels in obese children by "TUBA TUZLUKAYA" that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of Master of Science in the Department of "Medical Biochemistry" Institute of Health Sciences University of Necmettin Erbakan.

Konya, Türkiye / 26 May 2016

Principal Advisor

Doç. Dr. Fatma Hümeysra YERLİKAYA AYDEMİR

Necmettin Erbakan Üniversitesi



Examination Committee Member

Prof. Dr. Mehmet GÜRBİLEK

N.E. Ü. Meram Tıp Fakültesi

Biyokimya ABD

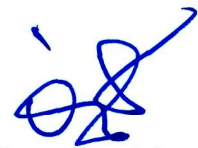


Examination Committee Member

Doç. Dr. Bahadır ÖZTÜRK

Selçuk Ü. Tıp Fakültesi

Biyokimya ABD



This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.



Prof. Dr. Kismet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Institute of Health Science

26 May 2016

## TEŞEKKÜR

Tez konusu seçiminde ve tezimin hazırlanmasında bilgi ve tecrübeleri ile bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. F. Hümeıra YERLİKAYA AYDEMİR'e, eğitime katkıda bulunan tüm hocalarıma, numune toplanması ve hazırlığı süresince desteklerini gördüğüm Dr. Ümmüğülsüm CAN, Dr. Muammer BÜYÜKİNAN'a ve yüksek lisans eğitimim süresi boyunca her zaman yanımda olan maddi manevi desteklerini esirgemeyen, sevgili aileme, en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

**Tuba TUZLUKAYA**

**KONYA-2016**



## İÇİNDEKİLER

<i>İç Kapak</i> .....	<i>i</i>
<i>Beyanat</i> .....	<i>i</i>
<i>Tez Onay Sayfası</i> .....	<i>ii</i>
<i>Teşekkür</i> .....	<i>iv</i>
<i>İçindekiler</i> .....	<i>v</i>
<i>Kısaltmalar</i> .....	<i>vii</i>
<i>Şekiller Listesi</i> .....	<i>ix</i>
<i>Tablolar Listesi</i> .....	<i>x</i>
<i>Özet</i> .....	<i>xi</i>
<i>Summary</i> .....	<i>xii</i>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. <i>Çocukluk Çağı Obezitesi Tanımı</i> .....	3
2.2. <i>Çocukluk Çağı Obezitesi Epidemiyolojisi</i> .....	3
2.3. <i>Obeziteyi Etkileyen Risk Faktörleri</i> .....	5
2.3.1. <i>Yaş</i> .....	5
2.3.2. <i>Cinsiyet</i> .....	5
2.3.3. <i>Ailenin Sosyo-Ekonomik Durumu</i> .....	5
2.3.4. <i>Anne-Baba Eğitim Düzeyi</i> .....	6
2.3.5. <i>Doğum Kilosu</i> .....	6
2.3.6. <i>Genetik Faktörler</i> .....	6
2.3.7. <i>Beslenme</i> .....	7
2.3.8. <i>Fiziksel Aktivite</i> .....	7
2.3.9. <i>Psikolojik Faktörler</i> .....	8
2.4. <i>Obezitenin Tanısı</i> .....	8
2.5. <i>Obezite ve İnsülin Direnci</i> .....	10
2.6. <i>MikroRNA</i> .....	11
2.6.1. <i>MikroRNA'ların Sentezi</i> .....	12

2.6.2. MikroRNA'ların Fonksiyonu .....	14
2.7. MikroRNA'ların Obezite ve Diyabetteki Rolü.....	14
2.8. Adipoz Doku ve MikroRNA.....	15
2.9. Lipid ve Enerji Metabolizmasında miR-103 ve miR-107'nin Rolü.....	16
2.10. miR-103 ve miR-107'nin İnsülin Duyarlılığı Üzerine Etkisi .....	19
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>22</b>
3.1. Gereç .....	22
3.1.1. Vakaların Oluşturulması .....	22
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Deney Ekipmanları .....	23
3.2. Yöntem .....	24
3.2.1. Universal cDNA Sentez Kiti.....	24
3.2.1.1. cDNA Yapımı İçin Mix Protokolü .....	24
3.2.1.2. cDNA Yapımı İçin Isı Protokolü .....	25
3.2.1.3. Real Time PCR Mix Protokolü(Housekeeping gen/ Referans gen) .....	25
3.2.1.4. Real Time PCR Mix Protokolü (Target gen/Hedef gen) .....	25
3.2.1.5. Real Time PCR Isı Protokolü.....	26
3.2.4. İstatistiksel Analiz .....	27
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>28</b>
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>31</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>36</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>45</b>

## *Kısaltmalar*

<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>A-FABP</b>	: Adipocyte Fatty Acid-Binding Protein
<b>Ago2</b>	: Argonaute2
<b>BMI</b>	: Body Mass İndex
<b>Cav-1</b>	: Caveolin-1
<b>cDNA</b>	: Komplementer DNA
<b>coA</b>	: Koenzim A
<b>DGCR8</b>	: DiGeorge Sendromu Critical Region 8
<b>DIO</b>	: Diyete Bağlı Obez
<b>DNA</b>	: Deoksiribo nükleik asit
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
<b>EST</b>	: Expressed Sequence Tag
<b>HDL</b>	: Yüksek dansiteli lipoprotein
<b>HOMA-IR</b>	: Homeostatic Model Assesment-İnsülin Rezistansı
<b>LDL</b>	: Düşük dansiteli lipoprotein
<b>LNA</b>	: Locked Nucleic Acid
<b>mRNA</b>	: mesajcı RNA
<b>miRNA</b>	: mikroRNA
<b>NHANES</b>	: National Healthand Nutrition Examination Survey (Amerikan Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırma Çalışması)
<b>OGTT</b>	: Oral glukoz tolerans testi
<b>ORF</b>	: Open reading frame
<b>PANK</b>	: Pantotenat Kinaz



**PCR** : Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

**PPAR-gamma**: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma

**Pre-miRNA** : Prekürsor mikroRNA

**Pri-miRNA** : Primer mikroRNA

**RISC** : RNA-İnduced Silencing Complex

**RNA** : Ribonükleik asit

**RNAaz** : RNA polimeraz

**RNAz** : Ribonükleaz

**ROS** : Reactive Qxygen Species

**SDS** : Standart deviasyon skoru

**TG** : Trigliserit

**USG** : Ultrasonografi

## *Şekiller Listesi*

Şekil 1: Caenorhabditid Elegans'ın Mikroskopik Görüntüsü .....	11
Şekil 2: MikroRNA Sentez Basamakları .....	12
Şekil 3: MikroRNA:MikroRNA Dublex Oluşumu.....	13
Şekil 4: Hasta ve Kontrollere Ait Amplifikasyon Eğrileri.....	27
Şekil 5: Obez ve Kontrol Grubuna Ait miRNA Ekspresyon Seviyeleri.....	29



## *Tablolar Listesi*

Tablo 3.1: cDNA Yapımı İçin Mix Protokolü .....	24
Tablo 3.2: Pcr Primer Mix Protokol .....	25
Tablo 3.3: Real Time PCR Mix Protokolü.....	26
Tablo 3.4: Real Time PCR Isı Protokolü .....	26
Tablo 4.1: Obez ve kontrol grubunun demografik özellikleri.....	28
Tablo 4.2: Obez ve Kontrol Grubuna Ait Bazı Biyokimya Parametrelerinin Seviyeleri ve HOMA-IR Değerleri .....	29
Tablo 4.3: Obez ve Kontrol Grubuna Ait miRNA Değerleri.....	29
Tablo 4.4: Obez Grubuna Ait mikroRNA 103 Değerleri ile Obezite ve İnsülin Direncinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Parametreler Arasındaki Korelasyonlar .....	30
Tablo 4.5: Obez Grubuna Ait mikroRNA 107 Değerleri ile Obezite ve İnsülin Direncinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Parametreler Arasındaki Korelasyonlar .....	30

# ÖZET

TC

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Obez Çocuklarda Plazma miR-103 VE miR-107 Seviyelerinin Araştırılması

Tuba TUZLUKAYA

Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2016

Obezite hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde prevalansı artan, erişkinleri olduğu kadar, giderek çocukları da etkileyen kronik bir hastalıktır. Çocukluk çağı obezitesindeki bu artışa paralel olarak tip 2 diyabet, metabolik sendrom, hipertansiyon gibi daha çok erişkinlerde görülen kronik hastalıklar, çocukluk çağında da önemli bir sorun haline gelmektedir. mikroRNA'lar kendi nükleotid dizilerinin tamamlayıcısı olan hedef mRNA'lara bağlanıp translasyonel baskılama veya mRNA yıkımı ile transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunun düzenlenmesini gerçekleştirirler. mikroRNA'lar bu yolağı kullanarak hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve hücre ölümü gibi homeostatik süreçlerde önemli roller oynamaktadırlar. Bu çalışmada obez çocuklar ile sağlıklı normal kilolu çocuklar kıyaslandığında insülin direnci ile ilişkili bulunan plazma miR-103 ve miR-107 seviyelerinin nasıl değiştiğinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Çalışma 5-17 yaşları arasında 40 (erkek: 18, kadın: 22) obez çocuk ile 5-17 yaşları arasında 40 (erkek: 20, kadın: 20) sağlıklı normal kilolu çocuklar üzerinde gerçekleştirildi. Obez çocuklarda 85-95. persentil arasında olanlar fazla kilolu,  $\geq 95$ . persentil olanlar obez olarak kabul edildi. Kontrol vakaları klinik hiçbir şikayeti ve bulgusu olmayan gönüllü sağlıklı normal kilolu çocuklar arasından seçildi ve VKİ persentili  $\leq 85$ . persentil olanlar çalışmaya alındı. Plazma miRNA 103 ve miRNA 107 ekspresyonu Real Time-PCR yöntemiyle analiz edildi.

Obez grubuna ait miRNA 103 ve miRNA 107 değerleri kontrol grubuna göre önemli derecede ( $p < 0.001$ ) yüksek bulundu. Obez çocuklarda, miRNA 103 ile BMI ( $p < 0.001$ ), BMI-p ( $p < 0.01$ ), insulin ( $p < 0.01$ ) ve HOMA-IR ( $p < 0.01$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif korelasyon bulundu. İlave olarak, obez çocuklarda miRNA 107 ile BMI ( $p < 0.01$ ), insulin ( $p < 0.05$ ) ve HOMA-IR ( $p < 0.05$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif korelasyon bulundu. Kontrol grubuna ait miRNA 103 ve miRNA 107 değerleri ile obezite ve insülin direncinin değerlendirilmesinde kullanılan parametreler arasında da önemli bir korelasyon bulunamadı.

Bulgularımız ışığında obez çocuklarda plazma miR-103/107 düzeylerinin arttığını ve bu mikroRNA'ların insülin ve insülin direncinin değerlendirilmesinde kullanılan parametre HOMA-IR ile pozitif korelasyon gösterdiğini söyleyebiliriz. Bu bağlamda, diğer mikroRNA'lar ile birlikte miR-103/107 sistemi, insülin direnci için tedavi yaklaşımına bir yol sunabilir ve ister normal fizyolojide olsun, ister insan hastalığında olsun, metabolik homeostazisin anlaşılması için heyecan verici bir ilerlemeye ışık tutabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Obezite, miR-103, miR-107, diyabet, insülin direnci.

## SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY

NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

The investigation of plasma miR-103 and miR-107 levels in obese children

Tuba TUZLUKAYA

Department of Biochemistry

MASTER THESIS / KONYA-2016

Obesity is a chronic disease whose prevalence increased both in developed countries and developing countries and that increasingly influences children as much as adults. In parallel with this increase in childhood obesity, chronic diseases such as type-2 diabetes, metabolic syndrome, hypertension etc that are found in adults have become an important issue in childhood as well. microRNAs regulate gene expression after post-transcription with mRNA destruction or translational suppression connected to target mRNAs that are the complementary of its nucleotide sequence. By using this path, the miRNAs play important roles in homeostatic processes such as cell proliferation, cell differentiation and cell death. In this study, it is aimed to research how plasma miR-103 and miR-107 levels related to insulin resistance changed when comparing obese children to healthy normal-weight children.

Study was made on 40 (male:18, female:22) obese children aged 5-17 and with 40 (male:20, female:20) healthy normal weight children aged 5-17. It is accepted as obese for obese children between the 85<sup>th</sup> and 95<sup>th</sup> percentile and  $\geq 95$  percentile for overweight children. Control cases was selected among the voluntary healthy normal weight children who has no clinical complaint and finding and those having  $\leq 85$  percentile BMI were accepted for study. Plasma miRNA 103 and miRNA 107 expressions was analysed by the means of Real Time –PCR method.

miRNA 103 and miRNA 107 values pertaining to obese group was significantly found higher ( $p < 0.001$ ) than control group. It was found statistically significant level of positive correlation in obese children between miRNA 103 and BMI ( $p < 0.001$ ) and BMI-p ( $p < 0.01$ ), insulin ( $p < 0.01$ ) and HOMA-IR ( $p < 0.01$ ). In addition, it was found statistically significant level of positive correlation in obese children between RNA 107 and BMI ( $p < 0.01$ ), and insulin ( $p < 0.05$ ) ve HOMA-IR ( $p < 0.05$ ). Any significant correlation could not be found between miRNA 103 and miRNA 107 values pertaining to control group and parameters used to evaluate insulin resistance.

In the light of our findings, we can say that it increases plasma miR-103/107 level in obese children and these microRNAs showed positive correlation with parameter HOMA-IR used to evaluate insulin and insulin resistance. In this context, miR-103/107 system together with other miRNAs may offer a way to treatment approach for insulin resistance and may light the way for an exciting progress in order to understand metabolic homeostasis either in normal physiology or in human health

**Key words:** Obesity, miR-103, miR-107, diabetes, insulin resistance.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite ve fazla kilolu terimleri, çocuklarda birbiri yerine sıkça kullanılan terimlerdir. Fazla kilolu terimi daha çok tercih edilmektedir. Ergen ve çocuklarda obezite sıklığının artması nedeni ile bu durumun komplikasyonları çocuklarda daha çok anlaşılmaya başlanmıştır (Curran ve Barness 2007). Vücut kitle indeksinin yaş ve cinsiyete göre 95. persentilin üzerinde olması çoğu merkez tarafından obezite olarak tanımlanır (Curran ve Barness 2007). Vakaların çoğunda belirlenmiş bir hastalık nedeni yoktur; bu tür obeziteye, primer obezite ya da ekzojen obezite denir (Cinaz 2000).

Çocuk ve adolesanlarda obezite prevalansı ve ciddiyeti giderek artmaktadır ve salgın bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Günoz 2002). Obezite, özellikle gelişmiş ülkelerde belirgin derecede artmış mortalite ve morbidite ile ilişkilidir. Çocukluk çağı obezitesi ile ilişkili morbidite prevalansında belirgin artış olmakta ve bu da erken erişkin dönemde daha ciddi problemlere yol açmaktadır (Curran ve Barness 2007). Çocukluk çağı obezitesindeki bu artışa paralel olarak tip 2 diyabet, metabolik sendrom, hipertansiyon gibi daha çok erişkinlerde görülen kronik hastalıklar, çocukluk çağında da önemli bir sorun haline gelmektedir (Dehwah ve ark.2012). Çocukluk döneminde aşırı kilolu olmak ileri yaşamda da aşırı kilolu olunacağına kuvvetli bir göstergesidir (Harada ve ark.2001). Morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde etkilemesinin yanı sıra, son derece ciddi sosyal ve ekonomik boyutları da olan bir sorundur (Gungor 2002; Tarım 2006). Obezite ile diyabet arasında kuvvetli bir ilişki mevcuttur. Geçmiş yıllarda tip 2 diyabet bir çocuk hastalığı olarak düşünülmezken, son 10 yılda özellikle obez adolesanlarda bu sorun giderek artmaktadır. MikroRNA'lar yağ metabolizması, insülin etkisi, adiposit farklılaşmasını içeren obezite ile ilgili birçok biyolojik olayda düzenleyici rol oynar (Wilfred ve ark.2007). Obez fareler üzerinde yapılan çalışmalarda miR-103 ve miR-107'nin insülin duyarlılığında önemli bir role sahip olduğu bulunmuştur. miR-103/107 susturulması glukoz homeostazı ve insülin duyarlılığına düzelmeye yol açmıştır (Trajkovski ve ark.2011). İnsülin sinyalindeki defektler tip 2 diyabet gelişmesi için en yaygın ve en erken kusurlar arasında yer almasına bağlı olarak, bu bulgular mikroRNA'ların tip 2 diyabetin tedavisinde potansiyel hedefler temsil ettiğini ortaya koymuştur. Bu bağlamda, çalışmamızda obez çocuklarda plazma miR-

103 ve miR-107'nin nasıl değişeceğinin araştırılması ile hem obezite hem de obezitenin eşlik ettiği hastalıkların özellikle insülin direncinin fizyopatogenezine (Williams ve Mitchell 2012) dair yeni yaklaşımlar sunacağı ve bu hastalıkların tedavi ve teşhisinde yeni gelişmelere yol aması amaçlanmaktadır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Çocukluk Çağı Obezitesi Tanımı

Obezite, vücut yağ dokusunun aşırı artışı ile karakterize metabolik bir bozukluktur. Bunun yanında obezite genetik, çevresel, metabolik ve hormonal faktörlerle oluşan, sosyal, psikolojik ve medikal komplikasyonları olabilen önemli bir halk sağlığı sorunudur (Günöz 2000; Ogden ve ark. 2000; Curran ve ark.2007).

