

**TÜRK OBEZ HASTALARINDA DRD4, DAT1, MAOA
VE 5-HTT GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF POLYMORPHISMS OF DRD4,
DAT1, MAOA AND 5-HTT GENES IN TURKISH
PATIENTS WITH OBESITY**

MUSTAFA UZUN

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ


olarak hazırlanmıştır.

2011

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI** 'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.


Başkan


Prof. Dr. Erol Aksöz

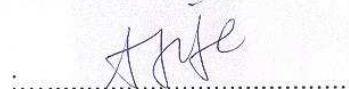
Üye (Danışman)


Doç. Dr. Hatice Mergen


Üye


Prof. Dr. Sibel Sümer

Üye


Doç. Dr. Afife İzbirak

Üye


Yrd. Doç. Dr. Mert Sözen

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../..... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunca/...../..... tarihinde kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Adil Denizli
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TÜRK OBEZ HASTALARINDA DRD4, DAT1, MAOA VE 5-HTT GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa Uzun

ÖZ

Obezite günümüzde dünya genelinde oldukça sık gözlenen ve başta çevresel, metabolik, psikolojik, genetik, sosyolojik faktörler olmak üzere farklı sebepler ile oluşabilen bir hastalıktır. Günümüzde obezitenin genetik temelleri üzerine pek çok çalışma yapılmış ve çok sayıda genin bu hastalığın oluşumunda etkisi gösterilmiştir.

Bu tez çalışmasının amacı, *DRD4*, *5-HTT*, *DAT1* ve *MAOA* genlerinde bulunan VNTR polimorfizmlerinin obezite ile ilişkisinin araştırılmasıdır. Bu amaçla *DRD4* genin 3.ekzonu, *5-HTT* geninin 2.intronu, *DAT 1* geninin 3'UTR bölgesi ve *MAOA* geninin ise promotor bölgesinde bulunan VNTR polimorfizmlerinin saptanması için, 234 obez birey ve 148 kişilik kontrol grubu bireyinden alınan periferik kan örneğinden polimeraz zincir reaksiyonu analizi yapılmıştır.

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucunda her bir gen için, farklı tekrarlardan oluşan alel tipleri belirlenmiştir. Hasta ve kontrol gruplarında tipleri frekansları belirlenen bu aleller için ki-kare ve ANOVA istatistiksel analizleri yapılmıştır. Ki-kare analizleri sonucunda tespit edilen alellerin obez bireyler ile kontrol grubu arasındaki dağılımının anlamsız olduğu bulunmuştur. PZR çalışması ile belirlenen genlerdeki farklı VNTR genotipleri ile bireylerin çeşitli fenotipik özellikleri karşılaştırılmıştır. Genotipler ile VKİ ortalamalarının karşılaştırıldığı testte, *DRD4* genindeki VNTR genotiplerinin VKİ üzerine etkisi anlamlı ($p=0.04$), *DAT 1* ve *5-HTT* genlerinde ise anlamsız çıkmıştır. Yüksek frekansta görülen genotipler ile VKİ ortalamalarının karşılaştırılması sonucunda da *DRD4* geninde tespit edilen alellerin VKİ değerlerine etkisi anlamlı iken ($p=0.019$), *DAT 1* ve *5-HTT* genlerinde anlamsız çıkmıştır. ANOVA yöntemine göre yapılan son analizde morbid obez ve obez sınıfındaki bireylerin genotipleri ile VKİ değerleri karşılaştırılmıştır. Bunun sonucunda da *DRD4* geninde genotiplerin VKİ değerlerine istatistiksel olarak anlamlı etkisinin olduğu belirlenmiş, *DAT 1* ve *5-HTT* genleri için ise sonuç

anlamsız bulunmuştur. *MAOA* geninin promotor bölgesinde bulunan VNTR polimorfizmi ile obezite arasındaki ilişki belirlenememiştir.

Tez çalışması sonucunda *DRD4* geninde bulunan VNTR genotiplerinin çeşitli fenotipik koşullarla birlikte anlamlı etkisi olduğu doğrulanırken, *DAT 1* ve *5-HTT* genlerinde bu etki bulunamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Obezite, VKİ, 5-HTT, DAT 1, DRD4, MAOA, VNTR.

Danışman: Doç.Dr. Hatice Mergen, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı.

INVESTIGATION OF POLYMORPHISMS OF DRD4, DAT1, MAOA AND 5-HTT GENES IN TURKISH PATIENTS WITH OBESITY

Mustafa Uzun

ABSTRACT

Obesity is a common disease mainly caused by metabolic, genetic, environmental and sociological factors. Nowadays many studies have been done on the genetic basis of obesity and effects of many genes on the development of the disease have been shown.

The purpose of this study is to investigate the relationship between VNTR polymorphism of 5-*HTT*, *DRD4*, *DAT 1* and *MAOA* genes and obesity.

Peripheral blood samples of 234 obese and 148 healthy individuals were objected to polymerase chain reaction (PCR) to detect the VNTR of the 2nd intron of 5*HTT*, 3rd exon of *DRD4*, 3'UTR of *DAT 1* and promoter region of *MAOA* genes.

In both of the patient and control groups, chi square and ANOVA statistical tests have been done for each allele whose types and frequencies are known. According to the chi square analysis results, distribution of alleles between the obese individuals and the control group was found to be insignificant. Different VNTR genotypes determined by PCR and the phenotypic features of the individuals were compared. In the test to compare the genotypes and BMI averages, unlike *DAT 1* and 5-*HTT*, the effect of *DRD4* VNTR genotypes were found to have significant effects on BMI ($p=0.04$). The genotypes of morbidly obese (BMI >40) and obese individuals and the BMI values were also compared. As a result of this comparison *DRD4* genotypes were found to have significant effects on BMI values ($p=0.003$), on the other hand for *DAT 1* and 5-*HTT* genes there was no significant effect. Relationship between VNTR polymorphism in promoter region of *MAOA* gene and obesity could not be determined.

In this study the relationship between the VNTR genotypes found in DRD4 and obesity was confirmed by ANOVA test where as there was no significant relationship between *DAT 1* and *5-HTT* and obesity.

Keywords: Obesity, BMI, 5-HTT, DAT 1, DRD4, MAOA, VNTR.

Advisor: Assoc. Prof. Hatice Mergen, Hacettepe University, Department of Biology, Molecular Biology Section.

TEŞEKKÜR

Lisans, yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmamın tüm aşamalarında bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, yardım ve anlayışını hiçbir zaman benden esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç.Dr. Hatice Mergen'e,

Çalışmalarım sırasında verdikleri her türlü yardım ve destekleri için sevgili arkadaşlarım Arş. Gör. Sibel Küçükyıldırım'a ve Arş. Gör. Beril Erdem'e,

Bilgi, tecrübe ve yardımları için sevgili hocalarım Dr. Ceren Acar, Arş. Gör.Dr. İ. Çağatay Karaaslan'a,

Her zaman yanımda olup beni yüreklendiren, yardım, destek, hoşgörü ve sevgisini asla esirgemeyen hayat arkadaşım, sevgili eşim Ebru Uzun ve sevgili aileme, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZ	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanı ve Sınıflama	3
2.1.1. Vücut Kitle İndeksi.....	4
2.2. Obezite Epidemiyolojisi	6
2.3. Obezite Etiyolojisi.....	7
2.4. Obezitenin Psikolojik Temelleri.....	9
2.5. Obezite Genetiği.....	11
2.5.1. Tez Kapsamında Çalışılan Genler ve Özellikleri	12
2.5.1.1. 5- <i>HTT</i> (SLC6A4) Geni ve Özellikleri.....	12
2.5.1.2. <i>MAOA</i> Geni ve Özellikleri	14
2.5.1.3. <i>DAT 1</i> Geni ve Özellikleri	15
2.5.1.4. <i>DRD4</i> Geni ve Özellikleri	16

3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Hasta ve Kontrol Örneklerinin Toplanması	19
3.2. Periferik Kandan Genomik DNA İzolasyonu	19
3.3. 5- <i>HTT</i> , <i>DAT 1</i> , <i>DRD4</i> ve <i>MAOA</i> Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İle Çoğaltılması	21
3.3.1. 5- <i>HTT</i> Geninin PZR Tekniği İle Çoğaltılması	21
3.3.2. <i>DAT 1</i> Geninin PZR Tekniği İle Çoğaltılması	23
3.3.3. <i>DRD4</i> Geninin PZR Tekniği İle Çoğaltılması	25
3.3.4. <i>MAOA</i> Geninin PZR Tekniği İle Çoğaltılması	26
3.3.5. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi İle Kontrolü	27
4. SONUÇLAR	29
4.1. DNA Örneklerinde 5- <i>HTT</i> Geninin PZR Yöntemi İle Çoğaltılması	29
4.2. DNA Örneklerinde <i>DAT1</i> Geninin PZR Yöntemi İle Çoğaltılması	30
4.3. DNA Örneklerinde <i>DRD4</i> Geninin PZR Yöntemi İle Çoğaltılması	31
4.4. İstatistiksel Analizler	33
5. TARTIŞMA	39
6. KAYNAKLAR.....	46
ÖZGEÇMİŞ	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1.	<i>5-HTT</i> geninin, 17. insan kromozomu üzerindeki yerleşimi 12
Şekil 2.2.	<i>MAOA</i> geninin, insan X kromozomu üzerindeki yerleşimi..... 14
Şekil 2.3.	<i>DAT 1</i> geninin, insan 5.kromozomdaki yerleşimi 16
Şekil 2.4.	<i>DAT 1</i> geninin yapısı 16
Şekil 2.5.	<i>DRD4</i> geninin, 11. insan kromozomu üzerinde lokalizasyonu 17
Şekil 2.6.	<i>DRD4</i> geninin 3. ekzonundaki VNTR bölgesi 17
Şekil 3.1.	<i>5-HTT</i> geni PZR u için kullanılan primerlerin DNA dizisi üzerindeki gösterimi.....22
Şekil 3.2.	<i>DAT 1</i> geni PZR' u için kullanılan primerlerin DNA dizisi üzerindeki gösterimi.....23
Şekil 3.3.	<i>DRD4</i> geni PZR'u için kullanılan primerlerin DNA dizisi üzerindeki gösterimi.....25
Şekil 3.4.	<i>MAOA</i> geni PZR'u için kullanılan primerlerin DNA dizisi üzerindeki gösterimi.....26
Şekil 4.1.	Hasta grubuna ait <i>5-HTT</i> geni amplifikasyon sonuçları29
Şekil 4.2.	Hasta grubuna ait <i>DAT 1</i> geni amplifikasyon sonuçları31
Şekil 4.3.	Hasta grubuna ait <i>DRD4</i> geni amplifikasyon sonuçları.....32
Şekil 4.4.	<i>5-HTT</i> genotipleri için durum 1 analizi tablosu35
Şekil 4.5.	<i>DAT 1</i> genotipleri için durum 1 analizi tablosu.....35
Şekil 4.6.	<i>DRD4</i> genotipleri için durum 1 analizi tablosu36
Şekil 4.7.	<i>5-HTT</i> genotipleri için durum 2 analizi tablosu.....36
Şekil 4.8.	<i>DAT 1</i> genotipleri için durum 2 analizi tablosu.....37
Şekil 4.9.	<i>DRD4</i> genotipleri için durum 2 analizi tablosu37

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. VKİ'nin limit değerlere göre sınıflandırılması (WHO 2004 Verilerinden Uyarlanmıştır).....	5
Çizelge 4.1. Obez hastalar ve kontrol gruplarında 5- <i>HTT</i> geninin 2. intron bölgesinde bulunan tekrar dizisi sayılarına göre belirlenen alel tipleri, bu alellerin sayıları ve yüzdeleri.....	30
Çizelge 4.2. Obez hastalar ve kontrol gruplarında <i>DAT 1</i> geninin 3'UTR'da bulunan tekrar dizisi sayılarına göre belirlenen alel tipleri, bu alellerin sayıları ve yüzdeleri.....	31
Çizelge 4.3. Obez hastalar ve kontrol gruplarında <i>DRD4</i> geninin 3. ekzon bölgesinde bulunan tekrar dizisi sayılarına göre belirlenen alel tipleri, bu alellerin sayıları ve yüzdeleri.....	32
Çizelge 4.4. Tez kapsamında çalışılan hasta ve kontrol bireylerine ait <i>5-HTT</i> , <i>DAT 1</i> , <i>DRD4</i> gen polimorfizmlerinin genotipleri ve bu genotiplerin görülme sıklıkları.....	33
Çizelge 4.5. Hasta ve kontrol gruplarında bulunan alellerin dağılımının ki-kare testi ile karşılaştırılması ve <i>p</i> değerleri.....	34
Çizelge 4.6. Belirlenen 2 durum için yapılan ANOVA testinde, genler için bulunan <i>p</i> değerleri	38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<i>DRD4</i>	Dopamin Reseptör D4
<i>DAT 1</i>	Dopamin Transporter 1
<i>MAOA</i>	Monoamin Oksidaz A
<i>5-HTT</i>	5 Hydroxytryptamine Transporter
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
VKİ	Vücut kitle indeksi
VNTR	Variable number tandem repeat
NHANES III	ABD-Ulusal Beslenme ve Sağlık Araştırması
NPY	Nöropeptit Y
MCH	Melanin konsantre edici hormon
AGRP	Agouti-related protein
POMC	Propiomelanokortin
BMH	Bazal metabolik hız
SLC6A4	Solute Carrier Family 6 Member 4
5-HT	5-Hydroxytryptamine
bç	Baz çifti
5-HTTLPR	5- <i>HTT</i> gene-linked polymorphic region
GC	Guanin, sitozin
L-DOPA	L-Dihidroksifenilalanin
EDTA	Etilendiamin tetra-asetik asit
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamin tetra-asetik asit
TE	Tris-EDTA
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
µg	Mikrogram
mg	Miligram
mM	Milimolar
rpm	Dakikadaki dönüş
SDS	Sodyum dodesil sülfat

NaCl	Sodyum klorür
kDa	Kilodalton
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
MgCl ₂	Magnezyum klorür
Pmol	Pikomol
KCl	Potasyum klorür
HCl	Hidroklorik asit
BSA	Sığır serum albumini
UTR	Untranslated region
TBE	Tris-Borik asit-EDTA
EtBr	Etidyum Bromür
V	Volt
nm	Nanometre
UV	Ultraviyole ışını
cm	Santimetre
MVKİ	Maksimal vücut kitle indeksi
ANOVA	Analysis of variance
SLC6A3	Solute carrier family 6 member 3
IASO	Uluslar arası Obezite Çalışma Birliği
TURDEP	Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması

1.GİRİŞ

Obezite vücutta aşırı yağ birikmesi olarak tanımlanan, çok eski zamanlardan beri görülen, günümüzde ise oldukça sık rastlanan bir enerji metabolizması hastalığıdır (Flegal et al., 2002). Özellikle gelişmiş ülkelerde son dönemde obezite görülme sıklığında dramatik bir artış gözlemlenmektedir (Flegal et al., 2002; Ogden et al., 2002). Gelişmekte olan ülkelerde ise kırsal kesimden kentlere doğru gerçekleşen göç nedeniyle obezite oluşumunda büyük bir hızlanma gözlemlenmektedir (Popkin, 1994). Obezitede meydana gelen bu artış dünyada, bulaşıcı ve yetersiz beslenmeden kaynaklanan hastalıklara ayrılan bütçe ve harcamaların, batı toplumlarında artış göstermekte olan kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diyabet gibi kronik sağlık problemleri giderlerine kaymasına neden olmaktadır (Kim et al., 2000).

Vücut ağırlığı, alınan besinlerin kalori değeri ve harcanan enerji arasındaki dengeyle sağlanır. Eğer alınan besinlerden kazanılan enerji ile fiziksel ve metabolik faaliyetlerde kullanılan enerji miktarı eşitse, vücut ağırlığında herhangi bir değişim olmaz. Enerji alım ve kullanım dengesi besin alımı yönünde olursa kilo artışı, enerji harcama yönünde olursa kilo kaybetme meydana gelmektedir (Himas-Hagen,1997; West, 1991; Guyton and Hall, 1997). Obezite; genetik, çevresel, sosyoekonomik, kültürel ve psikolojik etmenlerin rol oynadığı karmaşık bir hastalıktır. Bu hastalık çok farklı doku, organ ve sistem üzerinde etkilidir. Obeziteye neden olduğu düşünülen 200'den fazla aday gen bulunmaktadır. Diğer bir deyişle obezite, çok karmaşık yapıya sahip poligenik bir hastalıktır. Obeziteye neden olan genetik faktörlerin belirlenmesi, bu hastalığın önlenmesi ve tedavisi için yeni yaklaşımların oluşturulabilmesi açısından çok önemlidir. Buna bağlı olarak obezite ile bağlantılı olabilecek genler sınıflandırılmaya çalışılmaktadır (Clement et al., 2002).

