

AĞUSTOS 2019

Yüksek Lisans – Biyoloji

HUSAM BEYAZIT

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LMP2 VE LMP7 GENLERİNİN OBEZİTE İLE
İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

**BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HUSAM BEYAZIT
AĞUSTOS 2019**

**LMP2 VE LMP7 GENLERİNİN OBEZİTE İLE
İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER

Husam BEYAZIT

Ağustos 2019



©2019 [Husam BEYAZIT]

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tezin Başlığı: LMP2 ve LMP7 Genlerinin Obezite ile İlişkisinin İncelenmesi
Öğrencinin Adı Soyadı: Husam BEYAZIT
Sınav Tarihi: 19.08.2019

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Ahmet Necmeddin YAZICI
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmzası

Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER

.....

Dr. Öğr.Üyesi Sevgi GEZİCİ

.....

Dr. Öğr. Üyesi Feyza Nur KAFADAR

.....

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

Husam BEYAZIT

ABSTRACT

ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF LMP2 AND LMP7 GENES WITH OBESITY

BEYAZIT, Husam

M.Sc. in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER

August 2019

53 pages

Obesity is a situation resulting from excess body fat accumulation and increasing the risk of the diseases such as cardiovascular disorders, type 2 diabetes and cancer. According to the classification done by the World Health Organisation, an individual having body mass index higher than 30 is defined as obese. It is known that as well as environmental factors, genetics also has an effect in the development of obesity. Although many related genes have been reported, the genetic basis of obesity has not been clearly identified yet. The aim of the present study was to investigate the role of LMP2 and LMP7 gene polymorphisms in the development of obesity. LMP2-60 and LMP7-145 polymorphisms were analysed by PCR-RFLP technique in 100 morbid obese patient and 100 control individuals having normal body mass index. The allele and genotype frequencies were calculated and compared between morbid obese and the control group. As a result, no statistically significant association was found between LMP2-60 and LMP7-145 polymorphisms and obesity ($p>0.05$). According to these result, it can be concluded that these genes do not have a role in the development of obesity.

Key words: Obesity, LMP2, LMP7, Polymorphism

ÖZET

LMP2 VE LMP7 GENLERİNİN OBEZİTE İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

BEYAZIT, Husam

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji

Danışman: Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER

Ağustos 2019

53 sayfa

Obezite vücutta aşırı yağ birikimi sonucu oluşan ve kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diyabet ve kanser gibi hastalıkların riskini arttıran bir durumdur. Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan sınıflandırmaya göre; vücut kitle indeksi 30'un üzerinde olan bir birey obez olarak tanımlanmaktadır. Çevresel faktörlerin yanısıra genetiğin de obezite gelişiminde etkili olduğu bilinmektedir. Çok sayıda ilişkili gen tanımlanmış olmasına rağmen, obezitenin genetik temeli henüz net olarak tanımlanmamıştır. Bu çalışmada, LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin obezite gelişimindeki rollerinin araştırılması amaçlanmıştır. Morbid obez olarak tanımlanmış 100 birey ve normal vücut kitle indeksine sahip 100 kontrol bireyde LMP2-60 ve LMP7-145 polimorfizmleri PCR-RFLP tekniği ile analiz edilmiştir. Morbid obez ve kontrol grubunda allel ve genotip frekansları hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, LMP2-60 ve LMP7-145 polimorfizmleri ile obezite arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p>0,05$). Bu sonuçlara göre, LMP genlerinin obezite gelişiminde etkili olmadığı ifade edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Obezite, LMP2, LMP7, Polimorfizm

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince, engin bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, eleştirel bakış açısı ve yol göstericiliğiyle tezimin bilimsel temeller ışığında şekillendirilmesini sağlayan danışman hocam **Sayın Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER**'e,

Örneklerin temini aşamasında Özel Mersin IMC Hastanesi olanaklarını sunan ve her türlü desteği sağlayan Sayın **Doç. Dr. Ahmet TEKİN** ve ağabeyim **Uzm. Dr. Mahmut Enes BEYAZIT** 'a,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında önemli katkıları olan; zamanını, bilgisini ve fikirlerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan **Dr. Nazlı BOZMAN** 'a,

Tezimin yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve katkı sağlayan **Dr. Öğr. Üyesi. Feyza Nur KAFADAR** 'a,

Beni bugünlere yetiştiren, çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde bana destek olan çok kıymetli **Annem** ve **Babama**,

Çalışmamın ilk aşamasından son aşamasına kadar yardımını benden esirgemeyen, bilgilerini, fikirlerini benimle paylaşan eşim **Uzm. Biyolog Sevgi BEYAZIT** 'a,

Çalışmaya (FEF.YLT.17.02) maddi destek sağlayan **Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi**'ne

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|-------|
| ABSTRACT | v |
| ÖZET | vi |
| TEŞEKKÜR | vii |
| İÇİNDEKİLER | viii |
| TABLolar LİSTESİ | x |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | xi |
| KISALTMALAR LİSTESİ | xii |
| BÖLÜM I : GİRİŞ | 1 |
| 1.1 Obezite Tanımı ve Sınıflandırma | 1 |
| 1.2 Obeziteye Neden Olan Faktörler | 3 |
| 1.3 Obezite Gelişiminde Genetik Faktörlerin Rolü..... | 4 |
| 1.4 Obezitenin Tedavisi | 10 |
| 1.5 LMP2 (Düşük Moleküler Ağırlıklı Polipeptit 2) ve LMP7 (Düşük Moleküler Ağırlıklı Polipeptit 7) Genleri..... | 12 |
| 1.6 Amaç..... | 17 |
| BÖLÜM II : KAYNAK ÖZETLERİ | 18 |
| BÖLÜM III : MATERYAL VE METOTLAR | 25 |
| 3.1 Materyal..... | 25 |
| 3.2 Metotlar..... | 25 |
| 3.2.1 DNA İzolasyonu..... | 25 |
| 3.2.2 LMP2 ve LMP7 Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması | 26 |
| 3.2.3 Agaroz Jel Elektroforezi..... | 27 |
| 3.2.4 LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin RFLP tekniği ile analizi..... | 27 |
| 3.2.5 Verilerin Analizi..... | 31 |
| BÖLÜM IV : BULGULAR | 32 |
| 4.1 Örneklere Ait Demografik Veriler..... | 32 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2 LMP2 Gen Polimorfizminin Obezite ile İlişkisi..... | 33 |
| 4.3 LMP7 Gen Polimorfizminin Obezite ile İlişkisi..... | 35 |
| BÖLÜM V : TARTIŞMA VE SONUÇ..... | 38 |
| KAYNAKLAR..... | 42 |



TABLolar LİSTESİ

| | Sayfa |
|---|-------|
| Tablo 1.1 VKİ değerlerine göre sınıflandırma..... | 2 |
| Tablo 1.2 İnsanda obezite ile ilişkili tek gen mutasyonları..... | 5 |
| Tablo 3.1 PCR için kullanılan primer dizileri | 26 |
| Tablo 3.2 PCR işleminde kullanılan ısı döngü programı..... | 27 |
| Tablo 3.3 Kullanılan restriksiyon enzimleri ve kesim ürünleri..... | 28 |
| Tablo 3.4 Kesim sonuçlarına göre LMP2 genotiplendirme..... | 29 |
| Tablo 3.5 Kesim sonuçlarına göre LMP7 genotiplendirme..... | 29 |
| Tablo 4.1 Örneklere ait demografik bilgiler..... | 32 |
| Tablo 4.2 LMP2 gen polimorfizminin allel ve genotip dağılımı..... | 34 |
| Tablo 4.3 LMP7 gen polimorfizminin allel ve genotip dağılımı..... | 36 |

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

| | |
|--|----|
| Şekil 1.1 Obezite yatkınlık genlerinin kromozomal dağılımı | 6 |
| Şekil 1.2 Obezite gelişiminde etkili olduğu düşünülen bazı genler..... | 7 |
| Şekil 1.3 Obezite ve DNA hasarı..... | 9 |
| Şekil 1.4 Obezitede kişiye özgül tedavi..... | 11 |
| Şekil 1.5 6p 21.1-21.3 üzerinde yerleşik MHC bölgesinin gen haritası..... | 16 |
| Şekil 3.1 LMP2 polimorfizminin PCR-RFLP tekniği ile analizi..... | 30 |
| Şekil 3.2 LMP7 polimorfizminin PCR-RFLP tekniği ile analizi..... | 30 |
| Şekil 4.1 LMP2 gen polimorfizmi için genotip ve allellerin gruptaki dağılımı.... | 35 |
| Şekil 4.2 LMP7 gen polimorfizmi için genotip ve allellerin gruptaki dağılımı... | 36 |

KISALTMALAR LİSTESİ

| | |
|------------------------|--|
| µl | Mikrolitre |
| ALT | Alanin Amino Transferaz |
| bç | Baz Çifti |
| dH₂O | Distile Su |
| DNA | Deoksiribonükleik Asit |
| EDTA | Etilendiamin Tetraasetik Asit |
| EtBr | Etidyum Bromür |
| g | Gram |
| GP | Geri Primer |
| GWAS | Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları |
| HBV | Hepatit B Virüsü |
| HCV | Hepatit C Virüsü |
| HLA | İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leukocyte Antigens) |
| HSV | Herpes Simpleks Virüsü |
| İP | İleri Primer |
| kb | kilobaz |
| L | Litre |

| | |
|-------------|---|
| LMP2 | Düşük Moleküler Ağırlıklı Polipeptit 2 (Low Molecular Weight Polypeptide 2) |
| LMP7 | Düşük Moleküler Ağırlıklı Polipeptit 7 (Low Molecular Weight Polypeptide 7) |
| mg | Miligram |
| MHC | Büyük Doku Uyum Kompleksi |
| ml | Mililitre |
| PCR | Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction) |
| POMC | Pro-Opiomelanokortin |
| SD | Standart Sapma (Standard deviation) |
| SED | Sosyo-ekonomik durum |
| SNP | Tek Nükleotid Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism) |
| T1D | Tip I Diyabet |
| TNF | Tümör Nekroz Faktör |
| vd. | ve diğerleri |
| VKİ | Vücut Kitle İndeksi |
| WHO | Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation) |

BÖLÜM I

GİRİŞ

Obezite ile hastalıklar arasında ilişki kurulması eski Yunanlılar'a dayanmaktadır, konuyla ilgili ilk görüş Hipokrat'a aittir (Haslam, 2007). Son yıllarda dünyada prevalansı giderek artan obezite, sağlığı tehdit eden en önemli faktörlerden birisidir. Günümüzde bir milyardan fazla yetişkinin aşırı kilolu olduğu ve bunların üç yüz milyonunun obez olarak tanımlandığı bilinmektedir (Kosti ve Panagiotakos, 2006). ABD' de yetişkin nüfusun üçte biri obez profilindedir (Flegal vd., 2010). Ayrıca birçok Avrupa ülkesinde yetişkin nüfusunun %50'den fazlası aşırı kiloludur (Stirling vd., 2007).

Tarih boyunca, sağlık ve refahın ilk göstergesi kilo artışı olmuştur, ancak obezite sağlığı tehdit eden ciddi bir durumdur (Grundy, 1998). Yiyeceklerin daha kolay erişilebilir olması ve insanların fiziksel aktivitelerinin azalması ile günümüzde obezite prevalansının oranı artmaktadır. Obezite hem zengin hem de yoksul ülke toplumlarını etkileyen küresel bir risk teşkil etmektedir (Leonhard vd., 1998).

Obezite karmaşık bir tablo olarak nitelenmiş ve “salgın” olarak tanımlanmıştır (Kosti ve Panagiotakos, 2006). Alınan enerji kullanılan enerjiden fazla olduğunda denge bozulmakta ve gereksiz yağ birikimi gerçekleşmektedir (Canoy ve Buchan, 2007).

1.1 Obezite Tanımı ve Sınıflandırma

Obezite, enerji alımının harcanan enerjiye nazaran kronik olarak fazla olması sonucunda vücutta aşırı yağ birikimi ile sonuçlanan bir tablodur. Obezitenin gelişmesine sebep olan faktörlerden en önemli olanları; yaş, cinsiyet, eğitim düzeyi, sosyo-kültürel etmenler, gelir durumu, yanlış beslenme alışkanlıkları, yetersiz fiziksel aktivite, hormonal ve metabolik etmenler, psikolojik etmenler, ilaçlar ve genetik etmenlerdir (Kanter ve Caballero, 2012). Kadınların hamilelikte aldığı fazla kilolar ile

yaşanan hormonal sorunlar ve yetersiz fiziksel aktivite de obeziteye sebep olabilmektedir (Cordero vd., 2009 Lash ve Armstrong, 2009). Ayrıca, ilerleyen yaşlarda bazal metabolizma hızının azalması sonucunda alınan ve harcanan enerji dengesi bozulabilmekte ve obezite ortaya çıkabilmektedir (Westerterp, 2010).

Obezitenin tanısı Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlenmiş olan Vücut Kitle İndeksi (VKİ) değerlerine göre konulmaktadır. Bireyin kilosunun, boy uzunluğunun karesine bölünmesi ile VKİ değeri elde edilmekte ve sınıflandırma bu değere göre yapılmaktadır (Tablo 1.1).

Tablo 1.1 VKİ değerlerine göre sınıflandırma

| Sınıflandırma | VKİ (kg/m ²) | |
|--|--------------------------|---------------------------------|
| | Temel kesişim noktaları | Geliştirilmiş kesişim noktaları |
| Zayıf (düşük ağırlıklı) | <18,50 | <18,50 |
| Aşırı düzeyde zayıflık | <16,50 | <16,50 |
| Orta düzeyde zayıflık | 16,00-16,99 | 16,00-16,99 |
| Hafif düzeyde zayıflık | 17,00-18,49 | 17,00-18,49 |
| Normal | 18,50-24,99 | 18,50-22,99 |
| | | 23,00-24,99 |
| Toplu, hafif şişman, fazla kilolu | >25,00 | >25,00 |
| Şişmanlık öncesi (pre-obez) | 25,00-29,99 | 25,00-27,49 |
| | | 27,50-29,99 |
| Şişman (Obez) | >30,00 | >30,00 |
| Şişman I. Derece | 30,00-34,99 | 30,00-32,49 |
| | | 32,50-34,99 |
| Şişman II. Derece | 35,00-39,99 | 35,00-37,49 |
| | | 37,50-39,99 |
| Şişman III. Derece | >40,00 | >40,00 |

Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırmasına göre; VKİ>30 kg/m² olan bireyler obez; VKİ ≥ 40 kg/m² olan bireyler ise morbid obez olarak nitelendirilmektedirler.

VKİ değerine ek olarak bel/kalça oranı, bel çevresi ölçümü, karın bölgesindeki yağ dağılımı da obezite tanısının konulmasında kullanılan diğer belirteçlerdir. VKİ, vücuttaki yağ dağılımı hakkında bilgi vermediği için bu ölçümler de önemlidir. Bel çevresi ölçümünün erkeklerde 94 cm, kadınlarda 80 cm ve üzerinde olması riskli kabul edilmektedir.

Obezite tüm dünyada görülme sıklığı giderek artan yaygın bir sağlık problemidir. Gelişmiş ülkelerde daha sık görülmekle birlikte, gelişmekte olan ülkelerde de sürekli bir artış göstermektedir (www.who.int/topics/obesity/). WHO (2014) verilerine göre; dünya genelinde yaklaşık iki milyon (18 yaş üstü yetişkin) insan fazla kilolu (VKİ ≥ 25 kg/m²) olarak rapor edilmiştir. Bu bireylerin %39'unu erkekler, %40'ını kadınlar oluşturmaktadır. Yine aynı rapora göre %11'i erkek, %15'i de kadın olmak üzere toplam bir buçuk milyon insan obez (VKİ > 30 kg/m²) olarak tanımlanmıştır.