Obez çocukların büyük kısmında altta yatan tıbbi bir problem yoktur ve bu grup basit obezite veya ekzojen obezite olarak isimlendirilir. Basit obezitede genellikle alınan enerji harcanandan fazladır. Kronik bir enerji birikimi söz konusudur. Genelde nefes almada zorluk çabuk yorulma ve ekstremitelerde ağrıları gözlenmektedir. İştahları genellikle artmış ve beslenme öykülerinde yağların, karbonhidratların ve hazır gıdaların tüketiminin oldukça fazla olduğu, meyve ve sebzeye karşı isteksiz oldukları belirlenmiştir.( Weker 2006).

Vücutta yağ dokusunun fizyolojik olarak en yüksek olduğu iki dönem,

1. Süt çocukluğu dönemi (%28 kadar)
2. Prepubertal dönemdir (%25 kadar).

Özellikle ilk 6 ayda başta olmak üzere çocukluğun ilk yıllarında yağ dokusu fazladır. Bir yaşından sonra ise obezite sıklığı giderek azalmaktadır. Buna çocuğun psikomotor gelişimi ile birlikte hareketlerindeki artış sebep olmaktadır.

Obezitenin görülme sıklığında prepubertal dönemde kız ve erkek çocuklarda ikinci bir artış gözlenir. Menstürasyonun başlamasıyla, kız çocuklarının önemli bir bölümünde kilo artışı gözlemlenirken, erkek çocuklarında ise pubertenin ilerlemesi ile yağ dokusunda azalma dikkati çeker (Cinaz ve Bideci 2003).

### 2.2. Çocukluk Çağı Obezitesi Epidemiyolojisi

Günümüzde birçok ülkede obezitenin görülme sıklığı her yaş grubunda belirgin artış göstermektedir (Troiano ve Flegal 1998; Alikashiöğlu ve Yordam 2000; Günöz2002). Çocukluk çağının en sık görülen kronik hastalığı olan obezite dünyada ve ülkemizde epidemik boyutlardadır ve ülkemizde çocuklarda obezite sıklığının son yirmi yılda % 6-7 den % 15-16'ya çıktığı tespit edilmiştir (Tarım 2006).



Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, 1995 yılında tüm dünyada 200 milyon obez erişkin ve beş yaş altında 18 milyon aşırı kilolu çocuk bulunmakta iken, 2000 yılında erişkin obez sayısı 300 milyona, 2005 yılında en az 400 milyona ulaşmıştır. DSÖ'ne göre 2015 yılında obez erişkin sayısının 700 milyonu aşması öngörülmektedir. Bir çok gelişmiş ülkede obezite prevalansı erişkin ve çocuklarda giderek artmakta ve beş yaş altında aşırı kilolu çocuk sayısının 2005 yılı itibari ile en az 20 milyon olduğu ifade edilmektedir (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>, 20 Ocak 2015). Çocukluk çağı obezitesi, erişkin obezitesinin önemli bir belirteci olması ile çocuklukta aşırı kilolu olma artışı çok önem arz etmektedir. Aşırı kilolu çocukların veya obez adolesanların % 80'i erişkin çağlara ulaştıklarında da obez kalmaktadırlar (Whitaker ve ark.1997). Çocukluk çağı obezitesindeki bu artışın beraberinde hem çocukluk hem de erişkin çağda tip II diyabetes mellitus insidansında da epidemik artışa da neden olduğu belirtilmektedir. Bu artışın paralelinde dünya sağlık örgütü gelecek yıllarda tüm dünyada diyabete bağlı ölüm insidansında artış gösterebileceğini ifade etmektedir (Troiano ve Flegal 1998; Fagot-Campagna 2000; Harrell ve ark.2000).

Obeziteyi etkileyen demografik, sosyo-kültürel ve biyolojik faktörlerin etkisiyle dünyanın farklı coğrafik bölgelerinde yaşayan çocuklardaki obezite sıklığı büyük değişiklikler göstermektedir. Araştırmalar obezitenin gelişmiş ülkelerde düşük sosyo-ekonomik düzeylerde, gelişmekte olan ülkelerde ise yüksek sosyo-ekonomik düzeye sahip kişilerde daha sık görüldüğünü göstermiştir ( Baragave ark. 1968).

1999-2002 yılları arasında Amerikan Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırma Çalışması (NHANES) IV, Amerika da çocukların % 16'sının fazla kilolu olduğunu ve % 31'inin de fazla kilolu olma riski taşıdığını bildirmiştir. NHANES verilerine göre % 16'lık bu artış önceki yıllar ile karşılaştırıldığında örneğin; 1960 tan beri yaklaşık % 300 ve 1988-94 arası ise yaklaşık % 45 artış olduğu bildirilmiştir. Çocuklukta aşırı kilolu olma durumu, olasılıkla maternal obezite veya maternal diyabet ile ilişkili aşırı doğum ağırlığı yüzünden söz konusu olabilmektedir. Bunun yanında, düşük doğum ağırlığı ile dünyaya gelen çocuklar da ileri yaşlarda santral obezite açısından artmış riske sahip olabilmektedirler. Çocukluk çağında aşırı kilolu olma erişkin dönemde de obez olabilme olasılığının kuvvetli bir göstergesidir ve bu durum yaşla paralel olarak devam ettiği sürece riskte artmaktadır. Çocukluk çağı obezitesinin en güçlü belirteci ebeveyn obezitesidir; bu durum, mevcut vücut

ağırlığından bağımsız olarak 10 yaş altı çocuklar arasında erişkin dönemde obezite gelişimini iki kat arttırmakta olduğu belirtilmiştir (Curran ve Barness 2007).

Ülkemizde çocuk ve adolesanlarda obezite oranının %10-15 oranında olduğu bildirilmektedir (Aydın 1995). Obezite prevalansının bölgesel farklılıkların görüldüğü Avrupada ise beş yaş altında % 4, 7-11 yaş arasında % 23, 12-18 yaş arasında ise % 29 civarında olduğu ve bu oranın giderek arttığı belirtilmektedir (Günoz 2001; James 2004). Aşırı kilolu çocukların büyük kısmı yetişkinlik döneminde de aşırı kilolu olmaktadır. Bogalusa Kalp Çalışması sonuçlarına göre sekiz yaş altı aşırı kilolu çocukların %87'si, yetişkin dönemlerinde de obez olmaktadır (Freedman 1999). Erişkindeki önemli sağlık sorunlarının çocukluk çağında başlayan obezite ile ilgili olduğu düşünüldüğünde, bu konu kozmetik bir sorun değil, toplum sağlığı için önemli bir tehdit olarak görülmelidir (Tarım 2006).

### ***2.3. Obeziteyi Etkileyen Risk Faktörleri***

#### ***2.3.1. Yaş***

Çocukluk çağı obezitesi ilk önemli riskli dönem, birinci yaşın ikinci altı aylık dönemi; ikinci risk dönemi, 4-6 yaş arası; üçüncü risk dönemi ise, ergenlik dönemi olmak üzere kategorize edilmiştir. Ergenlik döneminde genellikle kızlarda yağ dokusu artarken erkeklerde yağ dokusu azalır. Bununla birlikte yağ dokusu kızlarda kalçalarda yoğunlaşırken erkeklerde santral yerleşim gösterir. Abdominal obezite beraberinde hipertansiyon, kardiyovasküler sorunlar, hiperlipidemi ve glukoz intoleransına davetiye çıkarır. Kız çocuklarında obezitenin getirdiği morbidite sorunlarının, erkek çocuklardan daha yüksek oranlarda olduğu tespit edilmiştir. (Harsha ve Bray 1996).

#### ***2.3.2. Cinsiyet***

Obesite sıklığı, kız çocuklarında erkeklere göre daha yüksek oranda olduğu bildirilmiştir (Harsha ve Bray 1996).

#### ***2.3.3. Ailenin Sosyo-Ekonomik Durumu***

Ailenin gelir düzeyi ile obezite görülme sıklığı arasındaki ilişki yaş, ırk ve cinsiyet faktörleri ile değişkenlik gösterdiğinden bu konuda çelişkili yayınlar

mevcuttur (Cinaz ve Bideci 2003). ABD nin ulusal National Health and Nutrition Examination Survey NHANES'e göre ailenin sosyo-ekonomik durumu ve obezite arasında kesin bağlantı gösterilememiştir (Maffeis ve ark. 2000). Ancak obezitenin gelişmiş ülkelerde düşük sosyo-ekonomik düzeylerde, gelişmekte olan ülkelerde ise yüksek sosyo-ekonomik düzeye sahip kişilerde daha sık görüldüğünü gözlemlenmiştir (Baragan ve ark.1968).

#### **2.3.4. Anne-Baba Eğitim Düzeyi**

Bazı çalışmalarda arada bağlantı kurulamazken, bazı çalışmalarda ters ilişki saptanmıştır (Huerta ve ark.2006; Gibson ve ark. 2007).

#### **2.3.5. Doğum Kilosu**

Düşük doğum ağırlıklı bebeklerde, ilk iki yılda büyüme atağının gereğinden fazla olması nedeniyle çocuklukta ve ileri yaş grubunda obezite ve kardiyovasküler hastalıkların daha sık ortaya çıktığı gösterilmiştir (Günöz 2002; Dietz 1983 ). Ayrıca intrauterin dönemdeki maternal faktörlerin postnatal obezitede etkili olduğu bilinmektedir (Günöz 2002).

#### **2.3.6. Genetik Faktörler**

Obezite bazı ailelerde diğerlerinden daha sık görülmekte birlikte, genetiğin mi, çevresel faktörlerin mi bunda etkili olduğunu belirlemek zordur. Obezite patogenezinde pek çok gen bozukluğunun rol aldığı bilinmektedir; gen mutasyonları, yağ dağılımını etkileyerek obezite ile sonuçlanır. Bazı ailelerde obezitenin daha sık görülmesi ve ikizlerde yapılan çalışmalar, genetik faktörlerin obezite etyopatogenezinde rolü olduğunu diğer bir göstergesidir. Anne ve babadan birinin obez olması çocuklarında obezite riskini % 40 oranında arttırırken, her ikisinin obez olması bu oranı % 80'e çıkartabilmektedir (Aydın ve ark.1998; Cinaz ve Bideci 2003). Anne ve babanın obez olmama durumunda ise çocuklarının obez olma olasılığı % 7 olarak tespit edilmiştir (Alikaşifoğlu ve Tunçbilek 2000; Günöz 2001; Huerta ve ark.2006). Obez anne çocuklarının, annesi obez olmayan çocuklara oranla 2,5 kat artmış obesite riski olduğu gösterilmiştir. Bu annelerin daha kısa süre anne sütü verdiği, katı gıdalara daha erken başladığı da dikkati çekmektedir (Günöz 2001).

Mono ve dizigotik ikizlerle yapılan araştırmalarda; ikizlerden biri şişman ise diğerinin şişman olma olasılığı, tek yumurta ikizlerinde çift yumurta ikizlerine göre daha yüksektir. Ayrıca 20 yıldan daha fazla birbirinden uzak yaşamış tek yumurta ikizlerinin kiloları birbirine benzer bulunmuştur (Aydın ve ark.1998; Cinaz ve Bideci 2003). Bunun yanında tek yumurta ikizleri üzerinde yapılan çalışmalarda, Vücut kitle indeksini (VKİ), %70 oranında genetik faktörlerin, %30 oranında çevresel faktörlerin etkilediği kanatine de varılmıştır. Evlatlık çocukların kilo durumlarının çoğunlukla kendilerini evlat edinen ebeveynlerinden çok biyolojik ebeveynlerinin kiloları ile de korele olduğu belirtilmektedir (Günöz 2001; Damcı 2001).

### **2.3.7. Beslenme**

Bebeklik dönemindeki beslenme şekli, çocuğun daha sonraki yıllarda beslenme alışkanlığını belirlemektedir. Anne sütünle beslenmenin obezite oluşumunu önleyici etkisinin olduğu iyi bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada obez olma durumunun anne sütü almamış çocuklarda anne sütü almış çocuklara göre yaklaşık iki kat olduğu bildirilmiştir. Süt çocukluğu döneminde mama ile beslenme, zamanından önce ek gıdalara ve yapay beslenmeye geçilmesi obezite artışını kolaylaştırır (Cinaz ve Bideci 2003).

Avrupa'da yapılan birçok çalışmada obez çocukların özellikle hayvansal kökenli yağ ve proteinleri aşırı tükettikleri gözlenmiş olup, diyetteki yağ oranı ile vücuttaki yağ oranı arasında %100'e yakın bir korelasyon saptanmıştır; bu da yağların düşük termogenetik etkisine bağlanmıştır. Termogenezde besinlerle alınan yağların %3'ü, proteinlerin %8'i ve karbonhidratların %25'i rol almaktadır (Maffeis 2000). Modern yaşamın getirdiği beslenme alışkanlığında; yüksek kalori değeri, yüksek karbonhidrat ve yağ oranı yanında, düşük posa ve lif içeriği olan diyetle beslenme şekli obezite oluşumunu kolaylaştırdığı belirtilmiştir. Yüksek karbonhidrat içerikli besinlerin tüketimi ile plazma insülin seviyesi artmakta, bu da insüline bağımlı lipogenez ve dolayısıyla vücut yağ kitlesinde artışa yol açmaktadır (Maffeis 2000).

### **2.3.8. Fiziksel Aktivite**

Aktivite azlığı obeziteyi kolaylaştırırken, obez çocukların daha az aktivitede bulunmaya yönelmeleri, olayın bir kısır döngü şeklinde devam etmesine neden

olmaktadır (Cinaz ve Bideci 2003). Kentte çok katlı konutlarda yaşama, oyun alanlarının yetersizliği, okullarda artmış bilgi yükü ve ödevler, seçme sınavlarına hazırlanma, televizyon seyretme ve bilgisayar kullanımının çocukların hareketlerini kısıtladığı gösterilmiştir (Altay 2000).

Televizyon seyretme süresi: ABD de yapılan bir çalışmaya göre yaş gruplarına bağlı olarak televizyon önünde geçirilen süre değişmekle birlikte; 2-7 yaş arası çocukların %32'sinde, 8-12 yaş arası çocukların %65'inde ve 14-18 yaş arası çocukların %65'inde yatak odasında televizyon olduğu gösterilmiştir (Goodman ve ark. 2000).

Televizyon izlemi boyunca azalan enerji harcaması, artan atıştırma alışkanlıkları ve televizyon reklamları ile yüksek kalorili yiyeceklere karşı yeme arzusunda artış obezite artışında faktör olarak gösterilmiştir (Göncü 2000).

### **2.3.9. Psikolojik Faktörler**

Aile içi olumsuz ilişkiler çocuğun ruhsal yapısını etkileyerek az ya da aşırı yeme davranışı doğurmaktadır. Obez çocuklarda özellikle ergenlik döneminde ortaya çıkan psikolojik bozukluklar çocuğu pasif hale getirmekte ve obezite derecesini artırmaktadır (Cinaz ve Bideci 2003).