Obezite, aynı zamanda psikolojik temelleri olan bir hastalıktır. Şizofreni, parkinson, alzheimer gibi hastalıkların oluşumunda etkin rol oynadığı bilinen bazı genlerin obezite oluşumunda da görev alabileceği yapılan son çalışmalarda rapor edilmektedir (Rankinen et al., 2005).

Günümüzde özellikle dopamin metabolizması ve transportunu düzenleyen genlerle yapılan araştırmalarda, bu genlerdeki moleküler patolojilerin bireylerde kilo alımını etkileyerek obezite oluşumuna neden olabildiği gösterilmiştir. Bu bulgular kapsamında tez çalışmasında dopaminerjik sistem içinde görevli olan Dopamin Reseptör D4 (*DRD4*) geninin üçüncü ekzonunda, Dopamin Transporter 1 (*DAT 1*) geninin ise 3'UTR bölgesi içindeki VNTR polimorfizmlerinin araştırılması ile obez bireyler üzerinde yapılan çalışmalarda norepinefrin ve serotonin metabolizması üzerinde fonksiyonu olan Monoamin Oksidaz A (*MAOA*) geni promotor bölgesinde yer alan VNTR bölgesinde, 5 Hydroxytryptamine Transporter (*5-HTT*) geninin ikinci intronundaki VNTR bölgesinde gözlenen polimorfizmlerin obezite ile ilişkisinin gösterilmesi hedeflenmiştir. Tez çalışması 234 Türk obez hastası ve 148 obez olmayan sağlıklı kontrol bireylerinde *5-HTT*, *DAT 1*, *DRD4* ve *MAOA* genlerinde VNTR polimorfizmleri polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanılarak araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Obezite, başta gelişmiş ülkeler olmak üzere tüm dünyada görülme sıklığı giderek artan bir sağlık sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation; WHO) tarafından obezite, vücutta insan sağlığını olumsuz etkileyecek düzeyde yağ miktarının artışı olarak tanımlanmıştır (WHO Obesity 2000).

Besin maddelerinden alınan ihtiyaç fazlası her 9.3 kalorilik besin, vücutta 1 gr yağ oluşturmaktadır (Ganong, 1995). Vücut ağırlığının beklenen normal ağırlıktan, erkeklerde %20, kadınlarda %25 daha fazla olması obezite olarak kabul edilmektedir (Ganong, 1995; Telatar and Şimşek,1993). Obezite, dünya genelinde bir sağlık problemi olarak güncelliğini korumaktadır. WHO' ya göre dünya üzerinde yaklaşık 1 milyar kişinin aşırı kilolu, 475 milyon kişinin de obez olduğu öngörülmektedir (IASO, 2010). Aşırı kilo sorunu, ekonomik gelir düzeyi yüksek ülkelerde yaygın olmasına rağmen, gelişmekte ve az gelişmiş ülkelerde de beklenmedik bir hızla artış göstermektedir. Asya ülkelerinde 1990 sonrası obezite görülme sıklığı 3 kat artmıştır. Fazla kalori alımına karşın az enerji harcanmasının sık görüldüğü batılı yaşam tarzının yaygınlaşması ve köyden kente göç, gelişmekte olan ülkelerdeki obezite artışının nedeni olarak kabul edilmektedir (Yavuz, 2009).

2.1.Tanı ve Sınıflama

Obezite, vücutta sağlığı bozacak kadar fazla yağ birikimi olarak tanımlanır. Vücutta yağ birikiminin sağlık ile ilişkisini belirleyen 3 faktör vardır:

1-Vücuttaki yağın miktarı,

2-Vücuttaki yağın dağılımı,

3-Yağ fazlalığına eşlik eden diğer risk faktörleri (Yavuz, 2009).

2.1.1. Vücut Kitle İndeksi

1998 yılından bu yana obezite tanımı ve sınıflaması için vücut kitle indeksi (VKİ) formülü kullanılmaktadır [Vücut ağırlığı (kg)/ boy (m²)]. VKİ kaba bir hesaplamadır. Dolayısıyla vücuttaki yağ miktarını doğrudan göstermez; ancak pek çok çalışmada vücuttaki yağ miktarı ile ilişkili bulunmuştur (The Practical Guide, 2000).

Sağlık otoriteleri VKİ değerlerine göre kişileri zayıf, normal kilolu, fazla kilolu, obez ve morbid obez şeklinde gruplara ayırmıştır. Buna göre, 18,5'ten küçük VKİ değerine sahip kişiler zayıf, 18,5 ile 25 arası ise normal, 25 ile 30 arası fazla kilolu, 30 ile 40 arası obez, 40 üstü ise "morbid obez" denilen "aşırı şişman insan" tipleridir. Bununla birlikte WHO'nun yaptığı VKİ sınıflandırmasında, zayıf ve obez grupları alt sınıflara ayrılmıştır. Bu sınıflandırmada VKİ değeri 16'dan küçük olan bireyler şiddetli zayıf, 16 ile 16,99 arasında olanlar orta zayıf, 17 ile 18,49 arasında olanlar ise hafif zayıf sınıfına dahil edilmektedir (Çizelge 2.1).

Obezite sınıflandırmasında ise; VKİ değeri 30 ile 34,99 arası sınıf 1 obez, 35 ile 39,99 arası sınıf 2 obez, 40 ve daha büyük VKİ değerine sahip bireyler ise sınıf 3 yani morbid obez grubunda yer almaktadır (Çizelge 2.1). Hastalıklar ve ölüm riskleri bu oranlara göre ortaya çıkmaktadır. Vücut kitle indeksi arttıkça, hastalık ve ölüm riskleri de artış göstermektedir. Ancak bu oranlar çocuklarda, gebelerde ve sporcularda geçerli değildir.

SINIFLANDIRMA	VKİ(kg/m ²)	
	Asıl Limit Değerler	Ek Limit Değerler
ZAYIF	<18.50	<18.50
Şiddetli Zayıflık	<16.00	<16.00
Orta Zayıflık	16.00 - 16.99	16.00 - 16.99
Hafif Zayıflık	17.00 - 18.49	17.00 - 18.49
NORMAL ARALIK	18.50 - 24.99	18.50 - 22.99
		23.00 - 24.99
FAZLA KİLOLU	≥25.00	≥25.00
Obezite Öncesi	25.00 - 29.99	25.00 - 27.49
		27.50 - 29.99
OBEZ	≥30.00	≥30.00
Obez Sınıf I	30.00 - 34.99	30.00 - 32.49
		32.50 - 34.99
Obez Sınıf II	35.00 - 39.99	35.00 - 37.49
		37.50 - 39.99
Obez Sınıf III (Morbid Obez)	≥40.00	≥40.00

Çizelge 2.1. VKİ' nin limit değerlere göre sınıflandırılması (WHO 2004 Verilerinden Uyarlanmıştır).

Vücut yağı dağılımı da mortalite ve morbidite için bağımsız bir risk faktörüdür. Abdominal viseral yağ dokusu, insulin direnci ile yakın ilişkilidir. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda bel/kalça oranı ve bel çevresi ölçümlerinin abdominal yağ miktarı ile ilişkisi gösterilmiştir. Bel/kalça oranının erkeklerde 1.0' den, kadınlarda ise 0.85' ten büyük olması abdominal obezite olarak değerlendirilir. Bel çevresi ölçümü, kostaların alt sınırı ile pelvis kemiğinin üst sınırının ortasından ölçülür. Basit bir yöntem olup kardiyovasküler risk faktörleri ile ilişkisi güçlü bulunmuştur. Bel çevresi ölçümü değeri, erkeklerde 102 cm'den, kadınlarda ise

88 cm' den büyük olduğunda bu durum abdominal obezite olarak tanımlanmaktadır (Roche and Chunlea, 1992).

2.2.Obezite Epidemiyolojisi

Uzun süre farklı ülkelerin aşırı kilo sınıflandırılması için kendilerine has kriterler kullanması sebebi ile obezite epidemiyolojisi çalışmalarında güçlükler yaşanmıştır. 1990'lı yıllarda VKİ aşamalı olarak evrensel kabul gören bir aşırı kiloluluk ölçütü olmuştur.

Ülkemizde obezite sıklığını saptamaya yönelik yapılan çalışmaların sayısı ulusal düzeyde fazla değildir. Boy uzunluğuna göre vücut ağırlığının değerlendirildiği Türkiye 1974 Beslenme, Sağlık ve Gıda Tüketimi Araştırılması verilerine göre, ülkemizde şişmanlık hızı erkeklerde %7,6, kadınlarda %25 iken; 1984 verilerine göre bu hızlar sırasıyla %12,9 ve %33,3 olarak rapor edilmiştir (Akbulut v.d., 2007).

Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması 2 (TURDEP 2) 20 yaş üzeri 26.499 birey üzerinde yapılmıştır. Bu çalışmaya göre, obezite görülme sıklığı (VKİ $30 > \text{kg/m}^2$) kadınlarda %44, erkeklerde %27 olarak belirlenmiştir. Santral obezite (Bel çevresi: kadında 88 cm, erkekte 102 cm) açısından değerlendirme yapıldığında obezite görülme sıklığı kadınlarda % 61 ve erkeklerde % 22,6 olarak saptanmıştır. Kadınlarda santral obezite sıklığının bu denli yüksek olması, başta kalp damar hastalıkları ve tip 2 diyabet olmak üzere kadın nüfusun yakın gelecekte karşılaşılabileceği önemli sorunlara işaret etmektedir (Onat v.d., 2003).

Sosyo-ekonomik gelişime paralel olarak, çevresel ve davranışsal değişiklikler toplumda obezite sıklığının artmasında önemli bir nedendir. Obezite sıklığının en düşük olduğu ülkeler Çin (%3,8), Singapur (%6,7), Pakistan (%7-8) olup; en yüksek olduğu ülkeler Nuru (erkeklerde %85, kadınlarda %93) ve Samoa'dır (%75). Avrupa ülkelerine bakıldığında, Güney Avrupa ülkelerinde obezite sıklığı Kuzey Avrupa ülkelerinde olduğundan daha yüksektir. Genel olarak, erkeklerde bu oran %10-20, kadınlarda %10-25 arasında değişirken, son on yılda yaklaşık olarak

%10-40'lık bir artış görülmüştür. NHANES III (ABD-Ulusal Beslenme ve Sağlık Araştırması) verilerine göre, ABD'de bu oran 20 yaş ve üstü bireylerde %55'e ulaşmıştır (%33 hafif şişman, % 22 obez) (Akbulut v.d., 2007).

2.3. Obezite Etiyolojisi

Obezite genellikle yanlış ve aşırı beslenme sonucu ortaya çıkan multifaktöriyel ve karmaşık bir hastalıktır. Obezitenin nedenlerine bakıldığında genetik, metabolik, hormonal, hipotalamik, psikolojik, sosyo-ekonomik, beslenme ve fiziksel aktivite düzeyi gibi birçok etmen bir arada düşünülmektedir. Temel olarak vücut ağırlığını kontrol eden üç temel unsur; metabolik faktörler, diyet ve fiziksel aktivitedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar bu üç faktörün kişisel genetik yapı ile son derece değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır (Weinsier et al., 1998). Yapılan çalışmalarla bazı hormon ve nörotransmitterlerin obezite oluşumunda oldukça etkin olduğu ortaya çıkarılmıştır. Beyin monoaminleri besin alımı ile yakından alakalı görünmektedir. Bunlardan serotonin özellikle doygunluk mekanizmasının oluşmasında, dopamin ise yoğun bir şekilde ödül ile ilgili uyarıları başlatarak iştah oluşumunda rol oynamaktadır (Weinsier et al., 1998).

Enerji alımı ve dengelenmesi geniş hormonal, nöral sinyaller ağı ve merkezi sinir sistemi aracılığı ile kontrol edilmektedir. Bugüne kadar yapılan araştırmalar sonucunda hipotalamustaki leptin-grelinin yolağının vücut ağırlığının kontrolünde görevli olduğu ortaya çıkarılmıştır (Popoviç and Duntas, 2005). Bir adipozit hormon olan leptinin vücuttaki başlıca rolü, beyin (özellikle hipotalamus) üzerine negatif geri bildirim etki ile gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenlemek ve obezite gelişmesini engellemektir. Geçmişte sadece enerji ve yağda eriyen vitaminler için depo görevi gördüğü düşünülen yağ dokusunun günümüzde parakrin, otokrin ve hatta endokrin özellikleri olan bir organ olduğu kanıtlanmıştır (Galic et al., 2010). Yapılan çalışmalarda obez bireylerin serumundaki leptinin büyük kısmının serbest formda olduğu tespit edilmiştir (Brabant et al., 2000). Bu nedenle obez kişilerde serbest leptin formunda artış tespit edilmesi, obezite gelişiminde asıl sorunun leptin eksikliği değil, leptin direnci olduğu hipotezini destekleyen kanıtlardan biri olarak görülmektedir (Aslan v.d., 2004).

Obez insanların büyük çoğunluğunda serum leptin konsantrasyonu yüksektir ve kilo kaybı sonucunda tekrar azalır (McConway et al., 2000). Ayrıca, serum leptin seviyesinde obez bireyler arasında cinsiyete bağlı fark da vardır. Buna göre leptin ile vücut yağ kitlesi ve VKİ arasındaki pozitif ilişki kadınlarda, erkeklere oranla daha belirgindir ve yapılan ölçümler sonucunda kadınlarda leptin seviyelerinin erkeklere oranla daha fazla olduğu saptanmıştır (McConway et al., 2000).

Grelin ise sindirim sistemi tarafından üretilen santral etki ile yeme davranışı ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde görev alan bir peptid hormondur. Enerji homeostazisi üzerine etkisi, üretim yerinden bağımsız olup santral sinir sisteminde hipotalamus düzeyinde ortaya çıkmaktadır. Ayrıca grelin hormonunun iştah arttırıcı etkisi de bulunmaktadır (Popoviç and Duntas, 2005).

Nöropeptit Y (NPY), santral sinir sisteminde besin alımını uyaran başlıca peptittir. Besin alımını uyaran diğer peptitler melanin konsantre edici hormon (MCH) ve oreksinler olup, lateral hipotalamusun perifornikal bölgesinde üretilmektedir (Sakurai et al, 1998). Son yıllarda bu aileye katılan diğer bir hormon ise NPY ile birlikte arkuat nukleusta üretilen “agouti-related protein” (AGRP) dir. Besin alımını baskılayan nöropeptitler ise arkuat nukleusun perikarya bölümünde üretilen propiomelanokortin (POMC) kökenli hormon ve alfa-melanosit uyarıcı hormondur (Lu et al., 1994).

Grelinin yağ dokusunu ve iştahı arttırıcı etkisinin büyüme hormonu üzerine olan etkisinden bağımsız olduğu ve bunun, leptinin de aracı olduğu santral sinir sistemindeki özel nöronlar tarafından düzenlendiği düşünülmektedir (Tschöp et al., 2000). İnsanlarda grelin düzeyi obezite ve kalori alımı ile azalmakta, açlıkta ve anoreksiya nervozalı hastalarda artmaktadır (Nakazato et al., 2001; Tschöp et al 2001). Bu bağlamda grelinin enerji stoklarının boşalmasını önleyen bir hormon olduğu, her öğün öncesi düzeyinde artış olması nedeniyle iştahı uyardığı düşünülmektedir (Soriano et al., 2004).

İlerleyen yaşla birlikte “bazal metabolik hız” (BMH) yavaşlamakta, enerji harcaması azalmaktadır. Diyetle enerji alımı sınırlandırılmazsa vücut ağırlığında artış

gözlemlenmektedir. Yapılan çalışmalarda kadınlarda obezite görülme sıklığının, özellikle ilerleyen yaşlarda, erkeklere oranla daha yüksek olduğu gösterilmektedir. Gelişmiş ülkelerde şişmanlık sıklığı, gelişmekte olan ülkelere göre daha yüksek bulunmaktadır (Akbulut et al., 2007).

2.4. Obezitenin Psikolojik Temelleri

Obezite ile psikolojik bozukluklar arasında yakından ilişki vardır. Castelnovo-Tedesco ve Schievel obez hastalarda, hafif ve orta derecede depresyonun, kişilik bozukluklarının sık görüldüğünü, psikoz ve şiddetli nöroz gibi ağır psikopatolojilerin ise nadiren görüldüğünü bildirmişlerdir (Castelnovo-Tedesco and Schievel., 1975). Bu konuda yapılan yeni çalışmalar obez hastalarda spesifik psikiyatrik bozuklukların yaygınlığına odaklanmıştır. Britz ve arkadaşları obez hastalarda duygudurum, anksiyete, somatoform ve yeme bozukluklarının sağlıklı kontrollerden daha yüksek oranda görüldüğünü bildirmişlerdir (Britz et al., 2000).