Ülkemizdeki durum incelendiğinde, 2008 yılında %15,2 olan obezite oranının, 2014 yılında %19,9'a çıktığı görülmektedir. Artış oranının kadınlarda (%32,3) erkeklere (%24) oranla daha fazla olduğu bildirilmiştir (www.tuik.gov.tr/).

Multifaktöriyel ve kompleks bir hastalık olarak kabul edilen obezitenin yaygınlaşmasında sağlıksız beslenme alışkanlıklarının yanı sıra hatalı yaşam tarzı da etkilidir. Tip-2 diyabet, kalp hastalıkları, hipertansiyon, karaciğer yağlanması, osteoartrit, felç, meme, kolon, böbrek ve endometrium kanseri gibi bazı kanser türleri obezitenin neden olduğu sağlık sorunlarından bazılarıdır (www.niddk.nih.gov/).

1.2 Obeziteye Neden Olan Faktörler

Obezite genetik ve çevresel faktörlerin (ör. beslenme, hormonal ve metabolik durum) etkileşimi sonucu ortaya çıkan multifaktöriyel ve kompleks bir tablodur.

Vücuda alınan fazla enerji vücutta yağ olarak depolanır. Obezite vücuda alınan enerji ve harcanan enerji arasında ki dengenin dengesizleşmesiyle oluşmaktadır. Bu yüzden vücuda alınan enerjinin dengesizliği obezite nedenleri arasında gösterilmektedir (Canoy ve Buchan, 2007). İngiltere'de yayınlanan bir rapora göre fiziksel aktivite seviyesindeki azalma ve diyet düzenlerinin değişmesi obezite prevalansının artmasına

temel oluşturmaktadır ancak obezitenin nedenleri oldukça karmaşık ve çok yönlüdür (Kopelman vd., 2007).

Ayrıca, enerji alımında artış ve tüketiminde azalma neticesinde denge bozulduğunda kilo artışı kaçınılmaz olmaktadır (Murphy, 2005). Obezite gelişiminde etkili “Obezojenik” (Lobstein ve Dibb, 2005; Reynolds vd., 2007) veya “toksik” çevresel faktörler ileri sürülmüştür (Puhl ve Brownell, 2003).

Bilgisayar, televizyon ve motorlu taşıtların kullanımındaki artış obezite oranını etkilemiştir. Yapılan bazı araştırmalarda uzun süreli televizyon izleme alışkanlıklarının hareketsiz yaşam tarzına neden olduğu ve aynı zamanda atıştırmayı teşvik ederek obeziteye yol açtığı gösterilmiştir (Robinson vd., 1999). Sosyoekonomik durumdaki iyileşme, kilolu birey sayısının ve obezitenin artmasında ana faktör olarak kabul edilmektedir (Sobal ve Stunkard, 1989). Yapılan günlük egzersizdeki artış, yürüyüş ve bisiklet sürmek gibi spor faaliyetlerinin yaygınlaşması obezitenin azaltılmasında etkili olabilecek aktivitelerdir (Frank vd., 2005).

Çalışmalar, obezite gelişiminde genlerin önemli rol oynadığını düşündürmektedir (Bray, 2004). Ayrıca oral kontraseptif (Gallo vd., 2008) ve psikotropik ilaçların (Allison vd., 1999) kullanımı ile kilo alımı arasında ilişki olduğu da bildirilmiştir.

1.3 Obezite Gelişiminde Genetik Faktörlerin Rolü

Tarih boyunca insanın enerjiyi yağ şeklinde depolaması, hayatını sürdürebilmesi için önemli olmuştur. Uzun süren açlık dönemleriyle başa çıkabilmek açısından enerjinin yağ şeklinde depolanması avantaj kabul edilmiştir. İnsan vücudundaki enerjinin depolanmasını sağlayan spesifik genler tanımlanmış olup bu genlerin enerjinin az harcanmasını (tasarruflu gen hipotezi) sağladığı öne sürülmüştür. Son yıllarda sanayileşme ve modernleşme ile birlikte değişen yaşam tarzı ve artan kalori alımını teşvik eden “obezojenik” bir ortam oluşmakta ve buna bağlı olarak da obezitenin görülme sıklığı artış göstermektedir (French vd., 2001; Bell vd., 2005).

Bireyin genetik yatkınlığı ile modern “obezojenik” çevre arasındaki etkileşim aşırı kilo alımına yol açmaktadır. Obezite karmaşık, çok faktörlü poligenik kalıtım gösteren bir hastalıktır. Ailesel kümelenme, yalnızca ortak bir yaşam tarzı ve ortak bir ortamdan kaynaklanmamaktadır. Obezitenin derecesi hafif kilolu ile morbid obez arasında

fenotipik değişiklik göstermektedir. Çocukluk çağında, genetik faktörlerin 'obezojenik' ortamda obezite başlangıcındaki etkisi daha fazla olmaktadır. Küçük yaştaki obezitenin kalıtım derecesi, yetişkin yaştaki obezitenin kalıtımından daha yüksek olmaktadır (Stunkard vd., 1986). Vücut düzenleyici mekanizmamız, kilo kaybının önlenmesinde etkilidir ancak aşırı kilo alımını önlemede yetersizdir. Genel nüfus içerisinde morbid obezite görülme sıklığındaki artış sadece fiziksel aktivitede azalma ve sanayileşmiş ülkelerdeki “obezojenik” ortam ile açıklanamaz (Kuczmarski vd., 2002).

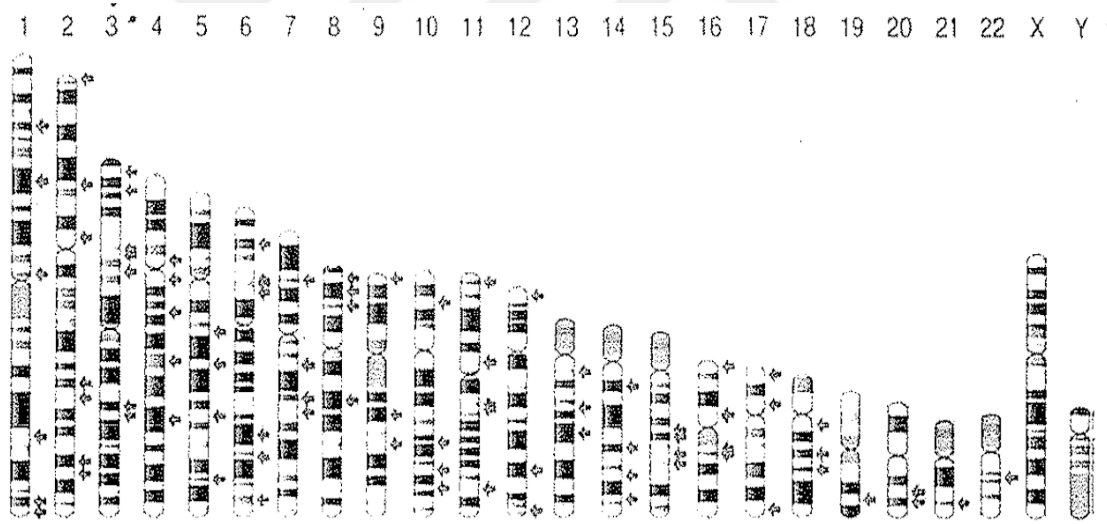
Çevresel faktörlere ek olarak genetik faktörlerin de etkilediği obezite multifaktöriyel bir hastalıktır; gelişiminde genetik yatkınlığın da %40-%70 oranında etkili olduğu bildirilmiştir (Bell vd., 2005). VKİ konkordans oranı monozigotik ikizlerde %66, dizigotik ikizlerde ise %28 bulunmuştur (Stunkard vd., 1990). Bu durum genetik faktörlerin obezite üzerindeki etkisini göstermektedir.

Tablo 1.2 İnsanda obezite ile ilişkili tek gen mutasyonları

| Hastalık | Kromozomal lokalizasyon |
|---|---|
| Prader-Labhart-Willi | 15q11-q12 (Uniparental Maternal Dizomi) |
| Alström | 2p14-p13 (Resesif) |
| Bardet-Biedl | 16q21 15q22-q23 |
| Karpenter | Bilinmiyor (Resesif) |
| Cohen | 8q22-q23 (Resesif) |
| Prohormon Konvertaz | 5q15-q21 (Resesif) |
| Beckwith-Wiedemann | 1İp15,5 (Resesif) |
| Neisidioblastosis | 1İp15.1 (Resesif veya Dominant) |
| Pseudohypo-parathyroidizm (Tip IA) | 20q13,2 (Resesif) |
| Leptin | 7q31,3 (Resesif) |
| Leptin Reseptör | 1p31-p32 (Resesif) |
| POMC | 2p23,3 (Resesif) |
| MC4 reseptör | 18q22 (Dominant) |

Son yıllarda yapılan birçok çalışmada obezite gelişimine katkı sağlayan genlerin belirlenmesi hedeflenmiştir. Obezite ve ilişkili tablolar yaygın kompleks fenotip ortaya koymaktadır; çok sayıda genin fenotipe katkısı (oligogenik, poligenik) söz konusudur.

Obezite genellikle etyolojik nedenlere bağlı olarak şu şekilde sınıflandırılmaktadır; monogenik, sendromik ve poligenik (yaygın) obezite. Monogenik obezite; tek gen bozukluğundan kaynaklanan gelişim geriliğinin görülmediği ciddi obezite durumudur. Sendromik obezitede ise aşırı kilonun yanı sıra zeka geriliği, anormal morfolojik özellikler, organa özgül gelişim bozuklukları karşımıza çıkmaktadır. Poligenik ya da yaygın obezite ise çok sayıda genin etki ettiği, genel popülasyonu etkileyen ve aynı zamanda çeşitli sağlık sorunları (ör. kardiyovasküler hastalıklar) ile de ilişkilendirilen obezite türüdür (Herrera ve Lindgren, 2010).

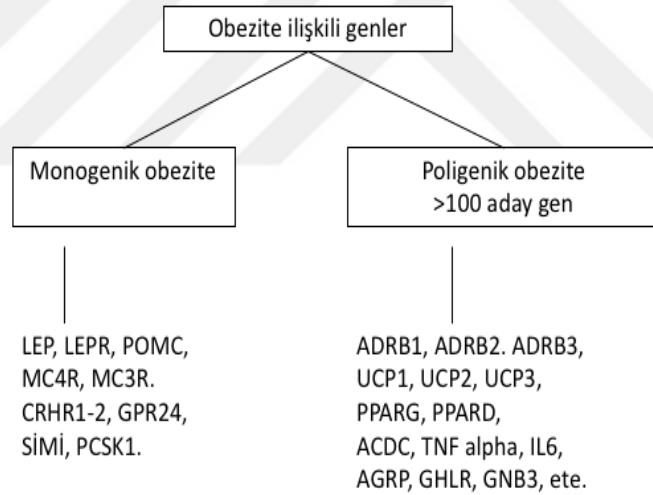


Şekil 1.1 Obezite yatkınlık genlerinin kromozomal dağılımı

Obezite ile ilişkili olduğu belirlenmiş olan 127 genin kromozomal lokalizasyonu Şekil 1.1’de oklarla belirtilmiştir (Pigeyre vd., 2016). Sendromik, monogenik ve poligenik obezite gelişiminde etkili genlerin belirlenmesi ile vücut yağ düzenlenmesi konusunda bilgilerimiz artmaktadır. Bu hastalığın genetik bozukluklar (gen transkripsiyonu veya protein fonksiyon değişimleri) ve/veya çevresel faktörlerin (diyet, fiziksel aktivite vs.) etkisi sonucunda ortaya çıktığı kabul edilmektedir.

Gen Obezite Haritasına göre ise; 600'ün üzerinde gen vücut ağırlığı düzenlenmesinde ve obezite gelişiminde rol oynamaktadır. Bu genler içerisinde ön plana çıkanlar Leptin, leptin reseptörü, melanokortin 4 reseptörü, pro-opiomelanokortin (POMC)/prohormone konvertaz genleridir.

Leptin, yağ dokusu tarafından salgılanan bir hormon olup hormon seviyesi insandaki yağlanma ile direk ilişkilidir. Uzun süren kalori kısıtlaması durumunda yağ deposunda ve leptin üretiminde azalma görülmektedir (Miyawaki vd., 2002). Leptin yeme alışkanlığı ve enerji harcama arasındaki dengenin düzenlenmesi için gerekli bir sitokin (adipokin) olup hipotalamusta leptin reseptörüne bağlanır ve yeme isteğini azaltır, termogenezi tetikler (Dulloo vd., 2002). Leptin proteini 7q31.3 bölgesinde yer alan LEP geninden kodlanmaktadır, bugüne kadar bu gende ciddi obeziteye neden olduğu düşünülen 8 mutasyon tanımlanmıştır (Fairbrother vd., 2018).



Şekil 1.2 Obezite gelişiminde etkili olduğu düşünülen bazı genler

Obezite bazı sendromlarda (ör. Prader-Willi Sendromu) görülen sorunlardan birisi olarak da karşımıza çıkmaktadır (Sendromik Obezite). Bu tür durumlarda, aşırı kilonun yanı sıra, öğrenme bozuklukları, belirgin malformasyonlar ve anormal davranış şekilleri de gözlenebilmektedir. Bu sendromlardaki obezite ilişkili genler daha çok merkezi sinir sistemindeki iştah kontrol noktaları ile ilişkilidir.

Son 10 yılda yapılan genom boyu ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), obezite ile ilişkili yeni genlerin ve lokusların tanımlanması için mükemmel bir araç olmuştur. Bu çalışmaların çoğu beyaz ırk popülasyonlarına yönelik yapılmış olup diğer ırk popülasyonlarına ait veriler kısıtlıdır. GWAS obezitenin genetiğine dair önemli ipuçları sağlasa da VKİ'de gözlenen geniş varyasyonun açıklanması için yeterli değildir. Tanımlanmış olan SNP markerları varyasyonun toplamda sadece %3-5' ini açıklayabilmektedir.

Yakın zamanda yapılan on binlerce bireyde milyonlarca genetik varyantın analiz edildiği bir çalışmada VKİ değerinin kalıtılabilirliği eski çalışmalara göre daha düşük (%30-40) bulunmuştur (Yang vd., 2015).

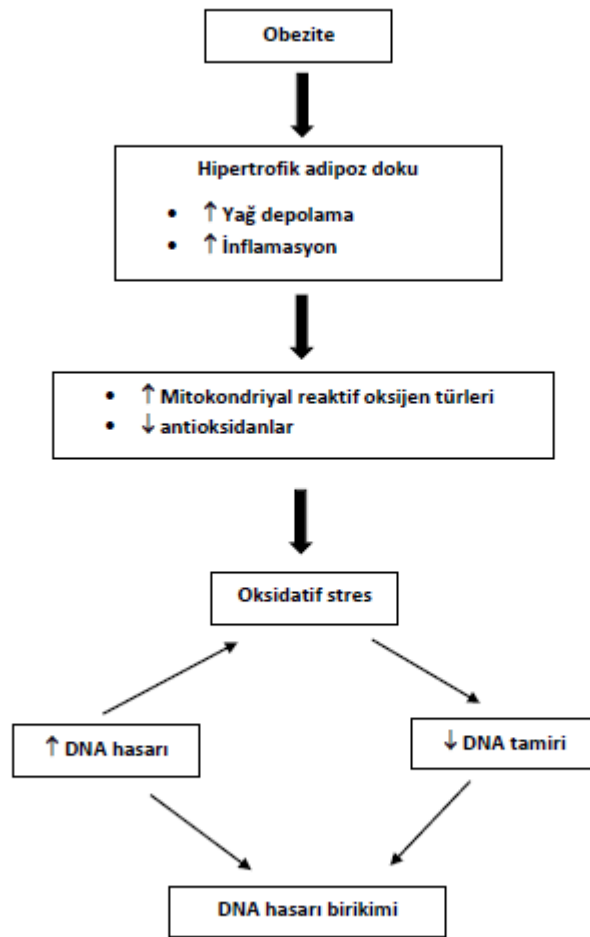
Öte yandan epigenetik mekanizmalar da obezitenin kalıtılabilirliğine etki etmektedir. DNA dizisinde değişikliğe bağlı olmadan genellikle üç ana mekanizma ile gen ekspresyonunun düzenlenmesi/baskılanması söz konusudur. Bu mekanizmalar DNA metilasyonu, histonların modifikasyonu (asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon vb. işlemlerle) ve mikroRNA olarak özetlenebilir. Genetik olmayan etmenler (beslenme, egzersiz, kilo kaybı için yapılan müdahaleler) epigenetik mekanizmalarda dinamik değişikliklere yol açarak gen aktivitesini kontrol etmektedir. Obezite ile ilişkili klinik değişkenlerle kan, yağ dokusu, karaciğer, iskelet kasındaki epigenetik kalıplar arasında kuvvetli bir ilişki tespit edilmiş olmakla birlikte bu ilişkinin nedenleri ve yansımaları henüz yeterince anlaşılamamıştır (Keller vd., 2016).

