

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**OBEZİTE HASTALARINDA HİPOKSİ İLE
İNDÜKLENEN FAKTÖR-1 α (*HIF1A*) GEN
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Burcu ERTUNÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Fuat DİLMEÇ**

**ŞANLIURFA
2022**

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**OBEZİTE HASTALARINDA HİPOKSİ İLE
İNDÜKLENEN FAKTÖR-1 α (*HIF1A*) GEN
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Burcu ERTUNÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Fuat DİLMEÇ**

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (HÜBAP)
tarafından 21251 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ŞANLIURFA
2022**

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez sürecim boyunca bilimsel çalışmanın gereklerini bilgi, beceri, tecrübe ve hoşgörüsüyle öğreten Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Fuat DİLMEÇ'e,

Yüksek lisans öğrenimim süresince bilgilerinden yararlandığım, üzerimde emeği bulunan tüm Tıbbi Biyoloji Anabilim dalı hocalarıma,

Tez çalışmamda kullandığım biyolojik materyallerin temin edilmesinde yardımları bulunan Prof. Dr. Mehmet Ali EREN'e ve klinik çalışanlarına,

Yüksek lisans eğitimim süresince çalışma amirimin ötesinde babacanlığı ile desteklerini esirgemeyen Uz. Dr. Mehmet Cihan EKMEN ve kıymetli ailesine,

Tüm hayatım boyunca maddi ve manevi her koşulda her zaman yanımda olan ve dualarını hiçbir zaman esirgemeyen canım aileme teşekkürlerimi sunarım.

Burcu ERTUNÇ

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
TABLolar DİZİNİ	VI
KISALTMALAR VE SİMGELER	VII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Obezite.....	3
2.1.1. Obezite Alt Tipleri.....	3
2.1.2. Obezite Nedenleri.....	5
2.1.3. Obezite Patogenezi.....	6
2.1.4. Obezite İçin Kimler Risk Altında.....	10
2.1.5. Obezite Klinik Tanı Kriterleri.....	11
2.1.6. Epidemiyoloji.....	14
2.2. HIF (Hipoksi Induced Factor).....	17
2.2.1. HIF1 α Stabilizasyonunun Moleküler Mekanizması.....	19
2.2.2. HIF1 Proteinlerinin İşlevi.....	20
2.2.3. HIF1A'nın Hedef Genleri.....	20
2.3. HIF ve Obezite İlişkisi.....	22
2.3.1. Obezitede Yağ Dokusu Hipoksisi.....	23
2.3.2. Adipozite ve Adipogenezin HIF'ler tarafından düzenlenmesi.....	23
2.3.3. HIF ve Obezite İlişkili İnflamasyon.....	24
2.3.4. HIF'ler ve İnsülin Direnci.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Hastalar ve Kontrol Grubu Bireyleri.....	26
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	26
3.3. Kullanılan Moleküler ve Kimyasal Malzemeler.....	27
3.4. DNA İzolasyonda Kullanılan Tamponlar.....	28
3.5. DNA Elde Edilmesi.....	29
3.6. PCR'da Kullanılan Primerlerin Annealing Sıcaklığını Belirlemek için Gradient PCR Tekniği.....	30

3.7. PCR-RFLP (Polimeraz Zincir Reaksiyonu - Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) Tekniği.....	31
3.8. İstatiksel Analiz.....	34
3.9. Etik	34
4. BULGULAR.....	35
5. TARTIŞMA.....	38
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	41
7. KAYNAKLAR	42
8. EKLER	
8.1. Etik Kurul Kararı.....	54
8.2. İntihal Raporu.....	55
8.3. Orjinallik Raporu ve Beyan Belgesi.....	56
8.4. Tez Veri Giriş Formu.....	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2. 1. İnsan 14. kromozomu üzerinde <i>HIF1A</i> geni.....	19
Şekil 2. 2. HIF1A ve HIF1B'nin moleküler yapısı.....	19
Şekil 2. 3. Oksijen düzeyine bağlı HIF1A stabilizasyonu ve transaktivasyonu.....	20
Şekil 3.1. <i>HIF1A</i> geni:c.1744C>T ve c.1762G>A gradient PCR profili.....	30
Şekil 3.2. <i>HIF1A</i> :c.1744C>T noktasının HphI restriksiyon profili.....	33
Şekil 3.3. <i>HIF1A</i> :c.1762G>A noktasının Acil restriksiyon profili.....	34



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2. 1. Yetişkinlerde Beden Kitle İndeksi (BKİ) Sınıflandırılması.....	11
Tablo 2. 2. Toplumlara Özgü Abdominal Obeziteyi Tanımlayan Bel Çevresi Değerleri.....	12
Tablo 3. 2. Çalışmada kullanılan primer dizileri.....	30
Tablo 4. 1. Hasta ve kontrol grubu bireylerinin demografik ve klinik veri dağılımı.....	35
Tablo 4. 2. Hasta ve Kontrol gruplarında <i>HIF1A</i> :c.1744C>T ve c.1762G>A Polimorfizm Oranlarının Dağılımı.....	36
Tablo 4. 3. Obez hastalarda <i>HIF1A</i> geni normal ve polimorfik genotipler arasında demografik ve klinik parametrelerin değerleri.....	37

KISALTMALAR VE SİMGELER

WHO	World Health Organisation (Dünya Sağlık Örgütü)
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
BKİ	Beden Kitle İndeksi
HT	Hipertansiyon
HL	Hiperlipidemi
HIF	Hipoksi ile indüklenen faktör
ARNT	Aril hidrokarbon nükleer translokator
DM	Diabetes mellitus
AgRP	Agouti ile ilişkili peptid
MC4R	Melanokortin-4 reseptörü
ADRB3	β 3-adrenerjik reseptör
PCSK1	Proprotein konvertaz subtilisin kexin-1
BDNF	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
MTNR1B	Melatonin reseptör-1B)
TLR4	Toll like reseptör 4
ENPP1	Ekonükleotid pirofosfataz/fosfodiesteraz-1
FGFR1	Fibroblast büyüme faktörü reseptör-1
LEP/LEPR	Leptin/leptin reseptörü
SCFA	Short chain fatty acid / kısa zincirli yağ asidi
IGF-2	İnsülin benzeri büyüme faktörü 2
TNF	Tümör nekrozis faktör
NPY	Nöropeptit Y
IRS1	İnsülin reseptör substrat 1
TFAM	Mitokondriyal transkripsiyon faktör A
IL6	İnterlökin-6
LY86	Lenfosit antijen 86
GLU4	Glukoz transport 4
C/EBPb	CCAAT arttırıcı bağlayıcı protein b
Pref-1	Preadiposit faktör-1
aP2	adiposit protein 2
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu

VAİ	Visseral adipozite indeksi
NHANES III	National Health and Nutrition Examination Survey III (Üçüncü Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırması)
MONICA	Kardiyovasküler Hastalıkta Belirleyicilerin ve Eğilimlerin Çokuluslu İzlenmesi
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development (Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü)
ROC	Receiver operator characteristics (alıcı operatör özelliği)
HRE	Hypoxia response element (hipoksi cevap elementi)
PAS	PER-ARNT-SIM bölgeleri
bHLH	Basic-helix loop-helix (temel sarmal döngü)
NLS	Nüklear lokalizasyon sinyali

ÖZET

OBEZİTE HASTALARINDA HİPOKSİ İLE İNDÜKLENEN FAKTÖR-1 α (*HIF1A*) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Burcu ERTUNÇ

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Obezite, fazla kilo veya anormal yağ birikimi olarak tanımlanır. Hücrel oksijen konsantrasyon değişimleri hipoksi ile indüklenen faktör-1 α (*HIF1A*) proteini tarafından düzenlenmektedir. Hipoksi ile indüklenebilir faktör- α , obezitede inflamasyonu ve insülin direncini indükleyen oksijen homeostazında yer alan temel bir transkripsiyon faktörüdür. Obezitenin gelişiminde poligenik kalıtımın etkili olduğu bilinmektedir. *HIF1A* geni polimorfik alanlarının obezite üzerine olan ilişkileri yeterince araştırılmadığı görülmüştür. Bu çalışmada, *HIF1A* geni polimorfizmlerinin genotip ve allel oranlarının obezite gelişimine etki edip etmediği, heterozigot ve polimorf homozigot genotiplerin hastaların klinik ve demografik verileriyle ilişkili olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Obezite teşhisi konan hasta ve sağlıklı kontrol bireyden EDTA'lı kan alındı. Alınan kanlardan tuzla çöktürme yöntemi ile DNA izole edildi ve PCR işlemine kadar -20°C'de tutuldu. *HIF1A* geni NM_001530.3:c.1744C>T ve c.1762G>A polimorfik noktalarının genotip ve allel frekansları polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parça uzunluk polimorfizm (PCR-RFLP) tekniği ile analiz edildi.

Yapılan çalışma sonuçlarına göre *HIF1A* geni: c.1744C>T ve c.1762G>A genotip ve allel oranları obez hasta grubu ile kontrol grubu hastaları arasında istatistiki olarak herhangi bir fark görülmedi ($p>0.05$). Ancak hasta ve kontrol grubu arasında incelenen beden kitle indeksi, bel çevresi, hemoglobin ve diastolik kan basınçları gibi klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar belirlendi ($p<0.05$).

Sonuç olarak *HIF1A* geninin her iki polimorfik alanının obezite gelişiminde bir risk oluşturmadığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: *HIF1A*, Obezite, PCR, RFLP, Polimorfizm

ABSTRACT

INVESTIGATION OF HYPOXIA-INDUCED FACTOR-1 α (*HIF1A*) GENE POLYMORPHISMS IN OBESITY PATIENTS

Burcu ERTUNÇ

Medical Biology Department, Master's Thesis

Also as obese, overweight or normal fat. The cellular-directed factor-1 α (*HIF1A*) protein is regulated. Hypoxia-inducible factor- α is a transcription based on localization in swelling and lightning factor in insulin resistance. The effect of obesity is known to be due to polygenic inheritance. The *HIF1A* gene is being studied by people with the polymorphic after administration. This study deals with the patient and clinical basis of heterozygous and polymorphic genotypes that cannot be influenced on *HIF1A* genotypes.

The patient with obesity was controlled in a healthy way. DNA was isolated from the blood samples by precipitation method and kept at -20°C until the PCR process. Genotype and allele frequencies of *HIF1A* gene NM_001530.3:c.1744C>T and c.1762G>A polymorphic spots were analyzed by polymerase chain reaction-restriction polymorphism (PCR-RFLP) technique.

There was no statistical difference between the *HIF1A* genotype and allele in the obese patient group and the control group ($p>0.05$). However, clinical differences such as body mass index, waist circumference, hemoglobin and diaslic blood tests examined between the patient and control groups were statistically significant ($p<0.05$).

As a result, it was determined that both polymorphic areas of the *HIF1A* gene do not pose a risk in the development of obesity.

Key Words: *HIF1A*, Obesity, PCR, *RFLP*, *Polymorphism*

1. GİRİŞ

Obezite, biyolojik, psikososyolojik, sosyoekonomik ve çevresel faktörlerle ilişkili olan olumsuz sağlık koşullarına yol açan yollar ve mekanizmalara sahip karmaşık patogenezi olan çok faktörlü bir hastalıktır (1). Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre fazla kilo ve obezite aşırı veya anormal yağ birikimi artışının sağlık için riskli olduğu bir durum olarak tanımlanır (2). Son yıllarda artan obezite prevalansı, tip 2 diyabet ve prediyabet olmak üzere kalp-damar hastalıkları, hipertansiyon (HT), hiperlipidemi (HL), serebrovasküler hastalık, çeşitli kanserler, obstrüktif uyku-apne sendromu, non-alkolik karaciğer yağlanması, gastroözofageal reflü, safra yolları hastalığı, polikistikover sendromu, infertilite, osteoartroz ve depresyon gibi hastalıklarla ilişkilidir ve bu ilişki dünya çapında major bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir.

Obezite tanısı kişinin beden kitle indeksi ve yardımcı tanı kriterleri ile konulur. Pratikte ise beden kitle indeksi (BKİ), bir kişinin ağırlığının boyunun karesine bölünerek elde edilir (kg/m^2); Obezite sınıfı için beden kitle indeksinin 30'a eşit veya büyük olması gerekir (3).

Birçok fizyolojik ve patofizyolojik olayın gen seviyesindeki düzenlenmeleri, hücrelerin oksijensiz ortamda oksijenlenmeyi sağlayacak yeni damar oluşturması, alyuvar üretiminde artış ve anaerobik glikoliz dahil metabolizmadaki pek çok değişiklik hipoksiyle düzenlenmektedir (4, 5). Hücrel oksijen konsantrasyonundaki değişimleri algılama ve cevaplama sorumlu bu pleotropik olayların çoğu HIF-1 tarafından düzenlenmektedir (6). Bugüne kadar tanımlanmış üç tip HIF proteini vardır: HIF-1, HIF-2 ve HIF-3. Her üç protein de dimerik yapıya sahip ökaryotik transkripsiyon faktörleridir. Proteinlerin α -alt üniteleri birbirinden farklılık gösterirken (HIF-1 α , HIF-2 α , ve HIF-3 α); β -alt üniteleri birbirinin aynı (ARNT) yapıdadır (7). HIF'ler oksijene duyarlı transkripsiyonel regülatörler, hücrel ve mikroçevresel hipoksik yeniden yapılanmaya aracılık eder. Oksijen yoksunluğunda, hipoksi ilişkili gen ekspresyonunu indüklemek için HIF alt birimleri stabilize edilir, çekirdeğe transloke olur ve hipoksiye duyarlı elementlere bağlanır (8). Oksijen yokluğunda HIF-1 α hızlı ubiquitinasyona ve proteazom bozulmasına uğrar (9). Adipositlerde HIF-1 α kaybı önemli ölçüde obezite ile ilişkili inflamasyonu hafifletir ve insülin duyarlılığını artırır (10, 11).

HIF1A gen polimorfizmleri ile obezite gelişme riski arasındaki ilişki literatürde obez ve diyabetik hastalarda araştırılmıştır. Çalışmamızın amacı *HIF1A* gen polimorfizmleri ile diyabeti olmayan hastalarda obezite gelişme riski arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite

Obezite, yüksek enerji alımına bağlı sekonder olarak vücutta aşırı yağ birikimi ile gelişir. Vücut yağ yüzdesini belirlemek kolay olmadığı için obezite, aşırı yağdan ziyade aşırı kilo olarak tanımlanmaktadır (12). Obezite, dünya çapında artan morbidite ve mortalite ile ilişkili olduğu için en önemli halk sağlığı sorunlarından birini temsil etmektedir. Arteriyel hipertansiyon, dislipidemi, tip 2 diabetes mellitus, koroner kalp hastalığı, serebralvaskülopati, safra kesesi taşları, artropati, yumurtalık polisitoz, uyku apne sendromu ve bazı neoplazmalar obezite ile ilişkili bazı hastalıklara örnektir (13). Aşırı kilolu veya obez kişilerde, bu hastalıklar mortalite riskinde artışa yol açar.

Son istatistikler gösteriyor ki aşırı kilolu/obez insan sayısının artışı küresel boyutta 2 milyar insanın aşırı vücut ağırlığına ulaştığını gösteriyor, yani dünyanın %30'u aşırı kilolu/obez olarak değerlendirilebilir. Küresel Hastalık Yüğü Grubu 2017'de 80'den beri obezite prevalansı 70'den fazla ülkede ikiye katlandı ve sürekli diğer birçok ülkede arttığını bildirdi (14). Obezite şu an da epidemi olarak tanımlanmaktadır fakat uzmanlar bu epidemiyi azaltma konusunda umutlu değillerdir. Aksine epidemi pandemiye dönüşmektedir. Uzmanların hedefi 2025 yılına kadar obezite oranını yarı yarıya azaltmaktır. Küresel obezite hakkındaki endişe verici istatistiklerin çoğu (yaklaşık 2 milyar insan) aşırı kilolu ve obez kişileri içerir, yani BKİ ≥ 25 olan bireyleri içerir. Ancak hastalığın >60 'ı ve aşırı BKİ ile ilişkili ölüm yükü BKİ'de ortaya çıkar bu değerde BKİ ≥ 30 'dur. Bu BKİ kategorisine rağmen küresel aşırı BKİ preveansı sadece ~ 10 'unu temsil ediyor (15).

Küresel obezite salgınının sağlık üzerindeki etkisini değerlendirirken, bir diğer önemli faktör ise sosyoekonomik eşitsizliktir. Modern dünyada gelir eşitsizliğinin aşırı oranda olmasının çok fazla kanıtı vardır.

