T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

PEDİATRİK OBEZİTEDE ENERJİ HOMEOSTAZI İLE İLGİLİ PARAMETRELER VE İLİŞKİLİ RESEPTÖR PROFİLLERİ

EZGİ KÜRKÇÜ KAHRAMAN

PROF. DR. ORKİDE DONMA

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA DOKTORA PROGRAMI

İSTANBUL-2022

Doktora tez çalışmamı her zaman yanımda olan ve akademik hayatım boyunca desteğini hiçbir zaman esirgemeyen eşim ve tüm aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Öğrencisi olmaktan onur duyduğum, tüm doktora eğitimim boyunca engin bilgi, deneyim ve sevgisi ile her zaman yanımda olan desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, değerli hocam tez danışmanım Prof. Dr. Orkide DONMA'ya,

Doktora eğitimim boyunca engin bilgi, deneyim ve değerlendirmelerini paylaşan ve kendisini tanımaktan büyük bir mutluluk duyduğum İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Hüseyin Avni SÖNMEZ'e,

Tez izleme komitemde yer alan, bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman paylaşmaktan çekinmeyen, her konuda yardımcı olan ve kendisini tanımaktan büyük bir mutluluk duyduğum İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD öğretim üyesi değerli hocam Prof. Dr. Yıldız DİNÇER'e,

Tez izleme komitemde yer alan, bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan çekinmeyen, her konuda kolaylık sağlayan ve kendisini tanımaktan büyük bir mutluluk duyduğum İstanbul Maltepe Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya ABD Başkanı değerli hocam Doç. Dr. Mustafa Erinç SİTAR'a,

Tez çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübeleriyle yardımlarından ötürü Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD Öğretim üyesi değerli hocam Prof. Dr. Mustafa Metin DONMA'ya,

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD'ndaki tüm hocalarıma,

Tez çalışmamdaki verilerin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyoistatistik ABD Dr. Öğr. Üyesi Ömer UYSAL'a,

Tez çalışmamda laboratuvarlarını kullanma olanağı sağlayan Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD Başkanı Prof. Dr. Savaş GÜZEL'e,

Tez çalışmamda örnek gruplarının oluşturulması, toplanması ve laboratuvar çalışmaları aşamasında tüm yardımları ve içten arkadaşlığı için Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Arş. Gör. Ahsen YILMAZ'a,

Maddi desteğinden dolayı İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi' ne teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 34574

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... Xİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... XİV
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... XVİİ
ÖZET ..... XİX
ABSTRACT XX
1. GİRİŞ ve AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Obezite 4
2.2. Çocuk ve Adolesanlarda Obezite 4
2.3. Pediatrik Obezite Nedenleri ve Sonuçları 5
2.4. Dünyada ve Türkiye'de Pediatrik Obezite 9
2.5. Leptin ve Leptin Reseptörü (LEPR) 12
2.6. Ghrelin ve Ghrelin Reseptörü (Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör=GHSR) 14
2.7. Kisspeptin ve Kispeptin Resepörü (KISS1 ve KISS1R) 17
2.8. Preptin 19
2.9. PPAR γ (Peroksizom proliferatör aktive reseptör gama) 21
2.10. NLRP3 (Nod-like receptor pyrin domain-containing 3) 21
2.11. IL-18 (İnterlökin 18) 23
2.12. Biotin 24
3. GEREÇ VE YÖNTEM 28
3.1. Biotin Çalışması 29
3.2. Kullanılan Cihaz ve Aletler 29
3.3. Kullanılan Kit ve Kimyasallar 30
3.4. Leptin ELISA Kiti 32
3.4.1. Çalışma Prensibi 32
3.4.2. İçerdiği Kimyasallar 32

3.4.3. Çalışma Planı ……..32
3.4.4. Protokol ……...……33
3.4.5. Sonuçların Hesaplanması ……33
3.5. LEPR ELISA Kiti ……..……33
3.5.1. Çalışma Prensibi……..33
3.5.2. İçerdiği Kimyasallar ……34
3.5.3. Çalışma Planı ……..35
3.5.4. Protokol ……...35
3.5.5. Sonuçların Hesaplanması ……35
3.6. Ghrelin ELISA Kiti ……..…..36
3.6.1. Çalışma Prensibi……..36
3.6.2. İçerdiği Kimyasallar ……36
3.6.3. Çalışma Planı ……..…37
3.6.4. Protokol ……...37
3.6.5. Sonuçların Hesaplanması ……37
3.7. Açile Ghrelin ELISA Kiti……..……...….37
3.7.1. Çalışma Prensibi……..37
3.7.2. İçerdiği Kimyasallar ……38
3.7.3. Çalışma Planı ……..…39
3.7.4. Protokol ……...39
3.7.5. Sonuçların Hesaplanması ……39
3.8. Deaçile Ghrelin ELISA Kiti……..39
3.8.1. Çalışma Prensibi……..39
3.8.2. İçerdiği Kimyasallar ……40
3.8.3. Çalışma Planı ……..…40
3.8.4. Protokol ……...41
3.8.5. Sonuçların Hesaplanması ……41
3.9. GHSR ELISA Kiti ……..42
3.9.1. Çalışma Prensibi……..42
3.9.2. İçerdiği Kimyasallar ……42
3.9.3. Çalışma Planı ……..…42
3.9.4. Protokol ……...43
3.9.5. Sonuçların Hesaplanması ……43

3.10. Ghrelin Kompetitif ELISA Kiti ……..……43
3.10.1. Çalışma Prensibi……..43
3.10.2. İçerdiği Kimyasallar ……44
3.10.3. Çalışma Planı ……..…45
3.10.4. Protokol ……...45
3.10.5. Sonuçların Hesaplanması ……45
3.11. KISS1 ELISA Kiti……..45
3.11.1. Çalışma Prensibi……..45
3.11.2. İçerdiği Kimyasallar ……46
3.11.3. Çalışma Planı ……..…47
3.11.4. Protokol ……...47
3.11.5. Sonuçların Hesaplanması ……47
3.12. KISS1 Kompetitif ELISA Kiti…….……48
3.12.1. Çalışma Prensibi……..48
3.12.2. İçerdiği Kimyasallar ……48
3.12.3. Çalışma Planı ……..…49
3.12.4. Protokol ……...49
3.12.5. Sonuçların Hesaplanması ……50
3.13. KISS1R ELISA Kiti……50
3.13.1. Çalışma Prensibi……..50
3.13.2. İçerdiği Kimyasallar ……51
3.13.3. Çalışma Planı ……..…51
3.13.4. Protokol ……...51
3.13.5. Sonuçların Hesaplanması ……52
3.14. Preptin ELISA Kiti…….……..52
3.14.1. Çalışma Prensibi……..52
3.14.2. İçerdiği Kimyasallar ……53
3.14.3. Çalışma Planı ……..…53
3.14.4. Protokol ……...53
3.14.5. Sonuçların Hesaplanması ……54
3.15. PPAR γ ELISA Kiti……..54
3.15.1. Çalışma Prensibi……..54
3.15.2. İçerdiği Kimyasallar ……55

3.15.3. Çalışma Planı ……..…55
3.15.4. Protokol ……...55
3.15.5. Sonuçların Hesaplanması ……56
3.16. NLRP3 ELISA Kiti……..57
3.16.1. Çalışma Prensibi……..57
3.16.2. İçerdiği Kimyasallar ……57
3.16.3. Çalışma Planı ……...…57
3.16.4. Protokol ……...58
3.16.5. Sonuçların Hesaplanması ……58
3.17. IL-18 ELISA Kiti……...……..58
3.17.1. Çalışma Prensibi……..58
3.17.2. İçerdiği Kimyasallar ……59
3.17.3. Çalışma Planı ……..…60
3.17.4. Protokol ……...60
3.17.5. Sonuçların Hesaplanması ……60
3.18. Biotin (Vitamin H) Sandviç ELISA Kiti……..……60
3.18.1. Çalışma Prensibi……..60
3.18.2. İçerdiği Kimyasallar ……61
3.18.3. Çalışma Planı ……...…62
3.18.4. Protokol ……...62
3.18.5. Sonuçların Hesaplanması ……62
3.19. Biotin Kompetitif ELISA Kiti……..……62
3.19.1. Çalışma Prensibi……..62
3.19.2. İçerdiği Kimyasallar ……63
3.19.3. Çalışma Planı ……...…63
3.19.4. Protokol ……...64
3.19.5. Sonuçların Hesaplanması ……64
3.20. İstatistiksel Değerlendirme……...……65
4. BULGULAR…….66
4.1. Antropometrik Ölçümler……66
4.2. ELISA Çalışmaları……...……..70
4.3. Biotin Çalışmaları……105

5. TARTIŞMA 160
KAYNAKLAR 182
FORMLAR 216
ETİK KURUL KARARI 219
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....220
ÖZGEÇMİŞ 221

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.12-1: Biotinin günlük yeterli alım miktarı- (206)……....25

Tablo 3-1: Laboratuvar çalışmalarında kullanılan kit ve kimyasallar……...30

Tablo 4.1-1: Kontrol ve obez çocuk gruplarına ilişkin antropometrik özellikler (BKİ: Beden Kitle İndeksi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma)……67

Tablo 4.1-2: Kontrol ve obez çocuk gruplarına ilişkin antropometrik oranlar…….67

Tablo 4.1-3: Antropometrik verilerin korelasyonu……..68

Tablo 4.2-1: Kontrol ve obez gruplarda elde edilen parametrelere ilişkin olgu sayısı, medyan, ortalama ± standart sapma, minimum-maksimum ve p değerleri……..70

Tablo 4.2-2: Kontrol ve obez çocuk gruplarında NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonunu……..73

Tablo 4.2-3: Kontrol ve obez gruplarda iki farklı yöntemle çalışılan parametrelere ilişkin örnek sayısı, medyan, ortalama ± standart sapma, minimum-maksimum ve p değerleri..97

Tablo 4.2-4: Antropometrik parametreler ile ELISA parametreleri arasındaki korelasyon……97

Tablo 4.3-1: İki farklı yöntemle çalışılan biotin parametresinin korelasyonu……...….105

Tablo 4.3-2: Biotin parametresine ilişkin örnek sayısı, medyan, minimum-maksimum ve p değerleri……..106

Tablo 4.3-3: İki farklı yöntemle çalışılan biotin parametresinin kontrol ve obez gruplardaki korelasyonu……106

Tablo 4.3-4: Eklenen biotin miktarına göre örnek sayısı, medyan, minimum-maksimum değerleri…….109

Tablo 4.3-5: Biotin parametresinin alt gruplarına ilişkin örnek sayısı, medyan, minimum-maksimum ve p değerleri……...113

Tablo 4.3-6: Biotin parametresinin alt gruplarına ilişkin 2'li grup karşılaştırmalarının örnek sayısı ve p değerleri (post hoc test olarak Bonferroni düzeltmeli Mann- Whitney U testi)……...….114

Tablo 4.3-7: Biotinin, ELISA araştırma kitleri üzerinde yarattığı interferans etkisini belirlemek için yapılan analize ilişkin örnek sayısı, medyan, minimum-maksimum ve p değerleri…….116

Tablo 4.3-8: Biotinin, ELISA araştırma kitleri üzerinde yarattığı interferans etkisini belirlemek için yapılan analize ilişkin örnek sayısı, ortalama ± standart sapma, minimum-maksimum ve p değerleri……...117

Tablo 4.3-9: NLRP3, leptin, grelin, grelin kompetitif, açile grelin, deaçile grelin, preptin, PPAR γ, IL-18 parametrelerine ilişkin korelasyon değerleri……..119

Tablo 4.3-10: GHSR, KISS1 sandviç, KISS1 kompetitif, KISS1R, LEPR parametrelerine ilişkin korelasyon değerleri……...….123

Tablo 4.3-11: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotin eklenerek çalışan NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 araştırma kitleriyle yapılan analizin alt gruplarına ilişkin örnek sayısı, ortalama ± standart sapma, medyan, minimum-maksimum değerleri……141

Tablo 4.3-12: Eklenen biotin miktarına göre (10, 50, 500, 1000 ng/ml) NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin örnek sayısı, medyan, ortalama ± standart sapma, minimum-maksimum ve p değerleri……...147

Tablo 4.3-13: Sağlıklı ve obez gruplardaki 10, 50, 500, 1000 ng/ml eklenen biotin miktarına göre ELISA parametrelerinin örnek sayısı, ortalama ± standart sapma ve medyan değerleri……150

Tablo 4.3-13: Sağlıklı ve obez gruplardaki 10, 50, 500, 1000 ng/ml eklenen biotin miktarına göre ELISA parametrelerinin örnek sayısı, ortalama ± standart sapma ve medyan değerleri (Devam)…….151

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.4-1: Dünyada çocuklar ve adolesanlar arasında obezite prevalansı, BMI> +2 standart sapma medyanın üzerinde (%) (95)'den değiştirilerek……...11

Şekil 2.4-2: COSI-TUR 2016 verileri……...11

Şekil 2.5-1: İnsan leptinin yapısı- (109)……...12

Şekil 2.6-1: İnsan grelininin yapısı ve oktanoik asidin GOAT ile modifikasyon süreci- (130)…….15

Şekil 2.7-1: İnsanlarda kisspeptinlerin ana yapısı - (162)'den değiştirilerek……....18

Şekil 2.7-2: KISS 10 yapısı- (164)……...19

Şekil 2.8-1: Preptinin (1-8) yapısı- (175)…….....20

Şekil 2.9-1: Bir agonist ile kompleks halinde insan PPAR γ ligand bağlama alanının kristal yapısı- (188)……..22

Şekil 2.10-1: NLRP3 şematik yapısı- (193)……..22

Şekil 2.11-1: İnsan IL-18'inin kristal yapısı- (203, 204)……...23

Şekil 2.12-1: Biotinin kimyasal yapısı- (211)……...25

Şekil 3-1: Leptin parametresinin standart grafiği…….34

Şekil 3-2: LEPR parametresinin standart grafiği……..36

Şekil 3-3: Grelin parametresinin standart grafiği……..38

Şekil 3-4: Açile Grelin parametresinin standart grafiği……....40

Şekil 3-5: Deaçile Grelin parametresinin standart grafiği…….....41

Şekil 3-6: GHSR parametresinin standart grafiği…….....44

Şekil 3-7: Grelin Kompetitif parametresinin standart grafiği……...46

Şekil 3-8: KISS1 parametresinin standart grafiği…….....48

Şekil 3-9: KISS1 Kompetitif parametresinin standart grafiği……...50

Şekil 3-10: KISS1R parametresinin standart grafiği…….....52

Şekil 3-11: Preptin parametresinin standart grafiği……..54

Şekil 3-12: PPAR γ parametresinin standart grafiği…….....56

Şekil 3-13: NLRP3 parametresinin standart grafiği……..59

Şekil 3-14: IL-18 parametresinin standart grafiği…….....61

Şekil 3-15: Biotin sandviç parametresinin standart grafiği……...63

Şekil 3-16: Biotin kompetitif parametresinin standart grafiği……..64

Şekil 4.2-1: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin konsantrasyon değişimleri…….....72

Şekil 4.2-1: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin konsantrasyon değişimleri (Devam)…….……..83

Şekil 4.2-2: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonları……..89

Şekil 4.2-2: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonları (Devam)…….……..90

Şekil 4.2-3: Kontrol ve obez grublar arasında antropometrik veriler ile ELISA parametrelerinin korelasyonu…….....100

Şekil 4.2-3: Kontrol ve obez grublar arasında antropometrik veriler ile ELISA parametrelerinin korelasyonu (Devam)……..101

Şekil 4.3-1: İki farklı yöntemle çalışılan biotin parametresinin korelasyon grafiği…....105

Şekil 4.3-2: Sağlıklı kontrol ve obez çocukların biotin konsantrasyonlarına ilişkin grafik…….....107

Şekil 4.3-2: Sağlıklı kontrol ve obez çocukların biotin konsantrasyonlarına ilişkin grafik (Devam)…….108

Şekil 4.3-3: İki farklı yöntemle çalışılan biotin parametresinin obez ve kontrol gruplarındaki korelasyon grafikleri……....108

Şekil 4.3-4: Obez ve kontrol gruplarındaki eklenen biotin miktarına göre sandviç ELISA biotin konsantrasyonu…….....112

Şekil 4.3-5: Obez ve kontrol gruplarındaki eklenen biotin miktarına göre kompetitif ELISA biotin konsantrasyonu……....112
Şekil 4.3-6: Biotin sandviç parametresinin obez ve sağlıklı gruplardaki biotin konsantrasyonunu gösteren grafik…….….115
Şekil 4.3-7: Biotin kompetitif parametresinin obez ve sağlıklı gruplardaki biotin konsantrasyonunu gösteren grafik……..115
Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonlar……..125
Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam)…….126
Şekil 4.3-9: Sağlıklı ve obez gruplarda biotin miktarı ile ELISA parametrelerinin konsantrasyonlarını gösteren grafik……...152
Şekil 4.3-9: Sağlıklı ve obez gruplarda biotin miktarı ile ELISA parametrelerinin konsantrasyonlarını gösteren grafik (Devam)……153

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AACC : Amerikan Klinik Kimya Derneği

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

ACTH : Adrenokortikotropik hormon

AGRP : Aguti ile ilişkili peptit

AMPK : Hipotalamik 5' AMP ile aktive olan protein kinazın

ASC : Apoptozla ilişkili benek benzeri protein

BKİ : Beden kitle indeksi

CART : Kokain ve amfetamin tarafından düzenlenen transkript

CRP : C-reaktif protein

DIO : Diyete bağlı obezite

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

ELISA : Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

FDA : ABD Gıda ve İlaç İdaresi

FT3 : Serbest triiyodotironin

FT4 : Serbest tiroksin

GHSR : Grelin reseptörü =Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör

GOAT : Grelin O-açiltransferaz enzimi

HbA1c : Hemoglobin A1c

HDL : Yüksek yoğunluklu lipoprotein

HOMA-IR : İnsülin Direncinin Homeostatik Modeli Değerlendirmesi

HRP : Horseradish Peroxidase

IFN γ : İnterferon gama

IL-1β : İnterlökin 1 beta

IL-18 : İnterlökin 18

IL-18R : İnterlökin 18 reseptörü

IGF-2R : İnsülin benzeri büyüme faktörü II reseptörü

KISS : Kisspeptin

KISS1 : Kisspeptin 1

KISS1R : Kisspeptin reseptörü

KISS1R KO fareleri : KISS sinyali olmayan fareler

LEPR : Leptin Reseptörü

LepRb=ObRb: : Leptin Reseptörünün uzun formu

NLRP3 : Nod-like receptor pyrin domain-containing 3

NPY : Nöropeptid Y

Ort : Ortalama

POMC : Proopiomelanokortin

PPAR γ : Peroksizom proliferatör aktive reseptör gama

pro-IGF-II : Proinsülin büyüme faktörü II

PTH : Paratiroid homron

SPSS : **S**tatistical **P**ackage for the **S**ocial **S**ciences

SS : Standart Sapma

TMB : Tetrametil benzidin

TSH : Tiroid uyarıcı hormon

ÖZET

KÜRKÇÜ KAHRAMAN, E. (2022). Pediatrik Obezitede Enerji Homeostazı İle İlgili Parametreler ve İlişkili Reseptör Profilleri. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Dünya genelinde epidemik oranlara ulaşan çocukluk çağı obezitesi, yetişkinlikteki obezite ile bağlantılı olup, özellikle morbid obezite, diyabet, kanser, kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi nedeniyle ciddi sorunlara yol açmaktadır. Diyet takviyelerinde bulunan biotin, laboratuvar testlerinde interferans oluşturarak yanlış sonuçlara neden olabilmektedir. Amaç; sağlıklı ve obez çocuklarda enerji homeostazına katkı sağlayan belirteçlerin değerlendirilerek olası ilişkilerin belirlenmesi ve biotin interferansının araştırma kitleri üzerine etkilerinin saptanmasıdır. Serumda leptin, leptin reseptörü (LEPR), grelin, açile grelin, deaçile grelin, grelin reseptörü (GHSR), kisspeptin (KISS1), kisspeptin reseptörü (KISS1R), preptin, peroksizom proliferatör aktive reseptör gama (PPAR γ), nod-like receptor pyrin domain-containing 3 (NLRP3), interlökin-18 (IL-18) düzeyleri otuz obez ve otuz sağlıklı çocukta ELISA ile belirlenmiştir. Serum havuzları hazırlanarak farklı miktarlarda biotin içeren örneklerin biotin konsantrasyonları iki ayrı yöntemle ölçülmüştür. Farklı miktarlarda biotin içeren serum havuzlarında çalışma parametrelerinin konsantrasyonları belirlenerek olası biotin interferansı araştırılmıştır. İstatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, sağlıklı çocuklara göre obez çocuklarda leptin, LEPR, deaçile grelin, KISS1 sandviç, KISS1 kompetitif, NLPR3, preptin, PPAR γ düzeyleri daha yüksek, grelin kompetitif, GHSR düzeyleri ise daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$). İnterferans çalışmalarında; biotin kompetitif, grelin kompetitif, KISS1 kompetitif, GHSR, leptin ve LEPR kitleriyle daha tutarlı sonuçlar elde edilmiştir. Biotin sandviç kitiyle beklenmeyen yüksek değerler elde edilmiştir. Sonuç olarak, parametrelerde gözlenen değişiklikler çocuklarda enerji homeostazı ile ilişkili olduğundan, obezitenin değerlendirilmesi için yardımcı olabilecektir. Biotinin iyi çalışan, kaliteli kitlerde dahi interferans etkisinin olduğu, bu olumsuz etkinin kompetitif kitlerde daha az görüldüğü saptanmıştır. Biotin interferansı; araştırma kitinin kalitesi, çalışılan parametreler ve kandaki yüksek biotin konsantrasyonları ile yakından ilişkilidir.

Anahtar Kelimeler: Biotin, çocuk, enerji, interferans, obezite

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 34574

ABSTRACT

KURKCU KAHRAMAN, E. (2022). Energy Homeostasis Parameters and Associated Receptor Profiles in Pediatric Obesity. Istanbul University-Cerrahpasa, Institute of Graduate Studies, Department of Medical Biochemistry. Doctoral Thesis. Istanbul.

Childhood obesity reaching epidemic proportions globally is linked to obesity in adulthood and causes severe problems particularly due to its relationship with morbid obesity, diabetes, cancer and cardiovascular diseases. Biotin in dietary supplements causing interference with laboratory tests may lead to false results. The aim was to determine possible relationships by evaluating markers contributing to energy homeostasis in healthy and obese children and to detect the effects of biotin interference on research kits. Serum leptin, leptin receptor (LEPR), ghrelin, acylated ghrelin, deacylated ghrelin, ghrelin receptor (GHSR), kisspeptin (KISS1), kisspeptin receptor (KISS1R), preptin, peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR γ), nod-Like receptor pyrin domain-containing 3 (NLRP3), interleukin-18 (IL-18) levels of thirty obese and thirty healthy children were determined using ELISA. Serum pools were prepared and biotin concentrations of samples containing different amounts of biotin were measured by two different methods. Possible biotin interference was investigated by determining concentrations of study parameters in serum pools containing different amounts of biotin. Statistical analyses were performed. Leptin, LEPR, deacyl ghrelin, KISS1 sandwich, KISS1 competitive, NLPR3, preptin, PPAR γ levels were higher, ghrelin competitive and GHSR levels were lower in obese children compared to healthy children ($p<0.05$). In interference studies; more consistent results were obtained with biotin competitive, ghrelin competitive, KISS1 competitive, GHSR, leptin, and LEPR kits. Unexpectedly high levels were obtained with the biotin sandwich kit. In conclusion, since changes observed in parameters were associated with energy homeostasis in children, they may be helpful for the obesity assessment. Biotin exhibited an interference effect even in well-functioning, qualified kits, and this negative effect was less common in competitive kits. Biotin interference was closely associated with the quality of the research kit, the parameters studied and high biotin concentrations in the blood.

Key Words: Biotin, child, energy, interference, obesity

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University-Cerrahpasa. Project No: 34574

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite prevalansındaki artış, yetişkinlerde olduğu kadar çocuklarda ve adolesanlarda da dünya çapında önemli bir sağlık problemi haline dönüşmüştür (1). Çocukluk çağındaki obezite, yetişkin obezitesi için bir zemin oluşturmakta ve özellikle morbid obezite, diabetes mellitus, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkisi nedeniyle önemli bir sorundur (2-6).

Leptin, yağ dokusu tarafından üretilir ve düzeyleri, vücut yağ kütlesi miktarıyla orantılıdır, ancak gıda alımına yanıt olarak da leptin düzeylerinde değişimler gözlenebilir. Leptin çoğunlukla iştah bastırmasıyla bilinir ancak enerji harcaması, insülin duyarlılığı ve glukoz homeostazı gibi olayları da kontrol ettiği gösterilmiştir (7-10). Yüksek yağ içeren diyet kaynaklı obezite, azalmış leptin reseptörü sinyalleşmesiyle birlikte dolaşımdaki yüksek leptin düzeyleri ile ilişkilidir ve bu da leptin direnci olarak tanımlanır (11-14).

Grelin, büyüme hormonunun sekretagog reseptörlerine endojen ligand olan açillenmiş bir peptiddir. Oktanoik asit bağlanmış peptid hormonu grelin, iştah ve glisemik kontrolü düzenler. Oktanoik asit bağlanmamış deaçile form, grelinin bazı etkilerini ortadan kaldırır, ancak grelin reseptörüne bağlanmaz (15). Grelin reseptörünün (Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör=GHSR) çok sayıdaki alt tiplerinin varlığına rağmen, grelinin enerji metabolizması, obezite ve diyabet üzerindeki etkileri klasik reseptörü GHSR tip 1a üzerinden gerçekleşir (16). İnsan serumunda açile grelinden çok daha fazla miktarlarda bulunan deaçile grelinin, herhangi bir endokrin etkisi yokmuş gibi görülmekle birlikte, muhtemelen farklı GHSR alt tipleri veya reseptör ailelerini bağlayarak kardiyovasküler ve antiproliferatif etkiler dahil olmak üzere bazı endokrin dışı eylemlerde etkin olabileceği düşünülmektedir (17-19). Enerji dengesini kontrol eden hipotalamik devrelerin obezite tarafından bozulması arkuat Nöropeptid Y (NPY)/Aguti ile ilişkili peptit (AGRP) nöronlarındaki grelin direncinin obezitenin bir sonucu meydana geldiği ve grelin direncinin obeziteye karşı tasarlanmış koruyucu bir mekanizma olabileceği düşünülmektedir (20).

Nöropeptid kisspeptin (KISS)'in, kisspeptin reseptörü (KISS1R) yoluyla gonadotropin salgılayan hormonun nöronlarını uyararak üremeyi düzenlediği ve enerji dengesinin kontrolünde aktif bir rol oynadığı bilinmektedir (21, 22). Eksojen KISS uygulamasının, insülin salınımına bağlı serum lipitlerini arttırdığı ayrıca pankreas adacık hücreleri üzerine olan etkisiyle glukoz ile uyarılmış insülin sekresyonunu yükselttiği gösterilmiştir (23, 24). KISS'in sinyal yolaklarındaki bir bozulmanın metabolizmayı yavaşlattığı, glukoz intoleransına neden olduğu, obeziteyi teşvik ettiği ortaya konmuştur (21).

Preptin, pankreas β hücreleri tarafından salgılanan, insülin sekresyonunu arttırdığı kabul edilen proinsülin büyüme faktörü II'nin (pro-IGF-II) bir türevi olup, glukoz aracılı insülin sekresyonu ile lipit, protein ve karbohidrat metabolizmalarının düzenlenmesini sağlar (25, 26). Preptin, glukoz aracılı insülin sekresyonunu arttırırken, endojen preptinin antipreptin antikorları ile bağlanmasının glukoz aracılı insülin sekresyonunu azalttığı gösterilmiştir. Dolayısıyla preptin, enerji tüketimini düzenleyen bir hormondur (26, 27). Preptinin tip 2 diyabet patogenezinde etkin olduğu ifade edilmektedir (28). Aşırı kilolu ve obez yetişkinlerde serum preptin değerlerinde artış gözlenmiştir (29).

Peroksizom proliferatör aktive reseptör gama (PPAR γ), adipoz dokuda bulunan bir transkripsiyon faktörüdür, adipositlerin farklılaşması ve işlevinde rol oynar (30, 31). Artan serbest yağ asidi düzeyleri ile adipoz doku dışı dokularda lipit birikimi, insülin direncinin gelişmesinde etkilidir. Bu durum, yağ asidi depolanmasını ve glukoz homeostazını etkileyen adiposit orijinli hormonların ekspresyonunu düzenleyen PPAR γ ligandları ile ilişkilidir (32). Obezite, diyabet ve kanserde anormal PPAR γ sinyalleri gözlenmiştir (33). Beyinde, PPAR γ, beslenme davranışını, enerji dengesini ve leptin duyarlılığını etkiler (34-36).

Tip 2 diyabet, insülin direnci ve obezite ile ilişkilendirilen inflamazom, NLRP3 (Nod-like receptor pyrin domain-containing 3)'dür (37). Bu parametre, doğuştan bağışıklık yanıtının oluşmasında rol alan pro-enflamatuar sitokinlerden interlökin 1 beta (IL-1β) ve interlökin 18 (IL-18)'in salınımını tetikler. NLRP3 aktivasyonu obezite ve insülin direncinin temel özelliği olan sistemik kronik düşük düzeyde enflamasyon ve enerji homeostazının düzenlenmesi ile ilişkilidir (38-40). Obez çocuk ve yetişkinlerde, sitokin ve NLRP3 düzeylerinin yükseldiği

bilinmektedir (41-43). Obez bireylerde yağ dokusunun pro- ve anti-enflamatuar sitokinlerin salgılanmasını etkilediği (41), pro-enflamatuar sitokinlerden IL-18'in yüksek düzeylerinin tip 2 diyabet gelişiminde etkin olduğu gösterilmiştir (44). Aktif IL-18'in, aktif olmayan öncü bileşiklerden, inflamazom adı verilen büyük çok-proteinli kompleksler tarafından aktive edilen proteaz kaspazı-1 ile bölünmesiyle üretildiği ve olgunlaşarak aktifleştiği gösterilmiştir (45, 46). Merkezi veya periferik IL-18 sinyalizasyonunun aktivasyonu yetişkinlik döneminde gıda alımını, vücut ağırlığını, yağlanmayı ve metabolizmayı modüle etmekte ve enerji homeostazını kontrol edebileceği düşünülmektedir (47).

Multivitaminler gıda takviyeleri olarak günümüzde çok sık kullanılmaktadır. Bazı multivitaminler 100 mg'dan yüksek dozlarda suda çözünen bir vitamin olan biotin içerebilmektedir (48-51). Biotin kozmetik sektöründe de 20 mg'dan yüksek dozlarda kullanılmaktadır (52-54). Diyet takviyelerinde bulunan biotinin belirli laboratuvar testlerine önemli ölçüde interferans yaratarak yanlış sonuçlara neden olabileceği uyarısında bulunulmuştur (55). Laboratuvar çalışmalarında genellikle streptavidin ve biotin etkileşimine dayalı immünokimyasal yöntemler kullanılmakta ve endojen yüksek biotin düzeylerinin yarattığı interferans, immünolojik testlerde yanlış düşük (sandviç) ya da yanlış yüksek (kompetitif) sonuçlara yol açmaktadır (56, 57). Otomatize sistemlerdeki immünometrik yöntemlerin biotin etkileşimi nedeniyle hatalı sonuç verme riskini azaltma konusunda çalışmalar yapılmıştır (58-61).

Bununla beraber, birçok bilimsel araştırmada kullanılan manuel ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemi ile çalışılan araştırma kitleri için böyle bir çalışma henüz yapılmamıştır. Tez çalışmamızda ELISA kitlerinin oluşturulma prensipleri çerçevesinde farklı biotin konsantrasyonlarının, değişik serum grupları üzerindeki olası etkilerinin de incelenmesi hedeflenmiştir. Obeziteyi teşvik eden parametrelerin neler olduğunun belirlenmesine yönelik olarak normal beden kitle indeksli (BKİ) sağlıklı çocuklar ile obez çocuklarda, enerji homeostazına katkı sağlayan parametreler ve ilişkili reseptör profilleri ile ilgili belirteçler ve birbirleri ile olan olası ilişkilerinin değerlendirilmesi, ayrıca biotin interferansının araştırma kitleri üzerine nasıl bir etki gösterdiğinin ortaya konması araştırmanın temel amacını oluşturmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite

Obezite; günlük kalori alımının, tüketiminden daha fazla olduğu kronik kalori dengesizliğinin bir sonucu olarak ifade edilmektedir (62). Düşük düzeyde sistematik enflamasyon ile karakterize bir durum olan obezite bugün küresel olarak halk sağlığını tehdit eden en önemli sağlık sorunlarından biridir. Yüksek oranda yağlı beslenme, uykusuzluk, sedanter (hareketsiz) yaşam tarzı, nörolojik ve endokrin bozukluklar obezitenin en yaygın nedenleri olarak gösterilmektedir (63, 64). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2016 yılındaki verileri 18 yaş ve üstündeki yetişkin bireylerde 1,9 milyardan fazla kişinin fazla kilolu olduğu, bunların arasından da 650 milyondan fazla kişinin obez olduğu gerçeğini ortaya koymaktadır (65).

Fazla kilolu veya obez kişilerde yüksek oranda vücut yağı bulunmaktadır. Bu durum nefes darlığı, terlemenin artması, eklem ağrısı ve yorgunluk gibi sağlık sorunlarına neden olarak günlük yaşamı olumsuz etkilerken, kalp rahatsızlığı, felç, karaciğer hastalığı, hipotiroidizm, solunum problemleri, osteoartrit, safra kesesi hastalığı, cinsel ve üreme sorunları ve çeşitli kanser tipleri gibi ciddi sağlık komplikasyonları riskini de artırmaktadır (66).

2.2. Çocuk ve Adolesanlarda Obezite

Günümüzde çocukluk ve adolesan obezitesi de tıpkı yetişkin obezitesinde olduğu gibi ciddi bir halk sağlığı sorunudur üstelik çocukluk çağı obezitesi, hem yetişkin sağlığı hem de uzun ömürlülük için tehdit oluşturmaktadır (62). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'ndeki 2011-2014 verilerine göre 2 ila 19 yaş arası çocuk ve adolesanları kapsayan bir çalışmada obezite prevalansı % 17,0 ve ileri düzey obezite % 5,8 olarak bulunmuştur (67).

Çocuklarda ve adolesanlarda obezite, BKİ'ne göre belirlenmektedir. BKİ ise kilogram (kg) cinsinden ağırlığın metre cinsinden boyun karesine (m^2) bölünmesiyle hesaplanmaktadır (kg/m^2) (67, 68).

Çocuk ve adolesanlarda BKİ yaş ve cinsiyete göre değişerek farklı şekillerde tanımlanmaktadır. 2 ila 20 yaş arasında;

Beden kitle indeksi değeri yaş ve cinsiyete göre 85. ve 95. persentil arasında olanlar ‘‘Kilolu’’

Beden kitle indeksi değeri yaş ve cinsiyete göre 95. persentil veya daha üstünde olanlar ‘‘Obez’’

Beden kitle indeksi değeri 95. persentil diliminin %120'sinde veya üstünde ya da 35 kg/m^2 'nin üzerinde ise ‘‘İleri düzeyde obez (Morbid obez)’’ olarak tanımlanır (2, 69,70).

Beden kitle indeksi ölçümü klinik pratikteki uygulama kolaylığı nedeni ile en çok kullanılan değerlendirme kriteri olmasına rağmen, BKİ’nin obeziteyi tanımlamasında bazı kısıtlılıklar mevcuttur. Bu kısıtlılıklardan en çok etkilenenler orta BKİ’ne sahip kişiler, çocuklar ve yaşlılardır (71).

Dünya Sağlık Örgütü’ne göre çocukların değerlendirilmesinde kullanılan üç farklı sistem vardır. Bunlar; Z skorları (standart sapma skorları), yüzdelikler ve ortanca yüzdesidir. Z-skoru, diğer yöntemlere kıyasla avantajları nedeniyle antropometrik verilerin analizi ve sunumu için en iyi sistem olarak kabul edilmektedir. Z-skor sistemi, antropometrik değeri, referans ortalamanın veya medyan değerinin altında veya üstünde bir dizi standart sapma veya Z-skoru olarak ifade edilir. Sabit bir Z-skor aralığı, belirli bir yaştaki çocuklar için sabit bir boy veya kilo farkı anlamına gelmektedir (72, 73).

Dünya Sağlık Örgütü’nün okul çağındaki çocuklar ve adolesanlar için aşırı kilo ve obezite kriteri;

Aşırı kilo = yaşa ve cinsiyete göre 1 standart sapma BKİ

Obez = yaşa ve cinsiyete göre 2 standart sapma BKİ olarak ifade edilir (74).

2.3. Pediatrik Obezite Nedenleri ve Sonuçları

Obezitenin ortaya çıkmasındaki faktörlerin; genetik yatkınlık, çevre faktörleri, metabolik özellikler, alışkanlıklar, kültürel ve sosyoekonomik etkiler olduğu bilinmektedir (62).

Çocukluk çağı obezitesinin nedenleri arasında ise;

- Aşırı oranda gıda alımı,

- Yüksek kalorili şekerli içeceklerin tüketilmesi,
- Atıştırmalıklar,
- Porsiyon ölçüsü,
- Egzersiz veya fiziksel aktiviteden uzak kalınması,
- Çevresel faktörler,
- Sosyokültürel faktörler,
- Aile faktörü,
- Psikolojik faktörler
- Çeşitli genetik faktörler
- Endokrinolojik faktörler
- Çeşitli ilaçlar

Sayılabilir (75-78).

Enerji alımı ile enerji harcaması arasındaki dengeyi sağlayan birçok fizyolojik mekanizma vücut ağırlığının düzenlenmesinde etkindir (75). Enerji alımındaki artış pozitif yönde bir enerji dengesi oluşturarak yıllar içerisinde vücut kütlesinin artmasına neden olacak ve enerji alımını artırabilecek veya enerji tüketimini azaltabilecek faktörler uzun vadede obezite ile sonuçlanacaktır (75).

Çocukluk obezitesi Prader Willi sendromu, Alström sendromu gibi genetik sendromlarla yakından ilişkilidir. Bu sendromlar genellikle gelişme geriliği, boy kısalığı, dismorfik özellikler ve belirli organ sistemlerinin tutulumu ile karakterizedir (78, 79). Bununla beraber, genetik faktörler çocukluk obezitesinde vakaların %5'inden daha azını oluşturmaktadır (76, 80). Dolayısıyla çocukluk obezitesinin artışında davranışsal ve çevresel faktörler daha etkin bir rol oynayabilmektedir (76).

Pediatrik obezitenin Cushing sendromu, hipotiroidizm, büyüme hormonu eksikliği, insülinoma gibi endokrinolojik nedenleri de bulunmaktadır (77).

Ayrıca glukokortikoidler, fenotiyazin, valproik asit, karbamazepin, trisiklik antidepresanlar, insülin gibi yaygın olarak reçete edilen ilaçlar kilo alımı riski oluşturmakta ve obezite ile ilişkilendirilmektedirler. (78).

Sonuç olarak çocukluk çağı obezitesi, çocukların fiziksel sağlığını, sosyal ve duygusal refahını ve benlik saygısını olumsuz yönde etkilemekte, zayıf akademik performansa neden olmakta yaş ve cinsiyet ile ilişkili olan depresyon, bozulmuş vücut imajı, yeme bozuklukları, stres ve daha düşük yaşam kalitesi ile ilişkilendirmektedir (76, 81).

Çocukluk obezitesi prevalansındaki artışa paralel olarak, obezite ile ilişkili komorbiditelerin prevalansı da artmaktadır. Bu komorbiditeler aşağıdaki gibi sıralanabilir.

Çocukluk çağı obezitesinin komorbiditeleri ve komplikasyonları;

Endokrin

a) Glukoz metabolizması ile ilgili sorunlar

- İnsülin direnci
- Prediyabet (bozulmuş açlık glukozu / bozulmuş glukoz toleransı)
- Tip 2 diabetes mellitus
- Metabolik sendrom

b) Büyüme ve adolesanlıkla ilgili sorunlar

Kızlar

- Hiperandrojenizm / polikistik over sendromu
- Erken menarş

Erkekler

- Gecikmiş puberte
- Psödo mikropenis
- Dolaşımda androjen düzeylerinin azalması

c) Tiroid fonksiyon bozuklukları

Kardiyovasküler

- Hipertansiyon
- Dislipidemi
- Diğer kardiyovasküler riskler
- Yetişkin koroner kalp hastalığı

Gastrointestinal

- Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı

Respiratuar

- Astım
- Obstrüktif uyku apnesi
- Pickwickian sendromu

Ortopedik

- Koksa vara
- Femur başı epifiz kayması
- Blount hastalığı
- Kırıklar
- Legg-Calve-Perthes hastalığı

Nörolojik

- İdiyopatik intrakraniyal hipertansiyon

Dermatolojik

- Akantozis nigrikans
- Intertrigo

Psikososyal

- Düşük benlik saygısı
- Depresyon (82, 83).

Aşırı kilolu ve/veya obez çocuklarda, yetişkin dönemde kardiyometabolik morbidite (diyabet, hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı ve inme), astım, polikistik over sendromu (84), metabolik sendrom, kas-iskelet bozuklukları; osteoartrit ve belirli kanser türlerine (endometriyal, göğüs ve kolon) ilişkin risklerin önemli ölçüde arttığı ve önemli sağlık sorunlarının ortaya çıktığı bunun da morbidite ve mortaliteyi arttırdığı birçok çalışma ile gösterilmiştir (77, 85).

2.4. Dünyada ve Türkiye'de Pediatrik Obezite

Yirmi birinci yüzyılın en önemli halk sağlığı sorunlarından biri çocuklarda aşırı kilo ve obezitenin salgın haline gelmiş olmasıdır. Bugün pediatrik obezite hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde oldukça yüksek oranlarda görülmektedir. Dünyada 2016 verilerine göre 5-19 yaşları arasındaki 340 milyondan fazla çocuk ve adolesan, fazla kilolu veya obez olarak karşımıza çıkmaktadır (65, 86).

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2019 verileri 5 yaşın altında olan fazla kilolu veya obez çocukların sayısının 38,2 milyonu bulduğu ve bu çocukların neredeyse yarısının Asya'da yaşadığını göstermektedir. Bu durum pediatrik obezite sorununun sadece yüksek gelirli ülkelerde değil düşük ve orta gelirli ülkelerde, özellikle kentsel ortamlarda da arttığını ortaya koymaktadır (65).

Afrika'da yaşayan okul çağındaki çocuklarda obezite görülme prevalansının %4,4 ile %21,2 arasında değiştiği bilinmektedir ve bu durum obezitenin artık sadece yüksek gelirli toplumlarda ortaya çıkmadığının bir başka göstergesidir (87-90).

Çin'de 11-18 yaş aralığındaki çocuklarda yapılan başka bir çalışmada toplamda, aşırı kilo prevalansı % 12,7 (erkek % 17,4; kadın % 10,1) ve obezite prevalansı ise % 4.9 (erkek % 8,8; kadın % 3,1) olarak bulunmuş ve erkeklerdeki aşırı kilo-obezite prevalansının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (91).

2018 yılında Güney Avrupa ülkelerinde (Yunanistan, İtalya, Malta, San Marino ve İspanya gibi) yaşayan her beş çocuktan birinin obez olduğu ve 2019 yılı Avrupası'nda ise 6-9 yaş arasındaki çocuklardan 398.000'den fazlasında obezite geliştiği ifade edilmektedir (86).

Günümüz ABD'sinde yaşayan çocuk ve adolesanların yaklaşık olarak 3'te 1'nin obez veya aşırı kilolu olarak sınıflandırıldığı ayrıca yaş ile aşırı kilo ve obezite prevalansının da arttığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda ABD'de 2-5 yaş aralığında bulunan çocukların %8,4'nün, okul çağında bulunan 6-11 yaş aralığındaki çocukların %17,7'sinin ve 12-19 yaş aralığında olan adolesanların %20,5'nin obez olduğu ortaya konmuştur (2, 64).

Türkiye'de yapılan çalışmalara baktığımızda 1990-1995 ve 2011-2015 yılları arasında 5-19 yaş aralığındaki okul çağı çocuklarında genel obezite prevalansının %0,6'dan %7,3'e yükseldiği gözlemlenmiştir (92). 2003 yılından 2015 yılına Antalya'da yaşayan okul çağındaki çocuklarda aşırı kilolu olma oranının %23,2 obezite oranının ise %9,8'e ulaştığı ve bu 12 yılda bu bölgede obezite prevalansının 2,9 kat arttığı tespit edilmiştir (93). 2018-2019 yıllarında 14-18 yaş aralığındaki adolesanlarda yapılan bir başka çalışmada fazla kilo prevalansının %26,1, obez öğrencilerin oranının ise %12,8 olduğu gösterilmiştir (94). Tüm bu çalışmalarda erkek çocuklarda obezite oranlarının kız çocuklara göre daha yüksek olduğu görülmektedir (92-94). 2016 yılına göre dünyada BMI>+2 standart sapma medyanın üzerinde olan çocuk ve adolesanlar arasındaki obezite prevalansı % olarak Şekil 2.4.1'de verilmiştir (95). Türkiye çocukluk çağı (İlkokul 2. Sınıf öğrencileri) 6, 7, 8, 9 yaş grubu arasında yapılan şişmanlık araştırması COSI-TUR 2016'ya göre çocukların %1,5'i normalin altında zayıf, %14,6'sı fazla kilolu ve %9,9'u da obez olarak bulunmuştur. Bu veriler Şekil 2.4.2'de verilmiştir. Erkek çocukların %11,3'ü obez, %13,6'sı fazla kilolu, kız çocukların %8,5'i obez, %15,7'si ise fazla kiloludur. Buna göre ilkokul 2. Sınıf öğrenciler arasında erkeklerde fazla kilolu olanların yüzdesi kızlara göre daha düşük, ancak obezlerin

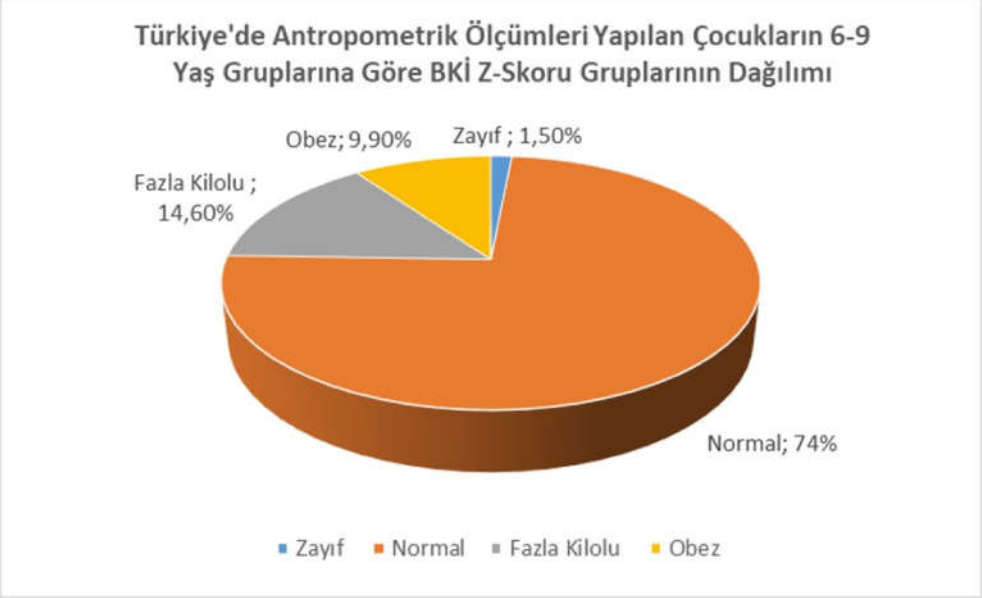
yüzdesi kızlara oranla daha yüksektir (%13,6'ya karşılık %15,7 ve şişmanlık için %11,3'e karşılık, %8,5) (96).



Şekil 2.4-1: Dünyada çocuklar ve adolesanlar arasında obezite prevalansı, BMI> +2 standart sapma medyanın üzerinde (%) (95)'den değiştirilerek.

a) Türkiye'de çocuklar ve adolesanlar arasında obezite prevalansı %11,5,

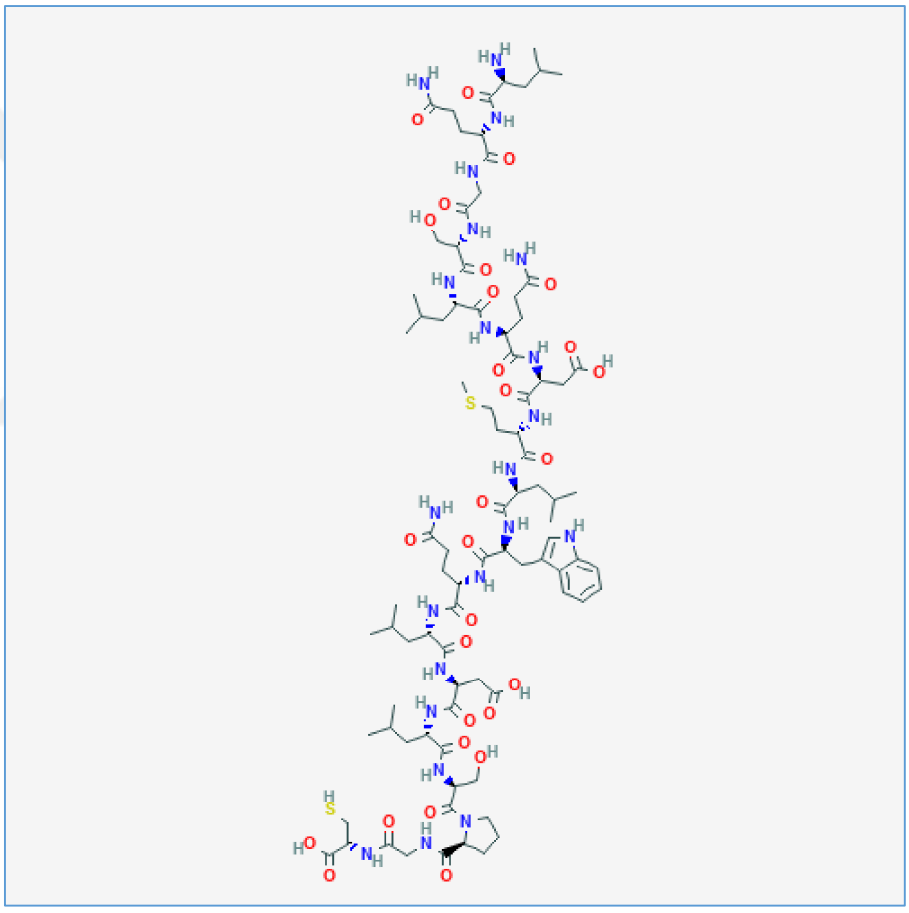
b) ABD'de ise %21,4 olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.4-2: COSI-TUR 2016 verileri.

2.5. Leptin ve Leptin Reseptörü (LEPR)

1994 yılında keşfedilen ve adipositler tarafından üretilen, 167 amino asitten oluşan bir protein olan leptin kan yoluyla beyine taşınarak hipotalamustaki reseptörler üzerine anoreksijenik (iştah baskılayan) bir etki göstermektedir (97, 98). Leptin çok az miktarda barsak epitel hücrelerinde ve plasentada da sentezlenir. Leptin beslenme davranışı üzerine olan etkilerini hipotalamusun arkuat, ventromediyal ve dorsamediyal çekirdeğindeki nöronlar üzerinde etkili olan JAK/STAT mekanizmasını kullanan LEPR ile gösterir (98, 99). İnsan leptininin yapısı Şekil 2.5.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.5-1: İnsan leptinin yapısı- (109).

Leptin beyine kan yoluyla taşınır ve hipotalamusun nöronlarında eksprese edilen LEPR'ne bağlanır (7, 100). Leptin bağlanması, leptin reseptörünün uzun formunun (LepRb=ObRb) tetramerizasyonunu sağlar ve elde edilen sinyal, negatif geri besleme ile gıda alımının baskılanmasına yol açar (7, 101, 102). LepRb, leptinin enerji homeostazı ve diğer nöroendokrin fonksiyonlar üzerindeki temel etki mekanizmasından sorumludur (103, 104). LepRb hipotalamus dışında

pankreatik adacıklar, yağ dokusu, iskelet kası, karaciğer ve bağışıklık hücreleri gibi birçok periferik dokuda eksprese edilmektedir (105-107).

Leptinin pankreas adacıklarında doğrudan insülin ekspresyonunu ve sekresyonunu inhibe ettiği (108), karaciğer ve beyaz yağ dokusunda lipogenezi inhibe edip, lipolizi indüklediği çeşitli çalışmalarca gösterilmiştir (105, 106, 108). Leptin, uzun süreli enerji dengesinin korunmasında etkindir bunu insülin duyarlılığını artırarak ve hücre içi lipidleri azaltarak sağlamakta, anoreksijenik etki göstermekte, insülin ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde rol almaktadır (99, 105). Leptin düzeylerindeki azalma tüketilen gıdanın miktarını arttırmakta aynı zamanda enerji tüketimini en aza indirmektedir (99). Ayrıca leptin sempatik sinir sistemini de uyararak kan basıncı, nabız ve termogenezi de arttırıcı yönde işlev yapmaktadır (98).

Yapılan çalışmalar insanlarda ve kemirgenlerde leptin veya reseptöründeki mutasyon nedeniyle leptin sinyalinde bozulma meydana geldiğini bu durumunda, gıda alımında artış, enerji harcamasında azalma, hipotiroidizm, kısırlık ve azalmış büyüme gibi birçok nöroendokrin problemlere neden olduğunu ortaya koymuştur (110-112).

Leptin direnci, obeziteyle birlikte anormal veya aşırı yağ birikimi, hiperleptinemi ve leptin sinyalinin zayıflığı şeklinde ifade edilebilir (110, 113, 114).

Leptin direnciyle ilgili mekanizmalar;

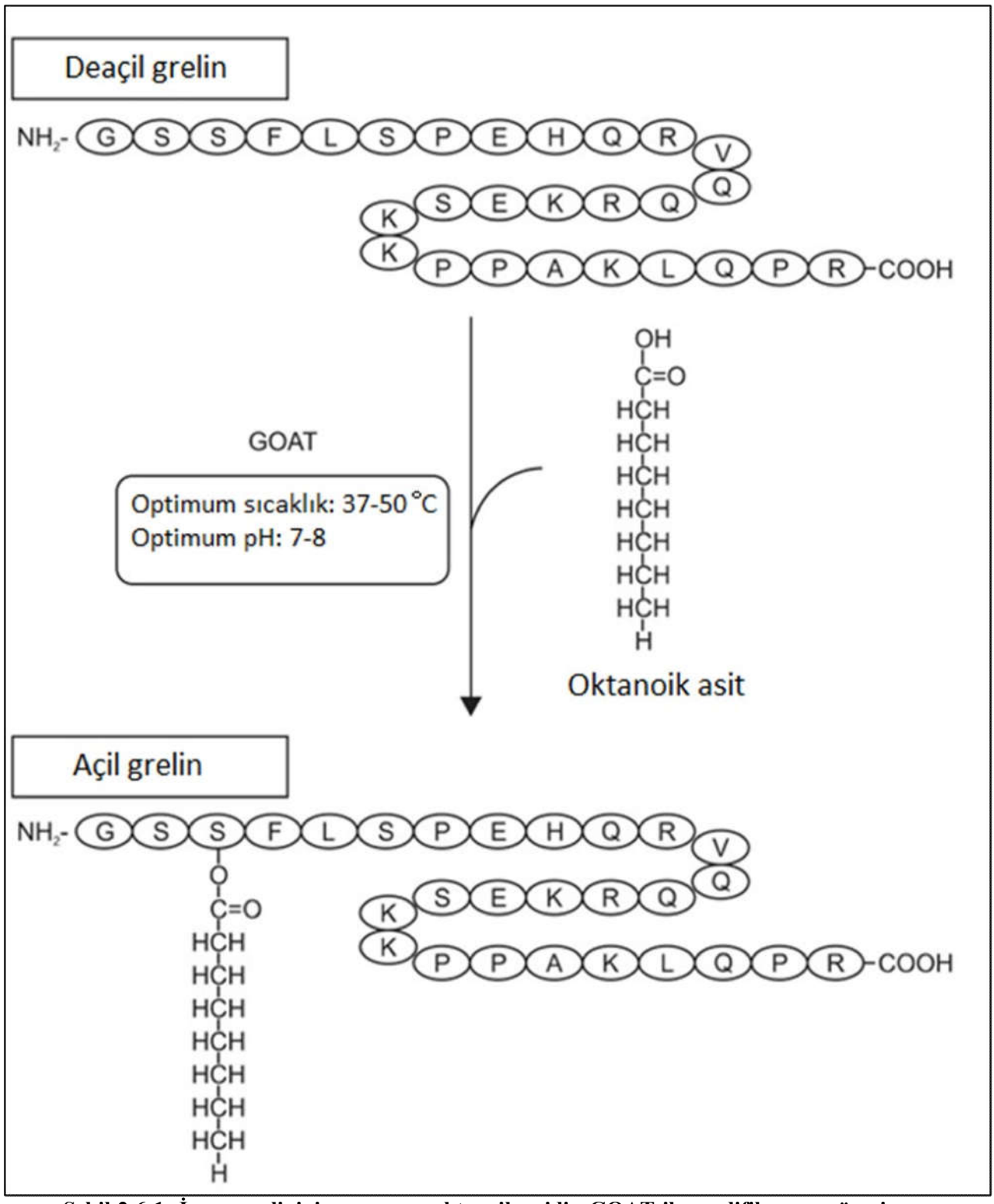
- Leptinin beyine taşınması sırasında kan-beyin bariyerinden (115) ve kan-beyin omurilik sıvısından (116) geçişindeki bozulmalar,
- Leptin ile aktive olan sinyal iletim yolundaki aşağı yönlü düzenlenme ve hipotalamik LepRb ekspresyonunun azalması ile hiperleptineminin ortaya çıkışı (114, 117),
- Yüksek C-reaktif protein (CRP) düzeyleri (118, 119), hipotalamik enflamasyon ve oksidatif stres ile obeziteyle birlikte ortaya çıkan endoplazmik retikulum stresinin (110, 120) leptin direncinin oluşması ve artmasında etkin olduğu düşünülmektedir.

Mısırlı çocuklarda yapılan bir araştırmada leptin eksikliği, tek bir mutasyon sonucu meydana gelen monojenik obezitenin önemli bir nedeni olarak gösterilmiştir (121). 2021 yılında 8-17 yaş arasındaki çocuklarda yapılan bir çalışmada obez çocuklarda sağlıklı gruba göre insülin konsantrasyonları, İnsülin Direncinin Homeostatik Modeli Değerlendirmesi (HOMA-IR) değerlerinin arttığı dolayısıyla insülin direncinin oluştuğu, dolaşımdaki trigliserit konsantrasyonları artarken yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)-kolesterolün azaldığı ayrıca hem fazla kilolu hem de obez çocuklarda leptin seviyesinin arttığı bildirilmiştir (122). Tüm bu çalışmalar leptinin pediatrik obezite ve enerji homeostazı ile yakından ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır.

2.6. Grelin ve Grelin Reseptörü (Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör= GHSR)

1999 yılında ön hipofiz bezinden büyüme hormonu salınımını uyarabilen, GHSR tip 1a için endojen ligand olan gastrointestinal peptit hormonu grelin keşfedilmiştir (123, 124). Grelin, mide mukozasındaki P/D1 endokrin hücreleri ve pankreas adacıklarının ε hücreleri, kalp, akciğer, böbrek, bağışıklık sistemi, yağ dokusu, hipotalamus ve hipofiz bezinden sentezlenir ve salınır (99). Grelin genleri 117 amino asitli öncü bir peptit olan preprogrelini kodlarlar ve posttranslasyonel mekanizmalarla bu peptit olgun greline dönüştürülür. Preprogrelin, sinyal peptidinin ayrılması ile progreline dönüşür bu peptit prohormon konvertaz 1/3 tarafından olgun 28 amino asit içeren greline dönüştürülmektedir (125-127).

Grelin O-açiltransferaz enzimi (GOAT), aktif form olan açil grelini üretmek için inaktif formun (Deaçile grelin) oktanolasyonunu gerçekleştirerek, oktanoik asidin açil yan zincirini 3 konumunda bulunan serin kalıntısına bağlar ve bu şekilde açil grelin oluşur. Aktif form olan açil grelin oluşumu Şekil 2.6.1'de gösterilmiştir. Açil yan zinciri hem oreksijenik (iştah açıcı) etki hem de grelinin gastrik boşalma hareketleri için kritiktir (128, 129). Bu yan zincir grelinin, GHSR tip 1a'ya bağlanmasını ve aktivasyonunu sağlamaktadır (17, 124, 130).



Şekil 2.6-1: İnsan grelininin yapısı ve oktanoik asidin GOAT ile modifikasyon süreci-(130).

Grelin reseptörü, G-protein bağlı reseptörler süper ailesinin bir üyesidir (131). GHSR'nin iki varyantı tanımlanmıştır: GHSR tip 1a ve GHSR tip 1b (126, 132). Grelinin obezite, diyabet ve enerji metabolizması üzerindeki etkileri, klasik

reseptörü GHSR Tip 1a ile gerçekleşmektedir (16). GHSR tip 1b açil veya deaçile grelini bağlayamaz ancak GHSR Tip 1a'nın sinyallenmesinde negatif etki oluşturarak aktivitesini azaltır (126, 131, 133). Yapılan birçok hayvan çalışmasında GHSR'si bloke edilen farelerin vücut ağırlıklarının daha düşük olduğu, daha az yağ kütlesine sahip oldukları ve enerji tüketimini artırarak diyetle tetiklenen obezitenin gelişimini neredeyse tamamen engellendiği gösterilmiştir (134, 135).

Briggs ve arkadaşları çalışmalarında yüksek yağlı diyetle beslenen hayvanlarında grelin düzeylerinin düştüğünü ve diyete bağlı obezitenin (DIO) hipotalamusta GHSR mRNA ekspresyonunu baskıladığını, ayrıca dışarıdan verilen intraserebroventriküler grelin enjeksiyonunun, DIO farelerinde gıda alımını indüklemediği ve NPY/AGRP mRNA ifadesinin de DIO farelerinde azaldığını ortaya koymuşlardır. Bu nedenle, diyete bağlı obezitenin hipotalamusta grelin kaynaklı NPY ve AGRP salınımını bozarak grelin direncine neden olduğunu ileri sürmüşlerdir (136, 137).

Deaçile grelin vücutta açil grelinden daha yüksek oranlarda bulunmaktadır ve dolaşımdaki toplam grelinin %80-90'nını oluşturmaktadır. Deaçile grelin inaktif form olarak görülsede, açil grelinin antagonisti olarak işlev yapmaktadır. Ayrıca kardiyoprotektif, antiproliferatif, vücut sıcaklığı ve adipojenik aktiviteler gibi çeşitli endokrin dışı fonksiyonlar üzerine etki gösterirken, insanlarda insülin sekresyonu ve kan glukoz düzeyleri üzerinde de açil grelinin oreksijenik etkisine zıt yönde etki ettiği ifade edilmektedir (130, 138,139). GHSR eksikliği olan farelere intraserebroventriküler deaçile grelin uygulamasının beslenmeyi arttırdığı gösterilmiştir. Bunu GHSR'den bağımsız bir hedef protein üzerinden yapabileceği ve enerji homeostazı üzerinde bu şekilde etkin olabileceği düşünülmektedir (140).

Grelin mide boşalmasına ve asit salgılanmasına neden olmakta ayrıca, hipotalamusun arkuat çekirdeğindeki NPY/AGRP nöronları aracılığıyla iştah ve enerji dengesini düzenlemektedir (99). Grelin salgılanması açlık ile uyarılır, yemekten hemen önce artar ve gıda alımı ile baskılanır (99, 141, 142). Mideden salınan grelin kan-beyin bariyerini aşarak beyne ulaşmakta (126, 143) iştahı, merkezi ve periferik yollarla ayrıca vagus siniri aracılığıyla uyarmaktadır (144). Grelinin hipotalamik yolağında NPY/AGRP nöronlarının aktivitesini uyararak ve

POMC (proopiomelanokortin) ve CART (kokain ve amfetamin tarafından düzenlenen transkript) nöronlarının aktivitesini azaltarak iştahı ve besin alımını teşvik ettiği (126, 145, 146) ayrıca AMPK (hipotalamik 5' AMP ile aktive olan protein kinazın), sinyal zincirinin aktivasyonu ile NPY/AGRP transkripsiyonunu uyararak görevini gerçekleştirdiği bilinmektedir (126, 147).

Grelin, uzun vadeli vücut ağırlığının düzenlenmesinde etkindir. Karbohidrat kullanımını, glukoneogenezi, yağ asidi ve trigliserit sentezini, adipogenezi artırırken yağ kullanımını ve oksidasyonunu azaltır (126, 148).

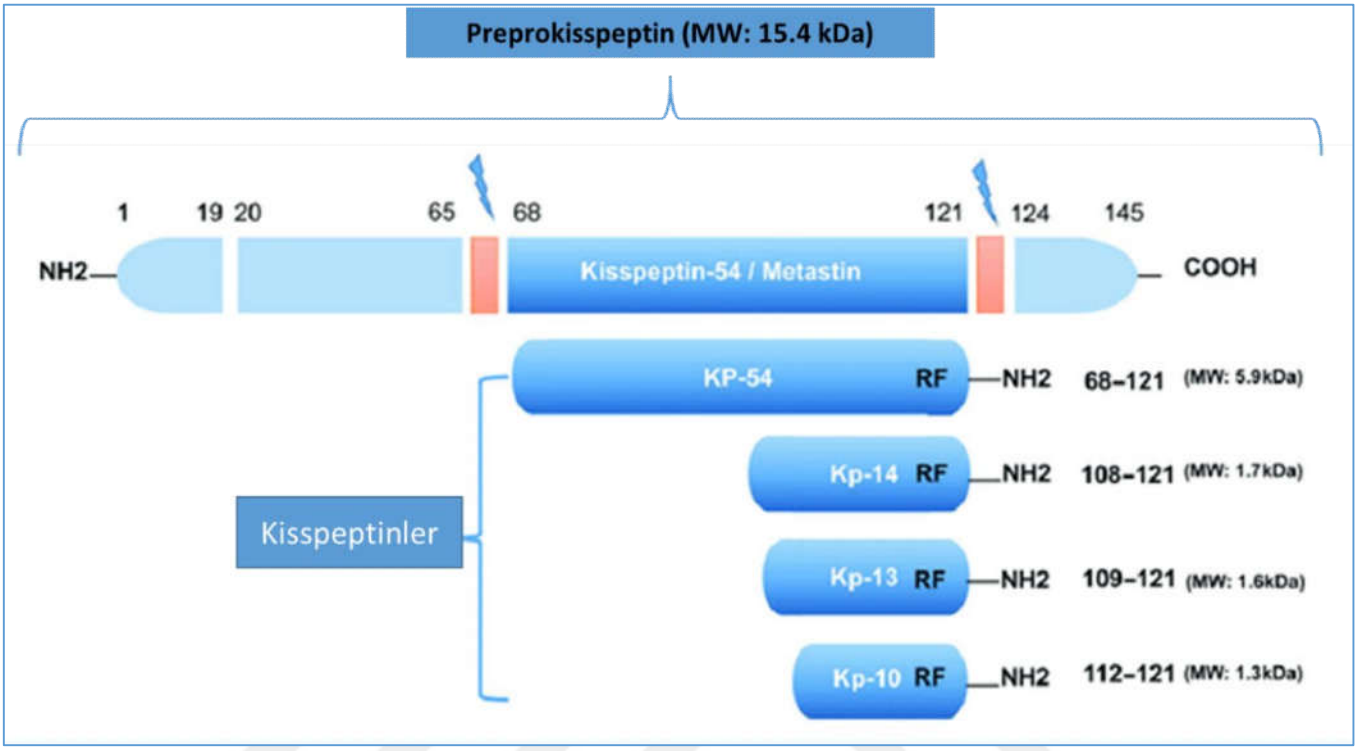
Kronik grelin infüzyonu ile beyaz ve kahverengi yağ dokularında glukoz kullanımı artmakta, beyaz yağ dokusunda, lipoprotein lipaz, yağ asidi sentaz, asetil-CoA karboksilaz α ve stearoil-CoA desatüraz-1 enzimlerinin mRNA ekspresyon seviyesi önemli ölçüde daha yüksek çıkmaktadır. Ayrıca karnitin palmitoil transferaz-1 α gibi yağ oksidasyon azaltıcılarının ekspresyon seviyesi daha düşük olarak bulunmuş grelin tedavisini takiben lipid mobilizasyonunun azaldığı çeşitli çalışmalarca gösterilmiştir (149-151).

Sonuç olarak grelin daha yüksek enerji alımı ve daha düşük enerji harcanmasını teşvik ederek enerji dengesinin pozitif yöne kayması ile vücut ağırlığı artışını sağlamaktadır (151, 152). İştahı ve enerji harcanmasını düzenleyerek enerjinin korunmasını sağlayan grelin hormonunun, diyete bağlı obezite durumunda grelin direnci oluşumu ile de yüksek vücut ağırlığı ayar noktasını koruyan bir mekanizma olabileceği ileri sürülmektedir (20). Obez çocuklar ve adolesanlarda yapılan birçok çalışmada sağlıklı çocuklara oranla grelin düzeyleri daha düşük olarak tespit edilmiştir (153-156).

2.7. Kisspeptin ve Kisspeptin Resepörü (KISS ve KISS1R)

1996 yılında Lee ve arkadaşları KISS'i ve onu kodlayan KISS1 genini malign melanomun insan metastaz baskılayıcı bir geni olarak tanımlamışlardır (157). KISS1 geni insanlarda 1. kromozom üzerinde yer almakta ve 145 aminoasitlik preprotein şeklindeki KISS'i kodlamaktadır (158, 159). KISS, G-protein-bağlı reseptör ailesinin bir üyesi olan KISS1R (Gpr54)'ye bağlanır ve hem KISS1 hem de KISS1R memeli doğurganlığının başlatılmasında ve

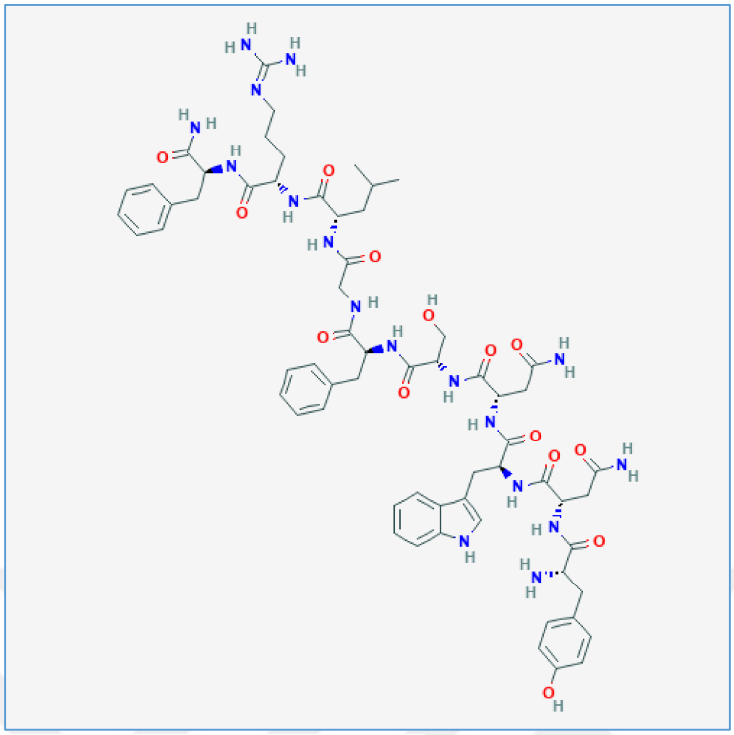
sürdürülmesinde önemli bir rol oynar (160, 161). İnsanlarda KISS'in ana yapısı Şekil 2.7.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.7-1: İnsanlarda kisspeptinlerin ana yapısı- (162)'den değiştirilerek.

Kisspeptinler olarak adlandırılan ve KISS1R'ye bağlanarak aktifleşmesini sağlayan Arg-Phe-NH2 motifi içeren bir C-terminal bölgesine sahip dört adet biyolojik olarak aktif peptit bulunmaktadır. Bunlar KISS-10, 13, 14 ve 54 olarak adlandırılan ve preprokisspeptidin bölünmesiyle oluşan daha düşük moleküler ağırlıklara sahip peptitlerdir (162, 163). KISS 10'nun yapısı Şekil 2.7.2'de gösterilmiştir.

Kisspeptinler üremede önemli roller üstlenmişlerdir ve adolesanlığın başlangıcını belirledikleri, enerji homeostazı ile üreme sistemi arasındaki bağlantıda da etkin olabilecekleri ifade edilmektedir. Ayrıca gonadotropin salınımını modüle ederek hipotalamik-hipofiz-gonadal eksenin fonksiyonunu düzenlemektedirler (158). KISS1 geninin esas olarak beyinde hipotalamik bölgenin yanısıra (165) kalp (160, 166) , plasenta (160, 167), karaciğer (160, 168) ve yağ dokusu (160, 169-171) gibi pek çok yerde eksprese edildiği bilinmektedir. Bu bulgular KISS'in çeşitli fizyolojik sistemlerin üzerinde etkin olabileceğini göstermektedir (160, 167, 168).



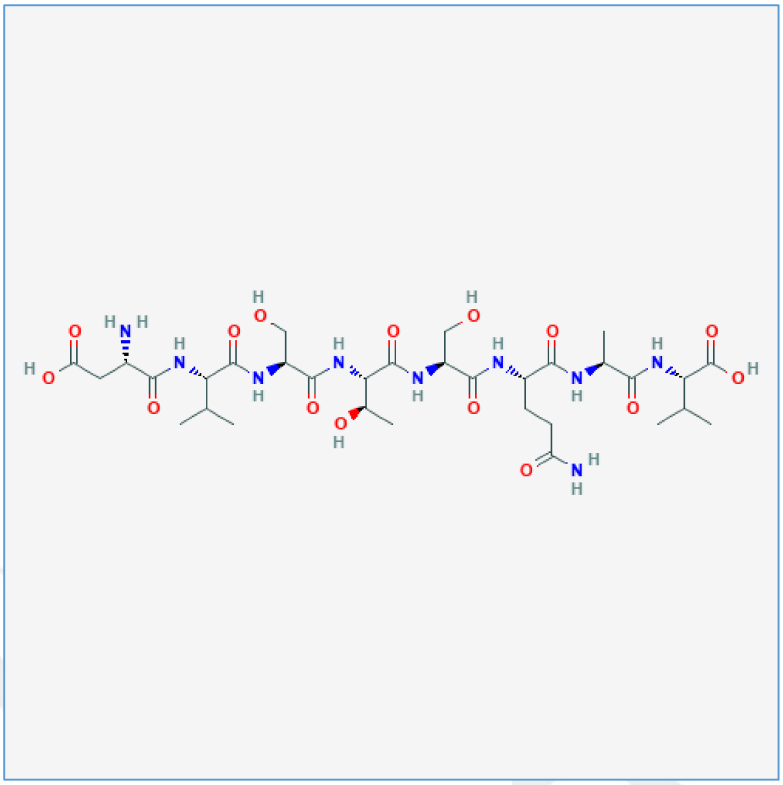
Şekil 2.7-2: KISS 10 yapısı- (164).

Kisspeptin bugün enerji alımı ve harcamasının hassas dengesinde yeni bir peptit olarak kabul edilmektedir. KISS1R için işlevsiz bir gene sahip olan farelerin, obez ve diyabetik bir fenotip geliştirdiği bilinmektedir (172). Bu konuda yapılan bir çalışmada KISS sinyali olmayan yetişkin dişi farelerde (KISS1R KO fareleri) glukoz toleransında bozulma, vücut ağırlığı, leptin düzeyleri ve adipozitede artış gözlenmiş, KISS sinyalinin enerji dengesi üzerine olan etkilerinin KISS sinyallenmesindeki değişikliklerden kaynaklanabileceği vurgusu yapılmıştır (21). Ayrıca obez çocuklarda yapılan bir çalışmada kontrol grubuna kıyasla daha yüksek düzeyde leptin ve KISS düzeyleri bulunmuştur (173).

2.8. Preptin

Buchanan ve arkadaşları ilk kez 2001 yılında murin beta TC6-F7 beta hücre kültüründen izole edilen salgı granüllerinden proinsülin benzeri büyüme faktörü II E-peptidinin aspartik asit 69 (Asp 69) ve lösin 102 (Leu 102) arasındaki bölüme karşılık gelen 34 amino asitli bir peptit olan preptini tanımlamışlardır (174).

Preptin, pankreas β hücreleri tarafından salgılanan pro-IGF-II'nin bir türevidir ve glukoz aracılı insülin sekresyonunun fizyolojik bir tetikleyicisidir (25, 174). Preptinin yapısı Şekil 2.8.1'de verilmiştir.



Şekil 2.8-1: Preptinin (1-8) yapısı- (175).

Esas olarak pankreas β hücreleri tarafından sentezlenen preptin, tükürük bezleri, meme dokusu ve böbrekler dahil olmak üzere çeşitli dokularda da üretilmektedir. Preptinin, parankimal çekirdekler ve ark çekirdeklerindeki açlık ve tokluk merkezlerini etkileyerek obezite ve enerji dengesinin düzenlemesinde etkin olduğu bilinmektedir (176, 177). Ayrıca preptin osteoblastların proliferasyonu ve farklılaşmalarını sağlayan uyarıcı bir etki de göstermektedir (25). Preptinin yüksek glukoz konsantrasyonlarında, insülin benzeri büyüme faktörü II reseptörü (IGF-2R)'nü aktive ederek ve kalsiyuma bağımlı bir şekilde insülin sekresyonunu uyararak protein kinaz C ve fosfolipaz C'yi etkilediği gösterilmiştir (178).

Yang ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada diyabetik hastalarda preptin düzeylerinin normal bireylerden daha yüksek olduğunu ve ayrıca trigliserit, total kolesterol düzeyleri ve insülin direnci ile pozitif yönde bir korelasyon olduğunu ortaya koymuşlardır (28). Ayrıca serum preptin düzeylerinin artan BKİ ile yükseldiği (177), obez ve aşırı kilolu bireylerde kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (179). Rezaeimanesh yaptığı çalışmada kilolu erkeklerde antremanın serum preptin ve CRP düzeylerini düşürdüğü ve lipid profilindeki bazı zararlı göstergeleri de azaltarak kilo kontrolünde önemli bir rol

oynayabileceği dolayısıyla preptinin enerji dengesinin sağlanmasında etkin olabileceğini göstermiştir (27).

2.9. PPAR γ (Peroksizom proliferatör aktive reseptör gama)

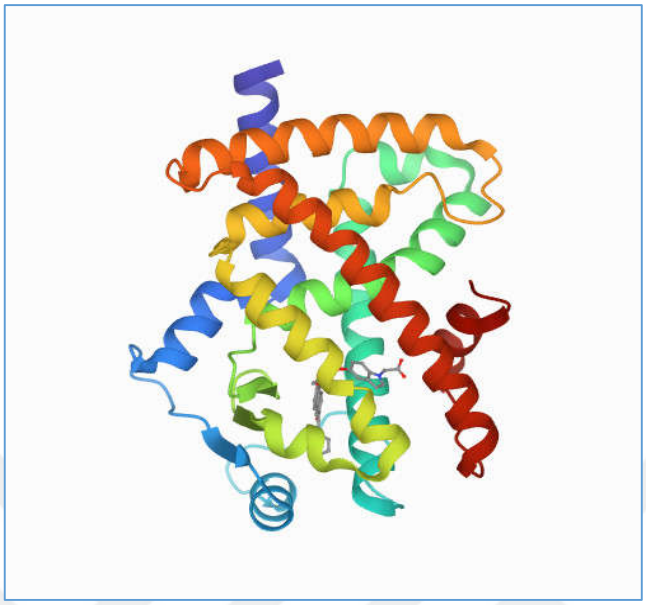
Peroksizom proliferatör aktive reseptör gama, nükleer reseptör süper ailesine ait retinoik asit reseptörü, östrojen reseptörü, progesteron reseptörü, tiroid hormon reseptörü, D vitamin reseptörü gibi) bir transkripsiyon faktörüdür (180, 181).

