



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

OBEZ ERGENLERDE ALKOLİK OLMAYAN KARACİĞER YAĞLANMASINDA
GENETİK VE EPİGENETİK DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI

(Tıpta Uzmanlık Tezi)

Dr. SHAHRI KHUDIYEVA

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Aylin Yetim Şahin

İSTANBUL 2024



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

OBEZ ERGENLERDE ALKOLİK OLMAYAN KARACİĞER YAĞLANMASINDA
GENETİK VE EPİGENETİK DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI

(Tıpta Uzmanlık Tezi)

Dr. SHAHRI KHUDIYEVA

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Aylin Yetim Şahin

İSTANBUL 2024

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
ÖNSÖZ.....	III
KISALTMALAR.....	IV
ŞEKİL LİSTESİ.....	VII
TABLO LİSTESİ.....	VIII
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	5
1.1. Giriş.....	5
1.2. Amaç	6
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. OBEZİTE	7
2.1.1. TANIMI.....	7
2.1.2. PREVALANSI.....	7
2.1.3. OBEZİTE ETYOPATOGENEZİ	8
2.1.4. OBEZİTE TANISI.....	11
2.1.5. OBEZİTE KOMPLİKASYONLARI	11
2.1.6. OBEZİTE TEDAVİSİ VE YÖNETİMİ	14
2.2. NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI (NAFLD).....	17
2.2.1. NAFLD TANIMI	17
2.2.2. NAFLD PREVALANSI	17
2.2.3. NAFLD ETYOPATOGENEZİ	18
2.2.3.1. NAFLD GELİŞİMİNDE GENETİK VE EPİGENETİK FAKTÖRLER.....	18
2.2.3.1.1 <i>PNPLA3</i> geni	18
2.2.3.1.2 <i>TM6SF2</i> geni	20
2.2.3.1.3. Epigenetik faktörler	21
2.2.4. NAFLD GELİŞİMİNE YOL AÇAN RİSK FAKTÖRLERİ.....	21
2.2.5. NAFLD VARLIĞINDA KLİNİK BULGULAR	21
2.2.6. NAFLD TANISI.....	22
2.2.7. NAFLD TEDAVİSİ	23

2.2.8. NAFLD PROGNOZU	23
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	24
4. BULGULAR.....	39
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ.....	59
KAYNAKLAR.....	61
EKLER	73
Ek-1: Etik Kurul Onayı	73
Ek-2: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	76
Ek-3: Bilimsel Araştırma Projesi	79
ÖZGEÇMİŞ	80

ÖNSÖZ

Tıpta uzmanlık eğitimimi geçirdiğim İstanbul Tıp Fakültesinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, üzerimde emeği büyük olan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Elmas Zeynep İnce olmak üzere Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm saygıdeğer öğretim üyelerine,

Tez çalışmamın yürütülmesinde yol gösterici olan, desteğini hep hissettiğim, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum saygıdeğer hocam Doç. Dr. Aylin Yetim Şahin'e,

Bu çalışmada çok büyük emekleri olan Prof. Dr. Sacide Pehlivan, M. Sc. Bio. Sevede Hasanoğlu, Dr. Edanur Karapınar ve Dr. Öğretim Görevlisi Alev Bakır Kayı'ya,

Beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum, uzman, hemşire ve personel ekibimize,

Burada çalışmayı çok keyifli kılan, her zorluğu beraber aştığımız eş kıdemlerim Özge, Fatma Ece, Cenk, Sinan, Ufuk Furkan ve Dilşat Fırat'a ve kendilerinden çok şey öğrendiğim kıdemlilerim Şebnem, Buse, Ece, Kemale ve Elanur'a ve tüm asistan arkadaşlarıma,

Türkiye'de bana aile olan, çok güzel anılar biriktirdiğim sevgili arkadaşlarım Gülşen, Parvana, Nezrin, Sabina, Tural ve Elyar'a,

Sevgisini ve desteğini hep hissettiğim, bana sonsuz güvenen sevgili eşim Ahmet'e,

Varlıklarını düşünmek bile beni mutlu eden, ne kadar kaygı etsem de canımdan daha çok sevdiğim sevgili abim, ablam ve kardeşlerime,

Uzakta olsam bile sevgisini hep his ettiğim, hayatı boyunca bizim için fedakarlıklar yapan ve bu yerlere gelmem için büyük emekler veren canım anneme,

Kızı olmaktan gurur duyduğum, bana vicdanlı, merhametli, özgüvenli olmayı öğreten, tüm başarılarımı keşke görseydi dediğim, ancak aramızdan zamansız ayrıldığı için özel günlerimde hep kendimi yarım hissettiğim, hep ona layık olmaya çalışacağım canım babama,

Sonsuz teşekkürler...

Shahri Khudiyeva

İstanbul 2024

KISALTMALAR

AKŞ: Açlık kan şekeri

ALT: Alanin Aminotransferaz

APA: Amerikan Pediatri Akademisi

AST: Aspartat Aminotransferaz

BÇ: Bel çevresi

BT: Bilgisayarlı tomografi

Cm: Santimetre

DEXA: Dual enerji X-ray Absorptiometre

DNA: Deoksiribonükleik asit

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

E167K: Proteinin 167. bölgesinde glutamatın yerine lizin gelmesi

ESPGHAN: European Society for the Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition

FBT (Family-based Therapy): Aile Temelli Tedavi

FDA: Food and Drug Administration

GGT: Gama-glutamilttransferaz

GLP-1: Glukagon benzeri peptid-1

GWAS: Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları

HbA1c: Hemoglobin A1c

HCC: Hepatoselüler karsinom

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein

HOMA-IR (Homeostatic Model Assessment): İnsülin direncinin Homeostatik Modeli Değerlendirilmesi

I148M: Proteinin 148. bölgesine izolösin yerine metionin gelmesi

KB: Kan basıncı

Kg: Kilogram

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein

MRG: Manyetik rezonsans görüntüleme

NAFLD (Non-alcoholic fatty liver disease): Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı

NASH (Non-alcoholic steatohepatitis): Non-alkolik steatohepatit

NASPGHAN: North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition

OGTT: Oral glukoz tolerans testi

PCR-RFLP: Polimorfizm çalışması Polimeraz Zincir Reaksiyonu- Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi.

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

PKOS: Polikistik over sendromu

PNPLA3 (patatin like phospholipase domain containing 3): Patatin benzeri fosfolipaz alanı içeren 3

rs58542926 C>T: TM6SF2 geninin 499. bölgesinde guanin yerine adenin bazı gelmesi ile sonuçlanan nokta mutasyonu

rs738409 C>G: PNPLA3 geninde 444. bölgesinde sitozin yerine guanin gelmesi ile sonuçlanan nokta mutasyonu

SDS: Standart sapma skoru

SNP: Tek nükleotid polimorfizmi

sT4: Serbest T4

TG: Trigliserid

Tip 2 DM: Tip 2 diabetes mellitus

TM6SF2 (transmembrane 6 superfamily member 2): Transmembran 6 üst aile üyesi 2

TSH: Tiroid stimulan hormon

USG: Ultrasonografi

VKİ: Vücut kitle indeksi

VLDL: Çok düşük dansiteli lipoprotein

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1. *PNPLA3 rs738409* bölgesi PCR ve kesim ürünlerinin jel fotoğrafları 37
- Şekil 2. *TM6SF2 rs58542926* bölgesi PCR ve kesim ürünlerinin jel fotoğrafları..... 37
- Şekil 3. Obezitesi olan ergenlerde ultrasonografi bulguları 40



TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Metabolik sendrom kriterleri	13
Tablo 2. Non-alkolik karaciğer hastalığı (NAFLD) fenotipleri.	17
Tablo 3. Primer dizileri ve bağlanma sıcaklıkları	32
Tablo 4. <i>PNPLA3 rs738409</i> ve <i>TM6SF2 rs58542926</i> için PCR içeriği	32
Tablo 5. <i>PNPLA3 rs738409</i> polimorfizmi için PCR protokolü.....	33
Tablo 6. <i>TM6SF2 rs58542926</i> polimorfizmi için PCR protokolü	33
Tablo 7. <i>PNPLA3 rs738409</i> ve <i>TM6SF2 rs58542926</i> gen bölgeleri için enzim kesim içeriği.....	34
Tablo 8. Çalışılan bölgelerin analizinde kullanılan restriksiyon endonükleaz enzimleri	35
Tablo 9. Çalışılan bölgelere ait allel bantlarının uzunlukları.....	36
Tablo 10. Kontrol ve obez ergen grupları arasında klinik bulguların karşılaştırılması .	39
Tablo 11. Kontrol ve NAFLD grupları arasında klinik bulguların karşılaştırılması.....	41
Tablo 12. Kontrol ve NAFLD grupları arasında laboratuvar bulgularının karşılaştırılması	42
Tablo 13. <i>PNPLA3</i> ve <i>TM6SF2</i> gen varyantlarının obez ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması	43
Tablo 14. <i>PNPLA3</i> gen varyantının (<i>rs738409</i>) gruplara göre dağılımı.....	43
Tablo 15. <i>PNPLA3</i> geninin normal ve varyantlarının dağılımı	43
Tablo 16. <i>PNPLA3</i> gen varyantlarına (<i>rs738409</i>) göre gruplar arasında klinik ve laboratuvar parametrelerin karşılaştırılması	45

Tablo 17. <i>PNPLA3</i> gen varyantlarına göre klinik ve laboratuvar parametrelerin karşılaştırılması	46
--	----

Tablo 18. Obez grupta ultrasonografi sonuçları ile <i>PNPLA3</i> gen varyantlarının karşılaştırılması	47
--	----

Tablo 19. <i>TM6SF2</i> (<i>rs58542926</i>) varyantının gruplara göre dağılımı.....	47
--	----

Tablo 20. Obez grupta ultrasonografi sonuçları ile <i>TM6SF2</i> karşılaştırılması	47
---	----

Tablo 21. <i>TM6SF2</i> gen varyantlarına göre klinik ve laboratuvar parametrelerin karşılaştırılması	49
--	----

Tablo 22. <i>TM6SF2</i> gen varyant grupları arasında klinik ve laboratuvar parametrelerin karşılaştırılması	50
---	----

ÖZET

Obez Ergenlerde Alkolik Olmayan Karaciğer Yağlanması Genetik ve Epigenetik Değişikliklerin Araştırılması

Giriş: Obezite ile eşzamanlı olarak alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) sıklığı da dünya çapında artmaktadır. NAFLD çocuk ve ergenlerde en sık görülen karaciğer patolojisidir. Etiyopatogenezi tam olarak açıklanamamış olup, bazı çevresel ve genetik nedenler suçlanmaktadır. NAFLD oluşumuna katkı sağladığı en iyi bilinen genler *PNPLA3 rs738409* ve *TM6SF2 rs58542926* gen varyantlarıdır.

Amaç: Bu çalışmada NAFLD'nin gelişiminde *PNPLA3* ve *TM6SF2* genlerinin rolü, sonuçların klinik parametrelerle karşılaştırılarak ilişkili olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Genetik ve epigenetik risk faktörlerinin belirlenebilmesi ile çocuk ve ergen NAFLD hastalarında tanı ve tedavi konusunda ilerleme kaydedileceği düşünülmektedir.

Yöntem: Tek merkezli, kesitsel çalışmamıza 71 obez NAFLD(+), 30 obez NAFLD(-) ve 58 sağlıklı ergeni dahil edildi. Obez ergenlerde NAFLD durumu batın ultrasonografi ile incelendi. *PNPLA3-rs738409* ve *TM6SF2-rs58542926* gen varyantlarının genotipleme analizleri PCR-RFLP yöntemi kullanılarak yapıldı. Kontrol, obez NAFLD(-) ve obez NAFLD(+) grupları arasındaki gen varyantlarının genotip ve allel frekansları ve bunların demografik, antropometrik, laboratuvar verileri arasındaki ilişki istatistiksel analizler ile incelendi.

Bulgular: Üç grup arasında *PNPLA3-rs738409* ve *TM6SF2-rs58542926* gen varyantlarının genotip ve allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Kontrol grubunda *PNPLA3* geninde G aleli taşıyanlarda GGT düzeyi, wild varyanta göre ortalama 1,6 U/L yüksekti ($p=0,022$). NAFLD (-) grupta *PNPLA3-rs738409* GC veya GG genotip taşıyıcılarının AST düzeyleri CC genotip taşıyıcılarına göre ortalama 3,3 U/L daha yüksek bulundu ($p=0,046$). Obez NAFLD (+) grupta G alel taşıyanlarda kreatinin düzeyi istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p=0,021$). Kontrol grubunda *TM6SF2* geninde T alel taşıyanlarda wild varyanta göre, total kolesterol düzeyi ortalama 12,4 mg/dl ve LDL kolesterol düzeyi ortalama 13 mg/dl daha düşüktü (sırasıyla; $p=0,043$, $p=0,001$). *PNPLA3* ve/veya *TM6SF2* genlerinde minör alel taşıyan katılımcılarda ($n=78$, %52,6), bu *genlerin* her ikisinde

minör allel taşımayan katılımcılara göre (n=57, %29,6), NAFLD bulunma oranı istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (p 0,018).

Sonuç: Türk toplumunda obez ergenlerde NAFLD durumuna göre *PNPLA3* ve *TM6SF2* gen varyantları ile laboratuvar parametreleri arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Ayrıca bu genlerin bir veya her ikisini taşıyanlarda, bu genleri taşımayanlara göre NAFLD bulunma oranının daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu konuda daha geniş araştırmalar ile NAFLD'nin *PNPLA3* ve *TM6SF2* gen varyantları ile ilişkisi değerlendirilmelidir.

Anahtar kelimeler: Obezite, ergen, NAFLD, *PNPLA3*, *TM6SF2*



SUMMARY

Investigation of Genetic and Epigenetic Changes in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Obese Adolescents

Introduction: The prevalence of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) concomitant with obesity is increasing worldwide. NAFLD is the most common liver pathology in children and adolescents. Its etiopathogenesis has not been fully elucidated and some environmental and genetic causes have been blamed. The best known genes that contribute to NAFLD are *PNPLA3 rs738409* and *TM6SF2 rs58542926* gene variants.

Objectives: The aim of this study was to investigate the role of *PNPLA3* and *TM6SF2* genes in the development of NAFLD, which is increasing in frequency with obesity, and to investigate whether the results are associated with clinical parameters. It is thought that with the identification of genetic and epigenetic risk factors, progress will be made in the diagnosis and treatment of pediatric and adolescent NAFLD patients.

Methods: We included 71 obese NAFLD (+), 30 obese NAFLD (-) and 58 healthy adolescents in our single-center, cross-sectional study. NAFLD status in obese adolescents was examined by ultrasonography. Genotyping analyses of *PNPLA3-rs738409* and *TM6SF2-rs58542926* gene variants were performed using PCR-RFLP method. The relationship between the genotype and allele frequencies of gene variants between control, obese NAFLD (-) and obese NAFLD (+) groups was analyzed.

Results: There was no statistically significant association between the genotype and allele frequencies of *PNPLA3-rs738409* and *TM6SF2-rs58542926* gene variants among the three groups. In the control group, GGT was on average 1.6 U/L ($p=0.022$) higher in those carrying the G allele in *PNPLA3* gene compared to the wild variant. In the NAFLD (-) group, AST levels of *PNPLA3-rs738409* GC or GG genotype carriers were 3.3 U/L ($p=0.046$) higher than CC genotype carriers. Creatinine was significantly higher in G allele carriers in the obese NAFLD (+) group ($p=0.021$). In the control group, total cholesterol was significantly lower by 12,4 mg/dl ($p=0.043$) and LDL cholesterol was significantly lower by 13 mg/dl ($p=0.001$) in carriers of the T allele in *TM6SF2* gene compared to the wild type. Participants carrying minor alleles in *PNPLA3* and/or *TM6SF2* genes ($n=78$) were statistically significantly more likely to develop

NAFLD (52.6% and 29.6%, respectively) than participants who did not carry minor alleles in either of these genes (n=57) (p 0.018).

Conclusion: A significant association was found between *PNPLA3* and *TM6SF2* gene variants and laboratory parameters according to NAFLD status in obese adolescents in Turkish population. The relationship between genetic variants and NAFLD should be evaluated with further research on this subject.

Key words: Obesity, adolescent, NAFLD, *PNPLA3*, *TM6SF2*



1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1. Giriş

Çocukluk çağı obezitesinin prevalansı dünya çapında önemli bir artış göstermektedir. Bu durum, çocuklarda karaciğer hastalıklarının en yaygın formu haline gelen alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) dahil olmak üzere çok sayıda komorbid komplikasyona yol açmaktadır (1). Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) artık dünya çapında en yaygın karaciğer hastalığı olarak kabul edilmektedir ve basit steatozdan alkolik olmayan steatohepatite, fibroze ve nihayetinde siroz ve hepatoselüler karsinomaya kadar geniş bir hastalık yelpazesini kapsar (2).

Hastalığın etyolojisinin anlaşılmasındaki kayda değer ilerlemeye rağmen, pediatrik NAFLD'de karaciğer hasarının başlaması ve ilerlemesinde yer alan patofizyolojik mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır. Temel olarak belirli yağların ve/veya karbonhidratların yüksek alımı ile birlikte, sedanter davranışlarla karakterize edilen sağlıklı yaşam tarzı, çocuklarda NAFLD'nin ana tetikleyicisi gibi görünmektedir. Genetik ve epigenetik faktörlerin NAFLD'nin gelişimini hızlandırdığı düşünülmektedir. (3, 4).

Genom çapında ilişkilendirme çalışmalarında (GWAS) genetik varyantların ortaya çıkışı, hepatik yağ ve NAFLD'nin en önemli ortak spesifik genetik belirleyicilerinin tanımlanmasına yol açmıştır. Patatin benzeri fosfolipaz alanı içeren 3 geni (*PNPLA3*) ve Transmembran 6 üst aile üyesi 2 (*TM6SF2*), NAFLD gelişimi için ana genetik varyantları olan 2 önemli gendir (5). Tüm etnik gruplarda NAFLD gelişimi için en iyi bilinen kalıtsal risk faktörü, *PNPLA3*'ün *I148M* protein varyantı ile sonuçlanan *rs738409 C>G* tek nükleotid polimorfizmidir. Bu gen 22. kromozom üzerinde bulunur ve patatin benzeri fosfolipaz ailesine aittir. Bu gen ekspresyonunun diyet, obezite, kanda insülin/ glikoz seviyeleri ve gen mutasyonu dahil olmak üzere çeşitli faktörlerden etkilendiği belirlenmiştir. *PNPLA3*, karaciğerde ve yağ dokusunda bulunan ve karaciğer yağ seviyelerinin düzenlenmesinde rol alan adiponutrin adlı bir proteini kodlar (6). Tek nükleotid polimorfizmi (SNP) olan *PNPLA3* geninin 444. bölgesinde sitozin yerine guanin gelmesi (*rs738409 C>G*), enzimin aktif bölgesinde (*I148M*) kodlama dizisinin 148. aminoasit pozisyonunda izolösin amino asiti yerine metiyonin gelmesine sebep olur (7). Bu tek nükleotid polimorfizminin enzimin işlevini baskılayarak intrahepatik trigliserid birikimine ve bunun sonucunda mikrovasküler steatoz gelişimine yol açtığı gösterilmiştir (8).

TM6SF2 (*Transmembran 6 üst aile üyesi 2*) ise karaciğerde lipid metabolizmasının düzenlenmesinde rol alan gen lokusu olarak bilinmektedir. Ağırlıklı olarak karaciğer, ince bağırsak ve böbrekte eksprese edilir. Karmaşık NAFLD patofizyolojisinde *E167K TM6SF2* varyantına yol açan tek nükleotid *rs58542926 C>T* polimorfizmi tespit edilmiştir. Genin 499. bölgesinde guanin yerine adenin bazı gelmesi ile sonuçlanan bir nokta mutasyonu, yani *E167K* genetik varyantı, proteinin 167. kodlanma bölgesinde glutamatın lizine ikame edilmesine yol açar. Bu değişiklik *TM6SF2* proteininin enzimatik aktivitesinde bozulmasına neden olur. Hepatik lipid birikimine ve dolaşımdaki lipid ve lipoproteinlerin düşük seviyelerine neden olan patolojik varyantın, lipid salgı yolunu bozduğu gösterilmiştir. Artan karaciğer yağ içeriği NAFLD, ilerlemiş karaciğer fibrozu ve siroz gelişimi ile ilişkilidir (9, 10).

1.2. Amaç

Çocuklarda NAFLD'nin genetik yönden etyolojik araştırmalarında kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur. *PNPLA3* ve *TM6SF2* genleri NAFLD etyopatogenezinde en çok suçlanan genlerdendir. Bu çalışmada çocuk ve ergenlerde obezite eşliğinde sıklığı giderek artan NAFLD'nin gelişiminde *PNPLA3* ve *TM6SF2* genlerinin rolü, sonuçların klinik parametrelerle karşılaştırılarak ilişkili olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Etiyolojinin tam olarak açıklanamamasına bağlı olarak, tanı ve tedavi yöntemleri konusunda da araştırmalar devam etmekte olup, özellikle tedavi konusunda etiyojinin aydınlatılmasının önemi özellikle vurgulanmaktadır. Genetik ve epigenetik risk faktörlerinin belirlenebilmesi ile çocuk ve ergen NAFLD hastalarında tanı ve tedavi konusunda ilerleme kaydedileceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. OBEZİTE

Obezite ve komplikasyonları çocuklarda ve ergenlerde hızla artan bir halk sağlığı sorunudur (11). Günümüzde sıklığı ciddi anlamda artmaya devam etmekte olup, neredeyse malnütrisyon ve bulaşıcı hastalıklar gibi geleneksel sağlık sorunlarının yerini almaktadır (12).

2.1.1. TANIMI

Obezite kelimesinin kökeni, Latince’de “obedere” (aşırı yemek) fiilinden gelir. Obezite sağlık açısından risk oluşturacak oranda vücutta anormal ve aşırı yağ birikimi olarak tanımlanır. Aynı yaş ve cinsiyetteki çocuk ve ergenlerle kıyaslandığında vücut kitle indeksinin (VKİ) %85’in üzerinde olması veya 1 standart sapmadan büyük olması fazla kiloluluk, %95’in üzerinde veya 2 standart sapmanın üzerinde olması obezite olarak kabul edilir (13, 14). Vücut kitle indeksi, vücut ağırlığının boy uzunluğunun karesine bölünmesiyle (kg/m^2) hesaplanır ve bu hesaplama iki yaş üzerinde kullanılmaktadır (15).

2.1.2. PREVALANSI

Dünya Sağlık Örgütü’ne (DSÖ) göre obezite prevelansı 2016 yılında 1975 yılına göre üç kat artmıştır (16) ve 5-19 yaş arası aşırı kiloluluk veya obeziteden etkilenen çocuk ve ergenlerin sıklığı %4’ten %18’e çıkmıştır (14). Dünyada 5 yaş altı 38,2 milyon çocuğun fazla kiloluluk ve obeziteden etkilendiği 2019 yılında yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (7).

Ülkeler arasında obezite sıklığı ırk ve etnik kökene göre değişiklik göstermektedir (17). Daha önce yüksek gelirli ülkelerde daha çok görülen obezite sıklığı, düşük ve orta gelirli ülkelerde ve özellikle kentsel ortamlarda da hızla artmaya devam etmektedir (18). Gelişmekte olan bazı ülkelerde obezite görülme sıklığı hala düşük olmakla birlikte, batılı ve sanayileşmiş ülkelerde daha yüksektir. Obezite görülme oranı Güney Amerika ve Doğu Akdeniz’de %30-40 civarında olup, Avrupa’ya (%20-30), Güneydoğu Asya’ya (%10-20), Batı Pasifik’e (%10-20) ve Afrika’ya göre daha yüksektir (19). Türkiye’de ise 2019 yılında Yardım ve ark. (20) tarafından yapılan bir çalışmada çocuklarda obezite oranının %14,6 olduğu görülmüştür. Bu oran yüksek sosyoekonomik düzeyi olanlarda, düşük sosyoekonomik düzeyi olanlara göre anlamlı olarak

yüksek saptanmıştır (20). Yine ülkemizde yapılan bir çalışmada ergenler arasında obezite sıklığı %12,8 olarak bildirilmiştir (21).

2.1.3. OBEZİTE ETYOPATOGENEZİ

Obezite çoğunlukla kalori alımı ve enerji harcaması arasında olan dengesizlikten kaynaklanmaktadır. Beslenme alışkanlıkları, fiziksel aktivite, sosyoekonomik durum, genetik faktörler, uyku düzeni, ekran süresi, psikolojik sorunlar, ilaçlar, endokrin bozukluklar ve birçok diğer faktör obezite etyopatogenezinde yer alabilir (22, 23).

2.1.3.1. Beslenme alışkanlığındaki yanlışlar: Obezite oluşumun temelinde ihtiyaçtan fazla kalori alımı vardır. Enerji yoğunluğu, vücut ağırlığı kontrolünde önemli bir faktör olup, bir yiyecek veya içeceğin birim ağırlığı başına enerji miktarı (gram başına kilokalori) olarak tanımlanan kavramdır. Su, enerji yoğunluğundaki değişkenliğin çoğunu oluşturur ve enerji eklemeden önemli miktarda ağırlık sağlar. Diyet lifi de besinin ağırlığına katkı sağlar ancak enerji miktarı azdır. Yani su ve/veya lif oranı yüksek gıdaların enerji yoğunluğu daha düşüktür. Diyetteki yağlar gram başına en fazla enerji sağladığından, yağ oranı yüksek olan yiyeceklerin enerji yoğunluğu daha fazladır. Düşük enerji yoğunluğu olan besinlerin alınması, enerji alımının azalmasına ve tokluğa neden olur (24-26). Tat bakımından lezzetli, ancak yüksek enerji yoğunluğu ve glisemik orana sahip ultra işlenmiş gıdaların yaygın olarak pazarlanması, yetişkinler dahil çocuk ve ergenlerde obezitenin dünyaca yaygınlık kazanmasının nedenlerinden biridir (25).