İnsanda psikolojik durum ve yeme davranışı arasında karşılıklı etkileşim olduğu bilinmektedir. Yeme bozuklukları uzun süreli psikolojik, fiziksel ve sosyal durumlardan meydana gelen oldukça karmaşık bozukluklar olup, hem kadınlar hem de erkeklerin gösterdiği, kilo ve yeme konuları üzerine aşırı duygusallığı ve davranışları içermektedir. Bu bozukluklar genel olarak, kendini aç bırakma ve aşırı kilo kaybı ile karakterize edilen anoreksiya nervoza, tıknırcasına yemeyi takip eden yediklerini çıkarma davranışı olarak tanımlanan bulimiya nervoza ve kontrolsüz, impulsif ya da durdurulamayan aşırı yemek yeme durumu ile karakterize olan, tıknırcasına yeme bozukluğundan (binge eating disorder) oluşmaktadır. Bunlar yaşamı tehdit edici sonuçları olan ciddi duygusal, psikolojik ve fiziksel sorunlardır (Oktay and Baltacı, 2008). Bu davranışlar kişinin fiziksel sağlığına zarar verdiği gibi, özgüveninin yok olmasına, kontrol duygusunun azalmasına sebep olmaktadır. Yeme bozukluğu olan bireyler sıklıkla diyet yapmak, atıştırmak, kusmak gibi davranışlarla yemeyi ve yiyecekleri kontrol etmeyi, kendilerini kötü hissettiren duygularla baş edebilmek için kullanırlar (Oktay and Baltacı, 2008).

Ruhsal bozukluk durumunda görülen fizyolojik düzensizlikler de obezite oluşumunda etkili olan mekanizmalardan birisidir. Yapılan çalışmalarda depresyon ile santral yağ miktarı arasında ilişki bulunmuştur (Bjorntorp and Rosmond, 2000). Kortizol vücutta santral bölgelerde yağ depolanmasına neden olmakta ve salınımı hipotalamopituiter adrenal eksen tarafından düzenlenmektedir. Anksiyete ve depresif bozukluklarda kortizol salınımında düzensizlikler olmaktadır (Eren ve Erdi, 2003).

Psikolojik durumla yemek türü tercihi, yeme miktarı ve yeme sıklığı arasında, fizyolojik gereksinimlerden bağımsız bir ilişki bulunmaktadır. İnsanda yeme davranışları anksiyete, neşe, üzüntü, öfke, depresyon gibi farklı duygulara göre değişiklik gösterebildiği yaygın olarak kabul görmektedir. Psikolojik durumla bağlantılı olan yemek yeme davranışı “duygusal yeme” olarak tanımlanmaktadır. Duygusal yemenin vücut ağırlığı ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Duygusal besin tüketimi gerilim, alınganlık ve depresyon gibi negatif duygu hallerinin neden olduğu aşırı yemek yeme durumudur (Racine et al., 2009; Van Strien et al., 2005). Duygusal yemek yeme davranışı yetişkinlerde oldukça yaygın görülmektedir. Özellikle aşırı kilolu veya obez bayanlarda çok sık gözlenirken (Van Strien et al., 2009,2010) çocukluk çağındaki bireylerde görülme sıklığı düşüktür (Van Strien and Oosterveld, 2008). Yorgunluk, depresyon ve sıkıntı hali sırasında yeme miktarında artış; korku, gerilim ve ağrı durumlarında ise azalma görülmektedir (Canetti et al., 2002). Ayrıca mutluluk hali ve üzüntü de yeme davranışını etkilemektedir (Macht, 1999).

Yeme davranışı ve nöronal sistemler arasında karşılıklı etkileşim gözlenmektedir. Yeme, serotonin başta olmak üzere karmaşık nöral mekanizmaların kontrolü altındadır. Aynı zamanda gıda alımının, serotoninergic nöronlarda serotonin salınımı üzerinde etkisi olmaktadır. Serotonin salınımı, karbonhidrat alımına bağlı insülin salınımı ve plazma triptofan oranı artışı ile artarken, protein alımı ile değişmemektedir (Wurtman and Wurtman., 1995). Serotoninin duygudurum, iştah, ağrı duyusu, kan basıncı gibi olaylarla ilişkili olduğu bilinmektedir. Obez hastaların karbonhidrat alımı ve buna bağlı olarak oluşan serotonin salınımı, kendilerini daha iyi hissetmelerine neden olmakta, bunun sonucunda bu gıdalara karşı bir

düşkünlük meydana gelmektedir. Karbonhidrat alımı için oluşan bu hassasiyet, sonuçta kilo artışına neden olmaktadır (Eren ve Erdi, 2003).

Bunun dışında hem obezite hem de depresyonda glukoz intoleransı ve insülin direnci görülmektedir. Üstelik obezite ve depresyon tedavisi ile insülin duyarlılığının da düzelebildiği gösterilmiştir (Faith et al., 2002; Okamura et al., 2000).

2.5.Obezite Genetiği

Multifaktöriyel bir hastalık olan obezite oluşumunda, kalıtımın rolünün olduğunu destekleyen en önemli bulgular monozigotik ikizler üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Bu araştırmalarda, obez olma bakımından monozigotik ikizlerde görülen uyumun dizigotik ikizlerde görülenden daha yüksek olması kalıtımın etkisini ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca, ailesel yatkınlık da obezitenin en güçlü genetik bileşenlerinden birisidir. Obez anne ve babanın çocuklarında orta dereceli obezite riski 2-3 kat, şiddetli obezite riski ise 8 kat artmıştır (Marti et al., 2004). Obezite diğer kalıtsal durumlarla kıyaslandığında, boy uzunluğu kalıtımı ile benzer oranda, meme kanseri, şizofreni ve kalp hastalıklarından daha fazla oranda kalıtsal olarak meydana gelebildiği gösterilmiştir (Friedman, 2004). Aynı çevrede yaşayan ve benzer şekilde beslenenlerin vücut ağırlıklarındaki bireysel farklılıklar sahip oldukları genetik yapıdan kaynaklanmaktadır (Friedman, 2004). Fiziksel aktivite ve diyet genetik yapı etkisi altında vücut ağırlığı ve kompozisyonunu şekillendirmektedir (Marti et al., 2004). Bununla birlikte, obezitede genetik faktörlerin rolü karmaşıktır. Pek çok küçük etkili eğilim genleri, çevresel faktörlerle olduğu kadar (besin alımı, fiziksel aktivite, sigara içme) birbirleri ile de kombine halde çalışmaktadırlar. Çoklu genetik faktörlerle güçlü ve farklı çevresel faktörlerin uyumlu etkileşmesi karmaşık özellikleri ortaya çıkarmaktadır (Bougnères, 2002; Clement et al., 2002).

Obezitenin ailesel kalıtım göstermesine rağmen, obezitenin eşlik ettiği bazı nadir hastalıklar hariç obez hastaların büyük bir çoğunluğu tam bir mendeliyen kalıtım göstermemektedir. VKİ'nin %70'i genetik yapı (Özata., 2003), geriye kalan %30'u ise çevresel etkilerle şekillenmektedir (Marti et al., 2004). VKİ temel alınarak

yapılan çalışmalarda, aynı yumurta ikizleri ve ayrı yumurta ikizleri, ya da ayrı yetiştirilmiş aynı yumurta ikizlerinin VKİ varyasyonunda %70 düzeyinde genetik aktarım göstererek yüksek kalıtılabilirlik düzeyi oluşturdukları saptanmıştır (Bouchard, 2001). Bazı çalışmalarda ise, VKİ için kalıtılabilirlik düzeyi % 25-40 arasında olduğu bildirilmiştir (Bougneres et al., 2002).

Fare ile yapılan genetik çalışmalar temel alınarak seçilen aday genlerin obez kişilerdeki mutasyon çalışmaları oldukça başarılı olmuştur. Bu homolog genlerdeki mutasyon bulguları, enerji dengelenmesindeki yolağın rolünün önemini ortaya koymuştur (Clement et al., 2002).

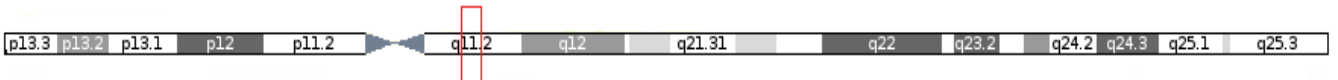
2005 yılında ortaya çıkarılan insan obezite gen haritasında obeziteyle yakından ilişkili 127 adet aday gen tanımlanmıştır (Rankinen et al., 2005).

Yapılan araştırmalarda tek gen mutasyonundan kaynaklanan yaklaşık 200 obezite olgusu bildirilmiş ve bu olgulardaki mutasyonlar 11 ayrı gen ile ilişkilendirilmiştir (Rankinen et al., 2006; Bell et al., 2005). Bu 200 olgudaki gen mutasyonlarının Mendel kurallarına uygun kalıtıldığı ve çok ciddi fenotipler ile ilişki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır (Farooqi and O'Rahilly, 2005).

2.5.1 Tez Kapsamında Çalışılan Genler ve Özellikleri

2.5.1.1. 5-HTT (SLC6A4) Geni ve Özellikleri

İnsan 5 Hidroksitriptamin Transporter [5-HTT SLC6A4 (Solute Carrier Family 6 Member 4) HGNC ID 11050] geni 17. kromozomda bulunmaktadır (Şekil 2.1). 31 kb uzunluğundadır ve 14 ekzon içermektedir.



17.Kromozom

Şekil 2.1. 5-HTT geninin, 17. insan kromozomu üzerindeki yerleşimi. (www.ensemble.com)

5-*HTT* geni, nörotransmitter olan serotonin (5 Hydroxytryptamine) sinaptik bölgeden presinaptik bölgeye taşıyan integral membran proteinini kodlamaktadır. Bu integral proteini kodlayan 5-*HTT* geni sayesinde, serotoninin sinaptik etkinliği sonlandırılır ve yeniden kullanılmak üzere nörotransmitter havuz içine gönderilir. Yani 5-*HTT* geni, serotoninin geri alınımında ve serotonerjik fonksiyonun yürütülmesinde önemli role sahiptir (Erdal et al., 2000).

Bu gen için tanımlanan iki farklı genetik polimorfizimin serotoninle ilgili davranışların düzenlenmesinde özellikle, anksiyete, depresyon, şizofreni, otizm, bipolar bozukluk ve mevsimsel etkilenme bozukluğunu içeren bazı psikiyatrik bozukluklarda (Flory et al., 1999; Lenziger et al., 1999; Ohara et al., 1999), fibromiyalji ve migren gibi psikosomatik bozukluklarda (Offenbecher et al., 1999) etkili olabileceği bildirilmektedir.

Bu polimorfizimlerden ilki 5-*HTT* geninin transkripsiyonel kontrol bölgesinde (5-*HTT* gene-linked polymorphic region 5-HTTLPR) 44 bç'lik GC (guanin, sitozin) zengin bir dizinin farklı sayıda insersiyon/delesyon tekrarına bağlı olarak tanımlananıdır. 44 bç'lik tekrar dizisinin insersiyonu ile uzun (Long-L-) formu, delesyonu ile kısa (Short-S-) formu olarak adlandırılan alelleri meydana gelir (Michaelovsky et al., 1999). S-alelinin varlığı, anksiyete ile ilişkili özelliklerle ve transforme olmuş lenfoblastoma hücre serilerinde, azalmış transkripsiyon aktivitesi ile gen ifade düzeyinin azalmasının, daha az düzeyde serotonin alımı ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Lesch et al., 1996).

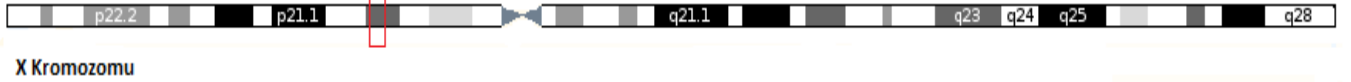
İkinci polimorfizm ise, biyolojik aktivitesi farklı bir 5- *HTT* proteininin kodlanmasına neden olan, 5-*HTT* geninin ikinci intron bölgesinde bulunan VNTR polimorfizmidir. Söz konusu olan bu VNTR polimorfizminin 12 tekrar alelinin, 10 tekrar alelinden transkripsiyon regülasyonunda daha güçlü enhancer benzeri etkisinin olduğu düşünülmektedir (MacKenzie and Quinn, 1999). Serotonerjik aktivitede meydana gelen değişiklikler sonucunda oluşabilen anksiyete ve depresyon durumlarının obez hastalar, normalden 3-4 kat daha fazla olduğu düşünülmektedir (Fischerstrand et al., 1999).

Serotonin (5-Hydroxytryptamine,5-HT) en çok araştırılmış monoamin nörotransmitterlerden birisidir (Lesch et al., 2002). Triptofan aminoasitinden sentezlenir. Beyinde serotonin kimyasalı salındığında kan damarları kasılarak daralır; serotonin düzeyi düştükçe genişler. Ayrıca serotonin dopaminerjik nöronlardaki reseptörlerine bağlanarak dopamin salgılanmasını azaltmaktadır.

Serotoninin; anksiyete, depresyon, obsesif kompulsif bozukluk ve şizofreni gibi psikiyatrik bozuklukların yanısıra inmeler, hipertansiyon, vasküler bozukluklar, migren ve bulantı gibi bozuklukların oluşumunda da rol oynadığı düşünülmektedir (Kırlı, 2000; Nathan and Schatzberg, 1994).

2.5.1.2.MAOA Geni ve Özellikleri

MAOA (Monoamin oksidaz) geni, X kromozomu üzerinde yer almaktadır (Şekil 2.2). Bu gen dopamin, norepinefrin ve serotonin gibi amin yapıdaki nörotransmitterleri degrade eden Monoamin Oksidaz A enzimini kodlamaktadır.



Şekil 2.2. MAOA geninin, insan X kromozomu üzerindeki yerleşimi (www.ensemble.com).

Oluşan protein mitokondrinin dış zarında yer almaktadır. MAOA geninin promotor bölgesindeki 30 bç'lik tekrar dizisinde polimorfizm bulunmaktadır ve bu polimorfizm MAOA geninin promotor aktivitesini değiştirmektedir. MAOA kodlanan bölgesinin 1.2 kilobaz çiftlik upstream bölgesindeki 30 bç'lik tekrar sekansının olduğu ve 3, 3.5, 4, veya 5 tekrar olarak bulunan kopya sayısının genin transkripsiyon aktivitesini etkilediği gösterilmiştir. 30 bç'lik 3.5 veya 4 kopyalı aleller, kopya sayısı

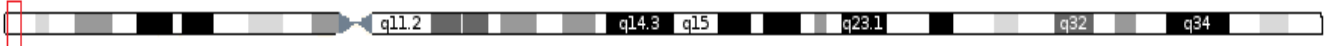
3 veya 5 tekrarlı olanlardan 2-10 kat daha fazla transkripsiyon oluşturmaktadır (Sabol et al., 1998).

MAOA geni promotor bölgesinde bulunan 30-bç VNTR polimorfizminin, çeşitli türdeki psikiyatrik hastalıklardaki rolü araştırılmaktadır. Söz konusu bu fonksiyonel polimorfizmin, serotonin metabolizması üzerinde etkisi de gösterilmiştir (Garpenstrand et al., 2002; Jonsson et al., 2000; Williams et al., 2003).

2.5.1.3. DAT 1 Geni ve Özellikleri

Dopamin beyinde farklı alanlar arasındaki haberleşme için kullanılan bir nörotransmitterdir. Beyinde, istemli hareket, motivasyon, ceza-ödül mekanizması, uyku, dikkat ve öğrenme yetisi mekanizmaları başta olmak kaydıyla pek çok fonksiyonu vardır. Dopamin, L-tirozinin tirozin hidroksilaz enzimi aracılığı ile L-dihidroksifenilalanin (L-DOPA) formuna, L-DOPA'nın da DOPA dekarboksilaz enzimi katalizörlüğünde dekarboksilasyona uğramasıyla meydana gelmektedir. Nörondan sinapsa salınan dopamin, dopamin transporter proteinleri aracılığı ile geri alınmaktadır. Dopamin transporter geni (Dopamin aktif taşıyıcı geni ve *DAT1*, *SLC6A3* olarak da bilinmektedir) nörotransmitter olan dopaminin hızlı ve spesifik olarak presinaptik sinir terminaline geri alımını sağlayan dopamin transporter (DAT) proteinini kodlamaktadır. Sinapslardan bırakılan dopamin, dopamin transporter proteini üzerinden geri alınırken prefrontal korteksten salınan dopamin ise taşıyıcı nöroepinefrin üzerinden geri alınmaktadır (Martel, 1996).

