

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı**

**PEDİATRİK OBEZ OLGULARDA
MİTOKONDRIYAL ATPaz SUBÜNİTE 6 VE
SİTOKROM B GENLERİNDE
SNP (TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZM)
ANALİZİ**

Durkadın DEMİR

Yüksek Lisans Tezi

Antalya, 2009

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı**

**PEDİATRİK OBEZ OLGULARDA
MİTOKONDRIYAL ATPaz SUBÜNİTE 6 VE
SİTOKROM B GENLERİNDE
SNP (TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZM)
ANALİZİ**

Durkadın DEMİR

Yüksek Lisans Tezi

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Özgül ALPER**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.
(Proje no: 2007.02.0122.006)

“Kaynakça Gösterilerek Tezinden Yararlanılabilir”

Antalya, 2009

Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼ę¼'ne;

Bu alışma j¼rimiz tarafından Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Tıbbi Genetik Programında Y¼ksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir. 19 / 06 / 2009

Tez Danışmanı :Doç. Dr. ¼zg¼l ALPER
Akdeniz ¼niversitesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

¼ye :Prof. Dr. H¼seyin BAğCI
Akdeniz ¼niversitesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

¼ye :Prof. Dr. G¼ven L¼LECI
Akdeniz ¼niversitesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

¼ye :Prof. Dr. G¼lseren BAğCI
Pamukkale ¼niversitesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

¼ye :Yrd. Doç. Dr. A. Esra MANGUOğLU AYDEMİR
Akdeniz ¼niversitesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ONAY:

Bu tez, Enstit¼ Y¼netim Kurulunca belirlenen yukarıdaki j¼ri ¼yeleri tarafından uygun g¼r¼lm¼ř ve Enstit¼ Y¼netim Kurulu'nun .../.../.... tarih ve .../.... kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İsmail ¼ST¼NEL
Enstit¼ M¼d¼r¼

ÖZET

Sağlığı bozacak şekilde yağ dokularında anormal ya da aşırı miktarda yağ birikmesi olarak tanımlanan obezite, dünyada prevalansı artarak epidemik bir hastalık halini almıştır. Ülkemizde de toplumun %30'undan fazlasını etkilemektedir. Çocuklarda da prevalansı artan obezite, 2009 yılında yapılmış bir çalışmaya göre 781 çocuğun %5.9'unda görülmüştür.

Bugüne kadar, nüklear genom tarafından kodlanan, kromozom 7q'da yer alan leptin (LEP) (MIM#164160), 1p'de leptin reseptörü (LEPR), 2p'de pro-opiomelanokortin (POMC), 18q'da melanokortin 4 reseptör (MC4-R), 20q'da melanokortin 3 reseptör (MC3-R), 5q'da prohormon konvertaz 1 (PC1), 3p'de yer alan peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama 2 (PPAR) genleri obezite ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, mitokondrinin enerji üretimi sürecindeki önemli fonksiyonları dolayısıyla, mitokondriyal genomdaki varyasyonlar da, başta obezite olmak üzere enerji ile ilişkili hastalıklar açısından değerlendirilmektedir. Mitokondriyal genomda yer alan ve oldukça polimorfik olan MTATP6 ve MTCYB genlerinde obez olgularda birçok polimorfizm saptanmıştır. MTCYB geninde saptanan bir varyant Japon obez olgular için önem kazanırken, İtalyan obez olguların yalnızca %0.6'sında saptanmıştır. Bulgulardaki farklılıklardan dolayı, mitokondriyal genom varyasyonlarının bireylerin etnik kökenine, yaşadığı coğrafya ve iklim koşullarına göre değişim göstermesi önem kazanmaktadır.

Çalışmamızda, pediatrik obez olgularda MTATP6 ve MTCYB genlerinin SNP profilini saptayarak, genotip-fenotip ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma grubumuzda yer alan 100 obez ve 100 kontrol olgunun MTATP6 ve MTCYB gen bölgelerinin dizi analizi sonucu, obez olgularda MTATP6 geninde 7 nonsinonim, 13 sinonim, MTCYB geninde 13 nonsinonim, 13 sinonim varyasyon belirlenirken; kontrol olguların MTATP6 geninde 6 nonsinonim, 7 sinonim, MTCYB geninde 9 nonsinonim, 9 sinonim varyasyon saptanmıştır. Obez olguların MTATP6 geninde saptanan 7, MTCYB geninde saptanan 5 varyasyon yeni varyasyonlar olarak belirlenmiştir. Obez olgularda saptanan sinonim, m.8614 T>C ve m.8994 G>A varyasyonları obez olgularda kontrollere göre anlamlı olarak ($p<0.05$) fazla saptanırken, MTCYB geninde saptanan varyasyonlarda obez ve kontrol olgular arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Çalışmamız, ülkemizde, MTCYB ve MTATP6 genlerinin SNP profilini “pediatrik obez olgularda” değerlendirerek, obezite ile ilişkisini araştıran bir çalışma olması açısından önem kazanmaktadır. Pediatrik obez olguların yanında, yetişkin ve yaşlı obez bireylerde de mitokondriyal SNP profilinin değerlendirilmesi, toplumumuzda obezitenin genetik veri tabanının oluşmasına katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Pediatrik obezite, MTATP6, MTCYB, SNP analizi

ABSTRACT

Obesity is characterised by excessive body lipid accumulation which becomes an epidemic disease with increasing prevalence around the world. In Turkey, obesity affects more than 30% of Turkish society. Based on a recent study, 5.9% of 781 children are obese in Turkey.

Up to date, several nuclear coded genes were found related with obesity, such as leptin (LEP) gene on chromosome 7q, leptin receptor (LEPR) gene on 1p, pro-opiomelanocortin (POMC) gene on 2p, melanocortin 4 receptor (MC4-R) gene on 18q, melanocortin 3 receptor (MC3-R) gene on 20q, prohormone convertase 1 (PC1) gene on 5q, and peroxisome proliferator activated receptor gamma 2 (PPAR) gene on chromosome 3p. Due to the importance of energy metabolism in mitochondria, mitochondrial genome variations are evaluated in energy related diseases, like obesity. A lot of polymorphisms were detected in MTATP6 and MTCYB genes which are highly polymorphic mitochondrial genes. It was shown that a variant of MTCYB gene may be important for Japanese obese cases. On the other hand, Italian researchers detected this variation only in 0.6% of Italian obese. This condition described as geographic and ethnic differences which influence the mitochondrial genome variations.

The aim of our project is to investigate the SNP profiles in MTATP6 and MTCYB genes in Turkish obese cases and to determine the genotype-phenotype relationship. MTATP6 and MTCYB genes were sequenced in a series of 100 obese and 100 control cases. 7 nonsynonymous, 13 synonymous variations in MTATP6; 9 nonsynonymous, 9 synonymous variations in MTCYB gene were detected in obese cases. On the other hand, 6 nonsynonymous, 7 synonymous variations in MTATP6; 9 nonsynonymous, 9 synonymous variations in MTCYB genes were detected in control cases. 7 novel variations in MTATP6 gene and 5 novel variations in MTCYB gene were detected in obese cases. Synonymous m.8614 T>C, m.8994 G>A variations found in obese cases are significantly higher than in control group ($p<0.05$). There is not any significant difference between MTCYB variations of obese and control cases.

Our project is important, because of being investigated the relationship between MTATP6 and MTCYB gene SNP profiles and “pediatric obesity”. More research should be done for to collect mitochondrial SNP profiles in younger and adult group in Turkey.

Keywords: Pediatric obesity, MTATP6, MTCYB, SNP analysis

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, bilimsel bir araştırma yapmanın esaslarını özümseten, yol göstericiliğinin yanında ilgi ve desteğini her zaman hissettiren, sayın danışman hocam, Doç. Dr. Özgül ALPER'e,

Yüksek lisans eğitimime başlamam için fırsat veren ve eğitimim süresince gerek teorik gerekse deneysel anlamda, engin bilgisiyle gelişimime destek veren, sayın Prof. Dr. Güven LÜLECI'ye,

Akdeniz Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'ndaki sayın hocalarım, araştırma görevlisi, teknisyen arkadaşlarım ve sekreterlerimize,

Yüksek lisans tezim için gerekli olguları sağlayan, Prof. Dr. Sema Akçurin, Uzm. Dr. Doğa Türkkahraman'a ve yardımları için Akdeniz Üniversitesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı bünyesindeki tüm doktor ve hemşirelere,

Her zaman yanımda varlıklarını hissettiren, her türlü desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bugüne gelmemde en büyük paya sahip sevgili ailem ve bugüne gelmemim temellerini atan değerli ilkokul öğretmenim sayın Fatma Kök'e tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa No
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
2.1. Obezitenin Tanımı	2
2.2. Obezitenin Sınıflandırılması	2
2.2.1. Vücut Yağ Dağılımına Göre Sınıflandırma	2
2.2.2. Yağ Hücrelerine Göre Sınıflandırma	2
2.2.3. Beden Kitle İndeksine Göre Sınıflandırma	2
2.3. Ülkemizde Obezitenin Yaygınlığı	3
2.4. Pediatrik Obezite ve Önemi	4
2.5. Obezitenin Genetiği	6
2.5.1. Monogenik Obezite	7
2.5.2. Poligenik Obezite	7
2.5.3. Sendromik Obezite	7
2.6. Obezitede Nükleer Genom ve Mitokondriyal Genom İlişkisi	8
2.7. Mitokondriyal ATPaz subünite 6 Geni (MTATP6) [NC_001807.4 (8528..9208)]'nin Obezitede Önemi	13
2.8. Mitokondriyal Sitokrom B Geni (MTCYB) [NC_001807.4 (14748..15882)]'nin Obezitede Önemi	14
MATERYAL VE YÖNTEMLER	16
3.1. Pediatrik Obez Olgularda Klinik İnceleme	16
3.2. Periferik Kan Örneklerinin Alınımı	16
3.3. Periferik Kandan DNA Eldesi	16
3.3.1. Kullanılan Solüsyonlar	17
3.3.2. İşlemler	17

3.4.	DNA Örneklerinin Spektrofotometrik Ölçümü	18
3.5.	PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Yöntemi	18
3.5.1.	PCR Reaksiyon İçeriği	18
3.5.2.	PCR Programı	19
3.6.	Agaroz Jel Elektforezi ve Görüntüleme Sistemi	19
3.6.1.	% 1'lik Agaroz Jelin Hazırlanması	19
3.6.2.	İşlemler	19
3.7.	Amplikonların Temizlenmesi	19
3.8.	DNA Dizi Analizi	20
3.8.1.	Dizileme Reaksiyon İçeriği	20
3.8.2.	Dizileme PCR Programı	20
3.9.	Dizi Analizi Yapılacak Amplikonların Temizlenmesi	20
3.10.	DNA Dizi Analizi	20
3.11.	İstatistik Analizi	20
BULGULAR		21
4.1.	Klinik Bulgular	21
4.2.	Moleküler Genetik Analiz Sonuçları	26
4.3.	Olguların Genotip-Fenotip ilişkisi	46
TARTIŞMA ve SONUÇLAR		49
KAYNAKLAR		55
ÖZGEÇMİŞ		62
EKLER		63
Ek-1.	Hasta / Kontrol Grupları Değerlendirme Formu	

SİMGELER VE KISALTMALAR

BKİ	:Beden Kitle İndeksi
VKİ	:Vücut Kitle İndeksi
LEP	:Leptin
LEPR	:Leptin Reseptörü
POMC	:Proopiomelanokortin
MC4-R	:Melanokortin 4 Reseptör
MC3-R	:Melaokortin 3 Reseptör
PC1	:Prohormon Konvertaz 1
PPAR	:Peroksizom proliferatör aktive edici reseptörleri
SNP	:Tek Nükleotit Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)
MTATP6	:Mitokondriyal ATPaz Subünite 6 geni
MTCYB	:Mitokondriyal Sitokrom b Geni
LDL	:Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
HDL	:Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (High Density Lipoprotein)
α-MSH	: α Melanokortin Stimüle Edici Hormon
ATP	:Adenozin Trifosfat
ADP	:Adenozin Difosfat
CO₂	:Karbondioksit
FADH₂	:İndirgenmiş Flavin Adenin Dinükleotit
NADH	:Nikotinamid Adenin Dinükleotit
rRNA	:Ribozomal Ribonükleik Asit
t RNA	:Taşıyıcı Ribonükleik Asit
ND2	: NADH Dehidrojenaz Subünite 2
ATP6	:ATPaz Subünite 6
kD	:kilo Dalton
SDS	:Sodyum Dodesil Sülfat
NaCl	:Sodyum Klorür
ml	:Mililitre

μl	:Mikrolitre
dH₂O	:Distile su
TBE	:Tris Borat EDTA
UV	:Ultra Viyole
Rpm	:Dakikada dönüş sayısı
O.D.	:Optik Dansite
S.F.	:Sulandırma Faktörü
bç	:Baz çifti
ng	:Nanogram
u	:Ünite
TSH	:Troid Stimüle Edici Hormon
kg	:Kilogram
cm	:Santimetre
mg	:Miligram
dl	:Desilitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
2.1. Mitokondriyal genomda yer alan genler ve oksidatif fosforilasyonda görevli kompleksler	11
2.2. ATP sentazın yapısı	13
2.3. Sitokrom b proteininin yapısı	15
4.1. MTATP6 ve MTCYB ampikonlarının agaroz jel görüntüsü	26
4.2. MTATP6 bölgesinin ileri primerle okunan DNA dizisi	27
4.3. MTCYB bölgesinin ileri primer ile okunan DNA dizisi	28
4.4. MTCYB bölgesinin geri primer ile okunan DNA dizisi	29
4.5. Obez olguların MTATP6 geninde saptanan nonsinonim varyasyonlar	35
4.6. Kontrol olguların MTATP6 geninde saptanan nonsinonim varyasyonlar	36
4.7. Obez olguların MTATP6 geninde saptanan sinonim varyasyonlar	37
4.8. Obez olguların MTATP6 geninde saptanan sinonim varyasyonlar	38
4.9. Kontrol olguların MTATP6 geninde saptanan sinonim varyasyonlar	39
4.10. Obez olguların MTCYB geninde saptanan nonsinonim varyasyonlar	40
4.11. Obez olguların MTCYB geninde saptanan nonsinonim varyasyonlar	41
4.12. Kontrol olguların MTCYB geninde saptanan nonsinonim varyasyonlar	42
4.13. Obez olguların MTCYB geninde saptanan sinonim varyasyonlar	43
4.14. Obez olguların MTCYB geninde saptanan sinonim varyasyonlar	44
4.15. Kontrol olguların MTCYB geninde saptanan sinonim varyasyonlar	45

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge No	Sayfa No
4.1. Obez olguların klinik bulguları	22
4.2. Obez olguların klinik bulguları (devamı)	23
4.3. Kontrol grubundaki olguların klinik özellikleri	24
4.4. Obez olguların klinik verilerine ait istatistiksel analiz değerlendirilmesi	25
4.5. Obez ve kontrol grubunda MTATP6 ve MTCYB genlerinde saptanan transisyon ve transversiyon tipi nükleotit değişimlerinin dağılımı	30
4.6. Obez ve kontrol olguların MTATP6 genine ait nonsinonim nükleotit değişimleri	30
4.7. Obez ve kontrol olguların MTATP6 genine ait sinonim nükleotit değişimleri	31
4.8. Obez ve kontrol olguların MTCYB genine ait nonsinonim nükleotit değişimleri	32
4.9. Obez ve kontrol olguların MTCYB genine ait sinonim nükleotit değişimleri	33
4.10. Varyasyon saptanan bazı obez olguların klinik ve MTATP6 genlerine ait moleküler genetik bulguları	47
4.11. Varyasyon saptanan bazı obez olguların klinik ve MTCYB genlerine ait moleküler genetik bulguları	48

GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre obezite; sağlığı bozacak şekilde yağ dokularında anormal ya da aşırı miktarda yağ birikmesidir. Dünyada bir epidemi halini alan obezite, yüksek riskli on hastalıktan biri olarak tanımlanmakta, yetişkin bireylerde olduğu kadar çocuklarda yaygınlaşarak toplum sağlığını tehdit edici bir unsur olarak karşımıza çıkmaktadır (1, 2, 3). Ülkemizde de dünyada olduğu gibi prevalansı artan obezite genel Türk toplumunun %30'undan fazlasını etkilemektedir (4). Türkiye'de çocukluk döneminde de prevalansı artan obezite, 2005 yılında yapılan bir çalışmada %4.8 olarak bulunurken, 2009 yılında yapılan bir diğer çalışmaya göre %5.9 olarak saptanmıştır (5, 6).

Obezitenin nedenlerini araştırmaya yönelik moleküler genetik çalışmalar son yıllarda artmış olup obeziteyle ilişkili birçok aday gen saptanmıştır. Bu genlerden başlıcaları nükleer genomda lokalize LEP, LEPR, POMC, MC4-R, MC3-R, PC1, PPAR genleridir (7). Mutasyonların yanı sıra polimorfizmlerin de bireyler arasında farklılığa yol açtığına bilinmesi ve bu farklılıkların obezite gibi metabolik hastalıklara yatkınlık sağlaması günümüzde önem kazanan diğer bir konudur (8). Enerji metabolizması ve ısı üretimi süreçlerinde önemli role sahip olduğu bilinen mitokondriyal genomun, varyasyonları sonucu enerji ile ilgili hastalıklara neden olması kaçınılmazdır (9). İtalya ve Japonya'da obez yetişkinleri kapsayan çalışmalarda, oksidatif fosforilasyon sürecindeki kritik rollerinden dolayı, oldukça polimorfik olan mitokondriyal MTATP6 ve MTCYB genlerinde polimorfizm analizi yapılarak birçok varyasyon saptanmıştır. Japonya'da yapılan çalışmada, obez bireylerde kontrollere göre anlamlı olarak daha fazla saptanan bir varyant, İtalya'daki çalışmada yer alan obezlerde nadir rastlanmıştır (10, 11). İtalyan araştırmacılar bu durumu, yaşanan coğrafya ve ırksal kökenin farklılığına dayandırarak, mitokondriyal polimorfizmlerin obezite ile ilişkisini aydınlatmak için bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerektiğini vurgulamışlardır (11).

100 obez ve kontrol olgunun yer aldığı çalışmamızda, mitokondriyal genomda lokalize MTATP6 ve MTCYB genlerini kapsayan moleküler genetik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Mitokondriyal genomun, her popülasyonda farklı varyasyon profili gösterme olasılığı çok yüksek olduğu bilinmektedir. Buna bağlı olarak, mitokondriyal genomda lokalize MTATP6 ve MTCYB genlerinin, Türk obezlerdeki varyasyon profiline ait veri bulunmamaktadır. Çalışmamızda, obezitenin mitokondriyal genomla ilişkisini aydınlatmaya yönelik, yeni biyolojik yollar saptanmasına, buna bağlı olarak bireye özgü tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi açısından literatüre katkı sağlamayı amaçlamaktayız.

GENEL BİLGİLER

2.1. Obezitenin Tanımı

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre obezite; sağlığı bozacak şekilde yağ dokularında anormal veya aşırı miktarda yağ birikmesidir. Yüksek riskli 10 hastalıktan biri olarak kabul edilen obezite, vücut yağ oranının artması, davranış değişikliği, endokrin ve metabolik değişikliklerle karakterize, kompleks multifaktöriyal bir hastalıktır (1, 2, 12). Günümüzde, obezite sadece birey düzeyinde tehdit edici değil, toplum sağlığını etkileyen bir unsur haline gelmiştir (13). Obezite, bir başka anlamda bedenin yağ kütesinin yağsız kütleyle oranının aşırı artması sonucu, boy uzunluğuna göre vücut ağırlığının olması gerekenin üstüne çıkmasıdır. İnsanlarda vücut ağırlığı sinirsel, hormonal, kimyasal ve fiziksel mekanizmalarla normal sınırlar içerisinde tutulmaya çalışılmaktadır. Bu mekanizmaların dengesindeki bozukluk vücut ağırlığının artmasıyla sonuçlanmaktadır (14).

2.2. Obezitenin Sınıflandırılması

Obezite, TÜBİTAK'ın 2007 yılında yaptığı sınıflandırmaya göre, 3 şekilde karşımıza çıkmaktadır. Buna göre; vücut yağ dağılımına, yağ hücresine ve beden kitle indeksine göre sınıflandırılmaktadır (14).

2.2.1. Vücut yağ dağılımına göre sınıflandırma

Bu sınıflandırma içinde yer alan tip 1'de, vücut ağırlığı tüm vücuda benzer oranda dağılmaktadır. Tip 2, deri altı yağın gövdede aşırı miktarda yoğunlaşması şeklindedir. Tip 3 ise, viseral yağın karın bölgesinde yoğunlaşması olup glukoz intoleransı (duyarlılığı), hiperlipidemi (kanda yüksek lipid düzeyi) ve yüksek tansiyon riski ile karakterizedir. Ayrıca, uyluk ve kalçada aşırı miktarda yağ depolanması da jinoid tipi şişmanlık sınıfını oluşturmaktadır (14).

2.2.2. Yağ hücresine göre sınıflandırma

İnsan vücudundaki yağ miktarı, yağ hücresi sayısı ya da yapısıyla ilişkilidir. Yetişkinlerde görülen yağ hücre hipertrofisi, yağ hücrelerinin hacminin artışıyla karakterizedir. Çocuklarda ise yağ hücre hiperplazisi yani yağ hücresi sayısının artışı söz konusudur (14).

2.2.3. Beden Kitle İndeksine Göre Sınıflandırma

Klinikte en pratik ve yaygın bir yöntem olan BKİ ya da VKİ (Beden Kitle İndeksi; Vücut Kitle İndeksi) kg cinsinden vücut ağırlığının, boy uzunluğunun metre cinsinden karesine bölünmesiyle hesaplanmaktadır (kg/m^2). WHO'nun 2006 yılında yaptığı sınıflandırmaya göre BKİ'si 25 ve üzeri olanlar hafif şişman, 30 ve üzeri olanlar obezdir. Obez bireyleri de kendi içerisinde, BKİ'si 30-34.99 arası olan bireyleri 1. derece, 35-39.99 arası olan bireyleri 2. derece, 40 ve üzeri olan bireyleri

3. derece obez olarak sınıflandırılmaktadır. Yetişkinlerde obezite tanısı çoğunlukla bu sınıflandırmaya göre yapılmaktadır (14).

Çocuklarda obezite tanısı ise yetişkinlerden farklıdır. Çocuklar büyüdükçe vücut yağ oranları değişir. Ayrıca erkek ve kızlar arasında da büyüme eğrilerinde farklılık vardır. Bu nedenle çocuklarda obezite tanısı, yaşa ve cinsiyete göre hazırlanmış BKİ değerleri baz alınarak yapılır. Bu değerler, WHO'nun tüm toplumlarda kullanılabilir olduğunu önerdiği National Health Center for Health Statistics, Center For Disease Control (NCHS/CDC) standartlarıdır. Yaşa göre BKİ değeri 5. persentilin altında olanlar zayıf, 85-95. persentil aralığında olanlar hafif obez, 95. persentilin üzerinde olanlar obez olarak kabul edilmektedir (5, 15, 16).

2.3. Ülkemizde Obezitenin Yaygınlığı

Türkiye'de obezite sıklığını saptamaya yönelik klinik ve temel alandaki araştırmalar oldukça sınırlıdır. Boy uzunluğuna göre vücut ağırlığının değerlendirildiği Türkiye 1974 Beslenme, Sağlık ve Gıda Tüketimi Araştırması verilerine göre, ülkemizde şişmanlık hızı erkeklerde %7.6, kadınlarda %25'dir. 1984 verilerine göre ise bu hızlar artmış bulunup sırasıyla %12.9 ve %33.3 olarak belirtilmektedir (14). 2007 yılında yayınlanmış olan bir derlemeye göre ise ülkemizde toplumun %30'undan fazlasının obez, erkek ve kadın olarak ayrıma gidildiğinde ise, erkeklerin %7.9'unun, kadınların ise %23.4'ünün obez olduğu saptanmıştır (4).

1998 yılında, Türkiye Diabet Epidemiyoloji Projesi (TURDEP) kapsamında, obezite prevalans çalışması; İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Metabolizma ve Diyabet Birimi, Obezite Araştırma Ünitesi, Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü (DİE) ve TC Sağlık Bakanlığı tarafından yürütülmüştür. Uluslararası prevalans örneklem seçim kriterlerine göre belirlenen 23.788 (kadın: 13.708, %55.3; erkek: 11.080, %44.7) yetişkin (>19 yaş) birey üzerinde yapılmıştır. Beden kitle indeksi 30 kg/m²'nin üzerinde olması baz alınarak yapılan çalışmada, ülkemizde obezite oranı %22.3 olarak belirlenmiştir. En çok obezite görülme oranı İç Anadolu'da (%25.0) tespit edilmiş olup, İç Anadolu Bölgesini Türkiye'nin Güney (%24), Kuzey (%23.5), Batı (%21.6) ve Doğu Anadolu (%17.2) bölgeleri takip etmektedir (14).