Obezitesi olan çocuk ve ergenlerde yüksek oranda düzensiz yeme tutum ve davranışları görülmektedir (27). Yüksek kalori ve glisemik yüke sahip fastfood tüketiminin kentsel alanlarda artması obeziteye katkı sağlamaktadır (28). Kırsal alanlarda da ailelerin düşük kazancı nedeniyle sağlıklı besinlere ulaşımın daha zor olması ve obeziteyi önlemeye yönelik programların sürdürülememesi nedeniyle obezite sıklığı daha fazla artmaktadır (29).

Standart bir tanım olmayışı ile beraber, aile ile birlikte ev yemeği tüketen ailelerde çocuk ve ergenlerin sağlıksız beslenmeye karşı korunabileceği, obezite ihtimalinin azaltılabileceği bildirilmiştir. Tek başına akşam yemeği yiyen kızlarda aşırı kiloluluk riskinin arttığı gösterilmiştir (30, 31).

Yeme sıklığı, ana öğün ve ara öğünlerin günlük tüketim sıklığının toplamı olarak tanımlanır. Yüksek yeme sıklığı çocuklarda ve ergenlerde daha düşük vücut ağırlığı durumuyla

ilişkilendirilmiş, ancak bu ters ilişkiyi doğrulamak için daha fazla çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (32).

2.1.3.2. Sedanter yaşam: Fiziksel aktivite kılavuzları 5-18 yaş arası çocukların günde en az 60 dakika orta-şiddetli fiziksel aktivite yapmalarını önermektedir. Ancak çocuklar büyüdükçe özellikle ergenlik döneminde fiziksel aktivitede azalma, ekran başında harcanan sürede artış görülmektedir. Çocuk ve ergenlerin yaklaşık yarısının ekran maruziyetinin günlük önerilen ortalama sürenin (2 saat) üzerine çıktığı çoğu çalışmada gösterilmiştir (33, 34). Ekran başında geçen sürenin artması, kalori harcanmasında azalmaya ve reklamlar sayesinde yüksek kalorili yiyeceklerle olan merakın artmasına olanak sağlamaktadır (35, 36). Özellikle COVID-19 salgını sırasında okulların kapanması, fiziksel aktivitede azalma, ekran süresinde artmaya bağlı çocuk ve ergenlerde obezite sıklığının arttığı bilinmektedir (37, 38).

2.1.3.3. Yaş: Çocukluk çağında obezite gelişme oranı yaşla beraber artmaktadır. Bu oranın 5-9 yaş arası çocuklarda %27,5 iken, 10-14 yaş arası çocuklarda %38.5 olduğu gösterilmiştir (39).

2.1.3.4. Cinsiyet: Kızların aynı yaştaki erkeklere oranla daha fazla yağlanma, daha fazla insülin direnci, daha düşük leptin düzeyleri, daha düşük fiziksel aktivite düzeylerine sahip oldukları ve fiziksel aktiviteden daha fazla fayda gördükleri bildirilmektedir (40, 41). Ancak ülkemizde çocuk ve ergenlerde obezite gelişiminde cinsiyet faktörünün etkisini gösteren çelişkili bulgular içeren ($K > E$, $E > K$, $E = K$) çalışmalar vardır (16,37-39).

2.1.3.5. Uyku: Uyku yetersizliği sonucu oluşan sirkadiyen ritim bozukluğu, kortizol ve iştah hormonlarından ghrelin düzeyini arttırarak, leptin düzeyini ise azaltarak kilo alımı oluşturmaktadır (42). Yetersiz uyku süresi, yorgunluk yaratması nedeniyle fiziksel aktivitede azalma yaparak, kalori harcamasında azalma ve daha fazla gıda tüketimi sonucu kalori birikimine yol açabilir (42, 43).

2.1.3.6. Anne sütü alımı: On iki ülkeyi kapsayan çok uluslu kesitsel bir çalışmada çocuklarda emzirmenin çocuk ve ergen yaşlarda obezite ve yüksek vücut yağı açısından koruyucu bir faktör olduğu gösterilmiştir (44). Bu durum, emzirilen bebeklerin mama alanlara kıyasla farklı hormonal tepkilere maruz kalması ile açıklanmaktadır. Mama alan bebeklerde insülin salınımının daha fazla olduğu ve yağ birikimine yol açtığı düşünülmektedir (45).

2.1.3.7. İntrauterin dönem: Düşük doğum ağırlığına sahip yetişkinlerde daha az kas kitlesi ve yağ oranında artış görülür. Yüksek doğum ağırlığı da obezite ve tip 2 diyabetes mellitus (Tip2 DM) ile ilişkilendirilmiştir. Sonuç olarak düşük veya yüksek doğum ağırlığına sahip olma yaşamın ilerleyen dönemlerinde olumsuz metabolik denge ile ilişkilidir (46). Annenin beslenmesi fetal metabolik programlanmayı belirler, yetersiz beslenen annelerin çocuklarında ileride aşırı kiloluluk ve obezite artışı görülür. Ayrıca annesi fazla kilolu, obez olan veya annesi gebelikte önerilenden daha fazla kilo alan, annede gestasyonel diyabet olan çocuklarda da obezite riskinin arttığı bilinmektedir (47).

2.1.3.8. Sosyoekonomik etkenler: Sosyoekonomik düzeyi düşük olan ailelerde ve mahallelerde yetişen çocukların sağlıklı gıdalara ve fiziksel aktivite yapacak ortamlara erişiminin zor olması nedeniyle obezite sıklığının fazla olduğu gösterilmiştir (48). Ayine ve ark.nın yaptığı güncel bir çalışmada eğitilmiş ebeveynlerin, özellikle eğitilmiş annelerin kendilerine ve çocuklarına sundukları gıdaları daha sağlıklı seçmesine bağlı olarak, bu ailelerde obezite oranı daha az görülmüştür. Tam tersi, lise ve altı eğitime sahip annelerin çocuklarına yemek yeme konusunda daha fazla baskı yaptığı gösterilmiştir (49). Ancak bu ilişki sosyokültürel olarak değişkenlik göstermektedir. Batı ülkelerinde anne eğitimi ile çocukluk çağı obezitesi ters orantılı olsa da, İran ve Çin gibi orta gelirli ülkelerde yapılan çalışmalar bunu desteklememiştir (50, 51). Yardım ve ark.nın yaptığı çalışmada Türkiye’de sosyoekonomik durumu düşük ve orta olan ailelerde, annelerin eğitim düzeyi yükseldikçe çocuklarında obezite sıklığının arttığı gösterilmiş; ancak bu ilişki yüksek sosyoekonomik duruma sahip olan ailelerde gösterilememiştir (20).

2.1.3.9. Hormonal ve metabolik nedenler: Hipotiroidizm, Cushing sendromu, büyüme hormon eksikliği, psödohipoparatiroidizm, hiperinsulinizm gibi hormonal hastalıklar da obezite sebebi olabilir. Bu endokrinolojik bozuklukların sebep olduğu obezite, hastalığın tedavisi sonrasında daha hızlı düzelme gösterir (52, 53).

2.1.3.10. Genetik nedenler: Genetik obezite sendromları genelde erken başlangıçlı olmaktadır (54). Obezitenin genetik nedenleri; 1) sendromik obezite: Prader-Willi, Fragil X, Bardet-Biedl, Smith-Magenis vs gibi sendromlar ve 2) hipotalamik leptin-melanokortin yolunda görev alan genlerin (*POMC*, *PCSK1*, *MC4R*, *LEP*, *LEPR*, *MYT1L*, *MRAP2*, *BONF*, *SIMI*, *ADCY3*, *NTRK2*, *SH2B1*, *MAGEL2*, *HDAC4*, *TUB*, *KSR2*, *SRC1*, *TRAPPC9*) patojenik varyantından kaynaklanan monojenik obezite olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (55, 56).

2.1.3.11. Psikolojik nedenler: Ergenlerde obezite ve depresyon arasında çift yönlü ilişki mevcuttur. Depresyonda olan ergenlerde iştah ve diyet değişiklikleri, fiziksel aktivitede azalma, uyku düzensizlikleri obeziteye neden olabilir. Bu ilişki kadınlarda daha yüksek saptanmıştır (57, 58). Yeme bozuklukları (örn. bulimia nervoza, dürtü bozukluğu) da özellikle ergen kızlarda obezite nedeni olabilir (59).

2.1.3.12. İlaçlar: Obezite yapan ilaçlardan en iyi bilinenleri çok fazla kullanım endikasyonu olan kortikosteroidlerdir. Trisiklik antidepresanlar da Çocuk Psikiyatri birimlerinde en çok kullanılan ve pozitif enerji dengesi sonucu kilo alımı yapan ilaçlardır (60). Propranolol, antidiyabetikler (insülin, insülin salgılatıcı ilaçlar), antipsikotikler (klozapin, risperidon, olanzepin, lityum) ve bazı antiepileptikler (valproik asit ve karbamazepin) kilo alımı yapan ilaçlardandır (61).

2.1.4. OBEZİTE TANISI

İki yaş ve üzeri çocuk ve ergenlerde obezite tanısı için VKİ kullanılmaktadır. Vücut kitle indeksi, boya göre hesaplanan bir ağırlık ölçüsüdür. Kilogram cinsinden ağırlığın metre cinsinden boyun karesine bölünmesiyle hesaplanır (62). Yaş ve cinsiyete göre VKİ z skoru 1-2 SDS arası aşırı kilolu, VKİ z skoru $\geq$ SDS olması obezite olarak tanımlanır (54). Vücut kitle indeksi hesaplaması, yağlanmanın doğrudan bir ölçümü değildir. Ancak VKİ referans eğrileri ile birlikte çocuk ve ergenlerde obezite teşhisinde en iyi tanı aracıdır.

Vücut yağının ve deri kıvrım kalınlığının çift yönlü X-ışını absorpsiyometrisi (DEXA) değerlendirilmesi kesin tanı için kullanılabilir, ancak klinik olarak kolay erişilebilir bir ölçüm değildir (34). Alternatif olarak bel çevresi, bel-kalça çevresi oranı vücut yağ dağılımını gösteren ölçümlerdendir. Bel çevresi esnemeyen mezura ile hasta ayaktaiken en alttaki kosta ile iliyak krista arasında mesafenin ortasından ölçülmektedir. Abdominal obezite yaşa, cinsiyete ve coğrafyaya göre yüzdelik eğriler ile bel çevresine bakılarak söylenebilir (63). Abdominal obezite, kardiyometabolik riskle doğrudan ilişkilidir (64). Bel-kalça oranı yukarıda belirtildiği gibi ölçülen bel çevresinin kalçanın en geniş yerinden esnemeyen mezura ile ölçümüne oranı ile hesaplanır. Çocuklarda ve ergenlerde belirli standardizasyon olmadığı için kullanımı sınırlıdır (65).

2.1.5. OBEZİTE KOMPLİKASYONLARI

2.1.5.1. İnsulin direnci/ Tip 2 DM: Obezite ile ilgili en sık görülen metabolik bozukluk insülin direncidir. İnsülin direnci, insülinin fizyolojik etkiyi sürdürebilmesi için normale göre daha

yüksek konsantrasyonda olmasıdır (66). Obezitenin insülin direncine neden olma mekanizmaları multifaktöriyeldir. Bunlara örnek olarak, artan yağ dokusuna bağlı olarak serbest yağ asitlerinde artış, hormonlar, proinflamatuvar sitokinler gösterilebilir. İnsülinin kas ve yağ dokusu tarafından glukoz kullanımını uyarma ve hepatik glukoz üretimi ve çıkışını baskılama yeteneğinde azalma oluşur (67). İnsülin direncinin değerlendirilmesinde standartlaştırılmış ölçüm yoktur. Altın standart Öglisemik Hiperinsülinemik Klep tekniğidir, ancak kullanımı invaziv ve zordur. Klinikte daha çok Homeostatik Model İnsülin Direnci (HOMA- IR) ve oral glukoz tolerans testi (OGTT) kullanılmaktadır. HOMA-IR, açlık glukozu ve açlık insülin değerine göre hesaplanan matematiksel homeostatik modeldir.

HOMA-IR= Açlık insülin düzeyi (mU/L) x Açlık glukoz düzeyi (mg/dL)/405 HOMA-IR değeri insülin direnci ile doğru orantılıdır. HOMA-IR'nin eşik değeri 2,5'dir, ancak ergenlik döneminde fizyolojik olarak bir artış gösterip, ergenliğin sonunda normale dönmektedir (66-68).

Obezitede ilk önce insülin direncine bağlı olarak, normal glukoz metabolizmasını dengelemek için hiperinsülinemi gelişir; zamanla insülin direncindeki artış hiperinsülinemi ile de glukoz metabolizmasında dengeyi sağlayamayacak boyut alır ve bu duruma β hücre hasarı da eşlik etmeye başlar, neticede hiperglisemi, yani Tip 2 Diyabet Mellitus (Tip 2 DM) oluşur (69). Tip 2 DM nefropati, retinopati, nöropati gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilir. Bir zamanlar yetişkin diyabeti diye adlandırılan Tip 2 DM obezite sıklığının artması ile beraber çocuklarda ve ergenlerde de artış göstermeye başlamıştır (70). Amerikan Diyabet Derneğine göre Tip 2 DM tanısı çocuklarda da erişkinlerdeki gibi açlık kan şekerinin >126 mg/dL veya rastgele kan şekerinin >200 mg/dL olması ile konulur. Ayrıca tanıda Hemogloblin A1c (HbA1c) düzeyinin de yeri vardır ve HbA1c >%6,5 olması Tip 2 DM, HbA1c %5,7-%6,4 arasında olması Tip 2 DM gelişme riski yüksek olarak kabul edilmektedir (71).

2.1.5.2. Dislipidemi: Fazla kilolu ve obez çocuk ve ergenlerde normal akranlarına kıyasla dislipidemi görülme sıklığı daha fazladır. Obezite ile ilişkili dislipidemi, artmış trigliserid, LDL, total kolesterol ve azalmış HDL değeri ile karakterizedir. Abdominal obezitesi olan çocuklarda, normal vücut ağırlığı olan çocuklara göre dislipidemi görülme sıklığı daha fazladır. Yüksek VKİ değerleri olan çocuk ve ergenlerde lipid metabolizma bozukluklarından daha çok trigliserid ve LDL değerlerinde yükselme olup, total kolesterolde artma daha az görülmektedir (72, 73).

2.1.5.3. Hipertansiyon: Obez hastalarda sempatik aktivasyonun ve dolayısıyla vasküler direncin artmasına bağlı olarak hipertansiyon geliştiği düşünülmektedir. Hiperinsülinemi sempatik adrenerjik uyarıyı arttırmakta, ancak periferik vasküler dirençte azalma yaparak tansiyonu dengelemektedir. Ancak kronik hiperinsülinemide sempatik aktivite artmasına rağmen, periferik vasküler dirençte azalma olmaz ve denge bozulduğu için hipertansiyon gelişir (74). Hipertansiyon riski, normal çocuklarla karşılaştırıldığında fazla kilolu çocuklarda 1,7 kat, obez çocuklarda 2,6 kat, morbid obez çocuklarda 3,7 kat artmıştır (75).

2.1.5.4. Hepatosteatoz/Steatohepatit: NAFLD başlığı altında ayrıntılı bilgi verilmiştir.

2.1.5.5. Polikistik over sendromu: Ergen kızların en sık görülen endokrinolojik sorunudur. Polikistik Over Sendromu (PKOS) obezite ve insülin direnci ile ilişkilidir. PKOS prevalansı %5-%15 arasındadır. Obeziteye bağlı kronik inflamasyon durumu insülin duyarlılığını bozarak over fizyolojisini de negatif etkiler. Ayrıca hiperinsülinemi overlerden aşırı androjen üretimini aktive ederek PKOS'a sebep olur. PKOS'un ergen kızlarda tanı kriterleri adet düzensizliği ve klinik/laboratuvar hiperandrojenizmin bir arada olmasıdır (76-78).

2.1.5.6. Metabolik sendrom: Kardiyovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar ve Tip 2 DM riskinde artış ile ilişkilidir (79). Yetişkinlerde abdominal obezite, hiperglisemi/insülin direnci/hiperinsülinemi, hipertansiyon ve dislipideminin kriterlerinden üçünün olması metabolik sendrom olarak bilinmektedir (80); ancak çocuk ve ergenlerde standart bir tanımı yoktur (81). Ergenlerde sıklıkla Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tanımları ve Ulusal Kolesterol Eğitim Programı'nın Yetişkin Tedavi Paneli'ni (NCEP-ATPIII) baz alarak Cook ve ark.nın tanımladığı kriterler kullanılmaktadır (82).

Tablo 1. Metabolik sendrom kriterleri

Kriterler	BÇ	KB	TG	cHDL	AKŞ	Tanımlayıcı kriter	Yaş
IDF(83)	>90p	$\geq 135/85$ mmHg	≥ 150 mg/dl	≤ 40 mg/dl	≥ 100 mg/dl	Obezite ve ≥ 2 kriter	10-15 yaş
Cook ve ark. (84)	>90p	Sistolik veya diyastolik ≥ 90	≥ 110 mg/dl	≤ 40 mg/dl	≥ 110 mg/dl	≥ 3 kriter	12-19 yaş

BÇ: bel çevresi, KB: kan basıncı, TG: trigliserid, cHDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, AKŞ: açlık kan şekeri

2.1.5.7. Psödotümör serebri: Baş ağrısı, görme bulanıklığı, görme kaybı, mide bulantısı, kusma belirtileri ile seyreden, beyin omurilik sıvı (BOS) basıncının 25 cm H₂O üzerinde olması ile karakterize bir durumdur. Erişkinlerde daha çok kadın cinsiyette sık görülen psödotümör serebri, çocuk ve ergenlerde cinsiyetler arasında farklılık göstermemektedir. Psödotümör serebri normal VKİ olan çocuk ve ergenlerde de görülebilmekle beraber, daha sık obezitesi olan çocuk ve ergenlerde görülmektedir (85, 86).

2.1.5.8. Uyku apnesi: Uyku ve obezite karşılıklı ilişki halindedir. Obezite, uyku apne sendromunun gelişiminde bir risk faktörüdür. Obstrüktif uyku apnesinin bulguları horlama, gündüz uyku hali ve yorgunluktur (87).

2.1.5.9. Astım: Artmış yağ dokusu, artmış inflamatuvar duruma yol açar, dolayısıyla astım gelişimine ve şiddetine katkı sağlar (88).

2.1.5.10. Ortopedik sorunlar: VKİ fazla olanlarda kemik mineral yoğunluğunun (KMY) daha fazla olduğu gösterilse de bu durum fazla kiloya bağlı kırık riskini azaltmamakta, tam tersi obezitesi olan bireylerde kırıklara eğilimi arttırmaktadır ve buna “obezite paradoksu” denilmektedir (89, 90). Geni valgum, osteoartrit, femur başı epifiz kayması, tibia vara (Blount hastalığı) gibi ortopedik sorunların daha çok obez çocuk ve ergenlerde olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (91-93).

2.1.5.11. Psikolojik sorunlar: Aşırı kilolu ve obez ergenler depresyon, düşük öz benlik saygısı, sosyal damgalanma, zorbalık gibi psikolojik sorunlara maruz kalmaktadırlar. Sosyal olarak damgalayıcı yorumlar bu çocuk ve ergenleri daha çok evde kendi içlerine kapanarak zaman geçirmelerine neden olmaktadır. Okulda da aynı psikososyal sorunlarla karşılaşan aşırı kilolu ve obez ergenlerin akademik başarılarının da normal kilolu akranlarına göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (59, 94).

2.1.5.12. Dermatolojik sorunlar: Akantoz nigrikans, akrokordonlar, keratoz pilaris, intertrigo ve folikülit gibi bakteriyel cilt enfeksiyonları obez ergenlerde yaygındır (95).

2.1.6. OBEZİTE TEDAVİSİ VE YÖNETİMİ

Obezitenin en iyi yönetimi obeziteyi önlemektir. Önleyici stratejilerde obezite salgınının durdurulması için bu müdahalelerin anne, fetüs ve erken çocukluk dönemine kadar geriye

gitmenin daha etkili olabileceği düşünülmektedir. Yukarıda belirtildiği gibi anne beslenmesi fetal metabolik programlanmayı belirlediği için çocukluk ve ergenlik çağı obezitesini önlemek için gebelikte kilo alımının izlenmesi, yeterli ve sağlıklı anne beslenmesinin sağlanması, gebelik sırasında uygun fiziksel aktivitenin sağlanması, önceden var olan diyabetin veya gestasyonel diyabetin taranması ve tedavisi önemlidir (96). İlk 6 ay sadece anne sütü alma ve anne sütü ile beslenmeye 2 yıla kadar devam etme, muhtemel hormonal ve davranışsal mekanizmalar ile yağlanma ve metabolik sendroma karşı koruyucu etki göstermektedir (47, 97).

Ergenlerde obezite tedavisinin başında tüm yaş gruplarında olduğu gibi yaşam tarzı değişiklikleri yer almaktadır. Öncelikle ergene ve ailesine obezitenin komorbiditeleri hakkında bilgi verilmeli, ergenle konuşurken psikolojik baskı oluşturmamaya, özgüvenini sarsmamaya dikkat gösterilmelidir. Önerilere tüm aile bireylerinin uyması ve sağlıksız davranışların tüm aile bireyleri tarafından değiştirilmesi sağlanmalıdır. Aile temelli tedavi (FBT- family based treatment) çocuğun kilo kaybını desteklemek için diyet, davranış değişikliği, fiziksel aktivite ve ebeveyn becerilerini hedef alan, çocukluk çağı obezitesine yönelik ampirik olarak desteklenen bir tedavi yöntemidir. FBT’da trafik ışığı sistemi olarak yiyecek ve etkinlikler sınıflandırılır. Yüksek enerjili yoğun gıdalar ve ekran başında geçirilen uzun zaman “KIRMIZI” ışığı temsil eder. “YEŞİL”e düşük enerjili yoğun gıdalar (örneğin çoğu meyve ve sebze) ve orta-yoğun fiziksel aktiviteler dahildir. Yapılan çalışmalarda “KIRMIZI” gıda tüketiminin azaltılması kilo yönetimine pozitif etki sağlamıştır. Ek olarak, evdeki elektronik cihazların sayısının azaltılması vücut ağırlığı ölçümlerinin iyileşmesi ile ilişkilendirilmiştir (98-101).

Çocuk ve ergenlerin en çok zaman geçirdikleri yerlerden birisi de okul olduğu için burada fiziksel aktivitelere daha fazla teşvik edilmesi için ekipmanlar, spor yapılacak alanlar düzenlenmesinin etkin olabileceği gösterilmiştir. Okul temelli müdahaleler VKİ’de azalmaya yol açsa da veriler obezite üzerinde kesin olarak olumlu değildir, ancak obezitesi olmayan çocuklarda normal VKİ’yi korumakta etkili olarak gösterilmiştir (36, 102, 103).

Obezite tedavisinde etkili olan ilaçların çocuklar üzerinde uzun vadeli etkileri net değildir. Çocuk ve ergenlerde obezite tedavisinde son zamanlarda hakkında en çok çalışmalar yapılan üç ilaç popülerlik kazanmıştır; metformin, sibutramin ve orlistat (69).

Metformin, yaşam tarzı değişikliği ile birlikte kullanıldığında VKİ’de orta derece azalma ve açlık insülininde azalma ile sonuçlanmıştır. Kilo azaltıcı etkisini hepatik glukoz üretimini

azaltarak, insülin duyarlılığını iyileştirerek, yağ oksidasyon ve depolanmasını düzenleyerek yapar. Metformin 10 yaşından büyük Tip 2 DM tanılı ergenler için FDA onaylıdır, obezitede endikasyon dışı kullanılmaktadır. Ağızda metalik tat, mide bulantısı, kusma, karın ağrısı, karında şişkinlik gibi gastrointestinal yan etkileri bilinmektedir (69, 104).

Fentermin/topiramet, 12 yaş üzeri ergenlerde FDA onaylı bir ilaçtır. Etki mekanizması norepinefrin gerilim inhibisyonu, hipotalamik glutamat nörotransmisyonunun azaltılması ve nöropeptit Y düzeyinin düşürülmesi üzerindendir; ayrıca mide boşalmasında gecikme ve enerji tüketiminde artış yapmaktadır. Hamilelik, glokom, hipertiroidizm, epileptik nöbet, böbrek taşı ve depresyon öyküsü olanlarda kontrendikedir (105).

Glukagon benzeri peptit 1 (GLP-1) analogu olan **Liraglutid** de 12 yaş üzerinde FDA onayı olan, obezite ve Tip 2 DM durumunda kullanılabilen ilaçtır. Liraglutid postprandiyal insülin seviyesini artırır, glukagon seviyesini azaltır, mide boşaltılmasını geciktir ve iştahı azaltır (106).