Obezite ile DNA tamiri arasında da bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Tamir mekanizmasındaki bozuklukların artmış vücut ağırlığı ile ilişkisi rapor edilmiştir (Himbert vd., 2017). Nükleotid eksizyon tamir mekanizması kapasitesi ile VKİ arasında ters orantı olduğu genç kadınlarda yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Tyson vd., 2009). Genotoksik ajanlar nedeniyle oluşan çift zincir kırıklarının tamirinin obeziteye bağlı olarak sekteye uğradığı tespit edilmiştir (Adcock vd., 2005).

B, C, E vitaminleri ve çinko alımı ile DNA hasarının ilişkili olduğu bildirilmiş olup obez kadınlarda günlük C ve E vitamin alımının lenfositlerde DNA hasarını ciddi ölçüde etkilediği tespit edilmiştir. Dolayısıyla obez bireylerde yeterli miktarda C ve E vitamin tüketimi ile antioksidan aktiviteleri sayesinde DNA hasarının azaltılabileceği düşünülmektedir (Włodarczyk vd., 2018).

Obezite ile ilişkili kronik inflamasyon da DNA hasarı oluşumunda oldukça etkilidir (Setayesh vd., 2018).

DNA hasarına verilen hücresel yanıt, hücre döngüsünün geri dönüşsüz şekilde durması, adiposit farklılaşması, hipertrofi ve inflamasyonu tetikleyen proteinlerin aktivasyonu, hücre metabolizmasında aksaklıklar, glukoz metabolizmasının bozulması ve sistemik insülin direncinin gelişmesi gibi önemli olaylarda direk etkilidir (Wladarczyk ve Nowicka, 2019).



Şekil 1.3 Obezite ve DNA hasarı

1.4 Obezitenin Tedavisi

Obezite tedavisinde ilk amaç sağlıklı beslenme düzeni oluşturmak, buna bağlı olarak vücut ağırlığının azaltılması ve verilen kiloların alınmasının engellenmesidir. Obezite tedavisinde en çok kullanılan yöntemler şu şekilde listelenmektedir:

Diyet tedavisi

Diyet tedavisinde önemli olan enerji alımının azaltılmasıdır. Vücuda alınan makro besinlerin (protein, karbonhidrat, yağ) miktarının azaltılması gerekmektedir. Yağlar en fazla enerji olarak harcanmaktadır. Az yağlı diyetler, obez ve fazla kilolu kişilerin kilo vermesine yardımcı olmaktadır. Ayrıca tam tahıllı besinler, meyve ve sebzelerin ölçülü alınması da sağlıklı şekilde kilo verilmesine olanak sağlamaktadır (Fogelholm, 2013).

Egzersiz tedavisi

Egzersiz tedavisinde fiziksel aktivite, kilo vermenin ayrılmaz bir parçası olarak kabul edilmektedir. 2001 yılında Amerikan Spor Hekimliği Fakültesi, aşırı kilolu ve obez yetişkinlerin kilo vermesi için haftada en az 150 dakika orta şiddette fiziksel aktivite önermiştir (Jakicic vd., 2001).

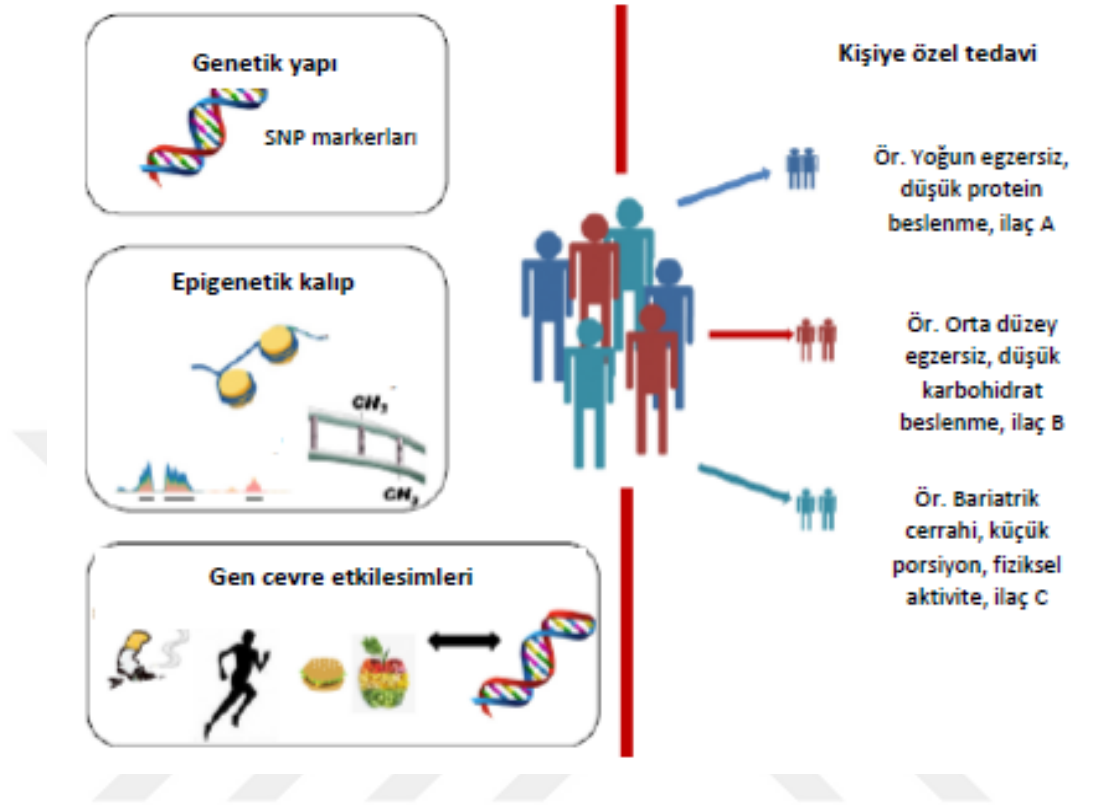
Davranış değişikliği tedavisi

Aşırı kilolu veya obez bireylerin yaşam tarzlarına yapılan müdahaleler, bireylerin günlük yaşamdaki davranışlarını değiştirerek kilo kaybını, yaşam kalitesini iyileştirmeyi amaçlayan yöntemler, tedaviler veya yapılan tedavileri tanımlayan genel bir terimdir. Geniş kapsamlı programlarla birlikte yaşam tarzı değişikliği, kilo verme hedeflerine ulaşmada ilk adım olarak önerilmektedir (Reynolds vd., 2007).

Farmakolojik tedavi

Obezite ile mücadelede ilaç tedavisi de tercih edilebilmektedir; ör. leptin eksikliğini gidermek için enjekte edilebilir rekombinant leptin kullanımı, POMC eksikliğini giderecek ajanların kullanımı.

Çok farklı farmasötik ajanlar geliştirilmesine rağmen, bunlardan bir kısmı güvenlik endişeleri veya rahatsızlık verici yan etkiler nedeniyle ABD ve AB'deki düzenleyici kurumlar tarafından onaylanmamaktadır (Caveney vd., 2011).



Şekil 1.4 Obezitede kişiye özgül tedavi

Cerrahi tedavi

1952'de İsveçli cerrah Viktor Henrikson, ince bağırsak kısmi rezeksiyonu yaparken ilk bariatrik prosedürü uygulamıştır. İşlem daha sonra 1954'te jejun-ileal bypass yapan ABD'li cerrah Arnold J. Kremen tarafından kullanılmıştır (Baker, 2011). Bu uygulama neticesinde, yutulan gıdalar midenin yaklaşık %95'ini, tüm duodenumu ve proksimalin küçük bir kısmını (15-20 cm) atlayarak ince bağırsağın üst kısmına ulaşmaktadır (Cummings vd., 2004).

Günümüzde obezitenin cerrahi tedavisi için uygulanan çok sayıda alternatif yöntem bulunmaktadır.

Obezitenin tedavisinde başarı genetik ve genetik olmayan tüm faktörlerin birlikte değerlendirilmesi neticesinde kişiye özgül tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi ile mümkün olacaktır (Şekil 1.4).

1.5 LMP2 (Düşük Moleküler Ağırlıklı Polipeptit 2) ve LMP7 (Düşük Moleküler Ağırlıklı Polipeptit 7) Genleri

Büyük Doku Uyum Kompleksi (MHC), bağışıklık sisteminin kendinden olanı ve olmayanı tanıması için gerekli olan “doku antijenleri” ni içermektedir (Dalva, 2004). Doku uygunluk kompleksi, yüksek düzeyde polimorfik genlerden kodlanan bileşenlerden oluşmaktadır (Yakut, 2004).

Yirminci yüzyılın başlarında fareler üzerinde doğal gelişen tümörlerin bir zaman sonra kendiliğinden yok olduğunu anlayınca, farelerde bulunan bu tümörleri hasta fareden alıp sağlıklı fareye aktarma girişiminde bulunulmuştur. Akraba fareler üzerinde nakil işleminin başarılı oluşu, şimdiki MHC genlerinin temel taşlarını oluşturmaktadır. Akrabalık oranları çok yakın ya da birbirlerine uzak akrabalık oranları gösteren farelerde gerçekleştirilen nakil deneyleri, doku reddinden sorumlu gen haritalarının saptanmasına olanak sağlamıştır. Böylelikle farelerde güçlü ve zayıf etki eden gen bölgeleri tespit edilmiş ve bunların tümüne Doku Uyum Bölgesi Tissue Histocompatibility Loci adı verilmiştir. İlk olarak kemirgenlerde tanımlanan MHC bölgesi insanda 6. kromozomun kısa kolunda yerleşmiş olup; ilk olarak beyaz kan hücrelerinde tanımlandığı için insan Lökosit Antijenleri-HLA (“Human Leukocyte Antigens”) olarak da adlandırılmaktadır (Dalva, 2004).

Genel olarak birçok alerjik, otoimmün, enfeksiyon veya farklı malin hastalıklarda görülen hastalığın ilerleyişi bakımından bireyler arasında farklılıkların var olduğu bilinmektedir. Var olan farklılıklar hastalığı oluşturan etmenler etkin olduğu gibi, bireylerin HLA doku uyumluk antijenlerinin oluşturduğu yanıt farklılığı gerçekleştiren genetik çeşitlilik ilgili olduğu tespit edilmiştir (Yakut, 2004).

MHC bölgesi, insan genomunun (3×10^9 bç) %0,13’ünü oluşturur fakat protein kodlayan genlerin yaklaşık %0,5’i bu bölgede yer alır. Bu bölge insan genomundaki gen açısından en yoğun ve en iyi tanımlanmış bölgelerden birisidir. MHC gen ürünlerinin çoğu immün yanıtta ligandlar, reseptörler, sinyalizasyon faktörleri, etkileşim proteinleri ve transkripsiyon faktörleridir (Shiina vd., 2009).

HLA genlerinin hastalıklarda meydana getirdiği etkinin T-lenfositlerin antijen tanıma fonksiyonları ile alakalı olduğu ortaya çıkmaktadır. Doku uygunluk kompleksi yüksek seviyelerde polimorfik genlerin meydana getirdiği hücre yüzeylerinde bulunan farklı bölgelerdir.

Çoğunlukla MHC antijenlerinin veya MHC molekülleri olarak isimlendirilen MHC şifreli proteinler doku naklinin kabul edilmemesinde belirleyici rol olmaktadır (Yakut, 2004). HLA allellerinin bilinmesi, belli hastalıklar, spesifik HLA antijenleri veya haploipleri arasında var olan ilişkiyi meydana çıkarmaktadır. Her HLA antijen kendine özgül gen tarafından kontrol edilmektedir.

MHC sisteminde antijen sunumu MHC lokusundaki genlerle kodlanan ve antijen sunucu hücrelerin yüzeyinde bulunan özelleşmiş proteinler aracılığıyla olur. Antijen sunucu hücreler vücudu dolaşır, antijeni bulur ve fagositozla içine alır, onları antijenik peptid parçalarına ayırır ve bunları MHC moleküllerine bağlar. Böylece antijen-peptid parçası - MHC kompleksi daha sonra hücre yüzeyinde sunulabilir (Demir, 2005).

MHC gen bölgesi 3.673.800 nükleotid, 4.464 farklı allel ve toplam 253 bölge içermektedir. MHC bölgesi, kodlanan proteinlerin immünolojik özelliklerine göre genişletilmiş Sınıf I, Sınıf II, Sınıf III ve genişletilmiş Sınıf II olarak 5 alt bölgeye ayrılır. Bu bölgelerdeki lokus sayısı sırasıyla 4, 128, 75, 27 ve 19'dur (Shiina vd., 2009).

BABBR1, SUMO2P, MOG ve ZNP57 genleri Genişletilmiş Sınıf I Bölgesi'nde yer alır. Telomerik Bölgesi koku almaçları, histon, tRNA ve çinko parmak protein gibi proteinleri kodlayan duplike genler yer alırlar (Shiina vd., 2009).

Sınıf I bölgesi, MHC'nin telomerik ucunda yer alır ve alfa, beta, kappa blok olmak üzere 3 ayrı bölümden oluşur. HLA-A, HLA-B, HLA-C olarak da tanınan 3 klasik transplantasyon antijen bölgesi, HLA-E, HLA-F, HLA-G olmak üzere 3 klasik olmayan antijen bölgesi ve yalancı gen (psödogen) veya kodlamayan gen bölümleri (HLA-S/17, -X, -N/30, -L/92, -J/59, -W/80, -U/21, -K/70, -16, -H/54, -90, -75) bu bölgede yer alır (Shiina vd., 2009).

MHC Sınıf-III antijenleri, Sınıf-II ve Sınıf-I antijenleri arasında bulunan bölgede yer alırlar. Klasik kompleman yolunun C2, C4 ve C4b, alternatif yolun properdin etkisi ile

21-hidroksilaz gibi enzimleri TNF gibi sitokinlerin sentezlendiği bölgelerdir (Akçam, 2003).

Sınıf I bölgesi ise sentromere yakın yerleşik olup toplam 0,7 Mb'lık bir alanı kapsar ve toplam 27 lokus içerir. (Shiina vd., 2009). MHC Sınıf II antijenleri özellikle B lenfositleri, makrofaj, dendritik hücre, endotel hücreleri ve bazı aktif T hücrelerinde bulunurlar. Bu antijenler başlangıçta IILA-D olarak adlandırılmış daha sonra farklı antijenler bulununca D ile ilgili anlamına gelen (D related) HLA-DR antijeni denilmiştir. Bu bölgedeki diğer antijenlere de alfabedeki yakınlık nedeni ile HLA-DQ, HLA-DP... Şeklinde isimler verilmiştir. HLA-DP, HLA-DN, FILA-DM, PILA-DO, HLA-DQ ve HLADR bölgelerinin yanı sıra çeşitli yalancı genler (psödogenler) antijen işlenmesinde rol alan LMP ve TAP gibi önemli genler MHC sınıf II bölgesinde yer almaktadır (Akçam, 2003).

Genişletilmiş Sınıf II bölgesi, 0,2 Mb'lık bir alanı kaplar ve toplam 19 lokus içerir (Shiina vd., 2009).