Lipidlerin depolanması ve mobilizasyonunda, glukoz metabolizmasında, morfogenez ve enflamatuar yanıtta anahtar rol oynayan genlerin ekspresyonunu kontrol etmede bütünleşik bir rol oynayan üç PPAR izotipi (α, δ ve γ) olduğu belirlenmiştir. PPAR γ adipositlerde esterlenmemiş olan uzun zincirli yağ asitlerini hedeflenen genler üzerinden tanır ve trigliseritler şeklinde depolanmasını indükler. Glukoz homeostazı üzerinde etkili olan adipositten salgılanan hormonların ekspresyonunu düzenler (32, 182). Bugün birçok PPAR ligandı diyabet, ateroskleroz, hiperlipidemi gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Özellikle PPAR γ agonistleri (Pioglitazone, Lobeglitazon) insülin duyarlılığını arttırarak tip 2 diyabet tedavisi amaçlı kullanımdadır (183). Fare beyninde POMC nöronlarında PPAR γ'nın delesyonu, diyete bağlı obeziteye karşı direnç oluşumu ile sonuçlanmaktadır bu durum PPAR γ'nın beyindeki etkileri yoluyla enerji homeostazını düzenleyebildiğini göstermektedir (34-36). Yapılan birçok çalışma obez hastalarda sağlıklı hastalara göre deri altı yağ dokusunda PPAR γ ekspresyonunun arttığını göstermiştir (184-187). Tüm bunlar PPAR γ'nın enerji dengesinin korunmasındaki rolünü ortaya koymaktadır. Şekil 2.9.1'de bir agonist ile kompleks halindeki insan PPAR γ ligand bağlama alanının kristal yapısı gösterilmiştir.

2.10. NLRP3 (Nod-like receptor pyrin domain-containing 3)

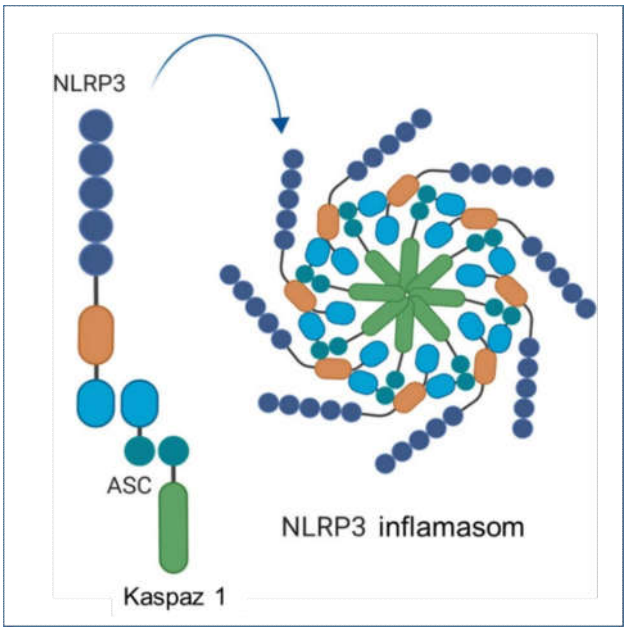
Enflamatuar yanıtın aktivasyonunu sağlayan sitoplazmik bir multiprotein kompleksi olan moleküller inflamasom olarak ifade edilirler. İnflamasomlar olgun sitokinlerin salınmasına ve dolayısıyla doğuştan gelen bağışıklık tepkisi oluşumuna katkıda bulunurlar (45, 189). NLRP3 inflamasomu, NLRP3 proteini, ASC (apoptozla ilişkili benek benzeri protein) ve kaspaz-1 proteinlerinden

oluşmaktadır (189, 190). Şekil 2.10.1'de NLRP3'ün şematik yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.9-1: Bir agonist ile kompleks halinde insan PPAR γ ligand bağlama alanının kristal yapısı- (188).

Kriyopirin veya NALP3 olarak da bilinen NLRP3, Nod benzeri reseptör ailesinden gelmekte ve lösin açısından zengin bir alan, pirin alanı ve kaspaz bağlayan bölümler içermektedir. Mikrobiyal kaynaklı olmayan tehlike sinyallerinin tanınmasında, kaspaz-1 aktivasyonu ve ardından IL-1β ve IL-18 sekresyonu ile etki göstermektedir (37, 45, 191). Düşük dereceli enflamasyon gelişiminde aşırı beslenmenin kritik bir rolünün olduğu gösterilmiştir (192).

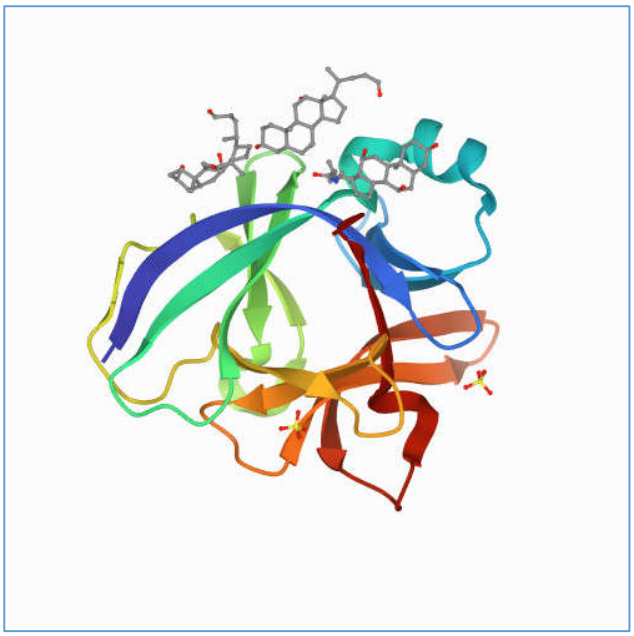


Şekil 2.10-1: NLRP3 şematik yapısı- (193).

Obez ve normal kilolu çocuk ve adolesanlarda yapılan bir çalışmada NLRP3 ve IL-18 değerlerinin başlangıçta obez bireylerde normal kilolu bireylere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Fakat 18 aylık bir yaşam tarzı değişiminden (diyet rejimi, fiziksel aktivite ve davranışsal müdahaleler) sonra bu değerlerin BKİ' de önemli bir azalma olan deneklerde normale döndüğü gözlemlenmiştir (42). Gastrik bypass ameliyatı olan obez sıçanlarda, enerji dengesinin negatife dönmesi ve kilo kaybı ile beraber yağ dokusundaki NLRP3 inflamatuar aktivasyonunun azaldığı gösterilmiştir (38). Bu çalışmalar NLRP3'ün enerji homeostazı üzerine etkilerini ortaya koymaktadır.

2.11. IL-18 (İnterlökin 18)

İnterlökin 18 ilk kez 1989 yılında fare serumundan izole edilerek ''İnterferon (IFN) γ- indükleyici faktör'' olarak tanımlandı (194), 1995 yılında fare karaciğerlerinden saflaştırılarak "IFN γ-indükleyici faktör" moleküler olarak klonlandı ve karakterize edildi sonrasında adı IL-18 olarak değiştirildi (195, 196). IL-1 sitokin ailesine ait proinflamatuar bir sitokin olan IL-18 monositler, makrofajlar, kupffer hücreleri, dendritik hücreler, epitelyal-endotelyal hücreler, vasküler düz kas hücreleri tarafından eksprese edilmekte ve salgılanmaktadır 197, 198). IL-18 geni, farelerde kromozom 9 ve insanlarda kromozom 11 üzerinde yer almaktadır (199, 200). İnsan IL-18'inin kristal yapısı Şekil 2.11.1'de verilmiştir.



Şekil 2.11-1: İnsan IL-18'inin kristal yapısı- (203, 204).

İnterlökin 18, IFN γ'yı uyararak immün düzenleyici bir rol oynamakta ve romatoid artrit, Crohn hastalığı ve tip 2 diyabet gibi çeşitli enflamatuar hastalıkların patogenezi ile ilişkilendirilmektedir (197, 201). Günümüzde obezitede enflamasyonun, bağışıklık hücrelerinin artan birikimi ve enflamatuar polarizasyonu ile yağ dokusu, iskelet kası, karaciğer, pankreas gibi çeşitli dokularda gerçekleştiği kabul edilmektedir. Uzun süreli kronik enflamasyon obeziteye bağlı metabolik işlev bozukluklarına katkıda bulunarak insülin direnci, tip 2 diyabet gibi hastalıklara zemin hazırlamaktadır (202).

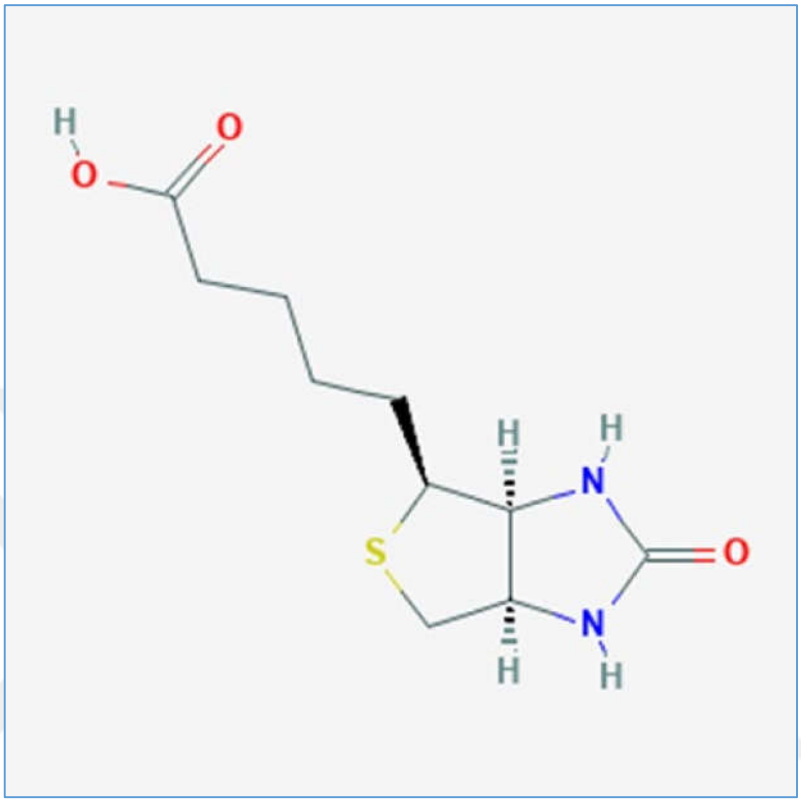
Yapılan çalışmalar obez, tip 2 diyabetli bireylerde IL-18R (İntelökin 18 reseptörü) ve IL-18'in yukarı regüle edilmiş gen/protein ekspresyonu olduğunu ayrıca BKİ ile IL-18R ve IL-18'in yağ dokusu ekspresyonunun arasında pozitif yönde korelasyonlar olduğunu göstermiştir (197). IL-18'den yoksun ve yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde kilo ve gıda alımının arttığı, enerji harcanmasının ve lipid kullanımını azaldığı (205) ayrıca obez sıçanlarda bariatrik cerrahiden sonra visseral yağ dokusunda IL-18 mRNA ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (38). Tüm bunlar obezitedeki düşük dereceli enflamasyonun enerji homeostazı ile ilişkisini ortaya koymaktadır.

2.12. Biotin

Suda çözünen bir vitamin olan biotin vücutta karboksilaz enzimlerinin kataliz ettiği reaksiyonlarda koenzim olarak kullanılır. Bu reaksiyonlar, metabolizmada glukoneogenezde, yağ asidi biyosentezinde, tek C sayılı yağ asidi yıkımında ve lösin ile izolösin katabolizmasında görev almaktadır. Pirüvat karboksilaz, asetil CoA karboksilaz, propiyonil CoA karboksilaz, β(3)-metilkrotonil CoA karboksilaz enzimlerinin girdiği reaksiyonlarda biotin kullanılmaktadır. Biotin barsak bakterileri tarafından da sentezlendiği ve besinlerle diyet yoluyla da alındığı için eksikliği nadiren görülür. Yetişkinlerde alınması gereken günlük doz 30 μg kadardır (48, 206). Şekil 2.12.1'de biotinin kimyasal yapısı gösterilmiştir.

Çocuklarda biotin için alınması gereken günlük doz miktarı yaşa ve cinsiyete göre değişen değerler içermektedir. Tablo 2.12.1'de günlük alım miktarları gösterilmiştir (206). Normal bir diyetle biotin alınması durumunda, serum veya plazmadaki biotin konsantrasyonu 0,1 ile 0,8 ng/ml (0,409-3,27

nmol/L) arasında değişmektedir (53, 207, 208). İnsanlar günde 20 mg'a kadar farmakolojik dozları tükettiğinde dahi oral yolla alınan serbest biotinin emilim oranı, %100'dür ve biotinin idrarla atılım oranları oldukça düşüktür (209, 210).



Şekil 2.12-1: Biotinin kimyasal yapısı- (211).

Tablo 2.12-1: Biotinin günlük yeterli alım miktarı - (206)

Yaş	Yeterli alım miktarı (µg/gün)	Gebelik	Emzirme
Doğumdan 6 aya kadar	5		
7-12 ay	6		
1-3 yaş	8		
4-8 yaş	12		
9-13 yaş	20		
14-18 yaş	25		
19-30 yaş	30		
31-50 yaş	30		
51-70 yaş	30		
70 yaş üstü	30		
18 yaş altı		30	35
19-50 yaş		30	35

Biotin eksikliği sağlıklı bireylerde çok sık görülmemekle birlikte bazı kalıtımsal hastalıklar nedeniyle ortaya çıkabilir. Biotinidaz eksikliği, holokarboksilaz sentetaz eksikliği veya biotin-tiamin duyarlı bazal gangliyon hastalığı gibi metabolik hastalıklar, uzun süreli parenteral beslenme, antikonvülsan veya protein pompası inhibitörü ilaçları, Crohn hastalığı, alkolizm ve aşırı çiğ yumurta tüketimi (içinde avidin biotini bağlar) biotin eksikliğine neden olabilir (51, 207). Biotinidaz eksikliği, holokarboksilaz sentetaz eksikliği hastalıklarında günlük 5-20 mg, biotin-tiamine duyarlı bazal gangliyon hastalığı için 5-10 mg/kg/gün dozlarında biotin tedavisi yapılabilmektedir (59). Multipl sklerozlu örnekler için, günlük önerilen alımın 10.000 katı olan 300 mg biotin tedavisi reçete edilmektedir (51, 59).

Alınan 5-10 mg'lık biotin dozları kanda 30 ng/ml (120 nmol/L)'lik biotin düzeylerine, 20 mg'lık bir biotin dozu kanda 200 ng/ml (818 nmol/L)'lik biotin düzeylerine veya çok yüksek orandaki 300 mg'lık biotin mega dozu kanda 1200 ng/ml (4908 nmol/L)'lik biotin pik seviyesine neden olabilir (52, 55, 207).

ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), 2017 yılı güvenlik bildiriminde, tüketicilere, sağlık hizmeti sunanlara, laboratuvar personeline ve laboratuvar testi üreticilerine biotin interferansının hatalı test sonuçlarına neden olabileceği konusunda kapsamlı öneriler yayınlamış ve bu uyarısını 5 Kasım 2019 tarihinde tekrardan güncellemiştir (55, 61).

Klinik çalışmalarda, biotinlenmiş antikorlar ve antijenler immünolojik testlerde yüksek saptama seçiciliği ve duyarlılığı oluşturabilmek için sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca multivitaminlerde bulunan biotinin aşırı tüketimi de (günlük dozlar 100-300 mg) tiroid belirteçleri, çeşitli ilaçlar, hormonlar, kanser belirteçleri, kardiyak fonksiyon belirteçleri gibi immünolojik test sonuçlarını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (212). Yüksek doz biotinin serbest triiyodotironin (FT3), serbest tiroksin (FT4), tiroid uyarıcı hormon (TSH), paratiroid hormon (PTH) gibi otomatize immün sistemlerde çalışılan birçok hormon parametresinde hatalı sonuçlara neden olabileceği ve yanlış tanı riski oluşturabileceği gösterilmiştir (213, 214).

ABD Gıda ve İlaç İdaresi'nin uyarısına rağmen biotin interferansı hakkındaki araştırmalar daha çok yenidir. Bugün halen birçok laboratuvar biotin

interferansının test sonuçlarını ne ölçüde etkilediğinin farkında değil ya da henüz önlem almış değillerdir. Özellikle rutin testlerin dışında araştırma kitleri ile yapılan çalışmalarda biotin interferansını gösteren bir araştırma henüz yapılmamıştır. Ayrıca araştırma kitlerinin ELISA yöntemiyle manuel olarak çalışıldığı ve NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçil grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18, biotin parametrelerinin tamamının sandviç ELISA yöntemi ile grelin, KISS1 ve biotin parametrelerinin ise aynı zamanda kompetitif ELISA yöntemi ile de çalışılarak karşılaştırma yapıldığı bir araştırmada, her iki yöntemdeki biotin interferansının manuel ELISA kitleri üzerine olan etkisi ortaya konmamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Akut veya kronik hastalığı olmayan, major konjenital anomalisi bulunmayan 06-18 yaş arası çocuklar çalışma kapsamına alınmışlardır. Sağlık Bakanlığı'nın da kabul ettiği, DSÖ kriterlerine göre BKİ'i 95. persantil üzeri değerlerde olan 30 obez ile, BKİ değerleri 85. ve 15. persantil değerleri arasında olan kontrol grubunu oluşturan 30 sağlıklı ancak iştahsızlık şikayeti bulunan 60 çocuk hastadan 2 grup oluşturulmuştur. Toplam 60 çocuğun 35'i kız, 25'i ise erkek çocuktan oluşmaktadır.

Çalışma öncesi çocukların başta ebeveynleri olmak üzere, aileleri bilgilendirilmiştir. Ayrıntılı bir pediatrik fizik muayene ve çalışmaya dahil edilmeleri konusunda bilgilendirilmeleri sonrasında kabul eden ebeveynlerden imzalı, çocuklardan ise sözlü olarak, onam formu alınmıştır. Çalışma protokolü, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca onaylanmıştır. Araştırmamız İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince de onaylanarak 34574'nolu proje ile desteklenmiştir.

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvuran çocuklardan alınan periferik kan örnekleri, toplanarak santrifüj edilmiş ve -80^{o}C' de derin dondurucularda biyokimya laboratuvarında saklanmıştır.

Tüm çocukların ağırlıkları, boyları, bel, kalça, baş ve boyun çevreleri ölçülerek kaydedilmiştir. Antropometrik ölçümlerden, BKİ, bel/kalça oranları ile diğer obezite ile ilgili oranlar ve formüller hesaplanarak kontrol grubu ve obez çocukların antropometrik ölçümlerinin istatistiksel analizleri yapılmıştır.

Kontrol ve obez gruplarda NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçil grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18, biotin parametrelerinin tamamı sandviç ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. Grelin, KISS1 ve biotin parametreleri ise aynı zamanda kompetitif ELISA yöntemi ile de çalışılmış ve sandviç ELISA yöntemi ile kompetitif ELISA yöntemi ile elde edilen değerler arasında karşılaştırma yapılarak detaylı sonuçlar elde edilmiştir.

3.1. Biotin Çalışması

Farklı biotin konsantrasyonlarının, değişik serum grupları üzerindeki olası etkilerini incelemek için sağlıklı kontrol ve obez çocukların kan örneklerinden serum havuzları hazırlanmıştır. Kontrol 5 grup (45 örnek), obez 5 grup (45 örnek) olacak şekilde çalışma planlanmıştır. 1 mg/ml'lik stok biotin çözeltisi hazırlandıktan sonra bu stoktan saf su ile seyreltilerek 0 (kontrol) 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 1200 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin içeren çalışma çözeltileri hazırlanmış olup, bu çalışma çözeltilerinin her birinden serum örneklerine ilave edilmiştir. Serum havuzlarında yer alan her bir örneğin biotin konsantrasyonları sandviç ve kompetitif yöntemle çalışan ELISA kitleri ile belirlenmiştir. Böylece 0 (kontrol) 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 1200 ng/ml'lik biotin çalışma çözeltisi içeren serum havuzu örneklerinin biotin konsantrasyonları farklı prensiplerle çalışan iki ayrı yöntemle de karşılaştırılmıştır.

Benzer şekilde sağlıklı ve obez çocuklardan alınan kan örneklerinden serum havuzları oluşturularak NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin ölçümleri sırasındaki olası biotin interferansının araştırılması hedeflenmiştir. Aynı şekilde hazırlanan 1 mg/ml'lik stok biotin çözeltisinden 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin içeren çalışma çözeltileri hazırlanmıştır. Sağlıklı 3 grup (12 örnek), obez 4 grup (16 örnek) olusturulmuş ve hazırlanan çalışma çözeltilerinin her birinden serum havuzu örneklerine ilave edilerek her bir örneğin NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 konsantrasyonları hem sandviç ve hem de kompetitif prensiple çalışan ELISA kitleri ile belirlenmiştir. Böylece farklı konsantrasyonlardaki biotinin manuel ELISA yöntemi ile çalışan araştırma kitleri üzerinde yarattığı interferans etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

Tüm laboratuvar çalışmaları Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.2.Kullanılan Cihaz ve Aletler

Soğutmalı Santrifüj (HETTICH Rotina 380)

Etüv (TERMAL)

Vorteks (DRAGONLAB MX-S)

Plaka okuyucu (BioTek ELx800)

Plaka yıkayıcı (BioTek ELx50)

Plaka karıştırıcı (DRAGON)

Pipet seti (EPPENDORF)

Biotin 5 gr. (SIGMA-14400)

Hassas terazi

3.3. Kullanılan Kit ve Kimyasallar

Laboratuvar çalışmalarında kullanılan kit ve kimyasallar Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3-1: Laboratuvar çalışmalarında kullanılan kit ve kimyasallar

Kit Adı	Markası	Katalog No	CV (%)	Ölçüm Aralığı
Leptin ELISA Kiti	DRG	EIA-2395	Intra assay CV %7,3- 7,1- 4,2 Inter assay CV %6,9- 3,7- 9,1	0,7-100 ng/ml
Grelin ELISA Kiti	BT-LAB	E3091Hu	Intra assay CV <8% Inter assay CV <10%	0,05-10 ng/ml
Açile Grelin ELISA Kiti	BT-LAB	E3090Hu	Intra assay CV <8% Inter assay CV <10%	0,05-15 ng/ml
Deaçile Grelin ELISA Kiti	BT-LAB	E4218Hu	Intra assay CV <8% Inter assay CV <10%	0,5-200 ng/L
GHSR ELISA Kiti	CLOUD-CLONE	SEC516Hu	Intra assay CV <10% Inter assay CV <12%	0,156-10 ng/ml
Grelin Kompetitif ELISA Kiti	ELABSCIENCE	E-EL-H1919	Intra assay CV %6- 4,44- 3,17 Inter assay CV %6- 4,44- 3,51	0,16-10 ng/ml

Kit Adı	Markası	Katalog No	CV (%)	Ölçüm Aralığı
LEPR ELISA Kiti	ELABSCIENCE	E-EL-H0093	Intra assay CV %6,48-5,43-3,44 Inter assay CV %6,25-5,21-3,49	0,31-20 ng/ml
KISS1 ELISA Kiti	ELABSCIENCE	E-EL-H2129	Intra assay CV %5,1-4,65-4,9 Inter assay CV %6,59-4,94- 3,11	125-8000 pg/ml
KISS1 Kompetitif ELISA Kiti	CLOUD-CLONE	CEC559Hu	Intra assay CV <10% Inter assay CV <12%	12,35-1000 pg/ml
KISS1R ELISA Kiti	CLOUD-CLONE	SEF540Hu	Intra assay CV <10% Inter assay CV <12%	0,312-20 ng/ml
NLRP3 ELISA Kiti	CLOUD-CLONE	SEK115Hu	Intra assay CV <10% Inter assay CV <12%	0,312-20 ng/ml
Preptin ELISA Kiti	ELABSCIENCE	E-EL-H0913	Intra assay CV %5,62-4,63-4,65 Inter assay CV %6,99-5,24- 3,03	62,5-4000 pg/ml
PPAR γ ELISA Kiti	ELABSCIENCE	E-EL-H1361	Intra assay CV %6,38-6,25-3,48 Inter assay CV %6,52-6,09-5,41	0,16-10 ng/ml
IL-18 ELISA Kiti	ELABSCIENCE	E-EL-H0253	Intra assay CV %6,04-4,67-4,81 Inter assay CV %6,88-4,37-3,59	15,63-1000 pg/ml
Biotin (Vitamin H) Sandviç ELISA Kiti	BT-LAB	E3932Hu	Intra assay CV <8% Inter assay CV <10%	1-300 ng/ml
Biotin Kompetitif ELISA Kiti	CUSABIO	CSB-E16209	Intra assay CV <8% Inter assay CV <10%	12,5-200 pg/ml
Biotin 5 gr	SIGMA	14400	>99%'luk	

3.4. Leptin ELISA Kiti (215)

3.4.1. Çalışma Prensibi

Leptin ELISA Kiti, sandviç yöntem ile çalışan bir ELISA kitidir. Mikrotitre kuyucukları, bir leptin molekülü üzerindeki benzersiz bir antijenik bölgeye yönelik bir monoklonal antikor ile kaplanır. Endojen leptin içeren örneklerin bir kısmı, özel bir biotinlenmiş monoklonal anti leptin antikoru ile kaplanmış kuyuda inkübe edilir. Bir sandviç kompleksi oluşur. İnkübasyondan sonra bağlanmamış malzeme yıkanır ve bağlı leptinin saptanması için bir steptavidin peroksidaz enzim karışımı eklenir. Substrat çözeltisi eklendikten sonra gelişen rengin yoğunluğu örneklerdeki leptin konsantrasyonu ile orantılıdır. Örnek ve standartlardaki renk değişimi asit eklenerek durdurulur ve 450 nm de okunur.

3.4.2. İçerdiği Kimyasallar

Mikrotitre plağı; Anti-Leptin antikoru (monoklonal) ile kaplanmış 12x8'li şeritler halindeki 96 kuyucuk

Liyofilize halde 6 şişe standart, 0,5 ml; Konsantrasyonları: 0, 2, 5, 25, 50 ve 100 ng/ml

Liyofilize halde 2 şişe Kontrol (Düşük ve Yüksek), 0,5 ml

Analiz Tampon Çözeltisi, 1 flakon, 11 ml, kullanıma hazır

Antiserum, 1 şişe, 11 ml, kullanıma hazır

Enzim Karışımı, 1 şişe, 11 ml, kullanıma hazır

Substrat Çözeltisi, 1 şişe, 14 ml, kullanıma hazır

Durdurma Çözeltisi, 1 flakon, 14 ml, kullanıma hazır, 0,5 M H_2SO_4 içerir

Yıkama Çözeltisi, 1 şişe, 30 ml (40X konsantre).

3.4.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kontroller bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.4.4. Protokol

1. Yeni tek kullanımlık uçlarla her Standart, kontrol ve örneklerden 15 µl uygun kuyucuklara dağıtılır.

2. Her kuyucuğa 100 analiz tampon çözeltisi eklenir ve 10 saniye boyunca iyice karıştırılır

3. 120 dakika oda sıcaklığında (plakayı örtmeden) inkübe edilir.

4. Kuyular seyreltilmiş yıkama çözeltisi (kuyu başına 300 µl) ile 3 kez yıkanır.

5. Her kuyucuğa 100 µl antiserum eklenir.

6. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilir.

7. Kuyular seyreltilmiş yıkama çözeltisi (kuyu başına 300 µl) ile 3 kez yıkanır.

8. Her bir kuyucuğa 100 µl enzim Karışımı eklenir.

9. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilir.

10. Kuyular seyreltilmiş yıkama çözeltisi (kuyu başına 300 µl) ile 3 kez yıkanır.

11. Her kuyucuğa 100 µl substrat çözeltisi eklenir.

12. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilir.

13. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenerek enzimatik reaksiyon durdurulur.

14. 450 nm'de ELISA okuyucuda okunur.

3.4.5. Sonuçların Hesaplanması

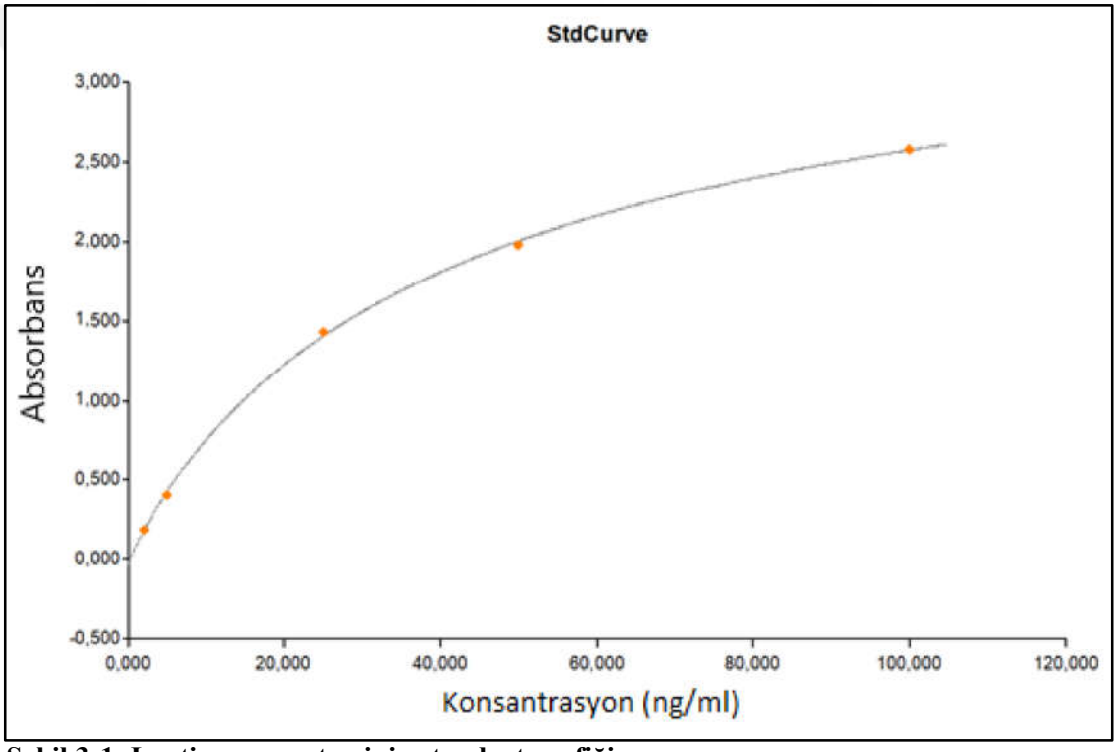
Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.1'de yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.

3.5. LEPR ELISA Kiti (216)

3.5.1. Çalışma Prensibi

Bu ELISA kiti, sandviç ELISA prensibini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, insan LEPR'sine özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler, mikro ELISA plaka kuyularına eklenir ve spesifik antikor

ile birleştirilir. Daha sonra insan LEPR'sine ve Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatına özgü biotinlenmiş bir saptama antikoru, her bir mikro plaka kuyusuna art arda eklenir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat çözeltisi her kuyuya eklenir. Yalnızca insan LEPR'si, biotinlenmiş saptama antikoru ve Avidin-HRP konjugatı içeren oyuklar mavi renkte görünecektir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılır ve renk sararır. Absorbans, 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Absorbans değeri, İnsan LEPR'sinin konsantrasyonu ile orantılıdır. Örneklerin absorbansı standart eğriyle karşılaştırılarak örneklerdeki insan LEPR konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil 3-1: Leptin parametresinin standart grafiği.

3.5.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (20 ng/ml) 2 adet

Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Biotinlenmiş Tespit Antikoru (100x) 120 µl x1

HRP Konjugat (100x) 120 µl x1

Standart ve Örnek Seyreltme Çözeltisi 20 ml x1

Biotinlenmiş Tespit Antikoru Seyreltme Çözeltisi 14 ml x1

HRP Konjugat Seyreltme Çözeltisi 14 ml x1

Yıkama Tampon Çözeltisi (25x) 30 ml x1

Substrat Reaktifi 10 ml X1

Durdurma Çözeltisi 10 ml x1

3.5.3. Çalışma Planı

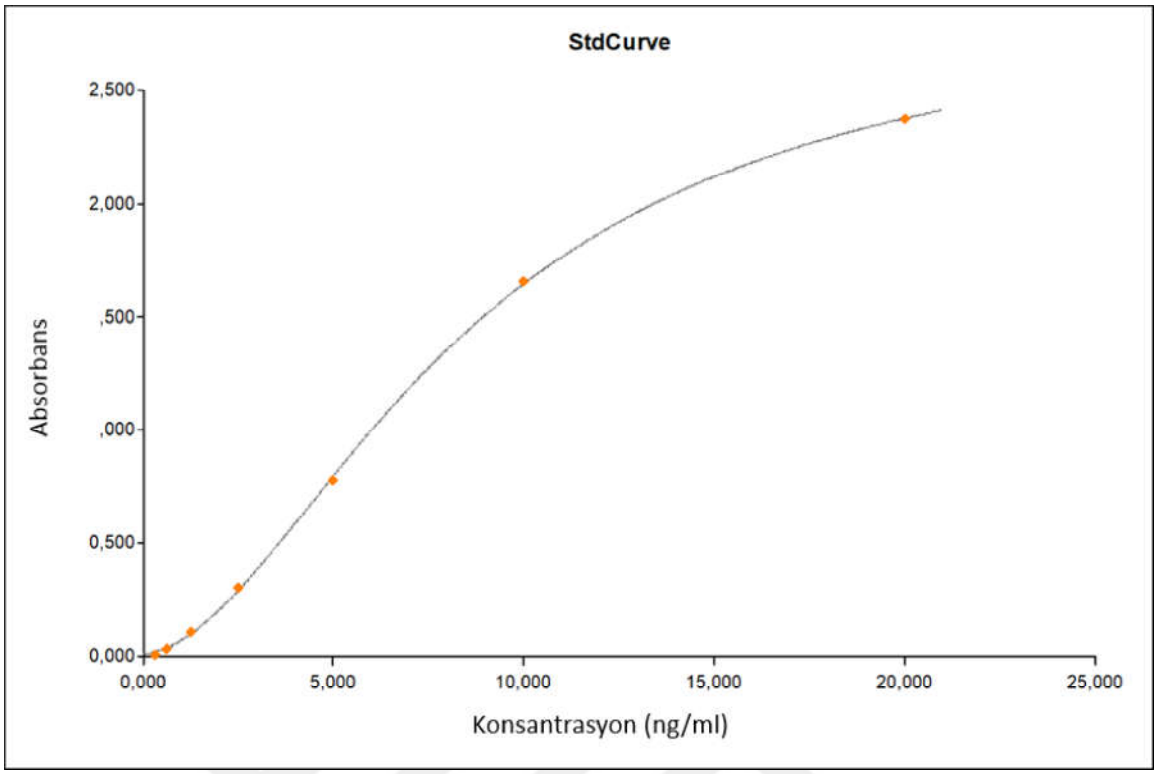
12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.5.4. Protokol

1. Standartlar (20-10-5-2,5-1,25-0,63-0,31-0 ng/ml) ve örnekler 100 µl olacak şekilde kuyucuklara eklenir.
2. 37°C'de 90 dakika inkübe edilir.
3. Kuyucuklardaki sıvı uzaklaştırılır fakat yıkanmaz. Her kuyuya hemen 100µl Biotinlenmiş Tespit Antikoru çalışma çözeltisi eklenir.
4. 37°C'de 60 dakika inkübe edilir.
5. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 3 kez yıkanır
6. Her kuyucuğa 100 µl HRP Konjugat çalışma çözeltisi eklenir.
7. 37°C'de 30 dakika inkübe edilir.
8. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır
9. Her kuyucuğa 90 µl Substrat Reaktifi eklenir.
10. 37°C'de yaklaşık 15 dakika karanlık ortamda inkübe edilir.
11. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir ve 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro plaka okuyucu ile her bir kuyunun absorbansı belirlenir.

3.5.5. Sonuçların Hesaplanması

Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.2'de yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil 3-2: LEPR parametresinin standart grafiği.

3.6. Grelin ELISA Kiti (217)

3.6.1. Çalışma Prensibi

Bu kit, sandviç yöntem ile çalışan bir ELISA kitidir. Plaka, insan grelin antikoru ile önceden kaplanmıştır. Örneklerde bulunan grelin eklenerek kuyucuklardaki antikorlara bağlanır. Daha sonra biotinlenmiş insan grelin antikoru eklenir ve örneklerdeki greline bağlanır. Streptavidin-HRP eklenir ve Biotinlenmiş grelin antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı ile uzaklaştırılır. Daha sonra substrat çözeltisi eklenir ve insan grelin miktarıyla orantılı olarak renk oluşur. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılarak 450 nm'de absorbans ölçülür.

3.6.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (12.8 ng/ml) 0.5 ml x1
Önceden Kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk
Standart Seyreltme Çözeltisi 3 ml x1
Streptavidin-HRP 6 ml x1
Durdurma Çözeltisi 6 ml x1
Substrat Çözeltisi A 6 ml x1

Substrat Çözeltisi B 6 ml x1

Yıkama Tampon Çözeltisi (25x) 20 ml x1

Biotinlenmiş İnsan Grelin Antikoru 1 ml x1

3.6.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.6.4. Protokol

1. Standart kuyuya seri dilüsyon şeklinde sulandırılmış olan standartlar (6,4-3,2-1,6-0,8-0,4-0 ng/ml) 50 µl miktarında eklenir.

2. Örnek kuyularına 40 µl örnek ardından 10 µl anti-grelin antikoru ve ardından örnek kuyularına ve standart kuyulara 50 µl streptavidin-HRP eklenir

3. 37°C'de 60 dakika inkübe edilir.

4. Yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır ve iyice kurutulur.

5. Her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi A ve ardından her kuyuya 50 µl substrat çözeltisi B eklenir. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca plak inkübe edilir.

6. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir.

7. Durdurma çözeltisinu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'de absorbans belirlenir.

3.6.5. Sonuçların Hesaplanması

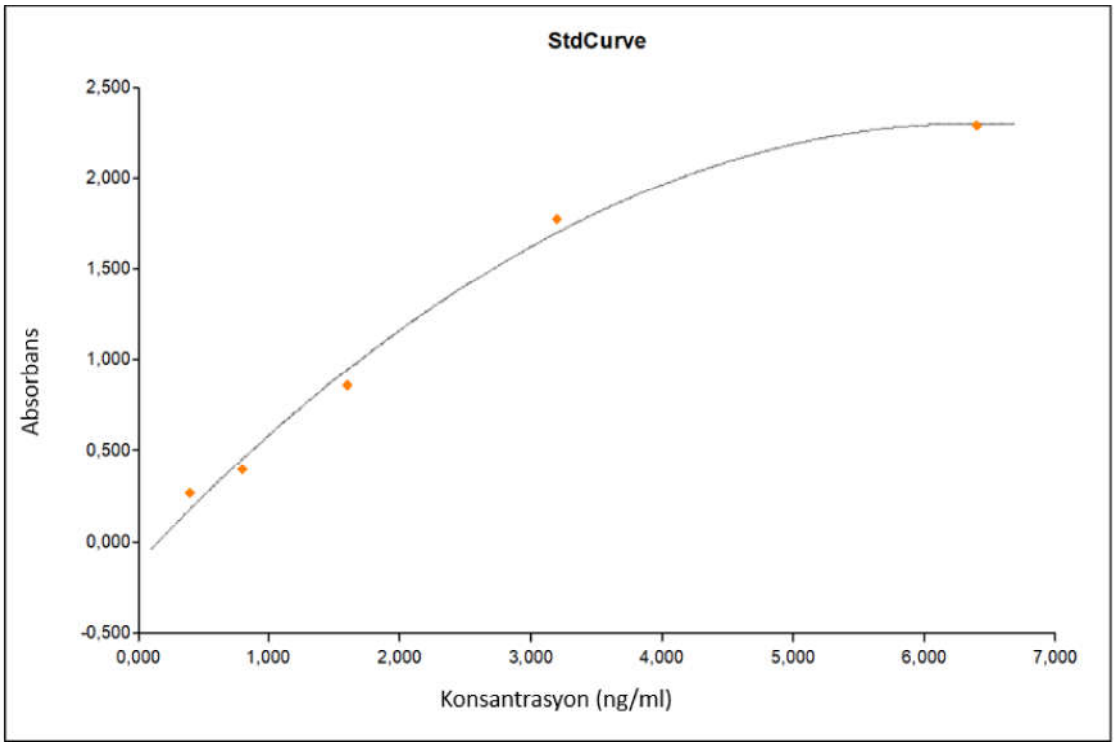
Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.3'te yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.

3.7. Açile Grelin ELISA Kiti (218)

3.7.1. Çalışma Prensibi

Bu kit, sandviç yöntem ile çalışan bir ELISA kitidir. Plaka, insan açile grelin antikoru ile önceden kaplanmıştır. Örneklerde bulunan açile grelin eklenerek kuyucuklardaki antikorlara bağlanır. Daha sonra biotinlenmiş insan açile grelin antikoru eklenir ve örneklerdeki açile greline bağlanır. Streptavidin-

HRP eklenir ve biotinlenmiş açile grelin antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı ile uzaklaştırılır. Daha sonra substrat çözeltisi eklenir ve insan açile grelin miktarıyla orantılı olarak renk oluşur. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılarak 450 nm'de absorbans ölçülür.



Şekil 3-3: Grelin parametresinin standart grafiği.

3.7.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (16 ng/ml) 0.5 ml x1

Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Standart Seyreltme Çözeltisi 3 ml x1

Streptavidin-HRP 6 ml x1

Durdurma Çözeltisi 6 ml x1

Substrat Çözeltisi A 6 ml x1

Substrat Çözeltisi B 6 ml x1

Yıkama Tampon Çözeltisi (25x) 20 ml x1

Biotinlenmiş İnsan Açile Grelin Antikoru 1 ml x1

3.7.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.7.4. Protokol

1. Standart kuyuya seri dilüsyon şeklinde sulandırılmış olan standartlar (8-4-2-1-0,5-0 ng/ml) 50 µl miktarında eklenir.

2. Örnek kuyularına 40 µl örnek ardından 10 µl anti-açile grelin antikoru ve ardından örnek kuyularına ve standart kuyulara 50 µl streptavidin-HRP eklenir

3. 37° C'de 60 dakika inkübe edilir.
4. Yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır ve iyice kurutulur.

5. Her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi A ve ardından her kuyuya 50 µl substrat çözeltisi B eklenir. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca plak inkübe edilir.
6. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir.

7. Durdurma çözeltisini ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'de absorbans belirlenir.

3.7.5. Sonuçların Hesaplanması

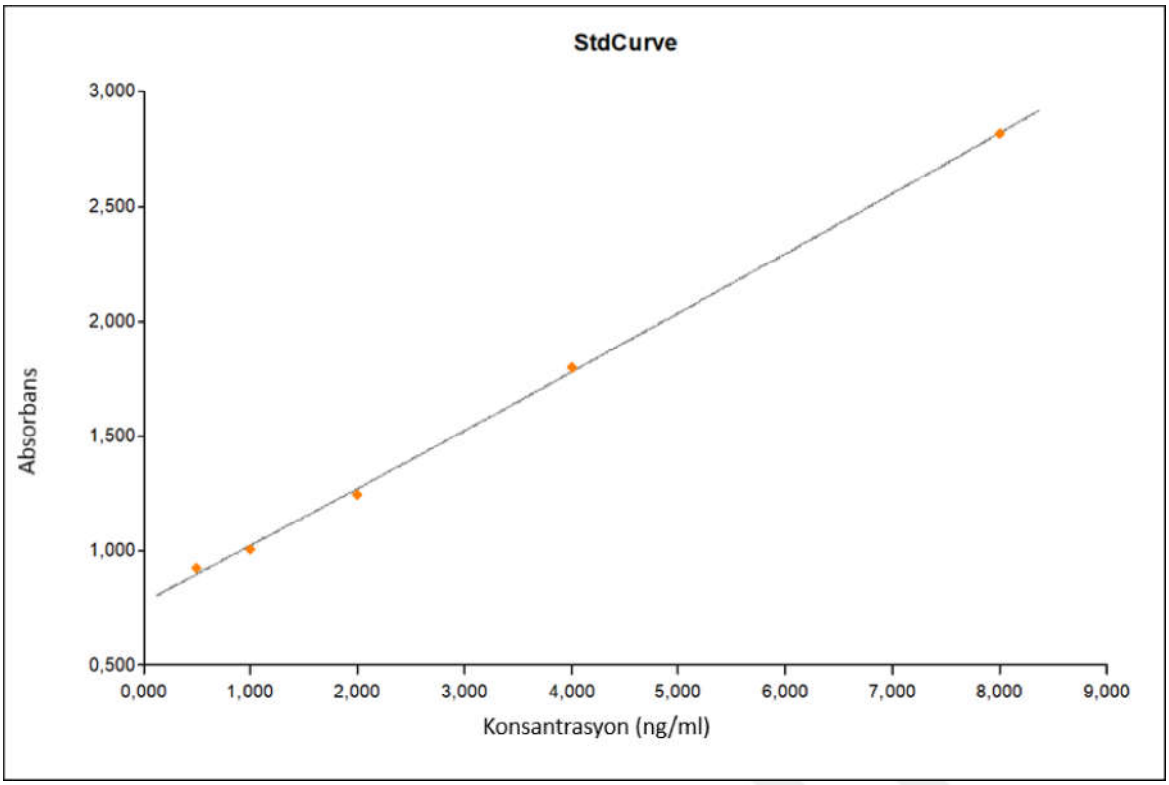
Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.4'te yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.

3.8. Deaçile Grelin ELISA Kiti (219)

3.8.1. Çalışma Prensibi

Bu kit, sandviç yöntem ile çalışan bir ELISA kitidir. Plaka, insan deaçile grelin antikoru ile önceden kaplanmıştır. Örneklerde bulunan deaçile grelin eklenerek kuyucuklardaki antikorlara bağlanır. Daha sonra biotinlenmiş insan deaçile grelin antikoru eklenir ve örneklerdeki deaçile greline bağlanır. Streptavidin-HRP eklenir ve biotinlenmiş deaçile grelin antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı ile uzaklaştırılır. Daha sonra substrat çözeltisi eklenir ve insan deaçile grelin

miktarıyla orantılı olarak renk oluşur. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılarak 450 nm'de absorbans ölçülür.



Şekil 3-4: Açile Grelin parametresinin standart grafiği.

3.8.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (240 ng/L) 0.5 ml x1

Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Standart Seyreltme Çözeltisi 3 ml x1

Streptavidin-HRP 6 ml x1

Durdurma Çözeltisi 6 ml x1

Substrat Çözeltisi A 6 ml x1

Substrat Çözeltisi B 6 ml x1

Yıkama Tampon Çözeltisi (25x) 20 ml x1

Biotinlenmiş İnsan Deaçile Grelin Antikoru 1 ml x1

3.8.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.8.4. Protokol

1. Standart kuyuya seri dilüsyon şeklinde sulandırılmış olan standartlar (120-60-30-15-7,5-0 ng/L) 50 µl miktarında eklenir.

2. Örnek kuyularına 40 µl örnek ardından 10 µl anti-deaçile grelin antikoru ve ardından örnek kuyularına ve standart kuyulara 50 µl streptavidin-HRP eklenir

3. 37°C'de 60 dakika inkübe edilir.

4. Yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır ve iyice kurutulur.

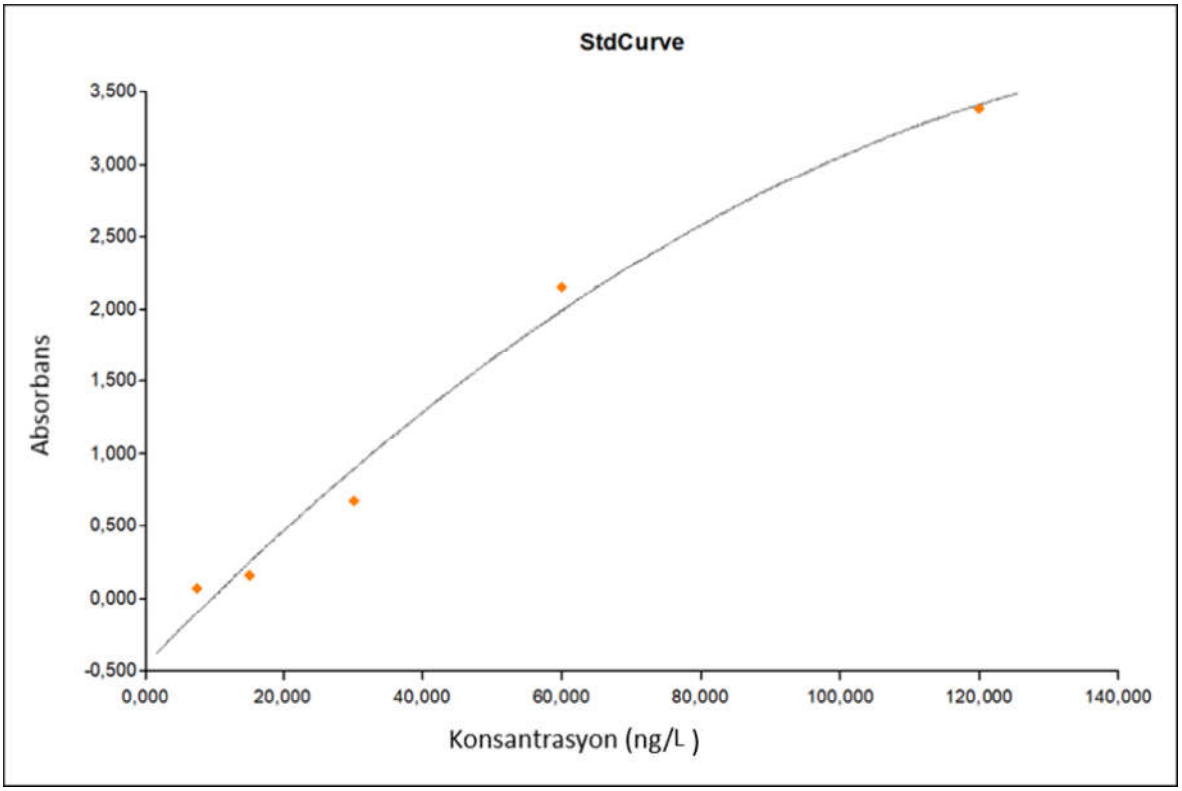
5. Her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi A ve ardından her kuyuya 50 µl substrat çözeltisi B eklenir. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca plak inkübe edilir.

6. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir.

7. Durdurma çözeltisini ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'de absorbans belirlenir.

3.8.5. Sonuçların Hesaplanması

Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.5'te yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil 3-5: Deaçile Grelin parametresinin standart grafiği.

3.9. GHSR ELISA Kiti (220)

3.9.1. Çalışma Prensibi

Bu kit, sandviç yöntem ile çalışan bir ELISA kitidir. Mikroplaka, GHSR'ye özgü antikorlarla önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler GHSR'ye özgü biotin-konjuge antikor ile uyumlu mikroplaka kuyularına eklenir. Daha sonra HRP ile konjuge Avidin her mikroplaka kuyusuna eklenir ve inkübe edilir. Tetrametil benzidin (TMB) substrat çözeltisi eklendikten sonra, sadece GHSR, biotin-konjuge antikor ve enzim-konjuge Avidin içeren kuyucuklarda renkte değişiklik olacaktır. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek sonlandırılır ve renk değişimi 450nm ± 10nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Örneklerdeki GHSR konsantrasyonu standart eğriye göre belirlenir.

3.9.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (20 ng/ml) 2 adet
Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Tespit Reaktifi A 120 µl x1

Tespit Reaktifi B 120 µl x1

TMB Substrat 9 ml x1
Standart Seyreltme Çözeltisi 20 ml x1
Durdurma Çözeltisi 6 ml x1
Analiz Seyreltme Çözeltisi A 12 ml x1

Analiz Seyreltme Çözeltisi B 12 ml x1
Yıkama Tampon Çözeltisi (30x) 20 ml x1

3.9.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.9.4. Protokol

1. Seyreltilmiş standart, kör ve örnek için kuyular belirlenir. Standart için 7 kuyu, kör için 1 kuyu hazırlanır. Uygun kuyucuklara seyreltilmiş standartlar (10-5-2,5-1,25-0,625-0,312-0,156-0 ng/ml) kör ve örneklerin her birinden 100 µl eklenir.

2. Plaka kapatıcı ile örtülerek 37ºC'de 1 saat boyunca inkübe edilir.
3. Her kuyucuktaki sıvı aspire edilir ve yıkamadan üzerine 100 µl tespit reaktifi A eklenir

4. Plaka kapatıcı ile örtülerek 37ºC'de 1 saat boyunca inkübe edilir.

5. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 3 kez yıkanır

6. Her kuyucuğa 100 µl tespit reaktifi B eklenir

7. Plaka kapatıcı ile örtülerek 37ºC'de yarım saat boyunca inkübe edilir.

8. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır

9. Her kuyuya 90µl substrat çözeltisi eklenerek 37ºC'de 10-20 dakika inkübe edilir ve maviye dönmesi beklenir

10. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir renk değişimi gerçekleşir ve 450 nm'de ölçüm yapılır.

3.9.5. Sonuçların Hesaplanması

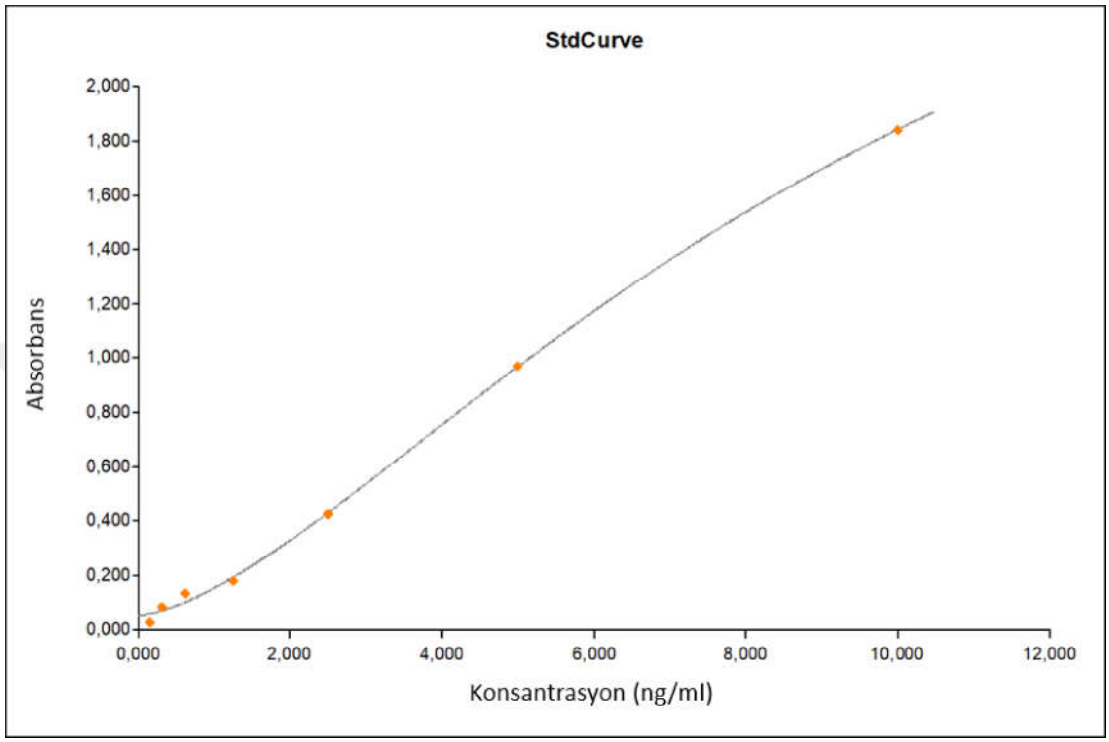
Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.6'da yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.

3.10. Grelin Kompetitif ELISA Kiti (221)

3.10.1. Çalışma Prensibi

Bu ELISA kiti, kompetitif ELISA yöntemini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, Human Grelin ile önceden kaplanmıştır. Reaksiyon sırasında, örneklerdeki veya standarttaki insan grelini ile katı faz destekçisi üzerindeki insan grelinine özgü Biotinlenmiş Ab için sabit miktardaki insan grelini rekabet eder. Fazla konjugat ve bağlanmamış örnek veya standart plakadan yıkanır ve HRP ile konjuge Avidin her mikroplaka kuyusuna eklenerek inkübe edilir. Daha sonra her kuyucuğa bir TMB substrat çözeltisi eklenir. Durdurma çözeltisi

eklenerek enzim-substrat reaksiyonu sonlandırılır ve renk değişimi 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Örneklerdeki insan GHRL konsantrasyonu daha sonra örneklerin absorbansı standart eğri ile karşılaştırılarak belirlenir.



Şekil 3-6: GHSR parametresinin standart grafiği.

3.10.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (10 ng/ml) 2 adet
Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Biotinlenmiş Tespit Antikoru (100x) 120 µl x1

HRP Konjugat (100x) 120 µl x1

Standart ve Örnek Seyreltme Çözeltisi 20 ml x1

Biotinlenmiş Tespit Antikoru Seyreltme Çözeltisi 14 ml x1

HRP Konjugat Seyreltme Çözeltisi 14 ml x1

Yıkama Tampon Çözeltisi (25x) 30 ml x1

Substrat Reaktifi 10 ml X1
Durdurma Çözeltisi 10 ml x1

3.10.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.10.4. Protokol

1. Standartlar (10-5-2,5-1,25-0,63-0,31-0,16-0 ng/ml) ve örnekler 50 µl olacak şekilde kuyucuklara eklenir.
2. Her kuyuya hemen 50 µl Biotinlenmiş Tespit Antikoru çalışma çözeltisi eklenir.
3. 37°C'de 45 dakika inkübe edilir.
4. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 3 kez yıkanır
5. Her kuyucuğa 100 µl HRP Konjugat çalışma çözeltisi eklenir.
6. 37°C'de 30 dakika inkübe edilir.
7. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır
8. Her kuyucuğa 90 µl Substrat Reaktifi eklenir.
9. 37°C'de yaklaşık 15 dakika karanlık ortamda inkübe edilir.
10. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir ve 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro plaka okuyucu ile her bir kuyunun absorbansı belirlenir.

3.10.5. Sonuçların Hesaplanması

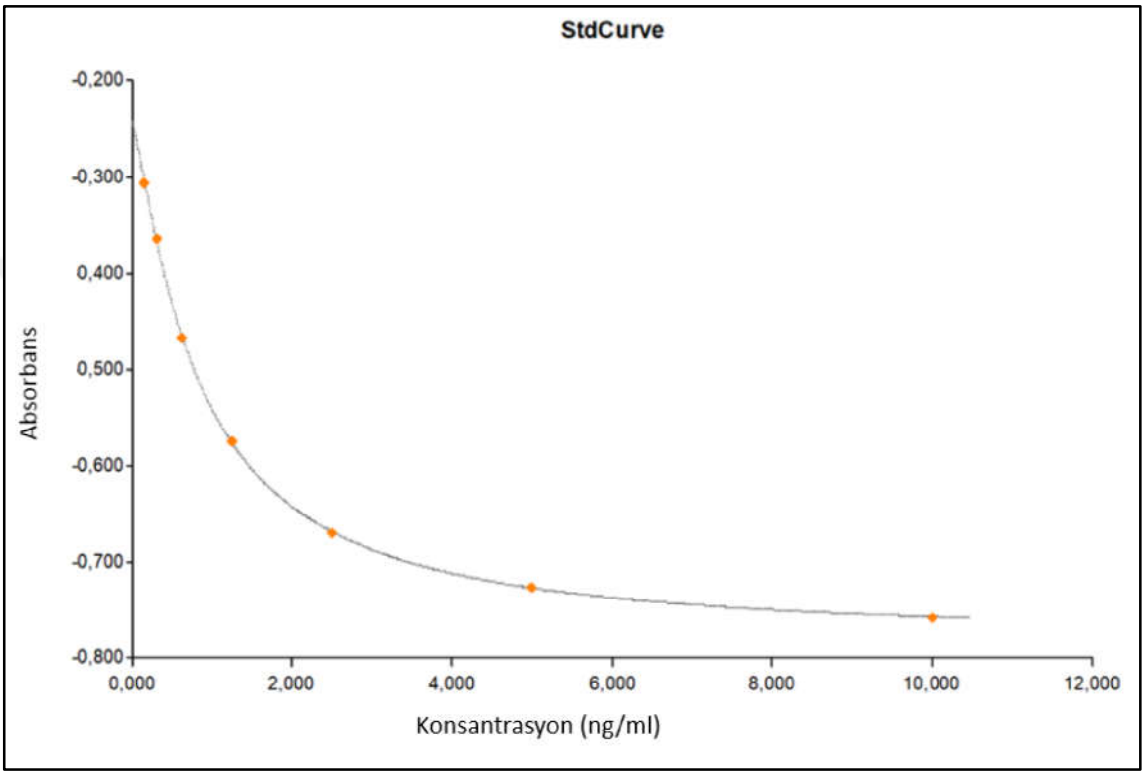
Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.7'de yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.

3.11. KISS1 ELISA Kiti (222)

3.11.1. Çalışma Prensibi

Bu ELISA kiti, sandviç ELISA prensibini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, insan KISS1'e özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler, mikro ELISA plaka kuyularına eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra insan KISS1'e ve Avidin-HRP konjugatına özgü biotinlenmiş bir saptama antikoru, her bir mikro plaka kuyusuna art arda eklenir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat çözeltisi her kuyuya eklenir. Yalnızca insan KISS1'i, biotinlenmiş saptama antikoru ve Avidin-HRP konjugatı

içeren oyuklar mavi renkte görünecektir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılır ve renk sararır. Absorbans, 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Absorbans değeri, İnsan KISS1'nin konsantrasyonu ile orantılıdır. Örneklerin absorbansı standart eğriyle karşılaştırılarak örneklerdeki insan KISS1 konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil 3-7: Grelin Kompetitif parametresinin standart grafiği.

3.11.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (8000 pg/ml) 2 adet

Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Biotinlenmiş Tespit Antikoru (100x) 120 µl x1

HRP Konjugat (100x) 120 µl x1

Standart ve Örnek Seyreltme Çözeltisi 20 ml x1

Biotinlenmiş Tespit Antikoru Seyreltme Çözeltisi 14 ml x1

HRP Konjugat Seyreltme Çözeltisi 14 ml x1

Yıkama Tampon Çözeltisi (25x) 30 ml x1

Substrat Reaktifi 10 ml X1

Durdurma Çözeltisi 10 ml x1

3.11.3. Çalışma Planı

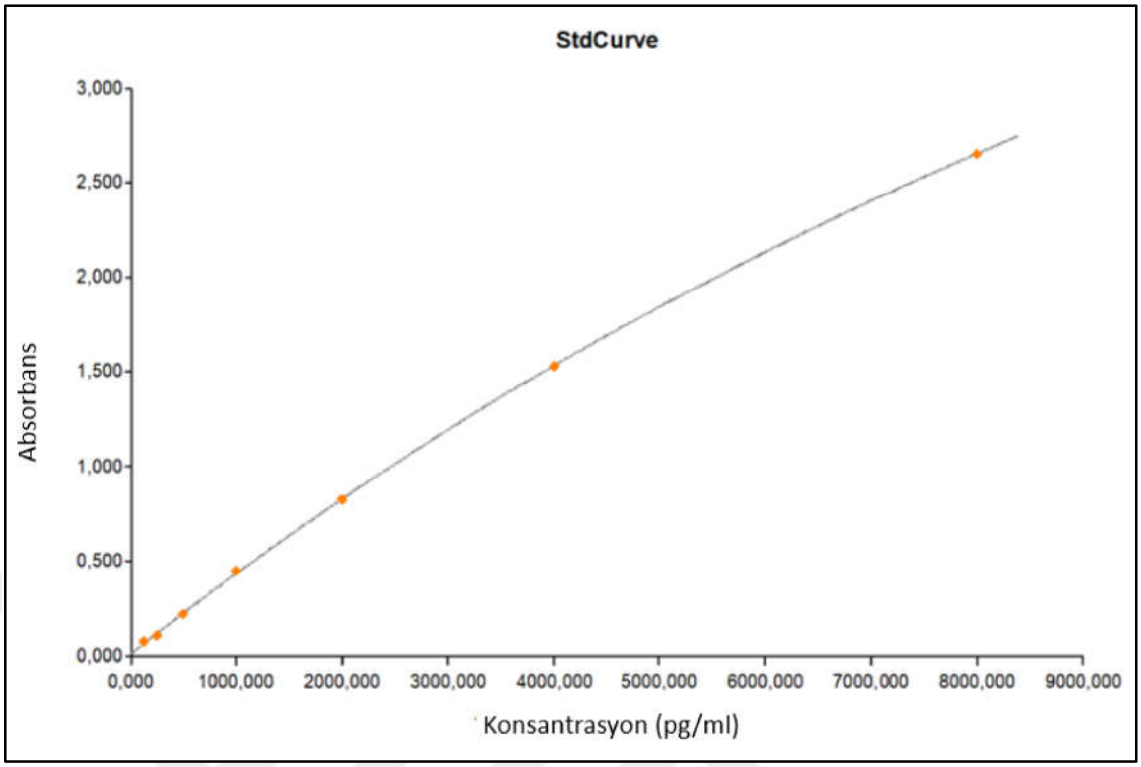
12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.11.4. Protokol

1. Standartlar (8000-4000-2000-1000-500-250-125-0 pg/ml) ve örnekler 100 µl olacak şekilde kuyucuklara eklenir.
2. 37°C'de 90 dakika inkübe edilir.
3. Kuyucuklardaki sıvı uzaklaştırılır fakat yıkanmaz. Her kuyuya hemen 100µl Biotinlenmiş Tespit Antikoru çalışma çözeltisi eklenir.
4. 37°C'de 60 dakika inkübe edilir.
5. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 3 kez yıkanır
6. Her kuyucuğa 100 µl HRP Konjugat çalışma çözeltisi eklenir.
7. 37°C'de 30 dakika inkübe edilir.
8. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır
9. Her kuyucuğa 90 µl Substrat Reaktifi eklenir.
10. 37°C'de yaklaşık 15 dakika karanlık ortamda inkübe edilir.
11. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir ve 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro plaka okuyucu ile her bir kuyunun absorbansı belirlenir.

3.11.5. Sonuçların Hesaplanması

Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.8'de yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil 3-8: KISS1 parametresinin standart grafiği.

3.12. KISS1 Kompetitif ELISA Kiti (223)

3.12.1. Çalışma Prensibi

Bu tahlil, kompetitif inhibisyon ELISA prensibini kullanır. KISS1'e özgü bir monoklonal antikor, bir mikroplaka üzerine önceden kaplanmıştır. Biotin etiketli KISS1 ve etiketlenmemiş KISS1 (Standartlar veya örnekler) arasında KISS1'e özgü önceden kaplanmış antikor ile rekabetçi bir inhibisyon reaksiyonu başlatılır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış konjugat yıkanır. Daha sonra HRP ile konjuge edilmiş avidin her mikroplaka kuyusuna eklenir ve inkübe edilir. Bağlı HRP konjugatının miktarı, örneklerdeki KISS1 konsantrasyonuyla ters orantılıdır. Substrat çözeltisinin eklenmesinden sonra gelişen rengin yoğunluğu, örneklerdeki KISS1 konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

3.12.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (1000 pg/ml) 2 adet

Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Tespit Reaktifi A 150 µl x1

Tespit Reaktifi B 120 µl x1

Reaktif Seyreltme Çözeltisi 300 µl x1

TMB Substrat 9 ml x1

Standart Seyreltme Çözeltisi 20 ml x1

Durdurma Çözeltisi 6 ml x1

Analiz Seyreltme Çözeltisi A 12 ml x1

Analiz Seyreltme Çözeltisi B 12 ml x1

Yıkama Tampon Çözeltisi (30x) 20 ml x1

3.12.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.12.4. Protokol

1. Seyreltilmiş standart, kör ve örnek için kuyular belirlenir. Standart için 5 kuyu, kör için 1 kuyu hazırlanır. Uygun kuyucuklara seyreltilmiş standartlar (1000-333,33-111,11-37,04-12,35-0 pg/ml) kör ve örneklerin her birinden 50 µl eklenir. Ardından her kuyucuğa hemen 50 µl tespit reaktifi A eklenir.

2. Plaka kapatıcı ile örtülerek 37ºC'de 1 saat boyunca inkübe edilir.

3. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 3 kez yıkanır

4. Her kuyucuğa 100 µl tespit reaktifi B eklenir

5. Plaka kapatıcı ile örtülerek 37ºC'de yarım saat boyunca inkübe edilir.

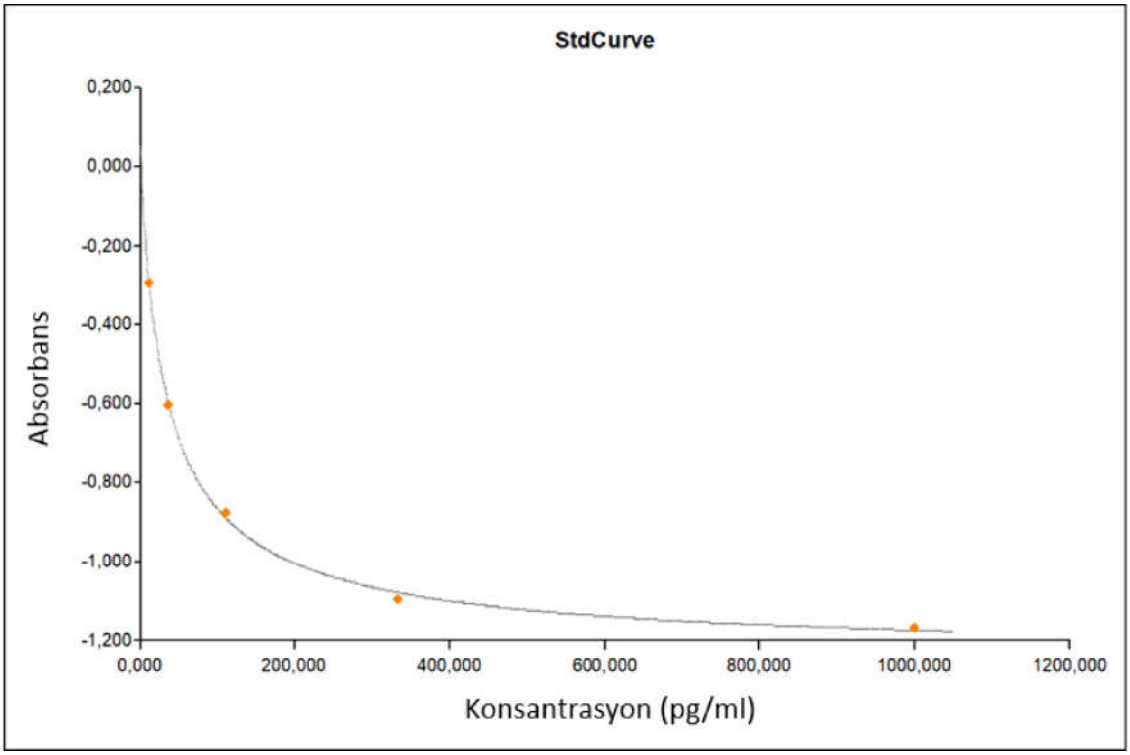
6. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır

7. Her kuyuya 90 µl substrat çözeltisi eklenerek 37ºC'de 10-20 dakika inkübe edilir ve maviye dönmesi beklenir

8. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir renk değişimi gerçekleşir ve 450 nm'de ölçüm yapılır.

3.12.5. Sonuçların Hesaplanması

Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.9'da yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil 3-9: KISS1 Kompetitif parametresinin standart grafiği.

3.13. KISS1R ELISA Kiti (224)

3.13.1. Çalışma Prensibi

Bu kit, sandviç yöntem ile çalışan bir ELISA kitidir. Mikroplaka, KISS1R'ye özgü antikorlarla önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler KISS1R'ye özgü biotin-konjuge antikor ile uyumlu mikroplaka kuyularına eklenir. Daha sonra HRP ile konjuge Avidin her mikroplaka kuyusuna eklenir ve inkübe edilir. TMB substrat çözeltisi eklendikten sonra, sadece KISS1R, biotin-konjuge antikor ve enzim-konjuge Avidin içeren kuyucuklarda renkte değişiklik olacaktır. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek sonlandırılır ve renk değişimi 450nm ± 10nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Örneklerdeki KISS1R konsantrasyonu standart eğriye göre belirlenir.

3.13.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (20 ng/ml) 2 adet
Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Tespit Reaktifi A 120 µl x1

Tespit Reaktifi B 120 µl x1

TMB Substrat 9 ml x1
Standart Seyreltme Çözeltisi 20 ml x1
Durdurma Çözeltisi 6 ml x1
Analiz Seyreltme Çözeltisi A 12 ml x1

Analiz Seyreltme Çözeltisi B 12 ml x1
Yıkama Tampon Çözeltisi (30x) 20 ml x1

3.13.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.13.4. Protokol

1. Seyreltilmiş standart, kör ve örnek için kuyuları belirlenir. Standart için 7 kuyu, kör için 1 kuyu hazırlanır. Uygun kuyucuklara seyreltilmiş standartlar (20-10-5-2,5-1,25-0,625-0,312-0 ng/ml) kör ve örneklerin her birinden 100 µl eklenir.

2. Plaka kapatıcı ile örtülerek 37ºC'de 1 saat boyunca inkübe edilir.
3. Her kuyucuktaki sıvı aspire edilir ve yıkamadan üzerine 100 µl tespit reaktifi A eklenir.

4. Plaka kapatıcı ile örtülerek 37ºC'de 1 saat boyunca inkübe edilir.

5. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 3 kez yıkanır

6. Her kuyucuğa 100 µl tespit reaktifi B eklenir

7. Plaka kapatıcı ile örtülerek 37ºC'de yarım saat boyunca inkübe edilir.

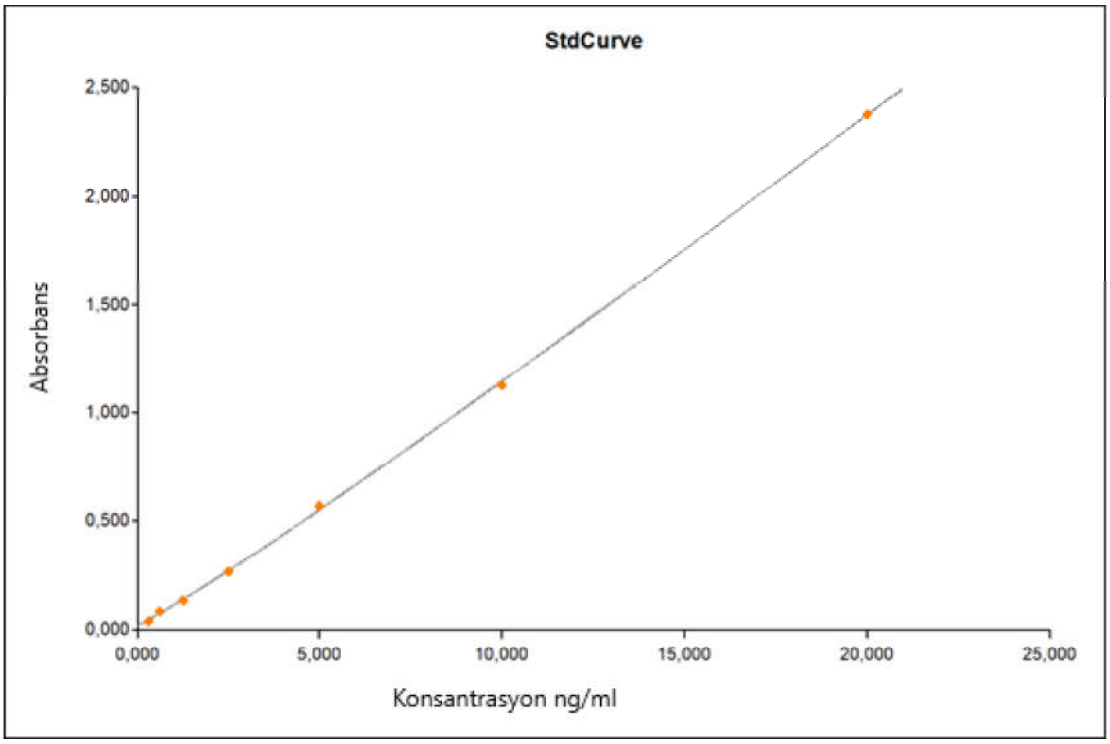
8. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır

9. Her kuyuya 90 µl substrat çözeltisi eklenerek 37ºC'de 10-20 dakika inkübe edilir ve maviye dönmesi beklenir

10. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir renk değişimi gerçekleşir ve 450 nm'de ölçüm yapılır.

3.13.5. Sonuçların Hesaplanması

Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.10'de yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil 3-10: KISS1R parametresinin standart grafiği.

3.14. Preptin ELISA Kiti (225)

3.14.1. Çalışma Prensibi

Bu ELISA kiti, sandviç ELISA prensibini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, insan preptine özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler, mikro ELISA plaka kuyularına eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra insan preptini ve Avidin-HRP konjugatına özgü biotinlenmiş bir saptama antikoru, her bir mikro plaka kuyusuna art arda eklenir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat çözeltisi her kuyuya eklenir. Yalnızca insan preptini biotinlenmiş saptama antikoru ve Avidin-HRP konjugatı

içeren oyuklar mavi renkte görünecektir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılır ve renk sararır. Absorbans, 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Absorbans, İnsan preptininin konsantrasyonu ile orantılıdır. Örneklerin absorbansı standart eğriyle karşılaştırılarak örneklerdeki insan preptin konsantrasyonu hesaplanır.