Orlistat, >12 yaş ergenlerde FDA onayı olan bir ilaçtır. Mide ve pankreas lipazlarını geri dönüşümlü inhibe ederek etki gösterir. Yemeklerle birlikte günde 3 kere kullanılır. Hamilelikte, kolestaz öyküsü olanlarda ve malabsorbsiyonda kullanımı kontrendikedir (107, 108).

Sibutramin, serotonin (5-hidroksitriptamin: 5-HT) ve norepinefrin geri alım inhibitörüdür. Tokluk hissini arttırarak, açlığı azaltarak etki gösterir. Kardiyovasküler sistem üzerinden olumsuz etkileri gösterilmiştir (109).

Bariatrik cerrahi tedavi, yaşam tarzı değişikliği, diyet tedavisi ve farmakolojik tedavilere yanıtı az ileri dereceli (VKİ >35kg/m²), kardiyometabolik sorunu olan obez çocuk ve ergenlerde son tercih tedavi yöntemidir (64).

2.2. NON-ALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI (NAFLD)

2.2.1. NAFLD TANIMI

Non-alkolik karaciğer hastalığı, steatozdan steatohepatite kadar geniş spektrumunu içeren, sekonder sebeplerin (alkol kullanımı, viral hepatitler, otoimmün hepatitler, çölyak hastalığı, Wilson hastalığı vb) var olmadığı, karaciğer yağlanması olarak tanımlanır. NAFLD spektrumunu basit yağ birikiminden (hepatik steatoz), steatohepatite (hepatik inflamasyon), hepatik fibroza ve siroza kadar geniş yelpaze gösterir (2). Histopatolojik olarak incelendiğinde karaciğerde yağ infiltrasyonunun hepatositlerin $>5\%$ 'i etkilemesi olarak değerlendirilmektedir (110). NAFLD fenotipleri aşağıdaki tabloda belirtilmiştir (111).

Tablo 2. Non-alkolik karaciğer hastalığı (NAFLD) fenotipleri.

Fenotip	Histoloji
NAFLD	Tüm spektrumlara verilen genel bir tanımdır. Hepatositlerin 5% 'ten fazlasında yağ birikimi
NAFL	Steatohepatit, fibroz ve siroz olmadan mevcut olan steatoz
NASH	Hepatositlerde inflamasyon mevcut, balonlaşma eşlik edebilir ya da etmeyebilir
Fibrozun eşlik ettiği NAFLD	NAFL veya NASH'a portal, preportal veya sinüzoidal veya köprü fibrozu eşlik etmesi
Sirozun eşlik ettiği NAFLD	NAFLD eşliğinde siroz

2.2.2. NAFLD PREVALANSI

NAFLD çocuk ve ergenlerde en sık görülen kronik karaciğer hastalığıdır. Küresel salgın olan obezitenin artışı ile beraber NAFLD da ona paralel olarak artış göstermektedir. NAFLD prevalansı çocuk ve ergenlerde $7,6\%$ iken, obez çocuk ve ergenlerde oranı $34,2\%$ 'ye kadar yükselmektedir. Prevalansı genel olarak erkeklerde kadınlara göre daha fazladır (112). Hastalığın yaygınlığında bölgesel farklılıklar mevcuttur; Güney Amerika ve Orta Doğu ülkelerinde prevalansı yüksek iken, Afrika'da düşüktür. İspanyol kökenli aşırı kilolu ve obez bireylerde risk daha yüksektir (112-114). Türkiye'de genel NAFLD prevalansı $48,3\%$ olarak

bilinmektedir. Çocuk ve ergenlerde otopsi üzerinden yapılan bir çalışmada ise aşırı kilolularda hepatosteatoz prevalansı %6,6 saptanmıştır (115).

2.2.3. NAFLD ETYOPATOGENEZİ

NAFLD'nin patogenezi henüz tam açıklanamamıştır. İnsülin direncinin NAFLD'nin oluşumunda ana neden olduğu düşünülmektedir (116). Karaciğerdeki yağlar üç farklı yoldan gelir: 1) besinlerle alınan (ekzojenik), 2) adipositlerden lipoliz yolu ile salınan, 3) hepatik lipogenezden oluşan. Bu yollardan herhangi birinde oluşan dengesizlik karaciğerde yağ birikimine sebep olur (117). İnsülin direnci karaciğerde lipogenezin artmasına ve yağ dokusunda lipolizin bozulmasına yol açarak yağ birikimi yapar. Ayrıca insülin direnci hafif kronik inflamasyon yaparak adipokinlerin ve inflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-6 vb.) üretimi sayesinde yağ dokusu işlev bozukluğu yapar (118).

Yağlar karaciğerde trigliserid şeklinde birikirler. Trigliserid serbest yağ asitleri ve gliserolün esterifikasyonundan oluşur, oluştuktan sonra depolanır (119). Trigliseritlerin primer olarak hepatotoksik olmadığı, öncüllerinin ve metabolitlerinin hepatositler üzerinde toksik etkisi olduğu bilinmektedir. Bu lipid ara ürünlerinin basit steatozdan steatohepatite, siroza ve hepatosellüler kansere kadar dönüşümü tetiklediği düşünülmektedir (120, 121).

Aşırı gıda alımı, işlenmiş gıda tüketimi, fazla yağ ve karbonhidrat alımı ekzojen yağların vücutta artmasına ve hepatik yağ birikimine yol açar (4).

Früktöz alımı, de novo lipogenezini aktifleştirerek toplam kalori alımından bağımsız olarak karaciğerde yağ birikimine neden olur (122).

NAFLD patogenezinde son zamanlarda genetik ve epigenetik faktörlerin de rol oynadığı gösterilmiştir. NAFLD patogenezinde en iyi bilinen DNA sekansları *PNPLA-3 rs738408* polimorfizmi, *TM6SF2 rs58542926*, glikokinaz düzenleyici (Glucokinase regülatör-*GCKR*) *rs780094*, membrana bağlı O-asil transferaz 7 (membrane bound O-acyltransferase domain containing 7- *MBOAT7*) *rs641738* steatoz ile ilişkilidir (5, 123).

2.2.3.1. NAFLD GELİŞİMİNDE GENETİK VE EPIGENETİK FAKTÖRLER

2.2.3.1.1 *PNPLA3* geni

İnsan *PNPLA3* geni 22.kromozomun uzun kolunda yerleşir, 481 amino asitlik bir protein olan adiponutrin (*PNPLA3* proteini) kodlar (124). Adiponutrin esasen karaciğerde ve yağ

dokusunda eksprese edilir ve fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir (125). Ancak hayvan ve insan temelli çalışmalarda *PNPLA3* proteinin trigliserid hidrolaz aktivitesine ve hafif düzeyde lisofosfatidik asit asil transferaz aktivitesine sahip olduğu bilinmektedir ve hem lipojenik hem de lipolitik aktivitesi olan bir enzimdir (7, 126, 127). Bu genin tek nükleotid polimorfizmi (SNP) *rs738409* olarak bilinen varyantında genin 444. Bölgesinde sitozin yerine guanin gelerek, proteinin 148. bölgesine (I148M) izolösin yerine metionin gelmesine sebep olur (124). *PNPLA3*'ün *I148M* varyantında proteinin trigliserid hidrolaz ve lisofosfatidik asit asil transferaz aktivitesi kaybolur (126).

Romeo ve ark. (4) ilk defa 2008 yılında *PNPLA3*'teki *rs738409* varyantının, yani *G* alelinin (I148M) hepatik yağlanma ile ilişkili olduğunu göstermiştir. *PNPLA3 rs738409 G* alleli homozigot olanlarda, taşıyıcı olmayanlara oranla belirgin hepatik yağlanma, inflamasyon ve yüksek ALT değeri tespit edilmiştir. Farklı etnik gruplar ile yapılan çalışmalarda *rs738409* minör (*G*) alel frekansı İspanyollarda 0,460, Kafkasyalılarda 0,305, Afrikalılarda 0,186 bulunmuştur (7).

PNPLA3- I148M varyantında karaciğerde trigliseritlerde çoklu doymamış yağ asidi tutulur ve çoklu doymamış yağ asitlerinin fosfolipitlere dahil olması azalır. Sonuç olarak trigliserid konsantrasyonunda artış olmasa bile karaciğerde trigliserid birikimi olur (128, 129).

NAFLD'ye ek olarak steatozun derecesi, steatohepatit, lobüler inflamasyon, hepatik fibroz, siroz ile *PNPLA3 G* alelinin homozigot mutant olduğu varyantla yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (130). Pediatrik hastalarda *PNPLA3* gen polimorfizmi ile ilişkili çalışmaların incelendiği bir meta-analizde, çalışmalardaki örnek sayılarının kısıtlı ve sonuçların farklılık göstermesine bakmayarak, ortak sonuç *PNPLA3 G* alelinin hepatosteatoz ve derecesi ile yakından ilişkili olduğu yönündedir (131).

PNPLA3 rs738409 gen polimorfizminin NAFLD üzerinden etkisi, kötü metabolik durum, artmış VKİ, dislipidemi, insülin direnci ile müşterektir (132). Kilo kaybının ve dolayısıyla iyi metabolik profilin, bu polimorfizmin karaciğer lipid metabolizması üzerindeki olumsuz etkisini azalttığı gösterilmiştir (133, 134).

Çocukları ve ergenleri kapsayan birçok çalışmada *PNPLA3* geninin *I148M* varyantı ve patolojik düzeyde yüksek AST ve ALT değerleri arasında anlamlı ilişki ortaya çıkmıştır. Bu ilişki aynı zamanda *PNPLA3 I148M* varyantının yüksek hepatik hasar ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Hiperglisemi ve insülin direnci doğrudan NAFLD ile ilişkili olduğu için, bu

çalışmalarda *PNPLA3 I148M* polimorfizminin açlık kan şekeri ve insülin direnci ile ilişkisi bakılmıştır, ancak anlamlı fark bulunmamıştır (133, 135). Serum trigliserid düzeyi ve *PNPLA3 rs738409* polimorfizmi arasında da ilişki bulunmamıştır (133).

İspanyollarda yapılan bir çalışmada *GG* genotipine sahip bireylerde karaciğer yağlanması *CG* genotipine oranla 1,68 kat, *CC* genotipine oranla 2,36 kat daha yüksek saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada genotipler ile diyet ilişkisi araştırılmış ve *GG* genotipi olan bireylerde karbonhidrat alımı ile karaciğer yağlanması arasında pozitif ilişki saptanmıştır (136).

PNPLA3 rs738409 varyantı aynı zamanda azalmış böbrek fonksiyonları ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. *PNPLA3 I148M* varyantı olanlarda azalmış GFR ve artmış 24 saatlik idrar proteini olduğu gösterilmiştir (137, 138).

2.2.3.1.2. *TM6SF2* geni

İşlevi henüz net belirlenemeyen, ancak hepatik trigliserid sekresyonunda rol aldığı düşünülen bir proteini kodlayan *TM6SF2* geni 19. kromozomun üzerinde yer alır (9, 10). Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) bu genin plazma lipitleri ile yakından ilişkili olduğunu iddia etmektedir. *TM6SF2* proteini karaciğer ve bağırsak hücrelerinde eksprese edilir (139). *TM6SF2* bu hücrelerden VLDL salgılanmasında rol alır (140). Bu genin 499. bölgesinde guanin yerine adenin bazı gelmesi ile sonuçlanan bir nokta mutasyonu, proteinin kodlanmasında 167. bölgede glutamatın yerine lizin gelmesine sebep olur. Bu nokta mutasyonunun literatürlerde adı *TM6SF2 rs58542926 C>T, c.499A>G, p.Glu167Lys* veya *E167K* olarak geçer (9, 141). Bu hatalı protein katlanması, proteinin hızlandırılmış hücre içi degradasyona uğramasına sebep olur, bu da *TM6SF2* protein konsantrasyonunun azalmasına ve gen fonksiyonlarının azalmasına yol açar (141). *TM2SF6* geninin inhibisyonuna sebep olan *rs58542926* varyantında trigliseritten zengin lipoproteinlerin (TRL) salgılanmasında azalma ve hücrel trigliserid (TG) konsantrasyonunda artış sonucu hepatik TG birikimine yol açtığı gösterilmiştir. Tam tersi, bu genin ekspresyonu ile hepatik steatozun azaldığı bulunmuştur (139).

Grandone ve ark. (137) tarafından 1010 obez çocuk ve ergen üzerinde yapılan araştırmada *TM6SF2 rs58542926* varyantı, hepatosteatoz artışı ve yüksek ALT düzeyi ile ilişkili bulunmuştur. Ancak bu çalışmada ilginç olarak, bu varyanta sahip olan çocuk ve ergenlerde çoğunlukla total kolesterol ve LDL kolesterolün düşük ve HDL kolesterolün yüksek olduğu saptanmıştır (142). *E167K* allel taşıyıcılarında toplam kolesterol ve TG seviyesindeki düşüklük

ve buna sekonder olarak kardiyovasküler hastalık riskinde azalma olduğu farklı çalışmalarla da desteklenmiştir (10, 143, 144).

Çocuklarda VKİ, insülin düzeyleri, doğum ağırlığı, *PNPLA3* ve *TM6SF2* gen varyantlarını temel alan birleşik risk skorunun, yetişkin NAFLD ön görmede yalnızca yaş, cinsiyet, VKİ ve insülin değerlerini içeren modelden daha üstün olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu iki mutasyondan herhangi birine sahip olmak NAFLD'ın karaciğerin ilerleyen hastalıkları; NASH, fibroz, siroz ve hepatoselüler kansere gidişini arttırdığı gösterilmiştir (145, 146). Obez olmayan, ancak *PNPLA3* ve *TM6SF2* genlerinde tek nükleotid polimorfizmi olan bireylerde NAFLD riskinde artış olmadığı gösterilmiştir. Bu yüzden de *PNPLA3* ve *TM6SF2* genlerinde risk alellerine sahip olanlarda erken sağlıklı yaşam tarzı değişiklikleri ile hepatosteatoz gelişiminin önlenmesi gerektiği vurgulanmıştır (147).

2.2.3.1.3. Epigenetik faktörler

Epigenetik, DNA dizisinde mutasyona neden olmayan, ancak gen fonksiyonlarında değişikliğe yol açan endojen ve ekzojen değişiklikleri içerir. Epigenetik modifikasyonlara DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve kodlama yapmayan RNA dahildir. Doğumdan önce ve doğumdan sonra bazı çevresel faktörlerin, epigenetik değişikliklere yol açarak NAFLD gelişme riskinde artışa sebep olduğu düşünülmektedir. Maternal obezite, gebelikte annenin fazla kilo alımı, gestasyonel diyabet, diyet gibi faktörlerin epigenetik değişiklikler üzerinden NAFLD'a yatkınlık yarattığını destekleyen çalışmalar mevcuttur (148).

2.2.4. NAFLD GELİŞİMİNE YOL AÇAN RİSK FAKTÖRLERİ

Obezite ve insülin direnci çocuk ve ergenlerde NAFLD gelişimi için ana risk faktörleridir. Tip 2 DM, metabolik sendrom ve abdominal obezite de NAFLD ile güçlü ilişki halindedir. Ergenlik döneminde geçici insülin direnci olduğu için bu dönemde obezitesi olan bireylerde NAFLD gelişme riski de artmaktadır (149, 150). Erkeklerde kadınlara göre risk iki kat artmakta olup, bu durum östrojenlerin insülin duyarlılığını artırarak karaciğerin koruyucu etki oluşturması ile açıklanmaktadır (151). Fazla kilolu ve obez bireylerde dislipidemi ve/veya hiperinsülinemi NAFLD için güçlü bir prediktör olarak kabul edilir (152, 153).

2.2.5. NAFLD VARLIĞINDA KLİNİK BULGULAR

NAFLD tanılı hastaların çoğunluğu semptomsuz seyreder. Bazı hastalarda NAFLD'a özgü olmayan karın ağrısı, yorgunluk bulguları olabilir. Vakaların %50'sinde hepatomegali

mevcuttur, ancak santral obezite nedeni ile palpasyonda belirlenmesi zordur. Spesifik klinik bulgusunun olmaması NAFLD tanısında gecikmelere yol açmaktadır (1). İnsülin direncinde görülen cilt bulgusu olan akantozis nigrikans, NAFLD'li hastalarda sıklıkla görülmektedir (3).

2.2.6. NAFLD TANISI

NAFLD değerlendirilmesi için histopatoloji altın standart olmasına rağmen, klinik olarak kullanımı güç olacağı için tanıda yardımcı belirteçler kullanılmaktadır. En sık kullanılan belirteçler alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferazdır (AST) (151, 154).

ESPGHAN (European Society for the Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition), obezitesi olan tüm çocuk ve ergenlerde yaş, cinsiyet, öykü, fizik muayene bakmaksızın NAFLD taraması amacıyla karaciğer fonksiyon testleri ve ultrasonografi bakmayı önermektedir (155). NASPGHAN (North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition) ise tüm aşırı kilolu ve obez bireylerde NAFLD için ek risk faktörlerinin olması halinde, 9 yaşından itibaren ALT bakılmasını önermektedir (111). Her ikisi de taramanın ne kadar sıklıkla yapılması gerektiğini belirtmemiştir (111, 155).

On yaş üzeri erkek çocuklarda ALT değerinin >50 IU/L, kız çocuklarda >44 IU/L olması NAFLD tanısını göstermekte %88 duyarlı olduğu, ancak spesifitesinin %26 oranında düşük olduğu belirtilmiştir, ancak taramaya ultrasonografi gibi yardımcı yöntemlerin eklenmesinin spesifiteyi %58'e kadar çıkarabileceği gösterilmiştir (156). Obezitesi olan ve ALT değeri yüksek saptanan hastaların %85'inde aynı zamanda NAFLD da mevcuttur (151, 154). Yüksek ALT değeri NAFLD tanısı için önemli bir göstergedir, ancak histolojik bulguların şiddetini göstermekte yetersizdir (155).

Konvansiyonel ultrasonografi düşük maliyetli, erişebilirliği ve noninvaziv olması sebebiyle NAFLD tanısında kullanılan önemli tanı aracıdır. Steatozun şiddetinin evrenlenmesi ultrasonografi ile gösterilebilir, ancak steatoz, steatohepatit, fibrozis arasında ayırım yapamaz. Ayrıca uygulayan kişinin deneyimine göre değişkenlik göstermektedir (157).

Hem steatozu, hem de fibrozu tespit etmekte kolaylık sağlayan noninvaziv görüntülemelerden biri de elastografidir. Basit steatozu steatohepatitten ayırt etmeye yardımcıdır (158).

Manyetik rezonans görüntüleme karaciğer yağlanmasının ve fibrozisin değerlendirilmesinde en doğru invaziv olmayan tanı yöntemidir (159). NAFLD, ultrasonografi

ve BT’de karaciğerdeki steatoz $> \%20$ olduğunda güvenilir bir şekilde tespit edilebilirken, MR ile steatoz $\%5$ olduğunda tespit edebilir (160).

ESPGHAN sadece 3 durumda; ilerlemiş karaciğer hastalığı şüphesinde, tedavi edilebilir diğer karaciğer hastalıklarını dışlamak gerektiğinde ve farmakolojik/cerrahi tedaviden önceki aşamada karaciğer biyopsisi yapılmasını önermektedir (155). Biyopsi sonucunda NAFLD’da histolojik olarak sıklıkla basit steatoz, balonlaşma, karışık lobüler inflamasyon, spesifik olmayan Mallory cisimleri, asitofil ve demir birikimi görülmektedir (161).

2.2.7. NAFLD TEDAVİSİ

NAFLD’nın başlıca tedavisi düşük kalorili diyetle kilo vermektir. Doymuş yağ, şeker, nişasta, ultra işlenmiş gıdaların kısıtlanması, beslenme alışkanlıklarının iyileştirilmesi, Akdeniz diyeti, minimal düzeyde işlenmiş gıdaların tüketilmesi faydalıdır. Obezite tedavisinin temeli olan egzersiz de çok önemlidir. Obez hastalarda $\%5$ kilo kaybı sonrasında karaciğer yağlanmasında azalma görülmektedir. Daha fazla kilo kaybı daha çok etkilidir; $\%10$ oranında kilo kaybının steatohepatit ve fibrozu bile iyileştirebileceği gösterilmiştir (162).

Diyet ve egzersiz tedavisine ek olarak aksorbik asit, omega-3 ve E vitamini takviyesi yapılan hastalarda ALT seviyelerinde, steatoz sıklığında ve VKİ’de azalma olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (163). Ancak diyet düzenlemesi ve egzersiz olmadan, tek başına E vitamini, askorbik asit ve omega-3 tedavilerinin steatozu iyileştirdiği gösterilememiştir (164).

2.2.8. NAFLD PROGNOZU

Çoğu hastada NAFLD ilerleme hızı yavaş olsa da ilerleyen yaşlarda karaciğer fibrozu, siroz, karaciğer yetmezliği ve hepatosellüler kansere kadar ilerleyebilir. Biyopsi yapılarak saptanan hepatik fibroz, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı olanlarda kötü prognostik faktördür (165). NAFLD yalnızca karaciğere bağlı morbiditeyle değil, aynı zamanda dislipidemi, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalık ve Tip 2 DM riskindeki artışla da ilişkilidir (166). Yetişkinler üzerinde yapılan bir çalışmada NAFLD’li hastaların mortalite nedenlerinin karaciğere bağlı komplikasyonlardan çok, kardiyovasküler olaylara bağlı olduğu gösterilmiştir (167).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız kesitsel ve tek merkezli bir çalışma olup, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulundan etik onayı alındı (31.03.2023 tarih ve 07 sayılı toplantı, dosya numarası: 2023/594 (Ek-1). İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Ergen Sağlığı Bilim Dalı Polikliniği'ne Nisan – Aralık 2023 tarihleri arasında başvuran, 10-19 yaş arasında olan, VKİ $SDS \geq 2$ olan ekzojen obez ergenler çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubunda herhangi bir akut veya kronik hastalığı olmayan, ilaç kullanımı olmayan, 10-19 yaş arasında olan sağlıklı ergenler çalışmaya dahil edildi.

Ergen Sağlığı Polikliniğine başvuran obez ergenlerden ayrıntılı anamnez alındı. Fizik muayeneleri hekim tarafından yapıldı ve obezite ile ilişkili ön tetkikler (AKŞ, insülin, lipid profili, böbrek ve karaciğer fonksiyon testleri) istenerek ayırıcı tanıya gidildi. Ekzojen obezite tanısı alanlar çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya kendisinin ve/veya ailesinin rızası olmayan, aileleri gönüllü onam formunu imzalamayı kabul etmeyen ergenler dahil edilmedi. Herhangi bir akut ve kronik hastalığı olan, ilaç kullanımı olan ergenler çalışmaya alınmadı. Obezitesi mevcut olan, ancak endojen nedenler saptanan obez ergenler ilgili bölümlere yönlendirildi ve çalışma dışı bırakıldı. İlaç kullanımına bağlı obezitesi gelişmiş hastalar da çalışma dışı bırakıldı.

Ekzojen obezitesi olan ergenlerde NAFLD varlığını araştırmak için üst batin ultrasonografisi istendi. Ultrasonografik görüntüleme deneyimli bir radyolog tarafından yapıldı. Ultrasonografi sonucuna göre obez ergenler hepatosteatozu olmayan (obez NAFLD (-)) ve hepatosteatozu olanlar (obez NAFLD (+)) olarak 2 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna ise 10-19 yaş arası, Ergen Sağlığı polikliniğinde rutin izlemde olan, ek hastalığı ve ilaç kullanımı olmayan VKİ -1 ila +1 SDS arasında olan sağlıklı ergenler alındı.

Dahil edilme kriterlerine uyan, çalışma için gönüllü olan ergenlerin ailelerine çalışma ile ilgili ayrıntılı bilgi verildikten sonra ailelerinden ve ergenlerden bilgilendirilmiş onam formu ile yazılı izin alındı.

Antropometrik ölçümler

Çalışmaya dahil edilen ergenlerin tamamına fizik muayene yapıldıktan sonra vücut ağırlığı, boy, bel çevresi, tansiyon bakılarak not edildi. Vücut ağırlığı ± 100 gram hassasiyeti

olan elektronik tartı ile çıplak ayaklı ve hafif giysilerle ölçüldü. Boy ölçümü duvara sabitlenmiş metre ile çıplak ayaklı, ayaklar birleştirilmiş, ergenin başı, sırtı, kalça ve topukları duvara temas ettirilerek bakıldı. Vücut kitle indeksi vücut ağırlığının (kg) boyun karesine (m²) bölünmesi ile hesaplandı. Bel çevresine esnek olmayan mezura ile gönüllü ayakta dik pozisyondayken en alttaki kosta ile iliyak krista arasında mesafenin ortasından ölçüldü. Bel çevresi ve VKİ SDS'si Neyzi ve ark. (168) oluşturduğu Türk çocukları için referans eğrilerine bakılarak not edildi. Standart sapmaya göre +2 SDS üzeri olanlar obez hasta grubu olarak kabul edildi. Kontrol grubuna VKİ SDS düzeyi -1/+1 SDS arası olanlar alındı. Kan basıncı (KB) ergenin poliklinik başvurusundan en az 15 dakika geçtikten ve dinlendikten sonra uygun manşonlu manuel manometre ile ölçüldü. APA 2017 kılavuzlarına göre 13 yaş altı çocuk ve ergenlerde kan basıncı <90. persantil – Normal, 90-95 persantil arası – Yüksek KB, ≥ 95 persantil – Hipertansiyon, 13 yaş üstü ergenlerde ise <120/80 mmHg – Normal, 120/80 ile 129/80 mmHg arası – Yüksek KB, ≥ 130/80 mmHg – Hipertansiyon olarak kabul edildi (169) Kan basıncı persantil ve SDS değerleri Çocuk Endokrinoloji ve Diyabet Derneği tarafından oluşturulmuş cinsiyet, yaş ve boya göre hesaplandı (170). (<https://www.ceddczum.com/bloodpressure>)

Görüntüleme

Obezitesi olan gruptan NAFLD varlığını ve derecesini belirlemek için 8 saat açlık sonrasında üst batın ultrasonografisi yapıldı. Ultrasonografi deneyimli ve aynı radyolog tarafından yapıldı. Hepatosteatoz tanısı ve derecelendirilmesi, karaciğer ekojenitesinin böbrek ekojenitesi ile kıyaslandığında artmasına ve damar yapılarının ve diyaframın görüntülerinin bozulmasına dayanarak tespit edildi. Karaciğer dokusu ultrasonografide homojen görünümde ve böbrek korteksine kıyasla hafif düzeyde ekoik ve izoekoik görünümdeyse normal olarak değerlendirildi. Ekojenitede hafif artma varsa grade 1 hepatosteatoz, hiperekojen karaciğer görünümü portal ven duvarının görüntüsünü engelliyorsa grade 2, hiperekojen karaciğere portal ven duvar ve diyafram görüntülenememesi eşlik ediyorsa grade 3 hepatosteatoz olarak raporlandı (171).