Ağır zincirleri kodlayan Sınıf I genleri, HLA-A, -B, -C, -E, -F ve -G işlevsel HLA izoformlarını oluşturur. HLA-A, -B ve -C klasik sınıf I antijenlerini sentezler, diğer yandan klasik olmayan HLA-E, -F, -G ise doğal öldürücü hücreler ile ilişkili bağışıklık cevapta görev almaktadırlar. HLA-H, -J, -K ve -L olarak isimlendirilen yalancı genlerin henüz herhangi bir immünolojik görevi bildirilmemiştir. MHC sınıf I moleküllerinin esas görevleri hücre içerisindeki peptidleri hücre yüzeyine taşımaktır (Beksaç, 2004).

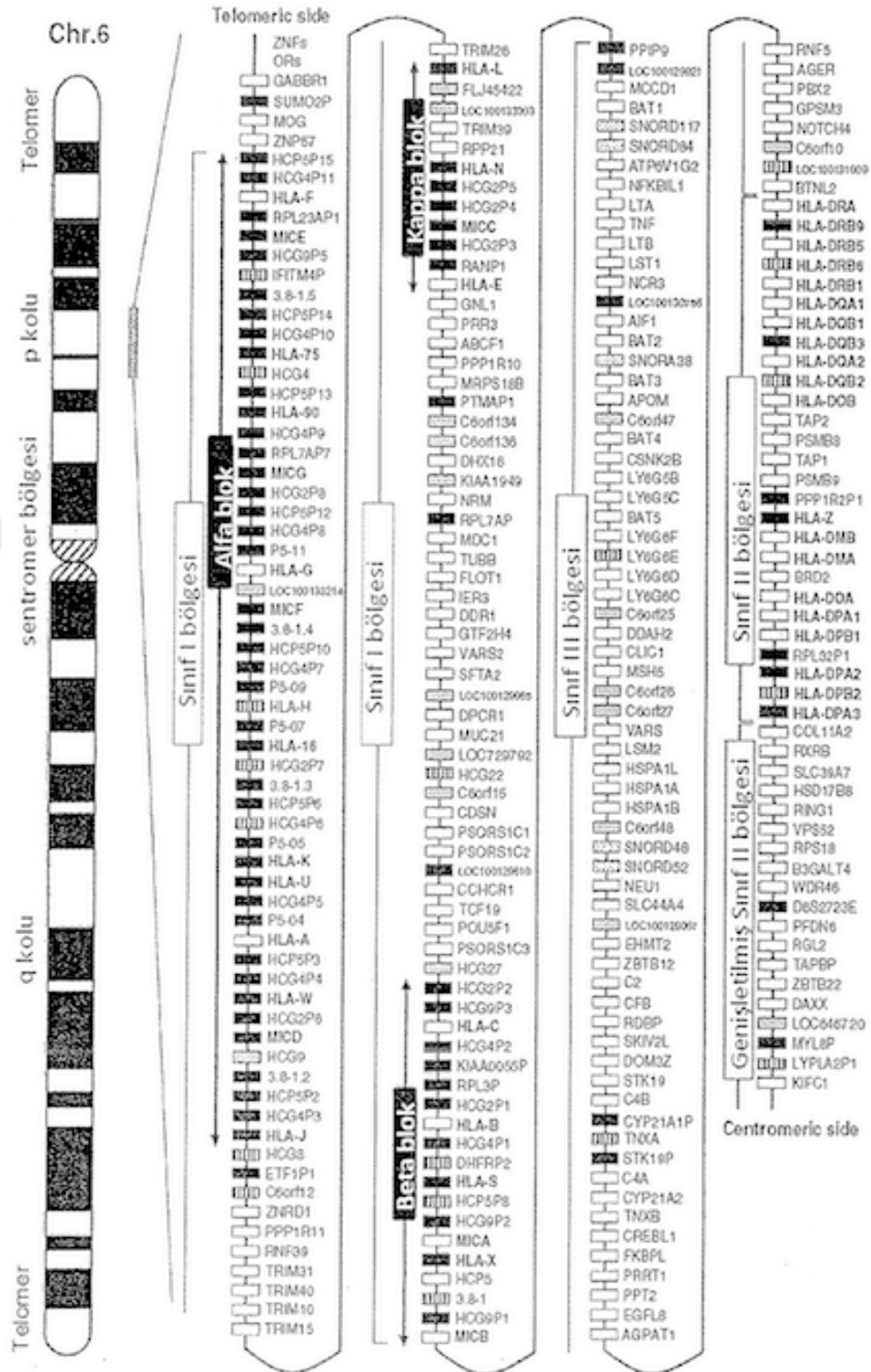
Sınıf I molekülleri bütün çekirdekli hücrelerde fizyolojik rollerine uygun olarak bulunurlar. Herhangi bir antijenin CD8 (öldürücü) T lenfositlerce tanınabilmesi ancak Sınıf I molekülü ile bir arada tutunmuş olması ile gerçekleşebilir. Bu durum HLA restriksiyonu olarak tanımlanır. Örneğin bir virüs bir hücreyi enfekte ettiği zaman viral antijenler peptid parçalarına ayrılırlar. Sonra Sınıf I moleküllerince bağlanıp CD8 (öldürücü) T lenfositlerine sunulurlar (Yakut, 2004).

Herhangi bir T lenfositin antijen reseptör, belirli viral peptitlerinde ancak belirli bir Sınıf I molekülü aracılığıyla tanıyabilir. Bu reseptörler başka bir Sınıf I molekülü ile bağlı özgün bir peptidi özgün bir Sınıf I molekülüyle bağlanması başka bir viral peptidi veya bağlı olmayan bir Sınıf-I molekülü ü tanımazlar. Tanıma olduğunda Killer-T

lenfositlerce (CD8) viral antijen taşıyan hedef hücreyi sonlandırır. Fizyolojik olmayan nakil koşullarında gerçekleşen nakil doku reddi sırasında (o zamana kadar tanımlanmamış peptitlerle bağlı olan) yabancı Sınıf I molekülleri yerli CD8 T lenfositlerine tanınırlar. (Yakut, 2004). Sınıf I ve Sınıf II moleküllerinin yapısal farklılıkları, bağladıkları peptidi özelliklerini ve bağlanma gücünü farklı yapmaktadır (Beksaç, 2004).

Düşük Moleküler Ağırlıklı Polipeptid 2 (LMP2) ve Düşük Moleküler Ağırlıklı Polipeptid 7 (LMP7) genleri, 6. kromozomun kısa kolu üzerinde MHC sınıf II bölgesinde yer alır (Şekil 1.3). Bu genler, sitozolik proteinlerin yıkımı ve antijenik peptidlerin oluşmasında görevli olan proteozom kompleksinin büyük bileşenlerini kodlamaktadırlar (Früh vd., 1994).

İmmünoproteozom konstitütif proteozomdan (26S proteozom) köken alan büyük proteolitik bir makine olarak homeostaz ve bağışıklık sisteminde kritik rol oynamaktadır (Tanaka, 1994). Konstitütif proteozom tüm vücutta ifade edilmektedir. Transkripsiyon faktörleri ve hücre döngüsünde görevli proteinler de dahil birçok ubiquitinlenmiş proteinin yıkımından sorumludur (Tanaka, 2009). Antijen sunan hücreler başta olmak üzere immün hücrelerde bolca bulunan immünoproteozomun asli görevi; antijenlerin işlenerek MHC sınıf I moleküllerinin üzerinde CD8+ hücrelerine sunulmasını sağlamaktır (Fehling vd., 1994). İmmünoproteozomun ifadesi enfeksiyon ve otoimmün hastalık gibi inflamatuvar koşullarda inflamatuvar sitokinler varken interferon- γ (IFN- γ) ve tümör nekroz faktör-a (TNF-a) tarafından indüklenmektedir (Shachar ve Karin, 2013). İmmünoproteozom, T hücre polarizasyonu, nükleer faktör - κ B (NF- κ B) yolağının sinyalizasyonu ve makrofajlar tarafından inflamatuvar sitokinlerin üretimini etkileyerek çok sayıda inflamatuvar hastalığın patogeneğinde etkin rol alabilmektedir (Kimura vd., 2015).



Şekil 1.5 6p 21.1-21.3 üzerinde yerleşik MHC bölgesinin gen haritası (Shiina vd., 2009).

Otoimmün hastalıklarda, sunulacak peptidlerin ve gerçekleşecek immün yanıtın özelliklerini HLA molekülleri kadar antijen işlenmesiyle oluşan peptidlerin yapısı ve çeşitliliği de belirlemektedir. Bu yüzden LMP genlerinde gözlenen varyasyonların hastalık gelişimi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Dalva, 2004).

LMP genleri HLA genleri kadar olmasa da polimorfik genlerdir. Oluşturulan ve sunulan antijenik peptidlerin spektrumunun incelenmesi ve popülasyon genetiği çalışmaları, LMP genlerindeki genetik varyasyonların fonksiyonel etkilerinin anlaşılması için oldukça önemlidir (Faucz vd., 2000).

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) en yaygın gözlenen genetik değişimlerdendir. LMP7 geninde değişik polimorfizmler tanımlanmış olmakla beraber LMP7-145 (Gln 1 > Lys, C > A, rs2073 543) polimorfizminin proteinde işlevsel değişimlere yol açtığı ve sonuç itibariyle de antijen işleme kapasitesine zarar verdiği bildirilmiştir (Dosenko vd., 2005). Dolayısıyla LMP genlerindeki değişimlerin birçok hastalık fenotipi ve malin tümörle ilişkili olması beklenebilir.

1.6 Amaç

Obezitenin genetik temellerini anlamaya yönelik olarak çok sayıda çalışma yapılmakla birlikte, LMP2 ve LMP7 genlerinin hastalıkla ilişkisi daha önce araştırılmamıştır. Bu çalışmada, morbid obez bireylerde LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin incelenmesi, allel/genotip frekanslarının belirlenmesi, kontrol grubu ile kıyaslanarak bu genlerin obezite ile ilişkisinin ortaya konması amaçlanmıştır.

BÖLÜM II

KAYNAK ÖZETLERİ

Gen polimorfizmleri ve hastalıklar arasındaki ilişkilerin incelenmesi çok sayıda araştırmaya konu olmuştur. ABO kan grupları ile çeşitli hastalıklar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar bu alanda ilk yapılan çalışmalardır (Akçam, 2003).

MHC bölgesindeki genlerin allelik durumunun farklı hastalıklara yatkınlıkta önemli role sahip olduğu çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir. Bu çalışmalar içerisinde özellikle LMP2 ve LMP7 genlerine yönelik olarak yapılan bazı çalışmalara aşağıda yer verilmiştir.

Deng vd., (1995) tarafından yapılan çalışmada, LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin İnsüline Bağımlı Diyabet (IDDM) gelişimi üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada, Güneydoğu Amerika bölgesinden akraba olmayan 198 İnsüline Bağımlı Diyabet hastası ve 192 sağlıklı birey analiz edilmiş ve sonucunda İnsüline Bağımlı Diyabet hastalığının LMP7 gen polimorfizmi ile güçlü bir ilişki içinde olduğu, LMP2- Arg/His polimorfizminin ise sadece HLA DR4-DQB 1*0302 haplotipi taşıyan bireylerde ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çalışmada, LMP genlerinin IDDM yatkınlığında bağımsız etkilere sahip olduğu bildirilmiştir.

Vinasco vd., (1998) Romatoid Artrit hastalığı ile LMP genleri arasındaki ilişkiyi incelemişler ancak anlamlı bir ilişki tespit edememişlerdir.

LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin ankilozan spondilit ile ilişkisi Ding vd., (1999) tarafından incelenmiştir. Çalışma sonucunda LMP2 geni ankilozan spondilit hastalarında akut anterior üveyit gelişimi ile güçlü şekilde ilişkili bulunmuştur.

LMP7 gen polimorfizminin HCV hastalarının interferon tedavisine verdikleri yanıtı etkileyen önemli bir konakçı faktörü olduğu bildirilmiştir (Sugimoto vd., 2002).

Vargas-Alarcon vd., (2002), Meksika’da LMP gen polimorfizminin spondiloartrit hastalığı üzerine etkisini araştırmışlar, çalışmaya 223 SpA hastası ve 139 sağlıklı bireyi dahil etmişlerdir. Çalışma sonucunda, LMP2 ve LMP7 genlerinin allel frekansları sağlıklı ve hasta bireylerde benzer dağılım göstermiştir. Genotip frekansı açısından LMP7 geni, hasta ve sağlıklı bireyler arasında önemli bir fark göstermezken, LMP2 genine ait genotiplerin Ankilozan spondilit hastalığının gelişiminde etkili olduğu belirlenmiştir.

Casp vd. (2003), vitiligo patogenezinde etken olan antimelanosit otoimmün yanıtta LMP ve TAP genlerinin rolü olabileceğini bildirmişlerdir.

Dissemond vd. (2003), immünoproteozom alt üniteleri LMP2 ve LMP7 ile malin melanom lezyonları arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Melanoma hücrelerinde MHC sınıf I moleküllerine spesifik bazı tümör peptid epitoplarının sunumunu azalttığı hipotezini test etmek üzere yapılan çalışmanın sonucunda LMP2 ve LMP7 alt ünitelerinin benin melanositik lezyonlarda ifade edildiği, primer malin melanomlarda ifade düzeyinin azaldığı, özellikle belirgin anti-tümör bağışıklık yanıtının olmadığı invazif primer malin melanomlarda düşük ifadeye rastlandığı belirlenmiştir.

LMP2 gen polimorfizminin Alzheimer hastalığı ile ilişkisi de incelenmiştir (Mishto vd., 2004). Çalışma, 154 Alzheimer hastası ve 406 sağlıklı birey üzerinde yapılmış olup çalışma sonucunda, LMP2 ekspresyonunun Alzheimer hastalığından etkilenmiş dokularda, etkilenmemiş dokulara oranla daha fazla gözlendiği ve bu genlerle proteozom aktivitesi arasında yakın bir ilgi olabileceği öne sürülmüştür.

LMP7 ve TAP2 gen polimorfizmlerinin Çin’de özofagus kanseri üzerine etkisi incelenmiştir (Cao vd., 2005). Çalışma sonucunda, LMP7 ve TAP2 genlerinin özofagus kanseri gelişimi için risk faktörü olduğu ve HPV (Human Papilloma Virus) ile enfekte olan kişilerde tümör oluşumunu etkilediği öne sürülmüştür.

Çin’de yapılan bir başka çalışmada LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonuna etkisi incelenmiş ve LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonu için önemli bir konakçı faktör olduğu belirlenmiştir (Dai vd., 2005).

Ostrowska vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada ise uzun süreli renal iskemi ve inflamasyona maruz kalan böbrek hücrelerinde LMP7’nin indüklendiği ve LMP aktivasyonu ile renal atrofi arasında direkt bağlantı olduğu sonucuna varılmıştır.

Çin popülasyonunda, Hepatit B virüs enfeksiyonu riskinin LMP ve TAP genlerinin polimorfizmleri ile ilişkisi incelenmiş ve LMP7, TAPI ve TAP2 genleri ile Hepatit B enfeksiyonu arasında bir ilişki olduğu belirlenmiştir (Changqing vd., 2007).

Krâmer vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada, LMP ve TAP genleri ile sedef hastalığı arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışmada, 321 Alman sedef hastası ve 235 akraba olmayan sağlıklı birey yer almıştır. Çalışma sonucunda, LMP ve TAP genlerinin aileleri ile sedef hastalığı arasında güçlü bir ilişki olduğu ve bu durumun da ilaç tedavisinde önemli bir etkiye sahip olabileceği bildirilmiştir.

Mehta vd. (2007), servikal kanserler ve TAP 1, TAP2, LMP2, LMP7 ve ERAP1 genleri arasındaki ilişki üzerine bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada, servikal kanserli 75 hastanın TAPI, TAP2, LMP2, LMP7 ve ERAP1 genleri analiz edilmiş ve ERAP1-56, ERAP1-127 haplotiplerinin ve LMP7-145 gen polimorfizminin servikal kanser oluşumunda önemli rolünün olduğu bildirilmiştir.