3.14.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (4000 pg/ml) 2 adet
Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Biotinlenmiş Tespit Antikoru (100x) 120 µl x1

HRP Konjugat (100x) 120 µl x1

Standart ve Örnek Seyreltme Çözeltisi 20 ml x1

Biotinlenmiş Tespit Antikoru Seyreltme Çözeltisi 14 ml x1

HRP Konjugat Seyreltme Çözeltisi 14 ml x1

Yıkama Tampon Çözeltisi (25x) 30 ml x1

Substrat Reaktifi 10 ml x1
Durdurma Çözeltisi 10 ml x1

3.14.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

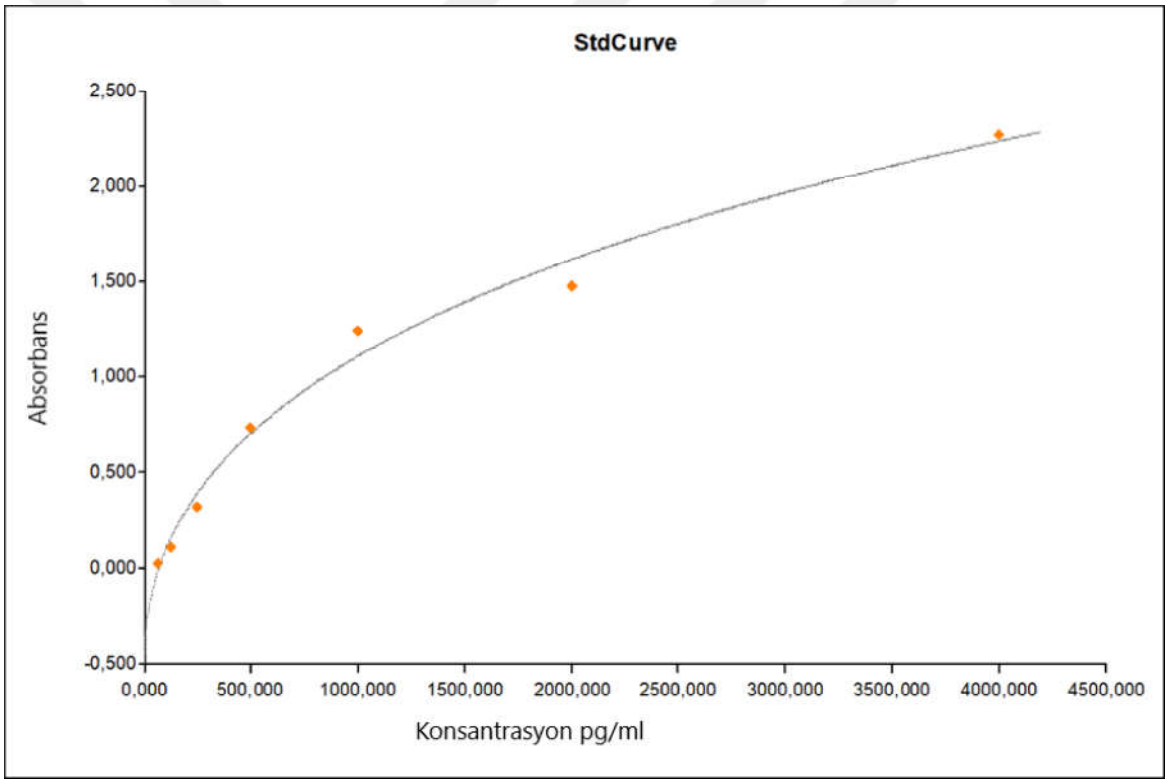
3.14.4. Protokol

1. Standartlar (4000-2000-1000-500-250-125-62,5-0 pg/ml) ve örnekler 100 µl olacak şekilde kuyucuklara eklenir.
2. 37°C'de 90 dakika inkübe edilir.
3. Kuyucuklardaki sıvı uzaklaştırılır fakat yıkanmaz. Her kuyuya hemen 100 µl Biotinlenmiş Tespit Antikoru çalışma çözeltisi eklenir.
4. 37°C'de 60 dakika inkübe edilir.
5. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 3 kez yıkanır
6. Her kuyucuğa 100 µl HRP Konjugat çalışma çözeltisi eklenir.

7. 37°C'de 30 dakika inkübe edilir.
8. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır
9. Her kuyucuğa 90 µl Substrat Reaktifi eklenir.
10. 37°C'de yaklaşık 15 dakika karanlık ortamda inkübe edilir.
11. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir ve 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro plaka okuyucu ile her bir kuyunun absorbansı belirlenir.

3.14.5. Sonuçların Hesaplanması

Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.11'de yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil 3-11: Preptin parametresinin standart grafiği.

3.15. PPAR γ ELISA Kiti (226)

3.15.1. Çalışma Prensibi

Bu ELISA kiti, sandviç ELISA prensibini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, insan PPAR γ'sına özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler, mikro ELISA plaka kuyularına eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra insan PPAR γ'sı ve Avidin-HRP konjugatına özgü

biotinlenmiş bir saptama antikoru, her bir mikro plaka kuyusuna art arda eklenir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat çözeltisi her kuyuya eklenir. Yalnızca insan PPAR γ'sı biotinlenmiş saptama antikoru ve Avidin-HRP konjugatı içeren oyuklar mavi renkte görünecektir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılır ve renk sararır. Absorbans, 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Absorbans, İnsan PPAR γ'sının konsantrasyonu ile orantılıdır. Örneklerin absorbansı standart eğriyle karşılaştırılarak örneklerdeki insan PPAR γ konsantrasyonu hesaplanır.

3.15.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (10 ng/ml) 2 adet
Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Biotinlenmiş Tespit Antikoru (100x) 120 µl x1

HRP Konjugat (100x) 120 µl x1

Standart ve Örnek Seyreltme Çözeltisi 20 ml x1

Biotinlenmiş Tespit Antikoru Seyreltme Çözeltisi 14 ml x1

HRP Konjugat Seyreltme Çözeltisi 14 ml x1

Yıkama Tampon Çözeltisi (25x) 30 ml x1

Substrat Reaktifi 10 ml x1
Durdurma Çözeltisi 10 ml x1

3.15.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

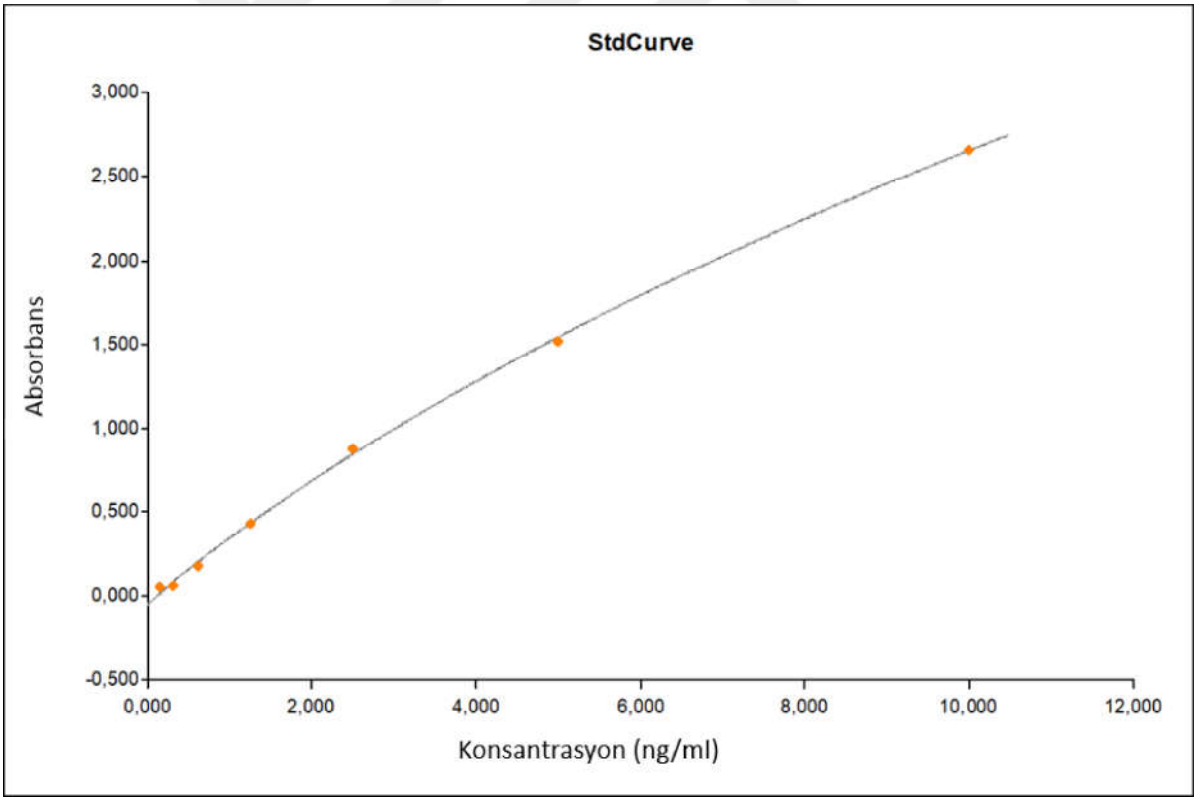
3.15.4. Protokol

1. Standartlar (10-5-2,5-1,25-0,63-0,32-0,16-0 ng/ml) ve örnekler 100 µl olacak şekilde kuyucuklara eklenir.
2. 37°C'de 90 dakika inkübe edilir.
3. Kuyucuklardaki sıvı uzaklaştırılır fakat yıkanmaz. Her kuyuya hemen 100 µl Biotinlenmiş Tespit Antikoru çalışma çözeltisi eklenir.

4. 37°C'de 60 dakika inkübe edilir.
5. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 3 kez yıkanır
6. Her kuyucuğa 100 µl HRP Konjugat çalışma çözeltisi eklenir.
7. 37°C'de 30 dakika inkübe edilir.
8. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır
9. Her kuyucuğa 90 µl Substrat Reaktifi eklenir.
10. 37°C'de yaklaşık 15 dakika karanlık ortamda inkübe edilir.
11. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir ve 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro plaka okuyucu ile her bir kuyunun absorbansı belirlenir.

3.15.5. Sonuçların Hesaplanması

Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.12'te yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil 3-12: PPAR γ parametresinin standart grafiği.

3.16. NLRP3 ELISA Kiti (227)

3.16.1. Çalışma Prensibi

Bu kit, sandviç yöntem ile çalışan bir ELISA kitidir. Mikroplaka, NLRP3'e özgü antikorlarla önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler NLRP3'e özgü biotin-konjuge antikor ile uyumlu mikroplaka kuyularına eklenir. Daha sonra HRP ile konjuge Avidin her mikroplaka kuyusuna eklenir ve inkübe edilir. TMB substrat çözeltisi eklendikten sonra, sadece NLRP3, biotin-konjuge antikor ve enzim-konjuge Avidin içeren kuyucuklarda renkte değişiklik olacaktır. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek sonlandırılır ve renk değişimi 450nm ± 10nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Örneklerdeki NLRP3 konsantrasyonu standart eğriye göre belirlenir.

3.16.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (40 ng/ml) 2 adet
Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Tespit Reaktifi A 120 µl x1

Tespit Reaktifi B 120 µl x1

TMB Substrat 9 ml x1
Standart Seyreltme Çözeltisi 20 ml x1
Durdurma Çözeltisi 6 ml x1
Analiz Seyreltme Çözeltisi A 12 ml x1

Analiz Seyreltme Çözeltisi B 12 ml x1
Yıkama Tampon Çözeltisi (30x) 20 ml x1

3.16.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.16.4. Protokol

1. Seyreltilmiş standart, kör ve örnek için kuyular belirlenir. Standart için 7 kuyu, kör için 1 kuyu hazırlanır. Uygun kuyucuklara seyreltilmiş standartlar (20-10-5-2,5-1,25-0,625-0,312-0 ng/ml) kör ve örneklerin her birinden 100 µl eklenir.

2. Plaka kapatıcı ile örtülerek 37ºC'de 1 saat boyunca inkübe edilir.
3. Her kuyucuktaki sıvı aspire edilir ve yıkamadan üzerine 100 µl tespit reaktifi A eklenir.

4. Plaka kapatıcı ile örtülerek 37ºC'de 1 saat boyunca inkübe edilir.

5. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 3 kez yıkanır

6. Her kuyucuğa 100 µl tespit reaktifi B eklenir

7. Plaka kapatıcı ile örtülerek 37ºC'de yarım saat boyunca inkübe edilir.

8. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır

9. Her kuyuya 90 µl substrat çözeltisi eklenerek 37ºC'de 10-20 dakika inkübe edilir ve maviye dönmesi beklenir

10. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir renk değişimi gerçekleşir ve 450 nm'de ölçüm yapılır.

3.16.5. Sonuçların Hesaplanması

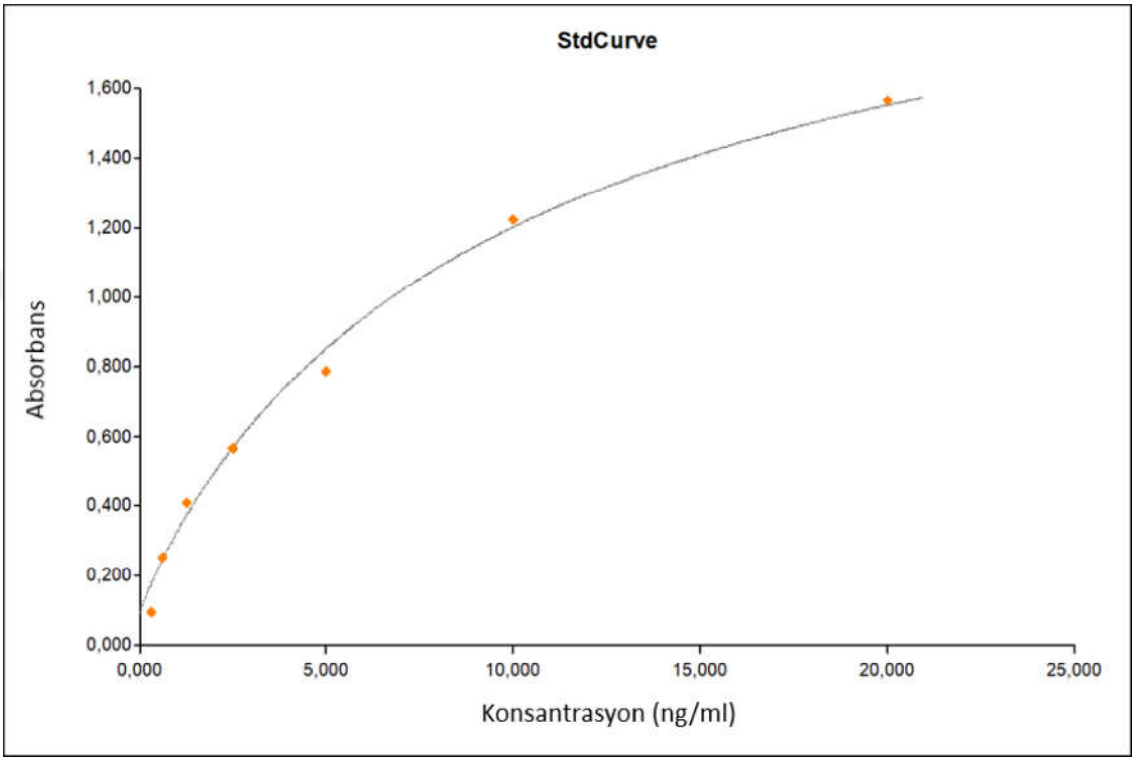
Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.13'te yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.

3.17. IL-18 ELISA Kiti (228)

3.17.1. Çalışma Prensibi

Bu ELISA kiti, sandviç ELISA prensibini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, insan IL-18'ne özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler, mikro ELISA plaka kuyularına eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra insan IL-18'i ve Avidin-HRP konjugatına özgü biotinlenmiş bir saptama antikoru, her bir mikro plaka kuyusuna art arda eklenir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat çözeltisi her kuyuya eklenir. Yalnızca insan IL-18'i biotinlenmiş saptama antikoru ve Avidin-HRP konjugatı

içeren oyuklar mavi renkte görünecektir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılır ve renk sararır. Absorbans, 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Absorbans değeri, İnsan IL-18'nin konsantrasyonu ile orantılıdır. Örneklerin absorbansı standart eğriyle karşılaştırılarak örneklerdeki insan IL-18 konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil 3-13: NLRP3 parametresinin standart grafiği.

3.17.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (1000 pg/ml) 2 adet

Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Biotinlenmiş Tespit Antikoru (100x) 120 µl x1

HRP Konjugat (100x) 120 µl x1

Standart ve Örnek Seyreltme Çözeltisi 20 ml x1

Biotinlenmiş Tespit Antikoru Seyreltme Çözeltisi 14 ml x1

HRP Konjugat Seyreltme Çözeltisi 14 ml x1

Yıkama Tampon Çözeltisi (25x) 30 ml x1

Substrat Reaktifi 10 ml x1

Durdurma Çözeltisi 10 ml x1

3.17.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.17.4. Protokol

1. Standartlar (1000-500-250-125-62,5-31,25-15,63-0 pg/ml) ve örnekler 100 µl olacak şekilde kuyucuklara eklenir.
2. 37°C'de 90 dakika inkübe edilir.
3. Kuyucuklardaki sıvı uzaklaştırılır fakat yıkanmaz. Her kuyuya hemen 100 µl Biotinlenmiş Tespit Antikoru çalışma çözeltisi eklenir.
4. 37°C'de 60 dakika inkübe edilir.
5. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 3 kez yıkanır
6. Her kuyucuğa 100 µl HRP Konjugat çalışma çözeltisi eklenir.
7. 37°C'de 30 dakika inkübe edilir.
8. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır
9. Her kuyucuğa 90 µl Substrat Reaktifi eklenir.
10. 37°C'de yaklaşık 15 dakika karanlık ortamda inkübe edilir.
11. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir ve 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro plaka okuyucu ile her bir kuyunun absorbansı belirlenir.

3.17.5. Sonuçların Hesaplanması

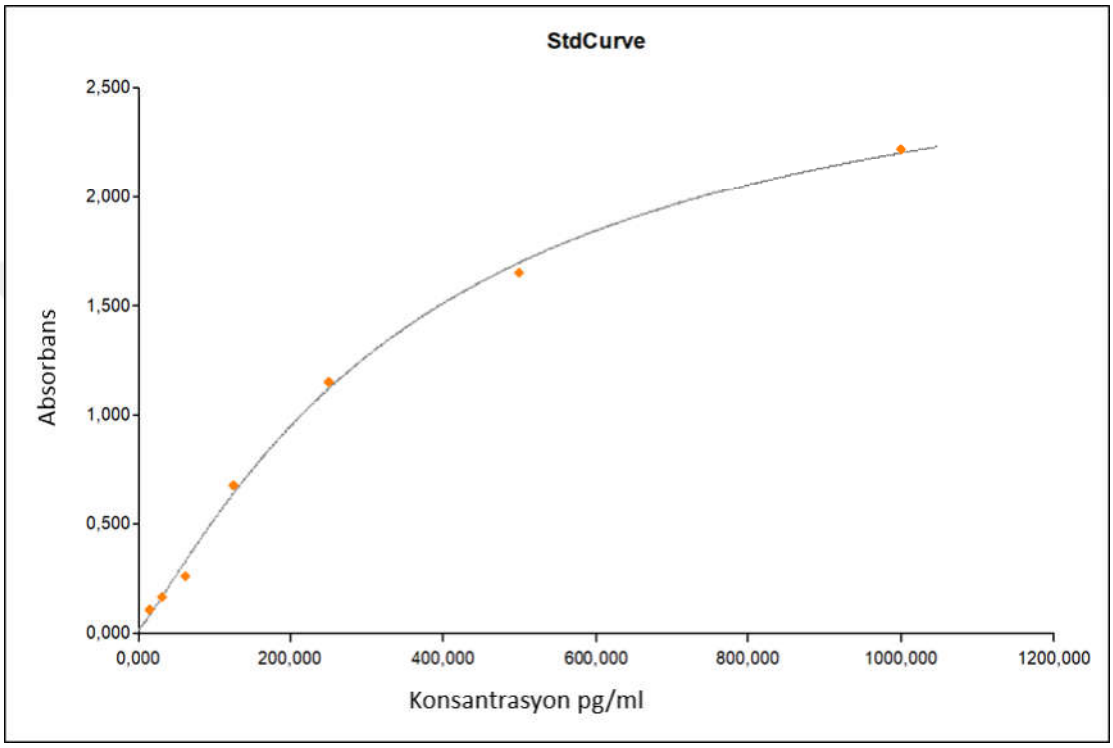
Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.14'te yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.

3.18. Biotin (Vitamin H) Sandviç ELISA Kiti (229)

3.18.1. Çalışma Prensibi

Bu kit, sandviç yöntem ile çalışan bir ELISA kitidir. Plaka, biotin antikoru ile önceden kaplanmıştır. Örneklerde bulunan biotin eklenerek kuyucuklardaki antikorlara bağlanır. Daha sonra biotinlenmiş insan biotin antikoru eklenir ve

örneklerdeki biotine bağlanır. Streptavidin-HRP eklenir ve Biotinlenmiş biotin antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama adımı ile uzaklaştırılır. Daha sonra substrat çözeltisi eklenir ve insan biotin miktarıyla orantılı olarak renk oluşur. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılırak 450 nm'de absorbans ölçülür.



Şekil 3-14: IL-18 parametresinin standart grafiği.

3.18.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (400 ng/ml) 0.5ml x1

Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Standart Seyreltme Çözeltisi 3 ml x1

Streptavidin-HRP 6 ml x1

Durdurma Çözeltisi 6 ml x1

Substrat Çözeltisi A 6 ml x1

Substrat Çözeltisi B 6 ml x1

Yıkama Tampon Çözeltisi (25x) 20 ml x1

Biotinlenmiş İnsan Biotin Antikoru 1 ml x1

3.18.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.18.4. Protokol

1. Standart kuyuya seri dilüsyon şeklinde sulandırılmış olan standartlar (200-100-50-25-12,5-0 ng/ml) 50 µl miktarında eklenir.

2. Örnek kuyularına 40 µl örnek ardından 10 µl anti-biotin antikoru ve ardından örnek kuyularına ve standart kuyulara 50 µl streptavidin-HRP eklenir

3. 37°C'de 60 dakika inkübe edilir.
4. 350 µl yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır ve iyice kurutulur.

5. Her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi A ve ardından her kuyuya 50 µl substrat çözeltisi B eklenir. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca plak inkübe edilir.
6. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir.

7. Durdurma çözeltisini ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'de absorbans belirlenir.

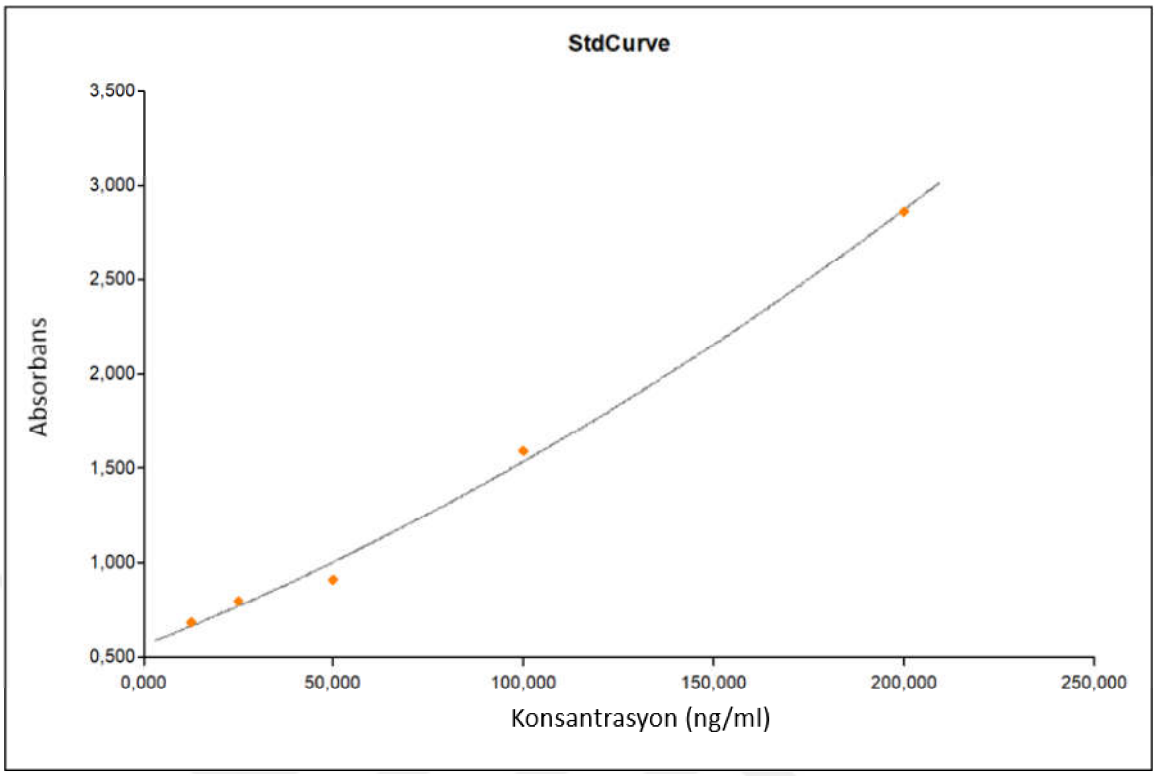
3.18.5. Sonuçların Hesaplanması

Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.15'te yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.

3.19. Biotin Kompetitif ELISA Kiti (230)

3.19.1. Çalışma Prensibi

Bu kit, doğrudan kompetitif inhibisyon ELISA tekniğini kullanır. Mikroplaka avidin ile önceden kaplanmıştır. Kuyulara standartların veya örneklerin içerdiği biotin eklenir ve ardından HRP-konjuge biotin ilave edilir. Standartların veya örneklerin içerdiği biotin ve avidin ile HRP konjuge biotin arasında rekabetçi bir inhibisyon reaksiyonu başlatılır. Substrat çözeltileri sırasıyla kuyulara eklenir. Ve renk, ilk adımda bağlanan Biotin miktarına zıt olarak gelişir. Renk gelişimi durdurulur ve rengin yoğunluğu 450 nm'de ölçülür.



Şekil 3-15: Biotin sandviç parametresinin standart grafiği.

3.19.2. İçerdiği Kimyasallar

Standart Çözelti (200 pg/ml) (10x) 200 µl x1

Önceden kaplanmış ELISA Plakası 12x8'li şeritler halinde 96 kuyucuk

Örnek Seyreltme Çözeltisi 20 ml x 2

HRP Konjugat (100x) 60 µl x1

HRP Konjugat Seyreltme Çözeltisi 10 ml x1

Durdurma Çözeltisi 10 ml x1

TMB Substrat 10 ml x1

Yıkama Tampon Çözeltisi (25x) 20 ml x1

3.19.3. Çalışma Planı

12x8 (96) kuyucuktan oluşan plakada örnekler, standart ve kör bu plana uygun şekilde yerleştirilmiş olup inkübasyonun ardından ELX-800 ELISA okuyucu cihazında okutulup gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

3.19.4. Protokol

1. Standart kuyuya seri dilüsyon şeklinde sulandırılmış olan standartlar (200-100-50-25-12,5-0 pg/ml) ve örnek kuyularına, örnekler 50 µl miktarında eklenir. Kör kuyusuna hiçbir çözelti eklenmez.

2. Örnek kuyularına ve standart kuyulara 50 µl HRP konjugat eklenir ve karıştırılır. Köre HRP konjugat ilave edilmez.

3. 37°C'de 40 dakika inkübe edilir.
4. 200 µl yıkama tampon çözeltisi ile 5 kez yıkanır ve iyice kurutulur.

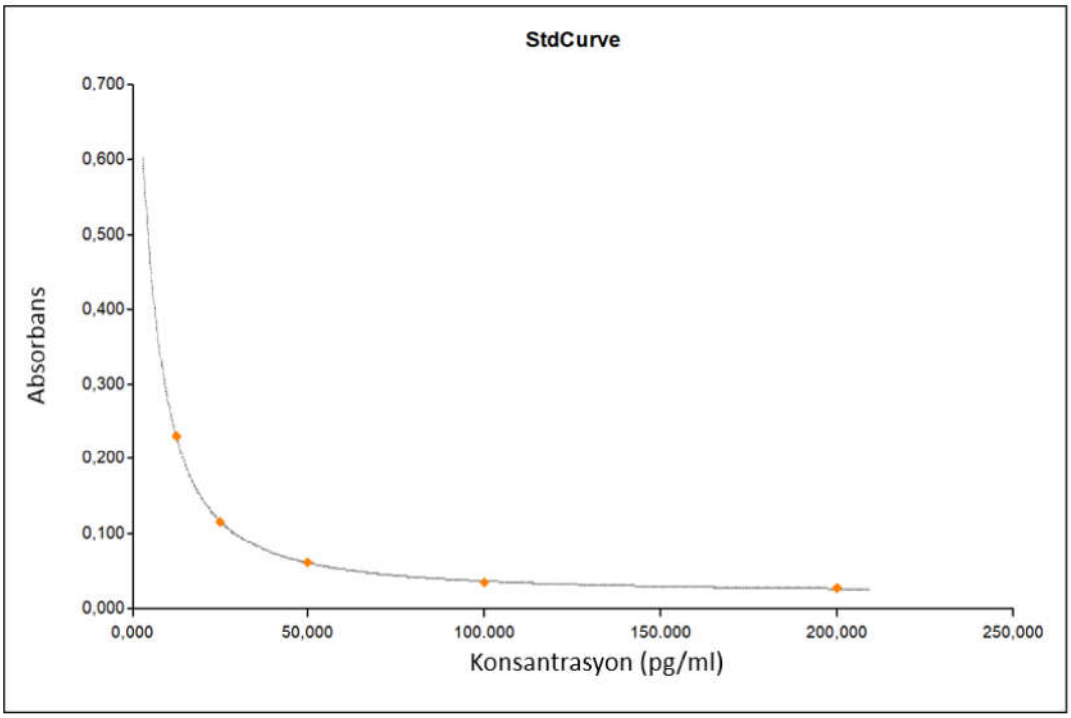
5. Her kuyucuğa 90 µl TMB substrat çözeltisi eklenir.

6. Karanlıkta 37°C'de 20 dakika boyunca plak inkübe edilir.
7. Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenir.

8. Durdurma çözeltisini ekledikten sonra 5 dakika içinde 450 nm'de absorbans belirlenir.

3.19.5. Sonuçların Hesaplanması

Örnek ve kontrol gruplarının serumlarının absorbans ölçümü yapılarak oluşturulan standart eğri grafiğinde Şekil 3.16'de yerleşimi sonucu konsantrasyonu hesaplanır.



Şekil 3-16: Biotin kompetitif parametresinin standart grafiği.

3.20. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde, elde edilen verilerin dağılım özelliklerine uygun olan parametrik veya non-parametrik istatistiksel testler uygulandı. Parametrelere ilişkin değerlerin normal dağılıma uyup uymadıkları Shapiro-Wilk testi ile belirlendi. Gruplar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi için Independent Samples T test, Mann Whitney U, Kruskall Wallis testlerinin yanı sıra parametrelere ilişkin değerlerin birlikte değişip değişmediklerinin incelenmesi amacıyla da Pearson ve Spearman korelasyon analizleri yapıldı. Ayrıca alt grupların değerlendirilmesinde Bonferoni düzeltmesi yapılarak Mann Whitney U testi uygulandı.

İstatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Version 26 ile yapıldı. Ortalama, standart sapma, standart hata ve medyan değerleri, kontrol grubu ve obez gruplar birbirleri ile kıyaslandı. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı değerlerin parametrik veya nonparametrik dağılım gösterip göstermediklerine göre değerlendirildi. 0,05'ten daha az hesaplanılacak p değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda kontrol grubunu oluşturan 30 sağlıklı çocuk ve 30 obez çocuktan alınan kan örneklerinde NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametreleri ELISA yöntemi ile analiz edilmiştir. Ayrıca sağlıklı ve obez çocukların kan örneklerinden serum havuzları hazırlanarak biotin parametresi ölçülmüş ve yine serum havuzları kullanılarak NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerine ilişkin ölçümlerde biotinin interferans etkisi ELISA yöntemi ile belirlenerek istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4.1. Antropometrik Ölçümler

Tüm çocukların yaşları ile ağırlıkları, boyları, bel, kalça, baş ve boyun çevreleri ölçülerek kaydedilmiştir. Antropometrik ölçümlerden, yaş, BKİ, Bel çevresi/Kalça çevresi, Baş çevresi/Boyun çevresi, (Bel çevresi+Kalça çevresi) /2, Bel çevresi×Boyun çevresi, (Boy/2) /Bel çevresi, (Boy/2) /Kalça çevresi oranları ve formülleri hesaplanarak kontrol ve obez grupları oluşturan çocukların antropometrik ölçümlerinin istatistiksel analizleri yapılmıştır. Her bir grubu oluşturan çocukların yaşlarının ortalama ± standart sapma (SS) değerleri, normal BKİ'ye sahip çocuklar için 9,9 ± 3,8 yıl, obez çocuklar için 11,3 ± 3 yıl olarak hesaplandı. Obez grupta BKİ, 26,5 ± 3,7 kg/m^2 (ortalama ± SS) ve kontrol grubunda ise 17,3 ± 2,8 kg/m^2 (ortalama ± SS) olarak saptandı. Tüm bu antropometrik veriler ve p değerleri Tablo 4.1.1'de gösterilmiştir. Kontrol ve obez gruplar arasında BKİ, bel, kalça, baş, boyun çevresi parametreleri açısından önemli derecede anlamlı bir fark gözlemlenmiş iken (***$p<0,001$) yaş parametresinde anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Kontrol ve obez çocuk gruplarına ilişkin bel çevresi/kalça çevresi, baş çevresi/boyun çevresi, (bel çevresi+kalça çevresi) /2, bel çevresi×boyun çevresi, (boy/2) /bel çevresi, (boy/2) /kalça çevresi antropometrik oranlarının minimum-maksimum değerleri, ortalama ve standart sapma değerleri ile p değerlerini gösteren Tablo 4.1.2'de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analize göre kontrol ve obez gruplar arasında bel çevresi/kalça çevresi parametresinde (*$p<0,05$), baş

çevresi/boyun çevresi, (bel çevresi+kalça çevresi) /2, bel çevresi×boyun çevresi, (boy/2) /bel çevresi, (boy/2) /kalça çevresi parametrelerinde (***p<0,001) anlamlı bir fark bulunmuştur.

Tablo 4.1-1: Kontrol ve obez çocuk gruplarına ilişkin antropometrik özellikler (BKİ: Beden Kitle İndeksi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma)

		Kontrol		Obez		
	Örnek Sayısı	Min.-Max.	Ort±SS	Min.- Max.	Ort±SS	P değeri
Yaş	30	5-17	9,9±3,8	6-17	11,3±3	0,160
BKİ	30	14,2-22,7	17,3±2,8	20-36,7	26,5±3,7	0,000***
Bel çevresi	30	49-79	61±9,1	60,5-118	86,3±13,3	0,000***
Kalça çevresi	30	57-99	73,7±13,4	72,5-116	97,8±12,9	0,000***
Baş çevresi	30	43-56	50,9±3,1	51-60	54,7±2,2	0,000***
Boyun çevresi	30	23-34,5	27,5±3,1	28,5-41	34,1±3	0,000***

*p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

Tablo 4.1-2: Kontrol ve obez çocuk gruplarına ilişkin antropometrik oranlar

		Kontrol		Obez		
	Örnek Sayısı	Min.- Max.	Ort±SS	Min.- Max.	Ort±SS	P değeri
Bel çevresi/Kalça çevresi	30	0,723-0,987	0,835±0,071	0,746-1,054	0,883±0,074	0,015*
Baş çevresi/Boyun çevresi	30	1,63-2,08	1,860±0,134	1,370-1,860	1,613±0,125	0,000***
(Bel çevresi+Kalça çevresi) /2	30	53,5-89	67,423±10,984	66,5-115	92,091±12,515	0,000***
Bel çevresi×Boyun çevresi	30	1173-2597	1707,886± 438,084	1724,25-4838	2976,191± 674,852	0,000***
(Boy/2) /Bel çevresi	30	0,93-1,40	1,132±0,107	0,64-1,21	0,895±0,103	0,000***

(Boy/2) /Kalça çevresi	30	0,80-1,10	0,941±0,074	0,62-1,01	0,785±0,066	0,000***

*p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

Antropometrik verilerin korelasyonu Tablo 4.1.3'de gösterilmiştir. Kontrol ve obez gruplardaki antropometrik verilere uygulanan korelasyon analizleri tüm antropometrik verilerde önemli ölçüde pozitif yönde korelasyon olduğunu ortaya koymuştur (***p≤0,001).

Tablo 4.1-3: Antropometrik verilerin korelasyonu

Gruplar	Parametreler		Yaş	BKİ	Bel çevresi	Kalça çevresi	Baş çevresi	Boyun çevresi
Kontrol	**Yaş**	**Korelasyon katsayısı**	1,000	0,782**	0,748**	0,876**	0,717**	0,683**
		p değeri		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30
	BKİ	**Korelasyon katsayısı**	0,782**	1,000	0,853**	0,851**	0,752**	0,808**
		p değeri	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30
	Bel çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,748**	0,853**	1,000	0,867**	0,756**	0,742**
		p değeri	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30
	Kalça çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,876**	0,851**	0,867**	1,000	0,822**	0,749**
		p değeri	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30
	Baş çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,717**	0,752**	0,756**	0,822**	1,000	0,806**
		p değeri	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30
Kontrol								
	Boyun çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,683**	0,808**	0,742**	0,749**	0,806**	1,000
		p değeri	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	

Gruplar	Parametreler		Yaş	BKİ	Bel çevresi	Kalça çevresi	Baş çevresi	Boyun çevresi
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30
Obez	**Yaş**	**Korelasyon katsayısı**	1,000	0,631**	0,625**	0,775**	0,762**	0,586**
		p değeri		0,000	0,000	0,000	0,000	0,001
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30
	BKİ	**Korelasyon katsayısı**	0,631**	1,000	0,743**	0,858**	0,577**	0,602**
		p değeri	0,000		0,000	0,000	0,001	0,000
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30
	Bel çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,625**	0,743**	1,000	0,723**	0,567**	0,698**
		p değeri	0,000	0,000		0,000	0,001	0,000
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30
	Kalça çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,775**	0,858**	0,723**	1,000	0,728**	0,708**
		p değeri	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30
	Baş çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,762**	0,577**	0,567**	0,728**	1,000	0,485**
		p değeri	0,000	0,001	0,001	0,000		0,007
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30
	Boyun çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,586**	0,602**	0,698**	0,708**	0,485**	1,000
		p değeri	0,001	0,000	0,000	0,000	0,007	
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30

*p<0,05, ** p<0,01, *** p≤0,001

4.2. ELISA Çalışmaları

30 normal BKİ'li ve 30 obez çocukta NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18

parametrelerinin minimum-maksimum, medyan, ortalama, standart sapma ve p değerleri Tablo 4.2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2-1: Kontrol ve obez gruplarda elde edilen parametrelere ilişkin olgu sayısı, medyan, ortalama ± standart sapma, minimum-maksimum ve p değerleri

		Kontrol			Obez			
Parametreler	**Olgu Sayısı**	**Min.**	**Max.**	**Medyan**	**Min.**	**Max.**	**Medyan**	**P değeri**
Leptin (ng/ml)	30	0,727	22,046	1,585	1,776	22,970	9,549	0,000***
Grelin Sandviç (ng/ml)	30	0,211	4,405	0,583	0,405	4,371	0,691	0,301
Grelin Kompetitif (ng/ml)	30	0,664	5,742	1,832	0,367	7,431	1,394	0,037*
Açile Grelin (ng/ml)	30	0,478	7,803	1,163	0,271	6,263	1,449	0,249
Deaçile Grelin (ng/L)	Kontrol 29 Obez 30	16,575	93,776	24,156	18,849	96,159	29,149	0,026*
GHSR (Grelin reseptor) (ng/ml)	30	0,064	1,328	0,841	0,066	1,133	0,577	0,014*
LEPR (Leptin Reseptor) (ng/ml)	30	1,677	27,046	6,897	5,959	26,099	22,812	0,000***
KISS1 (Kisspeptin1) Sandviç (pg/ml)	30	289,486	5546,526	932,481	359,802	5752,577	1776,526	0,030*
NLRP3 (ng/ml)	30	0,002	0,634	0,003	0,003	0,671	0,030	0,018*
Preptin (pg/ml)	30	66,206	394,976	78,061	65,912	380,016	94,990	0,031*
PPAR γ (ng/ml)	30	0,041	1,449	0,138	0,075	0,504	0,210	0,011*
IL-18 (pg/ml)	30	14,456	827,255	69,976	26,801	271,516	78,607	0,679

		Kontrol			Obez			
Parametreler	**Olgu Sayısı**	**Min.**	**Max.**	**Ort±SS**	**Min.**	**Max.**	**Ort±SS**	**P değeri**

KISS1 (Kisspeptin1) Kompetitif (pg/ml)	30	37,025	163,660	94,833±34,057	60,220	231,153	117,841±42,493	0,024*
KISS1R (Kisspeptin1 Reseptor) (ng/ml)	30	0,270	12,909	6,388±3,139	1,493	10,156	5,361±2,163	0,146

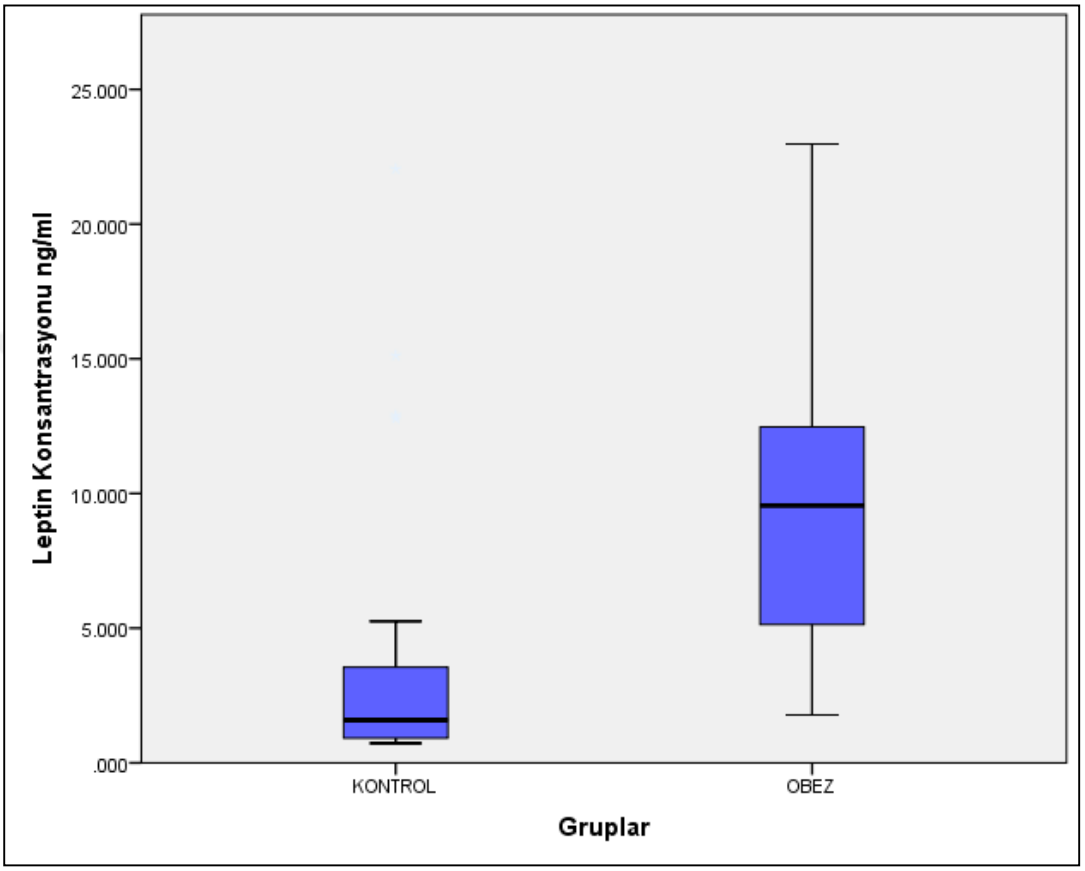
*p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

Yapılan istatistikler sonucunda leptin ve LEPR parametreleri için gruplar arası farklılıklar önemli ölçüde anlamlı bulunmuştur (***p<0,001). Grelin kompetitif, deaçile grelin, GHSR, KISS1 sandviç, KISS1 kompetitif, NLRP3, preptin, PPAR γ parametreleri açısından da gruplar arası farklılıkların anlamlı olduğu gösterilmiştir (*p<0,05). Grelin sandviç, açile grelin, KISS1R, IL-18 düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasındaki farklılıkların anlamsız olduğu bulunmuştur.

Kontrol ve obez çocuk gruplarında NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonları Tablo 4.2-2'de verilmiştir. Kontrol grubunda pozitif yönde leptin ve LEPR arasında (***p<0,001), grelin, açile ve deaçile grelin arasında (***p<0,001), grelin, GHSR ve IL-18 arasında (*p<0,05), grelin kompetitif ile açile grelin arasında negatif yönde (**p<0,01), grelin kompetitif ve deaçile grelin arasında negatif yönde (**p<0,05), açile grelin, GHSR, IL-18 arasında pozitif yönde (*p<0,05), deaçile grelin ve GHSR arasında pozitif yönde (*p<0,05), deaçile grelin ve IL-18 arasında pozitif yönde (**p<0,01), GHSR ve LEPR arasında negatif yönde (*p<0,05), KISS1 sandviç ve IL-18 arasında pozitif yönde (*p<0,05), KISS1R ve preptin arasında negatif yönde (*p<0,05) anlamlı bir korelasyon bulunmuştur.

Obez grupta leptin ve LEPR arasında pozitif yönde (***p<0,001), leptin ve IL-18 arasında ise negatif yönde (*p<0,05), grelin, açile grelin, deaçile grelin arasında pozitif yönde (***p<0,001), grelin ve preptin arasında pozitif yönde (*p<0,05), grelin kompetitif ve NLRP3 arasında negatif yönde (**p<0,01), deaçile grelin ve preptin arasında pozitif yönde (*p<0,05), KISS1 sandviç ve IL-18 arasında pozitif yönde (*p<0,05), PPAR γ ve IL-18 arasında pozitif yönde (*p<0,05) anlamlı bir korelasyon bulunmuştur.

Kontrol ve obez çocuk gruplarda NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin konsantrasyon değişimlerini gösteren grafikler Şekil 4.2.1'de verilmiştir.



Şekil 4.2-1: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin konsantrasyon değişimleri.

Tablo 4.2-2: Kontrol ve obez çocuk gruplarında NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonunu

Gruplar	Parametreler		Leptin ng/ml	Grelin ng/ml	Grelin kompetitif ng/ml	Açile Grelin ng/ml	Deaçile Grelin ng/L	GHSR ng/ml	LEPR ng/ml	KISS1 Sandviç pg/ml	KISS1 kompetitif pg/ml	KISS1R ng/ml	NLRP3 ng/ml	Preptin pg/ml	PPAR γ ng/ml	IL-18 pg/ml
Kontrol	**Leptin ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	1 ,000	0 ,095	-0 ,086	0 ,072	0 ,148	-0,355	0,972**	-0,296	0 ,002	-0,041	0 ,286	0 ,255	-0,030	0 ,130
		p değeri		0 ,619	0 ,650	0 ,706	0 ,437	0 ,054	0 ,000	0 ,112	0 ,991	0 ,829	0 ,125	0 ,174	0 ,873	0 ,495
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Kontrol	**Grelin ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,095	1 ,000	-0 ,160	0,853**	0,864**	0,390*	0 ,147	0 ,347	0 ,110	0 ,083	0 ,057	0 ,100	0 ,041	0,383*
		p değeri	0 ,619		0 ,398	0 ,000	0 ,000	0 ,033	0 ,437	0 ,061	0 ,565	0 ,664	0 ,766	0 ,600	0 ,828	0 ,037
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Kontrol	**Grelin kompetitif ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	-0,086	-0 ,160	1 ,000	-0,471**	-0,377*	0 ,061	-0 ,020	-0 ,293	0 ,107	0 ,062	-0 ,228	0 ,226	-0 ,086	-0 ,293
		p değeri	0 ,650	0 ,398		0 ,009	0 ,040	0 ,748	0 ,914	0 ,116	0 ,573	0 ,745	0 ,225	0 ,229	0 ,651	0 ,116

Gruplar	Parametreler		Leptin ng/ml	Grelin ng/ml	Grelin kompetitif ng/ml	Açile Grelin ng/ml	Deaçile Grelin ng/L	GHSR ng/ml	LEPR ng/ml	KISS1 Sandviç pg/ml	KISS1 kompetitif pg/ml	KISS1R ng/ml	NLRP3 ng/ml	Preptin pg/ml	PPAR γ ng/ml	IL- 18 pg/ml
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Kontrol	Açile Grelin ng/ml	Korelasyon katsayısı	0 ,072	0,853**	-0,471**	1 ,000	0,940**	0,383*	0 ,057	0 ,358	0 ,088	-0 ,005	0 ,111	0 ,043	0 ,046	0 ,427*
		p değeri	0 ,706	0 ,000	0 ,009		0 ,000	0 ,036	0 ,767	0 ,052	0 ,643	0 ,981	0 ,561	0 ,820	0 ,808	0 ,019
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Kontrol	Deaçile Grelin ng/L	Korelasyon katsayısı	0 ,148	0 ,864**	-0 ,377*	0,940**	1 ,000	0,387*	0 ,145	0 ,330	0 ,118	-0 ,051	0 ,099	0 ,146	0 ,169	0,485**
		p değeri	0 ,437	0 ,000	0 ,040	0 ,000		0 ,035	0 ,445	0 ,075	0 ,536	0 ,790	0 ,603	0 ,443	0 ,372	0 ,007
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Kontrol	GHSR ng/ml	Korelasyon katsayısı	-0,355	0 ,390*	0 ,061	0 ,383*	0 ,387*	1 ,000	- 0,368*	0 ,353	0 ,328	-0 ,039	-0 ,025	-0 ,095	0 ,029	0 ,219
		p değeri	0 ,054	0 ,033	0 ,748	0 ,036	0 ,035		0 ,045	0 ,056	0 ,077	0 ,838	0 ,896	0 ,617	0 ,878	0 ,245
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

Gruplar	Parametreler		Leptin ng/ml	Grelin ng/ml	Grelin kompetitif ng/ml	Açile Grelin ng/ml	Deaçile Grelin ng/L	GHSR ng/ml	LEPR ng/ml	KISS1 Sandviç pg/ml	KISS1 kompetitif pg/ml	KISS1R ng/ml	NLRP3 ng/ml	Preptin pg/ml	PPAR γ ng/ml	IL- 18 pg/ml
Kontrol	**LEPR ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0,972**	0 ,147	-0 ,020	0 ,057	0 ,145	-0,368*	1 ,000	-0 ,317	-0 ,002	-0 ,052	0 ,274	0 ,271	-0 ,058	0 ,083
		p değeri	0 ,000	0 ,437	0 ,914	0 ,767	0 ,445	0 ,045		0 ,088	0 ,993	0 ,786	0 ,144	0 ,148	0 ,761	0 ,665
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Kontrol	**KISS1 Sandviç pg/ml**	**Korelasyon katsayısı**	-0 ,296	0 ,347	-0 ,293	0 ,358	0 ,330	0 ,353	-0 ,317	1 ,000	0 ,035	-0 ,123	0 ,028	0 ,024	0 ,344	0 ,374*
		p değeri	0 ,112	0 ,061	0 ,116	0 ,052	0 ,075	0 ,056	0 ,088		0 ,855	0 ,518	0 ,881	0 ,901	0 ,063	0 ,042
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Kontrol	**KISS1 Kompetitif pg/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,002	0 ,110	0 ,107	0 ,088	0 ,118	0 ,328	-0 ,002	0 ,035	1 ,000	-0,269	-0,220	-0 ,022	0 ,061	-0 ,204
		p değeri	0 ,991	0 ,565	0 ,573	0 ,643	0 ,536	0 ,077	0 ,993	0 ,855		0 ,150	0 ,242	0 ,906	0 ,749	0 ,279
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

Gruplar	Parametreler		Leptin ng/ml	Grelin ng/ml	Grelin kompetitif ng/ml	Açile Grelin ng/ml	Deaçile Grelin ng/L	GHSR ng/ml	LEPR ng/ml	KISS1 Sandviç pg/ml	KISS1 kompetitif pg/ml	KISS1R ng/ml	NLRP3 ng/ml	Preptin pg/ml	PPAR γ ng/ml	IL- 18 pg/ml
Kontrol	**KISS1 Reseptor ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	-0 ,041	0 ,083	0 ,062	-0 ,005	-0 ,051	-0 ,039	-0 ,052	-0 ,123	-0 ,269	1 ,000	0 ,037	- 0,372*	-0 ,240	-0 ,197
		p değeri	0 ,829	0 ,664	0 ,745	0 ,981	0 ,790	0 ,838	0 ,786	0 ,518	0 ,150		0 ,848	0 ,043	0 ,201	0 ,298
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Kontrol	**NLRP3 ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,286	0 ,057	-0 ,228	0 ,111	0 ,099	-0 ,025	0 ,274	0 ,028	-0 ,220	0 ,037	1 ,000	0 ,129	-0 ,168	0 ,228
		p değeri	0 ,125	0 ,766	0 ,225	0 ,561	0 ,603	0 ,896	0 ,144	0 ,881	0 ,242	0 ,848		0 ,498	0 ,374	0 ,226
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Kontrol	**Preptin pg/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,255	0 ,100	0 ,226	0 ,043	0 ,146	-0 ,095	0 ,271	0 ,024	-0 ,022	- 0,372*	0 ,129	1 ,000	0 ,298	0 ,007
		p değeri	0 ,174	0 ,600	0 ,229	0 ,820	0 ,443	0 ,617	0 ,148	0 ,901	0 ,906	0 ,043	0 ,498		0 ,110	0 ,972
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

Gruplar	Parametreler		Leptin ng/ml	Grelin ng/ml	Grelin kompetitif ng/ml	Açile Grelin ng/ml	Deaçile Grelin ng/L	GHSR ng/ml	LEPR ng/ml	KISS1 Sandviç pg/ml	KISS1 kompetitif pg/ml	KISS1R ng/ml	NLRP3 ng/ml	Preptin pg/ml	PPAR γ ng/ml	IL- 18 pg/ml
Kontrol	**PPAR γ ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	-0 ,030	0 ,041	-0 ,086	0 ,046	0 ,169	0 ,029	-0 ,058	0 ,344	0 ,061	-0 ,240	-0,168	0 ,298	1 ,000	0 ,327
		p değeri	0 ,873	0 ,828	0 ,651	0 ,808	0 ,372	0 ,878	0 ,761	0 ,063	0 ,749	0 ,201	0 ,374	0 ,110		0 ,078
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Kontrol	**IL- 18 pg/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,130	0,383*	-0 ,293	0,427*	0 ,485**	0 ,219	0 ,083	0 ,374*	-0 ,204	-0 ,197	0 ,228	0 ,007	0 ,327	1 ,000
		p değeri	0 ,495	0 ,037	0 ,116	0 ,019	0 ,007	0 ,245	0 ,665	0 ,042	0 ,279	0 ,298	0 ,226	0 ,972	0 ,078	
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Obez	**Leptin ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	1 ,000	0 ,031	0 ,209	0 ,106	0 ,130	-0 ,269	0,652**	0 ,112	0 ,130	0 ,221	0 ,112	-0 ,041	0 ,096	-0,373*
		p değeri		0 ,869	0 ,268	0 ,577	0 ,493	0 ,151	0 ,000	0 ,556	0 ,494	0 ,241	0 ,554	0 ,829	0 ,613	0 ,042
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

Gruplar	Parametreler		Leptin ng/ml	Grelin ng/ml	Grelin kompetitif ng/ml	Açile Grelin ng/ml	Deaçile Grelin ng/L	GHSR ng/ml	LEPR ng/ml	KISS1 Sandviç pg/ml	KISS1 kompetitif pg/ml	KISS1R ng/ml	NLRP3 ng/ml	Preptin pg/ml	PPAR γ ng/ml	IL- 18 pg/ml
Obez	**Grelin ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,031	1 ,000	-0 ,026	0 ,754**	0 ,851**	-0 ,161	-0 ,063	-0 ,152	0 ,259	-0 ,127	0 ,228	0,386*	0 ,082	-0 ,047
		p değeri	0 ,869		0 ,891	0 ,000	0 ,000	0 ,396	0 ,741	0 ,424	0 ,167	0 ,505	0 ,226	0 ,035	0 ,668	0 ,805
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Obez	**Grelin kompetitif ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,209	-0 ,026	1 ,000	0 ,011	-0 ,002	-0 ,056	0 ,145	-0 ,030	-0 ,236	0 ,121	- 0,487**	-0,077	-0 ,267	-0 ,015
		p değeri	0 ,268	0 ,891		0 ,953	0 ,990	0 ,768	0 ,445	0 ,875	0 ,209	0 ,523	0 ,006	0 ,688	0 ,153	0 ,936
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Obez	**Açile Grelin ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,106	0 ,754**	0 ,011	1 ,000	0,828**	-0 ,229	-0 ,028	-0 ,009	0 ,293	0 ,030	0 ,096	0 ,251	0 ,235	0 ,039
		p değeri	0 ,577	0 ,000	0 ,953		0 ,000	0 ,223	0 ,882	0 ,962	0 ,115	0 ,873	0 ,613	0 ,181	0 ,211	0 ,838
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

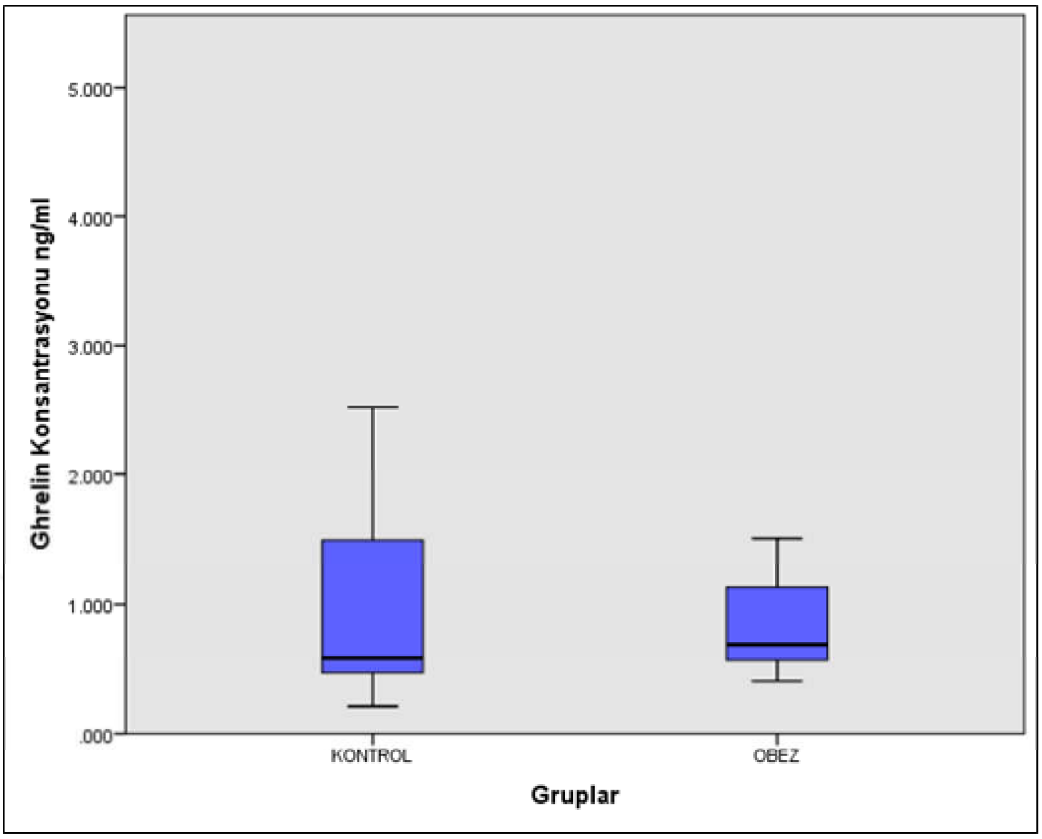
Gruplar	Parametreler		Leptin ng/ml	Grelin ng/ml	Grelin kompetitif ng/ml	Açile Grelin ng/ml	Deaçile Grelin ng/L	GHSR ng/ml	LEPR ng/ml	KISS1 Sandviç pg/ml	KISS1 kompetitif pg/ml	KISS1R ng/ml	NLRP3 ng/ml	Preptin pg/ml	PPAR γ ng/ml	IL- 18 pg/ml
Obez	**Deaçile Grelin ng/L**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,130	0 ,851**	-0 ,002	0 ,828**	1 ,000	-0 ,153	0 ,064	-0 ,089	0 ,263	-0 ,074	0 ,179	0 ,409*	0 ,265	-0 ,036
		p değeri	0 ,493	0 ,000	0 ,990	0 ,000		0 ,419	0 ,737	0 ,641	0 ,160	0 ,697	0 ,343	0 ,025	0 ,158	0 ,849
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Obez	**GHSR ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	-0 ,269	-0 ,161	-0 ,056	-0 ,229	-0 ,153	1 ,000	-0 ,238	0 ,099	-0 ,068	0 ,248	0 ,061	0 ,031	0 ,131	0 ,191
		p değeri	0 ,151	0 ,396	0 ,768	0 ,223	0 ,419		0 ,206	0 ,604	0 ,719	0 ,187	0 ,750	0 ,872	0 ,490	0 ,313
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Obez	**LEPR ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,652**	-0 ,063	0 ,145	-0 ,028	0 ,064	-0 ,238	1 ,000	-0 ,071	-0 ,055	-0 ,103	-0 ,020	-0 ,200	-0 ,010	-0 ,226
		p değeri	0 ,000	0 ,741	0 ,445	0 ,882	0 ,737	0 ,206		0 ,708	0 ,772	0 ,590	0 ,918	0 ,290	0 ,956	0 ,229
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

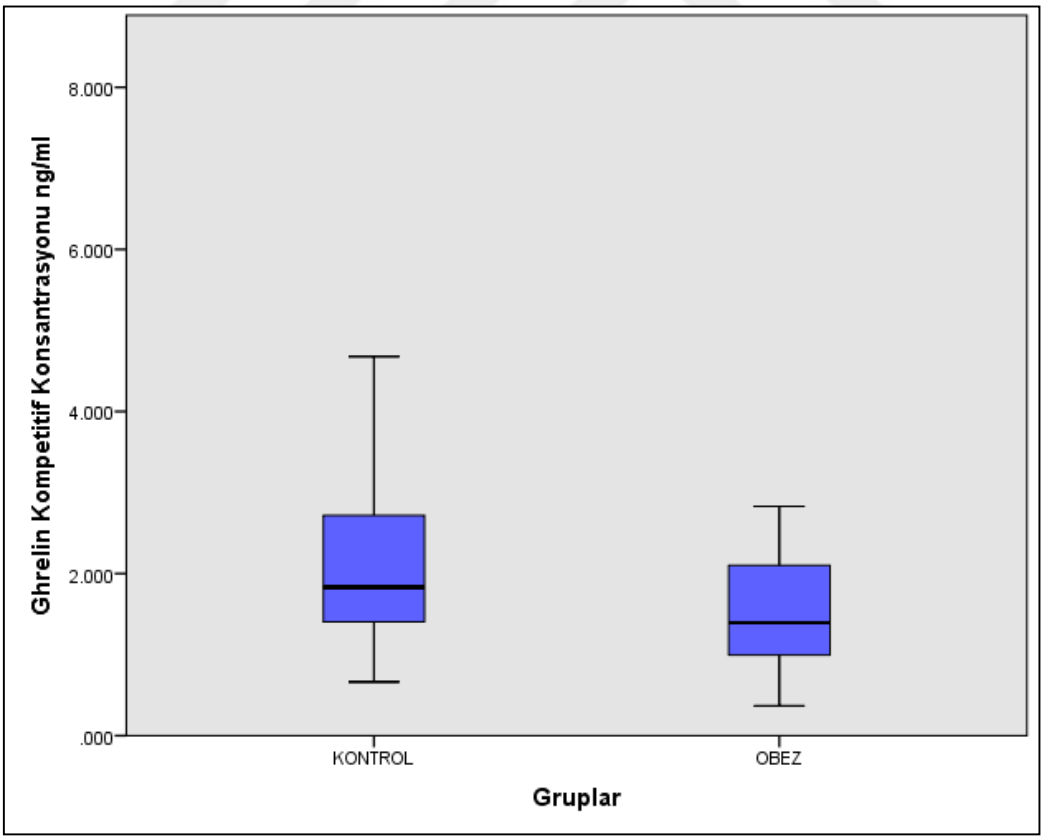
Gruplar	Parametreler		Leptin ng/ml	Grelin ng/ml	Grelin kompetitif ng/ml	Açile Grelin ng/ml	Deaçile Grelin ng/L	GHSR ng/ml	LEPR ng/ml	KISS1 Sandviç pg/ml	KISS1 kompetitif pg/ml	KISS1R ng/ml	NLRP3 ng/ml	Preptin pg/ml	PPAR γ ng/ml	IL- 18 pg/ml
Obez	**KISS1 Sandviç pg/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,112	-0 ,152	-0 ,030	-0 ,009	-0 ,089	0 ,099	-0 ,071	1 ,000	0 ,146	0 ,313	0 ,181	-0 ,159	0 ,334	0 ,382*
		p değeri	0 ,556	0 ,424	0 ,875	0 ,962	0 ,641	0 ,604	0 ,708		0 ,440	0 ,092	0 ,337	0 ,401	0 ,071	0 ,037
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Obez	**KISS1 kompetitif pg/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,130	0 ,259	-0 ,236	0 ,293	0 ,263	-0 ,068	-0 ,055	0 ,146	1.000	-0.045	0 ,183	-0 ,063	0 ,359	0 ,037
		p değeri	0 ,494	0 ,167	0 ,209	0 ,115	0 ,160	0 ,719	0 ,772	0 ,440		0,813	0 ,333	0 ,741	0 ,052	0 ,845
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Obez	**KISS1 Reseptor ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,221	-0 ,127	0 ,121	0 ,030	-0 ,074	0 ,248	-0 ,103	0 ,313	-0.045	1.000	-0 ,129	-0 ,104	0 ,047	-0 ,228
		p değeri	0 ,241	0 ,505	0 ,523	0 ,873	0 ,697	0 ,187	0 ,590	0 ,092	0.813		0 ,497	0 ,584	0 ,805	0 ,225
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

Gruplar	Parametreler		Leptin ng/ml	Grelin ng/ml	Grelin kompetitif ng/ml	Açile Grelin ng/ml	Deaçile Grelin ng/L	GHSR ng/ml	LEPR ng/ml	KISS1 Sandviç pg/ml	KISS1 kompetitif pg/ml	KISS1R ng/ml	NLRP3 ng/ml	Preptin pg/ml	PPAR γ ng/ml	IL- 18 pg/ml
Obez	**NLRP3 ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,112	0 ,228	-0,487**	0 ,096	0 ,179	0 ,061	-0 ,020	0 ,181	0 ,183	-0 ,129	1 ,000	0 ,053	0 ,356	0 ,178
		p değeri	0 ,554	0 ,226	0 ,006	0 ,613	0 ,343	0 ,750	0 ,918	0 ,337	0 ,333	0 ,497		0 ,782	0 ,053	0 ,346
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Obez	**Preptin pg/ml**	**Korelasyon katsayısı**	-0 ,041	0 ,386*	-0 ,077	0 ,251	0 ,409*	0 ,031	-0 ,200	-0 ,159	-0 ,063	-0 ,104	0 ,053	1 ,000	-0 ,032	0 ,008
		p değeri	0 ,829	0 ,035	0 ,688	0 ,181	0 ,025	0 ,872	0 ,290	0 ,401	0 ,741	0 ,584	0 ,782		0 ,866	0 ,966
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Obez	**PPAR γ ng/ml**	**Korelasyon katsayısı**	0 ,096	0 ,082	-0 ,267	0 ,235	0 ,265	0 ,131	-0 ,010	0 ,334	0 ,359	0 ,047	0 ,356	-0 ,032	1 ,000	0 ,427*
		p değeri	0 ,613	0 ,668	0 ,153	0 ,211	0 ,158	0 ,490	0 ,956	0 ,071	0 ,052	0 ,805	0 ,053	0 ,866		0 ,018
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

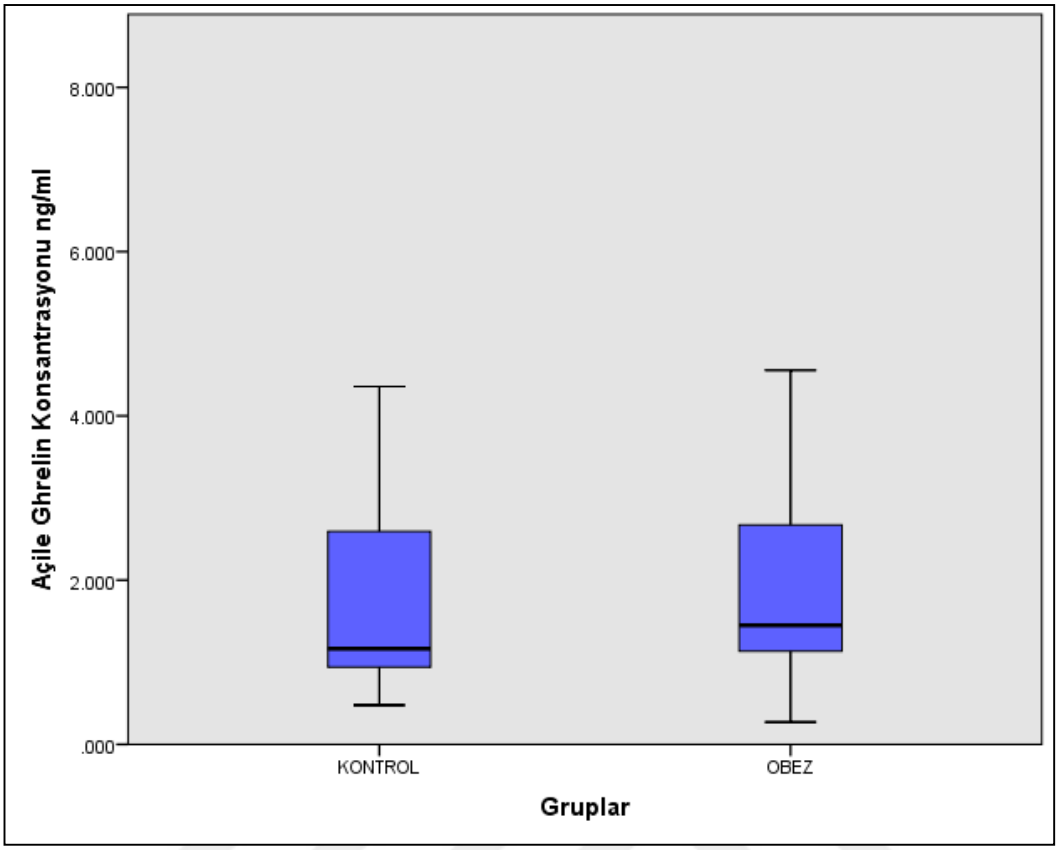
Gruplar	Parametreler		Leptin ng/ml	Grelin ng/ml	Grelin kompetitif ng/ml	Açile Grelin ng/ml	Deaçile Grelin ng/L	GHSR ng/ml	LEPR ng/ml	KISS1 Sandviç pg/ml	KISS1 kompetitif pg/ml	KISS1R ng/ml	NLRP3 ng/ml	Preptin pg/ml	PPAR γ ng/ml	IL- 18 pg/ml
Obez	**IL- 18 pg/ml**	**Korelasyon katsayısı**	-0 ,373*	-0 ,047	-0 ,015	0 ,039	-0 ,036	0 ,191	-0 ,226	0 ,382*	0 ,037	-0 ,228	0 ,178	0 ,008	0 ,427*	1 ,000
		p değeri	0 ,042	0 ,805	0 ,936	0 ,838	0 ,849	0 ,313	0 ,229	0 ,037	0 ,845	0 ,225	0 ,346	0 ,966	0 ,018	
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

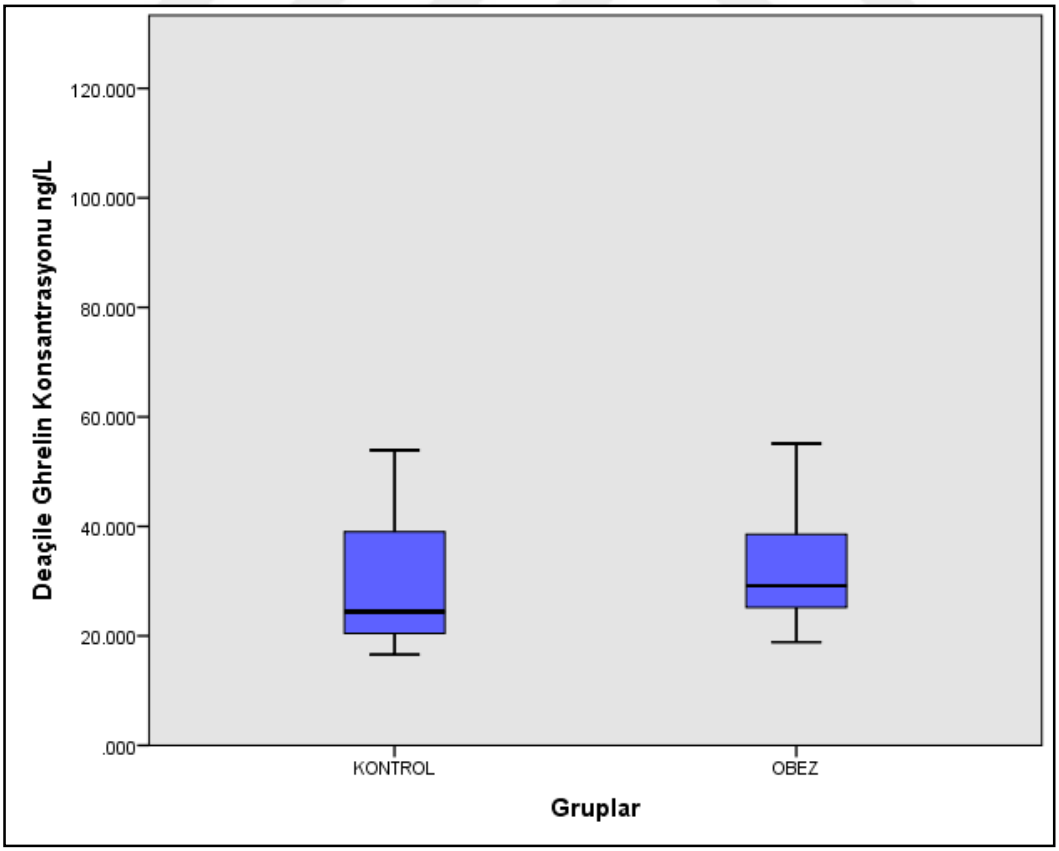
*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001



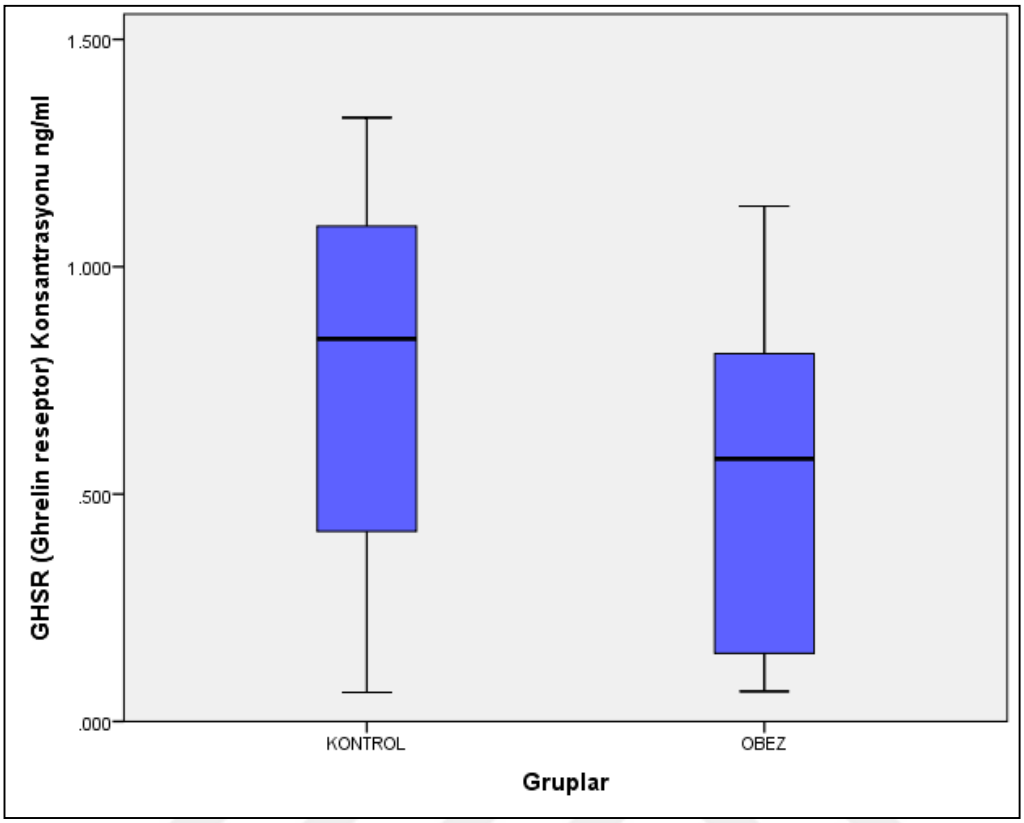


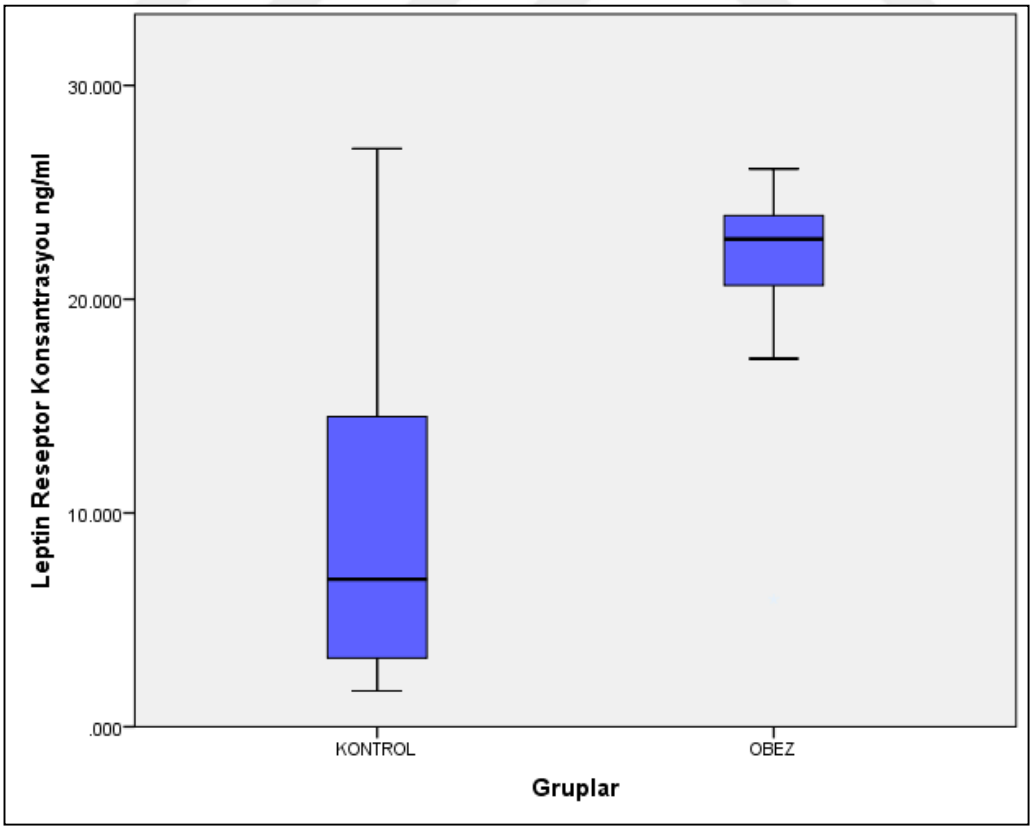
Şekil 4.2-1: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin konsantrasyon değişimleri (Devam).



