

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOLİNESTERAZ 3 HOMOLOG İNHİBİTÖRLERİNE DİRENÇ
GENİ rs1528133 POLİMORFİZMİNİN YEME ALIŞKANLIĞI
VE ŞİŞMANLIK İLE İLİŞKİSİ**

Meliha KOLDEMİR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Belgin SÜSLEYİCİ DUMAN**

İSTANBUL 2011

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOLİNESTERAZ 3 HOMOLOG İNHİBİTÖRLERİNE DİRENÇ
GENİ rs1528133 POLİMORFİZMİNİN YEME ALIŞKANLIĞI
VE ŞİŞMANLIK İLE İLİŞKİSİ**

**Meliha KOLDEMİR
(520108006)**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Belgin SÜSLEYİCİ DUMAN**

İSTANBUL 2011

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince, bana bilimsel düşünce becerisi kazandıran, laboratuvar tekniklerini itina ile bizzat öğreten, karşılaştığım bilimsel problemlere karşı her zaman çözümleyici katkılarda bulunarak bilimsel gelişimimde göstermiş olduğu özel ilgi ve desteklerinden dolayı, her zaman anlayışlı olan ve maddi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli hocam Sn. Doç. Dr. Belgin SÜSLEYİCİ DUMAN' a teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek Lisans eğitimim süresinde yardımlarını esirgemeyen FBE Müdürü ve Biyoloji Bölüm başkanımız Sn. Prof. Dr. Meral ÜNAL'a, çalışmaya dahil edilmiş olan hasta ve kontrollerin seçiminde, klinik değerlendirilmelerinde ve nutrigenomik değerlendirilmelerin yapılabilmesi için çalışmaya dahil edilen kişilere ait beslenme bilgilerinin temininde göstermiş oldukları desteklerden dolayı Türk Diyabet Cemiyeti Başkanı Sn. Prof. Dr. Nazif BAĞRIAÇIK'a ve Türkiye Diyabet Cemiyeti Hastanesi Başhekimi Sn. Dr. Sema YILDIZ'a, çalışmaya dahil edilmiş olan hasta ve kontrollere ait biyokimyasal verilerin değerlendirilmesindeki desteklerinden dolayı Türkiye Diyabet Cemiyeti Hastanesi Biyokimya Uzmanı Sn. Dr. Hikmet BAYER'e, çalışmaya dahil edilmiş olan hasta ve kontrollere ait kan örnekleri ve bilgilerin sağlanmasındaki yardımlardan dolayı Türkiye Diyabet Cemiyeti Hastanesi Laborantı Sn. Alin GEZER'e, laboratuvar çalışmalarım süresince spektrofotometrik ölçümlerdeki teknik desteklerinden dolayı Sn. Prof. Dr. Adnan AYDIN'a ve Sn. Dr. Sebahattin DENİZ'e, çalışma gruplarına ait qPZR genetik analiz sistemlerini temin eden Sn. Aykut BAYKUT'a, gerekli malzemelerin teminini ivedilikle gerçekleştiren Sn. Hatice ATLI DALLAR'a, genotipleme analizleri sırasındaki desteklerinden dolayı Sn. Mükerrerem AKAYDIN'a, çalışma verilerinin istatistiksel analizlerini ve değerlendirmelerini yapan Sn. Yrd. Doç. Dr. Penbe ÇAĞATAY'a, çalışma süresince yardımlarını gördüğüm arkadaşlarım Sn. Bio. Öğrt. Çiğdem KAHVECİ'ye ve Zübeyir GÜNDÜZ'e teşekkür ederim. Beni her konuda destekleyen, karşılaştığım tüm zorluklarda daima yanımda olan, yoğun çalışmalarım sırasında gösterdikleri sabır ve anlayışlarından dolayı çok sevgili aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Nisan 2011

Meliha KOLDEMİR

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
SEMBOLLER.....	viii
KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER.....	xi
TABLolar.....	xii
BÖLÜM I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
I.1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
BÖLÜM II. GENEL BİLGİLER.....	3
II.1 ŞİŞMANLIĞIN TANIMI.....	3
II.2 ŞİŞMANLIK TİPLERİ.....	3
II.2.1 Hiperselüler Şişmanlık.....	3
II.2.2 Hipertrofik Şişmanlık.....	3
II.2.3 Abdominal Şişmanlık.....	4
II.2.4 Gluteo-femoral (Periferal) şişmanlık.....	4
II.2.5 Ekzojen (Basit) Şişmanlık.....	4
II.2.6 Sekonder Şişmanlık.....	5
II.3 ŞİŞMANLIĞIN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN	
GÖSTERGELER.....	5
II.3.1 Vücut Yağ Oranı.....	5
II.3.2 Vücut Kütle İndeksi.....	5
II.3.3 Bel/Kalça Oranı.....	7
II.3.4 Cilt Kalınlığı.....	7
II.3.5 Biyoelektriksel İmpedans.....	8
II.3.6 Potasyum İzotopu.....	8

II.3.7 Hidrodansitometre.....	8
II.3.8 <i>Dual Energy X-Ray Absorbsiometry</i>	8
II.3.9 Bilgisayarlı Tomografi ve Manyetik Rezonans Görüntüleme.....	8
II.4 ŞİŞMANLIĞA NEDEN OLAN RİSK FAKTÖRLERİ.....	9
II.4.1 Genetik Faktörler.....	9
II.4.1.1 Şişmanlığa Neden Olan Genler.....	9
II.4.2 Çevresel Faktörler.....	13
II.4.3 Beslenme Alışkanlığı.....	14
II.4.4 Fiziksel Aktivite.....	14
II.4.5 Yaş.....	15
II.4.6 Cinsiyet.....	15
II.4.7 Psikolojik Etki.....	16
II.4.8 İntrauterin Etki.....	17
II.5 ŞİŞMANLIĞIN İLİŞKİLİ OLDUĞU HASTALIKLAR.....	17
II.5.1 Şişmanlık ve Tip 2 Diyabet İlişkisi.....	17
II.5.2 Şişmanlık ve Hipertansiyon İlişkisi.....	17
II.5.3 Şişmanlık ve Dislipidemi İlişkisi.....	18
II.5.3.1 Lipoprotein Metabolizması.....	18
II.5.3.2 Total-kolesterol.....	19
II.5.3.3 Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol.....	19
II. 5.3.4 Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol.....	19
II. 5.3.5 Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol.....	20
II. 5.3.6 Trigliserid.....	20
II.5.4 Şişmanlık ve Koroner Kalp Hastalığı İlişkisi.....	21
II.6 ŞİŞMANLIK SIKLIĞI.....	22
II.7 RIC-3 VE TUB GENLERİNİN YAPISI.....	22
II.7.1 RIC-3 Fonksiyonu.....	23
II.7.1.1 RIC-3 Proteininin Hücre İçi Yerleşimi.....	25
II.7.1.2 RIC-3 Proteininin Etki Mekanizması.....	25
II.7.1.3 RIC-3 Geni rs1528133 Polimorfizminin Beslenme İle İlişkisi.....	25
II.7.2 TUB Geninin Fonksiyonu.....	26
II.7.3 TUB Geninin Şişmanlık İle İlişkisi.....	26
II.8 NÜRTİGENOMİK.....	28

II.9 FARMAKOGENOMİK.....	28
II.10 TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMİ.....	29
II.11 POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU	29
II.12 KANTİTATİF POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU.....	30
II.12.1 Erime Eğrisi Analizi.....	31
II.12.2 Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonun Kullanım Alanları.....	31
II.12.3 Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyon Sisteminin Avantajları.....	32
II.12.4 Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyon Sisteminin Dezavantajları.....	32
II.13 KANTİTATİF POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONUNDA KULLANILAN BOYA VE PROB SİSTEMLERİ.....	32
II.13.1 SYBR Green I Boyası.....	32
II.13.2 Diziye Özgün Floresan İşaretli Problar.....	35
II.13.2.1 TaqMan® Probu.....	35
II.13.2.2 Moleküler Boncuk Yöntemi.....	37
II.13.2.3 Hibridizasyon Prob Yöntemi.....	38
II.13.2.4 Scorpiyon Primerler.....	38
II.13.2.5 Simple Prob.....	39
III. ÇALIŞMALAR.....	40
III.1 MATERYAL.....	40
III.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler.....	40
III.1.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	40
III.1.1.2 Kullanılan Çözeltiler.....	41
III.1.2 Araç ve Gereçler.....	41
III.1.3 Çalışma Grubu.....	42
III.1.3.1 Şişman ve Şişman Olmayan Gruplara Ait Klinik Veriler.....	42
III.1.4 Temel Gıda Alımı ve İlişkili Parametreler.....	43
III.1.4.1 Vücut Yağı Ölçümü.....	43
III.2 KULLANILAN İNCELEME YÖNTEMLERİ.....	43
III.2.1 Glisemik Yük.....	43
III.2.3 Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanma Koşulları.....	43

III.2.4 Uygulanan Biyokimyasal Laboratuvar Analizleri.....	43
III.2.5 Kandan Genomik DNA İzolasyonu.....	44
III.2.5.1 <i>High Pure PCR Template Preparation</i> Kit Protokolü ile Genomik DNA İzolasyonu.....	44
III.2.5.2 Yüksek Tuz Konsantrasyonları Kullanılarak Genomik DNA İzolasyonu.....	45
III.2.6 DNA Miktarının Ölçülmesi.....	46
III.2.7 DNA'nın Saflaştırılması.....	47
III.2.8 TUB Geninin Çoğaltılması ve rs1528133 Tek Nükleotid Polimorfizminin Tespiti ile İlgili Yöntemler.....	47
III.2.8.1 Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile rs1528133 Genotiplerinin Belirlenmesi.....	48
III.2.8.2 RIC-3 geni rs1528133 Genotiplerinin Belirlenmesinde Kullanılan Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyon Protokolü.....	50
III.2.9 İstatistiksel Analizler.....	53
BÖLÜM IV. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	55
IV.1 SONUÇLAR.....	55
IV.2 TARTIŞMA.....	68
BÖLÜM V. SON DEĞERLENDİRMELER VE ÖNERİLER.....	71
KAYNAKLAR.....	74
EKLER.....	95
ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

KOLİNESTERAZ 3 HOMOLOG İNHİBİTÖRLERİNE DİRENÇ GENİ rs1528133 POLİMORFİZMİNİN YEME ALIŞKANLIĞI VE ŞİŞMANLIK İLE İLİŞKİSİ

Bu çalışmada, RIC-3 geni rs1528133 polimorfizminin şişman ve şişman olmayan kontrol bireylerdeki allel sıklıklarının saptanması, rs1528133 genotiplerinin antropometrik, diyabet ve şişmanlık ile ilişkili parametreler üzerindeki etkilerinin belirlenmesi, lojistik regresyon analizi ile de şişmanlık risk faktörlerinin araştırılması, RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin beslenme alışkanlıklarının belirlenmesi üzerindeki nutrigenomik etkilerin araştırılması ve hipertansiyon/tip 2 diyabet/koroner arter hastalığı tedavisinde kullanılan ilaçlarla olan etkileşimlerinin saptanarak, toplumumuza özgü farmakogenomik verilerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışma, şişmanlık tanısı konmuş 85 şişman ve 41 şişman olmayan bireyde yapıldı. RIC-3 geni rs1528133 genotipleri qPZR yöntemi ile saptandı.

RIC-3 geni rs1528133 genotip sıklıkları şişmanlarda, homozigot yabancı tip (A/A), heterozigot (A/C) genotipler için sırasıyla %89.4, %10.6 ve şişman olmayan grupta ise %92.7, %7.3 olarak tespit edildi. Çalışma gruplarımızda polimorfik (C/C) genotipli birey saptanmadı. Genotip sıklıkları çalışma grupları arasında farklı bulunmadı. Çalışmamızda, rs1528133 heterozigot genotipindeki kişilerin (%16.7) yabancı tipte genotiptekilere kıyasla (%46.9) daha düşük sıklıkta antihipertansif ilaç kullandığı saptandı.

RIC-3 geni rs1528133 heterozigot genotipe sahip olan bireylerin, homozigot yabancı tip genotipe sahip kişilere oranla yüksek glisemik yüke sahip, yağdan ve proteinden zengin beslenme alışkanlıkları olduğu belirlendi. RIC-3 geni rs1528133 genotipini heterozigot olarak taşıyanlarda anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü, beta-bloker ve asetilsalisilik asitten başka alternatif antihipertansif ilaçların etkilerinin araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Nisan 2011

Meliha KOLDEMİR

ABSTRACT

RELATIONSHIP OF RESISTANT TO INHIBITORS OF CHOLINESTERASE-3 rs1528133 POLYMORPHISM WITH EATING HABITS AND OBESITY

The aim of this study was to determine the allele frequencies of RIC-3 gene rs1528133 polymorphism in obese and non-obese control subjects, to detect the effects of rs1528133 genotypes on antropometric, diabetes and obesity related parameters, to search for obesity risk factors with logistic regression analysis, to understand the effects of RIC-3 gene rs11528133 genotypes on eating habits and with drugs used in hypertension/type 2 diabetes/coronary artery disease treatment, and thus to detect nutrigenomic and pharmacogenomic data specific for our population.

The study was performed on 85 obese and 41 non-obese conrol subjects. RIC-3 gene rs1528133 genotypes were determined with qPCR method.

The RIC-3 gene rs1528133 genotype frequencies and were determined respectively as %89.4 for homozygous wild type (A/A), %10.6 for heterozygous (A/C) in obese and %92.7 for A/A, %7.3 for A/C in non-obese patients. The polymorphic genotype (C/C) was not detected in our study group. Genotype frequencies were not found to differ among study groups. The percentage of rs1528133 heterozygous individuals (16.7%) using antihypertensive drugs were lower in comparison to wild type genotype carriers (46.9%).

Individuals heterozygous for the RIC-3 gene rs1528133 variation were found to have eating habits preferring higher glycemc load, fat and protein rich diet compared to homozygous wild type genotype carriers. Alternative antihpertensive drugs and their effects are needed to be explored other than angiotensin converting enzyme inhibitor, beta-blocker and acetylsalicylic acid.

April 2011

Meliha KOLDEMİR

SEMBOLLER

A	: Adenin
C	: Sitozin
°C	: Santigrat derece
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
dl	: Desilitre
kb	: Kilo baz (1000 nükleotid)
KCl	: Potasyum klorür
kg	: Kilogram
KHCO₃	: Potasyum bi karbonat
M	: Molar
m²	: Metre kare
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
NaCl	: Sodyum klorür
NaOH	: Sodyum hidroksit
NH₄Cl	: Amonyum klorür
ng	: Nanogram (Gram'ın milyarda biri)
Nm	: Nanomol
MgCl₂	: Magnezyum klorür
rpm	: Dakikada dönme hızı
µl	: Mikrolitre
µg	: Mikrogram
µM	: Mikromolar

KISALTMALAR

ACDC	: Adiponektin
ADE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörü
AGRP	: Agouti-ilişkili peptid
ASA	: Asetilsalisilik Asit
ATP III	: <i>Adult Treatment Panel III</i>
BB	: Beta Bloker
DEXA	: <i>Dual Energy X-Ray Absorbsiometry</i>
DKB	: Diyastolik Kan Basıncı
DNA	: Deoksi Nükleik Asit
DRD2	: Dopamin D2 reseptör
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
FRET	: <i>Fluorescence Resonance Energy Transfer</i>
GNB3	: G protein $\beta 3$ alt ünite geni
HDL-kol	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein-kolesterol
HT2C	: 5-hidroksitriptamin (serotonin) reseptör 2 C
IDF	: Uluslararası Diyabet Federasyonu
IDL-kol	: Orta yoğunluklu lipoprotein-kolesterol
IL6	: İnterlökin 6
INS	: İnsülin
KAH	: Korener Arter Hastalığı
KKH	: Koroner Kalp Hastalığı
LDL-kol	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-kolesterol
LDLR	: LDL reseptör
LEP	: Leptin
LEPR	: Leptin reseptör
LIPE	: Lipaz hormon hassasiyeti
MC3-R	: Melanokortin 3 reseptör gen
MC4-R	: Melanokortin 4 reseptör gen
Mİ	: Miyokard İnfarktüsü
mRNA	: Mesajcı Rino Nükleik Asit
MS	: Metabolik Sendrom
MVA	: Mevcut Vücut Ağırlığı
nAChRs	: Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri
NCR3C1	: Glikokortikoid reseptör
NHANES	: <i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
NHLBI	: <i>National Heart Lung and Blood Institute</i>
NTRK2	: Nörotropik tirozin kinaz reseptör tip 2
NYP	: Nöropeptid Y

OAD	: Oral Antidiyabetik
OD	: Optik Dansite
PAGE	: Poliakrilamid Jel Elektroforezi
PPARγ	: Peroksisom proliferator activated reseptöry
POMC	: Proopiomelanokortin
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RIC-3	: Kolinezteraz 3 homolog inhibitörlerine direnç geni
SH	: Standart Hata
SIM1	: <i>Single-minded 1</i>
SKB	: Sistolik Kan Basıncı
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizm
SPSS	: <i>Statistical Package for Social Sciences</i>
TAMRA	: 6-karboksitetrametil-rodamin
TEKHARF	: Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri
TG	: Trigliserid
T-kol	: Total-kolesterol
T_m	: Erime Sıcaklığı
TNFα	: Tümör nekroz faktör α
TURDEP	: Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi
T2DM	: Tip 2 Diabetes Mellitus
UCP1	: <i>Uncoupling protein 1</i>
UCP2	: <i>Uncoupling protein 2</i>
UCP3	: <i>Uncoupling protein 3</i>
UV	: Ultraviyole
VDR	: D2 vitamin reseptör
VKİ	: Vücut Kütle İndeksi
VLDL-kol	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-kolesterol
VYO	: Vücut Yağ Oranı
YK	: Yağ Kütlesi
YVK	: Yağsız Vücut Kütlesi
qPZR	: Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
β2-AR	: β 2-adrenerjik reseptör
β3-AR	: β 3-adrenerjik reseptör
5-HT3R	: 5-Hidroksi Triptamin Reseptörü
6-FAM	: 6-karboksifloresin

ŞEKİLLER

SAYFA NO

Şekil II.1 TUB geninin 11. kromozom üzerindeki yerleşimi.....	23
Şekil II.2 RIC-3 geninin 11. kromozom üzerindeki yerleşimi.....	23
Şekil II.3 TUB geni ve yakın bölge SNP'leri.....	23
Şekil II.4 İnsan RIC-3 proteinin kesilebilir sinyal dizisi konumu.....	24
Şekil II.5 İnsan RIC-3 proteinin membran topolojisi.....	25
Şekil II.6 SYBR Green'in kimyasal yapısı.....	33
Şekil II.7 Sybr Green I floresansının çift iplikli DNA molekülüyle birleşmiş hali...33	
Şekil II.8 SYBR Green yönteminin.....	34
Şekil II.9 Sybr Green I yöntemi kullanılarak elde edilmiş çift iplikli hedef DNA'nın termal denatürasyon eğrisi.....	35
Şekil II.10 TaqMan Probe yöntemi.....	36
Şekil II.11 Moleküler Boncuk yöntemi.....	37
Şekil II.12 Hibridizasyon prob yöntemi.....	38
Şekil II.13. Scorpiyon primerlerle qPZR.....	39
Şekil III.1. Kandan genomik DNA izolasyonu.....	45
Şekil III.2 DNA'nın miktar ve saflığının spektrofotometrik olarak belirlenmesi	46
Şekil III. 3 RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin standart erime eğrileri.....	50
Şekil III. 4. <i>LightCycler</i> ® 2.0 kapiller sistemi, <i>Roche</i>	50
Şekil III.5 <i>LightCycler</i> ® <i>FastStart DNA Master HybProbe</i> kiti.....	51
Şekil III.6 <i>LightCycler</i> ® <i>FastStart DNA Master HybProbe</i> kiti, kapillerler ve soğuk blok.....	51
Şekil III.7 Cam kapillerlere qPZR reaksiyon karışımının dağıtılması	51
Şekil III.8 Cam kapillerlerin qPZR cihazına yerleştirilme işlemi.....	52
Şekil III.9 Tm: 57.04 ⁰ C. rs1528133 yabancı tip genotip (A/A).....	52
Şekil III.10 Tm: 56.15 ve 65.14 ⁰ C. rs1528133 heterozigot tip genotip (A/C).....	53
Şekil III.11 Tm: 0 ⁰ C. Negatif Kontrol ait erime eğrisi	53
Şekil IV.1 Şişman (VKİ > 25) ve şişman olmayan (VKİ < 25) kontrol gruplarında RIC-3 geni rs1528133 genotip dağılımlarının grafik ile gösterilmesi.....	56

TABLULAR

	<u>SAYFA NO</u>
Tablo II.1 Abdominal şişmanlık kriterleri.....	4
Tablo II.2 NHLBI (<i>National Heart Lung and Blood Institute</i>) kriterlerine göre VKİ tabanlı şişmanlık sınıflandırılması.....	6
Tablo II.3 WHO (<i>World Health Organization</i>) kriterlerine göre VKİ tabanlı şişmanlık sınıflandırılması.....	6
Tablo II.4 ATP III (<i>Adult Treatment Panel III</i>) kriterlerine göre VKİ tabanlı şişmanlık sınıflandırılması	7
Tablo II.5 NHANES (<i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>) kriterlerine göre VKİ tabanlı şişmanlık sınıflandırılması.....	7
Tablo II.6 Şişmanlık ile ilgili genetik sendromlar.....	10
Tablo II.7 Şişmanlığa neden olan tek gen mutasyonları	11
Tablo II.8 İnsanlarda obezite fenotipiyle ilişkili olan genler.....	12
Tablo II.9 ATP III kriterlerine göre lipid düzeylerinin sınıflandırılması.....	21
Tablo III.1 RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin belirlenmesinde kullanılan qPZR reaksiyon karışımı.....	49
Tablo III.2 <i>LightCycler®</i> Programı.....	49
Tablo IV.1 Şişman ve şişman olmayan çalışma gruplarında RIC-3 rs1528133 genotip sıklıkları.....	56
Tablo IV.2 Şişman ve şişman olmayan çalışma gruplarına ait, şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyonla ve demografik özellikler ile ilişkili göstergeler.....	57
Tablo IV.3 Abdominal şişman ve abdominal şişman olmayan çalışma gruplarına ait şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyonla ve demografik özellikler ile ilişkili göstergeler.....	58
Tablo IV.4 Çalışma grubundaki kişilere ait hastalıklardaki RIC-3 geni rs1528133 genotip dağılımları.....	59
Tablo IV.5 RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyonla ve demografik özellikler ile ilişkili parametreler üzerine etkileri	60

Tablo IV.6 Şişman ve şişman olmayan çalışma gruplarına ait hastalık profilleri.....	61
Table IV.7 Şişman ve şişman olmayan çalışma grublarına ait ilaç kullanımı.....	62
Tablo IV.8 Abdominal şişman ve abdominal şişman olmayan grublardaki ilaç kullanımı.....	63
Tablo IV. 9 RIC-3 genirs1528133 genotiplerinin farmakogenomik etkileri.....	64
Tablo IV.10 RIC-3 geni rs1528133 genotiplerine göre glisemik yük değerleri.....	65
Tablo IV.11 RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin beslenme yoluyla alınan yağ ve protein kullanımına etkisi.....	66
Tablo IV.12 Çoklu lojistik regresyon analizi ile merkezi şişmanlık ile ilişkili risk faktörleri.....	67

BÖLÜM I

GİRİŞ VE AMAÇ

I.1 GİRİŞ VE AMAÇ

Şişmanlık kalori alımı ve enerji harcanmasındaki dengesizlikten kaynaklanan yağ dokusu oranındaki artış olarak tanımlanmaktadır. Şişmanlık, vücut yağının artması ile gerek çevresel gerekse genetik faktörler tarafından etkilenen kronik bir hastalıktır [1, 2]. Modern yaşamın, ortaya çıkmasını hızlandırdığı akut hastalıklardan olan şişmanlığın görülme sıklığındaki artış ve ortaya çıkış yaşının azalması büyük oranda çevresel faktörlerden kaynaklanmaktadır. Bu çevresel faktörlerin en önemlileri hazır gıdaların tüketilmesi ve azalmış fiziksel aktivitedir.

Tip 2 diyabet, hipertansiyon, dislipidemi, kardiyovasküler hastalıklar ve çeşitli kanser tipleri (meme, prostat, kolon) şişmanlığın sebep olduğu komplikasyonlardandır [3]. Şişmanlığa neden olan aday genlerden biri TUB genidir. TUB geninin bilinen 13 adet polimorfizminden üç tanesi (rs1528133, rs2272382 ve rs2272383) şişmanlık ile ilişkilidir [4]. TUB geninin 22 kb distalinde kolinesteraz inhibitörlerine direnç (*resistant to inhibitors of cholinesterase*, RIC-3) geninin intron bölgesi içerisindeki 8106329. pozisyonunda rs1528133 polimorfizmi bulunmaktadır. Sinyal iletiminde görev yaptığı bilinen RIC-3 geninin şişmanlık ile bağımsız ilişkisi henüz kesinlik kazanmamıştır [5]. Evrimsel olarak yüksek derecede korunmuş olan TUB geninin hipotalamusta fazla miktarda ifade edilmekte olup bir transkripsiyon faktörü gibi davrandığı düşünülmektedir [6]. TUB genindeki bir mutasyon tubby proteininde fonksiyon kaybına ve geç başlangıçlı şişmanlık, insülin direnci ve nörosensör bozukluklara neden olmaktadır [7]. Literatürdeki bilgiler insanlarda tubby proteininin vücut ağırlığının düzenlenmesinde koruyucu etkileri olduğunu doğrulamaktadır.

Şişmanlık ve tip 2 diyabetin genetik temellerinin büyük oranda benzerlik gösterdiği bilinmektedir. Ülkemizde görülme sıklıkları oldukça fazla olan şişmanlık ve tip 2 diyabet için risk genlerinden biri olabileceğini düşündüğümüz RIC-3 geninin rs11528133 genotiplerinin sıklıkları daha önce yapılan hiçbir çalışmada belirlenmemiştir. Farklı şişmanlık derecelerindeki kişilerde (fazla kilolu, şişman sınıf I ve II, ileri derecede şişman (şişman sınıf III)) etiyolojik risk faktörü olarak RIC-3 geni rs11528133 genotip sıklıklarının belirlenmesi ve rs1528133 genotiplerinin şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ile ilişkili göstergeler ve temel demografik karakterler ile etkileşimlerini araştırmak çalışmamızın temel amaçlarını oluşturmaktadır. Ayrıca, yağ kütlesi, dislipidemi, tip 2 diyabet, bel çevresi, yaş ve RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin çoklu lojistik regresyon analizi ile şişmanlık için ne derecede ve ne yönde risk faktörü olduklarının araştırılması çalışmamızın bir diğer amacıdır. RIC-3 geni rs11528133 genotiplerinin beslenme alışkanlıklarının belirlenmesi üzerindeki nutrigenomik etkilerini araştırmak ve hipertansiyon/tip 2 diyabet/koroner arter hastalığı tedavisinde kullanılan ilaçlarla olan etkileşimlerinin de saptanarak, toplumumuza özgü farmakogenomik verilerin belirlenmesi çalışmamızda ulaşılması öngörülen diğer hedefler arasındadır.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

II.1 ŞİŞMANLIĞIN TANIMI

Şişmanlık kalori alımı ve enerji harcamasındaki dengesizlikten kaynaklanan yağ doku oranındaki artış ve bunun sonucu olarak vücut yağının artması ile gerek çevresel gerekse genetik faktörler tarafından etkilenen kronik bir hastalıktır [1, 2]. Şişmanlığın en önemli nedeni, tüketilen enerji miktarından daha fazla enerji alınmasıdır [8]. Şişman bireylerin vücutlarında aşırı miktarda yağ depolanmaktadır. Sağlıklı bireylerde, kadınların vücut ağırlığının % 20-25'i ve erkeklerin % 15-18'i yağ dokusundan oluşmaktadır. Şişman kadınlarda yağ oranı % 30'un, erkeklerde ise % 25'in üzerindedir [9].

II.2 ŞİŞMANLIK TIPLERİ

Vücutta aşırı miktarda yağ depolanması olarak tanımlanan şişmanlığın farklı tipleri bulunmaktadır.

II.2.1 Hiperselüler Şişmanlık

Yağ hücre (adiposit) sayısının artması ile seyreden çocukluk çağı şişmanlık tipidir. Nadir olarak erişkin dönemde ortaya çıkmaktadır.

II.2.2 Hipertrofik Şişmanlık

Adiposit hacminin ve lipid içeriğinin artması ile tanımlanmaktadır. Erişkin dönemde ve gebelikte gelişen şişmanlık tipidir.

II.2.3 Abdominal Şişmanlık

Abdominal şişmanlık bel çevresindeki yağın birikimi olarak ifade edilmektedir (Tablo II.1). Abdominal şişmanlığın tanısında, bazı yayınlar bel çevresi ölçümünü yeterli bir parametre olarak öngörmektedir [10]. En son yayınlanan Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) kriterlerine göre bel çevresi erkeklerde 94 cm, kadınlarda 80 cm'den fazla olan bireyler abdominal şişman olarak kabul edilmektedir [11] (Tablo II.1). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) belirlediği tanı kriterlerine göre ise bel/kalça oranı erkeklerde 0.95'un, kadınlarda ise 0.8'in üzerinde olduğunda abdominal şişmanlık tanısı konabilmektedir [12].