Laboratuvar analizleri

Tüm ergenlerin daha önce mevcut olan glukoz, HbA1c, insülin, HOMA-IR, AST, kolesterol, trigliserid, LDL, HDL, kreatinin, sT4, TSH değerleri sistemden bakılarak not edildi. Çalışmaya dahil edilen tüm ergenlerden *PNPLA3* ve *TM6SF2* polimorfizmi çalışılması için 1

mor EDTA'lı tüpe brakial venden kan alındı. Alınan mor tüpler +4 °C'de muhafaza edilerek, topluca labaratuvar analizine verildi.

Gereçler

Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- +4°C Buzdolabı (Vestel)
- -20°C Derin Dondurucu (Uğur)
- Mikrosantrifüj (Hermle Z233M-2)
- Makrosantrifüj (Hettich Rotanta 46)
- İnkübatör (Nüve EN055)
- Vorteks (LMS VTX 3000L)
- Mini santrifüj (Spin) (Tiangen)
- Isısal Döngü Cihazı (Thermal Cycler) (Applied Biosystems GeneAmp 9700 ve Benchmark TC 9639)
- Spektrofotometre (Thermo Scientific NanoDrop 2000)
- Mikrodalga Fırın (Altus)
- Hassas Terazı (Sartorius CP2245)
- Yatay Jel Elektroforez tank (Analytikjena)
- Güç kaynağı (Cleaver Scientific)
- UV-Transilluminator (Biobase)
- Otomatik Pipetler (0,5-10 µl, 20-200 µl, 10-1000 µl) (Abclonal)
- Çok kanallı otomatik Pipetler (20-200 µl, 1-10 µl) (Axygen)

Kullanılan sarf malzemeler ve kimyasallar

- 2ml mikrosantrifüj tüp (Nest)
- 1,5 ml mikrosantrifüj tüp (Nest)
- 0,2 ml PCR 8-strip tüp (Nest)
- 15 ml falkon tüp (Nest)

- Pipet uçları (10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl) (Nest)
- Cam mezür (20 ml, 1000 ml)
- 10 ml EDTA'lı tüp
- 250 ml'lik cam erlen
- Pastör pipet (Nest)
- Distile su (dH₂O)
- Dnaz/Rnaz Free Water
- % 99 etil alkol (Honeywell)
- DNA izolasyon Kiti (Elk Biotech Katalog no: GS201-01)
- Agaroz (Elk Biotech)
- Etidyum Bromid (Sigma Aldrich)
- Jel yükleme boyası (Elk Biotech)
- DNA belirteç (100 bç Ladder) (Elk Biotech)
- TAE elektroforez tampon çözelti 50X stok (Elk Biotech)
- dNTP (Elk Biotech)
- Taq DNA polimeraz enzim-5 U/µl (Elk Biotech)
- RFLP Primerleri (Sentebiolab, Probesynthesis)
- Restriksiyon endonükleaz enzimleri (BtsCI ve Hpy188I) ve tampon çözeltileri (NEB)

Yöntemler

Çalışma gruplarından 3 ml'lik EDTA'lı tüplere alınan kanlar laboratuvar analizleri başlayana kadar -20°C'de saklandı. Tüm laboratuvar çalışmaları İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. Toplanan her kan örneğinden önce lökosit izolasyonu ardından elde edilen lökositlerden DNA izolasyonu gerçekleştirildi.

Tam Kandan Lökosit İzolasyonu

Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

- +4°C’de bekletilmiş steril dH₂O
- 15 ml’lik falkon tüp
- 2 ml mikrosantrifüj tüp
- Steril pastör pipet
- Santrifüj cihazları
- Vorteks

Protokol

1. Her bir örnek için 15 ml’lik falkon tüplere ve 2 ml’lik mikrosantrifüj tüplere örnek numaraları, isimleri ve izolasyon tarihleri yazıldı.
2. Örnekleri içeren EDTA’lı tüpler isim ve numarası ile eşleştirilmiş falkon tüpüne aktarıldı.
3. EDTA’lı tüpteki 2,5 ml kan +4°C’de bekletilmiş steril dH₂O ile yıkandı ve falkonlara aktarıldıktan sonra üzerlerine 13 ml’ye kadar +4°C’de bekletilmiş steril dH₂O ilavesi yapıldı.
4. Falkon tüpler yaklaşık 1-2 dakika boyunca kuvvetli bir şekilde ters yüz edilerek çalkalandıktan sonra 5 dakika 3500 rpm’de santrifüj edildi.
5. Santrifüjden sonra örneklerin üst kısımda kalan süpernatant sıvısı steril pastör pipetle toplanarak atıldı.
6. Falkon tüplerin dibinde kalan pelletin üzerine 12 ml’ye kadar +4°C’de bekletilmiş steril dH₂O ilavesi yapılarak pellet dipten kalkana kadar hızlıca çalkalandı. Çalkalandıktan sonra tüpler 3500 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi.
7. Santrifüjden sonra üst kısımda kalan süpernatant sıvısı pastör pipetle dikkatlice toplanarak atıldı.
8. Falkon tüplerin dibinde kalan pellet pipetle karıştırılıp 2 ml’lik mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.
9. Falkon tüpleri son bir kez 1000 µl steril +4°C’de bekletilmiş dH₂O ilavesi ile yıkandı ve 2 ml’lik mikrosantrifüj tüpüne eklendi.
10. Tüpler mikrosantrifüj cihazında 5500 rpm’de 5 dakika boyunca santrifüj edildi.

11. Üstte kalan süpernatant sıvısı pipetle pelleti kaldırmadan dikkatlice çekilerek atıldı.

12. Lökosit hücrelerini içeren mikrosantrifüj tüpleri DNA izolasyonu yapılana kadar - 20°C’de saklandı.

DNA İzolasyonu

Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

DNA izolasyon Kit içeriği

- Solution BFL1
- Solution BFL2
- Buffer RP
- Wash Buffer
- Elution Buffer
- Adsorption column G column (Spin Kolon ve Toplama Tüpleri)
- % 99 etil alkol
- 1,5 ml mikrosantrifüj tüpleri
- Pipet ucu (10 µl, 100 µl ve 1000 µl)
- Mikrosantrifüj
- Vorteks
- Otomatik Pipet (10 µl, 100 µl ve 1000 µl)

Protokol

1. Elde edilen lökosit örneklerinin her birinden 250 µl alınarak örnek numaraları ve isimleri yazılı olan 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.
2. Üzerine 300 µl Solution BFL1 eklenerek 30 saniye boyunca vorteks yapıldı.
3. 300 µl Solution BFL2 eklenerek 3-5 kere ters düz edildikten sonra 30 saniye boyunca vortekslendi.
4. Oda sıcaklığında 12.000 rpm’de 2 dakika santrifüjlendi.

5. Süpernatant spin kolona aktarıldı ve 12,000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildikten sonra toplama tüpünde kalan sıvı atıldı.
6. 500 µl Buffer RP spin kolona eklendi ve 12,000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildikten sonra toplama tüpünde kalan sıvı atıldı.
7. 600 µl Wash Buffer spin kolona eklendi ve 12,000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildikten sonra toplama tüpünde kalan sıvı atıldı.
8. 7. Adım tekrarlandı.
9. Spin kolon boş bir şekilde 12,000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
10. Spin kolon 1,5 ml'lik steril eppendorflara aktarıldı ve kolon üzerine merkeze denk gelecek şekilde 70 µl Elution buffer eklendi.
11. Tüpler 5 dk oda sıcaklığında inkübe edildi ve 12, 000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
12. Elde edilen DNA örnekleri -20 °C'de saklandı.

DNA Saflık ve Konsantrasyon Ölçümü

İzole edilmiş DNA'ların saflık ve konsantrasyon ölçümleri spektrofotometre cihazında gerçekleştirildi. Konsantrasyonları 30 ng/ µl ve üzeri olan örnekler çalışma için uygun görülüp, 30 ng/ µl 'den az olan DNA örnekleri için tekrar lökositten DNA izolasyonu gerçekleştirildi. DNA örneklerinin saflıkları OD 260/280 nm dalga boyunda 1,8 ile 2,0 arasında ölçüldü. Ölçümleri yapılan DNA örnekleri sonuçları not edilerek analizler başlayana kadar -20°C'de saklandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniği

PZR, spesifik bir DNA bölgesinin amplifikasyonuna izin veren basit ve yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Her bir PZR reaksiyonu, şablon DNA'nın, primerlerin, nükleotidlerin ve DNA polimerazın (Taq Polimeraz) varlığını gerektirir. DNA polimeraz, PZR ürününü oluşturmak için tek tek nükleotidleri birbirine bağlayan anahtar enzimdir. Nükleotidler, DNA'da bulunan dört bazı (adenin, timin, sitozin ve guanin) içerir. Bunlar, ortaya çıkan PZR ürününü oluşturmak için DNA polimeraz tarafından kullanılan yapı taşları görevi görür. Reaksiyondaki primerler, çoğaltılacak tam DNA ürününü belirtir. Primerler, tespit edilecek ve amplifiye edilecek hedef DNA'yı tamamlayıcı, tanımlanmış bir diziye sahip kısa DNA fragmanlarıdır.

PZR kullanarak bir DNA bölgesini çoğaltmak için, numune önce ısıtılır, böylece DNA denatüre olur veya iki parça tek iplikli DNA'ya ayrılır. Daha sonra, "Taq polimeraz" adı verilen enzim,

orijinal zincirleri şablon olarak kullanarak iki yeni DNA zincirini sentezler. Bu süreç, orijinal DNA'nın kopyalanmasıyla sonuçlanır; yeni moleküllerin her biri, bir eski ve bir yeni DNA ipliği içerir. Daha sonra bu ipliklerin her biri iki yeni kopya oluşturmak için kullanılabilir ve bu şekilde devam eder. Yeni DNA'nın denatüre edilmesi ve sentezlenmesi döngüsü belirli sayıda tekrarlanır ve bu orijinal DNA bölümünün bir milyardan fazla tam kopyasına yol açar.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniğinde kullanılan cihazlar ve malzemeler

- Isısal Döngü Cihazı (Thermal Cycler)
- Otomatik pipetler (10 µl, 100 µl ve 1000 µl)
- Pipet uçları
- Vorteks
- 1,5 ml mikrosantrifüj tüpleri
- 0,2 ml mikrosantrifüj tüpleri
- bdH₂O
- Taq DNA polimeraz
- MgCl₂
- dNTP
- Primer

Primer hazırlanması

Liyofilize şekilde firmadan temin edilen primerler dizayn edildikleri prosedüre uygun şekilde bdH₂O ile çözdürüldü. Elde edilen 100 pmol/µl'lik stok primer 1:10 oranına göre bdH₂O ile sulandırılarak PZR reaksiyonuna eklenecek şekilde 10 pmol/µl'lik bir çözelti hazırlandı. Çalışmada kullanılan primer dizileri ve bağlanma sıcaklıkları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 3. Primer dizileri ve bağlanma sıcaklıkları

Çalışılan Bölge	Yöntem	Primer Dizisi	Bağlanma Sıcaklığı/ Döngü sayısı	Kaynak
<i>PNPLA3</i> <i>rs738409</i>	PCR- RFLP	F: 5'-TGGGCCTGAAGTCCGAGGGT-3' R: 5'- CCGACACCAGTGCCCTGCAG-3'	66°C / 35 döngü	1
<i>TM6SF2</i> <i>rs58542926</i>	PCR- RFLP	F: 5'-AAAGCAACTGACACGGGGAA-3' R: 5'-AACAGATGTCCAGCAGGGTT-3'	65°C / 40 döngü	2

PCR İçeriğinin hazırlanması ve koşulları

PNPLA3 rs738409 ve *TM6SF2 rs58542926* bölgeleri için hazırlanan PCR içeriği ve PCR koşulları tablolarda gösterilmiştir.

Tablo 4. *PNPLA3 rs738409* ve *TM6SF2 rs58542926* için PCR içeriği

Reaktifler	Hacim
bdH ₂ O	13,2 µl
PCR tampon çözeltisi	2,5 µl
MgCl ₂	2 µl
dNTP	2 µl
Forward primer	1 µl
Reverse primer	1 µl
Taq DNA polimeraz	0,3 µl
DNA	3 µl
Toplam	25 µl

Tablo 5. *PNPLA3 rs738409* polimorfizmi için PCR protokolü

Sıcaklık Değeri	Bekleme Süresi	Döngü Sayısı
94°C	2 dakika	1 döngü
95°C	30 saniye	
66°C	30 saniye	35 döngü
72°C	30 saniye	
72°C	5 dakika	1 döngü
4°C	∞	

Tablo 6. *TM6SF2 rs58542926* polimorfizmi için PCR protokolü

Sıcaklık Değeri	Bekleme Süresi	Döngü Sayısı
94°C	5 dakika	1 döngü
94°C	30 saniye	
65°C	30 saniye	40 döngü
72°C	30 saniye	
72°C	5 dakika	1 döngü
4°C	∞	

Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

Restriksiyon endonükleaz enzimleri kullanılarak DNA molekülünün farklı büyüklükteki fragmentlere ayrılması ve elde edilen DNA parçalarının jel elektroforez tekniği ile görüntülenmesi işlemi RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) olarak adlandırılır. Restriksiyon endonükleaz enzimleri DNA üzerindeki spesifik dizileri tanır ve o dizilere bağlanarak DNA'yı o bölgeden keserler. Oluşan farklı baz uzunluğundaki DNA parçaları jel elektroforezinde büyüklüklerine göre ayrılırlar ve alleller belirlenerek genotip analizleri UV ışık altında belirlenebilir. Bu çalışmada *PNPLA3 rs738409* ve *TM6SF2 rs58542926* polimorfizimleri PCR-RFLP tekniğiyle analiz edilmiştir.

Enzim Kesimi

Kullanılan cihazlar ve malzemeler

- Isısal Döngü Cihazı (Thermal Cycler) (Applied Biosystems GeneAmp 9700 ve Benchmark TC 9639)
- Vorteks
- Otomatik pipetler (10 µl ve 100 µl)
- Çok kanallı otomatik pipetler (1-10 µl ve 20-200 µl)
- Pipet uçları
- 2 ml mikrosantrifüj tüp
- Soğuk blok

Enzim Kesimi Koşulları

PNPLA3 rs738409 ve *TM6SF2 rs58542926* bölgeleri için hazırlanan enzim kesimi içeriği, kullanılan enzimlerin inkübasyon ve kesim bölgesi bilgileri tablolarda verilmiştir.

Tablo 7. *PNPLA3 rs738409* ve *TM6SF2 rs58542926* gen bölgeleri için enzim kesim içeriği

Reaktifler	Hacim
bdH2O	2,95 µl
10X kesim tampon çözeltisi	1,8 µl
Restriksiyon enzimi	0,25 µl
PCR ürünü	10 µl
Toplam	15 µl

Tablo 8. Çalışılan bölgelerin analizinde kullanılan restriksiyon endonükleaz enzimleri

Çalışılan Bölge	Restriksiyon Endonükleaz Enzimi	İnkübasyon Sıcaklığı/ Süresi	Kesim Bölgesi
<u><i>PNPLA3 rs738409</i></u>	BtsCI	50°C-15 dakika 80°C-20 dakika	5'...GGATGNN↓...3' 3'...CCTAC↑NN...5'
<u><i>TM6SF2 rs58542926</i></u>	Hpy188I	37°C-1 Saat 65°C-20 dakika	5'...TCN↓GA...3' 3'...AG↑NCT...5'

Agaroz Jel Elektroforezi

Kullanılan cihazlar ve malzemeler

- Mikrodalga fırın
- Yatay jel elektroforez sistemi
- Jel görüntüleme sistemi
- Hassas Terazî
- Otomatik pipetler (10 µl, 100 µl ve 1000 µl)
- 250 ml Erlen
- Agaroz
- Etidyum Bromid
- Jel yükleme boyası
- DNA belirteç (100 bç Ladder)
- TAE tampon çözelti

TAE Tampon çözeltisi Hazırlanması

50X stok TAE tampon çözeltisi 1:50 oranında dH₂O ile seyreltilerek 1X TAE tampon çözelti olarak elektroforez tankında ve agaroz jel hazırlamada kullanılmak üzere hazırlandı.

Agaroz Jel Hazırlanması

PCR kontrolü ve enzim kesiminden sonra allel ve genotip belirleme için agaroz jel hazırlandı. Bunlar;

- PCR kontrolü ve enzim kesimi analizi için 4,2 gram agaroz tartılarak 120 ml 1X TAE buffer ile hazırlanmış %3,5'luk agaroz jel hazırlandı.

- 60°C'ye kadar soğutulmuş olan agaroz jel çözeltisinin içerisine içine 7 µl EtBr eklenerek karıştırıldı.
- Yükleme yapılacak kuyuları belirleyen taraklar yerleştirilmiş olan elektroforez tabağına hazırlanan çözelti döküldü.
- Jel soğuyup donduktan sonra taraklar dikkatlice çıkarıldı ve 1X TAE tampon çözeltisinin olduğu elektroforez tankına yerleştirildi.

Örneklerin jele yüklenmesi ve yürütülmesi

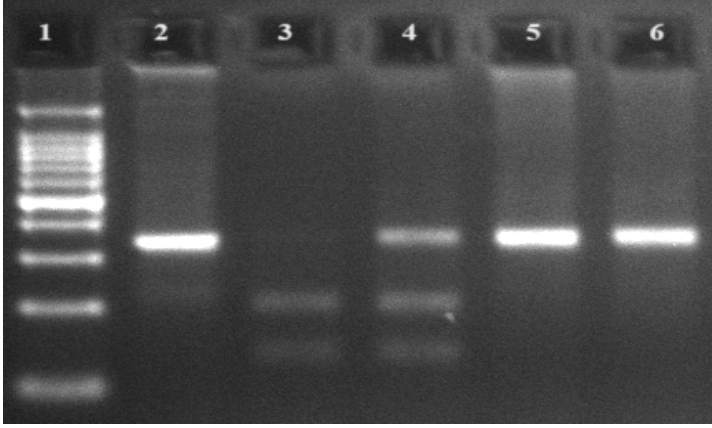
- Analiz edilecek olan üründen 10 µl ve yükleme boyasından 5 µl alınarak pipetajla karıştırılıp kuyulara yüklendi.
- Görüntülenecek bantların boyutlarının belirlenebilmesi için 100 bç-1000 bç aralığında DNA belirteci ilk kuyulara yüklendi.
- RFLP metoduyla kesim yapılmış örneklerin yüklenmesinde kesilmemiş PCR ürünü de yüklenerek karşılaştırma yapıldı.
- RFLP metodu uygulanacak PCR ürünleri 120 voltta 30 dakika, enzim kesimi yapılmış ürünler ise 110 voltta 40 dakika elektroforezde yürütüldü.
- Yürütme işlemlerinden sonra jeller UV ışık altında jel görüntüleme sisteminde görüntülendi ve fotoğraflandı.

RFLP kesim sonuçlarının belirlenmesi

Enzim kesimi yapılmış gen bölgelerinin allelleri tablodaki bç uzunluklarına göre belirlenmiştir.

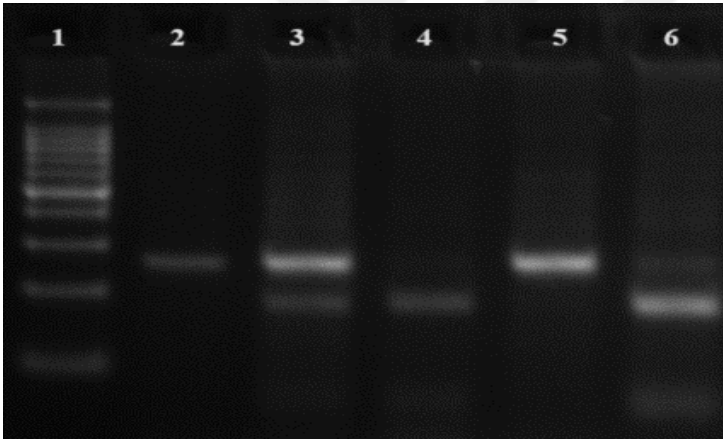
Tablo 9. Çalışılan bölgelere ait allel bantlarının uzunlukları

Gen ve polimorfizm	Allel bant uzunlukları (bç)	Kaynak
<i>PNPLA3 rs738409</i>	<i>GG</i> : 333	1
	<i>GC</i> : 333, 200, 133	
	<i>CC</i> : 200, 133	
<i>TM6SF2 rs58542926</i>	<i>TT</i> : 249	2
	<i>TC</i> : 249, 177, 72	
	<i>CC</i> : 177, 72	



Şekil 1. *PNPLA3 rs738409* bölgesi PCR ve kesim ürünlerinin jel fotoğrafları

1: Belirteç (100-1000 bç), 2: PCR ürünü, 3*: CC, 4*: GC, 5,6*: GG (*Kesim örnekleri).



Şekil 2. *TM6SF2 rs58542926* bölgesi PCR ve kesim ürünlerinin jel fotoğrafları

1: Belirteç (100-1000 bç), 2: PCR ürünü, 3*: TC, 4,6*: CC, 5*: TT (*Kesim örnekleri).

3.1. İSTATİKSEL YÖNTEM

Hastaların tüm antropometrik, demografik, laboratuvar ve genetik ile ilgili verileri IBM SPSS Statistics version 29.0.2.0 (20) istatistik programı ile analiz edildi. Verilerin dağılımlarına göre ortalama $\pm$ SD veya ortanca (min-maks) olarak ifade edildi. Kategorik değişkenlerdeki farklılıklar ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Nitel değişkenlerin dağılımının normalliğini test

etmek için Shaphiro-Wilk testi kullanıldı. Sürekli değişkenler post hoc analizi veya t-testi ile varyans analizi yoluyla karşılaştırıldı. Normal dağılım göstermeyen verileri karşılaştırmak için Kruskal-Wallis veya Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tüm analizlerde $<0,05$ p değeri anlamlı kabul edildi.

3.2. ETİK KURUL

Çalışma için İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 31.03.2023 tarihinde onay alındı. (Toplantı no:07, Dosya no:2023/594) (Ek-1)

3.3. BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ

Genetik tetkiklerin yapılabilmesi için gerekli bütçe İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklendi. (Proje kodu: TTU-2023-40010)

4. BULGULAR

Toplam 159 gönüllü ergen çalışmaya alındı. Gönüllülerin yaş ortalaması 14,3 yıldır. Ergenlerin %47,2'si (n=75) kız, %52,8'i (n=84) erkekti. Katılımcıların %63,5'u (n=101) obezitesi olan ergen (VKİ SDS >2), %36,5'i (n=58) sağlıklı ve normal ağırlıkta (VKİ= +1 ve -1 SDS arası) olan ergenlerdi. Obez grubun %56,4'ü (n=57) erkek, %43,6'sı (n=44) kızdı. Kontrol grubunda %46,6 (n=27) erkek, %53,4 (n=31) kız ergen vardı (p 0,229). Gruplar arasında yaş ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p 0,470). Obez ve sağlıklı ergen grupların boy SDS'si arasında anlamlı fark yoktu (p 0,741). Gruplar arasında VKİ SDS, tartı SDS, bel çevresi (BÇ) SDS, sistolik ve diyastolik KB SDS değerleri obez ergen grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksekti (p 0,000) (Tablo 10).