2.1.1. Obezite Alt Tipleri

Multifaktöriyel poligenik obezite, birçok polimorfik genleri içerir. Bu alt türe diyet, fiziksel egzersiz yapmamak, fazla işlenmiş gıdalar, fast food, kimyasal kirleticiler gibi çevresel faktörler neden olur ve gen ifadesini değiştirirler (16).

Metabolik olarak sağlıklı obez (MHO): Tip-2 diabetes mellitus (DM), dislipidemi ve hipertansiyonu içeren metabolik bozuklukların olmamasıdır. Dolaşımda azalmış kompleman C3, hsCRP seviyeleri, TNF- α , IL-6 ve plazminojenaktivatör inhibitörü-1 ve artan adiponektin ile ifade edilen kimyasal, proteinler, hücreler ve indeks ile ilişkilidir (17, 18). Obez nüfusun %6-40'ını temsil eder. Homeostatik model değerlendirme (HOMA) indeksi ölüm riskinin arttığını tespit etmek için MHO sınıflandırmasında kullanılır (17). MHO bireyler, Leptin gibi biyobelirteçlerde artış gösterir (19).

Metabolik olarak anormal obez (MAO): BKİ ve metabolik durum olmak üzere 2 ana faktör tarafından tanımlanan, NCEP-ATP III'ten MetS'e kadar tanımlanan üç veya daha fazla puana sahip olarak sınıflandırılır (18,19). Ürik asit ve viseral yağlanmayı artırması ile ilişkilidir (20). Bu grup, metabolik sağlıklı obez grubundan tokluk kan şekeri, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, trigliseritler, insülin ve adiponektin düzeylerinde önemli ölçüde farklıdır.

Metabolik olarak normal kilolu obez (MONW): Bireyler BKİ <25 kg/m² ile karakterize edilir. Hiperinsülinemi ve (veya) insülin direnci, abdominal ve visseral yağlanma artışı, aterojenik lipid profili, olumsuz adipokin profili, ayrıca hipertrigliseridemi ve hipertansiyon ve daha yüksek oksidatif stres seviyeleri ile ilişkilidir. Vücut yağ yüzdesinde artış, ürik asit ve alanintransaminaz, iskelet kasında yüzde azalma ve vücut sıvısı hsCRP, ürik asit, sistatin C ve lökositlerde artış ile ilişkilidir. Trigliserit ve glikoz üretiminde artış vardır. (TyG indeksi) (17, 21).

Sarkopenikobez (SO): BKİ <25 kg/m² ile karakterize edilir. Düşük kas kütlesi ve zayıf kas, güç eksikliği fiziksel egzersiz ile ilişkilidir. Serumda artan hsCRP vardır (22, 23). Sarkopenik obez; yaş artışı, sosyo-ekonomik durum düşüklüğü, sigara, azalmış fiziksel aktivite, ateroskleroz ve akciğer hastalığı ile ilişkili olduğu düşünülen yağsız kütlerde azalma olarak tanımlanır (24). Bu faktörler vücut yağı birikimi ve iskelet kas kütlesi ve kas gücünde azalma ile ilişkilidir.

2.1.2. Obezite Nedenleri

Günlük aktivite ve egzersizde yakılan kaloriden daha fazla kalori almak uzun vadede obeziteye yol açabilir. Zamanla bu ekstra kaloriler toplanır ve kilo alımına neden olur. Ancak bu her zaman sadece alınan kalori ya da hareketsiz bir yaşam tarzı ile ilgili değildir. Bunlar obezitenin nedenleridir fakat bazı bunların dışında nedenler de vardır.

Genetik, epigenetik, fizyolojik, davranışsal, sosyokültürel ve çevresel pek çok fizyopatolojik etmen obezite gelişimine zemin hazırlar. Enerji dengesinin düzenlenmesi ve yağ depolarının oluşmasından biyolojik ortam (genetik/epigenetik etmenler) ile çevresel faktörler (davranışsal/sosyal etmenler, kronik stres) arasındaki etkileşimler sorumludur. Kültürel, davranışsal ve çevresel etmenler (enerji-yoğun beslenme, büyük porsiyonlar, fiziksel inaktivite, sedanter yaşam tarzı) ve buna ek olarak yeme bozuklukları obezite gelişimini hızlandırır. Ayrıca adipositlerde oluşan hipertrofi, hiperplazi ve inflamasyon adipoz dokunun yapısında ve adipokinlerin sekresyonunda birçok değişikliğe yol açar (12).

Obezitenin yaygın spesifik nedenleri şunlardır:

1. Genetik; vücudunuzun yiyecekleri nasıl enerjiye dönüştürdüğünü ve yağın nasıl depolandığını etkiler.
2. Yaşlanmak; daha az kas kütlesine ve daha yavaş bir metabolizma hızına neden olabilir, bu da kilo almayı kolaylaştırır. Yaşlanma ile birlikte kahverengi yağ dokusu azalır, beyaz yağ dokusu artar ve kas dokusu azalır. Yaşlılarda fiziksel aktivitenin azalması, besin alımının değişmesi, oksidatif stres, hormonal değişiklikler ve düzenleyici mekanizmaların da bozulması ile “sarkopenik obezite” meydana gelir (1).
3. Yeterince uyumamak; acıkmanıza ve bazı yüksek kalorili yiyecekleri canınızın çekmesine neden olan hormonal değişikliklere yol açabilir.
4. Hamilelik; hamilelik sırasında alınan kiloların verilmesi zor olabileceğinden sonrasında obeziteye yol açabilir.
5. Polikistikover sendromu (PCOS); kadın üreme hormonlarının dengesizliğine neden olan bir durumdur.
6. Prader-Willi sendromu; doğumda aşırı açlığa neden olan nadir bir durum
7. Cushing sendromu; metabolizmada yüksek kortizol düzeylerinin (stres hormonu) bulunmasının neden olduğu bir durum

8. Hipotiroidizm (az aktif tiroid); tiroid bezinin bazı önemli hormonları yeterince üretmediği bir durum (25).

2.1.3. Obezite Patogenezi

Genetik: Aile ve ikiz kaynaklı çalışmalar gösteriyor ki insanlarda obezite varyasyonlarının %40-70'i genetik kaynaklıdır. Son 20 yılda çevresel değişiklikler obezite oranlarını artırdı fakat genetik faktörler obezite gelişiminde anahtar rol oynar (26).

Obezitenin genetik nedenleri şu şekilde sınıflandırılır;

- 1.1. Tek bir gen mutasyonundan kaynaklanan monogenik nedenler; öncelikle leptin-melanokortin yolunda bulunur. AgRP (Agouti ile ilişkili peptid) gibi genlerin çoğu, PYY(oreksijenik) veya MC4R (melanokortin-4 reseptörü) monojenik obezite için tanımlanan düzenleyici sistemi bozar. İştah ve kilo, hormonal sinyaller (ghrelin, leptin, insülin) hipotalamusun kavisli çekirdeğinde bulunan reseptörler tarafından algılanır (27).
- 1.2. Sendromik obezite; nörogelişimsel anormallikler ve diğer organ/sistem malformasyonlarından kaynaklanan şiddetli obezitedir (28).
- 1.3. Poligenik obezite; nedeni kümülatif birçok genin katkısıdır. Ayrıca, obezitesi olan bazı insanlar sahip oldukları çoklu genler nedeniyle aşırı kilo alma eğilimindedir (29) ve bu genler onların yiyecekleri tercih etmelerini sağlar, böylece daha yüksek kalori alımına neden olur.

Obezite gelişmesini belirleyen genler arasında, MC4R (melanokortin 4 reseptörü), ADRB3 (β 3-adrenerjik reseptör), PCSK1 (proprotein konvertaz subtilisin kexin 1), BDNF (beyin kaynaklı nörotrofik faktör), LCT (laktaz), MTNR1B (melatonin reseptör 1 B), TLR4 (toll like reseptör 4), ENPP1 (ekonükleotid pirofosfataz/fosfodiesteraz 1), FGFR1 (fibroblast büyüme faktörü reseptör 1) ve LEP/LEPR (leptin/leptin reseptörü) vb. olduğu gösterilmiştir (GenomWide Association Studies: GWAS) (12). Bu tür genlerin varlığı artan kalori alımı, artan açlık seviyeleri, aşırı yeme kontrolünün azalması, tokluğun azalması,

vücut yağını saklama eğiliminin artması ve hareketsiz olma eğiliminin artmasına neden olabilir (30).

Besin Alımı ve Enerji Dengesi; Obeziteyi yönetmek için mevcut sağlık önerileri, yağ birikiminin tüketilen ve harcanan kaloriler arasındaki enerji dengesizliğinden kaynaklandığı temel fizyolojik özelliğe dayanmaktadır. Diyet ve çeşitli sosyal, ekonomik ve gıda arzı ile ilgili çevresel faktörlerin hastanın dengeye ulaşma kabiliyeti üzerinde önemli bir etkisi vardır (31). Homeostatik devreler ve beyin ödülü arasındaki önemli etkileşimlerin neden olabileceği, yağ birikimine karşı genetik bir duyarlılığa sahiptir. Lipid metabolitlerinin, enflamatuar sinyallerin veya diğer hipotalamik nöron bozucu mekanizmaların birikmesi de obeziteye yol açabilir ve bu da yüksek vücut yağ kütlesinin biyolojik savunmasını açıklayabilir (32). Şeker ve yağ oranı yüksek içecek veya yiyecekleri tanıtmak için obezogenik pazarlama, insan davranışını olumsuz yönde modüle eder. Bu tür reklamlar yoğun yiyecek ve içecek tercihinin artırılabilir (33).

Aile Öyküsü ve Yaşam Tarzı; Aile öyküsü, yaşam tarzı ve psikolojik faktörlerin tümü obezite eğiliminde işlev görür. Obez ebeveyni olan bir çocuğun yetişkin olarak obez olma riski üç kat artarken, bir çocuğun ebeveynleri her ikisi de obezse, bu çocuğun gelecekteki obezite riski 10 kat daha fazladır. 260 Çocuğun (139 kadın, 121 erkek, 2.4 ve 17.2 yaş) kesitsel gözlemsel bir çalışmada, ailede kardiyometabolik hastalık öyküsü ve obezitenin çocukluk çağında obezite şiddeti için kritik risk faktörleri olduğunu gösterilmiştir (34). Amerika Birleşik Devletleri'nde anne-çocuk çiftleri üzerine yapılan çalışmada, çocukluk ve ergenlik dönemindeki sağlıklı yaşam tarzlarının, çocuklarında obezite riskinin önemli ölçüde azalmasıyla yakından ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, çocuklarda obezite riskini azaltmak için aile veya ebeveyn düzeyinde müdahalenin yararlarının altını çizmektedir (35).

Mikroçevre ve Bağırsak Mikrobiyomu; Son yıllarda bağırsak mikrobiyomu hakkında bilgimiz arttıkça obezite ile ilişkisi de araştırılmaya başlandı. Örneğin, obezite, daha zayıf konakçılarda bulunandan daha çeşitli viral türleri destekleyen değiştirilmiş bir bağırsak mikro-ortamında rol oynar (36). Bu ortam, daha ciddi hastalıklara neden olabilecek patojenik varyantların oluşumuna daha duyarlıdır (37). Yapılan çalışmalar, bağırsak mikrobiyomunun varyasyonlarının konak ağırlığında ve metabolizmasında

değişikliklere neden olduğunu göstermektedir. Örneğin, normal bağırsak mikrobiyotasına sahip olanlara kıyasla, mikropsuz erkek fareler (bağırsak mikroflorası olmadan) günde% 29 daha fazla yiyecek tüketirken bile % 42 daha az toplam vücut yağına sahipti. Bununla birlikte, çekal mikrop kolonizasyonundan sonra, bu farelerin toplam vücut yağı % 57 arttı, yağsız vücut kütlesi % 7 azaldı ve günlük gıda alımı % 27 azaldı (36).

İnsan vücudu yaklaşık 3.8×10^{13} mikroorganizma içerir ve çoğu gastrointestinal sistemi işgal eder. Mikrobiyal popülasyonun yarısından fazlası bakteridir, bunu archaea ve eukarya izlemektedir (38). Normal olarak, bağırsak mikrobiyotası, karbonhidrat ve lipid metabolizmasına katılım, vitamin ve amino asitlerin sentezi, epitel hücre proliferasyonu, patojenlere karşı koruma ve hormon modülasyonu dahil olmak üzere konakçıda önemli faydalı rollere sahiptir. Bağırsak bakterileri ayrıca insan sütü oligosakkaritleri ve bitki polisakkaritleri gibi sindirilemeyen molekülleri de parçalayabilir (39). Mikrobiyal popülasyonların dengesizliğinin ('dysbiosis') nörolojik bozukluklar, inflamatuvar barsak hastalığı, malnütrisyon, kanser, diyabet ve obezite gibi çok çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (40). Son araştırmalar, kalori kısıtlamasının bağırsak mikrobiyomunu faydalı bir şekilde yeniden şekillendirebileceğini ve antibiyotik kullanımının diyabet ve obezite ile sonuçlanacak şekilde bağırsak mikroflorasına olumsuz zarar verebileceğini göstermektedir. İnsan çalışmaları, mikrobiyom değişikliklerinin obezite ile ilişkili olduğu bulgularını desteklemektedir; bununla birlikte, kesin mekanizmalar (yani, mikroflora çeşitliliğinin oranları ve miktarları) hala bilinmemektedir (41). Bağırsak mikrobiyotası, konakçı bağışıklık sistemindeki merkezi oyuncular. Bağırsak mikroflorasındaki rahatsızlıklar bağırsak mukozasının iltihaplanmasına neden olabilir (42). Bu yanıtın, konakçı mikropları tanımlayan ve saldıran Tlr'lerin (toll benzeri reseptörler) aracılık ettiği gösterilmiştir. Örneğin, TLR4 bakteri LP'lerini tanır (lipopolisakkaritler). Gram negatif bakterilerin hücre duvarlarında iken TLR5 bakteriyel flagellini tanır. Obez hastalarda, katılan enzimler veya glikoz sinyal yolları aşağı regüle edilir. Spesifik mikrobiyal popülasyonlardaki değişikliklerin genel filogenetik oranlardan daha önemli olması, insülin ve glikozun düzenlenmesini daha da etkileyen ve sonuçta obezitenin gelişmesine yol açan enzimler ve SCFA (short chain fatty acid) üretiminde değişikliklere neden olabilir (41).

Epigenetik Modifikasyon; Çok hücreli organizmalarda, genetik kod vücutta homojendir, ancak kodun ifadesi hücre tipleri arasında değişebilir. Epigenetik çalışmalar, genetik ekspresyondaki kalıtsal düzenleyici değişikliklerin nükleotid dizisinde değişiklik gerektirmediğini göstermiştir (43). Epigenetik modifikasyonlar şu şekilde düşünülebilir bazı genlerin dokular arasında ekspresyonuna izin veren veya susturan DNA'nın diferansiyel paketlemesidir. Çevresel ve bağırsak mikrobiyotası, ebeveyn gametlerinin epigenetik programlamasını veya yaşamın sonraki aşamalarında programlamayı etkileyebilir (44). Bilinen epigenetik mekanizmalar DNA'yı metilasyon, histon modifikasyonları ve miRNA aracılı düzenlemeler içerir. İnsan doku ve organlarının programlanmasında perinatal ve embriyo-fetal gelişim döneminin kritik bir rol oynadığını gösteren kanıtlar vardır (45). DNA metilasyonu gen ekspresyonunu düzenlemek için epigenetik mekanizmalarda en önemli gibi görünüyor. DNA metilasyonundaki değişiklikler birçok kişinin kanserler gibi hastalıklarda ayırt edici özelliği olabilir (46). LEP (Leptin) yağ dokusu regülasyonunda kritik rol oynar. Maternal metabolik durum, doğumda LEP profilinin DNA metilasyonunu etkileyerek obezitenin metabolik yeniden şekillenmesini etkileyebilir (47). Maternal obezite de inhibe ile ilişkilendirilmiştir ve IGF-2 'deki metilasyon seviyeleri (insülin benzeri büyüme faktörü 2) çeşitli hücre tiplerinin bölünmesini ve büyümesini teşvik eden bölgelerdir (48). Metabolizma ve obezite bağlamında araştırılan diğer genler şunlardır; tümör nekrozis faktör (TNF), Hipoksi indüklenebilir faktör (HIF), nöropeptit Y (NPY), İnsülin reseptör substrat 1 (IRS1) , mitokondriyal transkripsiyon faktör A (TFAM), İnterlökin-6 (IL6), Lenfosit antijen 86 (LY86), Glukoz transport 4 (GLU4) (44, 49).

