T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kokain ve Amfetamin-Düzenlenen Transkript [cocaine-and amphetamine-regulated transcript (CART)] Gen Polimorfizminin Çocukluk Çagı Obezitesinde Antropometrik ve Metabolik Parametreler ile Olan ilişkisi

Fatima DEDEMOĞLU

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZMİR-2014

TEZ KODU: DEU.HSI.MSc-2011970100

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kokain ve Amfetamin-Düzenlenen Transkript [cocaine-and amphetamine-regulated transcript (CART)] Gen Polimorfizminin Çocukluk Çagı Obezitesinde Antropometrik ve Metabolik Parametreler ile Olan ilişkisi

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK AD.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatima DEDEMOĞLU

Danışman Öğretim Üyesi: Doç. Dr. Sefa KIZILDAĞ

(Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından KB.SAG.26.2013.5 sayı ile desteklenmiştir.)

TEZ KODU: DEU.HSI.MSc-2011970100

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans programı öğrencisi Fatima Dedemoğlu **'Kokain ve Amfetamin-Düzenlenen Transkript [cocaine-and amphetamine-regulated transcript(CART)] Gen Polimorfizminin Çocukluk Çagı Obezitesinde Antropometrik ve Metabolik Parametreler ile Olan ilişkisi '** konulu Yüksek Lisans tezini …….tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.

Doç. Dr. Sefa KIZILDAĞ

BAŞKAN

Prof. Dr. Ogün SERCAN

ÜYE

Doç. Dr. Ayhan ABACI

ÜYE

Yard. Doç. Dr. Çiğden E. YAZICIOĞLU

YEDEK ÜYE

Yard. Doç. Dr. Yasemin SOYSAL

YEDEK ÜYE

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER……i

TABLO DİZİNİ.....v

ŞEKİL DİZİNİ.....vi

KISALTMALAR.....vii

TEŞEKKÜR……...vii

ÖZET.....1

ABSTRACT.....2

1. GİRİŞ VE AMAÇ 4

2. GENEL BİLGİLER 5

2.1. Obezitenin Tanımı 6

2.2. Epidemiyoloji 6

2.3. Obezite Teşhisi 7

2.3.1.Doğrudan yöntemler 7

2.3.2.Dolaylı Yöntemler 7

2.3.2.1. Vücut kitle indeksi 7

2.3.2.2. Bel-Kalça Oranı 11

2.3.2.3. Deri Kıvrım Kalınlığının Ölçülmesi 11

2.3.2.4. Kol Kas Alanının Ölçülmesi.....11

2.4. Etiyoloji 12

2.4.1. Enerji Alımı.....12

2.4.2. Beslenme Alışkanlığı.....13

2.4.3. Enerji Harcanması 13

2.4.4. Metabolik ve Hormonal Faktörler 14

2.5. Obezite Tipleri 14

2.5.1.Anatomik Sınıflandırma.....14

2.5.2. Etiyolojik Sınıflandırma....14
2.5.3. Fonksiyonel Sınıflandırma....14
2.6. Obezite Dağılımı....15
2.6.1. Ekzojen Obezite....16
2.6.2. Genetik....16
2.6.3. Yaş....16
2.6.4. Cinsiyet....16
2.6.5. Beslenme Alışkanlıkları....16
2.6.6. Fizilsel Aktivite....16
2.7. Obezitenin Komplikasyonları....17
2.8. Tedavi....18
2.8.1. Beslenme Tedavisi....18
2.8.2. Egzersiz Tedavisi....18
2.8.3. İlaç Tedavisi....19
2.8.4. Cerrahi Tedavi....19
2.8.5. Davranış Tedavisi....19
2.9. CART (Kokain ve amfetamin düzenleyen transkript)....21
2.9.1. CART ve Beslenme....23
2.10. Real Time-PCR....23
2.11. Hibridizasyon Probu....23
2.11.1. Erime Eğrisi Analizi....24
3. GEREÇ VE YÖNTEM....26
3.1. Araştırmanın tipi....26
3.2. Araştırmanın yeri ve zamanı....26
3.3. Araştırmanın evreni ve örneklemi....26
3.4. Çalışma materyali....26
3.5. Araştırmanın değişkenleri....27