Abdominal (santral) şişmanlıkta hipertansiyon, dislipidemi ve koroner arter hastalığı riski daha fazladır. Abdominal yağ dokusu kana sürekli serbest yağ asitleri salgılamaktadır. Bu durum sonucunda insülin direncine bağlı dislipidemi ve hiperglisemi oluşmaktadır [13].

Tablo II.1 Abdominal şişmanlık kriterleri [11, 14]

Cinsiyet	Bel Ölçümü (cm)
ATP III kriterlerine göre	
<i>Erkek</i>	>102
<i>Kadın</i>	>88
IDF kriterlerine göre	
<i>Erkek</i>	>94
<i>Kadın</i>	>80

II.2.4 Gluteo-femoral (Periferal) şişmanlık

Gluteofemoral şişmanlık, alt karın, kalça ve uylukta yağ dokusu birikimi ile oluşmaktadır.

II.2.5 Ekzojen (Basit) Şişmanlık

Çocukluk çağında gelişen şişmanlıkta genellikle tıbbi bir problem gözlenmemektedir. Bu tip şişmanlık ekzojen veya basit şişmanlık adıyla ifade edilmektedir. Bu gruba dahil olan çocukların çok az bir kısmında çabuk yorulma,

nefes almada güçlük ve ekstremitte ağrıları gözlenmektedir. İştah durumları genellikle normaldir ve beslenme öykülerinde şeker, şekerli gıda, yağlı gıda ve hazır gıda tüketimi oldukça fazladır [15].

II.2.6 Sekonder Şişmanlık

Sekonder şişmanlık tanısı konmuş olan bireylerde hastalık sebebi olarak önemli endokrin olan veya endokrin olmayan nedenler gözlenmektedir. Hipotiroidi ve büyüme hormon eksikliği şişmanlık nedenidir. Ayrıca hipotalamik tümörler, kistler, infeksiyonlar ve infiltrasyonlar tokluk merkezini tahrip ederek şişmanlığa neden olmaktadır [16].

II.3 ŞİŞMANLIĞIN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN GÖSTERGELER

Şişmanlık tanısında vücut yağ miktarını ve dağılımını öğrenme amaçlı, uygulanabilirliği ve doğruluk düzeyleri farklı olan göstergeler bulunmaktadır.

II.3.1 Vücut Yağ Oranı

Bireyin fazla kilolu olması şeklinde tanımlanan şişmanlıkta vücut yağ oranı (VYO) normalden fazladır [14, 17].

Vücut yağ oranı:

$VYO = 1.2 (\text{Vücut Kütlesi İndeksi}) + 0.23 (\text{Yaş}) - 10.8$ (Kadın için 0/ Erkek için 1) + 5.4 formülü ile belirlenmektedir [18].

Bu oran, kadınlarda %20-30, erkeklerde ise %12-20 olarak belirlenmiştir [14].

II.3.2 Vücut Kütle İndeksi

Günümüzde şişmanlığın tayininde boy ve vücut ağırlığının kullanılmasıyla kişinin şişman olup olmadığını tayin etmek pratik ve objektif bir ölçümdür. Kilogram cinsinden ağırlığın, metre cinsinden boyun karesine bölünmesiyle elde edilen vücut kütle indeksi (VKİ) en sık kullanılan şişmanlık tanı yöntemi [19].

Şişmanlığın sınıflandırılması çoğunlukla VKİ ölçümüne göre yapılmakta olup, uluslararası düzeydeki farklı kuruluşların tanımladıkları şişmanlık kriterleri bulunmaktadır (Tablo II.2, Tablo II.3, Tablo II.4, Tablo II.5).

Tablo II.2 NHLBI (*National Heart Lung and Blood Institute*) kriterlerine göre VKİ tabanlı şişmanlık sınıflandırılması [20]

	VKİ (kg/m²)	Şişmanlık sınıfı
Zayıf	< 18.5	
Normal	18.5 – 24.9	
Fazla kilolu	25.0 – 29.9	
Şişman	30.0 – 34.9	I
	35.0 – 39.9	II
İleri derecede şişmanlık	40.0 +	III

Tablo II.3 WHO (*World Health Organization*) kriterlerine göre VKİ tabanlı şişmanlık sınıflandırılması [21]

Sınıflandırma	VKİ (kg/m²)
	Sınır aralığı
Zayıf	<18.50
İleri derecede Zayıf	<16.00
Orta Zayıf	16.00 - 16.99
Hafif Zayıf	17.00 - 18.49
Normal Aralık	18.50 - 24.99
Fazla Kilolu	≥25.00
Pre-şişman	25.00 - 29.99
Şişman	≥30.00
Şişman sınıf I	30.00 - 34.99
Şişman sınıf II	35.00 - 39.99
Şişman sınıf III	≥40.00

Tablo II.4 ATP III (*Adult Treatment Panel III*) kriterlerine göre VKİ tabanlı şişmanlık sınıflandırılması [14]

Sınıflandırma	VKİ (kg/m ²)
Fazla Kilolu	25 – 29.9
Şişman	≥ 30

Tablo II.5 NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*) kriterlerine göre VKİ tabanlı şişmanlık sınıflandırılması [22]

Kilo	VKİ	Boy uzunluğu, cm	Boy uzunluğu, cm
		(Erkek)	(Kadın)
Normal kilolu	18.5–24.9	121–163	108–144
Fazla kilolu	25.0–29.9	164–195	145–173
Şişman	30 ve yukarısı	196 ve yukarısı	174 ve yukarısı

II.3.3 Bel/Kalça Oranı

Bireyin vücut yağ doku dağılımı, bireyin vücudunda bulunan yağ doku miktarı kadar önemlidir. Vücut yağının abdominal bölgede yoğunlaşması şişmanlık ile ilişkili hastalıkların (Tip 2 diyabetes mellitus, hipertansiyon, dislipidemi ve koroner arter sendromu) oluşum riskini arttırmaktadır. Vücut yağının gluteofemoral bölgede birikimi ise şişmanlık ile ilişkili hastalıkların meydana gelme riskini azaltmaktadır. Bel/kalça oranı, kadınlarda 0.8, erkeklerde ise 0.95 üzerinde olduğunda abdominal şişmanlık bulunmaktadır [12, 23, 24].

II.3.4 Cilt Kalınlığı

Cilt kalınlığı, deri kıvrımının özel bir pergel ölçümü ile hesaplanmaktadır. Ölçüm triseps, biceps, subskapular ve suprailiyak bölgelerin cilt altı yağ dokusu hakkında bilgi vermektedir. Bu yöntemin uygulanması sırasında, ölçümü yapan kişi aynı olduğunda bile farklı sonuçlar elde edilebildiğinden güvenilir bir yöntem değildir. Şişman bireylerde, triseps bölgesinde yapılan ölçümlerde kadınlarda 30 mm üstü, erkeklerde 19 mm üstündeki değerler ve subskapular bölgede yapılan

ölçümlerde kadınlarda 27 mm üstü, erkeklerde 22 mm üstündeki değerler gözlenmektedir [25].

II.3.5 Biyoelektriksel İmpedans

Elektrolit içeren vücut sıvılarının, elektrik akımı iletmesine dayanan bir yöntemdir. Yağ dokunun %10'u sudan oluşmaktadır. Dokuya verilen elektrik akımı yardımıyla dokudaki sıvı kütlesi ile ters orantılı impedans ölçümü yapılmaktadır. Biyoelektriksel impedans yöntemi kullanılarak şişmanlık tanısında hata ihtimali %2'dir [25].

II.3.6 Potasyum İzotopu

Bu yöntem ile vücut hücre kütlesi değerlendirilmektedir. Vücuttaki potasyumun %95'inin hücre içinde olması nedeniyle potasyum izotopu ile alınan ölçümler vücut hücre kütlesi için indeks oluşturmaktadır. Bu yöntem yağ dokusu hakkında dolaylı yoldan bilgi vermektedir [25].

II.3.7 Hidrodansitometre

Vücuttaki su miktarının büyük bölümü yağ dışındaki kütlede bulunmaktadır. Vücudun toplam su miktarı bilinirse yağ dokudaki ve yağ doku dışındaki kütle hesaplanabilir. Bu yöntemin uygulanması sırasında bireye deteriyum oksid, trityum oksid ve oksijenle işaretlenmiş su verilmektedir [25].

II.3.8 Dual Energy X-Ray Absorbsiometry

Dual Energy X-Ray Absorbsiometry (DEXA), vücut yağı ve yağsız vücut kütlesini ölçmek için kullanılmaktadır [25]. Farklı dokuların X-ışınlarını farklı soğurma güçlerine dayanılarak yapılan ölçümler vücuttaki yağ kütle miktarının hesaplanmasında kullanılır [25].

II.3.9 Bilgisayarlı Tomografi ve Manyetik Rezonans Görüntüleme

Bilgisayarlı Tomografi ve Manyetik Rezonans Görüntüleme ile üç boyutlu ölçüm yapılarak vücut yağ kütlesi ve vücut yağ dağılımı hakkında bilgi verilmektedir. Bu yöntem maliyetinin yüksek olması nedeniyle sıklıkla kullanılamamaktadır [25].

II.4 ŞİŞMANLIĞA NEDEN OLAN RİSK FAKTÖRLERİ

II.4.1 Genetik Faktörler

Şişmanlık gelişiminde pek çok gen bozukluğu rol oynamaktadır [26]. İnsanlar üzerinde gerçekleştirilen klinik çalışmalar genetik mekanizmaların yemek yeme, enerji harcanmasındaki farklılıklar ve yağ doku dağılımının kontrolünü düzenlediğini göstermektedir [27]. Şişmanlık gelişiminde genetik yatkınlığın varlığı ve bazı ailelerde şişmanlığa yatkınlığın daha fazla olduğu bilinmektedir [28]. Kalıtımın şişmanlık üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Şişmanlıkta kalıtımın etkisini araştıran çalışmalar, anne ve babası şişman olan bir çocuğun şişman olma ihtimalinin % 80, anne veya babası şişman olan çocuğun şişman olma ihtimalinin % 40 ve anne ve babası şişman olmayan çocuğun şişman olma ihtimalinin % 7 olduğunu göstermiştir [29]. Ayrıca aynı ailedeki bireylerin VKİ, bel/kalça çevresi oranı ve cilt altı yağ dokusu dağılımının birbirine benzer olduğu gösterilmiştir [30].

II.4.1.1 Şişmanlığa Neden Olan Genler

En son yapılan araştırmalar yetişkin vücut ağırlığını etkileyen faktörlerin %25-40'ının genetik kaynaklı olduğunu göstermektedir [27]. Leptin, melanokortin reseptörü ve Peroksizom proliferator activated reseptörü (PPAR γ) genlerinde oluşan mutasyonlar şişmanlığa neden olmaktadır [31]. Prader-Willi sendromu, Laurence-Moon-Biedl sendromu, Simpson-Golabi-Behmel sendromu, Cohen's sendromu, Carpenter's sendromu ve lipodistrofide gözlenen şişmanlık genetik nedenlerden kaynaklanmaktadır [31]. Şişmanlık ile birçok gen polimorfizmi arasında ilişki bulunmaktadır. Ancak şişmanlık gelişiminde görev alan şişmanlık ilişkili genlerin hangi mekanizmalar aracılığıyla, metabolizma hızı ile yağ ve karbohidrat metabolizmasındaki değişikliklere neden oldukları halen tam olarak aydınlatılamamıştır [31].

Tek gen mutasyonu sonucu meydana gelen şişmanlığa monogenik şişmanlık denir. Genellikle çocukluk çağında başlayan ve çok az gözlenen şişmanlık türüdür [32 - 34].

Bazı kalıtsal hastalıklarının şişmanlık ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Hastalarda, zeka geriliği, dismorfik özellikler, spesifik organlarda anormal gelişim gibi ayırt edici özellikler ile birlikte şişmanlık gözlenmektedir [32 - 34]. Şişmanlık ile ilgili genetik sendromlar Tablo II.6'da verilmiştir.

Tablo II.6 Şişmanlık ile ilgili genetik sendromlar [34]

Albright herediter osteodistrofi
Alström
Barder-Biedl
Biamond II
Borjeson
Carpenter
Cohen
Jinekomasti ve obesite ile seyreden mental retardasyon
Laurence-Moon
Prader-Willi
Saf Sertoli hücreli germinal hücre aplazisi
Schinzal
Simpson dismorfisi
Stein-Leventhal
Trizomi 21

Bazı şişmanlık türleri tek gen mutasyonu sonucunda gelişmektedir. Yapılan çeşitli mutasyon çalışmalarına ek olarak gerçekleştirilen farmakolojik çalışmalar monogenik şişmanlığın asıl nedenlerinin leptin ve melanokortin yollarının enerji dengesi üzerine etkileri olduğunu göstermektedir [32]. Tek gen mutasyonu sonucunda şişmanlığa neden olan genler Tablo II.7'de verilmiştir.

Tablo II.7 Şişmanlığa neden olan tek gen mutasyonları

Gen	Mutasyon tipi	Şişmanlık	Fenotiple ilişkisi
Leptin (LEP) [35, 36]	Homozigot mutant	Yaşamının ilk gününden itibaren görülen ileri derecede şişmanlık	Gonadotropik ve tirotropik yetersizlik
Leptin reseptör (LEPR) [37]	Homozigot mutant	Yaşamının ilk gününden itibaren görülen ileri derecede şişmanlık	Gonadotropik, tirotropik ve somatotropik yetersizlik
Proopiomelanokortin (POMC) [38, 39]	Homozigot veya heterozigot	Yaşamının ilk ayından itibaren görülen ileri derecede obezite	ACTH yetersizliği, hafif hipotiroid ve kızıl-kahve saç
β MSH'in kodlayıcı bölgesindeki Proopiomelanokortin [40, 41]	Mutasyon sinonimi olmayan heterozigot	Çocukluk çağında ortaya çıkan ileri derece şişmanlık	Hızlı beden gelişimi
<i>Single-minded 1</i> (SIM1) [42]	SIM 1 geni içindeki 1p22.1 ve 6q16.2 kromozomları arasındaki translokasyon	Çocukluk çağında ortaya çıkan ileri derece şişmanlık	-
Nörotropik tirozin kinaz reseptör tip 2 (NTRK2) [43]	Heterozigot tipte mutasyon	Yaşamının ilk ayından itibaren görülen ileri derecede obezite	Gelişimin gecikmesi, rahatsızlık veren davranışlar, acıya karşı tepkisizlik
Melanokortin 3 reseptör gen (MC3-R) [44, 45]	Homozigot mutant	Çocukluk çağında ortaya çıkan ileri derece şişmanlık	Vücut yağı artışı
Melanokortin 4 reseptör gen (MC4-R) [46 - 48]	Otozomal dominant mutasyon	Çocukluk çağında ortaya çıkan ileri derece şişmanlık	Hiperfaji

Çevre ve gen polimorfizmleri sonucunda meydana gelen şişmanlığa poligenik şişmanlık denir. Bu tür şişmanlıkta rol alan genler tek olarak incelendiklerinde vücut ağırlığı üzerine etkilerinin çok az oldukları tespit edilmiştir. Şişmanlığa neden olan genlerin katkısı önemlidir, ancak hiperfaji (aşırı yemek yeme), azalmış fiziksel

aktivite, hormonlardaki değişimler, sosyo-ekonomik faktörler gibi çevresel etmenlerin tümü genlerin fenotipe olan etkilerini değiştirmektedir [32 - 34]. Şişmanlığa neden olan aday genler Tablo II.8’de verilmiştir.

Tablo II.8 İnsanlarda obezite fenotipiyle ilişkili olan genler [49]

Gen	Lokus	Hayvan modelleme/fenotip	Şişmanlık Lokusundaki Varlığı	Fonksiyonel genetik varyant
Besin alımı				
Leptin (LEP)	7q31	ob/ob fare/ileri derecede şişmanlık	Evet	Varyantlar serum leptin düzeyleri ile ilişkili
Leptin-R (LEPR)	1p31	db/db fare/ileri derecede şişmanlık	Evet	Hayır
Agouti-ilşkili peptid (AGRP)	16q22	Transgenik/şişman EG/şişman olmayan	Evet	Promotör aktivite değişimi
Dopamin D2 reseptör (DRD2)	11q23.2	EG/şişman olmayan	Hayır	Reseptör sayısının artışı
5-hidroksitriptamin (serotonin) reseptör 2C (HT2C)	Xq24	EG/geç başlangıçlı şişmanlık	Evet	Transkripsiyon aktivitesinin azalması
Enerji metabolizması				
<i>Uncoupling protein 1</i> (UCP1)	4q28eq31	EG ve transgenik/ Yağ kütesinin azalması	Evet	Hayır
<i>Uncoupling protein 2</i> (UCP2)	11q13	EG şişman olmayan	Evet	UCP2’daki mRNA’nın değişimi
<i>Uncoupling protein 3</i> (UCP3)	11q13	EG şişman olmayan	Evet	Hayır
β 3-adrenerjik reseptör (β 3-AR)	9p12	EG/yağ kütesinin artışı	Evet	Reseptör aktivitesinin azalması
G protein β3 alt ünite geni (GNB3)	12p13.3	Hayır	Evet	G-protein aktivite değişimi

Tablo II.8'in devamı

Yağ doku

metabolizması

Adiponektin (ACDC)	3q27	EG diyet-insülin direnci	Evet	Varyantlar serum adiponektin düzeyleri ile ilişkili
Peroksizom proliferator activated reseptörü (PPAR γ)	3p25	EG/kahverengi yağ dokusunun azalması	Evet	Transkripsiyon aktivasyonu değişimi
Tümör nekroz faktör α (TNF α)	6p21.3	EG: yüksek yağlı diyetle yağ kütlesinin artışı	Evet	Transkripsiyon aktivasyonu değişimi
β 2-adrenerjik reseptör (β 2-AR)	5q31-q32	EG: yüksek yağlı diyetle yağ kütlesinin artışı	Evet	Reseptör aktivitesinin azalması
İnterlökin 6 (IL6)	7p21	EG/erişkin başlangıçlı şişmanlık	Evet	Transkripsiyon aktivasyonu değişimi
Lipaz hormon hassasiyeti (LIPE)	19q13.2	EG/abdominal yağ kütlesinin azalması/diyete direnç	Evet	Yağ hücre lipolizisinin azalması
Glikokortikoid reseptör (NCR3C1)	5q31	Flokslama/yaşlanma-değişime bağımlı yağlanma	Evet	Glikokortikoide farklı yanıtlar

Lipid ve glikoz

metabolizması

İnsülin (INS)	11p15.5	EG/şişman olmayan	Evet	Evet
LDL reseptör (LDLR)	19p13	EG/şişman olmayan	Evet	Hayır
D2 vitamin reseptör (VDR)	12q13.11	Hayır	Hayır	Hayır

EG: Etkisizleştirilmiş gen.

II.4.2 Çevresel Faktörler

Şişmanlığın gelişmesinde, ailenin eğitim ve gelir düzeyi, beslenme alışkanlıkları, fiziksel aktivite ve televizyon izlenmesine ayrılan süre önemli risk faktörleridir [50]. Gebelik döneminde annenin sigara kullanması ile çocukluk çağı şişmanlığı arasında ilişki vardır [51]. Kültürel faktörler, fiziksel aktivite ve beslenme alışkanlığı da şişmanlık gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Şişman

bireylerin beslenme şekli ve fazla yeme isteklerinin kalıtsal ve gen polimorfizmlerine bağlı olduğu düşünülmektedir [52 - 55].

Şişmanlık, gelişmiş ülkelerde düşük sosyo-ekonomik gruplarda ve kalabalık ailelerde, beslenme ve sağlıkla ilgili bilgi eksikliği, fiziksel aktivite azlığı, yüksek kalorili gıdaların ucuzluğu ve uygun besin bulabilme ihtimallerinin kısıtlı olması sebebiyle daha sık gözlenmektedir [56, 57]. Ayrıca gelişmiş ülkelerde teknolojik gelişmeler ile birlikte pek çok işin makinalarla yapılması fiziksel aktivitenin azalmasına bağlı şişmanlık gelişimine neden olmaktadır.

Şişmanlık, gelişmekte olan veya az gelişmiş ülkelerde, halkın doygunluk isteğine bağlı olarak karbohidratlardan zengin besinlerin çok miktarda tüketilmesi, öğün atlanması ve bazı öğünlerde çok besin tüketilmesi sonucu daha sık gözlenmektedir.

II.4.3 Beslenme Alışkanlığı

Bireyin beslenme alışkanlığını bebeklik dönemindeki beslenme şekli belirlemektedir. Anne sütüyle beslenen çocuklarda şişmanlık görülme sıklığı, karışık ya da yapay besinlerle beslenen çocuklara göre daha azdır. Süt çocukluğu döneminde zamanından önce ek gıdalara başlanması şişmanlık sıklığını arttırmaktadır [58].

II.4.4 Fiziksel Aktivite

İnsan bedeni hareketli bir yaşamı gerektiren bir yapıya sahiptir ve hareketsiz yaşam şişmanlığa neden olmaktadır. Her türlü fiziksel aktivite sırasında enerji harcanmaktadır. Şişmanlık gelişiminde fiziksel aktivite ile enerji harcanmasındaki etkileşim önemli rol oynamaktadır [56, 59]. Genellikle inaktif yaşam sürdüren bireyler aktif yaşam sürdüren bireylere göre daha şişmandırlar [29].

Teknolojik gelişmeler, beden gücünün yerini makinaların almasına neden olmuştur. İşe giderken araç kullanmak, oturarak çalışmak, asansör ve yürüyen merdiven kullanmak teknolojinin getirdiği kolaylıkların yanı sıra enerji harcanmasını azaltarak şişmanlığa neden olmaktadır [60]. Televizyon izlemek, video oyunları oynamak ve bilgisayar kullanmak fiziksel aktivitenin azalmasına neden olmaktadır. Televizyon seyretme süresi arttıkça oturma süresi de artmakta, bu durum VKİ'inde artışa neden olmaktadır [61]. Televizyon izlerken atıştırılan besinlerin yüksek yağ, şeker ve tuz içermesi enerji dağılımı ile harcanması arasında dengesizlik

oluşturmaktadır. Bu durumlar şişmanlığın yaygınlaşmasında önemli rol oynamaktadır [62].

II.4.5 Yaş

Şişmanlık her yaşta görülebilen bir hastalıktır. Kadın ve erkeklerde 50-60 yaşına kadar yaşa bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Şişmanlık gelişiminde özellikle önemli üç dönem bulunmaktadır. Bu dönemler sırasıyla doğum öncesi, 5-7 yaş ve ergenlik dönemidir [29]. Şişman yetişkinlerin önemli bir bölümünde şişmanlığın çocukluk döneminden itibaren başladığı düşünülmektedir. İntrauterin dönemde vücut yağının düzenlenmesi başlar. İntrauterin dönemin ikinci yarısından itibaren yağ dokusu artmaktadır. Yağ kütlesi süt çocukluğu döneminde artarken 5-6 yaş döneminde azalmaktadır [63]. İleriki dönemlerde vücut yağı sabit hızla artmaya devam eder. Beş yaşından itibaren vücut yağ miktarı artmakta olup, ergenlik ve yetişkinlikte ortaya çıkan şişmanlığı da etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda beş yaş döneminde hızla kilo almaya başlayan çocukların, altı yedi yaş döneminde kilo almaya başlayan çocuklara göre ergenlik ve erişkin dönemlerinde VKİ'nin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Erken yaşta kilo almaya başlayan çocuklar daha uzun süre yağ depo etmektedirler. Ergenlik dönemi kalıcı yağlanma oluşumunun son önemli evresidir. Kızlarda yağlanma erkeklere göre daha azdır ve uzun süreli çalışmalar sonucunda yetişkin şişman kadınların %30'u ergenliğin erken dönemlerinde de şişman oldukları saptanmıştır [64].

Şişmanlığın başlangıç yaşı önemlidir. Şişmanlık ile birlikte adiposit sayısı artmakta ve çapı genişlemektedir. Şişman bireyin kilo vermesi ile yağ hücre çapı küçülür ancak hücre sayısında azalma gözlenmez. Şişmanlık ne kadar erken yaşta başlarsa adiposit miktarı o kadar fazla olur ve yağ hücrelerinden salgılanan yağ asit miktarının artması ile şişmanlık ilişkili hastalıklar gelişmektedir.

II.4.6 Cinsiyet

Şişmanlık her iki cinsiyette de görülebilen bir hastalıktır. Aynı yaş grubundaki kadın ve erkek bireylerin vücut bileşimleri değerlendirildiğinde, kadınların vücutlarındaki yağ miktarının erkeklerin vücutlarındaki yağ miktarından daha fazla olduğu belirlenmiştir. Kadınların vücut ağırlıklarının %26.9'u, erkeklerin ise %14.7'si yağ kütlesidir. Yapılan çalışmalar sonucunda kadınların %33.9'unun hafif kilolu ve %36.2'sinin şişman, erkeklerin ise %44.4'ünün hafif kilolu ve

%21.6'sının şişman oldukları saptanmıştır [65]. Bu çalışmalar şişmanlık sıklığının kadınlarda daha yüksek olduğunu göstermektedir. Kadınlarda bu oranın yüksek olmasının sebebi, hamilelik döneminde kazanılan ağırlığın emzirme döneminde verilememesi, birbirini takip eden hamilelikler ve menopoz dönemindeki hormon dengesinin bozulması olarak düşünülmektedir. Dört ve üzeri doğum yapan kadınların daha az doğum yapan kadınlara göre daha şişman olduğu ve dört ve üzerinde doğum yapan kadınların daha az doğum yapan kadınlara göre 11 kat daha fazla şişmanlamaya eğilimli olduğu belirlenmiştir [66].

II.4.7 Psikolojik Etki

Sevinç, üzüntü, stres gibi durumlar bazı bireylerde yemek yeme düzenini etkilemektedir. Yapılan çalışmalar yetişkin kadınların %84'ünün, üzüntülü ve stresli oldukları dönemde, %50'sinin ise sevinçli ve heyecanlı oldukları dönemde besin tüketiminde değişiklik yaptıkları saptanmıştır. Üzüntülü ve stresli dönemlerde daha çok ve sık yemek yiyen kadınların VKİ değerleri, değişiklik yapmayan ve besin tüketimlerini azaltan kadınlardan önemli derecede yüksek bulunmuştur [67].

Aşırı yemek yeme alışkanlığı bulimia nevrozaya neden olmaktadır. Bulimia nevroza, aşırı yemek yeme ve diyet dönemlerinin birlikte olduğu yeme bozukluğudur. Bu dönemde aşırı kilo alan bireyler aldıkları kiloları geri vermek için kusma, oruç tutma, aşırı egzersiz yapma veya laksatif kullanmaya yönelmektedirler. Bulimia nevrozada zevk için yeme sıklıkları 2 saatten daha az sürede birçok insanın aynı sürede yiyebileceğinden çok daha fazlasının tüketimi olarak saptanmıştır. Stres faktörü, yalnızlık, sosyal ortamlarda yeme veya kilo alımıyla ilgili endişeler zevk için yemek yeme isteğini harekete geçirmektedir. Zevk için yenen yemekler genelde kişiye rahatsızlık verecek seviyede tok oluncaya kadar devam etmektedir. Dondurma, çikolata, pasta gibi yemesi kolay ve enerji düzeyi yüksek olan gıdalar zevk için tüketilen besinlerdendir [68].

Şişman kişilerde yeme bozuklukları ve ruhsal sorunlar normal kilolu kişilere oranla daha sık gözlemlenmektedir. Ayrıca ruhsal hastalıklar, yeme ve egzersiz alışkanlıklarının değişmesi sonucu şişmanlığa neden olmaktadır [69].

II.4.8 İntrauterin Etki

Postnatal (doğum sonrası) şişmanlıkta intrauterin dönemdeki maternal faktörler etkilidir. İkinci dünya savaşı sırasında gebe olan ve gebeliğin ilk altı ayında ağır açlık yaşayan gebelerden doğan bireylerde 18 yaşında şişmanlık sıklığı diğer bireylere göre iki kat fazla bulunmuştur. Doğum ağırlığı düşük olan bireylerde erişkin dönemde abdominal yağlanma gözlenmektedir [56].

II.5 ŞİŞMANLIĞIN İLİŞKİLİ OLDUĞU HASTALIKLAR

Şişmanlığın sebep olduğu komplikasyonlar yaşamı tehdit etmektedir [70]. Bu komplikasyonların en önemlileri tip 2 diyabet, hipertansiyon, dislipidemi, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser (meme, prostat, kolon) türleridir [3].