Ülkemizde, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde bulunan bir grup araştırmacı tarafından yapılan, Trabzon yöresini kapsayan prevalans çalışmasında, 2001 yılında, 2646 birey arasından kadınların %27.4'ü, erkeklerin ise %10.7'sinin obez olduğu saptanmıştır (17). 2004 yılında, aynı bölgede, aynı araştırmacılar tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise obezite prevalansının artışı tespit edilmiş olup, 5016 birey içerisinde (2728 kadın, 2288 erkek) kadınların %29.4'ü, erkeklerin ise %16.5'inin obez olduğu belirlenmiştir. Kadın ve erkek tüm obezler genelin %23.5'ini oluştururken, kilo fazlalığı olan bireyler de obez gruba eklenince bu oran %60.3 olarak saptanmıştır (18). Konya yöresini kapsayan diğer bir çalışmada ise (12.866 birey) kadınların %32.4'ü, erkeklerin ise %14.1'inin obez olduğu belirlenmiştir (19).

Ülkemizde yapılan yetişkin obez grubundaki bu çalışmalar ile genel olarak, kadınlarda erkeklerden daha fazla obezite görüldüğü ve yaşla birlikte artış gösterdiği saptanmıştır (20).

Amerika Birleşik Devletleri başta olmak üzere gelişmiş ülkelerde ve ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde pediatrik obezite prevalansı da hızla artmaktadır (21). Çocuklarda ve adolesan çağındaki gençlerde artan obezite sıklığı önemli toplumsal sağlık sorunlarımızdan birisidir. Özellikle karın çevresindeki aşırı yağlanmayla gelişen obezite yetişkin dönemde metabolik sendrom gelişme riskini de arttırmaktadır (22).

2000 yılında Önder ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, erkek öğrencilerde obezite oranının %6 olduğunu belirlemişlerdir (23). 2002 yılında Kanbur ve arkadaşlarının yaptığı, 9-16 yaş grubunda 6462 çocuğun yer aldığı çalışmada, obezite prevalansı %2.3 olarak saptanmıştır (24). 2003 yılında Kitapçı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, 1647 Türk adolesan çocuğun BKİ değerleri değerlendirilmiş ve obezite insidansı %3.6 olarak saptanmıştır (5). 2004 yılında, Trakya Üniversitesi'nden bir grup araştırmacı, adolesan çağıdaki (12-17 yaş, 989 çocuk) çocukları düşük kilolu, fazla kilolu ve obez grupları altında sınıflandırmayı amaçladıkları çalışmalarında kız çocukların %11.1'inin düşük kilolu, %10.6'sının fazla kilolu ve %2.1'nin obez olduğunu saptamışlardır. Erkek çocukların ise, %14.4'ünün düşük kilolu, %11.3'ünün fazla kilolu ve %1.6'sının obez olduğunu belirlemişlerdir (25). 2005 yılında Ceylan ve arkadaşlarının araştırmasına göre çocuklarda obezite sıklığı %13.3 olarak kaydedilmiştir (5). 2005 yılında Şimşek ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, çalışmaya katılan çocuklarda obezite prevalansı %4.8 olarak bulunmuştur (6). 2006 yılında, Türkkahraman ve arkadaşları tarafından yapılan, Antalya yöresinde 15 okuldan 2465 çocuğun yer aldığı bir araştırmaya göre ise erkek çocuklarda obezite ve fazla kilolu prevalansının sırasıyla %3.9, %12.8; kız çocuklarda ise obezite ve fazla kilolu prevalansının sırasıyla %3.2, %15.8 olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma ile, kız çocuklardaki ortalama beden kitle indeksinin erkek çocuklara göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Antalya'daki 6-17 yaş aralığında yer alan çocuklardaki obezite prevalansının Avrupa ve Amerika'daki obezite prevalansına göre oldukça düşük olduğu belirtilmiştir (26). 2009 yılında yayınlanmış, Pamukkale Üniversitesi'nde bir grup araştırmacının yaptığı çalışmaya göre yaş ortalaması 15.93 ±0.89 olan 781 erkek çocuk arasındaki obezite oranı %5.9 olarak belirlenmiş olup bu çalışma ile obeziteye neden olan genetik faktörlerin yanı sıra beslenme alışkanlıklarının da önemli olduğu saptanmıştır (5).

2.4. Pediatrik Obezite ve Önemi

Obezitenin hem pediatrik hem de yetişkin dönemde sağlığa olumsuz etkilerinin yanı sıra ülkelerin ekonomisine de büyük zararları vardır. 2003 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde obezite ve fiziksel aktivite yetersizliğinin, dolaylı ve dolaysız yollarla ülkeye maliyetinin 117 milyar dolar olduğu belirlenmiştir (27). Gelişmekte olan ülkemizde bu konuya dair mali açıdan bir araştırma mevcut değildir.

Günümüzde en önemli hastalıklardan biri olan obezite, çocukları bebeklik çağından itibaren tehdit altına almıştır. Bu durum bazı ülkelerde öyle ciddi durumlara gelmiştir ki, obezite nedeniyle kendi ebeveyninden önce yaşamını yitirecek bir neslin büyüdüğüne işaret edilmektedir. Sağlıklı yetişkin bireylerin bulunduğu bir toplum olmanın birinci kuralı sağlıklı çocuklar yetiştirmektir. En çok ölüm nedenleri arasında olan, başta diabet ve kanser olmak üzere birçok hastalığa neden olabilen obezite günümüzde sağlıklı toplum hedefini engelleyici bir unsur olmuştur. Fazla kilolu kişilerde hayat süresinin kısaldığı, ayrıca erişkin şişmanların büyük çoğunluğunda bu durumun başlangıcının çocukluk yaşlarına kadar uzandığı iyi bilinmektedir. Obezite her yaşta görülebilmekle birlikte, çocukluk çağı obezitesinin geç dönem komplikasyonlarına zemin hazırlaması açısından üzerinde durulması gereken bir hastalıktır (28). Dolayısıyla, obez olduğu görülen çocukları her açıdan değerlendirmek ve bu doğrultuda toplumsal önlemler almak oldukça önem kazanmaktadır (29). Tedbir alındığı takdirde obezite, önlenebilir ölüm nedenleri arasında sigaradan sonra ikinci sırada gelmektedir (28).

Erişkin dönemde gözlenen en önemli sağlık sorunlarının kökeninde çocuklukta başlayan obezite olduğu düşünülürse, obezitenin önüne geçmek için önlem almak oldukça önem kazanmaktadır. Obez ergenlerde normal ağırlıkta olanlara göre, erişkin dönemde hipertansiyon gelişme riski 8.5 kat artmaktadır. Ergenlik döneminde obez olan bireylerde, 27-31 yaş aralığına gelindiğinde hiperkolesterolemi (>240mg/dl) gelişme riski 2.4 kat, LDL'nin 160 mg/dl'nin üzerinde olma riski 3 kat, HDL'nin 35 mg/dl'nin altında olma riski 8 kat artmaktadır. Obez çocukların önemli kısmında karaciğer yağlanması semptomları ortaya çıkmakta ve steatohepatitis tanılı çocukların %83'ü obez olarak değerlendirilmektedir. Ergenlik çağındaki çocuklarda kolesistit de %50 oranında obezite ile ilişkilidir. Bunların yanı sıra obez çocukların sinir sistemleri, dolaşım sistemleri ve iskelet yapıları da normal yaşlılarına göre artmış bozulma riskiyle karşı karşıyadır (30). Özellikle karın çevresindeki aşırı yağlanmayla gelişen obezite yetişkin dönemde metabolik sendrom gelişme riskini arttırmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde adolesan çağındaki gençlerin %4'ü metabolik sendrom tanılı ve bu gençlerin %30'unun da fazla kilolu oldukları bildirilmiştir. Türkiye'de ise metabolik sendrom tanılı çocukların %27.2'si obezdir (22).

Obezite ilişkili en önemli hastalıklardan bir diğeri ise tip 2 diabetir. Obez çocuklarda hiperinsülinemiye rağmen normal glukoz düzeyleri, tip 2 diabete neden olan insülin direncinin varlığını göstermektedir. Önlem alınmadığı durumda, insülin direnci nedeniyle glukoz toleransı bozulup hiperglisemi gelişimi ile karşı karşıya kalınmaktadır. Yağ hücre kitlesinin artışı ile beraber insüline gereksinim artar ancak insülin reseptörlerinin blokajı, insülin direnç tablosunu ortaya çıkarmaktadır. Buna bağlı olarak, adolesan çağındaki çocuklarda, obezitenin artışı ile beraber tip 2 diabetin de artış göstermesi açıklanabilmektedir (3, 28).

Geniş kapsamlı bir çalışmada, okul öncesi çağda obez çocukların %26-41'i okul çağlarında obez olanların ise %42-63'ünün erişkin yaşta şişman kalmaya devam ettikleri saptanmıştır. Bu bağlamda obez çocuk ve adolesanların ileride yaklaşık %30'unun şişman yetişkinler olacağı rapor edilmektedir (31, 32).

2.5. Obezitenin Genetiği

Obezitenin genetiğine yönelik klinik ve temel araştırmalar 1980'lerin başında başlamış olup halen devam etmektedir (33). Ülkemizde bu çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Obezite (OMIM#601665) enerji dengesinin bozulmasıyla ortaya çıkan bir durumdur. Yaşam tarzı ve çevresel faktörler önemli belirleyici faktörler olmakla beraber obezitenin genetik bir yanı olduğu da gerçektir. Obeziteye yatkınlık, belli bir düzeyde genetik faktörlerle belirleniyorsa da, fenotipik ifade için obesogenik bir çevreye ihtiyaç vardır. Genetik yatkınlık olduğunda, obezitenin ağırlığı yaşam tarzı ve çevresel şartlara bağlıdır. Genetik yatkınlığın çok kuvvetli olduğu kişiler, kolay kilo kazanacakları halde, dirençli olanlar obesogenik bir ortamda bile kilo almayacak veya çok az alacaklardır (34, 35).

Obezitenin artan prevalansı, obeziteye olan genetik eğilimin değişen çevresel faktörlerce açığa çıktığını, aktif hale geldiğini düşündürmektedir. İnsanlık tarihinde çevresel faktörlerin değişimini de irdeleyen "tutumlu genom hipotezi" öne sürülmüştür. Bu hipoteze göre; eski çağlarda açlık döneminde genler yağı depolamak üzere modifiye olmuşlardır. Günümüzde gelişen ve gelişmekte olan ülkelerde kıtlığın ortadan kalkmasıyla ve hareketsiz yaşamla birlikte yağ deposunu arttıran tutumlu genlerin işlevi, obezite prevalansını arttırmıştır (15).

Fazla kiloya sahip olmanın ailesel bir durum olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmektedir. Ailesel geçişte, beslenme derecesini çeşitli yollardan etkileyerek obezite fenotipini ortaya çıkaran genler tanımlanmıştır (4, 36). Beslenme derecesini etkileyen yollar, beslenmenin regülasyonundan sorumlu merkezin enerji deposunu düzenlemesindeki anormallikler, rahatlama mekanizması olarak iştahu aan ya da kişiyi yemeye sevk eden anormal ve kalıtsal psikolojik faktörler, karbonhidrat ve yağ depolanması mekanizmalarındaki kalıtsal bozukluklar şeklinde sıralanabilir (4).

Yapılan araştırmalar, obezitede genetik faktörlerin önemli rol oynadığını ortaya koymuştur (37). Çeşitli çalışmalarda obezite için kalıtımın etkisi %5-90 arasında tanımlanmıştır. Günümüzdeki bilgilere dayanarak, obezitenin gelişiminde, %70'den fazla genetik yapının rol aldığından bahsedilmektedir (35). Yapılan aile çalışmaları obezitenin genetik yönü ile ilgili oldukça önem kazanmaktadır. İlgili araştırmalar sonucunda, her iki ebeveynin obez olma durumunda çocuğun obez olma riskinin %80, yalnızca biri obez ise %50, ikisi de obez değil ise %9 olduğu belirtilmektedir (5). Bir başka çalışmada ise, bireyin birinci dereceden akrabası fazla kiloluysa ($BKİ > 25$) obez olma riskinin 2 kat, birinci dereceden akrabası obez ise ($BKİ > 30$) 3 kat, birinci dereceden akrabası ciddi obez ise ($BKİ > 40$) 5 kat obezite gelişme riskinin arttığı bildirilmektedir (38). 1997 yılında, Kanada'da yapılan ve 15245 kişinin yer aldığı bir araştırmada, obezitenin ailesel riskinin akrabalarda genel Kanada toplumuna göre 5 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir (39).

Obezite genetiği ile ilgili çalışmalarda, tek ve çift yumurta ikizleri oldukça bilgi kazandırmış olup beden kitle indeksinin kalıtılabilme ihtimali düşünülmüştür (40).

Bu araştırmalar çevresel faktörleri irdelemek amacı ile evlat edinme çalışmalarını ile desteklenmiştir. Evlatlık verilen ve kendi ailesiyle yaşayan ikiz kardeşlerin vücut yağ oranlarının %25-40 farklı olduğu rapor edilmiştir (4). Obezite genetiğini konu alan birçok çalışmada obez olan çocukların ebeveynlerinin sıklıkla obez olduğunu ortaya koymuştur. Sonuç olarak, fazla kilolu olmanın otozomal genlerle aktarılan bir durum olabileceği ortaya çıkmıştır (41). Yapılan moleküler genetik çalışmalarla, obezite ile ilişkili, nükleer genomda lokalize birçok aday gen belirlenmiştir (7).

Obezite konusunda, son yıllarda tek nükleotit değişim (SNP) araştırmalarına da hız verilmiştir. SNP analizleri ile elde edilen veriler, vücut ağırlığının genetik temelini aydınlatma adına yeni biyolojik yollar saptanarak bu yolların obezite ile ilişkilendirilmesi açısından önem kazanmıştır (13, 34).

Obezite, genetik açıdan; monogenik obezite ve poligenik obezite olmak üzere iki başlık altında toplanmakta, sendromik obezite ise, genetik hastalıklarla ilişkili başka bir grubu oluşturmaktadır (38, 42).

2.5.1. Monogenik Obezite

Monogenik obezite, bütün obezite vakalarının %1'ini oluşturur. Obez bireylerde, fare genetik çalışmaları temel alınarak seçilen aday genlerdeki mutasyon çalışmaları oldukça başarılı olmuştur. Bu homolog genlerdeki mutasyon bulguları, enerji dengelenmesindeki yolağın rolünün önemini ortaya koymuştur. Bu konuda yapılan çalışmalarda, pek çok obezite geni saptanmıştır (40, 43).

Obez bireylerde mutasyonları saptanan başlıca genler arasında, leptin (LEP) (MIM#164160), leptin reseptörü (LEPR) (MIM#601007), pro-opiomelanokortin (POMC) (MIM#176830), melanokortin 4 reseptör (MC4-R) (MIM#155541), melanokortin 3 reseptör (MC3-R) (MIM#155540), prohormon konvertaz 1 (PC1) (MIM#162150), ve peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama 2 (PPAR) (MIM#601487) genleri yer almaktadır (7, 36).

2.5.2. Poligenik Obezite

Obezitenin daha yaygın formu ise poligenik obezitedir. Poligenik obezite, gen-gen ve gen-çevre etkileşimlerini kapsamakta ve obezite ile ilişkili olabilecek 430 gen ya da kromozomal bölgeden fazla bölge ve gen tanımlanmıştır. Ancak bu genlerden 15 tanesi birçok çalışmada önem kazanmıştır (38).

2.5.3. Sendromik Obezite

Obezite başlı başına bir hastalık olarak fenotipe yansıdığı gibi bazı genetik hastalıkların semptomu olarak da karşımıza çıkmaktadır. Bu tür obeziteye sendromik ya da endojen obezite denilmektedir. Günümüze değin saptanmış obezite ile beraber seyreden sendromlar; Prader-Willi Sendromu (OMIM#176270), Angelman Sendromu (OMIM#105830), Albright's Osteodistrofi (OMIM#103580), Bardet-Biedel Sendromu (OMIM#209900), Alstrom Sendromu (OMIM#203800), Cohen Sendromu (OMIM#216550) ve Carpenter Sendromlarıdır (OMIM#201000) (21, 44).

2.6. Obezitede Nüklear Genom ve Mitokondriyal Genom İlişkisi

Obezite, çok uzun zamandan beri araştırma konusu olup enerji dengesinin (besin alınımı ve enerji harcanımı arasındaki denge) fizyolojik olarak düzenlendiği düşünülmüştür. Obeziteye neden olan aşırı miktarda besin alınımında hipotalamusun iştah merkezi önemli rol oynamaktadır. Günümüzde, hipotalamusun arkuat nükleusunun, vücuda besin alımı ve enerji harcanmasını ayarlayan hormonların aktivitelerini düzenleyen en önemli merkez olduğu bilinmektedir (28). Bu fizyolojik yolda fonksiyon gören en önemli hormonlardan biri leptindir. Leptinin vücuttaki başlıca rolü, beyin (özellikle hipotalamus) üzerine negatif geri bildirim etki ile gıda alınımı ve enerji metabolizmasını düzenlemek ve obezite gelişmesini engellemektir (41). Leptin vücut yağ kitlesi ile orantılı olarak dolaşımında bulunur ve santral sinir sistemine plazma seviyeleriyle orantılı olarak geçer. Leptinin ana mekanizması birçok hipofizer hormonun regülasyonunda görev alan ve asıl etkisi iştahı arttırmak olan nöropeptid-Y'nin arkuat nükleustan salınımı ve ifadesini inhibe etmektir. Bununla birlikte, leptinin diğer birtakım aracı moleküller ile de etkileşim içinde olduğu ve buna bağlı olarak kompleks bir iletişim ağı kurulduğu da bilinmektedir. Bu aracı moleküller başlıca katabolik ve anabolik olarak ayrılmaktadır. Anabolik olanlar (nöropeptid-Y gibi) günlük besin alınımını arttırdığı gibi enerji harcanmasını da azaltarak pozitif enerji dengesine neden olurken katabolik olanlar ise gıda alınımını azaltıp enerji harcanmasını arttırmaktadırlar. Katabolik aracı moleküllerden ilk tanımlanan ve en önemli olanı bir melanokortin ailesi üyesi olan α -melanosit stimülan hormon (α -MSH) dur. α -MSH, pro-opiomelanokortin prekürsöründen oluşan bir moleküldür ve melanokortin reseptör ailesinin birçok üyesi için ligand olarak görev yapmaktadır. Özellikle beyinde sentezlenen, melanokortin 3 reseptörü (MC3-R) ve melanokortin 4 reseptörü (MC4-R) önem kazanmaktadır. Leptinin melanokortin yolağını aktive etmesi besin alınımını azaltır. Diğer taraftan leptinin iştah arttırıcı bir aracı molekül olan nöropeptid-Y salgılayan nöronları inhibe etmesi de leptinin besin alınımını azaltıcı bir diğer etkisidir. Leptin azlığında ya da yokluğunda nöropeptid-Y salınımı gerçekleşmekte dolayısıyla besin alımı artarak obezite ile sonuçlanmaktadır (28).

Obeziteye neden olan, nüklear genom tarafından kodlanan ve mutasyonları saptanmış başlıca genler; 7q'da lokalize leptin (LEP) (MIM#164160), 1p'de lokalize leptin reseptörü (LEPR) (MIM#601007), 2p'de lokalize pro-opiomelanokortin (POMC) (MIM#176830), 18q'da lokalize melanokortin 4 reseptör (MC4-R) (MIM#155541), 20q'da lokalize melanokortin 3 reseptör (MC3-R) (MIM#155540), 5q'da lokalize prohormon konvertaz 1 (PC1) (MIM#162150) ve 3p'de lokalize peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama 2 (PPAR) (MIM#601487) olarak belirlenmiştir (7, 36).

Hastalıklara neden olan genom mutasyonlarının yanı sıra, mitokondriyal ya da nüklear genomda meydana gelen tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) de zaman zaman hastalık oluşturucu unsur olarak karşımıza çıkmaktadır (45). İnsan genomunda 3.2 milyar nükleotid baz çifti bulunmaktadır ve bireyler arasında %99.9'luk benzerlik göstermektedir. %0.1'lik farklılıktan büyük ölçüde SNP'ler sorumludur. Bu SNP'ler çevreye verdiğimiz yanıtların farklı olmasından sorumludur. DNA dizisindeki %0.1'lik bu farklılık fenotipik farklılıklara (saç ve deri rengi, boy,

ağırlık) ve bireyin bazı hastalıklara yatkın olmasında rol oynar. Çok sayıda polimorfizmin komplike etkileşimi bireylerin ve toplum alt gruplarının diyet yaklaşımına olan yanıtlarını etkilediği açıktır. Genetik baz alınarak tahmin edilen bu yanıtlara dayanarak bireyselleştirilmiş diyet önerilerinde bulunabilmek temel hedeftir (34).

Mitokondriyal genoma bakıldığı zaman, oksidatif fosforilasyonda görev alan genler önem kazanmaktadır. Bu genler, ökaryotik hücrelerin %95'inin enerji üretiminden sorumlu olduğu için oldukça önemlidir. Mitokondriyal genlerin enerjiyle direkt ilişkisi, bu genlerin organizmaların metabolik performansını da doğrudan etkilediğini düşündürmektedir (10).

Mitokondriyal proteinlerdeki bazı aminoasit değişimleri yeni çevreye adaptasyon için gerekli aerobik kapasiteyi geliştirmektedir (47). Ayrıca, mitokondriyal genomdaki varyasyonların kapsamlı olarak araştırılması sonucunda bazı polimorfizmlerin özellikle bazı populasyonlarda birikimi o populasyonların içinde bulunduğu coğrafya ve iklim koşullarına bağlanmıştır (11).

Beslenmenin fizyolojik olarak regülasyonunun çeşitli basamaklarında rol alan, nüklear genom tarafından kodlanan proteinlerin yanı sıra mitokondriyal genomdaki varyasyonlar da obezite ile ilişkilendirilmiştir (8). Mitokondriyal genomun, oksidatif fosforilasyonunda görev alan komplekslerin alt ünitelerini kodlaması, mitokondri tarafından üretilen enerjinin mitokondriyal genom varyasyonları ile değişkenlik gösterdiği düşüncesi, mitokondrinin obezite ile ilişkili olabileceği hipotezini doğurmuştur (48). Ayrıca, mitokondriyal genomda yer alan fonksiyonel genlerde meydana gelebilecek polimorfizmlerin, yağ asitlerinin mitokondriyal oksidasyonunda ve trikarboksilik asit döngüsünde görev alan proteinlerin fonksiyonlarında önemli olabileceği ileri sürülmüştür (9). Dolayısıyla, bu durumun, enerjinin harcanması ve saklanması gibi vücut ağırlığını düzenleyen fizyolojik olayları etkilemesi kaçınılmazdır. Ayrıca mitokondriyal genomdaki varyasyonlara bağlı mitokondriyal proteinlerdeki fonksiyon bozuklukları sıklıkla pediatrik olguları etkilemektedir (49).

Mitokondri, hemen hemen bütün ökaryotik hücrelerde ve ökaryotik mikroorganizmalarda bulunur. Mitokondri hücre genomundan ayrı bir genetik sisteme sahiptir. Yaygın olarak kabul edilen görüş, mitokondrinin atasal bir ökaryotik hücre tarafından hücre içine alınan bir bakteriden köken aldığıdır. Evrimsel süreçte bakteri genomu organel genomu haline dönüşürken orjinal bakteriyel genlerin çoğu nüklear genoma geçmiş sadece birkaç gen organel genomunda kalmıştır. Bundan dolayı mitokondrinin büyüme ve proliferasyonu, hem nüklear hem de organel genomu tarafından gerçekleştirilmektedir (50).

Bütün bu biyolojik süreçlerde hayati önemi olan mitokondri, diğer organellerden farklı olarak (nükleus dışında) bir genom yapısı içermektedir. Mitokondriyal genom sirküler çift zincirli DNA'dan oluşup, 16.569 baz büyüklüğündedir. Mitokondriyal DNA'nın bir zincirine, pürince zengin ağır zincir (H zincir), diğer zincirine

pirimidince zengin hafif zincir (L zincir) adı verilir (50). Mitokondriyal genom 37 gen içermektedir. Bu genlerin 2 tanesi rRNA (16S ve 12S rRNA) genleri, 22 tanesi tRNA genleri, 13 tanesi ise elektron transportu ve oksidatif fosforilasyon ile ilgili proteinlerin alt ünitelerini kodlayan genlerdir. Mitokondriyal genlerin 28 tanesi H zincirde, 9 tanesi L zincirde kodlanmaktadır. Diğer proteinler nüklear genom tarafından kodlanıp mitokondriye iletilmektedir (51).

Mitokondri genomunun nüklear genoma göre oldukça polimorfik olup, mutasyonlara daha açıktır. Bu durumun çeşitli nedenleri vardır. Mitokondriyal DNA replikasyonu, mitokondriyal matriks içindeki birçok paketlenmiş protein ve enzim nedeniyle daha yavaştır. Atasal H zinciri, L zincirine kalıp olmadan önce tek zincir haline gelmektedir. Tek zincirli DNA, çift zincirli DNA'ya göre daha çok mutasyonlara açıktır. Bu durum, mitokondriyal DNA'nın nüklear DNA'ya göre daha çok hasara uğramasının nedenlerinden birisidir (10). Ayrıca, mitokondriyal genomun DNA onarım sistemlerinin yetersiz olması, nüklear genom gibi sıkı bir paketlenme mekanizmasından yoksun olması önemli nedenler arasında yer almaktadır. Mitokondriyal proteinlerin elektron transfer zincirindeki görevleri oksidatif hasarla meydana gelen hastalıklar açısından da önem kazanmaktadır (52, 53). Mitokondriyal genlerdeki herhangi bir mutasyon ya da varyasyonla artan oksidatif moleküller hem nüklear hem de mitokondriyal DNA hasarını da karışımıza çıkarmaktadır (54).