Histonlar, DNA paketlemesinde işlev gören proteinlerdir ve histonlardaki değişiklikler adipogenezin düzenlenmesi ve obezite gelişimi gibi epigenetik mekanizmalar ile ilişkilidir (52). Adipogenezde beş anahtar düzenleyici gen, CCAAT arttırıcı bağlayıcı protein b (C/EBPb), preadiposit faktör-1 (Pref-1), adiposit protein 2 (aP2), PPAR γ ve C/EBP α , adiposit farklılaşması sırasında histon modifikasyonları ile modüle edilir. Enzimler, histon modifikasyonunda rol oynar ve obezitede de işlev görür. Ayrıca, çok sayıda çevresel faktörde yer alan gen ekspresyonunun epigenetik kontrolüne katılan Hdac'lerin (histon deasetilazlar) ekspresyonunu düzenlerler (51).

MikroRNA'lar (miRNA'lar) 18-25 nükleotid uzunluğunda gen susturma ve transkripsiyon sonrası değişikliklerle gen ekspresyonunu düzenleyebilen kodlamayan RNA dizileridir. Mikrorna'lar, adiposit farklılaşması ve proliferasyonu dahil olmak üzere çeşitli biyolojik işlemlerde işlev görür ve obez bireylerde görüntülenen düşük dereceli inflamasyon ve insülin direnci ile ilişkilidir (52). Adiposit kaynaklı eksozomal mirna'lardaki değişiklikler de gastrik bypass sonrası kilo kaybı ve insülin direncinde azalma sonrasında görüldü (53). miRNA'ların önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Obezitede ve buna bağlı metabolik değişikliklerin biyobelirteçler veya müdahale için potansiyel terapötik hedefler olarak hizmet edebileceği, obezitenin genetik ve epigenetik nedenlerinin göz önünde bulundurulması, obezitenin klinik tedavisi için değerli araçlar sağlar.

2.1.4. Obezite İçin Kimler Risk Altında

1. Genetik: Bazı insanların kilo vermelerini zorlaştıran genleri vardır,
2. Çevre ve toplum: Evdeki, okuldaki ve topluluğunuzdaki alışkanlıklar, nasıl ve ne yediğinizi ve ne kadar aktif olduğunuzu etkileyebilir,
3. Sınırlı sağlıklı yiyecek seçeneklerinin veya fastfood restoranları gibi birçok yüksek kalorili yiyecek seçeneğinin olduğu bir çevrede yaşamak,
4. Sağlıklı beslenmeyi öğrenememek,
5. Yaşanılan çevrede oyun oynamak, yürümek veya egzersiz yapmak için iyi bir yer mevcut değilse,
6. Psikolojik ve diğer faktörler,
7. Bazı insanlar duygusal rahatlık için yiyeceğe yönelebileceğinden, depresyon bazen kilo alımına neden olabilir. Bazı antidepresanlar da kilo alma riskini artırabilir,
8. Sigarayı bırakmak her zaman iyidir, ancak bırakmak kilo almaya da yol açabilir. Bazı insanlarda aşırı kilo alımına neden olabilir. Bu nedenle, en azından ilk yoksunluk döneminden sonra, bırakırken diyet ve egzersize odaklanmak önemlidir,
9. Steroidler veya doğum kontrol hapları gibi ilaçlar da kilo alma riskinizi artırabilir (25).

2.1.5. Obezite Klinik Tanı Kriterleri

Obezite metabolik bir hastalıktır ve epidemiyolojik olarak tanımlanır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tüm dünyada kronik bir sağlık problemi olduğunu duyurmuştur. Tüm dünyada görülen bu halk sağlığı sorununu teşhis etmek için evrensel bazı tanı kriterlerine ihtiyaç duyulur. Obezite taraması için önerilen 18 yaş üstündeki bütün bireylerin obezite açısından taranmasıdır. Hangi sıklıkta tarama yapılacağı ile ilgili net bir görüş birliği olmamakla birlikte her yıl yaklaşık 2 kg kilo alındığı göz önüne alınırsa en azından 5 yılda bir obezite taramasının tekrarlanması önerilir (12).

Pratik olarak en çok kullanılan değerlendirme kriteri beden kitle indeksi (BKİ) hesaplamasıdır. Beden kitle indeksi, vücut ağırlığının (kg) boy uzunluğunun karesine (m^2) bölünmesi ile hesaplanmaktadır. 18 yaş üstü yetişkinlerde BKİ 30 kg/m^2 üstünde olanlar obez olarak tanımlanmaktadır. Klinik pratikte BKİ çok sık kullanılmasına rağmen BKİ'nin obeziteyi tanımlamasında bazı kısıtlılıklar mevcuttur (12).

Obezite tanım ve değerlendirmesi beden kitle indeksi (BKİ)'ne göre primer olarak yapılır.

Beden Kitle İndeksi = Ağırlık (kg) / Boy (m^2) ile hesaplanır.

Tablo 2.1. Yetişkinlerde Beden Kitle İndeksi (BKİ) Sınıflandırılması

GRUPLAR	YETİŞKİN BKİ (Kg/m^2)
Zayıf	≤ 18.50
Normal	18.50-24.99
Fazla Kilolu	25.00-29.99
Obez	≥ 30.00
Hafif Obez	30.00-34.99
Orta Derecede Obez	35.00-39.99
Morbid Obez	40.00-49.99
Süper Obez	≥ 50

Obezitenin diğer bir önemli boyutu da vücuttaki abdominal yağlanmadır. Abdominal yağlanmayı ve dolayısıyla obeziteyi değerlendirmek için kullanılabilecek diğer bir ölçüm metodu da bel çevresi ölçümüdür. Bel çevresi ölçümü ile intra-

abdominal yağlanma miktarı iyi bir korelasyon göstermektedir. Bel çevresi ölçümü süperior iliak kristalar hizasından yapılmalıdır (12).

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF), 2005 yılında metabolik sendrom tanımını yaparken, obezite tanımında popülasyona özgü bel çevresi kesim noktalarının kullanılmasını önermiştir. IDF, bu verileri mevcut olmayan toplumlarda bölgesel değerlerin dikkate alınmasını tavsiye etmektedir. Avrupa’da santral obezite için belirlenmiş bel çevresi rakamları erkekler için ≥ 94 cm ve hamile olmayan kadınlar için ≥ 80 cm olarak kabul edilmektedir. Amerikan toplumu için DSÖ değerleri (bel çevresinin erkeklerde ≥ 102 cm, kadınlarda ≥ 88 cm) kabul edilmiştir. Türk toplumu için yapılan çalışmalarda OBEZİTE TANI ve TEDAVİ KILAVUZU grubunun verilerine göre erkeklerde ≥ 100 cm, kadınlarda ≥ 90 cm olması abdominal obezite kriteri olarak önerilmiştir.

Tablo 2.2. Toplumlara Özgü Abdominal Obeziteyi Tanımlayan Bel Çevresi Değerleri

Toplum	Bel Çevresi (cm)	
	Erkek	Kadın
Türkiye	100 (96)	90
ABD	102	88
Avrupa	94	80
Güney Asya ve Çin	90	80
Japonya	85	90
Orta ve Güney Amerika	Topluma özgü değerler yoksa Güney Asya verileri uygun	
Afrika	Topluma özgü değerler yoksa Güney Asya verileri uygun	

Yapılan çalışmalarda bazı antropometrik ölçümlerin de vücut yağ dağılımını predikte edebileceği gösterilmiştir. Bu ölçümler arasında BKİ ve bel çevresi dışında bel kalça oranı, bel-boy oranı, deri kıvrım kalınlığı testleri gibi değerler vardır. Bu teknikler basit, ulaşılabilir ve kolay yapılabilir olması nedeni ile sık kullanılan teknikler arasındadır. Ancak her toplumun belirleyici değerlerinin toplumun kökenlerine ve yaşam şekillerine göre değişiklik gösterebildiği akılda tutulmalıdır. Obezite değerlendirilirken BKİ dışında farklı antropometrik ölçümler farklı çalışmalarda kullanılmış ve obezite değerlendirme güçleri aralarındaki ilişki ortaya konmaya çalışılmıştır.

Ayrıca obeziteye bağılı sağıık risklerini teşhis etmeye yardımcı olacak bazı testler isteyebilir. Bunlar şunları içerebilir: kolesterol ve glikoz seviyelerini incelemek için kan testleri, karaciğer fonksiyon testleri, diyabet taraması, tiroid testleri, elektrokardiyogram (EKG veya EKG) gibi kalp testleri (25).

Visseral adipozite indeksi (VAİ), obezite ile ilişkili kardiyometabolik komplikasyonlar riskini dolaylı olarak yansıtan yeni bir antropometrik göstergedir. VAI, cinsiyete göre değıışen, trigliserid (TG), yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL kolesterol) konsantrasyonları gibi biyokimyasal parametreler ve BKİ ile bel çevresi gibi antropometrik ölçümlere dayanan ampirik bir matematiksel modeldir. Uygulaması, belirgin metabolik sendromu teşhis etmeden bile bu riskin erken değıerlendirilmesine olanak tanır. Genel popölasyonda güvenilir veri sağılayan VAI, adipoz doku disfonksiyonunun bir belirteci olarak düşünölebilir. Akromegali, tip 2 diyabet, viral hepatit C, non-alkolik yağılı karaciğer hastalıkları ve polikistik over sendromu olan hastalarda güvenilir olduğına dair veriler mevcuttur.

Vücut total yağ miktarını ölçmek için, antropometrik ölçümler dışında klinikte kullanılabilecek, daha net ölçümlere dayalı, uygulayıcılar arası farkların olabilme olasılığını yok edebilecek birçok farklı teknik de mevcuttur. Bu teknikler arasında manyetik rezonans görüntöleme (MRG), bilgisayarlı tomografi (BT), döteryum oksit (D2O), dual enerji x-ray absorpsiyometri (DEXA) ve biyoelektriksel impedans sayılabilir. Fakat bu tarz teknikleri klinik pratikte her zaman uygulamak mümkün değıildir. Hastaya uygulaması zor, zaman alıcı ve pahalı olabilir. DEXA; fizibilite, düşük maliyet, minimal radyasyon maruziyeti, yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlik gibi BT ve MRG'ye kıyasla önemli avantajlar sunduğı için toplam ve bölgesel yağ kütleşi tahmininde güvenilir bir yöntemdir. Günümüzde biyoimpedans cihazları klinik kullanıma girmiş olup bu cihazlar vücut kompozisyonu hakkında nicel ve nitel bilgiler verebilmektedirler. Bu cihazlar vücut kompozisyon oranları ile fiziksel aktivite durumları ilişkisini belirleyip belirli bir algoritma oluşturmakta ve hastanın yağ, iskelet kası, kemik kütleşi ve sistemik inflamasyon durumu gibi değıışkenler hakkında prediksyon yapabilmektedir. Ancak hesaplanan yağ miktarının visseral mı, subkutan mı olduğunu ayırt edememektedir. Bununla birlikte biyoimpedans cihazı ile vücut yağ oranlarının belirlenmesi en azından kişileri herhangi bir radyasyona maruz bırakmayan, yetenekli personel gerektirmeyen, non-invaziv, basit, ucuz ve hızlı bir yöntemdir.

2.1.6. Epidemiyoloji

Dünyada Obezite

Obezite, hemen hemen tüm toplumlarda çok yaygın görülen bir sağlık sorunudur. Obezite oranlarındaki artış sadece yetişkinleri değil aynı zamanda çocukluk çağı ve adolesan çağındaki bireyleri de kapsamaktadır. Obezite, özellikle gelişmiş ülkelerin problemi gibi görülmekte çalışmaları geliştirmekte olan ülkelere de obezitenin hızla artacağını destekliyor. Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Üçüncü Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırması (National Health and Nutrition Examination Survey III; NHANES III)'nın tahminine göre, 2030 yılında pek çok eyalette obezite sıklığının %50'ye varacağını ön görmektedir (12). Sadece ABD değil Avrupa başta olmak üzere tüm dünyada artış ön görülmektedir.

Obezite ayrıca üç şiddet seviyesine ayrılır: sınıf I (BKİ 30.0-34.9), sınıf II (BKİ 35.0-39.9) ve sınıf III (BKİ $\geq$ 40.0) (54). Verilen BKİ değeri için vücut yağ yüzdesinde cinsiyet, etnik köken ve yaşa atfedilebilecek büyük bireysel farklılıklar vardır (55).

Aşırı kilo alma prevalansı 1980'den bu yana dünya çapında ikiye katlandı ve dünya nüfusunun yaklaşık üçte birinin obez veya fazla kilolu olduğu belirlendi (56). DSÖ tarafından Asya, Afrika ve Avrupa'nın 6 farklı bölgesinde yapılan ve 12 yıl süren MONICA adlı çalışmada (Kardiyovasküler Hastalıkta Belirleyicilerin ve Eğilimlerin Çokuluslu İzlenmesi) obezite yaygınlığında son 10 yılda %10-30 arasında bir artış olduğu gösterilmiştir (57). MONICA çalışmasının sonuçlarını destekler nitelikteki bir diğer veri ise OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development - Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü), ülkeleri tarafından yayınlanan sağlık raporudur. Burada, son on yılda obezitenin büyük oranda arttığı ve OECD ülkelerinde nüfusun yarısından fazlasının (%52,6) aşırı kilolu ya da obez olduğu bildirilmiştir (58).

Türkiye’de Obezite

Ülkemizde yaşam tarzının hızla değişmesi sonucunda obezite oranı, ülkemizde de artış göstermektedir. Ülkemizde yetişkin toplumunda obezite prevalansı, %30’luk oranın üzerindedir. Obezite sıklığı kadınlarda daha yüksektir fakat son yıllardaki çalışmalar gösteriyor ki erkeklerde de obezite oranında hızlı artış vardır. Obezite sıklığı Doğu Anadolu’da en düşük iken, diğer bölgelerde birbirine yakındır. Çalışmanın yapıldığı iller içerisinde Erzurum obezitenin en düşük, Adana ise %43,5 ile obezitenin en yoğun olduğu ildir (12).

Türkiye’de 1997-1998 yıllarında toplam 540 merkezde, 20 yaş ve üzeri 24.788 kişinin incelendiği TURDEP-I (Türkiye Diyabet Prevalans) çalışmasında obezite yaygınlığı kadınlarda %30, erkeklerde %13 ve genel toplumda %22,3 olduğu bildirilmiştir (59). TURDEP-I çalışmasından 12 yıl sonra yapılan TURDEP-II çalışması yine aynı merkezlerde toplam 26.500 erişkinin katılımı ile yürütülmüştür. Bu çalışmada kadınlarda obezite sıklığı %44, erkeklerde %27 ve genel toplumda ise %35 olarak bildirilmiştir (60).

Obezite kelimesi obere yani çok yemek yiyen kişi kelimesinden gelmektedir. Obezitede kilo fazlalığından çok yağların dağılımı çok daha önemlidir. Abdominal bölge yağlanması riski yüksekken, kalça ve bacak bölgesi yağlanması aynı düzeyde risk oluşturmamaktadır. Santral obeziteyi ya da abdominal bölge yağlanmasını göstermede daha anlamlı olduğu için bel çevresi ölçümleri obezite tanısında kullanılmaktadır.

Bel çevresi ya da bel/kalça oranı (BKO)’nın artmış olduğu obezite tipi, santral (visseral ya da abdominal) obezite olarak adlandırılır. Santral obezite, kalp-damar sağlığı açısından önemli bir risk faktörüdür ve bel çevresinin bu riski daha iyi yansıttığı kabul edilmektedir. DSÖ’ye göre kadınlarda bel çevresinin 88 cm ve üzerinde, erkeklerde ise 102 cm ve üzerinde olması santral obezite varlığını göstermektedir.

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF), 2005 yılında metabolik sendrom tanımını yaparken, santral obeziteyi, sendromun ana komponenti olarak kabul etmiş ve santral obezite tanımında popülasyona özgü bel çevresi kesim noktalarının kullanılmasını önermiştir. IDF, bu verileri mevcut olmayan toplumlarda bölgesel değerlerin dikkate alınmasını tavsiye etmektedir. Buna göre, Türk toplumunda Avrupa’da santral obezite için belirlenmiş bel çevresi rakamları (kadın için ≥ 80 cm,

erkek için ≥ 94 cm) kullanılmalıdır. Ancak ne DSÖ'nün ne de IDF'in rakamları Türk toplumunun özelliklerini ve kardiyovasküler (KV) risk profilini yansıtmamaktadır. Bu amaçla, TURDEP çalışmalarında katılımcıların KV risk profiline dayanarak ROC (receiver operator characteristics) eğrileri ile erişkin toplumda KV riskini en iyi yansıtan bel çevresi kesim noktaları araştırılmıştır. Buna göre, TURDEP-II'de en iyi bel çevresi kesim noktasının kadınlarda 90,5 cm, erkeklerde ise 95,5 cm olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde TEKHARF Çalışması ve TEMD Lipid Obezite ve Hipertansiyon Çalışma Grubu'nun Metabolik Sendrom Çalışması'nın verileri de kadınlarımızda bel çevresi kesim noktasının hem IDF hem de DSÖ'den daha yüksek olduğunu, erkeklerdeki rakamın ise DSÖ ile IDF arasında olması gerektiğini göstermektedir (61).