II.5.1 Şişmanlık ve Tip 2 Diyabet İlişkisi

Şişmanlık ve tip 2 diyabet, dünyada giderek artan önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir. Tip 2 diyabet, şişmanlığın yol açtığı hastalıkların başında gelmektedir. Tip 2 diyabet hastalarının yaklaşık %70'i şişmandır ve hastalığın görülme sıklığı normal kişilere oranla şişman erkeklerde 5, kadınlarda ise 8.3 kat daha fazladır [71]. Khan ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada şişmanlık ve tip 2 diyabet arasındaki bağlantının insülin direnci ile ilişkili olduğu saptanmıştır [72]. Ayrıca şişmanlık pankreasta yağlanma yaparak organ fonksiyonunun bozulmasına ve pankreasın beta hücrelerinin insülin üretimlerinin azalmasına neden olmaktadır [73]. Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi'nin (TURDEP) çalışma sonuçlarına göre ülkemizde tip 2 diyabet sıklığı %13.7. Tip 2 diyabet çoğunlukla yetişkinlerde görülen bir hastalık olmakla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar, çocukluk çağı şişmanlığı ile ilişkili tip 2 diyabet vakalarının arttığını göstermektedir [74].

II.5.2 Şişmanlık ve Hipertansiyon İlişkisi

Şişmanlık ile ilişkili hastalıklardan bir diğeri de hipertansiyondur. Şişmanlığın hipertansiyon ile ilişkisi iyi bilinmektedir. Şişmanlık ve hipertansiyon ilişkisinde sempatik sinir sistemi aktivasyonu, renal tübüllerdeki sodyum Emilimi, insülin direnci gibi mekanizmaların rol aldığı bilinmektedir [75]. NHANES III verilerine göre erkek ve kadınlarda VKİ'deki artış kan basıncı ile doğru orantılıdır [76 - 78]. VKİ $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ olan erkeklerde hipertansiyon görülme sıklığı %38.2,

kadınlarda %32.2'dir. $VKİ \leq 25 \text{ kg/m}^2$ olan erkeklerde ise bu oran %18.5 iken kadınlarda %16.5'dur. Vücut ağırlığındaki her 10 kg'lık artış, sistolik kan basıncında 3 mmHg, diyastolik kan basıncında ise 2.3 mmHg'lık artışa neden olmaktadır [79 - 81].

II.5.3 Şişmanlık ve Dislipidemi İlişkisi

Dislipidemi şişmanlığın sebep olduğu önemli komplikasyonlardan biridir. Şişmanlığa çok sayıda lipid bozukluğu (hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi, düşük yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (HDL-Kol) düzeyi ve yüksek apolipoprotein B düzeyi vb.) eşlik eder. Vücut ağırlığında meydana gelen her %10'luk artış kan kolesterol düzeyini 10-15 mg/dL arttırmaktadır. NHANES III verilerine göre kadınlarda total-kolesterol seviyesi erkeklere göre daha yüksektir [82 - 84]. $VKİ \geq 25 \text{ kg/m}^2$ olan erkek ve kadınlarda toplam serum total-kolesterol (T-kol) seviyeleri artmaktadır. Kadınların hiperkolesterolemi sıklığı VKİ'indeki artış ile yakından ilişkilidir. 20 - 45 yaş aralığındaki şişman bireylerin hiperkolesterolemi riski normal bireylere göre 2 kat fazladır. Abdominal şişman bireylerin total-kolesterol seviyeleri genellikle yüksektir. Denke ve ark. erkek ve kadın tüm yaş gruplarında VKİ ile trigliserid seviyeleri arasındaki güçlü bir korelasyon bulunduğunu saptamışlardır [85]. Literatürde VKİ ile düşük HDL-Kol seviyeleri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir [82 - 85]. VKİ'si yüksek olan erkek ve kadınlarda HDL-Kol seviyeleri düşüktür. VKİ'deki bir birimlik değişim, yetişkin erkeklerin HDL-Kolesterol seviyesinde 1.1 mg/dl, genç yetişkin kadınlarda ise 0.69 mg/dl değişime neden olmaktadır [79 - 85].

II.5.3.1 Lipoprotein Metabolizması

Lipoproteinler, plazmada lipid ve proteinleri taşımakla görevli kompleks yapılardır. Lipoproteinlerin merkezinde hidrofobik özellikteki trigliserid ve kolesterol ester molekülleri bulunur. Lipoproteinlerin merkezi, fosfolipidler ve proteinlerle kaplanmıştır. Apolipoproteinler lipoproteinlerin yüzeyinde yer alan proteinlerdir. Apolipoproteinler, lipoproteinlerin merkezinde yer alan lipidlerin çözünür hale getirilmesinde görev alarak plazma lipid ve lipoproteinlerinin taşınımını düzenler. Karaciğer kökenli çok düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (VLDL-Kol), orta yoğunluklu lipoprotein kolesterol (IDL-Kol) ve düşük yoğunluklu

lipoprotein-kolesterolün (LDL-Kol) salgılanması için apolipoprotein B100 (apoB100) gereklidir [86].

II.5.3.2 Total-Kolesterol

Hücre zarında bulunan Total-kolesterol, birçok hormonun yapımında kullanılmaktadır. Tüm canlı hücreler kolesterol sentezlemektedir. Ancak kan T-Kol seviyesi karaciğerde sentezlenen ve barsaktan emilen kolesterole bağlıdır. Kolesterol oral yolla alınsa bile karaciğer kolesterol sentezlemeye devam eder. Gıda tüketimi ile alınan kolesterol miktarının azaltılmasının kilo vermeye yararı yoktur. Kandaki T-Kol düzeylerinin normal seviye sınırını aşması metabolik hastalıkların oluşum riskini arttırmaktadır [29, 87].

II.5.3.3 Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol

Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, % 50 oranında protein ve %50 oranında lipid (% 20 kolesterol, % 5 trigliserid ve % 25 fosfolipid) içeren bir yapıdır. HDL-Kol, karaciğer tarafından sentezlenmektedir. HDL-Kol, şilomikron ve çok düşük yoğunluklu lipoproteininin normal katabolizması sırasında açığa çıkan lipid ve apoproteinleri karaciğere taşımakla görevlidir. Serum HDL-Kol seviyeleri şişmanlık ve diyabet gibi faktörler tarafından düşürülürken, egzersiz ile yükselmektedir [29, 88].

II.5.3.4 Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol

Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol yaklaşık olarak %75' i lipid (%35 kolesterol ester, %10 serbest kolesterol, %10 trigliserid, %20 fosfolipid) ve %25' i proteinden oluşmaktadır. LDL-Kol plazmadaki toplam kolesterolün yaklaşık %70'ini oluşturduğundan temel kolesterol taşıyıcı lipoprotein olarak bilinmektedir. LDL-Kol, kolesterolü karaciğerden perifer dokulara taşıyarak bu bölgelerde yeniden kolesterol sentezini düzenlemektedir. Plazmada yüksek konsantrasyonda bulunan LDL-Kol vücudun çeşitli yerlerinde depo edilmektedir [29, 89].

II.5.3.5 Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol

Çok düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, % 85-90 lipid (% 55 trigliserid, %20 kolesterol ve %15 fosfolipid) ve %10-15 oranında protein içermektedir. VLDL-Kol karaciğer tarafından sentez edilmektedir. VLDL-Kol oluşumunda kullanılan fosfolipid ve trigliserid endoplazmik retikulumda sentezlenir. VLDL-Kol yapısında önemli miktarda kolesterol ve kolesterol esterlerini de bulundurur. Şişman bireylerdeki glikoz kullanım güçlüğü karaciğerde VLDL-Kol sentezinin artmasına neden olmaktadır. VLDL-Kol karaciğerde sentezlendikten sonra yağ ve kas dokuda LDL-Kol'e dönüştürülür. Şişman bireylerde VLDL-Kol artışına bağlı olarak LDL-Kol oluşumu da artmaktadır [29, 87].

II.5.3.6 Trigliserid

Gliserol ve 3 molekül yağ asidinden oluşan ester yapıları trigliserid (TG) denir. Yağ dokuda depo edilen trigliseridler karbohidratlardan sentez edilen nötral yağlardır. TG, kolesterol ile birlikte lipid-protein kompleksi biçiminde taşınmaktadır. TG düzeyinin yükselmesi, şişmanlık, sigara kullanımı ve hareketsiz yaşam tarzıyla ilişkilidir. Şişman bireylerin TG seviyeleri şişman olmayan bireylere göre daha yüksektir [29, 87].

Tablo II.9 ATP III kriterlerine göre lipid düzeylerinin sınıflandırılması [14]

Serum Lipidleri	Düzy (mg/dl)	Sınıflandırma
LDL-Kolesterol	<100	optimal
	100-129	istenen
	130-159	sınırdı yüksek
	160-189	yüksek
	≥ 190	çok yüksek
HDL – Kolesterol	< 40	düşük
	≥ 60	yüksek (normal)
Total Kolesterol	< 200	istenen
	200-239	sınırdı yüksek
	≥ 240	Yüksek
Trigliserid	< 150	Normal
	150 -199	sınırdı yüksek
	200 – 499	(yüksek)
	≥ 500	(çok yüksek)

II.5.4 Şişmanlık ve Koroner Kalp Hastalığı İlişkisi

Şişmanlık, koroner kalp hastalığı (KKH) için bağımsız bir risk faktörüdür. Yapılan çalışmalara göre şişmanlık ile kardiyovasküler risk faktörleri arasında yakın ilişki bulunmaktadır. Şişman koroner kalp hastalarında morbidite ve mortalite sıklıkları artmaktadır. Son çalışmalara göre VKİ'deki artışla birlikte miyokard infarktüsü (Mİ) ve koroner kalp hastalığından kaynaklanan ölüm oranları artmaktadır. Erkek ve kadınlarda en düşük KKH riski 22 kg/m²'den az VKİ değeridir [90, 91]. Vücut ağırlığındaki her 5-8 kilogramlık artış KKH riskini %25 arttırmaktadır [73, 92].

II.6 ŞİŞMANLIK SIKLIĞI

Dünya Sağlık Örgütü' nün (WHO) verilerine göre, dünyada 400 milyonun üzerinde şişman ve 1.6 milyar civarında da hafif kilolu birey bulunmaktadır. Şişmanlık 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). Güney Avrupa ülkelerindeki şişmanlık sıklığı, Kuzey Avrupa ülkelerine göre daha yüksektir. Dünyada şişmanlık sıklığı on yılda %10-40 oranında bir artış göstermiştir. Özellikle, İngiltere'de 1980'den sonra şişmanlık sıklığındaki artış oldukça dikkat çekicidir (İngiliz erkeklerde şişmanlık sıklığı %61, kadınlarda ise %52 olarak bildirilmiştir). NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*) III verilerine göre, ABD'de bu oran 20 yaş ve üstü bireylerde %55'e ulaşmıştır (%33 fazla kilolu, % 22 şişman) [93- 95].

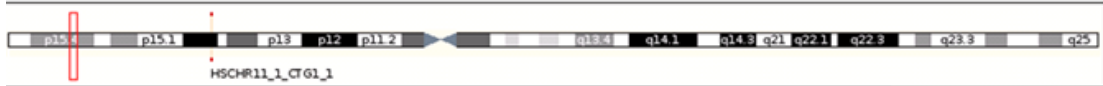
Türkiye'de Şişmanlık Prevalans Çalışması; TURDEP tarafından uluslararası seçim kriterlerine göre belirlenen 26.499 yetişkin (>19 yaş) bireyde yapılmıştır. VKİ ≥ 30 kg/m² baz alınarak yapılan çalışmada, Türkiye'de şişmanlık oranı %32 olarak rapor edilmiştir. Türk toplumunda erişkin bireylerin 2/3'ü şişman ya da fazla kiloludur [96]. Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışmasının sonuçlarına göre, ülkemizdeki kadınlarda şişmanlık sıklığı erkeklere kıyasla daha yüksektir. Şişmanlık sıklığı yaşlanmayla birlikte artmaktadır. 55-59 yaş grubundaki bireylerde şişmanlık oranı %34.8 iken orta (40-55) yaş gruplarındaki bireylerde %30'dur. TEKHARF çalışmasında 25-34 yaş grubundaki yetişkin bireylerde şişmanlık sıklığının giderek arttığı bildirilmektedir [97].

II.7 RIC-3 VE TUB GENLERİNİN YAPISI

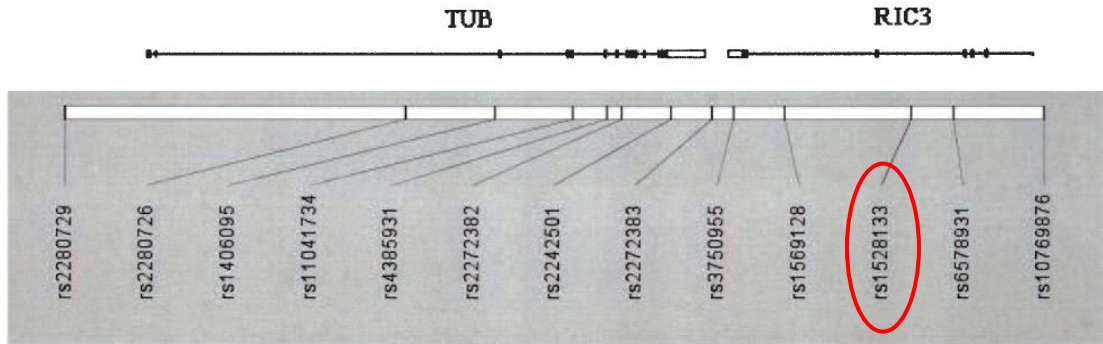
TUB (Şekil II.1) ve RIC-3 (Şekil II.2) genleri 11. kromozomda lokalize komşu genlerdir (Şekil II.). TUB geninin 22 kb distalinde kolinesteraz inhibitörlerine direnç (*resistant to inhibitors of cholinesterase*, RIC-3) geninin intron bölgesi içerisinde 8106329. pozisyonunda A-C nükleotid değişiminden oluşan rs1528133 polimorfizmi yer almaktadır [4]. RIC-3 geni içinde yer alan rs1528133 polimorfizmi ile çok kuvvetli bağlantı dengesizliği (*linkage disequilibrium*) gösteren TUB geni rs2272382 ve rs2272383 SNP'leri tubby proteininin çok yüksek oranda korunmuş olan karboksil uç bölgesinde yer alır. TUB geni karboksil uç bölgesi aynı zamanda DNA'ya bağlanma ve fosfotidil inositole bağlanma bölgelerini de içerir [4].



Şekil II.1 TUB geninin 11. kromozom üzerindeki yerleşimi. Kromozom 11: 8.060.180-8.127.653 nükleotidler arasında [98].



Şekil II.2 RIC-3 geninin 11. kromozom üzerindeki yerleşimi. Kromozom 11: 8.149.253-8.150.253 nükleotidler arasında [99].



Şekil II.3 TUB geni ve yakın bölge SNP'leri. 130 kb'lık bölgeyi (7.993.782–8.123.921 nükleotidler arasında) kapsayan TUB geni ve civarında yer alan 13 adet SNP izlenmektedir [4].

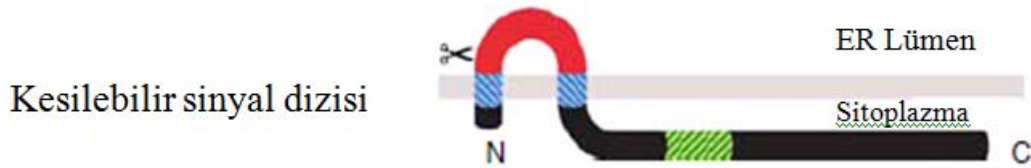
II.7.1 RIC-3 Fonksiyonu

RIC-3, nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChRs) için moleküler şaperon olarak etki eden bir transmembran proteinidir. Bazı nAChR alt tiplerinin (homomerik $\alpha 7$ nöronal nAChR) etkili reseptör katlanmaları, birleşmeleri ve fonksiyonel olarak çalışmaları için RIC-3 gereklidir. RIC-3, heteromerik $\alpha 4\beta 2$ nöronal nAChRs gibi diğer bazı nAChR alt tiplerinin fonksiyonlarının hızlandırılması ya da azaltılmasını sağlayabilir. RIC-3'ün 5-hidroksi triptamin reseptörünün (5-HT₃R) olgunlaşmasına aracılık ettiği bilinmektedir. Literatürdeki son veriler, RIC-3 proteini şaperon aktivitesindeki değişikliklerin, fonksiyon gördüğü hücre tipi tarafından etkilenebileceğini göstermektedir. Bu da RIC-3 proteininin şaperon etkilerinin ayarlanmasında başka proteinlerin önemli rol oynadığını düşündürmektedir. RIC-3, ilk olarak *C. Elegans* nematodunda RIC-3

geni tarafından kodlanan bir protein olup, hemen sonrasında klonlanmış ve memelilerde karakterize edilmiştir [100].

RIC-3, nAChRs'lerin olgunlaşması (katlanma ve alt birimlerin birleştirilmesi) üzerinde çok etkili bir pentamerik transmembran proteindir. Yapılan son çalışmalar RIC-3'ün endoplazmik retikulum içinde bulunan reseptör alt birimleri ile etkileşerek hem alt birimlerin katlanmasını hem de birbirleri ile birleşmelerini kolaylaştırdığını göstermiştir [101]. RIC-3'ün diğer nörotransmitter kapılı iyon kanalları (GABA ve glutamat ile aktive olan iyon kanalları) üzerinde ya çok az etkisi vardır ya da hiç yoktur [102 - 104]. Nikotinik asetilkolin reseptörleri, nörotransmitter kapılı iyon kanallarına ait *Cyc-loop* ailesinin üyeleridir [105 - 107].

İnsan RIC-3 geninin klonlanması ile, bu genin iki adet hidrofobik bölgeden oluştuğu bildirilmiştir [104]. Ancak insan RIC-3 proteininde amino asit dizi analizi ile belirlenen N-uç hidrofobik bölgesinde potansiyel olarak kesilebilir bir sinyal dizisi bulunmaktadır [108, 109] (Şekil II.4). Deneysel sonuçlardan bazıları insan RIC-3 proteininde kesilebilir bir sinyal dizisinin varlığının bulunabileceğini öngörürken [109], yeni yayınlanan bir çalışmadan elde edilen bulgular proteolitik kesim bölgesinin bulunmayabileceğini belirtmektedir [110]. RIC-3'ün C-uç bölgesinde ise bir adet süper katlanmış (*coiled-coil*) bölge yer almaktadır (Şekil II.4, Şekil II.5). Proteinde yer alan bu süper katlanma motifinin protein-protein etkileşimlerinde görev yaptığı gösterilmiştir [111]. RIC-3 proteini içinde yer alan süper katlanma bölgesinin protein agregasyonu için kullanıldığı ancak şaperon aktivitesi için gerekli olmadığı kanıtlanmıştır [109].



Şekil II.4 İnsan RIC-3 proteininin kesilebilir sinyal dizisi konumu [100].



Şekil II.5 İnsan RIC-3 proteininin membran topolojisi [100].

II.7.1.1 RIC-3 Proteininin Hücre İçi Yerleşimi

RIC-3 proteini kas ve sinir hücrelerinin endoplazmik retikulumlarında üretilir [103, 104]. İmmün çöktürme çalışmaları, RIC-3'ün komplekse dahil olmamış ve endoplazmik retikulumdan hücre yüzeyine çıkarılmayacak olan nAChRs alt birimleri ile birleşebildiğini göstermiştir [112]. Çalışmaların çoğu RIC-3'ün endoplazmik retikulum içerisinde sentezlendiğini gösterse de, sentezlenen RIC-3'ün aynı zamanda hücre yüzeyine taşınıp taşınmadığı netlik kazanmamıştır. İnsan böbrek hücre soyunda yapılan bir çalışma, RIC-3'ün hücre yüzeyinde yer aldığını [113] gösterse de bu konuda yayınlanmış olan diğer çalışmalar benzer bir bulguya rastlamamışlardır [109].

II.7.1.2 RIC-3 Proteininin Etki Mekanizması

RIC-3'ün hücre yüzey nAChRs arttırması farmakolojik bir şaperon gibi iş gören nikotinin etki mekanizmasına benzerlik gösterse de moleküler mekanizmaları farklıdır [114, 115]. Nikotini sürekli kullanan kişilerin beyinlerindeki nAChRs'lerin sayısının arttığı bilinmektedir [116]. Nikotin gibi nAChRs'lerin bağlanma bölgelerine bağlanabilen agonistler reseptörün alt birimlerine kompleks halde olmadan bağlanma yeteneğinde değildir [117].

II.7.1.3 RIC-3 Geni rs1528133 Polimorfizminin Beslenme İle İlişkisi

Vilet-Ostaptchouk ve ark. [118], RIC-3 geni rs1528133 polimorfizminin beslenme alışkanlıkları üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, rs1528133 polimorfizminin yüksek glisemik yüke sahip besin alımı ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar, rs1528133 polimorfizminin minör allel (C) taşıyıcılarında, glisemik yük miktarının minör alleli taşımayanlara göre daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. rs1528133 polimorfizmi glisemik indeks ile ilişkili tespit edilmemiştir [118].

II.7.2 TUB Geninin Fonksiyonu

Evrimsel olarak iyi korunmuş olan TUB geninin hipotalamusta fazla miktarda sentezlendiği ve bir transkripsiyon faktörü gibi davrandığı bilinmektedir. TUB geni tarafından kodlanan ve nükleer düzenleyici faktörler arasında bulunan tubby proteinleri membrana bağlı transkripsiyon düzenleyicileri olarak iş görmektedir [1]. Böylece fosfoinositid hidrolizine cevap olarak nukleusa geçerek G protein sinyal yolu ve gen anlatımı arasında düzenleyici görev yapmaktadırlar [119]. TUB genindeki bir mutasyon tubby protein fonksiyon kaybına ve geç başlangıçlı şişmanlık, insülin direnci ve nörosensör bozukluklara neden olmaktadır [6, 17].

II.7.3 TUB Geninin Şişmanlık ile İlişkisi

Literatürde şişman kişilerde TUB geninin şişmanlık ile ilişkisini moleküler düzeyde araştıran çok az sayıda çalışma bulunmaktadır [4]. Tubby proteini şişmanlık için önemli aday genlerden biri olarak kabul edilsede insan şişmanlığındaki rolü halen tam olarak aydınlatılamamıştır. TUB geni tarafından kodlanan ve nükleer düzenleyici faktörler arasında bulunan tubby proteini şişmanlık ile ilişkisi nedeniyle önemlidir [1]. Var olan bilgiler tubby proteininin insanlarda vücut ağırlığının düzenlenmesinde koruyucu etkilerinin olduğunu doğrulamaktadır. TUB geninin 3' ucundaki mutasyonun tubby proteininin karboksi uç yapısını bozduğu ve böylece tubby fenotipine (retinal ve kohlear dejenerasyonla birlikte yetişkinde ortaya çıkan şişmanlık) neden olduğu ortaya konmuştur [120].

Shiri-Sverdlov ve ark. nın [4] elde ettiği sonuçlara göre TUB geni ile şişmanlık arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Literatürdeki konuyla ilgili tüm veriler değerlendirildiğinde, gerek tubby fareler [1, 17, 120] gerekse insan tubby proteinlerinin vücut ağırlığının düzenlenmesinde koruyucu rolü açıklık kazanmıştır. Matarese ve ark. [121] şişmanlık ve inflamatuvar/immün sistem arasındaki yakın ilişkileri göstermiş ve lenfositlerin belirleyici rolünü işaret etmişlerdir. Giannaccini ve ark. [122] normal kilolu ve şişman kişilerin lenfositlerinde tubby proteinini araştırmış ve şişmanlarda elektroforetik mobilite özelliklerinden izoelektrik noktanın asidik uca doğru kaydığını saptamışlardır [122].

İnsan TUB gen varyantlarının vücut ağırlığıyla ilişkisi rapor edilmiştir. Enerji dengelenmesinin kontrolü, vücut ağırlığının düzenlenmesi ve besin alımında hipotalamus önemli rol oynar [123 - 125]. İştah ve doyumluk hislerini düzenleyen hipotalamusun paraventriküler, ventromedyal ve arkuat nukleuslarında tubby

proteininin çok yüksek miktarlarda ifade edildiği bilinmektedir [1, 126, 127]. van Vilet-Ostaptchouk ve ark. [118] TUB geni rs1528133, rs2272383 ve rs2272382 SNP'lerinin gerek antropometrik parametrelerle gerekse kişilerin temel gıda alımları ile ilişkisini 1680 adet Alman kadında araştırmış ve rs1528133 polimorfizmine ait polimorfik C allelinin artmış vücut ağırlığı ve VKİ ile anlamlı ilişki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Temel besin gruplarının alınmasıyla şişmanlık gelişimi arasında mevcut olan bağlantıda TUB gen varyantlarının etkileri araştırılmış ve rs2272382 polimorfizminin yağ ve karhidrat alımı ile ilişkili olduğu saptanmıştır [118].

Literatürdeki bilgiler ışığında tubby 'nin transkripsiyon faktörü mü yoksa insülin ve/veya G protein aracılı reseptör sinyalleşme yolağında adaptör proteinin mi olduğu açıklık kazanmamıştır. Coleman ve ark. tubby genindeki fonksiyon kaybı mutasyonlarının geç başlangıçlı şişmanlık, insülin direnci ve nörosensör bozukluklara yol açtığını bildirmişlerdir [6]. Daha sonra yapılan çalışmalar tubby mutasyonlarına cevap olarak aynı zamanda farklı nöropeptidleri kodlayan genlerin anlatımlarının değişim gösterdiğini saptamışlardır. Tubby gen mutasyonlarına yanıt olarak hipotalamusun arkuat nükleusunda agouti ilişkili protein (AGRP) ve proopiomelanokortin (POMC) mRNA düzeylerinin düştüğü ve dorsamedial-ventromedial hipotalamusta nöropeptid Y (NYP) mRNA düzeylerinin ise arttığı rapor edilmiştir. Olgun tubby farelerde ise lateral hipotalamustaki preprooreksin mRNA düzeylerinin arttığı gözlenmiştir [128 - 130].

Farelerde, TUB gen mutasyonları sonucunda meydana gelen kilo alımı ile insülin direncinin geliştiği izlenmiştir [6]. Sistemik enerji regülasyonunun kontrolünden sorumlu beyin bölgesinde TUB gen anlatımındaki artışla ortaya çıkan şişmanlık fenotipi [131], nöroendokrin kontrol bozukluklardan ya da metabolizma bozukluklarından kaynaklanmaktadır.

Ashrafi ve ark.'nın *C. Elegans*' ta yaptıkları araştırmalar, TUB-1 proteininin fonksiyon kaybında yağlanmanın arttığını göstermiştir [132]. Shiri-Sverdlov ve ark. [4] TUB geninin insan şişmanlığındaki rolünü araştırmak için yaptıkları çalışmada TUB geni ve civarında yer alan 13 adet tek nükleotid polimorfizmini 492 adet tip 2 diyabetli hastada saptamışlardır. Aynı araştırmacılar [4] rs1528133 SNP'nin vücut kütle indeksi (VKİ) üzerine belirgin etkisi olduğunu saptamışlardır. rs1528133 SNP'i TUB geninin 3' ucundaki diğer SNP'lerle çok kuvvetli bağlantı dengesizliği gösterir ki buda TUB proteininin karboksi ucunun şişmanlık ile ilişkili olabileceğini düşündürür.

II.8 NÜTRİGENOMİK

Nütrigenomik vücudun besin maddelerine karşı oluşturduğu yanıtları açıklamaktadır [133]. Nütrigenomik bireyin diyetle aldığı besin maddelerinin, genetik yapısındaki anlatımını moleküler düzeyde ifade eder [133]. Nütrigenomik, biyolojik olarak besinlerin aktif bileşenleri ile genetik yapının etkileşimine dayanmaktadır. Böylece nütrigenomik sayesinde kişi sağlığını geliştirmekte ve olası hastalıklara karşı önlemini almaktadır.

Gen-çevre etkileşimi bireyin sağlıklı olmasının temelini oluşturmaktadır [134]. Son 20 yılda genetik ve beslenme alanlarında kaydedilen gelişmeler, besin maddelerinin metabolizmadaki moleküler etkilerinin incelenmesine olanak sağlamıştır [135].

Uzun süredir devam etmekte olan epidemiyolojik çalışmalar diyet ve kronik hastalıklar arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermektedir. Şişmanlık ve şişmanlık ilişkili (diyabet, hipertansiyon, dislipidemi ve ateroskleroz) hastalıkların temelinde beslenme-çevre arasındaki ilişki yatıyor olabilir. Beslenme alışkanlığına bağlı olarak besin metabolizmasını düzenleyen genlerde meydana gelen mutasyonların varlığı beslenme ve genetiğin birbirleriyle ilişkili olarak çalıştığını göstermektedir [136, 137]. Nütrigenomik ile kişinin sağlık durumunu geliştirecek diyetler ve genotiple ilişkili kronik hastalıkları önlemek amaçlanmaktadır. Genetik yapıya uygun olmayan bir diyet kronik hastalıkları aktive edebilmektedir. Bazı besin maddeleri, bir birey için gerekli enerji düzeyini karşılarken bu besin maddeleri başka bir birey için yetersiz olabilmektedir [136]. Bu nedenle kişi günlük diyetinde genetik yapısına uygun besinleri tüketmelidir [138].