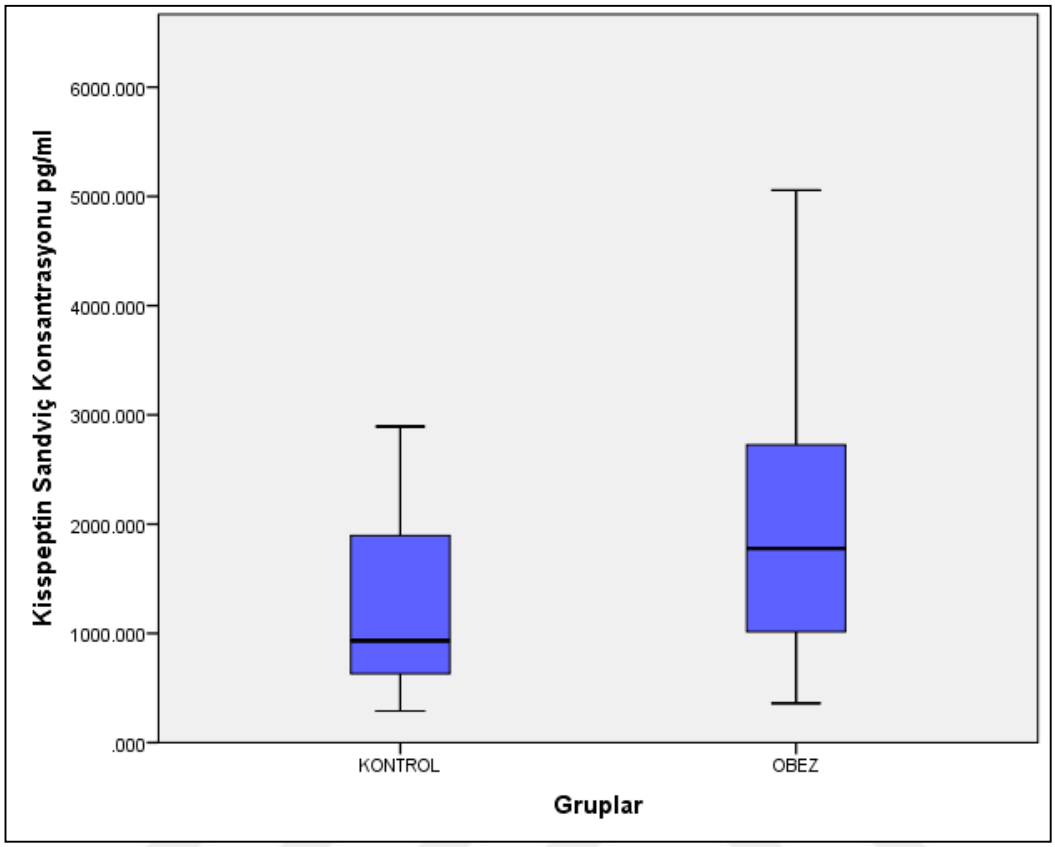


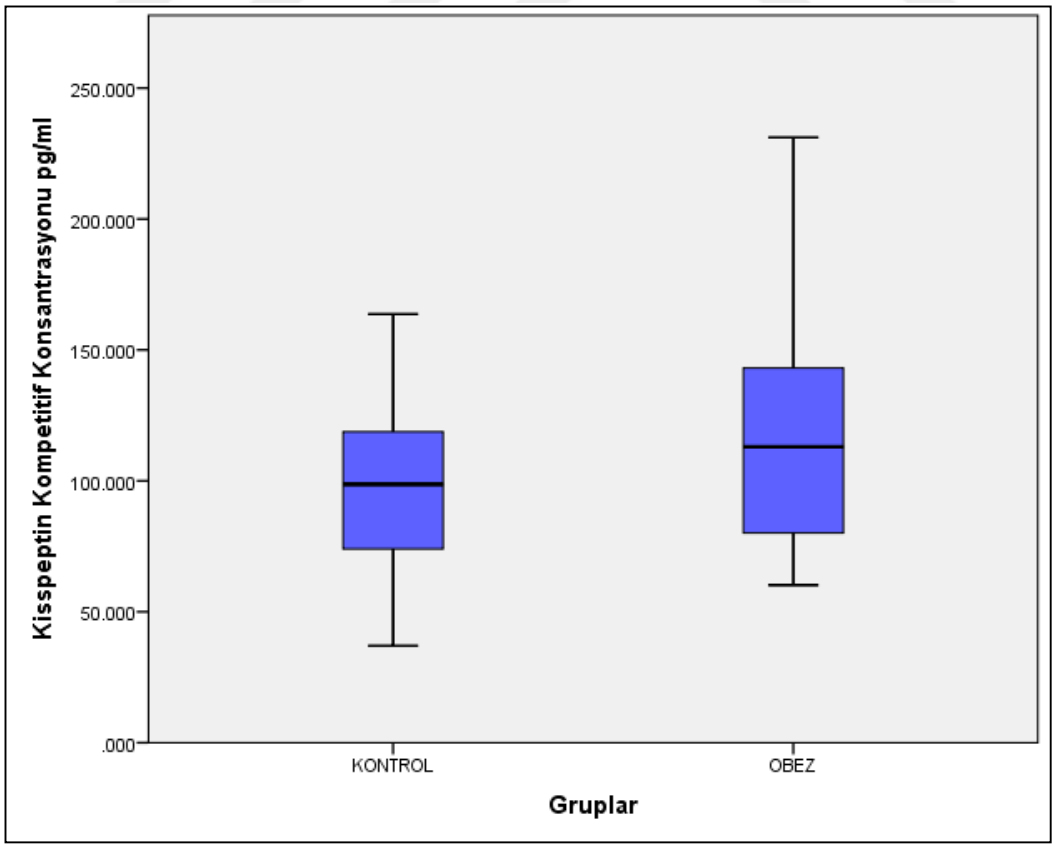
Şekil 4.2-1: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin konsantrasyon değişimleri (Devam).



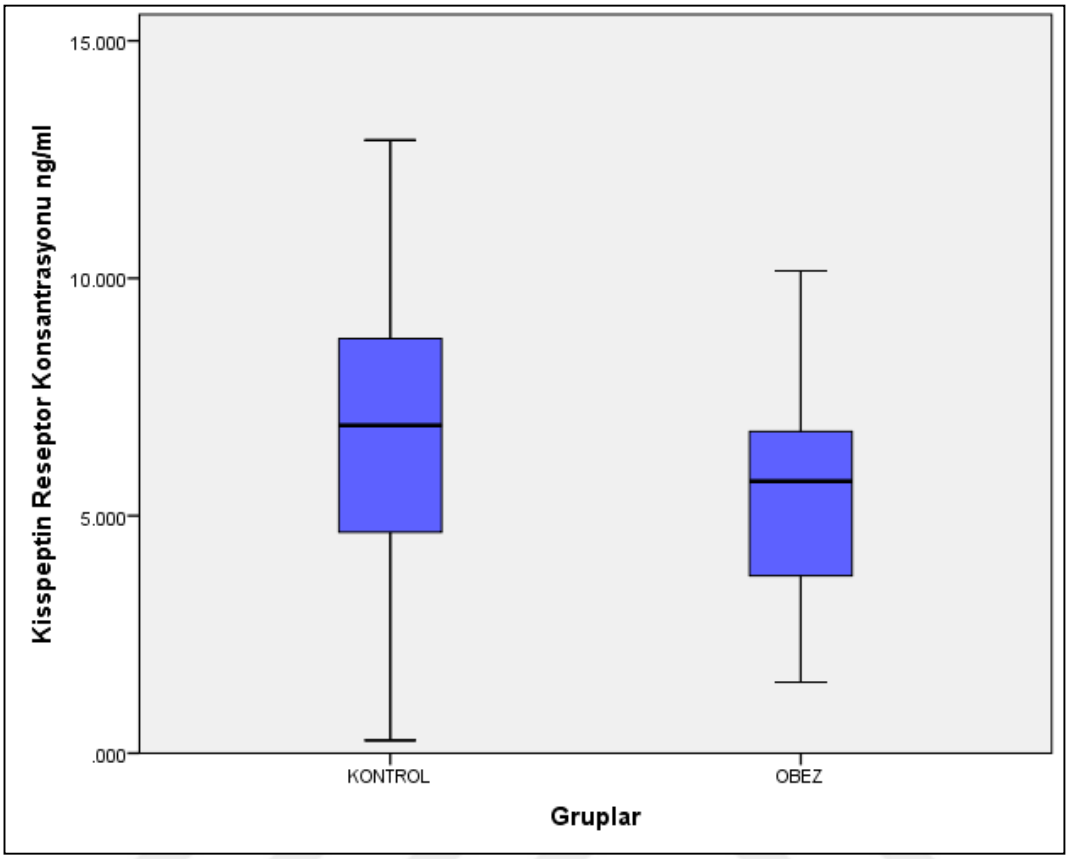


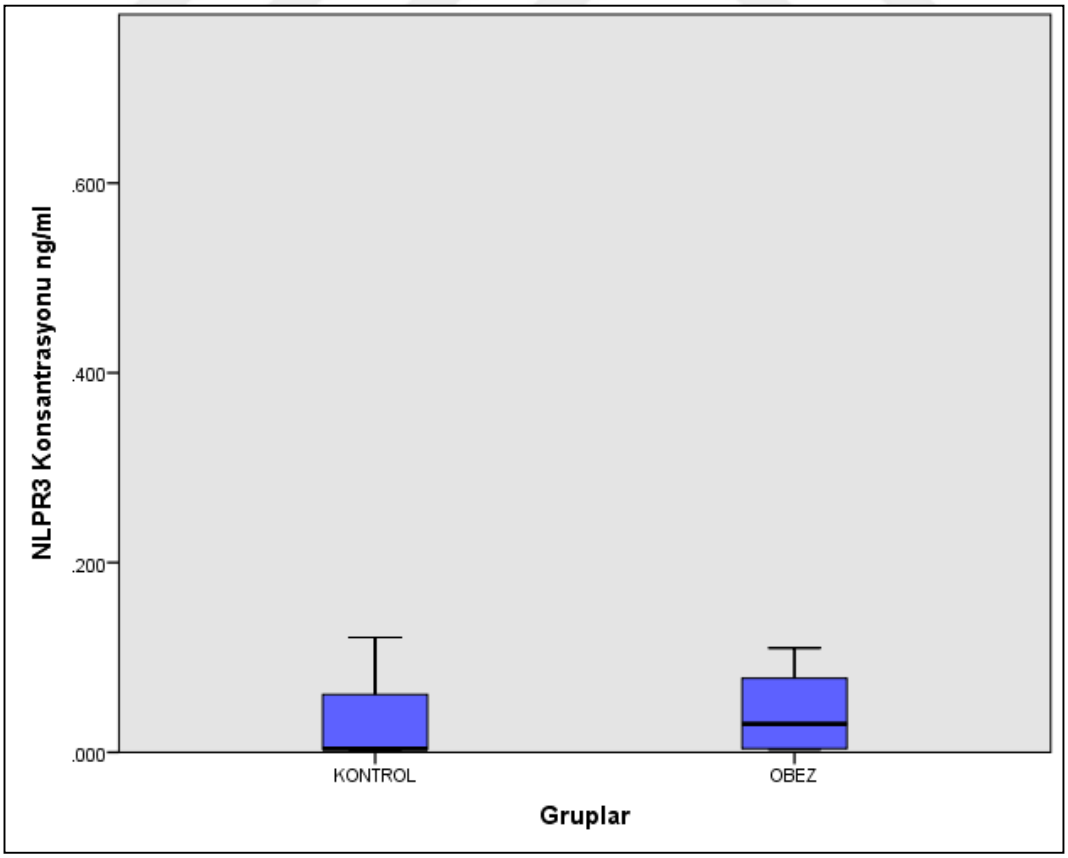
4.2-1: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin konsantrasyon değişimleri (Devam).



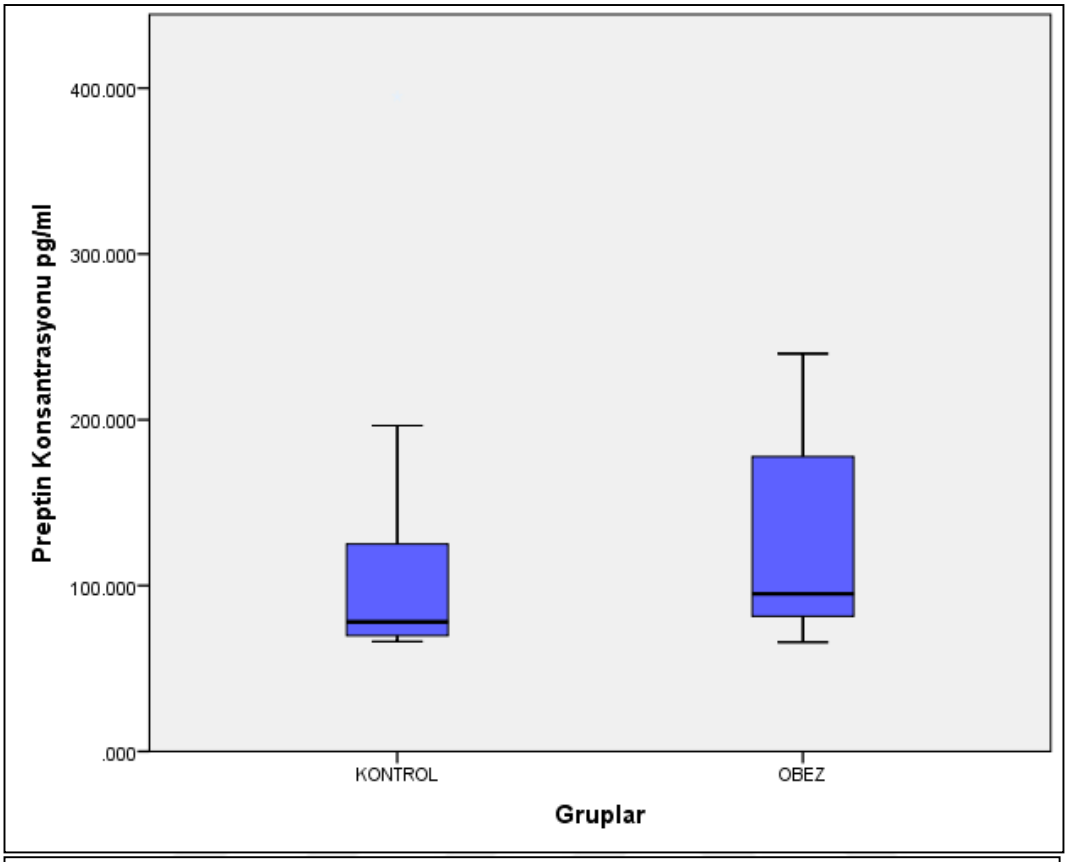


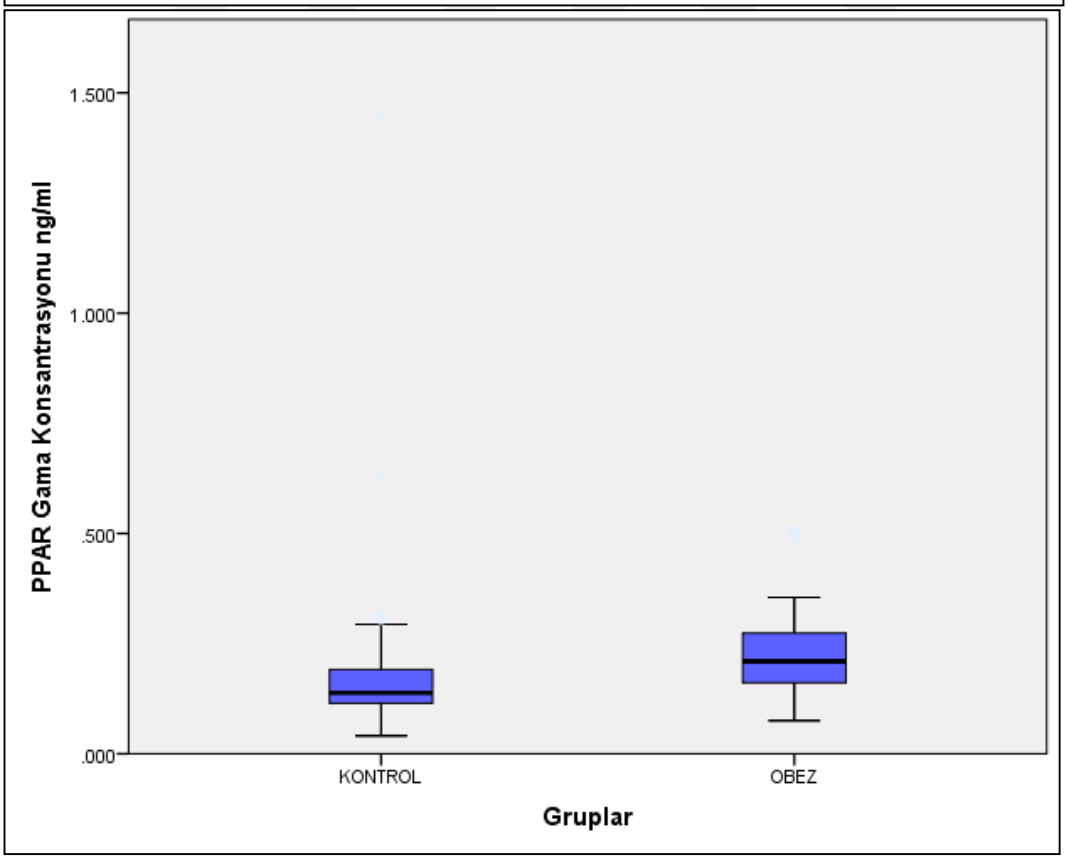
Şekil 4.2-1: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin konsantrasyon değişimleri (Devam).



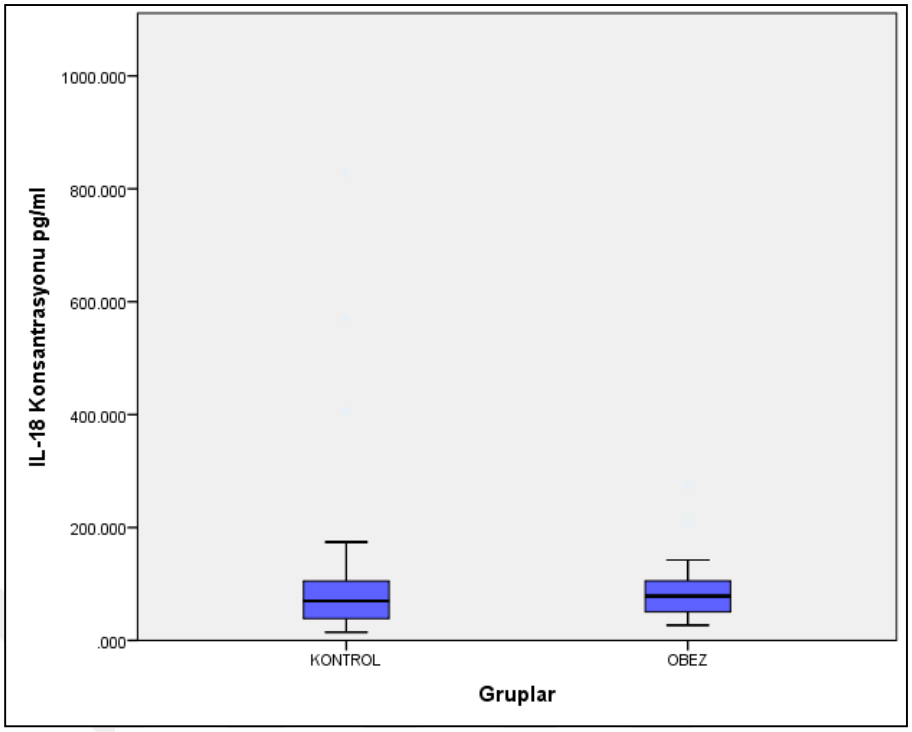


Şekil 4.2-1: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin konsantrasyon değişimleri (Devam).



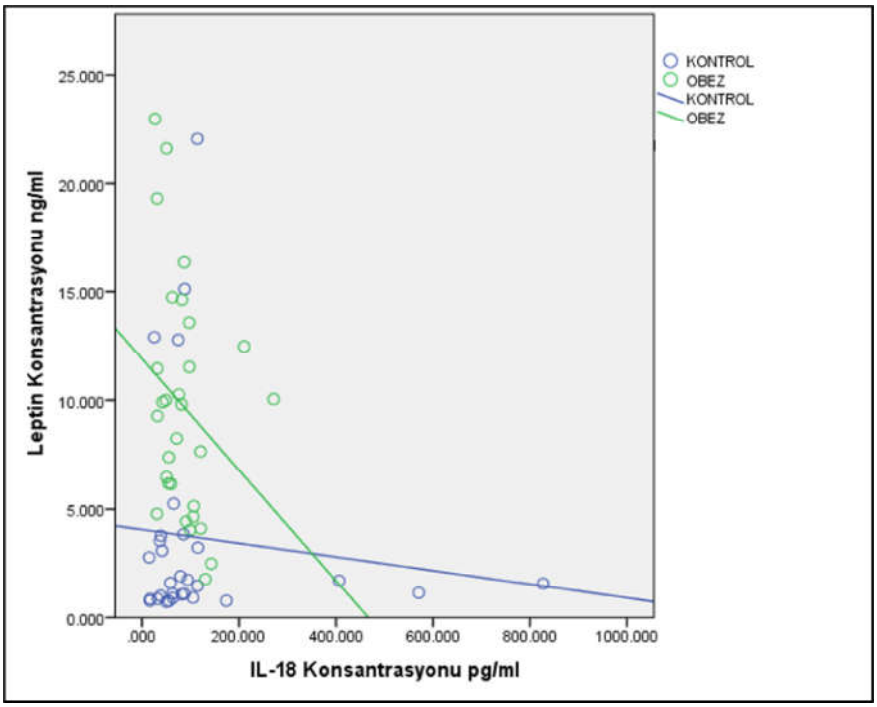


Şekil 4.2-1: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin konsantrasyon değişimleri (Devam).

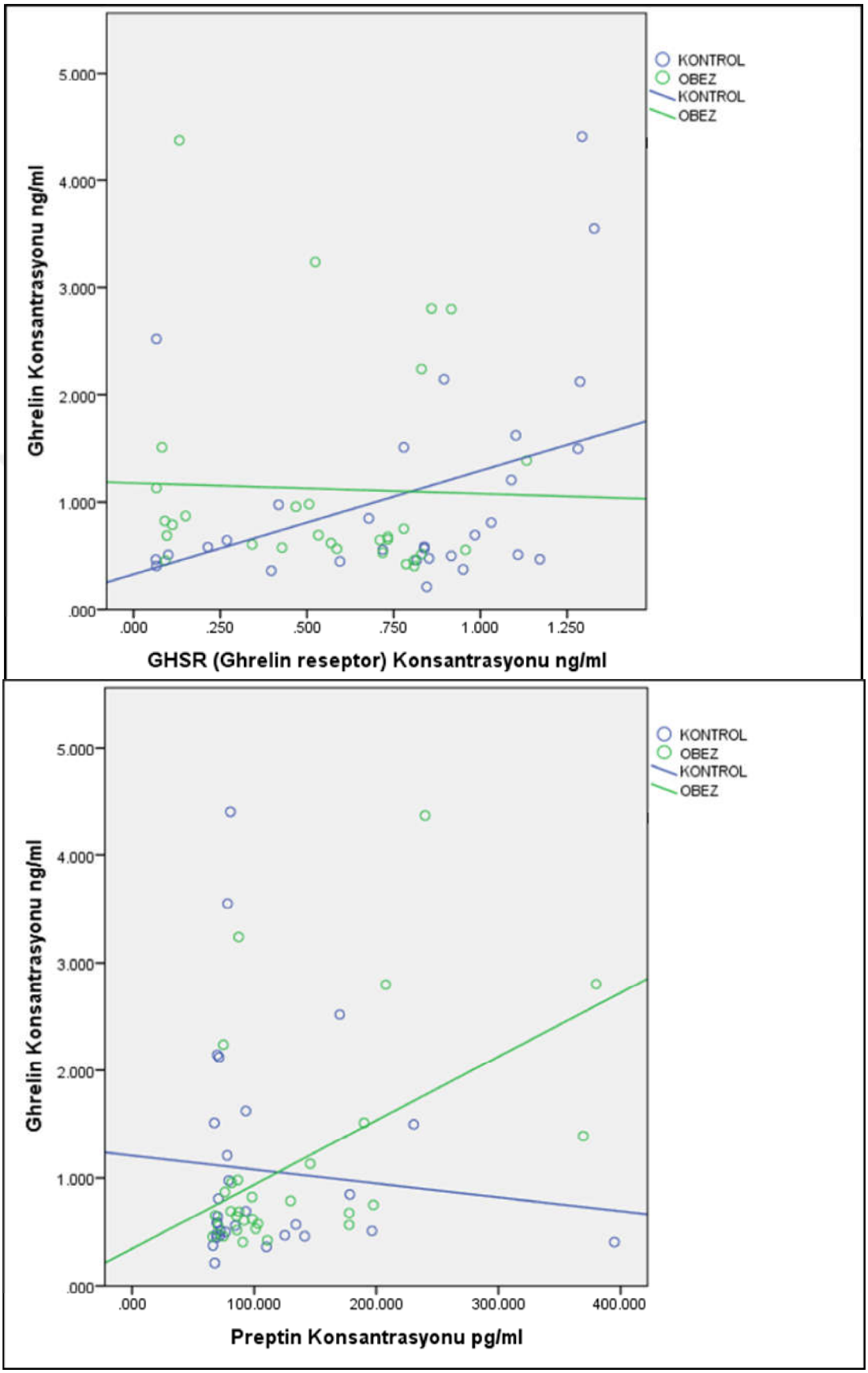


Şekil 4.2-1: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin konsantrasyon değişimleri (Devam).

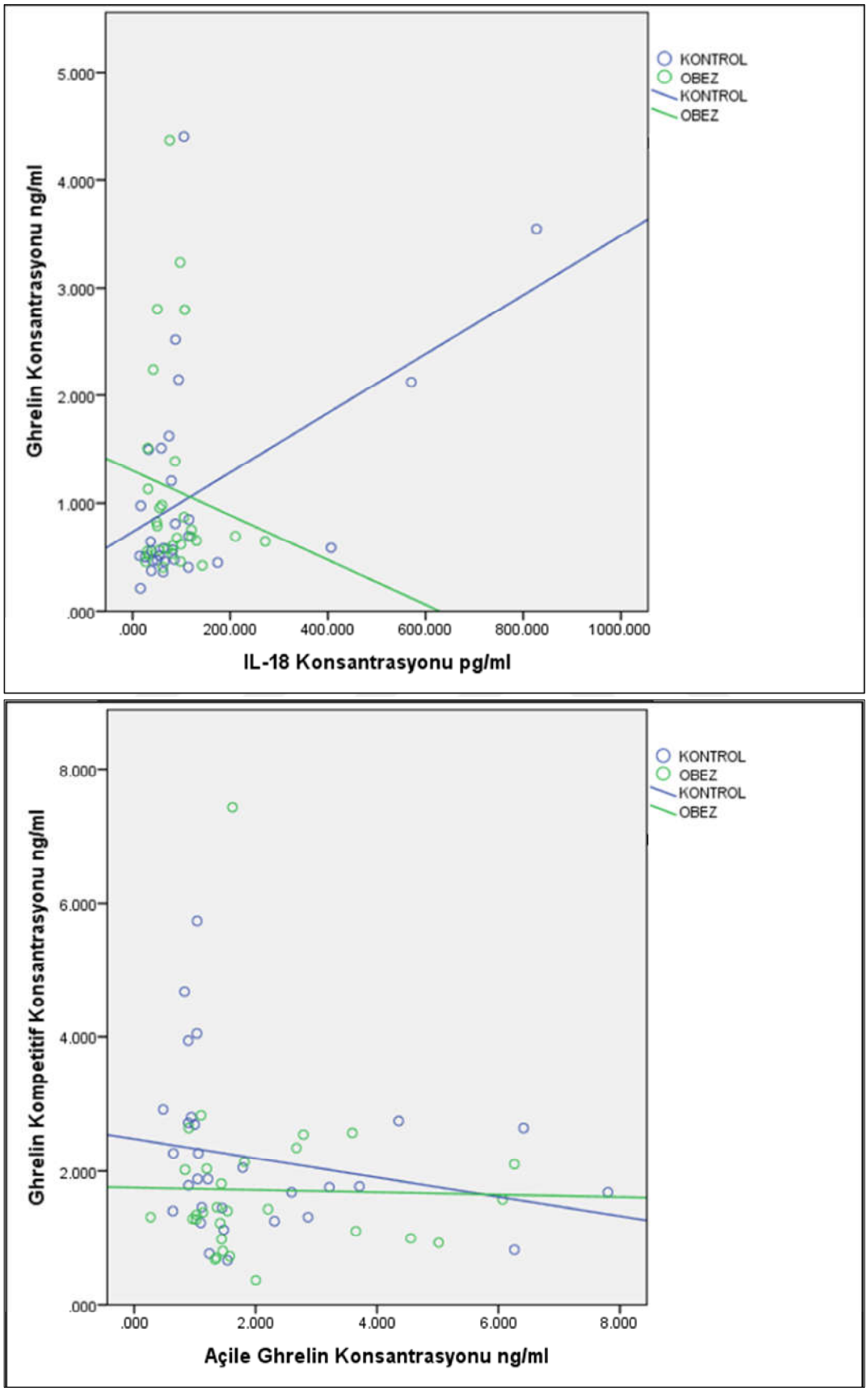
Kontrol ve obez çocuk gruplarda NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin birbirleriyle olan korelasyonlarını gösteren grafikler Şekil 4.2.2'de verilmiştir.



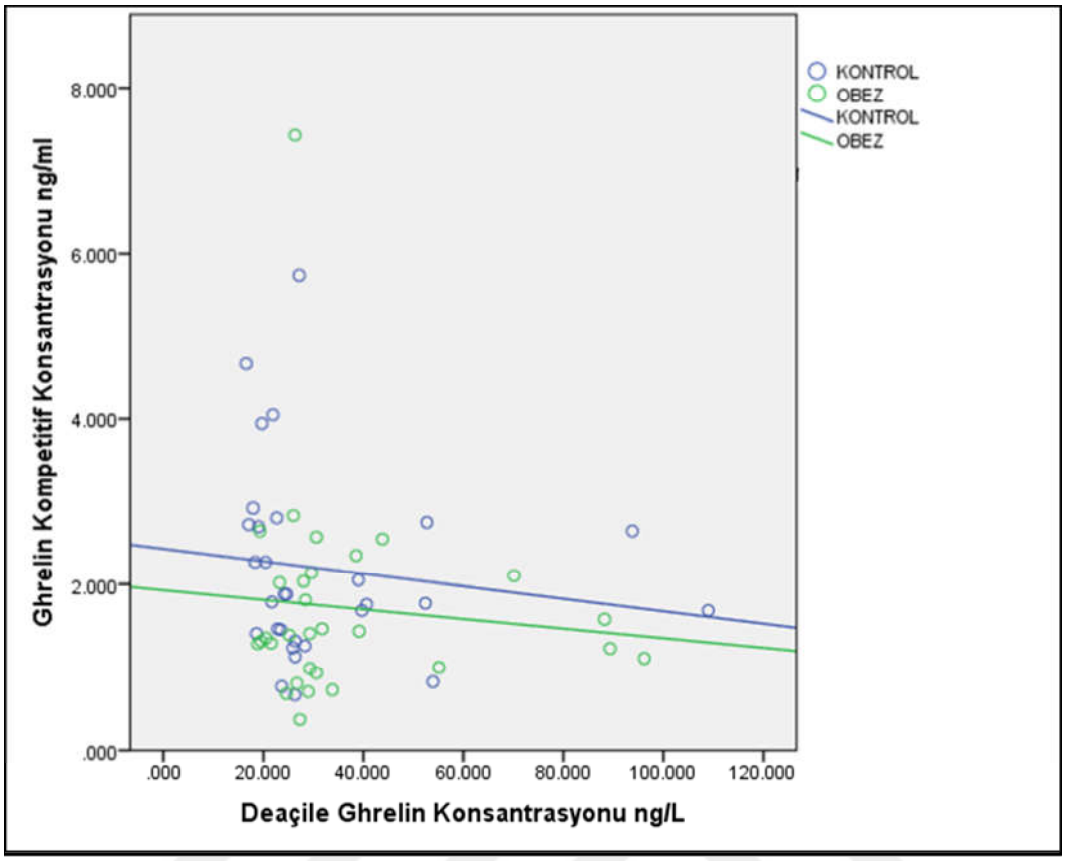
Şekil 4.2-2: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonları.

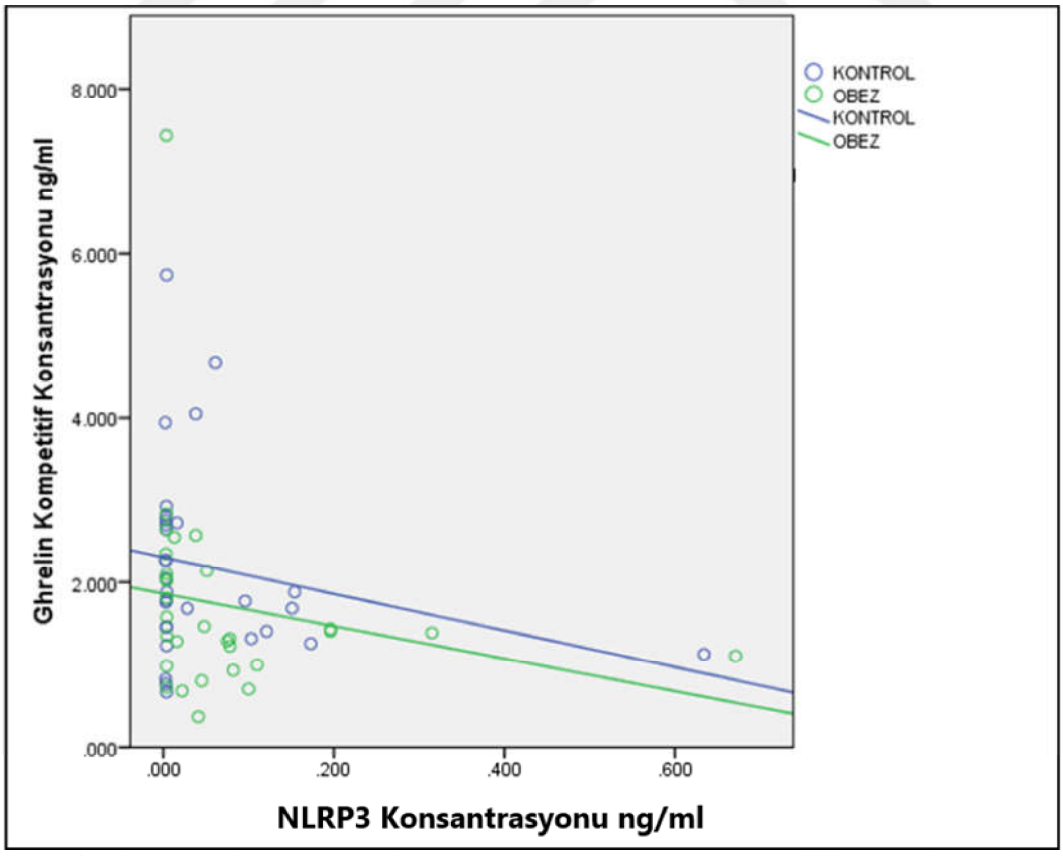


Şekil 4.2-2: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonları (Devam).

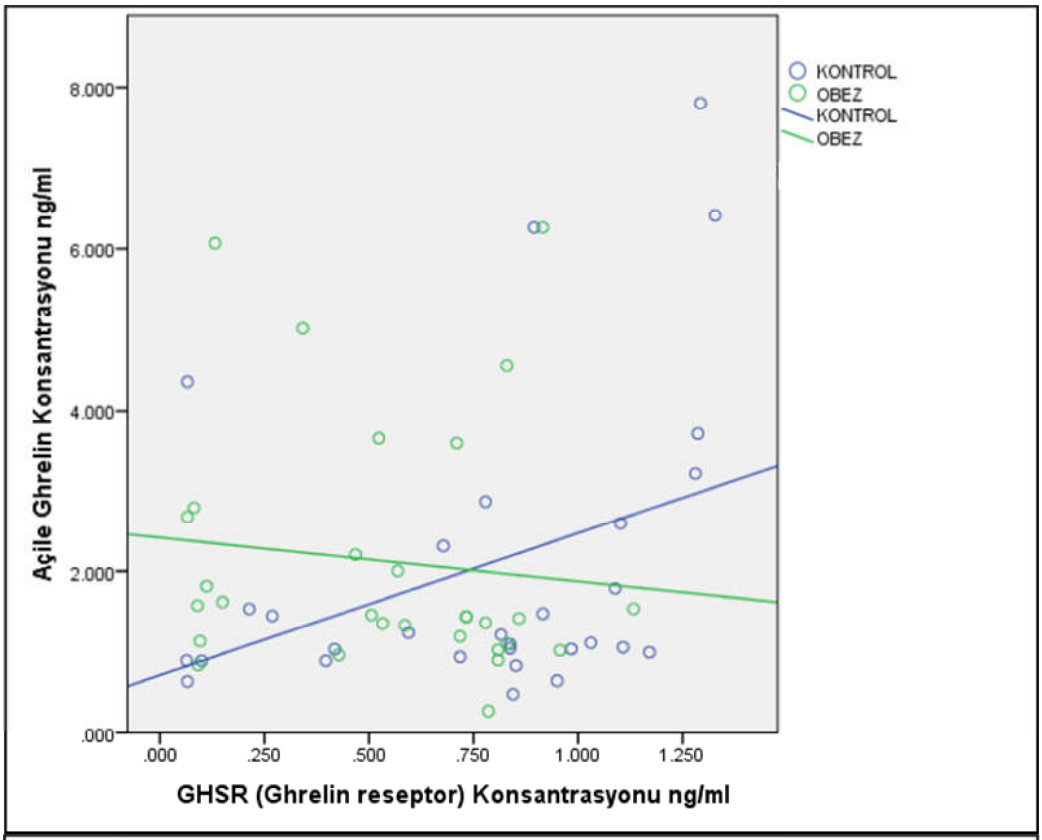


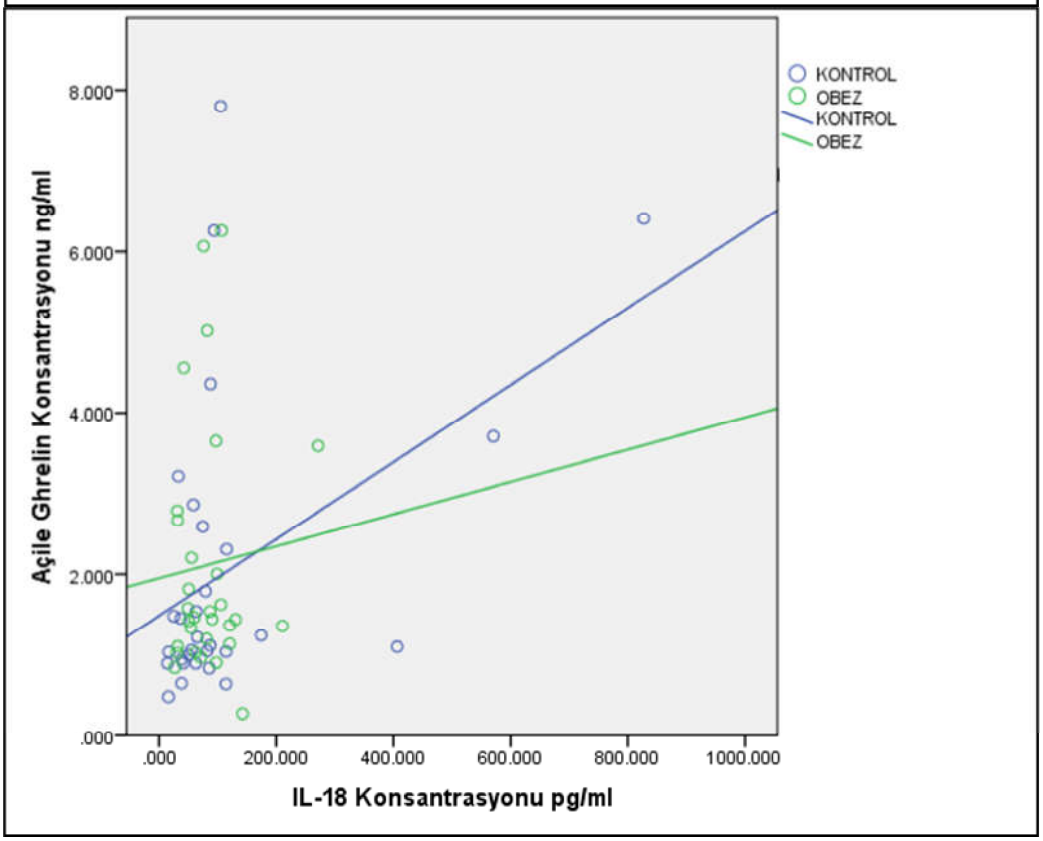
Şekil 4.2-2: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonları (Devam).



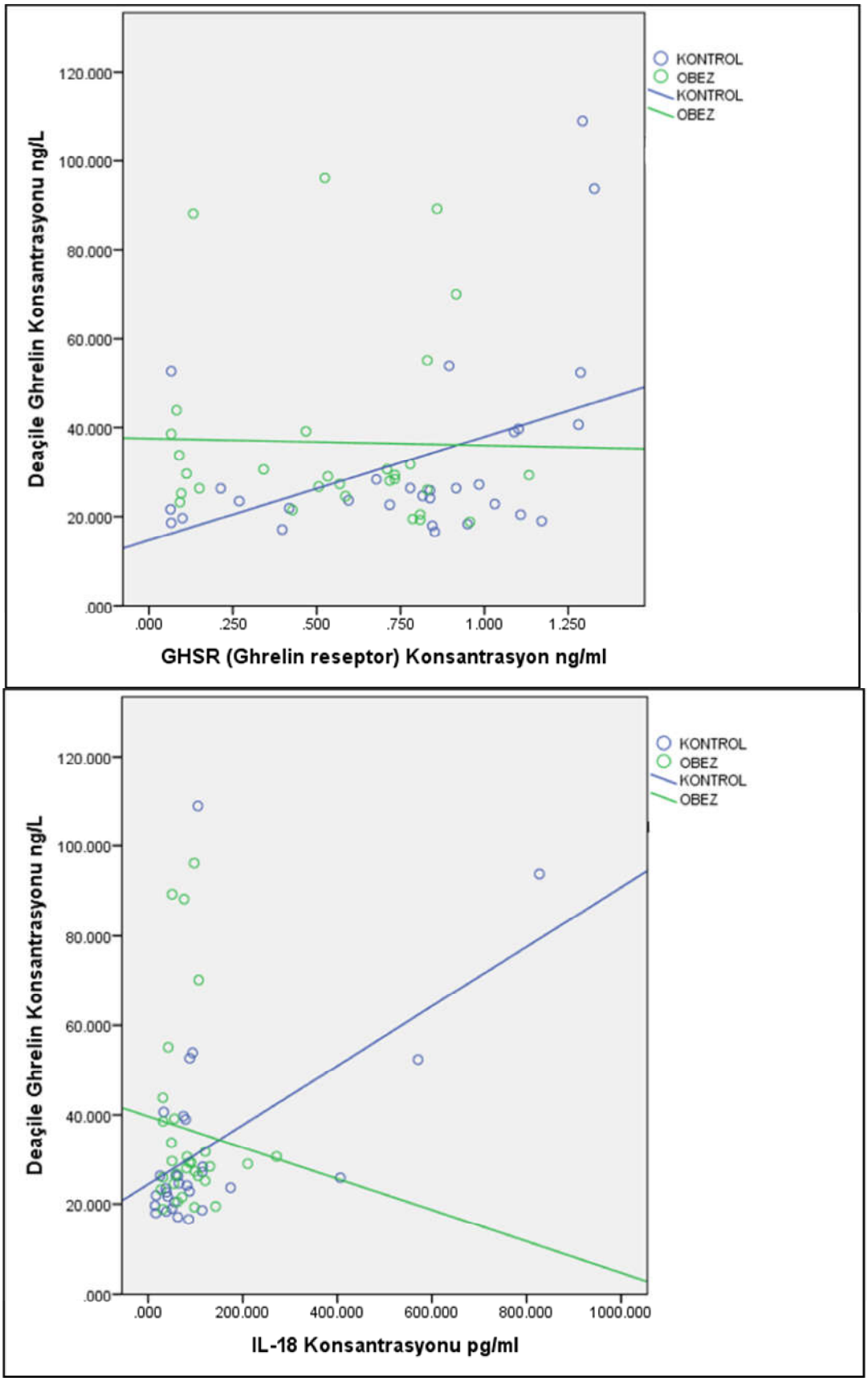


Şekil 4.2-2: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonları (Devam).

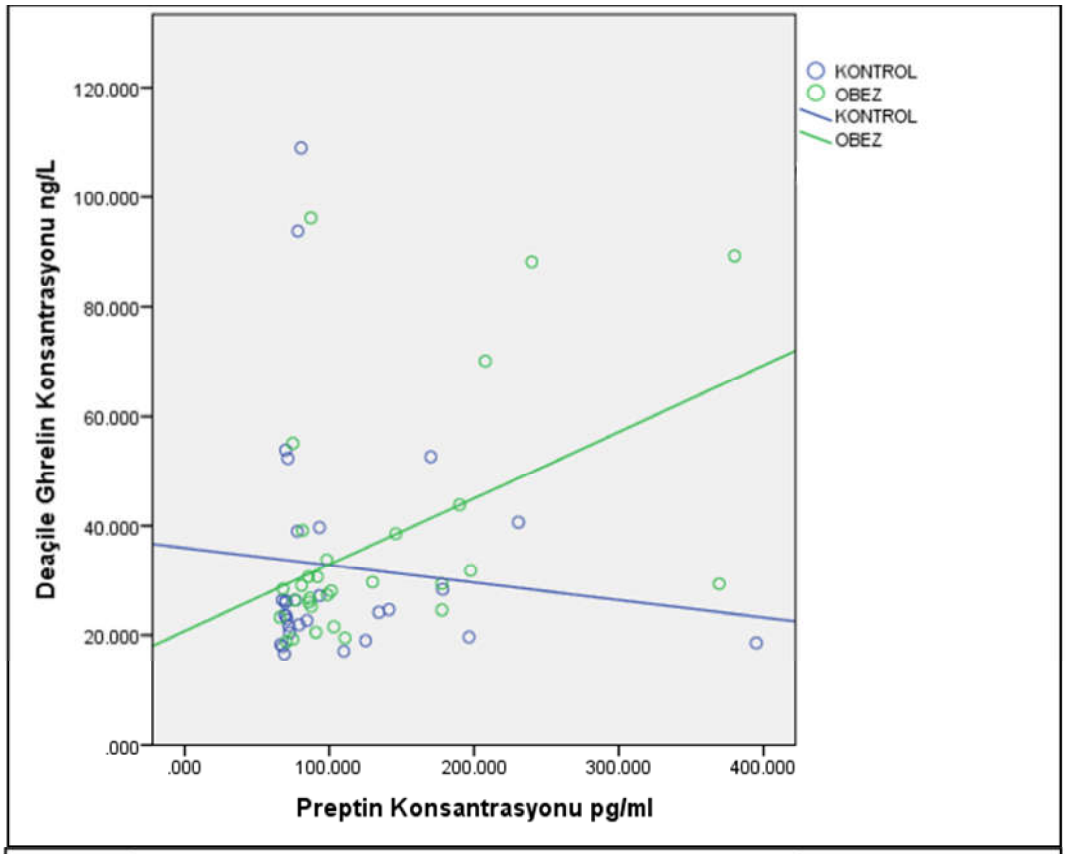


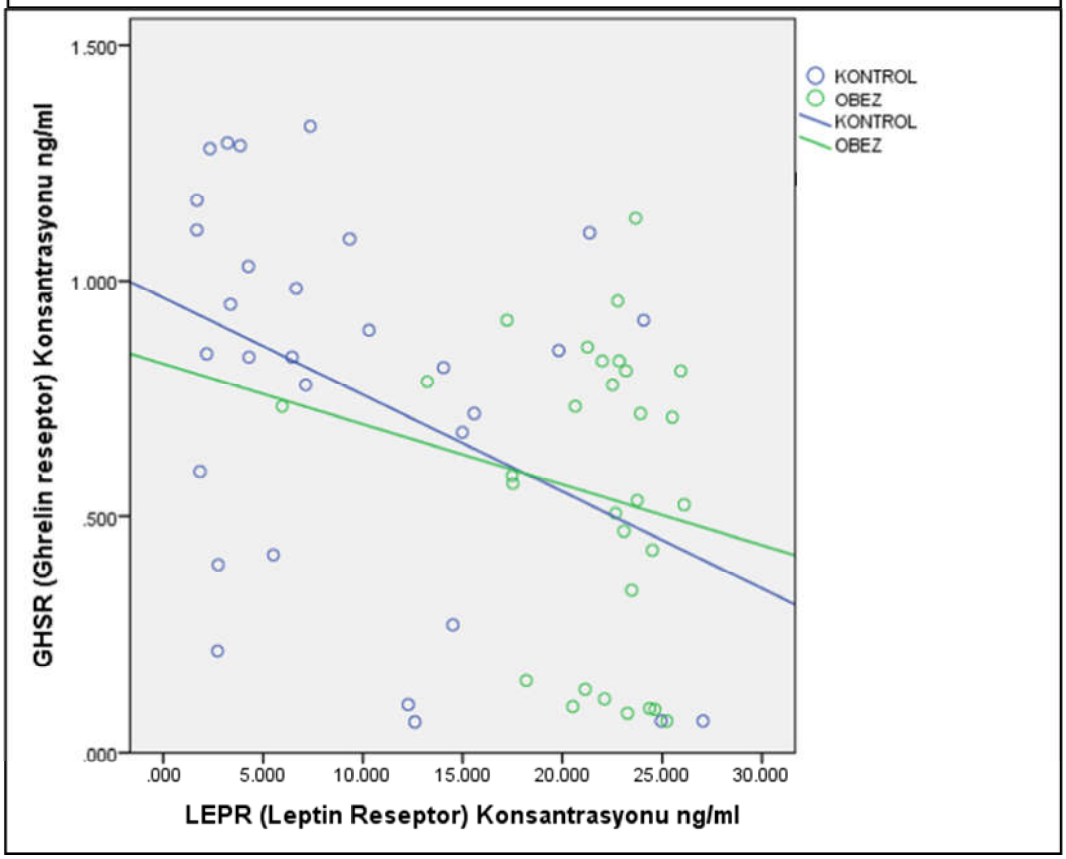


Şekil 4.2-2: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonları (Devam).

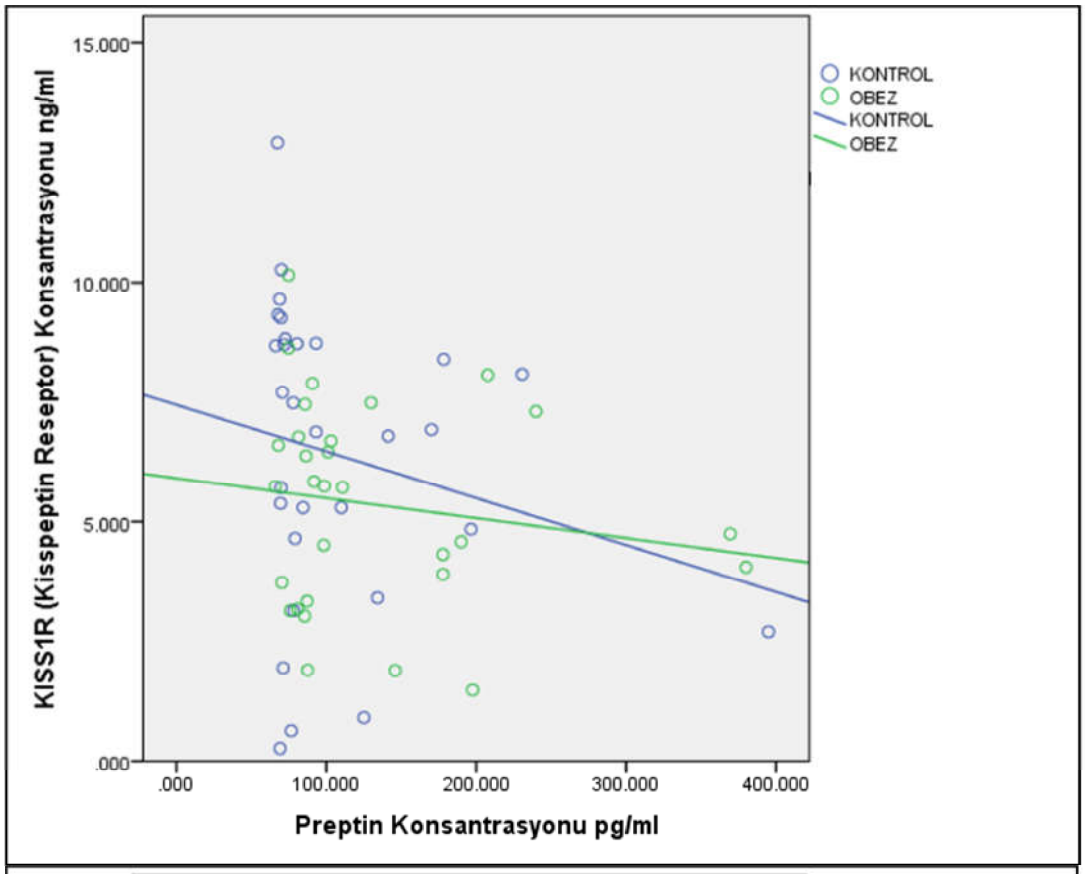


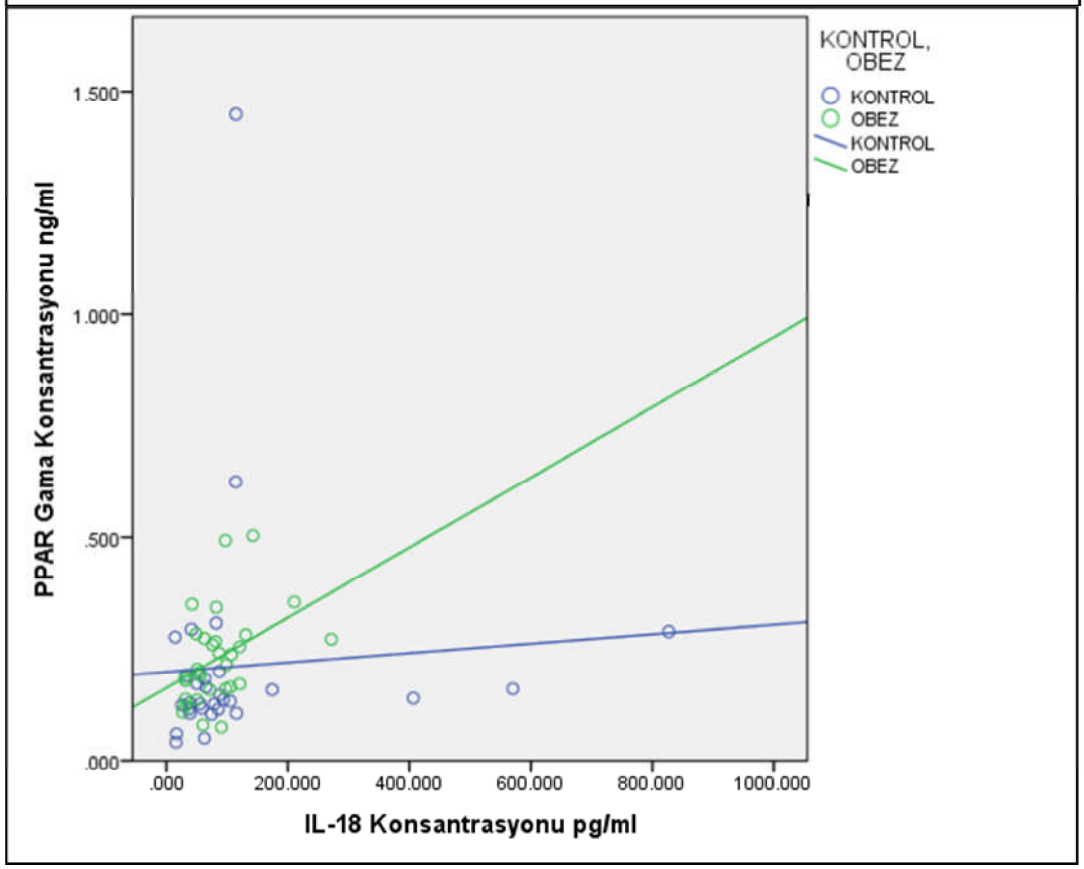
Şekil 4.2-2: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonları (Devam).





Şekil 4.2-2: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonları (Devam).





Şekil 4.2-2: NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin korelasyonları (Devam).

Kontrol ve obez gruplarda iki farklı yöntemle çalışılan parametrelere ilişkin örnek sayısı, medyan, ortalama ± standart sapma, minimum-maksimum ve p değerleri Tablo 4.2.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.2-3: Kontrol ve obez gruplarda iki farklı yöntemle çalışılan parametrelere ilişkin örnek sayısı, medyan, ortalama ± standart sapma, minimum-maksimum ve p değerleri

	Kontrol					Obez				
Parametreler	**Örnek Sayısı**	**Min.**	**Max.**	**Medyan**	**Ort±SS**	**Min.**	**Max.**	**Medyan**	**Ort±SS**	**P Değeri**
Grelin Sandviç (ng/ml)	30	0,211	4,405	0,583		0,405	4,371	0,691		0,301
Grelin Kompetitif (ng/ml)	30	0,664	5,742	1,832		0,367	7,431	1,394		0,037*
KISS1 Sandviç (pg/ml)	30	289,486	5546,526	932,481		359,802	5752,577	1776,526		0,030*
KISS1 Kompetitif (pg/ml)	30	37,025	163,660		94,833 ± 34,057	60,220	231,153		117,841 ± 42,493	0,024*

*p<0,05, ** p<0,01, *** p≤0,001

Kontrol ve obez çocuk gruplardaki antropometrik veriler ile ELISA çalışmasındaki leptin, açile grelin, GHSR, LEPR ve PPAR γ parametreleri arasındaki korelasyonlar Tablo 4.2.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.2-4: Antropometrik parametreler ile ELISA parametreleri arasındaki korelasyon

Gruplar	**Parametreler**		**Leptin ng/ml**	**Açile Grelin ng/ml**	**GHSR ng/ml**	**LEPR ng/ml**	**PPAR γ ng/ml**
Kontrol	**Yaş**	**Korelasyon katsayısı**	0,516**	-0,109	-0,737**	0,527**	-0,004
		p değeri	0,003	0,565	0,000	0,003	0,981
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30
	BKİ	**Korelasyon katsayısı**	0,639**	-0,047	-0,578**	0,631**	-0,083
		p değeri	0,000	0,805	0,001	0,000	0,664

Gruplar	Parametreler		Leptin ng/ml	Açile Grelin ng/ml	GHSR ng/ml	LEPR ng/ml	PPAR γ ng/ml
Kontrol		**Örnek sayısı**	30	30	30	30	30
	Bel çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,685**	-0,025	-0,560**	0,684**	-0,111
		p değeri	0,000	0,896	0,001	0,000	0,558
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30
	Kalça çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,596**	0,002	-0,599**	0,589**	0,029
		p değeri	0,001	0,993	0,000	0,001	0,878
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30
	Baş çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,412*	0,231	-0,355	0,396*	0,089
		p değeri	0,024	0,220	0,054	0,030	0,641
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30
	Boyun çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,513**	0,149	-0,374*	0,486**	0,053
		p değeri	0,004	0,433	0,042	0,007	0,782
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30
Obez	**Yaş**	**Korelasyon katsayısı**	0,395*	0,392*	-0,566**	0,199	0,049
		p değeri	0,031	0,032	0,001	0,292	0,798
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30
	BKİ	**Korelasyon katsayısı**	0,531**	0,342	-0,474**	0,354	0,358
		p değeri	0,003	0,064	0,008	0,055	0,052
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30
	Bel çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,492**	0,297	-0,190	0,297	0,198
		p değeri	0,006	0,111	0,315	0,111	0,295
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30

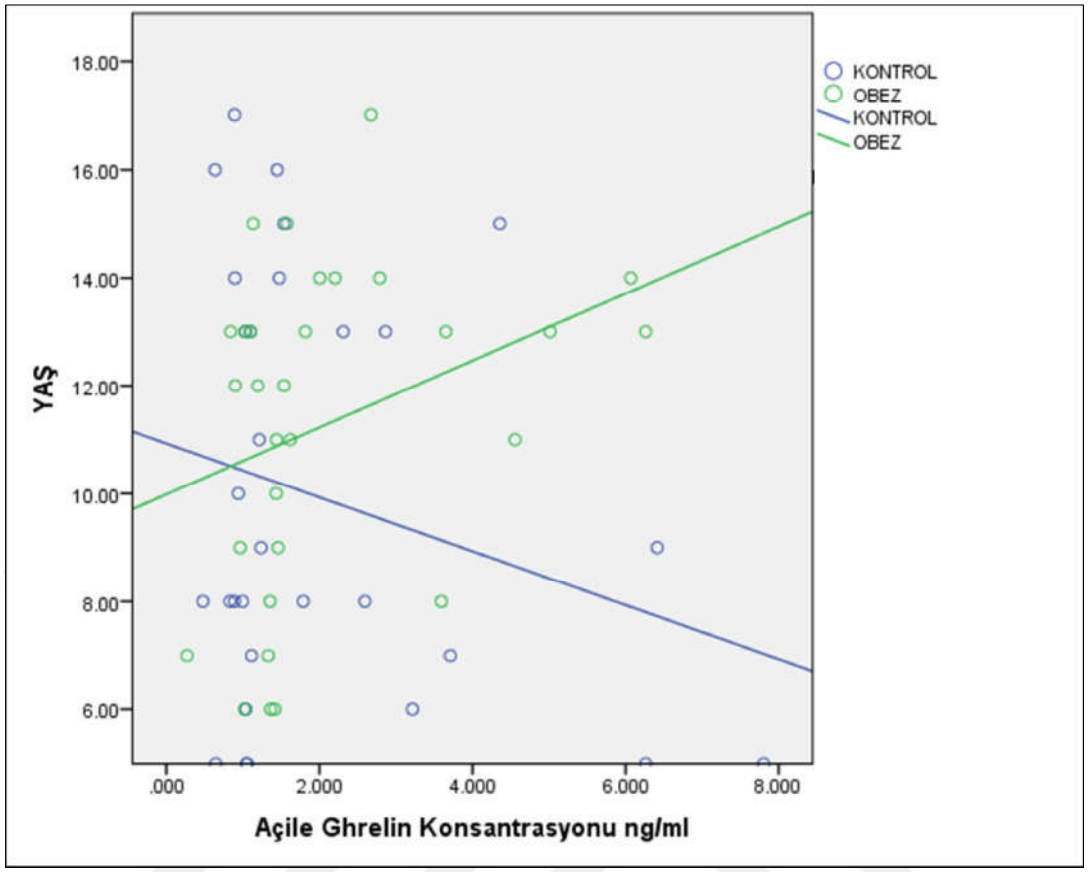
Gruplar	Parametreler		Leptin ng/ml	Açile Grelin ng/ml	GHSR ng/ml	LEPR ng/ml	PPAR γ ng/ml
Obez	**Kalça çevresi**	**Korelasyon katsayısı**	0,489**	0,379*	-0,596**	0,312	0,245
		p değeri	0,006	0,039	0,001	0,093	0,191
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30
	Baş çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,409*	0,212	-0,483**	0,376*	0,086
		p değeri	0,025	0,262	0,007	0,041	0,651
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30
	Boyun çevresi	**Korelasyon katsayısı**	0,528**	0,343	-0,289	0,217	0,150
		p değeri	0,003	0,063	0,121	0,250	0,428
		Örnek sayısı	30	30	30	30	30

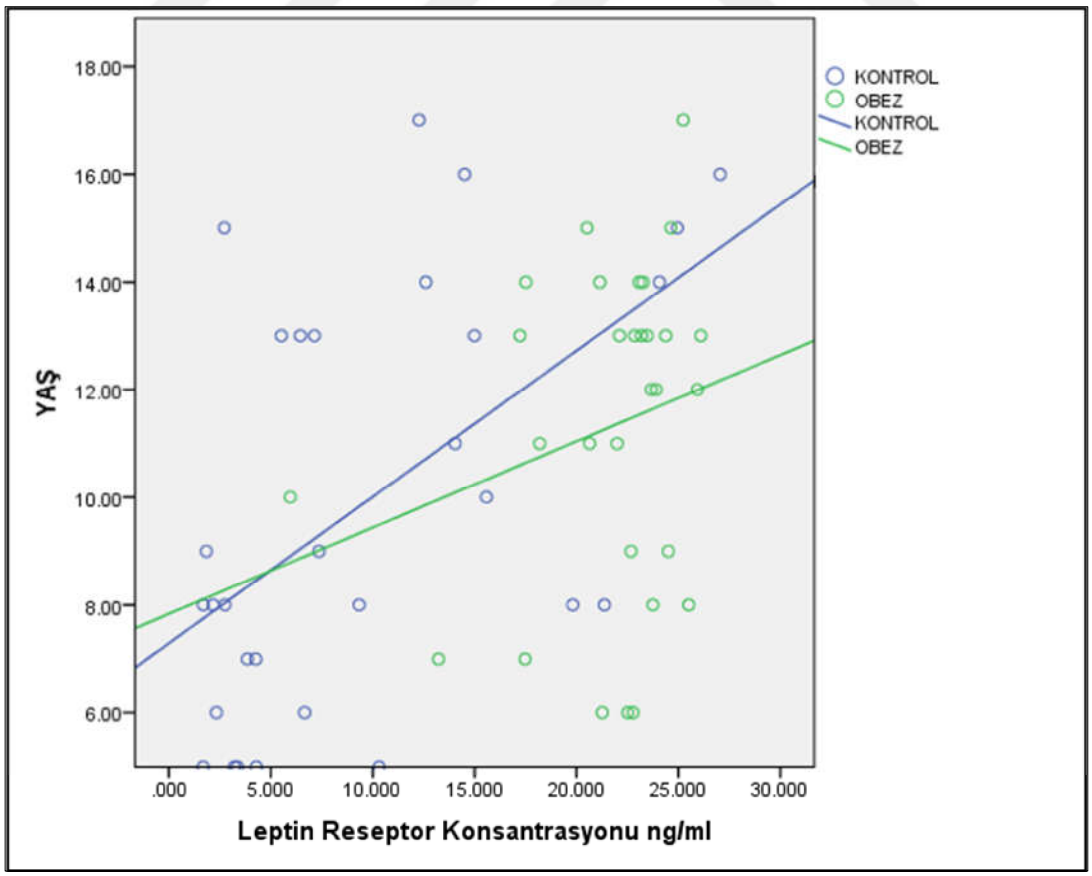
*p<0,05, ** p<0,01, ***p≤0,001

Kontrol grubunun antropometrik verilerinden yaş (**p<0,01), BKİ, bel çevresi, kalça çevresi (***p≤0,001), baş çevresi (*p<0,05), boyun çevresi (** p<0,01) ile leptin ve LEPR parametresi arasında pozitif yönde ilişkiler gözlenmişken yaş, BKİ, bel çevresi, kalça çevresi (***p≤0,001), boyun çevresi (*p<0,05) ile GHSR arasında ise negatif ilişkiler söz konusudur.

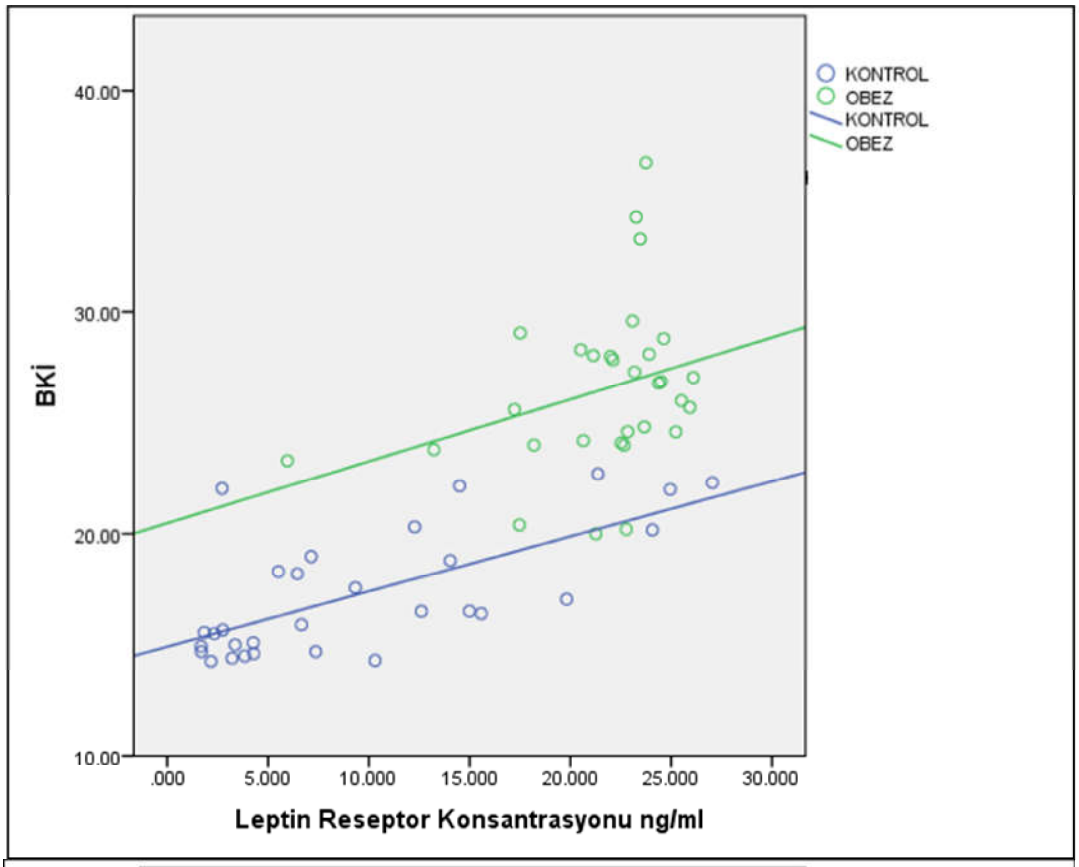
Obez grupta yaş ile leptin ve açile grelin arasında pozitif yönde (*p<0,05), leptin ile BKİ, bel, kalça, boyun (**p<0,01) ve baş çevreleri (*p<0,05) arasında pozitif yönde, kalça çevresi ve açile grelin arasında pozitif yönde (*p<0,05), baş çevresi ile leptin ve LEPR arasında pozitif yönde (*p<0,05) anlamlı ilişkiler gözlenmiştir. Ayrıca yapılan korelasyon analizinde GHSR parametresi ile yaş ve kalça çevresi (***p≤0,001), BKİ ve baş çevreleri arasında negatif yönde anlamlı ilişkiler bulunmuştur (**p<0,01). Obez grupta PPAR γ parametresi ile BKİ arasındaki korelasyonda p değeri pozitif yönde anlamlıya yakın bulunmuştur (p=0,052).

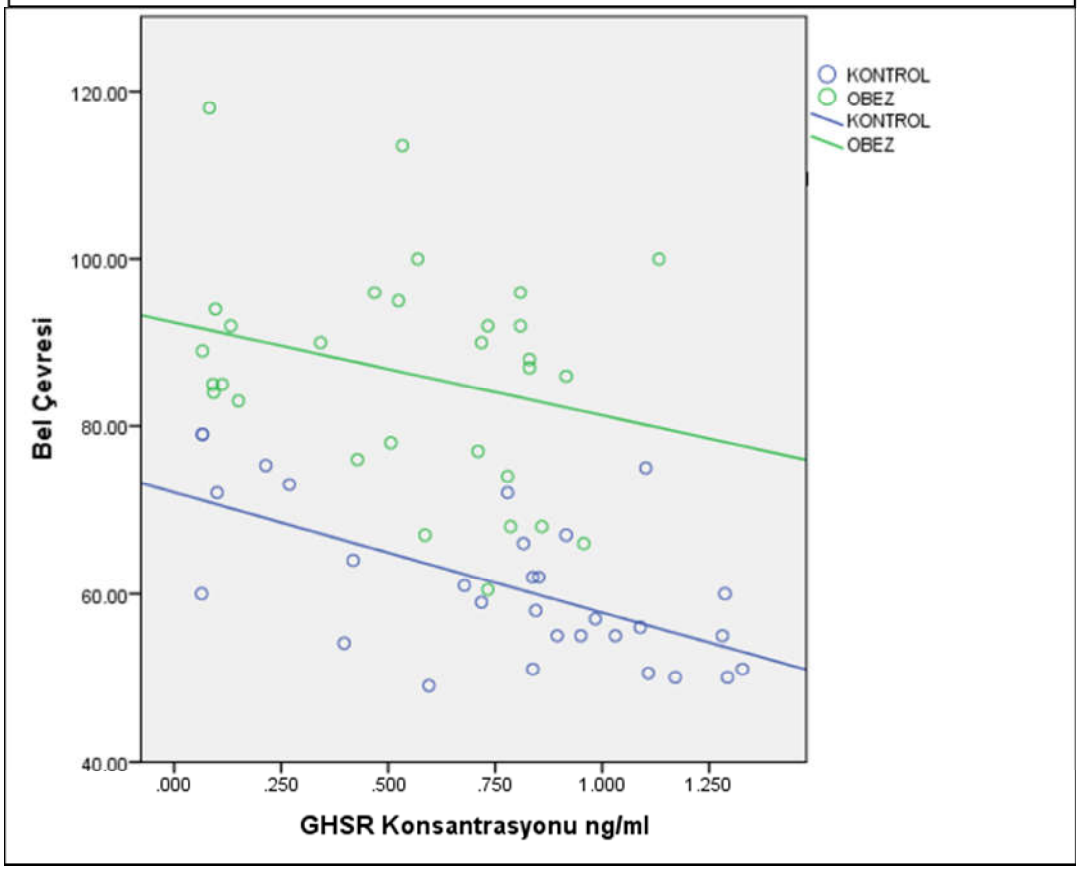
Kontrol ve obez gruplara ilişkin antropometrik veriler ile ELISA parametreleri arasındaki korelasyonlara ilişkin grafikler Şekil 4.2.3'te gösterilmiştir.



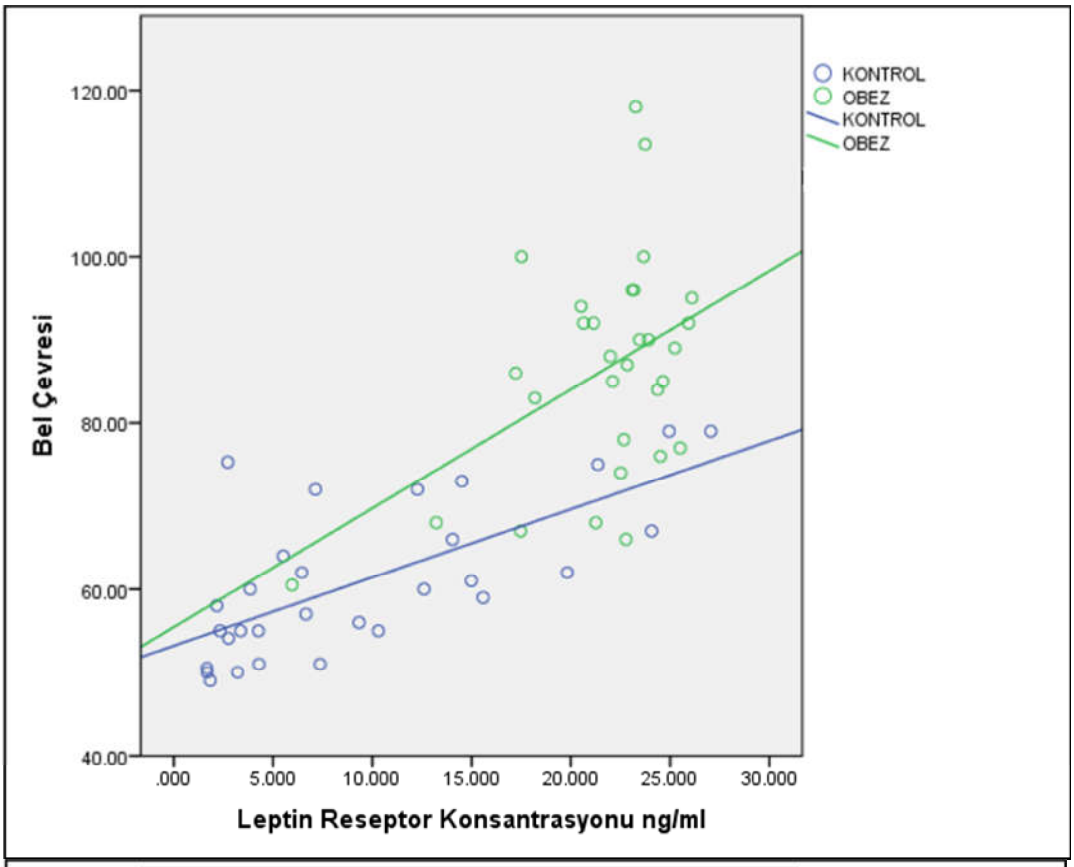


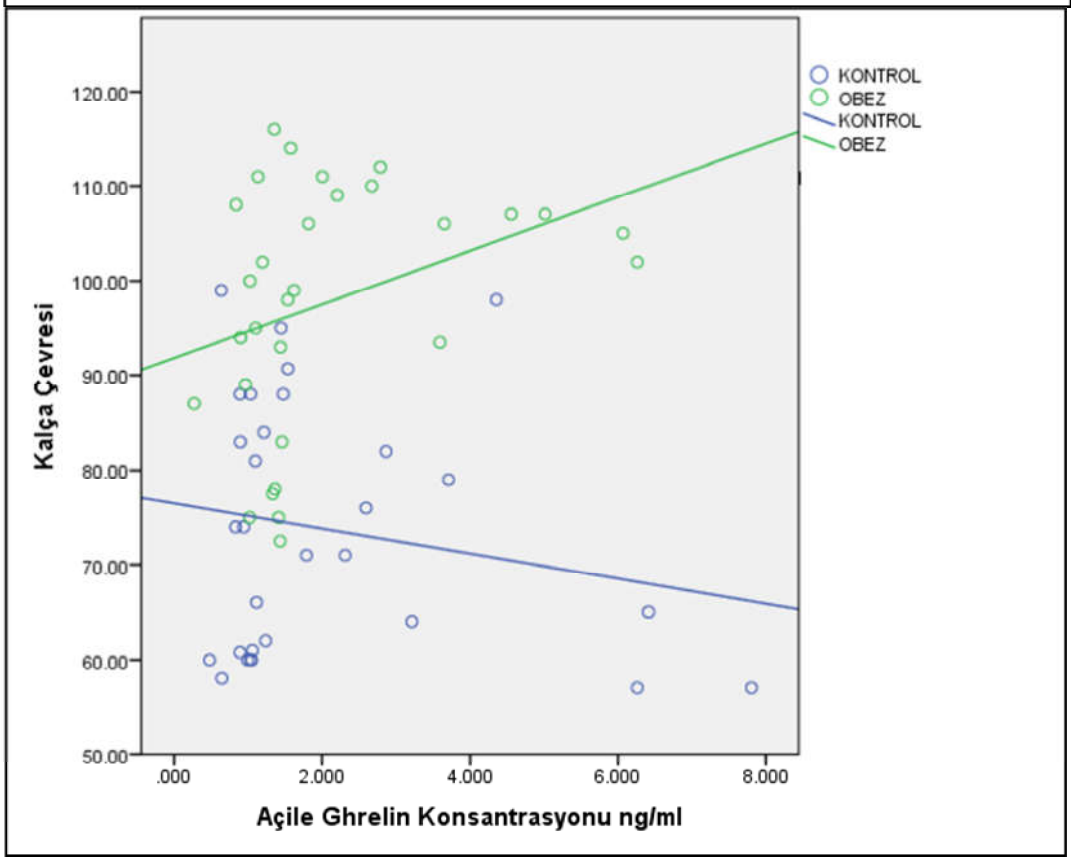
Şekil 4.2-3: Kontrol ve obez grublar arasında antropometrik veriler ile ELISA parametrelerinin korelasyonu.