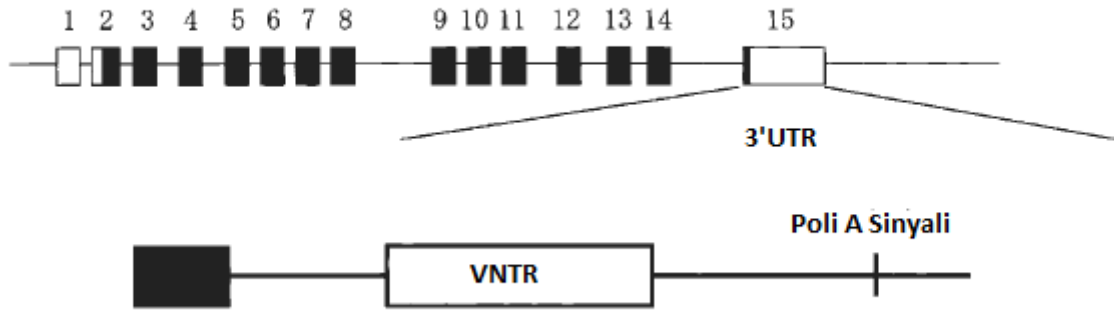
15 ekzonu olan yaklaşık 64 kilobaz büyüklüğündeki *DAT 1* geni (HNGC ID 11049) 5.kromozomumuzda yer almaktadır (Şekil 2.3). *DAT 1* geninin 3'UTR bölgesinde 40 bç uzunluğunda VNTR polimorfizmi bulunmuştur (Şekil 2.4). Farklı çalışma gruplarında bu polimorfizm ile dikkat bozukluğu hiperaktivite, parkinson, alkolizm, şizofreni gibi hastalıklar arasında ilişki olup olmadığı araştırılmıştır. Polimorfizm gösteren bölge genin ifade alanı içinde olmadığından, DAT proteininin yapısını direkt olarak etkileyememektedir. Ancak mRNA yapısını ya da degradasyon mekanizmasını etkileyerek genin ifadesini etkilediği düşünülmektedir (Iverson, 1971; Amara et al., 1993; Giros and Caron, 1993).



5.Kromozom

Şekil 2.3. *DAT 1* geninin, insan 5. kromozomdaki yerleşimi. (www.ensemble.com)

DAT 1 geninin 3'UTR bölgesindeki VNTR polimorfizminin madde bağımlılığı ile ilişkisi gösterilmiştir (Jorm et al.,2000; Sander et al.,1997). Bu durum kontrolsüz yeme ve madde bağımlılığının, dopaminerjik mekanizmayı oluşturan genlerin diğer özelliklerinden benzer olarak etkilenebileceği görüşünü doğurmuştur.



Şekil 2.4. *DAT 1* geninin yapısı. Siyah alanlar ekzonları göstermektedir. 15. ekzonun devamında 3' UTR'ında VNTR bölgesi ve poli A sinyal dizi alanı gösterilmektedir (Fuke et al., 2001).

2.5.1.4. *DRD4* Geni ve Özellikleri

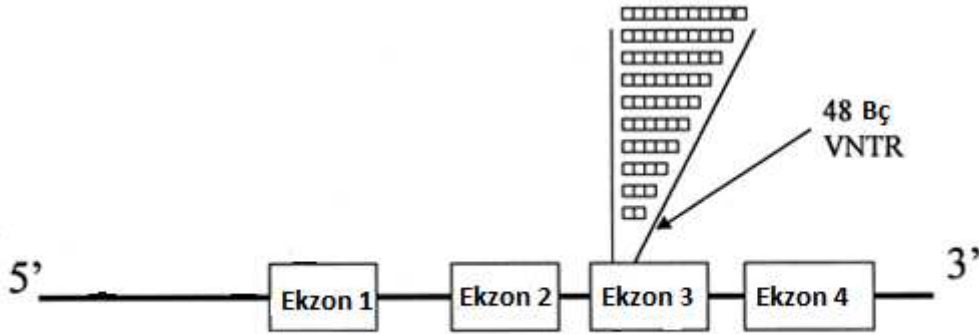
Dopamin reseptör D4 geni (HGNC ID 3025) 11. kromozomda yer almaktadır. Bu gen dopamin reseptörlerinden, D4 alt tipi proteinini kodlamaktadır. D4 alt tipi adenil siklazı inhibe eden G protein çifti reseptörüdür ve şizofreni, parkinson gibi hastalıklarda tedavi için hedeflenen proteindir.



11.Kromozom

Şekil 2.5. *DRD4* geninin, 11. insan kromozomu üzerinde yerleşimi (www.ensemble.com' dan alınmıştır).

VNTR bölgesi, bahsedilen hastalıklara yatkınlığı belirlemede oldukça önemlidir. Genel olarak beyindeki nörotransmitterler, besin alımını regüle etmek amacıyla vücut ağırlık kontrolünü sağlamak için hedef alınmıştır. Bazı peptit ve amino asitlerle beraber özellikle dopamin, GABA, norepinefrin ve serotonin gibi nörotransmitterler besin alımı mekanizmasında son derece etkin rol oynamaktadır. Bunların içinde dopamin özel ilgi uyandırmaktadır. Çünkü bu nörotransmitter, beyin mezolimbik sistemi üzerinden besin alımı, alınan bu besin ile ödül mekanizmasının çalışmasını sağlamaktadır (Balcioglu and Wurtman, 1998; Martel and Fautino, 1996).



Şekil 2.6. *DRD4* Geninin 3.ekzonunda bulunan 2-11 arasında tekrarların bulunduğu VNTR Bölgesi (Andrew et al., 1999).

Farmakolojik çalışmalar da *DRD4* geninin obezite ile olan bağlantısını ortaya koymuştur. Clozapine' nin *DRD4*' e yüksek afinite ile bağlanması sonucunda leptin konsantrasyonunun yükseldiği, bunun sonucunda besin alımı dolayısıyla kilo artışının meydana geldiği kanıtlanmıştır (Van Tol et al.,1991).

DRD4 geninde fonksiyonel VNTR polimorfizmi üçüncü ekzonda, reseptörün hücreler arası halkasını kodlayan bölgede tanımlanmıştır. Tekrarlar genelde 2 ve

11 arası sayılarda bulunmaktadır. Tekrar sayıları popülasyon tiplerine göre değişebilmekle beraber, en sık olarak gözlenen 4'lü tekrarlardır (Van Tolet al., 1992; Lichter et al., 1993). İn vitro çalışmalarda *DRD4* geninin üçüncü ekzonunda gözlenen 7 tekrarlı alelin diğer alellere göre, dopamin afinitesinin azalmasına ve dolayısıyla hücre içine iletilmesi gereken sinyalde zayıflamanın meydana geldiğini ortaya koyulmuştur (Guo et al., 2006).

3. MATERYAL ve METOT

3.1.Hasta ve Kontrol Örneklerinin Toplanması

Bu tez çalışmasında incelenen hasta örnekleri, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Endokrinoloji Bölümüne gelen ve yapılan klinik testler sonucunda obezite tanısı konulan bireylerden seçilmiştir. Obez bireylerden hiçbirinde diabet veya glukoz tolerans eksiklikliği hastalığının olmadığı belirlenmiştir. Kontrol örnekleri de aynı bölüme başvuran bireylerden seçilmiştir. Kontrol grubu bireylerinde, fiziksel muayeneler ve laboratuvar analizleri yapılarak bu kişilerde hiçbir şekilde obez, diabet, hiperlipidemi, psikiyatrik, hepatik, metabolik ya da renal hastalıkların bulunmadığı kesinleştirilmiştir. Etik kurallar çerçevesinde hasta ve kontrol grubunu teşkil eden bireylerin her birinden 4 ml periferik kan, içerisinde K₃EDTA bulunan tüplere alınarak +4 °C de muhafaza edilmiştir.

3.2.Periferik Kandan Genomik DNA İzolasyonu

Genomik DNA izolasyonu için Yen ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan DNA izolasyonu yöntemi bazı değişiklikler uygulanarak kullanıldı (Yen et al., 1992). Bireylerden EDTA'lı tüplere alınan 4 ml kan örneklerine aşağıda belirtilen basamakları içeren DNA izolasyon yöntemi uygulanmıştır.

1. 1.5 ml'lik steril mikrofüj tüpüne, EDTA'lı kan tüpünde bulunan kan örneğinden 400 µl konulmuştur.

2. Mikrofüj tüpü içindeki 400 µl kan örneğine Tris-EDTA (TE) tamponu ilave edilerek hacim 1.5 ml'ye tamamlanmıştır.

TE Tamponu: 10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH=7,6

3. Tüpler 13000 rpm'de 1 dakika santrifüje edilmiştir.

4. Santrifügasyon sonunda üstteki süpernatant alttaki pelete dokunulmadan aspire edilmiştir.

5. Yıkama işlemi (2., 3. ve 4. basamaklar) toplamda üç kez tekrarlanarak gerçekleştirilmiştir.

6. Süpernatant aspire edildikten sonra, pelet üzerine 180 µl lizis tamponu ilave edilmiş, TE tamponu ile son hacim 500 µl'ye tamamlanmıştır.

Lizis Tamponu:

%10 Sodyum dodesil sülfat (SDS) 80 µl

1 M Sodyum klorür (NaCl) 90 µl

10 mg/ml Proteinaz K 10 µl

Örnekler hafifçe karıştırıldıktan sonra 37°C'lik etüvde gece boyu ya da 56°C'lik etüvde 2 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrası örneklerin üzerine 250 µl fenol, 250 µl kloroform eklenmiştir. Tüpler çok iyi bir şekilde karıştırılarak 6000 rpm'de 2 dakika santrifüje edilmiştir. Bu işlem ile inkübasyon sonucu oluşan protein atıklarının çöktürülerek DNA'dan uzaklaştırılması sağlanmıştır.

Santrifügasyon sonrası oluşan süpernatant çok dikkatli bir şekilde başka bir steril mikrofüt tüpüne aktarıldı. Bu aşamada fenolün bir sonraki aşama olan polimeraz zincir reaksiyonunda (PZR) kullanılacak Taq DNA polimerazın inhibisyonuna neden olmaması için fenol-kloroformun bulunduğu alt fazdan örnek çekmemeye özellikle dikkat edilmiştir.

7. Süpernatantın üzerine 1ml %100'lük etanol ilave edilmiştir. %100'lük etanol ortamdaki H₂O molekülerini kendisine bağlayarak ortamda DNA'nın çözünebileceği serbest H₂O moleküllerinin kalmamasını ve DNA'nın görünür hale gelmesini sağlar. Tüpler alt üst edilerek iyice karıştırılmış ve DNA'nın görünür hale gelmesi sağlanmıştır. Tüpler 5 dakika -20°C'de inkübe edilmiştir.

8. Örnekler 13000 rpm'de 10 dakika santrifüje edilerek, DNA'nın mikrofüt tüplerinin dibine yapışması sağlanmıştır. Daha sonra %100'lük etanol mikrofüt tüpünün

dibinde bulunan DNA'ya dokunulmadan mikropipet vasıtasıyla ortamdan uzaklaştırılmıştır.

9. DNA'nın üzerine %70'lik oda ısısındaki etanol ilave edilmiştir. Bu basamakta % 70'lik etanol çözeltisindeki %30 oranındaki distile su ile ortamda bulunabilme ihtimali olan iyonların çözünerek ortamdan uzaklaştırılması sağlanırken, %70 oranındaki etanol ile DNA'nın tekrar çözünür hale gelmesi engellenmiştir.

10. Örnekler 13000 rpm'de 5 dakika santrifüje edilerek DNA'nın mikrofüj tüplerinin dibine yapışması sağlanmıştır. Daha sonra %70'lik etanol mikrofüj tüpünün dibinde bulunan DNA'ya dokunulmadan mikropipet vasıtasıyla ortamdan uzaklaştırılmıştır.

11. Elde edilen DNA peleti üzerine peletin miktarına bağlı olarak 200-300 µl steril distile su eklenerek, DNA'nın oda ısısında iyice çözünmesi sağlanmıştır.

12. Elde edilen genomik DNA -20°C ya da -80°C'de saklanmıştır.

3.3. 5-HTT, DAT 1, DRD4 ve MAOA Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İle Çoğaltılması

Bu çalışmada obez hastalar ile kontrol grubu bireylerinden alınan kanlardan izole edilen genomik DNA'lardan 5-HTT, DAT 1, DRD4 ve MAOA genlerinin amplifikasyonu Saiki ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntemle yapılmıştır (Saiki et al., 1988). Çalışılacak geni çoğaltabilmek için uygun primer setleri sentezletilmiştir. Uygun primer setlerinin elde edilmesinden sonra bu bölgeler çift zincir olarak çoğaltılmış ve bunun için primer setlerinin oranları reaksiyon boyunca eş molar olacak şekilde hazırlanmıştır.

3.3.1. 5-HTT Geninin PZR Tekniği İle Çoğaltılması

5-HTT gen bölgesinin polimorfizm içeren 2.intron bölgesi aşağıda dizisi verilen HTT (ileri) ve HTT (geri) primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır (Şekil 3.1).

HTT F (ileri): 5' **GGT CAG TAT CAC AGG CTG CGA GTA G** 3'

HTT R (geri): 5' **TGT TCC TAG TCT TAC GCC AGT GAA G** 3'



Şekil 3.1. PZR için kullanılan primerlerin DNA dizisi üzerindeki gösterimi. HTT F ileri HTT R geri primerini belirtmektedir.(dizi www.ensembl.org'dan alınmıştır).

5-*HTT* gen bölgesi için uygulanan PZR karışımı, son hacim 25 µl olacak şekilde aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

Bir tane örnek için hazırlanan PZR reaksiyon karışımı:

Genomik DNA	:	2 µl
10Xreaksiyon tamponu (15mM MgCl ₂ içerir)	:	2,5 µl
2,5mM dNTP karışımı	:	0,75 µl
İleri Primer-F (10 pmol/µl)	:	2 µl
Geri Primer-R (10 pmol/µl)	:	2 µl
sd H ₂ O	:	15,65 µl
Taq DNA polimeraz (5u/µl)	:	0,1 µl (1 ünite)
Toplam Hacim	:	25 µl

10Xreaksiyon tamponu: 10 mM Tris HCl pH=9,0, 50 mM KCl, 15 mM MgCl₂, %0,1 Tritonx 100, 0,2 mg/ml BSA veya jelatin.

PZR reaksiyonları “Applied Biosystems GeneAmp PCR system 2700” ısı döngüleyici cihazında aşağıda belirtilen koşullarda yapılmıştır.

DAT F (İleri) : 5' **GAA ACC AGC TCA GGC TAC TGC CA** 3'

DAT R (Geri) : 5' **TTA TTG ATG TGG CAC GCA CCT GAG** 3'

PZR karışımı, son hacim 25 µl olacak şekilde aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

Bir tane örnek için hazırlanan PZR reaksiyon karışımı:

Genomik DNA	:	1 µl
10Xreaksiyon tamponu	:	2,5 µl
25 mM MgCl ₂	:	1 µl
2,5mM dNTP karışımı	:	1 µl
İleri Primer-F (10 pmol/µl)	:	1 µl
Geri Primer-R (10 pmol/µl)	:	1 µl
sd H ₂ O	:	17,35 µl
<u>Taq DNA polimeraz (5u/µl)</u>	:	<u>0,15 µl (0,75 ünite)</u>
Toplam Hacim	:	25 µl

10Xreaksiyon tamponu: 10 mM Tris HCl pH=9,0, 50 mM KCl, 15 mM MgCl₂, %0,1 Tritonx 100, 0.2 mg/ml BSA veya jelatin.

PZR reaksiyonları "Applied Biosystems GeneAmp PCR system 2700" ısı döngüleyici cihazında aşağıda belirtilen koşullarda yapıldı.

DAT 1 gen bölgesi için uygulanan PZR programı;

94 °C 4' 1 döngü

94 °C 30" }
68 °C 30" } 30 döngü
72 °C 30" }

72 °C 5' 1 döngü

Hedef bölgede guanin ve sitozin sayısının fazla olması sebebiyle, DNA zincirinin daha kolay ayrılması için PZR karışımı toplam hacminin %10' u oranında DMSO kullanılmıştır.

10Xreaksiyon tamponu: 10 mM Tris HCl pH=9,0, 50 mM KCl, 15 mM MgCl₂, %0,1 Tritonx 100, 0.2 mg/ml BSA veya jelatin.

PZR reaksiyonları "Applied Biosystems GeneAmp PCR system 2700" ısı döngüleyici cihazında aşağıda belirtilen koşullarda yapılmıştır.