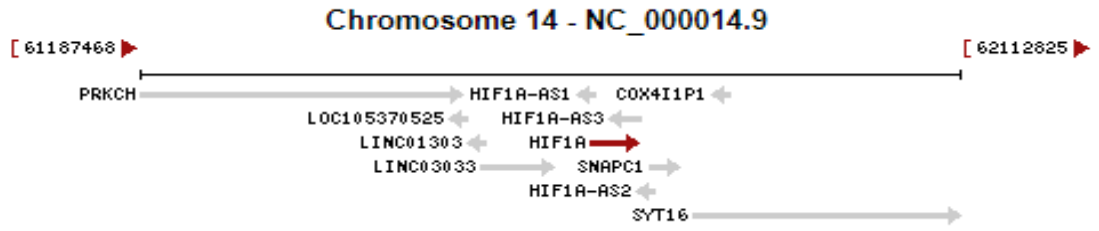


2.2. HIF (Hipoksi Induced Factor)

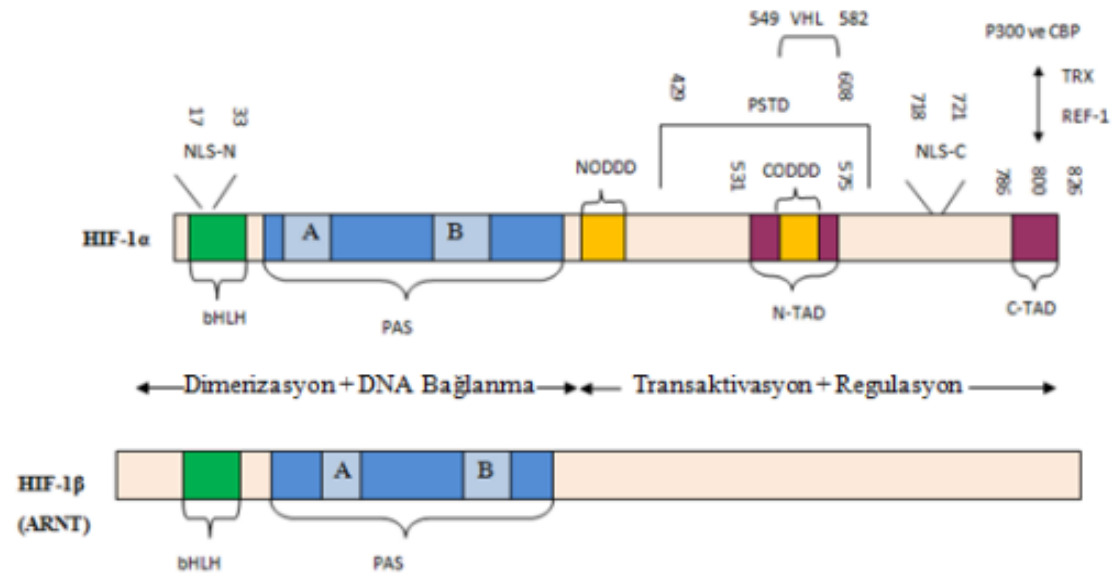
Birçok organizma hipoksik koşullara uyum sağlayacak mekanizmalar geliştirmiştir. Değişen oksijen seviyeleri, belirli homeostatik düzenleyici genlerin aktivasyonu veya baskılanması ile sonuçlanabilir ve değişen çevresel şartlarda hücre ve dokuların hayatta kalması sağlanır (62). Hipoksik koşullarda yaşamlarını sürdürebilmek için hücreler anjiogenezi, demir metabolizmasını, glikoz metabolizmasını, hücre proliferasyon ve sağ kalımını kontrol eden bir seri genin transkripsiyonuna gerek duyar (7). Bu hücreler tarafından hipoksik koşullarda sentezlenen bir transkripsiyon faktörü olan “hipoksi ile indüklenen faktör (HIF)” proteini, hedef genlerin enhancer bölgesinde bulunan ve hipoksiye cevap elementi (HRE) olarak tanımlanan 5’-(A/G)CGTG-3’ dizisine bağlanarak ifade edilmelerini sağlamaktadır (63).

HIF transkripsiyon faktörleri ailesi üçe ayrılır; HIF1, HIF2 ve HIF3. Bu faktörlerin tümü oksijene duyarlı HIF- α (HIF1- α , HIF2- α ve HIF-3 α) alt birimi ile yapısal olarak HIF-1 β alt birimi ile ifade edilerek dimerize halde alt birimler içerir (63). HIF içinde en iyi çalışılanlar HIF1- α ve HIF2- α ’dır. HIF-1 α , HIF-2 α ve HIF-3 α ’da ikili iki homolog vardır. Endotel PAS alanı proteini olarak da adlandırılan HIF-2 α , HIF-1 α ile yarı özdeş bir konformasyona sahiptir. HIF -2 α ayrıca oksijenin varlığı veya yokluğu ile düzenlenir ve bozunması da HIF-1 α gibi normoksik koşullarda aktive edilir. Bu nedenle, hipoksi altında, HIF-1 β ile bağlanma ve hipoksiye duyarlı genlerin transkripsiyonunu aktive etme yeteneğine sahiptir (64, 65). HIF-3 α proteininin iki homologu olan HIF-1 α ve HIF-2 α ’dan farklı bir transkripsiyonel programı tetiklediği gösterilmiştir. HIF-1 alt ünitelerinin en az karakterize edileni ve çok sayıda alternatif splay (alternatif kesip-ekleme) seçenekleri vermesi yönünden tek olanı HIF-3 α ’dır (66). Önemli olarak, HIF-3 α ’nın HIF-1 α / 2 α fonksiyonlarını negatif olarak düzenlediği gösterilmiştir (67, 68). HIF-3 α ’nın splay seçeneklerinden biri olan inhibitör PAS domeyn proteininin (IPAS) HIF-1 α ’ya negatif bir regülatör gibi davrandığı ve bu nedenle HIF-3 α ’nın genellikle HIF sisteminin bir antagonisti olabileceği belirtilmiştir (69). Bununla birlikte, HIF-1 α tüm hücre tiplerinde eksprese edilirken, HIF-2 α sadece endotel hücreleri ve bazı organların interstisyel hücreleri gibi bazı hücre popülasyonlarında eksprese edilir. Hipoksik bir ortamda benzer eylemler göstermelerine ve hedef genleri paylaşmalarına rağmen farklılıklar vardır (70).

HIF1- α geni; 14q23.2 kromozom bölgesinde bulunan 15 ekzon ve 14 introndan oluşan bir gendir. HIF1- α , intratumoral hipoksi ile ilişkili moleküler bir hedef olarak keşfedilmiştir (71). HIF-1 α ve β olarak adlandırılan 2 alt birimden oluşan bir transkripsiyon faktörüdür. HIF-1, oksijene duyarlı bir alt ünite HIF-1 α ve bir aril hidrokarbon nükleer translokator (ARNT)-HIF-1 β içeren heterodimerik bir transkripsiyon faktörüdür (72). Tüm hücre tiplerinde ifade edilen HIF-1, 120 KDa α -alt ünitesi ile 91-94 KDa büyüklüğündeki Aril Hidrokarbon Reseptör Nükleer Taşıyıcısı (Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator: ARNT) β -alt ünitesinden oluşan bir komplekstir (73). Oksijen seviyeleri, HIF-1 α 'nın protein stabilizasyonunu, hücre içi lokalizasyonunu ve transkripsiyonunu etkilerken; β (ARNT) alt birimi yapısal olarak ifade edilir ve oksijen seviyelerinden etkilenmez (74). Her iki alt ünitesinin de basic-helix loop-helix (bHLH) ve PER-ARNT-SIM (PAS) bölgeleri içerdiği bilinmektedir. Amino terminal ucunlarında 1-390. aminoasitler arasında bulunan bHLH ve PAS bölgeleri α ve β bölgeleri arasında heterodimer oluşumu ve DNA bağlanması için gereklidir. Sahip olduğu bHLH-PAS domenleri ile HIF-1 yalnızca hayvanlarda bulunan ökaryotik bir transkripsiyon faktörü ailesidir. Her bir alt birim PAS-A ve PAS-B olarak tanımlanan PAS alanları içerir. 531-575. aminoasitler arasında bulunan N-terminal TAD (N-TAD) ile 786-826. aminoasitler arasında yer alan C-terminal TAD (C-TAD) olmak üzere C-ucu iki transaktivasyon bölgesi (TAD) içerir. Bu transaktivasyon bölgeleri HIF-1'in ko-aktivatörler ile etkileşimini ve transkripsiyonel aktivasyonunu sağlamakla görevlidir. N-TAD oksijen bağımlı parçalanma bölgesi (PSTD/ODDD) ile örtüşen bir alandır. HIF-1 α 'nın oksijen-bağımlı ifadesinden sorumlu ve Pro-Ser-Thr aminoasitlerince zengin olan (ODD) bölgesi, merkezi bölümde 429-608. aminoasitler arasında lokalizedir. Normoksik koşullarda prolil hidroksilaz domeni (PHD) enzimlerince ODD bölgesinde bulunan prolinler hidroksillenerek HIF-1'in degradasyonunu sağlar (75-77). C-TAD bölgesi P300/CREB-bağlanan protein (CBP), Ref-1, Jab1, SCR-1 ve TIF2 gibi ko-aktivatörler ile etkileşir. 786-826. aminoasitleri içeren bu bölge ko-aktivatör ile etkileşimi için tiyoredoksin (TRX) ve redoks faktör 1 (REF-1) aracılığıyla sistein 800 rezidüsünden redüksiyonuna gereksinim duyar. HIF-1'in karbon ucunun sonunda bulunan 718-721. aminoasitler arasındaki bölge ise nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) içermektedir (78-80).



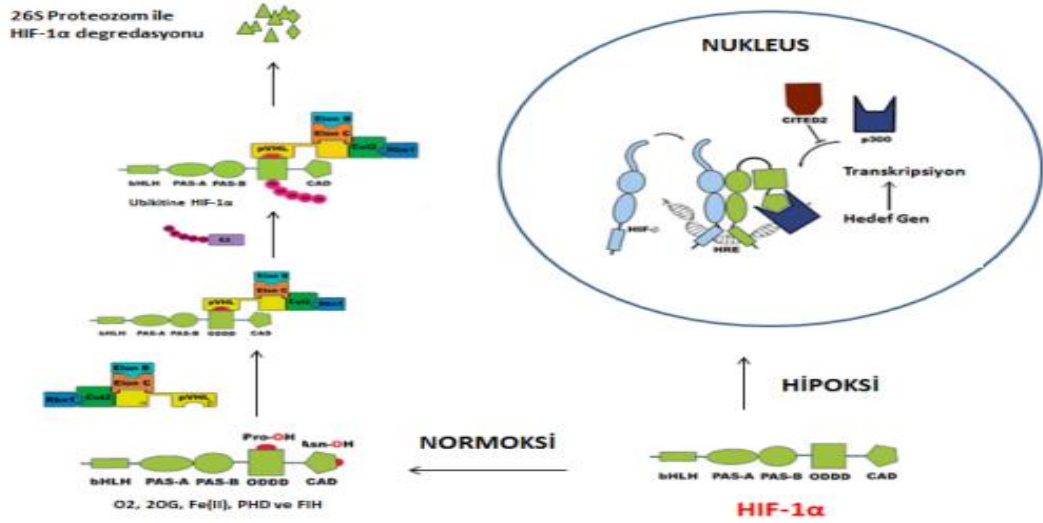
Şekil 2.1. İnsan 14. kromozomu üzerinde HIF1A geni (81).



Şekil 2.2. HIF1A ve HIF1B'nin moleküler yapısı (7).

2.2.1. HIF1α Stabilizasyonunun Moleküler Mekanizması

HIF-1α proteininin hipoksik koşullarda sentezi ve stabilizasyonunda yarılanma ömrü 5 dakika kadar olan HIF-1α proteini normoksik koşullarda hızla degrade olarak ortamda neredeyse hiç bulunmazken, hipoksik koşullarda stabilize olur ve sitoplazmadan nükleusa geçerek HIF-1β ile birleşip HIF-1'i oluşturarak transkripsiyonel aktivite kazanır.



Şekil 2.3. Oksijen düzeyine bağlı HIF1A stabilizasyonu ve transaktivasyonu (7).

2.2.2. HIF1 Proteinlerinin İşlevi

HIF1A proteinleri hücre ve dokularda düşük oksijen basıncına adaptasyon, hücre sağ kalımı ve çoğalması, anjiyogenez, eritropoez, glukoz alınımlı ve demir metabolizması gibi olaylara bağlı birçok genin hipoksiye transkripsiyonel aktivasyon cevaplarının anahtar regülatörüdür. HIF-1'in nükleer alfa-alt ünitesi yapısal, alfa-alt ünitesi regülatör bileşen olarak işlev görür. HIF-1alfa alt ünitesi normoksik koşullarda kararsızdır ve sonraki degradasyonlar için E3 ubiquitin ligaz kompleksinin bir parçası olan VHL proteininin hedefidir (82) Hipoksik koşullarda ise HIF-1alfa proteozomal yıkımdan kaçır, sitozolde birikir, stabil hale gelir, fosforillenir ve nukleusa geçerek HIF-1alfa ile heterodimerik bir kompleks oluşturur. Bu kompleks hipoksiyle indüklenebilen genlerin güçlendirici ya da promotor bölgesinde 50 baz çiftli bir DNA bağlanma motifi olan hipoksi cevap elementleri (HRE) ile bağlanır ve hedef genlerin transkripsiyonlarını başlatır (83-85).

2.2.3. HIF1A'nın Hedef Genleri

Hücre ve organlar oksijen basıncındaki değişikliklere uyum sağlama ihtiyacındadırlar. HIF-1'in hedef genlerinin bulundukları dokuya oksijen sağlanmasındaki değişimlere özel bir şekilde adaptasyon göstermesi sürpriz olmamalıdır. Son zamanlarda, HIF-1'in adaptasyonu ile regüle edilen farklı fonksiyonlu

100' den fazla gen tanımlanmıştır. Dahası arteriyel endotel hücrelerinde, insan genlerinin %2'den fazlasının, direkt veya indirekt olarak HIF-1 tarafından regüle edildiği bildirilmiştir (86-88).

HIF-1, hedef genlerin güçlendirici ve promotor bölgelerine lokalize olmuş 50 baz çiftli bir HRE (hipoksi yanıt elemanı) bölgesine bağlanarak, bu genlerin ekspresyonlarını aktive etmektedir (89, 90).



2.3. HIF ve Obezite İlişkisi

Obezite, genetik ve epigenetik faktörlerin, yaşam tarzının, sosyoekonomik durumun kombinasyonunu içeren aynı zamanda gıda alımının artmasına neden olurken enerji harcamasının azalması ile metabolizmasındaki değişikliklere neden olan çok faktörlü ve karmaşık bir etiyolojiye sahip bir hastalıktır. Beyaz yağ dokusunun hiperplazi ve hipertrofi yoluyla anormal genişlemesi, yetersiz yağ içi kan perfüzyonunu teşvik ederek hipoksiye neden olur. Onlarca yıldır bilinmektedir ki hipoksi, enerji dengesini ve obeziteyi etkileyen önde gelen faktörlerden biridir. Hipoksinin enerji dengesi ve metabolizması üzerindeki önemli ve karmaşık rolünü vurgulasa da, hipoksi ve obezite arasındaki ilişkide anahtar moleküller ve sinyal yolları hakkında çok az şey bilinmektedir. Hipoksi ile indüklenebilir faktör- α (HIF- α) obezitede inflamasyonu ve insülin direncini indükleyen oksijen homeostazında yer alan temel bir transkripsiyon faktörüdür. Hipoksi ile indüklenebilir faktörler, normal hücre fonksiyonu ve sağkalım için gerekli olan inflamasyona ve hipoksiye hücrel tepkileri düzenleyen anahtar moleküllerdir. Şu anda, kanıtlar, obezite ve metabolik hastalıkların ilerlemesinde de rol oynayabilecek metabolik düzenlemede HIF yolunun bir rolüne işaret etmektedir. Ek olarak, HIF kompleksinin anormal düzenlenmesi obezite, yağlı karaciğer hastalığı ve tip 2 diyabet gelişiminde rol oynar (91). Hem HIF1 α hem de HIF2 α , esas olarak anjiyogenez, glukoz, yağ asidi, kolesterol ve mitokondriyal metabolizma ve inflamasyon gibi çeşitli biyolojik süreçleri düzenleyen transkripsiyonel aktivatörler olarak işlev görür (92). Oksijen homeostazının ana transkripsiyon faktörü olan HIF-1 α , obezitede inflamasyonu ve insülin direncini indüklerken, izoformu HIF-2 α , obezite ile ilişkili bu metabolik fenotiplerde zıt fonksiyonlar gösterir.