3.6. Veri toplama araçları 27
3.6.1 Metabolik ve Antropometrik Ölçümler 27
3.6.2. Polimorfizmin Belirlenmesinde Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Malzemeler 28
3.6.1. Kandan DNA İzolasyonu 29
3.6.1.1. DNA İzolasyon Kitinin Çalışma Prensibi: 29
3.6.1.2. Kit içindeki ve temin edilmesi gereken solusyonlar 29
3.6.1.3. Roche Memeli Kanından DNA İzolasyon kiti ile DNA izolasyon protokolü 29
3.6.2. Elde Edilen Genomik DNA'nın Konsantrasyonunun ve Saflığının saptanması....31
3.6.3. Real-Time PCR 31
3.6.3.1. Real Time-PCR reaksiyonunda kullanılan komponentler 31
3.6.3.1.1. Örnek Materyal 31
3.6.3.1.2. Primerler 31
3.6.3.1.3. Hibridizasyon Probları....31
3.6.3.1.4. $MgCl_2$ 32
3.6.3.2 RealTime-PCR Deney Protokolü....32
3.6.3.3 RealTime-PCR Floresan Parametreleri....32
3.6.3.4 RealTime-PCR Karışımı 32
3.7. Araştırma planı....33
3.8. Verilerin değerlendirilmesi 34
3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları....34
3.10. Etik Kurul Onayı....34
4. BULGULAR....35
4.1. Metabolik ve Antropometrik Ölçüm Sonuçları....35
4.2. A1475G Polimorfizm Belirlenmesi....36
4.3. CART A1475G Polimorfizminin Metabolik ve Antropometrik Parametreler İle İlişkisi 41
5. TARTIŞMA 43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER....46
7. KAYNAKLAR....47

8. EKLER 56
8.1. Ek 1 Bilgilendirilmiş Gönül Olur Formu 56
8.2. Ek 2 Olgu Rapor Formu 60

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1 : Dünya Sağlık Örgütü VKİ Değerleri [18] 8

Tablo 2 : Bel-Kalça Oranları [24] 11

Tablo 3 : Harris - Benedict Formülü [36] 13

Tablo 4 : Revize Harris- Benedict Formülü [37] 13

Tablo 5 : Obezitenin İlaçla Tedavisi [56] 20

Tablo 6 : Risklere Göre Obezite Tedavisinin Sınıflandırılması [56] 21

Tablo 7 : Araştırmada Kullanılan Cihazlar 28

Tablo 8 : Araştırmada Kullanılan Kimyasallar 28

Tablo 9 : Real Time-PCR İşleminde Kullanılan Malzemeler ve Miktarları 32

Tablo 10 : Real Time-PCR Protokolünün Termal Profili 33

Tablo 11 : Araştırma Planı 33

Tablo 12 : Kontrol ve Hasta Grubunun Cinsiyet Dağılımı 35

Tablo 13 : Hasta ve Kontrol Grubunun Antropometrik Ölçüm Sonuçları 35

Tablo 14 **:** Hasta ve Kontrol Grubunun Metabolik Ölçüm Sonuçları 36

Tablo 15 : Hasta Grubunun Erime Eğrisi Sıcaklıkları 36

Tablo 16 : Kontrol Grubunun Erime Eğrisi Sıcaklıkları 38

Tablo 17 : CART A1475G Genotip Dağılımı 41

Tablo 18 : CART A1475G Allel Dağılımı 41

Tablo 19 : Obez ve Kontrol Grubununun Antropometrik-Metabolik Parametreleri İle CART A1475G Polimorfizmlerinin İlişkisi 42

