ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OBEZ BİREYLERDE LEPTİN RESEPTÖRÜNÜN GENETİK VARYASYONU

Halah Qahtan Abed ABED

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2023

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Halah Qahtan Abed ABED tarafından hazırlanan **"Obez Bireylerde Leptin Reseptörünün Genetik Varyasyonu"** adlı tez çalışması 15/01/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN

Eş Danışman : Prof. Dr. Samir Mishrif KHALAF

Jüri Üyeleri :

Başkan : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Biyoloji
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Mine TÜRKTAŞ
Biyoloji
Gazi Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ebru GÜL
Orman Mühendisliği Bölümü
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Obez Bireylerde Leptin Reseptörünün Genetik Varyasyonu**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (15/01/2023).

Halah Qahtan Abed ABED

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

OBEZ BİREYLERDE LEPTİN RESEPTÖRÜNÜN GENETİK VARYASYONU

Halah Qahtan Abed ABED

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Eş Danışman: Prof. Dr. Samir Mishrif KHALAF

Çalışmanın amacı, obez yetişkinlerin bazı immünolojik ve fizyolojik özelliklerinin belirlenmesi ve bu bireylerin yaş, bel çevresi (WC), vücut kitle indeksi (BMI) ve cinsiyetleri arasındaki ilişkinin tespit edilmesidir. Ayrıca, obezite ile ilişkili olabilecek genetik mutasyonları araştırmak ve bazı aday genlerin DNA polimorfizmlerinin obezite (fenotip) ile ilişkili olup olmadığını belirlemek için PCR-SSCP dizileme yaklaşımı kullanılmıştır. Çalışmamıza Irak Babil Hastanesi Beslenme Bölümü'ne başvuran, yaşları 19-40 arasında değişenlik gösteren ve etnik kökenleri aynı olan elli iki obez hasta (13 erkek, 39 kadın) (kronik hastalığı olan vakalar hariç) ve kontrol grubunu oluşturmak üzere otuz yedi sağlıklı birey (19 erkek, 18 kadın) dahil edilmiştir. BMI'ya göre obezite grupları I, II ve III şeklinde üç kategoriye ayrılmıştır. Mevcut çalışma, Leptin, ROS, BMI ve WC gibi fizyolojik parametrelerin tahminini yapmak ve obezite ile ilişkili LEP gen polimorfizmlerini ve genetik olarak hastalığı aktaran bir mutasyon olasılığını incelemek için ikiye ayrılmıştır. Sonuçlar, kadınların obez hastaların çoğunluğunu oluşturduğunu ve obez grup ile kontrol grubu arasında yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi ve önceki obezite öyküsü açısından önemli bir fark olduğunu (P=0,05) göstermiştir. Obez gruplardaki leptin düzeyleri, kontrol gruplarındaki düzeylerden önemli ölçüde farklılık göstermiştir ancak aynı durum Reaktif oksijen türleri (ROS) için geçerli olmamıştır. Her iki grupta da leptin düzeylerinin kadınlarda erkeklerden anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. ROS serum düzeylerinde cinsiyetler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu arada sonuçlar, üç obezite kategorisi arasında serum, leptin ve ROS konsantrasyonlarında anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir. Çalışma parametrelerinin korelasyonları, BMI ile insülin (obez gruplar) arasında ve ayrıca BMI ile ROS (obez kadın grupları) arasında pozitif bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Mevcut edinimlere göre, yaş, cinsiyet, obezite kategorileri, vücut kitle indeksi, kan leptin konsantrasyonları ve LEP'deki genetik değişikliklerin dağılımındaki farklılıklar, obezite gelişiminin ana nedenleri olabilir.

2023, 56 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Leptin, Genetik, Moleküler, Fizyolojik, Obez

ABSTRACT

Master of Science Thesis

GENETIC VARIANT OF LEPTIN STORE IN OBESE INDIVIDUALS

Halah Qahtan Abed ABED

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Melda DÖLARSLAN
Co-Advisor: Prof. Dr. Samir Mishrif KHALAF

The purpose of the study was to estimate some immunological and physiological characteristics of obese adults, as well as the relationship between age, waist circumference (WC), body mass index (BMI) and sex in both groups. Furthermore, the PCR-SSCP sequencing approach was used to investigate genetic mutations that may be associated with obesity and to determine whether the DNA polymorphisms of some candidate genes and obesity (phenotype) are related. The Nutrition Department of Babel Hospital, Iraq, received fifty-two obese patients (13 men, 39 women) (excluding cases with chronic diseases) and thirty-seven persons as a control group (19 men, 18 women) ranging in age from (19-40 years). In addition, all obese and control groups were from the same (Arab) ethnic group. Depending on BMI, obesity groups are divided into three categories as I, II and III. The current work is split into two to estimate physiological parameters such as Leptin, ROS, BMI, and WC, and to examine obesity-associated LEP gene polymorphisms and the possibility of a genetic mutation that carries a genetic disease. The results showed that women made up the majority of obese patients and there was a significant difference between the obese group and the control group in terms of age, gender, body mass index, and previous obesity history (P=0.05). The leptin levels in the obese groups differed significantly from the levels in the control groups, but the same was not true for Reactive oxygen species (ROS). In both groups, leptin levels were found to be significantly higher in women than in men. No significant difference was found between genders in ROS serum levels. Meanwhile, the results showed that there was no significant difference in serum, leptin, and ROS concentrations between the three obesity categories. Correlations of study parameters revealed a positive association between BMI and insulin (obese groups), as well as between BMI and ROS (obese female groups). Based on current evidence, differences in the distribution of age, sex, obesity categories, body mass index, blood leptin concentrations and genetic changes in LEP may be the main causes of obesity development.

2023, 56 pages

Keywords: Leptin, Genetic, Molecular, Physiological, Obese

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Çalışma sürecinde yol göstericiliği ve olumlu tavırlarıyla beni cesaretlendiren çok kıymetli tez danışmanım Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN'a bu süreçte bana göstermiş olduğu sabrı, rehberliği ve anlayışı için sonsuz teşekkür ederim.

Halah Qahtan Abed ABED
Çankırı, Ocak 2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vii**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **viii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **x**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Çalışmanın Amacı **3**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **4**
2.1 Obez Yetişkinlerin Tanımı, Epidemiyolojisi ve Klinik Özellikleri **4**
2.2 Bağırsak, Beyin ve Yağ Dokusunda Enerji ve Obezite Metabolizması Sinyalleri **6**
2.3 Obezitenin Genlerle Olası İlilşkisi **9**
2.4 Leptin Geninin Keşfi **12**
3. MATERYAL VE METOT **14**
3.1 Yöntem **14**
3.1.1 Çalışma tasarımı, hazırlık ve veri toplama süresi **14**
3.1.2 Çalışma **14**
3.1.3 Dışlama kriterleri **14**
3.2 Veri Toplama **14**
3.2.1 Bel çevresi ve vücut kitle endeksi (BMI) **15**
3.3 Çalışma Tasarımı **15**
3.4 Kan Örnekleri **16**
3.4.1 Fizyolojik testler yapmak için prosedürler **17**
3.5 Moleküler Analiz **18**
3.5.1 DNA ektrasyonu **18**
3.5.2 Çıkarılan DNA konsantrasyonunun ölçülmesi (saflık) **20**
3.5.3 Agaroz jel elektroforezi **21**

3.6 Polimeraz Zincir Reaksiyonu 21
3.6.1 Primer dizaynı 21
3.6.2 Örneklerin yeniden şekillendirilmesi ve seyreltilmesi 22
3.6.3 PCR deneylerin yapılması 22
3.6.4 Agaroz% 1 (PCR) 23
3.6.5 Çözeltilerin Hazırlanması 24
3.6.6 Jel elektroforez protokolü 24
3.6.7 Fotoğraf belgeleri 25
3.7 Tek İplikçik Konformasyon Polimorfizmi (SSCP) 25
3.7.1 SSCP'nin adımları 26
3.7.2 SSCP ürünlerinin sıralanması 28
3.8 İstatistiksel Analiz 28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 29
4.1 Katılımcıların Temel Demografik Özelliklerinin Dağılımı 29
4.2 Çalışma Grupları ile Değişkenlerin İlişkisi 29
4.3 Her İki Grupta Cinsiyet, Yaş, Vücut Kitle İndeksi ve Bel Çevresi Karşılaştırması 30
4.4 Her İki Cinsiyette Fizyolojik Belirteçlerin Serum Seviyeleri 32
4.5 Obez Grupların Sınıflandırmasındaki Fizyolojik Parametre Konsantrasyonları 33
4.6 Obez Gruplarda Vücut Kitle İndeksi ile Serumdaki Fizyolojik Konsantrasyonlar Arasındaki İlişki 34
4.7 Moleküler Çalışma Sonuçları 35
4.7.1 DNA ekstraksiyonu 35
4.7.2 LEP geni 36
4.7.3 LEP Gen için DNA Polimorfizmlerinin Dağılımındaki Bant Sayısı ile Obez Popülasyon ve Kontrol Grubu İlişkisi 40
4.8 Tartışma 40
4.8.1 Fizyolojik parametreler ve obezite 40
4.8.2 Leptin geni 42
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 45
5.1 Sonuçlar 45
5.2 Öneriler 45

KAYNAKLAR 46
ÖZGEÇMİŞ.....56

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
±	Artı, eksi
°C	Santigrat derece
µL	Mikrolitre
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre

KISALTMALAR DİZİNİ

DNA	Deoksiribo nükleik asit
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
RNA	Ribonükleik asid

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Obezite aşamaları 5
Şekil 2.2 Enerji dengesinin kontrolünde yer alan mekanizmalar 9
Şekil 2.3 Leptin sentezi (Karthikeyan and Meyer 2006) 13
Şekil 3.1 Çalışma tasarımı 16
Şekil 4.1 Obez ve kontrol grubu arasındaki yaş farklılıkları 31
Şekil 4.2 Obez ve kontrol grubu arasındaki BMI (kg/m^2) farklılıkları 31
Şekil 4.3 Obez ve kontrol grubu arasındaki bel çevresi (cm) farklılıkları 32
Şekil 4.4 Obez gruptaki kadınların BMI (kg/m^2) ve reaktif oksijen türleri arasındaki (ng/mL) ilişki 35
Şekil 4.5 Kan elektroforez desen şeritleri 1-12'den ekstrakte edilen DNA 36
Şekil 4.6 Kullanılan gradyan PCR tavlama sıcaklığı 36
Şekil 4.7 Ekzon 3 fragman PCR'nin LEP geni agaroz jel elektroforezi 37
Şekil 4.8 LEP genindeki DNA polimorfizminin bant sayısına göre belirlenmesi 38
Şekil 4.9 DNA STAR yazılımı ve Editseq kullanılarak Homo sapiens LEP gen fragmanı 39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Tasarımda kullanılan bilgisayar programı 21
Çizelge 3.2 Bioneer-Kore'den alınan ileri ve geri primerler 21
Çizelge 3.3 PCR tüplerine yerleştirilirken kullanılan hacimler ve konsantrasyonlar ... 23
Çizelge 3.4 PCR amplifikasyonu için önerilen termal döngü koşulları 23
Çizelge 3.5 SSCP jelinin bileşenleri 26
Çizelge 3.6 Poliakrilamidde DNA bantlarının gümüşle boyanmasının ana adımları ... 28
Çizelge 4.1 Araştırma grubunun temel özellikleri 29
Çizelge 4.2 Araştırma grupları ve değişkenler arasındaki ilişki 30
Çizelge 4.3 Araştırma grupları için her iki cinsiyette yaş, BMI ve bel çevresi değişiklikleri 32
Çizelge 4.4 Kan serumundaki fizyolojik değişkenlerin konsantrasyonları 33
Çizelge 4.5 Fizyolojik parametrelerin serum konsantrasyonları 33
Çizelge 4.6 Obezite gruplarındaki fizyolojik değişkenlerin serum konsantrasyonları . 33
Çizelge 4.7 Obezite gruplarında vücut kitle indeksi ile fizyolojik ve immün bileşenlerin konsantrasyonları 34
Çizelge 4.8 Obezite gruplarında vücut kitle indeksi ile fizyolojik ve immün bileşenlerin konsantrasyonlarının cinsiyetlere göre dağılımı 34
Çizelge 4.9 Homo sapiens LEP gen referans dizisinin ekson 3'ü ile bağlanma sayısı arasındaki DNA modellerindeki farklılıklar 39
Çizelge 4.10 LEP geninin DNA polimorfizmlerinin bant sayısına göre dağılımı ve bunların obezite ve kontrol gruplarıyla ilişkisi 40

1. GİRİŞ

Dünya çapında bir milyardan fazla yetişkin, prevalansının 2030 yılına kadar iki katına çıkması beklenen kronik bir durum olan obeziteden muztariptir. Tahminlere göre, obezite her yıl tahminen 112,000 önlenebilir ölüme neden olarak yüzyılın en kötü halk sağlığı sorunu haline gelmektedir (Pudel and Ellrott 2005). Ek olarak, DSÖ (WHO 2015), dünya çapında 1,9 milyar (+18 yaş) fazla kilolu yetişkin içerisinde 600 milyondan fazlasının obez yetişkinler olduğunu ve bunların çoğunluğunun sanayileşmiş ülkelerde yaşadığını tahmin etmektedir.

1980-2014 yılları arasında bölgenin birçok ülkesinde fazla kilolu ve obez insan sayısı üç kat artmış ve hem gelişmekte olan hem de sanayileşmiş ülkelerde rahatsız edici bir sıçrama göstermiştir (WHO 2015). Ayrıca, (Müller-Riemenschneider *et al.* 2008)'e göre, Avrupa'daki yetişkinlerin %52'si obez veya fazla kiloluyken, Orta Doğu ülkelerinde yetişkinlerde obezite sıklığı %24,5 ile endişe verici derecede yüksektir (Motlagh *et al.* 2009).

Obez yetişkinlerde endometrial, meme, prostat ve kolon kanserinin yanı sıra hipertansiyon, hiperkolesterolemi, tip II diyabet ve bunun etkileri, safra kesesi hastalığı, osteoporoz, uyku apnesi ve solunum problemleri olasılığı daha yüksektir (Flegal *et al.* 2005). Bu arada, obezite her yaştan ve her etnik kökenden insanı etkiler ve sosyoekonomik (SES) düzeyle ilişkilendirilmiştir (McLaren 2007). Flegal *et al.* (2005), aşırı yağ dokusunun yetişkinlerde obeziteye neden olup olmadığının kişinin boy ve kiloya dayalı vücut kitle indeksi kullanılarak, ayrıca, karın obezitesine sahip olup olmadığının bel çevresinin ölçülmesiyle tespit edilebildiğini belirtmiştir.

Obezitenin genetik, çevresel, metabolik, yaşam tarzı, psikolojik, tıbbi veya ilaca bağlı faktörler dahil olmak üzere birçok nedeni vardır. Bununla birlikte, obez insanların oranlarındaki hızlı yükselişin sebebi, enerji açısından zengin gıdaların tüketimindeki artış ile birlikte artan sedanter yaşam tarzlarının neden olduğu fiziksel aktivitenin azalması ve özellikle teknolojik ilerlemeyle ilişkili hareketsizlik olmuştur (Berthoud and Morrison

2008). Ek olarak, enerji dengesi, açlığın düzenlenmesi ve obezite ile ilgili genetik farklılıklar da bu yükselişin sebepleri arasında sayılabilir. Vücut ağırlığındaki değişiklikler yalnızca belirli bir süre boyunca enerji alımı ve tüketimi eşit olmadığında meydana gelir (Kraemer *et al.* 2002, Roberson *et al.* 2014).

Gıda alımı, bağırsaklar, karaciğer ve yağ dokusu gibi periferik organlardan ve beynin kendisinden üretilen uyarıcı ve inhibitör sinyal sistemleri tarafından yönetilmektedir. Gıda alım döngüsü, besinlerin kolay erişilebilirliğine ve stres gibi farklı psikolojik ajanlara ek olarak, genetik yatkınlık gibi çevreden etkilenen biyolojik bir sistem oluşturan bir etkileşimler ağına dayanmaktadır. Bu nedenle, hücreler arası iletişim molekülleri vücutta yoğun bir şekilde çalışır, ancak ana aktivite merkezleri, beyin, gastrointestinal sistem ve adipositlerdir. Bu iletişim sinyalleri, enerji alımı ve tüketimi arasında bir denge sağlayan, afferent (getirici) ve efferent (götürücü) sinir liflerinden oluşan karmaşık bir fizyolojik sistem aracılığıyla sinir sistemi, endokrin sistem ve bağışıklık sistemine ulaşırlar (Boguszewski and Van Der Lely 2015).

Mideden gelen sinyallerin diğer periferik dokulardan ve çevreden gelenlerle bütünleştirilmesi için görevli birincil bölge kavisli çekirdektir (ARC) (Hyman 2006, Rankinen *et al.* 2006).

Enerji birikiminin neden olduğu kronik iltihaplanma, fazla enerjiyle mücadele etmek için düzenleyici bir geri bildirim tarzında enerji harcamasını teşvik edebilir (Jung and Choi 2014). Ayrıca periferik inflamasyon, organ ve dokularda olduğu kadar merkezi sinir sisteminde de enerji dengesini kontrol edebilir (De Benedetti *et al.* 1997). Santral inflamasyon, gıda alımını engelleyebilir ve enerji harcamak için nöronları aktive edebilirken, periferik inflamasyon, enerji harcamasını artırmak için yağ mobilizasyonunu ve oksidasyonu uyarır. Ancak bu geri besleme sistemi eksik olursa enerji harcaması sekteye uğrar ve obezite için vücutta yağ birikir (Ye and Keller 2010).