Hipoksi, oksijen ihtiyacı arzı aştığında ortaya çıkar ve bu da dokulara veya hücrelere yetersiz oksijen tedarikine neden olur. Son hayvan çalışmaları göstermiştir ki obezitede yağ dokuları hipoksik hale gelir (93, 94).

Obezitede yağ dokusu hipoksisinin başlamasına potansiyel katkıda bulunanlar şunlardır: beyaz yağ dokusuna yetersiz kan akışı, oksijenin 150-200 μ m difüzyon kapasitesinden daha büyük olan adiposit boyutunda genel artış, adipositler veya obez mikro-ortama sızan inflamatuvar hücreler tarafından artan oksijen tüketimi. Hemen hemen tüm obez insanlar, adipoz dokularında proinflamatuvar makrofaj infiltrasyonu ve oksidatif stres ile karakterize edilen düşük dereceli kronik enflamasyon sergiler.

2.3.1. Obezitede Yağ Dokusu Hipoksisi

Son çalışmalar, obez yağ dokularında, hipoksinin, hipoksiye özgü kimyasal prob, pimonidazol ve ayrıca HIF-1 α ekspresyonunun immünohistokimyasal tespiti ile tespit edilebileceğini göstermiştir. Nispeten şiddetli hipoksik koşullarda, pimonidazol azalır ve sülfhidril gruplarına bağlanır. pimonidazol oluşturan çeşitli moleküller hipoksik hücrelerde birikir. Bu yöntem kantitatif olmamasına rağmen hipoksiyi etkili bir şekilde tespit etmiştir. Obezite, yağ dokusunun hızlı bir şekilde genişlemesine neden olan obez adipositlerin hiperplazisi (hücre sayısı artışı) ve hipertrofisi (hücre büyüklüğü artışı) ile karakterizedir. Oksijenin difüzyon kapasitesinin 150-200 μ m ile sınırlı olduğu göz önüne alındığında, anormal derecede genişlemiş yağ dokusu, bu dokularda hipoksiye katkıda bulunan yetersiz yağ içi kan perfüzyonuna sahip olabilir. Daha sonra kan perfüzyonunun geri kazanılmasının yağ dokusu yağ dokusu hipoksisini zayıflatabilir ve obezitede adiposit disfonksiyonu oluşur. Tüm çalışmalar, adipoz kan perfüzyonunda ve hipokside kritik bir rol oynayan ve metabolik homeostazı düzenleyen adipoz doku VEGF ve vaskülatürünün karmaşıklığını vurgulamaktadır.

Yüksek yağlı diyet kaynaklı obezitede yağ dokusu hipoksisine ilk katkıda bulunan adipositlerin artan oksijen tüketimine dair kanıt sağlamıştır. Bu gözlemler, yağ dokusu oksijen tüketim oranının, yağ dokusu hipoksisi ve obezite ile ilişkili metabolik disfonksiyonu destekleyen HIF-1 α ekspresyonu için kritik bir belirleyici olduğunu göstermektedir (8).

Uzun süreli veya kronik obezite, yağ dokusunun kontrolsüz genişlemesi, yetersiz kan perfüzyonuna ve oksijen verilmesine neden olabilir belki de daha kalıcı yağ dokusu hipoksisine yol açar. Bu iki farklı mekanizmalar arasındaki ilişkinin biyolojik önemi tam olarak anlaşılmış değildir fakat HIF'DE aracılı hipoksik sinyal her zaman hipoksik obez yağ dokusunda aktif görünüyor ve adiposit biyoloji ve metabolik hastalıklar konusunda geniş ve derin bir etkisi oluyor.

2.3.2. Adipozite ve Adipogenezin HIF'ler tarafından düzenlenmesi

Besin alımı enerji harcamasını aştığından, kalan enerji hipertrofiye yol açan beyaz adipositlerde depolanır. Obezitede hipertrofi hızla ortaya çıkar ve hüküm sürer. Adiposit sayısı aşırı gıda alımı ile hiperplazi arasında bir çeşit pozitif ilişki olduğu

düşünülebilir. Olası bir mekanizma, adipositlerin şiddetli ve kronik hipertrofisi ile adipogenez faktörlerinin indüklenmesidir (95). Hiperplazi durumunda, anjiyogenez faktörlerinin uygun şekilde işe alınmasına yağ dokusu genişlemesi eşlik etmelidir. Yağ yastığı genişlemesi sırasında, adipositler parakrin sinyalleme yoluyla endotel hücreleriyle iletişim kurar ve hipoksi anjiyogenezin kritik bir düzenleyicisi gibi görünmektedir (96). Hipoksinin obez yağ dokularında belirgin bir özellik olduğu göz önüne alındığında, HIF'lerin adipojenik aktivasyon ve farklılaşmadaki fonksiyonel rolleri özellikle ilgi çekicidir.

2.3.3. HIF ve Obezite İlişkili İnflamasyon

Obezitenin ayırt edici özelliklerinden biri, yağ dokusu da dahil olmak üzere metabolik dokularda düşük dereceli kronik iltihaplanmadır (97, 98). Dengesiz metabolik uyarılara yanıt olarak, adipositler, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) gibi enflamatuar sitokinlerin indüklenmesine yol açan enflamatuar sinyal yollarını başlatır (99, 100). Çeşitli enflamatuar hücre popülasyonları yağ dokularına infiltre edilir. Özellikle, proinflamatuar (M1) makrofajların, obez insanların obez yağ dokularına ve ayrıca adipoz doku enflamatuar yanıtına daha fazla katkıda bulunan genetik veya diyet kaynaklı obez farelere dahil edilen belirgin bir immün hücre popülasyonu olduğu gösterilmiştir. Metabolik dengesizliğin obezitede enflamatuar yanıtın başlıca başlangıç nedeni olduğu öne sürülse de, enflamatuar sinyali, sitokin ekspresyonunu ve enflamatuar hücre alımını düzenleyen moleküler ve hücresel süreçler aydınlatılmaya devam etmektedir (98).

2.3.4. HIF'ler ve İnsülin Direnci

Oksijen homeostazı, glukoz metabolizmasının ve insülin duyarlılığının kilit unsurlarından biridir. Hipoksi, insan ve fare adipositlerinde insülin sinyal yolunu baskılamak için yeterlidir. Hipoksi (%1 O₂) veya hipoksi mimetik CoCl₂ tedavisi, 3T3-L1 ve farklılaşmış insan adipositlerinde insülin reseptörü (IR) ve protein kinaz B'nin fosforilasyonunu önemli ölçüde azalttı. Ayrıca, inhibe edilmiş insülin sinyali, insüline bağlı glukoz alımının azalması ile ilişkiliydi. HIF-1 α veya HIF-2 α 'nın aşırı ekspresyonu, hipoksi kaynaklı insülin sinyal inhibisyonunu taklit ederken, hipoksidede HIF-1 α veya

HIF-2 α 'nın siRNA nakavtı kısmen insülin sinyallemesini geri yükledi, bu da HIF sinyallemesinin adiposit insülin sinyallemesinin önemli bir bileşeni olduğunu gösterdi. Yağ dokusu hipoksisi ve insülin direnci arasındaki bağlantıların altında yatan moleküler ve hücrel mekanizmalar tam olarak anlaşılmaya açıktır. Yapılan çalışmalar adiposit hipoksisi HIF sinyalinin sistemik metabolik homeostazı nasıl etkilediğine dair fikir vermektedir.

Bir dizi klinik öncesi ve klinik çalışma, yağ dokusu ve insülin direnci ile nedensel ilişkisini defalarca göstermiş olmasına rağmen, obezite, iltihaplanma ve insülin direnci arasında bağlantı kuran moleküler ipuçları hala tanımlanmaya devam etmektedir. Hipoksiyi obez yağ dokusunun belirgin bir mikroçevre bileşeni olarak tanımlayan son gelişmeler bizi eksik bağlantıya yönlendirir: Obezite ile ilişkili inflamasyon ve insülin direncinin gelişmesine yol açan HIF-1 sinyali. Hem insan hem de deneysel veriler, HIF-1'in vücut ağırlığı, glikoz homeostazı ve karaciğer metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını desteklemektedir. Obezite spesifik ve selektif Merkez/ hipotalamik HIF'DE modülasyonu böylece hipotalamik disfonksiyon olumsuz etkisini azaltmak için, obezite ve Tip 2 diyabet farmakolojik yönetimi için potansiyel bir tedavi hedefi olarak doku belirli HIF'DE-1 aktivasyon yerleştirme koruyucu bir mekanizma olarak işlev görebilir. HIF-1 α 'nın beyaz yağ dokusu gelişimindeki rolü boyunca, wat'ta obeziteyi destekleyen HIF1 α eylemlerinin, gıda alımının *HIF1A*'ya bağımlı baskısını geçersiz kılması mümkün olabilir. Bununla birlikte, farklı mekanizmalarda yer alan mekanizmaların ve moleküler oyuncuların daha iyi anlaşılmasını sağlamak için daha fazla biyolojik, farmakolojik ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır. HIF hücrel yanıtları, enerji homeostazının merkezi mekanizmalarında ve ayrıca obezite ve diyabet gelişiminin anlaşılması yeni çalışma alanları olarak önerilir (101).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastalar ve Kontrol Grubu Bireyleri

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrin ve Metabolizma Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran ve beden kitle indeksi ≥ 30 , diyabeti olmayan 18-65 yaş arasındaki 38 kadın 22 erkek bireyler dahil edildi.

Çalışmaya gönüllü olarak katılan, beden kitle indeksi 18.50-24.99 aralığında olan ve herhangi bir ek hastalığı ve diyabeti olmayan 18-65 yaş arası bireyler kontrol grubuna dahil edildi.

Tüm bireyler, yaş, cinsiyet, beden kitle indeksi, bel çevresi, hemoglobin, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, sigara içimi, ilaç alma ve ek hastalık durumları gibi demografik parametreleri belirlendi.

Çalışma öncesi tüm olgulardan bilgilendirilmiş onam formları alındı ve kabul etmeyenler ile diyabeti olanlar çalışmaya alınmadı.

Belirlenen kriterlere uyan hasta ve sağlıklı bireylerden genomik DNA izolasyonu için antikoagülan etilendiamintetraasetikasit (EDTA-) içeren vakumlu tüplere 1-2 ml periferik kan alındı ve DNA izolasyonuna kadar +4°C'de muhafaza edildi.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

1. Buzdolabı (Bosch, Türkiye)
2. Derin Dondurucu (Sanyo, Japonya)
3. Hassas terazi (Vibra, İngiltere)
4. pH Metre (Consort, Belçika)
5. Soğutmalı Santrifuj (Hettich, Almanya)
6. Vortex (Labnet, Amerika)
7. PCR makinesi (SensoquestLabcyclers, Almanya)
8. Etüv (Nüve EN 500, Türkiye)
9. Elektroforez güç kaynağı (Consort, Belçika)
10. Elektroforez tankı (CLP, Amerika)
11. Jel Analiz ve Dökümantasyon Sistemi (Gen-Box CFX, Türkiye)
12. Buharlı Otoklav (Hirayama, Japonya)
13. Mikrodalga Fırın (Vestel, Türkiye)

14. Laminarflow (Heraus, Almanya)
15. Deiyonize su cihazı (SG, Almanya)
16. 1,5 ml'lik kapaklı ependorf tüp (Isolab, Almanya)
17. 0,2 ml'lik PCR tüpleri
18. PCR pipet uçları
19. Sarı pipet ucu
20. Mavi pipet ucu
21. 5 ml'lik pipet ucu
22. Otomatik ayarlanabilir pipet takımı (Eppendorf, Almanya)

3.3. Kullanılan Moleküler ve Kimyasal Malzemeler

1. Saf etil alkol (Merck, Almanya)
2. Deiyonize su cihazı (SG, Almanya)
3. Kloroform (Carlo Erba, İtalya)
4. İzooamil alkol (Merck, Almanya)
5. Proteinaz K (20 mg/ml) (Fermentas, Amerika)
6. Sodyum Dodecil Sülfat (SDS,) (Merck, Almanya)
7. Triton X-100 (Bio Basic Inc., Kanada)
8. NaCl (Merck, Almanya)
9. Tris (Base) (Bio Basic Inc., Kanada)
10. EDTA (Sigma-Aldrich, Almanya)
11. Sakkaroz (Merck, Almanya)
12. Agaroz A (Bio Basic Inc., Kanada)
13. Lityum hidroksit monohidrat (Sigma-Aldrich, Almanya)
14. Borik Asit (Merck, Almanya)
15. Magnezyum Klörür (Merck, Almanya)
16. Gliserol (Merck, Almanya)
17. Bromo fenol blue (Merck, Almanya)
18. Deokinükleosit trifosfatlar (Promega)
19. Primerler (2 adet) (Macrogen Europe, Hollanda)
20. Taq DNA Polimeraz (BioLabs, Almanya)
21. *HphI* restriksiyon endonükleaz enzim (BioLabs, Almanya)

22. *AciI* restriksiyon endonükleaz enzim (BioLabs, Almanya)
23. Lityum borat elektroforez tamponu (pH 8.5)
24. 6x yürütme tamponu
25. FastRuler (Fermantase, Amerika)

3.4. DNA İzolasyonda Kullanılan Tamponlar

5x Eritrosit Lizis Tamponu

1.6M Sukroz	final 0.32M
60mM Tris-HCl, pH 7.6	final 12 mM
25mM MgCl ₂	final 5mM
%5 Triton X-100	final %1 (otoklav sonrası katılır)

5x Lökosit Lizis Tamponu

500mM NaCl	final 100mM NaCl
20mM EDTA	final 4mM EDTA
100mM Tris-HCl	final 20mM Tris-HCl

SDS (Sodyum dodesil sülfat) (%10)

Kloroform: İzooamil Alkol (24:1)

%70'lik Etanol

5.3 M'lık NaCl

6x Yürütme Tamponu

10mM Tris-HCl (pH7.6)
%60 gliserol
%0.03 Bromo fenol blue
60mM EDTA

Lityum Borat (20X), pH 8.5

0.2 M Lityum hidroksit
0.58 Borik asit

3.5. DNA Elde Edilmesi

DNA, tuzla çöktürme yöntemi baz alınarak aşağıdaki şekilde elde edildi (103).

1. 800µl 1x Eritrosit lizis tamponuna 300µl tam kan eklendi ve yavaşça alt üst edildi. Karışım oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi.
2. Karışım, 13.000xg'de 40 sn süre ve 4°C'de santrifüj edildi. Hücre çökeltisi, 800µl 1x eritrosit lizis tamponu ile iki defa daha aynı işleminden geçirildi.
3. 13.000xg'de 40 sn süre ve 4°C'de santrifüjden sonra nükleer hücre çökeltisi vortekslendi.
4. Beyaz hücre çökeltisine, 60µl 5x Lökosit lizis tamponu, 30µl (%1) SDS eklendi ve 30 sn kuvvetlice vortekslendi ve ardından 1.5 µl (20 mg/ml) Proteinaz K (final 100 µg/ml) eklendi (toplam 300µl) ve hafifçe vortekslendi.
5. Karışım, 55°C'de 20 dakika süre ile tutuldu ve hemen ardından 2-3 dakika süre ile buzda bekletildi.
6. Karışıma 100µl NaCl (5.3M) eklendi (final 1.325M) ve 600µl kloroform: izoamil alkol (24:1) eklendi ve 15sn vortekslenerek 3 dakika süre ile santrifüjlendi.
7. DNA içeren üst faz (yaklaşık 350µl) dikkatlice yeni bir tüpe alındı ve üzerine 700µl %100 soğuk etanol eklenerek DNA'nın presipite olması için 5 dakika buzda bekletildi.
8. 13.000xg'de 2 dak. süre ve 4°C'de santrifüjlendi. DNA çökeltisi, 1 ml %70'lik soğuk etanol ile yıkandı ve 2 dakika süre ile 4°C'de santrifüjlendi. Üst faz atıldı.
9. DNA taşıyan tüpler önceden 65°C'lik sıcaklığa getirilmiş etüvde 5-10 dakika tutularak etanolun buharlaşması sağlandı.