### **2.4. Obezitenin Tanısı**

Vücut yağ miktarını değerlendirirken dolaylı ve dolaysız yöntemler kullanılmaktadır. Vücuttaki yağ miktarını ve dağılımını doğrudan gösteren yöntemler genellikle pahalıdır ve zaman alıcıdır. Bu ölçümler fizyolojik araştırmalar için geçerlidir. İleriye dönük uzun ve geniş çalışmaların hemen hepsi boy ve kilo parametreleri esas alınarak yapılmıştır (Stephens ve ark 1996; Costill 1997). Belirgin şişmanlık, inspeksiyonla gözlenebilen bir durumdur. Bununla birlikte, klinik uygulamada ve popülasyon taramaları ile şişmanlığın daha hafif derecelerini kapsayan prevalansın belirlenmesi gibi amaçlarla yapılan değerlendirmelerde, antropometrik ölçümler ve ölçümlerden türetilmiş bazı obezite indeksleri kullanılır. En fazla kullanılan indeksler, ağırlık ve boydan türetilmiş olanlardır (Wilmore 2000; Murphy ve ark. 2002; Baron 2004).

### **a) Vücuttaki Yağın Doğrudan Ölçümü**

Vücut yağ oranının doğrudan belirlenmesi noktasında aşağıdaki bazı yöntemler sayılabilir; sualtı tartımı ile vücut dansitesinin hesaplanması, toplam vücut suyunun izotop dilüsyonu ile saptanması, toplam vücut potasyumunun ölçülmesi ve nötron aktivasyonu. Bunun yanında vücudun biyoelektriksel impedansının saptanması, bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans görüntüleme, dual enerji x-ray absorpsiyonunun değerlendirilmesi, USG gibi yöntemler de sayılabilir yalnız bu yöntemler yaygın kullanımda pratik ve ekonomik olmadığı gibi, birçoğu çocukluk yaş grubunda kullanımına da uygun değildir (Alikışifoğlu ve Yordam 2000; Özbey ve Orhan 2001; Ogden ve ark.2002).

### **b) Vücuttaki Yağın Dolaylı Ölçümü**

Rölatif ağırlık (boya göre ağırlık), vücut kitle indeksi (Quetelet indeksi), deri kıvrım kalınlığının ölçümü ve bel/kalça oranı, en çok kullanılan antropometrik ölçümlerdir.

1) *Rölatif Ağırlık:* Çocuğun vücut ağırlığının, boyuna uyan ideal ağırlığa göre yüzde ifadesidir. Bu kriterin boy kısalığı olan çocuklarda kullanılması uygun değildir.

- %90-110: Normal tartılı çocuk
- %110-120: Fazla kilolu çocuk (overweight)
- >%120: Obez çocuk

2) *Bel-Kalça Oranı:* Kaburgalarla iliak kemik arasındaki en dar bölgenin çevresi ve kalçaların en geniş yerinin çevresi ölçülür ve bunların birbirine oranlanması ile bel kalça oranı hesaplanır. Erişkinler için 0.72'den büyük değerler anormal kabul edilir. Glukoz intoleransı, hipertansiyon, hipertrigliseridemi gibi komplikasyonlar erkeklerde 1, kadınlarda ise 0.9'dan itibaren artmaktadır. Çocuklar için ortalama normal değer 0.85 olarak kabul edilir.

3) *Deri Kıvrımı Ölçümleri:* Obezitede yağın büyük bir kısmı deri altında toplanır. Deri altı yağ dokusunu belirlemek için deri kıvrım kalınlığı ölçümü yapılır. Ölçüm 'Kaliper' adı verilen özel aletlerle yapılır. Ölçümler triseps-biseps-subskapular-abdominal-suprailiak-uyluk-bacaktan yapılabilmekte ve mm olarak

değerlendirilmektedir. Yaygın olarak kullanılan triseps deri kıvrım kalınlığının ölçümüdür, fakat bu yöntemin özel eğitilmiş ve tecrübeli antropometristler tarafından yapılması gerekliliği ve aşırı obez çocuklarda hatalı ölçümler yapılabilmesi nedeniyle kullanımı kısıtlı kalmıştır. Yaşa, cinsiyete ve etnik kökene göre değişiklikler gösteren deri altı kıvrım değerleri ile BMİ arasındaki korelasyon oldukça yüksektir.

4) *Body Mass Index (BMİ)*: Obezitenin değerlendirilmesi için kullanılan en pratik metotlardan biri olduğu kabul edilmektedir. Body Mass İndex (BMİ) = Ağırlık (kg) / Boy (m<sup>2</sup>) olarak hesaplanmaktadır. BMİ, çocuklarda yaşa ve cinse göre değişiklik gösterir. Çocukluk döneminde çocukların yaşlarına göre düzenlenmiş grafiklere göre BMİ 85-95 persentil aralığında olanlar fazla kilolu (overweight), 95. persentilin üzerinde kalan vakalar obez olarak değerlendirilmektedir (Murphy ve ark.2002; Curran ve Barness 2007).

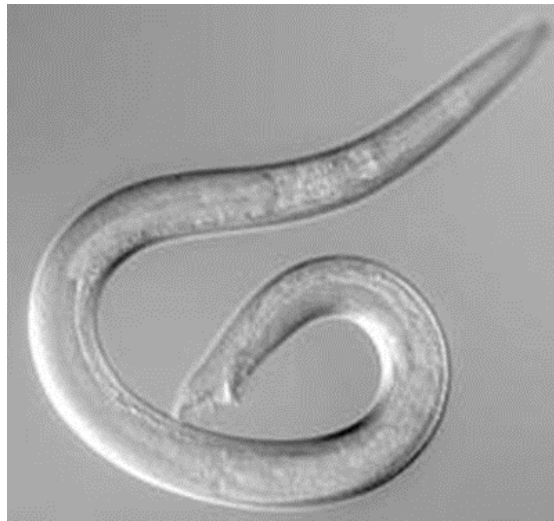
## **2.5. Obezite ve İnsülin Direnci**

İnsülin, yağ hücrelerinde depolanmış olan trigliseridleri hidrolize eden hormona duyarlı lipazı inhibe ederek, yağ asitlerinin yağ dokusundan kana serbestlenmesini baskılar (Cheatham ve Kahn 1995). Hiperinsülinemi ve insülin direnci, obezitenin endokrin sistem üzerine etkisinin önemli göstergeleridir; çocuklarda bozulmuş glukoz toleransı veya tip 2 DM için uyarıcı olmalıdır. Obezlerde insülin düzeyi, obezite şiddeti ve süresi ile paralellik gösterir. Hiperinsülinemi, açlık insülinin 15 mU/ml ve/veya Oral glukoz tolerans testinde (OGTT) pik insülin değerinin 150 mU/ml ve/veya OGTT'de 120. dakika insülin değerinin 75 mU/ml veya daha yüksek olmasıdır (Sasson ve ark 1993; Cinaz ve Bideci 2003). Obezite ile ilişkili hiperinsülinemi ve insülin direncinin azalmış insülin duyarlılığına sekonder geliştiği düşünülmektedir. Obezitede insülin direncinin, kas dokusunda insülinin aktive ettiği glukoz alımını azalttığı ve yağ dokusunda lipolizi arttırdığı kanıtlanmıştır. Ayrıca obezite, sempatik sinir sistemi aktivasyonunu artırarak serbest yağ asidi miktarının artmasına katkıda bulunmaktadır. Yağ depolarından serbest yağ asidi salınması asetil coA üretimini artırmakta, bu durum çizgili kastaki glukoz alımını ve oksidasyonunu azaltmakta ve glukoneogenez aracılığı ile endojen glukoz üretimini artırmaktadır. Bu da obezitede insülin direnci gelişiminde serbest yağ asidindeki artışın ek bir faktör olduğunu düşündürmektedir. Manyetik rezonans ile ölçülmüş çizgili kas dokusundaki trigliserid içeriği ile insülin rezistansı arasında korelasyon tespit edilmiştir (Muzumdar ve ark 2003).

## 2.6. MikroRNA

MikroRNA'lar, genom üzerinde protein kodlayan genlerin intron veya ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, fakat proteine translasyonu gerçekleştirmeyen, fonksiyonel RNA molekülleridir (Shenouda ve Alahari 2009). MikroRNA'lar yüksek düzeyde korunan DNA bölgelerinden kodlanan fakat proteine translasyonu gerçekleştirmeyen, 18-24 nükleotid uzunluğunda küçük RNA molekül çeşididir (Sylvia ve ark 2009).

İlk defa mikroRNA, 1993 yılında Lee ve çalışma arkadaşları tarafından Victor Ambros laboratuvarında keşfedilmiştir. 2001 yılından itibaren mikroRNA terimi kullanılmaya başlanmıştır (Ruvkun 2001). Lee ve arkadaşları 1993 yılında yuvarlak solucan olan *Caenorhabditid elegans*'ı gen içeriği bakımından taramışlar, lin-4 olarak adlandırdıkları genin hiçbir protein kodlamamasına karşın 22 nükleotid uzunluğunda küçük bir RNA transkribe ettiğini bildirmişlerdir (Lee ve ark.1993). 2000 yılında Reinhart ve arkadaşları *Caenorhabditid elegans*'da 22 nükleotid uzunluğunda, let-7 olarak adlandırılan, canlının gelişim zamanlamasını düzenleyen farklı bir mikroRNA keşfetmişlerdir (Reinhart ve ark. 2000). Let-7'nin insanlar dahil birçok türde korunmuş olması ile let-7'nin önemli bir biyolojik fonksiyona sahip olduğu fikri ortaya çıkmıştır. Takip eden yıllarda mikroRNA'lar olarak adlandırılacak, let-4 ve let-7'ye benzeyen birçok küçük RNA molekülü, hemen hemen bütün çok hücreli organizmalarda keşfedilmiştir (Pasquinelli ark.2000; Lagos-Quintana ve ark. 2001).



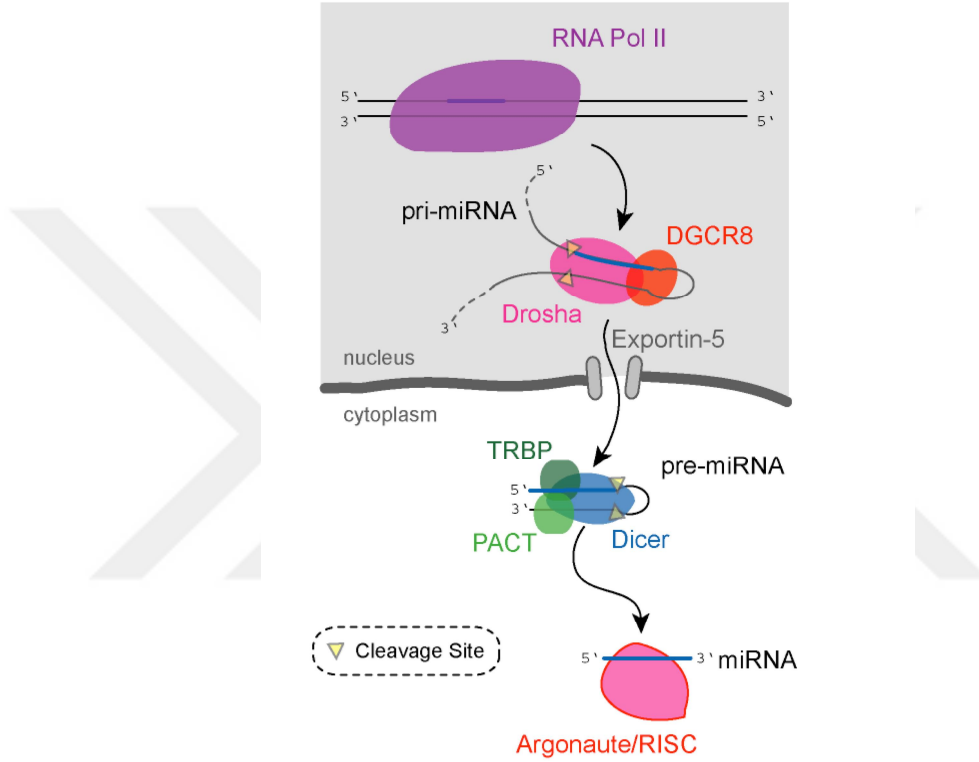
Şekil 1: *Caenorhabditid Elegans*'ın Mikroskopik Görüntüsü

([https://tr.wikipedia.org/wiki/Caenorhabditis\\_elegans](https://tr.wikipedia.org/wiki/Caenorhabditis_elegans) 2014 )



### 2.6.1. MikroRNA'ların Sentezi

MikroRNA oluşum sürecinde ilk adımda mikroRNA genlerinden primer mikroRNA (pri-miRNA)'ların transkripsiyonu gerçekleşir. İkinci adımda primer mikroRNA'lar prekürsör mikroRNA (pre-miRNA)'lara nükleus içinde dönüştürülür. Üçüncü ve son adımda olgun mikroRNA'ların sitoplazma içinde oluşumu gerçekleşir (Esquela-Kerscher ve Slack 2006).



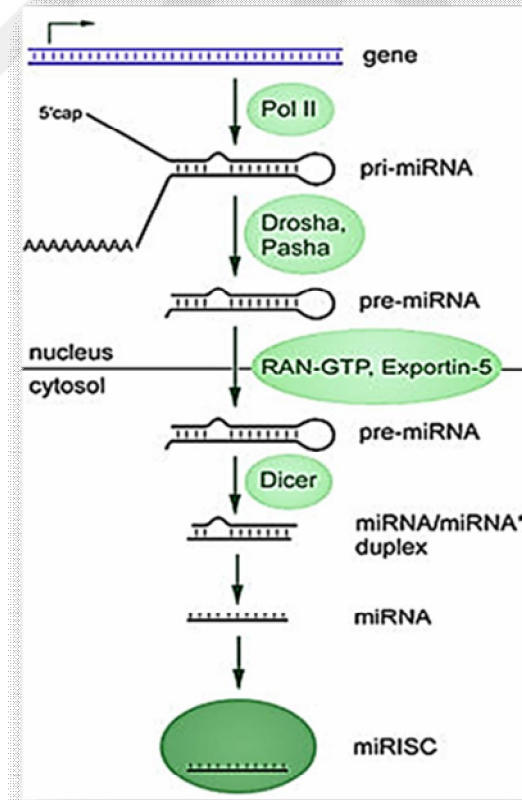
Şekil 2: MikroRNA Sentez Basamakları

( <http://flipper.diff.org/app/pathways/microRNAs> 2014)

MikroRNA'lar, primer transkript (pri-miRNA) olarak RNA polimeraz II enzimi tarafından genomik DNA'dan sentezlenir. Pri-miRNA (500-3000 baz), "cap" ve "poli A" kuyruğuna sahip sap-ilmik yapısındadır.

Çekirdekte pri-miRNA, RNAaz III enzim ailesinin bir endonükleazı olan Drosha ve kofaktörü Pasha (veya DGCR8) tarafından işlenerek pre-miRNA'ya dönüştürülür ( Lee ve ark. 2003; Esquela-Kerscher ve Slack 2006). Bir nükleaz olan Drosha ile çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olan Pasha'nın oluşturduğu komplekse mikroişlemci kompleks (Microprocessor complex) adı verilir (Esquela-Kerscher ve Slack 2006).

Pre-miRNA molekülü bir nükleer taşıma reseptörü olan Exportin 5 ve nükleer bir protein olan RAN-GTP'ye bağımlı bir şekilde sitoplazmaya taşınır (Lund ve ark.2004). Sonrasında, pre-miRNA'lar sitoplazmada RNAaz III enzim ailesinden Dicer adlı endonükleaz ile kesilerek 18-24 nükleotid uzunluğunda çift zincirli miRNA: miRNA dubleksini oluşturur (Zhang ve ark.2002). Dicer, aynı zamanda RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (RNA-induced silencing complex; RISC) oluşumunu başlatır (Bernstein ve ark.2001). Dicer, pre-miRNA'nın sap-ilmliğini kestikten sonra, miRNA: miRNA dubleksinden sadece biri RISC kompleksine dahil olur. RISC kompleksinin içinde yer alan bir RNAz (ribonükleaz) olan argonaute'un etkisiyle bu iki iplikten 5' ucu daha kararlı olanı seçilip komplekse dahil edilir. Bu iplik kılavuz iplik (guide strand) olarak adlandırılır. Diğer iplik, anti-kılavuz veya yolcu iplik olarak adlandırılır, RISC kompleksinin substratı olarak sindirilir. MikroRNA'lar, aktif RISC kompleksine entegre olduktan sonra, ya argonaute proteinleri yardımıyla mesajcı RNA (mRNA)'nın yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasına neden olurlar (Gregory ve ark.2005).