Dönüştürücü büyüme faktörünün (TGF-β) artan sentezi, hücrelerin terminal farklılaşmasını desteklemeden immün homeostazın korunmasında kritik bir işlev gerçekleştirir (Friedrichsen *et al.* 2005). Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine neden

olan IL-6 gibi proinflamatuar sitokinlerin üretimi de obez hayvanlarda ve insanlarda yağ dokusunda artmaktadır (Sengenès *et al.* 2007). Bu hücre içi seviyeler, çeşitli periferik organlardaki birçok sinyal yolunda ve çeşitli nöron tiplerini de etkileyerek gıda alımını ve metabolizmayı organize ettikleri hipotalamusta işlev görür (Anne-Lise *et al.* 2015). Ayrıca, insan obezite haritasında, leptin, leptin reseptörü ve diğerleri dahil olmak üzere obezite ile ilgili birkaç gen vardır (Farooqi 2005, Rankinen *et al.* 2006, O'Rahilly and Farooqi 2008). Bu faktörler genetik ve epigenetik içerir.

1.1 Çalışmanın Amacı

Irak'ta, kronik hastalıklar dışında sadece obeziteden muzdarip genç insanlarda fizyolojik ve immünolojik parametreler, genetik yatkınlık, enerji dengesi, iştah kontrolü ve obezite ile ilgili genetik varyasyon arasındaki ilişkiyi özel olarak ele alan daha önce hiçbir çalışma yapılmamıştır. Aşağıda listelenen eylemler, hedefe ulaşmamıza yardımcı olacaktır:

- Leptin, reaktif oksijen türleri (ROS) ve interlökin-6 dahil olmak üzere bazı immünolojik ve fizyolojik değişkenlerin hem obezite ve kontrolü hem de cinsiyetle birlikte değerlendirilmesi.
- Tüm demografik gruplarda ve cinsiyetlerde yaş, vücut kitle indeksi ve bel ölçüsü arasındaki ilişkinin belirlenmesi.
- PCR-SSCP dizileme teknolojisini kullanarak, genetik mutasyonlar ile obezite arasındaki ilişkiyi ve seçilen potansiyel genlerin DNA polimorfizmleri ile obezite (fenotip) arasındaki ilişkiyi araştırmak.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Obez Yetişkinlerin Tanımı, Epidemiyolojisi ve Klinik Özellikleri

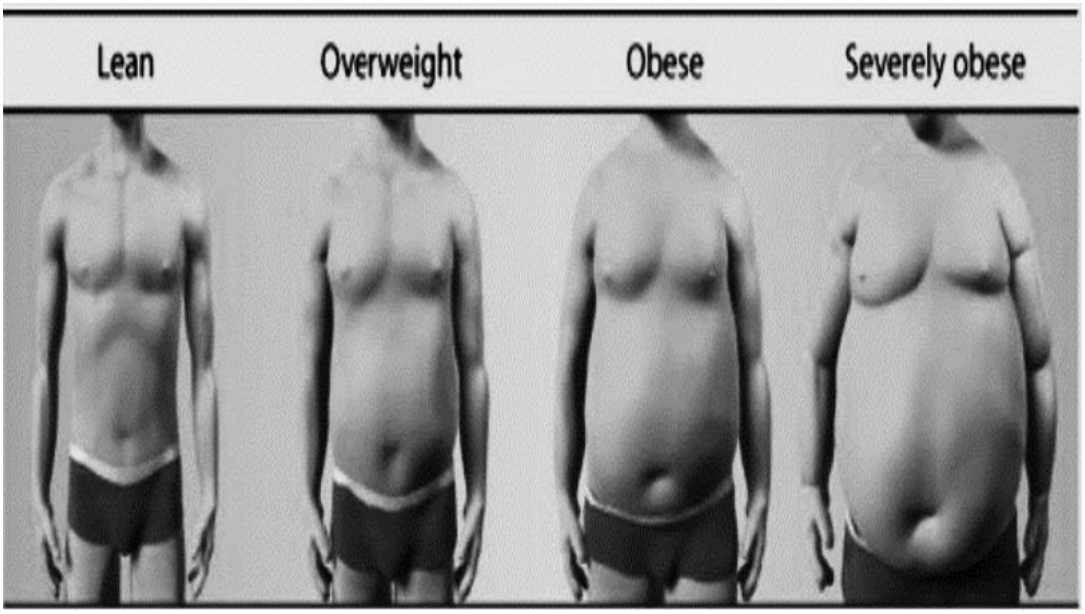
Kronik multifaktöriyel obezite, aşırı yağ birikimine neden olan ve sağlığı olumsuz yönde etkileyen artan vücut ağırlığı ile karakterizedir. Çevresel (sosyal ve kültürel), genetik, fizyolojik, metabolik, davranışsal ve psikolojik bileşenler de söz konusudur (WHO 2000, Peirson *et al.* 2014).

Kilogram cinsinden ağırlığın boyun karesine bölümü olan vücut kitle indeksi (BMI) sınıflandırma sistemine dayanan Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH) ve Ulusal Kalp, Akciğer ve Kan Enstitüsü (NHLBI) metre cinsinden, yetişkinlerde aşırı kilo ve obeziteyi çeşitli sistemlerle tanımlamış veya kategorize etmiştir (Kuczmarski and Flegal 2000).

Vücut kitle indeksinin 30,0 kg/m^2'nin üzerinde olması obeziteyi, vücut kitle indeksinin 25,0 kg/m^2 ile 29,9 kg/m^2 arasında olması ise fazla kilolu ve obezite geliştirme riski olarak tanımlanmaktadır. Vücut kitle indeksi (BMI) 18,5 kg/m^2 ile 29,9 kg/m^2 arasında olan kişilerin hastalık riskinin daha düşük olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca obezitenin, Sınıf I (BMI 30,0-34,9 kg/m^2), Sınıf II (35,0-39,9 kg/m^2) ve Sınıf III (BMI >40 kg/m^2) olmak üzere üç alt kategorisi vardır (Weisberg *et al.* 2003).

Erkeklerde 102 cm, kadınlarda 88 cm'lik bir bel çevresi (WC) yüksek kabul edilir ve bu da metabolik hastalık ve enerji dengesi bozukluğu riskinin arttığını gösterir. Fazla kilolu ve obez erişkinlerde, BMI ölçümüne ek olarak abdominal obeziteyi değerlendirmek için bel çevresi (abdominal yağ konsantrasyonu) ölçülür (Andersson 1996). Avrupa'da yürütülen çeşitli araştırmalar, hem BMI hem de karın yağlanmasının bel çevresi ve bel-kalça oranı dahil ölüm riskinin önemli belirteçleri olduğunu bulmuştur (Arner and Spalding 2010).

Şekil 2.1, insanlarda obezitenin farklı aşamalarını göstermektedir. Her aşama için BMI aralıkları zayıf (18-25 kg/m^2), fazla kilolu (25-30 kg/m^2), obez (30-40 kg/m^2) ve aşırı obez veya ciddi obez (>40 kg/m^2) şeklindedir (Arner and Spalding 2010).



Şekil 2.1 Obezite aşamaları

Obezite dünya çapında bir salgın gibi yayılmakta ve Dünya Sağlık Örgütü bunu dünya çapında bir BMI veritabanı kullanarak izlemektedir. 1998'de Dünya Sağlık Örgütü, obeziteyi tedavi gerektiren, diğer hastalıkların başlangıcını terikleyen ve yüksek ölüm oranlarıyla ilişkili kronik bir hastalık olarak resmen tanımlamıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2008 ve 2012 rakamlarına göre dünya çapında erkeklerin %10'u ve kadınların %14'ü obez olarak sınıflandırılırken, bireylerin %35'i aşırı kilolu olarak sınıflandırılmıştır (WHO 2015).

Ayrıca, yalnızca İngiltere'de 2011 yılına kadar erkeklerin %65'inin ve kadınların %58'inin aşırı kilolu veya obez olduğu Batı ülkelerinde obezite prevalansı çarpıcı şekilde yüksektir (Statistics 2013). Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Sağlık İstatistikleri Merkezi, 2014 yılında yetişkinlerin %70'inin fazla kilolu olduğunu ve fazla kilolu olanların %50'sinin de obez olduğunu bildirmektedir (National Center for Health Statistics 2015).

Son otuz yılda, Orta Doğu ve Kuzey Afrika (MENA) ülkelerinde obezite prevalansı, obezite ile ilişkili komorbiditelerle birlikte önemli ölçüde artmıştır (Rahim *et al.* 2014). DSÖ Doğu Akdeniz Bölge Ofisi'ne göre, Orta Doğu ve Kuzey Afrika'da aşırı kilo ve obezite prevalansı 2011 ile 2014 yılları arasında erkeklerde %69'dan %77'ye, kadınlarda ise %74'ten %86'ya yükselmiştir.

Fazla kilo ve obezitenin, tip II diyabet, yüksek tansiyon, inme, uyku apnesi, osteoporoz, safra taşları ve kanser gibi kronik kontrol hastalıkları için başlıca risk faktörleri olduğu iyi bilinmektedir (Berthoud and Morrison 2008). Bu risk faktörleri genetik, yaş, etnik köken, fiziksel hareketsizlik, aşırı gıda veya enerji alımı, ilaçlar, gebelik durumu, uykusuzluk ve duygusal ve/veya zihinsel faktörleri içerir (WHO 2000, Harrington and Elliott 2009).

Kalori alımını artırabilecek strese ek olarak, obeziteye sebebiyet veren diğer değişkenler arasında, egzersizin ve sağlıklı beslenmenin faydalarının bilinmemesinin yanı sıra bu değişkenlerle ilgili yanlış bilgiler yer alır (Finucane *et al.* 2011, Swinburn *et al.* 2011). Obezitenin gelişimi ayrıca hipotiroidizm, polikistik over sendromu (PKOS) ve Cushing sendromu gibi diğer bozukluklarla da ilişkilendirilmiştir (Aronne 2002).

2.2 Bağırsak, Beyin ve Yağ Dokusunda Enerji ve Obezite Metabolizması Sinyalleri

Genetik, fizyolojik, psikolojik ve davranışsal faktörler arasındaki karmaşık etkileşim, insanların kilolarını nasıl düzenlediklerini kontrol eder. İnsan obezitesi genellikle yüksek oranda enerji alımı ile ilişkilendirildiğinden, obezite enerji alımı enerji tüketimini aştığında ortaya çıkar. Vücut ağırlığının ve kompozisyonunun stabilizasyonu, enerji alımı ile enerji harcamasının dengelenmesini ve beslenme dengesinin sağlanmasını gerektirir (Harrington and Elliot 2009).

Merkezi sinir sistemi, gastrointestinal sistem ve yağ dokusu, açlığı ve metabolizmayı etkileyen nöroendokrin ve bağışıklık sinyalleri arasındaki karmaşık bir etkileşim yoluyla

enerji girişi ve enerji çıkışı arasındaki dengeyi düzenlemek için birlikte çalışır (Cota *et al.* 2007). Bir araştırmaya göre, yetişkinlerin sinir ve periferik sistemleri, yetişkin enerji alımını ve tüketimini, giriş ve çıkış arasında bir denge sağlayarak, afferent ve efferent yollardan oluşan karmaşık bir fizyolojik sistem yoluyla düzenler (Rankinen *et al.* 2006). Bu olurken, mevcut metabolik durumu tanımlamak ve izlemek için gastrointestinal sistem, karaciğer, yağ dokusu, pankreas ve diğer periferik organlarda gelen sinyaller üretilir. Gıda alımını düzenleyen periferik sinyaller, genel olarak kısa vadeli ve uzun vadeli olarak ayrılabilir ve çoğunlukla bazıları yağ dokusu tarafından salgılanan dolaşımdaki hormon seviyeleri tarafından düzenlenir (Boguszewski and Van Der Lely 2015).

Bu sinyaller arasında ilk gündeme getirilen insülin olmuştur çünkü araştırmalar, besin alımını azaltmak için merkezi sinir sistemindeki hareket ve vücut yağ kütlesi ile orantılı olarak arttığını göstermiştir (Strat *et al.* 2005). Buna karşılık, leptin ve reseptörünün uzun formu (ob-Rb), merkezi sinir sisteminin belirli bölgelerinde yüksek oranda eksprese edilir. Ek olarak, nesfatin ve visfatin gibi topluca adipositler olarak adlandırılan diğer önemli moleküllerin yanı sıra IL-6 ve TNF-sitokinlerin, en azından kısmen beyindeki eylemleri nedeniyle enerji homeostazında rol oynadığı gösterilmiştir (Porte *et al.* 2005).

Bununla birlikte, genellikle gıdaya yanıt olarak GI kanaldan salınan nöronal ve endokrin aracılar, gıda alımının kısa vadeli düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Bu aracılar, açlığın yanı sıra kolesistokinin (CCK), glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1), gastrik inhibitör peptid (GIP) ve peptid YY (PYY) gibi tokluğu sonlandıran hormonların salgılanmasındaki artış gibi faktörleri düzenler (Camilleri 2006, Chaudhri *et al.* 2008).

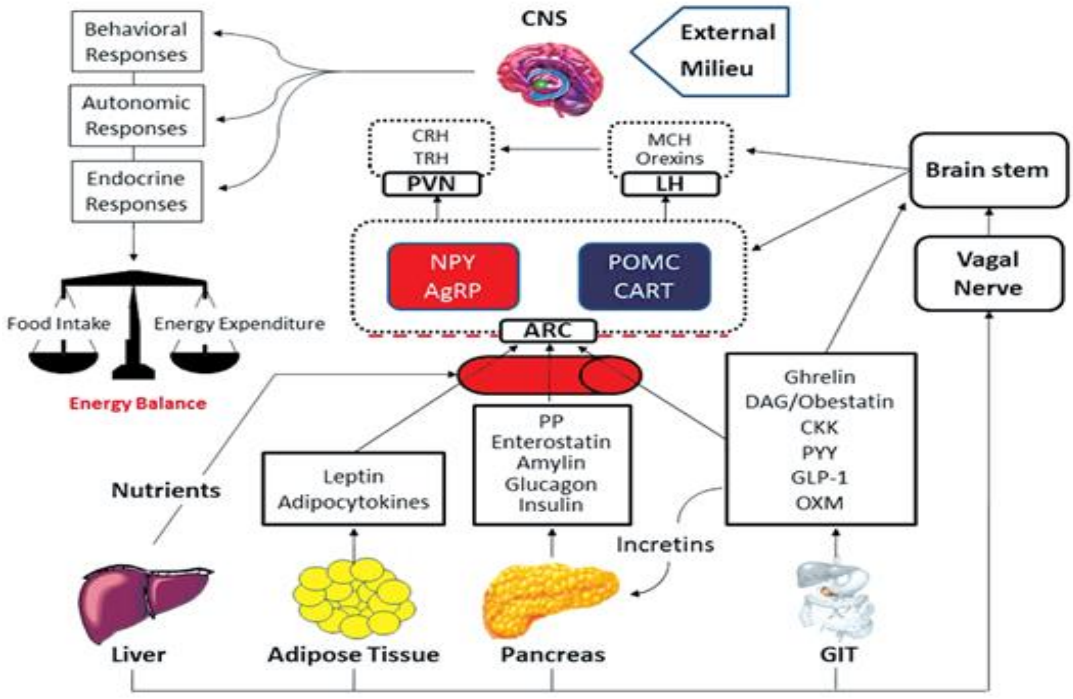
Beyindeki merkezi devre, tokluk ve uzun vadeli enerji durumu sinyallerini entegre ederek beslenme durumundaki değişikliklere verilen tepkileri düzenler. Tokluk hormonları sindirime yardımcı olur ve ayrıca besin alındığında tokluk hissine katkıda bulunur (Druce and Bloom 2006). Tüketilen enerji miktarını etkileyen ana faktör, merkezi ve çevresel düzenlemeyi içeren iştah düzenlemesidir. Merkezi sinir sistemi, ekstremitelerden uzun veya kısa vadeli hormonal ve metabolik düzenleyici sinyaller alır, bunlar yorumlanır ve enerji dengesini koordine etmek için beyin merkezlerine ve periferik organlara

yönlendirilir. Bu entegre düzenlemenin çoğu kavisli ve ventriküler kavisli çekirdeklerde meydana gelir (Sipols *et al.* 2002).

Kokain ve amfetamin ile regüle edilen transkript (CART) yoluyla proopiyomelankortin (POMC) kortikosteroid, kavisli çekirdekte (ARC) bulunan, Nöropeptid Y (NPY) yoluyla iştahı uyaran birbirine bağlı iki (sınıf I) nöron içeren pro-agouti peptidi (AgRP) aracılığıyla iştahı inhibe eder. Ek olarak, bu nöronların aksonları, hipotalamusta lateral hipotalamik (LHA) ve periventriküler (PFA) bölgelerde üretilen ve iştah açıcı bir etkiye sahip oreksin ve melanin konsatre edici hormon (MCH) salgılayan paraventriküler çekirdekte (PVN) bulunan 2. sıra nöronlara çıkıntı yapar. Bu nöronların salgıladığı oksitosin açlığı bastırır. İştah kesici peptitlerin salınması, obezite sinyalleri ARC'ye ulaştığında meydana gelir ve bu da katabolik eğilimin aktivasyonuna yol açar. Sonuç olarak, iştah açıcı peptitlerin salınması, anabolik yolların aktivasyonundan kaynaklanır (Valassi *et al.* 2008).

2015 yılında (Boguszewski and Van Der Lely 2015), iç ve dış ortamdan gelen bilgileri karaciğer, yağ dokusu, pankreas ve gastrointestinal sistemden gelen bir dizi çevresel sinyalle (besinler ve hormonlar) bütünleştiren merkezi sinir sisteminin, gıda alımı ile enerji harcaması arasındaki dengeyi düzenlediğini göstermiştir. Hipotalamustaki YAY merkezindeki NPY/AgRP (orijinal nöronlar) ve POMC/CART olmak üzere iki farklı nöron grubu (öldürücü nöronlar) bu sinyalleri algılar. Nöral devreler, ARC çekirdeklerinden LH ve PVN dahil olmak üzere diğer hipotalamik çekirdeklere geçerek yeni anabolik veya katabolik yolların gelişimini destekler veya engeller.

Vagus venülleri ve beyin sapı hücreleri üzerindeki spesifik reseptörlere bağlanarak periferik sinyaller merkezi sinir sistemine (CNS) de girebilir. Şekil 2.2, enerji homeostazını korumak için beynin bu verileri yorumlamasıyla davranışsal, otonomik ve endokrin tepkilerin nasıl üretildiğini göstermektedir (Boguszewski and Van Der Lely 2015).