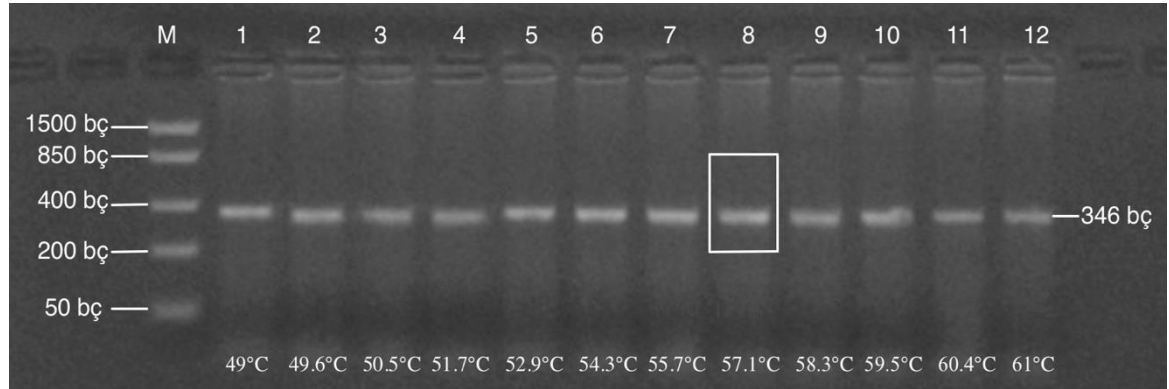
DNA, 100µl steril deiyonize su içinde çözüldü ve DNaz inhibisyonu için 70°C'de 10 dakika süre ile tutuldu ve PCR işlemine kadar -20°C'ye alındı.

3.6.PCR’da Kullanılan Primerlerin Annealing Sıcaklığını Belirlemek için Gradient PCR Tekniği

Primerlerin annealing (yapışma) sıcaklığının tespiti için “gradient PCR” çalışması yapıldı. Bu amaçla; gradient PCR reaksiyonu (10µl); 1XTaq PCR tamponu, 200 µM dNTP’ler, 0.2 µM’lık forward ve reverse primerler (Tablo 3.1) (108), 2mM MgCl₂, 30 ng genomik DNA ve 0.5 Unite Taq DNA polimeraz ile hazırlandı ve ilk denaturasyon 4 dakika süreyle 94°C, ardından 35 siklus boyunca 94°C’de 30 sn, 55°C’de (gradient $\pm 6^\circ\text{C}$) 30 sn, 72°C’de 45 sn ve final sentez için 72°C’de 7 dakika boyunca PCR programı uygulanarak 346 baz çifti uzunluğunda PCR ürünü elde edildi. Böylece en iyi DNA bandının meydana geldiği annealing sıcaklığı (57°C) belirlendi (Şekil 3.1).

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan primer dizileri (104).

SNP	Primer dizileri	PCR Ürünü
rs11549465/ rs11549467	5’-AAG GTG TGG CCA TTG TAA AAA CTC-3 (Forward) 5’-GCACTAGTAGTTTCTTTATGTATG-3’ (Reverse)	346 bç



Şekil 3.1. *HIF1A* geni c.1744C>T ve c.1762G>A gradient PCR profili. Kuyu M: DNA Marker (FastRuler, Fermentas, Amerika); kuyu 1-12 (49-61°C) 180 baz çiftlik PCR ürünleri.

3.7. PCR-RFLP (Polimeraz Zincir Reaksiyonu - Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) Tekniği

HIF1A geni 12. ekzon üzerinde bulunan NG_029606.1: g.50457C>T (NM_001530.4:c.1744C>T, NP_001521.1:p.Pro582Ser, rs11549465) polimorfik alanı içeren ve aşağıda dizisi gösterilen 346 baz çiftlik amplikon;

AAGGTGTGGCCATTGTAAAACTCATGTATTTGCTGTTTTAAAGGACACAGA
TTTAGACTTGGAGATGTTAGCTCCCTATATCCCAATGGATGATGACTTCCAG
TTACGTTTCCTTCGATCAGTTGTCA CATTAGAAAGCAGTTCCGCAAGCCCTG
AAAGCGCAAGTCCTCAAAGCACAGTTACAGTATTCCAGCAGACTCAAATAC
AAGAACCTACTGCTAATGCCACCACTACCACTGCCACCACTGATGAATTAA
AAACAGTGACAAAAGACCGTATGGAAGACATTAATAATATTGATTGCATCTC
CATCTCCTACCCACATACATAAAGAACTACTAGTGC

ve *HIF1A* geni 12. ekzon üzerinde bulunan NG_029606.1: g.50457G>A (NM_001530.4:c.1762G>A, NP_001521.1:p.Ala588Thr, rs11549467) polimorfik alanı içeren ve aşağıda dizisi gösterilen 346 baz çiftlik amplikon,

AAGGTGTGGCCATTGTAAAACTCATGTATTTGCTGTTTTAAAGGACACAGA
TTTAGACTTGGAGATGTTAGCTCCCTATATCCCAATGGATGATGACTTCCAG
TTACGTTTCCTTCGATCAGTTGTCACCATTAGAAAGCAGTTCC GCAAGCCCTG
AAAGCGCAAGTCCTCAAAGCACAGTTACAGTATTCCAGCAGACTCAAATAC
AAGAACCTACTGCTAATGCCACCACTACCACTGCCACCACTGATGAATTAA
AAACAGTGACAAAAGACCGTATGGAAGACATTAATAATATTGATTGCATCTC
CATCTCCTACCCACATACATAAAGAACTACTAGTGC

PCR reaksiyonu optimizasyonu yapıldıktan sonra PCR reaksiyonu; aşağıda şekilde hazırlanan PCR karışımından her bir PCR tüpüne 18'er µl şeklinde dağıtıldı ve üzerine 2'şer µl DNA eklenerek PCR programı uygulandı.

<u>Ana kons.</u>	<u>Final kons.</u>	<u>20µl hacim</u>
ddH ₂ O	1x	13.1µl
PCR buffer (10X)	1x	2 µl
dNTP'ler (10mM)	0.2mM	0.4µl
Forward primer (10µM)	0.2µM	0.4µl
Reverse primer (10µM)	0.2µM	0.4µl
MgCl ₂ (25mM)	2mM	1.6 µl
Taq DNA pol. (5U/µl)	0.5U/10µl	0.1µl

94°C'de 4 dakika (ilk denaturasyon)

35 siklus boyunca,

94°C'de 30 sn,

57°C'de 30 sn,

72°C'de 45 sn

72°C'de 7 dakika (final sentez)

RFLP reaksiyonu (10 µl)

	<u>Final kons.</u>	<u>Final Hacim (10µl)</u>
ddH ₂ O	1x	4.6µl
RFLP Buffer (10x)	1x	1µl
HphI (5U/µl)	1U/10µl	0.4µl

	<u>Final kons.</u>	<u>Final Hacim (10µl)</u>
ddH ₂ O	1x	4.8µl
RFLP Buffer (10x)	1x	1µl
Acil (10U/µl)	1U/10µl	0.2µl

Her bir restriksiyon endonükleaz reaksiyonu için hazırlanan karışımın 6µl'si alınarak 4µl PCR ürününe katıldı ve hafifçe karıştırıldı. 37°C'de bir gece süreyle inkübe edildi.

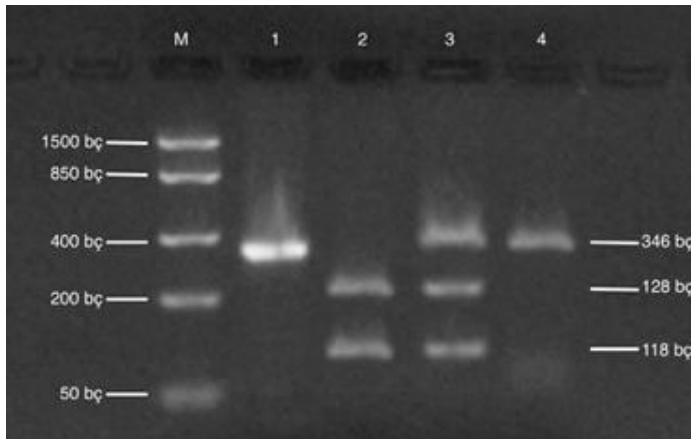
Agaroz jeli (pH 8.5, 85ml)

ddH ₂ O	1x	80.75ml
LB buffer (20x)	1x	4.25ml
EtBr (10mg/ml)	0.5µg/ml	4.25µl
Agaroz	%2.0	1.7gr

Karışımından sonra jel mikrodalgada ardışık olarak üç defa 2’şer dakikalık düşük ayarda sürelerle agaroz eritildi ve oda sıcaklığında el yakmayacak duruma gelince jel tablasına dökülerek 20’şer dişli taraklar konarak 15 dakika süre ile katılaşması beklendi.

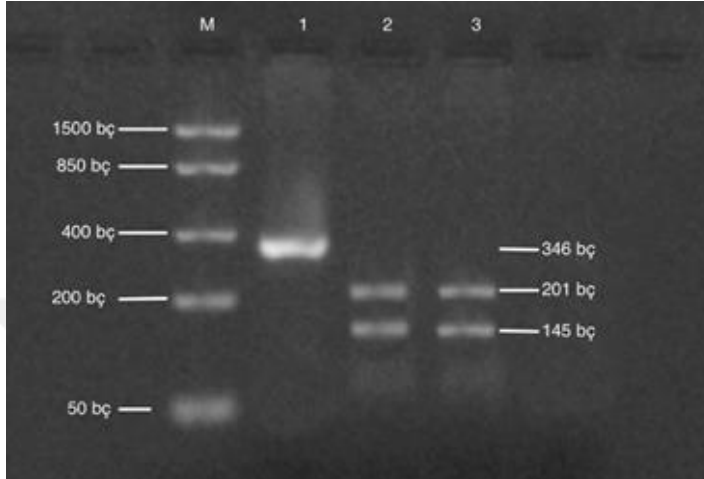
PCR-RFLP ürünleri 6X yürütme tamponu ile karıştırdıktan sonra 1X Lityum borat (LB) elektroforez tamponu içindeki jelin kuyularına 10’ar µl şeklinde uygulandı. Elektroforez, DNA marker (FastRuler, Fermentas) varlığında 200V ve 20 dakika süre ile yapıldı. Ardından jel musluk suyu ile hafifçe yıkanarak Jel Analiz ve Dökümantasyon sistemi ile görüntülenerek fotoğrafı çekildi.

HphI profili için Jel üzerinde 228 ve 118 baz çifti şeklinde iki DNA bandı görülmesi CC genotipi (yabanıl tip, homozigot), 346, 228 ve 118 baz çiftlik üç DNA bandı görülmesi ise CT genotipi (polimorf, heterozigot) ve 346 baz çiftlik DNA bandı görülmesi TT genotip (polimorf, homozigot) olarak değerlendirildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *HIF1A:c.1744C>T* noktasının *HphI* restriksiyon profili. Kuyu M: DNA Marker (FastRuler 1500-50 bp, Fermentas, Amerika); kuyu 1: kesilmemiş PCR ürünü; kuyu 2: CC genotipi (homozigot, normal); kuyu 3: CT genotipi (heterozigot); kuyu 4: TT genotipi (homozigo).

Acil profili için jel üzerinde 201 ve 145 baz çifti şeklinde iki DNA bandı görülmesi GG genotipi (yabanil tip, homozigot), 346, 201 ve 145 baz çiftlik üç DNA bandı görülmesi ise GA genotipi (polimorf, heterozigot) ve 346 baz çiftlik DNA bandı görülmesi AA genotip (polimorf, homozigot) olarak değerlendirildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. *HIF1A:c c.1762G>A* noktasının *Acil* restriksiyon profili. Kuyu M: DNA Marker (FastRuler 1500-50 bp, Fermentas, Amerika); kuyu 1: kesilmemiş PCR ürünü; kuyu 2 ve 3: GG genotipi (homozigot, normal).

3.8. İstatiksel Analiz

Nümerik veriler ortalama $\pm$ standart sapma, kategorik değişkenler ise sayı veya yüzde şeklinde ifade edildi. Kategorik veriler için ki-kare testi, nümerik verilerde unpaired t-testi veya Mann-Whitney U-testi kullanıldı. *HIF1A: c.1744C>T* ve *c.1762G>A*'nin genotip frekansları dağılımına Hardy-Weinberg dengesine uyumluluk için ki-kare testi, genotip ile allel oranlarının değerlendirilmesi için SPSS v22'de Fisher's exact testi uygulandı.

3.9.Etik

“Obezite hastalarında hipoksi ile indüklenen faktör-1 α (*HIF1A*) gen polimorfizmlerinin araştırılması” başlıklı çalışma için Harran Üniversitesi Rektörlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 21.10.2021 tarih ve 73750 sayılı yazıları ve HRÜ/21.17.28 kararıyla etik onay almıştır.

4. BULGULAR

Hasta ve sağlıklı bireylerin klinik ve demografik verileri Tablo 2’de verilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hasta grubu bireylerinin yaş, cinsiyet, Beden kitle indeksi (BKİ), Bel çevresi ve Hemoglobin düzeyleri kontrol grubu bireylerinin değerlerinden daha yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.05$). Aynı şekilde hasta grubunun Sistolik kan basıncı kontrol grubu değerlerinden daha düşük ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Buna ek olarak sistolik kan basıncı değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grubu bireylerinin demografik ve klinik veri dağılımı

	Obez Hastalar (n=60)	Kontrol Grubu (n=60)	p-değeri
Yaş (yıl)	36.11 ±11.58	30.73 ± 7.41	0.003
Cinsiyet (Erkek/Kadın)	19/41	23/37	0.566
BKİ (kg/m ²)	40.56±15.21	22.86 ± 1.75	0.0001
Bel Çevresi	114.10±15.98	74.3±9.92	0.0001
Hemoglobin (g/dl)	14.21 ±1.33	13.12 ±1.5	0.0001
Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	119.35 ±10.0	117.91 ±6.84	0.359
Diastolik Kan Basıncı (mmHg)	75.2 ±6.57	77.5 ±5.08	0.034
Sigara	11 (%32.4)	23 (%67.6)	0.025
İlaç	19 (%70.4)	8 (%29.6)	0.015
Ek hastalık	20 (%74.1)	7 (%25.9)	0.008

BKİ: Beden kitle indeksi.

Bu çalışmada, hasta ve kontrol gruplarında *HIF1A* geni c.1744C>T (sırasıyla $X^2=0.94$) polimorfik alanların genotip oranlarının Hardy-Weinberg dengesiyle uyumlu olduğu belirlendi ($p>0.05$). Ancak c.1762G>A polimorfik noktasında hasta ve kontrol bireylerinde sadece homozigot normal genotip (GG) bulunduğundan bu polimorfik alanın genotip oranları arasında Hardy-Weinberg dengesiyle uyumsuz olarak belirlendi.

PCR-RFLP tekniğine göre *HIF1A* geninin her iki polimorfik noktasına yönelik yapılan çalışmalardan hasta ve kontrol grubunda elde edilen genotip ve allel oranlarının Fisher’s Exact testi ile yapılan değerlendirilmesi Tablo 3’de gösterilmektedir. Hasta ve kontrol grubunda *HIF1A* geni c.1744C>T polimorfizm oranları Fisher exact testi yönünden incelendiğinde; hastaların CC (%75.0), CT (%23.3) ve TT (%1.7) genotip ile T (%13.3) oranları kontrol grubundaki CC (%78.0), CT (%21.7) ve TT (%1.7) genotip ile T (%11.5) değerleri arasında istatistiki bir farkın olmadığı görüldü ($p>0.05$). Bunun

yanında hasta grubunda *HIF1A* geni c.1762G>A polimorfik noktası için sadece homozigot normal GG (%100) genotip elde edildiğinden istatistiki olarak bir değerlendirme yapılamadı (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Hasta ve kontrol gruplarında *HIF1A*:c.1744C>T ve c.1762G>A Polimorfizm Oranlarının Dağılımı.

SNP Genotip/Allel	Obez Hasta Grubu (n=60)	Kontrol Grubu (n=60)	X ²	OR (95% CI)	p-değeri
<i>HIF1A</i>:c.1744C>T					
Genotip					
CC	45 (%75.0)	46 (%78.0)	0.145	Referans	Referans
CT	14 (%23.3)	13 (%21.7)	0.048	1.100 (0.467-2.594)	1.000
TT	1 (%1.7)	1 (%1.7)	0.000	1.000 (0.061-16.366)	1.000
Allel					
C	104 (%86.7)	105 (%87.5)	0.037	Referans	Referans
T	16 (%13.3)	15 (%11.5)	0.185	1.179 (0.556-2.504)	1.000
<i>HIF1A</i>:c.1762G>A					
Genotip					
GG	60 (%100)	60 (%100)	-	Referans	Referans
GA	-	-	-	-	-
AA	-	-	-	-	-
Allel					
G	120 (%100)	120 (%100)	-	Referans	Referans
A	-	-	-	-	-

X²= Ki Kare, OR = olasılık oranı, CI = güven aralığı, SNP = Tek Nükleotid Polimorfizmi.