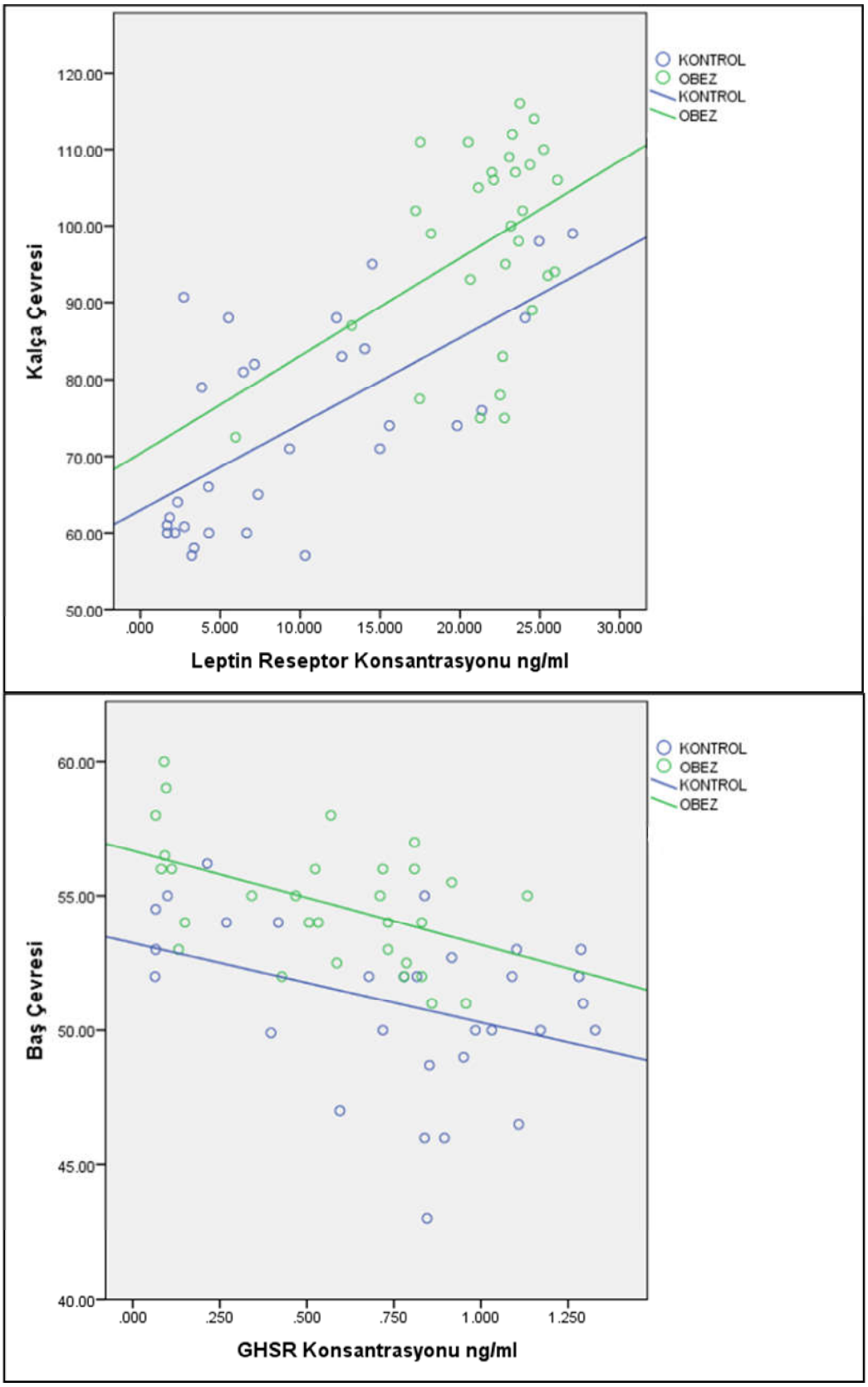


Şekil 4.2-3: Kontrol ve obez grublar arasında antropometrik veriler ile ELISA parametrelerinin korelasyonu (Devam).

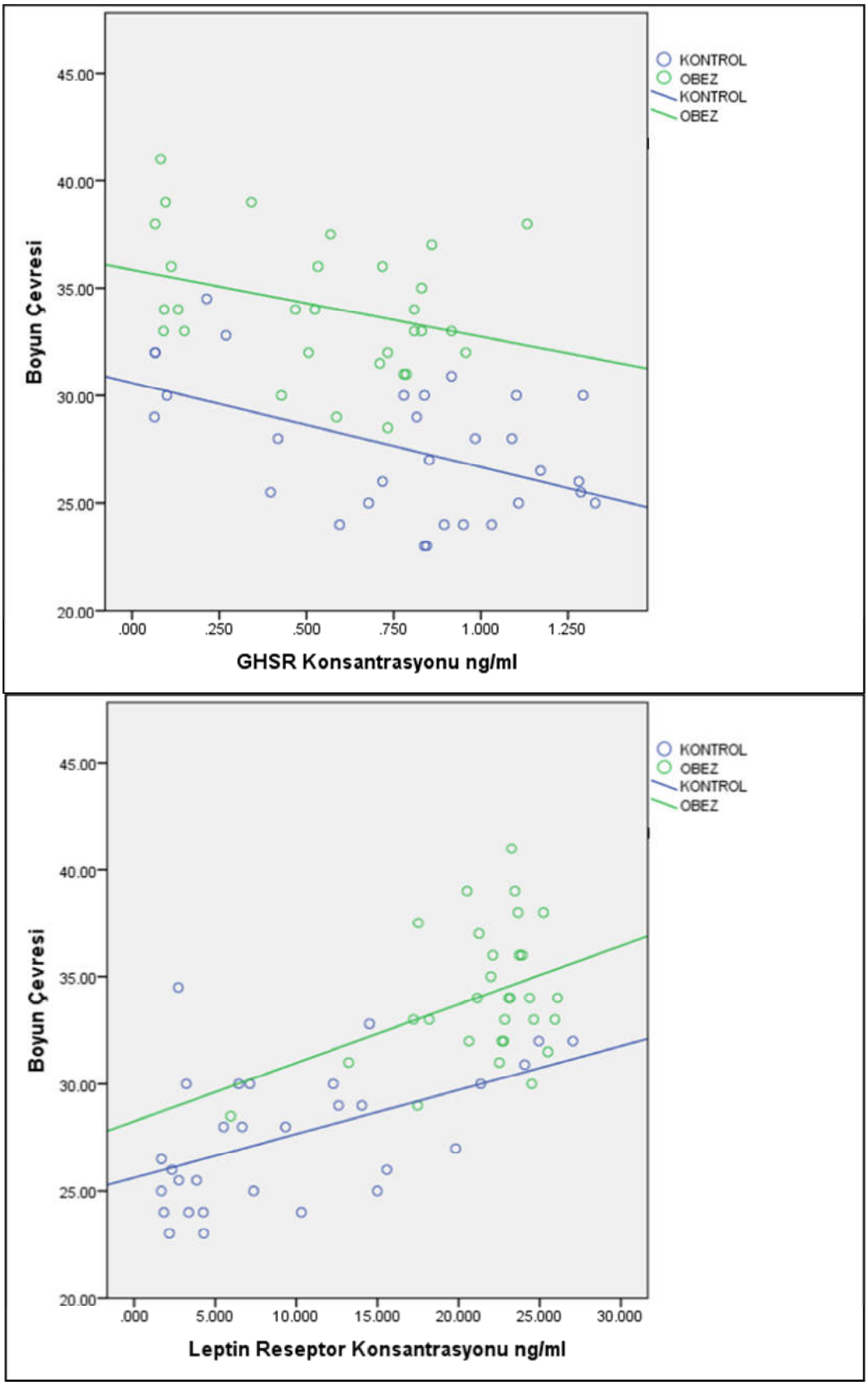




Şekil 4.2-3: Kontrol ve obez grublar arasında antropometrik veriler ile ELISA parametrelerinin korelasyonu (Devam).



Şekil 4.2-3: Kontrol ve obez grublar arasında antropometrik veriler ile ELISA parametrelerinin korelasyonu (Devam).



Şekil 4.2-3: Kontrol ve obez grublar arasında antropometrik veriler ile ELISA parametrelerinin korelasyonu (Devam).

4.3. Biotin Çalışmaları

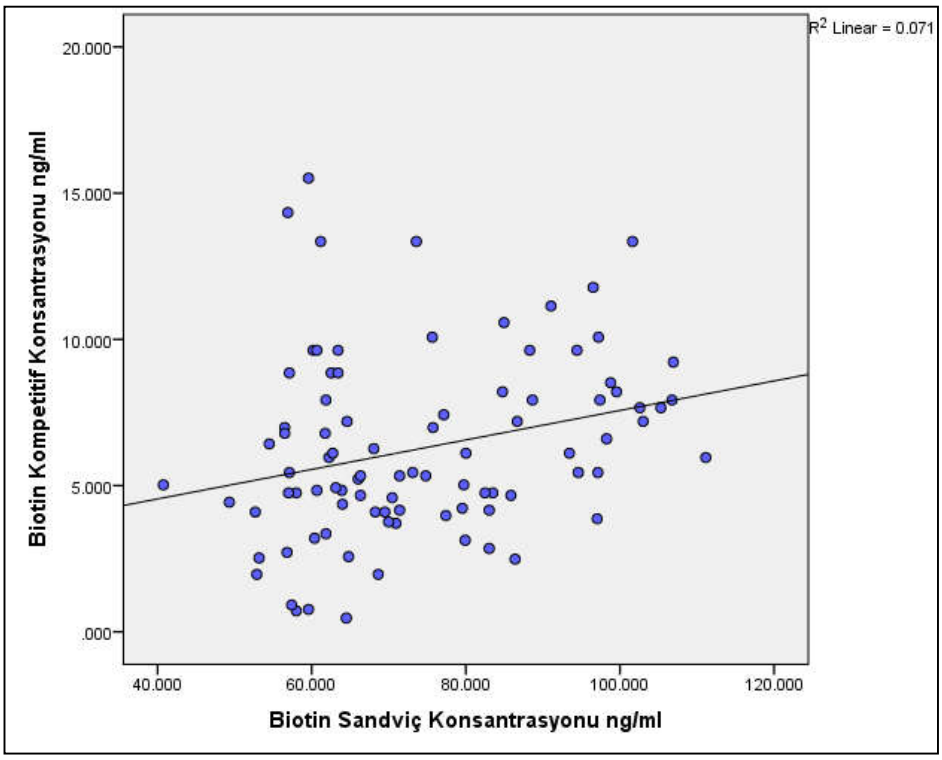
0 (kontrol), 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 1200 ng/ml'lik biotin çalışma çözeltisi içeren serum havuzu örneklerinin biotin konsantrasyonları sadviç ve kompetitif olmak üzere farklı iki ELISA yöntemiyle karşılaştırılmıştır. Tablo 4.3.1'de iki farklı yöntemle çalışılan biotin parametresinin korelasyonu yer almaktadır.

Tablo 4.3-1: İki farklı yöntemle çalışılan biotin parametresinin korelasyonu

Parametreler		Biotin sandviç (ng/ml)	Biotin kompetitif (pg/ml)
Biotin sandviç (ng/ml)	Korelasyon kat sayısı	1,000	0,286**
	p değeri		0,006
	Örnek sayısı	90	90
Biotin kompetitif (ng/ml)	Korelasyon kat sayısı	0,286**	1,000
	p değeri	0,006	
	Örnek sayısı	90	90

** p<0,01

Biotin sandviç ve biotin kompetitif parametreleri arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon vardır (**p<0,01). Şekil 4.3.1'de korelasyon grafiği yer almaktadır.



Şekil 4.3-1: İki farklı yöntemle çalışılan biotin parametresinin korelasyon grafiği.

Sağlıklı kontrol ve obez çocukların kan örneklerinden serum havuzları hazırlanarak yapılan biotin çalışmasında, sandviç ve kompetitif yöntem ile çalışan biotin parametresinin örnek sayısı, medyan, minimum-maksimum ve p değerleri Tablo 4.3.2'de verilmiştir. Yapılan Mann-Whitney U testine göre biotin sandviç parametresinin önemli ölçüde anlamlı biçimde farklı olduğu (***p≤0,001), biotin kompetitif parametresinde ise gruplar arasındaki farklılığın anlamsız olduğu bulunmuştur (p=0,675). Tablo 4.3.3'te İki farklı yöntemle çalışılan biotin parametresinin kontrol ve obez gruplardaki Spearman korelasyonu yer almaktadır. Sağlıklı kontrol ve obez çocukların biotin konsantrasyonlarına ilişkin grafikler Şekil 4.3.2'de verilmiştir.

Tablo 4.3-2: Biotin parametresine ilişkin örnek sayısı, medyan, minimum-maksimum ve p değerleri

Parametreler	Gruplar	Örnek Sayısı	Min.	Max.	Medyan	p değeri
Biotin Sandviç (ng/ml)	Kontrol	45	49,302	111,128	84,945	0,001***
	Obez	45	40,745	88,283	64,484	
Biotin Kompetitif (ng/ml)	Kontrol	45	0,919	13,347	6,107	0,675
	Obez	45	0,472	15,513	5,333	

*p<0,05, ** p<0,01, *** p≤0,001

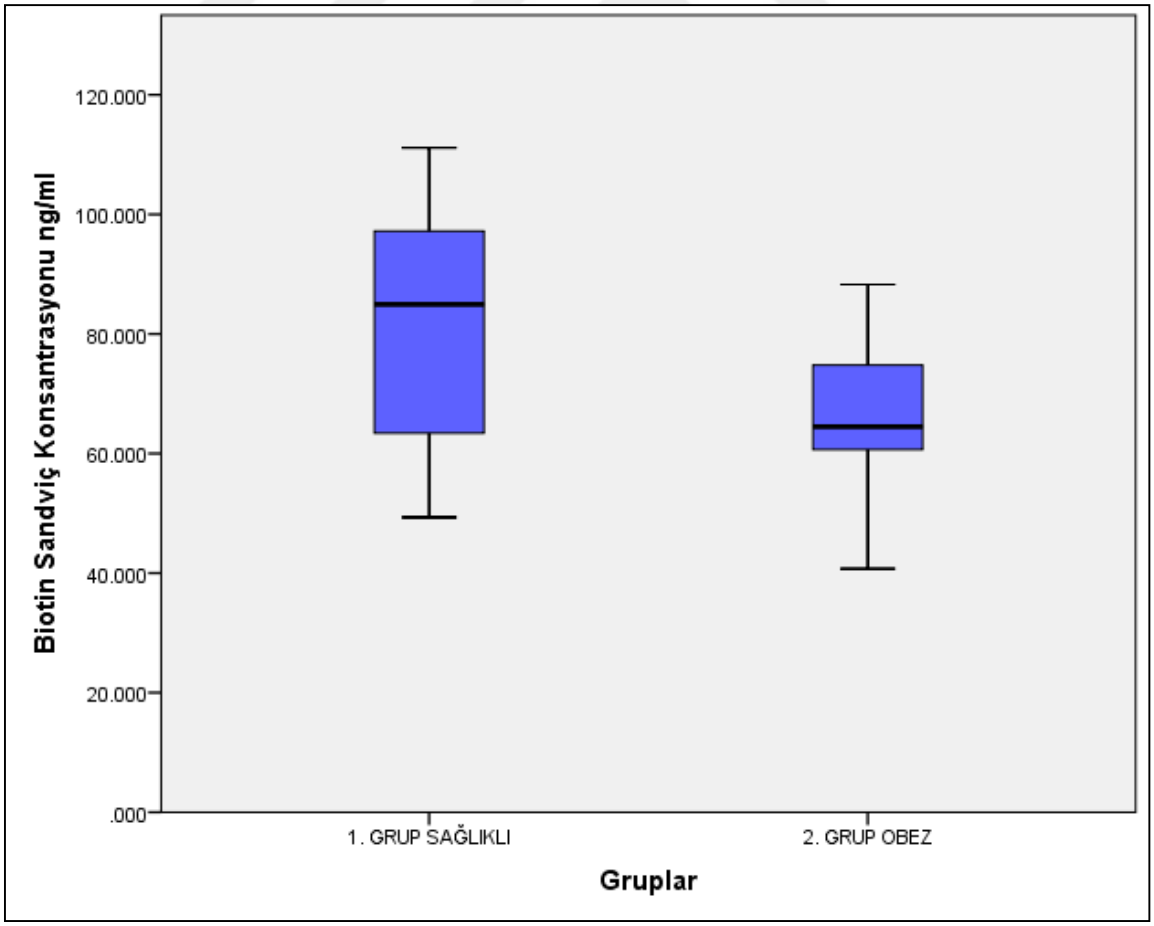
Tablo 4.3-3: İki farklı yöntemle çalışılan biotin parametresinin kontrol ve obez gruplardaki korelasyonu

Parametreler	Gruplar		Biotin sandviç (ng/ml)	Biotin kompetitif (pg/ml)
Biotin sandviç (ng/ml)	**Kontrol**	Korelasyon kat sayısı	1,000	0,572**
		p değeri		0,000
		Örnek sayısı	45	45
	Obez	Korelasyon kat sayısı	1,000	-0,108
		p değeri		0,480
		Örnek sayısı	45	45

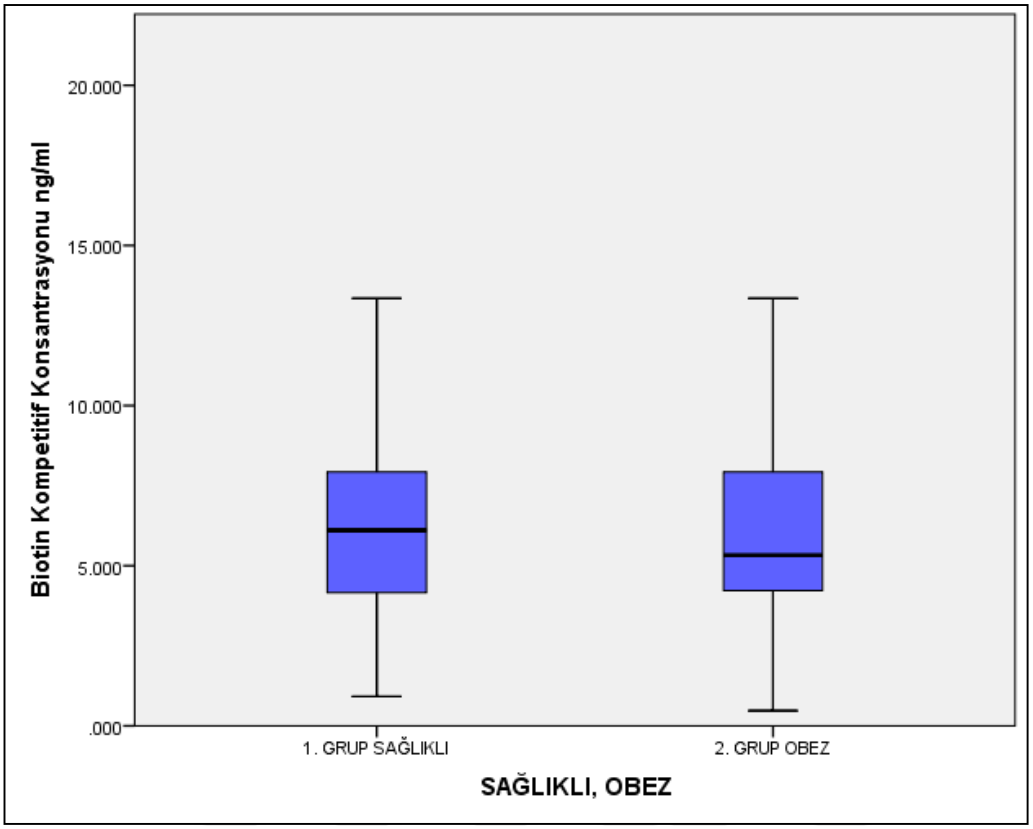
Parametreler	Gruplar		Biotin sandviç (ng/ml)	Biotin kompetitif (pg/ml)
Biotin kompetitif (ng/ml)	**Kontrol**	Korelasyon kat sayısı	0,572**	1,000
		p değeri	0,000	
		Örnek sayısı	45	45
	Obez	Korelasyon kat sayısı	-0,108	1,000
		p değeri	0,480	
		Örnek sayısı	45	45

** p<0,01, ***p<0,001

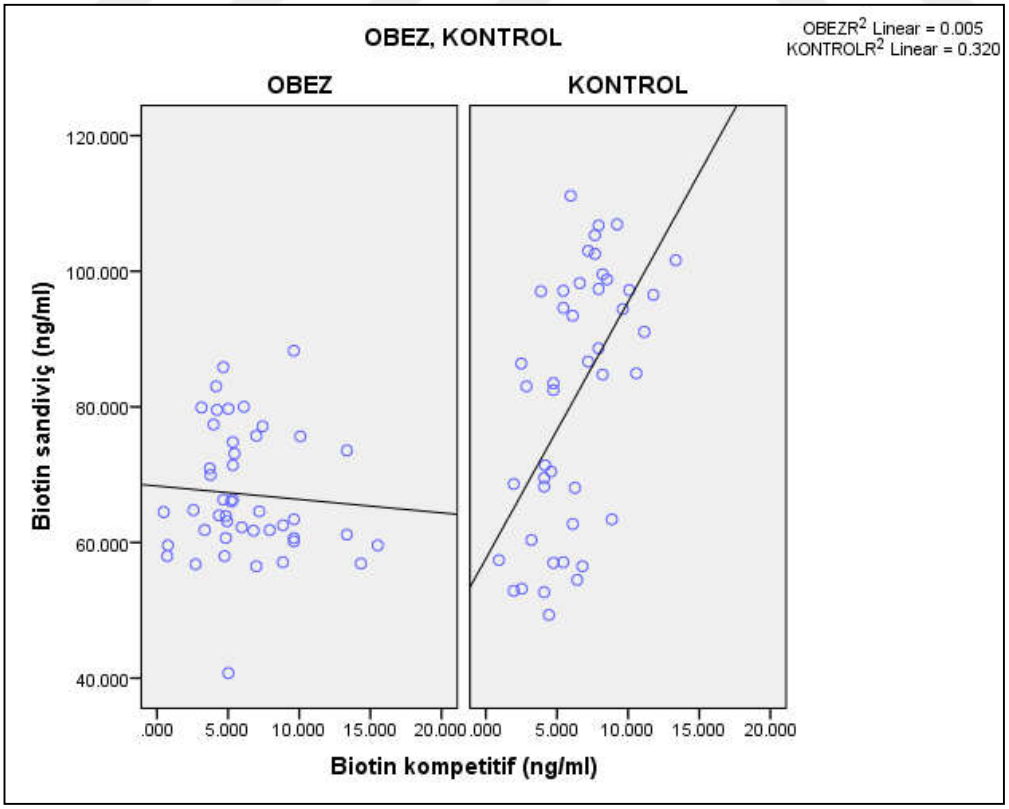
Kontrol grubunda biotin sandviç ve biotin kompetitif parametrelerine ilişkin değerler arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon (***p<0,001) var iken obez grupta herhangi bir korelasyon bulunamamıştır. Şekil 4.3.3'te korelasyon grafikleri yer almaktadır.



Şekil 4.3-2: Sağlıklı kontrol ve obez çocukların biotin konsantrasyonlarına ilişkin grafik.



Şekil 4.3-2: Sağlıklı kontrol ve obez çocukların biotin konsantrasyonlarına ilişkin grafik (Devam).



Şekil 4.3-3: İki farklı yöntemle çalışılan biotin parametresinin obez ve kontrol gruplarındaki korelasyon grafikleri.

Kontrol ve obez grupların eklenen biotin miktarına göre de istatistiksel analizleri yapılmıştır. Bu çalışmaya dair örnek sayısı, medyan ve minimum-maksimum değerleri tablo 4.3.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3-4: Eklenen biotin miktarına göre örnek sayısı, medyan, minimum-maksimum değerleri

Gruplar	Eklenen Biotin miktarı (ng/ml)	Parametreler	Örnek Sayısı	Min.	Max.	Medyan
Obez	0 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	57,993	88,283	66,035
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	4,750	13,347	7,420
	10 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	56,897	79,545	71,400
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	4,224	14,335	5,447
	25 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	60,667	79,914	66,325
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	3,131	13,347	4,837
	50 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	56,797	79,730	61,847
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	0,767	7,194	3,353
	100 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	40,745	85,851	63,900
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	0,472	9,626	4,837
	250 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	63,120	75,734	74,798
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	2,571	10,076	5,333
	500 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	62,239	77,413	66,325
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	3,760	8,853	5,333

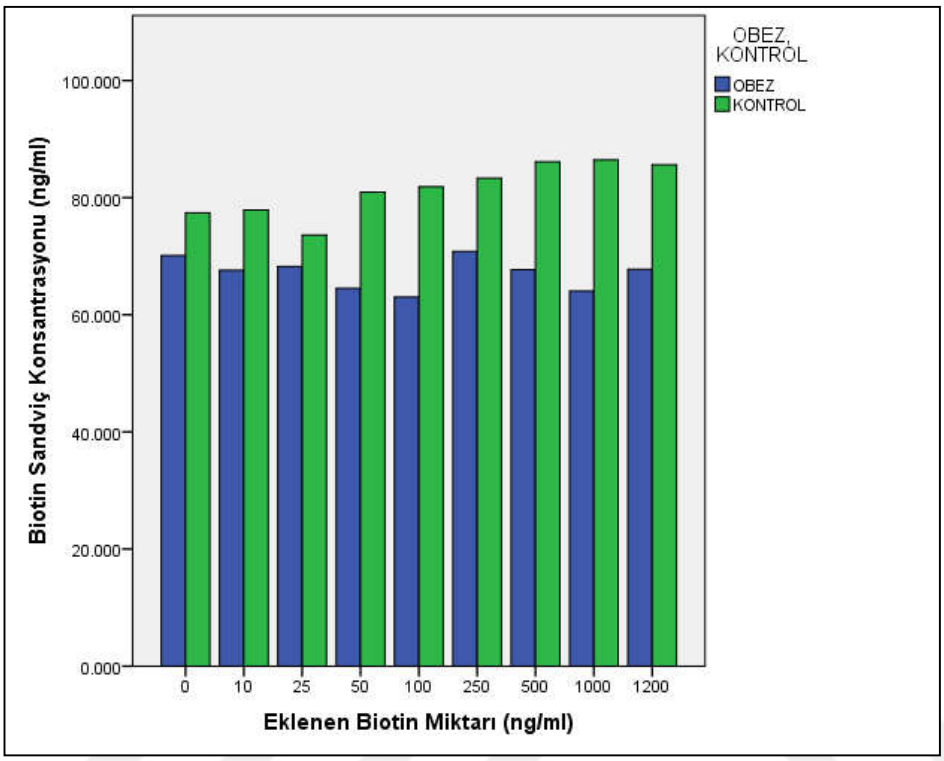
Gruplar	Eklenen Biotin miktarı (ng/ml)	Parametreler	Örnek Sayısı	Min.	Max.	Medyan
Obez	1000 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	56,497	80,006	61,749
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	0,717	6,983	6,107
	1200 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	59,581	83,034	63,413
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	3,710	15,513	7,925
Kontrol	0 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	57,396	98,262	83,034
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	0,919	10,576	6,600
	10 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	56,497	98,783	82,486
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	4,097	8,517	4,749
	25 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	49,302	94,590	84,763
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	1,964	8,209	5,447
	50 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	52,670	99,563	88,642
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	4,097	8,209	6,107
	100 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	57,097	97,217	91,052
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	4,097	11,139	9,626
	250 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	54,489	97,130	96,518
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	3,865	11,776	5,447
	500 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	53,176	106,754	97,391
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	2,526	7,925	7,663

Gruplar	Eklenen Biotin miktarı (ng/ml)	Parametreler	Örnek Sayısı	Min.	Max.	Medyan
Kontrol	1000 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	56,997	106,924	102,579
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	4,750	9,221	7,193
	1200 ng/ml	Biotin Sandviç (ng/ml)	5	60,371	111,128	86,393
		Biotin Kompetitif (ng/ml)	5	1,964	13,347	3,201

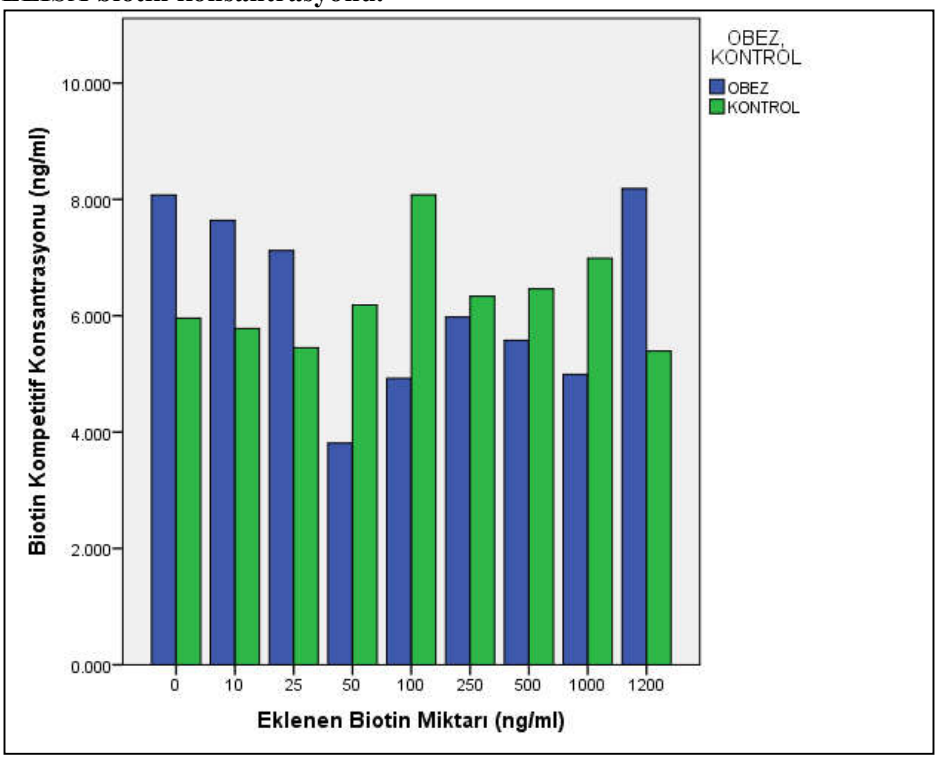
Yapılan istatistiksel analizde biotin sandviç ve biotin kompetitif parametrelerinde eklenen biotin miktarına göre obez ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Obez grupta biotin ilavesi yapılmadan (0 ng/ml) ölçülen biotin sandviç parametresinin konsantrasyonunun medyan değeri 66,035 ng/ml, biotin kompetitif parametresinin konsantrasyonunun medyan değeri ise 7,420 ng/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise biotin ilavesi yapılmadan (0 ng/ml) ölçülen biotin sandviç parametresinin konsantrasyonunun medyan değeri 83,034 ng/ml, biotin kompetitif parametresinin konsantrasyonunun medyan değeri ise 6,600 ng/ml olarak bulunmuştur. Çocuklarda sandviç ELISA yöntemi ile ölçülen biotin konsantrasyonları kompetitif yönteme göre çok daha yüksek tespit edilmiştir. Obez ve kontrol gruplarındaki eklenen biotin miktarına göre sandviç ELISA biotin konsantrasyonu Şekil 4.3.4'te, kompetitif biotin konsantrasyonu ise Şekil 4.3.5'te verilmiştir.

Biotin parametresinin alt gruplarına ilişkin örnek sayısı, medyan, minimum-maksimum ve p değerlerini gösteren Tablo 4.3.5'te verilmiştir. Her iki yöntem ile de yapılan Kruskal Wallis testi sonucunda alt gruplar arasında biotin sandviç önemli ölçüde anlamlı (***$p<0,001$), biotin kompetitif ise anlamlı bulunmuştur (**$p<0,01$). Biotin parametresinin alt grupları arasındaki farklılığı ortaya koymak için *post hoc* test olarak Bonferroni düzeltmeli Mann- Whitney U testi yapılmıştır. Bonferroni düzeltmesi ile p:0,05/5=0,01 olarak bulunmuş ve p değeri $p<0,01$ olan tüm ikili karşılaştırmalar anlamlı kabul edilmiştir. Buna göre yapılan biotin sandviç ve biotin kompetitif analizlerindeki ikili grup karşılaştırmalarının p değerleri Tablo 4.3.6'da verilmiştir. Biotin sandviç parametresinde S1-O1, S2-O2, S3-O3 ve S5-O5 grupları arasında anlamlı bir fark

p<0,01 bulunmuştur. Biotin kompetitif parametresinde ise sadece S2-O2 grupları arasında anlamlı bir fark p<0,01 var iken diğer hiçbir grupta anlamlı bir fark bulunamamıştır.



Şekil 4.3-4: Obez ve kontrol gruplarındaki eklenen biotin miktarına göre sandviç ELISA biotin konsantrasyonu.



Şekil 4.3-5: Obez ve kontrol gruplarındaki eklenen biotin miktarına göre kompetitif ELISA biotin konsantrasyonu.

Tablo 4.3-5: Biotin parametresinin alt gruplarına ilişkin örnek sayısı, medyan, minimum-maksimum ve p değerleri

Parametreler	Gruplar	Örnek sayısı	Min.	Max.	Medyan	p değeri
Biotin sandviç (ng/ml)	Obez1 (O1)	9	75,734	88,283	79,914	
	Obez2 (O2)	9	61,847	74,798	66,325	
	Obez3 (O3)	9	59,581	77,134	62,239	
	Obez4 (O4)	9	40,745	75,641	60,667	
	Obez5 (O5)	9	57,097	66,325	60,667	
	Sağlikli1 (S1)	9	83,034	111,128	94,414	
	Sağlikli2 (S2)	9	82,486	105,312	97,217	
	Sağlikli3 (S3)	9	84,763	106,924	97,042	
	Sağlikli4 (S4)	9	52,872	71,400	68,251	
	Sağlikli5 (S5)	9	49,302	60,371	56,497	
	Toplam	90	40,745	111,128	70,211	0,000***
Biotin kompetitif (ng/ml)	Obez1 (O1)	9	3,131	9,626	4,665	
	Obez2 (O2)	9	3,354	5,334	4,665	
	Obez3 (O3)	9	0,767	13,347	6,785	
	Obez4 (O4)	9	2,716	14,335	8,852	
	Obez5 (O5)	9	0,472	15,513	5,333	
	Sağlikli1 (S1)	9	2,850	11,776	7,193	
	Sağlikli2 (S2)	9	4,750	13,347	6,600	
	Sağlikli3 (S3)	9	2,483	11,139	8,208	
	Sağlikli4 (S4)	9	1,964	8,853	4,159	
	Sağlikli5 (S5)	9	0,919	6,786	4,432	
	Toplam	90	0,472	15,513	5,447	0,008**

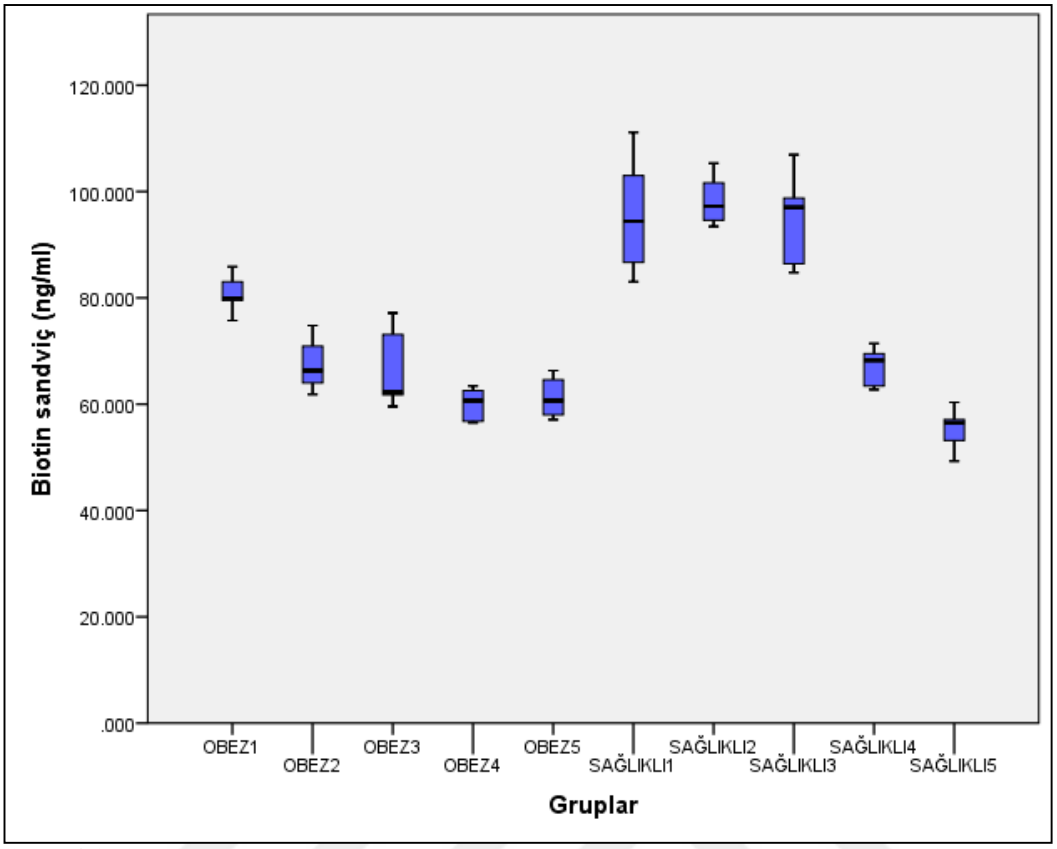
**p<0,01, ***p<0,001

Tablo 4.3-6: Biotin parametresinin alt gruplarına ilişkin 2'li grup karşılaştırmalarının örnek sayısı ve p değerleri (*post hoc* test olarak Bonferroni düzeltmeli Mann- Whitney U testi)

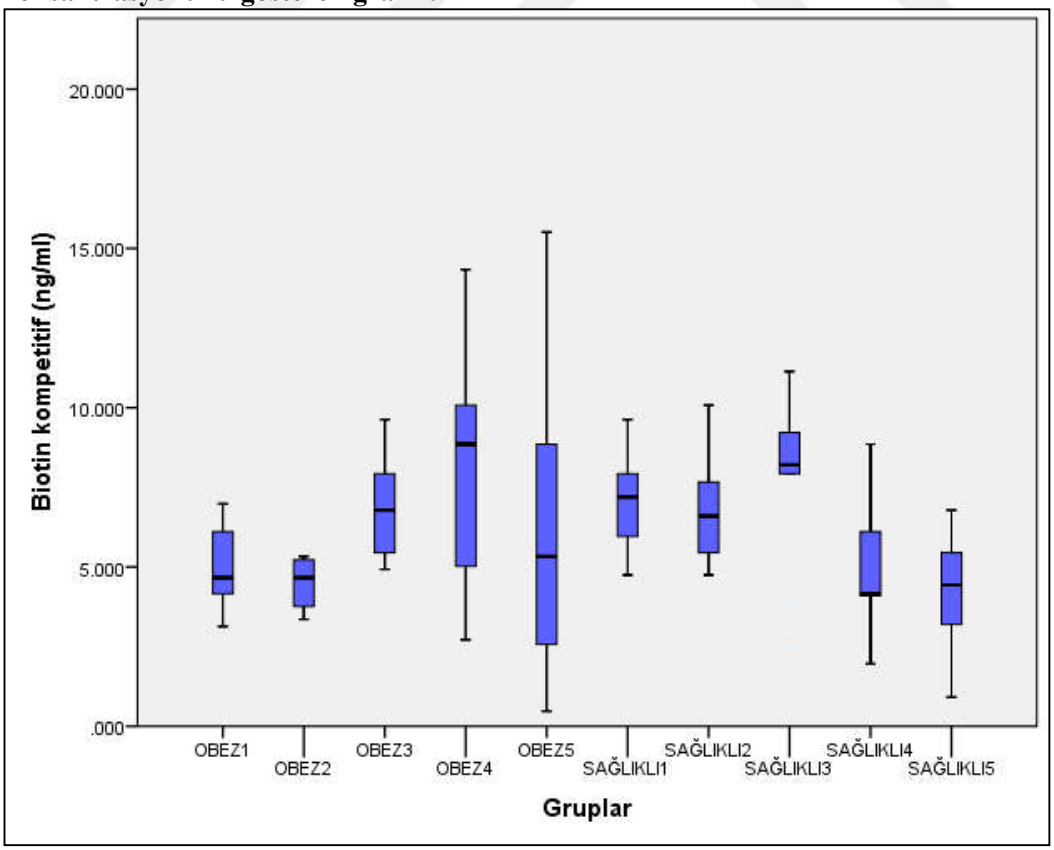
Parametreler	Gruplar	Örnek sayısı	p değeri
Biotin sandviç (ng/ml)	Obez1 (O1)	9	0,002
	Sağlikli1 (S1)	9	
	Obez2 (O2)	9	0,000
	Sağlikli2 (S2)	9	
	Obez3 (O3)	9	0,000
	Sağlikli3 (S3)	9	
	Obez4 (O4)	9	0,042
	Sağlikli4 (S4)	9	
	Obez5 (O5)	9	0,002
	Sağlikli5 (S5)	9	
Biotin kompetitif (ng/ml)	Obez1 (O1)	9	0,077
	Sağlikli1 (S1)	9	
	Obez2 (O2)	9	0,001
	Sağlikli2 (S2)	9	
	Obez3 (O3)	9	0,289
	Sağlikli3 (S3)	9	
	Obez4 (O4)	9	0,021
	Sağlikli4 (S4)	9	
	Obez5 (O5)	9	0,427
	Sağlikli5 (S5)	9	

$p<0,01$

Biotin sandviç parametresinin obez ve sağlıklı gruplardaki biotin konsantrasyonunu gösteren grafik Şekil 4.3.6'da yer almaktadır. Biotin kompetitif parametresinin obez ve sağlıklı gruplardaki biotin konsantrasyonunu gösteren grafik ise Şekil 4.3.7'de yer almaktadır.



Şekil 4.3-6: Biotin sandviç parametresinin obez ve sağlıklı gruplardaki biotin konsantrasyonunu gösteren grafik.



Şekil 4.3-7: Biotin kompetitif parametresinin obez ve sağlıklı gruplardaki biotin konsantrasyonunu gösteren grafik.

10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin manuel ELISA yöntemi ile çalışan NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 araştırma kitleri üzerinde yarattığı interferans etkisini belirlemek için yapılan analize ilişkin örnek sayısı, medyan, ortalama ± standart sapma, minimum-maksimum ve p değerleri Tablo 4.3.7 ve Tablo 4.3.8'de verilmiştir.

Tablo 4.3-7: Biotinin, ELISA araştırma kitleri üzerinde yarattığı interferans etkisini belirlemek için yapılan analize ilişkin örnek sayısı, medyan, minimum-maksimum ve p değerleri

Gruplar	Sağlıklı				Obez				p değeri
Parametreler	Örnek sayısı	Min.	Max.	Medyan	Örnek sayısı	Min.	Max.	Medyan	
Açile Grelin (ng/ml)	12	1,483	6,684	3,601	16	0,956	3,424	1,361	0,000***
Deaçile Grelin (ng/L)	12	28,955	84,730	66,261	16	28,615	35,971	30,186	0,006**
Grelin (ng/ml)	12	0,909	2,421	2,124	16	0,578	0,786	0,687	0,000***
Grelin Kompetitif (ng/ml)	12	1,092	3,697	1,646	16	0,387	1,413	0,925	0,000***
IL-18 (pg/ml)	12	52,066	121,187	61,058	16	21,394	161,419	97,676	0,007**
Leptin (ng/ml)	12	0,682	1,113	0,903	16	6,253	10,562	7,881	0,000***
NLRP3 (ng/ml)	12	0,045	0,723	0,158	16	0,045	0,498	0,299	0,054
PPAR γ (ng/ml)	12	0,149	0,262	0,206	16	0,131	0,591	0,238	0,057

Gruplar	Sağlıklı				Obez				p değeri
Parametreler	Örnek sayısı	Min.	Max.	Medyan	Örnek sayısı	Min.	Max.	Medyan	
Preptin (pg/ml)	12	68,279	249,266	87,403	16	85,847	576,699	153,049	0,005**

*p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

Tablo 4.3-8: Biotinin, ELISA araştırma kitleri üzerinde yarattığı interferans etkisini belirlemek için yapılan analize ilişkin örnek sayısı, ortalama ± standart sapma, minimum-maksimum ve p değerleri

Gruplar	Sağlıklı				Obez				p değeri
Parametreler	Örnek sayısı	Min.	Max.	Ort ± SS	Örnek sayısı	Min.	Max.	Ort ± SS	
GHSR (ng/ml)	12	0,477	0,816	0,694±0,119	16	0,307	0,964	0,557±0,167	0,023*
KISS1 Sandviç (pg/ml)	12	994,437	2675,417	1640,555±546,061	16	1222,761	4769,238	2454,951±1040,355	0,013*
KISS1 Kompetitif (pg/ml)	12	66,066	120,420	89,016±16,421	16	54,993	154,459	118,938±26,149	0,002**
KISS1R (ng/ml)	12	3,316	5,691	4,541±0,878	16	2,819	7,503	4,441±1,299	0,821
LEPR (ng/ml)	12	6,364	12,161	8,858±1,669	16	19,178	25,655	23,098±1,863	0,000***

*p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

Yapılan istatistikler sonucunda sağlıklı ve obez gruplar arasındaki farklar leptin, LEPR, grelin, grelin kompetitif, açile grelin parametreleri için önemli derecede anlamlı (***p<0,001), deaçile grelin, KISS1 kompetitif, preptin, IL-18 parametreleri için (**p<0,01) ve KISS1 sandviç ve GHSR için ise anlamlı (*p<0,05) bulunmuştur. Grupların KISS1R, NLRP3 ve PPAR γ parametreleri arasındaki farklılıklar ise anlamlı değildir.

NLRP3, leptin, grelin, grelin kompetitif, açile grelin, deaçile grelin, preptin, PPAR γ, IL-18 parametrelerine ilişkin korelasyon değerleri Tablo

4.3.9'da GHSR, KISS1 sandviç, KISS1 kompetitif, KISS1R, LEPR parametrelerine ilişkin korelasyon değerleri ise Tablo 4.3.10'da verilmiştir.

Tablo 4.3.9'a göre sağlıklı grupta deaçile grelin ile preptin arasında negatif yönde (*p<0,05), grelin ile grelin kompetitif arasında negatif yönde (*p<0,05), grelin kompetitif ve leptin arasında pozitif yönde (***p<0,001), leptin ve NLRP3 arasında pozitif yönde (*p<0,05) anlamlı bir korelasyonlar olduğu gösterilmiştir.

Obez grupta ise açile grelin ile PPAR γ arasında negatif yönde (*p<0,05), deaçile grelin ile preptin arasında negatif yönde (***p<0,001), grelin ve grelin kompetitif arasında negatif yönde (*p<0,05), grelin kompetitif ile IL-18 ve NLRP3 arasında negatif yönde (**p<0,01), yine grelin kompetitif ile leptin ve PPAR γ arasında pozitif yönde (*p<0,05 ve **p<0,01), IL-18 ve leptin arasında negatif yönde (**p<0,01), IL-18 ve NLRP3 arasında pozitif yönde (**p<0,01), PPAR γ ve NLRP3 arasında negatif yönde (*p<0,05) anlamlı korelasyonlar olduğu gösterilmiştir.

Tablo 4.3.10'a göre sağlıklı grupta GHSR ile KISS1 sandviç arasında negatif yönde (*p<0,01), yine GHSR ile KISS1 kompetitif ve KISS1R arasında pozitif yönde (*p<0,05 ve ***p≤0,001), KISS1 sandviç ile KISS1 kompetitif (**p<0,01), KISS1 sandviç ile KISS1R (***p<0,001) ve LEPR arasında negatif yönde (*p<0,05), KISS1R ve LEPR arasında pozitif yönde (*p<0,05) anlamlı bir korelasyon vardır. Obez grupta KISS1 sandviç ile KISS1 kompetitif arasında pozitif yönde (*p<0,05), KISS1 kompetitif ile KISS1R arasında negatif yönde (**p<0,01), KISS1R ile LEPR arasında negatif yönde (*p<0,05) anlamlı bir korelasyon vardır.

Sağlıklı ve obez gruplarda biotinin manuel ELISA yöntemi ile çalışan NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 araştırma kitleri üzerinde yarattığı interferans etkisini belirlemek için yapılan analize göre ELISA parametrelerinin birbirleriyle olan korelasyonlarını gösteren grafikler Şekil 4.3.8'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3-9: NLRP3, leptin, grelin, grelin kompetitif, açile grelin, deaçile grelin, preptin, PPAR γ, IL-18 parametrelerine ilişkin korelasyon değerleri

Gruplar	Parametreler		Açile Grelin (ng/ml)	Deaçile Grelin (ng/L)	Grelin (ng/ml)	Grelin Kompetitif (ng/ml)	IL-18 (pg/ml)	Leptin (ng/ml)	NLRP3 (ng/ml)	PPAR γ (ng/ml)	Preptin (pg/ml)
Sağlıklı	Deaçile Grelin (ng/L)	Korelasyon katsayısı	0,531	1,000	0,287	0,140	0,280	0,434	0,326	0,063	-0,629*
		p değeri	0,075		0,366	0,665	0,378	0,158	0,301	0,846	0,028
		Örnek sayısı	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Grelin (ng/ml)	Korelasyon katsayısı	0,266	0,287	1,000	-0,643*	-0,074	-0,494	-0,519	-0,091	-0,469
		p değeri	0,404	0,366		0,024	0,820	0,103	0,084	0,779	0,124
		Örnek sayısı	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Grelin Kompetitif (ng/ml)	Korelasyon katsayısı	0,147	0,140	-0,643*	1,000	0,158	0,834**	0,404	-0,301	0,182
		p değeri	0,649	0,665	0,024		0,625	0,001	0,193	0,342	0,572
		Örnek sayısı	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Leptin (ng/ml)	Korelasyon katsayısı	0,028	0,434	-0,494	0,834**	0,091	10,000	0,643*	-0,161	-0,032
		p değeri	0,931	0,158	0,103	0,001	0,778		0,024	0,617	0,923
		Örnek sayısı	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Sağlıklı	**NLRP3 (ng/ml)**	**Korelasyon katsayısı**	-0,151	0,326	-0,519	0,404	-0,079	0,643*	1,000	-0,053	-0,021
		p değeri	0,640	0,301	0,084	0,193	0,807	0,024		0,871	0,948
		Örnek sayısı	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Preptin (pg/ml)	**Korelasyon katsayısı**	-0,252	-0,629*	-0,469	0,182	-0,508	-0,032	-0,021	-0,252	1,000
		p değeri	0,430	0,028	0,124	0,572	0,092	0,923	0,948	0,430	
		Örnek sayısı	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Obez	**Açile Grelin (ng/ml)**	**Korelasyon katsayısı**	1,000	-0,109	0,296	-0,379	0,344	-0,415	0,459	-0,615*	-0,029
		p değeri		0,688	0,266	0,147	0,192	0,110	0,074	0,011	0,914
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16	16	16	16	16
	Deaçile Grelin (ng/L)	**Korelasyon katsayısı**	-0,109	1,000	0,393	-0,350	0,268	-0,047	0,215	-0,006	-0,741**
		p değeri	0,688		0,132	0,184	0,316	0,863	0,425	0,983	0,001
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16	16	16	16	16
Obez	**Grelin (ng/ml)**	**Korelasyon katsayısı**	0,296	0,393	10,000	-0,556*	0,215	-0,377	0,468	-0,233	-0,200
		p değeri	0,266	0,132		0,025	0,424	0,150	0,068	0,386	0,457

		Örnek sayısı	16	16	16	16	16	16	16	16	16
	Grelin Kompetitif (ng/ml)	**Korelasyon katsayısı**	-0,379	-0,350	-0,556*	1,000	-0,729**	0,576*	-0,765**	0,656**	0,129
		p değeri	0,147	0,184	0,025		0,001	0,019	0,001	0,006	0,633
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16	16	16	16	16
	IL-18 (pg/ml)	**Korelasyon katsayısı**	0,344	0,268	0,215	-0,729**	1,000	-0,685**	0,685**	-0,482	-0,162
		p değeri	0,192	0,316	0,424	0,001		0,003	0,003	0,058	0,549
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16	16	16	16	16
	Leptin (ng/ml)	**Korelasyon katsayısı**	-0,415	-0,047	-0,377	0,576*	-0,685**	1,000	-0,806**	0,426	-0,115
		p değeri	0,110	0,863	0,150	0,019	0,003		0,000	0,099	0,672
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16	16	16	16	16
Obez	**NLRP3 (ng/ml)**	**Korelasyon katsayısı**	0,459	0,215	0,468	-0,765**	0,685**	-0,806**	1,000	-0,606*	-0,094
		p değeri	0,074	0,425	0,068	0,001	0,003	0,000		0,013	0,729
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16	16	16	16	16
	PPAR γ (ng/ml)	**Korelasyon katsayısı**	-0,615*	-0,006	-0,233	0,656**	-0,482	0,426	-0,606*	1,000	-0,150

		p değeri	0,011	0,983	0,386	0,006	0,058	0,099	0,013	0,579
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16	16	16	16	16
	Preptin (pg/ml)	**Korelasyon katsayısı**	-0,029	-0,741**	-0,200	0,129	-0,162	-0,115	-0,094	-0,150	1,000
		p değeri	0,914	0,001	0,457	0,633	0,549	0,672	0,729	0,579	
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16	16	16	16	16

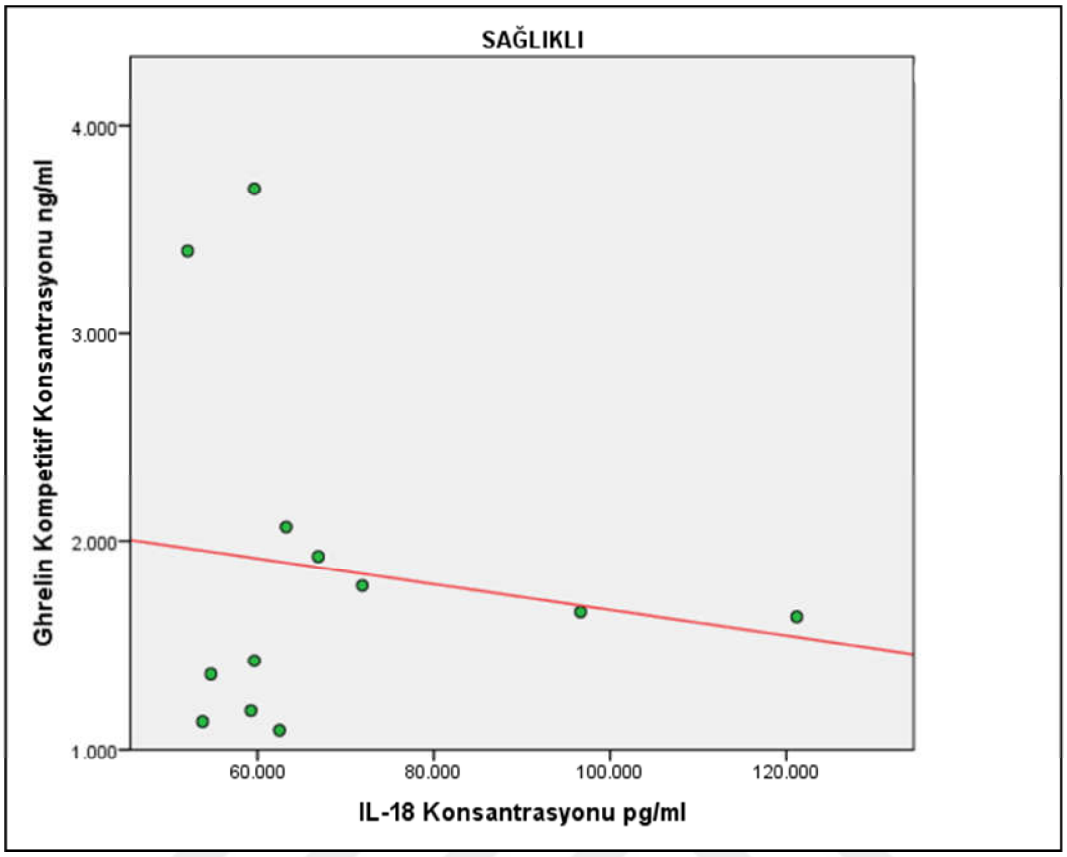
*p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

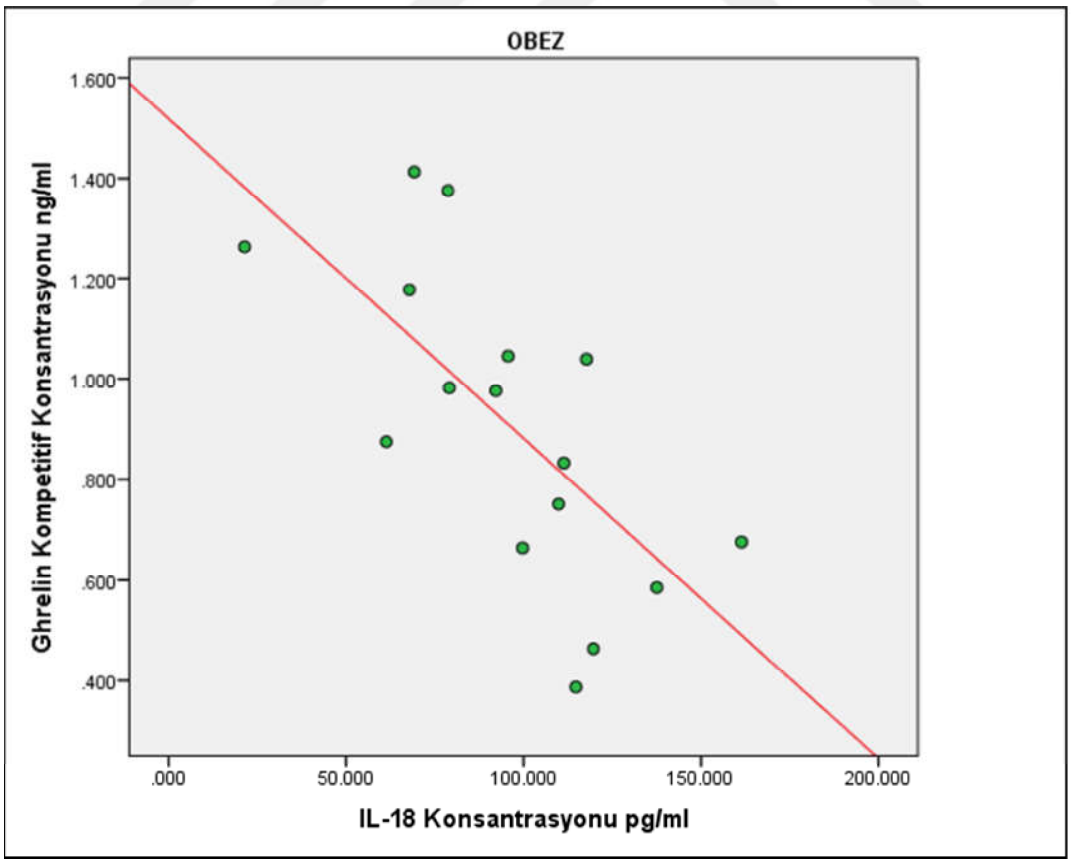
Tablo 4.3-10: GHSR, KISS1 sandviç, KISS1 kompetitif, KISS1R, LEPR parametrelerine ilişkin korelasyon değerleri

Gruplar	Parametreler		GHSR (ng/ml)	KISS1 Sandviç (pg/ml)	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	KISS1R (ng/ml)	LEPR (ng/ml)
Sağlıklı	GHSR (ng/ml)	Korelasyon katsayısı	1	-0,799**	0,641*	0,814**	0,475
		p değeri		0,002	0,025	0,001	0,119
		Örnek sayısı	12	12	12	12	12
	KISS1 Sandviç (pg/ml)	Korelasyon katsayısı	-0,799**	1	-0,775**	-0,950**	-0,700*
		p değeri	0,002		0,003	0,000	0,011
		Örnek sayısı	12	12	12	12	12
	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	Korelasyon katsayısı	0,641*	-0,775**	1	0,701*	0,542
		p değeri	0,025	0,003		0,011	0,069
		Örnek sayısı	12	12	12	12	12
	KISS1R (ng/ml)	Korelasyon katsayısı	0,814**	-0,950**	0,701*	1	0,644*
		p değeri	0,001	0,000	0,011		0,024
		Örnek sayısı	12	12	12	12	12
	LEPR (ng/ml)	Korelasyon katsayısı	0,475	-0,700*	0,542	0,644*	1
		p değeri	0,119	0,011	0,069	0,024	
		Örnek sayısı	12	12	12	12	12

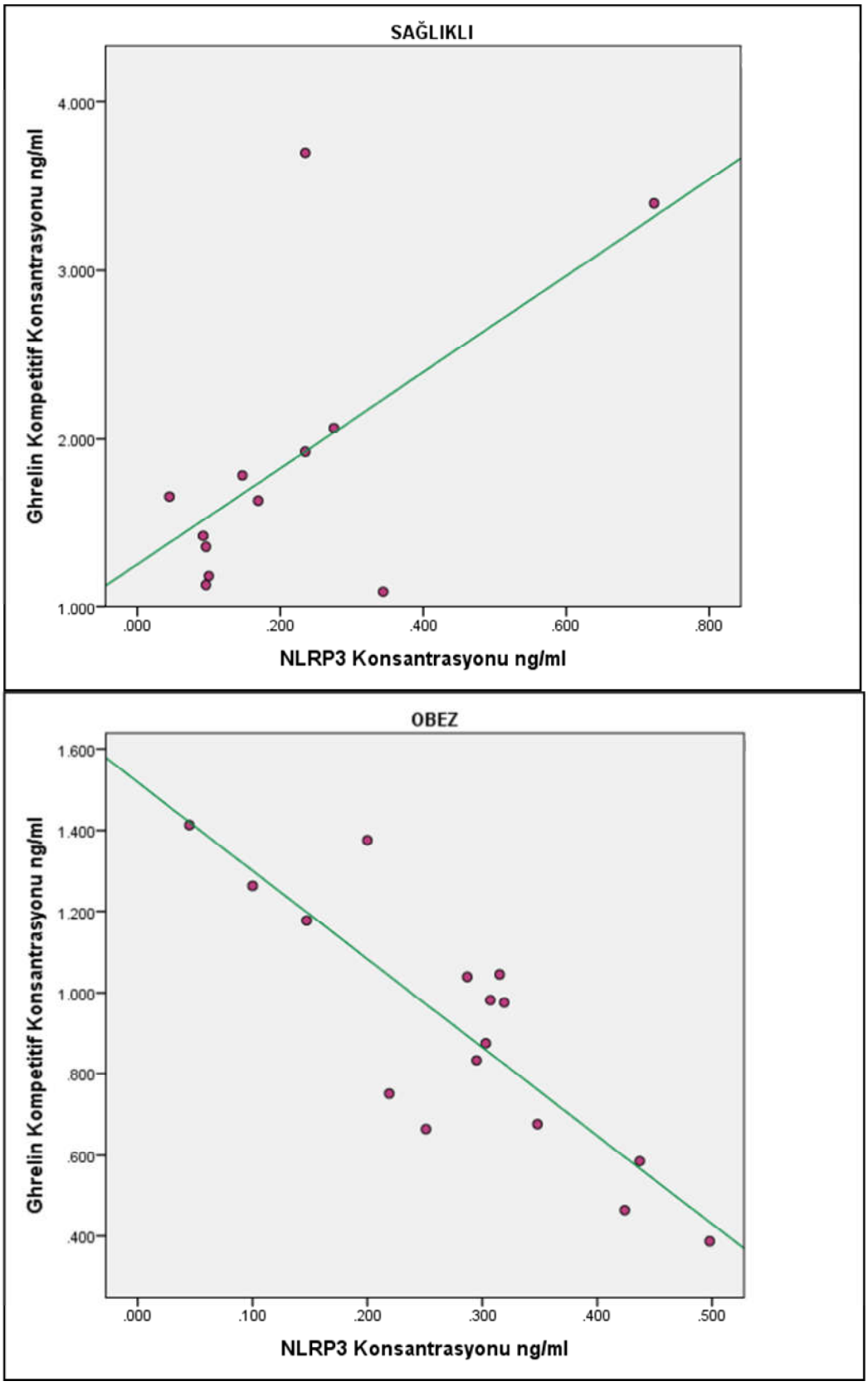
Gruplar	Parametreler		GHSR (ng/ml)	KISS1 Sandviç (pg/ml)	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	KISS1R (ng/ml)	LEPR (ng/ml)
Obez	**GHSR (ng/ml)**	**Korelasyon katsayısı**	1	0,458	0,059	0,159	-0,119
		p değeri		0,074	0,828	0,556	0,661
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16
	KISS1 Sandviç (pg/ml)	**Korelasyon katsayısı**	0,458	1	0,590*	-0,201	0,102
		p değeri	0,074		0,016	0,455	0,706
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16
	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	**Korelasyon katsayısı**	0,059	0,590*	1	-0,689**	0,422
		p değeri	0,828	0,016		0,003	0,104
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16
	KISS1R (ng/ml)	**Korelasyon katsayısı**	0,159	-0,201	-0,689**	1	-0,505*
		p değeri	0,556	0,455	0,003		0,046
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16
	LEPR (ng/ml)	**Korelasyon katsayısı**	-0,119	0,102	0,422	-0,505*	1
		p değeri	0,661	0,706	0,104	0,046	
		Örnek sayısı	16	16	16	16	16

*p<0,05, ** p<,01, *** p<0,001

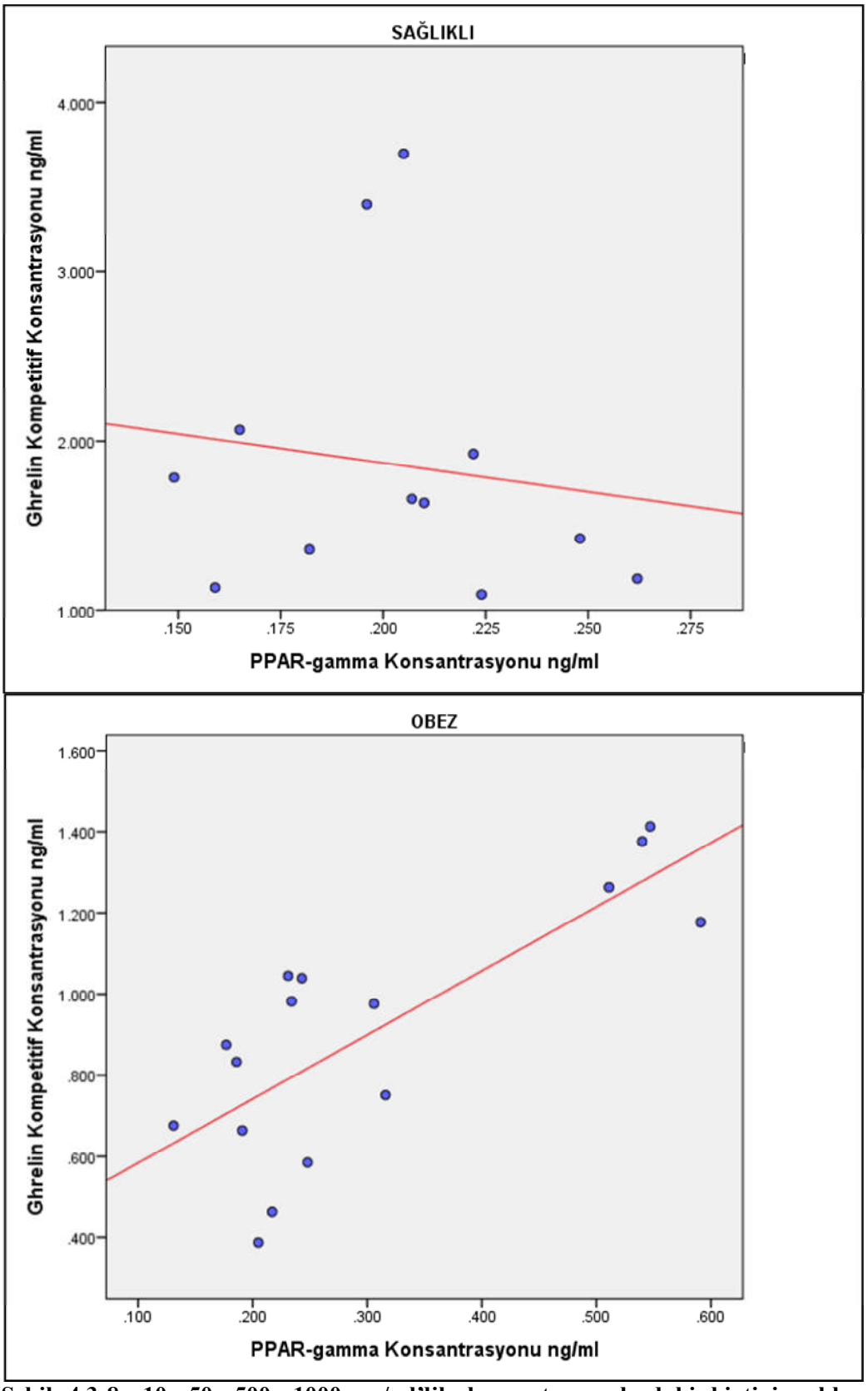




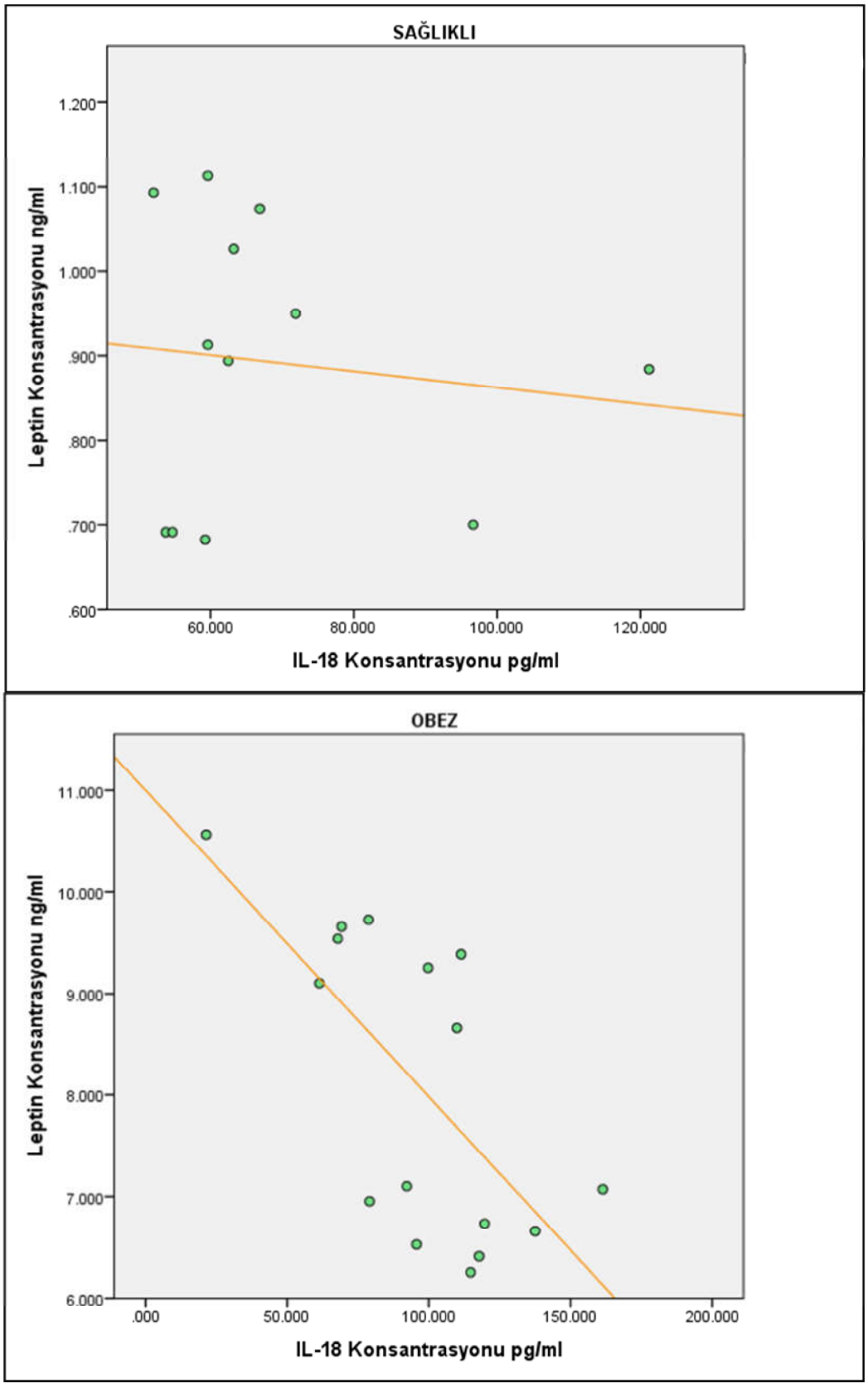
Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları.



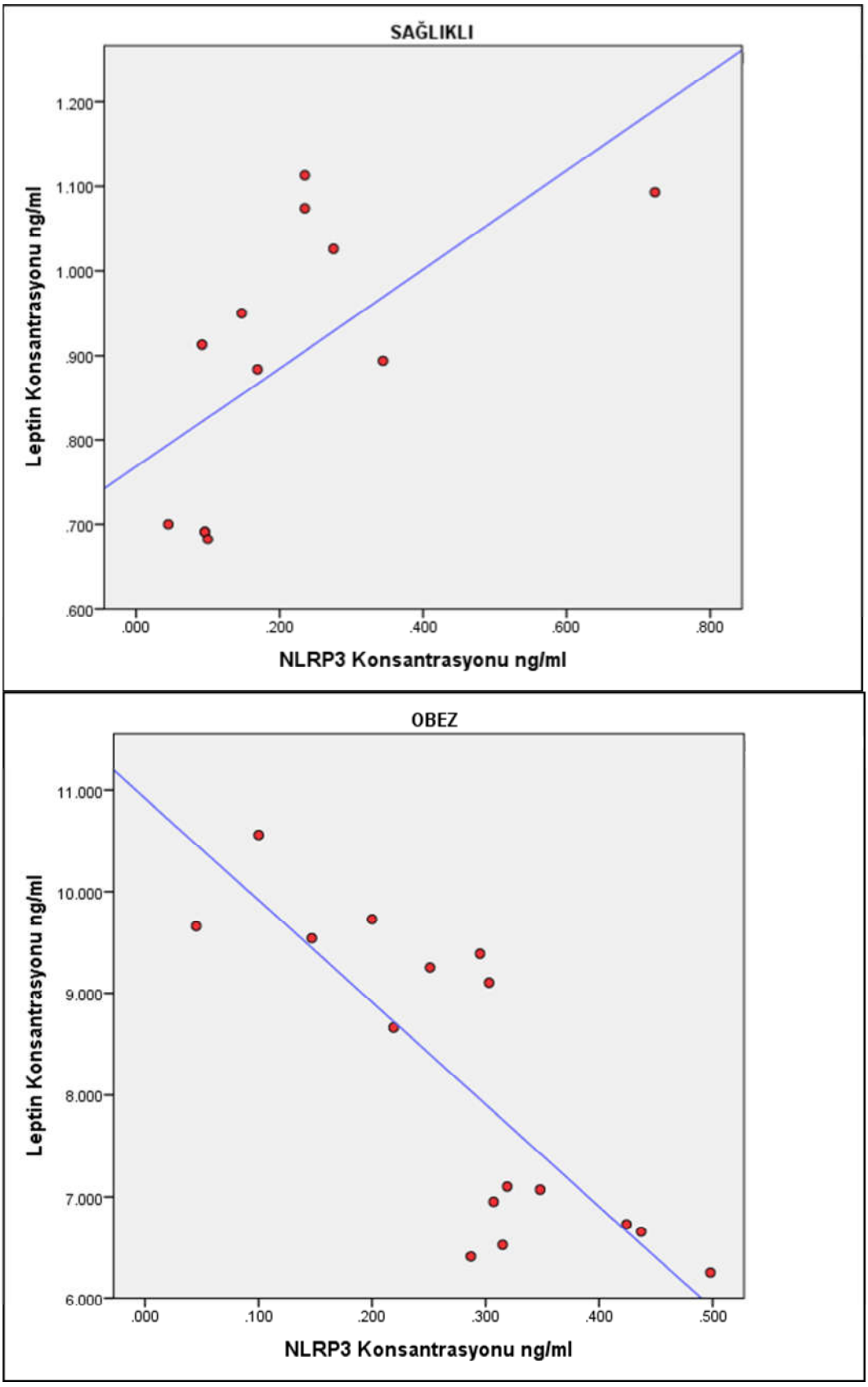
Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).



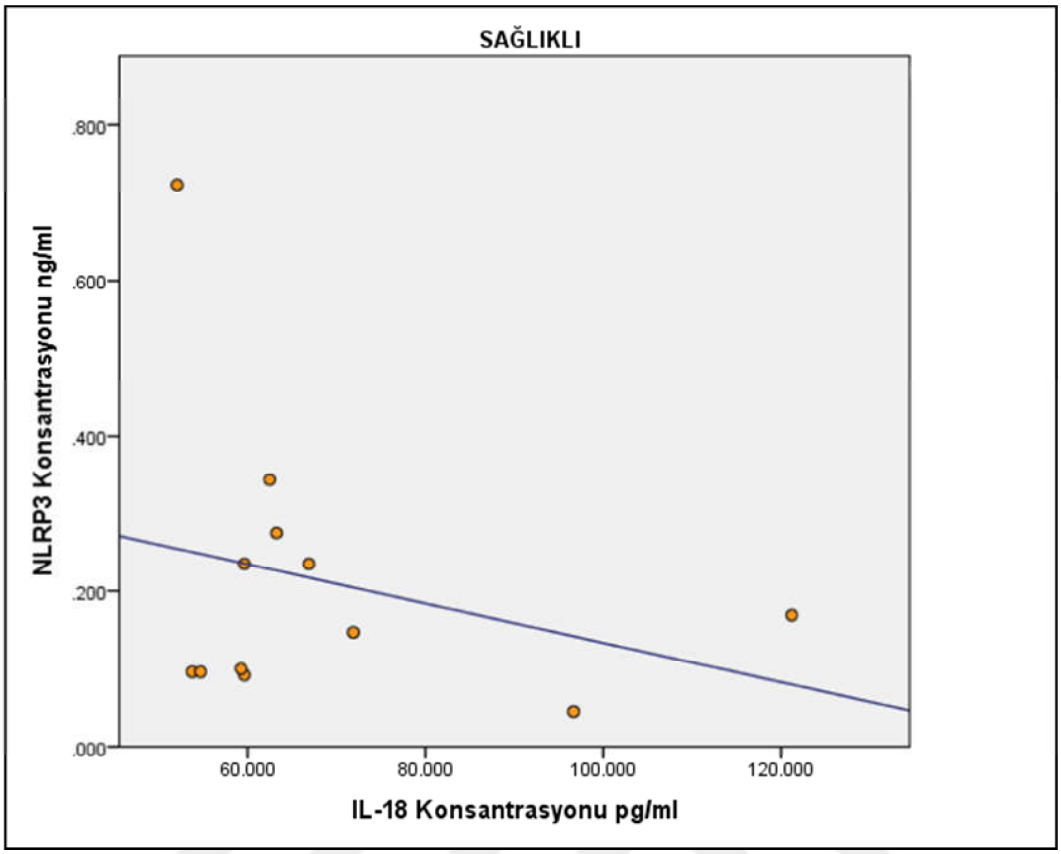
Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).