Şekil 3: MikroRNA: MikroRNA Dublex Oluşumu

( <https://tr.wikipedia.org/wiki/MikroRNA> 2015)

### **2.6.2. MikroRNA'ların Fonksiyonu**

Olgun mikroRNA'lar hedef genlerin ekspresyonunu azaltarak protein sentezinin düzenlenmesine katılırlar. MikroRNA'lar kendi nükleotid dizilerine komplementer hedef genleri tanıma özelliğine sahiptir. MikroRNA, RISC ile kompleks oluşturur, baz çiftleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanır, sonrasında protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA'nın yıkımına neden olur (Shenouda ve Alahari 2009).

MikroRNA, hedef mRNA'nın 3' ucundaki translasyona uğramayan bölgeye (untranslated region-UTR) veya hedef mRNA'nın ORF (open reading frame) bölgesine bağlanır. Bağlanma pozisyonu mikroRNA kompleksinin mRNA'ya nasıl komplementer olduğuna bağlıdır.

3' UTR bölgesine bağlanma kusurlu, tam olmayan, eksik komplementerliği ihtiva eder ve translasyonun baskılanması ile sonuçlanır. ORF bölgesi içine bağlanma ise kusursuz, tam komplementerliği gösterir ve Argonaute2 (Ago2) tarafından mRNA'nın yıkımı ile sonuçlanır (Sun ve ark 2010). Ayrıca, mikroRNA'ların her birinin birden fazla mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebildiği ve mRNA'ların her birinin de birden fazla mikroRNA tarafından hedeflenebildiği görülmektedir ( Pillai 2005 ).

### **2.7. MikroRNA'ların Obezite ve Diyabetteki Rolü**

Son yapılan araştırmalar da insülin direncine sebep olan mekanizmada miR-103 ve miR-107 moleküllerinin de etkili olduğu saptanmıştır (Trajkovski 2011).

Cologne Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada obez fareler ve insanlarda bu iki mikroRNA'nın çok fazla miktarda bulunduğu ve bu mikroRNA'ların miktarı ne kadar fazla olursa karaciğer ve yağ hücrelerindeki insülin direncinin, o kadar fazla olduğu tespit edildi. Yani miR-103 ve miR-107 moleküllerinin fazlalığı glikozun kandan hücreye alımını güçleştiriyor. Bu mikroRNA'lar, önemli bir genin çalışmasını bloke ediyor. Bu önemli genin bloke edilmesi, Caveolin1 (Cav1) proteininin sentezlenmesine engel oluyor (Trajkovski 2011).

Oysa Caveolin 1 proteini insülin sensörlerine bağlanarak glikozun transferini başlatacak biyokimyasal reaksiyonlar zincirinin başlamasını sağlıyor.

Tip II diyabet hastası olan obez farelerle yapılan laboratuvar testlerinde, farelere mikroRNA faaliyeti durduracak olan Antagomirsler enjekte edilmiş ve kısa bir süre içerisinde karaciger insüline karşı duyarlı hale gelmiştir. İnsülin duyarlılığı ile birlikte glikozun tekrar kandan hücrelere girişi normale dönmüştür (Trajkovski 2011).

Bunun yanı sıra farelerin yağ metabolizmasında düzelme görülmüş ve obez fareler tekrar normal ağırlığına dönmüştür.

Pankreatik adacık hücrelerine spesifik miR-375 ve miR-124a, insülinin vezikül transportundan sorumlu miyotropini inaktive ederek, ekzositoz düzeyinde insülin sekresyonunu azaltmaktadırlar (Hennessy ve O'Driscoll 2008).

Başka bir çalışmada ise kolesterol ve lipit metabolizmasında görevli miR-122'yi hedefleyen Locked Nucleic Acid (LNA)'lar ile kardiyovasküler hastalıklarda tedavi amaçlanmış ve miR-122'nin baskılanması ile plazmadaki kolesterol seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir (Elmen ve ark 2008).

## **2.8. Adipoz Doku ve MikroRNA**

MikroRNA'lar C.Elegans iplik kurdunun heterokronik gelişimsel sürecinde keşfedilmiştir (Lee ve ark. 1993). Bu sebepten dolayı, mikroRNA'ların hücrenin kaderinin belirlenmesi ve gelişiminde bir rol oynayabileceği bilinmektedir. Adipositler, hayvan türlerinde geri kazanılabilir yağ ve enerji deposu sağlayan hücrelerdir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar mikroRNA'ların adipoz öncülü olan pre-adipoz adı verilen hücrelerin gelişimsel olgunlaşması sürecinde yer aldığını ortaya koyan kanıtlar sunmuştur. Bu deneyler çoğunlukla, yağ depolayan olgun adipositlere benzeyen bir fenotipe farklılaşma amacıyla stimule edilebilen kültürlenmiş pre-adipozlar içermektedir. (Wilfred ve ark 2007)

Kajimoto ve arkadaşları kültürlü 3T3-L1 pre-adipositler içerisinde, 80 farklı mikroRNA eksprese edildiğini ve pre-adiposit farklılaşma sürecinde 21 bireysel mikroRNA'nın farklı şekilde eksprese edilmekte olduğunu (çoğu değişimin farklılaşma sürecinin son aşamalarında oluştuğunu) bildirmişlerdir (Kajimoto 2006). Ancak, (miR-143 dahil olmak üzere) özgün mikroRNA'ların fonksiyonunun başlaması ne pre-adipoz farklılaşması sürecinde oluşmuştur ne de bu pertübasyonlar PPAR- $\gamma$ , A-FABP ya da adiponektin belirleyici mRNA seviyelerini değiştirmiştir. Bu hücrelerde hem miR-103 hem de miR-143 daha çok farklılaşmış hücrelerde daha

yüksek ekspresyona eğilim göstermektedir. Esau ve arkadaşları (2004) miR-143'ün pre-adipoz insan hücrelerinde adipoz farklılaşmasını inhibe ettiğini göstermişlerdir ve yazarlar bu etkinin ERK5 proteini için miR-143'ü hedef alma yoluyla oluşabileceğini hipotezleştirmişlerdir. Bunun sonucu olarak lipid metabolizması ile ilgili fizyolojik fonksiyonu olan hücrelerde mikroRNA'lar bolca bulunur ve terminal, son hücre fenotipini belirlemede bir rol oynayabilir.

MikroRNA'ların adipoz hücre kaderinin belirlenmesinde oynadığı role ek olarak, adipoz ve pre-adipositlerin kararlı durum fonksiyonlarında mRNA'lar için önemli bir rolü olduğu da öngörülmektedir. Hackl ve arkadaşları (2005) expressed sequence tag'lardan (EST) 3' UTR yüksek iş/ürün hacmine sahip analizlerinde 3T3-L1 pre-adiposit hücrelerinin ekprese edildiğini ortaya koymuştur. Yüzlerce EST çalışmasından alınan veriler göstermiştir ki, %70 den fazla farklılaşmış ekspresyona sahip genlerin o zamanlar bilinmekte olan mikroRNA'lar tarafından düzenlenmekte olduğu tahmin edilmektedir. mRNA'ların çoğunun, transkripsiyon faktörleri tarafından kodlanmış mikroRNA'lar tarafından düzenlendiği tahmin edilmektedir. Bu veriler yağ hücrelerinin fonksiyonunun düzenlenmesinde mikroRNA'ların önemli, dinamik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

## **2.9. Lipid ve Enerji Metabolizmasında miR-103 ve miR-107'nin Rolü**

Metabolizmadaki örnek verilmiş bir mikroRNA'nın fonksiyonu hakkındaki çoğu araştırma mikroRNA'nın belirli bir etkisi üzerine: mRNA etkileşimi üzerine yoğunlaşmıştır. Örnek verilen mRNA üzerine mikroRNA etkileri, bazı biyolojik bağlamlarda baskın gelebilir iken bu genellikle doğru olmayabilir. Ne de olsa, birçok mikroRNA 1000 üzerinde farklı hedef mRNA düzenlenmesinde yardımcı olduğu öngörülebilmektedir. Bir mikroRNA'nın tüm insan metabolik yolunu nasıl değiştirebileceğine bir örnek sağlamak amacıyla, yapılan çalışmalarda çok sayıda farklı mRNA az sayıda yüksek-benzerlikte mikroRNA genleri tarafından düzenlenmiş metabolik bir yol incelenmeye çalışılmıştır ( Lewis 2005; Miranda 2006).

Literatür genel olarak incelendiğinde enerji metabolizmasında etkili 3 farklı mikroRNA adına çok sayıda referans vardır. Bu mikroRNA'lar miR-103(1), miR-103(2), and miR-107 dir. miR-103 genleri 2 türdeş olgun mikroRNA ve bir adet miR-107 adı verilmiş, tek bir nükleotit farkı bulunan bir 3.paralog mikroRNA

kodlamaktadır. Bütün bu 3 paralog farklı insan hücreleri kromozomlarında yer almaktadır. miR-103 ve miR-107 genleri tamamıyla bütün bilinen omurgalı canlılarda muhafaza edilmektedir ama omurgasız türlerde tanımlanmamaktadır (Mourelatos ve ark. 2002). miR-103 ve miR-107'in beyin dokusu içinde yüksek konsantrasyonda ve beraber bir çok insan organı içinde eksprese edildiği gözlenmiştir (Babak ve ark.2004; Roldo ve ark. 2006). miR-103 ve miR-107 onkogenez (Roldo ve ark. 2006), hipoksi (Kulshreshtha ve ark. 2006), stres durumunda (Marsit ve ark.2006; Van Rooij ve ark. 2006) ve gelişim (Esau ve ark.2004; Misk ve ark.2004) esnasında olduğu gibi birçok farklı bağlamda farklı şekilde eksprese edilmektedir. miR-103/107 ekspresyonunda stimülasyon kaynaklı değişimlerin önemi belirtilmemiştir. Aynı zamanda miR-103/107'ye ait kritik 5' pozisyonu içerisinde, miR-16 ve miR-15'in homologilerinin yakınlığının var oluşunun önemi bilinmemektedir. Hem miR-15 hem de miR-16 omurga gelişimi esnasında yüksek derecede eksprese edilir ve insan kanseriyle bağlantılıdır (Calin ve Croce 2006).

miR-103(1), miR-103(2), ve miR-107 'ye ait DNA kalıpları, pantotenat kinaz (PANK) enzimlerini şifreleyen genler içerisindeki intronlar içerisinde ve bilinen tüm omurgalılarda yer almaktadır. İnsanlarda, en az 3 yüksek-homolog PANK geni vardır. Görece, miR-103(1), miR-103(2), ve miR-107 genleri; PANK3, PANK2, ve PANK1 genleri içerisinde yerleşmiştir. Omurga genomu içinde miR-103/107'nin ve PANK'ların ilişkisinin önemini anlamak için, PANK geni tarafından kodlanmış polipeptit fonksiyonunu anlamak önemlidir. PANK enzimi genel bir katalitik fonksiyona hizmet eder, bir diğer deyişle; bu (Vitamin B5) (Tahiliani ve Beinlich 1991) pantotenat fosforilasyonudur. PANK'lar hücrel CoA seviyelerinin düzenlenmesinde (Tahiliani ve Beinlich 1991; Rock ve ark.2000) ana enzimlerdir. Bilinen enzimlerin yaklaşık 4% 'ünde bulunan CoA, metabolizmada 100'ün üzerinde reaksiyona karışan, gerekli bir yardımcı faktördür (Leonardi ve ark.2005). Bu enzimatik reaksiyonlar metabolizmada ve yağ asitleri, aminoasitler, kolesterol, piruvat/laktat, glikoz ve krebs siklusu ara maddesi gibi az sayıda sayılabilecek sentezlerde önemli aşamaları içermektedir. Enteresan bir biçimde, PANK geninin pantotenat kinaz bağımlı nörodejenerasyon adı verilen (Zhou ve ark.2001; Gordon ve ark.2002; Hayflick ve ark.2003) pediatrik nörodejeneratif hastalıklarda işlev kaybını barındıran bir gen olduğu da bildirilmiştir. Nöropatolojik olarak, pantotenat

kinaz kaynaklı nörodejenerasyon nöron kaybı, demir depoları, çoğunlukla bazal gangliyada göze çarpan aksonal şişmeler ile nitelenmektedir. miR-103'ün PANK2 geni içinde bulunmakta olup ve o koşulda değiştirilen, ekspresyonunun nasıl oluştuğu hala bilinmemektedir (Wilfred ve ark 2007).

PANK genleri içerisindeki intronlarda miR-103/107 genin lokasyonu fizyolojik bağlantılı olabilir. İntronik mikroRNA'ların ekspresyonu ve konak genleri sıklıkla yüksek korelasyonludur, çünkü büyük olasılıkla karşılıklı transkribe olmuştur (Baskerville ve Bartel 2005; Ying ve Lin 2006). Memeli dokularından alınan mikroarray deneylerinden çıkan veriler miR-107 ve miR-103 çoğunlukla bütün beyin hücrelerinde eksprese edilmekte ve en yüksek seviyelerinde bulunduğu işaret etmektedir (Baskerville ve Bartel 2005; Babak ve ark.2004). İnsan beynindeki bütün 3 farklı PANK ailesinin transkripsiyonları bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda miR103/107'nin lipid metabolizması ve asetil CoA üzerinde bir kuvvet bırakarak düzenleme yapmakta olduğu ortaya konulmuştur. Burada görmekteyiz ki, miR-103/7 aynı zamanda intraselüler asetil CoA depolarını artırma görevi görmekte ve belki de asetil CoA'yı TCA siklusuna dönüştürmede bir kanal işlevi yapmaktadır (Rock ve ark.2000)

Bir PPAR- $\alpha$  hedefli kolaylaştırıcı, PANK1 geninin 5'akış yönünün yukarısında keşfedilmiştir. PPAR- $\alpha$  reseptörleri, artmış yağ asitler/intraselüler lipidler tarafından stimule edilen transkripsiyon faktörleridir; PPAR- $\alpha$ 'nın fonksiyonunun azalmakta olan intraselüler serbest yağ asit depolarına müdahale etmek olduğu düşünülmektedir (Icre ve ark.2006; Lefebvre ve ark.2006). Bu sonuçlar ile miR-103/107'in serbest yağ asiti sentezini ve alımını azaltarak ve piruvat dehidrojenaz kompleksini artırarak PANK proteinleri ve PPAR- $\alpha$  yoluyla simbiyotik bir şekilde davrandığını iddia edilmektedir. MiR-103/107'nin lipid seviyeleri ve selüler asetil-CoA içeren bir yol içerisinde çok sayıda mRNA hedeflerini düzenlemesi gerçeği deneysel olarak kanıtlanma durumunda kalmaktadır. Ancak, düşündüren beş özet nokta bulunmaktadır:

1. Mir-103/107 metabolizmayı düzenleyen (ve bu ilişki yoluyla omurga gelişiminin sabit tutan) PANK genleri içinde bulunur

2. Önceki çalışmalar, intronik mikroRNA'ların sıklıkla ana protein kodlayan genlerle koordineli çalıştığını iddia etmektedir (Rodriguez ve ark.2004; Baskerville ve Bartel 2005; Ying ve Lin 2006)

3. miR-103/107 seviyeleri stres dahil olmak üzere değişen selüler metabolizma durumlarında değişmektedir (Esau ve ark.2004; Miska ve ark.2005; Roldo ve ark.2006)

4. mikroRNA'ların çoğu metabolik yollardaki enzim oranları belirleyen proteinleri şifreleyen mRNA ları hedef aldığı tahmin edilmektedir

5. PANK'nın aktivitesini tamamlayıcı görünen bir patern olan miR-103/107'nin metabolik yollarda özellikle hedef alınan mRNA'ların 3' UTR ucundaki motifleri tanıdığı tahmin edilmektedir.