Bilindiği üzere, mitokondri çift membranla çevrili bir organel olup, iç membranda üç tip protein yer almaktadır. Bunlar; elektron transport zincirinin oksidasyon reaksiyonlarını gerçekleştiren proteinler (enzimler, sitokromlar), matrikste ATP yapımını gerçekleştiren ATP sentetaz, metabolitlerin matrikse giriş çıkışını düzenleyen permeaz adı verilen transport proteinleridir (50).

Mitokondriler hücrenin enerji üretim merkezleridir. Oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları ile enerji üretirler. Hücre için gerekli enerjinin % 95'i burada üretilir (55). Enerji üretimi birçok molekülün rol aldığı bir süreç olup kısaca özetlemek gerekirse, matriks içinde pürivat, aminoasit ve yağ asitlerinin metabolizasyonu sonucu oluşan asetil koenzim A sitrik asit siklusüne girerek okside olur. CO₂, FADH₂ ve NADH oluşur. Bu reaksiyonlar sırasında oluşan yüksek enerjili elektronları taşıyan FADH₂ ve NADH'nın elektronları mitokondri iç membranındaki taşıyıcı proteinler vasıtasıyla moleküler oksijene taşınır ve H₂O oluşur. Elektronların transferi iç membranda bulunan; kompleks I (NADH dehidrogenaz), kompleks II (süksinat dehidrogenaz), kompleks III (sitokrom c redüktaz) ve kompleks IV (sitokrom c oksidaz) adı verilen dört protein kompleksi tarafından gerçekleştirilir (Şekil 2.1.B). Elektron transfer sisteminden sağlanan enerji kullanılarak matriksteki protonlar membranlar arası boşluğa yollanır. Burada bir proton gradiyenti oluşturulur. Membranlar arası boşlukta toplanan protonlar beşinci protein kompleksi olan ATP sentaz (Kompleks V) tarafından matrikse yollanırken, ADP'den ATP sentezlenir (56) (Şekil 2.1.B).

Kompleks V olarak da bilinen ATP sentaz, iki alt üniteden oluşur; Fo integral protein kısmı ve F1 ise periferik protein kısmıdır. Fo iç membrana gömülüdür ve

2001 yılında Kokaze ve arkadaşları, mitokondriyal DNA'da 5178 ve 16517 pozisyonlarındaki polimorfizmleri, ayrı ayrı yüksek plazma trigliserid konsantrasyonu ile ilişkilendirmişlerdir. Bu değişikliğin öneminin, yağ asitlerinin β oksidasyon mekanizmasında, modifikasyonlara neden olması olasılığından kaynaklandığını düşünmektedirler. Ayrıca, mitokondrinin iskelet kasındaki, trikarboksilik asit döngüsünde (TCA) ve enerji tüketimindeki etkisi göz önüne alınırsa, mitokondriyal genomdaki bu tip fonksiyonel değişimlere yol açacak varyasyonların obeziteyle ilişkili olabileceği vurgulanmıştır (48, 62).

Tanaka ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları çalışmada, mitokondriyal genomda kodlanan NADH Dehidrojenaz Subünite 2 (ND2) genindeki, nonsnonim bir değişim olan ve mt5178 A/C varyasyonunun obezite ve ateroskerozu engelleyerek diğer metabolik hastalıkların önüne geçip, bireylerin ömürlerinde uzamaya neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada rastgele seçilen 338 hastanın ND2 genlerine yönelik moleküler genetik analiz yapılmıştır. 46 yaş altı genç ve 46 yaş üstü yaşlı hastalardan oluşan çalışma grubunda mt5178 A/C varyasyonunun sıklığını saptamışlardır. Genç hastalarda 5178. nükleotit pozisyonunda adenin nükleotidi ya da sitozin nükleotidinin bulunma frekansının hemen hemen aynı olmasına rağmen, yaşlı hastalarda mt5178C varyantının mt5178A 'e göre sıklığının anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır (86:166). Genel olarak bakıldığında, dünyada mt5178 A/C varyasyonunun sıklığı az olmakla beraber, Japon popülasyonunda oldukça yaygındır. Buna bağlı olarak araştırmacılar, Japonların daha uzun ömürlü olmalarının nedeninin, mt5178C genotipi olabileceğini ve bunu da yetişkinlik döneminde hastalıklara yakalanma olasılığını azaltarak sağlayabileceğini öne sürmüşlerdir. Ancak, ND2 genindeki bu polimorfizmin uzun ömürle ve erken yetişkinlik döneminde ortaya çıkan hastalıklarla ilişkisi henüz netliğe kavuşmamıştır (63).

ND2 genine ait bu bulguları, Kokaze ve arkadaşları mt5178 A/C varyasyonunun sıklığını 461 sağlıklı Japon birey üzerinde araştırmışlardır. 461 bireyden 192'sinde (%41.6) mt5178A genotipini; 269'unda (%58.4) ise mt5178C genotipini belirlemişlerdir. Bu bireylerin kan lipid düzeylerine bakıldığı zaman ise mt5178A genotipine sahip kadınların trigliserid seviyelerinin mt5178C genotipine sahip kadınlara göre anlamlı olarak düşük bulmuşlardır ($p<0.05$). Ayrıca mt5178A genotipini menapoz dönemindeki kadınlarda, mt5178C genotipine göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksek saptamışlardır ($p<0.05$) Bu çalışma mt5178 A/C varyasyonunun kan yağ düzeyleri ile ilişkisini araştıran ilk genetik epidemiyolojik çalışma olması açısından önem kazanmaktadır (62).

2002 yılında, Kore'de yapılan bir araştırma sonucunda, mt16189 varyantı, çalışma grubunda, olguların %28.8 (46/160)'inde saptanmıştır. Bu varyasyon yüksek beden kitle indeksi ve yüksek açlık kan şekeriyle ilişkilendirilmiştir (64).

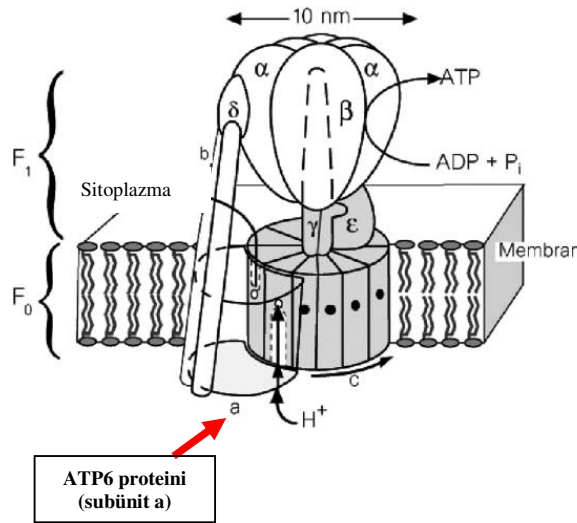
2005 yılında, Çinli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmada, yetişkin bireylerde saptanan mtDNA 16189 varyantının, sıklıkla obezite ile seyreden metabolik sendrom ile anlamlı derecede ilişkisi olduğu ortaya konmuştur (65).

Son yıllarda, oksidatif fosforilasyonda önemli görevleri olan sitokrom b ve ATPaz subünite 6 üzerinde çalışmalar mevcuttur (52). Sitokrom b ve ATPaz subünite 6 genlerinin çeşitli hastalıklarla (kardiyomiyopati, hipertansiyon, nörolojik hastalıklar, kas hastalıkları, vs.) ilişkisi vurgulanmıştır (52). Bu iki genin ürünü olan ATPaz ve sitokrom b proteinlerinin, enerji üretimi sürecindeki önemli fonksiyonlarından dolayı, enerji ile doğrudan ilişkili olan bir hastalık olan obezite ile ilişkisi araştırılmıştır (10, 11, 48, 66).

2.7. Mitokondriyal ATPaz Subünite 6 Geni (MTATP6) [NC_001807.4 (8528..9208)] 'nin Obezitede Önemi

Enerji çevriminde önemli bir diğer mitokondriyal gen olan MTATP6; protonların translokasyonu ile ATP sentezini sağlayan kompleks V olarak da adlandırılan ATP sentazın (Şekil 2.2) alt ünitesidir (67). F_1F_0 ATP Sentaz mitokondrinin iç membranında bulunur ve hücre enerji döngüsünde anahtar bir enzim niteliğindedir (49). Bu büyük enzim kompleksi, ATP hidrolizi ve sentezi için katalitik bölgeyi içeren F_1 kısmı, proton kanalını içeren F_0 kısmından oluşur (68). ATPaz 6 proteini (subünit a), ATP sentazın nükleer genom tarafından kodlanan alt ünitesinin yanı sıra, mitokondriyal olarak kodlanan iki alt ünitesinden birisidir (68) (Şekil 2.2). Maternal olarak aktarılan ATP sentaz defektleri birincil derecede ATPaz 6 proteini ile ilişkilidir. ATPaz 6, ATP sentazın fonksiyonunu etkileyen varyasyonlar için hot spot bölge özelliğindedir. Saptanan MTATP6 mutasyonları da çoğunlukla yanlış anlamalı heteroplazmik mitokondriyal DNA mutasyonlarıdır. Çeşitli MTATP6 geni mutasyonları sonucu, fonksiyonu bozulan, ATP sentazın H^+ kanalıdır. Bu fonksiyon bozukluğu ile ATP sentazın hidrolitik aktivitesi değişmezken, sıklıkla ATP üretiminde azalma belirlenmektedir (49).

MTATP6 geni mitokondriyal genomda 8527 ve 9207 nükleotitleri arasında kodlu olup 681 kb uzunluğundadır (Şekil 2.1.A). ATP sentaz genlerini içeren mitokondriyal DNA'daki mutasyonlar birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (69).



Şekil 2.2. ATP sentazın yapısı (46)

2009 yılında Zhu ve arkadaşlarının, hipertansiyonun mitokondriyal varyasyonlarla ilişkisini araştırdıkları çalışmada, MTATP6 genindeki mt8701 A/G değişimi kontrollere göre anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur (70).

2007 yılında yayınlanan çalışmaya göre bir grup araştırmacı obezite prevalansı oldukça yüksek olan Pima Hintlilerinde mitokondriyal SNP taraması yapmışlardır. 4 olguda 34 SNP saptanmış ve bunların 9 tanesinin nonsinonim (aminoasit değişikliğine neden olan) olduğu belirlenmiştir. MTATP6 geninde mt8584 G/A ve mt8701 A/G nonsinonim varyasyonları önem kazanmıştır (71).

2002 yılında Fuku ve arkadaşları ATPaz subünite 6 proteininin (NP_536848.1) enerji üretimi sürecindeki önemli rolünden yola çıkarak, obezite ve MTATP6 geninin obeziteyle ilişkisini araştırmışlardır. Araştırma grubunu genç obezlerden oluşturan araştırmacılar, oldukça polimorfik mitokondriyal genlerden biri olan MTATP6 üzerinde birçok polimorfizm saptamışlardır. 11 nonsinonim, 15 sinonim (aminoasit değişikliğine neden olmayan) olmak üzere 26 varyasyon tespit etmişlerdir. Özellikle, transisyonların transversiyonlara göre daha fazla saptanması üzerinde durulan çalışmada, transisyonların moleküler oluşum mekanizması açıklanmıştır. Mitokondriyal DNA analizinin, populasyon genetiği açısından önemini, buna bağlı olarak mitokondriyal varyasyonların tıbbi yaklaşımlar geliştirme açısından fonksiyonel olabileceğini vurgulamışlardır. Elde ettikleri varyasyonların, kontrol ve obez grupta karşılaştırılması sonucu enerji metabolizması ve obezite ile ilgili aydınlatıcı bilgiler verilebileceğini belirtmişlerdir (10).

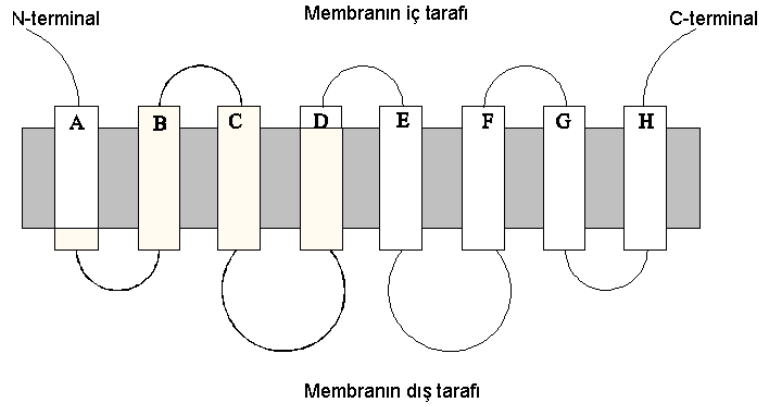
2005 yılında Guo ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, tip 2 diabetli 96 hasta ile Fuku ve arkadaşlarının çalışmasında yer alan 96 obez olgunun tüm mitokondri genomunun dizi analizi yöntemi ile varyasyonlarını belirlemişlerdir. 96 tip 2 diabetli hastanın 5 tanesinde MTATP6 geninde mt8684 C/T değişimi saptanırken, obez bireylerde bu polimorfizm belirlenmemiştir. MTATP6 geninde saptadıkları diğer varyasyonların değerlendirilmesi sonucu, obez ve tip 2 diabetli hasta grupları arasında anlamlı bir fark saptamamışlardır (66).

2.8. Mitokondriyal Sitokrom B Geni (MTCYB) [NC_001807.4 (14748..15882)]' nin Obezitede Önemi

Sitokrom b proteini (NP_536855.1); mitokondride elektron transport zincirinde rol oynayan dört kompleksten (kompleks I, II, III, IV) biri olan kompleks III'ün mitokondriyal genomda kodlanan tek alt ünitesidir (Şekil 2.3). Kompleks III'ün oluşumunda rol oynayan diğer alt üniteler nüklear genom tarafından kodlanmaktadır. Kompleks III, mitokondrinin iç membranında lokalizedir ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun elektron transport zincirinde ikinci enzim olarak görev alır. Elektronların ubiquinolden (Koenzim Q10) sitokrom c'ye transferini katalizler (78).

Sitokrom b proteini mitokondride enerji üretimindeki rolünden dolayı evrimsel olarak korunmuş bir proteindir. Sitokrom b proteinin tahmin edilen moleküler ağırlığı 42.7 kD olup yapısında 8-9 transmembran bölgesi, 2 hem grubu vardır (Şekil 2.3). İki hem grubu, redoks potansiyelleri açısından birbirlerinden farklıdır. Sitokrom

b, çekirdek proteinleri 1 ve 2 ile etkileşime girerek kompleks III'ün merkezini oluştururlar. Mitokondriyal iç membranın sitoplazmik yüzündeki Rieske demir-sülfür proteini elektronları sitokrom b'den alarak sırasıyla sitokrom c1'e, sitokrom c'ye iletmektedir (72, 73).



Şekil 2.3. Sitokrom b Proteininin Yapısı (67)

MTCYB geni, guanince zengin ağır (H) zincirde 14747 ve 15887 nükleotitleri arasında lokalizedir (Şekil 2.1.A) (74).

MTCYB geni, mitokondriyal genlerden en polimorfik olanlarındandır. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir araştırmaya göre 32 bireyde sitokrom b geninde 12 nonsinonim ve 15 sinonim olmak üzere 27 varyasyon saptanmıştır (64).

2002 yılında Fuku ve arkadaşları tarafından yapılan obeziteye ait bir çalışmada, sitokrom b geninde toplam 44 polimorfik bölge belirlenmiştir. Japon populasyonundaki obez bireylerde yapılan bu çalışmada; % 35.7 oranında ağır zincirdeki G/A varyasyonu (Mt15497 G/A), % 2.7 oranında hafif zincirde saptanmış olan C/T varyasyonuna göre anlamlı bulunmuştur. Bu bölge sitokrom b fonksiyonu açısından oldukça önemli olup, varyantı taşıyan bireylerde bu proteinin fonksiyonunun bozukluğundan bahsedilmektedir (10). 2003 yılında Okura ve arkadaşları tarafından yapılan obez bireylerdeki bir diğer çalışmada ise, sitokrom b proteininin 251. pozisyonundaki glisin yerine aspartik asit aminoasitinin (Mt 15497G/A) geçmesi, kalp kriziyle anlamlı olarak ilişkilendirilmiştir (48). Buna karşın, Güney İtalya'da Liguori ve arkadaşlarının, 2006 yılında yaptıkları çalışmada ise, bu polimorfizmin obezite ile anlamlı bir ilişkisi bulunamamıştır ($p>0.05$). Bu da etnik köken ve coğrafyanın mitokondriyal polimorfizmler üzerine etkisinin bir kanıtı olarak düşünülmektedir (11).

Ülkemizde henüz, obezite ile mitokondriyal genlerin ilişkisini ortaya koyacak şekilde varyasyon profiline ait, herhangi bir moleküler genetik veri mevcut değildir.

MATERYAL VE YÖNTEMLER

Akdeniz Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalına başvuran ve obezite tanısı almış 100 pediatrik olgu ile kontrol grubunu oluşturacak 100 olgunun periferal kan örnekleri alınmıştır.

3.1. Obezite Tanısı Almış Olgularda Klinik İnceleme

Akdeniz Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Endokrinoloji polikliniğine başvuran ve fazla kilolu olduğu saptanan hastalar çalışma kapsamında değerlendirilmiştir. Olguların boy ve kiloları ölçülerek beden kitle indeksleri hesaplanarak, Türk çocukları için yaşa ve cinsiyete göre hesaplanmış BKİ percentil değerleri kullanılarak, BKİ'si 95. percentilin üzerinde olan çocuklar obez olarak değerlendirilip çalışma kapsamına alınmıştır. Obeziteye neden olabilecek hipotiroidizm ve Cushing Sendromu gibi hastalıkları dışlamak için bütün obez olgularda tiroid fonksiyon testlerine (serbest T3, T4, TSH) ve kortizolün diurnal ritmine bakılmıştır. Bunun yanı sıra, obez olgularda serum total kolesterol, trigliserid, LDL (low density lipoprotein/ düşük yoğunluklu lipoprotein), HDL (high density lipoprotein/yüksek yoğunluklu lipoprotein), glukoz ve insülin seviyeleri ölçümleri yapılmıştır. Glukoz x insülin x 0.055 / 22.5 formülü kullanılarak insülin direnci hesaplanarak (HOMA-IR), bu değer in prepubertal çocuklarda 2.5, pubertal çocuklarda 3.5' in üzerinde olması insülin rezistansı (direnci) olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, tüm hastaların istirahat halinde iken sistolik, diastolik kan basınçları ölçülmüştür. BKİ'si normal olan (5. ile 85. percentil değeri arası) 100 sağlıklı çocuk ise kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2. Periferal Kan Örneklerinin Alınımı

Obezite tanısı almış olgulardan onam formu doldurularak, 5 ml olacak şekilde periferal kan örnekleri K₃EDTA'lı steril tüplere [Venoject®] alındı. DNA izolasyon işlemine kadar +4°C'de saklandı.

3.3. Periferal Kandan DNA Eldesi

Olguların genomik DNA'ları, periferal kandan modifiye non-enzimatik metod ile izole edildi. DNA izolasyonu için kullanılan çözeltiler ve işlem basamakları aşağıdaki gibi uygulandı.

3.3.1. Kullanılan Solusyonlar

CLB 1X (Hücre Liziz Tamponu)

0.32 M Sükröz	(Merck)
10mM Tris HCl pH 7.6	(Sigma)
5mM MgCl ₂	(Merck)
%1 Triton-X	(Sigma)

Yukarıdaki derişimleri sağlayacak şekilde distile su ile hazırlanan CLB 1X tamponu otoklavda sterilize edildikten sonra +4°C’de saklandı.

TKM1 (Düşük Konsantrasyonlu Tuz Solüsyonu)

10mM Tris HCl pH 7.6	(Sigma)
10mM KCl	(Reidel-de Haen)
10mM MgCl ₂	(Merck)
2 mM EDTA pH 8.0	(Sigma)

Yukarıdaki derişimleri sağlayacak şekilde distile su ile hazırlanan TKM1 tamponu otoklavda sterilize edildikten sonra oda sıcaklığında saklandı.

TKM2 (Yüksek Konsantrasyonlu Tuz Solüsyonu)

10mM Tris HCl pH 7.6	(Sigma)
10mM KCl	(Reidel-de Haen)
10mM MgCl ₂	(Merck)
0.4mM NaCl	(Carlo Erba)
2 mM EDTA pH 8.0	(Sigma)

Yukarıdaki derişimleri sağlayacak şekilde distile su ile hazırlanan TKM2 tamponu otoklavda sterilize edildikten sonra oda sıcaklığında saklandı.

%10 SDS Çözeltilisi

1 gram SDS (Q-Bio gene) 10ml distile suda çözüldükten sonra filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda sıcaklığında saklandı.

6 M NaCl

35.06 gram NaCl (Carlo Erba) 100 ml distile suda çözümlenerek otoklavda sterilize edildikten sonra oda sıcaklığında saklandı.

%70’lik Etanol

70 ml %99 luk etanol, 30 ml distile su ile karıştırıldı ve +4°C’de saklandı.

3.3.2. İşlemler

K₃EDTA’lı steril tüplere alınan kan alt üst edilerek homojenize edildi. Kan örneğinden 3 ml alınarak 15 ml’lik steril santrifüj tüpüne aktarıldı. Üzerine 3 katı hacim kadar CLB 1X eklendi ve yavaşça karıştırıldı. Oda sıcaklığında devir sayısı

(rpm) dakikada 2200 olacak şekilde 10 dakika santrifüj edildi. Dökelti atıldı. Çökelti elle vurularak homojenize edildikten sonra üzerine 5 ml TKM1 solüsyonundan eklendi. Vorteksle karıştırılarak homojenize edildikten sonra oda sıcaklığında 2200 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Dökelti atıldı. Çökelti elle vurularak homojenize edildikten sonra üzerine 1.5 ml TKM2 ve 100µl %10 SDS solüsyonlarından eklendi. Tüp alt üst edilerek karışması sağlandı. Çökelti tamamen homojenize olana kadar 65°C'de 30-60 dakika süreyle su banyosunda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra tüpe 570 µl 6 M'lık NaCl eklendi. Beyaz köpüklü bir görünüm elde edene kadar vorteksle karıştırıldı. Oda sıcaklığında 2900 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Dökelti içinde 4.5 ml %99 etanol bulunan 15 ml'lik santrifüj tüpüne aktarıldı. Tüp alt üst edilerek DNA'nın kondanse olması sağlandı. Tüp 2900 rpm'de santrifüj edildi. Dökelti atıldı. Çökelti üzerine 5 ml %70'lik etanol ilave edilerek DNA'nın yıkanması sağlandı. Oda sıcaklığında 2900 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek dökelti atıldı. Tüp içerisinde çökelti halinde bulunan DNA 10-15 dakika kurutuldu. Üzerine 300 µl Tris EDTA eklendi ve etüvde 65 °C'de 1 saat veya 4°C'de geceboyu bırakılarak DNA'nın çözülmesi sağlandı. Çözünen DNA 1.5 ml'lik ependorf tüplere alındı. Elde edilen DNA örneklerinin optik dansite ölçümleri spektrofotometre ile yapıldıktan sonra, sulandırılıp uzun süreli -20 °C'de, kısa süreli +4 °C'de saklandı.

3.4. DNA Örneklerinin Spektrofotometrik Ölçümü

İzole edilen DNA örneklerinin miktar ve saflık derecelerini belirlemek için spektrofotometre ile ölçümler yapıldı. Optik dansite ölçümlerini belirlemek amacıyla örnekler 1/200 oranında sulandırıldı. 5µl DNA örneği 995 µl dH₂O ile sulandırılarak 1000 µl'ye tamamlandı. Spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında örneklerin ölçümü yapılarak DNA miktarları,

DNA miktarı = 260 nm'deki Optik Dansite (O.D.) x Sulandırma Faktörü (S.F.) x 50

formülü ile hesaplandı. Hesaplanan değerlere göre DNA örnekleri 50ng/µl olacak şekilde sulandırıldı.

3.5. PCR Yöntemi

PCR reaksiyonu, Bio-Rad (MyCycler) ve PCR System 9700 (Gene Amp ®) marka PCR cihazlarında gerçekleştirildi.

3.5.1 PCR reaksiyonu içeriği

PCR içeriği; H₂O, 10X tampon (Fermentas), MgCl₂ (25 mM) (Fermentas), dNTP (10 mM) Karışımı, İleri ve Geri primer (10 µM), Taq polimeraz (5 u/µl) (Fermentas) ve genomik DNA (50 ng/µl) konularak 20 µl olacak şekilde hazırlandı.