94 °C 4' 1 döngü

94 °C 30" }
68 °C 30" } 32 döngü
72 °C 30" }

72 °C 5' 1 döngü

3.3.4. MAOA Geninin PZR Tekniği İle Çoğaltılması

X kromozomu üzerinde bulunan MAOA geninin promotörü içerisinde yer alan VNTR bölgesindeki polimorfizm taranması için gereken PZR, Şekil 3.4'te de belirtilen MAOA F ve MAOA R primerleri kullanılarak yapılmıştır.

```
CCTCACTGATTTTCATATCCTTTGCCCTAAACAGAACATCAGGATACAGATTTCTGTAGTA
TT GAGGGAGCAGTAGTGTATTCCAGTCTGCTCTTCTCTATTTCCGTAGAAAATTTAG
MAOA F
TAGGTGAAGAGGAAGGAGGTAGACTCCTTTAAGAAAAGGTTAAAAAAAAAAGAGGAGAA
GAGGGGGTGAGCTCTTAAACTATTCCTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTG
TGTATGAACGTGTGTTTATATATATATATGAACGTGTGTTTATATATATATATGAACGTGTG
TTATATATATATATGAACGTGTGTTTATATATATATATGAACGTGTGTTTATATATATATAT
GAACGTGTGTTTATATATATATATATGAACGTGTGTTTATATATATATATATATATATATATAT
TGTGTGTATATATATATATGAACCTTGCAGGAAGGTGTAGGACATTTATTGTCCAAAGAGA
ATCCCTTTATGAAGCAGGGGCTGAGTGCCCTGTTGTATCCTCCTCCTCCTTTCACTAAG
AGC TCCCACCACCTGAATCTTGTCTTCTGATGAGCCAGTTGGTGGGCCAGGGTGCCCTG
MAOA R
GTCCTGGCTTGGATTTGTGGCTAACCAAGTGAGTGGTGCATGAGGCTTTCCAATATCTTC
CTGGAAGCCTCATCATGATTGATATATTGTCGCCTATGTTGCCATCATTGGTAAAATGTT
```

Promotor
Bölgesi

Şekil 3.4. PZR için kullanılan primerlerin DNA dizisi üzerindeki gösterimi. MAOA F ileri MAOA R geri primerini belirtmektedir.(dizi www.ensembl.org)

MAOA F (İleri): 5' **GAGGGAGCAGTAGTGTTATTCCAG** 3'

MAOA R (Geri): 5' **AGAAGACAAGATTCAGGTGGTGGGA** 3'

PZR karışımı, son hacim 25 µl olacak şekilde aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

Bir tane örnek için hazırlanan PZR reaksiyon karışımı:

Genomik DNA	:	1	µl
10Xreaksiyon tamponu	:	2,5	µl
25 mM MgCl ₂	:	1,5	µl
2,5mM dNTP karışımı	:	1	µl
%10 DMSO	:	2,5	µl
İleri Primer-F (10 pmol/µl)	:	1	µl
Geri Primer-R (10 pmol/µl)	:	1	µl
sd H ₂ O	:	14,35	µl
<u>Taq DNA polimeraz (5u/µl)</u>	:	<u>0,15</u>	<u>µl (0,75 ünite)</u>
Toplam Hacim	:	25	µl

3.3.5. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi İle Kontrolü

PZR reaksiyonu sonucunda elde edilen amplifikasyon ürünleri, %3'lük agaroz jelde elektroforeze tabi tutularak incelenmiştir. Deniz yosunlarından elde edilen dallanmamış zincirli bir polimer olarak ticari kullanımı olan agaroz, % 3' lük konsantrasyonda hazırlamak amacıyla gerekli miktarda 0,5X TBE tamponu içerisinde kaynatılıp çözülerek içerisine 0.5 µg/ml olacak şekilde hazırlanan etidyum bromür (EtBr) çözeltisinden 8 µl eklenmiştir. Bir süre soğuması sağlandıktan sonra ve yatay elektroforez kalıbına taraklar yerleştirilerek jel dökülmüştür. Oda ısısında agaroz jelin polimerizasyonu sağlandıktan sonra taraklar dikkatli bir şekilde jelden çıkartılarak, kalıp içinde 0,5XTBE yürütme tamponu bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiştir.

8 µl PZR ürünü, 1 µl 6X yükleme çözeltisi (%40 sükröz, %0.25 brom fenol mavisi, %60 10XTBE tamponu) ile karıştırılarak agaroz jelin kuyucuklarına sırayla yüklenmiştir. 5-*HTT* geni PZR ürünleri için 80 V' ta 45 dakika, *DAT* 1 geni ürünleri

85 V'ta 30 dakika, *DRD4* geni ürünleri de 85 V sabit voltaj altında 30 dakika elektroforeze tabi tutulmuştur. Örneklere karıştırılan yükleme tamponunda bulunan brom fenol mavisi 5 cm kadar ilerledikten sonra elektroforez işlemi durdurularak agaroz jel, 300 nm dalga boyuna ayarlı UV lambasında özel kalkan altında incelenmiştir.

Tekrar Dizisi Alel Tipleri	Hasta Grubu Sayı ve Yüzdesi	Kontrol Grubu Sayı ve Yüzdesi
9T	2 (% 0,43)	0 (%0)
10T	120 (% 25,64)	80 (%27,03)
12T	346 (%73,93)	216 (%72,97)
Toplam	468 (%100)	296 (%100)

Çizelge 4.1 Obez hastalar ve kontrol gruplarında 5-*HTT* geninin 2. intron bölgesinde bulunan tekrar dizisi sayılarına göre belirlenen alel tipleri, bu alellerin sayıları ve yüzdeleri.

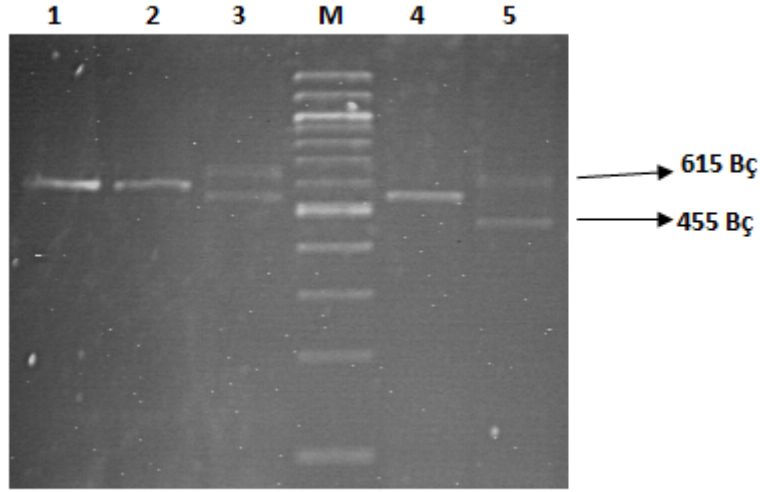
4.2. DNA Örneklerinde *DAT 1* Geninin PZR Yöntemi İle Çoğaltılması

Tez çalışmasında obezite ile ilişkisi araştırılmak istenen *DAT 1* geninin, 3'UTR bölgesinde bulunan VNTR polimorfizmlerin araştırılabilmesi için incelenecek DNA bölgesi seçilerek PZR yöntemiyle çoğaltılmış ve %3 lük konsantrasyondaki agaroz jel elektroforezinde örnekler yürütülerek genotipler belirlenmiştir (Şekil 4.2). Bu çalışmada belirlenen *DAT 1* geninin 3'UTR bölgesinde, bireyler arasında farklı sayılarda tekrar edebilen dizi 40 baz büyüklüğünde ve 7, 9, 10, 11 ve 12 arasında değişen sayılarda tekrarlı olarak bulunabilen;

[(GGAGCGTGTCCCTATCCCCGGACGCATGCAGGGCCCCCACA) 7-12] dizisidir.

Tez çalışması kapsamında hasta ve kontrol DNA örneklerinde yapılan çalışmalar sonucunda, *DAT 1* geninde belirlenen alel sayı ve görülme sıklıkları çizelge 4.2 de, genotip sayı ve görülme sıklıkları ise çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

PZR ürünlerinin büyüklüğü sırası ile 455 bç (7 tekrar), 535 bç (9 tekrar), 575 bç (10 tekrar), 615 bç (11 tekrar), 655 bç (12 tekrar) olarak bulunmuştur (Şekil 4.2).



Şekil 4.2: Hasta grubuna ait *DAT 1* geni amplifikasyon sonuçları.

M: Marker DNA (100 bç'lik). 1,2 11/11, 3 10/12, 4 9/9 ve 5 numaralı örnek ise 7/11 tekrar tipini gösteren amplifikasyon ürünleridir.

Tekrar Dizisi Alel Tipleri	Hasta Grubu Sayı ve Yüzdesi	Kontrol Grubu Sayı ve Yüzdesi
7T	2 (%0,43)	2 (%0,68)
9T	1 (%0,21)	4 (%1,35)
10T	139 (%29,7)	76 (%25,67)
11T	320 (%68,38)	209 (%70,61)
12T	6 (%1,28)	5 (%1,69)
Toplam	468 (%100)	296 (%100)

Çizelge 4.2: Obez hastalar ve kontrol gruplarında *DAT 1* geninin 3'UTR'da bulunan tekrar dizisi sayılarına göre belirlenen alel tipleri, bu alellerin sayıları ve yüzdeleri.

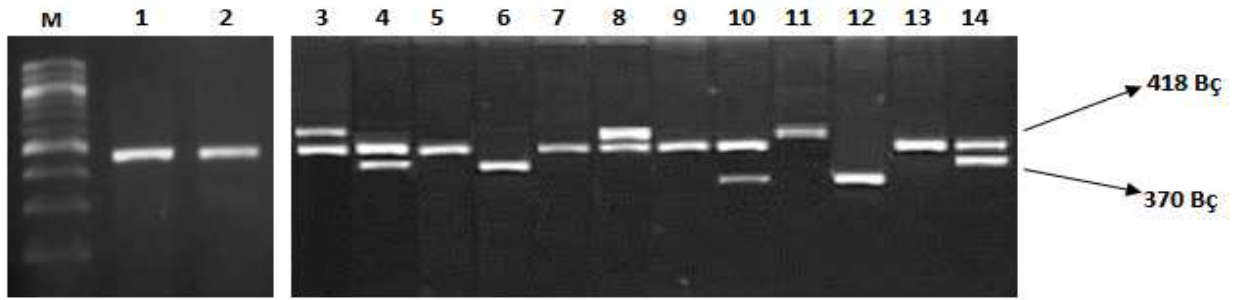
4.3. DNA Örneklerinde *DRD4* Geninin PZR Yöntemi İle Çoğaltılması

Tez çalışması kapsamında obezite ile ilişkisi araştırılmak istenen *DRD4* geninin, 3. ekzon bölgesinde bulunan VNTR polimorfizmlerin incelenebilmesi için ilgili DNA bölgesi seçilerek PZR yöntemiyle çoğaltılmış ve %3 lük konsantrasyondaki agaroz jel elektroforezinde örnekler yürütülerek genotipler belirlenmiştir (Şekil 4.3).

DRD4 geni 3. ekzon bölgesinde bireyler arasında sayı olarak çeşitlilik gösteren tekrar dizisi 48 baz büyüklüğünde ve 2-11 arasında değişen sayılarda tekrar edebilen[(GCGGCCCGACTGTGCGCCCCCGCGCCCGGCCTCCCCCGGACCCCT)2-11] dizisidir.

Tez çalışması kapsamında hasta ve kontrol DNA örneklerinde yapılan çalışmalar sonucunda, *DRD4* geninde belirlenen alel sayı ve görülme sıklıkları çizelge 4.3' te, genotip sayı ve görülme sıklıkları ise çizelge 4.4' te gösterilmiştir.

PZR ürünlerinin büyüklüğü sırası ile 322 bç (2 tekrar), 370 bç (3 tekrar), 418 bç (4 tekrar), 466 bç (5 tekrar) olarak bulunmuştur (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: *DRD4* geni amplifikasyon sonuçları.

M: Marker DNA (100 bç'lik). 1,2,5,7,9 ve 13 4/4, 3 ve 8 4/5, 4 ve 14 3/4, 6 3/3, 10 2/4, 11 5/5, 12 numara ise 2/2 tekrar tipini gösteren amplifikasyon ürünleridir.

Tekrar Dizisi Alel Tipleri	Hasta Grubu Sayı ve Yüzdesi	Kontrol Grubu Sayı ve Yüzdesi
2T	40 (% 8,55)	27 (% 9,12)
3T	23 (% 4,91)	10 (% 3,38)
4T	403 (% 86,11)	254 (% 85,81)
5T	2 (% 0,43)	5 (% 1,69)
Toplam	468 (% 100)	296 (%100)

Çizelge 4.3. Obez hastalar ve kontrol gruplarında *DRD4* geninin 3. ekzon bölgesinde bulunan tekrar dizisi sayılarına göre belirlenen alel tipleri, bu alellerin sayıları ve yüzdeleri.

GENLER	GENOTİP	ÇALIŞMA GRUBU				TOPLAM
		HASTA (n 234) %		KONTROL (n 148) %		
<i>5-HTT</i>	9/12	2	0,85	---	0,0	2
	10/10	22	9,40	11	7,44	33
	10/12	76	32,48	58	39,18	134
	12/12	134	57,26	79	53,38	213
<i>DRD4</i>	2/2	12	5,12	4	2,71	16
	2/4	16	6,84	19	12,83	35
	3/3	1	0,43	---	0,0	1
	3/4	21	8,96	10	6,76	31
	4/4	182	77,8	111	75,00	293
	4/5	2	0,85	3	2,03	5
	5/5	---	0,0	1	0,67	1
<i>DAT 1</i>	9/9	----	0,0	2	1,36	2
	7/10	1	0,43	---	0,0	1
	7/11	1	0,43	2	1,36	3
	9/10	1	0,43	---	0,0	1
	10/10	16	6,84	14	9,45	30
	10/11	101	43,16	45	30,40	146
	10/12	4	1,71	3	2,03	7
	11/11	108	46,15	80	54,05	188
	11/12	2	0,85	2	1,36	4

Çizelge 4.4. Tez kapsamında çalışılan hasta ve kontrol bireylerine ait *5-HTT*, *DAT 1*, *DRD4* gen polimorfizmlerinin genotipleri ve bu genotiplerin görülme sıklıkları.

4.4. İstatistiksel Analizler

Elde edilen veriler SPSS version 15.0 for Windows (SPSS, Inc, Chicago, Illinois, USA) paket programında değerlendirilmiştir. Sonuçlara ki-kare testleri uygulanmıştır. Verilerin karşılaştırılmasında $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Elde edilen sonuçlar hasta ve kontrol bireyler arasında değerlendirilmiştir. Sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığına bakılmıştır.

Hasta ve kontrol gruplarında yapılan çalışmalar sonucunda, *5-HTT*, *DAT 1* ve *DRD4* genlerinde belirlenen alellerin ki-kare analizi ile test edilmesi sonucunda her

üç gende de obez bireyler ve kontrol grubu bireyleri arasında alellerin sayı olarak dağılımı açısından anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Çizelge 4.5).

GEN TİPİ	ALEL TİPİ	HASTA	KONTROL	χ^2 p değeri
5-HTT	9 T	2	-----	0,260
	10 T	120	80	0,671
	12 T	346	216	0,770
DRD4	2 T	40	27	0,784
	3 T	23	10	0,309
	4 T	403	254	0,907
	5 T	2	5	0,075
DAT 1	7 T	2	2	0,643
	10 T	139	76	0,228
	11 T	320	209	0,515
	12 T	6	5	0,645

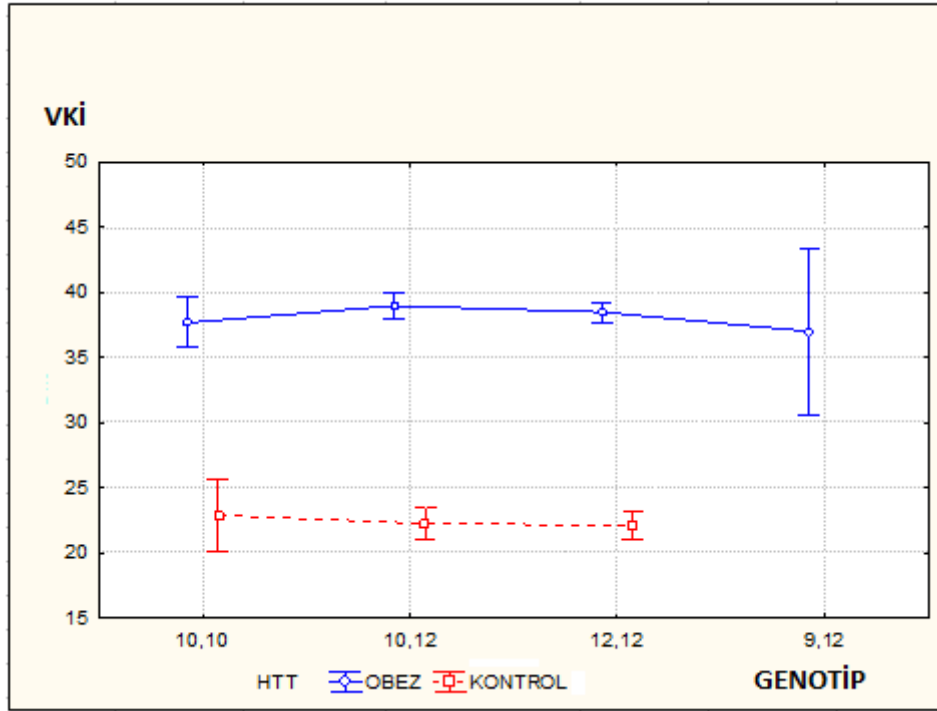
Çizelge 4.5. Hasta ve kontrol gruplarında bulunan alellerin dağılımının ki-kare testi ile karşılaştırılması ve *p* değerleri.