Şekil 2.2 Enerji dengesinin kontrolünde yer alan mekanizmalar

Hipotalamustaki melanokortin sistemi, enerji dengesini düzenleyen merkezi sinir sisteminin önemli bir katılımcısıdır. Nöropeptid/nöropeptid Y (AGRP/NPY) ve opiomelanokortin/kokainle ilişkili amfetaminleri (POMC/CART) eksprese eden striatal nöronları içerir (Cone 2005). Bu nöronlar çevreden ve periferik dokulardan gelen girdileri birleştirir, periferik dokulardaki enerji harcamasını düzenler ve beyin sapı ile daha yüksek bilişsel merkezler üzerindeki projeksiyonlar yoluyla yeme davranışını kontrol eder (Lubrano-Berthelier *et al.* 2006).

2.3 Obezitenin Genlerle Olası İlilşkisi

Obezite, monogenik poligenik fenotiplere sahip çok faktörlü bir durumdur, yani bir kişi genetik yatkınlığa sahip olsa bile, kötü beslenme alışkanlıkları ve yetersiz egzersize uygun çevresel koşullar yoksa obezite geliştirmeyebilir (Bougnères 2002). Vücut ağırlığını kontrol etmeye aday genler, vücut ağırlığını kontrol etmedeki rollerine göre gruplara ayrılır. Bu gruplar, öncelikle hipotalamus ve periferik bölgelerdeki reseptörler

üzerinde hareket ederek açlığı ve metabolik hızı kontrol eden hormonlar ve nöropeptitlerden etkilenir (Antonopoulos and Tousoulis 2017).

Obezitenin genetik kökeni, bir popülasyondaki BMI varyansının %60-90'ının genetik faktörlere bağlı olabileceğini gösteren eşleştirilmiş çalışmalarla başlamıştır. Ayrıca, ayrı yetiştirilen ikizler için kalıtım tahminlerinin, birlikte yetiştirilen ikizler için yapılan tahminlerle neredeyse aynı olduğu da kaydedilmiştir. İnsanlarda obezitenin genetik nedenleri çeşitlidir ve çeşitli obezite türlerine yol açabilir (Cheung and Mao 2012, Hebebrand *et al.* 2000).

İnsanlar benzer genetik materyali paylaşsa da, her insanın genomu bir şekilde benzersizdir. Aynı genom uzunluğundaki herhangi iki kopyayı karşılaştırırken, yaklaşık olarak her 1,200 bazın biri farklı olacaktır (genellikle tek bir nükleotid polimorfizmi veya SNP) ve iki kromozom karşılaştırılarak tanımlanan bu polimorfizmlerin çoğu, dünya çapında yaygındır. Bu polimorfizmlerden bazıları olan sNP'lerin %90'ı (Mullikin *et al.* 2000), ya protein yapısını etkileyerek ya da proteinin oluştuğu yeri, miktarı ya da zamanı değiştirerek bir genin biyolojik işlevini değiştirecektir. Bu yaygın varyantlar muhtemelen işlevsel sonuçlara sahip değildir ve esasen genetik lehçe veya gerçek bir önemi olmayan yazımdaki rastgele varyasyonlara eşittir (Bougnères 2002).

Bu fonksiyonel değişikliklerden bazıları, kişinin obezite gibi diğer hastalıklara karşı duyarlılığı üzerinde bir etkiye sahip olacaktır. Enerji dengesi ve gıda alımı için kritik olan ve bozulması ciddi obeziteye yol açan leptin-melanokortin yolunun, monogenetik obezitenin temel nedeni olduğuna inanılmaktadır. Leptin geninin birincil işlevi, hipotalamusa bir tokluk sinyali göndererek vücut kütlesini modüle etmektir, bu da gıda alımının durmasına veya azalmasına neden olur. Böylece, leptin gen mutasyonları tip II diyabet, şiddetli obezite, hipogonadizm ile ilişkili morbid obezite ve konjenital leptin eksikliği veya kısmi leptin eksikliği gibi obezite ile ilişkili monogenik bozukluklara neden olan leptin geninin normal ekspresyonunun azalmasına yol açar (Diacono 2011, Shawky and Sadik 2012). Obezite ile ilişkili MC4R mutasyonlarının %90'ından fazlasının yanlış anlamlı mutasyonlar olduğu bildirilmiştir (Tao 2005).

Bir ekson, 18q21.3 kromozomunda bulunan ve enerji homeostazının kontrolü için gerekli olan 332 amino asidin yedi-transmembran G protein-bağlı reseptörünü kodlayan MC4R genini oluşturur (Gantz *et al.* 1993). MC4R geninde ciddi obeziteye neden olan işlevsel olmayan bir reseptöre yol açan bir mutasyon, 1998'de iki ayrı grup tarafından keşfedildi (Yeo *et al.* 1998). 7q31.2 kromozomunda bulunan LEP geni, beyaz adipositler tarafından salgılanan bir proteini kodlar ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde kilit rol oynar. Bu protein ayrıca, obez bireylerde gıda alımını engelleyebilen ve/veya kiloyu korumak için enerji harcamasını düzenleyebilen bir sinyal yolunun parçası olarak da işlev görür; MC4R gen inaktivitesi, obezite fenotipinin en yaygın (%1 ila 6) nedenidir (Dubern and Clement 2012).

Rau *et al.* (1999), leptin eksikliğinin kalıtsal olduğunu ve ciddi erken obeziteye neden olduğunu tespit etmiştir. Bu eksikliğe, salgılanmayan kısa bir protein üreten frameshift del G133 mutasyonu veya leptin geninin uzunluğu olan Arg105Trp yanlış anlamlı mutasyonu neden olabilir. 1997'de aynı aileden iki çocuğun tespit edilemeyen leptin seviyelerine sahip olduğu bulundu (Strobel *et al.* 1998). Bununla birlikte, PYY ve/veya Y2R'deki genetik varyasyonun insanlarda morbid obeziteye katkıda bulunup bulunmadığını belirlemek için, bu genler aşırı obez Kızılderililerde (BMI>50 kg/m^2) yeniden düzenlendi. Bu arada, PYY dizilimi, çevrilmemiş bölgede üç tek nükleotit polimorfizmi (SNP) tanımladı. Ayrıca PYY/Y2R yolağının vücut ağırlığı ve besin alımının merkezi regülasyonunda rol oynadığı öne sürülmüştür (Batterham *et al.* 2003) Kızılderili popülasyonları için vücut ağırlığı ile ilişkili genlerdeki genetik varyasyonları bulmaya yönelik genetik araştırmanın bir parçası olarak, potansiyel obezite genleri PYY ve Y2R incelendiğinde plazma PYY konsantrasyonlarının obez bireylerde zayıf bireylere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Batterham *et al.* 2003).

GIP ve GIP reseptörleri (GIPR), deneysel hayvan çalışmalarında obezite ile ilişkilendirilmiştir. İnsanlarda, genom çapında ilişkilendirme çalışmaları, GIPR geninde BMI ile yakından ilişkili bir polimorfizm bulmuştur (Nakayama *et al.* 2014). Ek olarak, GIP-GIPR eksen gen varyantları, VFA ve WC ile daha güçlü ilişkiler gösterir ve visseral yağ dokusu genişlemesi, obezite özelliklerini etkiler (Ceperuelo-Mallafré *et al.* 2014).

2.4 Leptin Geninin Keşfi

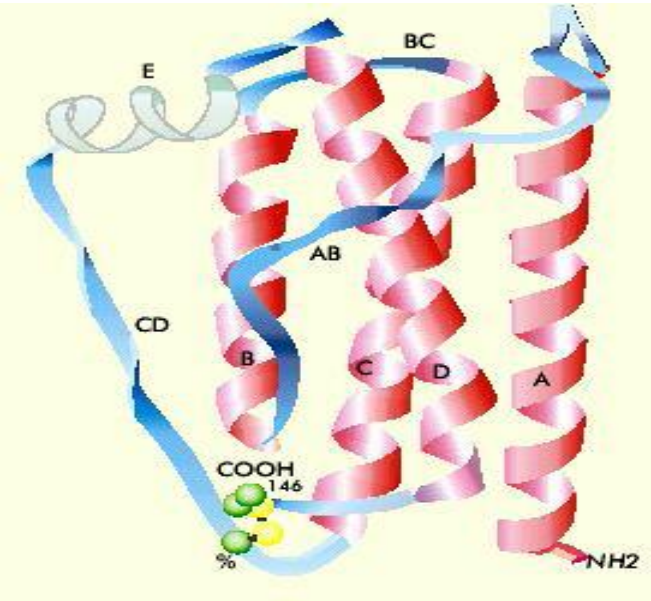
1949 yazında, Amerika'daki Jackson Laboratuvarı'ndaki bir üreme sürüsünde obez fareler bulundu. Bu obezite, gıda alımındaki aşırı artışla ilişkiliydi ve bu farelerin ağırlığı, normal hayvanların vücut ağırlığının yaklaşık dört katıydı (Ingalls *et al.* 1950). Üreme verileri, bu özelliğin veya olgunun gerileyen bir aleldeki bir mutasyonun sonucu olduğunu ve bundan sorumlu olan genin obezite (Ob) geni olarak adlandırıldığını göstermiştir (Liefers *et al.* 2004). Yağ miktarı ve vücutta birikmesi üzerindeki merkezi sinir sistemi kontrolünde ve kanda dolaşan maddeler yoluyla gıda alımının kontrolünde özetlenen yağ stabilitesi teorisi, hipotalamusa, "geri besleme sistemi kabul edildi" şekilde bir sinyal verir (Kennedy 1953).

Leptin 1953 yılında, reseptörü 1966 yılında, geni ise 1994 yılında bilim adamı (Zhang *et al.* 1994) tarafından klonlama tekniği ile keşfedilmiştir (Liefers *et al.* 2004). Keşfi, vücuttaki enerji dengesi ile ilgili fizyolojik sinyallerin iletilmesinde yağ dokusunun önemi üzerine yapılan araştırmaların sonucuydu (Hill *et al.* 2008). Leptin kelimesi, zayıflık anlamına gelen Yunanca "leptos" ifadesinden türemiştir (Liefers *et al.* 2004).

Leptin, Ob adlı bir gen tarafından üretilen, moleküler ağırlığı 16,000 kDa olan bir peptit hormondur (Ingvartsen and Boisclair 2001), 21 amino asidin ardışık veya kademeli olarak bölünmesinden sonra 167 amino asitten oluşur (Liefers *et al.* 2004).

Leptin, reseptörleri ve glikoproteinler arasındaki yapısal benzerlik nedeniyle bir sitokin olarak sınıflandırılır (Agarwal *et al.* 2009).

Leptinin kristal formunun NMR analizinden, leptinin benzer bir hücresel aile yapısına veya dört sitokin sarmalına ve leptin stabilitesine sahip bir tetraploid protein olduğu anlaşılmaktadır. Leptin, Şekil 2.3'de gösterildiği gibi, sarmal A ve D'nin birleşme noktasında reseptörlerine bağlanır (Hiroike *et al.* 2000).



Şekil 2.3 Leptin sentezi (Karthikeyan and Meyer 2006)

Leptin, insanlarda leptin üretiminin ana kaynağı olan ve öncelikle hipodermik yağ dokusunda bulunan özellikle beyaz adipoz doku tarafından üretilir ve salgılanır. Bu hormon, ruminantlarda gıda girişinin düzenlenmesinde, enerji metabolizmasında ve vücuttaki dengede önemli bir etkiye sahiptir, reseptörleri hipotalamusta yoğunlaşır ve yağ dokusu miktarındaki artış leptin konsantrasyonunda artışa neden olur. Kanda "karşı etkili" bir rol oynadığı için gıda tüketiminde azalmaya yol açar. Hipofiz bezinden salgılanan tokluk hormonu Nöropeptid Y (NPY), bu hormona ek olarak kan basıncını yükseltir, kalp atış hızını arttırır ve yağ dokusundan yani vücut yağından atıldığı için obez insanlar bu tür komplikasyonlara maruz kalır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, kan şekeri seviyesini düşürmede “önemli” bir rolü olduğu bulunmuştur (Karthikeyan and Meyer 2006).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Yöntem

Çalışma üç farklı 3 aşamada gerçekleştirilmiştir.

3.1.1 Çalışma tasarımı, hazırlık ve veri toplama süresi

Irak'ın Babil Valiliği'ndeki bir eğitim hastanesinde Nisan 2022'den Ağustos 2022'ye kadar bir vaka kontrol çalışması yapıldı.

3.1.2 Çalışma

89 örneklemin dahil edildiği bu çalışmada, Marjan Eğitim Hastanesi Beslenme Kliniği'nden 13 erkek ve 39 kadın olmak üzere 52 obez hasta obezite grubunu temsil edecek şekilde seçilmiştir. Kontrol grubu çalışmasına 19 erkek ve 18 kadın olmak üzere 37 sağlıklı birey dahil edilmiştir.

3.1.3 Dışlama kriterleri

Çalışma grubumuzdan diyabet, yüksek tansiyon, karaciğer hastalığı, tiroid, testosteron, lüteinize edici hormon bozuklukları, kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği, kötü huylu tümörleri olan hastalarla sigara, alkol tüketimi olan hastalar çıkarılarak geriye sadece obezitesi olan hastalar kaldı.

3.2 Veri Toplama

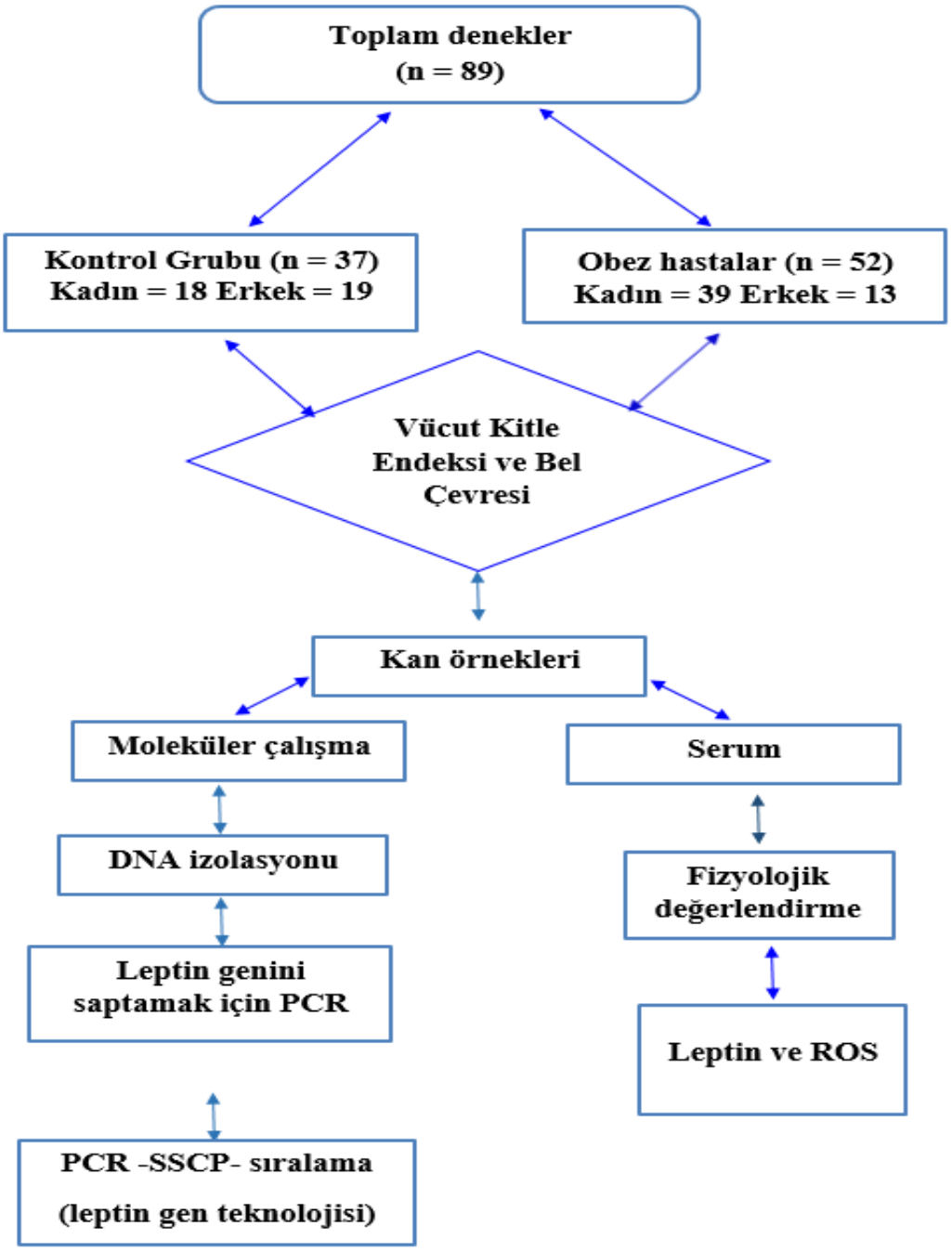
Yaş, cinsiyet, ailede obezite öyküsü ve önceki tıbbi öykünün tümü hasta grubu ve kontrol grubu verilerine aktarıldı.

3.2.1 Bel çevresi ve vücut kitle endeksi (BMI)

Dünya Sağlık Örgütü, obeziteyi tespit etmek için vücut kitle indeksinin (BMI) ölçülmesini önermektedir. Bu öneri, ayakkabısız olarak metre cinsinden boylara ve çok az giysiyle veya hiç giysi olmadan kilogram cinsinden ağırlıklara dayanır. Vücut kitle indeksi (BMI), BMI=ağırlık/boy^2 (kg/m^2) formülü kullanılarak hesaplandı ve insanları dört kategoriye ayırmak için kullanıldı: Normal (BMI 18,5-24,9 kg/m^2), fazla kilolu (BMI 25–29,9 kg/m^2), obez (BMI 30–39,9 kg/m^2) ve aşırı obez (BMI>40 kg/m^2). Ayrıca deneğin beli, göbek deliğinin yukarısındaki gövdenin en dar yerinden denekler ayakta dururken ölçüldü ve sonuçlar genellikle erkekler için 102 cm ve kadınlar için 88 cm olarak kaydedildi.