II.9 FARMAKOGENOMİK

İnsan genom projesi ile genomik bilgilerin farmakogenetik problemlerin çözümüne yönelik uygulanabilmesi fikri ile farmakogenomik terimi ortaya çıkmıştır. İnsanlarda, ilaç kullanımı sonucunda oluşan tepkilerdeki farklılığın genetik temellerinin araştırılması farmakogenetik olarak adlandırılmaktadır. İlaç yanıtında birden fazla gen ürününün rol oynaması ile çalışmalar gen boyutundan genom boyutuna taşınmıştır ve farmakogenomik terimi kullanılmaya başlanmıştır. Farmakogenomik, genlerin ilaç tedavisindeki yanıtını araştırmaktadır. İlaç tedavisindeki yanıtı önceden bilmek hastaya özgü ilaç kullanımına olanak

sağlamaktadır. Böylece maliyet azalmakta, zaman kazanılmakta ve hastanın iyileşmesi daha hızlı olmaktadır. Farmakogenomik çalışmaların yürütülebilmesi için ilaca yanıt ölçütlerinin tanımlanması ve ilacın etki mekanizmasıyla ilgili polimorfik aday genler bilinmelidir. Farmakogenomik çalışmalarda araştırılan ilacın etki mekanizması iyi bilinmeli ve ilacın etki mekanizmasına katkıda bulunan aday genlerin varyantları ve hastaların risk etkileri tanımlanmalıdır [139].

II.10 TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMİ

Aynı tür organizmalar genellikle birbirinden farklı fenotip göstermektedirler. Bu farklılık genetik olarak belirlenmiştir ve polimorfizm olarak isimlendirilmiştir. Bir popülasyonda farklı allellere bağlı olarak iki ya da daha çok alternatif yapının görülmesi polimorfizm olarak adlandırılmaktadır. Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) bireyler arasında DNA'daki tek nükleotid farklılıkları olarak adlandırılmaktadır. Polimorfizmlerin fenotipe farklı yansımalarının nedeni çoklu allellerin var olmasından kaynaklanmaktadır. Genetik polimorfizm, bir popülasyonda farklı allelelere bağlı genetik olarak belirlenmiş iki ya da daha çok alternatif fenotipin görülmesidir. Bazı SNP alelleri, hastalığa direkt olarak neden olan genin fonksiyon veya düzenlenmesinde farklılığa yol açan dizi varyantlarıdır. SNP'lerin farklı tipleri protein fonksiyonunu veya gen anlatımını değiştirebilmektedir. Çok sayıda SNP direkt olarak bir ya da birkaç fenotipi etkileyebilirse de, hastalık ile ilişkili olmayabilir [140].

II.11 POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), primerler tarafından yönlendirilerek özgül hedef DNA parça kopyalarının enzimatik olarak senzitezenmesiyle tanımlanan bir yöntemdir. PZR ile normal replikasyon süreci taklit edilerek, hızlı bir şekilde istenilen gen ya da DNA dizilerinin yaklaşık milyar katı kopyalanmaktadır [141].

PZR reaksiyonu üç temel basamaktan oluşmaktadır ve çoğaltılan ürün miktarı bu basamakların tekrarlanma sayısına bağlıdır.

1. Denatürasyon: Çoğaltılacak DNA, tek zincirli hale getirilmek üzere yüksek sıcaklıkta denatüre edilir.

2. Primerlerin bağlanması: Primerler tek zincirli hale getirilmiş DNA üzerindeki hedef bölgelerle özgül hibridizasyonuna olanak verecek şekilde birleşir. Bu primerler 15-30 nükleotit uzunluğunda olup, çoğaltılacak DNA kısımlarındaki tamamlayıcı dizilere özgül olarak bağlanan yapay oligonükleotitlerdir.

3. Zincirin uzaması: Isıya dayanıklı olan Taq Polimeraz enzimi reaksiyon karışımına ilave edilir ve DNA sentezi gerçekleşir. Enzim, nükleotitleri 5' uçtan 3' ucuna doğru ekler ve primerlerin uzamasını sağlar. Böylelikle hedef DNA'nın çift zincirli kopyası oluşur.

İşlem önceden döngü sayısı ve sıcaklıkları belirlenen programlarda, termal döngü cihazlarında otomatik olarak gerçekleştirilir.

II.12 KANTİTATİF POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPZR, kinetik PZR, homojen PZR, gerçek zamanlı PZR), gelişmiş sıcaklık döngü cihazı kullanarak DNA ve RNA örneklerinin kalitatif ve kantitatif olarak miktarlarının ölçülebildiği bir yöntemdir. qPZR yöntemi sayesinde kısa sürede çok sayıda örnek, geleneksel PZR'a göre çok daha az kontaminasyon riski ile çalışılmaktadır [142]. qPZR'da ürün analizi reaksiyon sırasında monitörize edilerek yapılmaktadır. Böylece geleneksel PZR tekniğinde kullanılan agaroz jel elektroforezi, PAGE (poliakrilamid jel elektroforezi), UV (ultraviyole) görüntüleme gibi uzun zaman alan işlemler uygulanmamaktadır. qPZR ürünlerinin kalitatif ve kantitatif analizleri diziye özgü olmayan floresan boyalar veya diziye özgü problemler ile yapılmaktadır. Bu sayede sonuçlar kısa sürede düşük kontaminasyon riski ile elde edilmektedir [142, 143]. qPZR da oluşan ürün miktarı, reaksiyon sırasında oluşan ürün miktarı ile orantılı olarak artan floresan boyanın verdiği ışığa ile belirlenir [144]. qPZR reaksiyonu sırasında her çoğaltım döngüsü ile elde edilen DNA miktarına bağlı olarak artış gösteren floresan ışımalar sayısal değerlere çevrilmektedir [142, 144, 145].

II.12.1 Erime Eğrisi Analizi

Polimeraz Zincir Reaksiyonunda primerlerin bağlanma aşamasında primerler ile birlikte proplar da tek iplikli DNA'ya bağlanır. Proplar yan yana gelir ve enerji transferi gerçekleştiğinden floresans miktarı artar. PZR bittikten sonra erime eğrisi analizi yapılarak sonuçlar belirlenir. Simple proplar erime sıcaklıklarına (T_m) geldiklerinde bağlı oldukları DNA dizisinden ayrılırlar. Birbirleri üzerindeki enerji transferi ortadan kalktığı için daha az ışıma yaparlar.

Probu tasarıldığı genotipe göre erime sıcaklığı değişmektedir. Probu tasarımı yabani tip (*wild type*) genotipe göre yapılmış ise tek iplikli DNA dizisi ile prob bire bir örtüşerek sağlam bağlanma gerçekleşeceğinden probun erimesi ve DNA dizisinden ayrılması zor olacaktır ve erime sıcaklığı yüksek olacaktır. DNA dizisinde mutasyon varsa prob DNA ile tam bir örtüşme gerçekleştiremediğinden bağlanma zayıf olacaktır ve erime sıcaklığı daha düşük olacaktır. Eğer probun tasarımı mutant tipe göre ise mutant genotipin erime sıcaklığı daha yüksek, yabani tip genotipin erime sıcaklığı daha düşük olacaktır.

Baz kompozisyonundaki nükleotid pozisyonu ve komşu nokta mutasyonları T_m sıcaklığını etkilemektedir.

II.12.2 Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonun Kullanım Alanları

1. Biyolojik örneklerden elde edilen DNA'nın kopya sayısını sayısal değerlere dönüştürme ve mRNA düzeyinin sayısal olarak belirlenmesi (Gen anlatım kantitasyonu),
2. Viral kantitasyon,
3. Patojenlerin tespiti,
4. DNA hasarı (mikrosatellit instabilitesi) tespiti,
5. Metilasyon tespiti,
7. Erime eğrisi analizi ile genotip belirlenmesi,
8. Amniyotik sıvıdan elde edilen çocuğa ait tek hücrede prenatal tanı,
9. Hemoglobinopatilerin prenatal tanısında kullanılmaktadır [143, 144].

II.12.3 Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyon Sisteminin Avantajları

1. Reaksiyon sırasında floresans ışına eş zamanlı olarak veri toplanarak aynı anda analiz yapılabilmektedir.
2. Diziyi tanıyan ya da diziyeye özgü mutasyonu tanıyan problar kullanıldığından spesifik olmayan çoğaltımlardan etkilenmez.
3. Sonuç almak için ikinci bir tekniğe gerek yoktur. Bu sayede yüksek verimlilik sağlamaktadır.
4. Kapalı bir sistem olduğu için kontaminasyon riski çok azdır.
5. Reaksiyon bittikten sonra başka işlemlere ihtiyaç duyulmadığından qPCR işlemi yaklaşık 45 dakika sürmektedir.
6. Özel eğri analizleri ile spesifik çoğaltımlar tanımlanmaktadır.
7. Reaksiyonun duyarlılığı, özgüllüğü ve tekrarlanabilirliği yüksektir [144, 146].

II.12.4 Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyon Sisteminin Dezavantajları

1. Reaksiyon sırasında kullanılan malzemelerin çok pahalı olması,
2. Teknik donanım, alt yapı, beceri, tecrübe ve yüksek ekipmana ihtiyaç olması,
3. Sadece bilinen mutasyonların taranabilmesi,
4. Laboratuvarlar arasında sonuçların farklı çıkması ve standardizasyon problemlerinin varlığı bilinen dezavantajlardandır [144, 146].

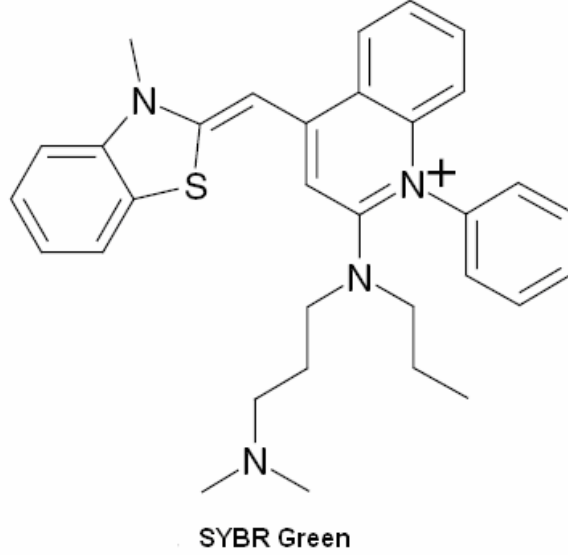
II.13 KANTİTATİF POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONUNDA KULLANILAN BOYA VE PROB SİSTEMLERİ

Kantitatif PZR tekniği, DNA çoğaltımının eş zamanlı olarak özel boyalarla gözlenmesidir. Sıklıkla kullanılan kimyasallar özel floresan prob ve boyalardan oluşmaktadır [144, 147].

II.13.1 SYBR Green I Boyası

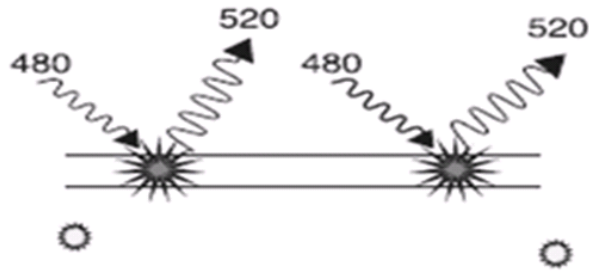
SYBR Green I boyası özgün olmayan çift iplikli DNA'nın çoğaltımında kullanılmaktadır. Bu yöntemde kullanılan floresan boya çift zincirli DNA'ya bağlanmakta ve çoğalan DNA miktarı arttıkça qPCR cihazında okunan floresansın miktarı da eş zamanlı olarak artmaktadır. Diziyeye özgün olmayan DNA'ya bağlanan

boyalar arasında en fazla kullanılan boya çeşidi SYBR Green I'dir (Şekil II.6). SYBR Green I 497 nm dalga boyunda yükseltgenir ve 520 nm dalga boyunda indirgenir [143].



Şekil II.6 SYBR Green'in kimyasal yapısı [143]

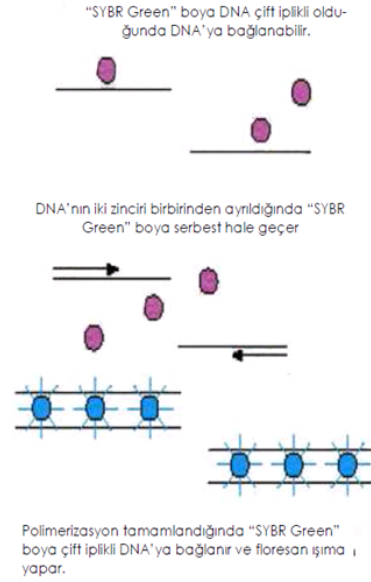
Sybr Green I çift iplikli DNA'nın küçük oluğuna bağlandığında serbest halinden 1000 kat daha kuvvetli floresans ışımaya yapar (Şekil II.7) [148] ve 30 çoğaltım döngüsünden sonra aktivitesinin yalnızca % 6'sını kaybeder [143].



Şekil II.7 Sybr Green I floresansının çift iplikli DNA molekülüyle birleşmiş hali [148]

Çoğaltım başlangıcında reaksiyon tüpü içerisinde çift iplikli DNA molekülü, primerler ve "SYBR Green I" boyası bulunmaktadır. Serbest DNA moleküllerinin floresans ışımaya miktarı çok azdır. Bu yüzden reaksiyon başında floresans yok denecek kadar azdır. Primerlerin bağlanmasıyla uzama başlar ve boya molekülü çift

iplikli DNA'nın arasına girerek ışımayı başlatır (Şekil II.8). Başlangıç döngülerinde sinyal zayıftır. Ürün miktarının artışına bağlı olarak floresans miktarı artmakta ve bu artış cihaz monitöründen izlenebilmektedir [143, 149].

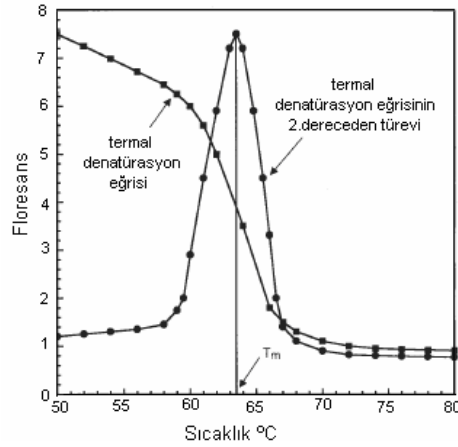


Şekil II.8 SYBR Green yöntemi [150]

Sybr Green tüm çift iplikli DNA moleküllerine bağlandığı için DNA problemleri kadar özgül değildir. Ancak PZR'dan sonra ürünün uzunluğu ve baz dizisine özgül erime sıcaklığı değerlerinin hesaplanması ile DNA erime eğrilerinin çizilmesine olanak sağlayan avantajlı bir yöntemdir. SYBR Green I yöntemi, optimize edilmiş PZR koşullarında ve iyi dizayn edilmiş primerler ile çok fazla sayıda hedef genin çoğaltımını sağlamaktadır. SYBR Green I yönteminde floresans işaretli problemlere ihtiyaç duyulmadığından maliyeti düşük ve pratiktir.

SYBR Green I yönteminde, istenmeyen PZR ürünlerinin çoğaltılmasıyla meydana gelen floresan ışınımalar oluşacağından, elde edilen sinyaller her zaman hedef DNA'nın çoğaltıldığını göstermeyebileceğinden hatalı sonuçlar alınabilir. Reaksiyon karışımında hedef DNA dizisi olmadığı zaman primerlerin birbirine bağlanması ile primer dimerleri olarak adlandırılan çift iplikli DNA bölgeleri ve özgül olmayan PZR ürünleri floresans ışınımı oluşturmaktadır [149, 151]. Çoğaltılan DNA'nın istenilen hedef bölge olup olmadığının belirlenmesi amacıyla DNA'ların erime eğrisi analizleri ("melting curve", "dissociation") yapılmalıdır. qPZR cihazı, DNA'ların erime eğri analizlerini yapmak için PZR kapillerlerini yavaşça ısıtmaya başlar. Isıtma işlemi ile çift iplikli DNA birbirinden ayrılmaya başladığında (erime

sıcaklığı= *melting temperature*= T_m), floresans boya serbest kalmakta ve okunan floresan ışımaya miktarı düşmektedir. Her DNA'nın kendine özgü bir erime sıcaklığı (T_m) derecesi vardır ve bu erime sıcaklığı çoğalan DNA parçalarının uzunluğuna ve içerdiği GC/AT oranına bağlı olarak değişmektedir. Spesifik olmayan PZR ürünleri ve hedef DNA parçalarının erime sıcaklıkları farklıdır. Bu farklılık her ürünün uzunluk ve gen dizisi içeriğinin özgülüğünden kaynaklanmaktadır. Bilinmeyen iki DNA dizisi karşılaştırılmak istendiği zaman erime eğrisi yöntemi güvenle kullanılmaktadır. (Şekil II. 9) [144, 147, 150, 152].



Şekil II.9 Sybr Green I yöntemi kullanılarak elde edilmiş çift iplikli hedef DNA'nın termal denatürasyon eğrisi [143].

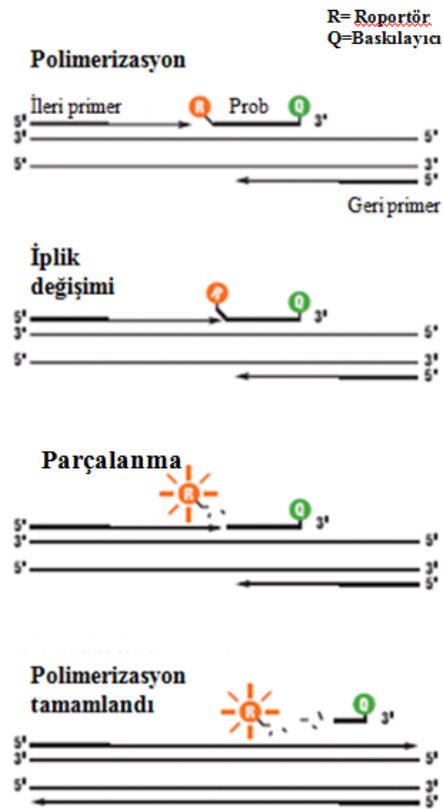
II.13.2 Diziye Özel Floresans İşaretli Problar

DNA parçasına ait özel bir bölge çoğaltılmak istendiğinde hedefe özgü floresan işaretli problar kullanılmaktadır [143]. İyi dizayn edilmiş bir prob serbest halde zayıf floresan verirken istenilen hedefe bağlandığında kuvvetli floresan vermelidir ve özgülüğü yüksek olmalıdır. qPZR yönteminde kullanılan en yaygın floresan işaretli problar: “*TaqMan*” prob, “Molecular boncuk”, “*FRET* - Hibridizasyon Probları” ve “*Scorpion*” ‘dur [142, 144, 147].

II.13.2.1 *TaqMan*® Probu

TaqMan® prob yöntemi çift-boyalı oligonükleotid (*Double-Dye Oligonucleotide*), çift işaretli prob (*dual labeled probe*) veya 5' nükleaz probu (*5' nuclease probe*) olarak adlandırılmaktadır. *TaqMan*® prob yönteminde çoğaltılmak istenilen DNA'ya tamamlayıcı olan ve floresans işaretlenmiş tek zincirli bir prob bulunmaktadır.

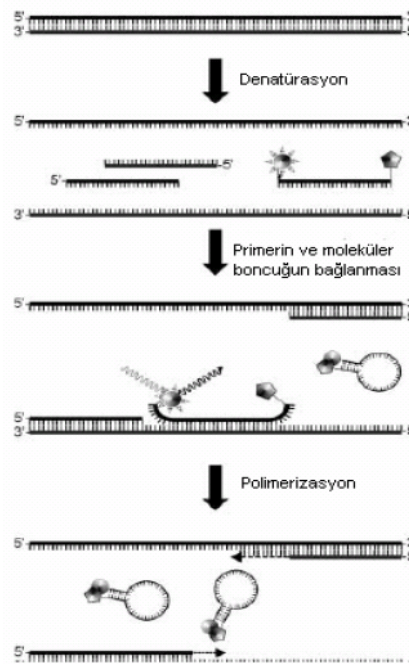
Floresan işaretli probun 5' ucunda yüksek enerjili florofor (6-karboksifloresin= 6-FAM) ve 3' ucunda düşük enerjili baskılayıcı (*quencher*) (6-karboksitetrametil-rodamin= TAMRA) boya yer almaktadır [153]. Probun 3' ucundaki baskılayıcı TAMRA boyası probun 5' ucundaki FAM boyasının sinyal oluşturmasını engellemektedir. Prob hedef DNA'ya bağlandığında ölçülen floresans sinyali düşüktür. PZR da çoğaltılma sırasında hedef nükleik asit dizisi üzerinde primerlerin bağlanma bölgeleri arasında *TaqMan* problar bağlanarak primer bağlanmasının ardından yeni zincir oluşturmaya başlarlar. *Taq* DNA polimeraz enzimi probun bağlandığı bölgeye geldiği zaman 5'→3' nükleaz aktivitesi ile 5' ucundan florofor FAM'ı probdan ayrılmakta ve serbest hale geçen FAM sinyali oluşturmaktadır. Her döngüde ürün miktarı arttıkça floresans ona bağlı olarak artmaya devam eder (Şekil II.10) [154]. Bu yöntem ile mutasyon tespiti sayısal verilere ulaşabilmektedir. *TaqMan* prob yöntemi standart protokolü ve kolay dizaynı ile çok az bir optimizasyonla gerçekleştiği için hem allellerin belirlenmesi hem de gen anlatım profilinin çıkartılmasında sıklıkla kullanılmaktadır [153, 155].



Şekil II.10 *TaqMan* Prob yöntemi [156]

II.13.2.2 Moleküler Boncuk Yöntemi

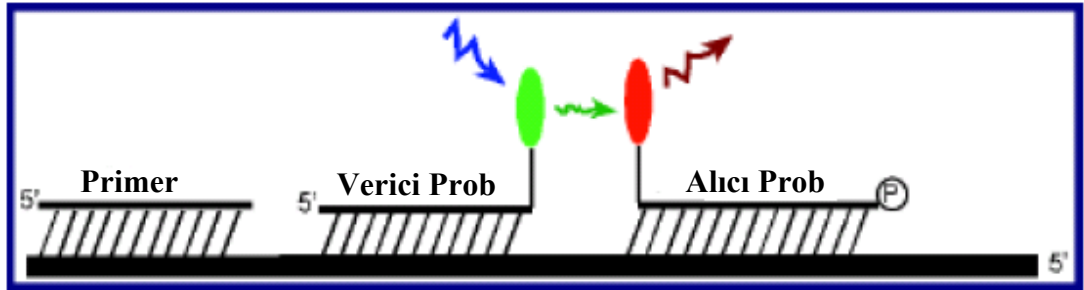
Moleküler Boncuk yöntemi çalışma prensibi ile *TaqMan* Prob ve SYBR Green yöntemlerinden farklılık göstermektedir [142, 150, 157, 158]. Moleküler boncuk yönteminde, saç tokası (*hairpin*) şeklindeki yapının yuvarlak uç kısmı çoğaltılacak olan hedef DNA ile komplementer tek iplikli DNA dizisi içermektedir. Saç tokası şeklindeki yapının düz olan uç kısımları 2 adet florofor boya içermektedir. Baskılayıcı florofor boya diğer boyanın ışımamasını engellediği için moleküler boncuk probu solüsyon içinde serbest haldeyken ışımaya yapamaz. Çoğaltılmak istenen hedef DNA bölgesi PZR ile çoğaltılmaya başladığı zaman prob hedef DNA dizisine göre dizyn edildiğinden birbirleri ile karşılaştıklarında konformasyonu değişmekte ve düz, çift iplikli hale geçmektedir. Bu yapı termodinamik olarak saç tokası şeklinden daha kararlıdır. Moleküler boncuk yapısı hedef nükleik asit dizisi ile hibridize olur olmaz molekülün yapısı değişmekte ve boyalar birbirlerinden uzaklaştığı için floresans miktarı artmaktadır (Şekil II.11) [158]. Moleküler boncuk yönteminde prob dizaynı ve optimal şartlar çok önemlidir. Uygun sıcaklığın elde edilemediği şartlarda ortamda hedef DNA dizisi bulunsa bile probun saç tokası şeklindeki yapısı değişmeyeceğinden ışımaya elde edilemeyebilir [157, 158]. Moleküler boncuk yöntemi genetik tarama, tek nükleotid polimorfizm çalışmaları ve farmakogenetik çalışmalarda kullanılmaktadır [150, 159].



Şekil II.11 Moleküler Boncuk yöntemi [158]

II.13.2.3 Hibridizasyon Prob Yöntemi

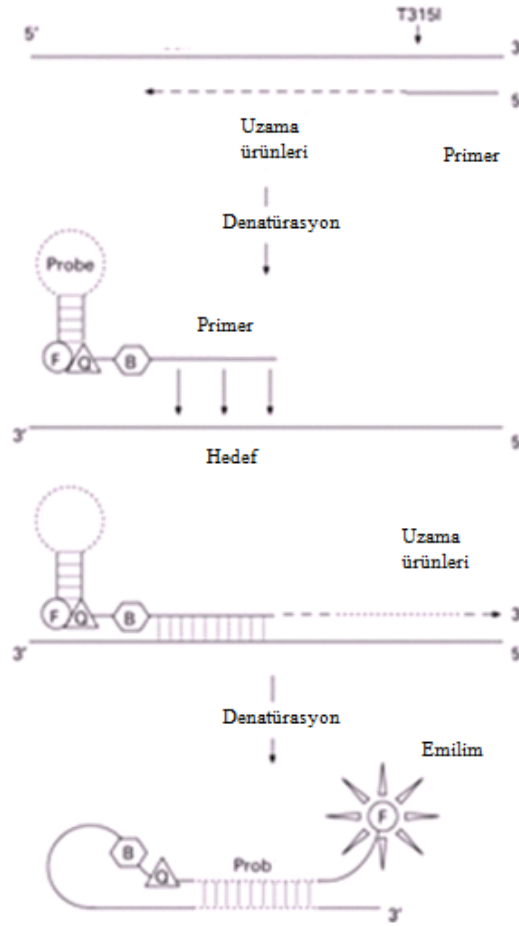
Hibridizasyon prob yöntemi (*FRET: Fluorescence Resonance Energy Transfer*) Roche firması tarafından *LightCycler®* PZR cihazında kullanılması amacıyla geliştirilmiştir [160, 161]. Bu teknik amplifikasyon primerlerinin iç tarafına göre tasarlanan iki farklı probdan oluşmaktadır. Problardan birinin 3' ucunda floresans işaretli verici boya (*donor*), diğerinin 5' ucunda ise alıcı boya (*acceptor*) bulunmaktadır. PZR reaksiyonu sırasında iki prob hedef nükleik asit dizisine bağlanıp birbirlerine yaklaşır ve enerji yayılımı oluşur. Enerji “verici” boyadan “alıcı” boyaya transfer olmaktadır. Enerji transferiyle oluşan floresans miktarı PZR süresince oluşan ürün miktarına bağlı olarak artmaktadır [144, 147, 149, 152, 160].



Şekil II.12 Hibridizasyon prob yöntemi [162]

II.13.2.4 Scorpiyon Primerler

Scorpion prob tekniği, saç tokası şeklinde uçları birbirine yapışık olarak işaretlenmiş prob-primerler ile birleştirilmektedir. PZR sürecinde primerler replikasyonu gerçekleştirirken, problemler açılarak yeni sentezlenen PZR ürünlerine hibridize olur ve floresans baskılayıcı boyadan ayrılarak sinyal üretirler (Şekil II.13) [142].



Şekil II.13. Scorpiyon Primerlerle qPZR [163]

II.13.2.5. Simple Prob

Simple Prob testlerde, mutasyonu bilinen gen içindeki çoğaltılmak istenen bölge primerler tarafından çoğaltılmaktadır. *Simple* problemlerin tasarımları yabancı tip ya da mutant tip dizisinin tamamlayıcısı olarak yapılmaktadır. Yabancı tip ve mutant tip genotip arasındaki farklılık erime sıcaklığı ile belirlenmektedir [164].