Hasta ve kontrol gruplarında, belirlenen genotipler ve VKİ değerleri arasındaki ilişki de ANOVA testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmada iki farklı durum için *p* değerleri belirlenmiştir. Bu durumlar:

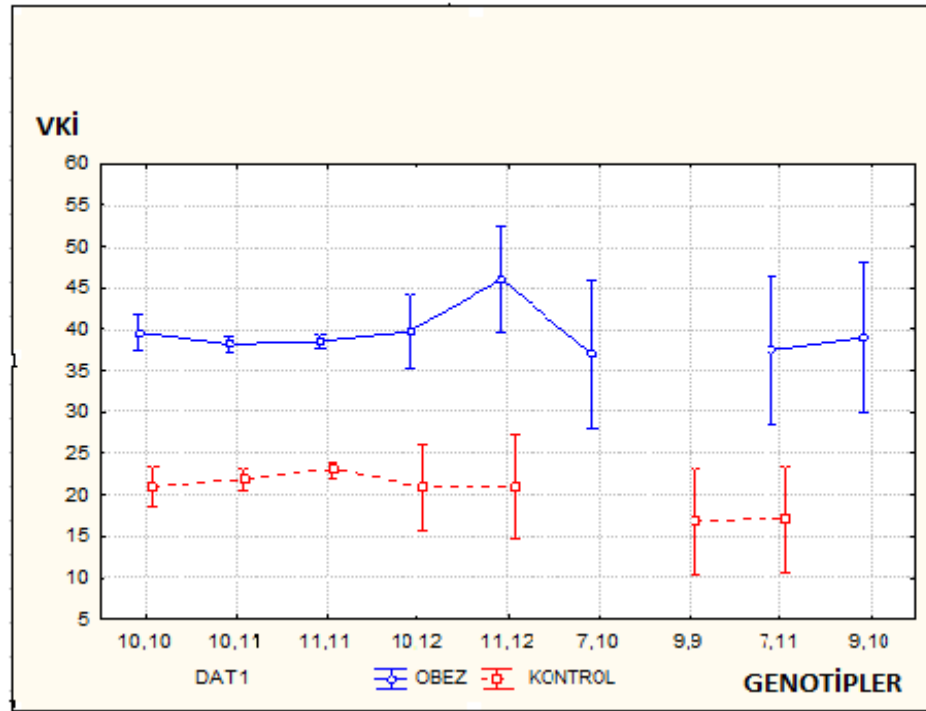
Durum 1: Genotipler ile bu genotipe sahip hasta ve kontrol grubu bireylerinin VKİ değeri ortalamalarının karşılaştırılması.

Durum 2: Morbid obez olan hasta bireylerde en sık gözlenen genotipler ile VKİ değerlerinin karşılaştırılması.

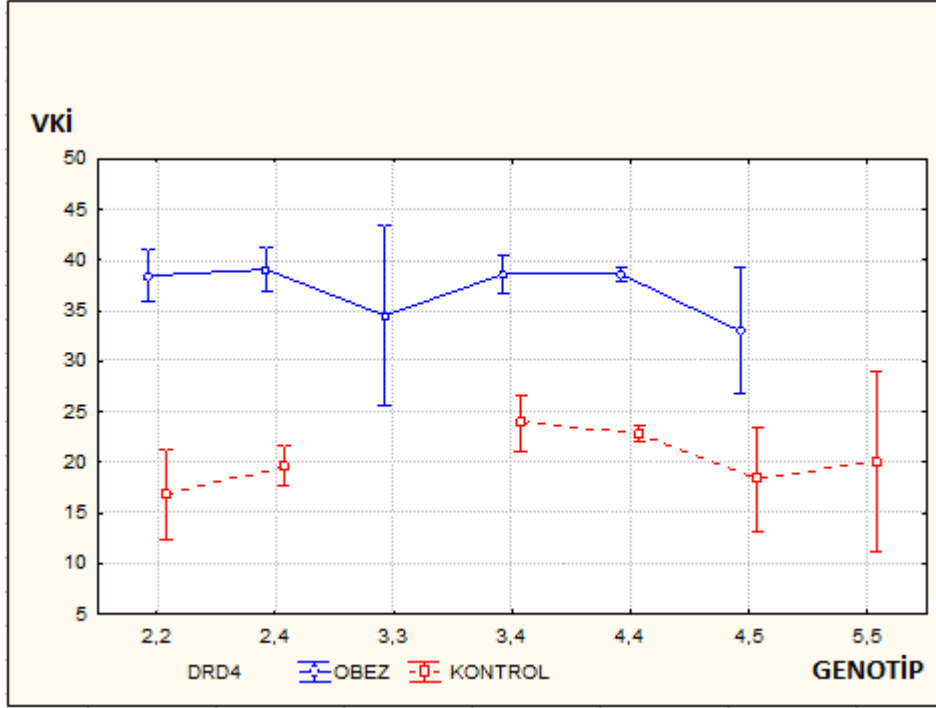
Her bir gen için yukarıda açıklanan 2 farklı duruma ait ANOVA istatistiksel analiz tabloları şekil 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9'da gösterilmiştir.



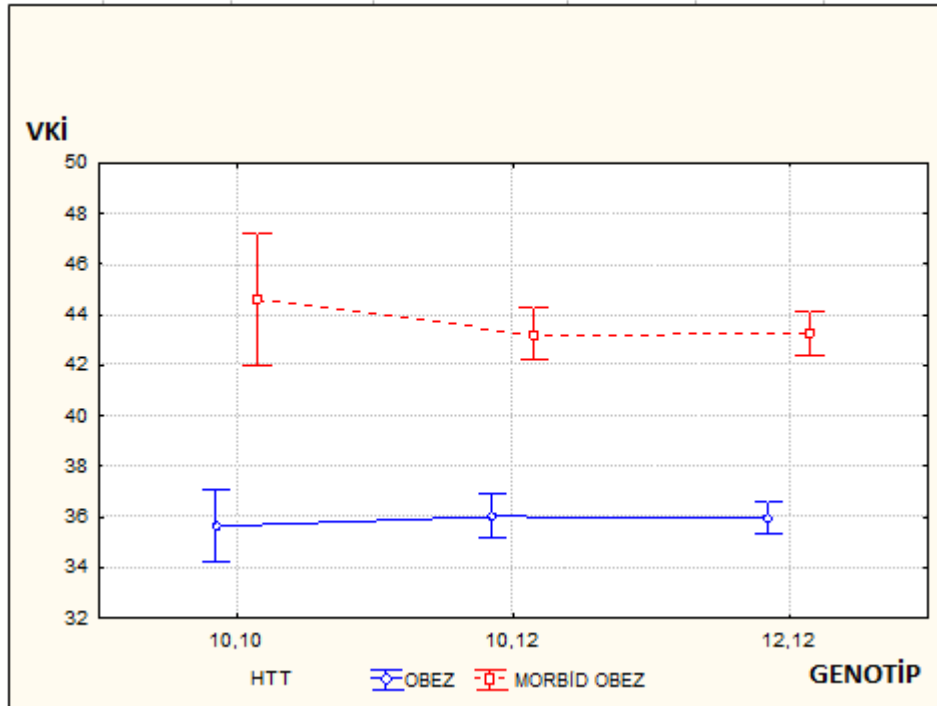
Şekil 4.4: 5-HTT genotipleri için durum 1 analizi tablosu



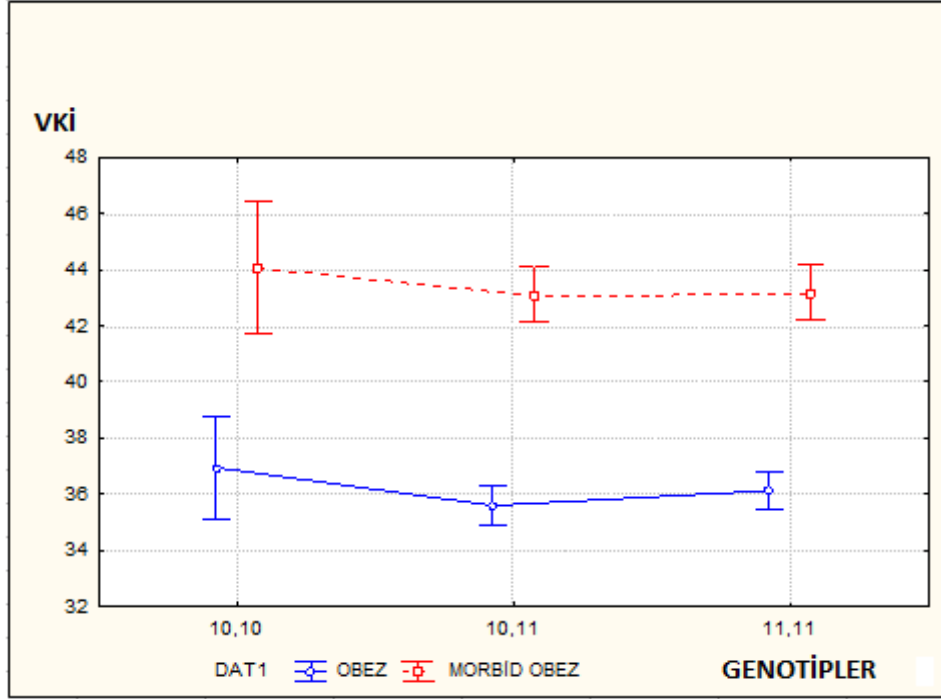
Şekil 4.5. DAT1 genotipleri için durum 1 analizi tablosu



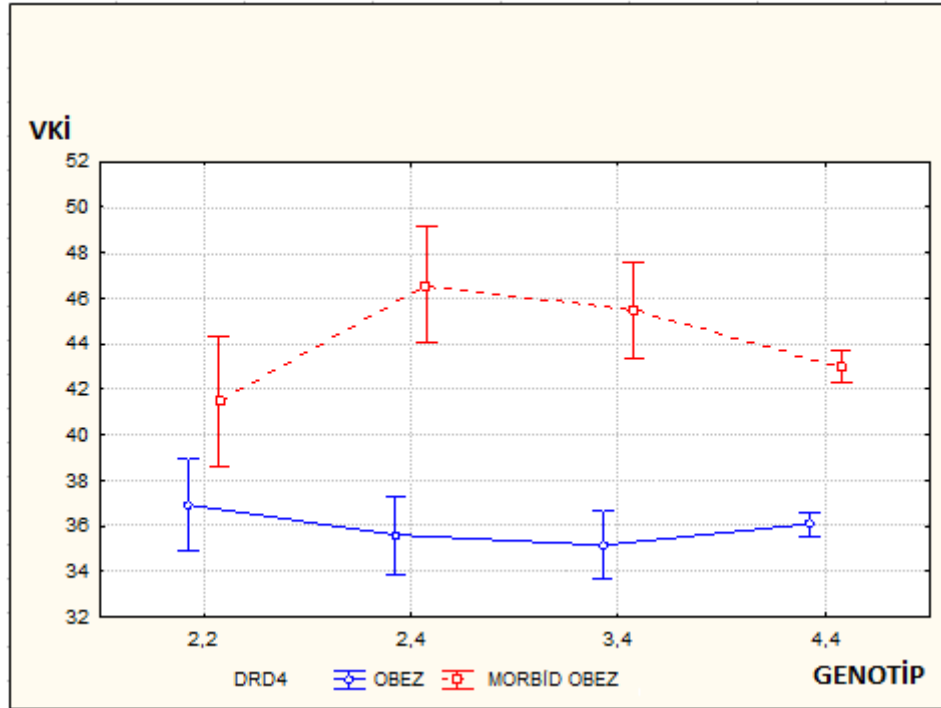
Şekil 4.6 DRD4 genotipleri için durum 1 analizi tablosu



Şekil 4.7. 5-HTT genotipleri için durum 2 analizi tablosu



Şekil 4.8. DAT 1 genotipleri için durum 2 analiz tablosu



Şekil 4.9. DRD4 genotipleri için durum 2 analizi tablosu

Bu karşılaştırma sonucunda, *DRD 4* genotipleri ile bu genotipleri taşıyan bireylerin fenotipleri arasında belirlenen 2 durum için anlamlı ilişkiler bulunmuş, *DAT 1* ve *5-HTT* genotipleri ve bireyler arasında incelenen her iki durum içinde anlamlı ilişki bulunamamıştır (Çizelge 4.6).

GENLER	Durum 1	Durum 2
<i>5-HTT</i>	$p=0,604$	$p=0,555$
<i>DAT 1</i>	$p=0,167$	$p=0,860$
<i>DRD4</i>	$p=0,040$	$p=0,003$

Çizelge 4.6. Belirlenen 2 durum için yapılan ANOVA testinde, genler için bulunan p değerleri.

5.TARTIŞMA

Obezite (şişmanlık), vücudun yağ kütlesinin kas kütlesine oranının aşırı artması sonucu boya göre vücut ağırlığının olması gereken seviyenin üzerine çıkması durumudur. Besinlerle alınan enerji miktarının metabolizma ve fiziksel aktivite ile tüketilen enerji miktarından daha fazla olduğu durumlarda ortaya çıkar. Şişmanlığı ve şişmanlığın düzeyini saptamak için çok çeşitli yöntemler vardır. Vücutta bulunan yağ miktarını doğrudan doğruya göstermemesine karşın en yaygın olarak kullanılan yöntem vücut kütle indeksine (VKİ) göre değerlendirme yöntemidir. VKİ'nin $>30 \text{ kg/m}^2$ olduğu durum obezite olarak tanımlanmaktadır. Yaşın ilerlemesi ile birlikte vücut kütle indeksi değerleri de artış göstermektedir.

Obezite kardiyovasküler bozukluklar, felç, diyabet ve bazı kanser türleri gibi ciddi sağlık sorunlarının ortaya çıkma riskini arttırmaktadır (Adams et al.,2006). Obezite ve fazla kilonun biyolojik, fizyolojik, çevresel, sosyal ve genetik temelleri bulunmaktadır (Spiegel et al., 2005). Ayrıca, vücut ağırlığının düzenlenmesinde rol alan hormonal ve sinirsel faktörler, obeziteye neden olabilirler. Tiroid, hipofiz, böbrek üstü, pankreas ve cinsiyet hormonlarının yapımında ve fonksiyonundaki bozukluklar sonucunda kişinin iştahı artarak, bazal metabolizma hızı yavaşlayabilmekte ve enerji dengesi bozularak şişmanlık ortaya çıkabilmektedir.

Obezitede genetik faktörlerin rolü karmaşıktır. Çevresel bileşenler ve genlerin birbirlerine olan etkisi genetik faktörlerin karmaşıklığını arttırmaktadır (Bougneres., 2002).

2005 yılında 416 farklı çalışma sonucunda obezite hastalığının oluşmasında etkin olduğu düşünülen beyin serotonin ve dopamin sistemlerinde rol alan bazı aday genler araştırılmaya başlanmıştır. Bu nörotransmitter sistemlerin beslenme ve tokluk oluşumu kanalı ile obezite gelişimine davranışsal ve metabolik yanıt verilmesine etkileri araştırılmıştır (Barsh et al., 2002). Dopaminerjik nörotransmisyon, insanlarda beslenme davranışını düzenlemektedir (Small et al., 2003). Bu bağlamda dopamininerjik mekanizma ile ilişkili genler kapsamında *DRD4* ve *DRD2* genleri ve bu genlerle obezite arasında ilişki araştırılmaya başlanmıştır.

Gıda alımı yüksek derecede enerji vererek güç artışına sebep olan bir aktivitedir (Wise., 2006). Besin tüketiminde bazı nörotansmitterlerin etkisi bulunmaktadır. Enerji ihtiyacının giderilmesi için gıda alımı, serotoninerjik nöronlarda serotonin salınımını tetiklemektedir. Serotonin salınımı karbonhidrat alımına bağlı insülin salınımı ve plazma triptofan oranı artışı ile artarken, protein alımı ile değişmemektedir. Serotoninin duygudurum, iştah, ağrı duyusu, kan basıncı gibi psikolojik ve fizyolojik mekanizmalar ile ilişkilidir. Obez hastaların karbonhidrat alımı ve serotonin salınımına bağlı olarak kendilerini daha iyi hissetmelerine neden olmakta, bunun sonucunda bu gıdalara karşı bir düşkünlük meydana gelmektedir. Karbonhidrat alımı insanların kendini iyi hissetmesine neden olmaktadır ve bu durum kilo artışını tetiklemektedir (Wurtman,1995).

Yemek yiyerek kazanılan güç artışı ile dopaminerjik sistem yakından ilişkilidir. Besin tüketimi hayvanlarda ve insanlarda beyin dopamin konsantrasyonunun artmasına sebep olmaktadır (Small et al.,2003). Leddy ve arkadaşları yaptıkları çalışma ile dopamin agonistlerinin enerji alımının azalmasını sağlayarak VKİ'nde artışın engellendiğini göstermişlerdir (Leddy et al., 2004). Welmann ise dopamin antagonistleri ile yaptığı çalışmada bu antagonistlerin enerji alımının ve dolayısıyla vücut ağırlığının artmasına yol açtığını ortaya çıkarmıştır(Welmann, 2005). Besinlerden sağlanan enerji desteğinin kişilere göre değişmesi dopaminerjik aktivitedeki farktan kaynaklanmaktadır. Dopamin aktivitesi hem dopamin reseptörleri yoğunluğuna hem de dopamin taşıyıcılarının miktarına bağlıdır. *DAT 1* geninin 3'UTR bölgesindeki 10 tekrarlı VNTR polimorfizminin görüldüğü aleller *DAT 1* proteininin ifadesinin artmasını tetiklerken bu sayede dopaminin büyük oranda geri alımı ile sinaptik seviyesinin azalmasına sebep olmaktadır (Hainz et al., 2000).