Robek vd. (2007) yaptıkları çalışmada, LMP2 ve LMP7 genlerinin Hepatit B enfeksiyonu ile ilişkisini incelemişlerdir. Bu genlerin proteozom özgüllüğünü ve sunulan peptidlerin çeşitliliğini etkileyerek enfeksiyonun akut ya da kronik hastalığa dönüşmesinde etken olduğu sonucuna varmışlardır.

Rusya’da Melnikova vd. (2008), yaptıkları çalışmanın sonucunda timus gelişimi ile LMP2 ve LMP7 genleri arasında yakın bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Ukrayna’da Honcharov vd. (2009) çalışmalarında erişkin arteriyel hipertansiyon hastalığında LMP2, LMP7 ve PSMA6 gen polimorfizmlerinin etkisini incelemişlerdir. Toplam 147 erişkin arteriyel hipertansiyon hastası ve 208 sağlıklı bireyin LMP2, LMP7 ve PSMA6 gen polimorfizmleri analiz edilmiş ve çalışma sonund LMP2 ve

PSMA6 gen polimorfizmlerinin arteriyal hipertansiyon riskinde önemli olduğu bildirilmiştir.

Liu vd. (2009)'nin özofagus kanserlerinde TAPI, TAP2, LMP2 ve LMP7 gen ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, 143 kanserli doku incelenmiş ve çalışma sonucunda bu genlerin ekspresyon seviyeleri ile özofagus kanserleri arasında önemli bir ilişki bulunmuştur.

Ankilozan spondilit hastalığına yatkınlıkta ERAP1, TAPI, TAP2, LMP2, ve LMP7 gen polimorfizmlerinin rolü incelenmiştir (Maksymowych vd., 2009). Çalışmaya, Kanada'nın Alberta, Ternov ve Toronto Bölgesi olmak üzere 3 farklı merkezden Ankilozan Spondilit hastaları ve sağlıklı bireyler katılmış ve çalışma sonunda Ankilozan spondilit hastalığı ile ERAP1 gen polimorfizmleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

Sharova vd. (2009)'nin yaptıkları çalışmada doğum sonrası karaciğer ve dalak gelişimi ile LMP2, LMP7 gen ekspresyonu arasında önemli bir ilişki olduğu bildirilmiştir.

Tang vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada, oral kanserli 43 Çinli hastadan doku örneği alınmış ve LMP2 ve LMP7 gen ekspresyonları belirlenmiştir. LMP2 ve LMP7 gen ekspresyonları normal epitel hücre-hattı ile karşılaştırıldığında ekspresyon seviyeleri arasında önemli farklılıklar olduğu gözlenmiştir.

Camarena vd. (2010), güvercin yetiştirenlerdeki alerjik pnömoni hastalığı ile LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Meksikalı 50 alerjik pnömoni hastası ve 50 sağlıklı bireyin analiz edildiği çalışmanın sonucunda, LMP2 ve alerjik pnömoni arasında bir ilişki bulunamamış iken LMP7 ve alerjik pnömoni arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir.

Japonya'da Chou vd. (2010) tarafından yapılan çalışmanın sonucunda *Trypanosoma cruz*'nin neden olduğu Chagas hastalığında hastaların oluşturduğu immün yanıtta LMP2 ve LMP7 genlerinin önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir.

Cui vd. (2010), LMP2/LMP7 genlerinin madde bağımlılarında kronik hepatit C virüs enfeksiyonu ile ilişkisini inceledikleri çalışmanın sonucunda LMP7 gen polimorfizminin HCV enfeksiyonuna yatkınlık sağlayan faktörlerden birisi olduğunu ve enfeksiyonun neticelerini etkilediğini bildirmişlerdir.

Eisemann vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada, HSV tip I (Herpes simpleks virus tip I)'in neden olduğu enfeksiyonlarda LMP7-mRNA ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir.

Retina pigment epitel hücrelerindeki yaşlanma ve kronik oksidatif stres olaylarında da LMP2 ve LMP7 genlerinin önemli role sahip olduğu ileri sürülmüştür (Hussong vd., 2010).

Hindistan - Yeni Delhi'de Sukriti vd (2010)'nin kronik Hepatit B Virüs (HBV) enfeksiyonlarında TAPI, TAP2, LMP2 ve LMP7 gen ekspresyon seviyeleri üzerine yaptıkları çalışmada, HBsAg ve HBeAg-Pozitif 40 hasta ve 11 sağlıklı birey yer almıştır. Çalışma sonunda; alanin amino transferaz (ALT) enzimi yüksek seviyede olan Kronik HBV'li hastalarda ALT enzim seviyesi normal olan kronik HBV'li hastalara oranla TAP 1 ve LMP7 mRNA ekspresyon seviyelerinin daha düşük olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, TAPI, TAP2 ve LMP2 mRNA ekspresyon seviyelerinin kronik HBV'li hastalarda sağlıklı bireylerdekine oranla önemli derecede düşük olduğu görülmüştür.

Vasuri vd. (2010) çalışmalarında insan karaciğer dokularında (erişkin, fetal, pediatrik) immünoproteozom altünitelerinin hücreSEL ve hücre içi dağılımlarını incelemişlerdir. Veriler, karaciğer dokusunda da immünoproteozom ile inflamasyon arasında derin ve karmaşık bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Fetal karaciğerde LMP2/LMP7 ifadesi gözlenmezken diğer tüm normal dokularda gözlenmiştir. Bu nedenle, immünoproteozom alt ünitelerinin ekspresyonlarının oldukça karmaşık olduğu, doku/organa bağlı uyarıya ve işlevlere bağlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Zhen vd. (2011), LMP2 ve LMP7 alt ünitelerinin Primer Sjogren Sendromu'nun patogeneziindeki rollerini anlamak amacıyla hastaların labiyal bezlerinde bu genlerin ekspresyonlarını incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda LMP7 ifadesinin labiyal bezlerde artarken LMP2 ifadesinin önemli derecede değişmediği tespit edilmiş ve bu

iki proteinin farklı genetik düzenlenme mekanizmalarına sahip olabileceği sonucuna varılmıştır.

Huang vd. (2014) yaptıkları çalışma ile antijen sunum yolağındaki genetik değişimlerin HCV enfeksiyonu ve viral arındırma üzerinde etkili olduğunu göstermişlerdir.

Song vd. (2014), Çinli kadınlarda LMP2/LMP7 polimorfizmlerinin yumurtalık kanseri ve metastaz riski ile ilişkisini araştıran bir çalışma yapmışlardır. LMP7 polimorfizminin yumurtalık kanserine yatkınlık sağladığı, özellikle lenf nodu ve uzak metastaz riskini arttırdığı bildirilmiştir.

Ma vd. (2015) tarafından yapılan çalışma sonucunda LMP7-145 polimorfizminin gastrik kansere yatkınlığı arttırdığı ve Lys allelinin gastrik kanserler için bağımsız bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir.

Vachharajani vd. (2017), inflamasyon ve enfeksiyon hastalıkları kapsamında immünoproteozom aktivitesi ve fonksiyonunu araştırmışlar ve LMP7'nin kolit-ilişkili kanser gelişiminde önemli rol oynadığı sonucuna varmışlardır.

Wu vd. (2017), Asya toplumlarını kapsayan meta-analiz çalışmasında LMP2/LMP7 genetik polimorfizmleri ile kanser yatkınlığı arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Meta analiz neticesinde LMP2 rs17587 ve LMP7 rs2071543 polimorfizmlerinin Asya toplumlarında kanser risk faktörü olabileceği bildirilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada; LMP2 ve LMP7 genlerindeki polimorfizmlerin Kazak popülasyonunda özofagal skuamöz hücre karsinomu gelişimi ile ilişkili olduğu ancak HPV enfeksiyonu ile bağlantılı olmadığı bildirilmiştir (Yang vd., 2017).

Mandal vd. (2018) tarafından yapılan meta analiz sonucunda; LMP7-145 C >A polimorfizminin kanser riskini genel olarak ve özellikle Asya popülasyonlarında arttırdığı belirlenmiştir. Bu nedenle de, kansere yatkınlığın belirlenmesinde ve erken tanısında prognostik bir faktör olarak kullanılabilceği vurgulanmıştır.

Hensley vd. (2019) alışmalarında immünoproteozom altünitesi LMP2' nin antijen sunumundaki görevi dışında antiviral humoral ve doğal bağışıklık yanıtında da önemli rolü olduğunu göstermişlerdir.

Lee vd. (2019) immunoproteozom alt ünitesi LMP7'nin meme kanserinde ekspresyonunu ve immün ilişkili belirteçlerle ilişkisini incelemişlerdir. Tümör infiltre edici lenfosit seviyesi ve LMP7 ifade düzeyi arasında yakın bir ilişki olduğu, LMP7 ekspresyonundaki artışla daha iyi hale gelen antijen sunumunun aslında tümör infiltre edici lenfosit sayısındaki artışa bağlı olabileceği bildirilmiştir.



BÖLÜM III

MATERYAL VE METOTLAR

3.1 Materyal

Obezite problemi ile kliniğe başvuran morbid obez (BKİ>40) bireyler ve obezite dışı nedenlerle kliniğe gelen normal BKİ (18,5-24,9) değerine sahip bireyler çalışmaya dahil edilmiştir. Klinik değerlendirme sonucunda morbid obezite teşhisi konmuş olan bireyler çalışmanın hasta grubunu oluştururken aynı kliniğe başka nedenlerden ötürü başvuran normal BKİ'ye sahip bireyler ise çalışmanın kontrol grubunu oluşturmuştur. Yaş ve cinsiyet dağılımı dikkate alınarak 100 hasta ve 100 kontrol örneği olmak üzere toplam 200 gönüllü bireyden onamları dâhilinde periferik kan örneği alınmıştır.

Çalışma, Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na sunulmuş ve kurul tarafından onaylanmıştır (Karar no: 2016/295).

3.2 Metotlar

3.2.1 DNA İzolasyonu

Örnekleme sırasında bireylerden alınan periferik kandan ticari kit kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen DNA örnekleri kullanım aşamasına kadar -80 °C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyon ve saflık tayini Nanodrop cihazı kullanılarak yapılmıştır.

3.2.2 LMP2 ve LMP7 Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması

LMP2 ve LMP7 genlerinin polimorfik bölgeleri özgül primer dizileri kullanılarak PCR ile çoğaltılmıştır. LMP2 ve LMP7 genlerinin çoğaltılması için kullanılan primer dizileri (Sugimoto vd., 2002) Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1 PCR için kullanılan primer dizileri

| Gen | Primer Dizileri | PCR Ürünü |
|------|--|-----------|
| LMP2 | İP 5’-CTTGAACCAGGGAGGCGAAGTTTG-3’ GP 5’-CAGCTGAACCAGAGAGTGCATAGT-37 | 228 bç |
| LMP7 | İP 5’-CGGACAGATCTCTGGGTGCT-3’ GP 5’-TCTCCGGGACTGAAGGCTA-3’ | 304 bç |

LMP2 ve LMP7 genlerinin PCR ile çoğaltılması için toplam 25 µl olacak şekilde bir karışım hazırlanmıştır. 1 pg genomik DNA örneği, 1 pmol/l ileri primer (İP) ve geri primer (GP), 200 µM her bir dNTP, 1X Taq DNA polimeraz tampon çözeltisi, 1.5 mmol/l MgCl₂ ve 0.5 ünite Taq DNA polimeraz karışımının içeriğini oluşturmaktadır.

Öte yandan PCR işleminde kullanılan ısı döngü programı Tablo 3.2’de verilmiştir.

LMP2 ve LMP7 gen bölgeleri Takara PCR Thermal Cycler (Gradient PCR) kullanılarak çoğaltılmıştır.

Tablo 3.2 PCR işleminde kullanılan ısı döngü programı

| | İşlem | Sıcaklık | Süre | Döngü Sayısı |
|------------------|-----------------------|-----------------|-------------|---------------------|
| Basamak 1 | Ön denatürasyon | 95 °C | 5 dk | 1 |
| Basamak 2 | Denatürasyon | 95 °C | 0: 30 | 35 |
| | Primer Bağlanma | 53 °C | 0: 30 | |
| | Zincir Uzama (Sentez) | 72 °C | 0: 30 | |
| Basamak 3 | Final Sentez | 72 °C | 5 dk | 1 |

3.2.3 Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi ile ayrıştırılması için %2'lik agaroz jel hazırlanmıştır. Bantların görüntülenmesi için RedSafe nükleik asit boyama solüsyonu kullanılmıştır. Bant büyüklüklerinin belirlenebilmesi için her jele 50 bç veya 100 bç'lik DNA belirleyici yüklenmiştir. Yükleme tampon ile karıştırılan örnekler jele yüklenmiş ve 120 V' da yaklaşık 35-40 dakika elektforez işlemine tabi tutulmuştur.

Ardından jel görüntüleme sistemi kullanılarak UV ışığında bantların görüntülenmesi sağlanmıştır.

3.2.4 LMP2 ve LMP7 Gen Polimorfizmlerinin RFLP Tekniği ile Analizi

LMP2 ve LMP7 genlerinin PCR ürünleri (5µl) toplam 10 µl hacim içerisinde 5-10 U enzim (Hha I ve Bsm I) kullanılarak kesilmiş ve üretici firma tarafından tavsiye edilen süreyle inkübasyona bırakılmışlardır.

Kesilen PCR ürünleri, %3'lük agaroz jel elektroforezi ile 90 V'da yaklaşık 1 saat elektforeze tabi tutularak ayrıştırılmış ve RedSafe ile boyanarak UV ışığında görüntülenmiştir. Oluşan bantların büyüklükleri standart DNA belirleyicileri ile karşılaştırılarak tespit edilmiş ve bu şekilde polimorfizmler analiz edilebilmiştir.

Polimorfizmlerin incelenmesi için kullanılan restriksiyon enzimleri ve oluşan DNA parçalarının büyüklükleri Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.3 Kullanılan restriksiyon enzimleri ve kesim ürünleri

| Polimorfizm | Restriksiyon Enzimi | Kesim Ürünleri |
|---|----------------------------|-----------------------|
| LMP2 60 (CGC → TGC) Arjinin (R) → Histidin (H) | Hha I | 199 ve 29 bç - R |
| LMP7 145 (CAG → AAG) Glutamin (Q) → Lizin (K) | Bsm I | 174 ve 130 bç ~ Q |

LMP2 gen bölgesine ait PCR ürünü 228 bç uzunluğundadır. Kesim işlemi sonucunda 228 bç' lik tek bir bant gözleendiğinde (her iki allel kesilmemiş ise) genotip (H/H), 199 bç' lik, tek bir bant gözleendiğinde (her iki allel kesilmiş ise) genotip (R/R), 228 ve 199 bç' lik iki bant gözleendiğinde ise genotip (R/H) olarak değerlendirilmiştir (Tablo 3.4).

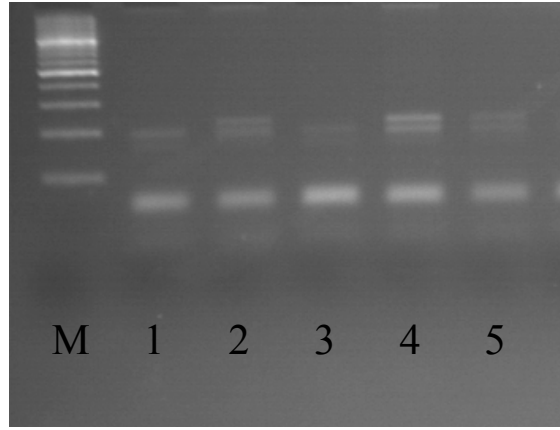
Tablo 3.4 Kesim sonuçlarına göre LMP2 genotiplendime

| LMP2 (Genotipler) | Bant Büyüklükleri |
|--------------------------|--------------------------|
| R/R | 199 bç |
| | 29 bç |
| R/H | 228 bç |
| | 199 bç |
| | 29 bç |
| H/H | 228 bç |

LMP7 genine ait PCR ürünü ise 304 bç uzunluğundadır. Kesim işlemi gerçekleşirse 174 ve 130 bç' lik iki bant oluşur. Kesim işlemi sonucunda, eğer 304 bç' lik tek bir bant gözleniyorsa (her iki allel kesilmemiş ise) genotip (K/K), 174 ve 130 bç' lik iki bant gözleniyorsa (her iki allel kesilmiş ise) genotip (Q/Q), 304, 174 ve 130 bç' lik üç bant gözleniyorsa genotip (Q/K) olarak değerlendirilmiştir (Tablo 3.5).