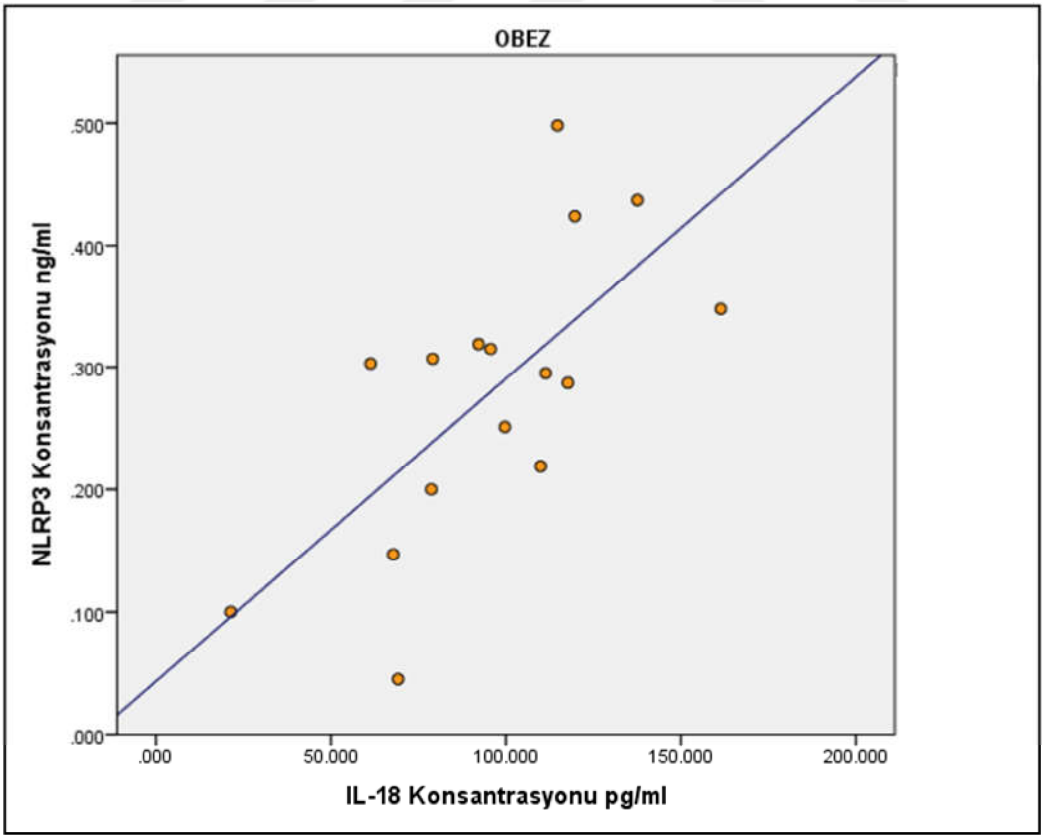


Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).

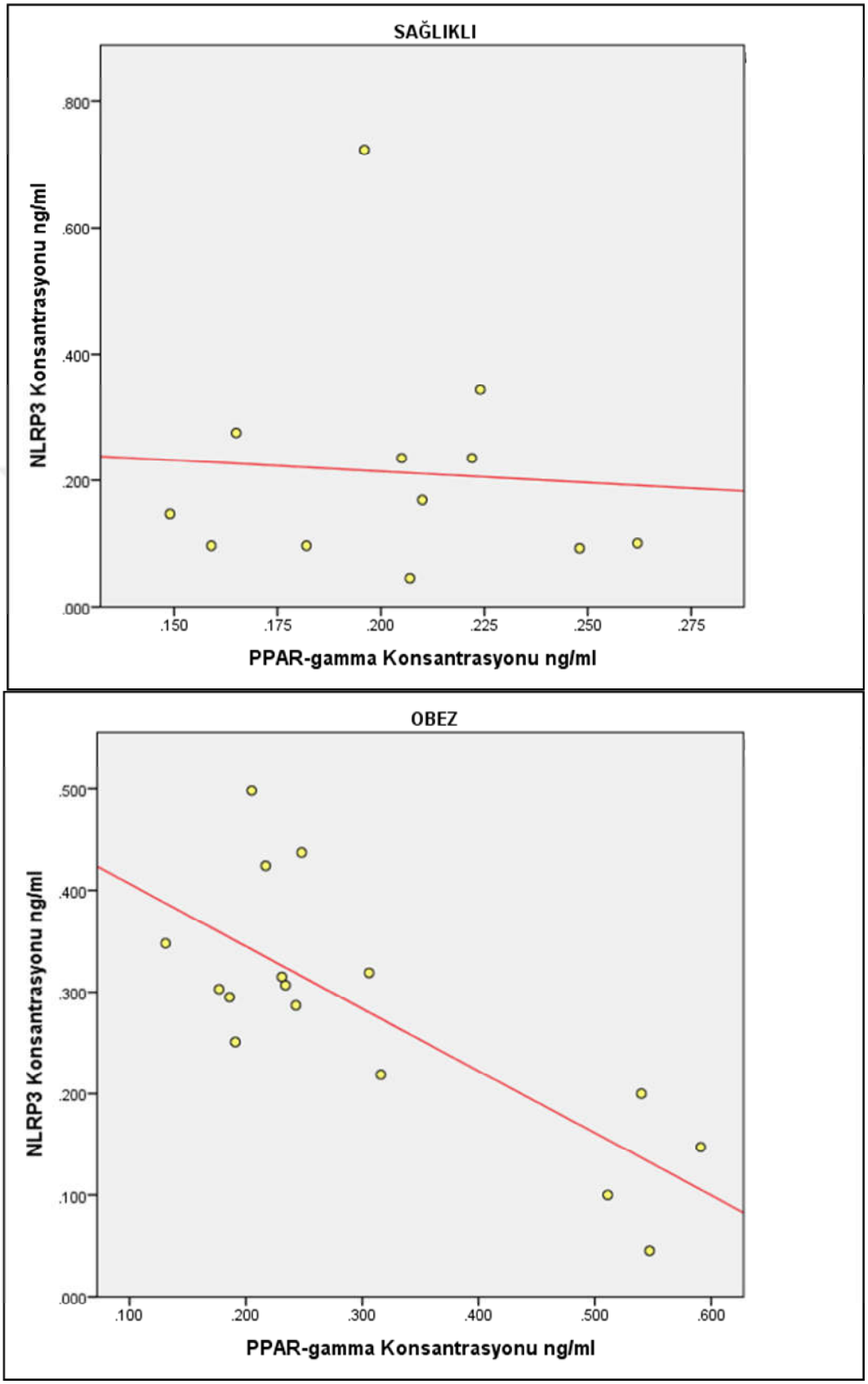


Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).

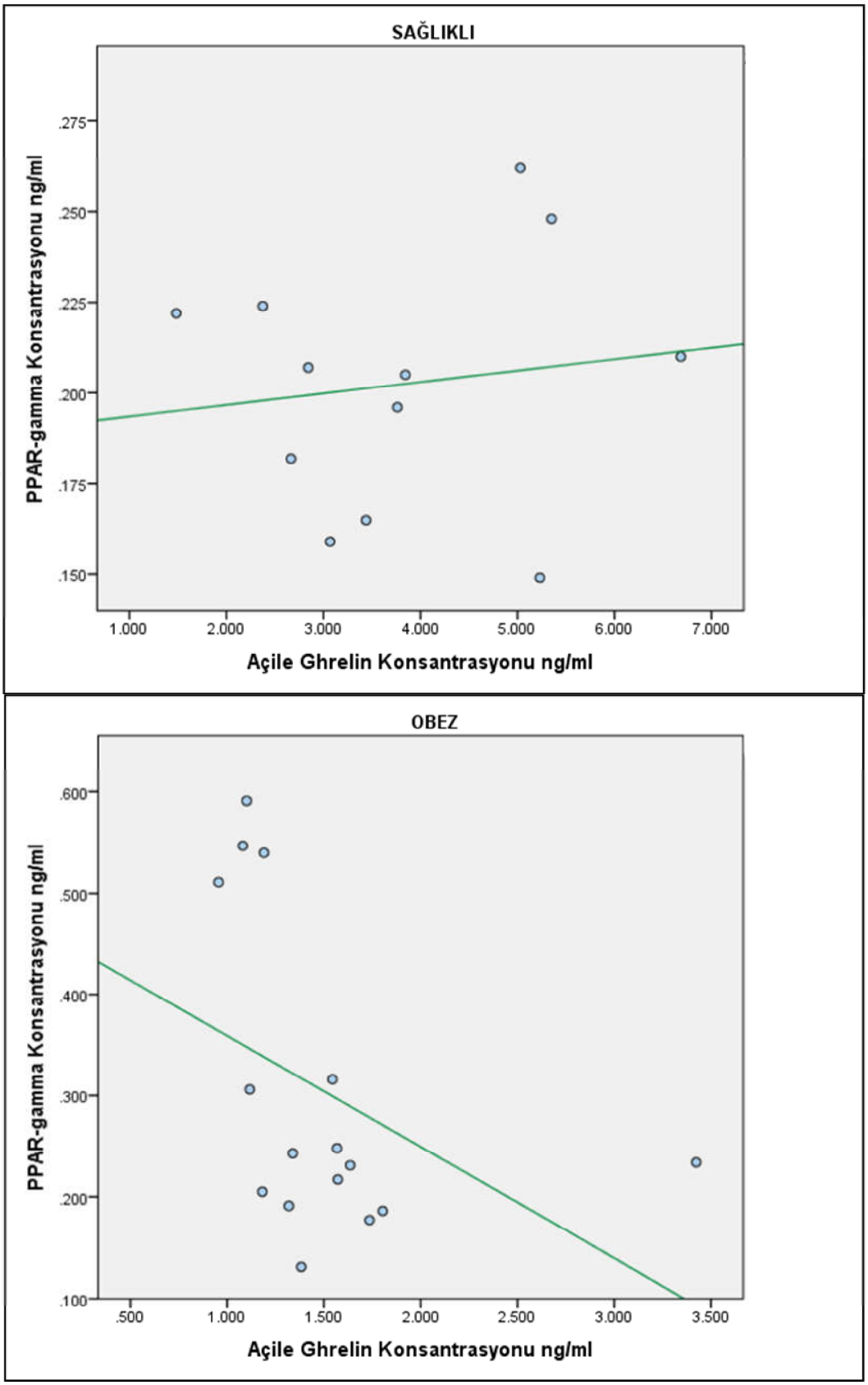




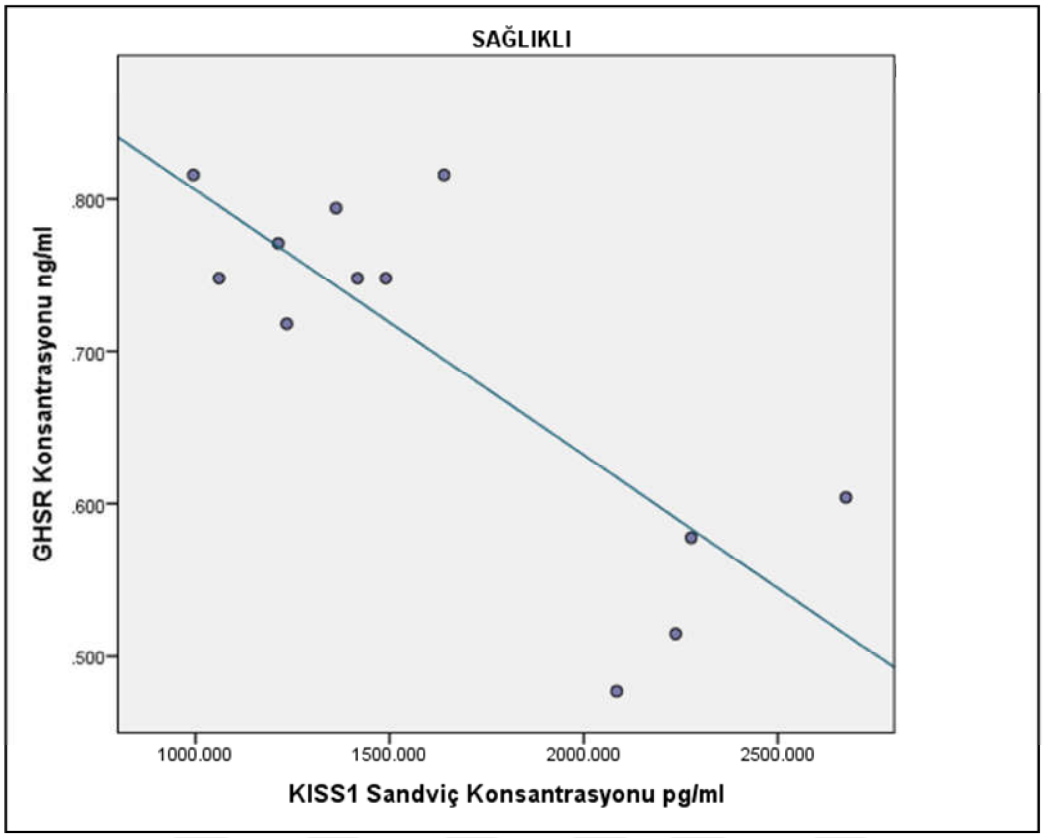
Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).

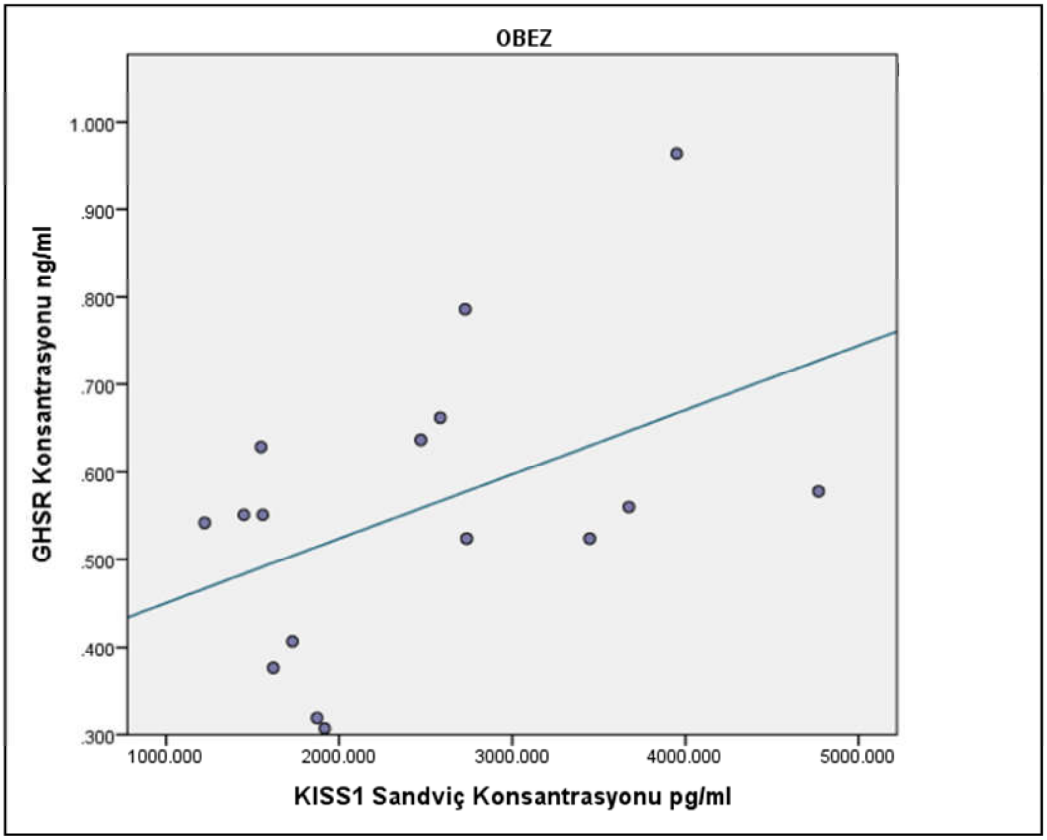


Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).

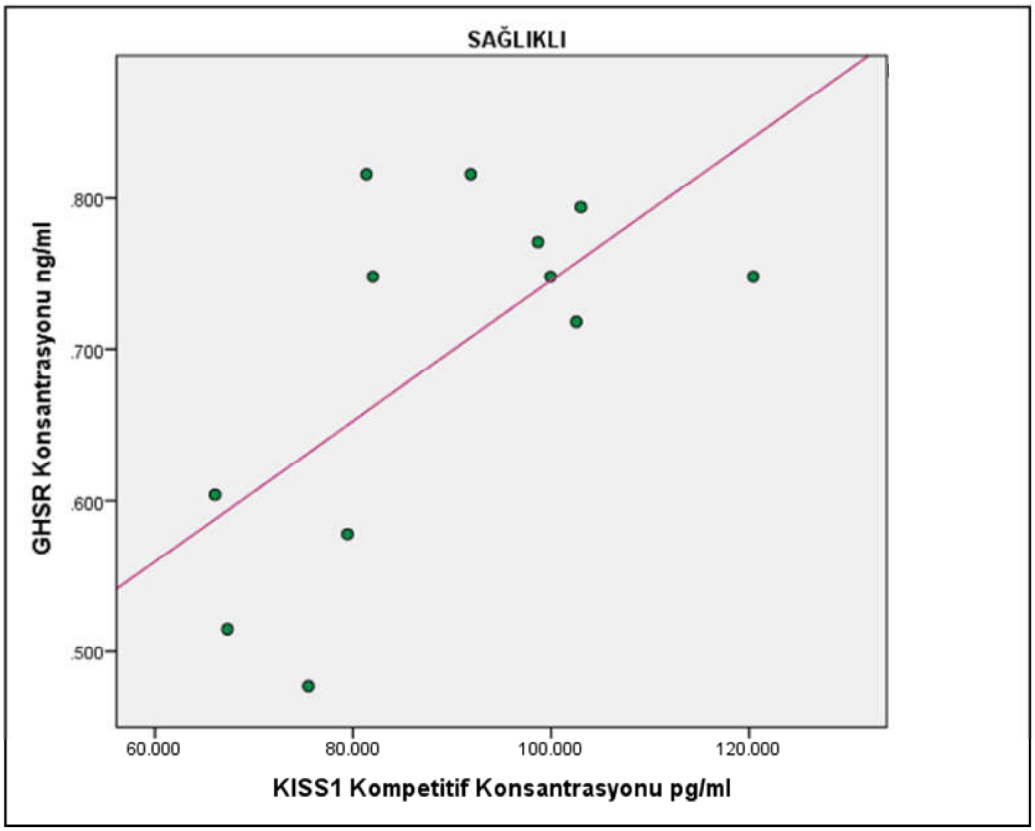


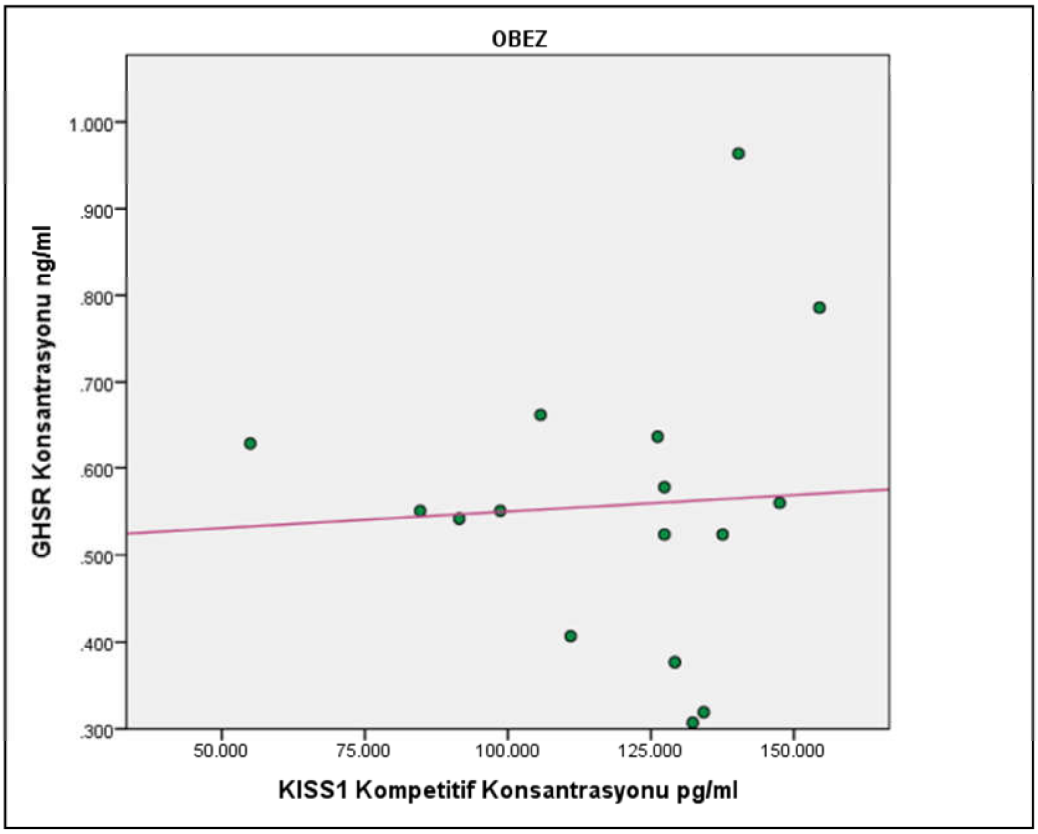
Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).



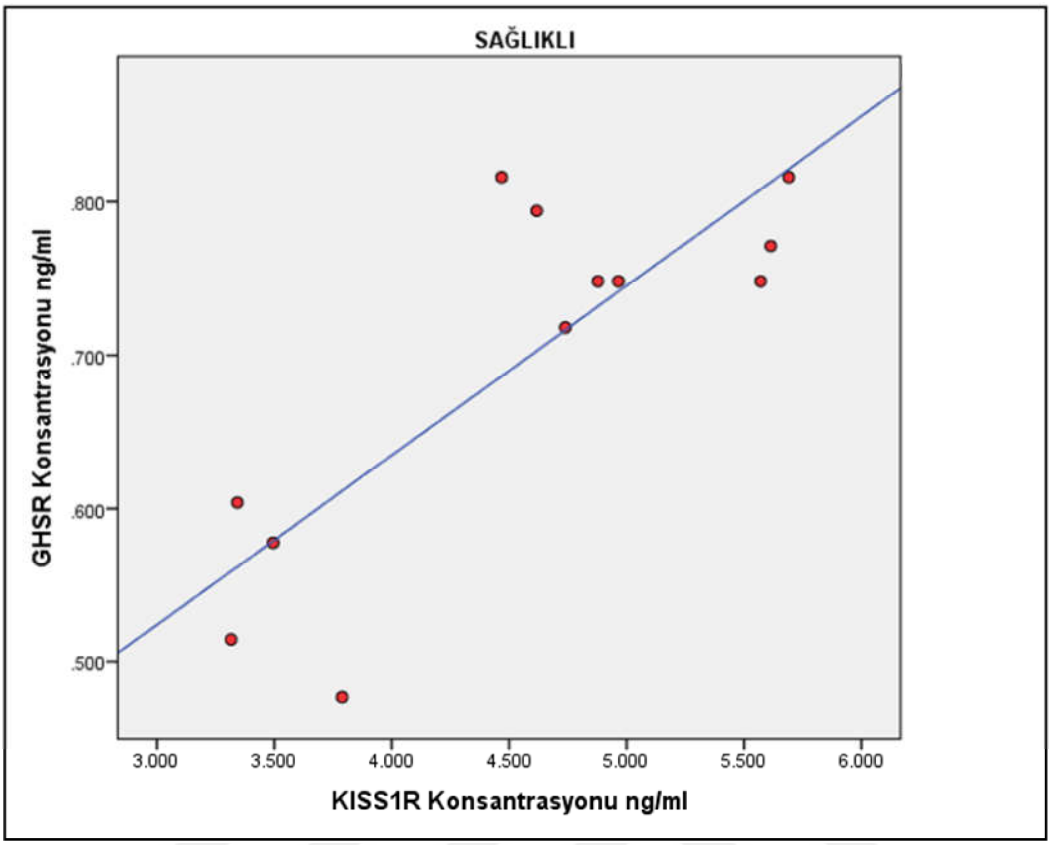


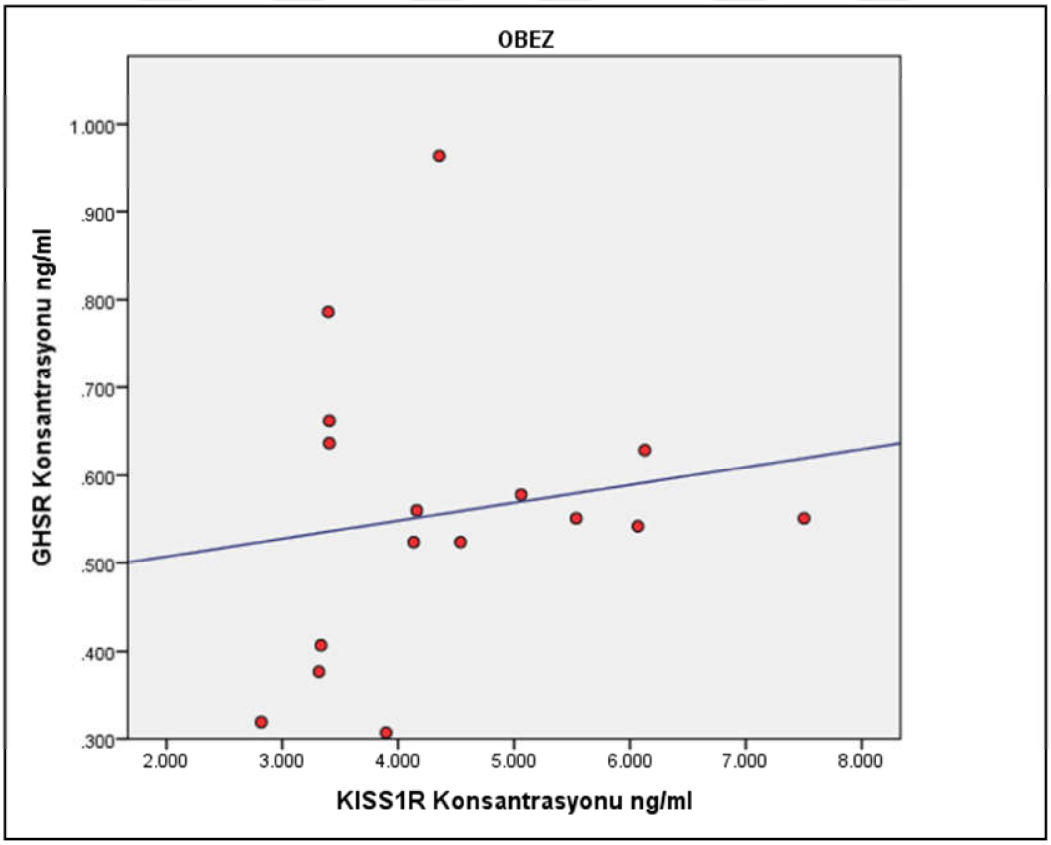
Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).



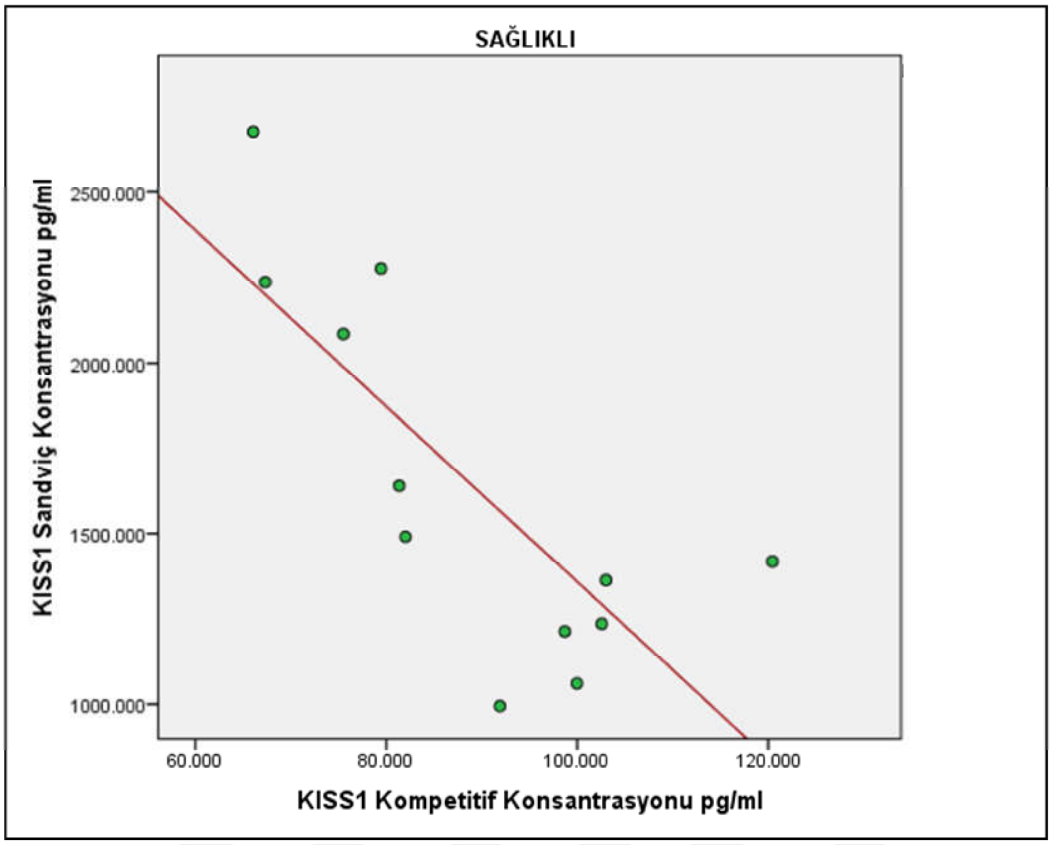


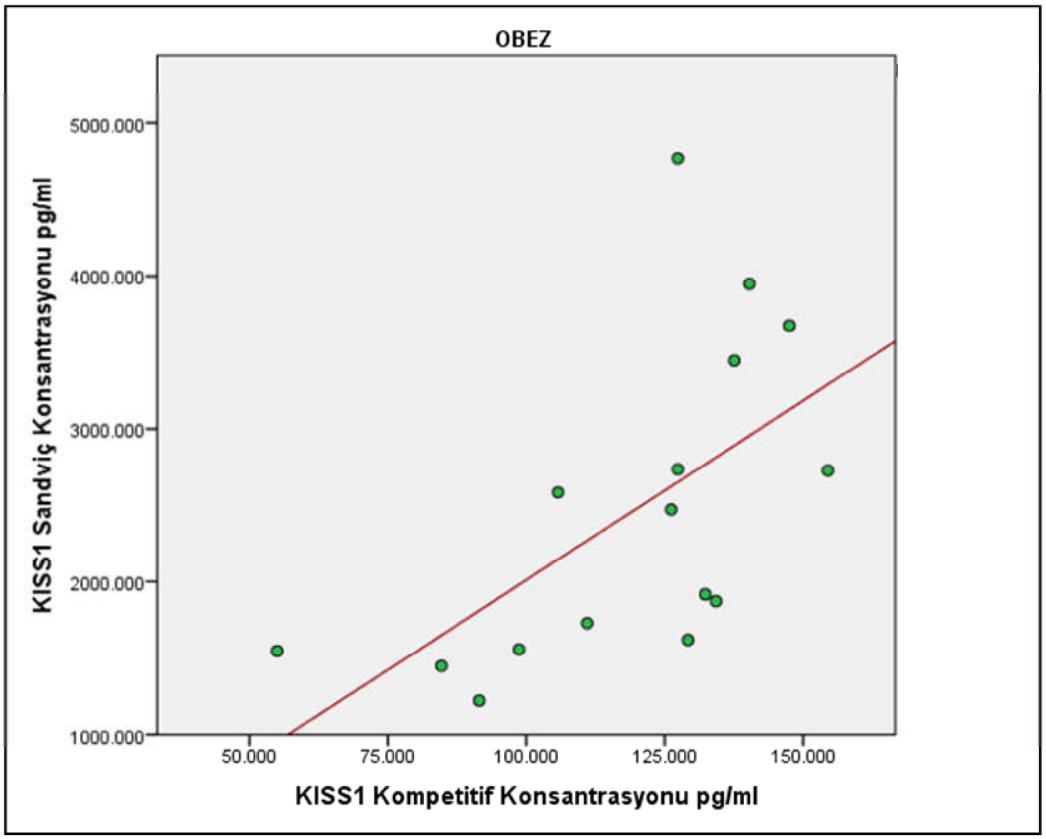
Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).



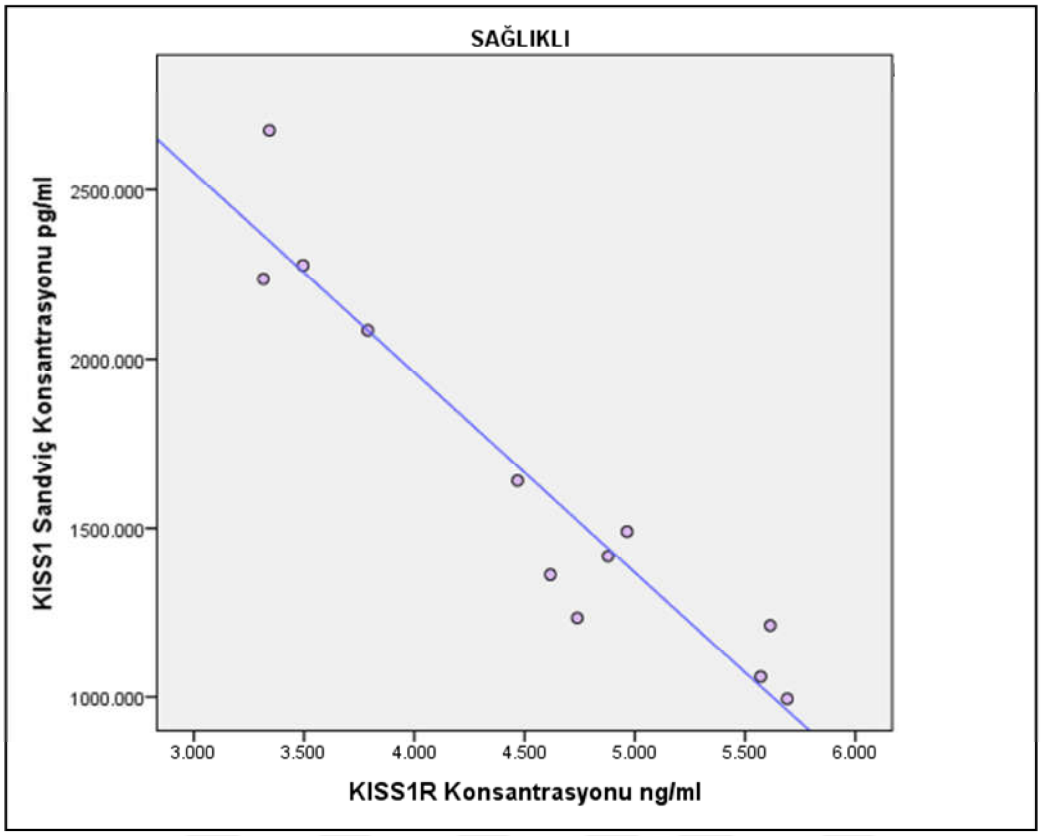


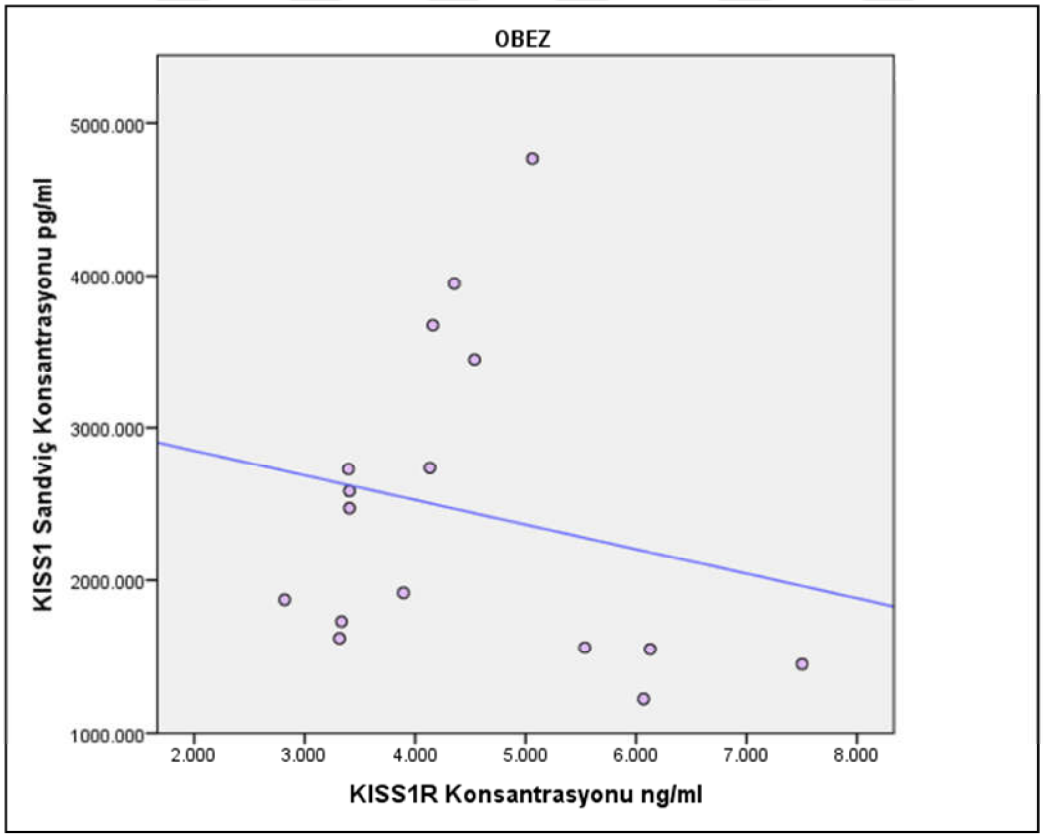
Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).



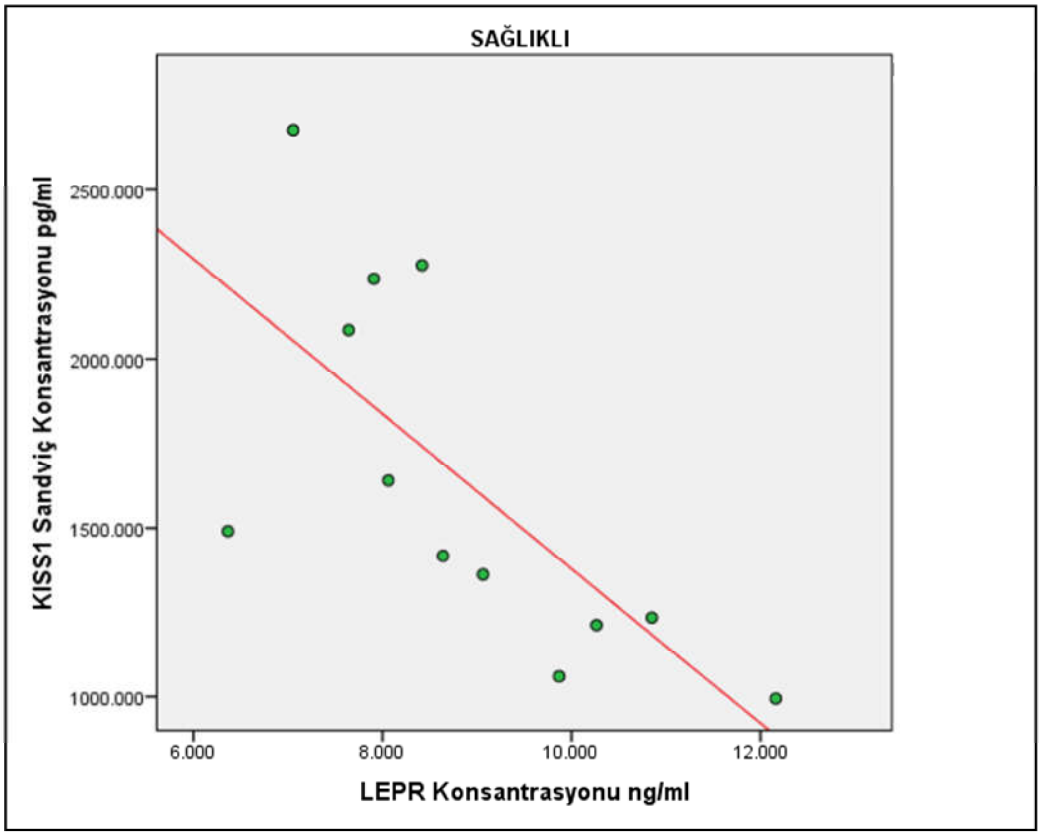


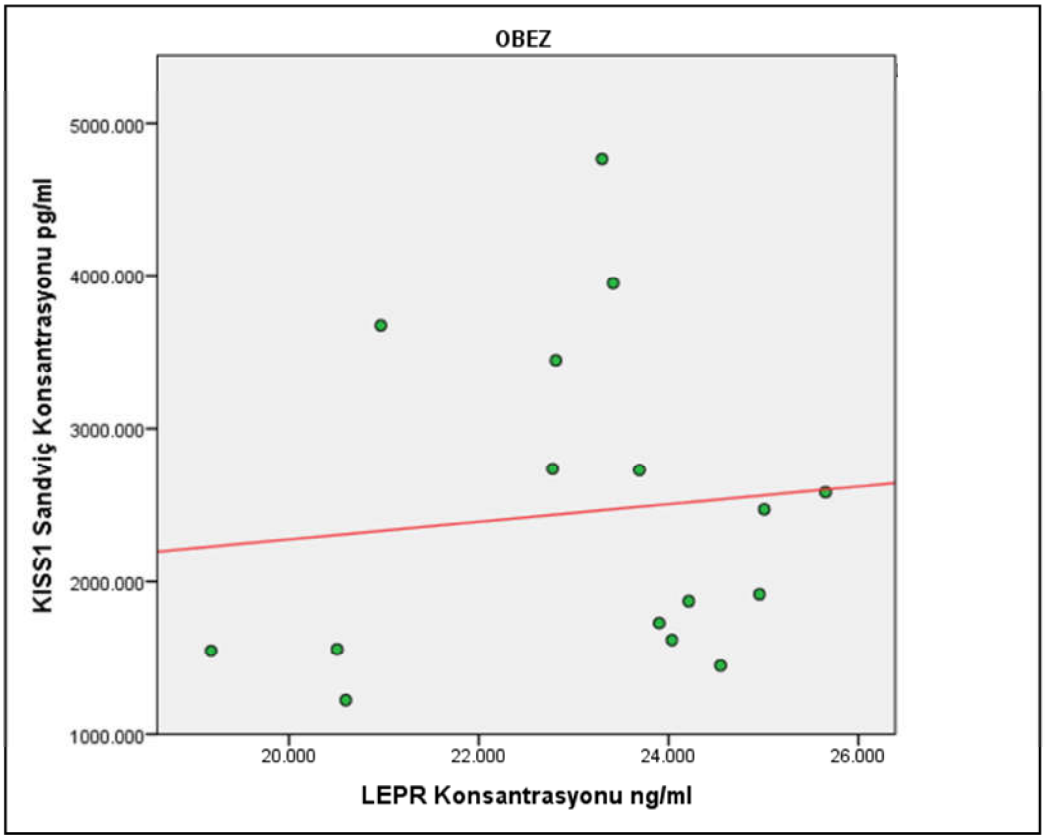
Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).



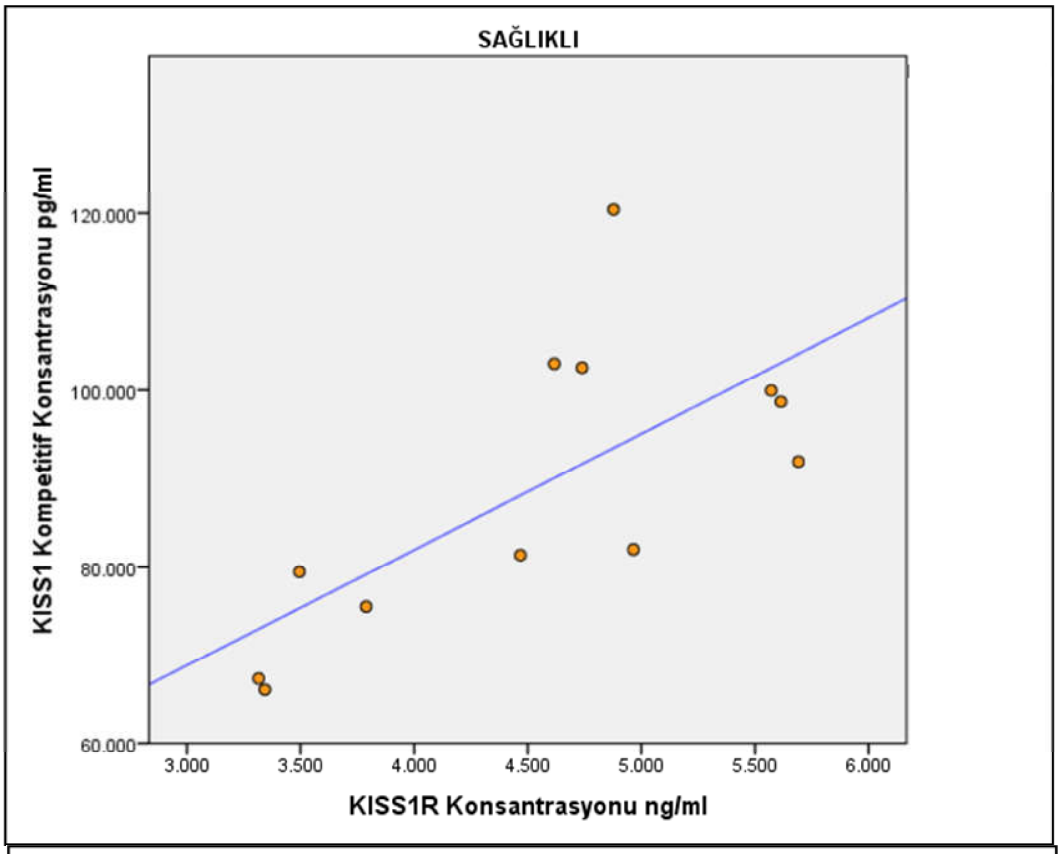


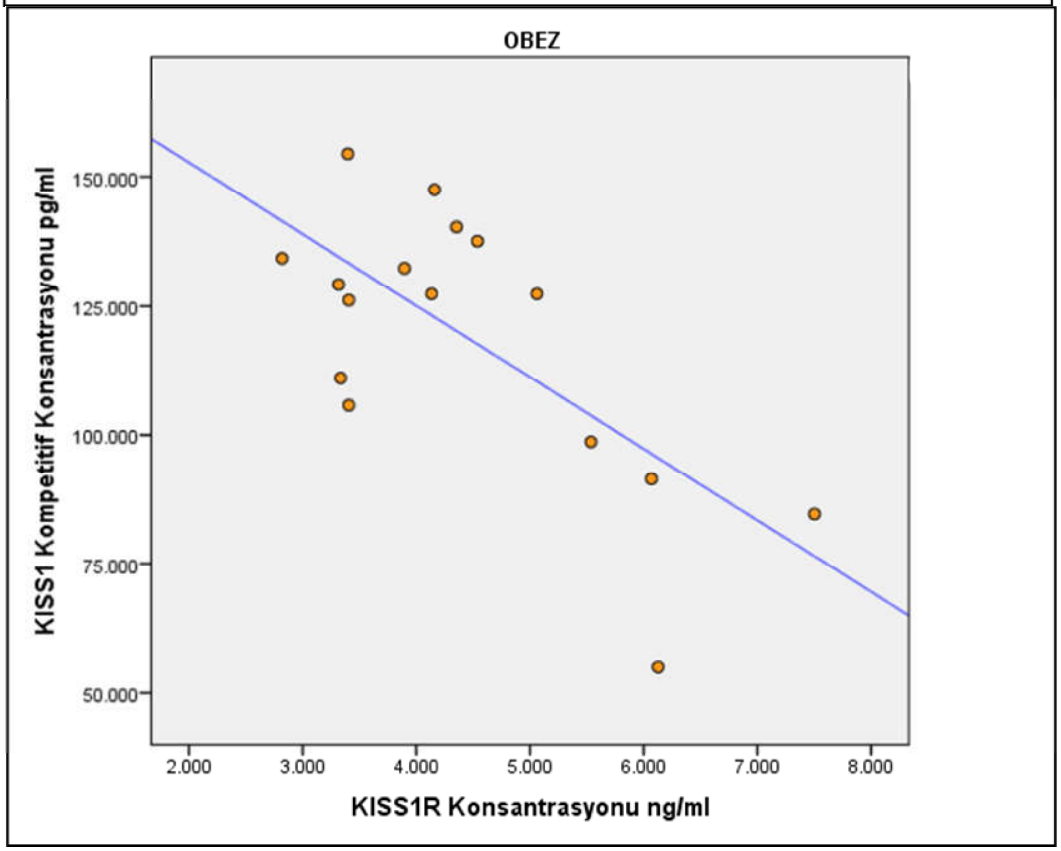
Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).



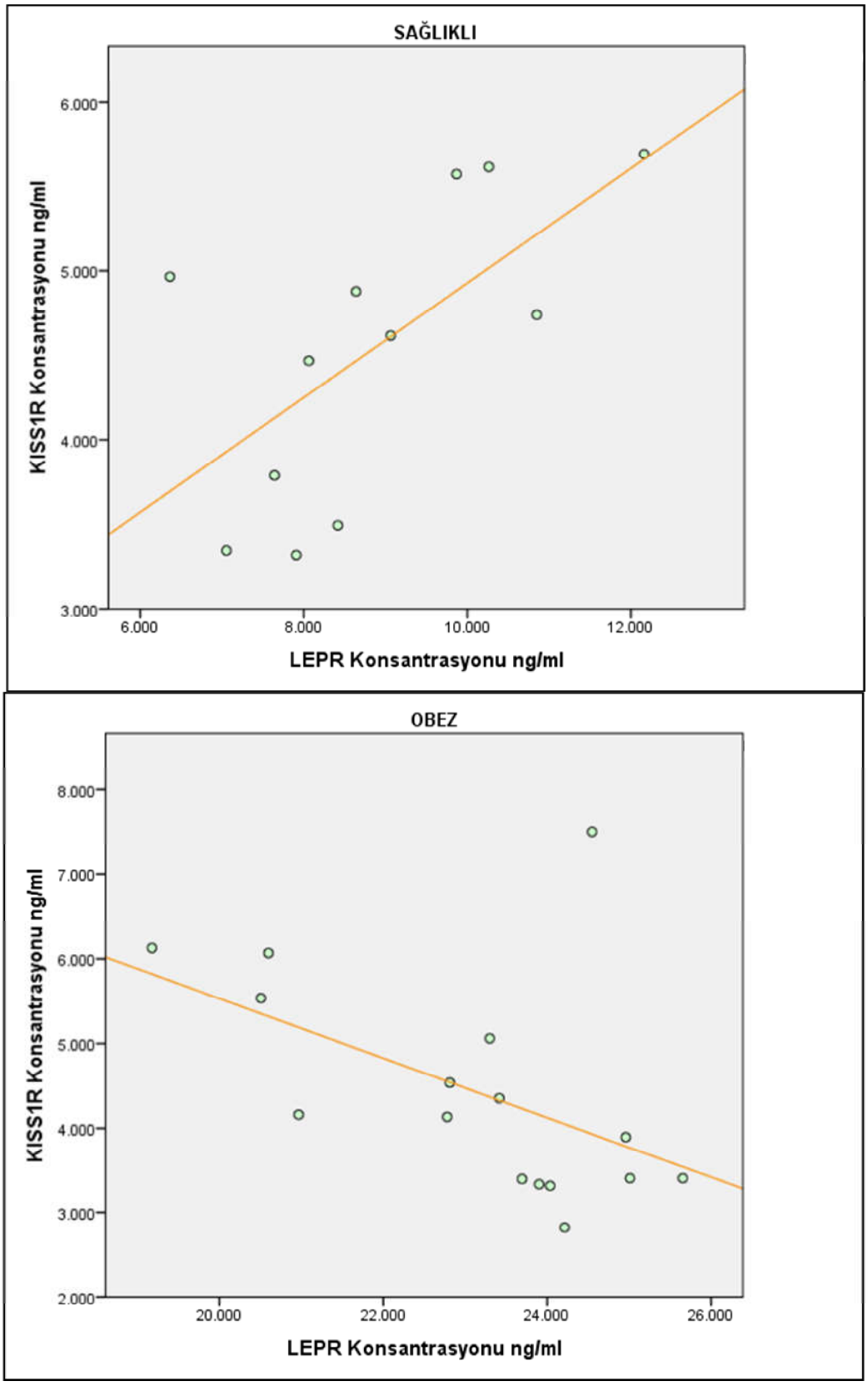


Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).





Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).



Şekil 4.3-8: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin eklenmesiyle oluşturulan sağlıklı ve obez gruplarda çalışılan ELISA parametrelerinin korelasyonları (Devam).

10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotin eklenmesinin manuel ELISA yöntemi ile çalışılan NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR **γ**, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 araştırma kitleri üzerinde yarattığı interferans etkisini belirlemek için yapılan analizin alt gruplarına ilişkin örnek sayısı, ortalama ± standart sapma, medyan, minimum-maksimum değerleri Tablo 4.3.11'de verilmiştir.

Tablo 4.3-11: 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotin eklenerek çalışan NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 araştırma kitleriyle yapılan analizin alt gruplarına ilişkin örnek sayısı, ortalama ± standart sapma, medyan, minimum-maksimum değerleri

Gruplar	Parametreler	Örnek sayısı	Min.	Max.	Ort ± SS	Medyan
Sağlikli1	**Açile Grelin (ng/ml)**	4	1,483	3,845		3,601
	Deaçile Grelin (ng/L)	4	60,916	69,086	65,631±3,437	
	Grelin (ng/ml)	4	0,909	1,043	0,988±0,059	
	GHSR (ng/ml)	4	0,748	0,816		0,771
	Grelin Kompetitif (ng/ml)	4	1,925	3,697	2,771±0,905	
	IL-18 (pg/ml)	4	52,066	66,882		61,440
	KISS1 Sandviç (pg/ml)	4	1362,126	1640,252	1477,499±120,541	
	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	4	81,354	120,420	96,696±18,742	
	KISS1R (ng/ml)	4	4,468	4,965		4,747
	Leptin (ng/ml)	4	1,026	1,113	1,076±0,037	
	LEPR (ng/ml)	4	6,364	9,063	8,032±1,185	
	NLRP3 (ng/ml)	4	0,235	0,723		0,255
	PPAR γ (ng/ml)	4	0,165	0,222		0,200

Gruplar	Parametreler	Örnek sayısı	Min.	Max.	Ort ± SS	Medyan
Sağlikli1	**Preptin (pg/ml)**	4	85,168	249,266		91,046
Sağlikli2	**Açile Grelin (ng/ml)**	4	2,665	5,030		2,956
	Deaçile Grelin (ng/L)	4	28,955	32,444	30,064±1,615	
	Grelin (ng/ml)	4	1,828	2,312	2,121±0,210	
	GHSR (ng/ml)	4	0,718	0,816		0,759
	Grelin Kompetitif (ng/ml)	4	1,133	1,658	1,333±0,236	
	IL-18 (pg/ml)	4	53,764	96,652		56,980
	KISS1 Sandviç (pg/ml)	4	994,437	1235,146	1125,695±117,015	
	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	4	91,884	102,561	98,269±4,552	
	KISS1R (ng/ml)	4	4,739	5,691		5,592
	Leptin (ng/ml)	4	0,682	0,700	0,691±0,007	
	LEPR (ng/ml)	4	9,868	12,161	10,785±1,001	
	NLRP3 (ng/ml)	4	0,045	0,100		0,096
	PPAR γ (ng/ml)	4	0,159	0,262		0,194
	Preptin (pg/ml)	4	80,828	172,635		103,544
Sağlikli3	**Açile Grelin (ng/ml)**	4	2,375	6,684		5,291
	Deaçile Grelin (ng/L)	4	75,378	84,730	79,669±3,947	
	Grelin (ng/ml)	4	2,129	2,421	2,285±0,150	
	GHSR (ng/ml)	4	0,477	0,604		0,546

Gruplar	Parametreler	Örnek sayısı	Min.	Max.	Ort ± SS	Medyan
Sağlikli3	**Grelin Kompetitif (ng/ml)**	4	1,092	1,784	1,483±0,299	
	IL-18 (pg/ml)	4	59,632	121,187		67,187
	KISS1 Sandviç (pg/ml)	4	2084,911	2675,417	2318,471±251,914	
	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	4	66,066	79,444	72,082±6,449	
	KISS1R (ng/ml)	4	3,316	3,789		3,419
	Leptin (ng/ml)	4	0,884	0,950	0,910±0,029	
	LEPR (ng/ml)	4	7,054	8,417	7,755±0,567	
	NLRP3 (ng/ml)	4	0,092	0,344		0,158
	PPAR γ (ng/ml)	4	0,149	0,248		0,217
	Preptin (pg/ml)	4	68,279	80,172		70,085
Obez1	**Açile Grelin (ng/ml)**	4	0,956	1,190		1,091
	Deaçile Grelin (ng/L)	4	29,856	31,898	30,605±0,950	
	Grelin (ng/ml)	4	0,578	0,786	0,668±0,0863	
	GHSR (ng/ml)	4	0,307	0,407		0,347
	Grelin Kompetitif (ng/ml)	4	1,177	1,413	1,307±0,107	
	IL-18 (pg/ml)	4	21,394	78,698		68,515
	KISS1 Sandviç (pg/ml)	4	1619,823	1916,667	1784,713±135,735	
	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	4	110,984	134,247	126,683±10,672	

Gruplar	Parametreler	Örnek sayısı	Min.	Max.	Ort ± SS	Medyan
Obez1	KISS1R (ng/ml)	4	2,819	3,895		3,325
	Leptin (ng/ml)	4	9,539	10,562	9,871±0,466	
	LEPR (ng/ml)	4	23,902	24,959	24,277±0,471	
	NLRP3 (ng/ml)	4	0,045	0,200		0,123
	PPAR γ (ng/ml)	4	0,511	0,591		0,543
	Preptin (pg/ml)	4	110,016	162,112		129,016
Obez2	Açile Grelin (ng/ml)	4	1,182	1,572		1,475
	Deaçile Grelin (ng/L)	4	30,836	35,971	32,973±2,188	
	Grelin (ng/ml)	4	0,689	0,766	0,735±0,034	
	GHSR (ng/ml)	4	0,542	0,629		0,551
	Grelin Kompetitif (ng/ml)	4	0,387	0,676	0,528±0,127	
	IL-18 (pg/ml)	4	114,749	161,419		128,616
	KISS1 Sandviç (pg/ml)	4	1222,761	1558,728	1445,010±156,073	
	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	4	54,993	98,680	82,463±19,185	
	KISS1R (ng/ml)	4	5,536	7,503		6,098
	Leptin (ng/ml)	4	6,253	7,071	6,678±0,335	
	LEPR (ng/ml)	4	19,178	24,548	21,208±2,319	
	NLRP3 (ng/ml)	4	0,348	0,498		0,430
	PPAR γ (ng/ml)	4	0,131	0,248		0,211

Gruplar	Parametreler	Örnek sayısı	Min.	Max.	Ort ± SS	Medyan
Obez2	**Preptin (pg/ml)**	4	85,847	163,097		99,785
Obez3	**Açile Grelin (ng/ml)**	4	1,319	1,804		1,640
	Deaçile Grelin (ng/L)	4	28,761	31,279	30,005±1,092	
	Grelin (ng/ml)	4	0,666	0,747	0,708±0,040	
	GHSR (ng/ml)	4	0,524	0,964		0,569
	Grelin Kompetitif (ng/ml)	4	0,664	0,875	0,780±0,093	
	IL-18 (pg/ml)	4	61,342	111,359		104,800
	KISS1 Sandviç (pg/ml)	4	3447,347	4769,238	3959,861±577,329	
	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	4	127,362	147,496	138,177±8,340	
	KISS1R (ng/ml)	4	4,160	5,061		4,446
	Leptin (ng/ml)	4	8,661	9,387	9,101±0,315	
	LEPR (ng/ml)	4	20,968	23,416	22,623±1,134	
	NLRP3 (ng/ml)	4	0,219	0,303		0,273
	PPAR γ (ng/ml)	4	0,177	0,316		0,188
	Preptin (pg/ml)	4	144,968	192,135		170,499
Obez4	**Açile Grelin (ng/ml)**	4	1,117	3,424		1,487
	Deaçile Grelin (ng/L)	4	28,615	29,392	28,967±0,335	
	Grelin (ng/ml)	4	0,640	0,730	0,680±0,037	
	GHSR (ng/ml)	4	0,524	0,786		0,649

Gruplar	Parametreler	Örnek sayısı	Min.	Max.	Ort ± SS	Medyan
Obez4	**Grelin Kompetitif (ng/ml)**	4	0,976	1,045	1,010±0,036	
	IL-18 (pg/ml)	4	79,090	117,740		93,917
	KISS1 Sandviç (pg/ml)	4	2471,852	2736,577	2630,219±126,637	
	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	4	105,726	154,459	128,428±19,993	
	KISS1R (ng/ml)	4	3,397	4,134		3,406
	Leptin (ng/ml)	4	6,411	7,101	6,747±0,331	
	LEPR (ng/ml)	4	22,779	25,655	24,284±1,293	
	NLRP3 (ng/ml)	4	0,287	0,319		0,311
	PPAR γ (ng/ml)	4	0,231	0,306		0,238
	Preptin (pg/ml)	4	123,831	576,699		281,107

Bu çalışmada ayrıca gruplar eklenen biotin miktarına göre de ayrılmış ve istatistiksel analizi yapılmıştır. Eklenen biotin miktarına göre (10, 50, 500, 1000 ng/ml) NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin örnek sayısı, ortalama ± standart sapma, medyan, minimum-maksimum ve p değerleri Tablo 4.3.12'de verilmiştir. Eklenen biotin miktarı gruplarına göre hiçbir ELISA parametresi arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Sağlıklı ve obez gruplar arasında 10, 50, 500, 1000 ng/ml eklenen biotin miktarına göre NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin örnek sayısı, ortalama, standart sapma ve medyan değerlerini gösteren Tablo 4.3.13'te verilmiştir. Sağlıklı ve obez gruplar arasında 10, 50, 500, 1000 ng/ml eklenen biotin miktarı ile NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin konsantrasyonlarını gösteren grafikler ise Şekil 4.3.9'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3-12: Eklenen biotin miktarına göre (10, 50, 500, 1000 ng/ml) NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 parametrelerinin örnek sayısı, medyan, ortalama ± standart sapma, minimum-maksimum ve p değerleri

		Eklenen Biotin miktarı 10 ng/ml			Eklenen Biotin miktarı 50 ng/ml			Eklenen Biotin miktarı 500 ng/ml			Eklenen Biotin miktarı 1000 ng/ml			
Parametreler	**Örnek sayısı**	**Min.**	**Max.**	**Medyan**	**Min.**	**Max.**	**Medyan**	**Min.**	**Max.**	**Medyan**	**Min.**	**Max.**	**Medyan**	**p değeri**
Açile Grelin (ng/ml)	7	0,956	6,684	1,736	1,081	5,232	1,804	1,101	5,351	1,636	1,190	5,030	1,544	0,970
Deaçile Grelin (ng/L)	7	28,615	78,182	31,898	29,052	80,389	29,929	28,761	84,730	30,836	29,392	75,378	31,279	0,996
Grelin (ng/ml)	7	0,578	2,129	0,756	0,640	2,421	0,732	0,681	2,408	0,786	0,653	2,183	0,738	0,808
Grelin Kompetitif (ng/ml)	7	0,387	2,067	1,263	0,585	3,697	1,133	0,464	3,398	1,177	0,676	1,925	1,092	0,971
IL-18 (pg/ml)	7	21,394	121,187	92,198	53,764	137,558	71,889	52,066	119,675	67,842	59,252	161,419	78,698	0,899
KISS1 Sandviç (pg/ml)	7	1222,761	3447,347	1872,349	1060,337	3673,402	1619,823	994,437	3949,459	1916,667	1212,862	4769,238	1730,013	0,956
LEPR (ng/ml)	7	7,054	25,655	20,599	6,364	25,009	20,968	8,417	24,959	19,178	7,908	23,902	20,507	0,957

		Eklenen Biotin miktarı 10 ng/ml			Eklenen Biotin miktarı 50 ng/ml			Eklenen Biotin miktarı 500 ng/ml			Eklenen Biotin miktarı 1000 ng/ml			
Parametreler	**Örnek sayısı**	**Min.**	**Max.**	**Medyan**	**Min.**	**Max.**	**Medyan**	**Min.**	**Max.**	**Medyan**	**Min.**	**Max.**	**Medyan**	**p değeri**
PPAR γ (ng/ml)	7	0,165	0,511	0,207	0,149	0,547	0,205	0,182	0,591	0,217	0,131	0,540	0,234	0,708
Preptin (pg/ml)	7	80,172	394,136	122,992	68,279	249,266	168,078	70,389	576,699	116,400	69,782	144,968	109,233	0,563

		Eklenen Biotin miktarı 10 ng/ml			Eklenen Biotin miktarı 50 ng/ml			Eklenen Biotin miktarı 500 ng/ml			Eklenen Biotin miktarı 1000 ng/ml			
Parametreler	**Örnek sayısı**	**Min.**	**Max.**	**Ort ± SS**	**Min.**	**Max.**	**Ort ± SS**	**Min.**	**Max.**	**Ort ± SS**	**Min.**	**Max.**	**Ort ± SS**	**p değeri**
GHSR (ng/ml)	7	0,319	0,748	0,588 ± 0,145	0,376	0,748	0,585 ± 0,137	0,307	0,964	0,696 ± 0,213	0,407	0,816	0,594 ± 0,146	0,532
KISS1 Kompetitif (pg/ml)	7	66,066	137,558	108,297 ± 25,104	75,500	147,496	106,425 ± 27,875	54,993	154,459	108,056 ± 35,829	67,318	127,362	101,677 ± 22,426	0,969
KISS1R (ng/ml)	7	2,819	6,068	4,255 ± 1,125	3,316	7,503	4,672 ± 1,493	3,397	6,128	4,511 ± 1,056	3,316	5,614	4,494 ± 0,959	0,929

		Eklenen Biotin miktarı 10 ng/ml			Eklenen Biotin miktarı 50 ng/ml			Eklenen Biotin miktarı 500 ng/ml			Eklenen Biotin miktarı 1000 ng/ml			
Parametreler	**Örnek sayısı**	**Min.**	**Max.**	**Ort ± SS**	**Min.**	**Max.**	**Ort ± SS**	**Min.**	**Max.**	**Ort ± SS**	**Min.**	**Max.**	**Ort ± SS**	**p değeri**
Leptin (ng/ml)	7	0,700	10,562	5,090 ± 4,181	0,691	9,658	4,981 ± 3,994	0,691	9,539	4,963 ± 3,969	0,682	9,726	5,008 ± 3,973	1,000
NLRP3 (ng/ml)	7	0,045	0,498	0,244 ± 0,153	0,045	0,437	0,220 ± 0,134	0,092	0,723	0,292 ± 0,225	0,100	0,348	0,250 ± 0,089	0,859

Tablo 4.3-13: Sağlıklı ve obez gruplardaki 10, 50, 500, 1000 ng/ml eklenen biotin miktarına göre ELISA parametrelerinin örnek sayısı, ortalama ± standart sapma ve medyan değerleri

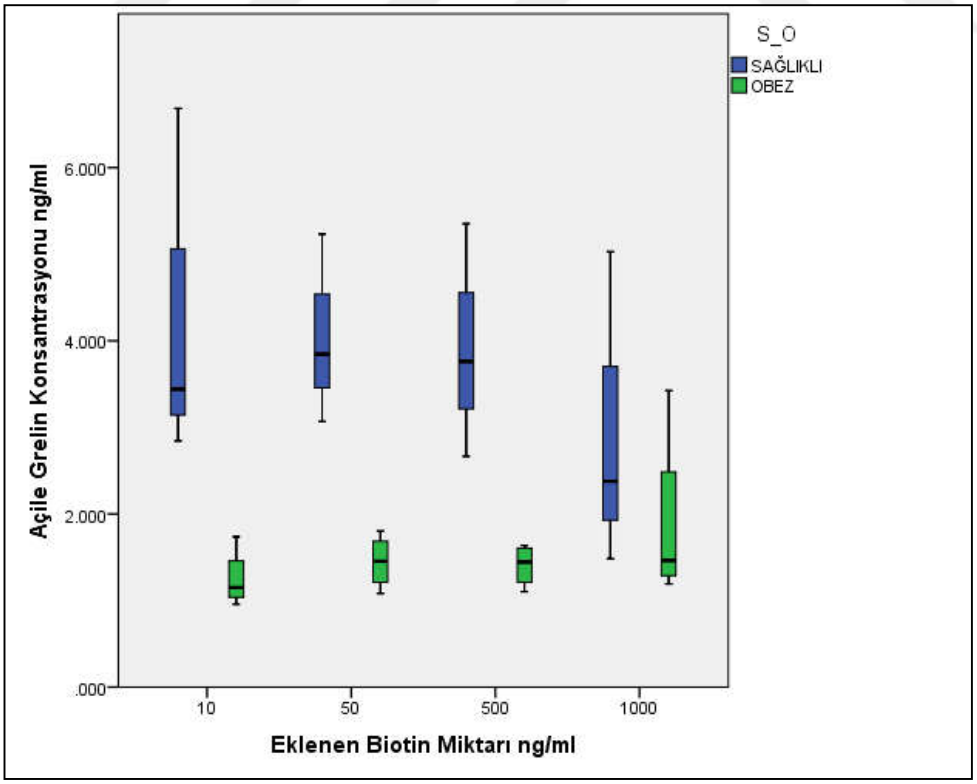
Gruplar	Eklenen Biotin Miktarı (ng/ml)		GHSR (ng/ml)	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	KISS1R (ng/ml)	Leptin (ng/ml)	NLRP3 (ng/ml)
Sağlıklı	10	Ortalama	0,690	96,349	4,320	0,870	0,163
		Örnek Sayısı	3	3	3	3	3
		Standart Sapma	0,075	27,704	0,848	0,163	0,115
	50	Ortalama	0,657	85,818	4,775	0,918	0,159
		Örnek Sayısı	3	3	3	3	3
		Standart Sapma	0,156	12,663	0,906	0,212	0,070
	500	Ortalama	0,729	91,444	4,601	0,899	0,303
		Örnek Sayısı	3	3	3	3	3
		Standart Sapma	0,131	11,786	1,098	0,201	0,363
	1000	Ortalama	0,700	82,450	4,466	0,883	0,226
		Örnek Sayısı	3	3	3	3	3
		Standart Sapma	0,162	15,709	1,149	0,196	0,122
	Total	Ortalama	0,694	89,015	4,540	0,892	0,213
		Örnek Sayısı	12	12	12	12	12
		Standart Sapma	0,118	16,421	0,877	0,166	0,183
Obez	10	Ortalama	0,511	117,25	4,207	8,255	0,305
		Örnek Sayısı	4	4	4	4	4
		Standart Sapma	0,142	22,337	1,430	1,947	0,162
	50	Ortalama	0,531	121,881	4,596	8,028	0,266
		Örnek Sayısı	4	4	4	4	4
		Standart Sapma	0,110	26,533	1,974	1,731	0,162
	500	Ortalama	0,671	120,515	4,443	8,012	0,284
		Örnek Sayısı	4	4	4	4	4
		Standart Sapma	0,278	44,631	1,189	1,604	0,116
	1000	Ortalama	0,515	116,097	4,516	8,102	0,268
		Örnek Sayısı	4	4	4	4	4
		Standart Sapma	0,075	13,943	0,979	1,333	0,070

Gruplar	Eklenen Biotin Miktarı (ng/ml)		GHSR (ng/ml)	KISS1 Kompetitif (pg/ml)	KISS1R (ng/ml)	Leptin (ng/ml)	NLRP3 (ng/ml)
	Total	Ortalama	0,557	118,938	4,440	8,099	0,280
		Örnek Sayısı	16	16	16	16	16
		Standart Sapma	0,166	26,148	1,298	1,496	0,120

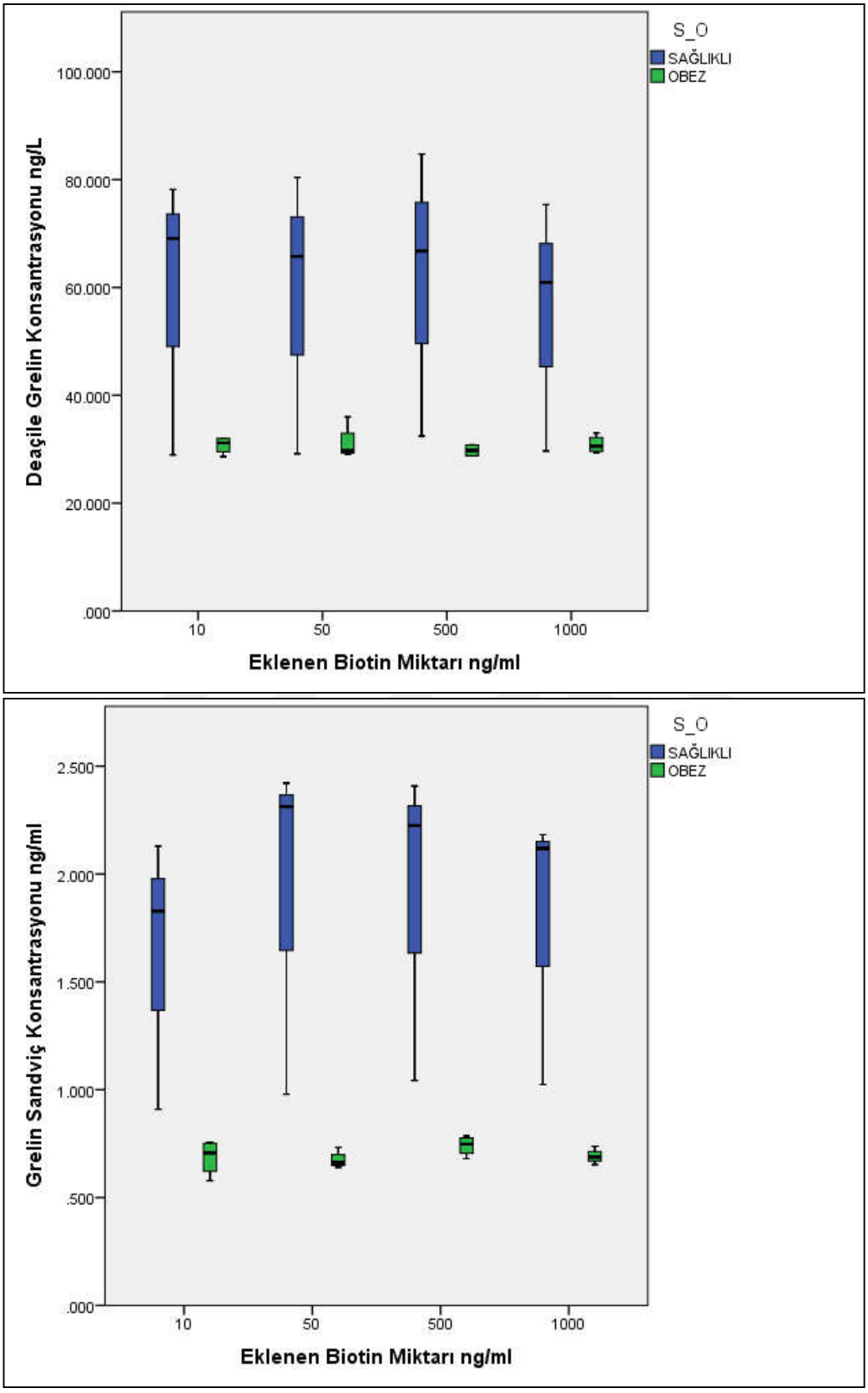
Tablo 4.3-13: Sağlıklı ve obez gruplardaki 10, 50, 500, 1000 ng/ml eklenen biotin miktarına göre ELISA parametrelerinin örnek sayısı, ortalama ± standart sapma ve medyan değerleri (Devam)

Gruplar	Eklenen Biotin Miktarı (ng/ml)		Açile Grelin (ng/ml)	Deaçile Grelin (ng/L)	Grelin (ng/ml)	Grelin Kompetitif (ng/ml)	IL-18 (pg/ml)	KISS1 Sandviç (pg/ml)	LEPR (ng/ml)	PPAR γ (ng/ml)	Preptin (pg/ml)
Sağlıklı	10	Örnek Sayısı	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Medyan	3,440	69,086	1,828	1,658	96,652	1417,280	8,640	0,207	80,828
	50	Örnek Sayısı	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Medyan	3,845	65,769	2,312	1,784	59,632	1490,338	7,642	0,159	172,635
	500	Örnek Sayısı	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Medyan	3,762	66,753	2,225	1,423	54,708	1362,126	9,063	0,196	85,168
	1000	Örnek Sayısı	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Medyan	2,375	60,916	2,119	1,185	62,485	1640,252	8,062	0,224	89,638
	Total	Örnek Sayısı	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Medyan	3,601	66,261	2,124	1,646	61,058	1453,809	8,528	0,206	87,403
Obez	10	Örnek Sayısı	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Medyan	1,149	31,170	0,706	0,925	76,770	2228,290	23,512	0,255	162,113

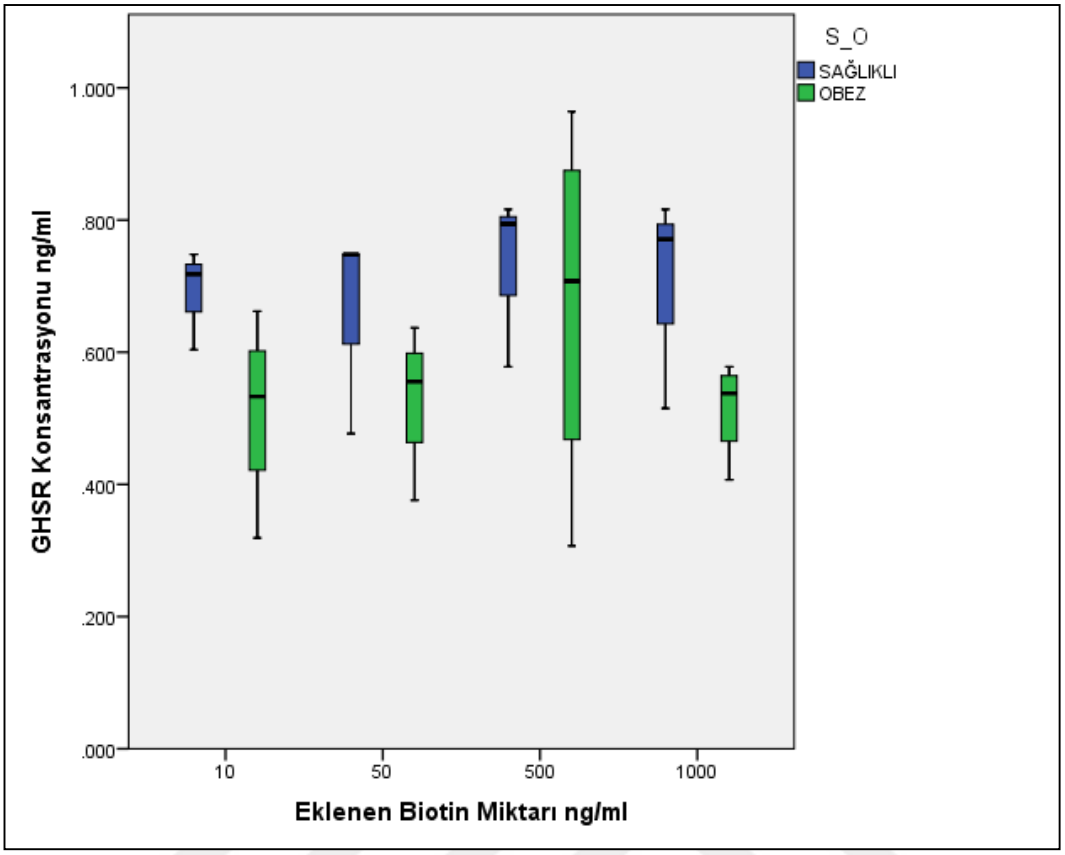
Gruplar	Eklenen Biotin Miktarı (ng/ml)		Açile Grelin (ng/ml)	Deaçile Grelin (ng/L)	Grelin (ng/ml)	Grelin Kompetitif (ng/ml)	IL-18 (pg/ml)	KISS1 Sandviç (pg/ml)	LEPR (ng/ml)	PPAR γ (ng/ml)	Preptin (pg/ml)
Obez	50	Örnek Sayısı	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Medyan	1,453	29,733	0,661	0,936	114,549	2045,837	24,292	0,245	165,095
	500	Örnek Sayısı	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Medyan	1,445	29,773	0,748	0,854	97,676	2322,443	23,554	0,224	163,587
	1000	Örnek Sayısı	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Medyan	1,463	30,567	0,687	0,866	94,487	2233,295	23,039	0,275	116,923
	Total	Örnek Sayısı	16	16	16	16	16	16	16	16	16
		Medyan	1,361	30,186	0,687	0,925	97,676	2194,259	23,554	0,238	153,049

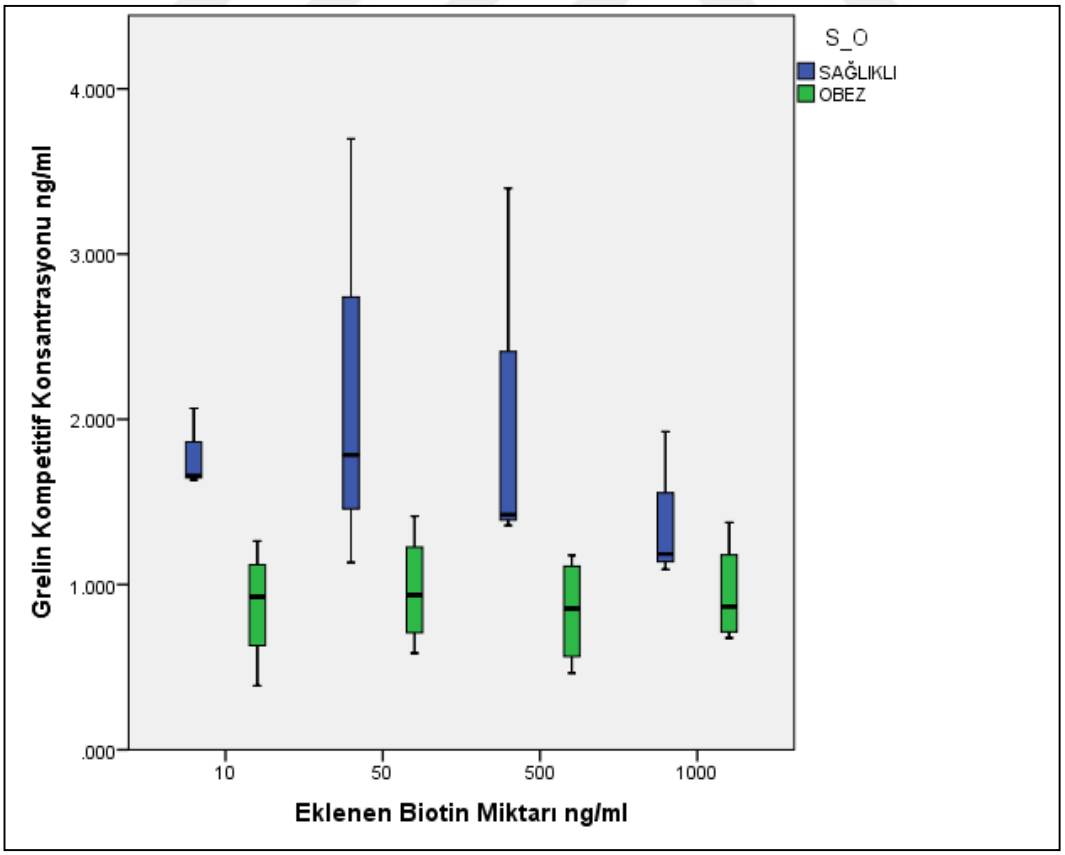


Şekil 4.3-9: Sağlıklı ve obez gruplarda biotin miktarı ile ELISA parametrelerinin konsantrasyonlarını gösteren grafik.