Tablo 10. Kontrol ve obez ergen grupları arasında klinik bulguların karşılaştırılması

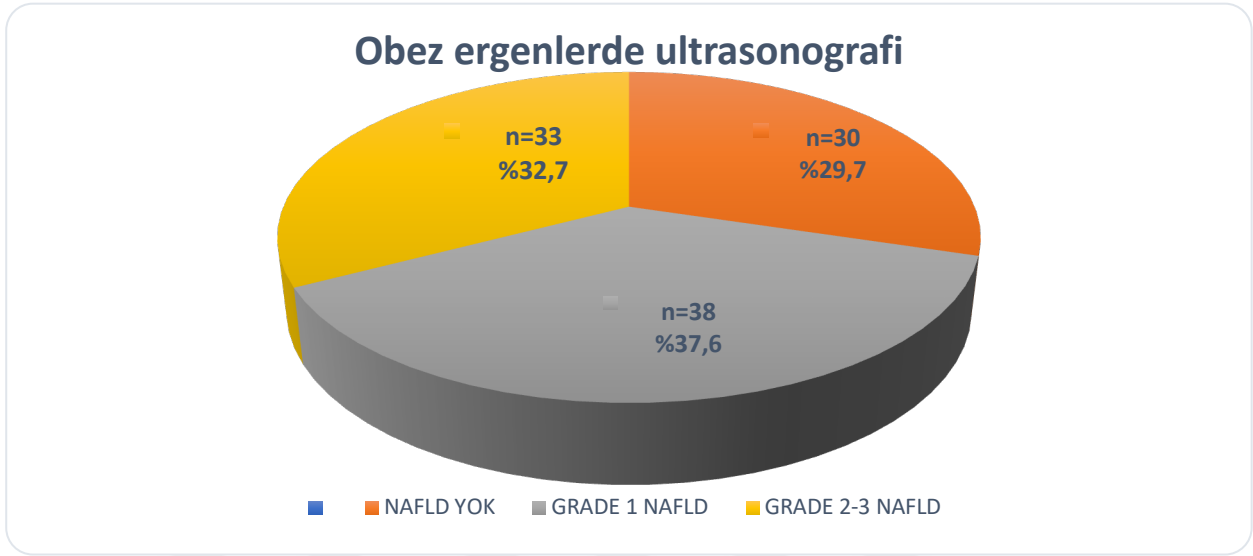
		<i>Kontrol n=58</i>	<i>Obez n=101</i>	<i>p</i>
Yaş (yıl) ***		14,6 (10- 18,6)	14,75 (10- 18,8)	0,470
Cinsiyet*	Kız n(%)	31 (53,4)	44 (43,6)	0,229
	Erkek n(%)	27 (46,6)	57 (56,4)	
Tartı(kg)**		54,1 ± 13,1	86,8 ± 18,9	0,000
Tartı SDS***		0,14 (-1,31- 2,3)	2,78 (1,5- 6,0)	0,000
Boy (cm)**		162,6 ± 13,0	163,2 ± 10,6	0,741
Boy SDS***		0,9 ± 1,1	0,57 ± 1,05	0,598
VKİ (kg/m²)***		20,6 (15,0- 25,4)	30,7 (25,1- 45,2)	0,000
VKİ SDS***		0,02 (-1- 1)	2,54 (2- 4,4)	0,000
Bel Çevresi (cm)***		70 (57- 93)	98 (78- 130)	0,000
Bel Çevresi SDS**		0,62 ± 0,75	3,4 ± 0,7	0,000
Sistolik KB (mmHg)***		110 (90- 130)	118 (90- 141)	0,000
Diyastolik KB (mmHg)***		70 (50- 95)	75 (50- 100)	0,000
Sistolik KB Persentil***		51 (1- 96)	78 (3- 99)	0,000
Sistolik KB SDS**		-0,1 ± 1,0	0,6 ± 0,88	0,000
Diyastolik KB Persentil***		66 (5- 99)	81 (15- 99)	0,000
Diyastolik KB SDS***		0,4 (-1,6- 2,3)	0,9 (-1,0- 2,3)	0,000

*Ki-Kare testi, **T-testi, ***Mann-Whitney U testi

VKİ SDS= Vücut kitle indeksi, SDS= Standard sapma skoru, KB= Kan basıncı

Obez ergenlerde yapılan batın ultrasonografisinin %70,3'ünde (n=71) hepatosteatoz saptandı, %29,7'sinde (n=30) hepatosteatoz saptanmadı. Karaciğer yağlanması olan obez ergenlerden %53,5'inde (n=38) “grade 1”, %46,5'inde (n=33) “grade 2-3” hepatosteatoz saptandı.

Karaciğer yağlanması olan obez ergenlerin %39,4'ü (n=28) kız, %60,6'ı (n=43) erkekti (p 0,198).



Şekil 3. Obezitesi olan ergenlerde ultrasonografi bulguları

Çalışmamızda katılımcılar kontrol grubu, obez NAFLD (-) ve obez NAFLD (+) olmak üzere 3 grup olarak değerlendirildi. Kontrol grubunun tartı SDS ortalaması $0,22 \pm 0,8$ iken, obez NAFLD (-) grubun tartı SDS ortalaması $2,8 \pm 0,9$, obez NAFLD (+) grubun tartı SDS'si $3,08 \pm 1,01$ idi (p=0,000). VKİ SDS kontrol grubunda $0,02 \pm 0,59$, obez NAFLD (-) grupta $2,53 \pm 0,51$, obez NAFLD (+) grupta $2,73 \pm 0,62$ idi (p=0,000). Kontrol grubu ve obez NAFLD (-) ve obez NAFLD (+) gruplarında boy SDS'si arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,681). Bel çevresi SDS'si kontrol grubunda $0,6 \pm 0,75$, obez NAFLD (-) grupta $3,1 \pm 0,62$, obez NAFLD (+) grupta $3,55 \pm 0,68$ idi ve her üç grup arasında anlamlı fark bulguları (p=0,000). Ergenlerden abdominal obezitesi olanların sayısı 100, abdominal obezitesi olmayanların sayısı 59 idi. Obez NAFLD (+) grubun BÇ ve BÇ SDS değerleri obez NAFLD (-) gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (sırasıyla p=0,007, p=0,027). Bu üç grup arasında sistolik ve diyastolik KB değerlerine bakıldığında, kontrol grubu ve obez NAFLD (-) grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi, ancak kontrol ve obez NAFLD (-) gruplarına kıyasla obez NAFLD (+) grubun kan basıncı ölçümleri anlamlı derecede yüksek saptandı (Tablo 11). Obez ergenlerin 50'si (%49,5) İDF kriterlerine göre metabolik sendrom tanısını karşıladı. Metabolik sendrom kriterlerini karşılayan ergenlerde NAFLD görülme sıklığı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı (p=0,011) (Tablo 11).

Tablo 11. Kontrol ve NAFLD grupları arasında klinik bulguların karşılaştırılması

		Kontrol^a n=58	Obez NAFLD (-)^b n=30	Obez NAFLD (+)^c n=71	p	p1 a-b	p2 a-c	p3 b-c
Yaş (yıl)		14,1 ± 2,2	13,5 ± 2,6	14,7± 2,5	0,061	0,950	0,074	0,405
Cinsiyet	Kız	31 (53,4)	16 (53,3)	28 (39,4)	0,215			
	Erkek	27 (46,6)	14 (46,7)	43 (60,6)				
Tartı(kg)*		55,0 ± 13,1	77,4 ± 15,9	90,8 ± 18,3	0,000	0,000	0,000	0,001
Tartı SDS**		0,1 (-1,3-2,3)	2,6 (1,7-5,1)	2,91 (1,5- 6,0)	0,000	0,000	0,000	1,000
Boy (cm)**		161 (136-193)	162,5 (137-172)	163 (140- 188,5)	0,128	1,000	0,151	0,675
Boy SDS**		0,3 (-1,4-3,2)	0,5 (-1,4-2,2)	0,48 (-1,8- 3,7)	0,681	1,000	1,000	1,000
VKİ (kg/m2)**		20,6 (15-25,4)	29,3(25,1-40,4)	31,4 (26,5-45,5)	0,000	0,000	0,000	1,144
VKİ SDS**		0 (-1-1)	2,39 (2,0-4,0)	2,65 (2- 4,4)	0,000	0,000	0,000	1,000
Bel Çevresi (cm)*		69,7 ± 7,4	92,7 ± 9,2	102,3 ± 10,8	0,000	0,000	0,000	0,007
Bel Çevresi SDS**		0,6 (-1,1-2,3)	3,2 (1,9-4,2)	3,48 (2,13 - 5,12)	0,000	0,000	0,000	0,027
Sistolik KB (mmHg)**		110 (90-130)	110 (90-140)	110 (90-140)	0,000	0,576	0,000	0,044
Diastolik KB (mmHg) **		70 (50-95)	70 (50-95)	70 (50-95)	0,000	0,933	0,000	0,023
Sistolik KB Persentil**		51 (1-96)	69,5 (3-98)	69,5 (3-98)	0,000	0,076	0,000	0,718
Sistolik KB SDS*		-0,1 ± 0,9	0,4 ± 1,0	0,7 ± 0,8	0,000	0,057	0,000	0,554
Diastolik KB Persentil**		66 (5-99)	73,5 (17-99)	73,5 (17-99)	0,000	0,603	0,000	0,070
Diastolik KB SDS**		0,4 (-1,6-2,3)	0,58 (-0,9-2)	0,58 (-0,9-2)	0,000	0,952	0,000	0,020
Metabolik sendrom n(%)	Yok	Yok	21 (70)	30 (42,3)	0,011			
	Var		9 (30)	41(57,7)				

Ki-Kare testi, *Post-Hoc Test, **Kruskal-Wallis test. ort±SD, medyan (min-maks), n (%), VKİ SDS= Vücut kitle indeksi, SDS= Standard sapma skoru, KB= Kan

Tablo 12. Kontrol ve NAFLD grupları arasında laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

	<i>Kontrol^a</i> <i>n=58</i>	<i>Obez NAFLD (-)^b</i> <i>n=30</i>	<i>Obez NAFLD (+)^c</i> <i>n=71</i>	<i>p</i>	<i>P1</i> <i>a-b</i>	<i>P2</i> <i>a-c</i>	<i>P3</i> <i>b-c</i>
Glukoz*	83,4 ± 7,8	84,4 ± 9,21	82,24 ± 8	0,443			
HbA1c*	5,41 ± 0,41	5,43 ± 0,44	5,4 ± 0,42	0,961			
İnsülin	9,4 (3,1-31,7)	16,3 (6,6-62,7)	22,0 (7,5-51,9)	0,000	0,000	0,000	0,034
HOMA-IR	1,9 (0,5-5,8)	3,57 (1,3-15,2)	4,58 (1,4-11,4)	0,000	0,000	0,000	0,041
AST	18,3 (11,5-44,9)	18,5 (12,8-31,6)	20,5 (11,1-60,2)	0,051	1,000	0,169	0,103
ALT	12,2 (6,9-70,8)	16,7(7,2-39,6)	22,0 (6,6-71)	0,000	0,007	0,000	0,047
GGT	9,5 (4-17)	12 (5-24)	17 (9-60)	0,000	0,042	0,000	0,000
Kolesterol	145 (93,5-292)	141 (90-198)	153 (73-223)	0,340	1,000	0,669	0,685
Trigliserid	69,8 (32,8-204)	97,3 (36,4-387,4)	108,5 (23,9-372)	0,001	0,182	0,000	0,750
LDL	82 (36-216)	78 (38-119)	91 (25-154)	0,043	1,000	0,139	0,095
HDL	52,1 (16,1-116,2)	46 (28,8-109,1)	43,8 (25,2-73,6)	0,000	0,504	0,000	0,115
Kreatinin	0,6 (0,4-0,9)	0,6 (0,4-0,9)	0,6 (0,4-1,1)	0,523	1,000	0,892	1,000
sT4	15,7 (10,9-24)	15,4 (11,8-18)	15,5 (4,8-21,9)	0,858	1,000	1,000	1,000
TSH	1,7 (0,4-4,3)	2,4 (0,87-5,4)	2,3 (0,7-7,5)	0,001	0,002	0,016	1,000

Kruskal-Wallis testi, *ANOVA

HbA1c= Glikolize hemoglobin, HOMA-IR= Homeostatic Model Assessment, AST= Aspartat Aminotransferaz, ALT= Alanin aminotransferaz, GGT= Gamaglutamil transferaz, LDL=Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL= Yüksek yoğunluklu lipoprotein, sT4= Serbest T4, TSH= Tiroid stimulan hormon

Üç grup arasında laboratuvar parametrelerin karşılaştırılmasında glukoz, HbA1c, AST, kolesterol, kreatinin, sT4 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü. İnsülin, HOMA-IR, ALT, GGT değerleri her 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklıydı. Trigliserid düzeyi obez NAFLD (+) grupta kontrol grubuna göre daha yüksekti ($p=0,000$), ancak obez NAFLD (-) gruba göre anlamlı fark yoktu ($p=0,750$). HDL düzeyi kontrol grubunda obez NAFLD (+) olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p=0,000$). TSH değeri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında obez NAFLD (-) ve NAFLD (+) olanlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,016$) (Tablo 12).

Katılımcıların tümü değerlendirildiğinde *PNPLA3* geni %40,2'sinde ($n=64$) *CC* (wild tip), %19,5'inde ($n=31$) *GC* (heterozigot), %19,5'inde ($n=31$) *GG* (homozigot) olarak saptandı. Minor (G) allel frekansı 0,37 idi. Ergenlerin %20,8'inde ($n=33$) *PNPLA3* gen lokusu saptanamadı, bunun için bu hastalardan *PNPLA3* gen delesyonu bakılması planlandı. *TM6SF2*

geni %83,6 (n=133) ergende wild tip (CC), %15,7 (n=25) ergende ise heterezigot (TC) saptandı, hiç homozigot mutasyon saptanmadı; ancak sadece 1 hastada, *TM6SF2* gen lokusu çalışılmadı. Minor (T) allel frekansı 0,08 idi.

Tablo 13. *PNPLA3* ve *TM6SF2* gen varyantlarının obez ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması

	Kontrol n(%)	Obez n(%)	P
<i>PNPLA3</i>			
CC	29 (45,3)	35(54,7)	0,168
GC	9 (29)	22(71)	
GG	9 (29)	22(71)	
<i>TM6SF2</i>			
CC	51(38,3)	82(61,7)	0,448
TC	7(28)	18(72)	

Ki-kare testi

Obez ve sağlıklı ergenler arasında *PNPLA3* ve *TM6SF2* gen varyantları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (sırasıyla p=0,168 ve p=0,448) (Tablo 13).

Tablo 14. *PNPLA3* gen varyantının (*rs738409*) gruplara göre dağılımı

<i>PNPLA3</i>	Kontrol n(%)	Obez NAFLD (-) n(%)	Obez NAFLD (+) n(%)	P
CC	29 (45,3)	14 (21,9)	21 (32,8)	0,114
GC	9 (29)	4 (12,9)	18 (58,1)	
GG	9 (29)	8 (25,8)	14 (45,2)	

Ki-Kare testi

Gruplar arasında *PNPLA3* geninin wild ve diğer varyantları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,114) (Tablo 14). Kontrol grubunda minör (G) allel frekansı 0,28, obez NAFLD (-)'lerde 0,38, obez NAFLD (+)'lerde ise 0,43 idi.

Tablo 15. *PNPLA3* geninin normal ve varyantlarının dağılımı

<i>PNPLA3</i>	Kontrol n(%)	Obez NAFLD (-) n(%)	Obez NAFLD (+) n(%)	P
CC	29 (50)	14 (46,7)	21 (29,6)	0,083
GC veya GG	18 (31)	12 (40)	32 (45,1)	

Gruplar arasında *PNPLA3* minör (G) allel taşımayanlar ve taşıyanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,083$) (Tablo 16)

Her grubun antropometrik ve laboratuvar bulguları *PNPLA3* geninin normal (CC) ve diğer varyantları (GC veya GG) ile karşılaştırıldı. Kontrol grubunda *PNPLA3* varyantları ile tartı SDS, boy SDS, VKİ SDS, BÇ SDS arasında ilişki bulunmadı. Kontrol grubunda laboratuvar bulgularından sadece GGT değeri *PNPLA3* geni GC ve GG genotiplerinde CC genotipinde olanlara göre ortalama 1,6 U/L yüksekti ve istatistiksel anlamlı idi ($p=0,022$). Obez NAFLD(-) grupta AST düzeyi GC ve GG varyantı olanlarda CC genotipinde olanlara göre ortalama 3,3 U/L daha yüksekti ($p=0,046$). Obez NAFLD (+) grupta sadece kreatinin değeri normal varyant taşıyanlarda (CC) diğerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ($p=0,021$) (Tablo 16).

Tablo 16. *PNPLA3* gen varyantlarına (*rs738409*) göre gruplar arasında klinik ve laboratuvar parametrelerin karşılaştırılması

		Kontrol			Obez NAFLD (-)			Obez NAFLD (+)		
		CC	GC / GG	P	CC	GC / GG	P	CC	GC / GG	P
Cinsiyet	Kız n(%)	17(65,5)	9(34,5)	0,782	8(61,5)	5(38,5)	0,694	7(30,4)	16(69,6)	0,361
	Erkek n(%)	12(57,1)	9(42,9)		6(46,2)	7(53,8)		14(46,7)	16(53,7)	
Yaş		14,1(10-18,4)	15,7 (10,8-18,6)	0,120	15(10,33-17,3)	12,1(10-17,6)	0,297	13,8(10-18,8)	16(10,1-18,5)	0,079
Tartı SDS		0,3(-1,31-2,3)	-0,1(-1,1-1,7)	0,304	2,8(1,89-5,1)	2,6(1,7-4,1)	0,297	2,9(1,47-6)	3 1,5-4,9)	0,530
VKİ SDS		0,1(-1-1)	-0,2 (-1-1)	0,364	2,6(2,02-4)	2,2(2-3)	0,095	2,5(2,01-4,4)	2,8(2-3,9)	0,591
BÇ SDS		0,7(-1,13-2)	0,4 (-0,7-2,3)	0,155	3,1(1,94-4,2)	3,4(2,3-3,8)	0,347	3,5(2,35-4,7)	3,6(2,3-5,1)	0,461
Glukoz (mg/dl)		83(71-104)	84,5 (74-103)	0,504	89(62-99)	86,5(76-98)	0,667	78(66-91)	83(69-107)	0,079
HbA1c(%)		5,5(4,7-6,5)	5,4 (4,8-6,1)	0,450	5,4(4,7-6,4)	5,4(4,5-6,2)	0,899	5,4(4,4-6,4)	5,4(4,6-6,3)	0,538
İnsülin (U/ml)		9(3-32)	9 (5-26,5)	0,967	17(7-48,5)	14(7-63)	0,667	16(8-50)	23(10-52)	0,204
HOMA-IR		1,9(0,53-5,8)	1,8 (1,1-5,7)	0,924	4(1,27-11,9)	3(1,3-5,2)	0,742	3(1,6-8,8)	4,9(1,9-11,4)	0,119
AST (U/L)		19(11,5-30)	18(12-45)	0,669	17(13-22)	19(15-32)	0,046	19(13-60)	22,5(11-45)	0,288
ALT (U/L)		12(7-23)	12(7-71)	0,734	17(11-25)	18(7,2-0)	0,527	19(9-53)	28(7-71)	0,164
GGT U/L		9(5- 12)	10,5 (6-13)	0,022	13 (6-24)	11,5(5-22)	0,755	19(9-44)	17(9-60)	0,861
Kolesterol (mg/dl)		140(93-199)	147(97,5-187)	0,314	134,5(90-170)	150(120-198)	0,106	143(100- 223)	154(102-208)	0,834
Trigliserit (mg/dl)		63(40-204)	78,5(33-126)	0,070	87(40-123)	97(36-387)	0,347	128(50-371)	95(30-343)	0,206
LDL (mg/dl)		78(36-114)	91 (44-115)	0,219	77 (38-112)	76,5 (68-119)	0,560	85(52-154)	91,5 (47-154)	0,484
HDL (mg/dl)		53(16-116)	49,4 (32- 67)	0,228	46,5 (32,1-0)	46(34-109)	1,000	42(25-73)	44(31- 55)	0,920
Kreatinin (mg/dl)		0,6(0,38-0,9)	0,6 (0,4-0,9)	0,852	0,6 (0,48-0,8)	0,6(0,4-0,9)	0,940	0,6(0,44-0,8)	0,7(0,4-1,1)	0,021
sT4 (pmol/L)		16(11-24)	16(13-19)	0,732	16(12-18)	15,5(12-17,5)	0,851	15(4,8-18,4)	16(12,5-22)	0,275
sT4 (pmol/L)		1,8(0,43-4,3)	1,6 (1-3,9)	0,732	2,8 (0,87-5,4)	2,3(1-3,6)	0,851	3(1,13-5,4)	2,3(0,9-7,6)	0,275

Ki-Kare testi, Mann-Whitney U testi

VKİ SDS= Vücut kitle indeksi, SDS= Standard sapma skoru, KB= Kan basıncı, HbA1c= Glikolize hemogloblin, HOMA-IR= Homeostatic Model Assessment, AST= Aspartat Aminotransferaz, ALT= Alanin aniotransferaz, GGT= Gamaglutamil transferaz, LDL=Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL= Yüksek yoğunluklu lipoprotein, sT4= Serbest T4, TSH= Tiroid stimulan hormon

Tablo 17. *PNPLA3* gen varyantlarına göre klinik ve laboratuvar parametrelerin karşılaştırılması

		<i>PNPLA3</i>			P
		<i>CC</i>	<i>GC</i>	<i>GG</i>	
Yaş		14,2 (10-18,8)	15,8 (10,16-18,6)	14,8 (10-18)	0,115
Tartı SDS*		1,8 ± 1,7	2,1 ± 1,6	2,3 ± 1,6	0,418
Boy SDS		0,3 (-1,36-3,4)	0,6 (-1,8-2,4)	0,9 (-1,44-3,7)	0,432
VKİ SDS		2 (-1-4,4)	2,2 (-1-3,9)	2,1 (-0,57-3,5)	0,463
BÇ SDS		2,2 (-1,13-4,7)	3,1 (-0,49-5)	3,3 (-0,71-5,1)	0,141
KB** n(%)	Normal	51(81)	20 (64,5)	26 (83,9)	0,372
	Yüksek	3 (4,8)	3 (9,7)	1 (3,2)	
	Hipertansiyon	9 (14,2)	8 (25,8)	4 (12,9)	
Glukoz (mg/dl)*		82,8 ± 8,6	84,6 ± 8,9	85,1 ± 6,6	0,376
HbA1c (%)*		5,5 ± 0,4	5,4 ± 0,4	5,4 ± 0,4	0,541
İnsülin (µU/ml)		12,7 (3,05-50,2)	17,5 (7,51-62,3)	15,2 (5,25-62,7)	0,167
HOMA-IR		2,5 (0,53-11,9)	3,8 (1,37-13,7)	3,1 (1,08-15,2)	0,130
AST (U/L)		18,8 (11,5-60,2)	20,1 (13-45,2)	18,7 (11,1-44,9)	0,200
ALT (U/L)		15,5 (7,2-53,3)	19,7 (7-52,3)	15,4 (6,6-71)	0,062
GGT U/L		11 (5-44)	13 (5-44)	12,5 (6-60)	0,137
Kolesterol (mg/dl) *		152,3 ± 25,6	152,5 ± 28,5	97,5 ± 56,4	0,256
Trigliserit (mg/dl)		82,5 (40-372)	88,4 (32,8-226,7)	97,5 (30,3-387,4)	0,281
LDL (mg/dl)*		82,9 ± 22	92,7 ± 21,7	90,6 ± 25,8	0,103
HDL (mg/dl)		47,2 (16-116)	46,2 (32-109)	46,2 (30,7-74,8)	0,281
Kreatinin (mg/dl)		0,6 (0,38-0,9)	0,6 (0,36-1,1)	0,6 (0,43-0,9)	0,281
sT4 (pmol/L)		15,4 (4,84-24)	15,7 (12,4-21,9)	15,6 (12,5-19,3)	0,281
TSH (mIU/L)		2,3 (0,43-5,4)	2,2 (0,901-4,8)	2,1 (0,995-7,6)	0,281

Kruskal-Wallis Testi, *ANOVA, **ki-kare

VKİ SDS= Vücut kitle indeksi, SDS= Standard sapma skoru, KB= Kan basıncı, HbA1c= Glikolize hemoglobin, HOMA-IR= Homeostatic Model Assessment, AST= Aspartat Aminotransferaz, ALT= Alanin aminotransferaz, GGT= Gamaglutamil transferaz, LDL=Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL= Yüksek yoğunluklu lipoprotein, sT4= Serbest T4, TSH= Tiroid stimulan hormon

Tüm katılımcıların antropometrik ve laboratuvar değerlerinin *PNPLA3* gen varyantları ile ilişkisi analiz edildiğinde antropometrik ve laboratuvar bulgular ile *PNPLA3* gen varyantları arasında ilişki saptanmadı (Tablo 17).

Tablo 18. Obez grupta ultrasonografi sonuçları ile *PNPLA3* gen varyantlarının karşılaştırılması

<i>PNPLA3</i>	<i>Evre 0</i> n(%)	<i>Evre 1</i> n(%)	<i>Evre 2-3</i> n(%)	P
CC	14 (46,7)	13(34,2)	8(24,2)	0,320
GC	4 (13,3)	8(21,1)	10(30,3)	
GG	8 26,7)	6(15,8)	8(24,2)	

Obez ergenlerin ultrasonografi sonuçlarına göre değerlendirme yapıldığında; evre 0, evre 1 ve evre 2-3 karaciğer yağlanması ile *PNPLA3* gen varyantlarının karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi (p=0,320) (Tablo 18).