Tez çalışması kapsamında Türk popülasyonundaki obez hastalarda *5-HTT*, *DAT 1*, *DRD4* ve *MAOA* genlerinin polimorfizmleri ile hastalık arasında bir bağlantının olup olmadığının araştırılması hedeflenmiştir.

Çalışmaya, obezite klinik tanılı 234 hasta birey ve kontrol grubu olarak incelemek üzere 148 sağlam birey dahil edilmiştir. Hasta grubu ile kontrol grubu arasındaki allel sayıları dağılımı arasındaki fark ki-kare testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Agaroz jel elektroforez analizi ile incelenen obez hastalar ve kontrol örneklerinin genotip sayı ve yüzde oran dağılımı ise çizelge 4.4'te verilmiştir.

Tez kapsamında yapılan incelemelerde *5-HTT*, *DAT 1*, *DRD4*, genleri VNTR polimorfizmleri durumlarına göre belirlenmiş alel tiplerinin dağılımlarının karşılaştırılması amacıyla yapılan ki-kare testi sonuçlarına göre, bu alellerin kontrol ve hasta grupları arasında dağılımı bakımından Hardy-Weinberg eşitliğinden sapma bulunamamıştır.

5-HTT geninin 2. intron bölgesinde bulunan VNTR polimorfizmi ile obezite oluşumu arasındaki ilişkinin incelenmesine yönelik yapılan herhangi bir araştırma literatürde yer almamaktadır. Ancak *5-HTT* geninin promotor bölgesinde bulunan 44 bç uzunluğundaki insersiyon ve delesyon oluşumunun obezite ve başta intihar eylemi, şizofreni gibi depresif bozukluklarda da etkisi araştırılmıştır. Sookoian ve arkadaşlarının *5-HTT* geninde yer alan *5-HTTLPR* varyantının yetişkin erkek bireylerde obezite oluşma riskine etkilerinin araştırmışlardır. Çalışmalarında 44 bç'lik dizinin insersiyonu ile oluşan uzun aleller ve delesyonu ile oluşan kısa alellerin 637 obez hasta ve 692 zayıf ($VKİ \leq 25 \text{ kg/m}^2$) kontrol grubu arasındaki dağılımını incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda obez hastaların 189'unda bulunan homozigot kısa aleli ile obezite oluşumu arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ($p=0,026$) saptamışlardır (Sookoian et al 2008). Tez çalışması kapsamında yapılan çalışmalarda *5-HTT* geninin 2. intron bölgesi VNTR polimorfizmi incelenmesi sonucunda varlığı belirlenen 9,10 ve 12 tekrarlı alel tiplerinin sayıları, ki-kare testi ile hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırılmıştır. Yapılan ki-kare analizi sonucunda da herhangi bir alel tipinin obez hastalardaki dağılımında anlamlı bir sonuç bulunamamıştır.

Tez kapsamında *5-HTT* geninin 2.intron bölgesinde farklı VNTR' ların oluşturduğu aleller ve bu alelleri taşıyan bireylerin çeşitli fenotipik özellikleri ANOVA analizi ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. ANOVA testi ile yapılan bu analizler sonucunda, hasta ve kontrol grubu bireylerinde bulunan genotipler ile VKİ değerleri arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı saptanmıştır ($p=0,604$). Hasta grubundaki morbid obez ve obez bireylerin, taşıdıkları *5-HTT* genotipleri ile VKİ

değerleri arasındaki bağlantı için yapılan analiz sonucunda da anlamlı ilişki bulunamamıştır($p=0,555$).

DAT 1 geni 3'UTR bölgesinde bulunmakta olan VNTR polimorfizmi ile obezite ilişkisinin araştırılması kapsamında, Leonard ve arkadaşları 29'u obez 45'i obez olmayan çalışma grubu ile bireylerin beslenme, enerji alımı ve *DAT 1* geninin VNTR polimorfizmini karşılaştırmalı olarak incelemiştir. Çalışmalarında hasta ve kontrol grubunu teşkil eden 74 kişinin 31'inde 40 bç'lik tekrar dizisinin 9' lu tekrar alelinin, 41 kişide ise 10 tekrarlı alellerin bulunduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca obez bireylerin 12' sinde 9/9 ve 9/10, 16' sında ise 10/10 tekrar alelinin, obez olmayan kişilerin 19'unda 9/9 ve 9/10, 25'inde de 10/10 tekrar dizilerinin olduğu gösterilmiştir. Araştırmacıların bu veriler ile yaptıkları ki-kare analizi sonucunda $p=0,92$ değeri bulunmuş ve buna bağlı olarak beslenme ve *DAT 1* VNTR polimorfizmleri arasında anlamlı bağlantı olmadığı tespit edilmiştir (Leonard et al., 2007).

Shinohara ve arkadaşları da aşırı beslenme ile birlikte seyreden yeme bozukluğu ve *DAT 1* geninin 3'UTR polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu çalışmada hasta grubu olarak 15-36 yaş aralığında 90 tane yeme bozukluğu teşhisi konulmuş Japon kadın kontrol grubu olarak ise VKİ değerleri ortalama 20 olan 115 tane 18-26 yaş aralığında sağlıklı kadın seçilmiştir. Araştırmacılar 7, 9, 10 ve 11'li tekrar dizilerini 7,9 tekrarlarını kısa, 10 ve 11 tekrarları ise uzun aleller olarak ayırmışlardır. Araştırmanın sonucunda hasta grubunun 19'unda kısa alelleri, 161'inde ise uzun alelleri bulmuşlardır. Kontrol grubunun ise 11' inde kısa, 219'unda ise uzun alelini tespit etmişler ve bu veriler ile yaptıkları ki-kare analizi sonucunda $p>0,99$ değeri ile Hardy-Weinberg eşitliğine uygun bir dağılım gözlenmiştir (Shinohara et al., 2004).

Bu tez çalışmasında *DAT 1* geni 3'UTR bölgesinde bulunan tekrar dizilerinden 9 tekrarlı alel sayısına literatürden incelenen ve örneklem sayıları düşük olarak seçilmiş her iki çalışmanın aksine oldukça az rastlanmıştır. 9 aleli hasta grubunda % 0,21 kontrol grubunda ise %1,35 oranında bulunmuş, istatistiksel değerlendirme açısından yeterli sayıda olmadığından dolayı ki-kare analizine dahil edilmemiştir. Tez çalışmasında daha önceki çalışmalarda tespit edilemeyen 12 tekrarlı alel de

saptanmıştır. Shinohora ve arkadaşlarının çalışmasında buldukları 10-11 tekrarlı alel sayılarının, kısa aleller olarak nitelendirdikleri 7-9 tekrarlı alel sayısından fazla olması, bu tez çalışmasında bulunan 10 ve 11 tekrarlı alel sayılarının diğer alel sayılarına göre fazla olması ile paralellik göstermektedir. Tez çalışmasında elde edilen tekrar dizisi alel sayıları ki-kare analizi ile yorumlanmış ve elde edilen p değerleri (Çizelge 4.5) ile, alellerin dağılımının Hardy-Weinberg eşitliğine uygun olduğu bulunmuştur.

Bu çalışmada *DAT 1* geninin 3'UTR' da farklı tekrarların oluşturduğu aleller ve bu alelleri taşıyan bireylerin çeşitli fenotipik özellikleri ANOVA analizi ile karşılaştırılmıştır. Bu analiz ile, hasta ve kontrol grubu bireylerinde bulunan genotiplerin her biri ile VKİ değerleri karşılaştırılmıştır. Analiz sonucunda anlamlı bir bağlantı bulunamamıştır ($p=0,167$). Ayrıca hasta grubundaki morbid obez ve obez bireylerin, taşıdıkları *DAT 1* genotipleri ile VKİ değerleri arasındaki bağlantı için yapılan analiz sonucunda da anlamlı ilişki bulunamamıştır ($p=0,860$).

Daha önce yapılan çalışmalardan birinde Guo ve arkadaşları 1995, 1996 ve 2002 yılları arasında 3 farklı zamanda 2277 obez hastası üzerinde *DRD4* geninin 3. ekzonunda bulunan 48 bç lik polimorfizm ile VKİ arasındaki ilişkiyi bireylerin yaş, cinsiyet ve etnik köken faktörleri ile karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. Bu çalışma kapsamında obezite ile ilişkili olduğu düşünülen sadece 7 tekrarlı alel değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmaları sonucunda homozigot 7/7 genotipini taşıyan Afrika- Amerikan ($p=0,0047$) ve Hispanik- Amerikan ($p=0,0037$) ırkından olan obez bireylerin VKİ'lerinin bu genotipi taşımayan bireylerin VKİ' lerinden %12,5-15 arasında değişen bir oranda daha az olduğunu, beyaz ırk kökenli bireylerde ise önemli ölçüde bir farkın oluşmadığını göstermişlerdir. Ayrıca heterozigot 7 tekrarlı alele sahip bireylerin 3.ekzonda bulunan ve bu çalışmada göz önüne alınmayan farklı tekrar sayıları ile karakterize olan aleller gibi istatistiksel olarak anlam ifade etmediğini ortaya koymuşlardır (Guo et al., 2006).

Leviten ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada, kış ve sonbahar mevsimlerine bağlı olarak gelişip, yaz, ilkbahar dönemlerinde kendiliğinden düzelme seyiri gösteren bir depresif bir bozukluk olan mevsimsel etki rahatsızlığı teşhisi konan ve bu dönemlerde aşırı olarak beslenen 108 kadının oluşturduğu çalışma grubunda,

DRD4 geni 3. ekzonunda bulunan 7 tekrarlı VNTR polimorfizmi ile VKİ ve mevsimsel etki rahatsızlığı arasında ilişkiyi araştırmışlardır.

Araştırmacılar tarafından, obezite ölçütü için maksimal vücut kitle indeksi (MVKİ) kullanılmıştır. Bu yöntem genelde kullanılan VKİ hesaplamasındaki anlık ölçümle elde edilen kilo değerinden farklı olarak, hastaya yöneltilen soru üzerine öğrenilen 16 yaşından sonraki yaşam süresi boyunca ulaştığı maksimum kilo değeri dikkate alınarak hesap edilmiştir. Çalışma kapsamında örneklerde 7 aleli bulunduran birey sayısı tespit edilmiştir. VKİ'si bilinen 103 örneğin 36'sında 7 tekrar aleli bulunmuş, geriye kalan 67 sinde ise saptanamamıştır. Ayrıca bu tekrar alelini taşıyan ve VKİ'nin 30 dan büyük yani obez olarak değerlendirilen bireylerin sayısı 33, tekrar alelini taşımayanlardan 64'ünün VKİ'nin 30 dan küçük olduğu bulunmuştur. Çalışmada bu veriler doğrultusunda yapılan ki-kare analizi ile elde edilen $p=0,007$ değeri ile mevsimsel etki rahatsızlığına sahip obez olan kişiler ile *DRD4* geninin 3. ekzonunda bulunan 7 tekrarlı VNTR polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu bulunmuştur (Levitan et al., 2004).

Literatür kapsamında *DRD4* geni 3. ekzonunda yapılan VNTR araştırmalarında farklı insan popülasyonlarında genel olarak 4 ve 7 tekrarlı alellerin, diğer alellere göre daha fazla sıklıkta bulunduğu görülmektedir. Guo ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 4 tekrarlı alellerin bütün allere göre oranının %65,3 , 7 tekrarlı alellerin ise %20,4 oranında tespit edildiğini bildirmişlerdir (Guo et al., 2006). Bu tez çalışmasında ise 4 tekrarlı alellerin frekansı % 86,11 olarak bulunmuş 7 tekrarlı alel ise bulunamamıştır. Tez çalışmasında *DRD4* geni 3. ekzonunda VNTR polimorfizminin görüldüğü 4 farklı alel tipinin obez hastalarda sayı olarak anlamsız bir dağılım göstermeleri literatürden örnek verilen çalışmaların sonucu ile paralellik göstermektedir.

Bu çalışmada *DRD4* geni 3. ekzonunda farklı tekrarların oluşturduğu aleller ve bu alelleri taşıyan bireylerin çeşitli fenotipik özellikleri ANOVA analizi ile karşılaştırılmıştır. İlk olarak bu gende tespit edilen bütün genotip çeşitleri ile bu genotipleri bulunduran bireylerin VKİ ortalamaları karşılaştırılmıştır. Hasta ve kontrol grubu bireyleri arasında yapılan analiz sonucunda farklı VNTR genotipleri ile VKİ arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ($p=0,040$). Ayrıca hasta grubundaki

morbid obez ve obez bireylerin, taşıdıkları *DRD4* genotipleri ile VKİ değerleri arasındaki bağlantı için yapılan analiz sonucunda, anlamlı ilişki bulunmuştur ($p=0,003$).

Tez çalışması kapsamında *MAOA* geni promotor bölgesinde bulunun ve genin etkinliğini değiştirebilen VNTR polimorfizmleri araştırılmak istenmiştir. *MAOA* geni promotor bölgesinde araştırılmak istenen bölgenin PZR tekniği ile çoğaltılabilmesi için gerekli olan primerler, literatürde yer alan bir çalışmada doğruluğu denenmiş olan primer dizilerinden alınmıştır. Ancak yapılan bütün deneyler sonucunda *MAOA* geni için seçilen bu primer çiftinin değişkenlik gösteren amplifikasyon ürünleri verdiği görülmüştür. Bunun sonucunda blast yöntemi kullanılarak bu primer çiftinin genomda farklı bölgelere bağlandığı tespit edilmiştir. Hataya götürebilecek bir sonuçtan kaçınmak için her bir PZR analizinin tekrar edilmesine rağmen istenilen sonuç alınamamış dolayısıyla bu gen için istatistiksel analiz yapılamamıştır.

Obezite, oluşumunda çok fazla faktörün ve genetik temelinde de pek çok genin etkili olduğu düşünülen metabolik bir hastalıktır. Günümüze kadar, obezite oluşumunda farklı mekanizmalar aracılığı ile rol alan genler ortaya çıkarılmıştır. Bu tez çalışmasında da son yıllarda obeziteye olası etkileri olduğu düşünülen *DRD4*, *DAT 1*, *5-HTT* ve *MAOA* genlerinde VNTR polimorfizmleri incelenmiştir. Özellikle literatürde *5-HTT* geninin 2. intron bölgesinde bulunan VNTR polimorfizlerinin obezite kapsamında henüz ayrıntılı çalışılmaması göz önünde bulundurulursa, örneklem büyüklüğünün arttırılarak yapılacak sonraki çalışmalar ile bu konunun daha iyi değerlendirilmesine olanak sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Adams, K.F., Schatzkin, A., Harris, T.B. et al., 2006, Overweight, obesity, and mortality in a large prospective cohort of persons 50 to 71 years old, *N Engl J Med.*, 355:763–778.
- Akbulut Ç.G., Özmen, M.M., Besler, T., 2007, Çağın Hatalığı Obezite: Tanımı, Saptanması, Sınıflandırılması, Nedenleri, Kronik Hastalıklarla İlişkileri ve Tedavi Yöntemleri, TÜBİTAK, Bilim ve Teknik Sayı 3, Sayfa 2-3.
- Amara, S.G., Kuhar, M.J., 1993, Neurotransmitter transporters: recent progress, *Annu. Rev. Neurosci.*, 16: 73–93.
- Andrew D Paterson, Glen A Sunohara and James L Kennedy (1999) Dopamine D4 Receptor Gene: Novelty or Nonsense *Neuropsychopharmacology* 21 3-16.10.1038.
- Asghari, V., Sanyal, S., Buchwaldt, S., Paterson, A., Jovanovic, V., Van Tol, H.H., 1995, Modulation of intracellular cyclic AMP levels by different human dopamine D4 receptor variants, *J Neurochem.*, 65:1157–1165.
- Aslan, K., Serdar, Z., Tokullugil, H.A., 2004, Multifonksiyonel Hormon: Leptin, *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, Bursa, Sayı 30 (2)*, 113-118.
- Aytekin, O., Temizhan, A., Abacı, A., Kozan, Ö., Erol, Ç., Öngen, Z., Çelik Ş., 2008, Obesity and abdominal obesity, an alarming challenge for cardio-metabolic risk in Turkish adults - Original Investigation, *Anadolu Kardiyol. Derg.*, 8: 401-6.
- Balcioglu, A., Wurtman, R.J., 1998, Effects of phentermine on striatal dopamine and serotonin release in conscious rats: In vivo microdialysis study, *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 22: 325–328.