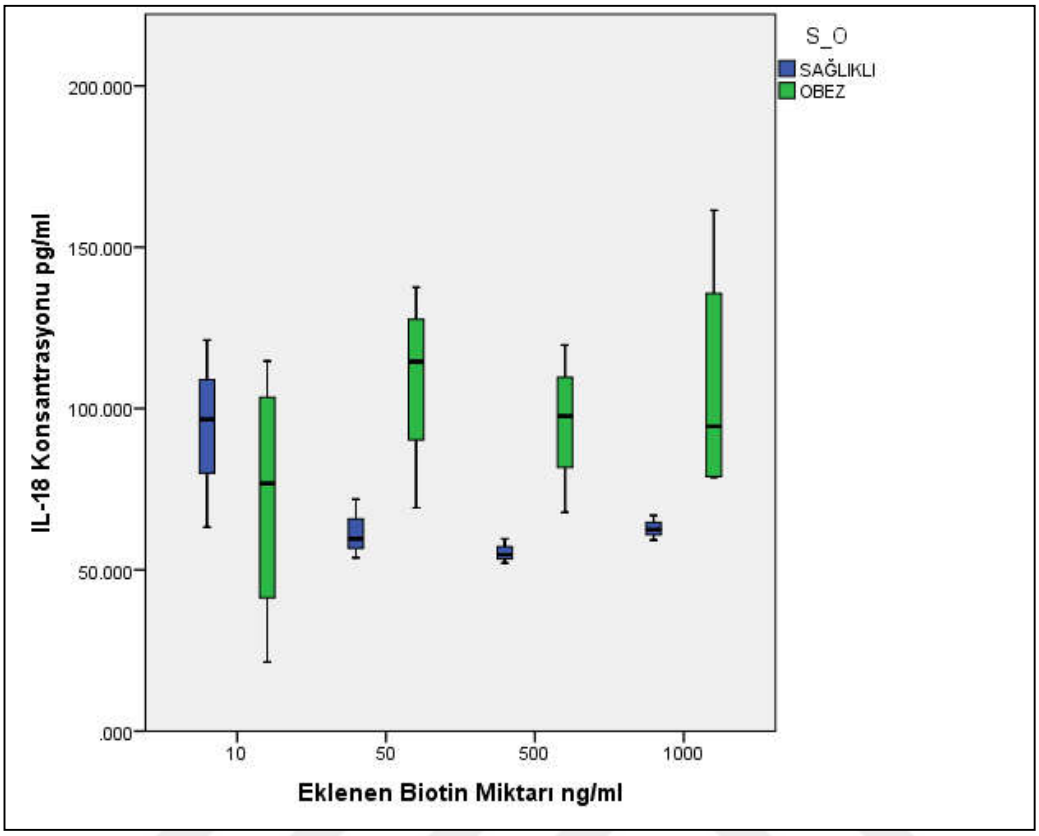


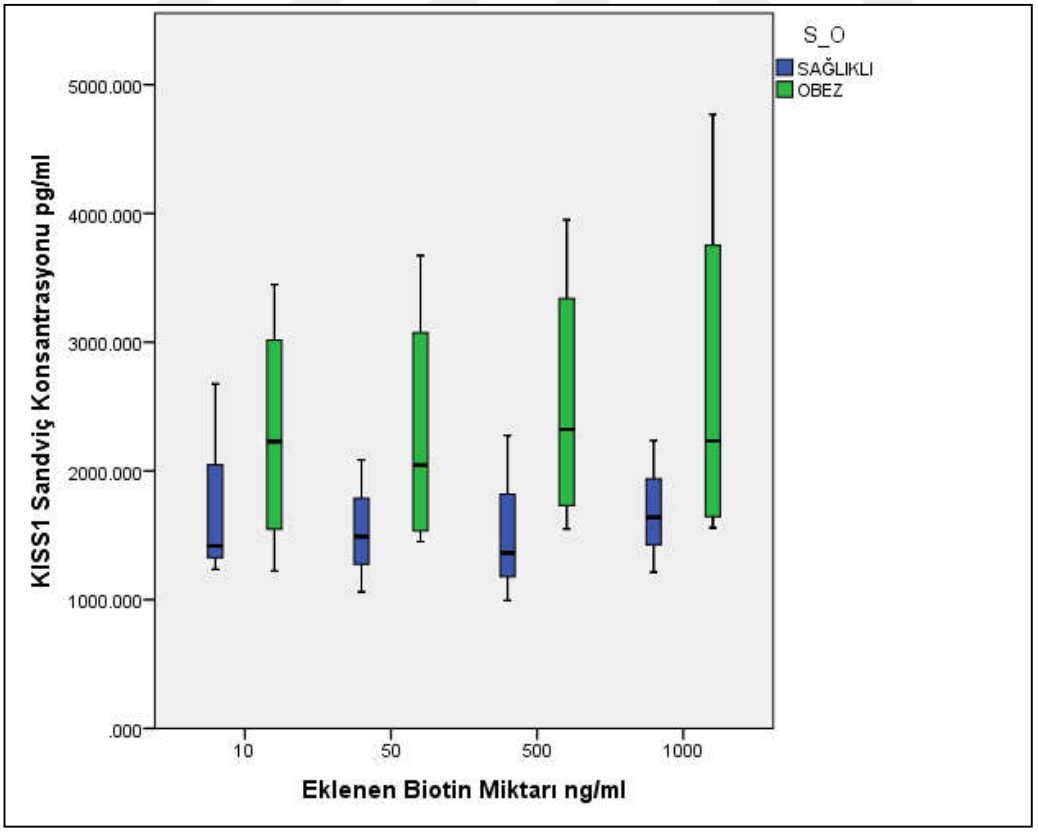
Şekil 4.3-9: Sağlıklı ve obez gruplarda biotin miktarı ile ELISA parametrelerinin konsantrasyonlarını gösteren grafik (Devam).



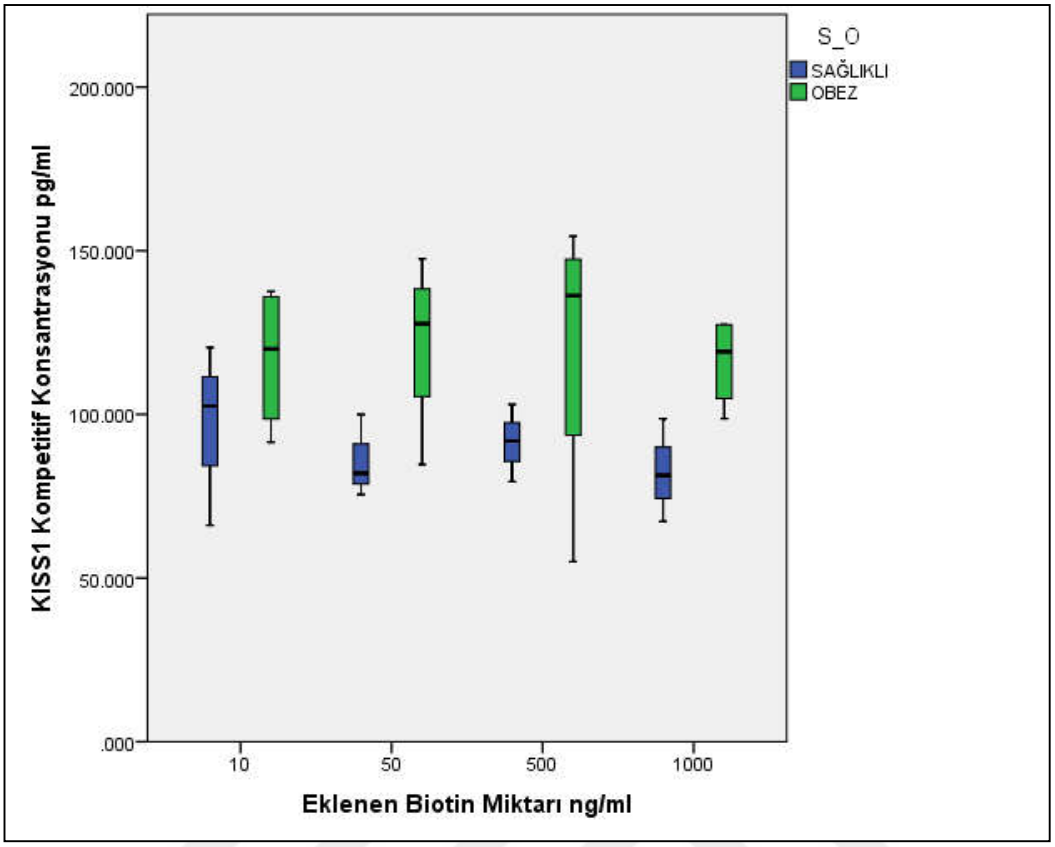


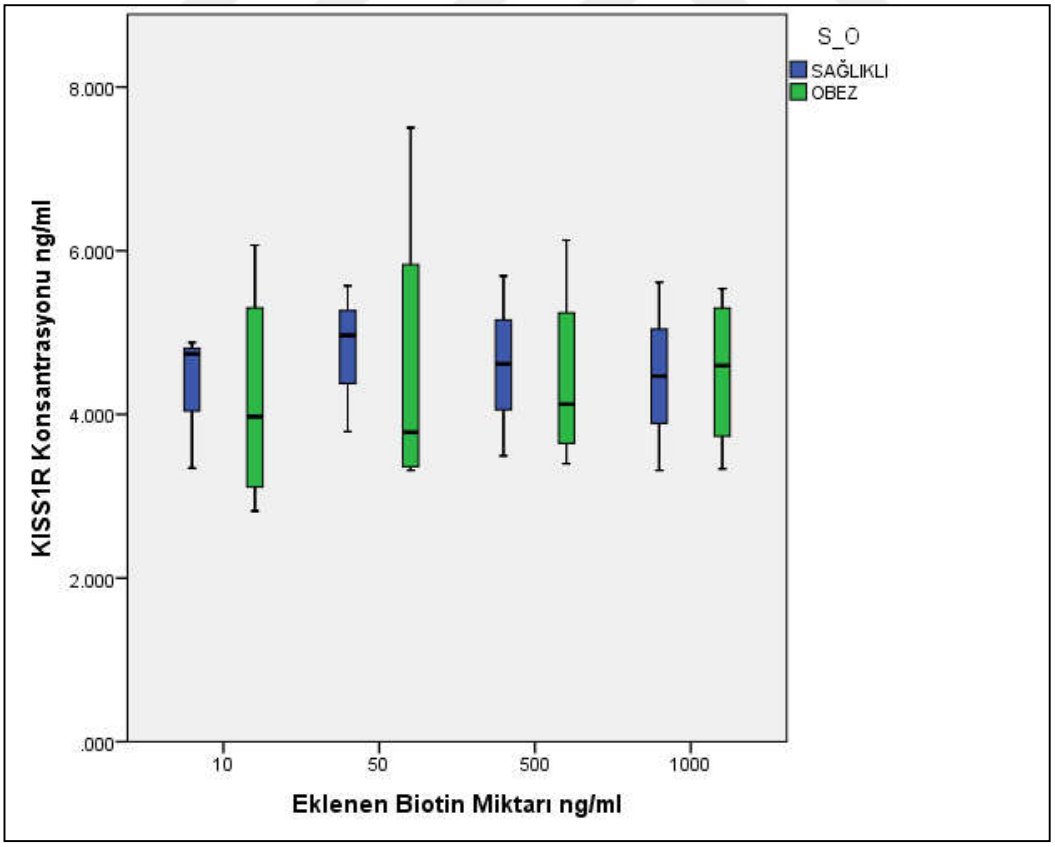
Şekil 4.3-9: Sağlıklı ve obez gruplarda biotin miktarı ile ELISA parametrelerinin konsantrasyonlarını gösteren grafik (Devam).



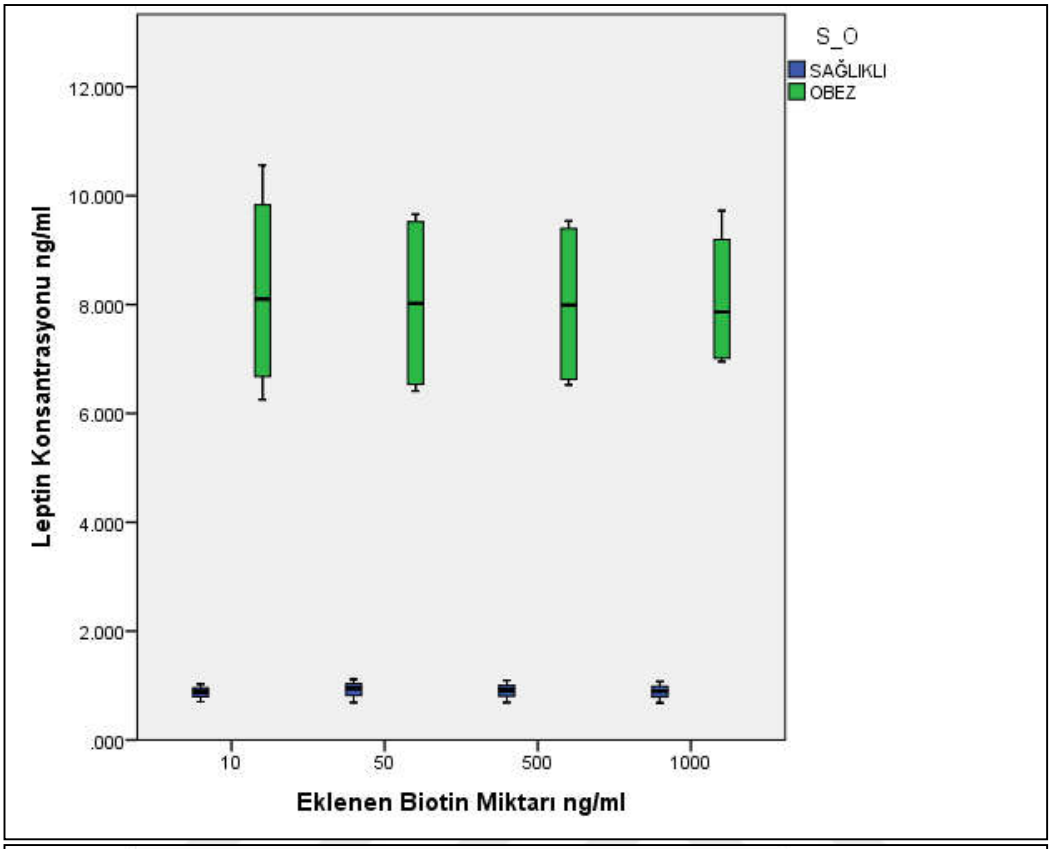


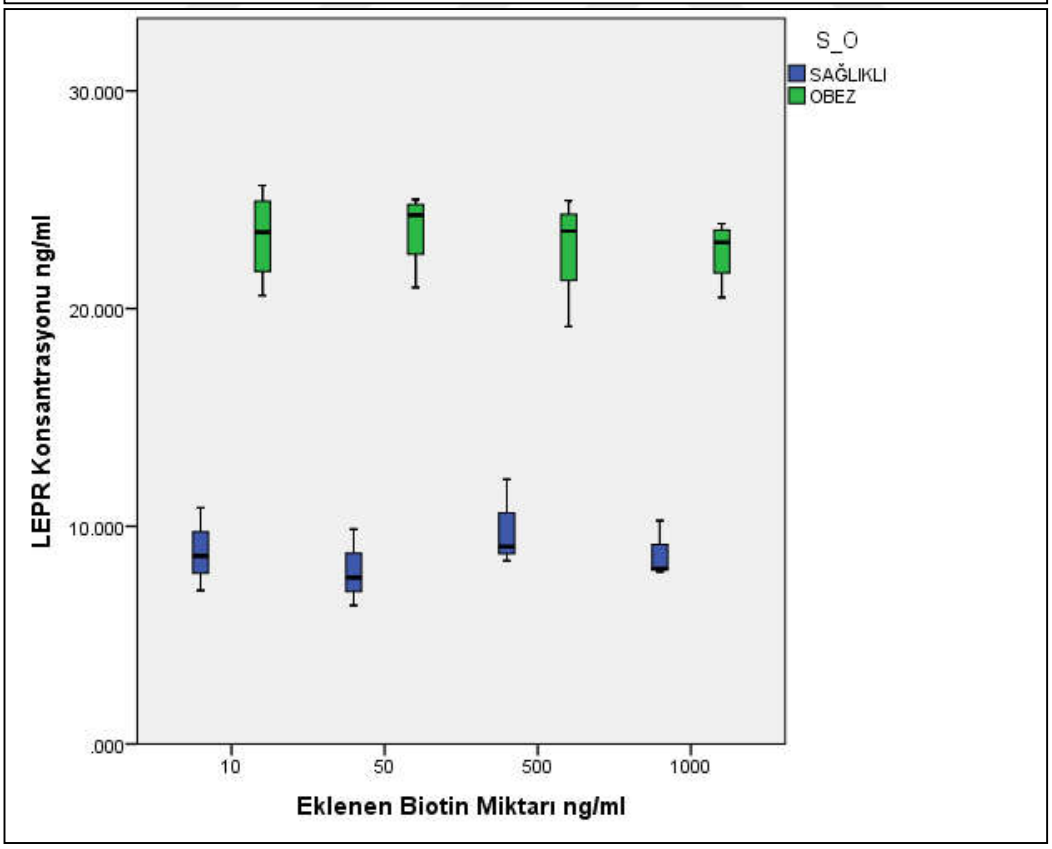
Şekil 4.3-9: Sağlıklı ve obez gruplarda biotin miktarı ile ELISA parametrelerinin konsantrasyonlarını gösteren grafik (Devam).



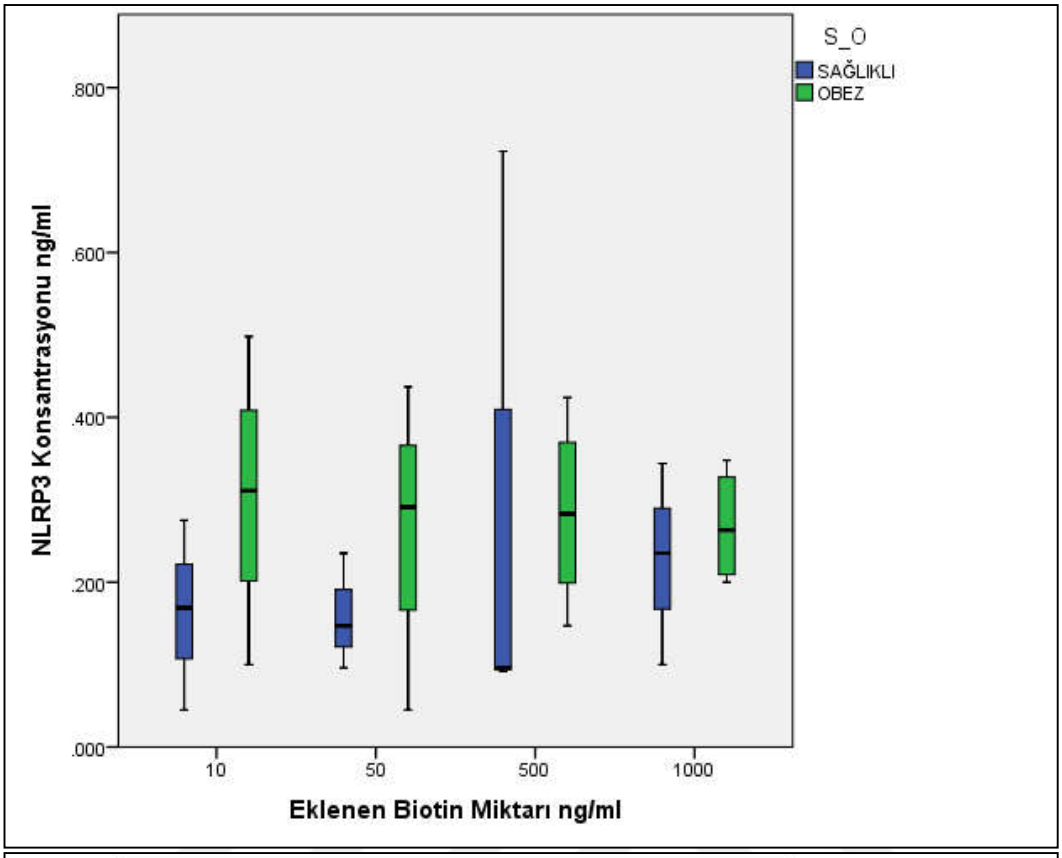


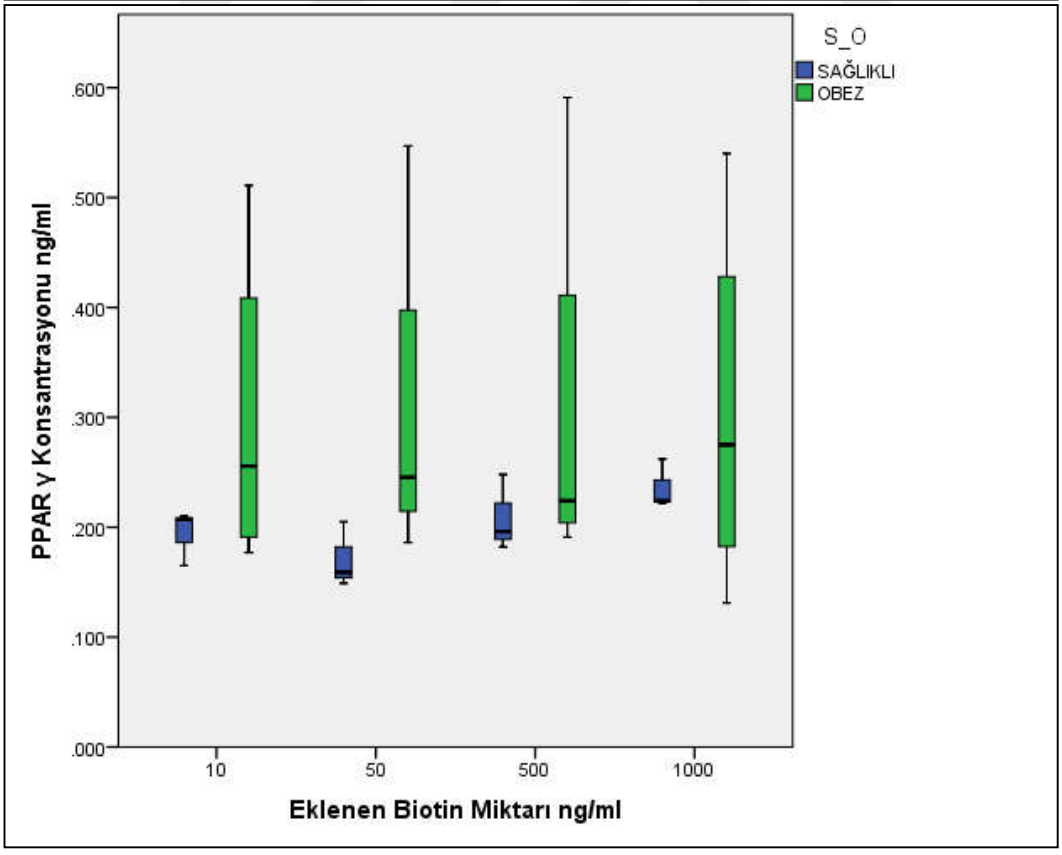
Şekil 4.3-9: Sağlıklı ve obez gruplarda biotin miktarı ile ELISA parametrelerinin konsantrasyonlarını gösteren grafik (Devam).



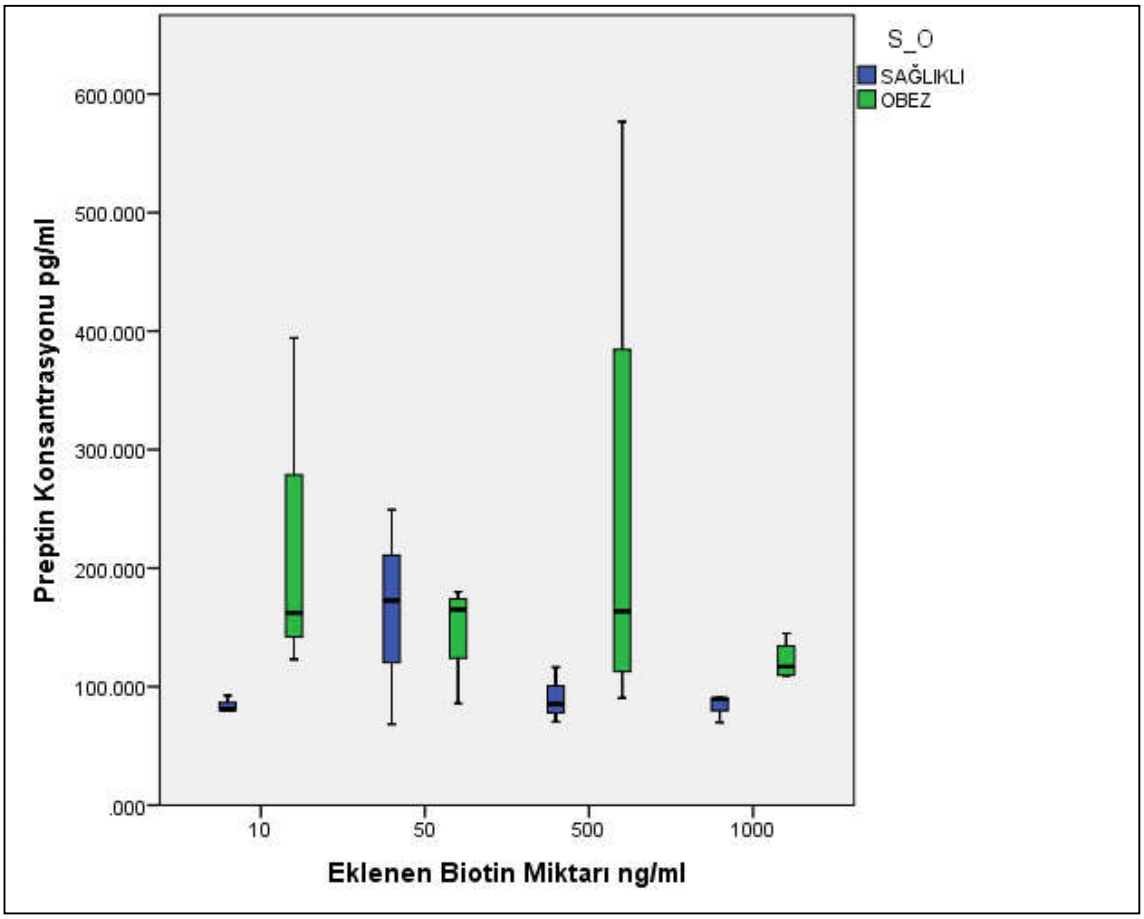


Şekil 4.3-9: Sağlıklı ve obez gruplarda biotin miktarı ile ELISA parametrelerinin konsantrasyonlarını gösteren grafik (Devam).





Şekil 4.3-9: Sağlıklı ve obez gruplarda biotin miktarı ile ELISA parametrelerinin konsantrasyonlarını gösteren grafik (Devam).



Şekil 4.3-9: Sağlıklı ve obez gruplarda biotin miktarı ile ELISA parametrelerinin konsantrasyonlarını gösteren grafik (Devam).

5. TARTIŞMA

Son elli yıl içerisinde pediatrik obezite prevalansı dünya genelinde ciddi biçimde artış göstermiştir. Çocuklarda obeziteyi değerlendirmek için yaşa ve cinsiyete özgü BKİ yüzdeliklerine göre değerler kullanılabilir. Pediatrik obezitedeki artışa, diyet ve aktivite ile ilgili alışkanlıklardaki değişiklikler, şekerle tatlandırılmış ürünlerin yüksek oranda tüketilmesi, enerji alımındaki dengesizlikler, genetik yatkınlık ve sosyoekonomik nedenler gibi faktörler aracılık etmektedir (231).

Otuz kontrol ve otuz obez çocuğu içeren çalışmamızda obez grubunda BKİ, 26,5 ± 3,7 kg/m^2 (ortalama ± SS) ve kontrol grubunda ise 17,3 ± 2,8 kg/m^2 (ortalama ± SS) olarak saptanmıştır. Kontrol ve obez gruplar arasında BKİ, bel, kalça, baş, boyun çevresi parametreleri açısından önemli derecede anlamlı ($p<0,001$), bel çevresi/kalça çevresi parametresinde anlamlı ($p<0,05$), baş çevresi/boyun çevresi, (bel çevresi+kalça çevresi) /2, bel çevresi×boyun çevresi, (boy/2) /bel çevresi, (boy/2) /kalça çevresi parametrelerinde ise önemli derecede ($p<0,001$) anlamlı bir fark gözlemlenmişken, yaş parametresinde anlamlı bir fark bulunamamıştır. Kontrol ve obez gruplar arasında tüm antropometrik verilerde önemli ölçüde pozitif yönde korelasyon olduğu gösterilmiştir ($p\leq0,001$).

Leptin melanokortin yolu gibi nöroendokrin homeostatik mekanizmalar ve hedonik ödül yolları gibi homeostatik olmayan mekanizmalar tarafından düzenlenen enerji dengesi oldukça karmaşıktır. Hem enerji alımını hem de harcamasını kontrol etmede merkezi sinir sistemi kilit bir rol oynamaktadır. Biyolojik, davranışsal veya çevresel faktörler gibi farklı nedenlerle enerji harcanmasına göre alımında meydana gelen dengesizlikler obezite veya düşük kilo ile sonuçlanabilir. Her ikisi de endokrin işlevlerde daha fazla düzensizliğe neden olur (232).

Leptin pediatrik obezite ve enerji homeostazı ile yakından ilişkili bir peptit hormondur. Uzun süreli enerji dengesinin korunmasında etkindir bunu insülin duyarlılığını artırarak ve hücre içi lipidleri azaltarak sağlamakta, anoreksijenik etki göstermekte, insülin ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde rol almaktadır (105, 99). Bu etkiyi JAK/STAT mekanizmasını kullanan leptin

reseptörü (LEPR) ile gösterir (98, 99). Voigtmann ve arkadaşlarının çalışmasında leptin-LEPR eksenindeki eksikliklerin, insanlarda ciddi ve potansiyel olarak tedavi edilebilir obeziteye yol açtığı gösterilmiştir (233). Obez bireylerin normal dinlenme enerji harcamasına sahipken bile neredeyse her zaman hiperleptinemik olduğu bilinmektedir (234, 235). Tsiroukidou ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada obez çocuklardaki leptin düzeyleri zayıf kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (236). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da leptin ve LEPR düzeylerinin obez çocuklarda kontrol grubuna göre önemli seviyede yüksek olduğu gösterilmiştir ($p<0,001$).

Grelin en önemli oreksijenik hormondur ve açlıkta yemeklerden hemen önce yükselir (82, 237). Grelin beyinde büyüme hormonu, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve sempatik sinir sistemi üzerinden etki ederek yiyecek alımını teşvik eder, adrenal bezlerde epinefrin ve kortizolü arttırır, yağ dokusunda lipolizi ve midede gastrik boşalmayı arttırırken, kasta glukoz alımını azaltır, pankreasta somatostatini arttırır, insülin ve glukagon sekresyonunu azaltır. Pankreas β-hücre fonksiyonunu azaltarak, insülin etkisini azaltır ve böylece glukoz homeostazını sağlar (238).

Zigman ve arkadaşlarının çalışması GHSR'si tamamen bloke edilen farelerde obezitenin engellendiğini gösterirken (135), Briggs ve arkadaşları ise obezitesi olan farelerde grelin seviyelerinin azaldığını ve GHSR mRNA ekspresyonunun baskıladığını bu durumun grelin direnci oluşumundan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir (137).

Obez çocuklar ve adolesanlarda yapılan birçok araştırmada sağlıklı çocuklara oranla grelin düzeyleri daha düşük bulunmuştur (153-156). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da grelin kompetitif ($p<0,05$) ve GHSR ($p<0,05$) parametreleri obez çocuklarda sağlıklı çocuklara göre daha düşük bulunmuştur. Sandviç ELISA yöntemiyle çalışıldığında ise grelin parametresi anlamsız bulunmuştur.

Açile grelin değerleri obez grupta sağlıklı gruba yakın bulunmuş ve deaçile grelin ($p<0,05$) düzeyleri ise obez grupta sağlıklı gruba göre anlamlı şekilde yüksek tespit edilmiştir. Yetişkinlerde yapılan çalışmalar obez bireylerde açile grelin düzeylerinin yüksek, deaçile grelin düzeylerinin ise düşük olduğunu deaçile

grelinin iştahı baskılayıcı yönde etki ettiğini göstermektedir (177, 239). Toshinai ve arkadaşları GHSR'si eksik farelerde yaptıkları çalışmada dışarıdan verilen deaçile grelinin gıda alımını teşvik ettiğini ortaya koymuşlardır (140). Bizim çalışmamız obez çocuk ve adolesanlarda deaçile grelin düzeylerinin yüksek, grelin ve GHSR düzeylerinin ise düşük olduğunu göstermektedir. Bu durum GHSR'si baskılanmış olan obez çocuklarda yüksek deaçile grelin düzeylerinin gıda alımını teşvik ettiği ve deaçile grelinin farklı proteinler üzerinden etki edebileceği yönünde yorumlanabilir.

Çalışmamız obez çocuklarda kandaki grelin ve GHSR düzeylerinin düşük olmasının nedeninin, çocuklarda obeziteye karşıt olarak geliştirilmiş grelin direncinden kaynaklanabileceğini ortaya koymaktadır.

Yapılan birçok deneysel çalışma KISS1 ve KISS1R sinyalinin vücut ağırlığı ve enerji harcaması, yağlanma ve yağ dokusu işlevi, gıda alımı, glukoz metabolizması üzerinde etkin olabileceğini göstermektedir (240). Calcaterra ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada KISS1 düzeyleri obez, tip 1 diyabet ve insülin direnci olan genç kadınlarda sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (241). Ayrıca Sithinamsuwan ve arkaşlarının yaptığı çalışmada prediyabet hemoglobin A1c (HbA1c)'si olan pubertal obez çocuklarda serum KISS1 düzeyleri, normal HbA1c'li olanlardan daha yüksek ve serum KISS1, HbA1c arasında pozitif bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (242). Ayrıca Bolotova ve arkadaşlarının çalışmasında obez çocuklarda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek değerde leptin ve KISS1 düzeyleri bulunmuştur (173). Tüm bu çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da obez çocuklarda kontrol grubuna göre hem KISS1 kompetitif ($p<0,05$) hem de KISS1 sandviç ($p<0,05$) parametresinde anlamlı bir yükseliş vardır.

Glukagon, karaciğerdeki KISS üretimini ve KISS1R sinyalizasyonunu arttırarak glukoz ile uyarılan insülin sekresyonunu inhibe eder (168, 243) bunu KISS'in pankreas β hücrelerinde bulunan KISS1R'nin aktivasyonu ile gerçekleştirmektedir (243-245). Tolson ve arkadaşları yetişkin dişi KISS1R KO farelerinde, bozulmuş glukoz toleransı, artmış vücut ağırlığı, yükselmiş leptin düzeyleri ve adipozite geliştirdiklerini göstermiştir (21). Bizim çalışmamızda da benzer bir şekilde obez grupta kontrol grubuna göre KISS1 konsantrasyonları daha

yüksek, KISS1R konsantrasyonları ise istatistiksel açıdan anlamlı olmasa da obez grupta daha düşük bulunmuştur.

34 aminoasitli bir peptit hormonu olan preptin pankreas β hücreleri tarafından salgılanan pro-IGF-II'nin bir türevidir ve glukoz aracılı insülin sekresyonunu arttırdığı bilinmektedir (25, 174, 246). Bunu yüksek glukoz konsantrasyonlarında, insülin benzeri büyüme faktörü II reseptörünü aktive ederek kalsiyuma bağımlı bir şekilde yapmaktadır (178). Rahimi ve arkadaşlarının çalışmasında 44 metabolik sendromu olan obez hastalarda yüksek olan preptin değerlerinin egzersiz ile düştüğü gösterilmiştir (247). Yoldemir ve Altun'un çalışmasında, insülin direnci olan hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre preptin düzeylerinin yüksek olduğu ayrıca preptin ile HOMA-IR, açlık insülini, BKİ ve trigliserit arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (248). El-eshmawy ve Aal çalışmasında da obez ve aşırı kilolu deneklerde kontrollere göre preptin düzeyleri anlamlı olarak daha yüksektir (179). Bizim çalışmamızda da preptin düzeyleri obez çocuklarda, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

Obezite ve tip II diyabet ile yakından ilişkili olan PPAR γ adipogenezin en önemli düzenleyicilerinden biridir (249). PPAR γ'nın adipoz hücre gelişimini ve adiposit farklılaşmasını sağladığı, yağ dokusunda yüksek seviyelerde eksprese edildiği, glukoz-lipid metabolizması, insülin direnci, enflamasyon, yaşlanma ve gebelik gibi fizyolojik koşullar ile yakından ilişkili olduğu, dolayısıyla enerji metabolizması düzenlenmesinde son derece etkin olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (250-252). Wang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada yağ dokusuna özgü PPAR γ delesyonu olan farelerde, PPAR γ kaybının ciddi oranda yağ dokusu kaybı, şiddetli insülin direnci ve diyabete, yağlı karaciğere ve yağ dokusu içeren kemik, deri, meme bezlerinin anormalliklerine neden olduğunu göstermiştir (253). PPAR γ'daki heterozigot mutasyonların insan lipodistrofilerine neden olduğu bilinmektedir (252, 254). Martínez-Jiménez ve arkadaşları yaptıkları çalışmada obez bireylerde normal kilolulara göre deri altı yağ dokusunda PPAR γ ekspresyonunun arttığını bulmuşlardır (187). Bizim çalışmamızda da PPAR γ düzeyleri obez çocuklarda, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

Nod-like receptor pyrin domain-containing 3 inflamasomu, enflamasyonu tanıma özelliğine sahip bir sensör proteini olan NLRP3, bir adaptör proteini olan ASC ve efektör bir enzim olan kaspaz-1'den oluşmaktadır. İnflamasomun aktive edilmesi, kaspaz-1 aktivasyonuna neden olur ve böylece proinflamatuvar sitokinler olan IL-1β ve IL-18 olgunlaşarak salgılanabilir (255-257). Obezitedeki aşırı yağ dokusu oluşumu kronik enflamasyonu tetikleyerek bozulmuş anjiyogenez, lokal hipoksi, değiştirilmiş hücre dışı matrisin yeniden şekillenmesi ve fibrozis ile karakterize edilen işlevsiz bir adipoz dokusu ortaya çıkmasına neden olmaktadır (258, 259). Bugün obezite ve obezite ile ilişkili diğer bir çok hastalıktaki adipoz doku kaynaklı enflamasyonun NLRP3 ve IL-1β yolağı üzerinden olabileceği düşünülmektedir (258). Rainone ve arkadaşlarının obez ve normal kilolu çocuklardaki çalışmasında, obez çocuklarda kontrol grubuna göre NLRP3 ve IL-18 değerlerinin yüksek olduğu 18 aylık diyet rejimi, fiziksel aktivite ve davranışsal müdahaleler sonucunda ise BKİ'deki düşüşle birlikte bu değerlerde azalma meydana geldiği bulunmuştur (42). Unamuno ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kontrol grubuna göre, obez ve obezite ile ilişkili tip 2 diyabet hastalarında visseral yağ dokusu ve karaciğerde NLRP3, IL-1β ve IL-18'in ekspresyon düzeylerinin arttığını göstermiştir. Ayrıca NLRP3 inhibisyonunun, adipoz doku enflamasyonunu azalttığı yönünde kanıtlar olduğunu ileri sürmüşlerdir (258). Bizim çalışmamızda da NLRP3 değerleri obez çocuklarda, normal kilolu çocuklara göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

İnterlökin 18, IL-1 ailesine ait bir reseptör agonisti olarak işlev yapan enflamasyonda görevli sitokinlerden biridir (260, 261). Obezitenin düşük dereceli enflamasyon gelişiminde önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Obez bireylerde, adipoz dokudan proinflamatuar moleküllerin yüksek oranda salınımı ile oluşan kronik enflamasyon, insülin direnci, tip 2 diyabet, metabolik sendrom ve kardiovasküler problemler gibi hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir (192, 262-264). IL-18'in insan adipoz dokusu tarafından da üretilip salındığı bilinmektedir (192, 265). Oluwagbemigun ve arkadaşlarının çalışmasında fazla kilolu erkeklerde düşük-normal kilolu erkeklere oranla IL-18 düzeyleri daha yüksek bulunmuş ve BKİ ile IL-18 arasındaki ilişkiye dikkat çekilmiştir (266). Yine Wang ve arkadaşlarının çalışmasında da obez çocuklarda normal kilolu çocuklara göre IL-

18 düzeyleri daha yüksek bulunmuş ve BKİ ile arasında bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir (267). Bizim çalışmamızda ise obez çocuklarda IL-18 düzeyleri, normal çocuklara oranla biraz daha yüksek olmasına rağmen anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Bu durum NLRP3 üzerinden IL-1β ve IL-18 aktivasyonunun obezitede ortaya çıkan düşük dereceli enflamasyonda yolağın daha çok IL-1β üzerinden gerçekleştiği IL-18'in ise minör bir etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızdaki ELISA parametrelerinin ve antropometrik parametrelerin korelasyon analizlerinde;

Çocuk ve adolesanlarda yapılan bir çalışmada leptin ve BKİ değerleri arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir (268). Yine bir başka çalışmada obez kız ve erkek çocuklarda leptin ve antropometrik verilerden bel çevresi, toplam yağ kütlesi ve insülin değerleri ile BKİ'nin artması arasında önemli derecede güçlü bir korelasyon olduğu gösterilmiş ve yüksek leptin oranları insülin direnci ve kardiyometabolik komorbiditelerle ilişkilendirilmiştir (269). Aşırı kilolu/obez ve BKİ değerleri normal aralıkta olan Suudi çocuklarda yapılan bir başka çalışma serum leptin, insülin, açlık kan şekeri, total kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein, BKİ, bel çevresi, kalça çevresi ve bel/kalça oranı değerlerinin aşırı kilolu/obez çocuklarda normal çocuklara oranla çok daha yüksek olduğunu, ayrıca LEPR gen varyantlarının ve yüksek serum leptin düzeylerinin çocukluk çağı obezitesi ile yakından ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (270).

Bizim çalışmamızda da benzer bir şekilde obez çocuklarda kandaki leptin değerleri sağlıklı çocuklara oranla çok daha yüksek bulunmuştur. Obez çocuklarda leptin ile yaş, BKİ, antropometrik verilerden bel, kalça, baş, boyun çevresi arasında pozitif bir korelasyon ($p<0,05$, $p<0,01$) saptanmıştır. Kontrol grubunda yaş, BKİ, bel, kalça, baş, boyun çevresi arasında leptin ve LEPR ile pozitif yönde ($p<0,05$, $p<0,01$, $p\leq0,001$) korelasyon var iken obez grubunda LEPR parametresi ve baş çevresi arasında pozitif korelasyon ($r=0,376$ $p<0,05$) bulunmuştur. Açile grelin düzeyleri obez çocuklarda yaş ($r=0,392$ $p<0,05$) ve kalça çevresi ($r=0,379$ $p<0,05$) ile pozitif bir korelasyon göstermiştir. Kontrol grubunda GHSR ile yaş ($r=-0,737$ $p\leq0,001$), BKİ ($r=-0,578$ $p\leq0,001$), bel çevresi ($r=-0,560$ $p\leq0,001$), kalça çevresi ($r=-0,599$ $p\leq0,001$), boyun çevresi ($r=-0,374$ $p<0,05$) arasında

negatif korelasyonlar saptanırken, obez çocuklarda GHSR ile bel çevresi ve boyun çevresi arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır.

Kontrol ve obez gruplar karşılaştırıldığında obez grupta leptin ve IL-18 parametreleri arasında negatif yönde ($r=-0,373$ $p<0,05$) bir korelasyon bulunmuştur. Leptin obezitedeki düşük enflamasyon ile yakından ilişkilidir (271). Leptin ve IL-18 düzeyleri obez çocuklarda korele bir şekilde artış göstermektedir (267). Ayrıca Yang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada obez hastalarda yüksek olan IL-1β değerlerinin kilo verme ameliyatından sonra düştüğünü tespit etmişlerdir (272). Bu durum obez bireylerdeki düşük enflamasyonunun NLRP3 üzerinden IL-1β ile gerçekleşebileceğini göstermektedir. Bizim çalışmamızda leptin ve IL-18 arasında negatif bir korelasyon görülmesinin nedeni obezitedeki düşük dereceli enflamasyonun daha çok NLPR3 üzerinden IL-1β yolağının aktifleşmesi ile meydana gelmesinden kaynaklanabilir ve çalışmamızdaki IL-18 düzeylerinde, obez çocuklar ile normal BKİ'li çocuklar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmaması da bu durumu desteklemektedir.

Kontrol grubunda GHSR ile LEPR arasında ($r=-0,368$ $p<0,05$) negatif bir korelasyon var iken obez grupta herhangi bir korelasyon bulunamamıştır. Obez çocuklarda grelin direnci oluşmakta kandaki grelin ve GHSR düzeyleri düşmekte, leptin ve LEPR düzeyleri ise artış göstermektedir. Fakat obez çocuklardaki enerji homeostazının sağlanmasında GHSR ve LEPR parametreleri açısından herhangi bir ilişki saptanamamıştır.

Briggs ve arkadaşlarının çalışması diyete bağlı obezitenin GHSR mRNA ekspresyonunu baskıladığını, ayrıca hipotalamusun arkuat çekirdeğindeki NPY/AGRP nöronal fonksiyonunu bozarak greline yanıtı azalttığı ve grelin direncinin meydana geldiğini ortaya koymuştur (136, 137). Bizim çalışmamızda obez çocuklarda hem grelin kompetitif parametresi hemde GHSR değerlerinin düşük oluşu obez çocuklardaki grelin direnci oluşumunu desteklemektedir. Obez çocuklardaki grelin duyarlılığının azalması ile grelin direnci oluşmakta ve birikmiş yağ dokusundaki düşük dereceli enflamasyon daha çok NLRP3'ün ekspresyon artışı ile IL-1β yolağının aktifleşmesi ile meydana gelmektedir. Kontrol grubunda grelin kompetitif parametresi ile NLRP3 parametresi arasında herhangi bir korelasyon bulunmazken obez grupta grelin kompetitif parametresi

ile NLRP3 parametresi arasında (r=-0,487 p<0,01) negatif bir korelasyon oluşu ayrıca kontrol grubunda açile grelin ile GHSR (r=0,383 p<0,05) ve IL-18 (r=0,427 p<0,05) parametreleri arasında pozitif yönde bir korelasyon var iken obez grupta herhangi bir korelasyon olmaması, benzer şekilde kontrol grubunda deaçile grelin ile GHSR (r=0,387 p<0,05) ve IL-18 (r=0,485 p<0,01) parametreleri arasında pozitif yönde korelasyonlar bulunmuşken obez grupta herhangi bir korelasyon olmaması da IL-18'in çocuklardaki obezitede minör etki gösterdiğinin bir kanıtıdır.

Kontrol grubunda grelin kompetitif parametresi ile açile grelin parametresi arasında (r=-0,471 p<0,01) ve grelin kompetitif parametresi ile deaçile grelin (r=-0,377 p<0,05) parametreleri arasında negatif korelasyonlar gözlenirken obez grupta herhangi bir korelasyon görülmemektedir. Bu durum obez çocuklarda grelin direnci oluşumunu ortaya koymaktadır.

Obez grupta deaçile grelin ile preptin parametresi arasında (r=0,409 p<0,05) pozitif bir korelasyon var iken kontrol grubunda herhangi bir korelasyon bulunmamaktadır. Çalışmamızda obez çocuklarda deaçile grelin düzeylerinin artışı ilk kez ortaya konmuştur. Ayrıca obez yetişkinlerde preptin düzeyleri sağlıklı bireylere göre yüksek bulunmuştur (177, 179). Biz de bu çalışmalarla tutarlı bir şekilde obez çocuklarda sağlıklı çocuklara göre preptin düzeylerini yüksek bulduk, bu durum obez çocuklardaki deaçile grelin ile preptin parametresi arasındaki pozitif korelasyonu (r=0,409 p<0,05) açıklamaktadır.

Kontrol grubunda preptin ve KISS1R parametresi arasında (r=-0,372 p<0,05) negatif bir korelasyon var iken obez grubunda herhangi bir korelasyon bulunamamıştır. Obez ve sağlıklı çocuklar arasında KISS1R parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmayışı bu durumu açıklamaktadır.

Obezitede PPAR γ ekspresyonunun arttığı bilinmektedir. Çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Obez çocuklarda PPAR γ ile IL-18 arasında (r=0,427 p<0,05) pozitif bir korelasyon var iken kontrol grubunda herhangi bir korelasyon görülmemiştir. PPAR γ aktivasyonunun, obezite sırasında yağ dokusunun düşük enflamasyon ile sonuçlanan adiposit farklılaşmasını destekleyebileceği düşünülmektedir (273). Yang ve arkadaşlarının çalışması PPAR γ'nın NLRP3 inflamatuar aktivasyonu için endojen bir modülatör görevi

gördüğünü ve bu etkileşimin anormal IL-1β aracılı inflamatuar tepkileri sınırlamak için önemli olduğunu ortaya koymuştur (272). Çalışmamızda obez çocuklardaki serum PPAR γ değerleri yüksek çıkarken IL-18 serum değerleri kısmen yüksek olsa da istatistiksel olarak anlamlı gelmemiştir bu durum PPAR γ'nın NLRP3 inflamatuar aktivasyonu üzerinde inhibitör etkisi olabileceği ve bu nedenle PPAR γ'nın IL-18'i baskılayabileceğini dolayısıyla obezitedeki düşük enflamasyon oluşumunu açıklamaktadır.

Enerji homeostazının korunması çocuklar ve adolesanlar için oldukça önemlidir. Çünkü enerji alımındaki artış ile enerji dengesinin pozitif yöne kayması ve yıllar içerisinde vücut kitlesinin artması enerji homeostazını bozarak uzun vadede obeziteye neden olabilir (75).

Bu tez çalışmasında, sağlıklı çocuklara göre obez çocuklarda leptin, LEPR, deaçile grelin, KISS1 sandviç, KISS1 kompetitif, NLPR3, preptin, PPAR γ düzeylerinin anlamlı derecede yüksek, grelin kompetitif, GHSR parametrelerine ilişkin düzeylerin ise anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir. Sağlıklı ve obez çocuklarda enerji homeostazındaki değişimleri gösteren parametreler ve onların reseptörleriyle ilişkilerini, sandviç ve kompetitif ELISA yöntemleriyle karşılaştırmalı olarak analiz eden bir çalışmanın henüz yapılmamış olması, çalışmamızın özgün değerini göstermektedir. Tüm bu parametreler ve reseptörlerinde gözlenen değişiklikler çocuklarda enerji homeostazı ile yakından ilişkili olup, ilerleyen zamanlarda obezitenin tanı, tedavi ve komplikasyonlarının belirlenmesinde yol gösterici olabileceği düşüncesini ortaya koymaktadır.

H vitamini olarak da adlandırılan biotin suda çözünen bir vitamindir ve glukoneogenezde, yağ asidi sentezinde gerçekleşen karboksilasyon reaksiyonlarında koenzim olarak kullanılmaktadır. Barsak florası tarafından yeterince sentezlenmektedir. Eksikliği aylarca parenteral beslenme ile beslenen ve biotine bağlanarak onu emilimi için kullanılamaz hale getiren bir protein olan avidin içeren çok yüksek miktarlarda pişmemiş yumurta akı yiyen çok az sayıda kişi dışında bilinmemektedir. Eksikliğinde bozulmuş yağ ve karbohidrat metabolizması ile dermatit görülebilir (274).

Doğum öncesi, saç, cilt ve tırnak büyümesi için kullanılan takviyeler de dahil olmak üzere multivitaminlerde sıklıkla yüksek seviyelerde bulunan biotinin

belirli laboratuvar testlerinde önemli ölçüde interferans yarattığı ve tespit edilemeyen yanlış sonuçlara neden olabileceği konusunda uyarılar bulunmaktadır (55).

Bizim çalışmamızda örneklerin biotin sandviç ELISA kiti ve biotin kompetitif ELISA kiti ile ölçülen değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönde bir korelasyon olduğu gösterilmiştir ($r=0,286$ $p<0,01$). Ayrıca kontrol ve obez grupların karşılaştırılmasında biotin sandviç parametresi obezlerde istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük ($p\leq0,001$) bulunmuşken, biotin kompetitif parametresi açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmemiştir. İki farklı yöntemle çalışılan biotin parametresi değerlerinin korelasyon analizinde sadece kontrol grubunda pozitif yönde bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir ($r=0,572$ $p<0,001$). Çocuk ve adolesanlarda yapılan bir çalışmada diyetle biotin alımı, obezite ve yağlanma arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir (275). Ayrıca obez yetişkinlerde bariatrik cerrahi öncesi ve sonrasında kandaki biotin değerlerinde herhangi bir değişim olmadığı gösterilmiştir (276). Bizim çalışmamızda da kompetitif yöntemle çalışılan biotin parametresi açısından kontrol ve obez gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

Çocuklarda kandaki normal biotin düzeyleri yetişkinlere göre daha düşüktür. 0-4 yaş arası çocuklarda serum biotin değerlerinin normal aralığı 4,7-22,0 ng/dl, yetişkinlerde ise 8,4-20.5 ng/dl olarak ölçülmüştür (277). 6-12 yaş çocuklardaki normal serum biotin değerleri ise Ort±SS, 14±5,01 ng/dl, median 12,99 ng/dl olarak tespit edilmiştir (278). Serum havuzu oluşturarak yaptığımız çalışmada obez grupta biotin ilavesi yapılmadan ölçülen normal değer sandviç ELISA yöntemiyle medyan=66,035 ng/ml kompetitif ELISA yöntemiyle medyan=7,420 ng/ml olarak ölçülmüştür. Kontrol grubunda ise biotin ilavesi yapılmadan ölçülen normal değer sandviç ELISA yöntemiyle medyan=83,034 ng/ml, kompetitif ELISA yöntemiyle medyan= 6,600 ng/ml olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre özellikle sandviç ELISA yöntemiyle ölçülen biotin konsantrasyonları hem obez hem de sağlıklı çocuklarda oldukça yüksek tespit edilmiştir. Kontrol ve obez gruplar arasında eklenen biotin miktarına göre istatistiksel açıdan bir fark yoktur. Fakat obez çocuklarda normal biotin değerleri

sandviç prensiple çalışan kitte kontrol grubuna göre daha düşük kompetitif prensiple çalışan ELISA kitinde ise kontrol grubuna göre daha yüksek olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda kullandığımız BT-LAB marka biotin sandviç ELISA kiti ile CUSABIO marka kompetitif ELISA kitinin biotin konsantrasyonları arasında ciddi oranda fark vardır. Kandan yapılan ölçümlere göre çocuklarda sandviç ELISA kitindeki gibi yüksek biotin değerlerin ölçülmesi çokta mümkün değildir. Çocuklarda kandaki normal biotin değerlerinin aralığı kompetitif kit ile ölçülen biotin değerleriyle uyumludur. Bu durum BT-LAB marka biotin sandviç ELISA kitinde ciddi oranda interferans olabileceği ve kompetitif yöntem ile ölçülen biotin konsantrasyonlarının daha doğru sonuç verebileceğini göstermektedir.

Günümüzde immünokimyasal yöntemler oldukça sık kullanılmakta bunlarında yaklaşık %85'i streptavidin ve biotin arasındaki etkileşimin söz konusu olduğu prensiplerle çalışmaktadır. Kozmetik veya sağlıkla ilgili nedenlerle yüksek doz biotin takviyelerinin tüketilmesinin, streptavidin-biotin bağlama mekanizmalarını kullanan laboratuvar testlerinide, biotinlenmiş kompetitif testlerde pozitif ve sandviç immünolojik testlerde ise negatif etkileşim oluşturarak klinik olarak önemli hatalara neden olabileceği çeşitli vaka raporları ve in vivo çalışmalar ile gösterilmiştir (56, 57, 61). Amerikan Klinik Kimya Derneği (AACC)'nin raporuna göre, laboratuvar testlerindeki biotin interferansını gösteren çalışmaların çoğunda TSH ve diğer tiroid fonksiyon testleri, PTH, ACTH, prolaktin, testosteron ve kortizol gibi endokrin testler yer almaktadır. Yine bu raporda, Beckman Coulter Inc., Roche Diagnostics, Ortho Clinical Diagnostics, Siemens gibi birçok üreticinin immünolojik yöntem kullandığı laboratuvar testleri için, klinik testlerin biotin etkileşim eşiklerinin veya biotin aracılı etkileşim derecelerinin neler olduğu belirtilmiştir (61). Bugüne kadar özellikle otomatize sistemler üzerinde biotin interferansını gösteren çalışmalar yapılmış, fakat birçok bilimsel araştırmada sıklıkla kullanılan manuel ELISA yöntemi için farklı biotin konsantrasyonlarının, değişik serum grupları üzerindeki olası etkilerini gösteren bir çalışma yapılmamıştır.

Biotin parametresinin alt gruplarına ilişkin yapılan istatistiksel analizde biotin sandviç parametresi önemli ölçüde anlamlı ($p<0,001$), biotin kompetitif

parametresi ise anlamlı bulunmuştur (p<0,01). Biotin sandviç analizindeki ikili grup karşılaştırmasında S1-O1 (p<0,01), S2-O2 (p<0,001), S3-O3 (p<0,001) ve S5-O5 (p<0,01) grupları arasında anlamlı bir fark var iken biotin kompetitif parametresinde ise sadece S2-O2 (p≤0,001) grupları arasında anlamlı bir fark söz konusudur. Biotin sandviç ELISA parametresinde genel olarak sağlıklı gruplarda obez gruplara göre daha yüksek biotin düzeyleri ölçülmüşken 5. grupta obez grubun sağlıklılara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca biotin kompetitif parametresinde ise bezen sağlıklı grup obezden, bazen ise obez grup sağlıklıdan daha yüksek olarak ölçülmüştür. Bu durum kitlerde biotin interferansı nedeniyle hatalı sonuçlar elde edibileceğini ortaya koymaktadır. Kabiri ve arkadaşlarının çalışması otomatize sistemlerde biotin interferansının sandviç yöntemde hem yanlış düşük, hem de yanlış yüksek sonuçlar alınabileceğini ortaya koymuştur (279). Genel olarak kompetitif testlerde pozitif ve sandviç immünolojik testlerde ise negatif etkileşim olduğu ifade edilse de bizim çalışmamız manuel ELISA kitlerinde her iki prensiple de yanlış düşük veya yanlış yüksek sonuçlar alınabileceğini göstermektedir.

10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlardaki biotinin manuel ELISA yöntemi ile çalışan NLRP3, leptin, grelin, açile grelin, deaçile grelin, KISS1, preptin, PPAR γ, LEPR, GHSR, KISS1R, IL-18 araştırma kitleri üzerinde yarattığı interferans etkisini belirlemek için yaptığımız çalışmada kontrol ve obez gruplar arasında açile grelin (p<0,001), deaçile grelin (p<0,01), grelin (p<0,001), grelin kompetitif (p<0,001), IL-18 (p<0,01), leptin (p<0,001), LEPR (p<0,001), preptin (p<0,01), GHSR (p<0,05), KISS1 sandviç (p<0,05), KISS1 kompetitif (p<0,01) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Fakat NLRP3, PPAR γ, KISS1R parametreleri ise istatistiksel açıdan anlamlı değildir.

10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle yapılan ELISA parametreleri çalışmasında, parametrelerin birbirleriyle olan korelasyonları, sağlıklı grupta deaçile grelin ile preptin arasında (r=-0,629 p<0,05), grelin ile grelin kompetitif arasında (r=-0,643 p<0,05) negatif yönde, grelin kompetitif ve leptin arasında (r=0,834 p≤0,001), leptin ve NLRP3 arasında pozitif yönde (r=0,643 p<0,05), GHSR ile KISS1 sandviç arasında (r=-0,799 p<0,01) negatif yönde, yine GHSR ile KISS1 kompetitif arasında (r=0,641

p<0,05) ve GHSR ile KISS1R arasında (r=0,814 p≤0,001) pozitif yönde, KISS1 sandviç ile KISS1 kompetitif arasında (r=-0,775 p<0,01), KISS1 sandviç ile KISS1R arasında (r=-0,950 p<0,001) ve KISS1 sandviç ile LEPR arasında (r=-0,700 p<0,05) negatif yönde, KISS1R ve LEPR arasında (r=0,644 p<0,05) pozitif yönde anlamlı bir korelasyon vardır.

Obez grupta ise açile grelin ile PPAR γ arasında (r=-0,615 p<0,05), deaçile grelin ile preptin arasında (r=-0,741 p≤0,001), grelin ve grelin kompetitif arasında (r=-0,556 p<0,05), grelin kompetitif ile IL-18 arasında (r=-0,729 p≤0,001) ve grelin kompetitif ile NLRP3 arasında (r=-0,765 p≤0,001) negatif yönde, yine grelin kompetitif ile leptin arasında (r=0,576 p<0,05) ve grelin kompetitif ile PPAR γ arasında (r=0,656, p<0,01) pozitif yönde, IL-18 ve leptin arasında (r=-0,685 p<0,01) negatif yönde, IL-18 ve NLRP3 arasında (r=0,685 p<0,01) pozitif yönde, PPAR γ ve NLRP3 arasında (r=-0,606 p<0,05) negatif yönde, KISS1 sandviç ile KISS1 kompetitif arasında (r=0,590 p<0,05) pozitif yönde, KISS1 kompetitif ile KISS1R arasında (r=-0,689 p<0,01), KISS1R ile LEPR arasında (r=-0,505 p<0,05) negatif yönde anlamlı bir korelasyon vardır.

Öncül ve arkadaşlarının çalışması otomatize immun yöntemlerdeki PTH, 25-OH-vitamin D, TSH sonuçlarının yüksek biotin konsantrasyonlarından etkilendiğini ortaya koymuştur (214). Bir başka çalışmada günlük 10 mg'lık bir biotin dozunun yine otomatize sistemlerdeki TSH, FT4, total T3 ve Tiroglobulin gibi testleri etkilediği ve bu durumun tiroid kanseri hastaları için risk oluşturabileceğine dikkat çekilmiştir (280). Dasgupta ve arkadaşları Roche immunoassay IL-6 testinde 100 ng/ml biotin ile fmaksimum seviyede negatif interferans gözlemlendiğini fakat 1000 ng/ml biotin değerinde ise interferans oluşmadığını ortaya koymuşlardır (281). Otomatize sistemlerde çalışılan aldosteron ve renin analizlerinde 100-500 ng/ml'lik dozlarda biotin ile çok yüksek oranda interferans oluştuğu, insülin benzeri büyüme faktörü 1, büyüme hormonu ve kemik alkalin fosfataz analizlerinin ise 100-500 ng/ml'lik biotin dozlarına karşı daha az duyarlı olduğu yaklaşık %10 civarında hata payı meydana geldiği Knudsen ve arkadaşlarının çalışmasıyla ortaya konmuştur (282). Otomatize sistemlerde immünolojik testlere göre değişmekle birlikte, biotin interferansındaki en düşük eşik değer olarak kanda 10 ng/ml dozunun alınabilmesinin mümkün

olduğu bildirilmiştir (53, 61). Tüm bu literatürde yer alan çalışmalar ve daha birçoğu bize rutin biyokimya analizlerinde biotin interferansının oluşabileceğini ortaya koymakta, fakat manuel araştırma kitlerinde biotin interferansına dair yapılan bir çalışma olmadığını göstermektedir. Amacımız bilimsel çalışmalarda kullanılan manuel ELISA kitlerinde oluşabilecek biotin interferansından kaynaklanan hatalarla ilgili bilgiler ortaya koyabilmektir.

Çalışmamızda kontrol ve obez gruplarda çalıştığımız ELISA parametreleri ile sağlıklı ve obez gruplarda biotin ilavesi yaparak çalıştığımız ELISA parametrelerinin konsantrasyonları arasında ciddi farklar olabileceğini ortaya koyduk.

DRG marka leptin ELISA kitinde biotin ilavesi yaparak çalıştığımız analizde hem sağlıklı grupta hem de obez grupta daha düşük sonuçlar olmakla beraber gruplar arasındaki oransal farklılıklar benzerdir ve her iki çalışma da istatistiksel açıdan anlamlı gelmiştir. Biotin ilavesi yapılan leptin ELISA analizlerindeki leptinin diğer parametrelerle olan korelasyonlarına baktığımızda, biotin ilavesi yapılmadan kontrol ve obez gruplarda doğrudan çalışılan leptin ELISA parametresinin diğer parametrelerle olan korelasyonları arasında fark vardır. Fakat 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplar arasında leptin konsantrasyonları bakımından büyük farklılıklar yoktur. Bu durum DRG marka leptin ELISA kitinde biotin interferansı nedeniyle sonuçların negatif yönde etkilenmiş olabileceği fakat bu interferansın çok da yüksek oranlarda etkileşim yaratmayabileceği ve sonuçların tutarlı olduğunu göstermektedir.

ELABSCIENCE marka LEPR ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların LEPR konsantrasyonları, biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez gruplara göre daha düşük olmakla birlikte kontrol ve obez gruplar ile sağlıklı ve obez gruplar arasında her iki çalışmada da obez gruplarda belirgin bir yükseliş vardır. Gruplar arasındaki oransal farklılıklar benzer şekilde hesaplanmış ayrıca her iki çalışmada istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Her iki çalışmada LEPR ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları karşılaştırıldığında benzerlik yoktur. Fakat 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle

oluşturulan gruplar arasında LEPR konsantrasyonları birbirine oldukça yakın gelmiştir. Bu durum ELABSCIENCE marka LEPR ELISA kitinde biotin interferansı nedeniyle sonuçların pozitif yönde etkilenmiş olabileceği fakat bu interferansın çok da yüksek oranlarda etkileşim yaratmayabileceği ve sonuçların tutarlı olduğunu göstermektedir.

BT-LAB marka grelin sandviç ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların grelin sandviç konsantrasyonları kontrol grubunda obez gruba göre daha düşük gelmiş ve aralarında istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır. Biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez grupların grelin sandviç konsantrasyonlarında ise, sağlıklı grup obez gruptan daha yüksek bulunmuş ve istatistiksel açıdan bu fark anlamlı olarak hesaplanmıştır. Bu iki çalışma karşılaştırıldığında aralarındaki oransal fark oldukça fazla ve sonuçlarda birbirinin tam tersidir. Grelin sandviç ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları karşılaştırıldığında her iki çalışmada da korelasyonlar arasında benzerlik olmadığı tespit edilmiştir. 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplar arasında grelin sandviç parametresinde özellikle kanda 50, 500 ng/ml'lik biotin dozunun sonuçları pozitif yönde interfere ettiği gösterilmiştir. Bu durum özellikle kanda 50 ve 500 ng/ml'lik biotin dozunun BT-LAB marka grelin sandviç ELISA kitinde ciddi oranda pozitif interferans yaratabileceğini göstermektedir.

BT-LAB marka açile grelin ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların açile grelin konsantrasyonları kontrol grubunda obez gruba göre daha düşük gelmiş ve aralarında istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır. Biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez grupların açile grelin konsantrasyonlarında ise, sağlıklı grup obez gruptan daha yüksek bulunmuş ve istatistiksel açıdan bu fark anlamlı olarak hesaplanmıştır. Bu iki çalışma karşılaştırıldığında aralarındaki oransal fark oldukça fazla ve sonuçlarda birbirinin tam tersidir. Açile grelin ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları karşılaştırıldığında her iki çalışmada da korelasyonlar arasında benzerlik olmadığı tespit edilmiştir. Biotin ilaveli ve ilavesiz her iki çalışma karşılaştırıldığında sağlıklı grupta kontrol grubuna göre pozitif yönde bir interferans olabileceği gösterilmiştir. 50, 500, 1000 ng/ml'lik

konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplar ile 10 ng/ml'lik grup ile karşılaştırıldığında kandaki biotin dozunun artması sağlıklı grupta 1000 ng/ml'lik grup hariç açile grelin konsantrasyonlarının artmasına, obez grupta ise; 50, 500, 1000 ng/ml'lik gruplarda artmasına neden olmuştur. Bu durum BT-LAB marka açile grelin ELISA kitinin kandaki yüksek biotin değerlerinden ciddi oranda etkilenebileceğini ortaya koymaktadır.

BT-LAB marka deaçile grelin ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların deaçile grelin konsantrasyonları kontrol grubunda obez gruba göre daha düşük gelmiştir. Biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez grupların deaçile grelin konsantrasyonlarında ise, sağlıklı grup obez gruptan daha yüksek bulunmuştur. Her iki çalışma da istatistiksel açıdan anlamlı olarak hesaplanmıştır. Bu iki çalışma karşılaştırıldığında aralarındaki oransal fark oldukça fazla ve sonuçlarda birbirinin tam tersidir. Deaçile grelin ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları karşılaştırıldığında her iki çalışmada da korelasyonlar arasında benzerlik olmadığı, ayrıca obez grupta deaçile grelinin preptin ile olan korelasyonunun da ters yönde olduğu tespit edilmiştir. Biotin ilavesi yapılan çalışmada biotinsiz çalışmaya göre pozitif yönde bir interferans olabileceği, ayrıca 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplar arasındaki karşılaştırmada ise hem sağlıklı hem de obez grupta negatif bir interferans olabileceği gösterilmiştir. Bu durum BT-LAB marka deaçile grelin ELISA kitinin kandaki yüksek biotin değerlerinden ciddi oranda etkilenebileceğini ortaya koymaktadır.

CLOUD-CLONE marka GHSR ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların GHSR konsantrasyonları, biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez gruplara göre daha yüksek olmakla birlikte kontrol ve obez gruplar ile sağlıklı ve obez gruplar arasında her iki çalışmada da obez gruplarda belirgin bir düşüş olmuş ve bu gruplar arasındaki oransal farklılıklar benzer şekilde hesaplanmış ayrıca her iki çalışmada istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. GHSR ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları karşılaştırıldığında her iki çalışmada da benzer şekilde obez grupta hiçbir parametre ile korelasyon olmadığı görülmüştür. 10, 50,

1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplar arasında GHSR konsantrasyonları açısından çok büyük farklılıklar yoktur. Fakat 500 ng/ml'lik biotin eklenmesi ile oluşturulan çalışmada obez grubun GHSR konsantrasyonu diğer obez gruplara göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum kandaki 500 ng/ml'lik biotin dozunun CLOUD-CLONE marka GHSR ELISA kitinde biotin interferansı nedeniyle sonuçların obez grupta pozitif yönde etkilenmiş olabileceğini göstermektedir.

ELABSCIENCE marka grelin kompetitif ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların grelin kompetitif konsantrasyonları, biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez gruplara göre daha yüksek olmakla birlikte kontrol ve obez gruplar ile sağlıklı ve obez gruplar arasında her iki çalışmada da obez gruplarda belirgin bir düşüş olmuş ve bu gruplar arasındaki oransal farklılıklar benzer şekilde hesaplanmış ayrıca her iki çalışmada istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Grelin kompetitif ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları karşılaştırıldığında her iki çalışmada da benzer şekilde obez grupta NLRP3 parametresiyle negatif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan grupların grelin kompetitif konsantrasyonları 10 ng/ml'lik grup ile karşılaştırıldığında özellikle 50 ng/ml'de hem sağlıklı hem de obez grupta pozitif yönde, 500 ng/ml'de hem sağlıklı hem de obez grupta negatif yönde, 1000 ng/ml'de hem sağlıklı hem de obez grupta negatif yönde bir interferans olabileceği gösterilmiştir. Bu durum kandaki 50, 500, 1000 ng/ml'lik biotin dozunun ELABSCIENCE marka grelin kompetitif ELISA kitinde biotin interferansı nedeniyle sonuçların etkilenmiş olabileceğini göstermektedir.

ELABSCIENCE marka KISS1 sandviç ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların KISS1 sandviç konsantrasyonları, biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez gruplara göre daha düşük olmakla birlikte kontrol ve obez gruplar ile sağlıklı ve obez gruplar arasında her iki çalışmada da obez gruplarda belirgin bir yükseliş vardır. Gruplar arasındaki oransal farklılıklar benzer şekilde hesaplanmış ayrıca her iki çalışmada istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Her

iki çalışmada KISS1 sandviç ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları karşılaştırıldığında benzerlik bulunmamaktadır. 10, 50 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplar arasında KISS1 sandviç konsantrasyonları birbirine yakın gelmiş ve sağlıklı gruplardaki KISS1 sandviç konsantrasyonu obez gruplardan daha düşük bulunmuştur. Fakat 500, 1000 ng/ml'lik biotin eklenmesi ile oluşturulan çalışmada obez grubun KISS1 sandviç konsantrasyonu diğer obez gruplardan daha yüksek bulunmuştur. Bu durum kandaki 500 ve 1000 ng/ml'lik biotin dozunun ELABSCIENCE marka KISS1 sandviç ELISA kitinde biotin interferansı nedeniyle sonuçların obez gruplarda pozitif yönde etkilenmiş olabileceğini göstermektedir.

CLOUD-CLONE marka KISS1 kompetitif ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların KISS1 kompetitif konsantrasyonları, biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez gruplarla karşılaştırıldığında oldukça yakın gelmiştir. Kontrol ve obez gruplar ile sağlıklı ve obez gruplar arasında her iki çalışmada da obez gruplarda belirgin bir yükseliş olmuş ve bu gruplar arasındaki oransal farklılıklar benzer şekilde hesaplanmış ayrıca her iki çalışmada istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. KISS1 kompetitif ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları iki çalışma açısından karşılaştırıldığında, biotin ilaveli gruplarda pozitif ve negatif yönde korelasyonlar var iken biotin ilavesi yapılmadan çalışılan gruplar arasında ise diğer parametreler ile hiçbir korelasyon olmadığı gösterilmiştir. 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplar arasında KISS1 kompetitif konsantrasyonları açısından sonuçların tutarlı olması CLOUD-CLONE marka KISS1 kompetitif ELISA kitinin biotin interferansından çok da etkilenmediğini ortaya koymaktadır.