3.3 Çalışma Tasarımı

Çalışma Tasarımı Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1 Çalışma tasarımı

3.4 Kan Örnekleri

Her deney katılımcısı için toplam 8 mL venöz kan alındı. Kan iki kısma ayrıldı: birinci kısım (3 mL) genetik analiz için EDTA içeren tüplere alındı ve ikinci kısım 3,000 rpm'de

15 dakika santrifüjlendi. Elde edilen serum daha sonra Eppendorf tüplerine yerleştirildi ve kullanılana kadar -20°C'de donduruldu.

3.4.1 Fizyolojik testler yapmak için prosedürler

Leptin (LEP) hormon testi

Ela Science-Çin tarafından sağlanan özel bir kit (ELISA) kullanılarak, insan leptin hormonu (LIP) aşağıdaki gibi test edildi:

- Talimatlara uygun olarak, numuneler reaktif ve standartlar kullanılarak hazırlandı.
- 100 µL referans serum, kontrol veya ilgili numune kuyucuklarına pipetle aktarıldı.
- Her uygun kuyucuğun dibine 100 µL leptin ile birlikte 100 µL aktif leptin enzim reaktifi yerleştirildi ve mühürlendi.
- 90 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
- Kuyucuklar boşaltıldı ve plaka tüy bırakmayan bir yüzeye sıkıca bastırıldı. Kuyucukların içeriğinin aspirasyonundan ve her kuyuya 400 µL yıkama solüsyonu eklenerek yıkandıktan sonra, toplam beş yıkama için işlem dört kez daha tekrarlandı.
- Boşluk hariç her kuyucuğa 100 µL seyreltilmiş antikor ilave edildi.
- Plaka 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Plaka 5. adımda tarif edildiği gibi yıkandı.
- Her kuyucuğa 100 µL substrat çözeltisi döküldü.
- Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
- Kuyucuk başına 50 µL stop çözeltisi eklendi.
- Plaka okuyucuyu boş substratla karşılaştırmak amacıyla lekeledikten sonra optik yoğunluğu 450 nm'de okumak için bir mikroplaka okuyucu kullanıldı.

Reaktif oksijen türleri (ROS) tahlili

Ela science-Çin tarafından sağlanan özel bir kit (ELISA) kullanılarak reaktif oksijen türleri (ROS) aşağıdaki şekilde ölçüldü:

- Belirtildiği gibi, numuneler reaktif ve standartlar kullanılarak hazırlandı.
- Pipetlenmiş 100 µL referans serum, belirlenmiş kontrol veya ilgili numune kuyucuklarına alındı.
- İlgili kuyuların dibine 100 µL aktif ROS enzim reaktifi uygulandı.
- 90 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
- Kuyucuklar boşaltıldı, her kuyuya 400 µL yıkama solüsyonu eklendi ve işlem toplam beş yıkama için dört kez daha tekrarlandı. Son yıkamadan sonra, yıkama tamponu kalıntılarını gidermek için kuyular boşaltıldı ve tüy bırakmayan bir kağıt havluyla plakaya sıkıca bastırıldı.
- Boşluk hariç her kuyucuğa 100 µL seyreltilmiş antikor ilave edildi.
- Plaka 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Plaka 5. adımda tarif edildiği gibi yıkandı.
- Her kuyucuğa 100 µL substrat çözeltisi döküldü.
- Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
- Kuyucuk başına 50 µL stop çözeltisi eklendi.
- Plaka okuyucuyu boş substratla karşılaştırmak amacıyla lekeledikten sonra optik yoğunluğu 450 nm'de okumak için bir mikroplaka okuyucu kullanıldı.

3.5 Moleküler Analiz

Moleküler analiz için farklı yöntemler kullanılmıştır.

3.5.1 DNA ektrasyonu

DNA ekstraksiyon kiti kullanılarak, obez ve kontrol gruplarındaki bireylerin beyaz kan hücrelerinden (WBC) genomik DNA aşağıdaki şekilde ekstrakte edildi:

Birinci Adım: Eritrosit lizisi

- Temiz bir 1,5mL santrifüj tüpü 200 µL kanla dolduruldu. Numune hacmi 200 µL'den az ise, tam hacme ulaşmak için PBS hacmi eklendi.

- 1,5 mL'lik bir mikrosantrifüj tüpüne 30 µL proteinaz K (10 mg/mL) ilave edildi ve hızla karıştırıldı. Bundan sonra, karışım 15 dakika boyunca 60°C'de inkübe edildi.
- 1,5 mL mikrosantrifüj tüpü, 200 µL GB tampon ile dolduruldu ve karıştırmak için kuvvetlice çalkalandı.
- Karışım, 15 dakika boyunca 70°C'de bir su banyosunda inkübe edildi ve tüp her 3 dakikada bir ters çevrildi.
- Gerekli miktarda elüsyon çözeltisinin 200 µL numune kadarı 60°C'ye ısıtıldı.

İkinci Adım: Hücre lizisi

- Numune solüsyonu 200 µL %100 etanol ile 10 saniye hızlı bir şekilde çalkalanarak karıştırıldı. Oluşan çökeltiler pipetlerle parçalandı.
- 2 mL'lik bir toplama tüpüne bir GD sütunu yerleştirildi.
- Tüm karışım, çökeltileriyle beraber GD kolonuna aktarıldı.
- Numuneler 14,000 x g'de 5 dakika santrifüjlendi.
- GD kolonu, önceki tüpten eflüks atıldıktan sonra 2 mL'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.

Üçüncü Adım: DNA bağlanması

- Numune çözeltisi 10 saniye boyunca hızla çalkalanarak 200 µL %100 etanol ile birleştirildi. Oluşan çökeltiler pipetlerle parçalandı.
- 2 mL'lik bir toplama tüpüne bir GD sütunu yerleştirildi.
- Tüm karışım, çökeltileriyle beraber GD kolonuna aktarıldı.
- Numuneler 14,000 x g'de 5 dakika santrifüjlendi.
- GD kolonu, önceki tüpten eflüks atıldıktan sonra 2 mL'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.

Dördüncü Adım: Yıkama

- GD kolonuna 400 µL W1 tamponu eklendi.

- 30 saniye boyunca 14,000 x g'de santrifüjlendi.
- Atık su atıldıktan sonra GD kolonu 2 mL toplama tüpüne geri yerleştirildi.
- GD kolonuna, ilave etanol ile 600 µL yıkama çözeltisi eklendi.
- Numuneler 14,000 x g'de 30 saniye santrifüjlendi.
- GD kolonu, yıkama ve atma işlemi tamamlandıktan sonra 2 mL'lik toplama tüpüne geri yerleştirildi.
- Kolon matrisi, kurutmak için tekrar 14,000 x g'de üç dakika santrifüjlendi.

Beşinci Adım: DNA evaporasyonu

Küçük bir numune hacmi kullanıldığından, DNA konsantrasyonunu artırmak için elüsyon hacmi azaltıldı (30-50 µL). Daha fazla DNA verimi almak için, DNA geri kazanımını en üst düzeye çıkarmak amacıyla DNA elüsyon fazı tekrarlandı ve toplam elüsyon hacmi yaklaşık 200 µL'ye çıkarıldı.

- Kurutulmuş GD kolonu temiz bir 1,5 mL mikro santrifüj tüpüne yerleştirildikten sonra kolon matrisine 100 µL önceden ısıtılmış durulama solüsyonu veya TE (Tris-EDTA) ilave edildi. Daha sonra kolonun en az 3-5 dakika olmak üzere elüsyon çözeltisi veya TE matris tarafından emilene kadar bekletilmesine izin verildi.
- Saf DNA'yı çıkarmak için 14,000 x g'de 30 saniye santrifüjlendi.

3.5.2 Çıkarılan DNA konsantrasyonunun ölçülmesi (saflık)

DNA miktarı ve kalitesi bir (nano damlacık) spektrofotometre kullanılarak aşağıdaki gibi ölçüldü:

- Objektife dokunmamaya dikkat ederek boş bir aparatı 1 µL TE solüsyonu ile doldurudu.
- Merceğe 1 µL DNA eklendi, bu daha sonra 260-280nm'deki absorbansı ölçmek ve DNA içeriğini ng / mL olarak kaydetmek için kullanıldı.

3.5.3 Agaroz jel elektroforezi

Ekipmanı kurarken, dökme kapıları jel tabağının uçlarına tutturuldu ve döküm tepsisine sıkıca sabitlendi. Bu, kapının "pençelerinin" tepsinin yan duvarının oluklarına sokulmasıyla sağlandı. Numune kuyularını katota yakın bir yere yerleştirmek için jel tabağının yuvalarına (jel döküm tepsisinin tabanının 1,0 mm yukarısına) bir tarak yerleştirildi (Robinson and Lafleche 2000)

Jelin hazırlanmasında %1'lik bir agaroz konsantrasyonu kullanıldı. Karışımı jel döküm tepsisine dökmeden önce hava kabarcıkları atıldı. Agarozun oda sıcaklığında katılaşması için en az 30 dakika beklendi. Dokunaçlar, agaroz yerleştirildikten sonra jel tepsisinden serbest bırakıldı. Tarak, jel haznesine jel eklenerek, sonunda katotu içeren kuyuların bulunduğundan emin olarak nazikçe çıkarıldı. Tampon tankı, jelin üstünden yaklaşık 5 mm yükseğe çıkana kadar 0,5 X TBE ile doldurulduğu.

3.6 Polimeraz Zincir Reaksiyonu

3.6.1 Primer dizaynı

Primer dizaynı için tasarımda kullanılan bilgisayar programı ve primerler Çizege 3.1 ve Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Tasarımda kullanılan bilgisayar programı

Primerin adı	Primer Dizaynı	Talep	Tanımlanma numarası
Leptin	Primer Blast	primer dizaynı	D63519.2

Çizelge 3.2 Bioneer-Kore'den alınan ileri ve geri primerler

Adı	Dizilim	Amplikon uzunluğu	Boyut	Tavlama sıcaklığı
leptin	F: 5′CCAACGACCTGGAGAACCTC-3′	Ekzon 3	123	66,2°C
	R: 5′CTGAAGCTTCCAGGACACCC-3′			

3.6.2 Örneklerin yeniden şekillendirilmesi ve seyreltilmesi

Liyofilize primerler ileri ve geri olarak iyice birleştirildi, kısa bir süre vortekslendi ve steril deiyonize suda sulandırıldıktan sonra -20°C'de saklandı.

- Tüp etiketinde belirtilen nmol hacminin on katı, sentezlenen ve 20°C'de depolanan 100 M oluşturmak üzere liyofilize primerlere eklendi.
- Primer seyreltme: 100 µL ileri ve geri primer stoğundan 10 µL çıkarıldı ve 90 µL deiyonize su ilave edildi. PCR tahlilleri yapılmadan önce, her bir ileri ve geri primerin (10 µM) birkaç alikotu hazırlandı. Her bir alikotun hacmi 10 µL idi ve hepsi -20°C'de tutuldu.
- PCR ön karışımına (Bioneer) eklenecek primer miktarını belirlemek için, ileri ve geri primerin her 10 M'ünden 1 µL alındı ve -20°C'de saklandı.
- Primerler sulandırıldıktan ve/veya seyreltildikten sonra tek kullanımlık alikotlar dağıtıldı. Tek kullanımlık alikotlar yapmak, primerin donmasını ve çözülmesini önleyerek raf ömrünü uzatır. Her iki primer de -20°C'de tutuldu.

3.6.3 PCR deneylerin yapılması

Çalışmamız, Iraklı bir popülasyonda obezite riskiyle ilişkili olarak leptin geninin potansiyel bir fonksiyonel polimorfizminin ön araştırmasıdır. Bu başlangıç malzemesinin şablona ideal tavlama sıcaklığını belirlemek için gradyan PCR yapıldı.

İdeal tavlama sıcaklığı belirlendikten sonra (Çizelge 3.3) standart bir termosiklör (Eppendorf Nexus Gradient, Germany) kullanılarak PCR amplifikasyonu aşağıdaki gibi gerçekleştirildi:

- PCR ana karışım tüplerine 50 ng şablon DNA eklendi.
- PCR master karıştırma tüplerine yaklaşık 10 pikomol ileri ve geri primer konuldu.
- PCR Premiks tüplerine toplam 20 µL damıtılmış su ilave edildi.

Çizelge 3.3 PCR tüplerine yerleştirilirken kullanılan hacimler ve konsantrasyonlar

Bileşen	Miktar	Konsantrasyon
PCR ana karışımı	5 µL	1X
İleri primer	1,0 µL	10 pm/µL
Ters primer	1,0 µL	10 pm/µL
DNA şablonu	3,0 µL	50 ng
Son miktar	20 µL	

Reaksiyonlar, önceden 95°C'ye ısıtılmış ve gerekli döngüsel koşullar için önceden ayarlanmış bir Eppendorf-Nexus termosiklörde gerçekleştirildi.

Dondurularak kurutulmuş mavi granüller, vorteksleme ve kısa bir süre aşağı eğirme ile çözüldü (Çizelge 3.4). Bu önerileri test etmek için bir Eppendorf termosiklör kullanıldı.

Çizelge 3.4 PCR amplifikasyonu için önerilen termal döngü koşulları

Adım	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü sayısı
Başlangıç denaturasyonu	94	2 dakika	× 1 döngü
Denaturasyon	94	0,5 dakika	x 30 döngü
Sertleşme	50-69	1 dakika	
Uzantı	72	0,5 dakika	
Son uzantı	72	5 dakika	× 1 döngü
Tutma	4	Belirsiz	× 1 döngü

Etidyum bromür, PCR ürünlerini 1 saat boyunca 75 V'de % 1 agaroz üzerinde elektrolize edildikten sonra görselleştirmek için kullanıldı. Jel kimlik doğrulama sistemi kullanılarak görüntüler çekildi.

3.6.4 Agaroz% 1 (PCR)

Konsantrasyonun % 1 olarak değiştirilmesi dışında, % 1'lik bir agaroz jeli (genomik DNA için) hazırlamak için aynı adımlar atıldı. Ayrıca, PCR ön karışımı zaten yüklemeye hazır bir numune tamponuna sahip olduğundan, numune yükleme tamponuna gerek kalmadı.

3.6.5 Çözeltilerin Hazırlanması

Çalışmamızda 3 farklı çözelti hazırlanarak kullanılmıştır.

A: Etidyum bromür boyama çözeltisi

100 mL 0,5X TBE tamponu 3 µL 1,25 mg/mL etidyum bromür ile karıştırıldı ve ardından çözelti oda sıcaklığında koyu renkli bir şişede tutuldu (Robinson and Lafleche 2000).

B: Agaroz jel elektroforezi yükleme tamponu

Tamponu yapmak için %0,25 bromofenol mavisi ve %40,0 sakaroz kullanıldı ve daha sonra 4°C'de tutuldu (Sambrook and Russell 2006).

C: TBE stok çözeltisi/L (10x)

500 mL (1X) ve 50 mL TBE stok solüsyonu (10x) ile nihai hacim 500 mL dha üretildi.

3.6.6 Jel elektroforez protokolü

- Jel döküm tepsisini plastik tepsiye yerleştirdikten sonra tarak dişleri jelin tabanından yaklaşık 0,5 mm daha yükseğe yerleştirildi.
- 50 mL TAE çözeltisi (10x) 500 mL deiyonize su ile karıştırılarak 500 mL TAE (1X) yapıldı.
- 500 mL'lik bir behere 1 g agaroz ve 100 mL tampon eklendi. Agarozu çözmek için karışım sıcak bir plaka üzerinde 10 dakika ısıtıldı. Ardından, agaroz parçacıkları kalmadığından emin olmak için çözelti iyice döndürüldü.
- Agaroz çözeltisi yaklaşık 60°C'lik bir sıcaklığa getirildi, birkaç damla etidyum bromür stok çözeltisi karıştırıldı ve ardından agaroz yavaşça jel döküm tepsisine döküldü ve hava kabarcıkları giderildi.

- Tarak jelin kenarından 1,5 cm uzağa yerleştirildi. Agarozun 20 ila 30 dakika sertleşmeye bırakıldı. Agaroz sertleştikten sonra, jeli yırtmamaya dikkat ederek tarağı çıkarmak için hafifçe ileri geri hareket ettirildi.
- Jel kalıplama tepsisi çıkarıldı ve jel kutusunun merkezi destek platformuna yerleştirildi.
- Tampon haznesi, jel yüzeyinin 0,5 ila 1 cm üzerine çıkana kadar elektroforez çözeltisi ile dolduruldu.
- Örnekleri kuyucuklara koymak için bir uç kullanıldı. Kuyunun hemen üzerinde, uç elektroforez yalıtkanının üst tabakasının altına gömüldü. Numune kuyunun dibine ulaşana kadar yavaş yavaş aktarıldı. Numuneler numune kuyularına sırayla yerleştirildi. Kuyu sayısından daha az olan numuneler eklenirken jelin uçlarına en yakın kuyucuklar boş bırakıldı.
- İlk olarak, bir kuyucuğa 5 µL DNA numunesi ve jelin her iki tarafındaki (numune hattının yanında) basamağın moleküler ağırlık işaretçisinden 5 µL eklendi.
- Elektrotlar bağlandı ve kapak jel tepsisine yerleştirildi. DNA, kuyudan uzakta bulunan pozitif elektroda (kırmızı) doğru gidecektir. Güç kaynağını etkinleştirildi.
- Boya, jelin uzunluğunun en az 10 cm'sini kaplayana kadar elektroforeze devam edildi.

3.6.7 Fotoğraf belgeleri

Agaroz jeli görselleştirmek için jel dokümantasyon ünitesine yerleştirilmiş bir UV transillüminatörü kullanıldı. Jel ampulün üzerine yerleştirildi, UV ışığına maruz bırakıldı ve ardından bir Canon dijital kamera ile fotoğraflandı.