ATP6 geni için kullanılan primerler

İleri primer: 5' CCTTACACTATTCCTCATC 3' [19 mer; Tm: 55 °C]

Geri primer: 5' TGAAAACGTAGGCTTGGAT 3' [19 mer; Tm: 55 °C]

Sitokrom b geni için kullanılan primerler

İleri primer: 5' ATAGCCATCGCTGTAGTAT 3' [19 mer; Tm: 55 °C]

Geri primer: 5' CAATTAGGGAGATAGTTGG 3' [19 mer; Tm: 55 °C]

3.5.2. PCR programı

Başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 8 dakika; denatürasyon 94°C'de 45 saniye, birleşme 55°C'de 45 saniye, uzama 72°C'de 45 saniye olacak şekilde 35 döngü, son uzama ise 72°C'de 5 dakika olarak ayarlandı.

3.6. Agaroz Jel Elektforezi ve Görüntüleme Sistemi

3.6.1. % 1'lik agaroz jelin hazırlanması

1 gram agaroz (Sigma) tartılarak 100 ml 1XTBE'de (Tris-Borat-EDTA) çözüldü. 50-55°C'ye gelene kadar soğutuldu. 0.5 µg/ml etidyum bromür ilave edildi. Elektforez küvetine taraklar yerleştirilerek sıvı agaroz jel elektforez küvetine döküldü. Oda sıcaklığında 15-20 dakika polimerize olması için beklendi. Jel polimerize olduktan sonra taraklar jelden alındı ve agaroz jel, elektforez tankına yerleştirildi.

3.6.2. İşlemler

%1'lik agaroz jel, içerisinde 1XTBE bulunan elektforez tankına yerleştirildi. PCR ürünü ve 50bç'lik marker yükleme tamponu kullanılarak kuyucuklara mikropipet yardımıyla yüklendi. Elektforez tankına bağlı güç kaynağı ile 100 voltta 45 dakika yürütüldü. Süre sonunda örnekler UV ışık veren transilluminatör Syngene (Ingenius) yardımıyla incelendi.

3.7. Amplikonların temizlenmesi

Amplifikasyon ürünlerinin temizlenmesi, Roche marka PCR ürün pürifikasyon kiti kullanılarak gerçekleştirildi.

İşlemler

PCR ürünü steril distile su eklenerek 100 µl'ye tamamlandı. Üzerine 500 µl bağlanma tamponu eklendi ve iyice karıştırıldı. Karışım pürifikasyon filtresinin üzerine boşaltıldı. Oda sıcaklığında 13000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildi. Tüpün dibine biriken dökelti atıldı. Pürifikasyon filtresinin üzerine 500 µl yıkama solüsyonu eklendi. Oda sıcaklığında 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Dökelti atıldı. İkinci yıkama 200 µl yıkama solüsyonu ile yapıldı. Tekrar oda sıcaklığında 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi ve dökelti atıldı. Pürifikasyon filtresi temiz 1.5 ml'lik ependorf tüpe aktarıldı. Üzerine 50 µl elüsyon solüsyonu ilave edildi. Oda sıcaklığında 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. DNA agaroz jelde kontrol edildi.

3.8. DNA Dizi Analizi

Dizi analizi reaksiyonları PCR System 9700 (Gene Amp ®) marka Thermal Cyclers kullanılarak aşağıdaki programa göre yapıldı.

3.8.1. Dizileme Reaksiyonu

5X Tampon, Big Dye v3.1, primer (10µM), kalıp DNA ve H₂O konularak final hacmi 10µl olacak şekilde hazırlandı.

3.8.2. Dizileme PCR Programı

Denatürasyon, 96°C'de 10 saniye; birleşme, 50°C'de 5 saniye, uzama, 60°C'de 4 dakika ve 25 döngü olacak şekilde ayarlandı.

3.9. Dizi Analizi Yapılacak Amplikonların Temizlenmesi

Hazırlanan yeni 1.5 ml'lik ependorf tüplere 2 µl, 3.2 M sodyum asetat (Mallinckrodt) (pH 4.6) konuldu. Üzerine 30 µl %99 soğuk etanol ilave edildi. Bu karışımın üzerine amplifikasyon ürününün tamamı eklendi ve vorteksle karıştırıldı. 20 dakika buz üzerinde bekletildi. Süre sonunda oda sıcaklığında 14000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Pipetle dökelti alınarak atıldı. Çökelti üzerine 250 µl %70 etanol ilave edildi. Oda sıcaklığında 14000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Tekrar dökelti pipetle alınarak atıldı. Tüplerin 10-15 dakika karanlıkta kuruması beklendi. Tüpler kuruduktan sonra üzerine 25 µl formamid ilave edildi. Tüpler hafifçe vurularak karıştırıldı ve dizi analizi tüplerine aktarıldı. ABI 3130 dizileme cihazına konulmadan önce örnekler 94°C'de 5 dakika denatüre edilerek cihaza yüklendi.

3.10. DNA Dizi Analizi

Denatüre edilen PCR ürünleri ABI 3130 dizileme cihazına yüklenerek sonuçlar ABI sequence analysis v3.1 yazılım programında değerlendirildi.

3.11. İstatistik Analizi

Obez ve kontrol olgularda saptanan genomik değişimler "bağımsız gruplarda iki yüzde arasındaki farkın anlamlılık testi" ile değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikleri elde etmek için SPSS 17 programı kullanıldı. Bu program dahilinde, varsayımların sağlanmadığı durumlarda Mann-Whitney U testi, varsayımların sağlandığı durumlarda ise student t testi uygulandı. Ayrıca Chi-square testi yapılarak bulgular değerlendirildi.

BULGULAR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı tarafından obezite tanısı konmuş 100 ve kontrol grubunu oluşturan 100 olgu değerlendirilerek aydınlatılmış onam formları alındıktan sonra çalışma kapsamına alınmıştır. Çalışma kapsamına alınan obez olguların %41'i erkek, %59'u kız birey iken kontrol grubundaki olguların da %39'u erkek, %61'i kız bireylerden oluşmaktadır.

4.1. Klinik Bulgular

Klinik muayene sonucunda, BKİ'si 95. persentilin üzerinde olan, obezite tanısı konmuş 100 ve kontrol grubu olarak BKİ'si normal olan (5. ile 85. persentil değeri arası) 100 sağlıklı çocuk çalışma kapsamına alınmıştır. Obez ve kontrol olgulara ait klinik bulgular çizelge 4.1-4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Obez olguların klinik bulguları

KOD	Cinsiyet	Yaş	Boy(cm)	Kilo(kg)	BKİ (kg/m ²)	Hipotiroidi	Total Kolesterol (mg/dl)	Trigliserit (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	Glukoz (mg/dl)	İnsülin (uU/ml)	HOMA-IR	İR	Sistolik Kan Basıncı	Diastolik Kan Basıncı
1	K	14,5	162,2	84	31,9	+	145	94	61	65	92	27,9	6,2	+	115	75
2	K	9,53	127,6	40	24,8	-	139	207	35	63	82	12,14	2,43	-	100	60
3	K	16,9	168,5	101	35,6	-	134	115	28	83	77	17,7	2,77	-	120	80
4	K	17,5	160,3	86	33,5	+	171	212	35	94	83	7,72	0,22	-	110	60
5	K	14	161,5	76	29,1	-	86	149	42	87	86	15,44	3,2	-	?	?
6	E	10,1	143,1	53	25,9	-	100	43	37	54	75	7,008	1,29	-	100	60
7	E	11,8	152,9	59	25,2	-	155	89	53	90	91	20,9	4,6	+	100	60
8	K	13,2	156,6	102	41,5	-	144	124	35	84	75	36,87	6,75	+	120	70
9	E	14,6	157,9	81	32,9	-	173	207	35	97	87	32,39	6,8	+	120	90
10	E	15,1	168,7	96	34	-	128	48	47	71	75	7,7	1,4	-	120	70
11	K	14,9	156,4	82	33,5	-	191	251	32	109	73	28,44	5	+	110	70
12	K	7,21	118,7	28,7	20,36	-	175	130	61	101	87	6,17	1,3	-	120	80
13	E	15,6	192,9	146	39	-	170	299	46	64	97	20,59	4,88	+	120	80
14	K	8,49	129,9	39,5	23,4	-	149	84	39	93	83	10,49	2,12	-	100	65
15	E	7,94	135	68,5	37,5	-	128	108	38	64	94	5,9	1,35	-	120	80
16	E	7,99	134,1	37,6	20,9	-	157	34	67	83	89	7,22	1,57	-	115	80
17	K	7	120	32	22,2	-	152	83	46	89	82	11,76	2,35	-	?	?
18	K	16,8	166	78	28,3	+	172	85	58	97	96	27,82	6,52	+	120	80
19	K	4,3	109,5	24	20,3	-	176	60	77	87	75	3,98	0,7	-	?	?
20	E	13,5	169,4	75	26,1	-	108	131	45	37	81	12,83	2,5	-	120	80
21	E	13,2	155,6	65	27	+	168	124	40	103	79	20,89	3,7	+	110	70
22	K	10,3	143,1	52	25,3	-	168	195	44	85	79	10,98	2,12	-	120	80
23	K	16,48	169,9	83,7	29	-	141	81	58	67	75	10,81	1,98	-	?	?
24	E	10,01	143,7	49	23,7	+	168	74	50	103	86	8,42	1,7	-	110	80
25	K	10	142	50	24,7	?	174	46	67	98	73	12,17	2,1	-	?	?
26	E	9,98	139,5	47	24,1	-	158	102	50	88	78	6,29	1,19	-	110	80
27	E	10	140	51	26	-	176	41	81	87	76	1,96	0,3	-	?	?
28	E	13,2	158,1	77	30,8	-	115	65	42	60	86	11,84	2,5	-	120	80
29	K	5,51	118,8	34	24,4	-	188	83	63	?	94	6,15	1,41	-	110	65
30	K	8,65	149,6	54	24,1	-	139	54	39	89	82	14,87	2,9	+	?	?
31	E	16,8	173,9	105	34,7	-	157	303	32	64	101	25,65	5,98	+	110	85
32	E	11,7	155,1	78,5	32,6	-	178	158	59	87	89	12,54	2,72	-	?	?
33	K	15,6	162,6	86,5	32,7	-	143	248	45	48	78	23,81	4,53	+	120	80
34	K	3,6	96,7	18	19,2	-	147	90	47	82	79	1,9	0,37	-	100	60
35	K	6,8	121,2	28	19,06	-	172	54	65	96	92	12,81	2,88	+	?	?
36	E	12,9	166,2	90	32,5	-	129	57	43	75	94	?	?	?	126	83
37	E	11,5	144	55	26,5	-	173	57	66	96	62	8,97	1,4	-	?	?
38	K	6,5	127	31,5	19,5	-	135	115	41	71	76	4	0,7	-	?	?
39	E	10,9	147,5	63	29,1	-	182	294	41	82	?	?	?	?	?	?
40	K	11,02	146,9	57	26,4	-	140	53	43	86	75	10,2	1,8	-	?	?
41	E	8,1	136,1	54	29,3	-	199	146	51	119	92	10,74	2,41	-	125	90
42	K	10	151	61,5	27	-	163	92	48	97	98	21,52	5,1	+	100	60
43	K	13,2	160,5	99,5	38,6	-	134	118	39	71	79	16,74	3,2	+	110	80
44	E	10,3	153	72,5	30,9	-	175	109	36	117	82	43,59	8,2	+	123	82
45	E	3,36	102,9	23,5	22,1	-	188	56	59	118	81	4,47	0,88	-	113	67
46	K	7,39	119,3	33,5	23,5	-	160	124	53	82	81	6,4	1,26	-	110	70
47	K	15	164	76	28,2	?	136	101	33	83	84	30,61	6,2	+	?	?
48	K	15,8	167,5	84,5	30,1	-	175	119	47	104	78	20,91	3,7	+	140	100
49	K	8,61	128,1	38,5	23,4	-	152	215	25	84	84	?	?	?	100	70
50	K	9,27	135,6	43	23,3	-	173	127	43	105	81	25,26	4,9	+	?	?

K, kız; E, erkek; BKİ, Beden Kitle İndeksi; (+), mevcut; (-), bulgu yok; ?, bilinmiyor; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; HOMA-IR, Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (İnsülin direnci indeksi); İR, insülin rezistansı

Çizelge 4.2. Obez olguların klinik bulguları (devamı)

KOD	Cinsiyet	Yaş	Boy(cm)	Kilo(kg)	BKİ (kg/m ²)	Hipotiroidi	Total Kolesterol (mg/dl)	Trigliserit (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	Glukoz (mg/dl)	İnsülin (uU/ml)	HOMA-IR	İR	Sistolik Kan Basıncı	Diastolik Kan Basıncı
51	E	11,9	158,8	61	24,1	—	127	120	49	54	93	15,9	3,9	+	105	75
52	E	17	170	88	30,4	—	177	178	31	110	87	10,9	2,3	—	?	?
53	K	15,1	158,4	84,5	33,8	—	170	146	45	96	75	11,6	2,04	—	130	65
54	K	13	168	80	28,3	—	141	99	48	73	86	30,04	6,3	+	?	?
55	K	7,2	123,5	37,5	29,4	—	149	72	62	73	84	7,83	1,6	—	90	60
56	K	4,27	112,9	26	20,4	—	142	168	32	76	78	12,4	2,3	—	90	55
57	K	11,9	155,1	66	27,5	—	123	81	46	61	93	44,21	10	+	100	70
58	K	9,44	131,8	41	23,6	—	155	85	61	77	74	11,1	2	—	?	?
59	K	12,6	164,1	77,5	28,9	—	210	143	46	135	84	17,5	3,5	+	110	70
60	K	9	141	58	29,1	—	148	92	39	91	74	22,65	4	+	155	75
61	E	12	149,1	63	28,3	—	200	202	38	122	89	14,3	3	+	90	60
62	K	13,1	165,8	98,5	36	+	196	148	82	84	76	10,82	2	—	105	60
63	E	17	172,7	119	39,9	+	209	171	30	145	79	18,73	3,6	+	100	65
64	K	14,4	157,3	91	36,8	—	170	68	33	123	85	34,44	7,1	+	120	80
65	K	6,2	116,2	26	19,25	+	183	87	62	104	84	7,22	1,48	—	105	60
66	E	16,2	180,8	97	29,7	—	165	112	49	94	80	18,26	3,57	+	124	82
67	E	10,3	148,4	58,5	26,8	—	109	93	36	54	77	13,08	2,4	—	110	65
68	E	6,6	128,3	34,5	21,2	—	167	96	67	81	83	10,68	2,1	—	90	60
69	E	8	135,2	52,5	29	+	178	145	50	99	70	9,45	1,61	—	?	?
70	K	7,9	135,7	49,5	27,15	—	173	88	50	105	87	12,3	2,6	—	100	70
71	E	8	128,9	47,5	28,9	—	153	50	94	49	78	3,8	0,7	—	?	?
72	K	14	163,5	76,5	28,8	—	126	40	46	72	79	8,71	1,68	—	115	70
73	E	14,4	168,6	87,5	30,9	—	157	57	51	95	88	18,04	3,8	+	110	70
74	K	13,6	165,4	86	31,5	—	?	?	?	?	80	15,31	2,9	—	115	75
75	K	8,19	129,3	46	27,5	—	187	121	80	113	92	21,41	4,81	+	90	60
76	E	12,4	158,5	75	30	—	152	157	42	49	85	9,7	2	—	?	?
77	K	13,5	157,7	84,5	34,1	—	155	177	46	74	94	33,57	7,7	+	126	82
78	E	14,5	164,4	88	32,6	—	139	127	35	79	85	26,24	5,4	+	110	70
79	K	11,8	160,4	67	26,1	—	222	215	37	142	91	13,6	3	+	120	80
80	K	12,4	145	53	26	—	?	?	?	?	90	20	4,4	+	100	65
81	E	10,5	132,2	53	30,3	—	147	88	41	88	76	9,2	1,7	—	100	60
82	K	13,4	163,5	86,5	32,5	+	209	174	45	129	69	8,57	1,44	—	120	65
83	K	14,9	167,4	88	31,4	—	163	83	41	105	76	12,06	2,24	—	120	80
84	K	13,5	161,2	81,5	31,5	—	176	98	50	106	76	19,73	3,6	+	100	70
85	K	13,1	167,3	99,5	35,72	—	151	80	47	75	92	3,35	0,75	—	110	80
86	K	16,9	134,2	63	35	—	121	81	51	54	72	10,58	1,86	—	130	80
87	E	13,8	167,5	88,5	31,6	—	153	123	34	94	88	11,84	2,5	—	116	59
88	E	12,6	155,6	72,5	30,2	—	182	64	45	124	79	7,68	1,48	—	120	60
89	E	8,95	143,8	63	30,46	—	181	157	27	123	78	9,43	1,79	—	110	70
90	E	8,68	145,2	65	30,9	—	142	55	47	84	86	15,99	3,36	+	100	65
91	E	7,83	129,8	35,5	21,36	—	208	119	47	137	79	7,87	1,5	—	100	70
92	K	12,9	166,8	76	27,3	—	157	94	51	87	99	17,82	4,3	+	150	90
93	K	7	125	40	25,6	—	117	116	30	64	78	?	?	—	110	70
94	K	17,4	149,8	71	31,6	—	177	98	50	107	92	15,5	3,49	+	100	60
95	K	8,8	135,9	45,5	25	—	174	71	52	108	77	9,8	1,84	—	90	60
96	K	11	141,1	55	27,6	—	166	119	44	98	79	14,44	2,7	—	110	60
97	K	11,3	142,7	54,5	27	—	172	144	38	105	80	12,6	2,46	—	90	60
98	K	9,5	140	52	26,53	—	157	94	59	79	80	3,9	0,7	—	120	80
99	E	7,93	122,6	34,4	22,9	—	192	56	65	116	88	3,63	0,7	—	120	80
100	E	10	148	62,5	28,76	—	190	176	44	111	85	19,38	4	+	120	70

K, kız; E, erkek; BKİ, Beden Kitle İndeksi; (+), mevcut; (-), bulgu yok; ?, bilinmiyor; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; HOMA-IR, Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (İnsülin direnci indeksi); İR, insülin rezistansı

Çizelge 4.3. Kontrol grubundaki olguların klinik özellikleri

KOD	Cinsiyet	Yaş	Boy (cm)	Kilo (kg)	BKİ (kg/m ²)
1	E	12,85	137,4	31	16,42
2	K	9	138	39,1	20,53
3	E	13	138,5	33	17,2
4	K	9	130	30	17,75
5	K	7,24	136	31	16,81
6	K	8,5	135	34	18,65
7	E	15,24	148,7	36,5	16,5
8	K	10	137	35	18,64
9	K	8,7	143,2	37,5	18,28
10	K	6,11	115,2	22	16,57
11	K	9,1	136	33	17,84
12	K	7,3	117,1	21	15,31
13	K	6,5	126,1	29	18,23
14	K	6	119	28,5	20,12
15	E	17,5	162,4	53,5	20,28
16	K	7,35	122,4	21,5	14,35
17	K	7,68	135	28,5	15,63
18	K	4,3	106,5	17,5	15,42
19	K	7,8	121	25	17
20	K	8,42	130,5	25	14,67
21	K	9	128	28,5	17,4
22	K	9,5	142,8	34	16,67
23	K	8	123	28,5	18,83
24	K	9,5	142	35	17,35
25	E	13,17	157,2	42	17
26	K	7,4	122	24	16,12
27	K	10	140	41,5	21,17
28	K	11,6	130	31	18,34
29	K	9,89	145,8	32,5	15,28
30	K	8,7	123	20	13,21
31	K	9,75	143	32	15,64
32	K	5,4	106,3	15,5	13,71
33	K	13,34	149	51	22,9
34	K	7	128,6	22,5	13,6
35	E	13	166,7	59	21,23
36	E	7,8	144,3	34,5	16,56
37	E	17	173,5	71	23,5
38	K	17,2	154,8	42	17,5
39	K	10,5	142	29	14,38
40	E	13	157,5	46,5	18,74
41	K	14,9	146	40,5	19
42	E	7,8	132,5	25,5	14,5
43	K	15,1	158,1	48,5	19,4
44	E	4,5	103	17	16
45	K	8	130	38	22,48
46	K	8,83	143,6	33	16
47	K	6,9	127,2	22,5	13,9
48	K	5,7	121	25,5	17,4
49	K	10	142	36	17,85
50	K	11	150	38	16,88
51	E	13,25	146,2	38	17,77
52	E	3,1	102	17	16,33
53	E	6	114	20,5	15,77
54	E	11	153	38,8	16,57
55	E	15,9	176	63,9	20,62
56	E	6	113	19	14,87
57	K	9	131	24	13,98
58	K	8	116	21,7	16,12
59	E	5	115	21	15,87
60	K	6,6	120	20,5	14,23
61	E	14	164	60,7	22,56
62	K	13	158	48,1	19,26
63	E	10	138	36,7	19,27
64	E	6,11	115	22,1	16,7
65	E	16	170,5	63,2	21,74
66	K	8,5	132	26,5	15,2
67	E	5,4	111	16,5	13,4
68	K	17	152	57,3	24,8
69	K	7,5	131	27	15,73
70	E	5	117	22,5	16,43
71	K	13	160	53,3	20,82
72	E	11	146	39,1	18,34
73	E	6,5	113	18,7	14,64
74	E	8	126	28	16,37
75	K	7	127	22,5	13,95
76	E	7	125	26,7	17,08
77	E	10	134	39,7	22,1
78	K	5,8	116	22,4	16,64
79	E	14	162	63,7	24,27
80	K	9,9	139,4	34	17,5
81	K	9,1	135,6	35,5	19,3
82	K	8,5	132,7	25	14,2
83	K	9,3	138	38	19,95
84	E	11	147	36	16,65
85	K	16	153	44	18,8
86	K	7,4	114	21,5	16,54
87	K	8,3	125	26	16,64
88	K	6,7	120	23	15,97
89	K	12	162	54,5	20,76
90	E	5,5	119	23	16,24
91	K	9	132,5	38,6	21,98
92	K	7,5	129,6	32	19,05
93	E	4,3	111,5	24	18,14
94	E	7	120	23	16
95	E	9	136	26	14,05
96	E	4,1	102,8	19	17,97
97	E	7	121	24	19
98	E	6	124	30	19,51
99	E	12,9	138	25	13,12
100	K	10,1	155,2	52	21,58

BKİ; Beden Kitle İndeksi, K; Kız, E; Erkek

Çalışma kapsamına alınan obez ve kontrol olguların yaşları 3.1-17.5 aralığındadır. Obez olguların yaş ortalaması 11.4 ± 3.45 , kontrol olguların yaş ortalaması 8.7 ± 3.35 olup, obez olguların yaşları kontrol olgulara göre anlamlı olarak daha büyük saptanmıştır ($p < 0.05$). Obez olguların %56'sı prepubertal dönemde, %44'ü pubertal dönemdedir. Kontrol olguların ise, %78'i prepubertal dönemde, %22'si pubertal dönemdedir. Her iki grupta yer alan erkek ve kız çocukların oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Çizelge 4.4. Obez olguların klinik verilerine ait istatistiksel analiz değerlendirilmesi

	n	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Sapma (\pm)
Yaş	100	3,36	17,50	11,3162	3,45034
Boy (cm)	100	96,7	192,9	147,650	18,4637
Kilo (kg)	100	18	146	64,57	23,922
BKİ (kg/ m ²)	100	19,1	41,5	28,429	4,9398
Total Kolesterol (mg/dl)	98	86	222	159,97	25,673
Trigliserit (mg/dl)	98	34	303	117,16	58,693
HDL (mg/dl)	98	25	94	47,57	12,961
LDL (mg/dl)	97	37	145	89,52	22,162
Glukoz (mg/dl)	99	62	101	82,86	7,383
İnsülin (uU/ml)	96	1,900	44,210	14,81904	8,960278
HOMA-IR	96	,22	10,00	2,9821	1,93122
Sistolik Kan Basıncı	79	90	155	111,81	12,804
Diastolik Kan Basıncı	79	55	100	71,58	9,596

n, değerlendirmeye alınan olgu sayısı; BKİ, beden kitle indeksi; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; HOMA-IR, Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (İnsülin direnci indeksi)

Obez ve kontrol grubu olgularının BKİ değerleri hesaplanarak (obez grupta 28.53 ± 4.93 , kontrol grubunda 17.53 ± 2.63), obez olguların BKİ değerlerinin, kontrol olguların BKİ değerlerine göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$).

Obezite tanısı almış bireylerin klinik verileri, genel olarak değerlendirildiğinde; obez 10 hastada subklinik hipotiroidi saptanmıştır. 6 hastaya LT4 başlanırken, diğerleri takibe alınmıştır. HOMA-IR değerlendirmesinde ise, obezlerin %39'unda insülin direnci olduğu tespit edilmiştir. 3 obez olgunun insülin ve glukoz parametreleri bilinmemekle birlikte, %61'inde insülin direnci yoktur.