BÖLÜM III ÇALIŞMALAR

MATERYAL VE YÖNTEM

III.1 MATERYAL

III.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

III.1.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

- 1) LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe, 96 rxn (Roche, 3003248001)
- 2) High Pure PCR Template Preparation Kit2 (Roche, 11796828002)
- 3) rs1528133 için Primer-probe set; 1Nm (TıbMolBiol)
- 4) Tris baz, (Roche, 10708976001)
- 5) Magnezyum klorür (MgCl), (Merck)
- 6) Potasyum klorür (KCl), (Merck)
- 7) Borik asit, (MBG, A-2940)
- 8) Proteinaz K (Roche, 03 115 879)
- 9) Sodyum klorür (NaCl), (MBG, A-2942)
- 10) Sodyum hidroksit (NaOH), (MBG, A-6829)
- 11) Sodyum dodesil sülfat (SDS), (Roche, 11 667 289)
- 12) Amonyum klorür (NH₄Cl), (MBG, A-3260)
- 13) Potasyum bi karbonat (KHCO₃), (BDH)
- 14) Etanol, (MBG, A-3678)
- 15) Absolü etanol, (Merck, 100986)
- 16) EDTA, (MBG, A-5097)
- 17) Fenol/Kloroform/İzoamil alkol (SİGMA, 25:24:1)

III.1.1.2 Kullanılan Çözeltiler

1. Proteinaz K: çift distile suda 20mg/ ml
2. TE : Tris 1M, EDTA 0.5 M
3. Nükleaz Tamponu
Tris baz 10mM
NaCl 400 mM
EDTA 2 mM
4. Lizis Tamponu
NH₄Cl 155 mM
KHCO₃ 10 mM
EDTA 0.1 Mm
5. %10 SDS
Tris baz 15.1 g
Glisin 72 g
SDS 5 g
H₂O 1 lt
6. 1 M EDTA (ph: 8)
Na₂EDTA X 2H₂O 37.2 g
NaOH 10 M
H₂O 0.1 lt
7. 1 M KCl
KCl 74.6 g
H₂O 1 lt
8. 5M NaCl

III.1.2 Araç ve Gereçler

Otoklav,
Etüv,
Vorteks,
Elektronik Hassas Terazi,
Isıtcılı Manyetik Karıştırıcı,
Mikrosantrifüj,
Çeker Ocak,
UV Kabin,

Eş Zamanlı Termal Döngü Cihazı (qPZR sistemi),
Buzdolabı,
-20⁰C Derin Dondurucu,
Elektronik Pipet Seti (10µl, 100µl, 1000µl)
Spektrofotometre

III.1.3 Çalışma Grubu

III.1.3.1 Şişman ve Şişman Olmayan Gruplara Ait Klinik Veriler

Yaş ortalaması 57.11 ± 1.28 (minimum, 25 – maksimum, 84 yaş) olan 85 adet şişman (fazla kilolu+ şişman (sınıf I ve II)+ ileri derecede şişman (sınıf III)) (VKİ > 25) hasta ve yaş ortalaması 56.24 ± 1.90 (minimum, 25- maksimum, 76 yaş) olan 41 adet şişman olmayan (VKİ < 25) kontrol kişi ile çalışıldı [20]. Şişman grupta 51 kadın 34 erkek, şişman olmayan grupta ise 20 kadın 21 erkek birey bulunmaktaydı. Şişman hastalar Ekim 2010 - Ocak 2011 tarihleri arasında Türk Diabet ve Şişmanlık Vakfı Özel Diabet Hastanesi Polikliniğinde ayaktan tedavi görmekte olan hastalar arasından seçildi. Diyabetes mellitus, açlık plazma glikozu ≥ 140 mg/dl ve/veya 75 g oral glikoz yüklemesinden 2 saat sonra plazma glikozu ≥ 200 mg/dl olarak IDF kriterlerine [11] uygun olarak Türk Diabet ve Şişmanlık Vakfı Özel Diabet Hastanesinin Uzman Endokrinolog hekimleri tarafından teşhis edildi. Kontrol grubu Ekim 2010 - Ocak 2011 tarihleri arasında rutin sağlık kontrolü için müracaat eden şişmanlığı bulunmayan kişilerden oluşturuldu. Şişman ve şişman olmayan kontrol gruplarında bulunan kililer Türkiye'nin değişik bölgelerinden gelmekte ve çalışma gruplarındaki kişiler arasında 1. ve 2. derece akrabalık ilişkisi bulunmamaktadır. Hastaların hepatik ve endokrin fonksiyonları normal idi. Hasta ve kontrol gruplarındaki tüm kişilere çalışmanın amacı açıklanarak imzalı izinleri alındı. Hastaların yaş, boy, kilo, sigara, içki, beslenme alışkanlıkları soru cevap tarzında, yemek hazırlama metodları ve yemek yeme sıklıkları dahil olmak üzere günlük gıda tüketim miktarları temel besin gruplarına göre kaydedildi. Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubundaki kişilerin glisemik yükleri hesaplandı. Ayrıca hastaların, kendilerinde ile birinci ve ikinci dereceden akrabalarında şişmanlık hikayesi ve diyabet, hipertansiyon, dislipidemi, koroner arter hastalığı, metabolik sendrom gibi diğer hastalıkların mevcudiyeti, Türk Diabet ve Şişmanlık Vakfı Özel Diabet Hastanesi kayıtlarından kaydedildi.

III.1.4 Temel Gıda Alımı ve İlişkili Parametreler

Çalışmaya dahil edilen kişilerin, günlük gıda tüketim miktarları temel besin tablosunda (Ek III-1) [165] yer alan besin gruplarına (karbohidrat, protein, yağ) göre kaydedildi. Çalışmaya dahil edilen kişilerin vücut yağı miktarları aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

III.1.4.1 Vücut Yağı Ölçümü

İnsanlardaki yağsız vücut kütle (YVK) ölçüm formülü [166], erkekler için; $YBK (kg) = 0.32810 \times \text{ağırlık (kg)} + 0.33929 \times \text{boy (cm)} - 29.5336$, bayanlar için; $YBK (kg) = 0.29569 \times \text{ağırlık (kg)} + 0.41893 \times \text{boy (cm)} - 3.2933$. vücut yağı ölçümü, mevcut vücut ağırlığından (MVA) yağsız beden kütlelerinin çıkarılmasıyla hesaplandı.

III.2 KULLANILAN İNCELEME YÖNTEMLERİ

III.2.1 Glisemik Yük

Belirli miktardaki özgül bir besinin oluşturduğu insülin ihtiyacı ve glisemik yanıt seviyesinin belirlenmesi glisemik yük olarak tanımlanmaktadır.

Çalışma grubumuzdaki kişilere ait beslenme alışkanlıklarına göre *International table of glycemc index and glycemc load* kriterlerine göre [167] glisemik yükler hesaplandı.

III.2.3 Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanma Koşulları

Hasta ve kontrol grupların açlık periferik kan örnekleri 5 ml'lik vakumlu steril K₃- EDTA'lı steril tüplere alındı. K₃- EDTA'lı kanlar alındıkları andan itibaren ilk 1 hafta içerisinde genomik DNA'ları izole edilene kadar +4⁰C'de saklandı. Çalışmada gen polimorfizmi ile ilişkilendirmede kullanılacak olan biyokimyasal (açlık kan şekeri, kan yağları) ölçüm sonuçları Türk Diabet ve Şişmanlık Vakfı Özel Diabet Hastanesi Poliklinik kayıtlarından temin edildi.

III.2.4. Uygulanan Biyokimyasal Laboratuvar Analizleri

Türk Diabet ve Şişmanlık Vakfı Özel Diabet Hastanesi yapılan hasta ve kontrol örneklerine ait biyokimyasal analiz sonuçları [açlık kan şekeri, kan yağları (T-Kol, TG, LDL-Kol, LDL-Kol)] kayıtlardan temin edilmiştir.

Şişmanlık, NHLBI kriterlerine [20] göre VKİ temel alınarak değerlendirildi. VKİ 25 ve üzeri olan kişiler (fazla kilolu+şişman sınıf I ve II+ileri derecede şişman (şişman sınıf III)) şişman olarak değerlendirildi (Tablo II.2).

III.2.5 Kandan Genomik DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubuna ait kişilerden K₃-EDTA'lı tüplere alınan venöz kan örneklerinden “High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche” protokolü [168] ile ve yüksek tuz konsantrasyonları [169] yöntemleri kullanılarak genomik DNA'lar izole edildi (Şekil III.1).

III.2.5.1 *High Pure PCR Template Preparation* Kit Protokolü ile Genomik DNA İzolasyonu

1. Steril bir ependorf tüpteki 200 µl K₃-EDTA'lı kan üzerine 200 µl bağlama tamponu ve 40 µl proteinaz K eklenerek karıştırılır ve 70⁰C de 10 dk inkübe edilir.
2. Tüpe 100 µl izopropanol eklenerek iyice karıştırılır.
3. Kit içinde bulunan filtreli tüp, toplayıcı tüpe geçirilip, ependorf tüpteki karışım filtreli tüpe aktarılır.
4. 8000xg de 1 dk santrifüj edilir.
5. Filtreli tüp yeni bir toplayıcı tüp ile birleştirilip üzerine 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklenir.
6. 8000xg de 1 dk santrifüj edilir.
7. Filtreli tüp yeni bir toplayıcı tüp ile birleştirilip üzerine 500 µl yıkama tamponu eklenir.
8. 8000 g'de 1 dk santrifüj edilir.
9. 7. ve 8. basamaklar bir kez daha tekrar edilir.
10. Filtreli tüp steril bir ependorf tüp üzerine alınarak üzerine 200 µl 70⁰C'ye ısıtılmış toplayıcı tampon ilave edilir.
11. 8000g'de 1 dk. santrifüj edilir.
12. Ependorf tüpe süzölmüş olan DNA saflık ve miktar tayinleri yapıldıktan sonra -20⁰C'de muhafaza edilir.

III.2.5.2 Yüksek Tuz Konsantrasyonları Kullanılarak Genomik DNA İzolasyonu

1. 0.5 ml K₃-EDTA'lı kan üzerine 1.5 ml Lizis Tamponu eklendi (Lizis Tamponu: 155 mM NH₄Cl; 10 mM KHCO₃; 0.1 mM EDTA)
2. +4 °C`de 15 dakika (dk) inkübe edildi.
3. 5000 rpm`de 10 dk. santrifüj edildi.
4. Supernatant atıldı ve pellet üzerine lizis tamponu eklendi
5. 5000 rpm`de 10 dk. santrifüj edildi.
6. 4. ve 5. basamaklar 2-3 kez tekrar edildi.
7. Nükleus pelleti üzerine 150 µl nükleaz tamponu (Nükleaz tamponu: 10 mM Tris-base; 400 mM NaCl; 2 mM EDTA), 20 µl çift distile su, 1.5 µl proteinaz K ve 2.5 µl %10 SDS eklendi.
8. Karışım 37°C`de bir gece inkübasyona bırakıldı.
9. İnkubasyon sonrası 1.1 oranında çift distile su ve 5M NaCl karışıma ilave edildi.
10. 10000 rpm`de 20 dk. santrifüj edildi.
11. Süpernatant başka bir tüpe aktarılarak üzerine saf etanol eklendi ve tüp birkaç kez altüst edilerek karıştırıldı.
12. 10000 rpm`de 5 dk. santrifüj edildi.
13. Pellet üzerine %70 izopropanol eklendi ve DNA çöktürüldü
14. Süpernatant atıldı ve pellet 200 µl 1 X TE içerisinde çözdürüldü.



Şekil III.1 Kandan genomik DNA izolasyonu

III.2.6 DNA Miktarının Ölçülmesi

Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyundaki ışığı maksimum düzeyde absorbe etmektedir. Bu dalga boyundaki absorpsiyon derecesi nükleik asitlerin miktarını göstermektedir. DNA'nın miktar ve saflığını belirlemek amacıyla her bir örnek spektrofotometrede 260 nm (DNA için) ve 280 nm (protein için) dalga boylarında ölçülerek belirlendi [153]. 1 optik dansite (OD) çift iplikli DNA için 50 µg/ml'ye karşılık gelmektedir. İzole edilen DNA çift iplikli oldukları için, miktarının belirlenmesinde 260 nm'deki absorpsiyon değeri 50 ile çarpıldı [170, 171].

$$\text{DNA}(\mu\text{g/ml}) = 260 \text{ nm'deki OD} \times \text{seyreltme oranı} \times \text{katsayı} [172]$$

260 nm OD ölçümünün 280 nm OD ölçümüne oranı bize sırasıyla DNA'da protein ya da RNA kontaminasyonu olup olmadığı hakkında bilgi vermektedir. Sağlıklı bir PCR analizi için $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$ oranı 1.8 ile 2.0 arasında olmalıdır. OD'nin 2.0'nin üzerinde olması RNA kontaminasyonuna, 1.8'in altında olması da protein kontaminasyonunu göstermektedir.

İzole edilen DNA'ların spektrofotometrede (Shimadzu/ UV-1800) konsantrasyonlarını ölçmek üzere 2 µl DNA solüsyonu 1698µl suya ilave edilerek 1/850 oranında seyreltildi ve DNA'ların absorbans değerleri 260 ve 280 nm dalga boylarında okundu (Şekil III.2). Elde edilen değerlerin $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$ oranlarınının 1.8 ile 2.0 arasında olmasına dikkat edildi.



Şekil III.2 DNA'nın miktar ve saflığının spektrofotometrik olarak belirlenmesi

DNA'ların optik dansitesi Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Enstrümental Analiz Araştırma Laboratuvarındaki Shimadzu/ UV-1800 model spektrofotometre ile ölçüldü.

Genomik DNA'lara ait OD₂₆₀ / OD₂₈₀ nm oranları 1.8-2.0 arasında olan DNA örnekleri direkt olarak qPZR reaksiyonuna alındı. Ancak OD₂₆₀ / OD₂₈₀ nm oranı 1.8'in altındaki ve 2.0'ın üzerindeki örneklerde RIC-3 geni rs1528133 polimorfizminin belirleneceği PZR ürünlerinin çoğaltımında başarılı olunamadığından bu örneklere Fenol/ Kloroform yöntemi uygulanarak saflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Saflaştırılan DNA örneklerinde ölçülen OD₂₆₀ / OD₂₈₀ nm oranı 1.8-2.0 arasında olan örneklere qPZR işlemi uygulanarak rs1528133 genotipleri belirlendi.

III.2.7 DNA'nın Saflaştırılması [173]

Fenol/ Kloroform/ İzomil alkol kullanılarak aşağıdaki yöntemle saflaştırma işlemi yapıldı.

1. Saflaştırılması istenen DNA'ya eşit miktarda Fenol/Kloroform (25:24:1) (fenol fazı: 10 mM Tris, pH 8.0, 1 mM EDTA ile tamponlanmış fenol pH: 6.7 ± 0.2) karışımı eklendi.

2. Karışım süt rengine gelene kadar vorteks ile iyice karıştırıldı.
3. 13000 rpm'de 10 dakika(dk) santrifüj edildi.
4. Süpernatant temiz bir tüpe alındı.
5. Üzerine 1:2 oranında saf etanol eklendi.
6. 14000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.
7. Süpernatant atılarak üzerine 200 µl %70'lik etanol eklendi.
8. 14000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.
9. Süpernatant atıldı ve pellet 200 µl 1XTE içerisinde çözündürüldü.

III.2.8 TUB Geninin Çoğaltılması ve rs1528133 Tek Nükleotid Polimorfizminin Tespiti ile İlgili Yöntemler

LightCycler® FastStart DNA Master hibridizasyon probu; kolay kullanımlı, yüksek performanslı, tekrarlanabilirliği olan ve minimum kontaminasyon riskine sahip bir kittir.

LightCycler® FastStart DNA Master hibridizasyon prob kiti, hibridizasyon probu belirleme formatı için özel olarak oluşturulmuş kullanıma hazır bir reaksiyon karışımı olup, *LightCycler* kapiller sisteminde kullanılmaktadır. Reaksiyonlar 20µl'lik cam kapillerlerde sıcak başlangıçlı (*Hot-start*) PZR ile gerçekleştirilmektedir. Sıcak başlangıçlı PZR, polimeraz zincir reaksiyonunun başlangıcında spesifik

olmayan çoğaltım ürünlerinin oluşumunu en aza indirerek reaksiyonun hassasiyet ve özgüllüğünü artırır [174 - 177].

FastStart Taq DNA polimeraz, 75⁰C'ye kadar aktivite göstermeyen termostabil rekombinant *Taq* DNA polimerazın modifiye formudur. Enzim sadece yüksek sıcaklıklarda aktive olduğundan, primerler spesifik olmayan bağlanma yapamazlar. PZR öncesinde uygulanan 95⁰ C'de, 10 dk'lık bir ön muamele ile, enzim tamamen aktive edilir.

III.2.8.1 Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile rs1528133 Genotiplerinin Belirlenmesi

Çalışmada *LightCycler 2.0* (Roche, Almanya) qPZR cihazına uygun *LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe* kiti (Şekil III.5.) ve *Simple* prob (*TibMolBiol LightSNiP* Kiti) kullanılarak RIC-3 geni rs1528133 genotipleri belirlendi.

Erime eğrisi (*Melting curve*) analizi kullanılarak, uygun erime sıcaklıklarının incelenmesiyle genotipler belirlendi.

Genotipleri belirlemek için hazırlanan karışımda ddH₂O, primer-prob karışımı (*LightSNiP*), *FastStart DNA Master* (*LightCycler FastStart* enzim, *FastStart Taq* DNA polimeraz, reaksiyon tamponu, dNTP karışımı, 10mM MgCl₂), MgCl₂ ve DNA örnekleri kullanıldı (Tablo III.1).

Bir primer-prob karışım tüpü 96 reaksiyonluk PZR için kullanılmaktadır. Liyofilize halde temin edilen primer-prob karışım tüpüne ilk olarak kısa süreli santrifüj uygulandı. Tüpün dibinde sarı renkli gözlemlenen pellet (primer-prob karışımı) üzerine 100µl ddH₂O eklendi, pipetaj yapılarak karıştırıldı ve kısa süreli santrifüj uygulandı. 1µl primer-prob karışımı 20µl'lik PZR reaksiyonu için kullanıldı.

Tablo III.1 RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin belirlenmesinde kullanılan qPZR reaksiyon karışımı

Kullanılan malzemeler	Final Konsantrasyon
Çift distile su	10.4 µl
Primer-prob karışımı	1 µl (0.4 µM)
<i>Fast Start DNA master</i> karışımı	2.0 µl (1X)
MgCl ₂ (25mM)	1.6 µl (3mM)
Kalıp DNA	5 µl (~50 ng)

RIC-3 geni rs1528133 genotipleri belirlenecek olan DNA örneklerine ait reaksiyon karışımlarının toplam hacmi 20 µl olacak şekilde hazırlandı.

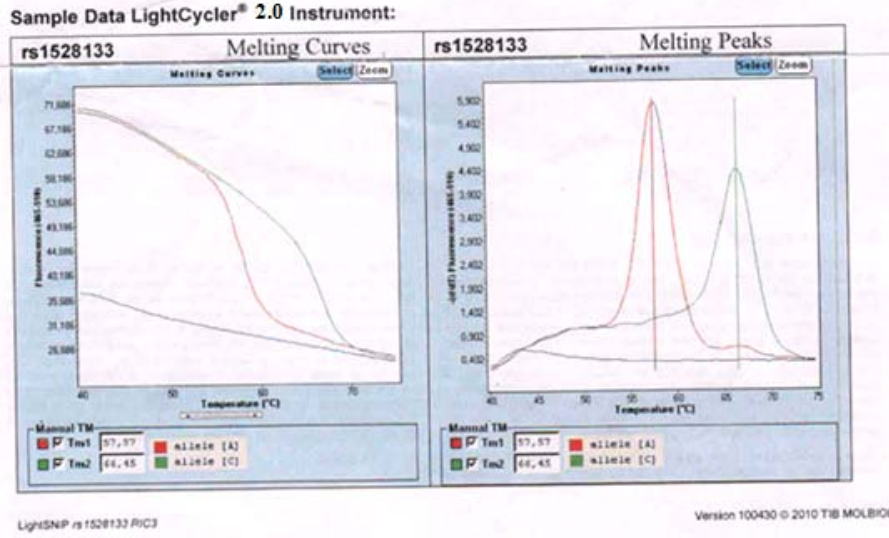
RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin belirlenmesi amacıyla hazırlanan karışımlara, “*LightCycler 2.0 (Roche Applied Science, Almanya)*” sisteminde Tablo III.2’de belirtilen şartlarda gen çoğaltımı yapıldı.

Tablo III.2 *LightCycler*® Programı

Program	Denatürasyon	Döngü			Erime			Soğutma
Parametre	Hiçbiri	Ölçme			Erime Eğrisi			Hiçbiri
Analiz Modu	Hiçbiri	Ölçme			Erime Eğrisi			Hiçbiri
Döngüler	1	45			1			1
Bölüm	1	1	2	3	1	2	3	1
Sıcaklık [°C]	95	95	60	72	95	40	75	40
Süre [ss:dd:ss]	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:30	00:02:00	00:00:00	00:00:30
Cihaz işlem hızı [°C/s]	20	20	20	20	20	2	-	20
Elde Etme Modu	Hiçbiri	Hiçbiri	Tek	Hiçbiri	Hiçbiri	Hiçbiri	Devamlı	Hiçbiri

Kantitatif PZR’nunu takiben erime eğrisi analizi yapılarak, standart erime eğrisi analiz grafiğine göre genotipler belirlendi. RIC-3 geni rs1528133 polimorfizmi A/C nükleotid değişimi sonucunda oluşmaktadır. RIC-3 geni rs1528133 genotiplerini belirlemek amacıyla polimorfizme ait standart eğri grafiği temel alınarak her bir örnek değerlendirildi. Kullandığımız *Simple* prob polimorfik tipteki genotipe göre tasarlandığından, yabancı tip genotipin Tm sıcaklığı polimorfik tip genotipinin Tm sıcaklığından daha düşüktür. Standart eğri grafiğinde (Şekil III.3) “A” allelinin sıcaklık derecesindeki (57.57⁰C) eğri yabancı tip genotipi, “C” allelinin sıcaklık derecesindeki (66.45⁰C) eğri polimorfik tip genotipi ve her iki sıcaklık

derecesindeki eğri heterozigot genotipi göstermektedir. Sıcaklık derecelerinde gözlemlenen 2⁰C'lik farklar dikkate alınmamaktadır. RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin belirlenmesindeki tüm uygulamalarda *LightCycler® 4.1* yazılımı kullanıldı.



Şekil III.3. RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin standart erime eğrileri

III.2.8.2 RIC-3 Geni rs1528133 Genotiplerinin Belirlenmesinde Kullanılan Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyon Protokolü

Çalışmada genotipleri belirlenecek olan tüm örneklerin genomik DNA'ları elde edildi.

Kantitatif PZR *LightCycler® 2.0*, (*Roche Applied Science*, Almanya) sistemine sırasıyla SNP çalışma protokolü ve örnekler kaydedildi (Şekil III.4).



Şekil III.4 *LightCycler® 2.0* kapiller sistemi, *Roche*

PZR reaksiyon karışımının tüm basamakları steril UV kabin içinde buzda gerçekleştirildi. Bütün reaktifler çözündürülerek pipetaj ile iyice karıştırıldı. Tüp içeriklerinin dibe toplanması için kısa süreli santrifüj edildi. Reaksiyon karışımı Tablo III.1'de belirtilen miktarlarda karanlıkta hazırlandı.



Şekil III.5 *LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe* kiti

Cam kapiller tüpler (20 μ l) soğuk bloğa yerleştirildi (Şekil III.6) ve her bir kapillere reaksiyon karışımından 15 μ l dağıtıldı (Şekil III.7). Karışıma DNA örneklerinden 5 μ l ilave edildi ve kapillerlerin kapakları kapatıldı. Reaksiyon karışımının kapillerlerin dibinde toplanması için kısa süreli satrifüj uygulandı.



Şekil III.6 *LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe* kiti, kapillerler ve soğuk blok.



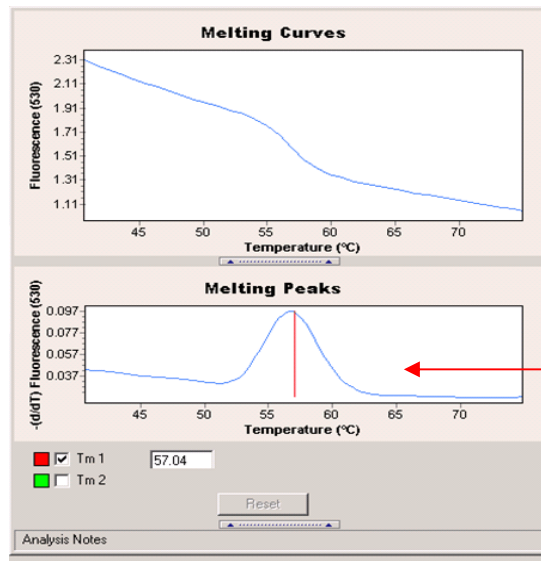
Şekil III.7 Cam kapillerlere qPZR reaksiyon karışımının dağıtılması.

Cam kapillerler dikkatlice *LightCycler* karuseline yerleştirildikten sonra, “*LightCycler 2.0* (Roche Applied Science, Almanya)” cihazında konumlandırılarak sistem çalıştırıldı (Şekil III.8).



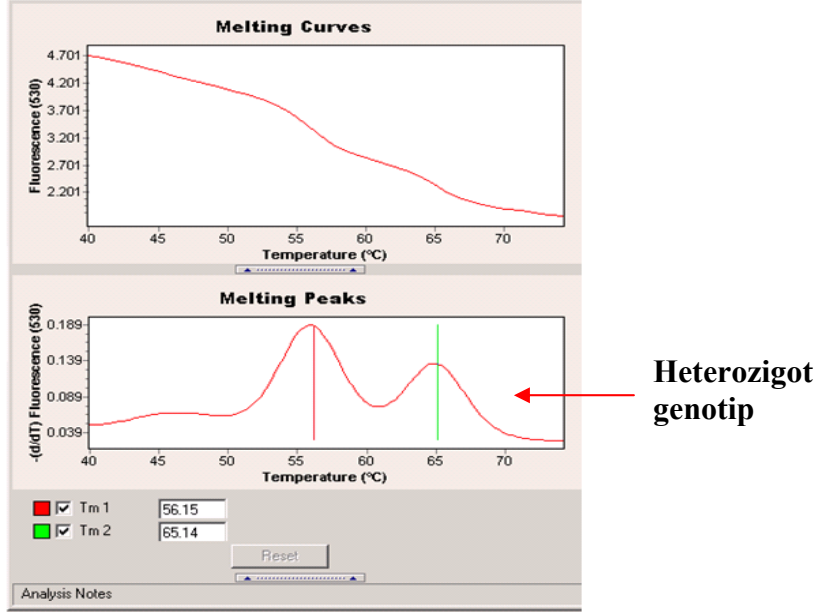
Şekil III.8 Cam kapillerlerin qPCR cihazına yerleştirilme işlemi

PZR işlemi bittikten sonra rs1528133 genotiplerini belirlemek amacıyla, PZR ürünlerine erime eğrisi analizi yapılarak sonuçlar aşağıda belirtildiği gibi değerlendirildi (Şekil III. 9, Şekil III. 10, Şekil III 11).

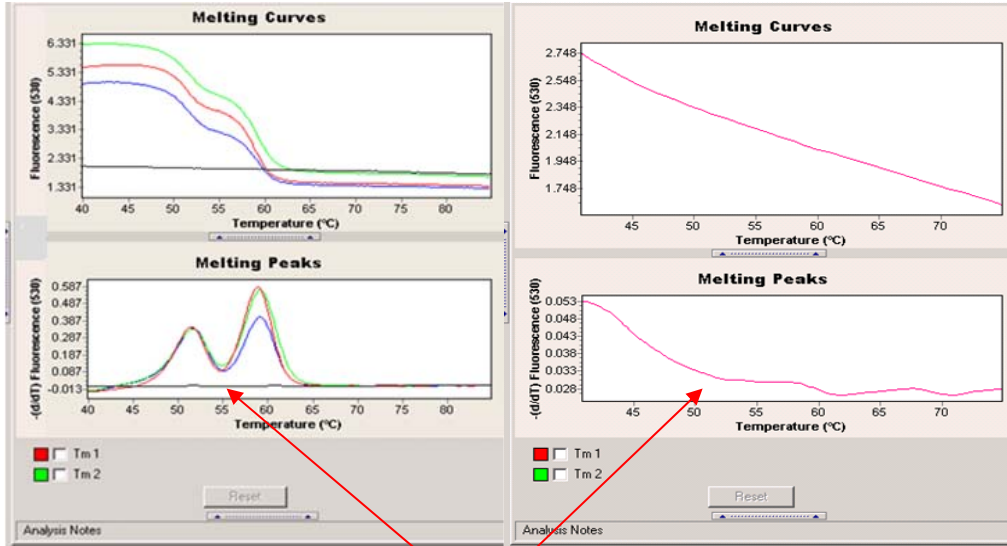


**Homozigot
Yabani
Genotip**

Şekil III.9 Tm: 57.04°C. rs1528133 yabancı tip genotip (A/A)



Şekil III.10. Tm: 56.15 ve 65.14°C. rs1528133 heterozigot tip genotip (A/C)



Şekil III.11 Tm: 0°C. Negatif kontrole ait erime eğrisi

III.2.9 İstatistiksel Analizler

İstatistik analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 17.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli ölçümlü değişkenler için ortalama \pm standart hata (SH) ve medyan (minimum – maksimum) olarak verildi. Kategorik değişkenler gözlem sayısı ve (%) değer olarak gösterildi. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren değişkenler için Student's t

testi, normal dağılım göstermeyen değişkenler iin Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılması Ki-kare testi ve Fisher kesin olasılık testi ile yapıldı. Kolinesteraz inhibitörlerine diren geni rs1528133 polimorfizminin şişmanlık üstüne etkileri lojistik regresyon analizi yapılarak değerlendirildi. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BÖLÜM IV

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

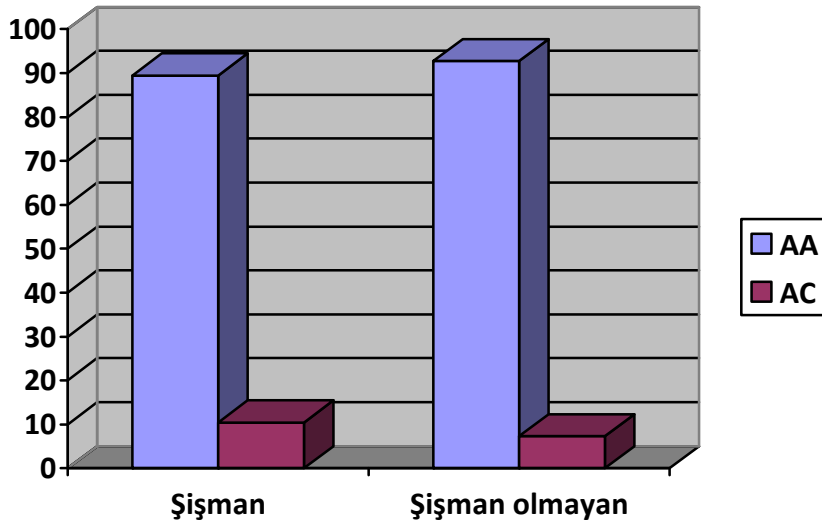
IV.1 SONUÇLAR

Çalışmamızda yer alan şişman ve şişman olmayan gruplara ait RIC-3 geni rs1528133 genotip sıklıkları Tablo IV.1’de verildi. RIC-3 geni rs1528133 polimorfizmi için genotip sıklıkları şişman grupta, A/A (yabanil tip), A/C (heterozigot) genotipler için sırasıyla %89.4, %10.6 ve şişman olmayan grupta ise %92.7, %7.3 olarak tespit edildi. Şişman grupta ve şişman olmayan çalışma gruplarımızda polimorfik genotipi homozigot formda (C/C) taşıyan bir bireye rastlanmadı. RIC-3 geni rs1528133 genotip sıklıkları şişman ve şişman olmayan gruplar arasında istatistiksel anlamlı olarak farklı bulunmadı ($p=0.558$). Şişman ve şişman olmayan gruplar içerisinde en sık gözlenen genotip yabanil (A/A) tip olarak bulundu (Tablo IV.1).