3.7 Tek İplikçik Konformasyon Polimorfizmi (SSCP)

Minijellerde SSCP ürünlerinin çalıştırılmasının hem zaman hem de maliyet açısından faydalı olduğu bildirilmiştir (Zhang *et al.* 2008). PCR ürünlerimiz minijeller üzerinde çözülmeye çalışılmış ve bu bantları çözmek için optimum SSCP jel konsantrasyonu %8 olarak bulunmuştur (Soto and Sukumar 1992). Bu yöntem, büyük ölçüde, doğrudan ve

hızlı bir gümüş boyama tekniği kullanarak polimorfizm (Orita *et al.* 1989) için migrasyon farklılıklarını optimize eden deneysel koşullara bağlıdır (Byun *et al.* 2009).

3.7.1 SSCP'nin adımları

SSCP jel döküm cihazının hazırlanması:

1) Üzerine jelin dökülmesi gereken iki cam plaka doğru şekilde konumlandırıldı: dış cam bölme düz olup iç bölme camı, yapıştırılmış ayırıcılarla yarıklıdır. Sızıntıyı önlemek için cam panellerin ve ara parçaların alt kısmı düz bir yüzeye tam olarak hizalandı. Ardından, iki cam paneli döşemek için çubuklar ve silikon contalar dahil olmak üzere birkaç gerekli sızıntı önleyici bileşen içeren bir levha jel dolgu maddesi kullanıldı.

2) 20,0 x 20,0 x 0,1 cm jel formülü için %7 gliserol ve %1 TBE içeren %8 poliakrilamid nötr jel elektroforezi (PAGE) hazırlamak için Çizelge 3.5'de gösterildiği gibi aşağıdaki sırayla listelenen formüller aşamalı olarak takip edildi.

Çizelge 3.5 SSCP jelinin bileşenleri

Adım	**Çözelti**	**Oran**	**Miktar**
1	%40 Akrilamid / Bisakrilamid (37,5)	8%	8 mL
2	TBE	10×	4 mL
3	Gliserol	100%	2,8 mL
4	TEMED (N,N,N′,N′-tetrametilenetilendiamid)	100%	40 µL
5	Amonyum persülfat	10%	400 µL
6	Distile su	100%	24,8 mL
Toplam miktar		**40 mL**	

Karıştırıldıktan sonra jeli cam plakalar arasına yüklemek için ticari olarak temin edilebilen 5 mL'lik bir tıbbi şırınga kullanıldı. Jel iki cam plakanın üst sınırlarına ulaştığında kabarcıkları önlemek için gerekli tarak dikkatlice yerleştirildi. Jel, yaklaşık 30 dakikada oluştu.

A) SSCP amplikonları için örnekler şu şekilde hazırlandı: Her 10 µL amplikon için bir mikrofüj tüpüne 10 µL 2x SSCP yükleme boyası eklendi. Bileşenler birleştirildikten sonra 7 dakika 95°C'lik bir su banyosuna yerleştirildi, ardından 5 dakika buz üzerinde tutuldu. Daha sonra %8 SSCP jeli, denatürasyon çözünürlüğü (toplam hacim: 25 mL) aşağıdaki gibi olan SSCP kimyasalları ile yüklendi.

- 23,75 mL formamit (%99).
- 1,25mL %1 ksilen siyanol solüsyonu.
- Bromofenol Mavisi 10 mg.

B) Elektroforez, Birleşik Krallık'tan Cleaver Scientific tarafından sağlanan dikey bir levha jel ünitesinde (Mini VS10DSYS), buzdolabında saklanan önceden soğutulmuş bir elektroforez solüsyonu (1xTBE) kullanılarak oda sıcaklığında gerçekleştirildi. 200 V, 35 mA ve 6 W, yaklaşık 180 dakika boyunca veya SSCP iz boyası jelin dibine ulaşana kadar çalışıldı.

C) SSCP ürün boyaları SSCP jellerinin boyama aşamaları gümüş nitrat kullanılarak (Byun *et al.* 2009)'a göre yapılmıştır. Her aşama, tepsi başına bir jel çalkalayıcı ile çok yavaş bir hızda oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Jele, çıplak elle veya metal nesnelerle dokunmaktan kaçınılmıştır.

- Fiksasyon-Emprenye: Elektroforezden sonra jel kasetten alınarak uygun miktarda fiksasyon boyama solüsyonu ile bir tepsiye yerleştirildi. Bu solüsyon yaklaşık 20 dakika jeli sabitlemek için kullanıldı.
- Durulama: Sabitleyici renklendirme solüsyonunu attıktan sonra, jel bir kez yaklaşık 30 saniye boyunca deiyonize suda tutuldu.
- Geliştirme: Jel boyama tepsisine yeni bir bölümde yeni bir gelişmiş solüsyon grubu eklendi. İstenen bant yoğunluğu elde edildiğinde reaksiyon sonlandırıldı. Jel, geliştirme solüsyonunda 5 ila 10 dakika süreyle inkübe edildi.

- Sonlandırma: İndirgeme reaksiyonu, jelin bir sonlandırma çözeltisi ile doğrudan büyüyen çözeltiye daldırılmasıyla durduruldu. Jel on dakika hafifçe karıştırıldı (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6 Poliakrilamidde DNA bantlarının gümüşle boyanmasının ana adımları

Adım	**Solüsyon tipi**	**Zaman**
Fiksasyon - Emprenye	Tespit - boyama solüsyonu	20 dakika
Durulama	Deiyonize su	0,5 dakika
Geliştirme	Solüsyon geiştirme	5-10 dakika
Sonlandırma	Solüsyonu durdurma	3 dakika

3.7.2 SSCP ürünlerinin sıralanması

Her bir primer çifti tarafından amplifiye edilen fragmanların her bir farklı SSCP numunesi için farklı migrasyon paternlerinin kombinasyonları, Macrogen Sequence Corporation (Macrogen - Kore) tarafından tavsiye edilen prosedüre göre saflaştırmaya tabi tutuldu. Dideoksinükleotit zincir sonlandırma reaksiyonu, hem ileri hem de geri primerler için SSCP ürününü sıralamak üzere kullanıldı. İncelenen gen fragmanlarının her birinin serisi, polimorfizmleri bulmak için referans olarak kullanılan Gen Bankası veri tabanında yayınlanan dizilerle DNA Star Çoklu Dizi Hizalama Aracı, EditSeq ve ClustalW kullanılarak dizildi.

3.8 İstatistiksel Analiz

Veriler ortalama, standart hatalar, tek örneklem T-testi, tek yönlü ANOVA, Ki-Kare testi, Fisher testi, Pearson ki testi (X2), %95 güven aralığı (CI) ile obezite risk faktörlerini belirlemek için olasılık oranı, kategorik değişkenler arasındaki ilişkiyi bulmak için kullanıldı. İstatistiksel analiz için SPSS versiyon 15 kullanıldı. Pearson korelasyon katsayısı kullanılarak iki değişkenli korelasyonlar ve BMI kullanılarak doğrusal regresyon yapıldı; 0,05 veya daha yüksek bir P değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Katılımcıların Temel Demografik Özelliklerinin Dağılımı

Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi, çalışmamız, obezite grubu (52 kişi) ve kontrol grubu (37 kişi) olmak üzere iki gruba ayrılan 89 örneği içermektedir. Genel dağılımda kadınların yüzdesi (%64,0), erkeklere (%36,0) kıyasla grubun çoğunluğunu oluşturmuştur. Anormal bel çevresi (≥102 cm) olan erkeklerin oranı %25,5 iken, anormal bel çevresi (≥88 cm) olan kadınlarda bu oran %75,4 olarak ölçümlenmiştir. Ayrıca çalışmaya katılan örneklerin %47,18'inin (42 kişi) ailesinde obezite öyküsü yokken %52,88'inde (47 kişi) obezite öyküsü tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1 Araştırma grubunun temel özellikleri

Değişkenler	**Değerler (%)**
Yaş (yıl)	
19-29 yaş	56 (%62,92)
30-40 yaş	33 (%37,08)
Cinsiyet	
Erkek	32 (%36)
Kadın	57 (%64)
Vücut kitle indeksi (BMI) kg/m^2	
Normal ağırlık	37 (%41,58)
Şişman	52 (%58,44)
Bel çevresi (WC) cm	
≥102 cm erkek	13 (%25,5)
≥88 cm kadın	39 (%75,4)
Aile geçmişinde obezite öyküsü	
Yok	42 (%47,18)
Var	47 (%52,88)

4.2 Çalışma Grupları ile Değişkenlerin İlişkisi

Çizelge 4.2'ye göre, çalışma obezite grubu ile kontrol grupları arasında yaşa göre (Olasılık oranı (OR) 7,66; Güven aralığı (CI) (2,53-22,17)), cinsiyete göre (OR 3,36; CI (1,27-7,77)), bel çevresine (WC) göre (Fisher 0,001) ve önceden obezite öyküsü olmasına göre

(OR 2,86; CI (1,18-6,88)) anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Obezite grubunun çoğunluğu kadınlardan oluşmuştur (%75,0).

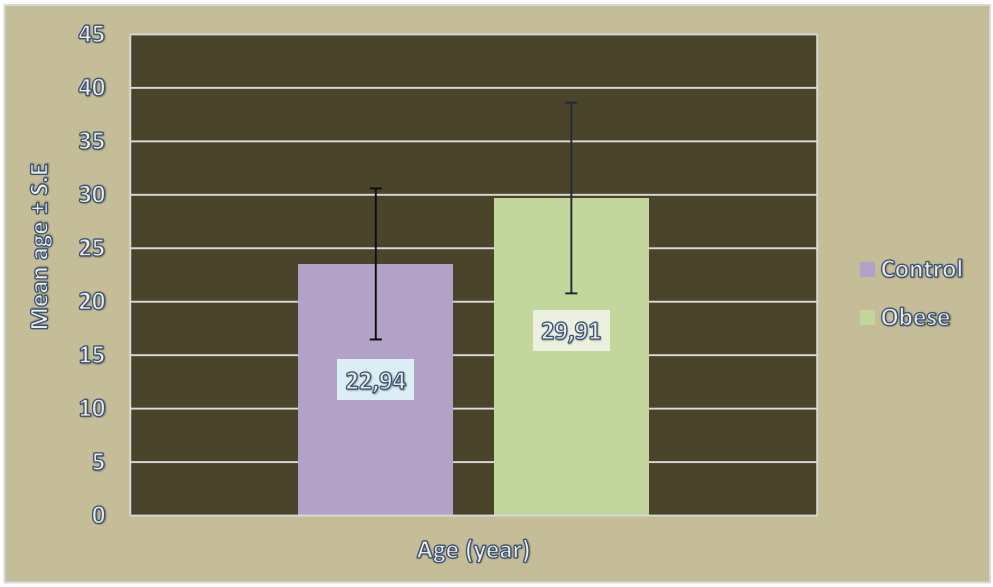
Çizelge 4.2 Araştırma grupları ve değişkenler arasındaki ilişki

Değişkenler	**Kontrol grubu**	**Obez grup**	**χ2**	**sig.**	**Olasılık oranı**	**95,0% Güven aralığı**
Yaş						
(19-29) yaş	32 (%86,49)	24 (%46,15)	14,9	<0,001 *	7,66	2,53-22,17
(30-40) yaş	5 (%13,51)	28 (%53,85)				
Cinsiyet						
Erkek	19 (%51,35)	13 (%25,0)	6,44	0,01*	3,36	1,27-7,77
Kadın	18 (%48,65)	39 (%75,0)				
Bel Çevresi						
Bel çevresi ≥102 cm Erkek	0 (%0)	8 (%61,54)				
Bel çevresi ≥88cm Kadın	0 (%0)	39 (%100)		<0,001*A		
Bel çevresi Normal (≤102cm) Erkek	19 (%100)	5 (%38,46)				
Bel çevresi Normal ≤ 88 cm Kadın	18 (%100)	0 (%0)				
Aile Geçmişi						
Obezite yok	23 (%62,16)	19 (%36,54)	5,63	0,018*	2,86	1,18-6,88
Obezite var	14 (%37,84)	33 (%63,46)				

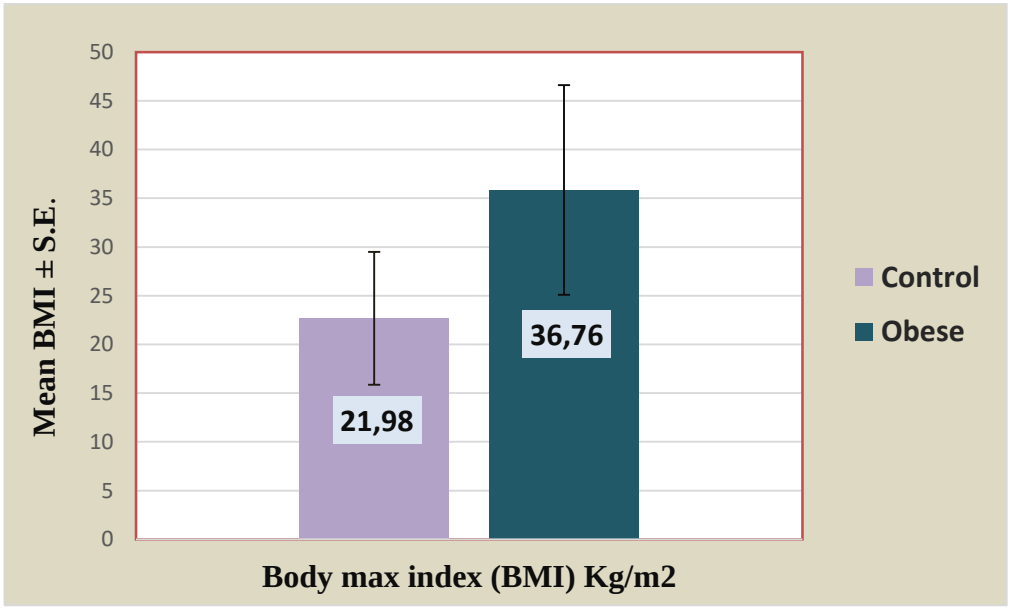
Fisher testi. * p 0,05. OR=(95,0%CI)

4.3 Her İki Grupta Cinsiyet, Yaş, Vücut Kitle İndeksi ve Bel Çevresi Karşılaştırması

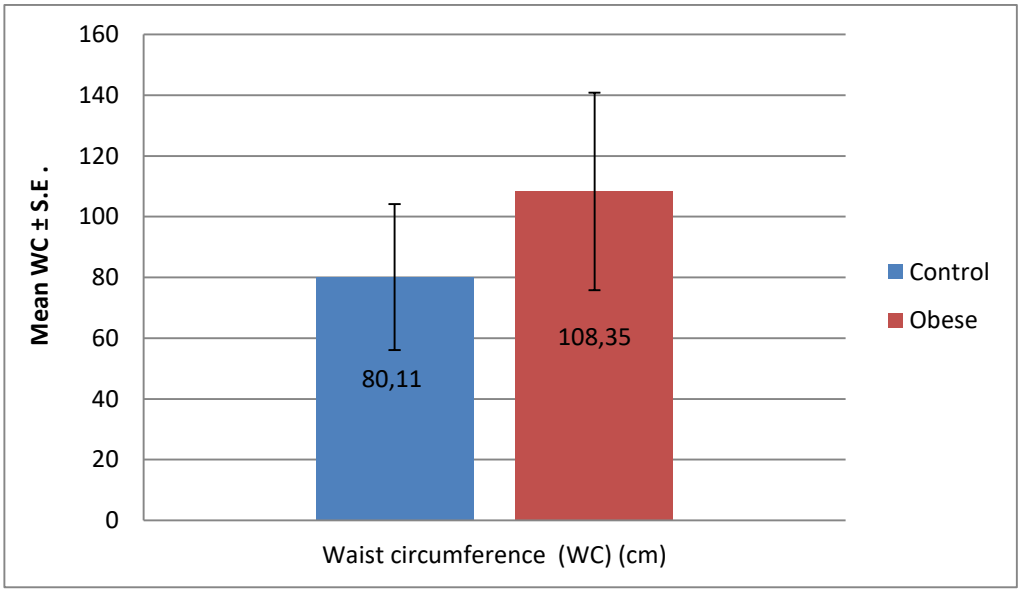
Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'deki sonuçlar, obez grubun yaş ortalaması 29,91±0,92, kontrol grubunun yaş ortalaması 22,94±0,81 olduğundan yaş ortalamasında istatistiksel olarak belirgin farklılıklar (P 0,05) olduğunu göstermiştir. Bel çevresi (WC) obez gruplarda 108,35±1,91 cm iken, kontrol gruplarında 80,11±1,23 cm olarak tespit edilmiştir. Vücut kitle indeksi (BMI) kontrol grubunda 21,98±0,29 kg/m^2'ye olurken obez gruplarda 36,76±0,59 kg/m^2 olmuştur. Bu parametreler, iki gruptaki cinsiyetler arasında önemli ölçüde farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.3).