### **2.10. miR-103 ve miR-107'nin İnsülin Duyarlılığı Üzerine Etkisi**

İnsulin sinyalizasyonundaki defektler, tip 2 diyabet (Kahn 2003; Taniguchi 2006; Muoio 2008) gelişimindeki bireysel yatkınlığı olan en erken ve en yaygın defektlerdir. mikroRNA'lar metabolizma (Krützfeldt, ve Stoffel 2006; Bartel 2009) dahil olmak üzere bir çok biyolojik fonksiyonu etkileyen regülator moleküllerin yeni bir sınıfı olarak tanımlanmıştır. Ancak, canlı organizmadaki mikroRNA'ların direkt insulin duyarlılığının regülasyonu üzerine etkisi henüz ispatlanmamıştır. Yapılan çalışmalarda miR-103/107'nin susturulması ile artmış glikoz homeostazisi ve insulin duyarlılığına yol açtığı gözlenmektedir. Tam aksine, yağda veya karaciğerdeki miR-103/107 fonksiyonunun kazanımı, bozulmuş glikoz homeostasisinin başlamasında yeterli olmaktadır. Adipozlardaki miR-103/107 inaktivasyonu ile upregule olan caveolin-1 ortaya çıkmıştır ve bu; küçülmüş adiposit boyutu, yükselmiş insulin sinyalleşmesi, yükselmiş insulin-uyarımı kaynaklı glukoz edinimi ve insulin reseptörünün stabilizasyonuna sebep olmuştur. Bu bulgular, insulin duyarlılığına miR-103/107'nin ana önemini göstermektedir ve tip 2 diyabet ve obezite tedavisinde yeni bir hedef belirlemektedir (Trajkovski ve ark.2011).

İnsulin direncinde ve obezitede denetimi bozulmuş miRNA'lar tespit etmek için obez farelerin 2 tipi (ob/ob fareler ve beslenme kaynaklı obez (DIO) C57BL/6J fareler) üzerinde yapılan çalışmalarda farelerin karaciğerlerinde miR-103 ve miR-107'nin en çok upregule olan 5 mikroRNA arasında olduğu ve bu mikroRNA'ların ekspresyonunun, diabetik fare modellerinde de artış gösterdiği tespit edilmiştir. Artmış miR-103/107'nin ekspresyonunun etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada miR-107 eksprese eden rekombinant adenovirus (ad-107/GFP) üretilmiş ve ad-



107/GFP'li doğal fenotipin fareye enjeksiyonu hem kan glikoz seviyelerinde hem de insulin seviyelerinde hızlı ve ani bir artışa yol açmıştır. İntraperitoneal glikoz enjeksiyonunun ardından glikoz toleransını bozulmuş ve ad-GFP enfekte olmuş kontrollü farelerde göreceli olarak insulin duyarlılığı azalmış olarak bulunmuştur.(Herrere ve ark.2010)

miR-107'nin hepatik over ekspresyonu bir intraperitoneal piruvat tolerans test sırasında artmış glikoz üretimi ile sonuçlanmıştır. Hepatik glikoz üretimindeki artış, glikoz 6-fosfatazın artmış ekspresyonu, fosfoenolpiruvatkinazın, piruvat karboksilazın ve fruktoz biofosfatazın artışı ile eşlik etmektedir ki bu durum glikogenesizin artışının yüksek glikozun temel sebebi olduğuna işaret etmektedir. Bu veriler göstermektedir ki karaciğerdeki miR-107'nin fonksiyonunun kazanımı insulin duyarlılığını azaltır ve hepatik glikoz üretimini artırır (Trajkovski ve ark.2011).

miR-103/107 azalımının etkisi üzerinde yapılan çalışmalarda, ilk önce antagomirin hem miR-103 hem de miR-107'i engelleyip engellemediği test edilmiştir. miR-103 ve miR-107'nin northern blot analiz tekniği kullanılarak antagomir-103 (ant-103) ile etkili ve spesifik olarak karaciğerdeki ve yağ dokudaki ilgili mikroRNA'lar baskılamıştır. Sonuç olarak, ob/ob farelerde plazma glikoz seviyeleri düşürülmüştür. Benzer etkiler DIO farelerinde de gözlemlenmiştir. Glikoz tolerans ve insulin-tolerans testleri göstermiştir ki hem ob/ob hem ant-103 enjekte edilmiş DIO farelerde insulin duyarlılığı ve glikoz toleransı gelişmiştir. Ve bu bulgular ant-103 tedavili farelerdeki glikoz-6-fosfataz, piruvat karboksilaz ve fruktoz-1,6-bifosfataz ve hepatik ekspresyondaki azalma tarafından da desteklenmektedir. Buna ek olarak ant-103 tedavili ob/ob ve DIO hayvanlarda karaciğer glikojen içeriği artırılmış ve plazma insulin seviyeleri azaltılmıştır. Metabolik kafeslerde yürütülen metabolik ve enerji-tüketimi çalışmaları göstermiştir ki miR-103 ekspresyonu eksikliği olan ob/ob farelerde, göreceli vücut sıcaklığının artmasının yanı sıra O<sub>2</sub> tüketimi ve CO<sub>2</sub> üretimi artmıştır. Ant-103 tedavili farelerden alınan adipozlardaki gen ekspresyonu β-oksidasyon enzimlerinin genlerinde bir artış olduğunu ortaya koymuştur (Trajkovski ve ark.2011).

Caveolin-1 (cav 1) insulin sinyalleycisi olarak anahtar bir rolü olan protein olarak tanımlanmıştır. Cav1 ile miR-103/107 arasında antagonist bir etkinin var

olduğu bilinmektedir. Dikkat çekici bir biçimde miR-103'in adipoz dokuda baskılanımı yaklaşık 3.5 katı mRNA seviyelerinde Cav1'in upregüle olmasıyla sonuçlanmıştır. Literatür verileri Cav1'in hem fare hem insan hücrelerinde miR-103'ün direkt hedefi olduğunu göstermektedir. Cav1, plazma membranında lipit ve kolesterolce zengin vasküler invajinasyonlarda belirgin caveolae'nın (Rothberg 1992) ana proteindir. Cav1 belki de caveolae (Nystrom ve ark. 2013) insulin reseptörlerini dengeleyerek insulin sinyalizasyonunu aktive eder. Cav1 ve Cav3'e yapı alanı olarak karşılık veren peptitler insulin-reseptör kinaz aktivitesini (Yamamoto 1998) uyarır. Üstelik Cav3'ün over ekspresyonu insulin reseptör substratının insulin kaynaklı fosforilasyonunu artırmaktadır ve hepatik insulin reseptör fosforilasyonunun insulin stimülasyonuna karşılık vermeme durumunu artırır. Böylece diyabetik farelerde genel glikoz metabolizmasını geliştirir (Otsu ve ark.2009). Cav1-değersiz farelerde normal beslenme fenotipikal olarak normaldir ama azalmış insulin reseptör ekspresyonu nedeniyle yüksek yağa sahip beslenme durumunda insulin direnci geliştirmektedir ve adipoz dokusunda insulin reseptör sinyalizasyonu azalmıştır (Cohen ve ark.2003).

İnsulin sinyalizasyonunun miR-103/107 kaynaklı Cav1 ekspresyonuyla korelasyona sahip olup olmadığının araştırıldığı bir çalışmada bu proteinin iskelet kaslarında herhangi bir ekspresyonu tespit edilmemişken, ob/ob farelerin karaciğer ve yağ dokularında miR103/107'nin baskılanıp Cav1 seviyelerinin artması ile sonuçlanmıştır. Ek olarak, yağ hücresine ad-miR-107 enjekte edilen doğal fenotip farelerde Cav1 ekspresyon azalımı gösterilmiştir. Gelişmiş insulin duyarlılığının baskın katkı sağlayanının miR-103 baskılanımı olduğuna işaret etmektedir. İnsulin duyarlılığını regüle eden bu mRNA'lar tarafından bir mekanizma Cav1'i hedef almaktadır ki böylece caveolae-zengin plazma membran mikro alanlarındaki insulin reseptörleri azalmakta ve insulin sinyalizasyonunun düşürmektedir. Büyük ölçüde muhtemeldir ki Cav1 aynı zamanla fenotipe katkı sağlayan diğer etkilere aracılık etmektedir. Çünkü bu protein büyüme-faktörlü sinyalizasyonda, endositotik yollar ve lipid regulasyonunda birçok fonksiyona sahiptir (Parton ve Simons 2007). Obez hayvanlarda miR-103/107'nin baskılanımının glikoz homeostasisini geliştirdiğini gösteren bu bulgular diyabet tedavisinin amaçlarında yeni terapötik yollar olarak bu mikoRNA'ları işaret etmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Vakaların Oluşturulması

Bu çalışma 5-17 yaşları arasında 40 (erkek: 18, kadın: 22) obez çocuk ile 5-17 yaşları arasında 40 (erkek: 20, kadın: 20) sağlıklı normal kilolu çocuklar üzerinde gerçekleştirildi. Tüm ölçümler aynı hekim tarafından Konya Eğitim Araştırma Hastanesi Çocuk Endokrin Hastalıkları kliniği'nde yapıldı. Çalışmaya katılan tüm çocuklarda birinci ve ikinci derece akrabalarında kan basıncı yüksekliği, kalp-damar hastalığı, şişmanlık, tip 2 DM, polikistik over hastalığı, yağ metabolizmasında bozukluk varlığı ayrıntılı olarak kaydedildi. Ayrıca, katılımcıların hepsinde yaşa ve kol uzunluğuna uygun civalı sfigomanometre kullanılarak kan basıncı ölçümü ve ayrıntılı fizik muayene yapıldı.

Boy ölçümü: Stadiyometre kullanılarak, olguların ayakları çıplak ve birleşik olarak arkalarındaki stadiyometreye baş arkası sırt, kalça, ayak topuklarının arkasının değmesi ve dik bir şekilde sabit durmaları sağlanarak yapıldı. Çene mandibula köşesinden hafifçe yukarı doğru kaldırılarak, göz ile kulak kepçesi üst kısmı arasından geçirilen çizginin yere paralel olmasına dikkat edilerek başın üzerinden ayak tabanına kadar olan uzunluk ölçüldü. Tartı ölçümü: Taşınabilen hassas elektronik bir baskül düz bir zeminde sıfıra ayarlandıktan sonra sabah aç karnına ince iç çamaşırli olacak şekilde yapıldı. VKİ hesaplanması: Boy ve ağırlık ölçüleri kullanılarak, ağırlık (kg)/boy<sup>2</sup> (m<sup>2</sup>) formülüyle VKİ hesaplandı. Tüm olgular için VKİ percentili  $\leq 85$ . percentil olanlar normal, 85-95.percentil olanlar fazla kilolu,  $\geq 95$ . percentil olanlar obez olarak kabul edildi (Bundak ve ark.2006).

Standart deviasyon skoru (SDS) hesaplanması: Tartı, boy ve VKİ değerleri için SDS hesaplaması LMS yöntemiyle yapıldı. Bu yöntemde  $z = \frac{[\text{ölçülen değer}/M]L - 1}{LS}$  formülü kullanılarak (L: eğrinin başlangıç değeri, M: medyan değer, S: değişkenlik katsayısı), ölçülen değer yerine sırasıyla olguların tartı (kg), boy (cm), VKİ (kg/m<sup>2</sup>) değerleri getirilmek suretiyle her olgu için ilgili antropometrik değerlerin SDS hesaplandı (Bundak ve ark.2006; Neyzi ve ark.2006). İnsülin direncinin homeostaz model değerlendirmesi (HOMA-IR) açlık serum glukozu (mmol L) x

açlık serum insülin ( $\mu\text{U ml}$ ) / 22.5 olarak hesaplandı. HOMA-IR skorları  $\geq 2.5$  insülin direnci göstermek için kabul edildi (Matthews ve ark.1985).

Kontrol vakaları klinik hiçbir şikayeti ve bulgusu olmayan gönüllü sağlıklı normal kilolu çocuklar arasından seçildi ve VKİ persentili  $\leq 85$ . persentil olanlar çalışmaya alındı. Çalışmaya katılan bütün çocukların ebeveynlerinden kan alınmadan önce yazılı onayları alındı ve sözlü olarak bilgilendirme yapıldı. Çalışma için Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Etik Kurulu'ndan onay alındı.

Hastalardan 12-14 saat açlık sonrası sabah saatlerinde EDTA'lı tüplere, düz tüplere ve PAX gene RNA tüplerine (Qiagen, Valencia, CA, USA) yeterli miktarda kan örnekleri alındı. Düz tüplere alınan kan örnekleri pıhtılaştıktan hemen sonra bekletilmeden santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. EDTA'lı tüplerde bekletilmeden santrifüj edildi ve plazmaları ayrıldı. Serum, plazma ve PAX gene RNA tüplerine alınan örnekler çalışma gününe kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Plazma örneklerinde HbA1c serum örneklerinde açlık glukoz, insülin ve lipid paneli, PAX gene RNA tüplerinde ise miR-103 ve miR-107 düzeyleri çalışıldı.

### ***3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Deney Ekipmanları***

- Roche High pure miRNA izolasyon kiti
- miRCURY universal cDNA sentez kiti
- Exiqon SYBR Green Master Mix
- SNORD 48 Referans Gen Primerleri
- Hedef miRNA Primerleri
- Roche LightCycler 480 II Real Time PCR Sistemi
- Roche LightCycler 480 Multiwell Plate
- 1,5 ml eppendorfler
- 10 ul, 20 ul, 100 ul, 200  $\mu\text{l}$  ve 1000 $\mu\text{l}$  pipet ve pipet uçları
- 13.000g çalışabilen eppendorf santrifüjü

### 3.2. Yöntem

RNA lüteri tüpünün içerisinde -20°C de saklı tam kandan 150 µl. alınarak içerisinde 312 µl binding buffer ve 200 µl binding enhancer eklendi. Kan filtreli tüpe aktarıldıktan sonra 13.000g de 45 sn. santrifüje edildi. Daha sonra üzerine 500 µl wash buffer eklendi. 13.000g de 30 sn. santrifüje edildi. Üzerine 300 µl wash buffer eklendi. 13.000 g de 30 sn. santrifüje edildi. Daha sonra maksimum devirde 1 dk. santrifüje edildi ve filtreli tüpler eppendorf tüplerinin içine kondu. İçerisine 75 µl elution buffer eklenerek 13.000 g de 1 dk. santrifüje edildi. Total RNA eldesi yapıldı.

#### 3.2.1. Universal cDNA Sentez Kiti

Sentetik spike-in liyofilize halde bulunmakta olup 40 µl PCR grade water ile sulandırıldı. Çalışma öncesi 15 dk. Buz üzerinde tutuldu.

##### 3.2.1.1. cDNA Yapımı İçin Mix Protokolü

Elde edilen RNA'ların Komplementer DNA'ya (cDNA) dönüştürülmesi için miRCURY universal cDNA sentez kiti kullanıldı. Sentezin gerçekleşmesi için gerekli olan bileşenler, 5x reaksiyon buffer, Nükleaz free water, Enzyme mix, Sentetik spike-in olarak üretici firmanın miRCURY universal cDNA sentez kiti için hazırlanmış olduğu kılavuzdaki tavsiyelerine uyularak gerekli hacimlerde hazırlanarak oluşturuldu. Oluşturulan cna sentez mix'inin 16 ul'lik hacmine elde edilen total RNA'lardan 4'er ul eklenerek Total Volume hazırlandı.

**Tablo 3.1: cDNA Yapımı İçin Mix Protokolü**

5x reaksiyon buffer	4 µl
Nükleaz free water	9 µl
Enzyme mix	2 µl
Sentetik spike-in	1 µl
Total RNA	4 µl (5ng/µl)
Total Volume	20 µl

### 3.2.1.2. cDNA Yapımı İçin Isı Protokolü

Hazırlanan cDNA sentez mix ve RNA karışımları yine üretici firmanın miRCURY universal cDNA sentez kiti için hazırlamış olduğu kılavuzda ki tavsiyelerine uyularak aşağıda ki ısı ve sürelerde işlem görmek üzere Light Cyler 480 sistemine ait 96 kuyucuklu plate üzerine yüklendi.

- 42 °C de 60 dk.
- 95 °C de 5 dk.
- +4 °C de saklama veya -20 °C de saklama

Uygulanan protokol sonrasında cDNA'lar elde edildi. Elde edilen cDNA lar PCR aşaması öncesi 1:80 oranında PCR grade water ile seyreltildi. Hazırlanan karışımlar Light Cyler 480 sistemine ait 96 kuyucuklu plate üzerine yüklendi. SNORD48 PCR

Primer mix 220 µl nükleaz free water ile sulandırıldı. Hsa-miR-122 PCR Primer mixler ise 110 ar µl nükleaz free water ile sulandırıldı.

### 3.2.1.3. Real Time PCR Mix Protokolü(Housekeeping gen/ Referans gen)

cDNA'ların referans gen açısından amplifikasyonunu sağlamak ve ilgili bölgeleri işaretlemek amacıyla SYBR Green Master Mix ve SNORD48 Pcr Primer Mix'leri üretici firmanın tavsiyelerine uyularak aşağıda ki protokole göre hazırlandı.