CLOUD-CLONE marka KISS1R ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların KISS1R konsantrasyonları, biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez gruplarla karşılaştırıldığında daha yüksek olmakla birlikte gruplar arasındaki oransal farklılıklar benzer şekilde hesaplanmıştır. Kontrol ve obez gruplar ile sağlıklı ve obez gruplar arasında her iki çalışmada da obez gruplarda bir düşüş vardır fakat biotin ilaveli çalışmada obez gruptaki düşüş oldukça azdır. Her iki

çalışmada istatistiksel açıdan anlamlı değildir. KISS1R ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları iki çalışma açısından karşılaştırıldığında, biotin ilaveli gruplarda pozitif ve negatif yönde korelasyonlar var iken, biotin ilavesi yapılmadan çalışılan gruplar arasında ise sadece kontrol grubunda preptin parametresiyle negatif korelasyon olduğu ve diğer parametreler ile hiçbir korelasyon göstermediği bulunmuştur. Dolayısıyla korelasyonlar açısından herhangi bir benzerlik yoktur. Fakat 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplarda KISS1R konsantrasyonları, 10 ng/ml'lik konsantrasyonlardan daha yüksek gelmiş özellikle 1000 ng/ml'lik grupta obez grup KISS1R konsantrasyonları sağlıklı gruptan daha yüksek tespit edilmiştir. Bu durum özellikle kanda 1000 ng/ml'lik biotin dozunun CLOUD-CLONE marka KISS1R ELISA kitinde pozitif yönde interferans oluşturabileceğini ortaya koymaktadır.

ELABSCIENCE marka preptin ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların preptin konsantrasyonları, biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez gruplara göre daha düşük olmakla birlikte kontrol ve obez gruplar ile sağlıklı ve obez gruplar arasında her iki çalışmada da obez gruplarda belirgin bir yükseliş vardır. Gruplar arasındaki oransal farklılıklar benzer şekilde hesaplanmış ayrıca her iki çalışmada istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Her iki çalışmada preptin ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları karşılaştırıldığında benzerlik yoktur. 10, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplar arasında preptin konsantrasyonları birbirine yakın gelmiş ve sağlıklı gruplardaki preptin konsantrasyonu obez gruplardan daha düşük bulunmuştur. Fakat 50 ng/ml'lik biotin eklenmesi ile oluşturulan çalışmada sağlıklı grubun preptin konsantrasyonu obez gruptan daha yüksek bulunmuştur. Oysaki obez gruplar diğer tüm çalışmalarda daha yüksek tespit edilmiştir. Bu durum kandaki 50 ng/ml'lik biotin dozunun ELABSCIENCE marka preptin ELISA kitinde biotin interferansı nedeniyle sonuçların sağlıklı gruplarda pozitif yönde etkilenmiş olabileceğini göstermektedir.

ELABSCIENCE marka PPAR γ ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların PPAR

γ konsantrasyonları, biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez gruplara göre daha düşük olmakla birlikte kontrol ve obez gruplar ile sağlıklı ve obez gruplar arasında her iki çalışmada da obez gruplarda yükseliş vardır. Gruplar arasındaki oransal farklılıklar benzer şekilde hesaplanmış ayrıca biotin ilavesi yapılmayan çalışma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuş, biotin ilavesi yapılan çalışma ise istatistiksel açıdan anlamsız olarak hesaplanmıştır. Her iki çalışmada PPAR γ ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları karşılaştırıldığında kontrol ve sağlıklı gruplarda hiçbir parametre ile korelasyon yoktur. Obez gruplarda ise farklı parametrelerle pozitif ve negatif korelasyonlar tespit edilmiş fakat benzerlik bulunamamıştır. 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplar arasında sağlıklı gruplardaki PPAR γ konsantrasyonu obez gruplardan daha düşük bulunmuştur. Fakat 50 ng/ml'lik biotin eklenmesi ile oluşturulan çalışmada sağlıklı grubun PPAR γ konsantrasyonu diğer sağlıklı gruplardan daha düşük iken sadece 1000 ng/ml'lik sağlıklı grupta ise 10 ng/ml'lik sağlıklı gruba göre PPAR γ konsantrasyonları daha yüksek ölçülmüştür. Obez gruplardaki PPAR γ konsantrasyonları birbirine yakın hesaplanmıştır. Bu durum kandaki 50, 500, 1000 ng/ml'lik biotin dozunun ELABSCIENCE marka PPAR γ ELISA kitinin sonuçlarını biotin interferansı nedeniyle etkilemiş olabileceğini göstermektedir.

CLOUD-CLONE marka NLRP3 ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların NLRP3 konsantrasyonları, biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez gruplarla karşılaştırıldığında daha düşük olarak hesaplanmıştır. Kontrol ve obez gruplar ile sağlıklı ve obez gruplar arasında her iki çalışmada da obez gruplarda yükseliş vardır fakat biotin ilavesi yapılmayan çalışma istatistiksel açıdan anlamlı iken, biotin ilavesi yapılan çalışma istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Bu durum gruplar arasında oransal açıdan fark olduğunu göstermektedir. NLRP3 ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları iki çalışma açısından karşılaştırıldığında, her iki çalışmada obez grupta NLRP3 ile grelin kompetitif parametresi arasında negatif yönde bir korelasyon olduğu görülmüş diğer hiçbir korelasyon ise benzer şekilde bulunmamıştır. 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplar arasında NLRP3 konsantrasyonları açısından özellikle 500 ng/ml'lik grupta sağlıklı grupta pozitif

yönde obez grupta ise negatif yönde bir interferans olabileceği hatta sağlıklı grubun NLRP3 konsantrasyonlarının obez grubun üzerine çıktığı görülmektedir. Ayrıca 50 ng/ml'lik grupta da obez grupta negatif yönde, 1000 ng/ml'lik grupta ise sağlıklı grupta da pozitif obez grupta ise negatif biotin interferansı olabileceği gösterilmiştir. Bu durum özellikle kanda 50, 500, 1000 ng/ml'lik biotin dozunun CLOUD-CLONE marka NLRP3 ELISA kitinde interferans oluşturabileceğini ortaya koymaktadır.

ELABSCIENCE marka IL-18 ELISA kitinin biotin interferansına baktığımızda biotin ilavesi yapılmadan çalışılan kontrol ve obez grupların IL-18 konsantrasyonları, biotin ilavesi yapılarak çalışılan sağlıklı ve obez gruplarla karşılaştırıldığında kontrol ve sağlıklı gruplar obez gruba göre daha düşük bulunmuştur. Fakat biotin ilavesi yapılmayan çalışma istatistiksel açıdan anlamsız iken biotin ilavesi yapılan çalışma istatistiksel açıdan anlamlıdır. Kontrol grubu sağlıklı gruba göre daha yüksek iken biotin ilavesi yapılmadan çalışılan obez grubu, biotin ilavesi yapılan çalışmadaki obez grubundan daha düşük tespit edilmiştir. Bu durum gruplar arasında oransal açıdan fark olduğunu göstermektedir. Her iki çalışmada IL-18 ELISA kitinin diğer parametrelerle olan korelasyonları karşılaştırıldığında sadece obez gruplarda IL-18 ile leptin parametresi arasında negatif yönde korelasyon vardır ve diğer korelasyonlarda benzerlik bulunmamaktadır. 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplar karşılaştırıldığında sağlıklı gruplarda IL-18 konsantrasyonları 10 ng/ml'lik biotin grubuna göre daha düşük tespit edilmiş, obez gruplarda ise daha yüksek olarak ölçülmüştür. Bu durum ELABSCIENCE marka IL-18 ELISA kitinde sağlıklı gruplarda negatif yönde, obez gruplarda ise pozitif yönde biotin interferansı olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak yaptığımız çalışmada elde edilen bulgular sağlıklı ve obez çocuklardaki biotin ölçümünde özellikle BT-LAB marka biotin sandviç ELISA kitindeki biotin konsantrasyonlarının referans değerlere göre oldukça yüksek ölçülmüş olması ciddi oranda pozitif yönde interferans olabileceğini ve CUSABIO ELISA kompetitif kitinin ise kandaki yüksek biotin değerlerinden etkilenebileceğini göstermektedir. Biotin çalışmamızda, biotin ilaveli ELISA çalışması ile biotin ilavesiz ELISA çalışması arasında özellikle açile grelin,

deaçile grelin, grelin sandviç, IL-18, NLRP3, PPAR γ, preptin, KISS1R, KISS1 sandviç parametrelerinde iki çalışma arasında konsantrasyonlar açısından ciddi farklılıklar olduğunu ortaya koyduk. Ayrıca 10, 50, 500, 1000 ng/ml'lik konsantrasyonlarda biotin eklenmesiyle oluşturulan gruplar arasında da kandaki biotin dozuna bağlı olarak negatif veya pozitif yönde hatalı sonuçlar elde edilebileceği görülmektedir. Tüm bu çalışmalarda biotin kompetitif, grelin kompetitif, KISS1 kompetitif, GHSR, leptin ve LEPR kitlerinin konsantrasyon sonuçları daha tutarlı bulunmuştur. Dolayısıyla manuel yöntemle çalışılan araştırma kitlerinde biotinin interferans etkisi olduğu, bu etkinin kompetitif kitlerde daha az görüldüğü, hatta iyi çalışan kaliteli kitlerde dahi olumsuz etkisi olabileceğini ifade ediyoruz. Esas olarak biotin interferansı; ELISA kitinin kalitesi, çalışılan parametrelerin neler olduğu ve kandaki yüksek biotin konsantrasyonları ile yakından ilişkilidir diyebiliriz.

Birçok bilimsel araştırmada toplanan kan örneklerinde hastaların biotin takviyesi alıp almadığı belirtilmemiş veya çalışmada biotin düzeylerine bakılmamıştır. Fakat bilimsel araştırmalarda kullanılan ELISA kitlerinde de biotin interferansı oluşabilir ve hatalı test sonuçlarına neden olabilir. Bu nedenle bilimsel çalışmalarda veya rutin analizlerde hastalara biotin takviyesi kullanıp kullanmadığı muhakkak sorulmalı ve biotin interferans etkisini azaltıcı önemler alınmalıdır.

Bizim çalışmamız sağlıklı ve obez çocuklardaki enerji parametreleri ve onların reseptör profilleri ile ilişkili bilimsel araştırmalarda kullanılan manuel ELISA kitlerinde, kandaki yüksek biotin dozlarının hatalı sonuçlar doğurabileceği değerlendirmesini ilk kez yapması nedeniyle özgün niteliktedir. Laboratuvar çalışmalarında biotinin olumsuz etkilerini ortaya çıkarabilmek bir el kitabı oluşturabilmek adına çok sayıda, farklı markalarla ve farklı parametrelerden oluşan manuel ELISA kitleri ile çalışılmalı ayrıca bu parametreler polimeraz zincir reaksiyonu veya kütle spektrometresi gibi ileri tekniklerle de karşılaştırılarak desteklenmelidir. Ancak bu şekilde bilime katkı sağlamak amacıyla yapılan birçok araştırmanın analizinde daha hassas ve doğru ölçümler yapılabilmesi mümkün olacaktır.

6. KAYNAKLAR

1. Engin A. The definition and prevalence of obesity and metabolic syndrome. In: Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer New York LLC; 2017. p. 1–17.

2. Kumar S, Kelly AS. Review of childhood obesity: from epidemiology, etiology, and comorbidities to clinical assessment and treatment. Mayo Clin Proc [Internet]. 2017;92(2):251–65. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.mayocp.2016.09.017

3. Donma O, Donma MM, Demirkol M, Aydin M, Gokkus T, Nalbantoglu B, et al. Laboratory ındices in late childhood obesity:the ımportance of DONMA indices. Int J Med Health Sci [Internet]. 2016 [cited 2020 Jun 30];10(5):299–305. Available from: http://publications.waset.org/10005008/laboratory-indices-in-late-childhood-obesity-the-importance-of-donma-indices

4. Martinho LCAP. Programming of obesity and pediatric metabolic syndromes: a review in light of epigenetic modulation. Int J Nutrology. 2021;15(1):1–6.

5. Weihrauch-Blüher S, Schwarz P, Klusmann JH. Childhood obesity: increased risk for cardiometabolic disease and cancer in adulthood. Metabolism [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2022 Mar 26];92:147–52. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30529454/

6. Skinner AC, Perrin EM, Moss LA, Skelton JA. Cardiometabolic risks and severity of obesity in children and young adults. N Engl J Med [Internet]. 2015 Oct [cited 2022 Mar 26];373(14):1307–17. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26422721/

7. Piattini F, Le Foll C, Kisielow J, Rosenwald E, Nielsen P, Lutz T, et al. A spontaneous leptin receptor point mutation causes obesity and differentially affects leptin signaling in hypothalamic nuclei resulting in metabolic dysfunctions distinct from db/db mice. Mol Metab [Internet]. 2019;25(April):131–41. Available from: https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.04.010

8. Matkovic V, Ilich JZ, Badenhop NE, Skugor M, Clairmont A, Klisovic D, et al. Gain in body fat ıs ınversely related to the nocturnal rise in serum leptin level in

young females. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 1997 May [cited 2021 May 27];82(5):1368–72. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9141517/

9. Arthur Campfield L. Central mechanisms responsible for the actions of OB protein (leptin) on food intake, metabolism and body energy storage. Front Horm Res [Internet]. 1999 [cited 2021 May 27];26:12–20. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10767938/

10. Coleman DL. Obese and diabetes: Two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice [Internet]. Vol. 14, Diabetologia. Springer-Verlag; 1978 [cited 2021 May 27]. p. 141–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/350680/

11. Mazor R, Friedmann-Morvinski D, Alsaigh T, Kleifeld O, Kistler EB, Rousso-Noori L, et al. Cleavage of the leptin receptor by matrix metalloproteinase-2 promotes leptin resistance and obesity in mice. Sci Transl Med. 2018;10(455):1–12.

12. Bjørbæk C. Central leptin receptor action and resistance in obesity. In: Journal of Investigative Medicine [Internet]. BMJ Publishing Group; 2009 [cited 2021 May 27]. p. 789–94. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20029269/

13. Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Löllmann B, Lowell BB, Flier JS. Leptin levels reflect body lipid content in mice: Evidence for diet-induced resistance to leptin action. Nat Med [Internet]. 1995 [cited 2021 May 27];1(12):1311–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7489415/

14. Banks WA, Farrell CL. Impaired transport of leptin across the blood-brain barrier in obesity is acquired and reversible. Am J Physiol - Endocrinol Metab [Internet]. 2003 Jul 1 [cited 2021 May 27];285(1 48-1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12618361/

15. Fittipaldi AS, Hernández J, Castrogiovanni D, Lufrano D, de Francesco PN, Garrido V, et al. Plasma levels of ghrelin, des-acyl ghrelin and LEAP2 in children with obesity: correlation with age and insulin resistance. Eur J Endocrinol. 2020;182(2):165–75.

16. Li Z, Li Y, Zhang W. Ghrelin receptor in energy homeostasis and obesity

pathogenesis. In: Progress in Molecular Biology and Translational Science. Elsevier B.V.; 2013. p. 45–87.

17. Van Der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. Endocr Rev. 2004;25(3):426–57.

18. Cassoni P, Papotti M, Ghè C, Catapano F, Sapino A, Graziani A, et al. Identification, characterization, and biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) and synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 2001 Apr 1 [cited 2021 May 27];86(4):1738–45. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11297611/

19. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. Endocrinology [Internet]. 2000 [cited 2021 May 27];141(11):4255–61. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11089560/

20. Zigman JM, Bouret SG, Andrews ZB. Obesity impairs the action of the neuroendocrine ghrelin system. Trends Endocrinol Metab [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2022 Mar 9];27(1):54. Available from: /pmc/articles/PMC4814209/

21. Tolson KP, Garcia C, Yen S, Simonds S, Stefanidis A, Lawrence A, et al. Impaired kisspeptin signaling decreases metabolism and promotes glucose intolerance and obesity. J Clin Invest [Internet]. 2014;124:3075. Available from: http://www.jci.org

22. Navarro VM. Metabolic regulation of kisspeptin — the link between energy balance and reproduction. Nature Reviews Endocrinology. Nature Research; 2020.

23. Izzi-Engbeaya C, Comninos AN, Clarke SA, Jomard A, Yang L, Jones S, et al. The effects of kisspeptin on β-cell function, serum metabolites and appetite in humans. Diabetes, Obes Metab. 2018;20(12):2800–10.

24. Mills EG, Izzi-Engbeaya C, Abbara A, Comninos AN, Dhillo WS. Functions of galanin, spexin and kisspeptin in metabolism, mood and behaviour [Internet]. Vol.

17, Nature Reviews Endocrinology. Nature Research; 2021 [cited 2021 May 29]. p. 97–113. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33273729/

25. Mierzwicka A, Bolanowski M. New peptides players in metabolic disorders. Postepy Hig Med Dosw. 2016 Aug 31;70:881–6.

26. Aydin S. Three new players in energy regulation: preptin, adropin and irisin. Vol. 56, Peptides. Elsevier Inc.; 2014. p. 94–110.

27. Rezaeimanesh D. The effect of aerobic ınterval training on preptin, lipid profile and crp levels in overweight men. Ann Rom Soc Cell Biol [Internet]. 2021 Mar 20 [cited 2021 Nov 30];25:317–24. Available from: https://www.annalsofrscb.ro/index.php/journal/article/view/1509

28. Yang G, Li L, Chen W, Liu H, Boden G, Li K. Circulating preptin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects. Ann Med. 2009;41(1):52–6.

29. Glück M, Glück J, Wiewióra M, Rogala B, Piecuch J. Serum irisin, adropin, and preptin in obese patients 6 months after bariatric surgery. Obes Surg. 2019 Oct 1;29(10):3334–41.

30. Motawi TK, Shaker OG, Ismail MF, Sayed NH. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma in obesity and colorectal cancer: the role of epigenetics. Sci Rep [Internet]. 2017;7(1):1–8. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-11180-6

31. Rosen ED, Hsu CH, Wang X, Sakai S, Freeman MW, Gonzalez FJ, et al. C/EBPα induces adipogenesis through PPARγ: a unified pathway. Genes Dev [Internet]. 2002 Jan 1 [cited 2021 May 29];16(1):22–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11782441/

32. Janani C, Ranjitha Kumari BD. PPAR gamma gene - A review. Vol. 9, Diabetes and metabolic syndrome: clinical research and reviews. Elsevier Ltd; 2015. p. 46–50.

33. Wang Q, Imam MU, Yida Z, Wang F. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ) as a target for concurrent management of diabetes and obesity-

related cancer. Curr Pharm Des. 2017 Sep 29;23(25).

34. Stump M, Guo DF, Lu KT, Mukohda M, Liu X, Rahmouni K, et al. Effect of selective expression of dominant-negative PPARγ in pro-opiomelanocortin neurons on the control of energy balance. Physiol Genomics [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2022 Mar 31];48(7):491–501. Available from: https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physiolgenomics.00032.2016%40apsselect.2016.3.issue-7

35. Lu M, Sarruf DA, Talukdar S, Sharma S, Li P, Bandyopadhyay G, et al. Brain PPAR-γ promotes obesity and is required for the insulin–sensitizing effect of thiazolidinediones. Nat Med 2011 175 [Internet]. 2011 May 1 [cited 2022 Mar 31];17(5):618–22. Available from: https://www.nature.com/articles/nm.2332

36. Ryan KK, Li B, Grayson BE, Matter EK, Woods SC, Seeley RJ. A role for central nervous system PPAR-γ in the regulation of energy balance. Nat Med [Internet]. 2011 May [cited 2022 Mar 31];17(5):623–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21532595/

37. Vandanmagsar B, Youm YH, Ravussin A, Galgani JE, Stadler K, Mynatt RL, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. Nat Med. 2011 Feb;17(2):179–89.

38. Mocanu AO, Mulya A, Huang H, Dan O, Shimizu H, Batayyah E, et al. Effect of roux-en-y gastric bypass on the NLRP3 inflammasome in adipose tissue from obese rats. PLoS One [Internet]. 2015 Oct 5 [cited 2022 Mar 31];10(10):e0139764. Available from: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0139764

39. Wani K, Alharthi H, Alghamdi A, Sabico S, Al-Daghri NM. Role of NLRP3 inflammasome activation in obesity-mediated metabolic disorders. Int J Environ Res Public Health [Internet]. 2021 Jan 2 [cited 2022 Jan 11];18(2):1–21. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33435142/

40. Haneklaus M, O'Neill LAJ. NLRP3 at the interface of metabolism and inflammation. Immunol Rev [Internet]. 2015 May 1 [cited 2022 Apr 1];265(1):53–62. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/imr.12285

41. López MG, Pérez-Vielma NM, Martínez HG, Padilla EL, Bandala C, González Torres MC, et al. NLRP3, IL-1β, and caspase-1 gene transcript identification and expression by QCM-D in obese children. J Sensors. 2019;2019.

42. Rainone V, Schneider L, Saulle I, Ricci C, Biasin M, Al-Daghri NM, et al. Upregulation of inflammasome activity and increased gut permeability are associated with obesity in children and adolescents. Int J Obes [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2021 May 26];40(6):1026–33. Available from: www.nature.com/ijo

43. Yin Z, Deng T, Peterson LE, Yu R, Lin J, Hamilton DJ, et al. Transcriptome analysis of human adipocytes implicates the NOD-like receptor pathway in obesity-induced adipose inflammation. Mol Cell Endocrinol. 2014 Aug 25;394(1–2):80–7.

44. Thorand B, Kolb H, Baumert J, Koenig W, Chambless L, Meisinger C, et al. Elevated levels of interleukin-18 predict the development of type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg study, 1984-2002. Diabetes [Internet]. 2005 Oct [cited 2021 May 31];54(10):2932–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16186395/

45. Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes [Internet]. Vol. 140, Cell. Elsevier B.V.; 2010 [cited 2021 May 31]. p. 821–32. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20303873/

46. Esser N, L'Homme L, De Roover A, Kohnen L, Scheen AJ, Moutschen M, et al. Obesity phenotype is related to NLRP3 inflammasome activity and immunological profile of visceral adipose tissue. Diabetologia. 2013;56(11):2487–97.

47. Zorrilla EP, Sanchez-Alavez M, Sugama S, Brennan M, Fernandez R, Bartfai T, et al. Interleukin-18 controls energy homeostasis by suppressing appetite and feed efficiency. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Jun 26;104(26):11097–102.

48. Donma MM, Donma O, Michalke B, Halbach S, Nischwitz V. Vitamins, Minerals And Metabolic Pathways in Health And Disease. İstanbul: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa; 2012.

49. Bhagavan N V., Ha CE. Essentials of Medical Biochemistry: Wiht Clinical Cases. Academic Press; 2011.

50. Colon PJ, Greene DN. Biotin interference in clinical ımmunoassays. J Appl Lab Med An AACC Publ. 2018;2(6):941–51.

51. Basok BI. Understanding and managing biotin interference in immunoassays. 2020;3(1):0–2.

52. Samarasinghe S, Meah F, Singh V, Basit A, Emanuele N, Emanuele MA, et al. Biotin interference with routine clinical immunoassays: understand the causes and mitigate the risks [Internet]. Vol. 23, Endocrine Practice. American Association of Clinical Endocrinologists; 2017 [cited 2021 May 31]. p. 989–96. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28534685/

53. Katzman BM, Lueke AJ, Donato LJ, Jaffe AS, Baumann NA. Prevalence of biotin supplement usage in outpatients and plasma biotin concentrations in patients presenting to the emergency department. Clin Biochem. 2018 Sep 1;60:11–6.

54. Bowen R, Benavides R, Colón-Franco JM, Katzman BM, Muthukumar A, Sadrzadeh H, et al. Best practices in mitigating the risk of biotin interference with laboratory testing. Clin Biochem [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2020 Apr 29];74(July):1–11. Available from: https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2019.08.012

55. FDA. UPDATE: The FDA Warns that Biotin May Interfere with Lab Tests: FDA Safety Communication. 2019;3–5. Available from: https://www.fda.gov/medical-devices/safety-communications/update-fda-warns-biotin-may-interfere-lab-tests-fda-safety-communication

56. Mrosewski I, Urbank M, Stauch T, Switkowski R. Interference from high-dose biotin intake in immunoassays for potentially time-critical analytes by roche. Arch Pathol Lab Med [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2021 May 25];144(9):1108–17. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31944861/

57. Moerman A, R. Delanghe J. Sense and nonsense concerning biotin interference in laboratory tests. [Internet]. Vol 77, Acta Clinica Belgica; 2020 [cited 2021 May 25]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32567529/

58. Trambas C, Lu Z, Yen T, Sikaris K. Characterization of the scope and magnitude of biotin interference in susceptible Roche Elecsys competitive and sandwich

immunoassays. Ann Clin Biochem. 2018;55(2):205–15.

59. Stieglitz HM, Korpi-Steiner N. Characterization of biotin interference in 21 Vitros 5600 immunoassays and risk mitigation for patient safety at a large academic medical center. Clin Biochem [Internet]. 2020;75(June 2019):53–61. Available from: https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2019.09.006

60. FDA. Testing for Biotin Interference in In Vitro Diagnostic Devices Draft Guidance for Industry Testing for Biotin Interference in In Vitro Diagnostic Devices Draft Guidance for Industry. 2019;(June). Available from: https://www.fda.gov/media/127915/download

61. Li D, Ferguson A, Cervinski MA, Lynch KL, Kyle PB. AACC Guidance Document on Biotin Interference in Laboratory Tests. J Appl Lab Med. 2020;5(3):575–87.

62. Rojnić Putarek N. Pediatric obesity. Medicus. 2018 Apr 1;27(1):63–9.

63. Nijhawans P, Behl T, Bhardwaj S. Angiogenesis in obesity [Internet]. Vol. 126, Biomedicine and Pharmacotherapy. Elsevier Masson SAS; 2020 [cited 2021 Apr 14]. Available from: https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110103

64. Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. JAMA - J Am Med Assoc [Internet]. 2014 Feb 26 [cited 2021 May 31];311(8):806–14. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24570244/

65. WHO. Obesity and overweight [Internet]. [cited 2021 Jan 12]. Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight

66. Eckdahl TT. Obesity : The Venus of Willendorf [Internet]. New York, NY: Momentum Press; 2019. [cited 2021 Apr 19]. Available from: https://b47544ad873127819b54f2bda59aeb186c2cf9d3.vetisonline.com/eds/ebookviewer/ebook?sid=bb747d3f-118b-45d6-8db6-ded9e57e85d6%40sdc-v-sessmgr03&vid=2&rid=1&format=EB

67. Ogden CL, Carroll MD, Lawman HG, Fryar CD, Kruszon-Moran D, Kit BK, et al. Trends in obesity prevalence among children and adolescents in the United States,

1988-1994 through 2013-2014 [Internet]. Vol. 315, JAMA, J Am Med Assoc; 2016 [cited 2020 Aug 22]. p. 2292–9. Available from: https://jamanetwork.com/

68. Krebs NF, Himes JH, Jacobson D, Nicklas TA, Guilday P, Styne D. Assessment of child and adolescent overweight and obesity. [Internet]. Vol. 120 Suppl 4, Pediatrics. Pediatrics; 2007 [cited 2021 May 31]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18055652/

69. Kelly AS, Barlow SE, Rao G, Inge TH, Hayman LL, Steinberger J, et al. Severe obesity in children and adolescents: Identification, associated health risks, and treatment approaches: a scientific statement from the American Heart Association. Circulation [Internet]. 2013 Oct 8 [cited 2021 May 26];128(15):1689–712. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24016455/

70. Skinner AC, Skelton JA. Prevalence and trends in obesity and severe obesity among children in the United States, 1999-2012. JAMA Pediatr [Internet]. 2014 [cited 2021 May 26];168(6):561–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24710576/

71. Türkiye Endokronoloji ve Metabolizma Derneği. Obezite Tanı ve Tedavi Kılavuzu 2019. Ankara: BAYT Bilimsel Araştırmalar; 2019.

72. WHO. WHO | Description [Internet]. [cited 2020 Nov 2]. Available from: https://www.who.int/nutgrowthdb/about/introduction/en/index4.html

73. De Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. Bull World Health Organ [Internet]. 2007 Sep [cited 2021 May 14];85(9):660–7. Available from: /pmc/articles/PMC2636412/

74. WHO. Noncommunicable Diseases: Childhood Overweight And Obesity [Internet]. WHO. [cited 2020 Nov 3]. Available from: https://www.who.int/news-room/q-a-detail/noncommunicable-diseases-childhood-overweight-and-obesity

75. Xu S, Xue Y. Pediatric obesity: Causes, symptoms, prevention and treatment (review) [Internet]. Vol. 11, Experimental and Therapeutic Medicine. Spandidos Publications; 2016 [cited 2021 Jun 3]. p. 15–20. Available from: http://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2015.2853/abstract

76. Bhadoria A, Sahoo K, Sahoo B, Choudhury A, Sufi N, Kumar R. Childhood obesity: causes and consequences. J Fam Med Prim Care [Internet]. 2015 [cited 2020 Nov 18];4(2):187. Available from: /pmc/articles/PMC4408699/?report=abstract

77. Goran MI. and Sothern MS. Handbook of pediatric obesity: Etiology, pathophysiology, and prevention [Internet]. CRC Press Taylor & Francis Group; 2016. p. 1–362 Available from: https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=VW_LBQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=handbook+of+Pediatric+Obesity:+Etiology,+Pathophysiology,+and+Prevention&ots=PWLCDTQCJB&sig=U675l4VtDhfzWMX7Roz8FHJ-mUU&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false

78. Hassink S. Pediatric Obesity: Prevention, Intervention, and Treatment Strategies for Primary Care [Internet]. American Academy of Pediatrics; 2014 [cited 2020 Nov 17]. p. 9–10. Available from: https://b47544ad873127819b54f2bda59aeb186c2cf9d3.vetisonline.com/eds/ebookviewer/ebook?sid=b38128bf-fb29-4e85-bf25-cc6bef634e6e%40sdc-v-sessmgr02&vid=5&rid=1&format=EB

79. Hassink S. Problems in childhood obesity [Internet]. Vol. 30, Primary Care - Clinics in Office Practice. W.B. Saunders; 2003 [cited 2021 Jun 3]. p. 357–74. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14567153/

80. Anderson PM, Butcher KF. Childhood obesity: trends and potential causes [Internet]. Vol. 16, Future of Children. Future Child; 2006 [cited 2021 Jun 3]. p. 19–45. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16532657/

81. Chu DT, Minh Nguyet NT, Nga VT, Thai Lien NV, Vo DD, Lien N, et al. An update on obesity: mental consequences and psychological interventions. Vol. 13, Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews. 2019.

82. Güngör NK. Overweight and obesity in children and adolescents. JCRPE J Clin Res Pediatr Endocrinol [Internet]. 2014 Sep 1 [cited 2021 Jan 13];6(3):129–43. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25241606/

83. Staiano AE, Katzmarzyk PT. Ethnic and sex differences in body fat and visceral

and subcutaneous adiposity in children and adolescents. Int J Obes [Internet]. 2012 [cited 2021 Jun 11];36(10):1261–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22710928/

84. Reilly JJ, Kelly J. Long-term impact of overweight and obesity in childhood and adolescence on morbidity and premature mortality in adulthood: Systematic review. Vol. 35, International Journal of Obesity. 2011.

85. WHO. Why Does Childhood Overweight And Obesity Matter [Internet]. WHO. Available from: https://www.who.int/news-room/q-a-detail/noncommunicable-diseases-childhood-overweight-and-obesity

86. Nittari G, Scuri S, Gamo Sagaro G, Petrelli F, Grappasonni I. Epidemiology of Obesity in Children and Adolescents. In: Teamwork in Healthcare. 2020.

87. Endalifer ML, Diress G. Epidemiology, predisposing factors, biomarkers, and prevention mechanism of obesity: a systematic review. Vol. 2020, Journal of Obesity. Hindawi Limited; 2020.

88. Adom T, Kengne AP, De Villiers A, Puoane T. Prevalence of overweight and obesity among African primary school learners: a systematic review and meta-analysis [Internet]. Vol. 5, Obesity Science and Practice. Wiley-Blackwell; 2019 [cited 2021 Jun 4]. p. 487–502. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31687173/

89. Baalwa J, Byarugaba BB, Kabagambe KE, Otim AM. Prevalence of overweight and obesity in young adults in Uganda. Afr Health Sci [Internet]. 2010 [cited 2021 Jun 4];10(4):367–73. Available from: https://www.ajol.info/index.php/ahs/article/view/63852

90. Ganle JK, Boakye PP, Baatiema L. Childhood obesity in urban Ghana: Evidence from a cross-sectional survey of in-school children aged 5-16 years. BMC Public Health [Internet]. 2019 Nov 26 [cited 2021 Jun 4];19(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31771549/

91. Duan R, Kou C, Jie J, Bai W, Lan X, Li Y, et al. Prevalence and correlates of overweight and obesity among adolescents in northeastern China: a cross-sectional study. BMJ Open. 2020;10(7).

92. Alper Z, Ercan İ, Uncu Y. A meta-analysis and an evaluation of trends in obesity prevalence among children and adolescents in Turkey: 1990 through 2015. Vol. 10, JCRPE Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology. 2018.

93. Çelmeli G, Çürek Y, Gülten ZA, Yardımsever M, Koyun M, Akçurin S, et al. Remarkable increase in the prevalence of overweight and obesity among school age children in Antalya, Turkey, between 2003 and 2015. JCRPE J Clin Res Pediatr Endocrinol. 2019;11(1).

94. Çam HH, Üstüner Top F. Overweight, obesity, weight-related behaviors, and health-related quality of life among high-school students in Turkey. Eat Weight Disord. 2020;25(5).

95. WHO. Prevalence Of Obesity Among Children And Adolescents, BMI > +2 Standard Deviations Above The Median (Crude Estimate) (%) [Internet]. [cited 2021 Jan 18]. Available from: https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/prevalence-of-obesity-among-children-and-adolescents-bmi-2-standard-deviations-above-the-median-(crude-estimate)-(-)

96. Özcebe H, Bağcı Bosi T, Yıldırım N, Yardım M, Gögen S. Türkiye Çocukluk Çağı (İlkokul 2. Sınıf Öğrencileri) Şişmanlık Araştırması COSI-TUR 2016. Ankara: Sağlık Bakanlığı; 2017.

97. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature [Internet]. 1994 Dec 1 [cited 2022 Mar 29];372(6505):425–32. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7984236/

98. Nelson DL, Cox MM. Lehninger Biyokimyanın İlkeleri. Ankara: Palme; 2013. 896 p.

99. Gardner DG, Shoback D. Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology. Ninth Edition. ABD New York: The McGraw-Hill Companies; 2011. 586 p.

100. Moharana K, Zabeau L, Peelman F, Ringler P, Stahlberg H, Tavernier J, et al. Structural and mechanistic paradigm of leptin receptor activation revealed by complexes with wild-type and antagonist leptins. Structure [Internet]. 2014 Jun 10

[cited 2021 Jun 8];22(6):866–77. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24882746/

101. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. Science (80-) [Internet]. 1995 [cited 2021 Jun 8];269(5223):543–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7624777/

102. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. Science (80-) [Internet]. 1995 [cited 2021 Jun 8];269(5223):540–3. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7624776/

103. Münzberg H, Morrison CD. Structure, production and signaling of leptin [Internet]. Vol. 64, Metabolism: Clinical and Experimental. W.B. Saunders; 2015 [cited 2021 May 19]. p. 13–23. Available from: /pmc/articles/PMC4267896/

104. Myers MG, Cowley MA, Münzberg H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance [Internet]. Vol. 70, Annual Review of Physiology. Annu Rev Physiol; 2008 [cited 2021 Jun 8]. p. 537–56. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17937601/

105. Oleshchuk OM, Loi HY. Leptin resistance and type 2 diabetes. Int J Med Med Res. 2017;(1).

106. Mencarelli A, Distrutti E, Renga B, D'Amore C, Cipriani S, Palladino G, et al. Probiotics modulate intestinal expression of nuclear receptor and provide counter-regulatory signals to ınflammation-driven adipose tissue activation. PLoS One [Internet]. 2011 [cited 2021 Jun 11];6(7). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21829567/

107. Lee Y, Yu X, Gonzales F, Mangelsdorf DJ, Wang MY, Richardson C, et al. PPARα is necessary for the lipopenic action of hyperleptinemia on white adipose and liver tissue. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2002 Sep 3 [cited 2021 Jun 11];99(18):11848–53. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12195019/

108. Seufert J. Leptin effects on pancreatic β-cell gene expression and function. In:

Diabetes [Internet]. American Diabetes Association Inc.; 2004 [cited 2021 Jun 11]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14749281/

109. PubChem S 405131904-. Leptin (150-167) (human) [Internet]. [cited 2021 May 20]. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/405131904

110. Martínez-Sánchez N. There and back again: leptin actions in white adipose tissue [Internet]. Vol. 21, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2020 [cited 2021 May 20]. p. 1–26. Available from: /pmc/articles/PMC7503240/

111. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals [Internet]. Vol. 395, Nature. Macmillan Magazines Ltd; 1998 [cited 2021 Jun 11]. p. 763–70. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9796811/

112. Clément K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. Nature [Internet]. 1998 Mar 26 [cited 2021 Jun 11];392(6674):398–401. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9537324/

113. Considine R V., Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. N Engl J Med [Internet]. 1996 Feb [cited 2021 Jun 11];334(5):292–5. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8532024/

114. Andreoli MF, Donato J, Cakir I, Perello M. Leptin resensitisation: a reversion of leptin-resistant states [Internet]. Vol. 241, Journal of Endocrinology. BioScientifica Ltd.; 2019 [cited 2021 May 21]. p. R81–96. Available from: https://doi.org/10.1530/JOE-18-0606https://joe.bioscientifica.com

115. Harrison L, Schriever SC, Feuchtinger A, Kyriakou E, Baumann P, Pfuhlmann K, et al. Fluorescent blood–brain barrier tracing shows intact leptin transport in obese mice. Int J Obes [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2021 Jun 11];43(6):1305–18. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30283080/

116. Kleinert M, Kotzbeck P, Altendorfer-Kroath T, Birngruber T, Tschöp MH, Clemmensen C. Time-resolved hypothalamic open flow micro-perfusion reveals normal leptin transport across the blood–brain barrier in leptin resistant mice. Mol Metab [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2021 Jun 11];13:77–82. Available from:

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29748097/

117. Martin RL, Perez E, He YJ, Dawson R, Millard WJ. Leptin resistance is associated with hypothalamic leptin receptor mRNA and protein downregulation. Metabolism [Internet]. 2000 [cited 2021 Jun 11];49(11):1479–84. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11092515/

118. Izquierdo AG, Crujeiras AB, Casanueva FF, Carreira MC. Leptin, obesity, and leptin resistance: where are we 25 years later? [Internet]. Vol. 11, Nutrients. MDPI AG; 2019 [cited 2021 May 20]. Available from: /pmc/articles/PMC6893721/

119. Chen K, Li F, Li J, Cai H, Strom S, Bisello A, et al. Induction of leptin resistance through direct interaction of C-reactive protein with leptin. Nat Med [Internet]. 2006 Apr [cited 2021 Jun 11];12(4):425–32. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16582918/

120. Ozcan L, Ergin AS, Lu A, Chung J, Sarkar S, Nie D, et al. Endoplasmic reticulum stress plays a central role in development of leptin resistance. Cell Metab [Internet]. 2009 Jan 7 [cited 2021 Jun 11];9(1):35–51. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19117545/

121. ElSaeed G, Mousa N, El-Mougy F, Hafez M, Khodeera S, Alhelbawy M, et al. Monogenic leptin deficiency in early childhood obesity. Pediatr Obes [Internet]. 2020 Jan 4 [cited 2020 Jul 3];15(1). Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ijpo.12574

122. Karina Zapata J, Catalán V, Rodríguez A, Ramírez B, Silva C, Escalada J, et al. Resting energy expenditure is not altered in children and adolescents with obesity. Effect of age and gender and association with serum Leptin levels. Nutrients [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2021 May 20];13(4):1216. Available from: https://doi.org/10.3390/nu13041216

123. Müller TD, Nogueiras R, Andermann ML, Andrews ZB, Anker SD, Argente J, et al. Ghrelin [Internet]. Vol. 4, Molecular Metabolism. Elsevier GmbH; 2015 [cited 2021 Jan 19]. p. 437–60. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26042199/

124. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a

growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. Nature. 1999 Dec 9;402(6762):656–60.

125. Colldén G, Tschöp MH, Müller TD. Therapeutic potential of targeting the ghrelin pathway. Vol. 18, Int J Mol Sci. MDPI AG; 2017.

126. Delporte C. Structure and physiological actions of ghrelin. Scientifica (Cairo) [Internet]. 2013 [cited 2021 Jan 19];2013:518909. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24381790

127. Zhu X, Cao Y, Voodg K, Steiner DF. On the processing of proghrelin to ghrelin. J Biol Chem [Internet]. 2006 Dec 15 [cited 2021 Jun 4];281(50):38867–70. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17050541/

128. Makris MC, Alexandrou A, Papatsoutsos EG, Malietzis G, Tsilimigras DI, Guerron AD, et al. Ghrelin and obesity: identifying gaps and dispelling myths. A reappraisal. In Vivo (Brooklyn). 2017;31(6):1047–50.

129. Monteleone P, Maj M. Dysfunctions of leptin, ghrelin, BDNF and endocannabinoids in eating disorders: beyond the homeostatic control of food intake [Internet]. Vol. 38, Psychoneuroendocrinology. Psychoneuroendocrinology; 2013 [cited 2021 Jun 4]. p. 312–30. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23313276/

130. Cheung CK, Wu JCY. Role of ghrelin in the pathophysiology of gastrointestinal disease. Gut Liver. 2013;7(5):505–12.

131. Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberator PA, Rosenblum CI, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. Science [Internet]. 1996 Aug 16 [cited 2021 Jun 7];273(5277):974–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8688086/

132. McKee KK, Palyha OC, Feighner SD, Hreniuk DL, Tan CP, Phillips MS, et al. Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors. Mol Endocrinol [Internet]. 1997 [cited 2021 Jun 7];11(4):415–23. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9092793/

133. Chow KBS, Sun J, Man Chu K, Tai Cheung W, Cheng CHK, Wise H. The

truncated ghrelin receptor polypeptide (GHS-R1b) is localized in the endoplasmic reticulum where it forms heterodimers with ghrelin receptors (GHS-R1a) to attenuate their cell surface expression. Mol Cell Endocrinol [Internet]. 2012 [cited 2021 Jun 7];348(1):247–54. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21903149/

134. Lee JH, Lin L, Xu P, Saito K, Wei Q, Meadows AG, et al. Neuronal deletion of ghrelin receptor almost completely prevents diet-induced obesity. Diabetes [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2021 Jun 7];65(8):2169–78. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27207529/

135. Zigman JM, Nakano Y, Coppari R, Balthasar N, Marcus JN, Lee CE, et al. Mice lacking ghrelin receptors resist the development of diet-induced obesity. J Clin Invest [Internet]. 2005 Dec [cited 2021 Jun 7];115(12):3564–72. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16322794/

136. Lv Y, Liang T, Wang G, Li Z. Ghrelin, a gastrointestinal hormone, regulates energy balance and lipid metabolism. Biosci Rep [Internet]. 2018 Sep 25 [cited 2022 Jan 22];38(5). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30177523/

137. Briggs DI, Enriori PJ, Lemus MB, Cowley MA, Andrews ZB. Diet-induced obesity causes ghrelin resistance in arcuate NPY/AgRP neurons. Endocrinology [Internet]. 2010 Oct 1 [cited 2022 Jan 22];151(10):4745–55. Available from: https://academic.oup.com/endo/article/151/10/4745/2456283

138. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Purification and characterization of rat des-Gln14-ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. J Biol Chem [Internet]. 2000 Jul 21 [cited 2021 Jun 7];275(29):21995–2000. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10801861/

139. Nogueiras R, Williams LM, Dieguez C. Ghrelin: New molecular pathways modulating appetite and adiposity [Internet]. Vol. 3, Obesity Facts. Obes Facts; 2010 [cited 2021 Jun 7]. p. 285–92. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20975294/

140. Toshinai K, Yamaguchi H, Sun Y, Smith RG, Yamanaka A, Sakurai T, et al. Des-

acyl ghrelin induces food intake by a mechanism independent of the growth hormone secretagogue receptor. Endocrinology [Internet]. 2006 May [cited 2022 Mar 10];147(5):2306–14. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16484324/

141. Önal Z, Adal E. Çocukluk çağında obezite. Okmeydanı Tıp Dergisi. 2014; 30(1):39-44.

142. Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW. Central nervous system control of food intake and body weight [Internet]. Vol. 443, Nature. Nature Publishing Group; 2006 [cited 2021 Jun 7]. p. 289–95. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16988703/

143. Venkova K, Greenwood-Van Meerveld B. Application of ghrelin to gastrointestinal diseases [Internet]. Vol. 9, Current Opinion in Investigational Drugs. 2008 [cited 2021 Jun 7]. p. 1103–7. Available from: https://europepmc.org/article/med/18821473

144. Date Y. Ghrelin and the vagus nerve. Methods Enzymol. 2012 Jan 1;514:261–9.

145. Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschöp M, Pronchuk N, Grove KL, et al. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. Neuron [Internet]. 2003 Feb 20 [cited 2021 Jun 7];37(4):649–61. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12597862/

146. Chen HY, Trumbauer ME, Chen AS, Weingarth DT, Adams JR, Frazier EG, et al. Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. Endocrinology [Internet]. 2004 Jun [cited 2021 Jun 7];145(6):2607–12. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14962995/

147. Andrews ZB, Liu ZW, Walllingford N, Erion DM, Borok E, Friedman JM, et al. UCP2 mediates ghrelin's action on NPY/AgRP neurons by lowering free radicals. Nature [Internet]. 2008 Aug 14 [cited 2021 Jun 7];454(7206):846–51. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18668043/

148. Wortley KE, Anderson KD, Garcia K, Murray JD, Malinova L, Liu R, et al. Genetic deletion of ghrelin does decrease food intake but influences metabolic fuel

preference. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2004 May 21 [cited 2021 Jun 8];101(21):8227–32. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15148384/

149. Theander-Carrillo C, Wiedmer P, Cettour-Rose P, Nogueiras R, Perez-Tilve D, Pfluger P, et al. Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism. J Clin Invest [Internet]. 2006 Jul 3 [cited 2021 Jun 8];116(7):1983–93. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16767221/

150. Howick K, Griffin BT, Cryan JF, Schellekens H. From belly to brain: targeting the ghrelin receptor in appetite and food intake regulation. Int J Mol Sci. 2017;18(2).

151. Abbas M, Rehman A, Hussain Z, Khan JA. Role of endocrine system and hypothalamic neuropeptides in hyperphagia associated obesity. 2021;7(1):14–8.

152. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, et al. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. Gastroenterology [Internet]. 2001 [cited 2021 Jun 8];120(2):337–45. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11159873/

153. Varda NM, Medved M, Ojsteršek L. The associations between some biological markers, obesity, and cardiovascular risk in Slovenian children and adolescents. BMC Pediatr [Internet]. 2020 Feb 21 [cited 2021 Jan 20];20(1):81. Available from: https://bmcpediatr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12887-020-1978-5

154. Razzaghy-Azar M, Nourbakhsh M, Pourmoteabed A, Nourbakhsh M, Ilbeigi D, Khosravi M. An Evaluation of acylated ghrelin and obestatin levels in childhood obesity and their association with insulin resistance, metabolic syndrome, and oxidative stress. J Clin Med [Internet]. 2016 Jun 23 [cited 2020 Oct 16];5(7):61. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27348010

155. Wali P, King J, He Z, Tonb D, Horvath K. Ghrelin and obestatin levels in children with failure to thrive and obesity. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014;58(3):376–81.

156. Aly GS, Hassan NE, Anwar GM, Ahmed HH, El-Masry SA, El-Banna RA, et al. Ghrelin, obestatin and the ghrelin/obestatin ratio as potential mediators for food intake among obese children: A case control study. J Pediatr Endocrinol Metab. 2020 Feb 1;33(2):199–204.

157. Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. J Natl Cancer Inst [Internet]. 1996 [cited 2021 Jun 14];88(23):1731–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8944003/

158. Tng EL. Kisspeptin signalling and its roles in humans [Internet]. Vol. 56, Singapore Medical Journal. 2015 [cited 2021 Jun 14]. p. 649–56. Available from: /pmc/articles/PMC4678402/

159. West A, Vojta PJ, Welch DR, Weissman BE. Chromosome localization and genomic structure of the KiSS-1 metastasis suppressor gene (KISS1). Genomics [Internet]. 1998 Nov 15 [cited 2021 Jun 14];54(1):145–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9806840/

160. Wolfe A, Hussain MA. The emerging role(s) for kisspeptin in metabolism in mammals. Front Endocrinol (Lausanne). 2018;9(APR):1–10.

161. Colledge WH. GPR54 and kisspeptins. Results Probl Cell Differ [Internet]. 2008 [cited 2021 Jun 15];46:117–43. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18193176/

162. Hu KL, Chang HM, Zhao HC, Yu Y, Li R, Qiao J. Potential roles for the kisspeptin/kisspeptin receptor system in implantation and placentation. Hum Reprod Update. 2019 May 1;25(3):326–43.

163. Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde A, Communi D, Vanderwinden JM, Le Poul E, et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. J Biol Chem [Internet]. 2001 Sep 14 [cited 2021 Jun 15];276(37):34631–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11457843/

164. PubChem. Kisspeptin-10 | C63H83N17O14 - PubChem [Internet]. [cited 2021 Jun 15]. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Kisspeptin-10#section=Structures

165. Ogawa S, Parhar IS. Biological significance of kisspeptin-Kiss 1 receptor signaling in the habenula of teleost species [Internet]. Vol. 9, Frontiers in Endocrinology. Frontiers Media S.A.; 2018 [cited 2021 May 29]. Available from:

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29867758/

166. Maguire JJ, Kirby HR, Mead EJ, Kuc RE, d'Anglemont de Tassigny X, Colledge WH, et al. Inotropic action of the puberty hormone kisspeptin in rat, mouse and human: Cardiovascular distribution and characteristics of the kisspeptin receptor. PLoS One [Internet]. 2011 Nov 22 [cited 2021 May 29];6(11). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22132116/

167. Horikoshi Y, Matsumoto H, Takatsu Y, Ohtaki T, Kitada C, Usuki S, et al. Dramatic elevation of plasma metastin concentrations in human pregnancy: metastin as a novel placenta-derived hormone in humans. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 2003 Feb 1 [cited 2021 May 29];88(2):914–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12574233/

168. Song WJ, Mondal P, Wolfe A, Alonso LC, Stamateris R, Ong BWT, et al. Glucagon regulates hepatic kisspeptin to impair insulin secretion. Cell Metab [Internet]. 2014 Apr 1 [cited 2021 May 29];19(4):667–81. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24703698/

169. Brown RE, Imran SA, Ur E, Wilkinson M. KiSS-1 mRNA in adipose tissue is regulated by sex hormones and food intake. Mol Cell Endocrinol [Internet]. 2008 Jan 16 [cited 2021 May 29];281(1–2):64–72. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18069123/

170. Dudek M, Kołodziejski PA, Pruszyńska-Oszmałek E, Sassek M, Ziarniak K, Nowak KW, et al. Effects of high-fat diet-induced obesity and diabetes on Kiss1 and GPR54 expression in the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis and peripheral organs (fat, pancreas and liver) in male rats. Neuropeptides [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2021 May 29];56:41–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26853724/

171. Cockwell H, Wilkinson DA, Bouzayen R, Imran SA, Brown R, Wilkinson M. KISS1 expression in human female adipose tissue. Arch Gynecol Obstet [Internet]. 2013 Jan [cited 2021 May 29];287(1):143–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22899305/

172. Patel R, Smith JT. Novel actions of kisspeptin signaling outside of GnRH-

mediated fertility: a potential role in energy balance. Domestic Animal Endocrinology. Elsevier Inc.; 2020. p. 106467.

173. Bolotova N V., Raygorodskaya NY, Averyanov AP, Dronova EG, Kurdiyan S, Oreshkina EM. Specificities of neuroendocrine-immune status in obese adolescent boys. Vopr Det Dietol. 2020;18(2).

174. Buchanan CM, Phillips ARJ, Cooper GJS. Preptin derived from proinsulin-like growth factor II (proIGF-II) is secreted from pancreatic islet beta-cells and enhances insulin secretion. Biochem J [Internet]. 2001 Dec 1 [cited 2021 Nov 30];360(Pt 2):431. Available from: /pmc/articles/PMC1222244/?report=abstract

175. PubChem. Preptin(1-8) | C32H55N9O15 - PubChem [Internet]. [cited 2021 Jun 16]. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/90683042#section=Structures

176. Rezaeimanesh D. View of the effect of aerobic ınterval training on preptin, lipid profile and CRP levels in overweight men [Internet]. Annals of R.S.C.B. [cited 2021 May 26]. Available from: https://www.annalsofrscb.ro/index.php/journal/article/view/1509/1258

177. Ozkan Y, Timurkan ES, Aydin S, Sahin I, Timurkan M, Citil C, et al. Acylated and desacylated ghrelin, preptin, leptin, and nesfatin-1 peptide changes related to the body mass index. Int J Endocrinol. 2013;2013.

178. Cheng KC, Li YX, Asakawa A, Ushikai M, Kato I, Sato Y, et al. Characterization of preptin-induced insulin secretion in pancreatic β-cells. J Endocrinol [Internet]. 2012 Oct [cited 2021 Jun 17];215(1):43–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22787110/

179. El-Eshmawy M, Aal IA. Relationships between preptin and osteocalcin in obese, overweight, and normal weight adults. Appl Physiol Nutr Metab [Internet]. 2015 Nov 20 [cited 2021 Jun 16];40(3):218–22. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25675353/

180. Celi FS, Shuldiner AR. The role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in diabetes and obesity. Curr Diab Rep. 2002;2(2):179–85.

181. Aranda A, Pascual A. Nuclear hormone receptors and gene expression [Internet]. Vol. 81, Physiological Reviews. American Physiological Society; 2001 [cited 2021 Jun 18]. p. 1269–304. Available from: http://physrev.physiology.org

182. Nakamura MT, Yudell BE, Loor JJ. Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. Vol. 53, Progress in Lipid Research. Pergamon; 2014. p. 124–44.

183. Xu P, Zhai Y, Wang J. The role of PPAR and Its cross-talk with CAR and LXR in obesity and atherosclerosis. Int J Mol Sci [Internet]. 2018 Apr 23 [cited 2022 Jan 8];19(4). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29690611/

184. Vidal-Puig AJ, Considine R V., Jimenez-Liñan M, Werman A, Pories WJ, Caro JF, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues. Effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids. J Clin Invest [Internet]. 1997 May 15 [cited 2022 Feb 1];99(10):2416. Available from: /pmc/articles/PMC508081/?report=abstract

185. Kouidhi S, Jarboui S, Marrakchi R, Froidevaux MSC, Seugnet I, Abid H, et al. Adiponectin expression and metabolic markers in obesity and type 2 diabetes. J Endocrinol Invest [Internet]. 2011 [cited 2022 Jan 8];34(2):e16–23. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20651470/

186. Berhouma R, Kouidhi S, Ammar M, Abid H, Ennafaa H, Benammar-Elgaaied A. Correlation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR-γ) mRNA expression with Pro12Ala polymorphism in obesity. Biochem Genet [Internet]. 2013 Apr [cited 2022 Jan 8];51(3–4):256–63. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23315125/

187. Martínez-Jiménez V, Cortez-Espinosa N, Rodríguez-Varela E, Vega-Cárdenas M, Briones-Espinoza M, Ruíz-Rodríguez VM, et al. Altered levels of sirtuin genes (SIRT1, SIRT2, SIRT3 and SIRT6) and their target genes in adipose tissue from individual with obesity. Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev [Internet]. 2019;13(1):582–9. Available from: https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.11.011

188. RCSB PDB. RCSB PDB - 2F4B: Crystal structure of the ligand binding domain of human PPAR-gamma in complex with an agonist [Internet]. [cited 2021 Jun

18]. Available from: https://www.rcsb.org/structure/2F4B

189. Poznyak A V., Melnichenko AA, Wetzker R, Gerasimova E V., Orekhov AN. NLPR3 Inflammasomes and their significance for atherosclerosis. Biomedicines [Internet]. 2020 Jul 10 [cited 2021 Jun 22];8(7):205. Available from: /pmc/articles/PMC7399980/

190. Karasawa T, Takahashi M. Role of NLRP3 inflammasomes in atherosclerosis [Internet]. Vol. 24, Journal of Atherosclerosis and Thrombosis. Japan Atherosclerosis Society; 2017 [cited 2021 Jun 22]. p. 443–51. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28260724/

191. Ting JPY, Lovering RC, Alnemri ES, Bertin J, Boss JM, Davis BK, et al. The NLR gene family: a standard nomenclature. Vol. 28, Immunity. Cell Press; 2008. p. 285–7.

192. Zatterale F, Longo M, Naderi J, Raciti GA, Desiderio A, Miele C, et al. Chronic adipose tissue ınflammation linking obesity to ınsulin resistance and type 2 diabetes [Internet]. Vol. 10, Frontiers in Physiology. Frontiers Media S.A.; 2020 [cited 2021 Jun 23]. p. 1607. Available from: www.frontiersin.org

193. Silvis MJM, Demkes EJ, Fiolet ATL, Dekker M, Bosch L, van Hout GPJ, et al. Immunomodulation of the NLRP3 ınflammasome in atherosclerosis, coronary artery disease, and acute myocardial ınfarction. Vol. 14, Journal of Cardiovascular Translational Research. Springer; 2021. p. 23–34.

194. Nakamura K, Okamura H, Wada M, Nagata K, Tamura T. Endotoxin-induced serum factor that stimulates gamma interferon production. Infect Immun [Internet]. 1989 [cited 2022 Mar 29];57(2):590–5. Available from: https://journals.asm.org/journal/iai

195. Dinarello CA, Novick D, Kim S, Kaplanski G. Interleukin-18 and IL-18 binding protein. Front Immunol. 2013;4(OCT):289.

196. Okamura H, Nagata K, Komatsu T, Tanimoto T, Nukata Y, Tanabe F, et al. A novel costimulatory factor for gamma interferon induction found in the livers of mice causes endotoxic shock. Infect Immun [Internet]. 1995 [cited 2022 Jan 11];63(10):3966–72. Available from:

https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/iai.63.10.3966-3972.1995

197. Ahmad R, Thomas R, Kochumon S, Sindhu S. Increased adipose tissue expression of IL-18R and its Ligand IL-18 associates with inflammation and insulin resistance in obesity. Immunity, Inflamm Dis [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2021 Jun 21];5(3):318–35. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28508444/

198. McInnes IB, Gracie JA, Leung BP, Wei XQ, Liew FY. Interleukin 18: a pleiotropic participant in chronic inflammation [Internet]. Vol. 21, Immunology Today. Elsevier Ltd; 2000 [cited 2021 Jun 21]. p. 312–5. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10871869/

199. Yasuda K, Nakanishi K, Tsutsui H. Interleukin-18 in health and disease. International Journal Of Molecular Sciences. 2019; 20(3):649. Available from: www.mdpi.com/journal/ijms

200. Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H. Interleukin-18 regulates both Th1 and Th2 responses [Internet]. Vol. 19, Annual Review of Immunology. 2001 [cited 2021 Jun 21]. p. 423–74. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11244043/

201. Trøseid M, Seljeflot I, Arnesen H. The role of interleukin-18 in the metabolic syndrome [Internet]. 2010. Available from: http://www.cardiab.com/content/9/1/11

202. Wu H, Ballantyne CM. Metabolic inflammation and insulin resistance in obesity. Circ Res [Internet]. 2020 [cited 2021 Jun 23];1549–64. Available from: https://www.ahajournals.org/doi/suppl/10.1161/CIRCRESAHA.119.315896.

203. Tsutsumi N, Kimura T, Arita K, Ariyoshi M, Ohnishi H, Yamamoto T, et al. The structural basis for receptor recognition of human interleukin-18. Nat Commun. 2014;5.

204. RCSB PDB. RCSB PDB - 3WO2: Crystal structure of human interleukin-18 [Internet]. [cited 2021 Jun 21]. Available from: https://www.rcsb.org/structure/3WO2

205. Zorrilla EP, Conti B. Interleukin-18 null mutation increases weight and food intake

and reduces energy expenditure and lipid substrate utilization in high-fat diet fed mice. Brain Behav Immun. 2014 Mar 1;37:45–53.

206. Institute of Medicine. Jennifer J. Otten JPH and LDME. Biotin | Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements | The National Academies Press [Internet]. Chapter : Biotin. 2006 [cited 2021 Nov 9]. p. 196–201. Available from: https://www.nap.edu/read/11537/chapter/20

207. Avery G. Biotin interference in immunoassay: a review for the laboratory scientist. Annals of Clinical Biochemistry. 2019.

208. Grimsey P, Frey N, Bendig G, Zitzler J, Lorenz O, Kasapic D, et al. Population pharmacokinetics of exogenous biotin and the relationship between biotin serum levels and in vitro immunoassay interference. Int J Pharmacokinet. 2017 Nov;2(4):247–56.

209. NIH (National Institutes of Health). Biotin - Health Professional Fact Sheet [Internet]. [cited 2022 Feb 10]. Available from: https://ods.od.nih.gov/factsheets/Biotin-HealthProfessional/

210. Zempleni J, Mock DM. Bioavailability of biotin given orally to humans in pharmacologic doses. Am J Clin Nutr [Internet]. 1999 [cited 2022 Feb 10];69(3):504–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10075337/

211. PubChem. Biotin | C10H16N2O3S - PubChem [Internet]. [cited 2021 Jun 23]. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Biotin

212. Luong JHT, Male KB, Glennon JD. Biotin interference in immunoassays based on biotin-strept(avidin) chemistry: an emerging threat [Internet]. Vol. 37, Biotechnology Advances. Elsevier Inc.; 2019 [cited 2020 Jun 21]. p. 634–41. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30872068/

213. Piketty ML, Prie D, Sedel F, Bernard D, Hercend C, Chanson P, et al. High-dose biotin therapy leading to false biochemical endocrine profiles: validation of a simple method to overcome biotin interference. Clin Chem Lab Med. 2017 May 1;55(6):817-825.

214. Öncül Ü, Eminoğlu FT, Köse E, Doğan Ö, Özsu E, Aycan Z. Serum biotin

interference: a troublemaker in hormone immunoassays. Clin Biochem. 2022 Jan 1;99:97–102.

215. DRG International I. DRG Leptin (Sandwich) ELISA. REF EIA-2395 2011;(May):9.

216. ELABSCIENCE. Human LEPR(Leptin Receptor) ELISA Kit. Catalog No : E-EL-H0093 96T.

217. BT-LAB. Human Ghrelin ELISA Kit Cat. No E3091Hu.

218. BT-LAB. Human Acylated Ghrelin ELISA Kit Cat. No E3090Hu.

219. BT-LAB. Human Desacyl Ghrelin ELISA Kit Cat. No E4218Hu.

220. CORP. CC. SEC516Hu 96 Tests Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Growth Hormone Secretagogue Receptor (GHSR) Organism. 2013;1:2–9.

221. ELABSCIENCE. Human GHRL(Ghrelin) ELISA Kit Synonyms: GHRL, MTLRP, Ghrelin Catalog No : E-EL-H1919 96T.

222. ELABSCIENCE. Human KISS1(Kisspeptin 1) ELISA Kit. Catalog No : E-EL-H2129 96T.

223. CORP. CC. CEC559Hu 96 Tests Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Kisspeptin 1 (KISS1) COMPETITIVE. 2013;1:2–9.

224. CORP. CC. SEF540Hu 96 Tests Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Kisspeptin Receptor (KISS1R). 2013;1:2–9.

225. ELABSCIENCE. Human Preptin ELISA Kit. Catalog No : E-EL-H0913 96T.

226. ELABSCIENCE. Human PPAR-γ (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma) ELISA Kit. Catalog No : E-EL-H1361 96T.

227. CORP. CC. SEK115Hu 96 Tests Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For NLR Family, Pyrin Domain Containing Protein 3 (NLRP3). 2013;1:2–9.

228. ELABSCIENCE. Human IL-18(Interleukin 18) ELISA Kit. Catalog No : E-EL-H0253 96T.

229. BT-LAB. Human-Vitamin-H (BİOTİN) ELISA Kit Cat. No E3932Hu.

230. CUSABIO. Biotin ELISA Kit. Catalog Number. CSB-E16209 2012;1–13.

231. Xanthakos SA. Obesity, pediatric. Encycl Gastroenterol. 2020 Jan 1;728–36.

232. Han JC, Weiss R. Obesity, metabolic syndrome and disorders of energy balance. Sperling Pediatr Endocrinol. 2021 Jan 1;939–1003.

233. Voigtmann F, Wolf P, Landgraf K, Stein R, Kratzsch J, Schmitz S, et al. Identification of a novel leptin receptor (LEPR) variant and proof of functional relevance directing treatment decisions in patients with morbid obesity. Metabolism. 2021 Mar 1;116:154438.

234. Isaksen V, Larsen M, Goll R, Paulssen E. Modest weight loss improves leptin to adiponectin ratio and induces insulin and leptin resensitivization in individuals with obesity. Wiley Online Libr [Internet]. 2021 [cited 2021 Oct 20]; Available from: https://www.researchsquare.com/article/rs-936579/latest.pdf

235. RH L, S S, JE S, PA V-M. Obesity, leptin resistance, and the effects of insulin reduction. Int J Obes Relat Metab Disord [Internet]. 2004 Oct [cited 2021 Nov 3];28(10):1344–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15314628/

236. Tsiroukidou K, Hatziagorou E, Grammatikopoulou MG, Vamvakis A, Kontouli K, Tzimos C, et al. Cardiorespiratory fitness predicted by fibrinogen and leptin concentrations in children with obesity and risk for diabetes: a cross-sectional study and a ROC curve analysis. Nutr 2021, Vol 13, [Internet]. 2021 Feb 19 [cited 2021 Oct 20];13(2):674. Available from: https://www.mdpi.com/2072-6643/13/2/674/htm

237. Karra E, Chandarana K, Batterham RL. The role of peptide YY in appetite regulation and obesity. J Physiol [Internet]. 2009 [cited 2021 Nov 11];587(Pt 1):19. Available from: /pmc/articles/PMC2670018/

238. Gray SM, Page LC, Tong J. Ghrelin regulation of glucose metabolism. J Neuroendocrinol [Internet]. 2019 [cited 2021 Nov 11];31(7):e12705. Available from: /pmc/articles/PMC6688917/

239. Andarini S, Kangsaputra FB, Handayani D. Pre- and postprandial acylated ghrelin in obese and normal weight men. Asia Pac J Clin Nutr [Internet]. 2017 [cited 2021

Nov 12];26(Suppl 1):S85–91. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28625043/

240. Hudson AD, Kauffman AS. Metabolic actions of kisspeptin signaling: effects on body weight, energy expenditure, and feeding. Pharmacol Ther. 2021 Sep 14;107974.

241. Calcaterra V, Nappi RE, Pelizzo G, De Silvestri A, Albertini R, De Amici M, et al. Insulin resistance and potential modulators of ovarian reserve in young reproductive-aged women with obesity and type 1 diabetes. Gynecol Endocrinol [Internet]. 2021;37(9):823–30. Available from: https://doi.org/10.1080/09513590.2021.1940127

242. Sithinamsuwan K, Mahachoklertwattana P, Wankanit S, Chanprasertyothin S, Pongratanakul S, Khlairit P, et al. Serum kisspeptin and ıts relation to metabolic parameters and glucose metabolism in prepubertal and pubertal obese children. Int J Endocrinol. 2020;2020.

243. Hussain MA, Song WJ, Wolfe A. There is Kisspeptin - and then there is Kisspeptin. Trends Endocrinol Metab [Internet]. 2015 Oct 1 [cited 2021 Nov 25];26(10):564. Available from: /pmc/articles/PMC4587393/

244. Silvestre RA, Egido EM, Hernández R, Marco J. Kisspeptin-13 inhibits insulin secretion without affecting glucagon or somatostatin release: study in the perfused rat pancreas. J Endocrinol [Internet]. 2008 Feb [cited 2021 Nov 30];196(2):283–90. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18252951/

245. Vikman J, Ahrén B. Inhibitory effect of kisspeptins on insulin secretion from isolated mouse islets. Diabetes Obes Metab [Internet]. 2009 [cited 2021 Nov 29];11 Suppl 4(SUPPL. 4):197–201. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19817802/

246. van Doorn J. Insulin-like growth factor-II and bioactive proteins containing a part of the E-domain of pro-insulin-like growth factor-II. Biofactors. 2020 Jul;46(4):563-578.

247. Mohammad Rahimi GR, Bijeh N, Rashidlamir A. Effects of exercise training on serum preptin, undercarboxylated osteocalcin and high molecular weight

adiponectin in adults with metabolic syndrome. Exp Physiol [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2021 Jun 16];105(3):449–59. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31869474/

248. Yoldemir ŞA, Altun Ö. The relationship between insulin resistance and serum preptin level. Ankara Med J. 2019;19(4):708–23.

249. Janesick A, Blumberg B. Minireview: PPARγ as the target of obesogens. J Steroid Biochem Mol Biol [Internet]. 2011 [cited 2022 Jan 6];127(1–2):4–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21251979/

250. Chawla A, Schwarz EJ, Dimaculangan DD, Lazar MA. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma: adipose-predominant expression and induction early in adipocyte differentiation. Endocrinology [Internet]. 1994 Aug 1 [cited 2022 Jan 7];135(2):798–800. Available from: https://academic.oup.com/endo/article/135/2/798/3036248

251. Corrales P, Vidal-Puig A, Medina-Gómez G. PPARs and metabolic disorders associated with challenged adipose tissue plasticity. Int J Mol Sci 2018, Vol 19, Page 2124 [Internet]. 2018 Jul 21 [cited 2022 Jan 7];19(7):2124. Available from: https://www.mdpi.com/1422-0067/19/7/2124/htm

252. Evseeva MN, Balashova MS, Kulebyakin KY, Rubtsov YP. Adipocyte Biology from the Perspective of In Vivo Research: Review of Key Transcription Factors. Int J Mol Sci 2022, Vol 23, Page 322 [Internet]. 2021 Dec 28 [cited 2022 Jan 6];23(1):322. Available from: https://www.mdpi.com/1422-0067/23/1/322/htm

253. Wang F, Mullican SE, DiSpirito JR, Peed LC, Lazar MA. Lipoatrophy and severe metabolic disturbance in mice with fat-specific deletion of PPARγ. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2013 Nov 12 [cited 2022 Jan 7];110(46):18656–61. Available from: https://www.pnas.org/content/110/46/18656

254. Hussain I, Garg A. Lipodystrophy syndromes. Endocrinol Metab Clin North Am [Internet]. 2016;45(4):783–97. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.ecl.2016.06.012

255. Zangiabadi S, Abdul-Sater AA. Regulation of the NLRP3 inflammasome by posttranslational modifications. J Immunol [Internet]. 2022 Jan 15 [cited 2022 Jan

18];208(2):286–92. Available from: https://www.jimmunol.org/content/208/2/286

256. Tweedell RE, Kanneganti TD. Advances in ınflammasome research: recent breakthroughs and future hurdles. Trends Mol Med [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2022 Jan 18];26(11):969–71. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32948447/

257. Swanson K V., Deng M, Ting JPY. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. Nat Rev Immunol [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2022 Jan 18];19(8):477. Available from: /pmc/articles/PMC7807242/

258. Unamuno X, Gómez-Ambrosi J, Ramírez B, Rodríguez A, Becerril S, Valentí V, et al. NLRP3 inflammasome blockade reduces adipose tissue inflammation and extracellular matrix remodeling. Cell Mol Immunol [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2021 May 25];18(4):1045–57. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31551515/

259. Sun K, Tordjman J, Clément K, Scherer PE. Fibrosis and adipose tissue dysfunction. Cell Metab. 2013 Oct 1;18(4):470–7.

260. Mantovani A, Dinarello CA, Molgora M, Garlanda C. Interleukin-1 and related cytokines in the regulation of inflammation and immunity. Immunity [Internet]. 2019 Apr 16 [cited 2022 Jan 11];50(4):778–95. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30995499/

261. Teufel LU, Arts RJW, Netea MG, Dinarello CA, Joosten LAB. IL-1 family cytokines as drivers and inhibitors of trained immunity. Cytokine. 2022 Feb 1;150:155773.

262. Townsend MS, Shilts MK, Lanoue L, Drake C, Styne DM, Woodhouse L, et al. Obesity risk assessment tool among 3-5 year olds: validation with biomarkers of low-grade chronic ınflammation. Child Obes [Internet]. 2020 Aug 1 [cited 2022 Jan 11];16(S1):S23–32. Available from: https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/chi.2019.0237

263. Styne DM, Arslanian SA, Connor EL, Farooqi IS, Murad MH, Silverstein JH, et al. Pediatric obesity—assessment, treatment, and prevention: an endocrine society clinical practice guideline. j Clin Endocrinol Metab [Internet]. 2017 Mar 1 [cited

2022 Jan 11];102(3):709–57. Available from: https://academic.oup.com/jcem/article/102/3/709/2965084

264. Kelishadi R, Roufarshbaf M, Soheili S, Payghambarzadeh F, Masjedi M. Association of childhood obesity and the ımmune system: a systematic review of reviews [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2022 Jan 11];13(4):332–46. Available from: https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/chi.2016.0176

265. Wood IS, Wang B, Jenkins JR, Trayhurn P. The pro-inflammatory cytokine IL-18 is expressed in human adipose tissue and strongly upregulated by TNF alpha in human adipocytes. Biochem Biophys Res Commun [Internet]. 2005 Nov 18 [cited 2022 Jan 11];337(2):422–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16188228/

266. Oluwagbemigun K, Buyken AE, Alexy U, Schmid M, Herder C, Nöthlings U. Developmental trajectories of body mass index from childhood into late adolescence and subsequent late adolescence-young adulthood cardiometabolic risk markers. Cardiovasc Diabetol [Internet]. 2019 Jan 19 [cited 2022 Jan 11];18(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30660185/

267. Wang A ru, Yan X qin, Zhang C, Du C qi, Long W jun, Zhan D, et al. Characterization of Wnt1-inducible signaling pathway protein-1 in obese children and adolescents. Curr Med Sci. 2018;38(5):868–74.

268. Empringham B, Jennings WJ, Rajan R, Fleming AJ, Portwine C, Johnston DL, et al. Leptin is associated with the tri-ponderal mass ındex in children: a cross-sectional study. Adolesc Health Med Ther [Internet]. 2021 Mar [cited 2021 Oct 20];12:9. Available from: /pmc/articles/PMC7955735/

269. Frithioff-Bøjsøe C, Lund MAV, Lausten-Thomsen U, Hedley PL, Pedersen O, Christiansen M, et al. Leptin, adiponectin, and their ratio as markers of insulin resistance and cardiometabolic risk in childhood obesity. Pediatr Diabetes [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2021 May 20];21(2):194–202. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/pedi.12964

270. Eldosouky MK, Allah AMA, AbdElmoneim A, Al-Ahmadi NS. Correlation between serum leptin and its gene expression to the anthropometric measures in

overweight and obese children. Cell Mol Biol [Internet]. 2018 Jan 31 [cited 2022 Jan 28];64(1):84–90. Available from: https://cellmolbiol.org/index.php/CMB/article/view/1944

271. Nyangasa MA, Buck C, Kelm S, Sheikh MA, Günther K, Hebestreit A. The association between leptin and inflammatory markers with obesity indices in Zanzibari children, adolescents, and adults. Obes Sci Pract [Internet]. 2021 Feb 1 [cited 2022 Jan 20];7(1):71–81. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/osp4.466

272. Yang CC, Wu CH, Lin TC, Cheng YN, Chang CS, Lee KT, et al. Inhibitory effect of PPARγ on NLRP3 inflammasome activation. Theranostics [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2022 Mar 15];11(5):2424. Available from: /pmc/articles/PMC7797672/

273. Stienstra R, Duval C, Müller M, Kersten S. PPARs, obesity, and inflammation. PPAR [Internet]. 2007 [cited 2022 Feb 1]. Available from: /pmc/articles/PMC1783744/

274. Robert K. Murray, David A. Bender, Kathleen M. Botham, Peter J. Kennelly, Victor W. Rodwell PAW. Harper's Illustrated Biochemistry, Twenty-Ninth Edition. The McGraw-Hill Companies, Inc. 2015. 530–540 p.

275. Taleban R, Heidari-Beni M, Qorbani M, Motlagh ME, Malekshah AFT, Moafi M, et al. Is dietary vitamin B intake associated with weight disorders in children and adolescents? The weight disorders survey of the CASPIAN-IV study. Heal Promot Perspect [Internet]. 2019 [cited 2022 Feb 11];9(4):299–306. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31777710/

276. Bodunova NA, Askerkhanov RG, Khatkov IE, Sabelnikova EA, Parfenov AI, Tkachenko E V., et al. Impact of bariatric surgery on vitamin metabolisms in obese patients. Ter Arkh. 2015;87(2):70–6.

277. Wakabayashi K, Kodama H, Ogawa E, Sato Y, Motoyama K, Suzuki M. Serum biotin in Japanese children: enzyme-linked immunosorbent assay measurement. Pediatr Int [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2021 Nov 14];58(9):872–6. Available from: https://www.researchgate.net/publication/296686094_Serum_Biotin_Levels_in_J

apanese_Children_Analyzed_by_ELISA

278. Sakurai-Yageta M, Mashimo Y, Kuroishi T, Ishihara R, Shimojo N, Kohno Y, et al. Association between serum biotin levels and cedar pollinosis in Japanese schoolchildren. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) [Internet]. 2021 [cited 2022 Feb 7];67(4):211–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34470995/

279. Kabiri P, Weiskirchen R, van Helden J. The biotin interference within interference suppressed immunoassays. J Clin Lab Anal [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2022 Feb 4];35(9):e23940. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcla.23940

280. Ylli D, Soldin SJ, Stolze B, Wei B, Nigussie G, Nguyen H, et al. Biotin interference in assays for thyroid hormones, thyrotropin and thyroglobulin. https://home.liebertpub.com/thy [Internet]. 2021 Aug 3 [cited 2022 Feb 24];31(8):1160–70. Available from: https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/thy.2020.0866

281. Amitava Dasgupta, Samir Khalil, Tiffany Paddock AW. Technical note: bimodal negative interference of biotin in Roche IL-6 immunoassay [Internet]. Ann Clin Lab Sci . 2022 [cited 2022 Feb 22]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35181630/

282. Knudsen CS, Adelborg K, Søndergaard E, Parkner T. Biotin interference in routine IDS-iSYS immunoassays for aldosterone, renin, insulin-like growth factor 1, growth hormone and bone alkaline phosphatase. https://doi.org/101080/0036551320212003854 [Internet]. 2021 [cited 2022 Feb 24];82(1):6–11. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00365513.2021.2003854

PEDİATRİK OBEZİTEDE ENERJİ HOMEOSTAZI İLE İLGİLİ PARAMETRELER VE İLİŞKİLİ RESEPTÖR PROFİLLERİ

ORIGINALITY REPORT

15%	11%	3%	9%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	acikbilim.yok.gov.tr Internet Source	4%
2	Submitted to Istanbul University Student Paper	3%
3	acikerisim.erbakan.edu.tr Internet Source	1%
4	hdl.handle.net Internet Source	1%
5	nek.istanbul.edu.tr:4444 Internet Source	<1%
6	turkish.elisatest-kit.com Internet Source	<1%
7	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Student Paper	<1%
8	docplayer.biz.tr Internet Source	<1%
9	acikerisim.selcuk.edu.tr:8080 Internet Source	<1%