Şekil 4.1 Obez ve kontrol grubu arasındaki yaş farklılıkları



Şekil 4.2 Obez ve kontrol grubu arasındaki BMI (kg/m^2) farklılıkları



Şekil 4.3 Obez ve kontrol grubu arasındaki bel çevresi (cm) farklılıkları

Çizelge 4.3 Araştırma grupları için her iki cinsiyette yaş, BMI ve bel çevresi değişiklikleri

Veriler / Değişkenler	Ortalama±SE				Gruplardan P değeri	Cinsiyetin P değeri
	Obez Kadın n=39	Kontrol Kadın n=18	Obez Erkek n=13	Kontrol Erkek n=19		
Yaş (yıl)	30,55±1,03	23,73±1,22	26,76±1,78	23,35±1,09	0,003*	0,12
BMI (kg/m^2)	36,24±0,72	22,34±1,77	34,66±0,79	23,33±0,40	*0,001	0,38
WC (cm)	108,73±2,25	76,76±1,76	107,22±3,74	83,04±1,46	*0,001	0,07

* p 0,05, SE: Standart Hata

4.4 Her İki Cinsiyette Fizyolojik Belirteçlerin Serum Seviyeleri

Veriler, obez grupların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında leptin seviyelerinde istatistiksel olarak daha belirgin farklılıkların (P=0,05) olduğunu, ancak insülin ve ROS konsantrasyonlarında belirgin farklılıkların olmadığını göstermiştir. Kandaki leptin düzeyinlerinde her iki grupta da kadınlarda erkeklere göre belirgin bir artış (P=0,05) gösterirken, sonuçlar iki grup arasında ROS konsantrasyonunda anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Kan serumundaki fizyolojik değişkenlerin konsantrasyonları

Grup parametreleri	Olasılık değeri	Obezite (Ortalama±SE)	Kontrol (Ortalama±SE)
		n=52	n=37
Leptin (ng/mL)	*0,04	5,55±0,26	2,68±0,21
Reaktif oksijen türleri (ng/mL)	0,52	9,48±0,01	9,43±0,02

T test * p 0,05, SE: Standart hata

Çizelge 4.5 Fizyolojik parametrelerin serum konsantrasyonları

Veriler	Ortalama±SE				Cinsiyetin P Değeri
	Obezite	Kontrol	Obezite	Kontrol	
	Kadın n=39	Kadın n=18	Erkek n=13	Erkek n=19	
Leptin (ng/mL)	6,04±0,27	3,55±0,30	4,22±0,37	1,92±0,26	*0,05
ROS (ng/mL)	9,48±0,02	9,38±0,04	9,67±0,02	9,43±0,26	0,60

T test * p 0,05, SE: Standart hata

4.5 Obez Grupların Sınıflandırmasındaki Fizyolojik Parametre Konsantrasyonları

Çizelge 4.6'dan elde edilen sonuçlar, üç obez grup kategorisinden herhangi biri için kandaki bu değişkenlerin konsantrasyonlarında belirgin bir fark olmadığını göstermiştir. Çizelge 4.6, üç obez grup kategorisi arasında ortalama leptin ve oksijen dağılımını göstermektedir.

Çizelge 4.6 Obezite gruplarındaki fizyolojik değişkenlerin serum konsantrasyonları

Değişkenler	Obezite grubu (Ortalama±SE)			P değeri
	Birinci grup n=24	İkinci grup n=17	Üçüncü grup n=11	
Leptin (ng/mL)	5,34±0,41	5,61±0,49	6,15±0,50	0,36
ROS (ng/mL)	9,46±0,02	9,48±0,02	9,52±0,04	0,47

4.6 Obez Gruplarda Vücut Kitle İndeksi ile Serumdaki Fizyolojik Konsantrasyonlar Arasındaki İlişki

Obez grupta BMI ile insülin arasındaki ilişkinin incelenmesi anlamlı pozitif ilişki gösterdi (y=-1,18+0,81*BMI, r=0,29, P=0,04). Ek olarak, sonuçlar BMI ile obezitede ve obezite gruplarının cinsiyetinde fizyolojik düzeyler arasında belirgin bir ilişki olmadığını gösterdi, ancak obezite grubundaki kadınlarda (y=9,19+0,01*BMI, r=0,32, P=0,5) BMI ve ROS arasında anlamlı bir pozitif ilişki vardı.

Obezite gruplarında vücut kitle indeksi ile fizyolojik ve immün bileşenlerin konsantrasyonları birbiriyle ilişkilidir (Çizelge 4.7)

Çizelge 4.7 Obezite gruplarında vücut kitle indeksi ile fizyolojik ve immün bileşenlerin konsantrasyonları

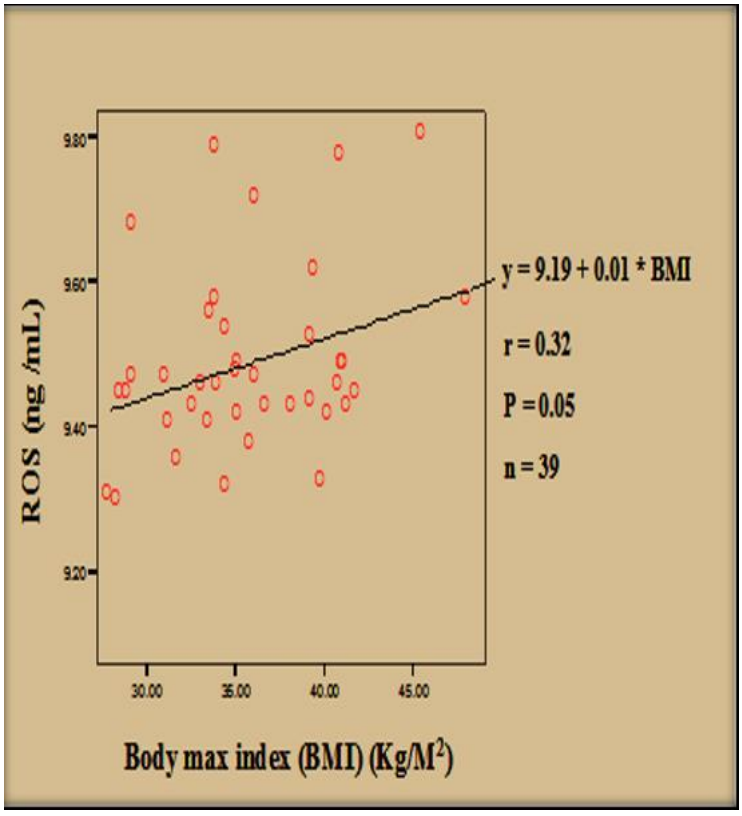
Grup	**BMI (kg/m^2)**	
	P value	**s**
Leptin (ng/mL)	0,08	0,2
ROS (ng/mL)	0,05	0,3

Vücut kitle indeksi ile fizyolojik ve immünolojik göstergelerin seviyeleri, her iki cinsiyette de obezite seviyeleri ile ilişkilendirildi (Çizelge 4.8) (Şekil 4.4).

Çizelge 4.8 Obezite gruplarında vücut kitle indeksi ile fizyolojik ve immün bileşenlerin konsantrasyonlarının cinsiyetlere göre dağılımı

Grup	**BMI (kg/m^2)**			
	Kadın		**Erkek**	
	P değeri	**s**	**P değeri**	**s**
Leptin (ng/mL)	0,23	0,2	0,41	0,25
ROS (ng/mL)	(*0,05)	0,32	0,86	-0,05

Korelasyon katsayısı * Korelasyon 0,05 düzeyinde anlamlıdır



Şekil 4.4 Obez gruptaki kadınların BMI (kg/m^2) ve reaktif oksijen türleri arasındaki (ng/mL) ilişki

4.7 Moleküler Çalışma Sonuçları

4.7.1 DNA ekstraksiyonu

LEP geninin hedef segmentini izole etmek için önce örnekten DNA izole edildi ve %1 agaroz, 75 V ve 20 mA'da 1 saat elektroforezlendi (Şekil 4.5).

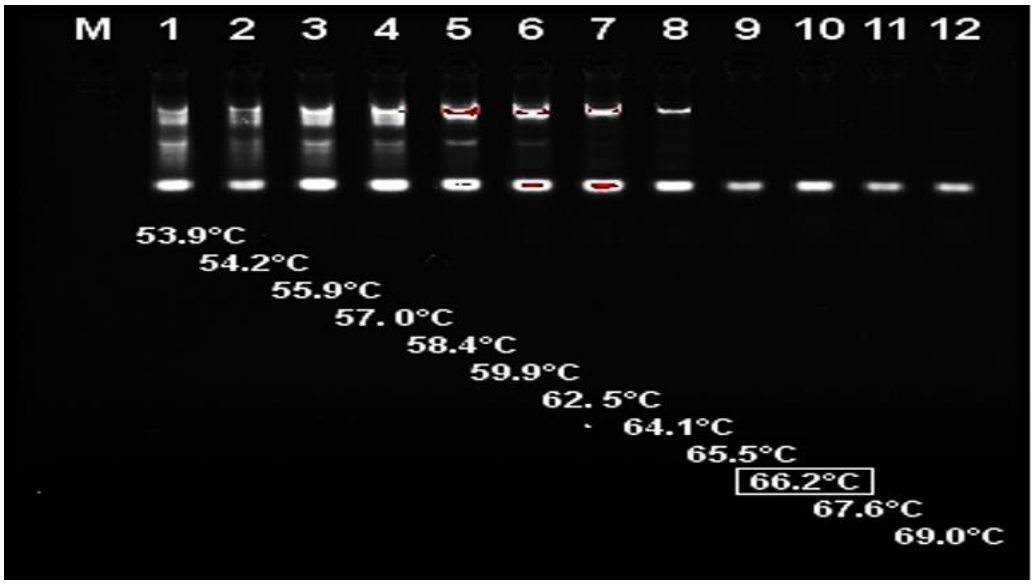


Şekil 4.5 Kan elektroforez desen şeritleri 1-12'den ekstrakte edilen DNA

4.7.2 LEP geni

4.7.2.1 LEP geninin PCR-SSCP ekzon 3 sekanslama sonuçları

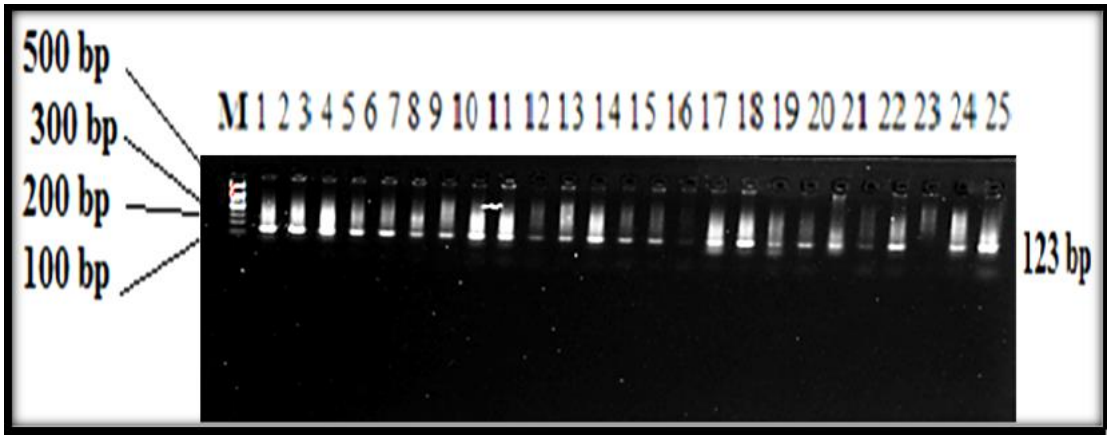
Homo sapiens'in LEP geninin ekzon 3'ünü çoğaltmak için bu çalışmada kullanılan primerlerin önceden seçilmiş sekansları olmadığından, bu primerlerin şablona ideal bağlanma sıcaklığını belirlemek için gradyan PCR yapılmıştır. Şekil 4.6'da görüldüğü gibi uygun tavlama sıcaklığı (53,9-69,0°C) ayarlanmıştır.



Şekil 4.6 Kullanılan gradyan PCR tavlama sıcaklığı

LEP gen agaroz jel elektroforezi, ekson 3 Gradyan PCR (53,9-69,0°C), LEP, ekson 3'te optimal primer tavlama sıcaklığını belirlemek için kullanıldı. M, DNA boyut etiketini gösterir, şerit 1-şerit 12, derece varyantını belirtir. Agaroz konsantrasyonu %1,5, Uygulanabilir güç: 75V (7V/cm), Çalışma süresi: 45 dakika, prekast etidyum bromür boyama yöntemi kullanılmıştır.

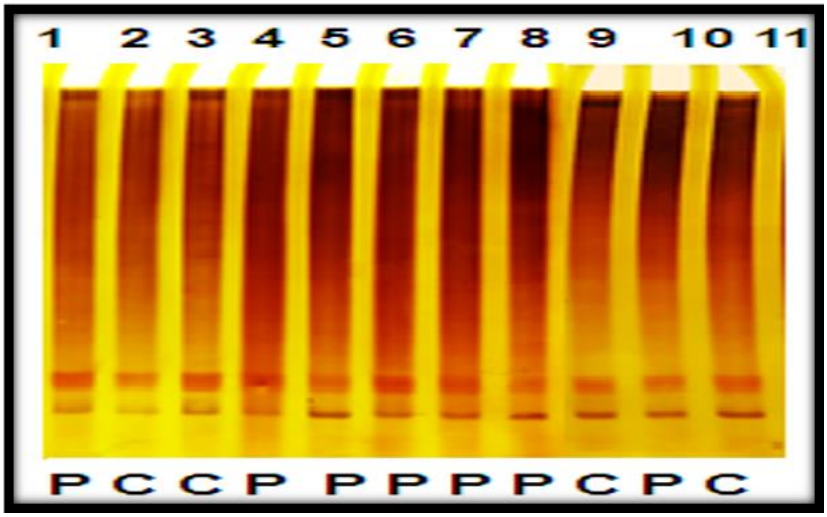
89 PCR amplikonunun sadece 50'si bir sonraki SSCP'ye dahil edildi ve net bantları belirlendikten sonra daha düşük kaliteli diğer PCR amplikonları çıkarıldı. LEP için ekson 3 PCR fragmanı Şekil 4.7'de gösterilmiştir ve bu segment ekzon 3'ü büyütebilir. Sonuç olarak, bu amplikonlar sonraki SSCP araştırmaları için uygundur.



Şekil 4.7 Ekzon 3 fragman PCR'nin LEP geni agaroz jel elektroforezi

M, DNA boyutu işaretleyicisini, şerit 25'teki şerit 1'i, LEP genini ve ekson 3 PCR fragman modellerini belirtir. Numune için bu amplifikasyon ürünü, 123 bp'lik tek bir banda sahipti. Elektroforez koşulları: %1,5 agaroz, 75V, 20:00, 120 dakika, boyama yöntemi: prekast etidyum bromür olarak kullanılmıştır.

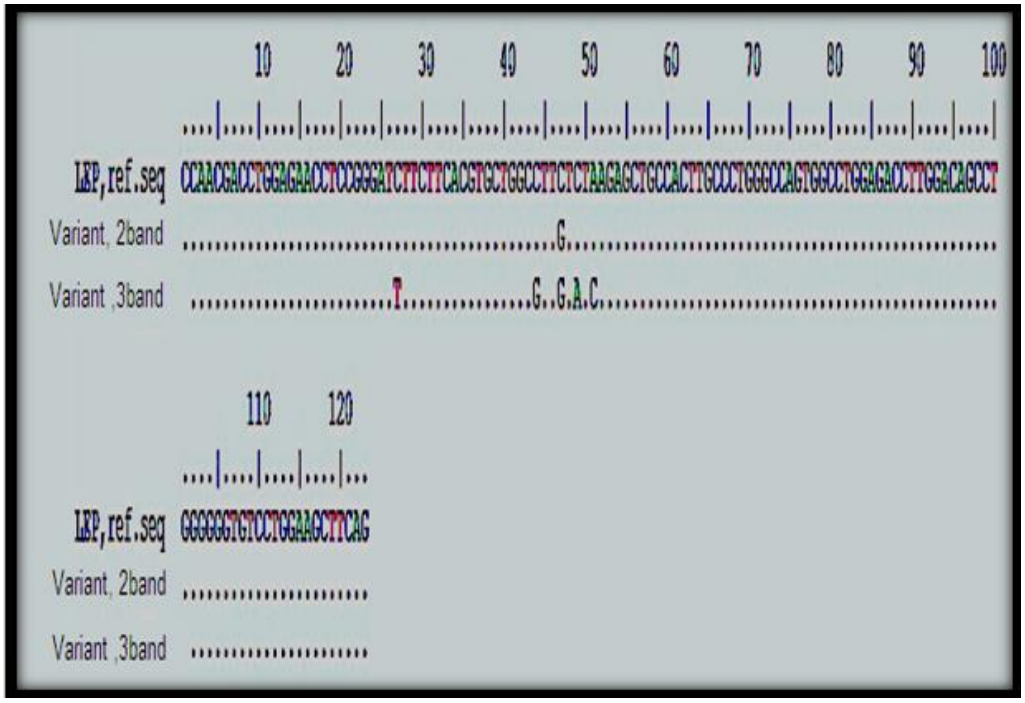
SSCP jellerinde üç farklı tipte sertlik modeli bulunur. Tek sarmallı (ssDNA) ve çift sarmallı (dsDNA) DNA alanları sırasıyla jelin üst ve alt yarısını işgal etti. Şekil 4.8'de gösterildiği gibi, her bir amplikonun genotipi, SSCP jellerindeki ssDNA varyasyonu ile belirlenir.



Şekil 4.8 LEP genindeki DNA polimorfizminin bant sayısına göre belirlenmesi

PCR-SSCP teknolojisi kullanıldı. LEP geni, ekson 3 PCR-SSCP fragman modelleri şeritler 1-11 ile temsil edilir. C, kontrolü, P ise obez grupları temsil eder. Elektroforez koşulları: Poliakrilamid jel konsantrasyonu %8, Uygulanabilir güç: 200 V (7,5 V/cm) - 100 mA, Çalışma süresi: 90-120 dk Gümüş boyama yöntemi kullanılmıştır.

Şekil 4.8'de gösterildiği gibi, sonuçlar, bant sayısına bağlı olarak birkaç farklı DNA polimorfizminin gözlemlendiğini göstermektedir: ilki iki banttan, ikincisi üç banttan ve üçüncüsü dört banttan oluşur. Bununla birlikte, yalnızca jel görselleştirme ile çözülen her bir SSCP bandının modelini analiz etmek zor olabilir. Bu nedenle, bu aralıkları doğrulamak için Şekil 4.9'da gösterildiği gibi dizileme kullanılmalıdır. Sıralama sonuçları, araştırmamızda bulunan haplotipleri destekledi. Bu çözülmüş bantların sayısı ile LEP ve ekson3 NCBI referans dizileri arasında birkaç tek nükleotid polimorfizmi (SNP'ler) tespit edildi.