Tablo IV.1 Şişman ve şişman olmayan çalışma gruplarında RIC-3 rs1528133 genotip sıklıkları

RIC-3 geni rs1528133 genotip sıklıkları		
	Homozigot Yabani Tip (A/A), n(%)	Heterozigot (A/C), n(%)
Şişman	76 (89.4)	9 (10.6)
Şişman olmayan	38 (92.7)	3 (7.3)

Sonuçlar sayı (%) değer olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. Çalışma gruplarında gözlemlenen genotip sıklıkları ki-kare (χ^2) testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2=0.343$, p=0.558.



Şekil IV.1 Şişman (VKİ > 25) ve şişman olmayan (VKİ < 25) kontrol gruplarında RIC-3 geni rs1528133 genotip dağılımlarının grafik ile gösterilmesi

Şişman ve şişman olmayan çalışma gruplarına ait şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ilişkili göstergeler ve temel demografik özellikler Tablo IV.2’de verildi. Triglicerid ve yüksek yoğunluklu lipoprotein ölçümleri, şişman ve şişman olmayan gruplarda istatistiksel olarak farklılık göstermedi ($p>0.05$). Vücut kütle indeksi ($p<0.001$), yağsız vücut kütlesi ($p<0.0001$), yağ kütlesi ($p<0.001$), glikoz ($p<0.001$), total kolesterol ($p<0.01$), düşük yoğunluklu lipoprotein ($p<0.05$), sistolik kan basıncı ($p<0.01$), diyastolik kan basıncı ($p<0.01$) ve bel ($p<0.001$) ölçümleri şişman bireylerde, şişman olmayan bireylere göre daha yüksek bulundu (Tablo IV.2).

Tablo IV.2 Şişman ve şişman olmayan çalışma gruplarına ait, şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ve demografik özellikler ile ilişkili göstergeler

	Şişman (n=85) Ort. ± SH; Medyan (Min-Max)	Şişman Olmayan (n=41) Ort. ± SH; Medyan (Min-Max)	P
Yaş (yıl)	57.11 ± 1.25; 57.50 (25-84)	56.24 ± 1.90; 56.50 (25-76)	0.742
Kilo (kg)	80.71 ± 1.44; 80.00 (62-115)	61.42 ± 1.23; 62.00 (50-80)	0.0001***
Boy (m)	1.62 ± 0.01; 1.61 (1.44-1.84)	1.63 ± 0.01; 1.63 (1.50-1.87)	0.408
Bel çevresi (cm)	99.66 ± 1.60; 101.50 (65-132)	77.28 ± 1.41; 74.00 (67-106)	0.0001***
VKİ (kg/m ²)	30.77 ± 0.47; 29.90 (25.05-42.87)	22.85 ± 0.18; 22.95 (20.01-24.91)	0.0001***
YVK (kg)	50.99 ± 0.66; 50.07 (40.24-66.90)	45.65 ± 0.90; 45.68 (34.33-57.81)	0.0001***
YK (kg)	29.70 ± 0.82; 28.98 (24.38-42.87)	15.94 ± 0.46; 15.77 (11.47-22.21)	0.0001***
T-Kol (mg/dl)	201.75 ± 4.70; 198.38 (124-295)	178.65 ± 7.09; 175.18 (104-337)	0.005**
TG (mg/dl)	138.43 ± 6.87; 125.00 (33-383)	149.30 ± 32.73; 109.83 (68-1230)	0.059
HDL- Kol (mg/dl)	47.30 ± 1.37; 45.00 (24-80)	48.66 ± 1.64; 47.00 (34-70)	0.098
LDL-Kol (mg/dl)	99.28 ± 5.27; 101.50 (24-221)	76.42 ± 7.14; 68.00 (27-159)	0.01*
Açlık kan şekeri (mg/dl)	118.51 ± 9.40; 93.00 (46-352)	63.01 ± 4.13; 59.02 (40-101)	0.0001***
SKB (mmHg)	139.99 ± 2.48; 140.00 (100-220)	126.13 ± 2.53; 120 (100-70)	0.001**
DKB (mmHg)	81.35 ± 1.25; 80.00 (60-110)	75.87 ± 1.78; 75.00 (60-120)	0.007**

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi. n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YVK: Yağsız vücut kütlesi, YK: Yağ kütlesi, T-Kol: Total-kolesterol, TG: Triglicerid, HDL-Kol: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, LDL-Kol: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı. * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$.

Çalışmamıza dahil edilen tüm kişiler abdominal şişman ve abdominal şişman olmayanlar olarak gruplandırılıp, şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ilişkili göstergeler ve temel demografik özellikler açısından karşılaştırıldı (Tablo IV.3). Yüksek yoğunluklu lipoprotein seviyeleri abdominal şişman ve abdominal şişman olmayan gruplarda istatistiksel olarak farklı bulunmadı. Vücut kütle indeksi ($p<0.001$), yağsız vücut kütlesi ($p<0.001$), yağ kütlesi ($p<0.001$), glikoz ($p<0.001$), total-kolesterol ($p<0.01$), trigliserid ($p<0.01$), düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol ($p<0.01$), sistolik kan basıncı ($p<0.001$), diyastolik kan basıncı ($p<0.01$) ve bel ($p<0.001$) ölçümleri ise abdominal şişman grupta, abdominal şişman olmayan gruba kıyasla yüksek bulundu (Tablo IV.3).

Tablo IV.3 Abdominal şişman ve abdominal şişman olmayan çalışma gruplarına ait şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ve demografik özellikler ile ilişkili göstergeler

	Abdominal Şişman (n=57) Ort. ± SH; Medyan (Min-Max)	Abdominal Şişman Olmayan (n=66) Ort. ± SH; Medyan (Min-Max)	P
Yaş (yıl)	55.84 ± 1.58; 56.60 (25-78)	57.75 ± 1.45; 57.00 (25-84)	0.377
Kilo (kg)	84.46 ± 1.40; 85.00 (68-115)	65.88 ± 1.19; 65.00 (50-94)	0.0001***
Boy (m)	1.61 ± 0.01; 1.60 (1.44-1.79)	1.64 ± 0.01 ;1.64 (1.50-1.87)	0.041*
Bel çevresi (cm)	107.26 ± 1.19; 107.00 (89-132)	79.34 ± 1.12; 80.00 (65-106)	0.0001***
VKİ (kg/m ²)	32.61 ± 0.51; 31.43 (28.04-42.87)	24.41 ± 0.28; 23.68 (20.01-29.55)	0.0001***
YVK (kg)	51.76 ± 0.81; 50.35 (40.24-66.89)	47.14 ± 0.73; 46.40 (34.33-63-73)	0.0001***
YK (kg)	32.70 ± 0.90; 31.65 (22.63-48.10)	18.73 ± 0.60; 18.26 (11.47 -30.26)	0.0001***
T-Kol (mg/dl)	205.98 ± 5.72; 209.59 (124-294)	183.33 ± 5.49; 176.47 (104-337)	0.002**
TG (mg/dl)	148.54 ± 8.70; 132.0 (56-383)	135.81 ± 19.54; 110.50 (33-1230)	0.002**
HDL- Kol (mg/dl)	48.10 ± 1.65; 47.57 (30-77)	47.15 ± 1.45; 45.50 (24-80)	0.799
LDL-Kol (mg/dl)	101.73 ± 6.14; 105.00 (30-177)	82.37 ± 6.01; 84.00 (24-221)	0.009**
Açlık Kan Şekeri (mg/dl)	131.53 ± 12.84; 102.91 (57-352)	77.64 ± 5.86; 67.05 (40-191)	0.0001***
SKB (mmHg)	144.72 ± 3.18; 145.00 (100-220)	127.15 ± 2.03; 120.00 (100-170)	0.0001***
DKB (mmHg)	82.63 ± 1.52; 80.00 (60-110)	76.46 ± 1.39; 75.00 (60-120)	0.003**

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi. n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YVK: Yağsız vücut kütlesi, YK: Yağ kütlesi, T-Kol: Total-kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-Kol: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, LDL-Kol: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı.* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$.

Çalışma grubunda yer alan kişilerin şişmanlık (genel şişmanlık, abdominal şişmanlık) ve şişmanlık ile ilişkili hastalıklara (hipertansiyon, tip 2 diyabet, dislipidemi, koroner arter hastalığı, metabolik sendrom) göre taşıdıkları rs1528133 genotip sıklıkları Tablo IV.4’de verildi.

Tablo IV.4 Çalışma grubundaki kişilere ait hastalıklardaki RIC-3 geni rs1528133 genotip dağılımları

	RIC-3 geni rs1528133 genotipleri		p	χ^2
	Homozigot Yabanil Tip (A/A), n(%)	Heterozigot (A/C), n(%)		
Şişmanlık				
Genel Şişmanlık	74 (66.1)	9 (75.0)	0.532	0.390
Abdominal Şişmanlık	54 (50.9)	3 (25.0)	0.088	2.905
Şişmanlık İlişkili Hastalıklar				
Hipertansiyon	57 (50.4)	5 (41.7)	0.563	0.334
T2DM	49 (43.4)	4 (33.3)	0.504	0.447
Dislipidemi	40 (36.4)	6 (50.0)	0.355	0.857
KAH	48 (42.5)	4 (33.3)	0.541	0.373
MS	50 (44.6)	4 (33.3)	0.453	0.564

Çalışma gruplarında gözlemlenen hastalıkların sıklıkları ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Sonuçlar sayı (%) değer olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. T2DM: Type 2 diabetes mellitus, KAH: Koroner arter hastalığı, MS: Metabolik sendrom.

RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin şişmanlık ve şişmanlık ilişkili diğer hastalıklara sahip tüm çalışma grubumuzda, serum lipidleri, açlık kan şekeri, vücut kütle indeksi, yağsız vücut kütlesi ve yağ kütlesi üzerine olan mevcut etkileri Tablo IV.5’de verildi. İncelenen klinik ve biyokimyasal verilerin hiç birinde rs1528133 genotiplerine bağlı istatistiksel anlamlı bir değişiklik saptanmadı (Tablo IV.5).

Tablo IV.5 RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyonla ve demografik özellikler ile ilişkili parametreler üzerine etkileri

RIC-3 geni rs1528133 genotipleri			
	Homozigot Yabanil Tip (A/A), (n=114) Ort. ± SH; Medyan (Min-Max)	Hetezigot (A/C) (n=12) Ort. ± SH; Medyan (Min-Max)	p
Yaş (yıl)	56.44 ± 1.17; 56.50 (25-82)	60.33 ± 3.66; 58.50 (44-84)	0.572
Kilo (kg)	75.35 ± 1.35; 74.00 (50-115)	69.71 ± 2.60; 70.00 (54-88)	0.175
Boy (m)	1.62 ± 0.01; 1.62 (1.44-1.87)	1.60 ± 0.02; 1.60 (1.50-1.76)	0.541
Bel çevresi (cm)	93.31 ± 1.61; 94.50 (65-132)	88.58 ± 4.75; 86.00 (72-125)	0.356
VKİ (kg/m²)	28.46 ± 0.51; 28.40 (20.01-42.87)	27.20 ± 1.27; 26.45 (21.90-39.11)	0.359
YVK (kg)	49.62 ± 0.63; 48.78 (34.33-66.89)	47.03 ± 1.19; 46.25 (41.45-56.10)	0.136
YK (kg)	25.73 ± 0.90; 25.32 (11.47-48.10)	22.67 ± 2.07; 22.94 (12.54-42.43)	0.258
Fastingglucose (mg/dl)	103.66 ± 8.05; 81.00 (40-352)	97.78 ± 19.30; 76.00 (46-191)	0.917
T-Kol (mg/dl)	195.19 ± 4.29; 191.00 (104-337)	189.67 ± 12.04; 169.00 (140-268)	0.526
TG (mg/dl)	132.63 ± 5.80; 116.91 (33-383)	218.92 ± 93.032; 121.57 (68-1230)	0.848
HDL- Kol (mg/dl)	47.63 ± 1.12; 46.20 (24-77)	48.53 ± 3.69; 46.00 (36-80)	0.942
LDL-Kol (mg/dl)	91.59 ± 4.62; 95.50 (24-221)	96.07 ± 13.54; 100.00 (30-177)	0.789
SKB (mmHg)	135.92 ± 2.06; 130.00 (100-220)	132.08 ± 6.13; 122.50 (110-170)	0.389
DKB (mmHg)	80.04 ± 1.01; 80.00 (60-120)	75.42 ± 3.50; 70.00 (60-100)	0.148

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi. n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YVK: Yağsız vücut kütlesi, YK: Yağ kütlesi, T-Kol: Total-kolesterol, TG: Triglicerid, HDL-Kol: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, LDL-Kol: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı.

Çalışmamızda yer alan şişman ve şişman olmayan gruplarda var olan diğer hastalıkların sıklıkları Tablo IV.6'da belirtildi. Şişman grubumuzun içinde en sıklıkla rastlanan hastalık tip 2 diyabet (%62.4), metabolik sendrom (%61.2), hipertansiyon (%60) ve koroner arter hastalığı (%52.9) olarak saptanırken, şişman olmayan grubumuzda hipertansiyon (%27.5), koroner arter hastalığı (%17.6), metabolik sendrom (%5.1) olarak belirlendi (Tablo IV.6).

Tablo IV.6 Şişman ve şişman olmayan çalışma gruplarına ait hastalık profilleri

	Çalışma Grupları		p	χ^2
	Şişman n(%)	Şişman Olmayan n(%)		
Hipertansiyon	51 (60)	11 (27.5)	0.001*	11.493
T2DM	53 (62.4)	0 (0)	0.0001**	43.301
Dislipidemi	32 (38.1)	14 (36.8)	0.895	0.017
KAH	45 (52.9)	7 (17.6)	0.0001**	14.063
MS	52 (61.2)	2 (5.1)	0.0001**	34.162

Çalışma gruplarında gözlemlenen hastalıkların sıklıkları ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Sonuçlar sayı (%) değer olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. T2DM: Tip 2 diyabetes mellitus, KAH: Koroner arter hastalığı, MS: Metabolik sendrom, *p<0.01, **p<0.001.

Şişman hastalarda gözlenen hipertansiyon, tip 2 diyabet, koroner arter hastalığı ve metabolik sendrom gibi hastalıkların sıklıkları şişman olmayan gruptaki kişilere göre çok ileri derecede anlamlı olarak farklıydı. Şişman ve şişman olmayan çalışma gruplarımıza ait ilaç kullanım bilgisi Tablo IV.7’de belirtildi. Buna göre diüretik, beta-bloker, asetilsalisilik asit, sülfanilüre, glinid, metformin, insülin, statin, antihipertansif ve kalp hastalığı ilaçlarının kullanımları şişman olmayan gruba göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olarak yüksek bulundu (Tablo IV.7).

Table IV.7 Şişman ve şişman olmayan çalışma gruplarına ait ilaç kullanımı

İlaçlar	Çalışma Grupları		p
	Şişmanlık n(%)	Şişman olmayan n(%)	
Diüretik	30 (35.3)	4 (10.0)	0.003**
ADE	14 (16.5)	3 (7.5)	0.172
BB	36 (42.4)	9 (22.5)	0.031*
ASA	37 (43.5)	7 (17.5)	0.004**
Sülfanilüre	8 (9.4)	0 (0)	0.045*
Glinid	29 (34.1)	1 (2.5)	0.0001***
Metformin	32 (37.6)	1 (2.5)	0.0001***
İnsülin	25 (29.4)	0 (0)	0.0001***
Statin	25 (29.4)	5 (12.5)	0.039*
OAD	41 (48.2)	1 (2.5)	0.0001***
Antihipertansif	45 (52.9)	10 (25)	0.003**
Kalp İlacı	45 (52.9)	7 (17.5)	0.0001***

Sonuçlar sayı (%) değer olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. ADE: Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü, BB: Beta-bloker, ASA: Asetilsalisilik asit, OAD: Oral antidiyabetik. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

Abdominal şişman ve abdominal şişman olmayan kişilerdeki ilaç kullanımı Tablo IV.8’de özetlendi. Buna göre abdominal şişman ve abdominal şişman olmayan kişilerdeki statin ve diüretik ilaçların dışında kullanılmakta olan anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü, beta-bloker, asetilsalisilik asit, sülfanilüre, glinid, metformin, insülin, antihipertansif ve kalp ilaçları gruplar arasında farklı sıklıkta kullanılmakta idi (Tablo IV.8).

Tablo IV.8 Abdominal şişman ve abdominal şişman olmayan grublardaki ilaç kullanımı

İlaçlar	Çalışma Grupları		p
	Abdominal Şişman n(%)	Abdominal Şişman Olmayan n(%)	
Diüretik	20 (35.1)	12 (20.0)	0.061
ADE	12 (21.1)	5 (7.7)	0.033*
BB	27 (47.4)	17 (26.2)	0.015*
ASA	25 (43.9)	16 (24.6)	0.025*
Sülfanilüre	7 (12.3)	1 (1.5)	0.017*
Glinid	24 (42.1)	5 (7.7)	0.0001***
Metformin	23 (40.4)	9 (13.8)	0.001**
İnsülin	16 (28.1)	7 (10.8)	0.015*
Statin	17 (29.8)	12 (18.5)	0.141
Antihipertansif	34 (59.6)	20 (30.8)	0.001**
Kalp İlacı	31 (54.4)	18 (27.7)	0.003**

Sonuçlar sayı (%) değer olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. ADE: Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü, BB: Beta-bloker, ASA: Asetilsalisilik asit, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

rs1528133 yabanil tipteki ve heterozigot genotiplerin kullanılan ilaçlara göre dağılımları Tablo IV.9'da verildi. Antihipertansif ilaç kullananların büyük çoğunluğunun yabanil tipte rs1528133 tipte genotipe sahip olduğu, oysaki heterozigot rs1528133 genotipindeki kişilerin daha düşük sıklıkta (%16.7) görülmesi ($p=0.045$) antihipertansif ilaçların heterozigotlardaki önemini vurgulamaktadır (Tablo IV.9). İncelenen diğer oral antidiyabetik, diüretik, kalp ilaçlarının kullanımı ile rs1528133 genotiplerinin dağılımları açısından istatistiksel anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Tablo IV.9).

Tablo IV.9 RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin farmakogenomik etkileri

İlaçlar	RIC-3 geni rs1528133 genotipleri		p
	Homozigot Yabanil Tip (A/A), n(%)	Heterozigot (A/C), n(%)	
Diüretik	32 (28.3)	2 (16.7)	0.388
ADE	17 (15.0)	0 (0)	0.148
BB	43 (38.1)	2 (16.7)	0.142
ASA	42 (37.2)	2 (16.7)	0.157
Sülfanilüre	7 (6.2)	1 (8.3)	0.774
Glinid	28 (24.8)	2 (16.7)	0.532
Metformin	30 (26.5)	3 (25.0)	0.908
İnsülin	22 (19.5)	3 (25.0)	0.649
Statin	28 (24.8)	2 (16.7)	0.532
OAD	38 (33.6)	4 (33.3)	0.984
Antihipertansif	53 (46.9)	2 (16.7)	0.045*
Kalp İlacı	48 (42.5)	4 (33.3)	0.541

Sonuçlar sayı (%) değer olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. ADE: Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü, BB: Beta-bloker, ASA: Asetilsalisilik asit, OAD: Oral antidiyabetik. * $p<0.05$.

RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin glisemik yük dağılımları Tablo IV.10'da verildi. Karbohidratlı beslenme sonucu oluşan glisemik yük, rs1528133 rs1528133 heterozigot genotipteki bireylerde, homozigot yabancı genotipteki bireylere göre daha yüksek bulundu (Tablo IV.10).

Tablo IV.10 RIC-3 geni rs1528133 genotiplerine göre glisemik yük değerleri
RIC-3 geni rs1528133 genotipleri

	Homozigot Yabancı Tip (A/A), (n=114)	Heterozigot (A/C) (n=12)	P
	Ort. \pm SH; Medyan (Min-Max)	Ort. \pm SH; Medyan (Min-Max)	
Glisemik Yük	75.82 \pm 0.786; 75.50 (58-97)	145.83 \pm 3.833; (128-174)	0.0001*

Değerler ortalama \pm standart hata; medyan (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. n: Kişi sayısı. *p < 0.001

RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin beslenme yoluyla alınan yağ ve protein dereceleri ile ilişkileri Tablo IV.11’da verildi. Protein (p=0.001) ve yağ (p=0.0001) kullanımları, rs1528133 heterozigot genotipe sahip bireylerde, homozigot yabancı tip genotipteki bireylere göre daha yüksek bulundu (Tablo IV.11).

Tablo IV.11 RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin beslenme yoluyla alınan yağ ve protein kullanımına etkisi

	RIC-3 geni rs1528133 genotipleri		p
	Homozigot Yabancı Tip (A/A), n(%)	Heterozigot (A/C), n(%)	
Protein kullanım derecesi			0.001*
1	23 (20.2)	-	
2	39 (34.2)	-	
3	23 (20.2)	4 (33.3)	
4	12 (10.5)	4 (33.3)	
5	6 (5.3)	2 (16.7)	
6	7 (6.1)	2 (16.7)	
7	4 (3.5)	-	
8	-	-	
9	-	-	
10	-	-	
Yağ kullanım derecesi			0.0001**
1	51 (44.7)	-	
2	45 (39.5)	-	
3	15 (13.2)	-	
4	3 (2.6)	-	
5	-	4 (33.3)	
6	-	5 (41.7)	
7	-	2 (16.7)	
8	-	1 (8.3)	
9	-	-	
10	-	-	

Sonuçlar sayı (%) değer olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. *p < 0.01, **p < 0.001

Çoklu lojistik regresyon analizi ile şişmanlık ile ilişkili olduğu düşünülen risk faktörleri Tablo IV.12’de incelendi. Yağ kütlesi ($p=0.005$, $OR=1.157$) ve bel ($p=0.001$, $OR=1.148$) çevre ölçümlerinin diğer şişmanlığa neden olan tüm risk faktörlerinden bağımsız olarak şişmanlık risk faktörü oldukları saptandı (Tablo IV.12). Çalışmamızda RIC-3 geni rs1528133 polimorfizmi şişmanlığa neden olan bağımsız bir genetik faktör olarak tespit edilmedi (Tablo IV.12).

Tablo IV.12. Çoklu lojistik regresyon analizi ile merkezi şişmanlık ile ilişkili risk faktörleri

	Tümü			
	B	SH	OR	p
Yağ Kütlesi (kg)	-0.147	0.052	1.157	0.005*
Dislipidemi	-0.523	0.421	0.593	0.213
Tip 2 Diabetes Mellitus	-10.816	2139.00	0	0.996
Bel çevresi (cm)	-0.138	0.041	1.148	0.001*
Yaş (yıl)	0.014	0.036	1.015	0.684
rs1528133 Polimorfizmi	0.298	0.545	1.269	0.662

* $p<0.01$.

IV.2 TARTIŞMA

TUB ve RIC-3 genleri 11. kromozomda bulunan birbirine komşu genlerdir. TUB geninin 22 kb distalinde kolinesteraz inhibitörlerine direnç (*resistant to inhibitors of cholinesterase*, RIC-3) geninin intron bölgesi içerisinde 8106329. pozisyonunda rs1528133 polimorfizmi yer almaktadır [4]. RIC-3 geni içinde yer alan rs1528133 polimorfizmi ile çok kuvvetli bağlantı dengesizliği gösteren rs2272382 ve rs2272383 TUB gen SNP'leri tubby proteininin çok yüksek oranda korunmuş olan karboksil uç bölgesinde yer alır. rs1528133 ve rs2272382 polimorfizmlerinin her ikisinde kodlanmayan bölgede yer almaktadır ve fonksiyonel olarak aktif değildirler. rs1528133 polimorfizmi RIC-3 geninin intronik bölgesinde ve TUB geninin 3' ucunda yer [5].

Shiri-Sverdlov ve ark. [4], şişmanlık için aday genlerin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada TUB genini seçmişlerdir. VKİ değerleri bilinen Tip 2 diyabetli 492 hastaya (*Breda* çalışma grubu) ait TUB geni yakınlarında yer alan 13 adet tek nükleotid polimorfizminin genotip analizini yapmışlardır [4]. Shiri-Sverdlov ve ark. [4] kendi çalışma gruplarına, Hollandalı (*RIVM* çalışma grubu) bir diğer çalışma grubundaki 409 tip 2 diyabetli ve 341 tip 2 diyabeti olmayan kişiyide ekleyerek rs1528133 polimorfizmine ait genotip sıklıklarını belirlemişlerdir. İki ayrı çalışma grubunun birleştirildiği çalışmada rs1528133 allel sıklıkları şişman (VKİ>30) grup için majör allel (A) % 92.4, minör allel (C) için % 7.6 ve şişman olmayan (VKİ<25) grup için majör allel (A) % 93.9, minör allel (C) için % 6.1 olarak bildirilmiştir [4]. van Vliet-Ostapchouk ve ark. [118] TUB geni rs2272382, rs2272383 ve rs1528133 tek nükleotid polimorfizmleri ile antropometrik veriler ve temel besin alımları arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Çalışma 1680 adet orta yaşlı (57.22 ± 6.06 yaş) şişman Hollandalı kadın ile gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar doğrusal regresyon analizi ile değerlendirmiştir [118]. rs1528133 polimorfizmine ait genotip sıklıkları homozigot yabanil tip (A/A) için % 85.97, heterozigot tip (A/C) için %13.40 ve polimorfik tip (C/C) için %0.61 olarak saptanmıştır [118]. Snieder ve ark. [178] 2694 adet menapozlu Avrupalı kadında TUB genine ait rs2272382 ve rs2272383 SNP'leri ile birlikte RIC-3 genine ait rs1528133 polimorfizmlerinin genotip sıklıklarını belirlemişlerdir. rs1528133 polimorfizmine ait genotip sıklıkları homozigot yabanil tip (A/A) için %87.41, heterozigot (A/C) için %11.93 ve polimorfik tip (C/C) için %0.65 olarak saptanmıştır [178]. Bizde çalışmamızda 85 şişman ve 41 şişman olmayan Türk bireye ait RIC-3 geni rs1528133 genotip sıklıklarını şişman ve şişman

olmayan gruplarda sırasıyla, yabancı tip (A/A) genotipi için %89.4, %92.7 ve heterozigot (A/C) genotip için %10.6, %7.3 olarak tespit ettik. Şişman ve şişman olmayan çalışma gruplarımızda homozigot polimorfik genotipte (C/C) bir bireye rastlanmadı. Literatürde bulunan sınırlı sayıdaki çalışmada bildirilen RIC-3 geni rs1528133 genotip sıklıkları ile, bizim belirlediğimiz genotip sıklıkları birbiri ile benzerlik göstermekte idi.