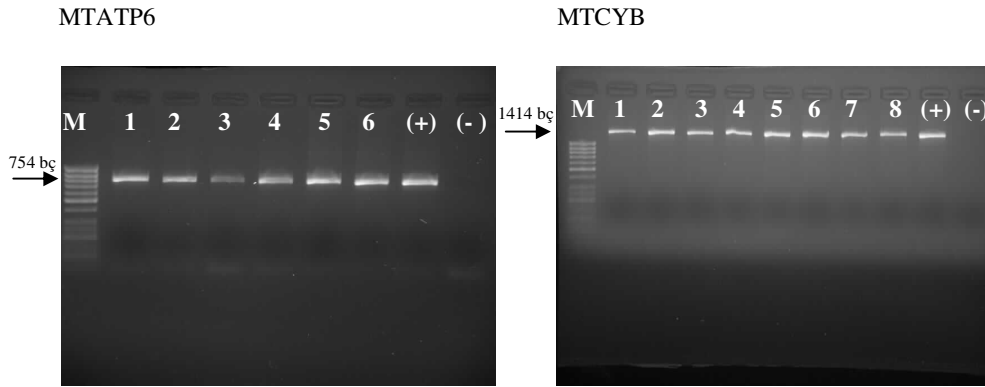
Obez olguların lipid profilini aydınlatmaya yönelik yapılan laboratuvar testleriyle olguların total kolesterol, trigliserid, HDL, LDL düzeyleri

değerlendirilmiştir. Çocuklarda normal total kolesterol seviyesi üst sınırının 170 mg/dl olduğu belirtilmektedir (60). Buna göre; total kolesterol seviyesi bilinen 98 obez olgudan 40 tanesinin (%40.81) plazma total kolesterol düzeyi 170 mg/dl'nin üzerindeyken, 58 tanesinin (%59.1) normal sınırlar içerisinde saptanmıştır. 10 obez olgunun (%10.2) da trigliserid seviyesi, 200 mg/dl'nin üzerinde olup 8 obez olgunun (%8.1) HDL seviyesi 35 mg/dl'nin altında bulunmaktadır. Obez olguların LDL seviyeleri ise normal sınırlar içerisinde bulunmaktadır (Çizelge 4.1, Çizelge 4.2).

Obez olguların %13'ünün ebeveynleri akraba evliliği olduğu bilinirken, %61'inin ebeveynlerinde akraba evliliği yoktur. %26'sında ise akraba evliliği ile ilgili bir veriye ulaşılamamıştır. Ayrıca, aile hikayesi bilinen 29 obez olgunun 24 tanesinin 1. ve 2. dereceden akrabalarında obezite vardır. Sadece 5 olgunun anamnezinde ailede obezite öyküsü olmadığı belirtilmektedir. Geriye kalan 71 olgunun anamnezlerinde ailede obezite varlığı ya da yokluğu ile ilgili veri bulunmamaktadır.

4.2. Moleküler Genetik Analiz Sonuçları

Obezite tanılı ve kontrol grubundaki olguların genomik örneklerinde, MTATP6 ve MTCYB genlerinde moleküler genetik çalışmalar yapılmıştır. Obez ve kontrol grubundaki olguların mitokondriyal genomlarındaki bu iki gen bölgesi, PCR tekniği kullanılarak amplifiye edilmiştir. Elde edilen amplifikasyon ürünleri konsantrasyonu %1 olarak hazırlanan agaroz jelde yürütülmüştür. Amplikon büyüklükleri, sırasıyla 754 bp ve 1414 bp olarak bilinen MTATP6 ve MTCYB genlerinin agaroz jel görüntüsü şekil 4.1'de sunulmuştur.



M, marker; olgu no, 1-8; (+), pozitif kontrol; (-), negatif kontrol; bp, baz çifti

Şekil 4.1. MTATP6 ve MTCYB amplikonlarının agaroz jel görüntüsü

DNA dizi analizi sonucunda 100 obez ve kontrol bireyde birçok polimorfik bölge saptanmıştır. Obez olguların MTATP6 geninde 19 farklı lokalizasyonda transisyon, 1 lokalizasyonda ise transversiyon tipi nükleotit değişimi saptanmıştır. Saptanan transisyonlar tüm nükleotit değişimlerinin %95'ini, transversiyonlar ise %5'ini teşkil etmektedir. Kontrol olguların MTATP6 genlerinde saptanan nükleotit değişimlerinin tamamı, transisyon tipte olmakla beraber, 13 farklı lokalizasyonda belirlenmiştir. Obez olgularda, MTCYB geninde, 25 farklı pozisyonda saptanan transisyon tip nükleotit değişimleri, tüm nükleotit değişimlerinin %92.6'sını, 2 transversiyon ise %7.4'ünü oluşturmaktadır. MTCYB geninde, kontrol olgularda 18 farklı pozisyonda saptanan nükleotit değişimleri ise, tüm değişimlerin %90'ını oluştururken, saptanan 2 transversiyon ise %10'unu oluşturmaktadır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Obez ve kontrol grubunda MTATP6 ve MTCYB genlerinde saptanan transisyon ve transversiyon tipi nükleotit değişimlerinin dağılımı

OBEZ GRUBU			KONTROL GRUBU		
	MTATP6	MTCYB		MTATP6	MTCYB
Transisyon	19	25	Transisyon	13	18
Transversiyon	1	2	Transversiyon	0	2

Obez olgularda MTATP6 geninde 7 nonsinonim, 13 sinonim nükleotit değişimi saptanmıştır. Kontrol grubunda ise MTATP6 geninde 6 nonsinonim, 7 sinonim nükleotit değişimi saptanmıştır. MTATP6 geninde obez olgularda saptanan varyasyonların 7 tanesi (1 nonsinonim, 6 sinonim), kontrol olgularda saptanan varyasyonların ise 4 tanesi (2 nonsinonim, 2 sinonim) yeni varyasyonlardır (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7). Obez ve kontrol gruplarında saptanan nonsinonim varyasyonların elektroferogramları, sırasıyla şekil 4.5, şekil 4.6'da, sinonim varyasyonların elektroferogramları ise, sırasıyla şekil 4.7, şekil 4.8, şekil 4.9'da sunulmuştur.

Çizelge 4.6. Obez ve kontrol olguların MTATP6 genine ait nonsinonim nükleotit değişimleri

NONSİNONİM VARYASYONLAR (MTATP6)					
OBEZ GRUBU			KONTROL GRUBU		
Varyasyon	Aminoasit Değişimi	Sıklık	Varyasyon	Aminoasit Değişimi	Sıklık
8557G>A	Ala11Thr	1/100	8618T>C	Ile31Thr	1/100
8566A>G	Ile14Val	1/100	8684C>T*	Thr53Ile	1/100
8573G>A	Gly16Asp	1/100	8726C>T (n)	Thr67Ile	1/100
8684C>T*	Thr53Ile	2/100	8860A>G*	Thr112Ala	100/100
8860A>G*	Thr112Ala	100/100	8951T>C	Val142Ala	1/100
8867T>C	Ile114Thr	1/100	8966T>C* (n)	Ile147Thr	1/100
8966T>C* (n)	Ile147Thr	2/100			

* Her iki grupta (kontrol-obezi) saptanan ortak nükleotit değişimlerini göstermektedir.

(n) Mitomap veri tabanında yer almayan yeni varyasyonları belirtmektedir.

Çizelge 4.7. Obez ve kontrol olguların MTATP6 genine ait sinonim nükleotit değişimleri

SİNONİM VARYASYONLAR (MTATP6)			
OBEZ GRUBU		KONTROL GRUBU	
Varyasyon	Sıklık	Varyasyon	Sıklık
8589A>G (n)	1/100	8697G>A*	11/100
8614T>C	4/100	8853A>G	1/100
8634T>C	1/100	8856G>A	1/100
8697G>A*	10/100	9021T>C	1/100
8742A>G (n)	1/100	9051A>G (n)	1/100
8772T>C (n)	1/100	9105C>T (n)	1/100
8778C>T (n)	1/100	9148T>C	1/100
8820A>G (n)	2/100		
8901A>G	1/100		
8994G>A	7/100		
9090T>C	1/100		
9108A>T (n)	1/100		
9111T>C	2/100		

* Her iki grupta (kontrol-obez) saptanan ortak nükleotit değişimlerini göstermektedir.
(n) Mitomap veri tabanında yer almayan yeni varyasyonları belirtmektedir.

Obez ve kontrol olgularda saptanan genomik değişimler istatistiksel olarak değerlendirildiği zaman, m.8614 T>C ve m.8994 G>A polimorfizmleri, obez olgularda, kontrol olgulara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Obez bireyler ve kontrol bireyler, saptanan diğer sinonim ve nonsinonim genomik değişimler açısından karşılaştırıldığı zaman, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Nonsinonim varyasyonlar olan, m.8684 C>T, m.8860 A>G, m.8966 T>C polimorfizmleri ve sinonim bir varyasyon olan m.8697 G>A, hem obez hem de kontrol grubundaki olgularda saptanırken, her iki grupta birbirlerinden farklı genotipler de belirlenmiştir. Nonsinonim nükleotit değişimleri olan m.8557 G>A, m.8566 A>G, m.8573 G>A, m.8867 T>C ve sinonim değişimler olan m.8589A>G, m.8614 T>C, m.8634 T>C, m.8742 A>G, m.8772 T>C, m.8778 C>T, m.8820 A>G, m.8901A>G, m.8994G>A, m.9090T>C, m.9108A>T, m.9111T>C de yalnızca obez olgularda saptanmıştır. m.8820 A>G polimorfizmi 2 obez olguda saptanırken diğer değişimlerin her biri farklı birer obez olguda saptanmıştır.

Diğer taraftan nonsinonim olan m.8618 T>C, m.8726 C>T, m.8951 T>C, sinonim olan m.8853 A>G, m.8856 G>A, m.9021 T>C, m.9051 A>G, m.9105 C>T, m.9148 T>C varyasyonları yalnızca kontrol grubunda saptanmıştır.

Çalışma kapsamına alınan tüm olguların MTCYB genine ait ampliconları dizi analizi sonucu değerlendirildiğinde, obez olgularda 13 nonsinonim ve 13 sinonim

nükleotit değişimi belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise 9 nonsinonim ve 9 sinonim değişim saptanarak çizelge 4.8 ve çizelge 4.9’da sunulmuştur. MTCYB geninde obez olgularda saptanan 5 varyasyon (2 nonsinonim, 3 sinonim), kontrol olgularda saptanan 7 (4 nonsinonim, 3 sinonim) yeni varyasyonlardır (Çizelge 4.8, Çizelge 4.9). Obez grupta saptanan nonsinonim varyasyonların elektroferogramları şekil 4.10, şekil 4.11’de kontrol grubunda saptanan nonsinonim varyasyonların elektroferogramları şekil 4.12’de, obez grupta saptanan sinonim varyasyonlar şekil 4.13, şekil 4.14’de kontrol grubunda saptanan sinonim varyasyonlar ise şekil 4.15’de sunulmuştur.

Çizelge 4.8. Obez ve kontrol olguların MTCYB genine ait nonsinonim nükleotit değişimleri

NONSİNONİM VARYASYONLAR (MTCYB)					
OBEZ GRUBU			KONTROL GRUBU		
Varyasyon	Aminoasit Değişimi	Sıklık	Varyasyon	Aminoasit Değişimi	Sıklık
14766C>T*	Thr7Ile	64/100	14766C>T*	Thr7Ile	65/100
14883C>T (n)	Thr13Ile	1/100	14952T>C (n)	Ile69Thr	1/100
14978A>G	Ile78Val	2/100	15113A>G (n)	Thr123Ala	1/100
15218A>G*	Thr158Ala	1/100	15218A>G*	Thr158Ala	5/100
15236A>G	Ile164Val	1/100	15326A>G*	Thr194Ala	100/100
15261G>A	Ser172Asn	1/100	15452C>A*	Leu236Ile	23/100
15314G>A	Ala190Thr	1/100	15618T>C (n)	Val291Ala	1/100
15326A>G*	Thr194Ala	97/100	15654T>C (n)	Met303Thr	1/100
15452C>A*	Leu236Ile	14/100	15758A>G*	Ile338Val	2/100
15656A>G	Ile304Val	1/100			
15734G>A	Ala330Thr	1/100			
15735C>T (n)	Ala330Val	1/100			
15758A>G*	Ile338Val	2/100			

* Her iki grupta (kontrol-obez) saptanan ortak nükleotit değişimleridir.

(n) Mitomap veri tabanında yer almayan yeni varyasyonları belirtmektedir.

Çizelge 4.9. Obez ve kontrol olguların MTCYB genine ait sinonim nükleotit değişimleri

SİNONİM VARYASYONLAR (MTCYB)			
OBEZ GRUBU		KONTROL GRUBU	
Varyasyon	Sıklık	Varyasyon	Sıklık
14783T>C*	5/100	14783T>C*	5/100
14839A>G (n)	1/100	14836A>G (n)	1/100
14890A>G	1/100	15040C>T	1/100
15043G>A*	8/100	15043G>A*	11/100
15109T>C (n)	1/100	15091C>T (n)	1/100
15148G>A*	2/100	15148G>A*	4/100
15262T>C	1/100	15301G>A*	7/100
15301G>A*	4/100	15487A>T*	2/100
15440T>C	1/100	15706A>G (n)	1/100
15487A>T*	2/100		
15622T>C	1/100		
15757A>G (n)	2/100		
15784T>C	2/100		

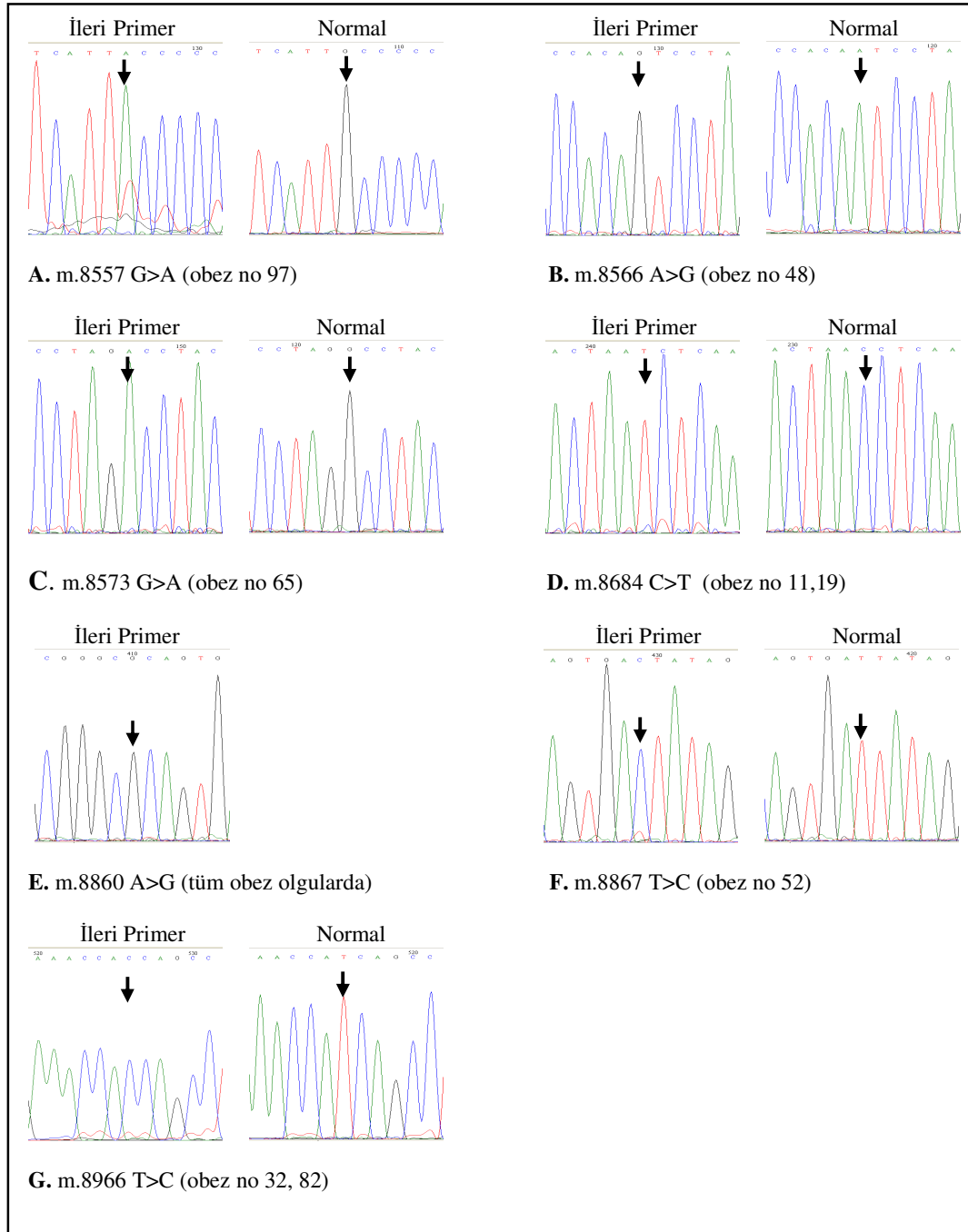
* Her iki grupta (kontrol-obez) saptanan ortak nükleotit değişimleridir.
(n) Mitomap veri tabanında yer almayan yeni varyasyonları belirtmektedir.

Obez ve kontrol olgularda MTCYB geninde saptanan varyasyonlar istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı bir fark yoktur.

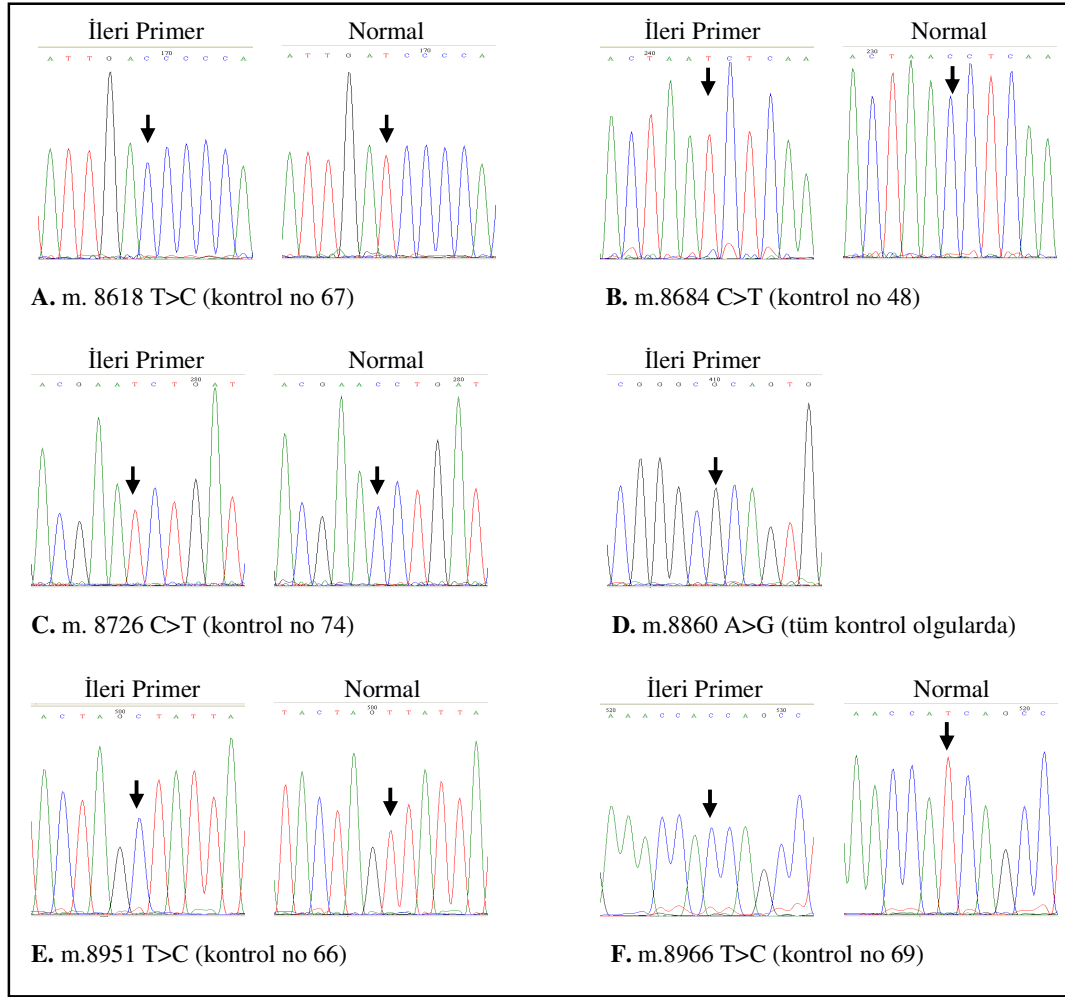
MTCYB genine ait ampikonların dizi analizi sonucunda, obez ve kontrol grubunda en sık gözlenen varyasyonlar; nonsinonim özellikte olan m.15326 A>G ve m.14766 C>T olarak saptanmıştır. m.15326 A>G değişimi 97 obez olguda ve kontrol olguların tamamında saptanırken, m.14766 C>T değişimi ise 64 obez ve 65 kontrol olguda belirlenmiştir. Bu iki varyasyondan sonra obez ve kontrol olgularda frekansları yüksek olan diğer genomik değişimler nonsinonim özellikte olan m.15452 C>A varyasyonu, sinonim özellikte olan m.14783 T>C, m.15043 G>A varyasyonları şeklindedir. Her iki grupta saptanan ancak diğer ortak değişimler kadar frekansı yüksek olmayan genomik değişimler ise, nonsinonim özellikte olan m.15218 A>G, m.15758 A>G ve sinonim özellikte olan m.15148 G>A, m.15487 A>T varyasyonları olarak saptanmıştır.

Sinonim genomik değişimlerden, m.14883 C>T, m.15236 A>G, m.15261 G>A, m.15314 G>A, m.15656 A>G, m.15734 G>A, m.15735 G>A değişimleri, her biri ayrı bir olguda olmak üzere yalnızca obez grupta saptanmıştır. 2 olguda saptanan m.14978 A>G polimorfizmi de yalnızca obez grupta belirlenmiştir. Kontrol grupta saptanmayıp obez grupta saptanan sinonim polimorfizmler ise, m.14839 A>G, m.14890 A>G, m.15109 T>C, m.15262 T>C, m.15440 T>C, m.15622 T>C, m.15784 T>C'dir. Bu varyasyonların da her biri, birbirlerinden bağımsız olarak farklı obez olgularda saptanmıştır.

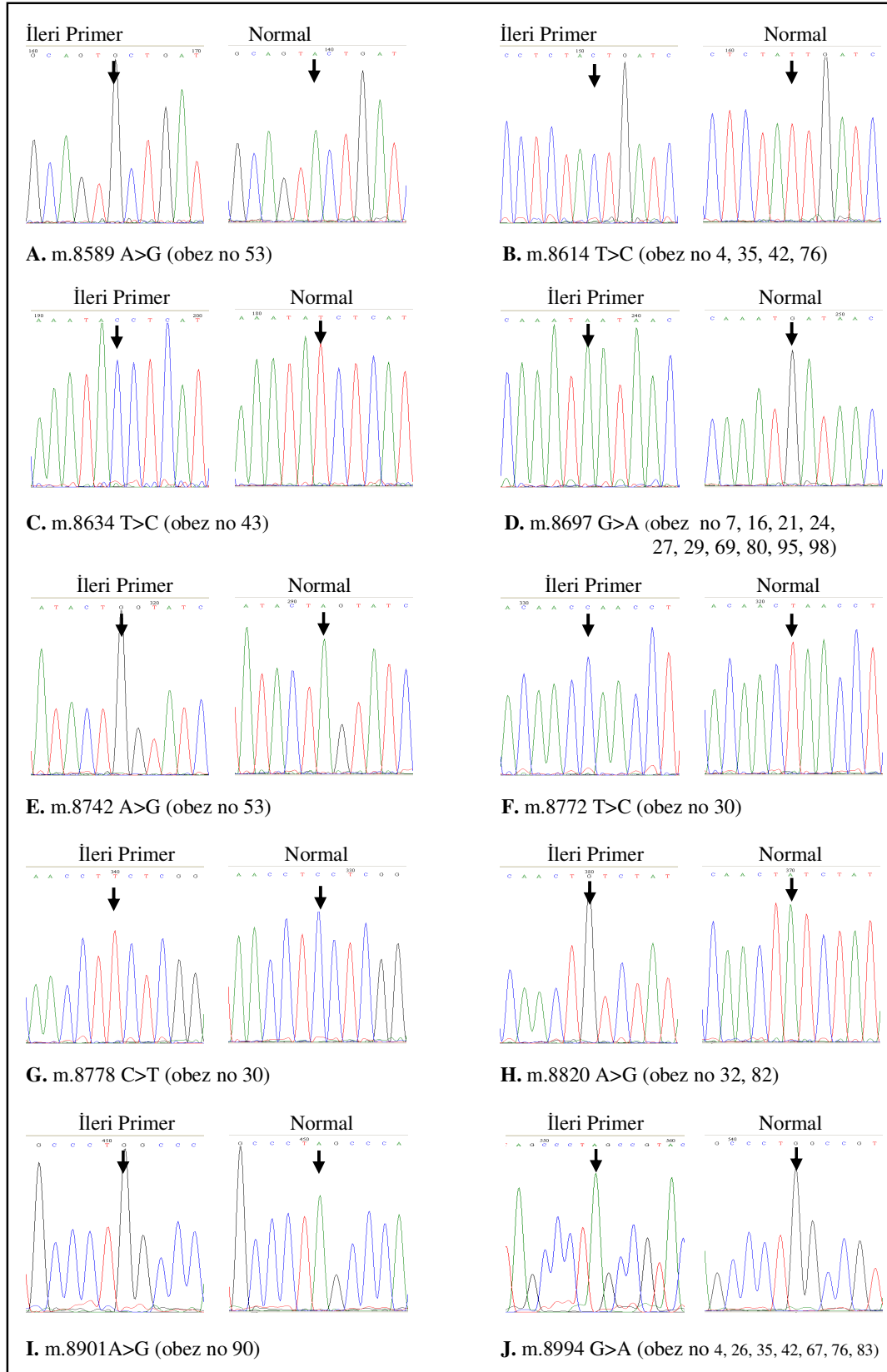
Ayrıca, obez grubunda saptanmayıp, kontrol grubunda saptanan nükleotit değişimleri de belirlenmiştir. Bunlar; birer kontrol olguda saptanan nonsinonim; m.14952 T>C, m.15113 A>G, m.15618 T>C, m.15654 T>C, sinonim; m.14836 A>G, m.15040 C>T, m.15091 C>T, m.15706 A>G varyasyonlarıdır.