Tablo 3.5 Kesim sonuçlarına göre LMP7 genotiplendirme

| LMP7 (Genotipler) | Bant Büyüklükleri |
|--------------------------|--------------------------|
| Q/Q | 174 bç |
| | 130 bç |
| Q/K | 304 bç |
| | 174 bç |
| | 130 bç |
| K/K | 304 bç |

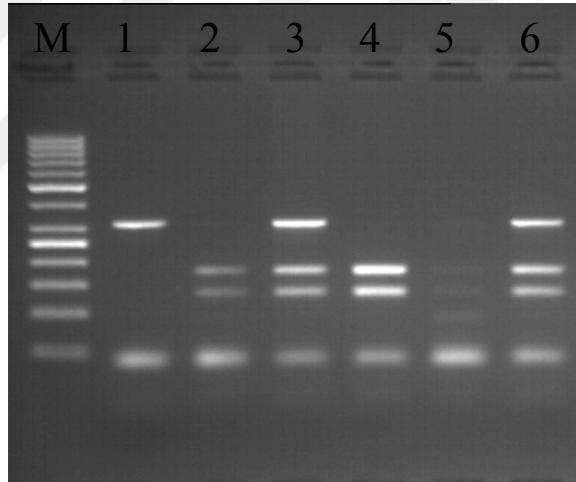


Şekil 3.1 LMP2 polimorfizminin PCR-RFLP tekniği ile analizi

M: 100 bç DNA marker

1,3 no' lu örnekler: R/R

2,4,5 no' lu örnekler: R/H



Şekil 3.2 LMP7 polimorfizminin PCR-RFLP tekniği ile analizi

M: 50 bç DNA marker

1 no' lu örnek: K/K

2,4,5 no' lu örnekler: Q/Q

3, 6 no' lu örnekler: Q/K

3.2.5 Verilerin Analizi

LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin PCR-RFLP ile analizi sonucunda; allel ve genotip frekansları direkt sayım yöntemi ile belirlenmiştir. Hasta ve kontrol grupta yaş dağılımları Mann Whitney U test ile karşılaştırılmıştır. Hasta ve kontrol grupta Hardy-Weinberg dengesine uyum ile allel ve genotip frekanslarının karşılaştırılması için Ki-kare analizi yapılmıştır. İstatistiksel analizler için SPSS19.0 (IBM Corporation, New York, USA) programı kullanılmıştır. Gerektiğinde Yate's düzeltme uygulanmış olup $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.



BÖLÜM IV

BULGULAR

4.1 Örneklere Ait Demografik Veriler

Çalışmaya 100 kontrol ve 100 morbid obez birey dahil edilmiştir. Örneklere ait demografik bilgiler Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1 Örneklere ait demografik bilgiler

| | Kontrol n:100 | Hasta n:100 | p* |
|--------------------|--------------------------|------------------------|-----------------|
| Kadın | 64 | 57 | 0,3855 |
| Erkek | 36 | 43 | |
| Yaş aralığı | 18-60 | 19-60 | 0,00017* |
| Medyan | 48 | 44 | |
| Mean | 46,31 | 40,9 | |
| Sigara | | | 0,7774 |
| Evet | 51 | 48 | |
| Hayır | 49 | 52 | |
| Alkol | | | 0,6449 |
| Evet | 32 | 29 | |
| Hayır | 68 | 71 | |
| Spor | | | 0,0218* |
| Evet | 39 | 23 | |
| Hayır | 61 | 77 | |

*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Kontrol grubunun %64' ü kadın, %34' ü erkek bireyden oluşurken, hasta grubunda bu oranlar kadın için %57, erkek için %43 olarak belirlenmiştir. Kadın/erkek dağılımı açısından kontrol ve hasta grubu anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Yaş dağılımları incelendiğinde; kontrol grubunda 18-60 yaş arası, hasta grubunda ise 19-60 yaş arasında bireyler olduğu görülmektedir. Gruplardaki medyan yaş değeri belirlendiğinde kontrol grubunda 48, hasta grubunda ise 44 olduğu görülmüştür. Ayrıca Mann Whitney U test ile karşılaştırıldığında ise anlamlı farklılık bulunduğu tespit edilmiştir ($p=0,00017$).

Sigara kullanım oranları açısından bakıldığında kontrol grup (%51) ile hasta grup (%48) arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$).

Benzer şekilde alkol kullanımı açısından da kontrol grup (%32) ile hasta grup (%29) arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Spor yapma durumları incelendiğinde kontrol grubunda spor yapma oranının (%39) hasta grubuna (%23) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla olduğu belirlenmiştir ($p=0,0218$).

4.2 LMP2 Gen Polimorfizminin Obezite ile İlişkisi

Kontrol grubu ve hasta grubu olmak üzere toplam 200 bireyde LMP2 gen polimorfizmi analiz edilmiş ve elde edilen genotiplerin dağılımı Tablo 4.2'de verilmiştir.

LMP2 gen polimorfizmi açısından kontrol ve hasta grubun Hardy-Weinberg dengesi test edilmiş ve her iki grubunda dengede olduğu görülmüştür ($X^2<0,5$, $p>0,05$).

Arg/Arg, Arg/His ve His/His genotiplerinin dağılımı hasta ve kontrol grupları arasında kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark göze çarpmamaktadır ($p>0,05$).

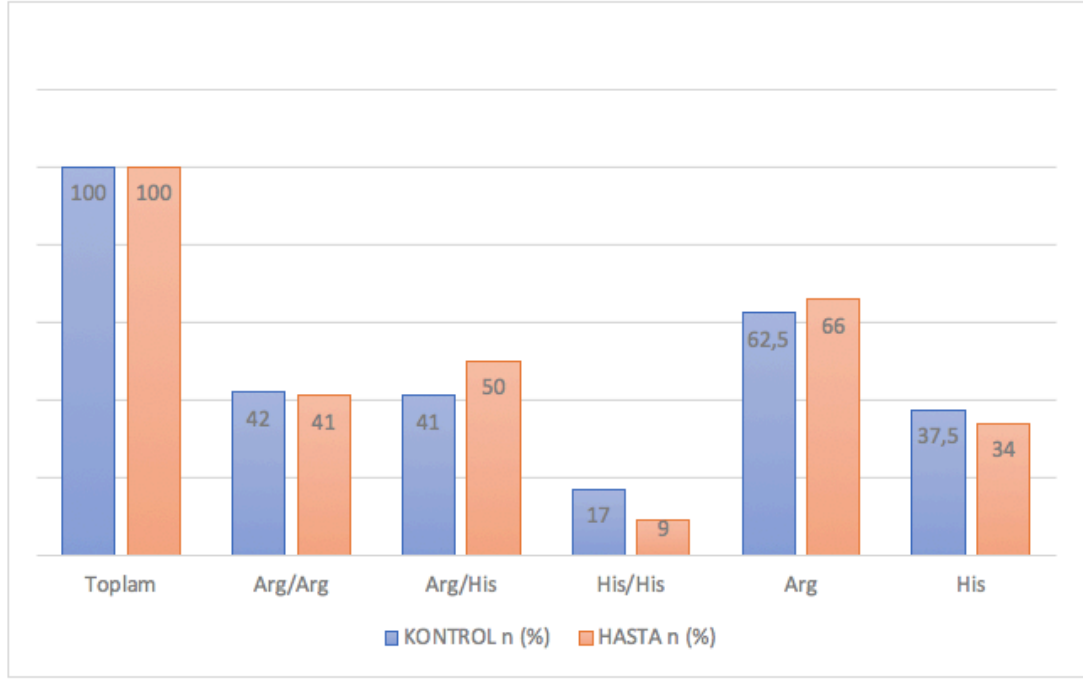
Tablo 4.2 LMP2 gen polimorfizminin allel ve genotip dağılımı

| Genotip | Kontrol n (%) | Hasta n (%) | X ² | p* |
|----------------|------------------|------------------|----------------|--------|
| | 100 (100) | 100 (100) | | |
| Arg/Arg | 42 (42) | 41 (41) | 2,588 | 0,2741 |
| Arg/His | 41 (41) | 50 (50) | | |
| His/His | 17 (17) | 9 (9) | | |
| Arg | 125 (62,5) | 132 (66) | 0,392 | 0,5312 |
| His | 75 (37,5) | 68 (34) | | |

*Yate's düzeltme sonrası değerdir, $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Arg allelinin sıklığı kontrol grubunda %62,5, hasta grubunda ise %66 olarak hesaplanmıştır. His alleli kontrol grubunda %37.5 oranında görülürken hasta grubunda görülme sıklığı %34' tür ($p > 0,05$).

Allel frekansları gruplar arasında karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$).



Şekil 4.1 LMP2 gen polimorfizmi için genotip ve allellerin gruplardaki dağılımı

Bu sonuçlar dikkate alındığında, LMP2 gen polimorfizminin morbid obezite ile ilişkili olduğu söylenemez.

4.3 LMP7 Gen Polimorfizminin Obezite ile İlişkisi

PCR-RFLP yöntemi ile LMP7 gen polimorfizminin analizi neticesinde örneklerin genotiplendirilmesi yapılmış olup kontrol ve hasta gruba ait genotip ve allel frekansları Tablo 4.3' de verilmiştir.

LMP7 gen polimorfizmi açısından kontrol ve hasta grubun Hardy-Weinberg dengesi test edilmiş ve her iki grubunda dengede olduğu görülmüştür ($X^2 < 0,5$, $p > 0,05$).

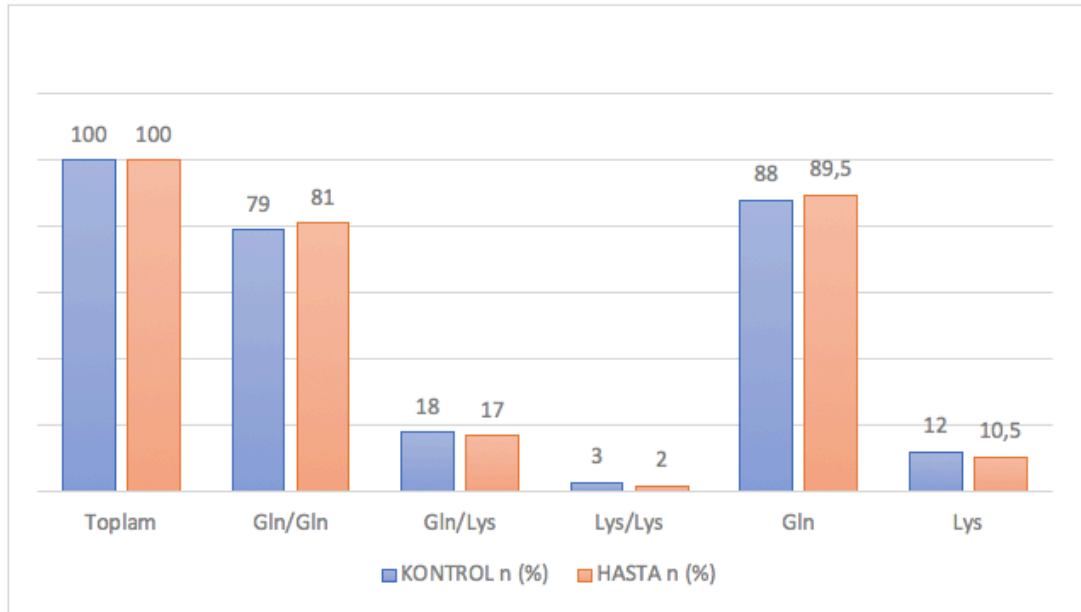
Gln/Gln, Gln/Lys ve Lys/Lys genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımı incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$).

Tablo 4.3 LMP7 gen polimorfizminin allel ve genotip dağılımı

| Genotip | Kontrol n (%) | Hasta n (%) | X ² | p* |
|----------------|------------------|------------------|----------------|--------|
| | 100 (100) | 100 (100) | 0,006 | 0,9970 |
| Gln/Gln | 79 (79) | 81 (81) | | |
| Gln/Lys | 18(18) | 17(17) | | |
| Lys/Lys | 3 (3) | 2(2) | | |
| Gln | 176 (88) | 179 (89,5) | 0,1 | 0,7518 |
| Lys | 24 (12) | 21 (10,5) | | |

*Yate's düzeltme sonrası değerdir, p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Gln allel sıklığı kontrol grubunda (%88) ve hasta grubunda (%89,5) önemli bir fark göstermemiştir (p>0,05). Lys allel sıklığı kontrol grubunda %12, hasta grubunda % 10,5 olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak önemli derecede farklı bulunmamıştır (p>0.05).



Şekil 4.2 LMP7 gen polimorfizmi için genotip ve allellerin gruplardaki dağılımı

Allel ve genotip frekanslarının kontrol ve hasta gruplarında farklılık göstermemesi nedeniyle, morbid obezite ile LMP7 gen polimorfizmi arasında bir ilişki olmadığı sonucuna varılabilir.



BÖLÜM V

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada LMP2 ve LMP7 genlerindeki polimorfizmlerin obezite gelişimi ile ilişkisi incelenmiştir. Bu kapsamda 100 sağlıklı kontrol ve 100 morbid obez birey çalışmaya dahil edilmiş ve PCR-RFLP tekniği kullanılarak genotiplendirme yapılmıştır.

Genotip ve allel frekansları hasta ve kontrol grubunda belirlenmiş ve her iki grup Hardy-Weinberg dengesi açısından test edilmiştir. Buna göre hem kontrol hem de hasta grubu her iki polimorfizm açısından da dengede bulunmuş olup bir sapma gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Kontrol ve hasta grubunun cinsiyet dağılımları arasında önemli bir fark görülmezken, medyan yaş açısından farklılık söz konusudur ($p<0,05$).

Sigara ve alkol tüketimi dikkate alındığında kontrol ve hasta grup arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Ancak spor yapma durumuna bakıldığında kontrol grubunda spor yapma oranının morbid obez gruba göre önemli ölçüde fazla olduğu göze çarpmaktadır ($p=0,0218$). Fiziksel aktivite yetersizliğinin obeziteye neden olan faktörler arasında yer aldığı iyi bilinmektedir, dolayısıyla bu sonuç şaşırtıcı değildir.

LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin allel ve genotip sıklıkları kontrol ve morbid obez grubunda karşılaştırıldığında; her iki gen için de istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Bu sonuçlar; LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin morbid obezite gelişimi ile ilişkili olmadığını ortaya koymaktadır.

Proteozomlar, ökaryotik hücrelerde yüksek konsantrasyonda bulunan ve yabancı proteinlerin yıkımından sorumlu olan yapılardır. LMP2 ve LMP7 proteinleri immunoproteozomun önemli alt üniteleridir ve antijen sunumundaki rolleri büyüktür. Bu nedenle de LMP2 ve LMP7 genlerinin özellikle de otoimmün hastalıklar ve inflamatuvar hastalıklar başta olmak üzere hastalıklara yatkınlıkta rol alabileceği düşünülmüş ve bu konuda çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. LMP2 ve LMP7 genleri polimorfik oldukları için belirli bir allel ya da genotipin hastalığa yatkınlık veya direnç sağlıyor olması ihtimali bulunmaktadır.