Tablo 19. *TM6SF2* (rs58542926) varyantının gruplara göre dağılımı

<i>TM6SF2</i>	<i>Kontrol</i> n(%)	<i>Obez NAFLD (-)</i> n(%)	<i>Obez NAFLD (+)</i> n(%)	P
CC	51 (87,9)	24 (80)	58 (81,7)	0,601
TC	7 (12,1)	5 (16,7)	13 (18,3)	

Kontrol grubunda *T* allel frekansı 0,06, obez NAFLD(-) grupta 0,09, obez NAFLD(+) grupta ise 0,18 idi. *TM6SF2* gen varyantları ve gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmadı (p=0,601) (Tablo 19).

Tablo 20. Obez grupta ultrasonografi sonuçları ile *TM6SF2* karşılaştırılması

<i>TM6SF2</i>	<i>Evre 0</i> n(%)	<i>Evre 1</i> n(%)	<i>Evre 2-3</i> n(%)	P
CC	24 (80)	31 (81,6)	27 (81,8)	0,992
TC	5 (16,7)	7 (18,4)	6 (18,2)	

TM6SF2 gen varyantları ve obez ergenlerin NAFLD evreleri arasında anlamlı ilişki yoktu ($p=0,992$) (Tablo 20).

Her grubun kendi içinde *TM6SF2* gen varyantları gruplarına göre antropometrik ve laboratuvar karşılaştırılması yapıldığında kontrol grubunda heterozigot (*TC*) varyant olanlarda kolesterol (ortalama 12,4 mg/dl) ve LDL (ortalama 13 mg/dl) değerlerinin *CC* varyantına sahip olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı (sırasıyla $p=0,043$ ve $p=0,011$). Obez NAFLD(-) ve obez NAFLD(+) grupları arasında *TM6SF2* gen varyant grupları ile anlamlı ilişki bulunmadı (Tablo 21).

Tablo 21. *TM6SF2* gen varyantlarına göre klinik ve laboratuvar parametrelerin karşılaştırılması

<i>Kontrol</i>		<i>p</i>		<i>Obez NAFLD (-)</i>		<i>p</i>		<i>Obez NAFLD (+)</i>		<i>p</i>
		<i>CC</i>	<i>TC</i>		<i>CC</i>	<i>TC</i>		<i>CC</i>	<i>TC</i>	
Cinsiyet*	Kız	29 (93,5)	2 (6,5)	0,159	13 (81,2)	3 (18,8)	0,811	23 (82,1)	5 (17,9)	0,937
	Erkek	22 (81,5)	5 (18,5)		11 (84,6)	2 (15,4)		35 (81,4)	8 (18,6)	
Yaş		14,6 (10-18,4)	13,8 (10,9-18,6)	0,889	13,2 (10-17,6)	11,6 (10-15,8)	0,382	14,8 (10,1-18,8)	14,8 (10-18,3)	0,941
Tartı SDS		0,2 (-1,3-2,3)	-0,1 (-0,1- 1,2)	0,412	2,7 (1,9-5,1)	2,4 (1,7-3,8)	0,518	2,9 (1,5- 6)	2,9 (1,8-4,4)	0,795
VKİ SDS		0 (-1-1)	0,1 (-1-0,6)	0,944	2,5 (2-4)	2,4 (2-3,3)	0,482	2,6 (2-4,4)	2,7 (2-3,5)	0,941
BÇ SDS		0,5 (-1,1-2)	0,7 (-0,1-2,3)	0,527	3,3 (1,9-4,2)	3,1 (2,1-3,4)	0,245	3,5 (2,1-5)	3,5 (2,4-5,1)	0,795
Glukoz (mg/dl)		81 (69-104)	82 (77-95)	0,981	88,5 (62-99)	77 (74-88)	0,068	82,5 (66-107)	85 (67- 95)	0,941
HbA1c (%)		5,5 (4,7-6,5)	5,6 (4,8-5,9)	0,706	5,3 (4,5-6,4)	5,5 (5,1-6,2)	0,771	5,4 (4,4-6,4)	5,3 (5-6)	0,795
İnsülin (µU/ml)		9 (3,1-31,7)	12,3 (9,5-13,9)	0,133	16,3 (6,6-62,7)	19 (9,5-39,5)	0,889	22,2 (7,5-51,9)	20,7 (10-50,2)	0,941
HOMA-IR		1,9 (0,5-5,8)	2,4 (2,2-2,8)	0,090	3,7 (1,3-15,2)	3,5 (1,8-8,6)	0,889	4,6 (1,4-11,4)	4,4 (2-8,3)	0,941
AST (U/L)		17,7 (11,5-44,9)	18,6 (13,4-29,7)	0,424	18,1 (13,8-31,6)	19,1 (12,8-27)	0,518	20,7 (11,1-60,2)	18,4 (13,3-45,2)	0,795
ALT (U/L)		11,9 (6,9-70,8)	12,9 (10,5-27,8)	0,290	16 (7,2-39,6)	19,7 (12,7-24,8)	0,222	22,3 (6,6-55,6)	21 (9,1-71)	0,941
GGT U/L		9 (4-17)	11 (6-13)	0,492	11 (5-24)	14 (9-16)	0,308	17 (9-44)	19 (10-60)	0,795
Kolesterol (mg/dl)		145(93,5-292)	133(97,5-152)	0,043	140(90-198)	141(113-180)	0,845	151(73-223)	153(115-204)	0,795
Trigliserit (mg/dl)		70,5(40-204)	69(33-114)	0,716	98(36-87)	88(65,5-126)	0,845	110(24-372)	91,4 (34-216)	0,941
LDL (mg/dl)		85 (36-216)	72 (44-80)	0,011	77 (38-112)	90 (75-119)	0,222	91 (25-154)	91 (62-154)	0,795
HDL (mg/dl)		52(16-117)	52(40-55)	0,342	46 (29-109)	43(32-54,5)	0,634	44(25-69)	46,5(37-74)	0,941
Kreatinin (mg/dl)		0,6 (0,4-0,9)	0,5 (0,5-0,9)	0,889	0,6 (0,4-0,9)	0,6 (0,4-0,8)	0,716	0,6 (0,4-1,1)	0,6 (0,4-0,9)	0,795
sT4 (pmol/L)		15,8 (10,9-24)	15,4 (13,7-17,5)	0,898	15,6 (11,8-18)	15,2 (13,9-16,7)	0,954	15,3 (11,7-21,9)	15,7 (4,8-19,3)	0,941
TSH (mIU/L)		1,7 (0,4-4,3)	1,7 (1,1-2,3)	0,921	2,4 (0,9-5,4)	2,1 (1,1-5,2)	0,908	2,3 (0,9-7,6)	2,4 (0,7-3,8)	0,795

Mann-Whitney U Testi, * ki-kare

VKİ SDS= Vücut kitle indeksi, SDS= Standard sapma skoru, KB= Kan basıncı, HbA1c= Glikolize hemoglobin, HOMA-IR= Homeostatic Model Assessment, AST= Aspartat Aminotransferaz, ALT= Alanin aminotransferaz, GGT= Gamaglutamil transferaz, LDL=Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL= Yüksek yoğunluklu lipoprotein, sT4= Serbest T4, TSH= Tiroid stimulan hormon

Tablo 22. *TM6SF2* gen varyant grupları arasında klinik ve laboratuvar parametrelerin karşılaştırılması

		<i>TM6SF2</i>		p
		CC	TC	
Yaş		14,6 (10-18,8)	14,2 (10-18,6)	0,901
Tartı SDS		2,2 (-1,3-6)	2,3 (-0,1-4,4)	0,491
VKİ SDS		2,1 (-1-4,4)	2,4 (-1-3,5)	0,443
BÇ SDS		2,9 (-1,1-5)	2,9 (-0,1-5,1)	0,450
KB** n(%)	Normal	101 (76,5)	20 (80)	0,682
	Yüksek	7 (5,3)	2 (8)	
	Hipertansiyon	24 (18,2)	3 (12)	
Glukoz (mg/dl)		83 (62-107)	82 (67-95)	0,775
HbA1c (%)		5,4 (4,4-6,5)	5,3 (4,8-6,2)	0,968
İnsülin (μ U/ml)		14,9 (3,1-62,7)	16,8 (9,5-50,2)	0,315
HOMA-IR		3,1 (0,5-15,2)	3,5 (1,8-8,6)	0,360
AST (U/L)		19 (11,1-60,2)	18,9 (12,8-45,2)	0,808
ALT (U/L)		15,9 (6,6-70,8)	17,1 (9,1-71)	0,269
GGT U/L		12 (4-44)	14 (6-60)	0,293
Kolesterol (mg/dl)		146,6 (73,3-291,8)	140,7 (97,5-204)	0,579
Trigliserid (mg/dl)		90,3 (23,9-387,4)	83,1 (32,8-216,1)	0,435
LDL (mg/dl)		86 (25-216)	80 (44-154)	0,730
HDL (mg/dl)		46,9 (16,1-116,2)	46,7 (32,1-73,6)	0,927
Kreatinin (mg/dl)		0,6 (0,4-1,1)	0,6 (0,4-0,9)	0,973
sT4 (pmol/L)		15,6 (10,9-24)	15,7 (4,8-19,3)	0,534
TSH (mIU/L)		2,1 (0,4-7,6)	2,2 (0,7-5,2)	0,850

Mann-Whitney U Testi

VKİ SDS= Vücut kitle indeksi, SDS= Standard sapma skoru, KB= Kan basıncı, HbA1c= Glikolize hemoglobin, HOMA-IR= Homeostatic Model Assessment, AST= Aspartat Aminotransferaz, ALT= Alanin aminotransferaz, GGT= Gamaglutamil transferaz, LDL=Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL= Yüksek yoğunluklu lipoprotein, sT4= Serbest T4, TSH= Tiroid stimulan hormon

Tüm katılımcıların klinik ve laboratuvar parametreleri *TM6SF2* gen varyant grupları arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 22).

PNPLA3 ve/veya *TM6SF2* genlerinde minör allel taşıyan (*PNPLA3* GC/GG +/- *TM6SF2* TC/TT) katılımcılarda (n=78), bu genlerin her ikisinde minör allel taşımayan (*PNPLA3* CC + *TM6SF2* CC) katılımcılara (n=57) göre NAFLD gelişimi (sırasıyla %52,6 ve %29,6) istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (p=0,018). Toplam 9 katılımcıda *PNPLA3* ve *TM6SF2* genlerinin her ikisinde minör allel (*PNPLA3* GC/GG + *TM6SF2* TC/TT) mevcuttu.

5. TARTIŞMA

Obezite 21. yüzyılın hızla artan sağlık sorunudur. Obezite salgını ile eşzamanlı olarak, obezitenin komorbiditesi olan, çocuklarda ve ergenlerde en sık görülen kronik karaciğer hastalığı olan NAFLD sıklığı da artmaktadır. NAFLD patogenezinde rolü olduğu bilinen *PNPLA3* ve *TM6SF2* gen varyantları bu alanda önemli bir araştırma konusudur. Ancak toplumumuzda bu genlerle ilgili kısıtlı sayıda araştırma mevcuttur. Çalışmamızda bu gen varyantlarının Türk ergen popülasyonunda NAFLD ile ilişkisini araştırmayı hedefledik.

Literatürde cinsiyetin obezite gelişimi üzerindeki etkisine ait çelişkili bilgiler mevcuttur. Çam ve ark.nın 2019 yılında 1000 ergen ile yaptığı kesitsel çalışmada, erkek cinsiyet obezite gelişimi açısından riskli olarak bulgulanmıştır (21). Ercan ve ark.nın ergenlerle yaptığı bir kohort araştırmada kız cinsiyette obezite görülme sıklığının arttığı bildirilmiştir (172). Güven ve ark.nın yaptığı çalışmada obezite gelişimi açısından cinsiyetler arasında anlamlı fark bulunmamıştır (95). Prinçci ve ark.nın yaptığı çalışmada ise benzer şekilde obezitesi olan çocuklar arasında cinsiyet farkı saptanmamıştır (173). Batı Anadolu'da çocuk ve ergenler ile yapılan bir çalışmada cinsiyetler arasında anlamlı fark gözlemlenmemiştir (174). Çalışmamızda da obez ve kontrol grupları arasında cinsiyet dağılımı benzerdi, ancak çalışmamızda katılımcı sayısının sınırlı olması nedeniyle daha geniş katılımcının yer aldığı çalışmaların bu konuda literatüre katkıda bulunması beklenebilir.

Literatürde genellikle erkek cinsiyette daha fazla NAFLD gelişme riski olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur, ancak bu konuda çelişkili sonuçlar da mevcuttur. Örneğin Villanueva ve ark.nın Meksikan pediatrik popülasyonunda yaptıkları bir çalışmada obez erkeklerde kızlara oranla daha fazla NAFLD olduğu görülmüştür (175). Hazer ve ark.nın çalışmasında da benzer olarak erkeklerde NAFLD gelişme riski anlamlı yüksek çıkmıştır (176). Koutny ve ark.nın 510 çocukta yaptığı bir araştırmada erkek cinsiyet ile NAFLD ilişki gösterilmemiştir (177). Akbulut ve ark.nın çalışmasında da (n=186) cinsiyetler arasında NAFLD gelişimi açısından fark görülmemiştir (178). Çalışmamızda NAFLD hastalarında cinsiyet dağılımı benzerdi. Bu bulgu yukarda belirtilen çalışmalar ile uyumlu olsa da çalışmamızdaki hasta sayısının kısıtlı olması nedeniyle bu konuda daha geniş vaka sayısı ile daha fazla çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Obezite ve hipertansiyon arasındaki ilişki iyi bilinmektedir. Obez çocukların ve ergenlerin hipertansiyonu olması, ilerleyen yaşlarda kardiyovasküler riskte de artışa sebep

olmaktadır. Aynı zamanda kardiyovasküler risk artışı NAFLD riskinde artış ile de ilişkilidir. Babinska ve ark.nın obez ergenler ile yaptığı bir çalışmada, VKİ SDS ile kan basıncı arasında doğru orantı olduğu saptanmıştır (179). Aslan ve ark.nın yine ergenler üzerinde yaptığı bir çalışmada hepatosteatozu olanlarda kan basıncı değerleri de anlamlı yüksek saptanmıştır (180). Oikonomou ve ark.nın hipertansiyon ve NAFLD'nin insülin direncinin sempatik sistemini aktifleştirmesi ve renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin aktivasyonuna bağlı periferik vasküler direnç mekanizmaları üzerinden karşılıklı etkileşim halinde olduğunu gösteren meta-analiz çalışması yayınlanmıştır (181). Boyraz ve ark.nın obez ergenlerde yaptığı bir çalışmada da NAFLD (-) olan obezlere göre NAFLD (+) olanlarda KB düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur (182). Literatür ile uyumlu olarak çalışmamızda da hem kontrol grubu ile obez grubu arasında hem de kontrol grubu ile obez NAFLD (+) grubu arasında KB değerleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklıydı.

Metabolik sendromun bir parçası olan bel çevresi obez hastalarda NAFLD gelişimi ile doğrudan ilişkilidir. Li ve ark.nın 1350 Çinli çocukta yaptığı çalışmada abdominal obezite NAFLD ile doğrudan ilişkili saptanmıştır (183). Meng ve ark.nın yaptığı çalışmada da genel obeziteye, yani VKİ SDS'ye kıyasla abdominal obezite (BÇ SDS) değerinin NAFLD gelişimi açısından daha uyarıcı bir bulgu olduğu saptanmıştır (184). Boyraz ve ark.nın çalışmasında obez hastalarda BÇ yüksek olanlarda NAFLD riski istatistiksel olarak anlamlı oranda arttığı görülmüştür (182). Çalışmamızda da NAFLD (+) grupta, kontrol grubu ve NAFLD (-) gruba göre BÇ istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı. Obez NAFLD (-) ve obez NAFLD (+) gruplar arasında ise VKİ SDS'sinde anlamlı fark görülmedi. Bu da literatürde belirtildiği gibi abdominal obezitenin genel obeziteye göre NAFLD açısından daha riskli olduğunu gösterdi. Aynı zamanda yine literatürle uyumlu olarak, metabolik sendrom kriterlerini karşılayan hastalarda NAFLD gelişme riskinin artmış olduğu bulundu.

NAFLD patogenezindeki mekanizmalar henüz netleşmese de insülin direnci en iyi bilinen mekanizmadır. Hazer ve ark.nın 357 çocuk ve ergende yaptığı çalışmada, NAFLD riskinin insülin direnci ile doğru orantılı olarak arttığı gösterilmiştir (176). Boyraz ve ark.nın çalışmasında da HOMA-IR ile NAFLD gelişimi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Yukarıdaki her iki çalışmada AKŞ'nin NAFLD ile ilişkisi saptanmamıştır. Bu çalışmalara benzer olarak çalışmamızda da NAFLD'lı hastalarda HOMA-IR ve insülin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı ve AKŞ ile NAFLD arasında anlamlı ilişki bulunmadı.

Boyras ve ark.nın çalışmasında NAFLD'lı hastalarda düşük HDL ve yüksek trigliserid düzeyleri saptanmıştır (182). Corey ve ark.nın biyopsi ile yaptıkları çalışmada NAFLD olan hastalarda bazal lipid profilinde trigliserid yüksek, HDL düşük iken, total kolesterol ve LDL düzeylerinde anlamlı fark yoktu (185). Akbulut ve ark.nın çalışmasında obez ergenler arasında NAFLD olan ve olmayanlar arasında total kolesterol ve LDL düzeylerinde anlamlı fark saptanmamıştır (178). Arslan ve ark.nın yaptıkları çalışmada da obez NAFLD (+) ergenlerde obez NAFLD (-) ergenlere göre trigliserid düzeyi anlamlı yüksekti, ancak HDL, LDL ve total kolesterol değerleri arasında anlamlı fark yoktu (186). Çalışmamızda NAFLD (+) olan obezlerde NAFLD (-) obezlere göre düşük HDL ve yüksek trigliserid düzeyleri saptandı. Total kolesterol ve LDL düzeylerinde ise gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Bu bulgular literatürle uyumlu idi.

Transaminaz yüksekliği ve görüntüleme bulguları ile NAFLD teşhisi konulması altın standart olmasa bile kolay ve güvenilir tanı yöntemi olduğu için sık kullanılmaktadır (156). Bu yüzden transaminaz yüksekliği olan ergenlerde görüntüleme yapılması, NAFLD'ın erken saptanması ve erken müdahaleler ile ileri karaciğer hastalıklarının önlenmesini sağlayabileceği düşünülmektedir. Hazer ve ark.nın çalışmasında AST ve ALT değeri NAFLD'lı hastalarda anlamlı yüksek saptanmıştır (176). Akbulut ve arkadaşlarının obez ergenler üzerinde yaptıkları çalışmada AST, ALT, GGT değerleri obez NAFLD (+) olan hastalarda anlamlı yüksekti (178). Sessa ve ark.nın 2000 üzerinde obez çocukta yaptığı çalışmada NAFLD (+) obezlerde yine AST, ALT ve GGT değerleri NAFLD(-) gruba göre anlamlı yüksek saptanmıştır (187). Çalışmamızda bu çalışmalarla uyumlu olarak NAFLD (+) obez ergenlerde NAFLD (-) obezlere göre AST, ALT ve GGT değerleri yüksek sonuçlandı.

Obez ergenlerde, sağlıklı akranlarına göre TSH değeri normal aralık dahilinde yüksek seyrettiği bilinmektedir. Bu olayın mekanizması henüz net kanıtlanamamakla birlikte TSH direnci ve leptin aracılı pro-tirotropin salgılayan hormonun (pro-TRH) üretimi ile ilişkilendiren hipotezler mevcuttur (188). Licenziati ve ark.nın yaptığı iki fazlı çalışmada obez ergenlerde TSH yüksek saptanmış ve kilo verme programından sonra TSH düzeyinde anlamlı azalma saptanmıştır. Aynı çalışmada sT4 düzeyi ile obezite durumu arasında korelasyon saptanmamıştır. (189). Hazer ve ark.nın çalışmasında sT4 ve TSH düzeyi NAFLD(+) hastalarda NAFLD(-) ergenlere göre farklı saptanmamıştır. Sessa ve ark.nın geniş vaka grubu üzerinde yaptığı araştırmada ise obez NAFLD (+) çocuklarda NAFLD (-) çocuklara göre TSH düzeyi istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır (187). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak obez ergenlerde sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek TSH değeri saptandı.

Ancak obez gruplar arasında yapılan karşılaştırmada NAFLD (+) olanlarda anlamlı yükseklik saptanmadı. Bu sonuç bazı çalışmalarla uygun olsa da, bazıları ile çelişmektedir. NAFLD ile TSH ilişkisini ve hangi mekanizmalar ile oluştuğunu açıklamak için daha geniş popülasyonda yapılan çalışmalar gerekmektedir.

PNPLA3 geni erişkinlerde ve çocuklarda NAFLD ile ilişkisi gösterilen ve bu konuda en çok araştırılan genlerdendir. Çalışmamızda katılımcılarda *PNPLA3* geninde *G* allel frekansı 0,37 olarak görüldü. Farklı üç popülasyon üzerinde yapılan çalışmada *PNPLA3(rs738409)* *G* aleli frekansı beyazlarda 0,324, Afrikalılarda 0,183, İspanyollarda 0,483 olarak bulunmuştur (190). Çalışmamızın sonucu yukarıda belirtilen literatürle benzerdi.

Bu çalışmada *PNPLA3* geninin *rs738409* polimorfizmi yönünden, ultrasonografi sonuçlarına göre NAFLD (+) saptanan obez ergenlerde, NAFLD (-) ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Goran ve ark.nın 327 çocuk ve ergende yaptığı çalışmada *PNPLA3 GG* genotipine sahip bireylerde karaciğer yağlanması *CG* genotipine oranla 1,7 kat, *CC* genotipine oranla 2,4 kat daha yüksek saptanmıştır (136). Lin ve ark.nın Tayvan'da 795 obez çocuk ve ergen ile yaptıkları çalışmada da *PNPLA3 CC* genotipine göre *GC* ve *GG* genotiplerinde sırası ile 1,6 ve 2,8 kat oranında NAFLD görülme sıklığının arttığı belirlenmiştir (191). Çalışmamızın sonuçlarının daha önce yapılmış çalışmalara göre çelişkili olmasının, az örneklem sayısı ve/veya popülasyon farkı ile ilişkili olabileceğini düşündük. Türkiye'de Getiren ve ark.nın erişkinler üzerinde yaptığı bir tez çalışmasında NAFLD varlığı ve evresi ile *PNPLA3* geni arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (192). Bu sonuçlar bize daha çok popülasyonumuzda *PNPLA3 rs738409* varyantının NAFLD gelişimi üzerinden etkili olmadığını düşündürmektedir, ancak bu ilişkinin olmadığını göstermek için örneklem sayısının daha fazla olduğu çalışmalar yapılmasına ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Giudice ve ark.nın 1048 İtalyan çocuk ve ergenlerde yaptığı çalışmada yaş, cinsiyet, VKİ SDS, BÇ SDS ile *PNPLA3* gen varyantları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (133). Tayvanlı çocuk ve ergenlerde Lin ve ark.nın yaptığı çalışmada da yaş, cinsiyet, tartı SDS, boy SDS, VKİ SDS, BÇ SDS, KB verileri ile *PNPLA3* gen varyantları arasında ilişkili bulunmamıştır (193). Üç farklı popülasyon ile yapılan bir çalışmada, popülasyonların hiçbirisinde *G* alel taşıyanlarda VKİ ve vücut yağlanması arasında anlamlı ilişki sonuçlanmamıştır (190). Çalışmamızda da benzer şekilde klinik bulgular ile *PNPLA3* gen varyantları arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

PNPLA3 geninin laboratuvar sonuçlarıyla ilişkisini gösteren birçok çalışma vardır, ancak bu çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Lin ve ark.nın yaptığı çalışmada *PNPLA3* gen varyantları farklılıklarına göre ALT ve AST düzeylerinde anlamlı fark tespit edilmiş, *GG* genotipinde en yüksek, *CC* genotipinde ise en düşük ALT düzeyi olduğunu göstermişler. Aynı çalışmada *PNPLA3 rs738409* varyantı ile GGT, lipidler, AKŞ, insülin, HOMA-IR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir (191). Lee ve ark.nın farklı popülasyonlar üzerinde yaptığı çalışmada da AST, ALT, GGT değerleri homozigotlarda anlamlı yüksek saptanmıştır (194). Getiren ve ark.'nın Türk erişkin popülasyonunda yaptığı çalışmada ise *PNPLA3* wild, heterozigot ve homozigot varyantları arasında laboratuvar parametreleri karşılaştırdıklarında sadece GGT değerinde anlamlı fark saptanmıştır (192). Giudice ve ark.nın 1048 İtalyan çocuk ve ergenlerde yaptığı çalışmada HOMA-IR, insülin, AKŞ, lipidler, kreatinin, GGT değerleri ile *PNPLA3* varyantları arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (133). Primer sklerozan kolanjitli 178 hasta üzerinde Kruk ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada AST ve ALT ile *PNPLA3* gen varyantları arasında anlamlı ilişki gösterilmemiştir (195). Kafkasyalı, Afrikalı ve İspanyollar olmakla 3 farklı popülasyondan oluşan bir çalışmada, her popülasyonun kendi içinde *PNPLA3* varyantlarına göre değerlendirilmiş ve AST, ALT, AKŞ ve lipid profillerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (190). Çalışmamızda tüm ergenlerin laboratuvar sonuçlarını *PNPLA3* geninin varyantları ile karşılaştırdığımızda hiçbir değerde anlamlı farklılık saptanmadı. ALT değeri tüm gruplarda *G* alel taşıyanlarda yüksek olsa da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. AST ve ALT değerleri dışında laboratuvar parametrelerinin (HOMA-IR, insülin, AKŞ, lipidler, kreatinin, GGT) gen varyant grupları ile ilişkisi yukarıda bahsedilen çoğu çalışmalarla benzerdi. AST ve ALT değerinde *PNPLA3 rs738409* varyantına göre fark saptanmaması, Kruk ve ark. ve Santoro ve ark.nın da benzer sayıda vaka üzerinden yaptıkları çalışmada da ilişki gösterilememesi, diğer çalışmalara göre daha az sayıda örnek olmasını, Getiren ve ark.nın çalışması ile benzer sonuç olduğu için popülasyon farkı ve diğer genetik faktörlerden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda kontrol, obez NAFLD (-) ve obez NAFLD (+) gruplarının kendi aralarında *PNPLA3 rs738409* gen varyantına göre karşılaştırmalarını yaptık ve kontrol grubunda GGT değeri wild varyanta göre heterozigot ve homozigot varyantta anlamlı yüksek saptandı. Bu sonuç Türkiye'de Getiren ve ark.nın erişkinler üzerinde yaptığı çalışma ile benzerdi (192). Ancak GGT değerinin sadece kontrol grubunda bu şekilde anlamlı çıkmasını açıklamak için bu gruba da batin ultrasonografisi ile NAFLD veya diğer karaciğer patolojilerinin olup olmadığının teyit edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Ayrıca GGT değerinin *PNPLA3*

rs738409 varyantı ile ilişkili olması, bu genin sadece karaciğer yağlanması ile ilişkili olmadığını, safra kanal patolojileri ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Obez NAFLD (-) grupta AST değeri wild varyanta göre *G* aleli taşıyıcılarında anlamlı yüksek saptandı. Bu sonuç Lee ve ark.nın ve Lin ve ark.nın yaptığı çalışmalarla benzerdi (193, 194). Çalışmamızda kontrol ve obez NAFLD (+) gruplarında bu ilişkinin gösterilmemesi, AST değerinin sadece *PNPLA3* geni ile değil, diğer metabolik durumlarla da ilişkili olduğunu düşündürülebilir.