Shiri-Sverdlov ve ark. [4] *Breda* çalışma grubunda belirlemiş oldukları TUB genine ait 13 adet SNP'ten sadece rs1528133 polimorfizmini VKİ ($p=0.006$) ile ilişkili bulmuşlardır. Çalışmalarına sonradan ekledikleri *RIVM* çalışma grubunun verilerine göre, rs1528133 polimorfizmi ile bağlantı dengesizliği gösteren rs2272382 ve rs2272383 polimorfizmlerini VKİ seviyeleri üzerine etkili bulmuşlardır (rs2272382, $p=0.016$ ve rs2272383, $p=0.010$) [4]. İki grubun birleşmesiyle oluşan toplu gruptaki analizlerden elde ettikleri sonuçları da rs2272382 ($p=0.005$) ve rs2272383 ($p=0.002$) polimorfizmlerinin VKİ ile olan ilişkisini doğrulamıştır [4]. van Vliet-Ostapchouk ve ark. [118] rs1528133 genotipine ait minör (C) allel varlığının vücut ağırlığı ($p=0.022$) ve VKİ ($p=0.05$) değerlerini arttırdığını bulmuşlardır. Snieder ve ark. [178] yapmış oldukları çalışmada rs2272382, rs2272383 ve rs1528133 genotiplerinden hiçbirini genel ve abdominal şişmanlık ilişkili göstergeler ile ilişkili bulmamıştır. Snieder ve ark. [178] RIC-3 geni rs1528133 polimorfizmi ile bağlantı dengesizliği gösteren TUB geni rs2272382 polimorfizminin abdominal şişmanlık ile anlamlı ilişki gösterdiğini tespit etmişlerdir ($p=0.036$). Menopozlu kadınlardan oluşan çalışma grubundaki rs2272382 polimorfizmi homozigot minör allel (C/C) taşıyıcılarının, majör allel (A/A ve A/C) taşıyıcılarına kıyasla daha yüksek oranda genel ($p=0.022$) ve abdominal şişman ($p=0.009$) oldukları bildirilmiştir [178]. CC genotipindeki kişiler A/A+ A/C genotipindeki kişilerle karşılaştırıldığında, VKİ ($p=0.036$), bel çevresi ($p=0.013$) ve yağ kütlesi yüzdesinin ($p=0.027$) farklılık gösterdiği rapor edilmiştir [178]. Çalışmamızda rs1528133 genotiplerini şişmanlık ve şişmanlık ilişkili göstergeler ile ilişkili bulmazken, abdominal şişmanlık ile ilişkili bulduk. Yaptığımız çalışmada RIC-3 geni rs1528133 varyasyonu homozigot yabancı tipteki genotiplerin sıklığı abdominal şişman bireylerde, heterozigot genotiplere kıyasla daha yüksek saptanmış olması, rs1528133 polimorfizminin abdominal şişmanlık ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

van Vliet-Ostaptchouk ve ark. [118] rs2272382 polimorfizmine ait heterozigot (A/G) ve homozigot yabancı tip (A/A) genotiplerin karbohidratlardan alınan enerji alımını artırdığını saptamışlardır (A/G, $p=0.04$; A/A, $p=0.003$). van Vliet-Ostaptchouk ve ark. [118] RIC-3 geni rs1528133 ve TUB geni rs2272382 polimorfizmlerinin yüksek glisemik yükden zengin beslenme ile ilişkili bulmuşlardır. RIC-3 geni rs1528133 polimorfizmi minör allel C taşıyıcıları ile bu alleli taşımayanlar karşılaştırıldığında yüksek glisemik yük 1.85 kat fazla bildirilmiştir ($p=0.035$) [118]. Çalışmamızda RIC-3 geni rs1528133 polimorfizmine ait homozigot yabancı tip (A/A) ve heterozigot (A/C) genotiplerine sahip kişilerin glisemik yüklerinin dağılımlarını belirledik. RIC-3 geni rs1528133 heterozigot genotipe sahip olan bireylerde glisemik yük, homozigot yabancı tip rs1528133 genotipe sahip olan bireylere göre daha yüksek saptandı ($p=0.0001$). RIC-3 geni rs1528133 polimorfizmi C alleli taşıyan bireyler karbohidratlı besinleri daha çok tüketmektedirler. Ayrıca yapmış olduğumuz araştırmada çalışma gruplarındaki bireylere ait protein ve yağ kullanım oranlarını tespit ettik. RIC-3 geni rs1528133 heterozigot tip genotipi taşıyan bireylerin, homozigot yabancı tip rs1528133 genotipini taşıyan bireylere göre daha çok yağ ($p=0.0001$) ve proteinden ($p=0.001$) zengin besinlerle beslendikleri tespit edildi.

Mevcut çalışma ülkemizde RIC-3 geni rs1528133 genotip sıklıklarını rapor eden ilk çalışma olma niteliğini taşımaktadır. Literatür taramalarımızda rs1528133 genotiplerinin farmakogenomik etkilerini araştırmış olan bir başka çalışmaya rastlanmamıştır. Biz çalışmamızda rs1528133 genotiplerinin şişmanlık ve şişmanlık ilişkili hastalıkların tedavisinde kullanılan çeşitli ilaçlar ile etkileşimlerini araştırdık. Çalışmamızın sonuçlarına göre, antihipertansif ilaç kullanımından fayda görenlerin büyük çoğunluğunun yabancı tipte rs1528133 genotipe sahip olduğu, oysaki heterozigot rs1528133 genotipindeki kişilerin daha düşük sıklıkta (%16.7) antihipertansif ilaç kullandığı ($p=0.045$) saptandı. Bu nedenle çalışmamızdan elde edilen bulgular, rs1528133 genotipini heterozigot olarak taşıyanlarda anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü, beta bloker ve asetil salisilik asitten başka alternatif antihipertansif ilaçların etkilerinin araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

BÖLÜM V

SON DEĞERLENDİRMELER VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, ülkemizde RIC-3 geni rs1528133 genotip sıklıklarının belirlenmesine ve rs1528133 genotiplerinin şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ile ilişkili göstergeler ve temel demografik karakterler ile etkileşimlerinin araştırılmasına; yağ kütlesi, dislipidemi, tip 2 diyabet, bel çevresi, yaş ve RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin çoklu lojistik regresyon analizi ile şişmanlık için ne derecede ve ne yönde risk faktörü olduklarının araştırılmasına ve toplumumuza özgü nutrigenomik ve farmakogenomik verilerin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır.

Sonuçlarını rapor ettiğimiz bu araştırma, ülkemizde RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin sıklıklarının ve biyokimyasal, klinik, farmakolojik, beslenme alışkanlıkları ile ilişkilerin belirlendiği ilk ve tek çalışma olma özelliğindedir. Şişmanlığa neden olduğu düşünülen RIC-3 geni rs1528133 polimorfizm sıklıklarının tespit edilmesi ile RIC-3 geni rs1528133 polimorfizminin ülkemizde şişmanlık için bağımsız bir risk faktörü olup olmadığıda ayrıca araştırılmıştır. RIC-3 geni rs1528133 polimorfizminin çalışmamızda şişmanlık için bağımsız bir risk faktörü olarak bulunmamasının nedeni örnek sayısının istatistiksel anlamlılığa ulaşacak düzeyde fazla olmayışı olabilir. Ayrıca çalışmamıza dahil ettiğimiz kişilerin hiçbirinde polimorfik genotip çıkmadığı için heterozigotlar ile yabancı tipteki genotiplere dayanılarak rs1528133 polimorfizminin şişmanlık risk faktörü olup olmadığı bilgisine istatistiksel olarak ulaşmak zordur. Literatürde çok fazla sayıda kişi ile yapılmış çalışmalarda polimorfik genotip sıklığı çok düşük olarak bildirilmektedir. İstatistiksel güvenilirliği daha yüksek sonuçlara ulaşabilmek amacıyla çalışmamıza hasta ve kontrol grubundaki kişi sayıları artırılarak devam edilecektir.

Çalışmamızda RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin, metabolik sendrom ve ilişkili hastalıklar üzerine etkileri tespit edildi. RIC-3 geni rs1528133 varyasyonu

homozigot yabanil tipteki genotiplerin sıklığı abdominal şişman bireylerde, heterozigot genotiplere kıyasla daha yüksek olarak saptanmıştır. Bu farklılık rs1528133 genotiplerinin abdominal şişmanlık üzerine etkili olduğunu düşündürmektedir. Araştırmamıza dahil ettiğimiz kişilerde, RIC-3 geni rs1528133 genotipleri metabolik sendrom ve ilişkili hastalıklarla ilişkili bulunmamış, abdominal şişmanlık ile ise bağlantılı olarak belirlenmiştir. Ayrıca çoklu lojistik regresyon analizi ile şişmanlık risk faktörleri birarada ele alınarak adı geçen her bir faktörün şişmanlık için risk faktörü olup olmadığı araştırılmıştır. Yağ kütlesi ve bel çevre ölçümleri şişmanlık için bağımsız risk faktörü olarak belirlenirken, şişmanlık ile ilişkili hastalıklardan T2DM ve dislipidemi şişmanlık için bağımsız bir faktörü olarak bulunmadı.

Çalışmamız RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin farmakogenomik etkilerini araştıran ilk çalışma olma niteliğindedir. Farmakogenomik sonuçlara göre, antihipertansif ilaç kullanımından fayda görenlerin büyük çoğunluğunun yabanil tipte rs1528133 genotipe sahip olduğu, heterozigot rs1528133 genotipindeki kişilerin ise daha düşük sıklıkta (%16.7) antihipertansif ilaç kullandığı ($p=0.045$) saptandı. Elde edilen bu bilgilere göre rs1528133 genotipini heterozigot olarak taşıyan bireylerin kullandıkları antihipertansif ilaçlardan başka alternatif antihipertansif ilaç etkilerinin araştırılması gerekmektedir. RIC-3 geni heterozigot rs1528133 genotipini taşıyan bireylerin kullandıkları antihipertansif ilaçlar yerine alternatif antihipertansif ilaçların belirlenmesi sayesinde RIC-3 geni rs1528133 heterozigot genotipini taşıyan bireylerde hipertansiyon tedavisi daha başarılı olabilecektir.

Çalışmamız RIC-3 geni rs1528133 genotiplerinin nutrigenomik etkilerini araştıran ilk çalışmalar arasındadır. Çalışmamızın nutrigenomik verilerine göre, rs1528133 heterozigot genotipi taşıyan bireylerin glisemik yükleri homozigot yabanil tip genotipi taşıyan bireylere göre daha fazla saptanmıştır ($p=0.0001$). Türklere RIC-3 geni rs1528133 heterozigot genotipteki bireylerin glisemik yük miktarı fazla olan besinlerle beslendiklerini belirledik. Çalışma gruplarımızdaki bireylere ait protein ve yağ kullanım oranları da tespit edildi. RIC-3 geni rs1528133 heterozigot genotipini taşıyan bireyler, rs1528133 homozigot yabanil genotipini taşıyan bireylere göre daha çok yağ ($p=0.0001$) ve protein ($p=0.001$) içeriği yüksek besinlerle beslendikleri belirlendi.

Bilgilendirme:

“Kolinesteraz 3 Homolog İnhibitörlerine Direnç Geni rs1528133 Polimorfizminin Yeme Alışkanlığı ve Şişmanlık ile İlişkisi” başlıklı tez Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından, **FEN-C-YLP-211009-0322** nolu proje ile desteklenmiştir.

09.2010.0059 protokol nolu “Kolinesteraz 3 Homolog İnhibitörlerine Direnç Geni rs1528133 Polimorfizminin Yeme Alışkanlığı ve Şişmanlık ile İlişkisi” isimli proje Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından incelenerek B.30.2.MAR.0.01.02/AEK/714 sayı ile 28.09.2010 tarihinde onaylanmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Kleyn, P.W.; Fan, W.; Kovats, S.G.; Lee, J.J.; Pulido, J.C.; Wu, Y.; Berkemeier, L.R.; Misumi, D.J.; Holmgren, L.; Charlat, O.; Woolf, E.A.; Tayber, O.; Brody, T.; Shu, P.; Hawkins, F.; Kennedy, B.; Baldini, L.; Ebeling, C.; Alperin, G.D.; Deeds, J.; Lakey, N.D.; Culpepper, J.; Chen, H.; Glücksmann-Kuis, M.A.; Carlson, G.A.; Duyk, G.M.; Moore, K.J.: “Identification and characterization of the Mouse obesity gene *tubby*: a member of a novel gene family”, *Cell*, 85 (1996) 281–290.
- [2] Dina, C.: “New insights into the genetics of body weight”, *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.*, 11 (2008) 378-384.
- [3] Gregg, E.W.; Cheng, Y.J.; Cadwell, B.L.; Imperatore, G.; Williams, D.E.; Flegal, K.M.; et al.: “Secular trends in cardiovascular disease risk factors according to body mass index in US adults”, *JAMA*, 20 (2005) 1868-1874.
- [4] Shiri-Sverdlov, R.; Custers, A.; van Vliet-Ostaptchouk, J.V.; van Gorp, P.J.; Lindsey, P.J.; van Tilburg, J.H.; Zhernakova, S.; Feskens, E.J.; van der A, D.L.; Dollé, M.E.; van Haeften, T.W.; Koeleman, B.P.; Hofker, M.H.; Wijmenga, C.: “Identification of TUB as a novel candidate gene influencing body weight in humans” *Diabetes*, 55 (2006) 385–389.
- [5] Castillo, M.; Mulet, J.; Gutiérrez, L.M.; Ortiz, J.A.; Castelán, F.; Gerber, S.; Sala, S.; Sala, F.; Criado, M.: “Role of the RIC- 3 protein in trafficking of serotonin and nicotinic acetylcholine receptors”, *J Mol Neurosci.*, 30 (2006) 153–156.

- [6] Coleman, D.L.; Eicher, E.M.: “Fat (fat) and tubby (tub): two autosomal recessive mutations causing obesity syndromes in the Mouse”, *J Hered.*, 81 (1990) 424–427.
- [7] Boggon, T.J.; Shan, W.S.; Santagata, S.; Myers, S.C.; Shapiro, L.: “Implication of tubby proteins as transcription factors by structure-based functional analysis”, *Science*, 286 (1999) 2119–2125.
- [8] Donohoue, PA.: “Obesity”, In: Behrman, R.E.; Kliegman, R.M.; Jenson, H.B.: *Nelson Textbook of Pediatrics* 17 th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, (2004) 173- 177.
- [9] Hatemi, H.; Turan, N.; Arık, N.; Yumuk, V.: “Türkiye Şişmanlık ve hipertansiyon taraması sonuçları (TOHTA)”, *Endokrinolojide Yönelişler*, 11 (2002) 1-16.
- [10] Bays, H.E.; González-Campoy, J.M.; Bray, G.A.; Kitabchi, A.E.; Bergman, D.A.; Schorr, A.B.; Rodbard, H.W.; Henry, R.R.: “Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity”, *Expert Rev Cardiovasc Ther.*, 6 (2008) 343-368.
- [11] Gruney, S.M., Cleeman, J.I., Daniels, S.R., Donato, K.A., Eckel, R.H., Gordon, D.J., Krauss, R.M., Savage, P.J., Smith, S.C., Spertus, J.A., Costa, F.: “Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement”, *Circulation*, 112 (2005) 2735-2752.
- [12] Alberti, K.G.: “Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications.; Part 1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation”, *Diabet Med.*, 15 (1998) 539-553.

- [13] Greenspan, S.F.; Gardner, D.G.: “Basic & Clinical Endocrinology”, 7th edition, *New York: McGraw-Hill Companies*, (2004).
- [14] Bethesda, M.D.: “National Institutes of Health. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults - the evidence report”, *National Heart, Lung and Blood Institute*, NIH Pub. No. 98-4083, 228 (1998).
- [15] Kiess, W.; Galler, A.; Reich, A.: “Clinical aspects of obesity in childhood and adolescence”, *Obesity Reviews*, 2 (2001) 19-24.
- [16] Bray, G.A.; Dahms, W.T.; Swerdloff, R.S.: “The Prader-Willi syndrome: a study of 40 patients and a review of the literature”, *Medicine (Baltimore)*, 62 (1983) 59- 80.
- [17] World Health Organization: “Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic Report of a WHO Consultation on Obesity”, *Geneva, World Health Organ Tech Rep Ser.*, 894:1-253 (2000).
- [18] Duerenberg, P.; Weststrate, J.A.; Seidell, J.C.: “Body mass index as a measure of body fatness: Age-and sex-specific prediction formulas”, *British J Nutr.*, 65 (1991) 105-114.
- [19] Seidell, J.C.; Deurenberg, P.; Hatvast, J.G.A.J.: “Obesity and fat distribution, in relation to health. Current insights and recommendations”, *World Rev Nutr Diet.*, 50 (1987) 57-91.
- [20] <http://www.nhlbi.nih.gov/>
- [21] http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html
- [22] <http://www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm>

- [23] Han, T.S.; van Leer, E.M.; Seidell, J.C.; Lean, M.E.J.: “Waist circumference action levels in the identification of cardiovascular risk factors: prevalence study in a random sample”, *British Med J.*, 311 (1995) 1401-1405.
- [24] Lean, M.E.J.; Han, T.S.; Morrison, CE.: “Waist circumference indicates the need for weight measurement”, *British Med J.*, 311 (1995) 158-161.
- [25] Jebb.; S.A.: “Vücut Bilesiminin Ölçülmesi: Laboratuardan Kliniğe”, *Klinik Obezite.* (2000) 18-49.
- [26] Maffeis, C.: “Aetiology of overweight and obesity in children and adolescents. *Eur J Pediatr.*, 159 (2000) 35- 44.
- [27] Position Statement On The Prevention, Diagnosis, And Treatment Of Obesity. American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology (AACE/ACE), *Obesity Task Force and reports in the scientific literature as of February*, <http://www.aace.com/clin/guidelines/obesityguide.p> (1998).
- [28] Sedula, M.K.; Ivery, D.; Coates, R.J.; Freedman, D.S.; Williamson, D.F.; Byers, T.: “Do obese children become obese adults?” *A review of the literature. Prev Med.*, 22 (1993) 167- 177.
- [29] Peker, İ.; Çiloğlu, F.; Buruk, İ. ve Bulca, Z.: “Egzersiz Biyokimyası ve Obesite”, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, Türkiye (2000) 83-97.
- [30] Garbat, G. ve Demirkol, M.: “Şişmanlık, Ben Hasta Değilim”, Nobel Tıp Kitapevleri, (1999) 441-450.
- [31] Caterson, I.D.; Brom, J.: “Pocket Picture Guide Obesity 1th edition”, (2001) 20-47.
- [32] Mutch, D.M.; Cle’ment, K.: “Genetics of human obesity”, *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.*, 20 (2006) 647-664.

- [33] Schwartz, M.B.; Brownell, K.D.: “Obesity and body image”, *Body Image.*, 1 (2004) 43–56.
- [34] Clément K. “Genetics of human obesity”, *C. R. Biologies*, 329 (2006) 608–622.
- [35] Montague, C.T.; Farooqi, I.S.; Whitehead, J.P.; et al.: “Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans”, *Nature* 387 (1997) 903.
- [36] *DIOGENES*. www.diogenes-eu.org.
- [37] Clément, K.; Vaisse, C.; Lahlou, N.; Cabrol, S.; Pelloux, V.; Cassuto, D.; Gourmelen, M.; Dina, C.; Chambaz, J.; Lacorte, J.M.; Basdevant, A.; Bougnères, P.; Lebouc, Y.; Froguel, P.; Guy-Grand, B.: “A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction”, *Nature*, 392 (1998) 398.
- [38] Krude, H.; Biebermann, H.; Schnabel, D.; Tansek, M.Z.; Theunissen, P.; Mullis, P.E.; Grüters, A.: “Obesity due to proopiomelanocortin deficiency: three new cases and treatment trials with thyroid hormone and ACTH4-10”, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88 (2003) 4633.
- [39] Ardlie, K.G.; Lunetta, K.L.; Seielstad, M.: “Testing for population subdivision and association in four casecontrol studies” *American Journal of Human Genetics*, 71 (2002) 304.
- [40] Lee, Y.S.; Challis, B.G.; Thompson, D.A.; Yeo, G.S.; Keogh, J.M.; Madonna, M.E.; Wraight, V.; Sims, M.; Vatin, V.; Meyre, D.; Shield, J.; Burren, C.; Ibrahim, Z.; Cheetham, T.; Swift, P.; Blackwood, A.; Hung, C.C.; Wareham, N.J.; Froguel, P.; Millhauser, G.L.; O’Rahilly, S.; Farooqi, I.S.: “A POMC variant implicates beta-melanocyte-stimulating hormone in the control of human energy balance”, *Cell Metabolism.*, 3 (2006) 135.

- [41] Farooqi, I.S.: “Genetic and hereditary aspects of childhood obesity. Best Practice & Research”, *Clinical Endocrinology & Metabolism*, 19 (2005) 359.
- [42] Holder, Jr. J.L.; Butte, N.F.; Zinn, A.R.: “Profound obesity associated with a balanced translocation that disrupts the SIM1 gene”, *Human Molecular Genetics*, 9 (2000) 101.
- [43] Yeo, G.S.; Connie Hung, C.C.; Rochford, J.; Keogh, J.; Gray, J.; Sivaramakrishnan, S.; O’Rahilly, S.; Farooqi IS.: “A de novo mutation affecting human TrkB associated with severe obesity and developmental delay”, *Nature Neuroscience*, 7 (2004) 1187.
- [44] Butler, A.A.; Kesterson, R.A.; Khong, K.; Cullen, M.J.; Pelleymounter, M.A.; Dekoning, J.; Baetscher, M.; Cone, R.D.: “A Unique Metabolic Syndrome Causes Obesity in the Melanocortin-3 Receptor-Deficient Mouse”, *Endocrinology*, 141 (2000) 3518-1521.
- [45] Chen, A.S.; Marsh, D.J.; Trumbauer, M.E.; Frazier, E.G.; Guan, X.M.; Yu, H.; Rosenblum, C.I.; Vongs, A.; Feng, Y.; Cao, L.; Metzger, J.M.; Strack, A.M.; Camacho, R.E.; Mellin, T.N.; Nunes, C.N.; Min, W.; Fisher, J.; Gopal-Truter, S.; MacIntyre, D.E.; Chen, H.Y.; Van der Ploeg, L.H.T.: “Inactivation of the Mouse melanocortin-3 receptor results in increased fat mass and reduced lean body mass”, *Nature Genet.*, 26 (2000) 97-102.
- [46] Farooqi, I.S.; Keogh, J.M.; Yeo, G.S.; Lank, E.J.; Cheetham, T.; O’Rahilly, S.: “Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene”, *N Engl J Med.*, 348 (2003) 1085-1095.
- [47] Branson, R.; Potoczna, N.; Kral, J.G.; Lentjes, K.U.; Hoehe, M.R.; Horber, F.F.: “Binge eating as a major phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations”, *N Engl J Med.*, 348 (2003) 1096-1103.

- [48] Vaisse, C.; Clement, K.; Durand, E.; Hercberg, S.; Guy-Grand, B.; Froguel, P.: “Melanocortin-4 receptor mutations are a frequent and heterogeneous cause of morbid obesity”, *J Clin Invest.*, 106 (2000) 253-262.
- [49] David, M.: “Mutch Genetics of human obesity Best Practice & Research”, *Clinical Endocrinology & Metabolism*, 20 (2006) 647-664.
- [50] Baughcum, A.E.; Chamberlin, L.A.; Deeks, C.M.: “Maternal perceptions of overweight preschool children”, *Pediatric.*, 106 (2000) 1380- 1386.
- [51] Von Kries, R.; Toschke, A.M.; Koletzko, B.; Slikker, W.: “Maternal smoking during pregnancy and childhood obesity”, *Am J Epidemiol.*, 156 (2002) 954-961.
- [52] Trowbridge, F.L.; Sofka, D.; Holt, K.: “Management of child and adolescent obesity: Study design and practitioner characteristics”, *Pediatrics*, 110 (2002) 205-209.
- [53] Gordon–Larsen, P.; Mullan, K.; Ward, D.S.; Popkin, BM.: “Acculturation and overweight-related behaviours among immigrants to the US: The national longitudinal study of adolescent health”, *Soc Sci Med.*, 57 (2003) 2023- 2034.
- [54] Shatenstein, B.; Ghadirian, P.: “Influences on diet, health behaviours and their outcome in select ethnocultural and religious groups”, *Nutrition*, 14 (1998) 223.
- [55] Sundarajan-Ramamurti A.: “Parental eating attitudes and the development of obesity in children. The Framingham Childrens Study”, *International Journal of Obesity*, 24 (2000) 1319-1325.
- [56] Günöz, H.; Saka, N.; Darendeliler, F.; Bundak, R.: “Büyüme, Gelişme ve Endokrin”, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri*, (2003) 111- 114.

- [57] Özenoğlu, A.; Sabuncu, T.; Ünüvar, E.: “Eksojen Obesitesi Olan Adölesanların Günlük Diyetlerinde Aldıkları Enerji ve Besin Öğelerinin Dağılıımı”, *Endokrinolojide Yönelişler*, 9 (2000) 38-43.
- [58] Bonuck, K.A.; Kahn, R.: “Prolonged bottle use and its association with iron deficiency anemia and overweight: A preliminary study”, *Clin pediatr.*, 41 (2002) 603-607.
- [59] Sothern, M.S.; Gordon, S.T.: “Prevention of Obesity in Young Children: A Critical Challenge for Medical Professionals”, *Clinic Pediatr*, 42 (2003) 101-111.
- [60] ANONY. *Mavi-Yeşil Light*. www.google.com.tr. (2003).
- [61] Robinson, T.N.: “Reducing childrens television viewing to prevent obesity”, *JAMA.*, 282 (1999) 1561-1567.
- [62] Doğan, G.; ve Yıldız, C.: “Çocukluk Çağında Obezite Gelişen Toplumlarda Yeni Bir Toplum Sağlığı Problemi”, *Sendrom*, 13 (2001) 111-117.
- [63] Whitaker, R.C.; Dietz, W.H.: “Role of prenatal environment in the development of obesity”, *J pediatr.*, 132 (1998) 768- 776.
- [64] Poskitt, C.: “E.M.E. Obese from infancy. A- Revaluation”, *Topics in Pediatracs.*, 2 (1980) 81- 89.
- [65] Hatemi, H. ve ark.: “Türkiye Obezite ve Hipertansiyon Taraması (TOHTA)”, *2.Ulusal Obezite Kongresi ve 1. Balkan Obezite Kongresi. Satellit Sempozyumu*, Çeşme,Antalya, Türkiye, Nisan, (2003).
- [66] Okyay, P.: “Osmangazi Seher-Şükrü Ergil Eğitim Sağlık Ocağı Bölgesinde 15-49 Yaş Kadınlarda Şişmanlık Prevalansı ve Risk Faktörleri”, *Doktora Tezi*, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye, (1998).

- [67] Yıldız, E. ve ark.: “Yetişkin Kadınlarda Emosyonel Durum İle Bazı Antropometrik Parametreler ve Besin Tüketim Durumları Arasındaki İlişki”, *2.Ulusal Obezite Kongresi ve 1. Balkan Obezite Kongresi. Satellit Sempozyumu*, Çeşme,Antalya, Türkiye, Nisan, **(2003)**.
- [68] ANONY (2004 c),: “Yeme Bozuklukları”, www.mcoturk.com/obezite_birim.htm (20.10.2004).
- [69] Özmen, M.: “Obezite ve Psikososyal Faktörler”, *2.Ulusal Obezite Kongresi ve 1. Balkan Obezite Kongresi. Satellit Sempozyumu*, Çeşme,Antalya, Türkiye, Nisan, **(2003)**.
- [70] Romao, I.; Roth, J.: “Genetic and environmental interactions in obesity and type 2 diyabetes”, *J Am Diet Assoc* 108 **(2008)** 24-28.
- [71] Wilborn, C.; Beckham, J.; Campbell, B.; Harvey, T.; Galbreath, M.; La Bounty, P.; Nassar, E.; Wismann, J.; Kreider, R.: “Obesity: prevalence, theories, medical consequences, management, and research directions”, *J Int Soc Sports Nutr.*, 2 **(2005)** 4-31.
- [72] Khan, S.E.; Hull, R.L.; Utzschinder, K.M.: “Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diyabetes”, *Nature*, 444 **(2006)** 840-846.
- [73] Cho, E.; Manson, J.E.; Stampfer, M.J.; Solomon, C.G.; Colditz, G.A.; Speizer, F.E.; et al.: “A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease among diyabetic women”, *Diyabetes Care* 25 **(2002)** 1142-1148.
- [74] Gougeon, R.: “Obesity and the risk for diyabetes”, *Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease*, Ed: Coulston, A.M.; Rock, C.L.; Monsen, E.R.: Academic Press, San Diego **(2001)**.

- [75] Haynes, W.G.; Morgan, D.A.; Walsh, S.A.; Mark, A.L.; Sivitz, W.I.: “Receptor-mediated regional sympathetic nerve activation by leptin”, *J Clin Invest.*, 100 (1997) 270-278.
- [76] Gillum, R.F.; Sempos, C.T.: “Ethnic variation in validity of classification of overweight and obesity using self-reported weight and height in American women and men: the Third National Health and Nutrition Examination Survey”, *Nutr J.*, 6 (2005) 27.
- [77] Flegal, K.M.: “Body mass index of healthy men compared with healthy women in the United States”, *Int J Obes.*, 30 (2006) 374-379.
- [78] Kuczmarski, R.J.; Carrol, M.D.; Flegal, K.M.; Troiano, R.P.: “Varying body mass index cutoff points to describe overweight prevalence among U.S. adults: NHANES III (1988 to 1994)”, *Obes Res.*, 5 (1997) 542-548.
- [79] Droyvold, W.B.; Midthjell, K.; Nilsen, T.I.; Holmen, J.: “Change in body mass index and its impact on blood pressure: a prospective population study”, *Int J Obes.*, 29 (2005) 650-655.
- [80] Mancilha-Carvalho, Jde. J.; Souza e Silva, N.A.: “The Yanomami Indians in the INTERSALT Study”, *Arq Bras Cardiol.*, 80 (2003) 289-300.
- [81] Dyer, A.R.; Elliott, P.: “The INTERSALT study: relations of body mass index to blood pressure. INTERSALT Co-operative Research Group”, *J Hum Hypertens.*, 3 (1989) 299-308.
- [82] Reyna-Villasmil, N.; Bermúdez-Pirela, V.; Mengual-Moreno, E.; Arias, N.; Cano-Ponce, C.; Leal-Gonzalez, E.; et al.: “Oat-derived betaglucan significantly improves HDLC and diminishes LDLC and non-HDL cholesterol in overweight individuals with mild hypercholesterolemia”, *Am J Ther.*, 14 (2007) 203-212.