**Tablo 3.2: Pcr Primer Mix Protokol**

SYBR Green Master Mix	5µl
SNORD48 PCR Primer mix	1µl
1/80 sulandırılmış cDNA	4µl
Total Volume	10µl

### 3.2.1.4. Real Time PCR Mix Protokolü (Target gen/Hedef gen)

cDNA'ların hedef gen açısından amplifikasyonunu sağlamak ve ilgili bölgeleri işaretlemek amacıyla SYBR Green Master Mix, Hsa-miR-122 PCR Primer

Mix (forward) ve Hsa-miR-122 PCR Primer Mix'leri (reverse) üretici firmanın tavsiyelerine uyularak aşağıda ki protokole göre hazırlandı.

**Tablo 3.3: Real Time PCR Mix Protokolü**

SYBR Green Master Mix	5 µl
Hsa-miR-103 ve Hsa-miR-107 PCR Primer Mix (Forward )	0,5 µl
Hsa-miR-103 ve Hsa-miR-107 PCR Primer Mix (Reverse)	0,5 µl
1/80 sulandırılmış cDNA	4µl
Total volüm	10 µl

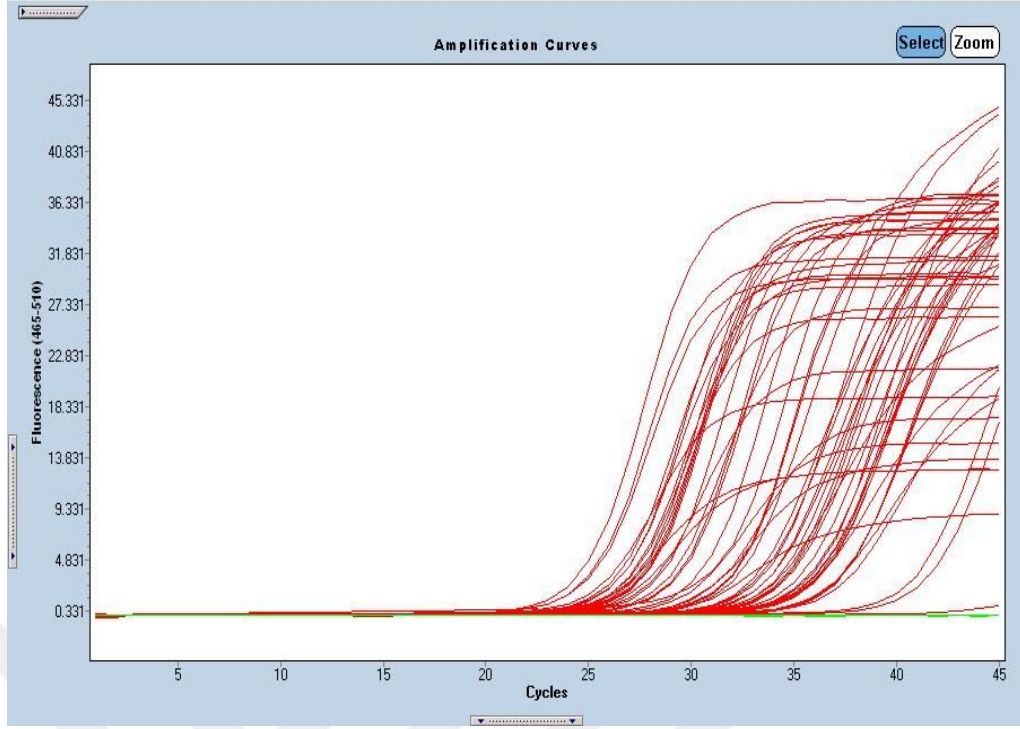
### 3.2.1.5. Real Time PCR Isı Protokolü

Hazırlanan Referans Gen Real Time PCR Mix'leri ve Hedef Gen Real Time PCR Mix'leri uygun cDNA'lar ile Light Cyler 480 Sistemine ait 96 kuyucuklu plate'ler üzerinde biraraya getirildikten sonra aşağıda ki Isı Protokolü ile Light Cyler 480 Sisteminde Real Time PCR için işleme alındı.

**Tablo 3.4: Real Time PCR Isı Protokolü**

#### **DET.FORMAT: SYBR Green I / HRM Dye (465-510)**

<b>Denaturasyon</b>	95°C de 10 dk.
<b>Amplifikasyon</b> Bu döngü 45 kez sağlanır.(45 cycle, Ramp-rite 1,6°C/sn, saniyedeki ısı değişimi)	95°C de 10 sn. 60°C de 1 dk. Okuma
<b>Melting Curve</b>	95°C de 30 sn. 40 °C de 1 dk. 85 °C de continue(Acquisitions 3 per/°C)
<b>Cooling</b>	40 °C de 1 dk.



Şekil 4: Hasta ve Kontrollere Ait Amplifikasyon Eğrileri

### 3.2.2. İstatistiksel Analiz

İstatistiki analiz SPSS 16.0 programı kullanılarak yapıldı. Çalışmamızda gruplara ait sonuçlar  $X \pm SD$  olarak verildi.  $p < 0.05$  önemli olarak değerlendirildi. Gruplar arası farklılığı karşılaştırmak amacıyla yaptığımız One-Sample Kolmogorov-Smirnov Testi ile elde ettiğimiz değerlendirmede verilerden parametrik test yapmaya uygun olduğu tespit edilen Body Mass İndex (BMI), BMI SDS, ağırlık, boy, ağırlık SDS, boy SDS, glukoz, T-kolesterol, HDL, LDL ve HbA1c için "Independent-Samples T testi" uygulandı.

Nonparametrik test yapmaya uygun olan BMI-p, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, TG, insulin, HOMA-IR, miR 103 ve miR 107 için "2 Independent-Samples" (Mann-Whitney U test) testi uygulandı. Çalışmamıza ait parametreler arası korelasyon "Spearman korelasyon testi" ile yapıldı.



#### 4. BULGULAR

Obez ve kontrol grubuna ait demografik özellikleri içeren veriler Tablo 4.1’de verilmiştir. Tablo 4.1’den görüldüğü gibi obez grubuna ait ağırlık, ağırlık SDS, BMI, BMI-persentil (BMI-p), BMI SDS, sistolik kan basıncı ve diastolik kan basıncı kontrol grubuna göre önemli derecede ( $p<0.001$ ) yüksek, boy SDS ise kontrol grubuna göre önemli derecede ( $p<0.05$ ) düşük bulunmuştur. Obez ve kontrol vakalarına ait cinsiyet ve yaş da önemli bir istatistiki fark bulunamadı.

**Tablo 4.1: Obez ve kontrol grubunun demografik özellikleri**

	<b>Kontrol (n = 40)</b>	<b>Obez (n = 40)</b>	<b>P</b>
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	20 / 20	22 / 18	0.333
Yaş (yıl)	14.29 ± 1.6	14.41 ± 1.3	0.728
Ağırlık (kg)	48.23 ± 7.5	86.59 ± 17.1	$p<0.001$
Ağırlık SDS	-0.63 ± 1.2	2.88 ± 1.2	$p<0.001$
Boy (cm)	158.64 ± 11.3	161.45 ± 6.5	0.180
Boy SDS	-0.65 ± 1.2	-0.09 ± 1.1	0.038
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	19.12 ± 2.1	33.92 ± 6.7	$p<0.001$
BMI-p	25.52 ± 26.9	99.07 ± 1.2	$p<0.001$
BMI SDS	-0.76 ± 1.0	2.81 ± 0.7	$p<0.001$
Sistolik kan basıncı (mmHg)	100.75 ± 8.8	121.38 ± 15.4	$p<0.001$
Diastolik kan basıncı (mmHg)	60.87 ± 6.1	76.00 ± 11.1	$p<0.001$

Obez ve kontrol grubuna ait biyokimya parametreleri ile insülin direncinin bir göstergesi olarak kabul gören HOMA-IR değerlerini içeren tablo 4.1’de verilmiştir. Tablo 4.2’de görüldüğü gibi obez grubuna ait glukoz ( $p<0.01$ ), insülin ( $p<0.001$ ), total kolesterol ( $p<0.05$ ), trigliserit ( $p<0.01$ ), LDL-kolesterol ( $p<0.05$ ) ve HOMA-IR ( $p<0.001$ ) değerleri kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek, HDL-kolesterol seviyeleri ise kontrol grubuna göre önemli derecede ( $p<0.01$ ) düşük bulunmuştur. Obez ve kontrol vakalarına ait HbA1c seviyeleri arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunamadı.

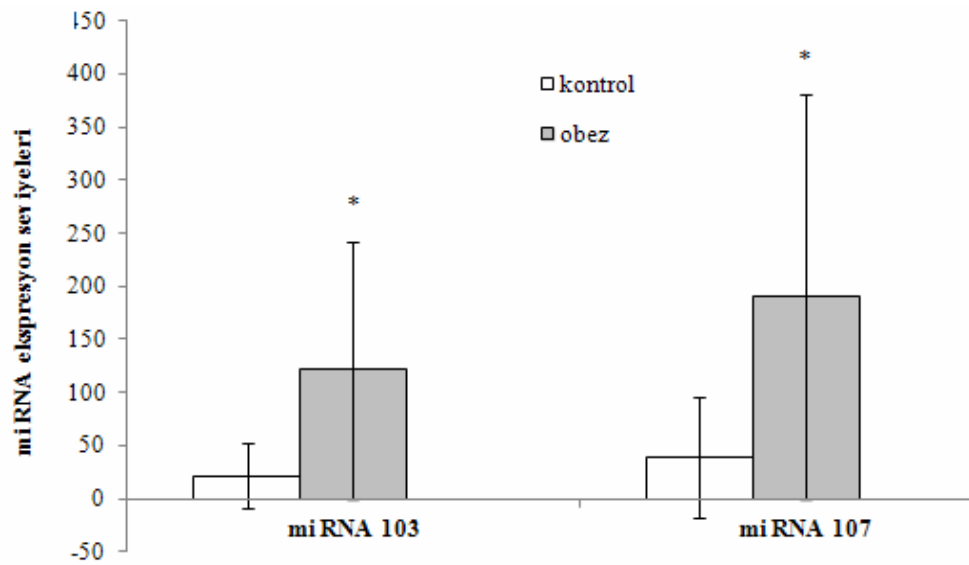
**Tablo 4.2: Obez ve Kontrol Grubuna Ait Bazı Biyokimya Parametrelerinin Seviyeleri ve HOMA-IR Değerleri**

	<b>Kontrol (n = 40)</b>	<b>Obez (n = 40)</b>	<b>p</b>
Glukoz (mg/dL)	82.97 ± 11.6	89.07 ± 6.8	0.006
İnsülin (µU/mL)	10.09 ± 4.8	17.65 ± 9.5	p<0.001
HOMA-IR	2.19 ± 1.1	3.59 ± 1.8	p<0.001
HbA1c	4.97 ± 0.9	5.25 ± 0.6	0.138
Total Kolesterol (mg/dL)	156.13 ± 42.1	175.32 ± 32.1	0.026
Trigliserit (mg/dL)	81.41 ± 43.7	121.80 ± 73.7	0.004
HDL-kolesterol (mg/dL)	50.31 ± 8.7	44.60 ± 9.3	0.006
LDL-kolesterol (mg/dL)	89.53 ± 38.9	106.19 ± 27.9	0.033

Obez ve kontrol gruplarına ait mikroRNA bulguları tablo 4.3. ve şekil 5’de verilmiştir. Tablo 4.5.’den görüldüğü gibi, obez grubuna ait mikroRNA 103 ve mikroRNA 107 değerleri kontrol grubuna göre önemli derecede (p<0.001) yüksek bulunmuştur.

**Tablo 4.3: Obez ve Kontrol Grubuna Ait miRNA Değerleri**

	<b>Kontrol (n = 40)</b>	<b>Obez (n = 40)</b>	<b>p</b>
miRNA 103	21.22 ± 30.7	121.64 ± 120.9	p<0.001
miRNA 107	39.21 ± 56.3	190.56 ± 190.4	p<0.001



**Şekil 5: Obez ve Kontrol Grubuna Ait miRNA Ekspresyon Seviyeleri (\*p<0.001)**

Obez grubuna ait miRNA 103 ve miRNA 107 değerleri ile obezite ve insülin direncinin değerlendirilmesinde kullanılan parametreler arasındaki korelasyonlar tablo 4.4. Tablo 4.5.'de verilmiştir. Tablo 4.4.'de görüldüğü gibi obez kişilerde miRNA 103 ile BMI ( $p<0.001$ ), BMI-p ( $p<0.01$ ), BMI SDS ( $p<0.01$ ), insülin ( $p<0.01$ ) ve HOMA-IR ( $p<0.01$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif korelasyon bulundu. Glukoz ve HbA1c ile miRNA 103 arasında ise anlamlı bir korelasyon bulunamadı. Tablo 4.5.'da görüldüğü gibi obez kişilerde miRNA 107 ile BMI ( $p<0.01$ ), BMI SDS ( $p<0.05$ ), insülin ( $p<0.05$ ) ve HOMA-IR ( $p<0.05$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif korelasyon bulundu. BMI-p, glukoz ve HbA1c ile miRNA 107 arasında ise anlamlı bir korelasyon bulunamadı.

Kontrol grubuna ait miRNA 103 ve miRNA 107 değerleri ile obezite ve insülin direncinin değerlendirilmesinde kullanılan parametreler arasında da önemli bir korelasyon bulunamadı.

**Tablo 4.4: Obez Grubuna Ait miRNA 103 Değerleri ile Obezite ve İnsülin Direncinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Parametreler Arasındaki Korelasyonlar**

Parametreler	miRNA 103	
BMI	$r=0.565$	$p<0.001$
BMI-p	$r=0.421$	$p=0.008$
BMI SDS	$r=0.433$	$p=0.006$
Glukoz	$r=0.184$	$p=0.270$
İnsülin	$r=0.447$	$p=0.005$
HOMA-IR	$r=0.426$	$p=0.009$
HbA1c	$r=-0.048$	$p=0.791$

**Tablo 4.5: Obez Grubuna Ait miRNA 107 Değerleri ile Obezite ve İnsülin Direncinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Parametreler Arasındaki Korelasyonlar**

Parametreler	miRNA 107	
BMI	$r=0.431$	$p=0.006$
BMI-p	$r=0.298$	$p=0.066$
BMI SDS	$r=0.340$	$p=0.034$
Glukoz	$r=0.041$	$p=0.807$
İnsülin	$r=0.391$	$p=0.015$
HOMA-IR	$r=0.376$	$p=0.022$
HbA1c	$r=-0.063$	$p=0.727$

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Obezite hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde prevalansı artan, erişkinleri olduğu kadar, giderek çocukları da etkileyen kronik bir hastalıktır. Günümüzde obezitenin görülme sıklığı her yaş grubunda artmaktadır. Çocuk ve adolesanlarda obezite prevalansı ve ciddiyeti giderek artmaktadır. Kısa ve uzun vadeli araştırmalar obezite ve ilişkili hastalıkların artışına dikkat çekerek obezitenin çocuk ve adolesanlar için ciddi bir halk sağlığı sorunu olduğunu belirtmektedir. Bunun nedeni modern yaşamın getirdiği beslenme alışkanlıklarında yağların ve karbonhidratların fazla miktarda tüketilmesi ve çocukların fiziksel aktiviteden uzaklaşarak televizyon ve bilgisayar oyunlarına yönelmeleridir. Çocukluk çağında başlayan obezitenin erişkin dönemde de devam etmesi ve sağlık için risk oluşturması söz konusudur (Zametkin ve ark.2004).

Çocukluk çağı obezitesindeki bu artışa paralel olarak tip 2 diyabet, metabolik sendrom, hipertansiyon gibi daha çok erişkinlerde görülen kronik hastalıklar, çocukluk çağında da önemli bir sorun haline gelmektedir. Obezite ile diyabet arasında ve daha az derecede kardiyovasküler hastalıklar arasında kuvvetli bir ilişki mevcuttur. Çocuklarda insülin direncinin en büyük sebebi obezitedir. Periferik dokularda insülin duyarlılığının azalması sonucu, glukozun dokularda kullanımı ve glikojene dönüşümünün yetersiz hale gelmesi ve insülin düzeyi artmasına rağmen yeterli etkinin görülmemesi durumu, insülin direnci olarak tanımlanmaktadır. Geçmiş yıllarda tip 2 diyabet bir çocuk hastalığı olarak düşünülmezken, son 10 yılda özellikle obez adolesanlarda bu sorun giderek artmaktadır (Zametkin ve ark.2004; Williams ve Mitchell 2012).