Şekil 4.9 DNA STAR yazılımı ve Editseq kullanılarak Homo sapiens LEP gen fragmanı

Üç SSCP varyantı ve bunların referans dizisi (banka erişim numarası M31676.1) için hizalama sonuçları elde edildi. Aynı yazılımda ClustalW hizalaması kullanılarak LEP referans dizisi ile iki bant 2 ve 3 varyantı arasındaki birkaç SNP (SNP) tespit edildi.

Sekanslama ile gösterilen her bir SNP'nin paterninden görülebileceği üzere, LEP, ekson 3'te birkaç SNP bulundu (Çizelge 4.9). Bu SNP'lerin obez grupta BMI sınıf I (30,4 kg/m2) ve BMI sınıf III'e (36,9 kg/m^2) karşılık geldiği tespit edildi.

Çizelge 4.9 Homo sapiens LEP gen referans dizisinin ekson 3'ü ile bağlanma sayısı arasındaki DNA modellerindeki farklılıklar

Nükleotid pozisyonu	**Homo sapiens LEPTİN ekson 3'teki SSCP varyantlarının karşılaştırılması**	
	2 bant alternatif	**3 bant alternatifi**
27 (CT)		T
44 (CG)		J
47 (CG)	J	J
49 (CA)		a
51 (AC)		c

4.7.3 LEP Gen için DNA Polimorfizmlerinin Dağılımındaki Bant Sayısı ile Obez Popülasyon ve Kontrol Grubu İlişkisi

LEP geninin DNA polimorfizminin dağılımı, obez gruplarda sırasıyla 2 bant % 27,27, 3 bant %57,58 ve 4 bant %15,15 olarak bulunmuş, buradan da 3 bantın 2 ve 4 banttan daha yaygın olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Sağlıklı gruplarda ise bu oranlar sırasıyla %76,47, %17,65 ve % 5,88 olarak gerçekleşmiştir. Sonuçlar, kontrol gruplarına göre obeziteye sahip 2 bant ile 4 bant arasında veya 3 bant ile 4 bant arasında bir bağlantı olmadığını gösterirken, obeziteye sahip 2 bant ile 3 bant polimorfizmi arasında sağlıklı gruplara göre belirgin bir bağlantı olduğunu (OR=9,15, CI (2,07-40,39)) göstermiştir (p 0,05) (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10 LEP geninin DNA polimorfizmlerinin bant sayısına göre dağılımı ve bunların obezite ve kontrol gruplarıyla ilişkisi

LEP geninin DNA polimorfizmi	**Obezite grubu**	**Kontrol grubu**	**P değeri**	**OR**	**95% CI**
	Kişi sayısı (%)	**Kişi sayısı (%)**			
2 bant	9 (27,27)	13 (76,47)	0,004*b	9,15	2,07-40,39
3 bant	19 (57,58)	3 (17,65)			
4 bant	5 (15,15)	1 (5,88)	0,08	0,14	0,71-72,69
3 bant	19 (57,58)	3 (17,65)	0,64 [b]	1,26	0,07-9,32
4 bant	5 (15,15)	1 (5,88)			
Genel sayı	**33**	**17**			

Fisher Testi*p 0,05, OR=(95% CI)

4.8 Tartışma

4.8.1 Fizyolojik parametreler ve obezite

Leptin

Sonuçlar, obez bireylerin, her iki grupta da anlamlı olmasa da, öncelikle obezite grubunun üçüncü kategorisinde leptin düzeylerinin arttığını gösterdi. İki grubun kadın üyeleri,

erkek üyelere göre ciddi şekilde daha fazla serum leptin konsantrasyonuna sahipti ve korelasyon analizi, obez gruplarda leptin ile BMI arasında bir ilişki olmadığını ortaya koydu.

Bu sonuç, (Considine *et al.* 1996) çalışmasında da tespit ettiği üzere, obez insanların obez olmayanlara göre ortalama dört kat daha yüksek leptin seviyelerine sahip olduğunu gösterdi. Ek olarak, (Al Maskari and Alnaqdy 2006) tarafından Umman'dan seçilen obez bireylerle yapılan çalışmada kan leptin seviyeleri daha yüksek olmakla beraber vücut şişmanlığı ve obezite ile pozitif korelasyon gösterdi. Aynı zamanda kadınlarda erkeklere göre daha yüksek kan leptin konsantrasyonları tespit edildi. Bu da çalışmamızdaki sonuçlarla uyumluluk göstermiştir. Ayrıca (Kamal *et al.* 2000) tarafından Mekke'den seçilen Suudi kadınlarda leptin kategorilerindeki obezite ile vücut kitle indeksi arasında belirgin bir pozitif ilişki olduğu ve leptin düzeylerinin vücut kitle indeksi ve su döngüsü ile doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir.

1998 yılında, (Casabiell *et al.* 1998) tarafından cinsiyete bağlı steroid hormonlarının etkisinin leptin sentezini uyardığını ve bu nedenle kandaki leptin seviyesinin vücut yağ içeriğine karşılık geldiğini öne sürdü. Bu, kadınlarda çoğunlukla hipodermik yağ olmak üzere daha yüksek vücut yağ kütlesi seviyelerinin nedeni olabilir (Casimiro-Lopes *et al.* 2009, Williams *et al.* 2009). Bu çalışmadaki obez grupların büyük kısmı, aşırı bel çevresi olan kadınlardı. Diğer çalışmalar, obez deneklerin çoğunluğunun normal deneklerinkiyle aynı veya onlardan daha yüksek leptin seviyelerine sahip olduğunu göstermiştir (Oksanen *et al.* 1998) ve bu sonuçlar obez deneklerde leptine direnç olabileceğini düşündürmektedir. Igel *et al.* (1997), aşırı leptin gıda alımını kontrol edemediği için obezitenin büyümesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu düşünülüyordu çünkü leptin reseptörleri mevcuttu.

Bu, obez insanlardaki farklı yağ dağılım modellerinden kaynaklanıyor olabilir. Ek olarak, obez insanlar deri altı yağından daha fazla viseral yağa sahiptir ve uzun süreli egzersizin iskelet kası aktivitesi ile kas kütlesini, insülin inceliğini ve glikoz girdisini artırma

olasılığı daha yüksektir. Hipodermik yağ ayrıca viseral yağdan daha fazla leptin yayar ve obez kişilerde ayrıca hipodermik yağdan daha fazla splanknik yağ bulunur. Ayrıca, (Rudzka-Kocjan *et al.* 2006) çalışmasına göre, leptin ve insülin ilacı ile açlık kan şekeri dereceleri arasında düz bir ilişki vardı. Bu nedenle, artan serum leptin konsantrasyonu, insülin direncinin ve açlık kan şekerinin artmasına neden olabilir ve artan vücut yağına yanıt olarak leptin ve insülin seviyeleri de yükselir (Benoit *et al.* 2004).

Plazma leptin düzeyi vücut zindeliği veya fiziksel aktivite ile negatif korelasyon gösterdi ve yağ dokusu ile doğrudan korelasyon gösterdi (Courteix *et al.* 2007). Sonuç olarak çalışmalar, şeker ve yağ oranı yüksek olanlar gibi bazı diyetlerin leptin direncine neden olabileceğini ve bu direncin uygun beslenme yetersizlikleri karşılandığında enerji girdisini artırabileceğini ve kilo alımını artırabileceğini göstermiştir. Bununla birlikte, gıda alerjilerinden farklı seviyelerde biyolojik mekanizmalar sorumlu olabilir. Leptin direnci, yüksek düzeyde gezici leptin ve vücut ağırlığının yokluğunda oluşabilir, bu da onu aşırı kilo alımı ve obezitede olası bir neden ve/veya faktör haline getirir.

Bu değişiklikler kandaki beyin transfüzyon sistemindeki değişiklikleri ve periferik glikoz metabolizmasını içerir. Bununla birlikte, egzersize bağlı fizyolojik stres, yağ dokusundan leptin üretiminin düzenleyicilerinin olası bir nedenidir. Sistemik hormonların ve enerji seviyelerinin yönetimi, plazma leptin seviyeleri üzerinde de bir etkiye sahip olabilir ve bu da leptinin rolünü yerine getirme yeteneği üzerinde itici bir güç oluşturabilir (Kraemer *et al.* 2002).

4.8.2 Leptin geni

2, 3 bant ile LEP arasında çoklu tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP'ler) gözlemleyen sekans verileri, subjektif obez grupta kurulan SNP'ler BMI sınıf I'e (30,4 kg/m^2) ve BMI'nin sınıf III'üne (36,9 kg/m^2) sahip olduğundan, ekson sekansı 3 NCBI'ye atıfta bulunur. Leptin geminin sonuçları, bant sayısına bağlı olarak üç farklı haplotip olduğunu gösterdi. Çalışmaya göre, bir kontrol grubuna kıyasla 2 ila 3 bant polimorfizmi ile obezite

grupları arasında güçlü bir ilişki vardı. Sonuç olarak, obez gruptaki ne LEP geni için bant sayısı ne de serum leptin seviyeleri belirgin bir farklılık göstermedi.

Leptinin fizyolojik işlevi, öncelikle gıda alımını azaltarak ve enerji harcamasını artırarak vücut yağını azaltmaktır. Ek olarak, vücut ağırlığını, iştahı ve yağ dokusu miktarını kontrol eden negatif geri besleme mekanizmasında merkezi ve periferik olarak eksprese edilen reseptörler aracılığıyla etki eder (Boguszewski and Van Der Lely 2015). Bilimsel çalışmalara göre, leptinin enerji dengesinin kilit bir düzenleyicisi olduğunu gösteren LEP genindeki çeşitli mutasyonlar, insanlarda görünmeyen düşük leptin seviyeleri, hiperinsülinemi ve morbid obezite ile ilişkilendirilmiştir. LEP genindeki bir mutasyonun neden olduğu konjenital leptin eksikliği, çocukluk çağı obezitesinde yaşamın ilk birkaç yılında hiperfajiye, zayıf tokluğa ve aşırı kilo alımına neden olur.

Sonuç olarak, bu hastalara rekombinant leptin enjeksiyonlarının verilmesi metabolizma, açlık ve vücut ağırlığı üzerinde olumlu bir etkiye sahipti (Montague *et al.* 1997, Strobel *et al.* 1998, Farooqi *et al.* 2003, Gibson *et al.* 2004, Mazen *et al.* 2009). Ek olarak, G2548A, T2437G, C1887T, C1823T, G1387A, C633T, C 188 A, G19A, C538T, G144A, V110M ve G328A varyasyonlarını içeren LEP geninin polimorfizmleri, BMI ve obezite ile ilgili özelliklerle ilişkilendirilmiştir (Li *et al.* 1999, Mammes *et al.* 2000). Leptinin fizyolojik etkilerine bağlı olarak, LEP geninin farklı polimorfizmleri obezite, BMI, bel-kalça oranı, bel çevresi, hipertansiyon, depresyon, plazma leptin ve HDL, diyabet, nabız basıncı, prostat kanseri, lenfoma, Hodgkin ve leptin oranının artması ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, varyasyonun LEP gen transkripsiyon hızı üzerindeki etkisi, obezite ve obezite ile ilişkili diğer metabolik özellikler ile G2548A mutasyonu arasındaki ilişkinin sebebidir (Mammes *et al.* 2000, Gaukrodger *et al.* 2005, Van der Lende *et al.* 2005).

2014 yılında (Wasim and Fakhar 2014)'ın, Pakistan-Pencap'ta yaptığı çalışmada, SNP'ler obezite ve zayıflığın erken teşhisi için gelecekteki bir biyobelirteç olarak tanımlandı. Analiz, leptin geninin hem ikinci hem de üçüncü ekzonunun tüm örneklerinde hiçbir

mutasyon göstermedi, çünkü leptin geninin 3 ekzonu obeziteye neden olan nokta mutasyonları için bir sıcak nokta olarak kabul edildi ve Pakistan'daki obez çocuklarda 6 G uzantısındaki mutasyon gözlendi (Fatima *et al.* 2011). Obezite ve serum leptin düzeyleri ile ilişkili olan LEP polimorfizminin, Türkiye'de LEP G-2548A'ya göre aşırı kilo/obezite ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Sahin *et al.* 2013). Bununla birlikte, 2012 yılında Tunuslularla yapılan bir çalışmada (Boumaiza *et al.* 2012), hem Q 223R'nin (rs 1137101) hem de LEP G-2548A'nın vücut kitle indeksi, enerji alımı, toplam kolesterol, bel çevresi, glisemik, serum insülini ve LDL-kolesterol ile yakından ilişkili olduğunu ortaya koyarken, genler üzerindeki diğer çalışmalar Leptin/leptin reseptörleri ile aşırı kilo/obezite arasında bir ilişki olmadığını göstermektedir. Brezilya'da yapılan Q 223R (rs 1137101) ve LEP A19G inceleyen (Angeli *et al.* 2011)'nin çalışması, bu iki SNP ile obezite/aşırı kilo arasında ve Q223R (rs1137101) ve LEP G-2548A için hiçbir bağlantı bulamadı.

Bu fikri ortaya koyan türünün ilk örneği olabilecek (Boguszewski and Van Der Lely 2015) çalışmasında, herhangi bir kronik hastalığı olmayan yetişkin Babil valiliği/Irak popülasyonunda 2 ila 3 grup LEP gen polimorfizmi ile obezite duyarlılığı arasında bir bağlantı tespit etti. Ek olarak, muhtemelen vücut ağırlığını, yağ dokusu miktarını ve iştahı düzenleyen farklı mekanizmaların bir sonucu olarak, obez gruptaki LEP serum seviyelerinde veya bant sayısında belirgin bir ayrım yoktu.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu çalışmaya göre obezite grubundaki bireylerin LEP serum düzeylerinde belirgin bir ayrım gözlemlenmiştir. Bu bulgu, obezitenin aşırı enerjiye karşı mekanik bir bariyer görevi görmüş olabileceğini ve daha sonra insülin direnci gibi metabolik bozuklukların öncüsü olarak enerjinin yağ dokusu şeklinde depolandığını düşündürmektedir. Leptin konsantrasyonları Grup I ile karşılaştırıldığında Grup II ve Grup III'te daha düşük bulunmuştur. Bu da tok hissetmemenin nedenlerinden biri olarak görülebilir. Yağ oranının yüksek ya da düşük olmasına bağlı olarak BMI ile insülin (obez gruplarda) ve BMI ile ROS (obez kadın gruplarında) arasında olumlu bir ilişkiye ulaşılmıştır. Obez gruplardaki LEP genlerinde birkaç SNP'nin tanımlanması, bu SNP'lerin obezite ile ilişkili olan bu genlerin ilgili bölümlerinde olduğunu gösterebilir. Veriler, LEP gen polimorfizminde bant sayısı ile obezite arasında bir ilişki olduğunu ve bunun obeziteye katkıda bulunan faktörlerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

5.2 Öneriler

- Ghrelin, gastrin, GIP, CCK, GLP-1, PYY3-36, NPY, kortizol, POMC gibi açlık kontrolü ile ilişkili olabilecek ek değişkenlerin değerlendirilmesi.
- Visfaitin, LEPR, Y2R, GIPR, TGF-1, POMC, NPY, Ghrelin ve reseptörleri dahil olmak üzere aynı aday genlerin veya obezite ile ilişkili ek aday genlerin diğer bölümlerinin aranması.
- Günlük fiziksel aktivitelerini, gıda alımlarını ve obezite sürelerini takip ederek daha genç obezite yaş gruplarının araştırılması.
- Soyağacı analizi kullanılarak obez hastaların araştırılması.
- Daha büyük bir örneklemle obezite ile ilgili herhangi bir faktörü seçtikten sonra, kontrol gruplarına kıyasla üçüncü obezite kategorisine (morbid obezite) odaklanmak.

KAYNAKLAR

Agarwal, R., Rout, P. K. and Singh, S. K. 2009. Leptin: A biomolecule for enhancing livestock productivity. NIScPR, 9(2): 2-8.

Al Maskari, M. Y. and Alnaqdy, A. A. 2006. Correlation between serum leptin levels, body mass index and obesity in Omanis. Sultan Qaboos University Medical Journal, 6(2): 27-31.

Andersson, L. B. 1996. Genes and obesity. Annals of Medicine, 28(1): 5-7.

Angeli, C. B., Kimura, L., Auricchio, M. T., Vicente, J. P., Mattevi, V. S., Zembrzuski, V. M. and Mingroni-Netto, R. C. 2011. Multilocus analyses of seven candidate genes suggest interacting pathways for obesity-related traits in Brazilian populations. Obesity, 19(6): 1244-1251.

Anne-Lise, P., Chang, C. C. H., So-Armah, K. A., Butt, A. A., Leaf, D. A., Budoff, M. and Freiberg, M. 2015. Human immunodeficiency virus infection, cardiovascular risk factor profile and risk for acute myocardial infarction. Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes, 68(2): 209.

Antonopoulos, A. S. and Tousoulis, D. 2017. The molecular mechanisms of obesity paradox. Cardiovascular Research, 113(9): 1074-1086.

Arner, P. and Spalding, K. L. 2010. Fat cell turnover in humans. Biochemical and Biophysical Research Communications, 396(1): 101-104.

Aronne, L. J. 2002. Classification of obesity and assessment of obesity-related health risks. Obesity Research, 10(S12): 105S-115S.

Batterham, R. L., Cohen, M. A., Ellis, S. M., Le Roux, C. W., Withers, D. J., Frost, G. S. and Bloom, S. R. 2003. Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3–36. New England Journal of Medicine, 349(10): 941-948.

Benoit, S. C., Clegg, D. J., Seeley, R. J. and Woods, S. C. 2004. Insulin and leptin as adiposity signals. Recent Progress in Hormone Research, 59: 267-286.

Berthoud, H. R. and Morrison, C. 2008. The brain, appetite, and obesity. Annual Review of Psychology, 59: 55-92.

Boguszewski, C. L. and Van Der Lely, A. J. 2015. The role of the gastrointestinal tract in the control of energy balance. Transl. Gastrointest. Cancer, 4(1): 3-13.

Bougnères, P. 2002. Genetics of obesity and type 2 diabetes: tracking pathogenic traits during the predisease period. Diabetes, 51(3): 295-303.