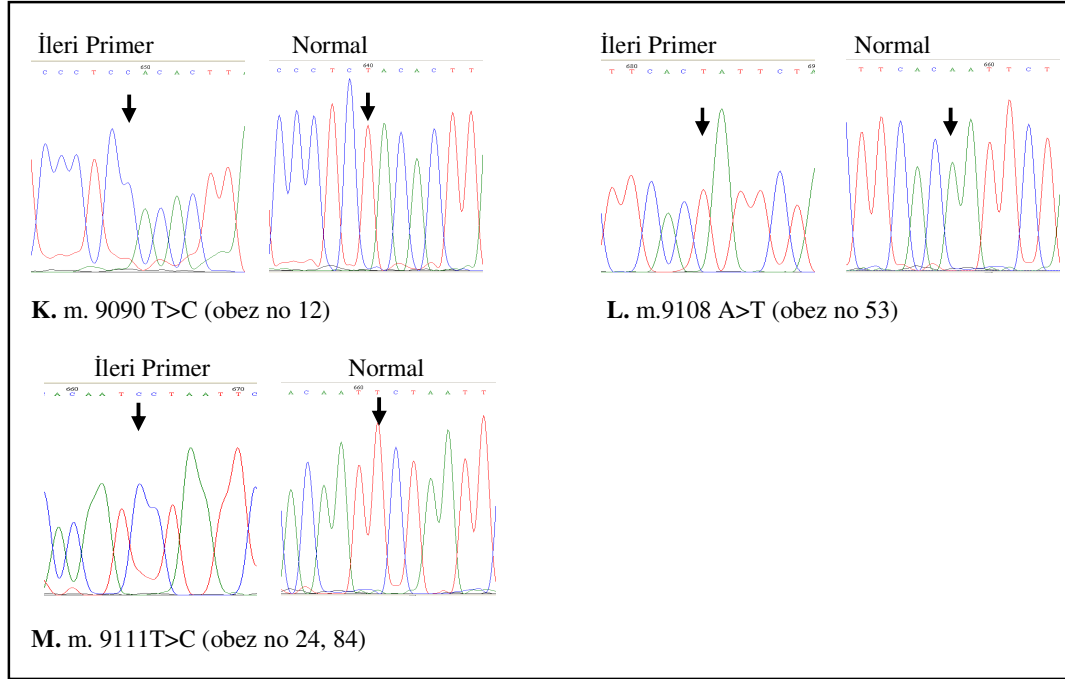
Şekil 4.5. Obez olguların MTATP6 geninde saptanan nonsinonim varyasyonlar



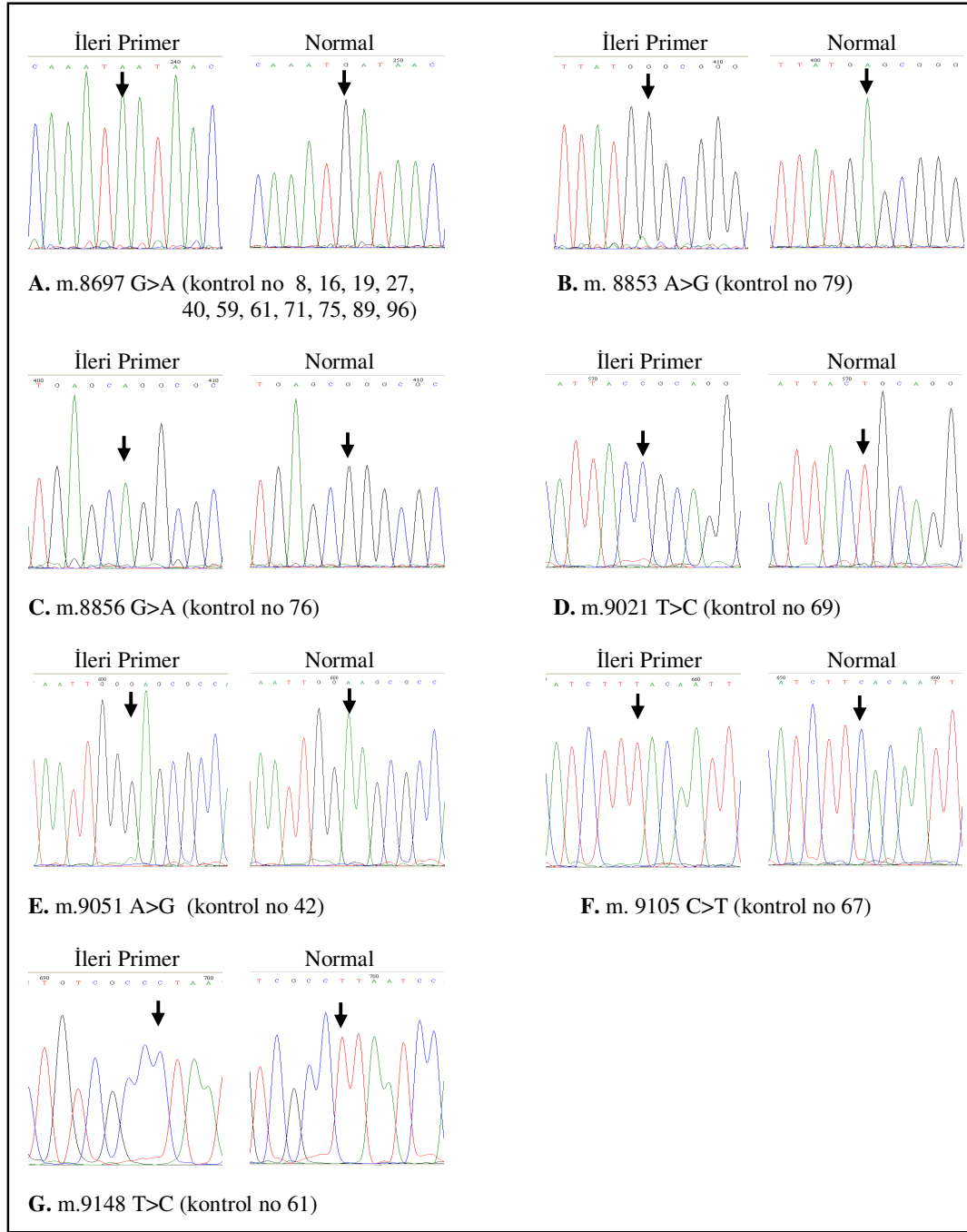
Şekil 4.6. Kontrol olguların MTATP6 geninde saptanan nonsinonim varyasyonlar



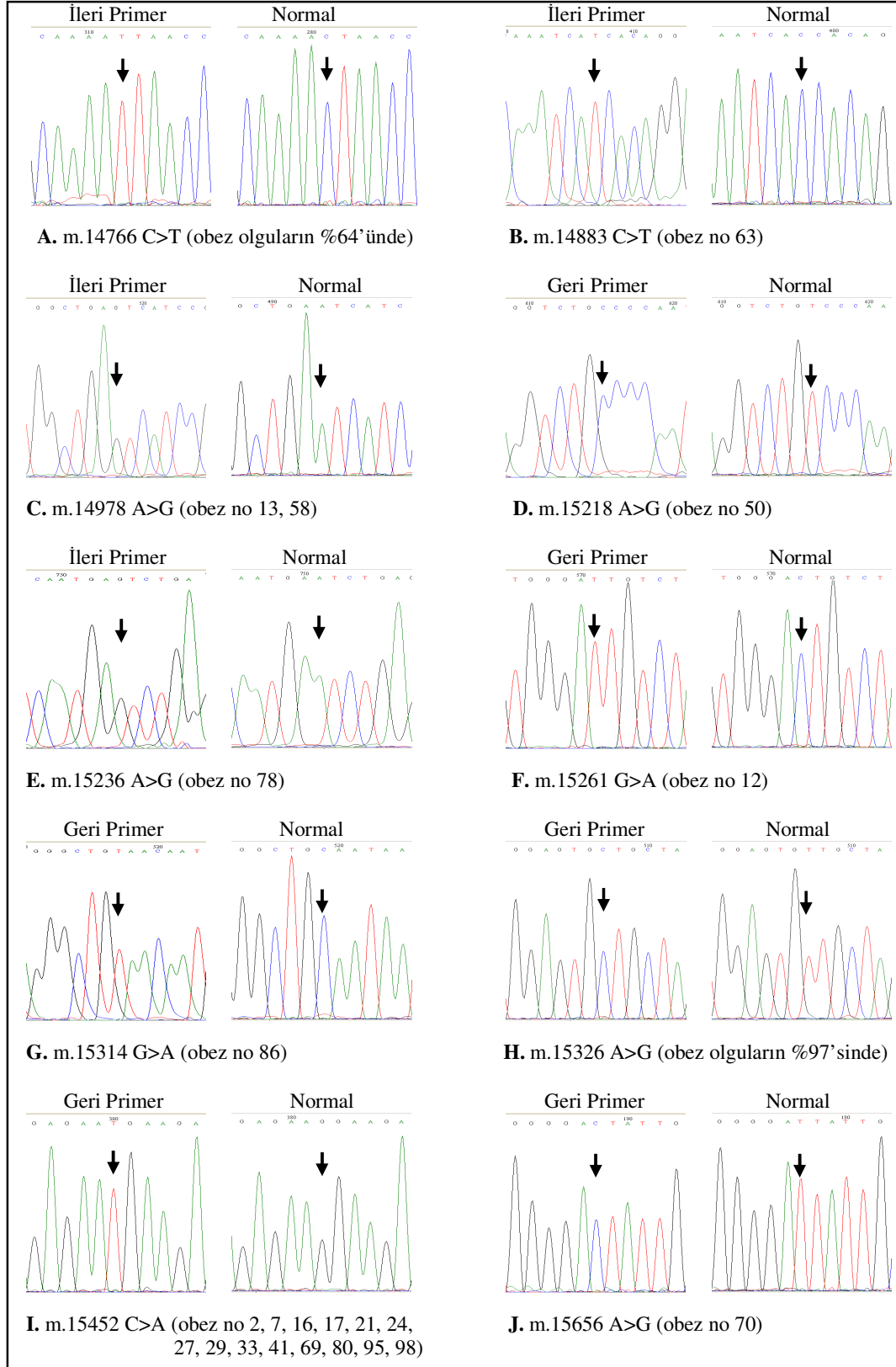
Şekil 4.7. Obez olguların MTATP6 geninde saptanan sinonim varyasyonlar



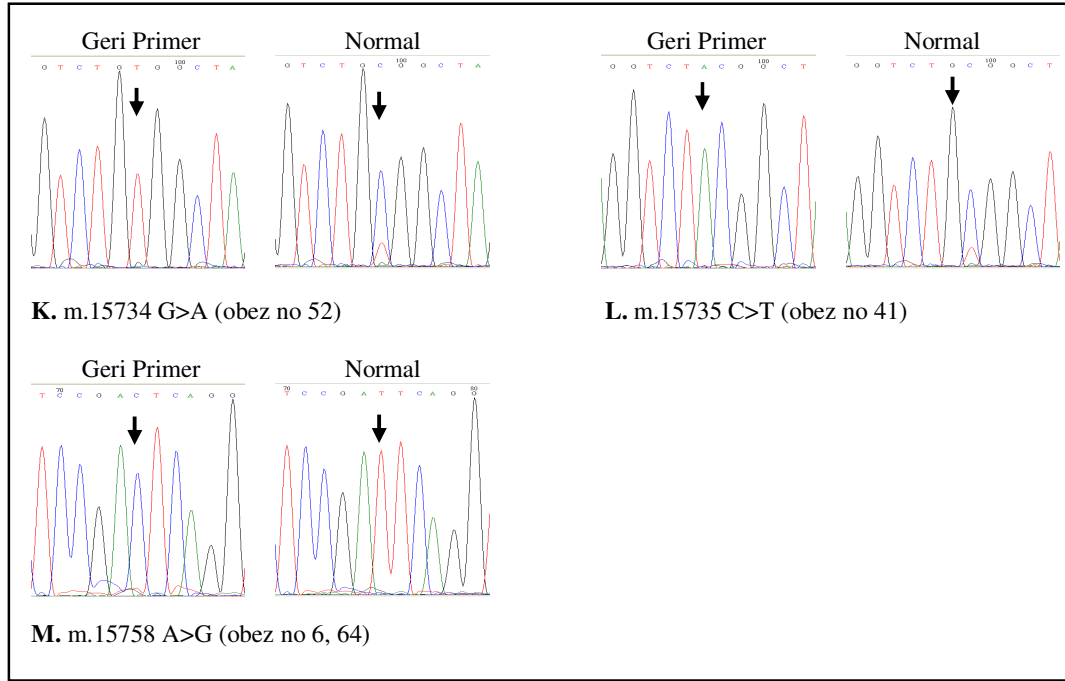
Şekil 4.8. Obez olguların MTATP6 geninde saptanan sinonim varyasyonlar



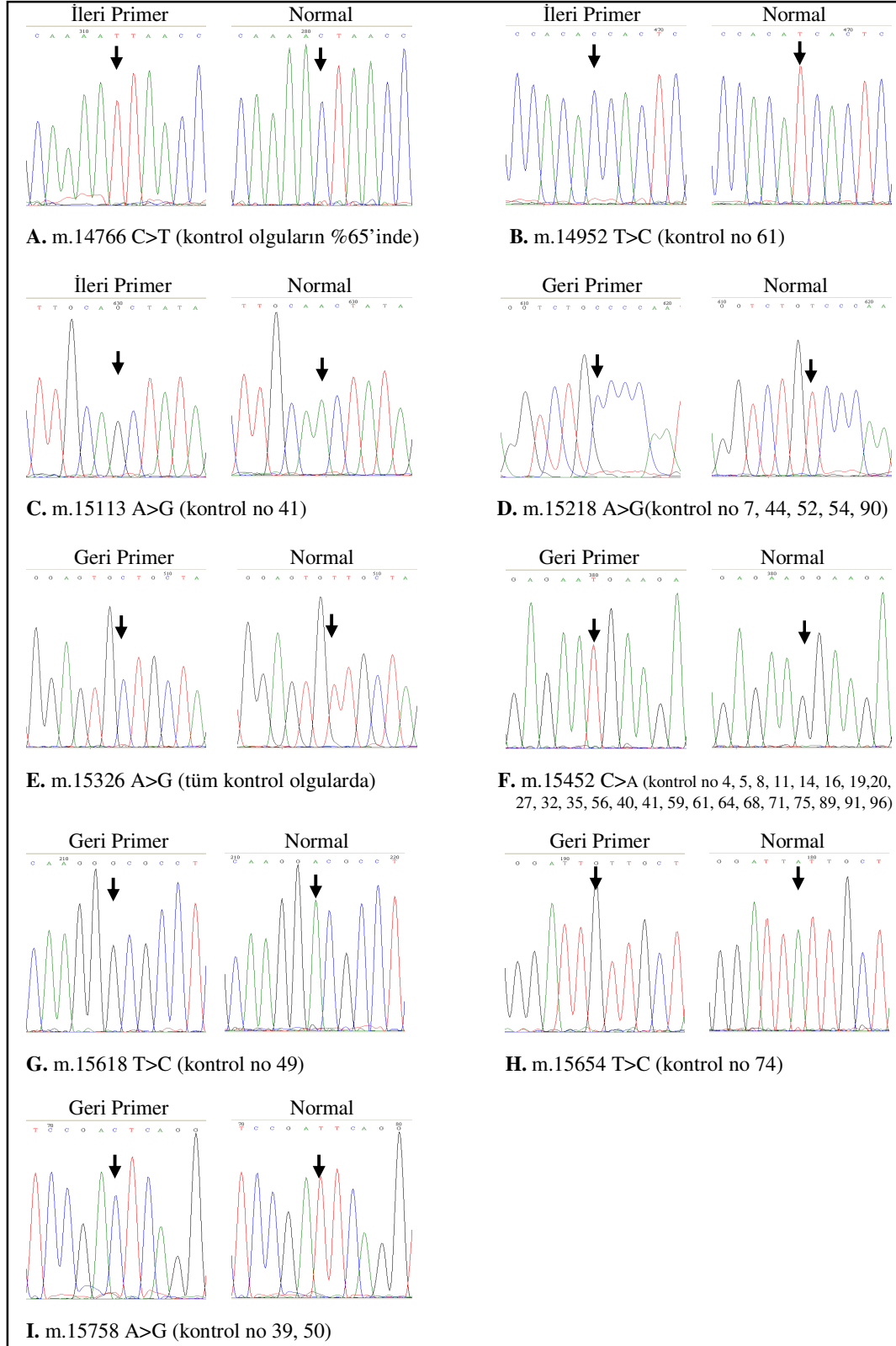
Şekil 4.9. Kontrol olguların MTATP6 geninde saptanan sinonim varyasyonlar



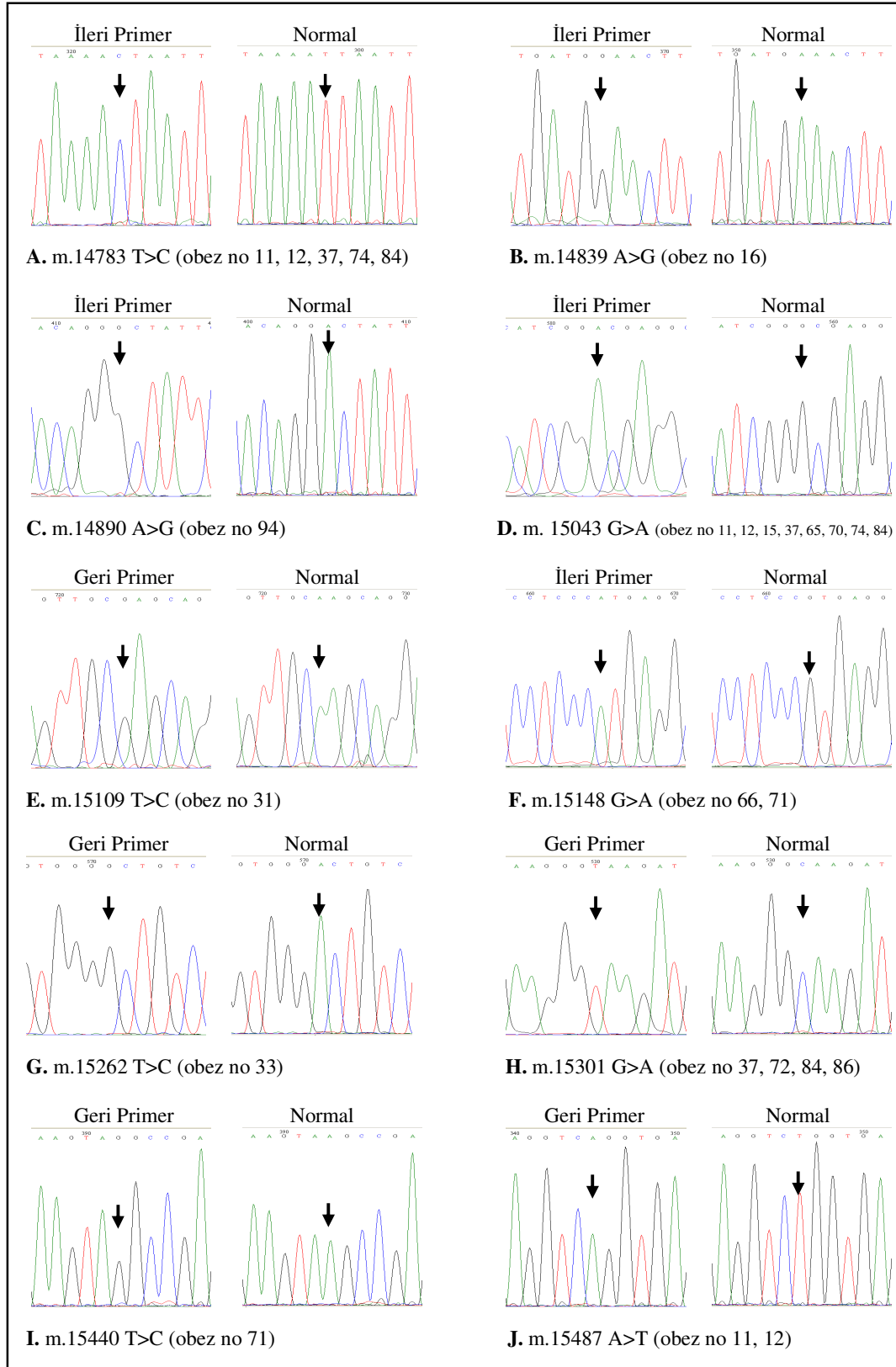
Şekil 4.10. Obez olguların MTCYB geninde saptanan nonsinonim varyasyonlar



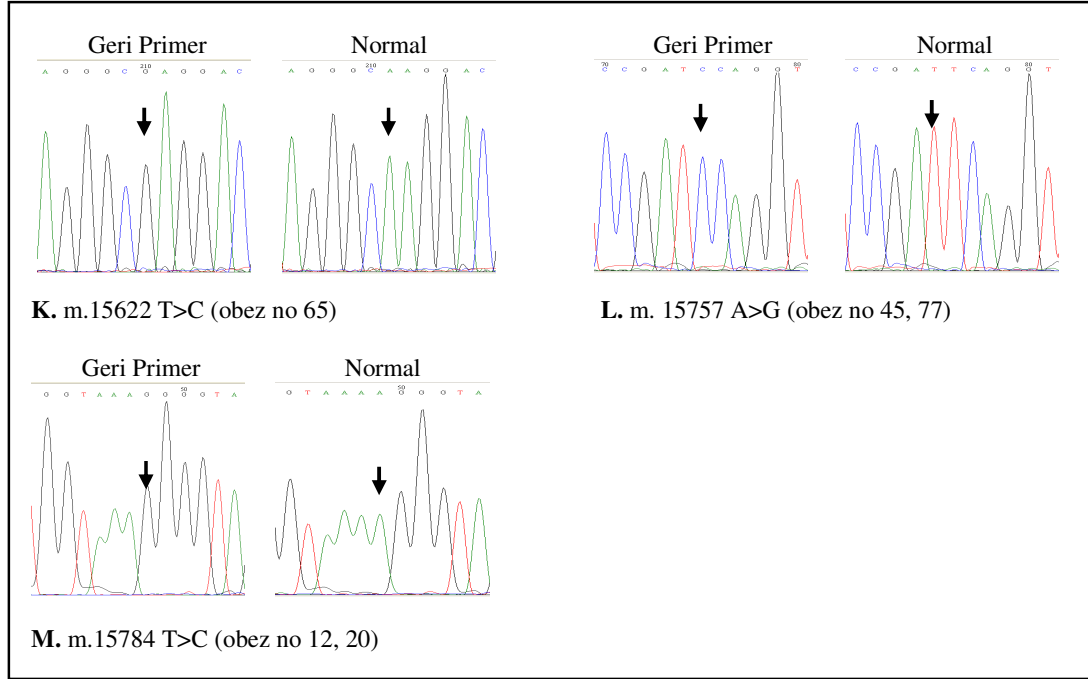
Şekil 4.11. Obez olguların MTCYB geninde saptanan nonsinonim varyasyonlar