- [83] Hu, D.; Hannah, J.; Gray, R.S.; Jablonski, K.A.; Henderson, J.A.; Robbins, D.C.; et al.: “Effects of obesity and body fat distribution on lipids and lipoproteins in nondiabetic American Indians: The Strong Heart Study”, *Obes Res.*, 8 (2000) 411-421.
- [84] Denke, M.A.; Sempos, C.T.; Grundy, S.M.: “Excess body weight. An underrecognized contributor to high blood cholesterol levels in white American men”, *Arch Intern Med.*, 153 (1993) 1093-1103.
- [85] Denke, M.A.; Sempos, C.T.; Grundy, S.M.: “Excess body weight. An underrecognized contributor to dyslipidemia in white American women”, *Arch Intern Med.*, 154 (1994) 401-410.
- [86] Ginsberg, H.N.: “Lipoprotein physiology (Review)”, *Endocrinol Metab Clin North Am.*, 27 (1998) 503-519.
- [87] Savar, S.; Taşar, M.A.; Tıraş, U.; Dallar, Y.: “Serum lipid levels in 5-15 years old children and affecting parameters”, *Ege Tıp Dergisi/Ege Journal of Medicine*, 47 (2008) 35- 45.
- [88] Barter, P.: Metabolic Abnormalities High Density Lipoproteins, *Endocrinol Metab Clin N Am.*, 33 (2004) 393-403.
- [89] Krauss, R.M.; Siri, P.W.: “Metabolic Abnormalities Triglyceride And Low Density Lipoprotein”, *Endocrinol Metab Clin N Am.*, 33 (2004) 405-415.
- [90] Aso, Y.; Matsumoto, S.; Fujiwara, Y.; Tayama, K.; Inukai, T.; Takemura, Y.: “Impaired fibrinolytic compensation for hypercoagulability in obese patients with type 2 diabetes: association with increased plasminogen activator inhibitor-1”, *Metabolism*, 51 (2002) 471-476.
- [91] Landin, K.; Stigendal, L.; Eriksson, E.; Krotkiewski, M.; Risberg, B.; Tengborn, L.; Smith, U.: “Abdominal obesity is associated with an impaired

fibrinolytic activity and elevated plasminogen activator inhibitor-I”, *Metabolism*, 39 (1990) 1044-1048.

- [92] Willett, W.C.; Manson, J.E.; Stampfer, M.J.; Colditz, G.A.; Rosner, B.; Speizer, F.E.; Hennekens, C.H.: “Weight, weight change, and coronary heart disease in women. Risk within the 'normal' weight range”, *JAMA.*, 273 (1995) 461-465.
- [93] National Institute of health. “Clinical guidelines on the identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults”, *Obes Res.*, 6 (1998) 464.
- [94] Kuczmarski, R.; Flegal, K.; Campbell, S.; Johnson, C.: “Increasing prevalence of overweight among US adults. The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1960 to 1991”, *JAMA.*, (1994) 205-211.
- [95] Molarius, A.; Seidel, J.C.; Sans, S.; Toumilehto, J.; Kuulasmaa, K.: “Varying sensitivity of waist action levels to identify subjects with overweight or obesity in 19 populations of the WHO MONICA Project”, *J Clin Epidemiol.*, 52 (1999) 1213-1224.
- [96] TURDEP 2010 çalışması.
- [97] Onat, A.; Avcı, G.Ş.; Soydan, İ.; ve ark.: “Türk erişkinlerinde kalp sağlığının dünü ve bugünü”, *TEKHARF çalışmasının sağladığı üç boyutlu harita*, Kakakter Color Matbaası, İstanbul, Türkiye (1996).
- [98] http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/View?g=ENSG00000166405;r=11:8127597-8190602
- [99] http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/View?g=ENSG00000166402;r=11:8040791-8127659

- [100] Millar, N.S.: “RIC-3: a nicotinic acetylcholine receptor chaperone”, *British Journal of Pharmacology*, 153 (2008) 177–183.
- [101] Lansdell, S.J.; Gee, V.J.; Harkness, P.C.; Doward, A.I.; Baker, E.R.; Gibb, A.J.; et al.: “RIC-3 enhances functional expression of multiple nicotinic acetylcholine receptor subtypes in mammalian cells”, *Mol Pharmacol.*, 68 (2005) 1431–1438.
- [102] Miller, K.G.; Alfonso, A.; Nguyen, M.; Crowell, J.A.; Johnson, C.D.; Rand, J.B.: “A genetic selection for *Caenorhabditis elegans* synaptic transmission mutants”, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 93 (1996) 12593–12598.
- [103] Halevi, S.; McKay, J.; Palfreyman, M.; Yasin, L.; Eshel, M.; Jorgensen, E.; Treinin, M.: “The *C. elegans ric-3* gene is required for maturation of nicotinic acetylcholine receptors”, *EMBO J.*, 21 (2002) 1012–1020.
- [104] Halevi, S.; Yasin, L.; Eshel, M.; Sala, F.; Sala, S.; Criado, M.; Treinin, M.: “Conservation within the RIC-3 gene family: effectors of mammalian nicotinic acetylcholine receptor expression”, *J Biol Chem.*, 278 (2003) 34411–34417.
- [105] Lester, H.A.; Dibas, M.I.; Dahan, D.S.; Leite, J.F.; Dougherty, D.A.: “Cys-loop receptors: new twists and turns”, *Trends Neurosci.*, 27 (2004) 329–336.
- [106] Millar, N.S.: “Ligand-gated ion channels”, *In: Encyclopedia of Life Sciences*, (2006) <http://www.els.net/> [doi:10.1038/npg.els.0000154].
- [107] Le Novère, N.; Corringer, P.-J.; Changeux, J.-P.: “The diversity of subunit composition in nAChRs: evolutionary origins, physiologic and pharmacologic consequences”, *J Neurobiol.*, 53 (2002) 447–456.
- [108] Millar, N.S.: “Assembly and subunit diversity of nicotinic acetylcholine receptors”, *Biochem Soc Trans.*, 31 (2003) 869–874.

- [109] Cheng, A.; Bollan, K.A.; Greenwood, S.M.; Irving, A.J.; Connolly, C.N.: “Differential subcellular localization of RIC-3 isoforms and their role in determining 5-HT₃ receptor composition”, *J Biol Chem.*, 282 (2007) 26158–26166.
- [110] Castela'n, F.; Castillo, M.; Mulet, J.; Sala, S.; Sala, F.; Domínguez del Toro, E.; Criado, M.: “Molecular characterization and localization of the RIC-3 protein, an effector of nicotinic acetylcholine receptor expression”, *J Neurochem.*, 105 (2008) 617-627.
- [111] Burkhard, P.; Stetefeld, J.; Strelkov, S.V.: “Coiled coils: a highly versatile protein folding motif”, *Trends Cell Biol.*, 11 (2001) 82–88.
- [112] Gren, W.N.; Millar, N.S.: “Ion-channel assembly”, *Trends Neurosci.*, 18 (1995) 280–287.
- [113] Williams, M.E.; Burton, B.; Urrutia, A.; Shcherbatko, A.; Chavez-Noriega, L.E.; Cohen, C.J.; et al.: “Ric-3 promotes functional expression of the nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit in mammalian cells”, *J Biol Chem.*, 280 (2005) 1257–1263.
- [114] Kuryatov, A.; Luo, J.; Cooper, J.; Lindstrom, J.: “Nicotine acts as a pharmacological chaperone to up-regulate human $\alpha 4\beta 2$ acetylcholine receptors”, *Mol Pharmacol.*, 68 (2005) 1839–1851.
- [115] Sallette, J.; Pons, S.; Devillers-Thiery, A.; Soudant, M.; Prado de Carvalho, L.; Changeux, J-P.; et al.: “Nicotine upregulates its own receptors through enhanced intracellular maturation”, *Neuron*, 46 (2005) 595–607.
- [116] Benwell, M.E.M.; Balfouri D.J.K.; Anderson, J.M.: “Evidence that tobacco smoking increases the density of nicotine binding sites in human brain”, *J Neurochem.*, 50 (1988) 1243–1247.

- [117] Harkness, P.C.; Millar, N.S.: “Changes in conformation and subcellular distribution of $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors revealed by chronic nicotine treatment and expression of subunit chimeras”, *J Neurosci.*, 22 (2002) 10172–10181.
- [118] van Vliet-Ostaptchouk, J.V.; Onland-Moret, N.C.; Shiri-Sverdlov, R.; van Gorp, P.J.; Custers, A.; Peeters, P.H.; Wijmenga, C.; Hofker, M.H.; van der Schouw, Y.T.: “Polymorphisms of the TUB gene are associated with body composition and eating behavior in middle-aged women”, *PLoS ONE*, 3 (2008) e1405.
- [119] Santagata, S.; Boggon, T.J.; Baird, C.L.; Gomez, C.A.; Zhao, J.; Shan, W.S.; Myszka, D.; Shapiro, L.: “G-protein signaling through tubby proteins”, *Science*, 292 (2001) 2041–2050.
- [120] Stubdal, H.; Lynch, C.A.; Moriarty, A.; Fang, Q.; Chickering, T.; Deeds, J.D.; Fairchild-Huntress, V.; Charlat, O.; Dunmore, J.H.; Kleyn, P.; Huszar, D.; Kapeller, R.: “Targeted deletion of the tub mouse obesity gene reveals that tubby is a loss-of-function mutation”, *Mol Cell Biol.*, 20 (2000) 878–882.
- [121] Matarese, G.; La Cava, A.: “The intricate interface between immune system and metabolism”, *Trends Immunol.*, 25 (2004) 193–200.
- [122] Giannaccini, G.; Giusti, L.; Santini, F.; Marsili, A.; Betti, L.; Mascia, G.; Pelosini, C.; Baroni, S.; Ciregia, F.; Fabbrini, L.; Lucacchini, A.; Vitti, P.; Pinchera, A.: “Tubby protein in human lymphocytes from normal weight and obese subjects”, *Clin Biochem.*, 40 (2007) 806–809.
- [123] Morton, G.J.; Cummings, D.E.; Baskin, D.G.; Barsh, G.S.; Schwartz, M.W.: “Central nervous system control of food intake and body weight”, *Nature*, 443 (2006) 289–295.
- [124] Spiegelman, B.M.; Flier, J.S.: “Obesity and the regulation of energy balance”, *Cell*, 104 (2001) 531–543.

- [125] Williams, G.; Harrold, J.A.; Cutler, D.J.: “The hypothalamus and the regulation of energy homeostasis: lifting the lid on a black box”, *Proc Nutr Soc.*, 59 (2000) 385–396.
- [126] Ikeda, A.; Nishina, P.M.; Naggert, J.K.: “The tubby-like proteins, a family with roles in neuronal development and function”, *J Cell Sci.*, 115 (2002) 9-14.
- [127] Sahly, I.; Gogat, K.; Kobetz, A.; Marchant, D.; Menasche, M.; Castel, M.; Revah, F.; Dufier, J.; Guerre-Millo, M.; Abitbol, M.M.: “Prominent neuronal-specific tub gene expression in cellular targets of tubby mice mutation”, *Hum Mol Genet.*, 7 (1998) 1437–1447.
- [128] Backberg, M.; Madjid, N.; Ogren, S.O.; Meister, B.: “Down-regulated expression of agouti-related protein (AGRP) mRNA in the hypothalamic arcuate nucleus of hyperphagic and obese tub/tub mice”, *Brain Res Mol Brain Res.*, 125 (2004) 129–139.
- [129] Guan, X.M.; Yu, H.; Van der Ploeg, L.H.: “Evidence of altered hypothalamic pro-opiomelanocortin/neuropeptide Y mRNA expression in tubby mice”, *Brain Res Mol Brain Res.*, 59 (1998) 273–279.
- [130] Wang, Y.; Seburn, K.; Bechtel, L.; Lee, B.Y.; Szatkiewicz, J.P.; Nishina, P.M.; Naggert, J.K.: “Defective carbohydrate metabolism in mice homozygous for the tubby mutation”, *Physiol Genomics.*, (2006).
- [131] McMinn, J.E.; Baskin, D.G.; Schwartz, M.W.: “Neuroendocrine mechanisms regulating food intake and body weight”, *Obes Rev.*, 1 (2001) 37–46.
- [132] Ashrafi, K.; Chang, F.Y.; Watts, J.L.; Fraser, A.G.; Kamath, R.S.; Ahringer, J.; Ruvkun, G.: “Genome-wide RNAi analysis of *Caenorhabditis elegans* fat regulatory genes”, *Nature*, 421 (2003) 268–272.

- [133] Coşkun T.: “Nutritional genomics”, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 50 (2007) 00-00.
- [134] Kauwell, G.P.A.: “Emerging concepts in nutrigenomics: a preview of what is to come”, *Nutr Clin Pract.*, 20 (2005) 75-87.
- [135] Simopoulos, AP.: “Genetic variation and dietary response: nutrigenetics/nutrigenomics”, *Asia Pacific J Clin Nutr.*, 11 (2002) 117-128.
- [136] Burton H.; Stewart A.: “Nutrigenomics”, *Report of a workshop hosted by The Nuffield Trust and organized by the Public Health Genetics Unit on 5 February 2004*, London, The Nuffield Trust, 1-26 (2005).
- [137] Cosgrave, C.S.: “Survival of the Fattest: The Key to Human Brain Evolution. RiverEdge, NJ, USA”, *World Publishing Company*, (2005) 281-284.
- [138] Chavez A.; de Chavez MM.: “Nutrigenomics in public health nutrition: short-term Perspectives”, *Eur J Clin Nutr*, 57 (2003) 97-100.
- [139] Abay, E.; Ateş İ.: “Psikiyatrik Bozuklukların Tedavisinde Farmakogenomik Klinik Psikofarmakoloji Bülteni” 12 (2002) 31-36.
- [140] Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.: *Molecular Biology of the Cell*. 3. Ed, (1994).
- [141] William, S.K.; Michael, R.C.: “Genetik”, *Palme Yayıncılık*, Ankara, (2003).
- [142] Ma, H.; Shieh, K.J.; Chen, G.; Qiao, XT.; Chuang M.Y.: “Application of Real-time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)”, *The Journal of American Science*, 2 (2006).
- [143] Kubista, M.; Andrade, J.M.; Bengtsson, M.; Forootan, A.; Jonák, J.; Lind, K.; et al.: “The real-time polymerase chain reaction”, *Mol Aspects Med.*, 27 (2006) 95-125.

- [144] Günel, T.: “Gen Anlatımının Kantitatif Analizi 'Real-Time PCR'”, *Turkiye Klinikleri J Med Sci.*, 27 (2007) 763-767.
- [145] Dorak, M.T.: “Real-time PCR”, School of Clinical Medical Sciences (Child Health) Newcastle University, Newcastle-upon-Tyne, UK. ISBN 0–203–96731–3 Master e-book ISBN, (2006) 39–62.
- [146] Kelin, D.: “Quantification using real-time PCR technology: applications and limitations”, *Trends Mol Med.*, 8 (2002) 257-260.
- [147] Wong, M.L.; Mediano, J.F.: “Real-Time PCR for mRNA Quantitation”, *Biotechniques*, 39 (2005) 75-85.
- [148] Valasek, M. A.; and Repal, Joyce J.: “The power of real-time PCR”, *Adv Physiol Educ.*, 29 (2005) 151–159.
- [149] Levin, R.E.: “The Application of Real-Time PCR to Food and Agricultural Systems”, *Food Biotechnology*, 18 (2004) 97–133.
- [150] van der Velden, V.H.; Hochhaus, A.; Cazzaniga, G.; Szczepanski, T.; Gabert, J.; van Dongen, J.J.: “Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: Principles, approaches, and laboratory aspects”, *Leukemia*, 17 (2003) 1013-1034.
- [151] Hofmann, K.: “Fundamental problems in identifying the animal species of muscle meat using electrophoretic methods”, *Fleishwirts*, 67 (1987) 820-826.
- [152] Kubista, M.: “Emerging Real-Time PCR Applications”, *Molecular Biology*, (2008) 57-66.
- [153] Wolf, C.; Lüthy, J.: “Quantitative competitive (QC) PCR for quantification of porcine DNA”, *Meat Sci.*, 57 (2001) 161-168.

- [154] Cacherill, FR.; Uhl, J.R.: “Applications and challenges of Real-Time PCR for the Clinical Microbiology Laboratory”, *Rapid Cycle Real-Time PCR. Methods and Applications*, 1st Edition.; Reischl, U.; Wittwer, C.; Cockerill, FR.; eds., Heidelberg, Germany, **(2001)** 11.
- [155] Gut, M.; Leutenegger, C.M.; Huder, J.B.; Pedersen, N.C.; Lutz, H.: “One-tube fluorogenic reverse transcription-polymerase chain reaction for the quantitation of feline coronaviruses”, *J Virol Methods.*, 77 **(1999)** 37-46.
- [156] http://www.asuragen.com/Services/services/gene_expression/ab_taqman.aspx
- [157] Bustin, S.A.: “Absolute quantification of mRNA using realtime reverse transcription polymerase chain reaction assays”, *J Mol Endocrinol.*, 25 **(2000)** 69-193.
- [158] Tyagi, S.; Kramer, FR.: “Molecular beacons: Probes that fluoresce upon hybridization”, *Nat Biotechnol.*, 14 **(1996)** 303-308.
- [159] Kubista, M.; Stalberg, A.; Bar, T.: “Light-up probe based real-time Q-PCR”, *Genomics and Proteomics Technologies*, In: Raghavachari, R.; Tan, W.; eds.. 1st ed. Proceedings of SPIE; **(2001)** 53-58.
- [160] Chaplin, B.E.; Rasmussen, R.P.; Bernard, P.S.; Wittwer, C.T.: “LightCycler™ hybridization probes the most direct way to monitor PCR amplification and mutation detection”, *Biochemica*, 1 **(1999)** 5-8.
- [161] Wittwer, C.T.; Herrmann, M.G.; Moss, A.A.; Rasmussen, R.P.: “Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification”, *Biotechniques*, 22 **(1997)** 130-131, 134-138.
- [162] Caplin, B.E.; Rasmussen, R.P.; Bernard, P.S.; Wittwer, C.T.: “The most direct way to monitor PCR amplification for quantification and mutation detection”, *Biochemica*, 1 **(1999)** 5-8.

- [163] jcp.bmj.com/content/61/7/863.full.html
- [164] Loveless B.M.; Yermakova A.; Christensen D.R.; Kondig J.P.; Heine III H.S.; Wasieloski L.P.; Kulesh D.A.: “Identification of ciprofloxacin resistance by SimpleProbe™, High Resolution Melt and Pyrosequencing™ nucleic acid analysis in biothreat agents: Bacillus anthracis, Yersinia pestis and Francisella tularensis”, *Molecular and Cellular Probes*, 24 (2010) 154-160.
- [165] <http://www.soystache.com/foodtable.htm>
<http://www.nutrinote.com/nutritionaltable.html>
<http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/label-etiquet/nutrition/index-eng.php>
- [166] Hume, R.: “Prediction of lean body mass from height and weight”, *J Clin Path.*, 19 (1966) 389-395
- [167] Foster-Powell, K.; Holt, S.H.A.; Brand-Miller, J.C.: “International table of glycemic index and glycemic load”, *Am J Clin Nutr.*, 76 (2002) 5-56.
- [168] www.roche-applied-science.com
- [169] Miller, S.A.; Dykes, D.D.; Polesky, H.F.: “A simple salting out procedure for extracting DNA from nucleated cells”, *Nucl Acids Res.*, 16 (1988) 1215.
- [170] Heptinstall, J.; Rapley, R.: “Spectrophotometric analysis of nucleic acids”, *The Nucleic Acid Protocols Handbook*, (2002) 57–60.
- [171] Koban, E.: “Tübitak Türkhaygen-1 Projesi Tür ve Irkların DNA işaretleri ile Moleküler Tanımlanması Çalışma Paketi”, (2007).
- [172] Ayaz, Y.: “Isı İşlem Görmüş Et ve Et Ürünlerinde Tür Ayırımı”, *Etlik Vet. Mikrob. Derg.*, 9 (2004) 183-185.

- [173] Sambrook, Fritsch, Maniatis, "Molecular Cloning" A Laboratory Manual 2nd Edition, *Cold Spring Harbor Laboratory Pres*, 3 (1989) 3-4.
- [174] Chou, Q.; Russell, M.; Birch, D.E.; Raymond, J.; Bloch, W.: "Prevention of pre-PCR mi-priming and primer dimerization improves low-copy-number amplifications", *Nucleic Acids Research*, 20 (1992) 1717-1723.
- [175] Kellong D.E.; Rybalkin, I.; Chen, S.; Mukhamedova, N.; Vlasik, T.; Siebert, P.D.; Chenchik, A.: "TaqStart Antibody: "hot start" PCR facilitated by a neutralizing monoclonal antibody directed against Taq DNA polymerase", *Biotechniques*, 16 (1994) 1134-1137.
- [176] Birch, D.E.: "Simplified hot start PCR", *Nature*, 381 (1996) 445-446.
- [177] PCR Manual, *Roche Diagnostics*, 2nd edition, 2 (1999) 52-58.
- [178] Snieder, H.; Wang, X.; Shiri-Sverdlov, R.; van Vliet-Ostapchouk, J.V.; Hofker, M.H.; Perks, U.; Spector, T.D.; O'Dell, S.D.: "TUB is a candidate gene for late-onset obesity in women", *Diabetologia*, 51 (2008) 54-61.

EKLER

EK III-1 TEMEL BESİN TABLOSU

	YAĞ	KARBOHİDRAT	PROTEİN
<i>DENİZ ÜRÜNLERİ</i>			
Hamsi	+	-	+
Lüfer	+	-	+
Sazan	+	-	+
Uskumru	+	-	+
Kefal	+	-	+
Tekir Balığı	+	-	+
Karides	+	-	+
Palamut	+	-	+
Sardalya	+	-	+
Levrek	+	-	+
Alabalık	+	-	+
Tonbalığı	+	-	+
Mezgit	-	-	+
<i>SEBZELER</i>			
Enginar	-	+	+
Patlıcan	-	+	+
Fasulye, <i>yeşil</i>	-	+	+
Brokoli	-	+	+
Brüksel lahanası	-	+	+
Lahana	-	+	+
Sukabağı	-	-	+
Havuç	-	+	+
Karnıbahar	-	+	+
Kırmızıbiber	-	-	+
Mısır	-	+	+
Salatalık	-	-	+
Sarımsak	-	+	+

Yeşil Lahana	-	+	+
Zeytin, siyah	+	-	+
Zeytin, yeşil	+	-	+
Bezelye, yeşil	-	+	+
Biber	-	+	+
Soğan	-	+	+
Patates	-	+	+
Ispanak	-	-	+
Domates	-	-	+
Mantar	-	+	+

MEYVELER

Elma	-	+	+
Kayısı	-	+	+
Muz	+	+	+
Yaban Mersini	-	+	-
Kiraz	-	+	+
Hurma	+	+	+
İncir	-	+	+
Greyfurt	-	+	+
Tatlı Kavun	-	+	+
Kivi	-	+	+
Limon	-	+	+
Ayva	-	+	+
Mandalina	-	+	+
Portakal	-	+	+
Şeftali	-	+	+
Armut	-	+	+
Ananas	-	+	+
Erik	-	+	+
Nar	-	+	+
Çilek	-	+	+
Karpuz	-	+	+

**SÜT VE SÜT
ÜRÜNLERİ**

Tereyağı, <i>tuzsuz</i>	+	-	+
Lor Peyniri	+	+	+
Krema	+	+	+
Krem Peynir	+	+	+
Beyaz Peynir	+	+	+
Tuzsuz Beyaz Peynir	+	+	+
Yumurta, <i>pişmiş</i>	+	+	+
Dondurma, <i>Çikolatalı</i>	+	+	+
Dondurma, <i>Vanilyalı</i>	+	+	+
İnek Sütü	+	+	+
Yoğurt	+	+	+

YAĞLAR

Mısır Yağı	+	-	-
Zeytin Yağı	+	-	-
Ayçiçek Yağı	+	-	-
Fındık yağı	+	-	-
İç Yağı	+	-	-
Margarin	+	-	+
Tereyağı, <i>tuzsuz</i>	+	-	+
Tavuk Yağı	+	-	-
Hindistancevizi Yağı	+	-	-
Yerfıstığı Yağı	+	-	-
Hurma Yağı	+	-	-
Susam Yağı	+	-	-
Ceviz yağı	+	-	-
Pamuk yağı	+	-	-

KURUYEMİŐLER

Keten Tohumu	+	-	+
Badem	+	+	+
Ceviz	+	+	+
Kasu Cevizi (Kaju Fıstığı)	+	+	+
Kestane	+	+	+
Hindistancevizi	+	+	+
Fındık	+	+	+
Susam ekirdeği	+	-	+
Yerfıstığı	+	-	+
Ayekirdeği	+	-	+
Kabak ekirdeği	+	-	+
amfıstığı	+	-	+
Fıstık	+	+	+
PatlamıŐ Mısır	+	+	+
Patates Cipsi	+	+	+

KURU BAKLİYAT

Mercimek	+	+	+
Bezelye	+	+	+
Bakla	+	+	+
Nohut	+	+	+
Fasulye	+	+	+
Makarna	+	+	+
Pirin	+	+	+
Ekmek, beyaz buğday	+	+	+
Ekmek, kepek buğday	+	+	+

ET VE ET ÜRÜNLERİ

Sosis	+	-	+
Salam	+	-	+
Jambon	+	-	+
Pastırma	+	-	+
Sucuk	+	-	+
Koyun eti	+	-	+
Dana kıyma	+	-	+
Dana büftek	+	-	+
Tavuk, derisiz	+	-	+
Hindi, pişmiş	+	-	+
Karaciğer,koyun sakatat	+	-	+

TATLANDIRICILAR

Ketçap	+	-	+
Mayonez	+	+	+
Turşu	-	-	+
Salata sosu	+	-	-

ALKOLLÜ İÇECEKLER

Bira	-	-	-
Cin	-	-	-
Cin Tonik	-	-	-
Martini	-	-	-
Şarap, beyaz	-	-	-
Şarap, kırmızı	-	+	-
Tekila	-	-	-
Viski	-	-	-
Votka	-	-	-

ÖZGEÇMİŞ

20.01.1985 yılında Düzce’de doğdu. İlköğretimini 1991-1996 yılları arasında Namık Kemal İlköğretim Okulu’nda, orta öğretimini 1996-1999 yılları arasında Mustafa Kemal İlköğretim Okulu’nda ve lise öğrenimini 1999–2003 yılları arasında Düzce Arsal Anadolu Lisesi’nde tamamladı.

Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nde 2004–2008 yılları arasında lisans eğitimini tamamladı. 2008 yılında Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji anabilim dalı yüksek lisans programına kabul edildi.

YAYINLAR

1. Süsleyici Duman, B.; Zengin, K.; Kayhan, F.E.; **Koldemir, M.**, Kaya Dağistanlı, F.; Çağatay, P.; Ozturk, M.; Taşkın, M.: “FTO mRNA Expression in Extremely Obese and Type 2 Diabetic Human Omental and Subcutaneous Adipose Tissues”, *Obesity Surgery*, (2011) Kabul edildi.
2. Süsleyici Duman, B.; Zengin, K.; Kayhan, F.E.; **Koldemir, M.**; Çağatay, P.; Taşkın, M.: “Yağ Dokularında FTO Gen Anlatımının İlaç ve Hastalıklar ile İlişkisi”, *Endoskopik Laparoskopik & Minimal İnvaziv Cerrahi Dergisi*, Nisan 2011 Baskıda.
3. Süsleyici Duman, B.; Ozturk, M.; Kayhan, F.E.; Zengin, K.; Kaya Dağistanlı, F.; **Koldemir, M.**; Çağatay, P.; Taşkın, M.: “Resistin gene expression in Type 2 diabetic patients human adipose tissues: relationship with drug use”, *3rd International Meeting on Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, İstanbul, Turkey, June, (2010) 63.
4. Süsleyici Duman, B.; Zengin, K.; Kayhan, F.E.; **Koldemir, M.**; Çağatay, P.; Taşkın, M.: “Fat mass and obesity associated gene expression in human omental and subcutaneous adipose tissue”, *3rd International Meeting on Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, İstanbul, Turkey, June, (2010) 84.
5. Süsleyici Duman, B.; **Koldemir, M.**; “Obezitede *TUB* ve *RIC-3* Genlerinin Önemi”, *Endokrinolojide Yönelişler*, 18 (2009) 150-154.