İmmünoproteozom ifadesinin ve aktivitesinin düzenlenebilmesi hücre metabolizması, farklılaşma ve bağışıklık gibi hücre fonksiyonlarının kontrolü için güçlü bir araçtır. Nitekim immünoproteozom inhibitörleri özellikle inflamatuvar hastalıkların ve hematolojik kanserlerin tedavisinde hali hazırda kullanılmaktadırlar. Yakın gelecekte, kolit ve romatoid artrit gibi hastalıkların tedavisi için de hedef olabilecekleri düşünülmektedir.

İmmünoproteozom adipogenezde ve adipoz dokunun inflamasyonunda etkili olduğu için obezite gibi metabolik hastalıklar için de umut vaat eden tedavi ajanları olabilir. İmmünoproteozomun işlevleri genellikle fare hastalık modellerinde çalışılmıştır. İmmünoproteozom enzim aktivitesinin türler arasında değişkenlik gösterebileceği tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi sürecinde dikkate alınmalıdır.

Metabolik sendromun da bir parçası olan obezitenin kronik inflamasyon ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Stçpien vd., 2014). Bu nedenle LMP2 ve LMP7 genlerinin obeziteye yatkınlıkta önemli rol oynayabileceği düşünülerek bu çalışma planlanmıştır. LMP2 ve LMP7 genleri ilk kez bu çalışmada morbid obez bireylerde analiz edilmiş ve hastalıkla ilişkili olmadıkları sonucuna varılmıştır. Çalışmamızın sonuçları, bu genleri morbid obezite için aday gen olarak önermemektedir.

Daha önce yapılmış çalışmalarda LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin farklı hastalıklara yatkınlıkta önemli rol aldığı gösterilmiştir; ankilozan spondilit (Vargas-Alarcon vd., 2002), arteriyel hipertansiyon (Honcharov vd., 2009), HPV-ilişkili özofagal karsinom (Cao vd., 2015), servikal karsinom (Mehta vd., 2007), kolorektal karsinom (Fellerhoff vd., 2011).

LMP2 geninin 40. pozisyonuna Arg veya His aminoasidinin yerleşmesi neticesinde proteinde yapısal ve biyokimyasal değişimlerin olduğu, genotipe bağlı olarak proteozomun işlevinin etkilendiği ve böylece bazı genotiplerin hastalığa yatkınlık sağladığı öne sürülmüştür (Ferrington ve Gregerson, 2012).

LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin klinik açıdan önemleri hastalığa göre değişmekle birlikte aynı zamanda popülasyondaki allel dağılımına göre de değiştiği söylenebilir.

Obezite gelişiminde genetik faktörlerin yarışıra çevresel faktörlerin de çok önemli etkiye sahip olduğu göz ardı edilmemesi gereken bir gerçektir. Obezite genetik ve çevresel faktörlerin etki ettiği ve moleküler mekanizması henüz net olarak anlaşılamamış kompleks ve yaygın bir hastalıktır. İlişkili olduğu bildirilmiş olan genlerin yarışıra henüz bilinmeyen genetik faktörlerin ortaya konması hastalıkla mücadele ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu çalışma, antijen sunumunda görevli LMP2 ve LMP7 genleri ile obezite ilişkisini araştıran ilk çalışma olması açısından değerlidir. Ancak bağışıklık sisteminde ve inflamasyon sürecinde görevli diğer genlerin obezite ile ilişkisinin incelenmesi hastalığın moleküler temellerinin anlaşılmasına katkı sağlama açısından faydalı olacaktır.

Obezite, sadece çeşitli kanserler değil aynı zamanda tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimi için de risk teşkil eden sistemik inflamasyonu tetikleyen bir durumdur. Obez bireylerde artış gösteren bazı sitokinlerin, interlökin 1 ve insülin sinyal iletimi ve adipogenez gibi homeostatik süreçlerin bozulmasına neden olduğu bildirilmiştir (Zúñiga vd., 2010). Obeziteye bağlı inflamasyonun karaciğer kanserini tetiklediği rapor edilmiştir (Park vd., 2010). Kronik inflamasyonun majör olarak bağışıklık sistemindeki düzensizlikten kaynaklandığı söylenebilir. İnflamasyonun artışına ek olarak obezite aynı zamanda anti-tümör efektör hücreler (ör. doğal öldürücü hücreler) üzerinde de negatif etkiye neden olmaktadır.

Ciddi obez bireylerde doğal öldürücü hücrelerin değişikliğe uğradığı, hücre sıklığının obez bireylerde azaldığı bildirilmiştir (Lynch vd., 2009).

İmmün sistem ile obezite arasındaki ilişki biliniyor olsa da moleküler mekanizmalar henüz net olarak aydınlatılamamıştır.

Genetik etkiler de dahil biyolojik faktörlerin obezitenin ilişkisi yeterince anlaşılamadığı için obeziteden korunma ve tedavi kolay görünmemektedir. Yeme alışkanlıkları, yemek tercihleri ve fiziksel aktivitenin epigenetik mekanizmalarla gen ekspresyonunu nasıl etkilediğine dair veriler kişiye özgü koruma ve tedavi amaçlı olarak kullanılabilir kadar yeterli değildir.

Obezite tedavisinde gelecekteki en önemli hedeflerden birisi genetik ve genetik olmayan faktörlerin birlikte değerlendirilmesi sonucunda kişiye özgü profillerin çıkarılması ile kişisel obezite ve ilişkili hastalıkların risk düzeyinin belirlenmesi ve tedaviye verilecek yanıtın tahmin edilmesi olmalıdır.

Bildiğimiz kadar ile bu çalışma obezite ile LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin ilişkisini inceleyen ilk çalışmadır. Obezitenin genetik temelini aydınlatmak amacıyla çok daha kapsamlı analizlerle, geniş hasta/kontrol gruplarında yapılacak yeni çalışmalara gereksinim vardır. Ayrıca, epigenetik mekanizmaların obezite gelişimindeki rolü de göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

Adcock, I.M., Cosio, B., Tsaprouni, L., Barnes, P.J., Ito, K. (2005). Redox regulation of histone deacetylases and glucocorticoid-mediated inhibition of the inflammatory response. *Antioxid. Redox Signal.* **7**, 144–152.

Akçam, F.Z. (2003). HLA Sistemi: Türkiye Klinikleri. *Turkish Journal of Medical Science.* **25**, 829-834.

Allison, D.B., Mentore, J.L., Heo, M., Chandler, L.P. (1999). Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis. *Am. J. Psychiatry.* **156**, 1686–1696.

Baker, M.T. (2011). The history and evolution of bariatric surgical procedures. *Surg. Clin. North Am.* **91**, 1181–1201.

Beksac, M. (2004). HLA ve Doku Tiplendirilmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi. İç Hastalıkları. *Hematoloji Bilim Dalı.* **47**, 42-49.

Bell, C.G., Walley, A.J., Froguel, P. (2005). The genetics of human obesity. *Nat. Rev. Genet.* **6**, 221–234.

Bray, G.A. (2004). The epidemic of obesity and changes in food intake: the Fluoride Hypothesis. *Physiol. Behav.* **82**, 115–121.

Camerena, A., Aquino-Galvez, A., Falfán-Valencia, R., Sánchez, G., Montano, M., Ramos, C., Juárez, A., Garcí'a-de-Alba, C., Granados, J., Selman, M. (2010). PSMB8 (LMP7) but not PSMB9 (LMP2) gene polymorphisms are associated to pigeon breeder's hypersensitivity pneumonitis. *Respiratory Medicine.* **6**, 889-894.

Canoy, D., Buchan, I. (2007). Challenges in obesity epidemiology. *Obes. Rev. Off. J.* **23**, 1891–1994.

Cao, B., Tian, X., Li, Y., Jiang, P., Ning, T., Xing, H., Zhao, Y., Zhang, C., Shi, X., Chen, D., Shen, Y., Ke, Y. (2005). LMP7/TAP2 gene polymorphisms and FIPV

infection in Esophageal Carcinoma patients from a high incidence area in China. *Carcinogenesis*. **26**, 1280-1284.

Casp, C.B., She, J.X., McCormack, W.T. (2003). Genes of the LMP/TAP Cluster are Associated with the Human Autoimmune Disease Vitiligo. *Genes & Immunity*. **4**, 492- 499.

Caveney, E., Caveney, B.J., Somaratne, R., Turner, J.R., Gourgiotis, L. (2011). Pharmaceutical interventions for obesity: a public health perspective. *Diabetes Obes. Metab.* **13**, 490–497.

Changqing, X., Suxia, Q., Lei, G., I-Long, C., Meiqiang, L., Hongli, Y., Kun, L., Bangwei, C. (2007). Genetic polymorphisms of LMP/TAP gene and Hepatitis B Virus infection risk in the Chinese population. *Journal of Clinical Immunology*. **27**, 534-541.

Chou, B., Hiromatsu, K., Hisaeda, H., Duan, X., Imai, T., Murata, S., Tanaka, K. (2010). Genetic immunization based on the ubiquitin-fusion degradation pathway against *Trypanosoma cruzi*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **3**, 277-282.

Cordero, A., León, M., Andres, E., Ordonez, B., Laclaustra, M., Grima, A., Pascual, I. (2009). Gender differences in obesity related cardiovascular risk factors in Spain. *Preventive Medicine*. **48**, 134-139.

Cui, Q., Zhang, Y., Su, J., Shi, C., Lei, N., Ding, K., Li, J., Yu, R., Wang, L., Wang, N. (2010). The association between the genetic polymorphisms of LMP2/LMP7 and the outcomes of HCV infection among drug users. *J Biomed Res*. **24(5)**, 374-80.

Cummings, D.E., Overduin, J., Foster-Schubert, K.E. (2004). Gastric bypass for obesity: mechanisms of weight loss and diabetes resolution. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 2608–2615

Dai, G., Levy, O. and Carrasco, N. (1996). Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. *Nature*, **45**, 379:458.

Dalva, K. (2004). Her yerde karşında: Nedir bu HLA tiplendirimi. XXXI, Ulusal Hematoloji Kongresi, IV, *Hematoloji İlk Basamak Kursu*. **24**, 42-52.

- Demir, R. (2005). Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş. Ankara: *Palme Yayıncılık*, **43**, 271-274.
- Deng, G., Muir, A., Maclaren, N. and She, J. (1995). Association of LMP2 and LMP7 Genes within the Major Histocompatibility Complex with Insulin-Dependent Diabetes Mellitus: *Population and Family Studies. Am. J. Hum. Genet.* **56**, 528-534.
- Ding, H., Lu, H., Jiang, D., Chen, Z., Lin, J., Wang, S. (1999). The relationship between polymorphism of LMP2 and LMP7 genes and the phenotype of ankylosing spondylitis. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan.* **4**, 242-5.
- Dissemond, J., Goette, P., Moers, J., Lindeke, A., Goos, M., Ferrone, S., Wagner, S.N. (2003). Immunoproteasome subunits LMP2 and LMP7 downregulation in primary malignant melanoma lesions: association with lack of spontaneous regression. *Melanoma Res.* **13(4)**, 371-377.
- Dosenko, V. Mykhal'chuk, D.V., ZahoriT, V., Khaïtovych, M.V., Moibenko, O.O. (2005). Allelic polymorphism of genes encoding catalytic immunoproteasome subunits and its functional meaning. *Fiziol Zh.* **51**, 3-10.
- Dulloo, A.G., Stock, M.J., Solinas, G., Boss, O., Montani, J.P., Seydoux, J. (2002) Leptin directly stimulates thermogenesis in skeletal muscle. *FEBS Lett.* **515**, 109–113.
- Eisemann, J., Prechtel, A.T., Mühl-Zürbes, P., Steinkasserer, A, Kummer, M. (2009). Herpes simplex virüs type I infection of mature dendritic cells leads to reduced LMP7 mRNA-expression levels. *Immunobiology.* **9**, 10861-10867.
- Fairbrother, U., Kidd, E., Malagamuwa, T., Walley, A. (2018). Genetics of Severe Obesity. *Curr Diab Rep.* **18(10)**, 85-94.
- Faucz, F.R., Probst, C.M. and Petzl-Erler, M.L. (2000). Polymorphism of LMP2, TAPI, LMP7 and TAP2 in Brazilian Amerindians and Caucasoids: implications for the evolution of allelic and haplotypic diversity. *European Journal of Immunogenetics.* **27**, 5-16.
- Fehling, H.J., Swat, W., Laplace, C. et al. (1994). MHC class I expression in mice lacking the proteasome subunit LMP-7. *Science.* **265**,1234-1237.

- Fellerhoff, B., Gu, S., Laumbacher, B., Nerlich, A.G., Weiss, E.H., Glas, J., Kopp, R., Johnson, J.P., Wank, R. (2011). The LMP7-K allele of the immunoproteasome exhibits reduced transcript stability and predicts high risk of colon cancer. *Cancer Res.* **71(23)**, 7145-7154.
- Ferrington, D.A., Gregerson, D.S. (2012). Immunoproteasomes: structure, function, and antigen presentation. *Prog Mol Biol Transl Sci.* **109**, 75-112.
- Flegal, K.M., Carroll, M.D., Ogden, C.L., Curtin, L.R. (2010). Prevalence and trends in obesity among US adults. *JAMA.* **303**, 235–241.
- Fogelholm, M. (2013). New Nordic Nutrition Recommendations are here. *Food Nutr. Res.* **57**, 634-647
- Frank, E., Kupfer, D.J., Thase, M.E., Mallinger, A.G., Swartz, H.A., Fagiolini, A.M. (2005). Two-year outcomes for interpersonal and social rhythm therapy in individuals with bipolar I disorder. *Arch. Gen. Psychiatry.* **62**, 996–1004.
- French, S.A., Story, M., Neumark-Sztainer, D., Fulkerson, J.A. (2001). Fast food restaurant use among adolescents: associations with nutrient intake, food choices and behavioral and psychosocial variables. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. J. Int. Assoc.* **25**, 1823–1833.
- Früh, K., Gossen, M., Wairg, K., Bujard, H., Peterson, P.A., Yang, Y. (1994). Displacement of housekeeping proteasome subunits by MHC-encoded LMPs: a newly discovered mechanism for modulating the multicatalytic proteinase complex. *EMBOJ.* **13**, 3236-3244.
- Gallo, M.F., Lopez, L.M., Grimes, D.A., Schulz, K.F., Helmerhorst, F.M. (2008). Combination contraceptives: effects on weight. *Cochrane Database Syst. Rev.* **73**, 46-58.
- Grundy, S.M. (1998). Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. *Am. J. Clin. Nutr.* **67**, 563S–72S.
- Haslam, D. (2007). Obesity: a medical history. *Obes. Rev.* **8**, 31–36.

Hensley, S.E., Zanker, D., Dolan, B.P., David, A., Hickman, H.D., Embry, A.C., Skon, C.N., Grebe, K.M., Griffin, T.A., Chen, W., Bennink, J.R., Yewdell, J.W. (2019). Unexpected role for the immunoproteasome subunit LMP2 in antiviral humoral and innate immune responses. *J Immunol.* **184(8)**, 4115-4122.

Herrera, B.M., Lindgren, C.M. (2010). The genetics of obesity. *Curr Diab Rep.* **10(6)**:498-505.

Himbart, C., Thompson, H., Ulrich, C.M. (2017). Effects of Intentional Weight Loss on Markers of Oxidative Stress, DNA Repair and Telomere Length - a Systematic Review. *Obes Facts.* **10(6)**:648-665.

Honcharov, S.V., Dosenko, V.I., Khaïtovych, M.V., Moibenko, O.O. (2009). Allel polymorphism of genes coding proteasome subunits is associated with an enhanced risk for arterial hypertension in adolescents. *Fiziol Zh.* **2**, 3-10.

Huang, P., Dongi L., Lu, X., Zhang, Y., Chen, H., Wang, J., Zhang, Y., Su, J., Yu, R. (2014). Genetic variants in antigen presentation-related genes influence susceptibility to hepatitis C virus and viral clearance: a case control study. *BMC Infect Dis.* **21**, 14-16.