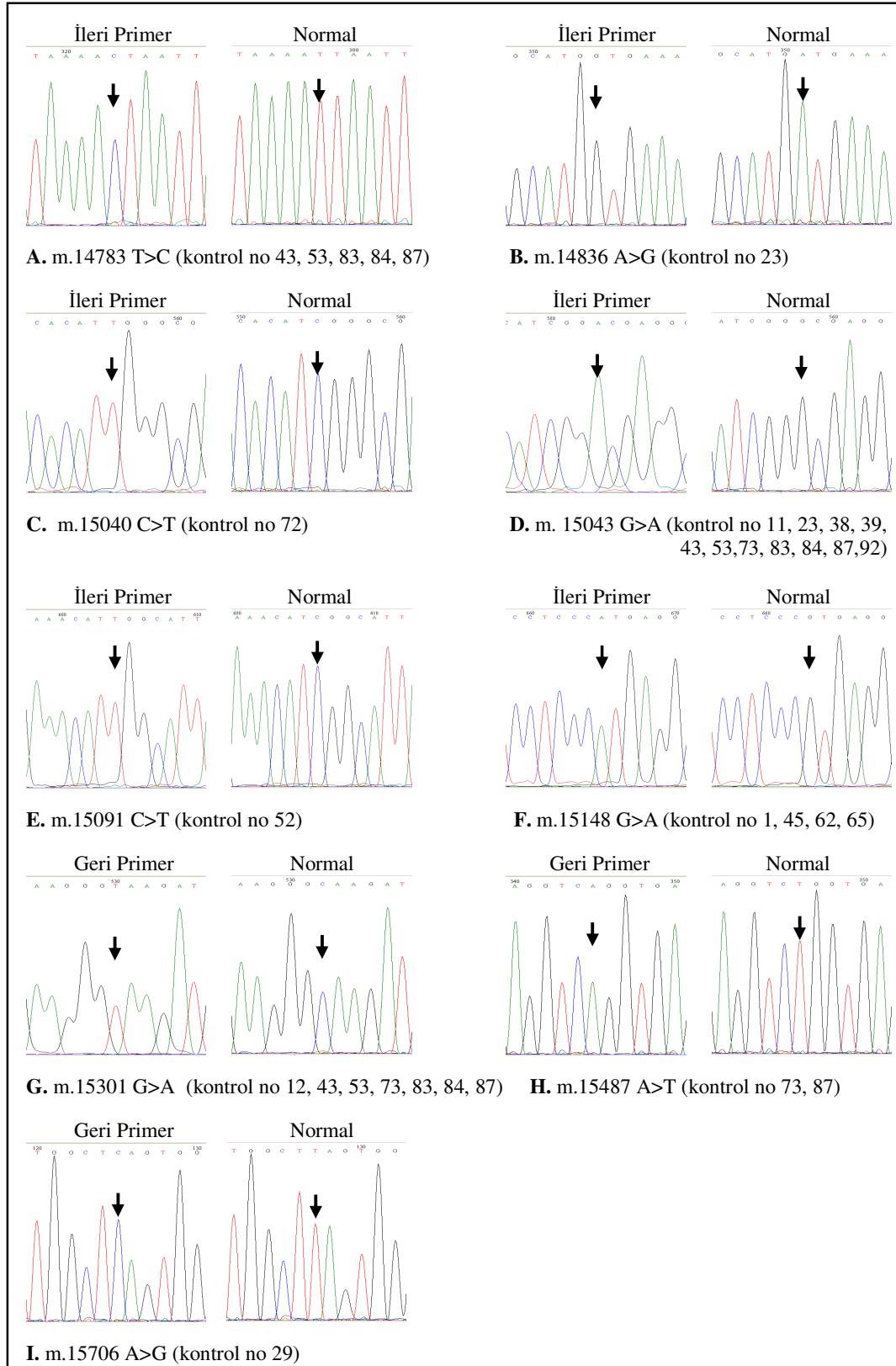
Şekil 4.12. Kontrol olguların MTCYB geninde saptanan nonsinonim varyasyonlar



Şekil 4.13. Obez olguların MTCYB geninde saptanan sinonim varyasyonlar



Şekil 4.14. Obez olguların MTCYB geninde saptanan sinonim varyasyonlar



Şekil 4.15. Kontrol olguların MTCYB geninde saptanan sinonim varyasyonlar

4.3. Olguların Genotip-Fenotip İlişkisi

Obez olgularda saptanan MTATP6 ve MTCYB genine ait genomik değişimleri, obez olguların klinik profilleri ile ilişkilendirmek için obez bireyler; total kolesterol düzeyi 170 mg/dl'nin üzerinde ve altında olanlar, trigliserid düzeyi 200 mg/dl'nin üzerinde ve altında olanlar, insülin direnci olanlar ve olmayanlar olarak üç farklı şekilde gruplandırılmıştır.

Yapılan istatistiki analiz sonucu, yapılan her gruplandırma ile ikiye ayrılan obez olguların, MTATP6 genlerinde saptanan genomik değişimler açısından aralarında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. Ancak, yalnızca obez grupta saptanan; nonsinonim özellikte m.8557 G>A, m.8566 A>G, m.8573G>A, m.8867 T>C varyasyonlarına sahip 4, sinonim özellikte m. 8589A>G, m.8742 A>G, m.8820 A>G, m.9090 T>C, m.9108 A>T varyasyonlarına sahip 5 obez olgunun total kolesterol seviyelerinin 170 mg/dl ve üzerinde olduğu saptanmıştır. Ayrıca, kontrol grubunda saptanmayıp, yalnızca 2 obez olguda belirlenen, nonsinonim özellikte m.9111 T>C varyasyonuna sahip olguların 1 tanesinde total kolesterol seviyesi 170 mg/dl'nin altındayken, diğerinde 170 mg/dl'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, 2 obez olguda saptanan m.8684 C>T ve farklı 2 obez olguda saptanan m.8966 T>C nonsinonim varyasyonlarına sahip 4 obez olgunun da total kolesterol düzeylerinin 170 mg/dl'nin üzerinde olduğu görölmektedir. Ancak, m.8684 C>T ve m.8966 T>C varyasyonlarının her birinden, kontrol olguların da birer tanesinde saptanmıştır. Bu varyasyonların saptandığı obez olgular ve klinik bulguları çizelge 4.10'da sunulmuştur.

İnsülin direnci olan ve olmayan obez olguların MTATP6 genine ait genomik değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ancak, kontrol grubunda saptanmayıp, her biri farklı bir obez olguda saptanan nonsinonim m.8566 A>G ve sinonim m.8634 T>C, m.8772 T>C, m.8778 C>T, m.8901 A>G varyasyonlarının belirlendiği obez olgularda insülin direnci mevcuttur (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Varyasyon saptanan bazı obez olguların klinik ve MTATP6 genlerine ait moleküler genetik bulguları

OBEZ KODU	Total Kolesterol (mg/dl)	Trigliserit (mg/dl)	İR	MTATP6 geninde saptanan varyasyon	Aminoasit değişimi
11	191	251	+	m.8684 C>T	Thr53Ile
12	175	130	-	m.9090 T>C	Ø
19	176	60	-	m.8684 C>T	Thr53Ile
30	139	54	+	m.8772 T>C, m.8778 C>T	Ø, Ø
32	178	158	-	m.8820 A>G, m.8966 T>C	Ø, Ile147Thr
43	134	118	+	m.8684 C>T	Thr53Ile
44	175	109	+	m.8566 A>G	Ile14Val
52	177	178	-	m.8867 T>C	Ile114Thr
53	170	146	-	m.8589 A>G, m.8742 A>G, m.9108 A>T	Ø, Ø, Ø
65	183	87	-	m.8573 G>A	Gly16Asp
82	209	174	-	m.8820 A>G, m.8966 T>C	Ø, Ile147Thr
84	176	98	+	m.9111 T>C	Ø
90	142	55	+	m.8901 A>G	Ø
97	172	144	-	m.8557 A>G	Ala11Thr

İR, insülin rezistansı (direnci); +, mevcut; -, yok; Ø, aminoasit değişimi yok

Obez olgularda saptanan MTCYB genine ait genomik değişimleri, klinik profilleri ile ilişkilendirmek için yapılan istatistiki analiz sonucunda, sinonim varyasyonlar olan m.14783 T>C ve m.15043 G>A, total kolesterol seviyesi 170 mg/dl olan obez olgularda, total kolesterol seviyesi 170 mg/dl olan obez olgulara göre anlamlı olarak daha fazla saptanmıştır ($p<0.05$). m.14783 T>C değişiminin saptandığı 5 obez olgunun 4 tanesinin total kolesterol seviyesi 170 mg/dl'nin üzerindeyken 1 tanesine ait lipid profili test sonuçları bulunmamaktadır. m.15043 G>A varyasyonu saptanan 7 obez olgunun 6 tanesinin total kolesterol düzeyleri 170 mg/dl'nin üzerindeyken, 1 obez olgunun total kolesterol seviyesi normal olarak belirlenmiştir. Ancak, m.14783 T>C varyasyonu 5, m.15043 G>A varyasyonu ise 11 kontrol olguda da saptanmıştır. Ayrıca, yalnızca obez olguların birer tanesinde saptanan nonsinonim m.14883 C>T, m.15261 G>A, m.15656 A>G, m.15734 G>A, m.15735C>T, sinonim m.14890 G>A varyasyonlarına sahip obez olguların, klinik verilerine bakıldığı zaman tamamında total kolesterol düzeylerinin 170 mg/dl'nin üzerinde olduğu görülmektedir. Bu varyasyonların saptandığı obez olgular ve total kolesterol düzeyleri çizelge 4.11'de sunulmuştur.

Trigliserid seviyesi 200 mg/dl'nin üzerinde ve altında olan obez olguların MTCYB genlerine ait genomik değişimlerine bakıldığı zaman ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. Ancak, kontrol grubunda saptanmayıp 1 obez olguda saptanan m.15109 T>C, m.15262 T>C varyasyonlarına sahip obez olgularda ise trigliserid düzeyinin normale (200 mg/dl) göre yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Obez bireylerin MTCYB geninde saptanan genomik değişimlerinin insülin direnci açısından değerlendirilmesi sonucu, insülin direnci olan ve olmayan olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak, kontrol olgularda saptanmayan, 2 farklı obez olguda saptanan nonsinonim m.14883 C>T ve m. 15236 A>G varyasyonlarına sahip olgularda insülin direnci mevcut olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde, yalnızca birer adet obez olguda saptanan sinonim m.14890 A>G , m.15109 T>C ve m.15262 T>C varyasyonlarına sahip bireylerde de insülin direnci mevcuttur (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Varyasyon saptanan bazı obez olguların klinik ve MTCYB genlerine ait moleküler genetik bulguları

OBEZ KODU	Total Kolesterol (mg/dl)	Trigliserit (mg/dl)	İR	MTCYB Geninde Saptanan Varyasyon	Aminoasit Değişimi
11	191	251	+	m.14783 T>C, m.15043 G>A	Ø, Ø
12	175	130	-	m.14783 T>C, m.15043 G>A, m.15261 G>A	Ø, Ø, Ser172Asn
31	157	303	+	m.15109 T>C	Ø
33	143	248	+	m.15262 T>C	Ø
37	173	57	-	m.14783 T>C, m.15043 G>A	Ø, Ø
41	199	146	-	m.15735 C>T	Ala330Val
52	177	178	-	m.15734 G>A	Ala330Thr
63	209	171	+	m.14883 C>T	Thr13Ile
65	183	87	-	m.15043 G>A	Ø
70	173	88	-	m.15043 G>A	Ø
78	139	127	+	m.15236 A>G	Ile164Val
84	176	98	+	m.14783 T>C, m.15043 G>A	Ø, Ø
94	177	98	+	m.14890 A>G	Ø

İR, insülin rezistansı (direnci); +, mevcut; -, yok; Ø, aminoasit değişimi yok

Obez olgularda frekansı yüksek olan, nonsinonim m.15452 C>A varyasyonunun saptandığı obez olguların, bu değişimin saptanmadığı obez olgularla klinik verileri karşılaştırıldığı zaman, BKİ'lerinin anlamlı olarak daha düşük olduğu belirlenmiştir (p<0.05). Diğer taraftan, m.15452 C>A değişimi olan obez olgularda, HDL seviyeleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksektir (p<0.05). Bu iki grubun diğer klinik verilerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır.

Klinik değerlendirme sonucu, istirahat halindeki sistolik ve diastolik kan basıncı bilinen 78 obez olgunun 3 tanesinde, sistolik kan basınçlarının normale göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu olgularda, genomik değişim açısından spesifik bir varyasyon belirlenmemiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bir toplumun en önemli gereksinimlerinden biri olan sağlık, o toplumun gelişmişliğini ve kalkınmasını belirleyen en önemli unsurdur. Sağlığın temelini de yeterli ve düzenli beslenme oluşturmaktadır. Ancak günümüzde, beslenme alışkanlıklarının ve yaşam koşullarının değiştiği, değişen yaşam koşullarının beraberinde obezite başta olmak üzere birçok hastalığı tetiklediği görülmektedir. Bu hastalıklardan özellikle obezite, çocukları da yetişkinleri olduğu kadar etkilemektedir. Pediatrik obezite, ülkemizde ve dünyada epidemik boyutlara ulaşmıştır ve çocukluk çağıının en sık görülen kronik hastalığıdır (30). Obezite prevalansındaki bu artış, başta Amerika Birleşik Devletleri olmak üzere birçok ülkede ciddi tehdit oluşturmaktadır. Ülkemizde de pediatrik obezite hızla artmakta, son 20 yılda %6-7'den %15-16'ya yükseldiği bildirilmektedir (30). Kanbur ve arkadaşları tarafından 2002 yılında yapılmış, 9-16 yaş grubu 6462 çocuğu kapsayan çalışmaya göre obezite sıklığı %2.3 olarak belirlenmiştir (24). 2005 yılında yapılan bir diğer araştırmaya göre ise obezite prevalansı, 9-17 yaş erkek çocuklarda %11.2, kız çocuklarda ise %9.4 olarak belirlenmiştir (6). 2006 yılında Türkkahraman ve arkadaşlarının, Antalya'da yaşayan, 6-17yaş grubunda yer alan çocukları kapsayan çalışmalarında, erkek çocuklarda obezite prevalansı %3.9, kız çocuklarda ise %3.2 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada cinsiyetler arasında obezite açısından bir fark bulunmamıştır (26). Yaptığımız çalışmada ise, obez kız çocukların oranı daha fazla olmakla beraber %51, erkek obez çocukların oranı ise %49 olarak belirlenmiştir. 2009 yılında yayınlanmış Pamukkale Üniversitesi'nden bir grup araştırmacının yaptığı çalışmaya göre de yaş ortalaması 15.93 ±0.89 olan 781 erkek çocuktan %5.9'i obez olarak belirlenmiştir (5). Çalışmamızda yer alan obez olguların yaş ortalaması 11.4±3,45 olup, 3-17 yaş aralığındaki pediatrik obezleri kapsamaktadır. Yaş aralığının geniş olması dolayısıyla, Türk popülasyonundaki obez çocukların büyük çoğunluğunu ilgilendirmektedir.

Dünya genelindeki çeşitli çalışmalara bakıldığında, obezitenin, çocuk ve ergenlerin %10.9-20'sini etkilediği bildirilmektedir. 2000 yılında oldukça kapsamlı yapılan bir çalışmada, birçok ülkeden 12-60 aylık 150482 çocuk yer almıştır. Bu çalışmaya göre okul öncesi çocuklarda Asya ve Afrika'nın bir bölümünde obezite yaygın bir sağlık problemi olmamakla birlikte Latin Amerika, Afrika'nın kuzeyi ve orta doğusunda, batı Avrupa'da obezite prevalansı Amerika kadar yüksek bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında Türkiye de yer almaktadır. Türkiye'den 12-59 aylık 2438 çocuktan %2.2'sinin obez, %12.1'inin fazla kilolu olduğu belirtilmiştir (76). Obezite prevalansının yüksek olduğu ülkelerin başında gelen Amerika Birleşik Devletleri'nde her üç çocuktan birinin şişman olduğu belirtilmektedir (67). Amerika Birleşik Devletleri'nde 9-16 yaş aralığındaki çocuklarda, 2006 yılında yayınlanan bir araştırmaya göre ise obezite oranı %16 (9 milyon ve üzeri) olarak kaydedilmiştir. Bu oranın gerekli tedbirler alınmazsa 2040 yılında iki katına çıkacağı bildirilmektedir (27). Obezite, Avrupa'da, tüm dünyada olduğu gibi bir epidemi halini almıştır, son 20 yılda 3 kat arttığı belirtilmektedir. Eğer önlem alınmazsa, çocukların %10'unun

(15 milyon kişi) obez olacağı tahmin edilmektedir. 2010 yılına gelindiğinde ise 10 çocuktan birisinin şişman olacağı öne sürülmektedir (31). Ülkemiz de bu konuyla ilgili olarak risk taşıyan ülkeler arasındadır.

Obezite prevalansının gerek yetişkin gerekse çocuklarda artış göstermesi, araştırmacıları bu hastalığın etyopatogenezini ve genetik nedenlerini araştırmaya yöneltmiştir. Nüklear genomda tanımlanan aday genlerin yanı sıra mitokondriyal SNP analizleri de önem kazanmıştır. Mitokondriyal genomun oldukça polimorfik olması ve mutasyonların nüklear genoma göre on kat daha fazla gözlenmesi mitokondrinin hayati işlevlerine de yansımaktadır (8, 9). Bu kadar önemli fonksiyonları olan bu organelin genomdaki değişikliklerin saptanması moleküler genetik çalışmalar açısından son derece önem kazanmaktadır. Yüksek oranda polimorfik bir genom olan mitokondriyal genomun özellikle bireyler arasındaki enerji farklılığını açıklamaya ışık tutacak bir yapıda olduğu belirtilmektedir. Çünkü artan polimorfizm oranlarının, bireyler arasındaki diyeteye verilen cevaptaki farklılıkları açıklamaya yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla, vücudumuzdaki enerji döngüsünün ve dolaylı olarak ısı regülasyonunun sağlanmasında en önemli duraklardan biri olan mitokondrinin obeziteyle ilişkilendirilmesi kaçınılmaz hale gelmektedir. Bazı varyasyonların ATP üretimini azaltırken ısı üretimini arttırdığı tespit edilmiştir. Bu da bireylerin ortam koşullarına adaptasyon sağlamları için yardımcı bir unsurdur. Metabolizmadaki bu değişimlerin bireylerin dolayısı ile populasyonların kendine özgü ağırlık profili kazanmalarına neden olmaktadır (10).

Ülkemizde özellikle pediatrik obezite genetiğine yönelik araştırmalar kısıtlı olmakla beraber, mitokondriyal SNP analizlerine yönelik veri mevcut değildir. Dolayısıyla çalışmamız, moleküler epidemiyolojik çalışmalara ek veri sağlamak, obez bireylerde MTATP6 ve MYCYB genlerine ait SNP profillerini saptamak ve saptanan varyasyonların obezite ile ilişkisini değerlendirmek açısından önem kazanmaktadır.

Enerji döngüsünde önemli işlevleri olan MTATP6 ve MTCYB genlerinin obezite ile ilişkisini araştırmak için çalışma grubumuz, yaş ortalaması 11.4 ± 3.45 olan pediatrik obezlerden oluşmaktadır. 2002 yılında Japon araştırmacılar, Fuku ve arkadaşlarının, MTATP6 ve MTCYB genlerinin SNP profillerini belirledikleri çalışmalarında, obez olguların yaş ortalaması 21 ± 2 olup genç obezler olarak nitelendirilmektedir (10). 2003 yılında MTCYB geni ve obezite ilişkisini araştıran Japon araştırmacılar, Okura ve arkadaşları, çalışma grubunu yaş ortalaması kadınlarda 60.1 ± 0.4 , erkeklerde 60.8 ± 0.3 olan yaşlı obez olgulardan oluşturmuştur (48). İtalyan araştırmacılar, Liguori ve arkadaşlarının MTCYB geninin obez olgulardaki SNP profilini araştırdıkları, 2006 yılında yayınlanan çalışmalarında, yaş ortalaması kadınlarda 34.1 ± 12.7 , erkeklerde 32.7 ± 10.5 olan yetişkin obezler yer almıştır (11). Sonuç olarak, bu iki genin, pediatrik obeziteyle ilişkisini araştırma açısından, verilerimiz literatüre katkı sağlaması yönüyle önem kazanmaktadır.

Çalışmamızda, pediatrik obez ve kontrol olgularda yapılan dizi analizi sonucunda birçok nükleotit değişimi saptanmıştır. Daha önceki çalışmalarla da oldukça polimorfik olduğu belirlenen bu iki gen ile ilgili sonuçlarımız bu açıdan literatürle uyumludur. Çalışmamızda, MTATP6 geninde, obez olgularda 20 nükleotit varyasyonu (7 nonsinonim, 13 sinonim) saptanırken kontrol olgularda 13 nükleotit varyasyonu (6 nonsinonim, 7 sinonim) belirlenmiştir. MTCYB geninde ise obez olgularda 26 nükleotit varyasyonu (13 nonsinonim, 13 sinonim), kontrol olgularda 18 nükleotit varyasyonu (9 nonsinonim, 9 sinonim) saptanmıştır. 2002 yılında Fuku ve arkadaşlarının çalışmalarında, MTATP6 geninde 15 tanesi sinonim, 11 tanesi nonsinonim olmak üzere 26 varyasyon, MTCYB geninde ise 28'i sinonim, 16'sı nonsinonim olmak üzere 44 varyasyon saptanmıştır (10). Tespit ettiğimiz varyasyonları transisyon ve transversiyon olarak 2 grupta incelediğimiz zaman transisyon tipi nükleotit değişimlerinin ağırlıklı olduğu belirlenmiştir. Bu açıdan bulgularımız, Fuku ve arkadaşlarının çalışma sonuçları ile uyumludur. Fuku ve arkadaşlarının çalışmasında MTATP6 geninde 8 nonsinonim, 9 sinonim nükleotit değişimi novel/yeni olarak saptanırken, çalışmamızda obez olgularda 1 nonsinonim, 6 sinonim, kontrol olgularda 2 nonsinonim, 2 sinonim varyasyon, yeni varyasyonlar olarak belirlenmiştir. MTCYB geninde ise Fuku ve arkadaşlarının saptadığı 9 nonsinonim, 17 sinonim varyasyon yeni olarak saptanırken, çalışmamızda MTCYB geninde saptanan obez olgularda 2 nonsinonim, 3 sinonim; kontrol olgularda saptanan 4 nonsinonim, 3 sinonim varyasyon yeni varyasyonlardır (10).

İtalya'da ve Japonya'da, MTATP6 ve MTCYB genlerinin enerji metabolizmasındaki önemli görevlerinden yola çıkarak obez bireylerde bu genlerdeki polimorfizmler değerlendirilmiştir. 2003 yılında Japonya'da Okura ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, MTCYB geninde toplam 44 polimorfik bölge belirlenmiştir. Japon popülasyonundaki obez bireylerde yapılan bu çalışmada; % 35.7 oranında ağır zincirdeki Mt15497 G/A varyasyonu, % 2.7 oranında hafif zincirde saptanmış olan C/T varyasyonuna göre anlamlı bulunmuştur. Bu bölge sitokrom b fonksiyonu açısından oldukça önemli olup varyant bireylerde bu proteinin disfonksiyonundan bahsedilmektedir (48). Ancak bizim çalışmamızda pediatrik obez bireylerin hiçbirinde bu değişim saptanmamıştır. Bu da coğrafi farklılık ve ırksal farklılığın mitokondriyal genom varyasyonlarında çeşitliliğe yol açmasıyla açıklanabilmektedir. 2003 yılında, Okura ve arkadaşları tarafından yapılan obez bireylerde, sitokrom b proteininin 251. pozisyonundaki glisin yerine aspartik asit aminoasitinin (Mt 15497G/A) geçmesi kalp kriziyle de anlamlı olarak ilişkilendirilmiştir (48). Ancak, Güney İtalya'da Liguori ve arkadaşları tarafından 2006 yılında yapılan bir çalışmada, bizim bulgularımızla uyumlu olarak bu polimorfizmin obezite ile anlamlı bir ilişkisi bulunamamıştır. Bu da etnik köken ve coğrafyanın mitokondriyal polimorfizmler üzerine etkisinin bir kanıtı olarak düşünülmektedir (11). Türkiye'nin de bir Avrupa ülkesi aynı zamanda İtalya gibi Akdeniz ülkesi olması nedeniyle, bulunan sonuçlar beklenileni yansıtmaktadır. Ancak Türklerin Orta Asya'dan göçleri, uzak doğu ülkeleriyle genetik açıdan benzer yapıda olabileceği ihtimalini düşündürmektedir.