Ayrıca, *HIF1A* geni c.1744C>T alanı CC genotip (yabanil tip, normal) ve CT genotipli (heterozigot polimorfik) obezite hastalar arasında incelenen yaş, cinsiyet, beden kitle indeksi, bel çevresi, hemoglobin, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, sigara içimi, ilaç alımı ve ek hastalığa sahip olma gibi klinik ve demografik parametreler arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlenmedi (p>0.05). Ek olarak, obez olan hastaların *HIF1A* geni c.1762 restriksiyon alanı GG genotip (yabanil tip, normal) hastalar arasında incelenen klinik ve demografik parametreler arasında anlamlı bir fark görülmedi (p>0.05) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Obez hastalarda HIF1A geni normal ve polimorfik genotipler arasında demografik ve klinik parametrelerin değerleri.

	c.1744C>T			c.1762G>A		
Genotip	CC	CT	p-değeri	GG	GA	p-değeri
Bireyler (n)	45	14		60		
Yaş (yıl)	36.8±12.07	34.35±10.37	0.498	30.73 ± 7.41	-	-
Cinsiyet (Erkek/Kadın)	14/31	5/9	0.753	19/41	-	-
BKİ (kg/m ²)	42.03±17.12	35.98±5.31	0.200	22.86 ± 1.75	-	-
Bel Çevresi	115.07±16.61	111.00±14.53	0.414	74.3±9.92	-	-
Hemoglobin (g/dl)	14.25±1.33	14.04±1.40	0.622	13.12 ±1.5	-	-
Sistolik Kan Basıncı	119.90±10.33	117.50±9.35	0.441	117.91 ±6.84	-	-
(mmHg)	75.55±6.59	73.71±6.68	0.367	77.5 ±5.08	-	-
Diastolik Kan Basıncı	8	3	0.712	11	-	-
(mmHg)	15	4	0.658	19	-	-
Sigara	16	4	0.445	20	-	-
İlaç						
Ek hastalık						

Ortalama ± standart sapma, c.1744C>T alanı CC genotipi (normal) ve CT (heterozigot polimorfik) ile c. 1762G>A GG (normal) ve GA (heterozigot polimorfik)

5. TARTIŞMA

On yıllık süreç içinde pek çok Orta Doğu ile Batı ülkeleri obezite ve risk teşkil eden diabetes mellitus, kalp yetmezliği ve hipertansiyon gibi risk faktörleri karşılaştırılmış ve bu hastalıkların prevalansında artışlar gözlemlendiği bulunmuştur (101).

Obezite, genetik ve epigenetik faktörlerin, yaşam tarzının, sosyoekonomik durumun kombinasyonunu içeren aynı zamanda gıda alımının artmasına neden olurken enerji harcamasının azalması ile metabolizmasındaki değişikliklere neden olan çok faktörlü ve karmaşık bir etiyolojiye sahip bir hastalıktır. Hipotalamus, gıda alımının ve enerji harcamasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Son yıllarda, yüksek yağlı diyetlerin tüketiminin hipotalamusta inflamatuvar bir sürecin aktivasyonunu tetiklediği, nörofonksiyonel değişiklikleri indüklediği ve obezite gelişimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Hipoksi ile indüklenebilir faktörler (HIF'ler), normal hücre fonksiyonu ve hayatta kalması için gerekli olan, iltihaplanma ve hipoksiye hücrel tepkileri düzenleyen anahtar moleküllerdir. Obezite ve metabolik hastalıkların ilerlemesinde de yer alabilecek metabolik düzenlemede HIF yolunun rolüne işaret edilmektedir (104) HIF-1'in hipoksiye özgü bir marker olarak, obezitede değerlendirilmesi gerekmektedir. HIF-1 molekülü α ve β alt birimlerinden oluşan heterodimerik bir transkripsiyon faktörüdür. Alfa alt biriminin ekspresyonu hipoksik koşullarda oldukça yüksek, normoksik koşullarda ise birçok hücrede düşük seviyelerde tutulur, beta alt birimi yapısal olarak ifade edilir ve aktivitesi oksijenden bağımsız olarak kontrol edilir (63).

HIF-1, enerji metabolizması, anjiyogenez, apoptoz ve protein ürünleri oksijen iletimini artıran veya hipoksiye metabolik adaptasyonu kolaylaştıran diğer genler dahil olmak üzere birçok genin transkripsiyonunu aktive ederek hipoksi ile hücrel ve sistemik homeostatik yanıtın ana düzenleyicisi olarak işlev görür. HIF-1 bu nedenle embriyonik vaskülarizasyonda, tümör anjiyogenezinde ve iskemik hastalığın patofizyolojisinde önemli bir rol oynar. Bu gen için farklı izoformları kodlayan alternatif olarak eklenmiş transkript varyantları tanımlanmıştır. Yüksek ökaryotlar, oksijen homeostazını korumak için O_2 alımını ve dağılımını düzenleyen özel mekanizmalar geliştirmiştir. Bu nedenle, oksijen aracılı yanıtlar hemen hemen her memeli hücresinde ifade edilmektedir. HIF-1, aktivitesi hipoksi ile uyarılan bir transkripsiyon faktörüdür ve bu molekül adipoz doku hipoksisinin bir göstergesi olarak

kullanılmıştır (17, 21, 40, 58).

Obezite hastalığı üzerinde *HIF1A* geni c.1744C>T ile c.1762G>A polimorfik alanlarının genotip ve allel oranlarının etkisinin olup olmadığının açığa çıkarılması için yaptığımız çalışmamızda; c.1744 CT ve TT genotipleri ile T allelleri oranlarının obezite hastaları ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamsız olduğu tespit edildi ($p>0.05$). Bu gen üzerindeki diğer polimorfik alan olan c.1762G>A ise GG genotipi ve G alleli dışında bir varyant tespit edilemedi. Çalışılan bu polimorfik nokta *HIF1A* geninin protein kodlayan ekson 12 dizisi üzerindedir. Daha önceden yapılan derleme çalışmasında *HIF1A*'nın bu polimorfik alanının etkisi çeşitli kanser türlerinde araştırıldığı, alınan sonuçların birbirinden farklı olduğu gösterilmiştir (109). Çalışmamızda incelediğimiz *HIF1A* geni 12. eksonu üzerinde bulunan c.1744C>T polimorfik alanda sitozinin (C) timine (T) dönüşümü sonucu proteinin 582. pozisyonunda bulunan prolinin serine, c.1762G>A polimorfik alanında guaninin (G) adenine (A) dönüşümü sonucu proteinin 588. pozisyonunda bulunan alaninin teorinine dönüşümü sonucunda *HIF1A* transkripsiyon faktörü fonksiyonunda değişim yapabileceği düşünülebilir. Bu değişiklik HIF1-alfa proteininde fonksiyon değişikliğine ve ayrıca transkripsiyon faktörü olarak düzenleme yaptığı diğer genlerin işleyişini değiştirebilir. Çalışmaya göre genin bu polimorfik alanlarının obezite üzerinde bir risk oluşturmadığını düşünmekteyiz. Dünya çapında yapılan birçok çalışmada, bu iki polimorfik alanın bazı kanser türleri için risk oluşturduğu, ancak bazı kanser türlerinde de risk oluşturmadığı ifade edilmiştir. Obezite ve metabolik hastalıkların ilerlemesinde de yer alabilecek metabolik düzenlemede HIF yolunun rolüne işaret edilmiştir (105). Ancak daha önce *HIF1A* gen polimorfizlerinin obeziteye olan ilişkisi çalışılmamıştır.

Çalışmamızda, obezite hasta ve kontrol grubunun bireyleri yaş, cinsiyet, beden kitle indeksi, bel çevresi, hemoglobin, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, sigara içimi, ilaç kullanımı ve ek hastalıklar taşıma gibi klinik ve demografik parametreler açısından değerlendirildi. Hasta ve kontrol grubu bireylerinin ortalama yaş değerleri arasında değerlendirme yapıldığında, hasta grubu yaş ortalamasının kontrol grubuna göre yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.05$). Bunun sebebinin, obezite hastalığının çoğunlukla ileri yaşlarda olması ve bu yaş aralığında obez olmayan sağlıklı kontrol grubu bireylerinin bulunmasının zor olduğunu düşünmekteyiz. Obezite

çok büyük sağlık harcamalarına neden olmaktadır. Son zamanlarda yayınlanan bir dizi çalışma sonucu, obezite ile yaşayan insan sayısında yaşlanan nüfus nedeniyle ciddi bir artış olduğunu göstermektedir (8, 9, 100, 101). Ayrıca verilen BKİ değeri için vücut yağ yüzdesinde cinsiyet, etnik köken ve yaşa atfedilebilecek büyük bireysel farklılıklar vardır (55). Aynı şekilde çalışmamızda hasta ve kontrol grubu bireylerinde cinsiyet dağılımının istatistiksel olarak anlamsız olduğunu görmekteyiz ($p>0.05$). Beden kitle indeksi, bel çevresi ve hemogloblin ve değerlerinin sağlıklı kontrol grubu bireyelerine nazaran obez bireylerde yüksek olduğu ve istatistiki olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Ancak diastolik kan basıncı değeri sağlıklı kontrol grubu bireyelerinde obez grubu bireyelerine göre daha yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Çalışmamıza alınan hasta ve sağlıklı bireylerin sigara ve ilaç kullanımı ile ek hastalık taşıma yönünden değerlendirildiğinde, ilaç kullanımı ve ek hastalık taşımada obez grubunda daha yüksek, sigara kullanımının sağlıklı bireylerde daha yüksek olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu grlmştir.

Çalışmamızda; *HIF1A* geni c.1744C>T polimorfik alanı bakımından CC (homozigot normal) ve CT (heterozigot polimorf) genotipli bireylerde klinik ve demografik parametre değerlerinin istatistiki olarak bir anlam taşımadığı tespit edilmiştir.

Böylece *HIF1A* gen polimorfizmleri ile sonuçlarımız, çalışılan polimorfik noktaların obezite hastalığının gelişimi üzerinde bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Obezite hastalığı multifaktöriyel bir hastalık olduğundan diğer genlerin polimorfik noktalarından etkilendiği de dşnlebilir. Bir alfa ve bir beta protein alt ünitesinden oluşan HIF transkripsiyon faktör dimeri, obezitede rol alan birçok gen ifadesinin düzenlenmesinde rol almaktadır. Böylece bu genin obezite gelişiminde oynadığı rolün ortaya çıkarılması önem kazanmaktadır. Bizim çalışmanın da dahil olduğu birçok çalışmada incelenen birey sayısının az olması nedeniyle sonuçların net olarak anlaşılmasını zorlaştırdığını düşünmekteyiz. Moleküler mekanizmaları ve klinik sonuçları daha iyi anlamak ve özellikle spesifik gen polimorfizmleri olan hastaların tıbbi ve girişimsel tedaviden fayda sağlayıp sağlayamayacaklarını değerlendirmek için daha fazla bireyi kapsayan daha çok sayıda araştırmaya ihtiyaç bulunduğu birçok çalışmada ifade edilmiştir (87, 88).

Özellikle, güvenilir bir sonuç elde etmek için, daha geniş bir çalışma popülasyonu üzerinde çalışılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamıza göre;

1. *HIF1A*: c.1744C>T ve c.1762G>A polimorfizmler ile obezite arasında herhangi bir ilişki belirlenmedi.
2. *HIF1A*: c. 1744C>T CT ve TT ile c.1762G>A GA ve AA genotip oranları obezite bireylerinde kontrol grubu bireylerimne göre istatistiksel olarak bir fark bulunmadı.
3. *HIF1A*: c.1744C>T polimorfimik alanında T alleli oranı obezite gelişme riskini artırmadığı belirlendi.
4. *HIF1A*: c.1762G>A polimorfik alanı için çalışmamız gruplarında sadece GG genotipi tespit edildi. Bu polimorfik noktanın değişim oranı toplumumuzda çok düşük olabilir, bunu açıklığa kavuşturulabilmesi için çalışmaya alınan birey sayısı artırılmalıdır.
5. *HIF1A* geni polimorfizmlerinin obezite üzerindeki riskini tam olarak ortaya koymak için hasta sayısı artırılarak ve farklı coğrafyalarda yaşayan insanları kapsayacak ileri araştırmaların yapılması önerilebilir.
6. *HIF1A* geninin diğer polimorfizmleri ile obezite arasındaki ilişki araştırılabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Powell-Wiley TM, Poirier P, Burke LE, Despr s JP, Larsen PG, Lavie CJ, et al. Obesity and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* 2021; 143(21): e984-e1010.
2. Schetz M, De Jong A, Deane AM, Drum W, Hemelaar P, Pelosi P, et al. Obesity in the critically ill: a narrative review. *Intensive Care Med* 2019; 45:757-769.
3. Lin X, Li H. Obesity; Epidemiology, Pathophysiology and Therapeutics. *Frontiers in Endocrinology* 2021; 12:1-9.
4. Avni R, Cohen B, Neeman M. Hypoxic stress and cancer: Imaging the axis of evil in tumor metastasis. *NMR Biomed* 2011; 24: 569-581.
5. Bahadori B, Uitz E, Mayer A, Harauer J, Dam K, Truschnig-Wilders M, et al. Polymorphisms of the hypoxia-inducible factor 1 gene in peripheral artery disease. *Vascular Medicine* 2010; 15(5): 371-374.
6. Berra E, Benizri E, Ginouves A, Volmat V, Roux D, Pouyssegur J. HIF prolylhydroxylase 2 is the key oxygen sensor setting low steady-state levels of HIF-1  in normoxia. *EMBO J* 2003; 22: 4082-4090.
7. Capalo lu N . Hipoksiye Kar   H cresel Cevab n D zenleyicisi: HIF-1 Regulator of Cellular Response to Hypoxia. *Smyrna T p Dergisi* 2016; 48-53.
8. Ban JJ, Ruthenborg RJ, Cho KW, Kim JW. Regulation of obesity and insulin resistance by hypoxia-inducible factors. *Dovepress Hypoxia* 2014; 2: 171-183.
9. Jun JC, Devera R, Unnikrishnan D, Shin MK, Bevans-Fonti S, Yao Q, et al. Adipose HIF-1  Causes Obesity by Suppressing Brown Adipose Tissue Thermogenesis. *J Mol Med (Berl)*. 2017; 95(3): 287 297.

- 10.** Halberg N, Khan T, Trujillo ME, Wernstedt-Asterholm I, Attie AD, Sherwani S, et al. Hypoxia-inducible factor- α induces fibrosis and insulin resistance in white adipose tissue. *Mol Cell Biol* 2009; 29(16): 4467–4483.
- 11.** Lee KY, Gesta S, Boucher J, Wang XL, Kahn CR. The differential role of Hif1 β /Arnt and the hypoxic response in adipose function, fibrosis, and inflammation. *Cell Metab* 2011; 14(4): 491–503.
- 12.** Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Obezite Tanı ve Tedavi Kılavuzu, Nisan 2019, Ankara.
- 13.** De Lorenzo A, Gratteri S, Gualtieri P, Cammarano A, Bertucci P, Di Renzo L. Why primary obesity is a disease? *J Transl Med* 2019; 17: 169-182.
- 14.** The GBD 2015 Obesity Collaborators. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N Engl J Med* 2017; 377(1):13-27.
- 15.** World Health Organization. Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013–2020. Geneva, Switzerland: WHO; 2013.
- 16.** MuñozYáñez C, GarcíaVargas GG, Pérez-Morales R. Monogenic, polygenic and multifactorial obesity in children: Genetic and environmental factors. *Austin J Nutr Metab* 2017; 4:1052.
- 17.** Wildman RP, Muntner P, Reynolds K, McGinn AP, Rajpathak S, Wylie-Rosett J, et al. The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering: Prevalence and correlates of 2 phenotypes among the US population (NHANES 1999-2004). *Arch Intern Med* 2008; 168:1617-24.
- 18.** Du T, Yu X, Zhang J, Sun X. Lipid accumulation product and visceral adiposity index are effective markers for identifying the metabolically obese normal-weight phenotype. *Acta Diabetol* 2015; 52:855-63.