Hussong, S.A., Kapphahn, R.J., Phillips, S.L., Maldonado, M., Ferrington, D.A. (2010). immunoproteasome deficiency alters retinal proteasome's response to stress. *J.Neurochem.* **6**, 1481-1490.

Jakicic, J.M., Clark, K., Coleman, E. (2001). American College of Sports Medicine position stand. Appropriate intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med. Sci. Sports Exerc.* **33**, 2145–2156.

Kanter, R. and Cabailero, B. (2012). Global gender disparities in obesity: a review. *Advances in Nutrition: An International Review Journal.* **3**, 491-498.

Keller, M., Hopp, L., Liu, X., Wohland, T., Rohde, K., Canello, R., Klös, M., Bacos, K., Kern, M., Eichelmann, F., Dietrich, A., Schön, M.R., Gärtner, D., Lohmann, T., Dreßler, M., Stumvoll, M., Kovacs, P., DiBlasio, A.M., Ling, C., Binder, H., Blüher, M., Böttcher, Y. (2016). Genome-wide DNA promoter methylation and transcriptome analysis in human adipose tissue unravels novel candidate genes for obesity. *Mol Metab.* **6(1)**:86-100.

- Kimura, H., Caturegli, P., Takahashi, M., Suzuki, K. (2015). New Insights into the Function of the Immunoproteasome in Immune and Nonimmune Cells. *J Immunol Res.* **54**, 19-84.
- Kopelman, P., Jebb, S.A., Butland, B. (2007). Executive summary: Foresight “Tackling Obesity: Future Choices” project. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc.* **57**, 132-135.
- Kosti, R.I., Panagiotakos, D.B. (2006). The epidemic of obesity in children and adolescents in the world. *Cent. Eur. J. Public Health* **14**, 151–159.
- Krâmer, U., Illig, T-, Grune, T., Krutmann, J., Esser, C. (2007). Strong Associations of Psoriasis with Antigen Processing LMP and Transport Genes TAP differ by Gender and Phenotype. *Genes and Immunity.* **8**, 513-517.
- Kuczmariski, R.J., Ogden, C.L., Guo, S.S., Grummer-Strawn, L.M. (2002). CDC Growth Charts for the United States: methods and development. *Vital Health Stat.* **11**. 181–190.
- Lash, M.M. and Armstrong, A. (2009). Impact of obesity on women's health. *Fertility and sterility.* **91**, 1712-1716.
- Lee, M., Song, I.H., Heo, S.H., Kim, Y.A., Park, I.A., Bang, W.S., Park, H.S., Gong, G., Lee, H.J. (2019). Expression of Immunoproteasome Subunit LMP7 in Breast Cancer and Its Association with Immune-Related Markers. *Cancer Res Treat.* **51(1)**, 80-89.
- Leonhard, M.L., Barry, N.J. (1998). Body image and obesity: effects of gender and weight on perceptual measures of body image. *Addict. Behav.* **23**, 31–34.
- Liu, Q., Hao, C., Su, P., Shi, J. (2009). Down-regulation of HLA class I antigen-processing machinery components in esophageal squamous cell carcinomas: association with disease progression. *Scandinavian Journal Of Gastroenterology.* **44**, 8960-8969.

Lobstein, T., Dobb, S., (2005). Evidence of a possible link between obesogenic food advertising and child overweight. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* **6**, 203–208.

Lynch, L.A., O’Connell, J.M., Kwasnik, A.K., Cawood, T.J., O’Farrelly, C., O’Shea, D.B. (2009). Are natural killer cells protecting the metabolically healthy obese patient? *Obesity.* **17**, 601–605.

Ma, X., Yang, C., Tang, R., Xu, Z., Zhang, Z., Wang, Y., Zhang, J., Yang, L.I. (2015). Association between LMP2 and LMP7 gene polymorphisms and the risk of gastric cancer: A case-control study. *Oncol Lett.* **10**,509-517.

Maksymowych, W.P., Inman, R.D., Gladman, D.D., Reeve, J.P., Pope, A., Rahman, P. (2009). Association of a specific ERAP1/ARTS1 haplotype with disease susceptibility in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* **60(5)**,1317-23.

Mandal, R.K., Dar, S.A., Jawed, A., Wahid, M., Lohani, M., Panda, A.K., Mishra, B.N., Akhter, N., Areeshi, M.Y., Haque, S. (2017). Impact of LMP7 (rs2071543) gene polymorphism in increasing cancer risk: evidence from a meta-analysis and trial sequential analysis. *Oncotarget.* **5**, 6572-6585.

Mehta, A.M., Jordanova, E.S., Wezel, T., Uh, H., Corver, W.E., Kwappenberg, K.M.C., Veiduijn, W., Kenter, G.G., Burg, S.H., Fleuren, G.J. (2007). Genetic variation of antigen processing machinery components and association with cervical carcinoma. *Genes, Chromosomes & Cancer*, **46**, 577- 586.

Melnikova, V.I., Afanasieva, M.A., Dmitrieva, S.B., Karpova, Y.D., Sharova, N.P., Zakharova, L.A. (2008). Immune proteasomes in the developing rat thymus. *Biochemistry.* **44**, 51-57.

Mishto, M., Bellavista, E., Santoro, A., Stolzing, A., Ligorio, C., Nacmias, B., Spazzafumo, L., Chiappelli, M., Licastro, F., Sorbi, S., Pession, A., Ohm, T., Grune, T., Franceschi, C. (2004). Immunoproteasome and LMP2 polymorphism in aged and Alzheimer’s disease brains. *Neurobiology of Aging.* **27**, 54-66.

Miyawaki, T., Masuzaki, H., Ogawa, Y., Hosoda, K., Nishimura, H., Azuma, N., Sugawara, A., Masuda, I., Murata, M., Matsuo, T., Hayashi, T., Inoue, G., Yoshimasa,

- Y., Nakao, K. (2002). Clinical implications of leptin and its potential humoral regulators in long-term low-calorie diet therapy for obese humans. *Eur J Clin Nutr.* **56**, 593–600.
- Murphy, J.F.A. (2005). The National Taskforce on Obesity. *Ir. Med. J.* **98**, 132-142.
- Ostrowska, H., Kruszewski, K., Kasacka, I. (2006). Immuno-proteasome subunit LMP7 is up-regulated in the ischemic kidney in an experimental model of renovascular hypertension. *Int J Biochem Cell Biol.* **38(10)**, 1778-85.
- Park, E.J. Lee, J.H. Yu, G.Y. He, G. Ali, S.R. Holzer, R.G. Osterreicher, C.H. Takahashi, H. Karin, M. (2010). Dietary and genetic obesity promote liver inflammation and tumorigenesis by enhancing IL-6 and TNF expression. *Cell.* **140**, 197–208.
- Pigeyre, M., Yazdi, F.T., Kaur, Y., Meyre, D. (2016). Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. *Clinical Science.* **130**, 943-986.
- Puhl, R.M., Brownell, K.D. (2003). Psychosocial origins of obesity stigma: toward changing a powerful and pervasive bias. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* **4**, 213–227.
- Reynolds, K., Gu, D., Whelton, P.K., Wu, X., Duan, X., Mo, J., He, J. (2007). Prevalence and risk factors of overweight and obesity in China. *Obes. Silver Spring Md.* **15**, 10–18.
- Robek, M.D., Garcia, M.L., Boyd, B.S., Chisari, F.V. (2007). Role of Immunoproteasome Catalytic Subunits in the Immune Response to Hepatitis B Virus. *Journal Of Virology.* **42**, 483–491.
- Robinson, T.M., Sewell, D.A., Hultman, E., Greenhaff, P.L. (1999). Role of submaximal exercise in promoting creatine and glycogen accumulation in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md.* **87**, 598–604.
- Setayesh, T. Nersesyan, A. Misik, M. Ferk, F. Langie, S. Andrade, V.M. Haslberger, A. Knasmuller, S. (2018). Impact of obesity and overweight on DNA stability: Few facts and many hypotheses. *Mutat. Res.* **777**, 64–91.

Shachar, I., Karin, N. (2013). The dual roles of inflammatory cytokines and chemokines in the regulation of autoimmune diseases and their clinical implications. *Journal of Leukocyte Biology*. **93**, 51-61.

Sharova, N.P., Zakharova, L.A., Astakhova, T.M., Karpova, Y.D., Melnikova, V.I., Dmitrieva, S.B., Lyupina, Y.V., Erokhov, P.A. (2009). New approach to study of T cellular immunity development: parallel investigation of lymphoid organ formation and changes in immune proteasome amount in rat early ontogenesis. *Celi Immunology*. **1**, 47-53.

Shiina, T., Inoko, H., Kul ski, J. K. (2004). An update of the HLA genomic region, loci information and disease associations: *Tissue Antigens*. **64**, 631-649.

Sobal, J., Stunkard, A.J. (1989). Socioeconomic status and obesity: a review of the literature. *Psychol. Bull.* **105**, 260–275.

Song, L., Ma, N., Han, L., Yan, H., Yan, B., Yuan, Z., Cao, B. (2014). Association between LMP2/LMP7 genetic variability and the metastasis risk of ovarian cancer in Chinese women in Beijing. *Hum Immunol*. **75(3)**, 239-244.

Stępien, M., Stępien, A., Wlazel, R.N., Paradowski, M., Banach, M., Rysz, J. (2014). Obesity indices and inflammatory markers in obese non-diabetic normo and hypertensive patients: a comparative pilot study. *Lipids Health Dis*. **13**, 29-43.

Stirling, A., Lobstein, T., Millstone, E. (2007). Methodology for obtaining stakeholder assessments of obesity policy options in the PorGrow project. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes*. **2**, 17–27.

Stunkard, A.J., Harris, J.R., Pedersen, N.L., McClearn, G.E. (1990). The body- mass index of twins who have been reared apart. *New England Journal of Medicine*. **32**, 1483-1487.

Stunkard, A.J., Sørensen, T.I., Hanis, C., Teasdale, T.W. (1986). An adoption study of human obesity. *N. Engl. J. Med*. **314**, 193–198.

Sugimoto, Y., Kuzushita, N., Takehara, T., Kanto, T., Tatsumi, T., Miyagi, T., Jinushi, M., Ohkawa, K., Horimoto, M., Kasahara, A., Hori, M., Sasaki, Y., Hayashi, N.

(2002). A single nucleotide polymorphism of the low molecular mass polypeptide 7 gene influences the interferon response in patients with chronic hepatitis C. *Journal of Viral Hepatitis*. **9**, 377-384.

Sukriti, S., Pati, N.T., Bose, S., Hissar, S.S., Sarin, S.K. (2010). Impaired Antigen Processing and Presentation Machinery is Associated with Immunotolerant State in Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Journal Of Clinical Immunology*. **3**, 419-425.

Tanaka, K. (1994). Role of proteasomes modified by interferon-gamma in antigen Processing. *Journal of Leukocyte Biology*. **56**, 571-575.

Tanaka, K. (2009). The proteasome: overview of structure and functions. Proceedings of the Japan Academy. *Series B: Physical and Biological Sciences*. **85**, 12-36.

Tang, Q., Zhang, J., Qi, B., Shen, C., Xie, W. (2009). Downregulation of HLA class I molecules in primary oral squamous cell carcinomas and cell lines. *Archi Med Res*. **40**, 256-263.

Tyson, J. Caple, F. Spiers, A. Burtle, B. Daly, A.K. Williams, E.A. Hesketh, J.E. Mathers, J.C. (2009). Inter-individual variation in nucleotide excision repair in young adults: Effects of age, adiposity, micronutrient supplementation and genotype. *Br. J. Nutr*. **101**, 1316–1323.

Vachharajani, N., Joeris, T., Luu, M., Hartmann, S., Pautz, S., Jenike, E., Pantazis, G., Prinz, I., Hofer, M.J., Steinhoff, U., Visekruna, A. (2017). Prevention of colitis-associated cancer by selective targeting of immunoproteasome subunit LMP7. *Oncotarget*. **8(31)**, 50447-50459.

Vargas-Alarcón, G., Gamboa, R., Vergara, Y., Rodriguez-Zepeda, J.M., de la Peña, A., Izaguirre, R., Zuñiga, J., Ruiz-Morales, J.A., Granados, J. (2002). LMP2 and LMP7 gene polymorphism in Mexican populations: Mestizos and Amerindians. *Genes and Immunity*. **3**, 373–377.

Vasuri, F., Capizzi, E., Bellavista, E., Mishto, M., Santoro, A., Fiorentino, M., Capri, M., Cescon, M., Grazi, G.L., Grigioni, W.F., D'Errico-Grigioni, A., Franceschi, C. (2010). Studies on immunoproteasome in human liver. Part I: absence in fetuses, presence in normal subjects, and increased levels in chronic active hepatitis and cirrhosis. *Biochem Biophys Res Commun*. **397(2)**, 301-306.

Vinasco, J., Fraile, A., Nieto, A., Beraun, Y., Pareja, E. (1998). Analysis of LMP and TAP polymorphisms by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. **57**, 33-37.

Westerterp, K.R. (2010). Physical activity, food intake, and body weight regulation: insights from doubly labeled water studies. *Nutrition Reviews*. **68**,148-154.

Włodarczyk, M. Jablonowska-Lietz, B. Olejarz, W. Nowicka, G. (2018). Anthropometric and dietary factors as predictors of DNA damage in obese women. *Nutrients*. **10**, 578.

Włodarczyk, M., Nowicka, G. (2019). Obesity, DNA Damage, and Development of Obesity-Related Diseases. *Int J Mol Sci*. **20(5)**. pii: E1146.

Wu, Y.s Liu, D.F., Zhang, J.J., Li, X., Lu, Z.P., Shi, G.D. (2017). Association between LMP2/LMP7 genetic variability and cancer susceptibility, especially among Asians: evidence from a meta-analysis. *Oncotarget*. **37**, 62445-62453.

The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). 114/54. 2015. Health risks of obesity. www.niddk.nih.gov/ 24.07.2015.

Türkiye İstatistik Kurumu (tuik). 2018. Türkiye'de obezitenin görülme sıklığı www.tuik.gov.tr/ 01.09.2018.

The World Health Organization (WHO). 759/132. 2016. who obesity report. http://www.who.int/topics/obesity/files/Re_2016e.pdf

Yakut, T. (2004). HLA Doku Uygunluk Kompleksi, Genetik Lokalizasyonlan ve Fonksiyonları. *Güncel Pediatri*. **2**, 53-57.

Yang, J., Bakshi, A., Zhu, Z., Hemani, G., Vinkhuyzen, A.A., Lee, S.H., Robinson, M.R., Perry, J.R., Nolte, I.M., van Vliet-Ostaptchouk, J.V., Snieder, H. LifeLines Cohort Study, Esko, T., Milani, L., Mägi, R., Metspalu, A., Hamsten, A., Magnusson, P.K., Pedersen, N.L., Ingelsson, E., Soranzo, N., Keller, M.C., Wray, N.R., Goddard, M.E., Visscher, P.M. (2015). Genetic variance estimation with imputed variants finds negligible missing heritability for human height and body mass index. *Nat Genet*. **47(10)**, 1114-1120.

Yang, L., Ji, Y., Chen, L., Li, M., Wu, F., Flu, J., Jiang, J. (2017). Genetic variability in LMP2 and LMP7 is associated with the risk of esophageal squamous celi carcinoma in the Kazaklı population but is not associated with HPV infection. *Plos One*. **12**, 186-319.

Zhen, L., Yu-feng, L., Jin-ling, C., Chun-lan, G., Hong-lin, W., Jing-lian, X., Jie, Z., Ding, Z. (2011). Expression of proteasome immunosubunit in labial glands of patients with primary Sjogren's syndrome. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*. **33(2)**, 146-50.

Zúñiga, L.A. Shen, W.J. Joyce-Shaikh, B. Pyatnova, E.A. Richards, A.G. Thom, C. Andrade, S.M. Cua, D.J. Kraemer, F.B. Butcher, E.C. (2010). IL-17 regulates adipogenesis, glucose homeostasis, and obesity. *J. Immunol*. **185**, 6947–6959.