Daha önce *PNPLA3* gen varyantlarının böbrek fonksiyonları ile ilişkisini araştıran çok az çalışma olsa da Marzuillo ve ark.nın yaptığı çalışmada *G* alel taşıyıcılarında normal varyanta göre düşük böbrek fonksiyonları saptanmıştır (138). Çalışmamızda da benzer şekilde Obez NAFLD (+) grupta *G* alel taşıyıcılarında wild varyanta göre kreatinin düzeyi anlamlı yüksek saptandı.

Literatürde çocuklarda *PNPLA3* gen polimorfizmi ve tiroid fonksiyonlarını inceleyen sadece bir çalışma vardı. Sessa ve arkadaşları obez çocuk ve ergenlerde NAFLD (+) ve NAFLD (-) her iki grupta da TSH değerinin *PNPLA3* gen *rs738409* polimorfizmi ile ilişkili olmadığını saptamıştır {Di Sessa, 2023 #216}. Bizim çalışmamızda da her üç grupta sT4 ve TSH değeri *PNPLA3* geni ile ilişkili bulunmadı.

NAFLD gelişimi üzerine etkisi iyi bilinen diğer gen *TM6SF2* genidir ve bu genin *rs58542926* varyantının daha önce çoğu araştırmada NAFLD gelişimi için risk oluşturduğu gösterilmiştir. Brezilya’da Lisboa ve ark.nın yaptığı çalışmada *TM6SF2* geninde *T* (minör) alel frekansı 0,08 olarak görülmüştür (196). Çalışmamızda da *T* alel frekansı benzer olarak %8 oranında saptandı.

Grandone ve ark.nın obez ergenlerde yaptığı çalışmada *TM6SF2* geninde *T* alel taşıyıcılarında NAFLD görülme sıklığının arttığı gösterilmiştir (142). Ancak Lisboa ve ark.nın histopatoloji ile NAFLD tanısı alan hastalarda yaptığı çalışmada *TM6SF2* gen varyantları NAFLD ve NASH ile ilişkili bulunmamıştır (196). Benzer olarak Getiren ve ark.nın yaptığı çalışmada da NAFLD ile *TM6SF2* geni arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (192). Çalışmamızda da *TM6SF2* gen varyantları ile NAFLD varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Bu sonucun örnek sayısının kısıtlı olması ve farklı popülasyon verilerinin sunulmasına bağlı olabileceğini düşündük.

Grandone ve ark.nın obez çocuklarda yaptığı çalışmada VKİ SDS, BÇ SDS, KB ölçümleri ile *TM6SF2* gen varyantları arasında ilişki bulunmamıştır (142). Bizim çalışmamızda da bu antropometrik özellikler ile *TM6SF2* gen varyantları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Grandone ve ark.nın çalışmasında HOMA-IR, HDL, GGT, AST değerleri ve *TM6SF2* gen varyantları arasında ilişki yokken, ALT değerleri *T* alel taşıyıcılarında belirgin yüksek, LDL, trigliserid düzeyleri ise anlamlı düşük bulunmuştur (142). Kozlitina ve ark. *TM6SF2 E167K* varyantının bağımsız 3 farklı popülasyonda yüksek ALT, düşük trigliserid ve total kolesterol seviyeleri ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (143). Viitasalo ve ark.nın 462 Kafkasyalı çocuk ile yaptıkları çalışmada, *TM6SF2 E167K* varyantına sahip olan bireylerde yüksek ALT seviyesi, düşük trigliserid, total kolesterol ve LDL seviyeleri olduğu görülmüştür (197). Çalışmamızda *TM6SF2* geninde *T* alel taşıyıcılarında wild varyanta göre HOMA-IR, HDL, GGT, AST, ALT, trigliserid düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Kontrol grubunda ise *TM6SF2 E167K* varyantına sahip olanlarda literatürlere benzer şekilde total kolesterol ve LDL değerleri anlamlı düzeyde düşüktü. Bu ilişkinin obez grupta gösterilememesi, lipid profilinin sadece bir gen ile değil, aynı zamanda diğer genetik ve epigenetik faktörlerden etkilendiği için olabilir.

Çocuklarda ve ergenlerde *TM6SF2* geni ile tiroid fonksiyonlarını inceleyen tek çalışmada NAFLD (+) obezlerde *T* aleli taşıyan hastalarda, TSH değeri anlamlı düzeyde düşük saptandı. Obez ancak NAFLD (-) grupta ise bu ilişki bulgulanmamıştır (187). Çalışmamızda her üç grupta da *TM6SF2* gen varyantlarına göre TSH ve sT4 değerlerinde anlamlı fark saptanmadı. Sonucumuzun literatürdeki çalışma ile farklı olmasını, hasta sayısının farklı olması ile açıkladık. Bu ilişkiyi araştıran kısıtlı sayıda çalışma olduğu için bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Costanzo ve ark.nın çocuklar üzerinde yaptığı bir çalışmada *PNPLA3 G* aleli ve/veya *TM6SF2 T* aleli taşıyanlarda NAFLD gelişme riski 3 kat fazla saptanmıştır (146). Bu genlerin her ikisinin beraber NAFLD üzerinde etkilerini analiz edildiği çok fazla çalışma yapılmamıştır. Çalışmamızda bu iki genden herhangi birinde veya her ikisinde riskli alel taşıyıcılarında bu genlerde riskli allel olmayanlara göre NAFLD gelişimi 1,8 kat yüksek bulundu. Bu sonuç literatürlerle benzerdi.

Çalışmamız Türk popülasyonunda ergenlerde *PNPLA3* ve *TM6SF2* genlerinin NAFLD ile ilişkisini araştıran ilk çalışma. Çalışmada hem klinik, hem laboratuvar hem de görüntüleme bulguları *PNPLA3* ve *TM6SF2* gen varyantları ile karşılaştırılmıştır. Ancak çalışmamızın birtakım kısıtlılıkları da mevcuttur. Örneğin tanıda altın standart olan karaciğer biyopsisinin invaziv bir yöntem olması ve etik sorunlar nedeniyle yapılamaması ya da karaciğer yağ infiltrasyonunu güvenilir bir şekilde ölçen görüntüleme aracı olan manyetik rezonans görüntüleme yönteminin yüksek maliyet nedeniyle yapılamaması ve NAFLD tanısının ultrasonografi ile konulması bu çalışmadaki ilk kısıtlılıktır. Ancak invaziv girişim olmaması ve kolay ulaşılır olması sebebi ile NAFLD taramasında günümüzde ultrasonografi yapılması önerilmektedir ve bu alanda yapılan çoğu çalışma ultrasonografi ile yapılmaktadır (198). Ayrıca çalışmamız kesitsel bir çalışma olduğu için herhangi bir neden sonuç ilişkisi veremedik. Ancak genetik varyantların kalıtımını araştıran bir çalışma olmasının bu sınırlamayı azaltabileceğini düşünmekteyiz. Gerekli endikasyon olmadığı ve yeterli bütçe olmaması sebebi ile kontrol grubuna ultrasonografi yapılmadı. Ancak çalışmada bakılan her iki genin de obez olmayan hastalarda NAFLD ile ilişkili olmadığını gösteren çalışmalar (147) olduğu için bu kısıtlama göz ardı edilebilir. Çalışmamızdaki en önemli kısıtlılık genetik tetkikler için gereken kitlerin maliyeti nedeniyle hasta sayısının sınırlı tutulmasıdır. Bu konuda daha geniş hasta grupları ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ

Obez NAFLD (+) grupta obez NAFLD (-) gruba göre VKİ SDS anlamlı farklı olmasa da BÇ anlamlı yüksekti.

Obez NAFLD (+) grupta obez NAFLD (-) gruba ve kontrol grubuna göre KB değerleri daha yüksekti.

Metabolik sendrom NAFLD (+) obez grupta NAFLD (-) gruba göre daha fazlaydı.

İnsülin, HOMA-IR, ALT ve GGT değerleri her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklıydı. Bu değerler obez gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek, obez gruplar arasında ise NAFLD (+) grupta NAFLD (-) gruba göre daha yüksekti.

Trigliserid düzeyi kontrol grubuna göre obez NAFLD (+) grupta anlamlı yüksekti, kontrol ve obez NAFLD (-) grup arasında fark yoktu.

HDL kolesterol kontrol grubunda obez NAFLD (+) gruba göre anlamlı yüksekti.

TSH kontrol grubuna göre obez grupta anlamlı düzeyde yüksekti.

PNPLA3 rs738409 ve *TM6SF2 rs58542926* varyantları NAFLD ile ilişkili bulunamadı.

Kontrol grubunda *PNPLA3* geninde *G* aleli taşıyanlarda *GGT* değeri wild varyanta göre ortalama 1,6 U/L daha yüksekti ($p=0,022$).

NAFLD (-) grubunda *PNPLA3-rs738409 GC* veya *GG* genotip taşıyıcılarının AST düzeyleri *CC* genotip taşıyıcılarına göre ortalama 3,3 U/L daha yüksek saptandı ($p=0,046$).

Obez NAFLD (+) grupta *G* alel taşıyanlarda wild varyanta göre kreatinin anlamlı düzeyde yüksekti ($p=0,021$).

Kontrol grubunda *TM6SF2* geninde *T* alel taşıyanlarda wild varyanta göre total kolesterol ortalama 12,4 mg/dL ve LDL kolesterol ortalama 13 mg/dL düşüktü (sırasıyla $p=0,043$, $p=0,001$).

PNPLA3 ve/veya *TM6SF2* genlerinde minör alel taşıyan katılımcılarda, bu genlerin her ikisinde minör alel taşımayan katılımcılara göre NAFLD varlığı istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (sırasıyla %52,6 ve %29,6; $p=0,018$).



KAYNAKLAR

1. Nobili V, Alisi A, Valenti L, Miele L, Feldstein AE, Alkhouri N. NAFLD in children: new genes, new diagnostic modalities and new drugs. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(9):517-30.
2. Uppal V, Mansoor S, Furuya KN. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Current gastroenterology reports*. 2016;18:1-9.
3. Rashid M, Roberts EA. Nonalcoholic steatohepatitis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000;30(1):48-53.
4. Dongiovanni P, Valenti L. Genetics of nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016;65(8):1026-37.
5. Longo M, Meroni M, Paolini E, Erconi V, Carli F, Fortunato F, et al. TM6SF2/PNPLA3/MBOAT7 Loss-of-Function Genetic Variants Impact on NAFLD Development and Progression Both in Patients and in In Vitro Models. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2022;13(3):759-88.
6. Riccio S, Melone R, Vitulano C, Guida P, Maddaluno I, Guarino S, et al. Advances in pediatric non-alcoholic fatty liver disease: From genetics to lipidomics. *World J Clin Pediatr*. 2022;11(3):221-38.
7. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*. 2008;40(12):1461-5.
8. Hudert CA, Selinski S, Rudolph B, Bläker H, Loddenkemper C, Thielhorn R, et al. Genetic determinants of steatosis and fibrosis progression in paediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2019;39(3):540-56.
9. Sharma D, Mandal P. NAFLD: genetics and its clinical implications. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2022;46(9):102003.
10. Luo F, Oldoni F, Das A. TM6SF2: A Novel Genetic Player in Nonalcoholic Fatty Liver and Cardiovascular Disease. *Hepatol Commun*. 2022;6(3):448-60.
11. Grant-Guimaraes J, Feinstein R, Laber E, Kosoy J. Childhood Overweight and Obesity. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2016;45(4):715-28.
12. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 2000;894:i-xii, 1-253.
13. Thomas-Eapen N. Childhood Obesity. *Primary Care: Clinics in Office Practice*. 2021;48(3):505-15.
14. Bensignor MO, Bramante CT, Bomberg EM, Fox CK, Hale PM, Kelly AS, et al. Evaluating potential predictors of weight loss response to liraglutide in adolescents with obesity: A post hoc analysis of the randomized, placebo-controlled SCALE Teens trial. *Pediatr Obes*. 2023;18(9):e13061.
15. Gahagan S. Overweight and Obesity. *NELSON TEXTBOOK OF PEDIATRICS*. 21 ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2020. p. 1877.
16. Romanelli R, Cecchi N, Carbone MG, Dinardo M, Gaudino G, Miraglia Del Giudice E, et al. Pediatric obesity: prevention is better than care. *Ital J Pediatr*. 2020;46(1):103.
17. Gahagan S. Overweight and Obesity. *NELSON TEXTBOOK OF PEDIATRICS*. 21 ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2020. p. 1876.

18. Kerns J, Fisher M. Epidemiology, pathophysiology and etiology of obesity in children and adolescents. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*. 2020;50(9):100869.
19. Wang Y, Lim H. The global childhood obesity epidemic and the association between socio-economic status and childhood obesity. *International review of psychiatry*. 2012;24(3):176-88.
20. Yardim MS, Özcebe LH, Araz OM, Uner S, Li S, Unlu HK, et al. Prevalence of childhood obesity and related parental factors across socioeconomic strata in Ankara, Turkey. *East Mediterr Health J*. 2019;25(6):374-84.
21. Çam HH, Üstüner Top F. Overweight, obesity, weight-related behaviors, and health-related quality of life among high-school students in Turkey. *Eat Weight Disord*. 2020;25(5):1295-302.
22. Jebeile H, Kelly AS, O'Malley G, Baur LA. Obesity in children and adolescents: epidemiology, causes, assessment, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022;10(5):351-65.
23. Williams AS, Ge B, Petroski G, Kruse RL, McElroy JA, Koopman RJ. Socioeconomic Status and Other Factors Associated with Childhood Obesity. *J Am Board Fam Med*. 2018;31(4):514-21.
24. Pérez-Escamilla R, Obbagy JE, Altman JM, Essery EV, McGrane MM, Wong YP, et al. Dietary energy density and body weight in adults and children: a systematic review. *J Acad Nutr Diet*. 2012;112(5):671-84.
25. Khandpur N, Neri DA, Monteiro C, Mazur A, Frelut M-L, Boyland E, et al. Ultra-processed food consumption among the paediatric population: an overview and call to action from the European childhood obesity group. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2020;76(2):109-13.
26. Rolls BJ. Dietary energy density: Applying behavioural science to weight management. *Nutr Bull*. 2017;42(3):246-53.
27. Hayes JF, Fitzsimmons-Craft EE, Karam AM, Jakubiak J, Brown ML, Wilfley DE. Disordered Eating Attitudes and Behaviors in Youth with Overweight and Obesity: Implications for Treatment. *Curr Obes Rep*. 2018;7(3):235-46.
28. Rosenheck R. Fast food consumption and increased caloric intake: a systematic review of a trajectory towards weight gain and obesity risk. *Obes Rev*. 2008;9(6):535-47.
29. Flattum C, Friend S, Horning M, Lindberg R, Beaudette J, Fulkerson JA. Family-focused obesity prevention program implementation in urban versus rural communities: a case study. *BMC Public Health*. 2021;21(1):1915.
30. Yuasa K, Sei M, Takeda E, Ewis AA, Munakata H, Onishi C, et al. Effects of lifestyle habits and eating meals together with the family on the prevalence of obesity among school children in Tokushima, Japan: a cross-sectional questionnaire-based survey. *J Med Invest*. 2008;55(1-2):71-7.
31. Shirasawa T, Ochiai H, Yoshimoto T, Matoba M, Sunaga Y, Hoshino H, et al. Effects of eating dinner alone on overweight in Japanese adolescents: a cross-sectional survey. *BMC Pediatr*. 2018;18(1):36.
32. Kaisari P, Yannakoulia M, Panagiotakos DB. Eating frequency and overweight and obesity in children and adolescents: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2013;131(5):958-67.
33. Zhang P, Tang X, Peng X, Hao G, Luo S, Liang X. Effect of screen time intervention on obesity among children and adolescent: A meta-analysis of randomized controlled studies. *Prev Med*. 2022;157:107014.
34. Tyson N, Frank M. Childhood and adolescent obesity definitions as related to BMI, evaluation and management options. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018;48:158-64.
35. Olds TS, Maher CA, Ridley K, Kittel DM. Descriptive epidemiology of screen and non-screen sedentary time in adolescents: a cross sectional study. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 2010;7:92.

36. Wong JP, Bachman J, Griggs S, Hartz J. Decreasing Sedentary Behaviors in Youth to Prevent and Manage Childhood Obesity: Is It Realistic? *Curr Atheroscler Rep.* 2023;25(8):479-85.
37. Sami ROS, Kochi C, Suano-Souza FI. Childhood obesity: an ecological perspective. *J Pediatr (Rio J).* 2022;98 Suppl 1(Suppl 1):S38-s46.
38. Ferentinou E, Koutelekos I, Pappa D, Manthou P, Dafogianni C. The Impact of the COVID-19 Pandemic on Childhood Obesity: A Review. *Cureus.* 2023;15(9):e45470.
39. Farsi DJ, Elkhodary HM, Merdad LA, Farsi NM, Alaki SM, Alamoudi NM, et al. Prevalence of obesity in elementary school children and its association with dental caries. *Saudi Med J.* 2016;37(12):1387-94.
40. Wisniewski AB, Chernausk SD. Gender in childhood obesity: family environment, hormones, and genes. *Gend Med.* 2009;6 Suppl 1:76-85.
41. Kelsey MM, Zaepfel A, Bjornstad P, Nadeau KJ. Age-related consequences of childhood obesity. *Gerontology.* 2014;60(3):222-8.
42. Eisenmann JC, Ekkekakis P, Holmes M. Sleep duration and overweight among Australian children and adolescents. *Acta Paediatr.* 2006;95(8):956-63.
43. Ozturk A, Mazicioglu M, Poyrazoglu S, Cicek B, Gunay O, Kurtoglu S. The relationship between sleep duration and obesity in Turkish children and adolescents. *Acta Paediatr.* 2009;98(4):699-702.
44. Ma J, Qiao Y, Zhao P, Li W, Katzmarzyk PT, Chaput JP, et al. Breastfeeding and childhood obesity: A 12-country study. *Matern Child Nutr.* 2020;16(3):e12984.
45. Rito AI, Buoncristiano M, Spinelli A, Salanave B, Kunešová M, Hejgaard T, et al. Association between Characteristics at Birth, Breastfeeding and Obesity in 22 Countries: The WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative - COSI 2015/2017. *Obes Facts.* 2019;12(2):226-43.
46. Fernandez-Twinn DS, Hjort L, Novakovic B, Ozanne SE, Saffery R. Intrauterine programming of obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2019;62(10):1789-801.
47. Robinson SM, Godfrey KM. Feeding practices in pregnancy and infancy: relationship with the development of overweight and obesity in childhood. *Int J Obes (Lond).* 2008;32 Suppl 6:S4-10.
48. Webber-Ritchey KJ, Habtezi D, Wu X, Samek A. Examining the Association Between Parental Factors and Childhood Obesity. *J Community Health Nurs.* 2023;40(2):94-105.
49. Ayine P, Selvaraju V, Venkatapoorna CMK, Geetha T. Parental Feeding Practices in Relation to Maternal Education and Childhood Obesity. *Nutrients.* 2020;12(4).
50. Feng Y, Ding L, Tang X, Wang Y, Zhou C. Association between Maternal Education and School-Age Children Weight Status: A Study from the China Health Nutrition Survey, 2011. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(14).
51. Maddah M, Nikooyeh B. Factors associated with overweight in children in Rasht, Iran: gender, maternal education, skipping breakfast and parental obesity. *Public Health Nutr.* 2010;13(2):196-200.
52. Reinehr T, Hinney A, de Sousa G, Austrup F, Hebebrand J, Andler W. Definable somatic disorders in overweight children and adolescents. *J Pediatr.* 2007;150(6):618-22, 22.e1-5.
53. Gahagan S. Overweight and Obesity. *NELSON TEXTBOOK OF PEDIATRICS.* 1. 21 ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2020. p. 1882.
54. Styne DM, Arslanian SA, Connor EL, Farooqi IS, Murad MH, Silverstein JH, et al. Pediatric Obesity-Assessment, Treatment, and Prevention: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(3):709-57.

55. Dubern B, Mosbah H, Pigeire M, Clément K, Poitou C. Rare genetic causes of obesity: Diagnosis and management in clinical care. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2022;83(1):63-72.
56. Loos RJF, Yeo GSH. The genetics of obesity: from discovery to biology. *Nat Rev Genet*. 2022;23(2):120-33.
57. Mannan M, Mamun A, Doi S, Clavarino A. Prospective Associations between Depression and Obesity for Adolescent Males and Females- A Systematic Review and Meta-Analysis of Longitudinal Studies. *PLoS One*. 2016;11(6):e0157240.
58. Blaine B. Does depression cause obesity? A meta-analysis of longitudinal studies of depression and weight control. *Journal of health psychology*. 2008;13(8):1190-7.
59. Sahoo K, Sahoo B, Choudhury AK, Sofi NY, Kumar R, Bhadoria AS. Childhood obesity: causes and consequences. *Journal of family medicine and primary care*. 2015;4(2):187.
60. Fernstrom MH. Drugs that cause weight gain. *Obes Res*. 1995;3 Suppl 4:435s-9s.
61. Ness-Abramof R, Apovian CM. Drug-induced weight gain. *Drugs Today (Barc)*. 2005;41(8):547-55.
62. Must A, Anderson S. Body mass index in children and adolescents: considerations for population-based applications. *International journal of obesity*. 2006;30(4):590-4.
63. 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.
64. Weihe P, Weihrauch-Blüher S. Metabolic Syndrome in Children and Adolescents: Diagnostic Criteria, Therapeutic Options and Perspectives. *Curr Obes Rep*. 2019;8(4):472-9.
65. Santos S, Severo M, Lopes C, Oliveira A. Anthropometric Indices Based on Waist Circumference as Measures of Adiposity in Children. *Obesity (Silver Spring)*. 2018;26(5):810-3.
66. Tagi VM, Chiarelli F. Obesity and insulin resistance in children. *Curr Opin Pediatr*. 2020;32(4):582-8.
67. Calcaterra V, Verduci E, Vandoni M, Rossi V, Fiore G, Massini G, et al. The Effect of Healthy Lifestyle Strategies on the Management of Insulin Resistance in Children and Adolescents with Obesity: A Narrative Review. *Nutrients*. 2022;14(21).
68. He QX, Zhao L, Tong JS, Liang XY, Li RN, Zhang P, et al. The impact of obesity epidemic on type 2 diabetes in children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. *Prim Care Diabetes*. 2022;16(6):736-44.
69. Pulgaron ER, Delamater AM. Obesity and type 2 diabetes in children: epidemiology and treatment. *Curr Diab Rep*. 2014;14(8):508.
70. Atkinson RL. Obesity: Complications. In: Caballero B, editor. *Encyclopedia of Human Nutrition* (Third Edition). Waltham: Academic Press; 2013. p. 343-9.
71. Van Name M, Santoro N. Type 2 diabetes mellitus in pediatrics: a new challenge. *World Journal of Pediatrics*. 2013;9:293-9.
72. Bondyra-Wisniewska B, Myszkowska-Ryciak J, Harton A. Impact of Lifestyle Intervention Programs for Children and Adolescents with Overweight or Obesity on Body Weight and Selected Cardiometabolic Factors-A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(4).
73. Bendor CD, Bardugo A, Pinhas-Hamiel O, Afek A, Twig G. Cardiovascular morbidity, diabetes and cancer risk among children and adolescents with severe obesity. *Cardiovasc Diabetol*. 2020;19(1):79.