Lipid metabolizması sıkı bir şekilde hücre düzeyinde düzenlenmektedir. Yapılan çalışmalarda mikroRNA'ların yağ asit oksidasyonu, lipogenez ve kolesterol homeostazisini de içeren lipid metabolizması ile ilgili genleri düzenlediği tespit edilmiştir. MikroRNA'ların varlığı ve hedef genlerle olan interaksiyonlarının doğrulanması ile organizmada gelişim hastalık ve diğer hücreyel olaylar esnasında tüm mikroRNA'ların fonksiyonlarının bulunmasında önemli bir nokta olacağı düşünülmektedir. Obez fareler üzerinde yapılan çalışmalarda miR-103 ve miR-107'nin insülin duyarlılığında önemli bir role sahip olduğu bulunmuştur. miR-103/107 susturulması glukoz homeostazı ve insülin duyarlılığına düzelmeye yol

açmıştır. İnsülin sinyalindeki defektler tip 2 diyabet gelişmesi için en yaygın ve en erken kusurlar arasında yer almasına bağlı olarak, bu bulgular mikroRNA'ların tip 2 diyabetin tedavisinde potansiyel hedefler temsil ettiğini ortaya koymuştur (Wilfred ve ark.2007; Xu ve ark.2013).

Çalışmamızda obez grubuna ait miR 103 ve miR 107 değerleri kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek bulunmuştur. Yine çalışmamızda obez kişilerde miR 103 ve miR 107 ile BMI, insulin ve HOMA-IR arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif korelasyon bulunmuştur. Literatürde bizim bulgumuzu destekleyen bir çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan bazılarının da miRNA'ların adiposit farklılaşmasını hızlandırdığı tanımlanmıştır (Xie ve ark.2009; Gerin ve ark.2010; Qin ve ark.2010; Kajimoto ve ark.2006). miR-103, insan preadipositlerin farklılaşması sırasında seviyesinin arttığı bildirilmiştir. miR-103'ün adipojenik stimülasyonun varlığında aşırı eksprese olduğu ve bununla beraber adipogenesisin hızlandığı, adipojenik gen ekspresyonu ve artmış trigliserid birikimi olduğu gösterilmiştir (Xie ve ark.2009).

İn vivo miR-103'ün obez farelerdeki olgun adipositlerde downregüle olduğu tespit edilmesine rağmen (Xie ve ark.2009), bazı çalışmalarda obez insan adipoz dokusunda miR-103 upregüle olduğu gösterilmiştir (Martinelli ve ark.2010; Ortega ve ark.2010). Çalışmalar arasındaki tutarsızlık büyük olasılıkla fare ve insanlar arasındaki yağ depoları farklılıklarından dolayı gibi gözükmektedir. Adipogenesis ve obezite de miR-103 rolünü anlamak için elbette daha bir çok deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır.

miR-103 ve miR-107'nin enerji metabolizmasında rolü olduğu düşünülmektedir. Bu mikroRNA'lar son derece korunmuş ve pantotenat kinaz (PANK) geni içinde yer almaktadır. miR-103 genleri, iki olgun miRNA'lardan oluşturulur (miR-103 (1) ve miR-103 (2) halbuki, miR-107 sadece miR-107 geninden oluşturulur. PANK, çeşitli metabolik yollarda yer alan çok sayıda enzimlerin önemli bir kofaktörü olan koenzim A (CoA)'nın oluşumu sırasında pantotenat fosforilasyonun hız sınırlayıcı basamağını katalize eder. Traykovski ve ark. (2011) yaptıkları çalışmalarında, obez farelerde yüksek miR-103/107 ifadesi ve obezite arasındaki bağlantıyı araştırmışlardır. Bu çalışmada, miR-103/107 doğrudan bir hedef gen olarak, insülin alıcısının önemli bir düzenleyicisi olarak caveolin-1'in

önemli rolü olduğu tespit edilmiştir. İnsülin reseptörünün stabilizasyonuna yol açan artmış caveolin-1 ekspresyonu adipositlerdeki miR-103/107'nin azalmış düzeyleri, artmış insülin sinyali, azalmış adiposit boyutu ve artmış insülin ile uyarılan glukoz alımına sebebiyet vermiştir. Bu bulgular bizim bulgularımızı da destekler mahiyette miR-103/107'in insülin direncinde merkezi önemi olduğunu göstermektedir.

Birçok çalışmada bildirildiği üzere, miR-143, miR-103 ve miR-107'nin adiposit farklılaşmasını düzenlediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu mikroRNA'ların ekspresyonu obez ve genetik olarak insülin direnci olan fare modelinde (ob / ob) downregüle olduğu bulunmuştur. Muhtemelen, bir enflamatuar yol aracılığıyla modelin patolojisinin bir parçası olarak uyarıldığı düşünülmektedir (Xie ve ark.2009)

İnsülin direnci, obezite ile ilişkili artmış hepatik lipogenesis ve steatoz ile bağlantılı bulunmuştur (Leavens ve Birnbaum, 2011). Ayrıca, glukoz homeostazisinin enerji ihtiyaçlarını karşılama ve metabolik kontrolde önemli rol oynayan adipoz doku ve karaciğer arasında yağ/metabolit trafik ve sinyal karmaşıklığı söz konusu olabilmektedir.

MikroRNA'ların obezite ile ilişkili yağlı karaciğer hastalıklarında düzensiz olup olmadığını belirlemek için, Traykovski ve ark. leptin eksikliği (ob / ob) ve diyetle bağlı obez farelerin karaciğer dokusunda miRNA ekspresyonunun DNA mikroarray analizini yapmışlar. Bazı miRNA'ların düzenli olarak yem ile beslenmiş fareler ve vahşi tip farelerle karşılaştırıldığında up veya down regüle olduğu gösterilmiş iken, çalışmacılar obez farelerin karaciğerinde miR-103/107'nin aşırı eksprese olduğunu tespit ettiler. miR-103/107'nin ekspresyonu yağlı karaciğer hastalığında ve alkolsüz steatohepatitli insanların karaciğerinde dahi ılımlı bir şekilde arttığını buldular (Näär 2011; Traykovski ve ark. 2011).

Yine aynı araştırmacılar miR-103/107 gerçekten insülin duyarlılığı düzenlenmesi ile ilişkili olup olmadığını test etmek için, adenovirüs enjeksiyonu ile fare karaciğerinde miR-107'nin aşırı ekspresyonuna sebep oldular, buda yüksek açlık glukoz ve insülin seviyeleri ile bozulmuş glukoz toleransı ve insülin duyarlılığı ve artan hepatik glukoz üretimi ile sonuçlandı. Tersine, karaciğer ve yağ dokuda miR-103/107'nin ekspresyonunun obez farelerde susturulması ile anormal glukoz homeostazi ve obezite ile ilişkili insülin direncinin düzeldiği gözlemlendi. Dahası,

yüksek miR-103/107 seviyelerinin deneklerdeki, homeostatik model değerlendirme (HOMA) değeri ile korele olduğu bulunmuştur. Potansiyel olarak, insanlarda insülin direnci ile bu miRNA'lar bağlantısı olduğu ifade edilmiştir (Traykovski ve ark.2011).

Karaciğer ve adipoz dokuların karmaşık metabolik etkileşiminden dolayı, araştırmacılar miR-103/107'nin adipoz seçici fonksiyonlarının insülin/glukoz duyarlılığının düzenlenmesine katkıda olabileceği olasılığını incelediler. Gerçekten de, araştırmacılar insülin sensitivitesi ve glukoz homeostazinde değişme ile sonuçlanan adipoz dokudaki miR-103/107 düzeylerinde manipulasyon buldular. Bir dizi çalışmada, insülin sensitivitesinin (daha iyi, daha küçük) adipositlerin büyüklüğü ile ilişkili olduğu gösterildi. Buna göre, obez farelerde (DIO ve ob / ob) miR-103 / 107'nin susturulması adipositlerde küçülme ve yağ hücresi boyutunda bir azalmaya neden olmuştur ve buna izole edilmiş adipositlerde artmış insülin ile uyarılan glukoz alımı eşlik etmektedir. Ek olarak, antagomir enjeksiyonu ile obez farelerin adipositlerinde gıda alımında bir değişiklik olmadan, yüksek O<sub>2</sub> tüketimi ve artan vücut sıcaklığı ile kanıtlanmış, artmış metabolik üretim ile ilişkili yağ asit β-oksidasyon genlerinin ekspresyonunda artış gözlemlenmiştir. Bu farelerin karaciğerinde yüksek miR-103/107'nin fonksiyonel sonuçları daha az netken, leptin eksik ve DIO farelerdeki veriler desteklemektedirki, bu miRNA'ların adipoz ile ilgili etkileri glukoz seviyeleri/homeostatik insülinin önemli bir düzenleyicisidir. Bununla birlikte, bu sonuçlar miR-103/107'nin obezite bağlamında glukoz homeostazi ve insülin duyarlılığı düzenlenmesi açısından çok önemli olduğunu desteklemektedir (Näär 2011).

İnsülin/glikoz dengesini miR-103/107 nasıl kontrol edebilir? miRNA'lar genellikle esas da 3 'UTRs ile mRNA'ların yüzlercesinin düzeyleri ve/veya translasyonunu düzenlerler. DNA mikroarray analizi ile takip edilen bir çalışmada glukoz homeostasisi/insülin duyarlılığı üzerine miR-103/107 etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma, miR-107'nin potansiyel bir hedef olarak, fiziksel ve fonksiyonel olarak insülin sinyal yolu ile etkileşim içinde olan bir protein olan caveolin-1'i ortaya çıkarmıştır (Yamamoto ve ark. 1998).

Caveolin-1, caveolae olarak adlandırılan plazma zarı domainlerinin üretim ve onarımı için merkezi rolü olan bir proteindir (Parton and Simons, 2007). Bu kolesterol/sphingolipid zengin "küçük mağaralar" veya plazma membranındaki

invajinasyonları, endositozda ve insülin sinyalizasyon dahil olmak üzere hücre dışı sinyal iletim olaylarının bir numaralı kolaylaştırıcısı olarak önemli rol oynamaktadır. Hücre ve hayvan model sistemlerinin birçoğu kullanılarak, araştırmacılar yaptıkları çalışmalarında miR-103/107'nin aşırı ekspresyonu ile insülin reseptörünün fosforilasyonuna eşlik eden etkisi ile caveolin-1 ekspresyonunun modülasyonunda bir antagonize etki gösterdiler. Caveolin-1'den yoksun fareler kullanılarak yağ doku ve karaciğerde insülin sinyalizasyon ve glukoz homeostazisindeki miR-103/107'nin etkileri gösterilmek istendi fakat hayvanlar kaybedildi. Bu çalışmaların bir uyarısı, caveolin-1'den yoksunluğun hayvan homeostazisindeki etkilerinin kolesterol / lipid metabolizması veya caveolae-bağımlı sinyal yolları üzerine pleiotropik etkilere sahip olabilmesidir (Parton and Simons, 2007) ve insülin sinyali / glukoz metabolizmasını bağımsız bir şekilde modüle edebilmesidir. Bu bulgular destekliyorki caveolin-1'in hedefindeki mikroRNA'lar insüline duyarsızlıkta bir hücre için kritik öneme sahip ve miR-103/107 düzensizliği potansiyel olarak obezite ile ilişkili metabolik anormalliklere katkıda bulunmaktadır.

Sonuç olarak, miRNA'ların birçoğunun hayvan gelişimi veya fizyolojisinde rehberlik eden yollarının birden fazla bileşenini koordineli bir şekilde düzenlediği gösterilmiştir. Bu miRNA'lardan miR-103/107'nin insülin cevabı ve glukoz/enerji homeostazisinin modülasyonunu içeren ilave genlerin ekspresyonunu kontrol etmesi dikkat çekmektedir. Dahası, miR-130/107'nin çeşitli metabolik proseslerde anahtar kofaktör olan koenzim-A'nın üretimi için önemli olan pantotenat kinaz (PANK) konak genleri ile fonksiyonel olarak bağlantılı bulunmuştur (Wilfred ve ark. 2007). Böylece, miR-103/107 fizyolojik homeostazisini yöneten birkaç iç içe metabolik devreleri entegre edebilir denebilmektedir.

Yukarıdaki literatür bilgileri ve bizim bulgularımız ışığında obez çocuklarda plazma miR-103/107 düzeylerinin arttığını ve bu mikroRNA'ların insülin ve insülin direncinin değerlendirilmesinde kullanılan parametre HOMA-IR ile pozitif korelasyon gösterdiğini söyleyebiliriz. Şüphesiz karmaşık olmasına rağmen, diğer miRNA'lar ile birlikte miR-103/107 sistemi, insülin direnci için tedavi yaklaşımına bir yol sunabilir ve ister normal fizyolojide olsun, ister insan hastalığında olsun, metabolik homeostazisin anlaşılması için heyecan verici bir ilerlemeye ışık tutabilir. miR-103/107'nin antisens tabanlı tedavi hedeflemesi metabolik sendrom ile ilişkili durumların tedavisi için yeni bir yol olabilir.



## 6. KAYNAKLAR

1. Cinaz P, Bideci A. Obesite (1 nd ed) Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoglu S (Ed.), Pediatrik Endokrinoloji Ve Oksoloji Dernegi Yayınları. Kalkan Matbaacılık, 2003: 487–505.
2. Alikashioglu A, Yordam N. Obesitenin tanımı ve prevalansı. Katkı pediatri dergisi. 2000; 21; 275-481.
3. Alikashioglu M, Tunçbilek E. Vücut ağırlığının düzenlenmesinde genetik faktörler. Katkı Pediatri Dergisi. 2000; 21: 507-12.
4. Altay İS, Obezite tedavisinde diyetin özellikleri V. Ulusal Pediatrik Endokrinoloji Kongre Kitabı. 2000, 64-7.
5. Aydın A, Koca F, Fıccıoğlu C, Cam H, Mıkla Ş. Çocukluk çağı obezitesi: İstanbul Çocuk Kliniği Dergisi. 1995; 30: 66-72.
6. Wilfred BR, Wang WX, Nelson PT, Mol Genet Metab. 2007; 91: 209–217.
7. Babak T, Zhang W, Morris Q, Blencowe BJ, Hughes TR. Probing microRNAs with microarrays: tissue specificity and functional inference. Rna. 2004;10(11):1813–9.
8. Baragan J, Fernandez-Camano F, Sozutek Y, Coblence B, Lenegre J. Chronic left complete bundle-branch block: Phonocardiographic and mechano cardiographic study of 30 cases. Br Heart J. 1968; 30: 196-202.
9. Baron RB. Nutritional support. Current Medical Diagnosis and Treatment. 2004; 1229-34.
10. Bartel, D. P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. Cell. 2009; 136: 215–233.
11. Baskerville S, Bartel DP. Microarray profiling of microRNAs reveals frequent coexpression with neighboring miRNAs and host genes. Rna. 2005; 11(3): 241–7.
12. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. Nature. 2001; 409: 363-366.
13. Bundak R, Furman A, Gunoz H, Darendereliler F, Bas F, Neyzi O. Body mass index for Turkish children. Acta Pediatr. 2006; 95: 194-8.
14. Caenorhabditid elegans'ın mikroskopik görüntüsü ([https://tr.wikipedia.org/wiki/Caenorhabditis\\_elegans](https://tr.wikipedia.org/wiki/Caenorhabditis_elegans) 2014)

15. Calin GA, Croce CM. Genomics of chronic lymphocytic leukemia microRNAs as new players with clinical significance. *Semin Oncol.* 2006; 33(2): 167–73.
16. Cheatham B, Kahn CR: Insulin action and insulin signaling network. *Endocr Rev.* 1995; 16: 117-21.
17. Cinaz P, Bideci A. Obezite. In: Günöz H, Ocal G, Yordam N, Kurtoğlu S (eds) *Pediatric Endocrinology Bölüm 12, 1. Baskı Ankara, 2003.*
18. Cinaz P. Obezite patogenezinde endokrinolojik mekanizma: V. Ulusal Pediatric Endocrinology Kongresi Kitabı Ekim 2000.
19. Cohen, A. W. et al. Caveolin-1-deficient mice show insulin resistance and defective insulin receptor protein expression in adipose tissue. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2003; 285: 222–235.
20. Costill DL. Muscle glycogen utilization during prolonged exercise on successive days. *J Appl Physiol.* 1997; 31: 834-8.
21. Curran JS, Barness LA. Obesity. In: Bherman RE, Kliegman RM, Janson HB. *Nelson Textbook of pediatrics.* (18 th ed) WB Saunders Co. Philadelphia 2007, pp 172-6
22. Damcı T, İlokva H. Obezitenin genetik etyopatogenezi. *Aktüel Tıp Dergisi.* 2001; 6: 30-2.
23. Dehwah MA, Xu A, Huang Q. MicroRNAs and type 2 diabetes/obesity. *J Genet Genomics.* 2012; 39(1): 11-8.
24. Dietz WH. Childhood obesity: susceptibility, cause and management. *J Pediatr.* 1983; 103: 676-86.
25. Elmen J, Lindow M, Schutz S. LNA-mediated microRNA silencing in non-human primates. *Nature.* 2008; 452: 896–9.
26. Esau C, Kang X, Peralta E, Hanson E, Marcusson EG, Ravichandran LV, Sun Y, Koo S, Perera RJ, Jain R, Dean NM, Freier SM, Bennett CF, Lollo B, Griffey R. MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation. *J Biol Chem.* 2004; 279(50): 52361–5.
27. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2006; 6: 259-269.
28. Fagot-Campagna, A. D. Pettit, Engelgau NM et al. Type 2 diabetes among North American children and adolescents: An epidemiological review and a public health perspective. *J Pediatr.* 2000; 136: 664-72.