Çalışmamızda yer alan obez olguların MTATP6 geni bulgularına baktığımız zaman, literatürde yer almayan, yeni varyasyonlar (m.8966 T>C, m.8589A>G,

m.8742 A>G, 8772 T>C, m.8778 C>T, m.8820 A>G, m.9108 A>T) dışında kalan nonsinonim değişimler; m.8557 G>A, m.8566 A>G, m.8573 G>A, m.8684 C>T, m.8867 T>C, ve sinonim değişimler; m.8634 T>C, m.8697 A>G, m.8901 A>G, m.8994 G>A, m.9111T>C daha önce yayınlanan çalışmalarda obez bireylerin hiçbirinde saptanmamıştır. Kontrol ve obez olguların tamamında saptadığımız m.8860 A>G polimorfizmini, Fuku ve arkadaşları da bütün olgularında saptamıştır. Fuku ve arkadaşları, 8860. pozisyonda adenin nükleotidinin yer almasının literatürde nadir görüldüğünü belirterek, 8860. pozisyonda guanin nükleotidinin standart bir nükleotit olması gerektiğini vurgulamıştır (10). Fuku ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma ve bizim çalışmamızda, obezlerde saptanan ortak değişimlerden diğeri ise sinonim olan m.9090 T>C polimorfizmidir. Bu polimorfizm, çalışmamızda yer alan obez olguların 1 tanesinde saptandığı gibi Fuku ve arkadaşları da 96 obez bireyden yalnızca 1 tanesinde saptamışlardır (10). Ayrıca bu değişim, Guo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 96 obez bireyin 1 tanesinde, 96 tip 2 diabet hastası bireyin de 1 tanesinde saptanmıştır (66). Pediatrik obezlerin MTATP6 genindeki SNP profiline baktığımız zaman Japonlarla uyumlu az sayıda polimorfizme rastlandığını görmekteyiz. Ancak 2003 yılında Alman araştırmacılar, Poetsch ve arkadaşlarının MTATP6 genini de içine alan mitokondriyal bölgedeki polimorfizmleri araştıran adli tıp ile ilgili çalışmalarında, kontrol ve obez olgularda bizim de bulduğumuz, m.8860 A>G, m.8853 A>G, m.8618 T>C, m.8697 T>C, m.8901 A>G, m.8994 G>A polimorfizmlerini saptamışlardır (75). Bu durum, Türk toplumu olarak; Avrupa ülkelerinin mitokondriyal genetik profili ile daha uyumlu olduğumuzu göstermektedir.

Çalışmamızda yer alan obez olgularda kontrol olgulara göre anlamlı olarak yüksek bulunan m.8994 G>A değişimi literatürde yer alan obez bireylerde hiç saptanmamıştır. Obez bireylerde kontrollere göre anlamlı olarak fazla bulunan bir diğery varyasyon olan m.8614 T>C polimorfizmi ise Fuku ve arkadaşlarının çalışmasında da 1 obez bireyde saptanmıştır (10). Bu varyasyona ait bulgumuz literatürle uyumlu olması dolayısıyla obezite açısından daha da önem kazanmaktadır.

Kontrol olguların 1 tanesinde saptadığımız nonsinonim olan m.8684 C>T değişimini Guo ve arkadaşları 96 tip 2 diabetli olgunun 5'inde saptamışlardır. 1 kontrol olguda saptadığımız sinonim m.8856 G>A polimorfizmini de aynı araştırmacılar 2 tip 2 diabet olgusunda, Fuku ve arkadaşları ise 4 obez olguda saptamışlardır (10). Saptadığımız bu iki değişime sahip kontrol olguların glukoz ve insülin değerleri bilinmemekle birlikte tip 2 diabet semptomlarını taşımamaktadırlar.

Çalışmamızda yer alan obez ve kontrol olguların MTCYB geninin genomik profiline baktığımız zaman, obez ve kontrol olgularda frekansı en fazla olan değişimler m.14766 C>T ve m.15326 A>G değişimleri olarak karşımıza çıkmaktadır. m.14766 C>T değişimi 64 obez, 65 kontrol olguda saptanmıştır. m.15326 A>G değişimi ise 97 obez olguda saptanırken kontrol olguların tamamında saptanmıştır. Bu değişimler haplogrup analizlerinde belirteç olarak kullanılmaktadır. m.15326 A>G polimorfizmini, Fuku ve arkadaşları tüm olgularında saptamışlardır (10). Ancak, bulgularımıza göre bizde oldukça sık rastlanan m.14766 C>T değişimi Japon obez olguların hiçbirinde saptanmamıştır. Bu değişim açısından Avrupa toplumlarını

ele alan çalışmalarla, bizim sonuçlarımız uyumlu bir sonuç sergilemektedir. 2002 yılında Alman araştırmacılar Vives-Bauza ve arkadaşlarının Parkinson hastalarında tüm mitokondriyal genomu dizi analizi yaptıkları çalışmada, m.14766 C>T değişimi Parkinson hastası olgularda saptanmıştır (77). Bu iki değişimden sonra en yüksek frekansta saptanan değişim nonsinonim m.15452 C>A değişimidir. Obez olguların 14 tanesinde, kontrol olguların 23 tanesinde saptanmıştır. Literatüre göre obez olguların hiçbirinde bu değişim bulunmamıştır. Literatürde yer alan obez olgularda saptanmayan bizim obez olgularımızda saptanan nonsinonim varyasyonlar; m.14978 A>G, m.15218 A>G, m.15261 G>A, m.15314 G>A, m.15656 A>G, 15734 G>A ve sinonim varyasyonlar da m.14890 A>G, 15262 T>C, 15622 T>C değişimleridir. Çalışmamızda m.15218 A>G değişimini 1 obez, 5 kontrol olguda saptanmıştır. Ancak Guo ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada bu değişimi tip 2 diabetli 2 olguda saptarken obezlerde hiç bulmamışlardır (66). Bunun yanı sıra, çalışmamız sonucu elde ettiğimiz bulgularda, literatürle uyumlu genomik değişimler de yer almaktadır. Yalnızca 1 obez olguda saptadığımız nonsinonim bir değişim olan m.15236 A>G değişimi Fuku ve arkadaşları 2 obez olguda, Guo ve arkadaşları ise 2 obez olguda, tip 2 diabet tanılı 2 olguda saptamışlardır (10, 66). Fuku ve arkadaşlarının 1 obez olguda rastladıkları nonsinonim m.15758 A>G polimorfizmi, bizim 2 obez olgumuzda saptanmıştır. Yalnızca obez grupta, 1 obez olguda saptadığımız m.15440 T>C, 2 obez olguda saptadığımız m.15487A>T ve 2 obez olguda saptadığımız m.15784 T>C polimorfizmleri Guo ve arkadaşlarının, Fuku ve arkadaşlarının da obez olgularında saptanmıştır. Guo ve arkadaşları, bu 3 değişimi ayrı ayrı, birbirinden bağımsız 3 tip 2 diabetli olguda da saptamışlardır (66). Literatürle, bizim bulgularımız arasındaki fark, mitokondriyal genomun oldukça polimorfik olması ve etnik köken farklılıklarından kaynaklanmaktadır.

Japon araştırmacıların çalışmalarına baktığımız zaman, obez ve tip 2 diabetli olgularda frekansı oldukça yüksek olan sinonim m.14783 T>C, 15043 G>A, 15301 G>A polimorfizmleri bizim sonuçlarımıza bakıldığı zaman onlar kadar yüksek frekansta bulunmamıştır. Fuku ve arkadaşlarının çalışma sonuçlarına bakıldığı zaman çalışmalarında yer alan 96 obez olguda söz konusu 3 değişimin, 96 obez olgu içerisinde 57 obez olguda saptandığı belirtilmektedir (10). Yaptığımız çalışmaya göre ise m.14783 T>C değişimi 5 obez, 5 kontrol olguda, m.15043 G>A değişimi 8 obez, 11 kontrol olguda, m.15301 G>A değişimi 4 obez, 7 kontrol olguda saptanmıştır.

Yapılan polimorfizm analiz çalışmaları günümüzde, bireye özgü tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi açısından oldukça önem kazanmaktadır (34). Bireyler arasında genetik varyasyonlar bulunması onların besin ve besin ögesi gereksinimlerini, beslenme durumlarını ve dolayısı ile sağlık durumlarını etkilemektedir. Bu farklılıklar zaman zaman bireylerin tedaviye verdiği cevabı da belirlemekte, diğer bireylerden farklı kılabilir (34). Çok sayıda polimorfizmin komplike etkileşimi bireylerin ve toplum alt gruplarının diyet yaklaşımına olan yanıtlarını etkilediği açıktır. Genetik baz alınarak tahmin edilen bu yanıtlara dayanarak bireyselleştirilmiş diyet önerilerinde bulunabilmek temel hedeftir. Yeni bir bilimsel alan nütrigenomik; besinlerdeki biyolojik olarak aktif bileşenler ile genomun etkileşimine odaklanmıştır ve halen kullanılmakta olan diyet önerilerinin toplumun

çok az bir kısmı için geçerli olabileceğine işaret etmektedir. Nütrigenomik, genotipe bağımlı kronik hastalıkların önlenmesini ve yönetimlerini kolaylaştırarak ve sağlık durumunu geliştirecek diyetler geliştirmede yardımcı olmaktadır (34).

Toplum beslenmesi yaklaşımının temel amacı sağlıklı diyet yolu ile iyi bir sağlık durumu yaratabilmek için toplum bazlı yaklaşımlar geliştirilmesidir. Eğer genetik yapımız aynı olsa idi, aynı çevre koşullarında diyet ve ilaçlara yanıtımızın aynı olması beklenirdi. Oysa SNP'ler nedeni ile bu yanıtlar aynı olmamaktadır. Dolayısıyla gelecekte polimorfizm çalışmalarının artarak devam edeceği düşünülmektedir (34). Vaka sayısı ne kadar çok olursa elde edilen verilerin toplumsal yararı daha da artacaktır.

KAYNAKLAR

1. Segal ME, Polansky M, Sankar P. *Predictors of uptake of obesity genetic testing among affected adults*. Hum Genet. 2007;**120**:641-52.
2. Srivastava N, Lakhan R, Mittal B. *Pathophysiology and genetics of obesity*. Indian J Exp Biol. 2007;**45**(11):929-36.
3. Yıldız E. *Obezite ve tip 2 diabet*. Sağlık Bakanlığı. 2008, yayın no:729.
4. Altunkaynak BZB., Ozbek E. *Obezite: Nedenleri ve tedavi seçenekleri*. Dicle Tıp Dergisi 2007;**34**(2):144-149
5. Tutan T, Serap Ceylan S, Çetinkaya B, Altundağ S. *Meslek lisesi öğrencilerinin obesite sıklığının ve beslenme alışkanlıklarının incelenmesi*. TAF Prev Med Bull. 2009;**8**(1):5-12.
6. Şimşek F, Ulukol B, Berberoğlu M, Gülnar SB, Adıyaman P, Öcal G. *Ankara'da bir ilköğretim okulu ve lisede obezite sıklığı*. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2005;**58**:163-166.
7. Ozata M. *İnsan obezitesinin genetiği ve Türk obezlerde saptanılan genetik defektler*. Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism 2003;**2**:5-11.
8. Cordero P, Solomon A, Martínez JA. *Efficiency and mitochondrial metabolism: an etiological axis for obesity*. Rev Med Univ Navarra. 2007;**51**(3):13-8.
9. Hegele RA., Zinman B., Hanley AJ., Harris S., Connelly PW. *A common mtDNA polymorphism associated with variation in plasma triglyceride concentration*. Am J Hum Genet. 1997;**60**(6):1552-5.
10. Fuku N, Oshida Y, Takeyasu T, Guo LJ, Kurata M, Yamada Y, Sato Y, Tanaka M. *Mitochondrial ATPase subunit 6 and cytochrome B gene polymorphisms in young obese adults*. Biochem Biophys Res Commun. 2002;**290**(4):1199-205.
11. Liguori R, Mazzaccara C, Pasanisi F, Buono P, Oriani G, Finelli C, Contaldo F, Sacchetti L. *The mtDNA 15497 G/A polymorphism in cytochrome b in severe obese subjects from Southern Italy*. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.2006;**16**:466-470

12. Kayhan FE, Sesal C, Duman BS. *Obezite ve Tip 2 Diabette FTO Geni*. Diabet Bilimi. 2008;**6**(4):158-160
13. Dina C. *New insights into the genetics of body weight*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2008;**11**(4):378-84.
14. *Obezite*. Bilim Teknik. 2007 Mart (ek)
15. Barness LA, Opitz JM, Gilbert-Barness E. *Obesity: genetic, molecular, and environmental aspects*. Am J Med Genet A. 2007;**143A**(24):3016-34.
16. Dehghan M, Akhtar-Danesh N, Merchant AT. *Childhood obesity, prevalence and prevention*. Nutr J. 2005;**2**:4-24.
17. Erem C, Yildiz R, Kavgaci H, Karahan C, Deger O, Can G, Telatar M. *Prevalence of diabetes, obesity and hypertension in a Turkish population (Trabzon city)*. Diabetes Res Clin Pract 2001;**54**:203-8.
18. Erem C, Arslan C, Hacıhasanoglu A, Deger O, Topbas M, Ukinc K, Ersoz HO, Telatar M. *Prevalence of obesity and associated risk factors in a Turkish population (trabzon city, Turkey)*. Obes Res 2004;**12**:1117-27.
19. Yumuk VD, Hatemi H, Tarakci T, Uyar N, Turan N, Bagriacik N, Ipbuker A. *High prevalence of obesity and diabetes mellitus in Konya, a central Anatolian city in Turkey*. Diabetes Res Clin Pract 2005;**70**:151-8.
20. Ersoy C, Imamoglu S, Tuncel E, Erturk E, Ercan I. *Comparison of the factors that influence obesity prevalence in three district municipalities of the same city with different socioeconomic status: a survey analysis in an urban Turkish population*. Prev Med 2005;**40**:181-8.
21. Walley AJ, Blakemore AI, Froguel P. *Genetics of obesity and the prediction of risk for health*. Hum Mol Genet. 2006;Spec No **2**:R124-30.
22. Hatipoglu N, Ozturk A, Mazicioglu MM, Kurtoglu S, Seyhan S, Lokoglu F. *Waist circumference percentiles for 7- to 17-year-old Turkish children and adolescents*. Eur J Pediatr. 2008;**167**(4):383-9.
23. Önder FO, Kurdoğlu M, Oğuz G, Özben B, Atilla S, Oral SN. *Gülveren Lisesi son sınıf öğrencilerinin bazı beslenme alışkanlıklarının saptanması ve bunun malnütrisyon prevalansı ile olan ilişkisi*. Hacettepe Toplum Hekimliği Bülteni. 2000;**21**(1).

24. Kanbur NO; Derman O; Kinik E. *Prevalence of obesity in adolescents and the impact of sexual maturation stage on body mass index in obese adolescents.* 2002;**14**(1):61-5.
25. Oner N, Vatanserver U, Sari A, Ekuklu E, Guzel A, Karasalihoglu S, Boris NW. *Prevalence of underweight, overweight and obesity in Turkish adolescents.* Swiss Med Wkly. 2004;**134**:529-33.
26. Turkkahraman D, Bircan I, Tosun O, Saka O. *Prevalence and risk factors of obesity in school children in Antalya, Turkey.* Saudi Med J. 2006;**27**(7):1028-33.
27. Ağbuğa B, Konukman F, Yılmaz İ, Köklü Y, Alemdaroğlu U. *8-12 yaş arası çocukların aerobik kapasiteleri ile beden kitle indeksleri arasındaki ilişkinin incelenmesi.* Hacettepe J. of Sport Sciences. 2007;**18**(3),137-146.
28. Öztora S. *İlköğretim çağındaki çocuklarda obezite prevalansının belirlenmesi ve risk faktörlerinin araştırılması.*T.C. Sağlık Bakanlığı Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,İstanbul.2005. Uzmanlık tezi
29. *Global strategy on diet, physical activity and health report.* World Health Organization 2003.
30. Tarım Ö. *Pediyatrik obeziteye genel bakış.* Güncel Pediyatri.2006;**10**:28-31
31. Köksal G, Özel HG. *Çocukluk ve ergenlik döneminde obezite.* Sağlık Bakanlığı. 2008, yayın no:729
32. Köksal G, Özel HG. *Okul öncesi dönemde obezite.* Sağlık Bakanlığı. 2008, yayın no:729.
33. Stunkard, A. J.; Sorensen, T. I. A.; Hanis, C.; Teasdale, T. W.; Chakraborty, R.; Schull, W. J.; Schulsinger, F. *An adoption study of human obesity.* New Eng. J. Med. 1986;**314**:193-198.
34. Coskun T. *Nütrisyonel Genomik.* Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2007;**50**:47-66.
35. Tuncbilek E. *Obezite genetik bir hastalık mıdır?* Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2005;**48**:101-108.
36. Obesity Gene Map. 2005
update.<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16741264>

37. Farooqi IS, O'Rahilly S. *New advances in the genetics of early onset obesity*. Int J Obes (Lond). 2005;**29**(10):1149-52.
38. <http://depts.washington.edu/cgph> 2004 *obesity current topics in genetics*
39. Semerci CN. *Obezite ve Genetik*. *Güllhane Tıp Dergisi*. 2004;**46**(4):353-359.
40. Farooqi IS. *Genetic and hereditary aspects of childhood obesity*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2005;**19**(3):359-74.
41. Clément K. *Genetics of human obesity*. C R Biol. 2006;**329**(8):608-22.
42. Chung WK, Leibel RL. *Molecular physiology of syndromic obesities in humans*. Trends Endocrinol Metab. 2005;**16**(6):267-72.
43. Li S, Loos RJ. *Progress in the genetics of common obesity: size matters*. Curr Opin Lipidol. 2008;**19**(2):113-21.
44. Delrue MA, Michaud JL. *Fat chance: genetic syndromes with obesity*. Clin Genet. 2004;**66**(2):83-93.
45. Hiuge A, Kihara S. *Human genetic mutations and polymorphisms of adipocytokines relating to obesity*. Nippon Rinsho. 2009;**67**(2):266-9.
46. Rapenne G. *Synthesis of technomimetic molecules: towards rotation control in single-molecular machines and motors*. Org. Biomol. Chem. 2005;**3**:1165-1169
47. Wallace DC. *Mitochondrial DNA sequence variation in human evolution and disease*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994;**91**:8739-46.
48. Okura T, Koda M, Ando F, Niino N, Tanaka M, Shimokata H. *Association of the mitochondrial DNA 15497G/A polymorphism with obesity in a middle-aged and elderly Japanese population*. Hum Genet. 2003;**113**(5):432-6.
49. Houstek J, Mráček T, Vojtísková A, Zeman J. *Mitochondrial diseases and ATPase defects of nuclear origin*. Biochim Biophys Acta. 2004;**1658**(1-2):115-21.
50. Smith C, Marks A, Lieberman M. *Marks' Temel Tibbi Biyokimyası*. 2007 (ikinci baskı).

51. Korf BR. *Human Genetics and Genomics*. Third Edition
52. Saxena R, Bakker PIW, Singer K, Mootha V, Burt N, Hirschhorn JN, Gaudet D, Isomaa B, Daly MJ, Groop L, Ardlie KG, Altshuler D. *Comprehensive association testing of common mitochondrial DNA variation in metabolic disease*. The Journal of Human Genetics.2006;**79**:54-61
53. Stark R, Roden M. ESCI Award 2006. *Mitochondrial function and endocrine diseases*. Eur J Clin Invest 2007;**37**:236-48.
54. Gianotti TF, Sookoian S, Dieuzeide G, García SI, Gemma C, González CD, Pirola CJ. *A decreased mitochondrial DNA content is related to insulin resistance in adolescents*. Obesity (Silver Spring). 2008;**16**(7):1591-5.
55. Trounce I. *Genetic control of oxidative phosphorylation and experimental models of defects*. Hum Reprod. 2000;**2**:18-27.
56. Noji H, Yoshida M. *The rotary machine in the cell, ATP synthase*. J Biol Chem. 2001;**276**(3):1665-8.
57. Rubinstein JL, Walker JE, Henderson R. *Structure of the mitochondrial ATP synthase by electron cryomicroscopy*. EMBO J. 2003;**22**(23):6182-92.
58. da Fonseca RR, Johnson WE, O'Brien SJ, Ramos MJ, Antunes A. *The adaptive evolution of mammalian mitochondrial genome*. BMC Genomics. 2008;**9**:119
59. MITOMAP Database:www.mitomap.org
60. Türk Kardiyoloji Derneği web sitesi
<http://www.tkd.org.tr/kilavuz/k02/2db5b.htm?wbnum=1052>
61. Wong LJ. *Pathogenic mitochondrial DNA mutations in protein-coding genes* Muscle Nerve. 2007;**36**(3):279-93.
62. Kokaze A, Ishikawa M, Matsunaga N, Yoshida M, Sekine Y, Teruya K, Takeda N, Sumiya Y, Uchida Y, Takashima Y. *Association of the mitochondrial DNA 5178 A/C polymorphism with serum lipid levels in the Japanese population*. Hum Genet. 2001;**109**(5):521-5.
63. Tanaka M, Gong J, Zhang J, Yamada Y, Borgeld HJ, Yagi K. *Mitochondrial genotype associated with longevity and its inhibitory effect on mutagenesis*. Mech Ageing Dev. 2000;**116**(2-3):65-76.

64. Kim JH, Park KS, Cho YM, Kang BS, Kim SK, Jeon HJ, Kim SY, Lee HK. *The prevalence of the mitochondrial DNA 16189 variant in non-diabetic Korean adults and its association with higher fasting glucose and body mass index.* Diabet Med. 2002;**19**(8):681-4.
65. Weng SW, Liou CW, Lin TK, Wei YH, Lee CF, Eng HL, Chen SD, Liu RT, Chen JF, Chen IY, Chen MH, Wang PW. *Association of mitochondrial deoxyribonucleic acid 16189 variant (T->C transition) with metabolic syndrome in Chinese adults.* J Clin Endocrinol Metab. 2005;**90**(9):5037-40.
66. Guo LJ, Oshida Y, Fuku N, Takeyasu T, Fujita Y, Kurata M, Sato Y, Ito M, Tanaka M. *Mitochondrial genome polymorphisms associated with type-2 diabetes or obesity.* Mitochondrion. 2005;**5**(1):15-33.
67. www.herkules.oulu.fi/isbn9514255364/html/x128.html. *Evolution and mitochondrial DNA in birds.* 2000. University of Oulu.
68. Houstek J, Mráček T, Vojtísková A, Zeman J. *Mitochondrial diseases and ATPase defects of nuclear origin.* Biochim Biophys Acta. 2004;**1658**(1-2):115-21.
69. Ogilvie I, Capaldi RA. *Mutations of the mitochondrially encoded ATPase 6 gene modeled in the ATP synthase of escherichia coli.* FEBS Letters. 1999;**453**:179-182
70. Zhu HY, Wang SW, Martin LJ, Liu L, Li YH, Chen R, Wang L, Zhang ML, Benson DW. *The role of mitochondrial genome in essential hypertension in a Chinese Han population.* Eur J Hum Genet. 2009.
71. Chamala S, Beckstead WA, Rowe MJ, McClellan DA. *Evolutionary selective pressure on three mitochondrial SNPs is consistent with their influence on metabolic efficiency in Pima Indians.* Int J Bioinform Res Appl. 2007;**3**(4):504-22.
72. Lee MY, Lisovsky AA, Park SK, Obolenskaya EV, Dokuchaev NE, Zhang YP, Yu L, Kim YJ, Voloshina I, Myslenkov A, Choi TY, Min MS, Lee H. *Mitochondrial cytochrome b sequence variations and population structure of Siberian chipmunk (Tamias sibiricus) in Northeastern Asia and population substructure in South Korea.* Mol Cells. 2008;**26**(6):566-75
73. Lodish H, Baltimore D, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Darnell J. *Molecular Cell Biology.* Third edition.
74. Hermann SM, Ringel J, Wang J. *Diabetes.* 2002.

75. Martorell R, Khan LK, Hughes ML, Grummer-Strawn LM. *Overweight and obesity in preschool children from developing countries*. International Journal of Obesity. 2000;24:959-967.
76. Poetsch M, Wittig H, Krause D, Lignitz E. *The impact of mtDNA analysis between positions nt8306 and nt9021 for forensic casework*. Mitochondrion. 2003;3:133-137.
77. Vives-Bauza C, Andreu AL, Manfredi G, Beal MF, Janetzky B, Gruenewald TH, Lin MT. *Sequence analysis of the entire mitochondrial genome in Parkinson's disease*. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2002;290:1593-1601.
78. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC, Nierlich DP, Roe BA, Sanger F, Schreier PH, Smith AJ, Staden R, Young IG. *Sequence and organization of the human mitochondrial genome*. Nature 1981;290:457-65.

ÖZGEÇMİŞ

03.03.1984 tarihinde, Antalya'da doğan, Durkadın DEMİR, ilkokul eğitimini 1990-1995 yılları arasında Duraliler İlkokulu'nda, ortaöğretim ve lise eğitimini 1995-2002 yılları arasında Hacı Malike Mehmet Bileydi Anadolu Lisesi'nde tamamlamıştır. 2006 yılında, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü'nden mezun olmuştur. Aynı yıl, Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Tıbbi Genetik Yüksek Lisans Programı'na başlamıştır.

EKLER

HASTA / KONTROL GRUPLARI DEĞERLENDİRME FORMU

Hastanın Adı ve Soyadı:/...../.....
Doğum tarihi:	T. Y. :
Cinsiyeti:	
Adres:	
Tel:	
Gönderen Dr.:	E-mail:

Başvuru şikayeti:**Aile hikayesi [Benzer olgular (pediatrik obezite tanısı konmuş bireyler) varsa pedigrri çizilmesi]:****Akraba evliliği:****Klinik bulgular:**

Boy: Kilo:

BKİ değeri:

BKİ persentil değeri:

Eşlik eden diğer hastalıklar:

Cushing Sendromu:

Hipotiroidi:

Laboratuvar bulguları:

Total kolesterol (mg/dl):

Trigliserid (mg/dl):

HDL (mg/dl):

LDL (mg/dl):

Glukoz (mg/dl):

İnsülin (μ U/ml):

HOMA – IR:

IR:

Sistolik ve diastolik kan basıncı:

N: Y: D:

Tanı:Obez Kontrol