74. Litwin M, Kułaga Z. Obesity, metabolic syndrome, and primary hypertension. *Pediatr Nephrol.* 2021;36(4):825-37.
75. Wühl E. Hypertension in childhood obesity. *Acta Paediatr.* 2019;108(1):37-43.
76. Calcaterra V, Verduci E, Cena H, Magenes VC, Todisco CF, Tenuta E, et al. Polycystic Ovary Syndrome in Insulin-Resistant Adolescents with Obesity: The Role of Nutrition Therapy and Food Supplements as a Strategy to Protect Fertility. *Nutrients.* 2021;13(6).
77. Fu L, Qu F, Pan J, Wang T, Wang F. Polycystic ovary syndrome in adolescents with obesity. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2021;67(3):468-73.
78. Ibáñez L, Oberfield SE, Witchel S, Auchus RJ, Chang RJ, Codner E, et al. An International Consortium Update: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment of Polycystic Ovarian Syndrome in Adolescence. *Horm Res Paediatr.* 2017;88(6):371-95.
79. Engin A. The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. *Adv Exp Med Biol.* 2017;960:1-17.
80. Dâmaso AR, Tock L, Figueiredo N, Corgosinho FC. What is the best clinical approach to adolescents with obesity and metabolic syndrome? *Expert Rev Endocrinol Metab.* 2023;18(4):267-9.
81. Poyrazoglu S, Bas F, Darendeliler F. Metabolic syndrome in young people. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2014;21(1):56-63.
82. Díaz-Ortega JL, Yupari-Azabache IL, Caballero Vidal JA, Conde-Parada NE, Rojas Gamboa AF. Criteria in the Diagnosis of Metabolic Syndrome in Children: A Scoping Review. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2023;16:3489-500.
83. Zimmet P, Alberti KG, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, et al. The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes.* 2007;8(5):299-306.
84. Cook S, Weitzman M, Auinger P, Nguyen M, Dietz WH. Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2003;157(8):821-7.
85. Barmherzig R, Szperka CL. Pseudotumor Cerebri Syndrome in Children. *Curr Pain Headache Rep.* 2019;23(8):58.
86. Aylward SC, Aronowitz C, Roach ES. Intracranial Hypertension Without Papilledema in Children. *J Child Neurol.* 2016;31(2):177-83.
87. Bonsignore MR. Obesity and Obstructive Sleep Apnea. *Handb Exp Pharmacol.* 2022;274:181-201.
88. O'Sullivan BP, James L, Majure JM, Bickel S, Phan LT, Serrano Gonzalez M, et al. Obesity-related asthma in children: A role for vitamin D. *Pediatr Pulmonol.* 2021;56(2):354-61.
89. Fassio A, Idolazzi L, Rossini M, Gatti D, Adami G, Giollo A, et al. The obesity paradox and osteoporosis. *Eat Weight Disord.* 2018;23(3):293-302.
90. Rinonapoli G, Pace V, Ruggiero C, Ceccarini P, Bisaccia M, Meccariello L, et al. Obesity and Bone: A Complex Relationship. *Int J Mol Sci.* 2021;22(24).
91. Walker JL, Hosseinzadeh P, White H, Murr K, Milbrandt TA, Talwalkar VJ, et al. Idiopathic Genu Valgum and Its Association With Obesity in Children and Adolescents. *J Pediatr Orthop.* 2019;39(7):347-52.
92. Griggs CL, Perez NP, Chan MC, Pratt JS. Slipped capital femoral epiphysis and Blount disease as indicators for early metabolic surgical intervention. *Surg Obes Relat Dis.* 2019;15(10):1836-41.

93. Nedunchezhiyan U, Varughese I, Sun AR, Wu X, Crawford R, Prasad I. Obesity, Inflammation, and Immune System in Osteoarthritis. *Front Immunol.* 2022;13:907750.
94. Schwimmer JB, Burwinkle TM, Varni JW. Health-related quality of life of severely obese children and adolescents. *Jama.* 2003;289(14):1813-9.
95. Güven M, Anık A, Ünüvar T, İlgin Gürel D, Şendur N. Cutaneous manifestations of obesity in Turkish children: A comparative study. *Pediatr Dermatol.* 2022;39(4):513-9.
96. Dabas A, Seth A. Prevention and Management of Childhood Obesity. *Indian J Pediatr.* 2018;85(7):546-53.
97. Qiao J, Dai LJ, Zhang Q, Ouyang YQ. A Meta-Analysis of the Association Between Breastfeeding and Early Childhood Obesity. *J Pediatr Nurs.* 2020;53:57-66.
98. Wilfley DE, Saelens BE, Stein RI, Best JR, Kolko RP, Schechtman KB, et al. Dose, Content, and Mediators of Family-Based Treatment for Childhood Obesity: A Multisite Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatr.* 2017;171(12):1151-9.
99. Hayes JF, Balantekin KN, Conlon RPK, Brown ML, Stein RI, Welch RR, et al. Home and neighbourhood built environment features in family-based treatment for childhood obesity. *Pediatr Obes.* 2019;14(3):e12477.
100. Epstein LH, Raja S, Daniel TO, Paluch RA, Wilfley DE, Saelens BE, et al. The built environment moderates effects of family-based childhood obesity treatment over 2 years. *Ann Behav Med.* 2012;44(2):248-58.
101. Best JR, Goldschmidt AB, Mockus-Valenzuela DS, Stein RI, Epstein LH, Wilfley DE. Shared weight and dietary changes in parent-child dyads following family-based obesity treatment. *Health Psychol.* 2016;35(1):92-5.
102. Jones M, Defever E, Letsinger A, Steele J, Mackintosh KA. A mixed-studies systematic review and meta-analysis of school-based interventions to promote physical activity and/or reduce sedentary time in children. *J Sport Health Sci.* 2020;9(1):3-17.
103. Ip P, Ho FK, Louie LH, Chung TW, Cheung YF, Lee SL, et al. Childhood Obesity and Physical Activity-Friendly School Environments. *J Pediatr.* 2017;191:110-6.
104. Shaban Mohamed MA, AbouKhatwa MM, Saifullah AA, Hareez Syahmi M, Mosaad M, Elrggal ME, et al. Risk Factors, Clinical Consequences, Prevention, and Treatment of Childhood Obesity. *Children (Basel).* 2022;9(12).
105. Bensignor MO, Kelly AS, Arslanian S. Anti-obesity pharmacotherapy for treatment of pediatric type 2 diabetes: Review of the literature and lessons learned from adults. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:1043650.
106. Knudsen LB, Lau J. The discovery and development of liraglutide and semaglutide. *Frontiers in endocrinology.* 2019;10:155.
107. Food U, Administration D. Orlistat (marketed as Alli and Xenical) information. 2014.
108. McNeely W, Benfield P. Orlistat. *Drugs.* 1998;56(2).
109. Catoira N, Nagel M, Di Girolamo G, Gonzalez CD. Pharmacological treatment of obesity in children and adolescents: current status and perspectives. *Expert Opin Pharmacother.* 2010;11(18):2973-83.
110. Aly FZ, Kleiner DE. Update on fatty liver disease and steatohepatitis. *Adv Anat Pathol.* 2011;18(4):294-300.
111. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, Caprio S, Daniels SR, Kohli R, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children:

Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;64(2):319-34.

112. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JP, Lawlor DA, Fraser A. The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015;10(10):e0140908.

113. Nobili V, Alisi A, Newton KP, Schwimmer JB. Comparison of the Phenotype and Approach to Pediatric vs Adult Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* 2016;150(8):1798-810.

114. Rich NE, Oji S, Mufti AR, Browning JD, Parikh ND, Odewole M, et al. Racial and ethnic disparities in nonalcoholic fatty liver disease prevalence, severity, and outcomes in the United States: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 2018;16(2):198-210. e2.

115. Younossi Z, Tacke F, Arrese M, Chander Sharma B, Mostafa I, Bugianesi E, et al. Global perspectives on nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2019;69(6):2672-82.

116. Carbone LJ, Angus PW, Yeomans ND. Incretin-based therapies for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2016;31(1):23-31.

117. Utzschneider KM, Kahn SE. Review: The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(12):4753-61.

118. Bugianesi E, Moscatiello S, Ciaravella M, Marchesini G. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Current pharmaceutical design.* 2010;16(17):1941-51.

119. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism.* 2016;65(8):1038-48.

120. Yamaguchi K, Yang L, McCall S, Huang J, Yu XX, Pandey SK, et al. Diacylglycerol acyltransferase 1 anti-sense oligonucleotides reduce hepatic fibrosis in mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2008;47(2):625-35.

121. Diehl AM, Day C. Cause, Pathogenesis, and Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med.* 2017;377(21):2063-72.

122. Vos MB, Lavine JE. Dietary fructose in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2013;57(6):2525-31.

123. Sliz E, Sebert S, Würtz P, Kangas AJ, Soininen P, Lehtimäki T, et al. NAFLD risk alleles in PNPLA3, TM6SF2, GCKR and LYPLAL1 show divergent metabolic effects. *Human Molecular Genetics.* 2018;27(12):2214-23.

124. Pingitore P, Romeo S. The role of PNPLA3 in health and disease. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2019;1864(6):900-6.

125. Xiang H, Wu Z, Wang J, Wu T. Research progress, challenges and perspectives on PNPLA3 and its variants in Liver Diseases. *J Cancer.* 2021;12(19):5929-37.

126. Pingitore P, Pirazzi C, Mancina RM, Motta BM, Indiveri C, Pujia A, et al. Recombinant PNPLA3 protein shows triglyceride hydrolase activity and its I148M mutation results in loss of function. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1841(4):574-80.

127. Kumashiro N, Yoshimura T, Cantley JL, Majumdar SK, Guebre-Egziabher F, Kursawe R, et al. Role of patatin-like phospholipase domain-containing 3 on lipid-induced hepatic steatosis and insulin resistance in rats. *Hepatology.* 2013;57(5):1763-72.

128. Qadri S, Lallukka-Brück S, Luukkonen PK, Zhou Y, Gastaldelli A, Orho-Melanders M, et al. The PNPLA3-I148M variant increases polyunsaturated triglycerides in human adipose tissue. *Liver Int.* 2020;40(9):2128-38.
129. Miyoshi H, Perfield JW, 2nd, Obin MS, Greenberg AS. Adipose triglyceride lipase regulates basal lipolysis and lipid droplet size in adipocytes. *J Cell Biochem.* 2008;105(6):1430-6.
130. Rotman Y, Koh C, Zmuda JM, Kleiner DE, Liang TJ. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2010;52(3):894-903.
131. Tang S, Zhang J, Mei TT, Guo HQ, Wei XH, Zhang WY, et al. Association of PNPLA3 rs738409 G/C gene polymorphism with nonalcoholic fatty liver disease in children: a meta-analysis. *BMC Med Genet.* 2020;21(1):163.
132. Speliotes EK, Butler JL, Palmer CD, Voight BF, Hirschhorn JN. PNPLA3 variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease. *Hepatology.* 2010;52(3):904-12.
133. Giudice EM, Grandone A, Cirillo G, Santoro N, Amato A, Brienza C, et al. The association of PNPLA3 variants with liver enzymes in childhood obesity is driven by the interaction with abdominal fat. *PLoS One.* 2011;6(11):e27933.
134. Marzuillo P, Miraglia del Giudice E, Santoro N. Pediatric fatty liver disease: role of ethnicity and genetics. *World J Gastroenterol.* 2014;20(23):7347-55.
135. Romeo S, Sentinelli F, Dash S, Yeo GS, Savage DB, Leonetti F, et al. Morbid obesity exposes the association between PNPLA3 I148M (rs738409) and indices of hepatic injury in individuals of European descent. *Int J Obes (Lond).* 2010;34(1):190-4.
136. Goran MI, Walker R, Le K-A, Mahurkar S, Vikman S, Davis JN, et al. Effects of PNPLA3 on liver fat and metabolic profile in Hispanic children and adolescents. *Diabetes.* 2010;59(12):3127-30.
137. Targher G, Mantovani A, Alisi A, Mosca A, Panera N, Byrne CD, et al. Relationship Between PNPLA3 rs738409 Polymorphism and Decreased Kidney Function in Children With NAFLD. *Hepatology.* 2019;70(1):142-53.
138. Marzuillo P, Di Sessa A, Guarino S, Capalbo D, Umamo GR, Pedullà M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and eGFR levels could be linked by the PNPLA3 I148M polymorphism in children with obesity. *Pediatr Obes.* 2019;14(10):e12539.
139. Mahdessian H, Taxiarchis A, Popov S, Silveira A, Franco-Cereceda A, Hamsten A, et al. TM6SF2 is a regulator of liver fat metabolism influencing triglyceride secretion and hepatic lipid droplet content. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2014;111(24):8913-8.
140. Kozlitina J, Smagris E, Stender S, Nordestgaard BG, Zhou HH, Tybjaerg-Hansen A, et al. Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nature genetics.* 2014;46(4):352-6.
141. Li T-T, Li T-H, Peng J, He B, Liu L-S, Wei D-H, et al. TM6SF2: A novel target for plasma lipid regulation. *Atherosclerosis.* 2018;268:170-6.
142. Grandone A, Cozzolino D, Marzuillo P, Cirillo G, Di Sessa A, Ruggiero L, et al. TM6SF2 G167L polymorphism is associated with low levels of LDL-cholesterol and increased liver injury in obese children. *Pediatric obesity.* 2016;11(2):115-9.
143. Holmen OL, Zhang H, Fan Y, Hovelson DH, Schmidt EM, Zhou W, et al. Systematic evaluation of coding variation identifies a candidate causal variant in TM6SF2 influencing total cholesterol and myocardial infarction risk. *Nature genetics.* 2014;46(4):345-51.

144. Dongiovanni P, Petta S, Maglio C, Fracanzani AL, Pipitone R, Mozzi E, et al. Transmembrane 6 superfamily member 2 gene variant disentangles nonalcoholic steatohepatitis from cardiovascular disease. *Hepatology*. 2015;61(2):506-14.
145. Sunami Y, Rebelo A, Kleeff J. Lipid droplet-associated factors, PNPLA3, TM6SF2, and HSD17B proteins in hepatopancreatobiliary cancer. *Cancers*. 2021;13(17):4391.
146. Di Costanzo A, Pacifico L, Chiesa C, Perla FM, Ceci F, Angeloni A, et al. Genetic and metabolic predictors of hepatic fat content in a cohort of Italian children with obesity. *Pediatr Res*. 2019;85(5):671-7.
147. Xu M, Li Y, Zhang S, Wang X, Shen J, Zhang S. Interaction of TM6SF2 E167K and PNPLA3 I148M variants in NAFLD in northeast China. *Ann Hepatol*. 2019;18(3):456-60.
148. Moylan CA, Mavis AM, Jima D, Maguire R, Bashir M, Hyun J, et al. Alterations in DNA methylation associate with fatty liver and metabolic abnormalities in a multi-ethnic cohort of pre-teenage children. *Epigenetics*. 2022;17(11):1446-61.
149. Nadeau KJ, Klingensmith G, Zeitler P. Type 2 diabetes in children is frequently associated with elevated alanine aminotransferase. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;41(1):94-8.
150. Hamed AE, Elshahar M, Elwan NM, El-Nakeep S, Naguib M, Soliman HH, et al. Managing diabetes and liver disease association. *Arab J Gastroenterol*. 2018;19(4):166-79.
151. Marzuillo P, Del Giudice EM, Santoro N. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: New insights and future directions. *World J Hepatol*. 2014;6(4):217-25.
152. Schwimmer JB, Deutsch R, Rauch JB, Behling C, Newbury R, Lavine JE. Obesity, insulin resistance, and other clinicopathological correlates of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr*. 2003;143(4):500-5.
153. el-Karaksy HM, el-Koofy NM, Anwar GM, el-Mougy FM, el-Hennawy A, Fahmy ME. Predictors of non-alcoholic fatty liver disease in obese and overweight Egyptian children: single center study. *Saudi J Gastroenterol*. 2011;17(1):40-6.
154. Nobili V, Reale A, Alisi A, Morino G, Trenta I, Pisani M, et al. Elevated serum ALT in children presenting to the emergency unit: Relationship with NAFLD. *Dig Liver Dis*. 2009;41(10):749-52.
155. Vajro P, Lenta S, Socha P, Dhawan A, McKiernan P, Baumann U, et al. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54(5):700-13.
156. Ezaizi Y, Kabbany MN, Conjeevaram Selvakumar PK, Sarmini MT, Singh A, Lopez R, et al. Comparison between non-alcoholic fatty liver disease screening guidelines in children and adolescents. *JHEP Rep*. 2019;1(4):259-64.
157. Zhang S, Mak LY, Yuen MF, Seto WK. Screening strategy for non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Mol Hepatol*. 2023;29(Suppl):S103-s22.
158. Asrani SK. Incorporation of Noninvasive Measures of Liver Fibrosis Into Clinical Practice: Diagnosis and Prognosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13(12):2190-204.
159. Ozturk A, Olson MC, Samir AE, Venkatesh SK. Liver fibrosis assessment: MR and US elastography. *Abdom Radiol (NY)*. 2022;47(9):3037-50.
160. Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, Sanyal AJ. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med*. 2018;24(7):908-22.
161. Mann JP, Valenti L, Scorletti E, Byrne CD, Nobili V. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children. *Semin Liver Dis*. 2018;38(1):1-13.

162. Cusi K, Isaacs S, Barb D, Basu R, Caprio S, Garvey WT, et al. American Association of Clinical Endocrinology Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Primary Care and Endocrinology Clinical Settings: Co-Sponsored by the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). *Endocr Pract.* 2022;28(5):528-62.
163. Caro-Sabido E, Larrosa-Haro A. Efficacy of dietary intervention and physical activity in children and adolescents with nonalcoholic fatty liver disease associated with obesity: A scoping review. *Revista de Gastroenterología de México (English Edition).* 2019;84(2):185-94.
164. Africa JA, Newton KP, Schwimmer JB. Lifestyle Interventions Including Nutrition, Exercise, and Supplements for Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children. *Dig Dis Sci.* 2016;61(5):1375-86.
165. Taylor RS, Taylor RJ, Bayliss S, Hagström H, Nasr P, Schattenberg JM, et al. Association Between Fibrosis Stage and Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology.* 2020;158(6):1611-25.e12.
166. Draijer L, Benninga M, Koot B. Pediatric NAFLD: an overview and recent developments in diagnostics and treatment. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;13(5):447-61.
167. Anstee QM, Targher G, Day CP. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013;10(6):330-44.
168. Neyzi O, Bundak R, Gökçay G, Günöz H, Furman A, Darendeliler F, et al. Reference Values for Weight, Height, Head Circumference, and Body Mass Index in Turkish Children. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2015;7(4):280-93.
169. Flynn JT, Kaelber DC, Baker-Smith CM, Blowey D, Carroll AE, Daniels SR, et al. Clinical practice guideline for screening and management of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics.* 2017;140(3).
170. <https://www.ceddcozum.com/bloodpressure> [Available from: <https://www.ceddcozum.com/bloodpressure>.
171. Dasarathy S, Dasarathy J, Khiyami A, Joseph R, Lopez R, McCullough AJ. Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: a prospective study. *J Hepatol.* 2009;51(6):1061-7.
172. Ercan S, Dallar YB, Önen S, Engiz Ö. Prevalence of obesity and associated risk factors among adolescents in Ankara, Turkey. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2012;4(4):204-7.
173. Pirinçci E, Durmuş B, Gündoğdu C, Açık Y. Prevalence and risk factors of overweight and obesity among urban school children in Elazığ city, Eastern Turkey, 2007. *Ann Hum Biol.* 2010;37(1):44-56.
174. Discigil G, Tekin N, Soylemez A. Obesity in Turkish children and adolescents: prevalence and non-nutritional correlates in an urban sample. *Child Care Health Dev.* 2009;35(2):153-8.
175. Villanueva-Ortega E, Garcés-Hernández MJ, Herrera-Rosas A, López-Alvarenga JC, Laresgoiti-Servitje E, Escobedo G, et al. Gender-specific differences in clinical and metabolic variables associated with NAFLD in a Mexican pediatric population. *Ann Hepatol.* 2019;18(5):693-700.
176. Hazer İ, Kabukçu HO, Yağcı M, Ertürk Z, Yıldırım GK, Kirel B. The association of lipid metabolism and non-alcoholic fatty liver disease in children with obesity. *Turk Pediatri Ars.* 2020;55(3):263-9.
177. Koutny F, Stein R, Kiess W, Weghuber D, Körner A. Elevated transaminases potentiate the risk for emerging dysglycemia in children with overweight and obesity. *Pediatr Obes.* 2021;16(12):e12822.
178. Akbulut UE, Emeksiz HC, Citli S, Cebi AH, Korkmaz HAA, Baki G. IL-17A, MCP-1, CCR-2, and ABCA1 polymorphisms in children with non-alcoholic fatty liver disease. *J Pediatr (Rio J).* 2019;95(3):350-7.

179. Babinska K, Kovacs L, Janko V, Dallos T, Feber J. Association between obesity and the severity of ambulatory hypertension in children and adolescents. *J Am Soc Hypertens.* 2012;6(5):356-63.
180. Aslan A, Erdemli S, Günaydın GD, Aslan M, Yazar R, Kabaalioğlu A, et al. Cardiometabolic risk factors in Turkish children with hepatosteatos. *Turk J Pediatr.* 2019;61(5):714-22.
181. Oikonomou D, Georgiopoulos G, Katsi V, Kourek C, Tsioufis C, Alexopoulou A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and hypertension: coprevalent or correlated? *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2018;30(9):979-85.
182. Boyraz M, Hatipoğlu N, Sarı E, Akçay A, Taşkın N, Ulucan K, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in obese children and the relationship between metabolic syndrome criteria. *Obes Res Clin Pract.* 2014;8(4):e356-63.
183. Li M, Shu W, Zunong J, Amaerjiang N, Xiao H, Li D, et al. Predictors of non-alcoholic fatty liver disease in children. *Pediatr Res.* 2022;92(1):322-30.
184. Meng L, Luo N, Mi J. Impacts of types and degree of obesity on non-alcoholic fatty liver disease and related dyslipidemia in Chinese school-age children? *Biomed Environ Sci.* 2011;24(1):22-30.
185. Corey KE, Vuppalaanchi R, Vos M, Kohli R, Molleston JP, Wilson L, et al. Improvement in liver histology is associated with reduction in dyslipidemia in children with nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015;60(3):360-7.
186. Arslan N, Büyükgebiz B, Öztürk Y, Cakmakçi H. Fatty liver in obese children: prevalence and correlation with anthropometric measurements and hyperlipidemia. *Turk J Pediatr.* 2005;47(1):23-7.
187. Di Sessa A, Cembalo S, Sambiasi S, Sanseverino N, De Simone RF, Marrapodi MM, Cirillo G, Umiano GR, et al. Association between non-alcoholic fatty liver disease and subclinical hypothyroidism in children with obesity. *J Endocrinol Invest.* 2023;46(9):1835-42.
188. Walczak K, Sieminska L. Obesity and Thyroid Axis. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(18).
189. Licenziati MR, Valerio G, Vetrani I, De Maria G, Liotta F, Radetti G. Altered Thyroid Function and Structure in Children and Adolescents Who Are Overweight and Obese: Reversal After Weight Loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019;104(7):2757-65.
190. Santoro N, Kursawe R, D'Adamo E, Dykas DJ, Zhang CK, Bale AE, et al. A common variant in the patatin-like phospholipase 3 gene (PNPLA3) is associated with fatty liver disease in obese children and adolescents. *Hepatology.* 2010;52(4):1281-90.
191. Lin YC, Chang PF, Chang MH, Ni YH. Genetic variants in GCKR and PNPLA3 confer susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease in obese individuals. *Am J Clin Nutr.* 2014;99(4):869-74.
192. Getiren Ş. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının metabolik parametreler, controlled attenuation parameter, geçici elastografi, PNPLA3 RS738409 ve TM6SF2 RS58542926 gen varyantları ile ilişkisi.
193. Lin YC, Chang PF, Hu FC, Yang WS, Chang MH, Ni YH. A common variant in the PNPLA3 gene is a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease in obese Taiwanese children. *J Pediatr.* 2011;158(5):740-4.
194. Lee KJ, Moon JS, Kim NY, Ko JS. Effects of PNPLA3, TM6SF2 and SAMM50 on the development and severity of non-alcoholic fatty liver disease in children. *Pediatr Obes.* 2022;17(2):e12852.
195. Kruk B, Liebe R, Milkiewicz M, Wunsch E, Raszeja-Wyszomirska J, Lammert F, et al. PNPLA3 p.I148M and TM6SF2 p.E167K variants do not predispose to liver injury in cholestatic liver diseases: A prospective analysis of 178 patients with PSC. *PLoS One.* 2018;13(8):e0202942.

196. Lisboa QC, Nardelli MJ, Pereira PA, Miranda DM, Ribeiro SN, Costa RSN, et al. PNPLA3 and TM6SF2 polymorphisms in Brazilian patients with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol.* 2020;12(10):792-806.
197. Viitasalo A, Pihlajamäki J, Paananen J, Atalay M, Lindi V, Lakka TA. Associations of TM6SF2 167K allele with liver enzymes and lipid profile in children: the PANIC Study. *Pediatr Res.* 2016;79(5):684-8.
198. Marzuillo P, Grandone A, Perrone L, Del Giudice EM. Controversy in the diagnosis of pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology: WJG.* 2015;21(21):6444.