- Barsh, G.S., Schwartz, M.W., 2002, Genetic Approaches to Studying Energy Balance: Perception and Integration, *Nat. Rev. Genet.*, 3: 589–600.
- Bell, C.G., Walley, A.J., Froguel, P., 2005, The genetics of human obesity, *Nat. Rev. Genet.*, 6 (3): 221-34.
- Bjorntorp, P., Rosmond, R., 2000, Obesity and cortisol, *Nutrition*, 16: 924-936.
- Bouchard, C.L. 2001, The genetics of human obesity: Recent progress. *Bull Mem Acad R Med Belg* 156(10-12), 455-464.
- Bougneres, P., 2002, Genetics and obesity and type 2 diabetes, *Diabetes*, 51(supplement 3).
- Brabant G, Horn R, Mayr M, Wurster U, Schnabel D, Heidenreich F., 2000, Free and protein bound leptin are distinct and independently controlled factors in energy regulation. *Diabetologia*; 43; 438-42
- Britz, B., Siegfried, W., Ziegler, A., et al., 2000, Rates of psychiatric disorders in a clinical study group of adolescents with extreme obesity and in obese adolescents ascertained via a population based study, *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2: 1707-1714.
- Canetti L, Bachar E, Berry EM., 2002, Food and emotion. *Behav Processes*, 60:157-164.
- Castelnuovo-Tedesco, P., Schievel, D., 1975, Studies of super obesity, I: psychological characteristics of super obese patients, *Int. J. Psychiatry Med.*, 6: 465-480 .
- Clement, K., Boutin, P., Froguel, P., 2002, Genetics of obesity, *Am. J. Pharmacogenomics*, 2(3): 177-187.

- Erdal, M. E., Herken, H., Barlas, Ö., Erdal, N., 2000, Serotonin Transporter Gen Polimorfizmi, Klinik Psikiyatri, 3:192-196.
- Eren, İ., Erdi, Ö., 2003, Obez Hatalarda Psikiyatrik Bozuklukların Sıklığı, Klinik Psikiyatri, 6: 152-157.
- Faith MS, Matz PE, Jorge MA., 2002, Obesity-depression associations in the population. J Psychosom Res, 53:935-942
- Fiskerstrand, C.E., Lovejoy, E.A., Quinn, J.P., 1999, An intronic polymorphic domain often associated with susceptibility to affective disorders has allele dependent differential enhancer activity in embryonic stem cells, FEBS Lett., 458: 171-174.
- Flegal, K.M., Carroll, M.D., Ogden, C.L., Johnson, C.L., 2002, Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999–2000, JAMA, 288: 1723–27.
- Flory, J.D., Manuck, S.B., Ferrell, R.E., et al., 1999, Neuroticism is not associated with the serotonin transporter (5-HTTLPR) polymorphism, Mol. Psychiatry, 4:93-96.
- Farooqi IS, O'Rahilly S.,2005, Monogenic obesity in humans. Annu Rev Med; 56:443-58.
- Fuemmeler, B.F., Agurs-Collins, T.D., McClernon, F.J., Kollins, S.H., Kail, M.E., Bergen A.W. and Ashley-Koch, A.E., 2008, Genes Implicated in Serotonergic and Dopaminergic Functioning Predict BMI Categories, Obesity, 16: 348–355.
- Fuke, S., Suo, S., Takahashi, N., Koike, H., Sasagawa, N., Ishiura, S., 2001, The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression, The Pharmacogenomics Journal, 1: 152–156.

- Galic, S., Oakhill, J.S., Steinberg, G.R., 2010, Adipose tissue as an endocrine organ, *Mol. Cell Endocrinol.*, 316 (2): 129-39.
- Ganong, W.F., 1995, *Review of Medical Physiology*, A Lange Medical book, 17th ed.: 1,215.
- Garpenstrand, H., Norton, N., Damberg, M., Rylander, G., Forslund, K., Mattila-Evenden, M., et al., 2002, Regulatory monoamine oxidase a promoter polymorphism and personality traits, *Neuropsychobiology*, 46: 190-193.
- Giros, B., Caron, M.G., 1993, Molecular characterization of the dopamine transporter, *Trends Pharmacol. Sci.*, 14: 43–49.
- Guo, G., North K. and Choi S., 2006, DRD4 Gene Variant Associated With Body Mass: The National Longitudinal Study of Adolescent Health, *Hum. Mutat.*, 27(3): 236–241.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., 1997, *Human Physiology and mechanisms of disease*, W.B. Saunders, 16:486-584.
- Hahn, M.K., Blakely, R.D., 2002 Monoamine transporter gene structure and polymorphisms in relation to psychiatric and other complex disorders, *Nature The Pharmacogenomics Journal* 2: 217–235.
- Heils, A., Teufel, A., Petri, S., Stober, G., Riederer, P., Bengel, D., et al., 1996, Allelic variation of human serotonin transporter gene expression, *J. Neurochem.*, 66: 2621-2624.
- Heinz, A., Goldman, D., Jones, D. W., Palmour, R., Hommer, D., Gorey, J. G., et al. 2000, Genotype influences in vivo dopamine transporter availability in human striatum, *Neuropsychopharmacolog* , 22: 133-139.
- Himas-Hagen, J., 1997, Technical comments: On raising energy expenditure in ob/ob mice, *Science*, 276: 1132-33.

International Association For The Study of Obesity 2010.

Iversen, L.L., 1971, Role of transmitter uptake mechanisms in synaptic neurotransmission, *Br. J. Pharmacol.*, 41: 571–591.

Jonsson, E.G., Norton, N., Gustavsson, J.P., Oreland, L., Owen, M.J., Sedvall, G.C., 2000, A promoter polymorphism in the monoamine oxidase, A gene and its relationships to monoamine metabolite concentrations in CSF of healthy volunteers, *J. Psychiat.r Res.*, 34: 239-244.

Jorm AF, Henderson AS, Jacomb PA, Christensen H, Korten AE, Rodgers B, et al. .,2000, Association of smoking and personality with a polymorphism of the dopamine transporter gene: result from a community survey. *Am J Med Genet*;96:331-4.

Kırlı S.,2000, Depresyonun Biyolojik Olupumu ve Farmakolojik Tedavisi.

Kim, S., Moon, S., Popkin, B.M., 2000, The nutrition transition in South Korea, *Am. J. Clin. Nutr.*, 71: 44–53.

Leddy, J. J., Epstein, L. H., Jaroni, J. L., Roemmich, J. N., Paluch, R. A.,Goldfield, G. S., et al.,2004, the influence of methylphenidate on eating in obese men. *Obesity Research*, 12, 224–232.

Lenzinger, E., Neumeister, A., Praschak-Reider, N., et al., 1999, Behavioral effects of tryptophan depletion in seasonal affective disorder associated with the serotonin transporter gene, *Psychiatry Res.*, 22: 241-246.

Leonard H. E, Jennifer L. T, Brad J. N, Robbert J. S, Richard W. E, John J. L.,2007, Food Reinforcement, the Dopamine D2 Receptor Genotype, and Energy Intake in Obese and Nonobese Humans

- Lesch, K.P., Bengel, D., Heils, A., Sabol, S.Z., Greenberg, B.D., Petri, S., et al., 1996, Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region [see comments], *Science*, 274: 1527-1531.
- Lesch, K.P., Greenberg, B.D., Higley, J.D., Bennett, A., Murphy, D.L., 2002, Serotonin transporter, personality, and behavior. Toward a dissection of gene-gene and gene-environment interaction, *Molecular Genetics and the Human Personality*, DC: American Psychiatric Publishing, p. 109-135.
- Levitan RD, Masellis M, Lam RW, et al., 2004, Childhood inattention and dysphoria and adult obesity associated with the dopamine D4 receptor gene in overeating women with seasonal affective disorder. *Neuropsychopharmacology*; 29:179–86.
- Lichter JB, Barr CL, Kennedy JL, Van Tol HH, Kidd KK, Livak KJ. A., 1993, hypervariable segment in the human dopamine receptor D4 (DRD4) gene. *Hum Mol Genet*;2:767–73.
- Lu, D., Willard, D., Patel, I.R., et al., 1994, Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating hormone receptor, *Nature*, 371(6500): 799-802.
- MacKenzie, A., Quinn, J., 1999, A serotonin transporter gene intron 2 polymorphic region correlated with affective disorders, has allele-dependent differential enhancer-like properties in the mouse embryo, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 96: 15251-15255.
- Macht M (1999) Characteristics of eating in anger, fear, sadness and joy. *Appetite*, 33:129-139.
- Martel, P., Fantino, M., 1996, Mesolimbic dopaminergic system activity as a function of food reward: A microdialysis study, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 53: 221– 6.

- Marti, A., Moreno-Aliaga, M.J., Hebebrand, J., Martinez, J.A., 2004, Genes, lifestyles and obesity, *International Journal of Obesity*, 28: 29-36.
- McConway MG, Johnson D, Kelly A, Griffin D, Smith J, Wallace AM. ,2000, Differences in circulating concentrations of total, free and bound leptin relate to gender and body composition in adult humans. *Ann Clin Biochem*; 37:717-23.
- Michaelovsky, E., Frisch, A., Rockah, R., et al., 1999, A novel allele in the promoter region of the human serotonin transporter gene, *Mol. Psychiatry*, 4:97-99.
- Nakazato, M., Murakami, N., Date, Y., et al., 2001, A role for ghrelin in the central regulation of feeding, *Nature*, 409(6817):194-8.
- Nathan KI, Schatzberg AF.,1994, Mood disorders, *Review of Psychiatry*. JM Oldham, MB Riba (Ed), Washington, American Psychiatric Press, 171-186.
- Offenbaecher, M., Bondy, B., de Jonge, S., et al., 1999, Possible association of fibromyalgia with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region, *Arthritis Rheum*, 42: 2482-2488.
- Ogden, C.L., Flegal, K.M., Carroll, M.D., Johnson, C.L., 2002, Prevalence and trends in overweight among US children and adolescents, 1999–2000, *JAMA*, 288: 1728-32.
- Ohara, K., Suzuki, Y., Ochiani, M. et al., 1999, A variable-number tandem repeat of the serotonin transporter gene and anxiety disorder, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 23: 55-65.
- Okamura F, Tashiro A, Utumi A et al., 2000, Insulin resistance in patients with depression and its changes during the clinical course of depression: minimal model analysis. *Metabolism*, 49:1255-1260.

Okday, M., Baltacı I., 2008, Türkiye Klinikleri Psikiyatri Özel Sayısı.

Onat A, Ceyhan K, Sansoy V Et al., 2003 Yetişkinlerimizde abdominal obezite ve obezite göstergeleri: insülin, glukoz intolerans, inflamasyona etkileri, koroner risk öngördürücülüğü. Türk Kardiyol Dern Arş 2003;31:65-73

Özata, M., , 2003, Obezite tanı ve tedavisi, Ankara, GATA Basımevi. p.6-28.

Popkin, B.M., 1994, The nutrition transition in low-income countries, Nutr. Rev., 52: 285–98.

Popovic, V., Duntas, L.H., 2005, Brain somatic cross-talk: ghrelin, leptin and ultimate challengers of obesity, Nutr. Neurosci., 8(1): 1-5.

Rankinen, T., Zuberi, A., Chagnon, Y.C., Weisnagel, S.J., Argyropoulos, G., Walts, B., et al., 2006, The human obesity gene map: the 2005 update, Obesity (Sil ver Spring), 14(4):529-644.

Racine SE, Culbert KM, Larsen CL, Klump KL.,2009, The possible influence of impulsivity and dietary restraint on associations between serotonin genes and binge eating. Journal of Psychiatric Research;16:1278e86.

Roche, A.F., Chunlea, W.M., 1992, New approaches to the clinical assessment of adipose tissue, Obesity ed Bjorntorp P, Brodoff BN, JB Lippincott Co: 55-66.

Sabol, S.Z., Hu, S., Hamer, D., 1998, A functional polymorphism in the monoamine oxidase a gene promoter, Hum. Genet., 103:273-279.

Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis,K.B., Erlich, H.A., 1988, Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase, Science, New Series, 239: 487-491.

- Sakurai, T., Amemiya, A., Ishii, M., et al., 1998, Orexins and orexin receptors: A family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior, *92* (4): 573–85.
- Shinohara, M., Mizushima, H., Hirano, M., Shioe, K., Nakazawa, M., Hiejima, Y., Ono, Y., Kanba, S., 2004, Eating disorders with binge-eating behaviour are associated with the s allele of the 3'-UTR VNTR polymorphism of the dopamine transporter gene, *J. Psychiatry Neurosci.*, 29(2): 134-7.
- Sander T, Harms H, Podschus J, Finckh U, Nickel B, Rolf A, et al., 1997, Allelic association of a dopamine transporter gene polymorphism in alcohol dependence with withdrawal seizures or delirium. *Biol Psychiatry* ;41:299-304.
- Small, D.M., Jones-Gotman, M., Dagher, A., 2003, Feeding-Induced Dopamine Release in Dorsal Striatum Correlates With Meal Pleasantness Ratings in Healthy Human Volunteers, *Neuroimage*, 19(4):1709-15.
- Sookoian, S., Gianotti, T.F., Gemma, C., Burgueio A., and Pirola, C. J., 2008, Contribution of the Functional 5-HT TLPR Variant of the SLC6A4 Gene to Obesity Risk in Male Adults, *Obesity*, 16: 488–491.
- Soriano-Guillen, L., Barrios, V., Campos-Barros, A., Argente, J., 2004, Ghrelin levels in obesity and anorexia nervosa: Effect of weight reduction or recuperation, *J. Pediatr.*, 144(1): 36-42.
- Spiegel, A., Nabel, E., Volkow, N., Landis, S., Li, T.K., 2005, Obesity on the brain, *Nat. Neurosci.*, 8: 552–553.
- Telatar, H., Şimşek, H., 1993, International Association for The Study of Obesity, *Gastroenteroloji Medikomat Basım Yayım*, 124-32.

- Tschöp, M., Weyer, C., Tataranni, A., et al., 2001, Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity Diabetes, *Clinical Endocrinology*, 56(2) : 203-206.
- Tschöp, M., Smiley, D., Heiman, M.L., 2000, Ghrelin induces adiposity in rodents, *Nature*, 407(6806): 908-13.
- Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevelans Çalışması 2010.
- Van Strien T, Engels RCME, Van Leeuwe J, Snoek HM., 2005, The Stice model of overeating: tests in clinical and non-clinical samples. *Appetite* ;45:205e13.
- Van Strien T, Oosterveld P., 2008, The Children's DEBQ (DEBQ-C) for assessment of restrained, emotional and external eating in 7e12 year old children. *International Journal of Eating Disorders*; 4:72e81.
- Van Strien T, Herman CP, Verheijden MW., 2009, Eating style, overeating and overweight in a representative Dutch sample: does external eating play a role? *Appetite* ;5:380e7.
- Van Strien T, Snoek GM, van der Zwaluw CS, 2010, Engels RCME. Parental control and the dopamine D2 receptor gene (DRD2) interaction on emotional eating in adolescence. *Appetite*;54:255e61
- Van Tol, H.H., Bunzow, J.R., Guan, H.C., Sunahara, R.K., Seeman, P., Niznik, H.B., Civelli, O., 1991, Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine, *Nature* 350:610–614.
- Van Tol HHM, Wu CM, Guan H-C, Ohara K, Bunzow JR, Civelli O, Kennedy J, Seeman P, Niznik HB, Jovanovic V., 1992, Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. *Nature*, 358:149-152

Weinsier, R.L., Hunter, G.R., Heini, A.F., Goran, M.I., Sell, S.M., 1998, The etiology of obesity: relative contribution of metabolic factors, diet, and physical activity, *Am. J. Med.*,105(2):145-50.

Wellman, P.J., 2005, Modulation of eating by central catecholamine systems. *Current Drug Target, Pub. Med.*, 6(2): 191–199.

West, J.B., 1991, *Best and Taylor's Physiological basis of medical practice*, 12th ed. Williams and Wilkins, 741-774.

Williams, R.B., Marchuk, D.A., Gadde, K.M., Barefoot, J.C., Grichnik, K., Helms, M.J., et al., 2003, Serotonin-related gene polymorphisms and central nervous system serotonin function., *Neuropsychopharmacology*, 28: 533-541.

Wise, R. A. (2006). Role of brain dopamine in food reward and reinforcement. *Philosophical Transactions of the Royal Society, Series B*, 361,1149–1158

World Health Organization, 2008, Global strategy on diet, physical activity and health. Available at: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/facts/obesity/en/>.

World Health Organization, 2000, Obesity

YAVUZ D., 2009, Obezite Türkiye Klinikleri *J Endocrin-Special Topics*;2(3):30-5

The Practical Guide: Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults, 2000, NIH, Publication Number 00-4084, October.

<http://www.who.int/bmi/index.jsp>

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mustafa Uzun

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Yılı : 1983

Medeni Hali : Evli

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise 1998.- 2001.. Gazi Çiftliği Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı) ANKARA

Lisans 2002.-2006.. Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü

Yabancı Dil: İngilizce

İş Tecrübesi:

2009- Halen T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı

Tabiat Varlıklarını Koruma Genel Müdürlüğü (Biyolog)