19. Ferrer R, Pardina E, Rossell J, Oller L, Viñas A, Baena-Fustegueras JA, et al. Morbidly ‘healthy’ obese are not metabolically healthy but less metabolically imbalanced than those with type 2 diabetes or dyslipidemia. *Obes Surg* 2015; 25:1380-91.
20. Kjaer IG, Kolle E, Hansen BH, Anderssen SA, Torstveit MK. Obesity prevalence in Norwegian adults assessed by body mass index, waist circumference and fat mass percentage. *Clin Obes* 2015; 5: 211-8.
21. Conus F, Rabasa-Lhoret R, Péronnet F. Characteristics of metabolically obese normal-weight (MONW) subjects. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007; 32:4-12.
22. Lee DC, Shook RP, Drenowatz C, Blair SN. Physical activity and sarcopenic obesity: Definition, assessment, prevalence and mechanism. *Future Sci OA* 2016; 2: FSO127.
23. Sakuma K, Yamaguchi A. Sarcopenic obesity and endocrinal adaptation with age. *Int J Endocrinol* 2013; 204164.
24. Tyrovolas S, Koyanagi A, Olaya B, Ayuso-Mateos JL, Miret M, Chatterji S, et al. Factors associated with skeletal muscle mass, sarcopenia, and sarcopenic obesity in older adults: A multi-continent study. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2016; 7: 312-21.
25. Moores D, Biggers A. Obesity. 2020.
URL: <https://www.healthline.com/health/obesity#risk-factors>.
26. Kasuga M. Genetic Factor for Diabetes and Obesity. *Nihon Rinsho* 2010; 68(Suppl 8):359–63.
27. Thaker VV. Genetic And Epigenetic Causes Of Obesity. *Adolesc Med State Art Rev* 2017; 28(2):379–405.

- 28.** Huvenne H, Dubern B, Clément K, Poitou C. Rare Genetic Forms of Obesity: Clinical Approach and Current Treatments in 2016. *Obes Facts* 2016; 9 (3):158–73.
- 29.** Czajkowski P, Adamska-Patrano E, Bauer W, Fiedorczuk J, Krasowska U, Moroz M, et al. The Impact of FTO Genetic Variants on Obesity and Its Metabolic Consequences Is Dependent on Daily Macronutrient Intake. *Nutrients* 2020; 12(11):3255.
- 30.** Koochakpour G, Esfandiar Z, Hosseini-Esfahani F, Mirmiran P, Daneshpour MS, Sedaghati-Khayat B, et al. Evaluating the Interaction of Common FTO Genetic Variants, Added Sugar, and Trans-Fatty Acid Intakes in Altering Obesity Phenotypes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2019; 29(5):474–80.
- 31.** Yoo S. Dynamic Energy Balance and Obesity Prevention. *J Obes Metab Syndr* 2018; 27(4):203–12.
- 32.** Obri A, Claret M. The Role of Epigenetics in Hypothalamic Energy Balance Control: Implications for Obesity. *Cell Stress* 2019; 3(7):208–20.
- 33.** Sadeghirad B, Duhaney T, Motaghipisheh S, Campbell NR, Johnston BC. Influence of Unhealthy Food and Beverage Marketing on Children's Dietary Intake and Preference: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Trials. *Obes Rev* 2016; 17(10):945–59.
- 34.** Corica D, Aversa T, Valenzise M, Messina MF, Alibrandi A, De Luca F, et al. Does Family History of Obesity, Cardiovascular, and Metabolic Diseases Influence Onset and Severity of Childhood Obesity. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018; 9:187.
- 35.** Dhana K, Haines J, Liu G, Zhang C, Wang X, Field AE, et al. Association Between Maternal Adherence to Healthy Lifestyle Practices and Risk of Obesity in Offspring: Results From Two Prospective Cohort Studies of Mother-Child Pairs in the United States. *BMJ* 2018; 362:k2486.

- 36.** Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The Gut Microbiota as an Environmental Factor That Regulates Fat Storage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(44):15718–23.
- 37.** Honce R, Karlsson EA, Wohlgemuth N, Estrada LD, Meliopoulos VA, Yao J, et al. Obesity-Related Microenvironment Promotes Emergence of Virulent Influenza Virus Strains. *mBio* 2020; 11(2):e03341–19.
- 38.** Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PloS Biol* 2016; 14(8):e1002533.
- 39.** Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Nageshwar Reddy D. Role of the Normal Gut Microbiota. *World J Gastroenterol* 2015; 21(29):8787–803.
- 40.** DeGruttola AK, Low D, Mizoguchi A, Mizoguchi E. Current Understanding of Dysbiosis in Disease in Human and Animal Models. *Inflammation Bowel Dis* 2016; 22(5):1137–50.
- 41.** Gao R, Zhu C, Li H, Yin M, Pan C, Huang L, et al. Dysbiosis Signatures of Gut Microbiota Along the Sequence From Healthy, Young Patients to Those With Overweight and Obesity. *Obes (Silver Spring)* 2018; 26(2):351–61.
- 42.** Chassaing B, Raja SM, Lewis JD, Srinivasan S, Gewirtz AT. Colonic Microbiota Encroachment Correlates With Dysglycemia in Humans. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2017; 4(2):205–21.
- 43.** Jaenisch R, Bird A. Epigenetic Regulation of Gene Expression: How the Genome Integrates Intrinsic and Environmental Signals. *Nat Genet* 2003; 33(Suppl):245–54.
- 44.** Lopomo A, Burgio E, Migliore L. Epigenetics of Obesity. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2016; 140:151–84.

45. Holmes D. Epigenetics: On-Off Switch for Obesity. *Nat Rev Endocrinol* 2016; 12(3):125.
46. Burgio E, Lopomo A, Migliore L. Obesity and Diabetes: From Genetics to Epigenetics. *Mol Biol Rep* 2015; 42(4):799–818.
47. Sherwood WB, Bion V, Lockett GA, Ziyab AH, Soto-Ramirez N, Mukherjee N, et al. Duration of Breastfeeding Is Associated With Leptin (LEP) DNA Methylation Profiles and BKÍ in 10-Year-Old Children. *Clin Epigenet* 2019; 11(1):128.
48. Soubry A, Schildkraut JM, Murtha A, Wang F, Huang Z, Bernal A, et al. Paternal Obesity is Associated With IGF2 Hypomethylation in Newborns: Results From a Newborn Epigenetics Study (NEST) Cohort. *BMC Med* 2013; 11:29.
49. Rosen ED, Kaestner KH, Natarajan R, Patti ME, Sallari R, Sander M, et al. Epigenetics and Epigenomics: Implications for Diabetes and Obesity. *Diabetes* 2018; 67(10):1923–31.
50. Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of Chromatin by Histone Modifications. *Cell Res* 2011; 21(3):381–95.
51. Funato H, Oda S, Yokofujita J, Igarashi H, Kuroda M. Fasting and High-Fat Diet Alter Histone Deacetylase Expression in the Medial Hypothalamus. *PloS One* 2011; 6(4):e18950.
52. Pasquinelli AE. MicroRNAs and Their Targets: Recognition, Regulation and an Emerging Reciprocal Relationship. *Nat Rev Genet* 2012; 13(4):271–82.
53. Hubal MJ, Nadler EP, Ferrante SC, Barberio MD, Suh JH, Wang J, et al. Circulating Adipocyte-Derived Exosomal MicroRNAs Associated With Decreased Insulin Resistance After Gastric Bypass. *Obes (Silver Spring)* 2017; 25(1):102–10.

- 54.** Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, et al. Obesity and Cardiovascular Disease: Pathophysiology, Evaluation, and Effect of Weight Loss. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(5):968–76.
- 55.** Kok P, Seidell JC, Meinders AE. The Value and Limitations of the Body Mass Index (BMI) in the Assessment of the Health Risks of Overweight and Obesity. *Ned Tijdschr Geneesk* 2004; 148(48):2379–82.
- 56.** Ataey A, Jafarvand E, Adham D, Moradi-Asl E. The Relationship Between Obesity, Overweight, and the Human Development Index in World Health Organization Eastern Mediterranean Region Countries. *J Prev Med Public Health* 2020; 53(2):98–105.
- 57.** The World Health Organization MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. WHO MONICA Project Principal Investigators, *Journal of Clinical Epidemiology* 1988; 41(2): 105- 140.
- 58.** Devaux M, Sassi F. Social inequalities in obesity and overweight in 11 OECD countries. *European Journal of Public Health* 2013; 23(3):464–469.
- 59.** Satman I, Yilmaz, T. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP). *Diabetes Care* 2002; 25: 1551- 1556.
- 60.** Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalava S, Gedik S, Dinccag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *European Journal of Epidemiology* 2013; 28,169-180.
- 61.** Ertem M. Obezite Epidemiyolojisi ve Korunma. *Klinik Tıp Bilimleri Dergisi* 2017; 5:5:

- 62.** Tepebaşı MY, Capaloğlu NŞ. Hipoksi ile indüklenen faktör-1 alfa (HIF-1 α) C111A gen polimorfizmi ile hemoglobin konsantrasyonu arasındaki ilişkinin araştırılması. Med J SDU / SDÜ Tıp Fak Derg 2016; 23(2):53-59.
- 63.** Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92:5510–4.
- 64.** Tian H, McKnight SL, Russell DW. Endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cells. Genes Dev 1997; 11:72–82.
- 65.** Sowter HM, Raval R, Moore J, Ratcliffe PJ, Harris AL. Predominant role of hypoxia-inducible transcription factor (HIF-1 α versus HIF-2 α) in regulation of the transcriptional response to hypoxia. Cancer Res 2003; 63, 6130–6134.
- 66.** Iliopoulos O, Levy AP, Jiang C, Kaelin WG, Goldberg MA. Negative regulation of hypoxia-inducible genes by the von Hippel-Lindau protein. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93(20): 10595-9.
- 67.** Semenza GL. Hydroxylation of HIF-1: Oxygen Sensing Control of Oxygen-Regulated Gene. Physiology 2004; 176–182.
- 68.** Gu YZ, Moran SM, Hogenesch JB, Wartman L, Bradfield CA. Molecular Characterization and Chromosomal Localization of a Third α -Class Hypoxia Inducible Factor Subunit, HIF3 α . Gene Expr 1998; 7(3): 205-213.
- 69.** Illingworth CJR, Loenarz C, Schofield CJ, Domene C. Chemical basis for the selectivity of the von Hippel Lindau tumor suppressor pVHL for prolyl-hydroxylated HIF-1 α . Biochemistry 2010; 49: 6936-6944.
- 70.** Befani, C, Liakos P. The role of hypoxia-inducible factor-2 alpha in angiogenesis. J Cell Physiol 2018; 233:9087–9098.

71. Onnis B, Rapisarda A, Melillo G. Development of HIF-1 inhibitors for cancer therapy. *J Cell Mol Med* 2009; 13:2780-2786.
72. Zhang Z, Yao L, Yang J, Wang Z, Du G. PI3K/Akt and HIF-1 signaling pathway in hypoxia-ischemia (Review). *Molecular Medicine Reports* 2018; 18: 3547-3554.
73. Ke Q, Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacol* 2006; 70:1469-1480.
74. Li H, Ko HP, Whitlock JP. Induction of phosphoglycerate kinase 1 gene expression by hypoxia. Roles of ARNT and HIF1 α . *J Biol Chem* 1996; 271:21262-7.
75. Jiang BH, Rue E, Wang GL, Roe R, Semenza GL. Dimerization, DNA binding, and transactivation properties of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 1996; 271:17771-8.
76. Arany Z, Huang LE, Eckner R, Bhattacharya S, Jiang C, Goldberg MA, et al. An essential role for p300/CBP in the cellular response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:12969-73.
77. Jiang BH, Zheng JZ, Leung SW, Roe R, Semenza GL. Transactivation and inhibitory domains of hypoxia-inducible factor-1 α . Modulation of transcriptional activity by oxygen tension. *J Biol Chem* 1997; 272:7987-92.
78. Ruas JL, Poellinger L, Pereira T. Functional analysis of hypoxia-inducible factor-1 α mediated transactivation Identification of amino acid residues critical for transcriptional activation and/or interaction with CREB-binding protein. *J Biol Chem* 2002; 277:38723-30.
79. Nagy MA. HIF-1 is the commander of gateways to cancer. *J Cancer Sci Ther* 2011; 3(2):35-40.

80. Kallio PJ, Pongratz I, Gradin K, Mcguire J, Poellinger L. Activation of hypoxia-inducible factor-1 α : posttranscriptional regulation and conformational change by recruitment of the Arnt transcription factor. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94:5667-72.

81. NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3091>

82. Demirel SH, Çetinkaya S. Hipoksiyle İndüklenen Faktör-1: Hücrenin Hipoksiye Fizyolojik ve Patolojik Cevabı. Sakaryamj 2014; 4(4):171-177.

83. Ivan M, Kondo K, Yang H, Kim W, Valiando J, Ohh M, et al. HIF α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O₂ sensing. Science 2001; 292: 464-468.

84. Jaakkola P, Mole DR, Tian YM, Wilson MI, Gielbert J, Gaskell SJ, et al. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. Science 2001; 292: 468- 472.

85. Jain S, Maltepe E, Lu MM, Simon C, Bradfield CA. Expression of ARNT, ARNT2, HIF1 α , HIF2 α and Ah receptor mRNAs in the developing mouse. Mech Dev 1998; 73: 117-123.

86. Minet E, Michel G, Mottet D, Raes M, Michiels C. Transduction pathways involved in Hypoxia-Inducible Factor-1 phosphorylation and activation. Free Radic Biol Med 2001; 31: 847-855.

87. Ohh M, Park CW, Ivan M, Hoffman MA, Kim T, Huang LE, et al. Ubiquitination of hypoxia-inducible factor requires direct binding to the β -domain of the von Hippel-Lindau protein. Nat Cell Biol 2000; 2: 423-427.

- 88.** Park S, Dadak AM, Haase V, Fontana L, Giaccia AJ, Johnson R. Hypoxia induced gene expression occurs solely through the action of hypoxia inducible factor 1 α (HIF-1 α): role of cytoplasmic trapping of HIF-2 α . *Mol Cell Biol* 2003; 23: 4959-4971.
- 89.** Prior SJ, Hagberg JM, Phares DA, Brown MD, Fairfull L, Ferrell RE, et al. Sequence variation in hypoxia-inducible factor 1 α (HIF1A): Association with maximal oxygen consumption. *Physiol Genomics* 2003; 15(1): 20-6.
- 90.** Putra A, Tanimoto K, Arifin M, Hiyama K. Hypoxia inducible factor-1 α polymorphisms are associated with genetic aberrations in lung cancer. *Respirology* 2011; 16: 796-802.
- 91.** Virtue S, Vidal-Puig A. Nothing Iffy about HIF in the Hypothalamus. *PLoS Biol* 2011; 9:e1001116.
- 92.** Greer SN, Metcalf JL, Wang Y, Ohh M. The updated biology of hypoxia-inducible factor. *EMBO J* 2012; 31, 2448–2460.
- 93.** Hosogai N, Fukuhara A, Oshima K, Miyata Y, Tanala S, Segawa K, et al. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. *Diabetes* 2007;56(4):901–911.
- 94.** Ye J, Gao Z, Yin J, He Q. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 293(4):E1118–E1128.
- 95.** Marques BG, Hausman DB, Martin RJ. Association of fat cell size and paracrine growth factors in development of hyperplastic obesity. *Am J Physiol* 1998; 275(6 Pt 2):R1898-R1908.
- 96.** Spiegelman BM, Flier JS. Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. *Cell* 1996;87(3):377-389.

- 97.** Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol* 2011; 29:415–445.
- 98.** Olefsky JM, Glass CK. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu Rev Physiol* 2010; 72:219–246.
- 99.** Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996; 271(5249):665–668.
- 100.** Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. *Nature* 1997; 389(6651):610–614.
- 101.** Regazzetti C, Peraldi P, Gremeaux T, Najem-Lendom R, Ben-Sahre I, Cormant M, et al. Hypoxia decreases insulin signaling pathways in adipocytes. *Diabetes* 2009; 58(1):95–103.
- 102.** Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 1215.
- 103.** Naidu R, Har YC, Taib NA. Associations between hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) gene polymorphisms and risk of developing breast cancer. *Neoplasma* 2009; 56(5):441-447.
- 104.** Gladek I, Ferdin J, Horvat S, Calin GA, Kunej T. HIF1A gene polymorphisms and human diseases: Graphical review of 97 association studies. *Genes Chromosomes Cancer* 2017; 56:439–452.
- 105.** Joana M. Gaspar-Lício A. Hypoxia Inducible Factor as a Central Regulator of Metabolism-Implications for the Development of Obesity. *Frontiers neuroscience*, 2018; 12:813.