29. Freedman D, Dietz W, Srinivasan S, Berenson G. The relation of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: The Bogalusa heart study. *Pediatrics*. 1999; 103: 1175-1182.
30. Gerin I, Bommer GT, McCoin CS, et al. Roles for miRNA-378/378\* in adipocyte gene expression and lipogenesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010; 299: 198–206.
31. Gibson LY, Byrne SM, Davis EA et al. The role of family and maternal factors in childhood obesity *MJA* 2007; 186: 591-5.
32. Goodman E, Hinden BR, Khandehval S. Accuracy of teen and parental reports of obesity and body mass index. *Pediatrics* 2000; 106: 52-8.
33. Gordon N. Pantothenate kinase-associated neurodegeneration (Hallervorden-Spatz syndrome). *EurJ Paediatr Neurol*. 2002; 6(5): 243–7.
34. Göncü N. Obezitenin endokrin sonuçları. *Katkı Pediatri Dergisi*. 2000; 21: 513-7.
35. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell*. 2005; 123: 631-640.
36. Gungor N, Arslanian SA. Nutritional disorders: integration of energy metabolism and its disorders in childhood". In *Pediatric Endocrinology* (2nd ed.) Sperling, Philadelphia: Saunders. 2002; 689–724.
37. Günöz H. Çocuk ve adölesanlarda obezite. *Aktüel Tıp Dergisi*. 2001; 6: 58-62.
38. Günöz H. Çocuk ve adölesan yaşlarda obezite. XXXVII Türk Pediatri kongresi, 14-18 Mayıs, İzmir 2000, 156-61.
39. Günöz H. Şişmanlık Bolum 6 İcinde: Neyzi O. (ed) *Pediatri Cilt 1 Baskı 3 İstanbul* 2002, 221-6.
40. H. Xie, B. Lim, and H. F. Lodish, "MicroRNAs induced during adipogenesis that accelerate fat cell development are downregulated in obesity," *Diabetes*, vol. 58, no. 5, pp. 1050–1057, 2009.
41. Hackl H, Burkard TR, Sturn A, Rubio R, Schleiffer A, Tian S, Quackenbush J, Eisenhaber F, Trajanoski Z. Molecular processes during fat cell development revealed by gene expression profiling and functional annotation. *Genome Biol* 2005; 6(13): 108.
42. Harada K, Orino T, Takada G. Body mass index can predict left ventricular diastolic filing in asymptomatic obese children. *Pediatric Cardiol*. 2001; 22: 273-8.

43. Harrell J, Mc Murray et al . The multiple metabolic syndrome in young adolescents. *Scientific Sessions Abstracts Supplement 102 (suppl 2)* 2000.
44. Harsha DW, Bray GA . Body Composition and childhood obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1996; 871-85.
45. Hayflick SJ. Unraveling the Hallervorden-Spatz syndrome: pantothenate kinase-associated neurodegeneration is the name. *Curr Opin Pediatr.* 2003; 15(6): 572–7.
46. Hennessy E, O'Driscoll L. Molecular medicine of microRNAs: structure, function and implications for diabetes. *Expert Rev Mol Med.* 2008; 1870-2835.
47. Herrera, B. M. et al. Global microRNA expression profiles in insulin target tissues in a spontaneous rat model of type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2010; 53: 1099–1109.
48. Huerta M, Bibi H, Haviv J. Et al. Parateral smoking and education as determinants of overweight in Israeli children. *Preventing Chronic Disease.* 2006; 2: 1-5.
49. Iere G, Wahli W, Michalik L. Functions of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)alpha and beta in skin homeostasis, epithelial repair, and morphogenesis. *J Investig Dermatol SympProc.* 2006;11(1): 30–5.
50. James PT. Obesity: The Worldwide epidemic. *Clin Dermatol.* 2004; 22: 276-80.
51. Leavens KF, Birnbaum MJ, *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2011; 46: 200–215.
52. Kahn CR. Knockout mice challenge our concepts of glucose homeostasis and the pathogenesis of diabetes. *Exp Diabetes Res.* 2003; 4: 169–182.
53. Kajimoto K, Naraba H, Iwai N. MicroRNA and 3T3-L1 pre-adipocyte differentiation. *Rna.* 2006;12(9): 1626–32.
54. Krutzfeldt, J. & Stoffel, M. MicroRNAs: a new class of regulatory genes affecting metabolism. *Cell Metab.* 2006; 4: 9–12.
55. Kulshreshtha R, Ferracin M, Wojcik SE, Garzon R, Alder H, Agosto-Perez FJ, Davuluri R, Liu CG, Croce CM, Negrini M, Calin GA, Ivan M. A MicroRNA Signature of Hypoxia. *Mol Cell Biol.* 2007; 27(5): 1859-67.
56. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science.* 2001; 294: 853–858.

57. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993; 75(5): 843–54.
58. Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*. 2003; 425: 415-419.
59. Lefebvre P, Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. Sorting out the roles of PPAR alpha in energy metabolism and vascular homeostasis. *J Clin Invest*. 2006; 116(3): 571–80.
60. Leonardi R, Zhang YM, Rock CO, Jackowski S. Coenzyme A: back in action. *Prog Lipid Res*. 2005; 44(2–3): 125–53.
61. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*. 2005; 120(1): 15–20.
62. Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science*. 2004; 303: 95-98.
63. M. Yamamoto, Y. Toya, C. Schwencke, M.P. Lisanti, M.G. Myers Jr., Y. Ishikawa, *J Biol Chem*. 1998; 273: 26962–26968.
64. Maffei C, Provera S, Filippi L et al. Distribution of food intake as a risk factor childhood obesity. *Int J Obes*. 2000; 24: 75-80.
65. Marsit CJ, Eddy K, Kelsey KT. MicroRNA responses to cellular stress. *Cancer Res*. 2006; 66(22): 10843–8.
66. Martinelli R, Nardelli C, Pilone V, et al. miR-519d Overexpression is associated with human obesity. *Obesity*. 2010; 18: 2170–6.
67. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985; 28: 412-9.
68. MikroRNA sentez basamakları (<http://flipper.diff.org/app/pathways/microRNAs> 2014).
69. MikroRNA: MikroRNA Dublex Oluşumu (<https://tr.wikipedia.org/wiki/MikroRNA> 2015)
70. Miranda KC, Huynh T, Tay Y, Ang YS, Tam WL, Thomson AM, Lim B, Rigoutsos I. A pattern-based method for the identification of MicroRNA binding sites and their corresponding heteroduplexes. *Cell*. 2006; 126(6): 1203–17.

71. Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Townsend M, Yoshii A, Sestan N, Rakic P, Constantine-Paton M, Horvitz HR. Microarray analysis of microRNA expression in the developing mammalian brain. *Genome Biol.* 2004; 5(9): 68.
72. Mourelatos Z, Dostie J, Paushkin S, Sharma A, Charroux B, Abel L, Rappsilber J, Mann M, Dreyfuss G. miRNPs: a novel class of ribonucleoproteins containing numerous microRNAs. *Genes Dev.* 2002; 16(6): 720–8.
73. Muoio, D. M. & Newgard, C. B. Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and b-cell failure in type 2 diabetes. *Nature Rev Mol Cell Biol.* 2008; 9: 193–205.
74. Murphy SP, Barr SI, Poos MI, et al. Using the new dietary reference intake to assess diets: a map to the maze. *Nutr Rev.* 2002; 60: 267-75.
75. Muzumdar RH, Saenger P, Bronx NY: Perturbations of the Endocrine System with Changes in Body Weight. In: Ranke MB (ed) *Diagnostics of Endocrine Function in Children and Adolescents 3.* press 2003, pp 182-9.
76. Näär AM. MiRs with a sweet tooth. *Cell Metab.* 2011; 14(2): 149-50.
77. Neyzi O, Furman A, Bundak R, Gunoz H, Darendeliler F, Bas F. Growth references for Turkish children aged 6 to 18 years. *Acta Pediatr.* 2006; 95: 1635-41
78. Nystrom, F. H., Chen, H., Cong, L. N., Li, Y. & Quon, M. J. Caveolin-1 interacts with the insulin receptor and can differentially modulate insulin signaling in transfected Cos-7 cells and rat adipose cells. *Mol Endocrinol.* 1999; 13: 2013–2024.
79. Ogden CL, Flegal KM, Carroll MD, Johnson CL. Prevalence and Trends in Overweight Among US Children and Adolescents, 1999-2000. *JAMA.* 2002; 14: 1728-31.
80. Ortega FJ, Moreno-Navarrete JM, Pardo G, et al. MiRNA expression profile of human subcutaneous adipose and during adipocyte differentiation. *PLoS ONE.* 2010; 5: 9022.
81. Otsu, K. et al. Caveolin gene transfer improves glucose metabolism in diabetic mice. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2009; 298: 450–456.
82. Özbey N, Orhan Y. Şişmanlık; tanımlama, sınıflama ve vücut kompozisyonu belirlenmesi. *Aktüel Tıp Dergisi.* 2001; 6: 1-8.
83. Parton, R. G. & Simons, K. The multiple faces of caveolae. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2007; 8: 185–194.

84. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature*. 2000; 408(6808): 86–89.
85. Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA? *RNA*. 2005; 11: 1753–1761.
86. Qin L, Chen Y, Niu Y, et al. A deep investigation into the adipogenesis mechanism: profile of microRNAs regulating adipogenesis by modulating the canonical Wnt/beta-catenin signaling pathway. *BMC Genomics*. 2010; 11: 320.
87. Parton RG, Simons K, *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007; 8: 185–194.
88. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 2000; 403, 901–906.
89. Rock CO, Calder RB, Karim MA, Jackowski S. Pantothenate kinase regulation of the intracellular concentration of coenzyme A. *J Biol Chem*. 2000; 275(2): 1377–83.
90. Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. *Genome Res*. 2004; 14(10A): 1902–10.
91. Roldo C, Missiaglia E, Hagan JP, Falconi M, Capelli P, Bersani S, Calin GA, Volinia S, Liu CG, Scarpa A, Croce CM. MicroRNA expression abnormalities in pancreatic endocrine and acinar tumors are associated with distinctive pathologic features and clinical behavior. *J Clin Oncol*. 2006; 24(29): 4677–84.
92. Rothberg, K. G. et al. Caveolin, a protein component of caveolae membrane coats. *Cell*. 1992; 68: 673–682.
93. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science*. 2001; 294: 797–799.
94. Sasson Z, Rasooly Y, Bhesania T, Rasooly I. Insulin resistance is an important determinant of left ventricular mass in the obese. *Circulation*. 1993; 88: 1431-6.
95. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? *Cancer Metastasis Rev*. 2009; 28: 369–378.
96. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM et al. Randomized controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study. *Lancet*. 1996; 347: 781-6.

97. Sun W, Li YSJ, Huang HD, Shyy JYJ, Chien S. microRNA: A Master Regulator of Cellular Processes for Bioengineering Systems. *Annu Rev Biomed Eng.* 2010; 12: 1-27.
98. Sylvia K, Shenouda and Suresh K. Alahari. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? Department of Biochemistry and Molecular Biology, Stanley S Scott Cancer Center, Louisiana State University Health Sciences Center, 1901 Perdido Street, New Orleans, LA 70112, USA *Cancer Metastasis Rev.* 2009; 28: 369-78.
99. Tahiliani AG, Beinlich CJ. Pantothenic acid in health and disease. *Vitam Horm.* 1991; 46: 165–228.
100. Taniguchi, C. M., Emanuelli, B. & Kahn, C. R. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nature Rev Mol Cell Biol.* 2006; 7; 85–96.
101. Tarım O. Pediatrik obeziteye genel bakış. *Guncel Pediatri Dergisi.* 2006; 4: 1.
102. Trajkovski M1, Hausser J, Soutschek J. MicroRNAs 103 and 107 regulate insulin sensitivity. *Nature.* 2011; 474(7353): 649-53.
103. Troiano RP, Flegal KM. Overweight children and adolescents: description, epidemiology, and demographics. *Pediatrics.* 1998; 101: 497-504.
104. Van Rooij E, Sutherland LB, Liu N, Williams AH, McAnally J, Gerard RD, Richardson JA, Olson EN. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(48): 18255–60.
105. Weker H. Simple obesity in children. A study on the role of nutritional factors. *Med Wieku Rozwoj.* 2006; 10: 3–191.
106. Whitaker RC, Wright JA, Pepe MS, Seidel KD, Dietz WH. Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med.* 1997; 337: 869-73.
107. WHO, 2004; WHO, 2006. Obesity and overweight. Retrieved May 10, 2009, from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>.
108. Wilfred BR, Wang WX, Nelson PT. Energizing miRNA research: a review of the role of miRNAs in lipid metabolism, with a prediction that miR-103/107 regulates human metabolic pathways. *Mol Genet Metab.* 2007; 91(3): 209-17.
109. Williams MD, Mitchell GM. MicroRNAs in insulin resistance and obesity. *Exp Diabetes Res.* 2012; 2012: 484696.



110. Wilmore DW: Nutrition and metabolic support in the 21 st century. *J Parenteral Enteral Nutr.* 2000; 24: 1-4.
111. Xie H, Lim B, Lodish HF. MicroRNAs induced during adipogenesis that accelerate fat cell development are downregulated in obesity. *Diabetes.* 2009; 58: 1050–7.
112. Xu Q, Yao MX, Chen L. MicroRNAs 103 and 107: potential molecular links between diabetes and cancer. *Chin Med J (Engl)* 2013; 126(13): 2553-5.
113. Yamamoto, M. et al. Caveolin is an activator of insulin receptor signaling. *J. Biol Chem.* 1998; 273: 26962–26968.
114. Ying SY, Lin SL. Current perspectives in intronic micro RNAs (miRNAs). *J Biomed Sci.* 2006; 13(1): 5–15.
115. Zemetkin AJ, Zoon CK, Klein HW, Munson S. Psychiatric aspects of child and adolescent obesity: a review of the past 10 years. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2004 ; 43(2): 134-50.
116. Zhang H, Kolb FA, Brondani V, Billy E, Filipowicz W. Human Dicer preferentially cleaves dsRNAs at their termini without a requirement for ATP. *EMBO J.* 2002; 21: 5875-5885.
117. Zhou B, Westaway SK, Levinson B, Johnson MA, Gitschier J, Hayflick SJ. A novel pantothenatekinase gene (PANK2) is defective in Hallervorden-Spatz syndrome. *Nat Genet.* 2001; 28(4): 345–9.

## 7. ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Konya’da doğdum. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimimi Konya’da tamamladım. 2008 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden mezun oldum. 2011 yılında Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Meram Tıp) Biyokimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimime başladım. 2012 yılından itibaren Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Meram Tıp) Biyokimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimime devam etmekteyim.