Boumaiza, I., Omezzine, A., Rejeb, J., Rebhi, L., Ouedrani, A., Ben Rejeb, N. and Bouslama, A. 2012. Relationship between leptin G2548A and leptin receptor Q223R gene polymorphisms and obesity and metabolic syndrome risk in Tunisian volunteers. Genetic Testing and Molecular Biomarkers, 16(7): 726-733.

Byun, S. O., Fang, Q., Zhou, H. and Hickford, J. G. H. 2009. An effective method for silver-staining DNA in large numbers of polyacrylamide gels. Analytical Biochemistry, 385(1): 174-175.

Camilleri, M. 2006. Integrated upper gastrointestinal response to food intake. Gastroenterology, 131(2): 640-658.

Casabiell, X., Piñeiro, V., Peino, R., Lage, M., Camiña, J., Gallego, R. and Casanueva, F. F. 1998. Gender differences in both spontaneous and stimulated leptin secretion by human omental adipose tissue in vitro: dexamethasone and estradiol stimulate leptin release in women, but not in men. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 83(6): 2149-2155.

Casimiro-Lopes, G., de Oliveira-Junior, A. V., Portella, E. S., Lisboa, P. C., Donangelo, C. M., de Moura, E. G. and Koury, J. C. 2009. Plasma leptin, plasma zinc, and plasma copper are associated in elite female and male judo athletes. Biological Trace Element Research, 127: 109-115.

Ceperuelo-Mallafré, V., Duran, X., Pachón, G., Roche, K., Garrido-Sánchez, L., Vilarrasa, N. and Fernández-Veledo, S. 2014. Disruption of GIP/GIPR axis in human adipose tissue is linked to obesity and insulin resistance. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 99(5): E908-E919.

Chaudhri, O. B., Salem, V., Murphy, K. G. and Bloom, S. R. 2008. Gastrointestinal satiety signals. Annual Review of Physiology, 70: 239-255.

Cheung, W. W. and Mao, P. 2012. Recent advances in obesity: genetics and beyond. International Scholarly Research Notices, 2012.

Cone, R. D. 2005. Anatomy and regulation of the central melanocortin system. Nature Neuroscience, 8(5): 571-578.

Considine, R. V., Sinha, M. K., Heiman, M. L., Kriauciunas, A., Stephens, T. W., Nyce, M. R. and Caro, J. F. 1996. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. New England Journal of Medicine, 334(5): 292-295.

Cota, D., Proulx, K. and Seeley, R. J. 2007. The role of CNS fuel sensing in energy and glucose regulation. Gastroenterology, 132(6): 2158-2168.

Courteix, D., Rieth, N., Thomas, T., Van Praagh, E., Benhamou, C. L., Collomp, K. and Jaffre, C. 2007. Preserved bone health in adolescent elite rhythmic gymnasts despite hypoleptinemia. Hormone Research in Paediatrics, 68(1): 20-27.

De Benedetti, F., Alonzi, T., Moretta, A., Lazzaro, D., Costa, P., Poli, V. and Fattori, E. 1997. Interleukin 6 causes growth impairment in transgenic mice through a decrease in insulin-like growth factor-I. A model for stunted growth in children with chronic inflammation. The Journal of Clinical Investigation, 99(4): 643-650.

Diacono, C. C. 2011. Sindromul metabolism (metabolic syndrome). Editura Medicală, 32-41.

Druce, M. and Bloom, S. R. 2006. The regulation of appetite. Archives of Disease in Childhood, 91(2): 183-187.

Dubern, B. and Clement, K. 2012. Leptin and leptin receptor-related monogenic obesity. Biochimie, 94(10): 2111-2115.

Farooqi, I. S. 2005. Genetic and hereditary aspects of childhood obesity. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 19(3): 359-374.

Farooqi, I. S., Keogh, J. M., Yeo, G. S., Lank, E. J., Cheetham, T. and O'Rahilly, S. 2003. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. New England Journal of Medicine, 348(12): 1085-1095.

Fatima, W., Shahid, A., Imran, M., Manzoor, J., Hasnain, S., Rana, S. and Mahmood, S. 2011. Leptin deficiency and leptin gene mutations in obese children from Pakistan. International Journal of Pediatric Obesity, 6(6): 419-427.

Finucane, M. M., Stevens, G. A., Cowan, M. J., Danaei, G., Lin, J. K., Paciorek, C. J. and Ezzati, M. 2011. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. The Lancet, 377(9765): 557-567.

Flegal, K. M., Graubard, B. I., Williamson, D. F. and Gail, M. H. 2005. Excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. Jama, 293(15): 1861-1867.

Friedrichsen, D. M., Hawley, S., Shu, J., Humphrey, M., Sabacan, L., Iwasaki, L. and Stanford, J. L. 2005. IGF-I and IGFBP-3 polymorphisms and risk of prostate cancer. The Prostate, 65(1): 44-51.

Gantz, I., Miwa, H., Konda, Y., Shimoto, Y., Tashiro, T., Watson, S. J. and Yamada, T. 1993. Molecular cloning, expression, and gene localization of a fourth melanocortin receptor. Journal of Biological Chemistry, 268(20): 15174-15179.

Gaukrodger, N., Mayosi, B. M., Imrie, H., Avery, P., Baker, M., Connell, J. M. C. and Keavney, B. 2005. A rare variant of the leptin gene has large effects on blood pressure and carotid intima-medial thickness: a study of 1428 individuals in 248 families. Journal of Medical Genetics, 42(6): 474-478.

Gibson, W. T., Farooqi, I. S., Moreau, M., DePaoli, A. M., Lawrence, E., O'Rahilly, S. and Trussell, R. A. 2004. Congenital leptin deficiency due to homozygosity for the Δ133G mutation: report of another case and evaluation of response to four years of leptin therapy. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 89(10): 4821-4826.

Harrington, D. W. and Elliott, S. J. 2009. Weighing the importance of neighbourhood: a multilevel exploration of the determinants of overweight and obesity. Social Science & Medicine, 68(4): 593-600.

Hebebrand, J., Wulftange, H., Goerg, T., Ziegler, A., Hinney, A., Barth, N. and Remschmidt, H. 2000. Epidemic obesity: are genetic factors involved via increased rates of assortative mating?. International Journal of Obesity, 24(3): 345-353.

Hill, J. W., Williams, K. W., Ye, C., Luo, J., Balthasar, N., Coppari, R. and Elmquist, J. K. 2008. Acute effects of leptin require PI3K signaling in hypothalamic proopiomelanocortin neurons in mice. The Journal of Clinical Investigation, 118(5): 1796-1805.

Hiroike, T., Higo, J., Jingami, H. and Toh, H. 2000. Homology modeling of human leptin/leptin receptor complex. Biochemical and Biophysical Research Communications, 275(1): 154-158.

Hyman, M. A. 2006. Systems biology: the gut-brain-fat cell connection and obesity. Alternative Therapies, Health and Medicine, 12(1): 10-16.

Igel, M., Becker, W., Herberg, L. and Joost, H. G. 1997. Hyperleptinemia, leptin resistance, and polymorphic leptin receptor in the New Zealand obese mouse. Endocrinology, 138(10): 4234-4239.

Ingalls, A. M., Dickie, M. M. and Shell, G. D. 1950. Obese, a new mutation in the house mouse. Journal of Heredity, 41: 317-318.

Ingvartsen, K. L. and Boisclair, Y. R. 2001. Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants. Domestic Animal Endocrinology, 21(4): 215-250.

Jung, U. J. and Choi, M. S. 2014. Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. International Journal of Molecular Sciences, 15(4): 6184-6223.

Kamal, A., Stokin, G. B., Yang, Z., Xia, C. H. and Goldstein, L. S. 2000. Axonal transport of amyloid precursor protein is mediated by direct binding to the kinesin light chain subunit of kinesin-I. Neuron, 28(2): 449-459.

Karthikeyan, K. G. and Meyer, M. T. 2006. Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA. Science of the Total Environment, 361(3): 196-207.

Kennedy, G. C. 1953. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. Proceedings of the Royal Society of London. Series B-Biological Sciences, 140(901): 578-592.

Kraemer, R. R., Chu, H. and Castracane, V. D. 2002. Leptin and exercise. Experimental Biology and Medicine, 227(9): 701-708.

Kuczmarski, R. J. and Flegal, K. M. 2000. Criteria for definition of overweight in transition: background and recommendations for the United States. The American Journal of Clinical Nutrition, 72(5): 1074-1081.

Li, W. D., Reed, D. R., Lee, J. H., Xu, W., Kilker, R. L., Sodam, B. R. and Arlen Price, R. 1999. Sequence variants in the 5′ flanking region of the leptin gene are associated with obesity in women. Annals of Human Genetics, 63(3): 227-234.

Liefers, S. C., Veerkamp, R. F., Te Pas, M. F. W., Delavaud, C., Chilliard, Y. and Van Der Lende, T. 2004. A missense mutation in the bovine leptin receptor gene is

associated with leptin concentrations during late pregnancy. Animal Genetics, 35(2): 138-141.

Lubrano-Berthelier, C., Dubern, B., Lacorte, J. M., Picard, F., Shapiro, A., Zhang, S. and Vaisse, C. 2006. Melanocortin 4 receptor mutations in a large cohort of severely obese adults: prevalence, functional classification, genotype-phenotype relationship, and lack of association with binge eating. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 91(5): 1811-1818.

Mammes, O., Betoulle, D., Aubert, R., Herbeth, B., Siest, G. and Fumeron, F. 2000. Association of the G-2548A polymorphism in the 5′ region of the LEP gene with overweight. Annals of Human Genetics, 64(5): 391-394.

Mazen, I., El-Gammal, M., Abdel-Hamid, M. and Amr, K. 2009. A novel homozygous missense mutation of the leptin gene (N103K) in an obese Egyptian patient. Molecular Genetics and Metabolism, 97(4): 305-308.

McLaren, L. 2007. Socioeconomic status and obesity. Epidemiologic Reviews, 29(1): 29-48.

Montague, C. T., Farooqi, I. S., Whitehead, J. P., Soos, M. A., Rau, H., Wareham, N. J. and O'Rahilly, S. 1997. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. Nature, 387(6636): 903-908.

Motlagh, B., O'Donnell, M. and Yusuf, S. 2009. Prevalence of cardiovascular risk factors in the Middle East: a systematic review. European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation, 16(3): 268-280.

Mullikin, J. C., Hunt, S. E., Cole, C. G., Mortimore, B. J., Rice, C. M., Burton, J. and Bentley, D. R. 2000. An SNP map of human chromosome 22. Nature, 407(6803): 516-520.

Müller-Riemenschneider, F., Reinhold, T., Berghöfer, A. and Willich, S. N. 2008. Health-economic burden of obesity in Europe. European Journal of Epidemiology, 23: 499-509.

Nakayama, K., Watanabe, K., Boonvisut, S., Makishima, S., Miyashita, H. and Iwamoto, S. 2014. Common variants of GIP are associated with visceral fat accumulation in Japanese adults. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 307(11): G1108-G1114.

National Center for Health Statistics. 2015. Health, United States, 2014: With special feature on adults aged 55–64. National Center for Health Statistics, 20(15): 12-32.

Oksanen, L., Kaprio, J., Mustajoki, P. and Kontula, K. 1998. A common pentanucleotide polymorphism of the 3′-untranslated part of the leptin receptor gene generates a putative stem-loop motif in the mRNA and is associated with serum insulin levels in obese individuals. International Journal of Obesity, 22(7): 634-640.

O'Rahilly, S. and Farooqi, I. S. 2008. Human obesity as a heritable disorder of the central control of energy balance. International Journal of Obesity, 32(7): S55-S61.

Orita, M., Iwahana, H., Kanazawa, H., Hayashi, K. and Sekiya, T. 1989. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. Proceedings of the National Academy of Sciences, 86(8): 2766-2770.

Peirson, L., Douketis, J., Ciliska, D., Fitzpatrick-Lewis, D., Ali, M. U. and Raina, P. 2014. Prevention of overweight and obesity in adult populations: a systematic review. Canadian Medical Association Open Access Journal, 2(4): 268-272.

Porte, D., Baskin, D. G. and Schwartz, M. W. 2005. Insulin signaling in the central nervous system: a critical role in metabolic homeostasis and disease from C. elegans to humans. Diabetes, 54(5): 1264-1276.

Pudel, V. and Ellrott, T. 2005. Adipositas—ein gesellschaftspolitisches Problem?. Der Chirurg, 7(76): 639-646.

Rahim, H. F. A., Sibai, A., Khader, Y., Hwalla, N., Fadhil, I., Alsiyabi, H. and Husseini, A. 2014. Non-communicable diseases in the Arab world. The Lancet, 383(9914): 356-367.

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

Rau, H., Reaves, B. J., O'Rahilly, S. and Whitehead, J. P. 1999. Truncated human leptin (δ133) associated with extreme obesity undergoes proteasomal degradation after defective intracellular transport. Endocrinology, 140(4): 1718-1723.

Roberson, L. L., Aneni, E. C., Maziak, W., Agatston, A., Feldman, T., Rouseff, M. and Nasir, K. 2014. Beyond BMI: The "Metabolically healthy obese" phenotype & its

association with clinical/subclinical cardiovascular disease and all-cause mortality--a systematic review. BMC Public Health, 14(1): 1-12.

Robinson, D. H. and Lafleche, G. J. 2000. Nucleic acid electrophoresis in agarose gels. Essential Molecular Biology: A Practical Approach, 1: 89-119.

Rudzka-Kocjan, A., Szarras-Czapnik, M. and Ginalska-Malinowska, M. 2006. Estimation of the correlation of insulin resistance and selected adipocytokines in children with simple obesity--preliminary study. Endokrynologia, diabetologia i choroby przemiany materii wieku rozwojowego: organ Polskiego Towarzystwa Endokrynologow Dzieciecych, 12(3): 211-215.

Sahin, D. S., Tumer, C., Demir, C., Celik, M. M., Celik, M., Ucar, E. and Gunesacar, R. 2013. Association with leptin gene C.-2548 G> A polymorphism, serum leptin levels, and body mass index in Turkish obese patients. Cell Biochemistry and Biophysics, 65: 243-247.

Sambrook, J. and Russell, D. W. 2006. The condensed protocols: from molecular cloning: a laboratory manual (No. Sirsi) i9780879697723. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 800 page, New York.

Sengenès, C., Miranville, A., Maumus, M., de Barros, S., Busse, R. and Bouloumié, A. 2007. Chemotaxis and differentiation of human adipose tissue CD34+/CD31− progenitor cells: role of stromal derived factor-1 released by adipose tissue capillary endothelial cells. Stem Cells, 25(9): 2269-2276.

Shawky, R. M. and Sadik, D. I. 2012. Genetics of obesity. Egyptian Journal of Medical Human Genetics, 13(1): 11-17.

Sipols, A. J., Bayer, J., Bennett, R. and Figlewicz, D. P. 2002. Intraventricular insulin decreases kappa opioid-mediated sucrose intake in rats. Peptides, 23(12): 2181-2187.

Soto, D. and Sukumar, S. 1992. Improved detection of mutations in the p53 gene in human tumors as single-stranded conformation polymorphs and double-stranded heteroduplex DNA. Genome Research, 2(1): 96-98.

Statistics, L. 2013. Obesity statistics. Primary Care: Clinics in Office Practice, 43(1): 121-135.

Strat, A. L., Kokta, T. A., Dodson, M. V., Gertler, A., Wu, Z. and Hill, R. A. 2005. Early signaling interactions between the insulin and leptin pathways in bovine myogenic

cells. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 1744(2): 164-175.

Strobel, A., Issad, T., Camoin, L., Ozata, M. and Strosberg, A. D. 1998. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. Nature Genetics, 18(3): 213-215.

Swinburn, B. A., Sacks, G., Hall, K. D., McPherson, K., Finegood, D. T., Moodie, M. L. and Gortmaker, S. L. 2011. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. The Lancet, 378(9793): 804-814.

Tao, Y. X. 2005. Molecular mechanisms of the neural melanocortin receptor dysfunction in severe early onset obesity. Molecular and Cellular Endocrinology, 239(1): 1-14.

Valassi, E., Scacchi, M. and Cavagnini, F. 2008. Neuroendocrine control of food intake. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 18(2): 158-168.

Van Der Lende, T., Te Pas, M. F. W., Veerkamp, R. F. and Liefers, S. C. 2005. Leptin gene polymorphisms and their phenotypic associations. Vitamins & Hormones, 71: 373-404.

Wasim, M. and Fakhar, N. 2014. Leptin gene mutations in morbidly obese and severely lean individuals from Punjab. Pakistan. Journal of Obesity and Weight Loss Therapy, 4(233): 2.

Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L. and Ferrante, A. W. 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. The Journal of Clinical Investigation, 112(12): 1796-1808.

WHO, World Health Organization. 2000. Obesity: preventing and managing the global epidemic. World Health Organization, 2000.

WHO, World Health Organization. 2015. Interim report of the commission on ending childhood obesity. World Health Organization, 2015.

Williams, L. J., Vandenberg, R. J. and Edwards, J. R. 2009. 12 structural equation modeling in management research: A guide for improved analysis. The Academy of Management Annals, 3(1): 543-604.

Ye, J. and Keller, J. N. 2010. Regulation of energy metabolism by inflammation: a feedback response in obesity and calorie restriction. Aging, 2(6): 361.

Yeo, G. S., Farooqi, I. S., Aminian, S., Halsall, D. J., Stanhope, R. G. and O'Rahilly, S. 1998. A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. Nature Genetics, 20(2): 111-112.

Zhang, C., Zhang, W., Luo, H., Yue, W., Gao, M. and Jia, Z. 2008. A new single nucleotide polymorphism in the IGF-I gene and its association with growth traits in the Nanjiang Huang goat. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 21(8): 1073-1079.

Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L. and Friedman, J. M. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature, 372(6505): 425-432.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Halah Qahtan Abed ABED

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2020-Halen
Lisans	Diyala Üniversitesi EğitimFakültesi Biyoloji Bölümü	2007-2011