Tablo 20 : Türkiye'de Yapılmış Çalışmalar ve Karşılaştırmalı Obezite Sıklıkları [89]–[92] .. **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 : VKİ-Yaş Grafiği, Kadınlar, 2-20 Yaş Aralığı [22] 9

Şekil 2 : VKİ-Yaş Grafiği, Erkekler, 2-20 Yaş Aralığı [22] 10

Şekil 3: Yağ Oranları [45].....11

Şekil 4 : Obezite Oluşumunu Etkileyen Faktörler [29].....12

Şekil 5 : TURDEP-II, Obezite ve Hipertansiyon [54] 17

Şekil 6 : *CART* Geninin Kromozomal Lokalizasyonu [57].....21

Şekil 7 : *CART* Geni ve Promotör Bölgesinin Şematik Diagramı [67].....22

Şekil 8 : Hibridizasyon probları [82] 24

Şekil 9 : Erime Eğrisi Analizi Örnek Grafiği [86].....25

Şekil 10 : Real Time PCR Erime Eğrileri 40

Şekil 11 : Real Time-PCR Sonucunun Jel Elektroforez Görüntüsü.....40

Şekil 12 : Erkeklerde yaş gruplarına göre obezite ve fazla kilolu olma sıklığı, Türkiye 2011. **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

Şekil 13 : Kadınlarda yaş gruplarına göre obezite ve fazla kilolu olma sıklığı, Türkiye 2011. **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

KISALTMALAR

AN : Arkuat Nukleus

BMH : Bazal Metabolizma Hızı

bp : Base Pair / Baz Çifti

CART : Kokain ve Amfetamin ile Regüle Olan Transkript

CDC : Centers for Disease Control and Prevention
Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi

DMH : Dinlenme Metabolizma Hızı

DNTP : Deoxyribonucleotide Triphosphates
Deoksiribonükleotit Trifosfat

EDTA : Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

EKG : Electrocardiography / Elektrokardiyografi

FISH : Fluorescence In Situ Hybridization
Floresan İn Situ Hibridizasyon

FRET : Fluorescence Resonance Energy Transfer
Floresan Rezonans Enerji Transferi

FSH : Follicle Stimulating Hormone
Folikül Uyarıcı Hormon

HDL : High-density lipoprotein
Yüksek yoğunluklu lipoprotein

HPLC : High-performance liquid chromatography

: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

ICV : Intra Serebroventriküler

LDL : Low-density lipoprotein

Düşük yoğunluklu lipoprotein

LVH : Left ventricular hypertrophy

Sol Ventrikül Hipertrofisi

LH : Luteinizing hormone

Luteinleştirici hormon

MONICA : MONitoring of trends and determinants In CArdiovascular diseases

NPY : Neuropeptide Y / Nöropeptit Y

NHANES III : Third National Heath and Nutrition Examination Survey

OD : Optical Density / Optik Yoğunluk

PCR : Polimerase Chain Reaction

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

POMC : Proopiomelanocortin / Proopiomelanokortin

RE : Restriksiyon Enzimi

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

Retriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi

SNP : Single Nucleotide Polimorfizm

Tek nükleotid polimorfizm

TBE : Tris-Borate-EDTA / Tris-Borat-EDTA

TE : Tris-EDTA

TEKHARF : Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri

TKrHRF : Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri

TURDEP : Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans

UV : Ultraviyole

VKİ : Vücut Kitle İndeksi

WHO : World Heath Organisation / Dünya Sağlık Örgütü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana rehber olan, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, kendisini her zaman örnek almaya çalıştığım, öğrencisi olmaktan onur ve mutluluk duyduğum Sayın Hocam Doç. Dr. Sefa KIZILDAĞ'a:

Laboratuvar olanaklarını bizimle paylaşan; anabilim dalımız değerli hocalarından Sayın Yrd. Doç. Dr. Çiğdem ERESEN YAZICIOĞLU'na:

Hasta ve kontrol kan örneklerinin toplanmasını organize eden DEU Tıp Fakültesi, Dâhili Tıp Bilimleri Bölümü Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Endokrinoloji Ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı hocalarından Sayın Prof.Dr. Ece BÖBER 'e, Doç. Dr. Ayhan ABACI'ya, Uzm. Dr. Ahmet ANIK'a ve Uzm. Dr.Gönül ÇATLI'ya:

Laboratuar çalışmalarımdaki desteklerinden dolayı kendisiyle çalışmaktan keyif aldığım arkadaşım Derya POLAT'a:

Eğitimimin her aşamasında maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen, hayatım boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayıp her zaman yanımda olan ve aldığım her kararda beni destekleyen, sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Fatima DEDEMOĞLU

KOKAİN VE AMFETAMİN-DÜZENLENEN TRANSKRİPT [COCAINE-AND AMPHETAMINE-REGULATED TRANSCRIPT(CART)] GEN POLİMORFİZMİNİN ÇOCUKLUK ÇAGI OBEZİTESİNDE ANTROPOMETRİK VE METABOLİK PARAMETRELER İLE OLAN İLİŞKİSİ

Fatima Dedemoğlu

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Balçova- İzmir/Türkiye, fatimadedemoglu@gmail.com

ÖZET

Obezite, vücutta yağ dokusunun aşırı artmasıyla ortaya çıkan önemli bir sağlık problemidir. Tüm yaş gruplarında görülmekle birlikte çocukluk çağında artış göstermektedir. Çocukluk çağında görülen obezite erişkin dönemde hipertansiyon, diyabet, kalp-damar hastalıkları ve yüksek kolesterol oluşturma potansiyeli açısından önemlidir. Son yıllarda obez bireylerde oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir. CART geni 5. kromozom üzerinde lokalizedir ve kodlayan bölgede belirlenen polimorfizmlerden biri de A1475G polimorfizmidir. Bu çalışmanın amacı Türkiye populasyonunda obez çocuklardaki CART geni polimorfizminin prevalansını saptamak ve metabolik-antropometrik parametreler ile ilişkisini ortaya koymaktır.

Bu çalışma yaşları 2- 18 arasında değişen 134 obez ve 143 sağlıklı kontrolde yapılmıştır. DNA izolasyonunun ardından Real-Time PCR yöntemi ile hastaların genotipleri belirlenmiştir. A1475G polimorfizmlerinin metabolik ve antropometrik parametreler ile ilişkisi araştırılmıştır.

Hasta grubunda ağırlık, VKİ, bel çevresi, yağ kütlesi ve yağ yüzdesi değerleri daha yüksektir ve istatiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Metabolik ölçümler sonucu trigliserit değeri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek, HDL ise daha düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). AKŞ değeri hasta grubunda G allelini taşıyan bireylerde anlamlı oranda daha düşük bulunmuştur ($p < 0,05$).

Analizler sonucunda CART geninin A1475G mutasyonunun Türkiye popülasyonunda anlamlı bir fark yaratmadığını görüyoruz. Daha geniş popülasyonda yapılacak araştırmaların daha kapsamlı ve anlamlı sonuçlar elde edilebilecektir.

Anahtar Kelimeler: CART, A1475G, obezite, polimorfizm

THE RELATION OF COCAINE-AND AMPHETAMINE-REGULATED TRANSCRIPT(CART) GENE POLYMORPHISMS WITH METABOLIC AND ANTHROPOMETRIC PARAMETERS IN CHILDHOOD OBESITY

Fatima Dedemoğlu

Dokuz Eylul University Medical Faculty, Department of Medical Biology and Genetics, Balcova- Izmir/ Turkey, fatimadedemoglu@gmail.com

ABSTRACT

Obesity is a major public health problem caused by the excessive fat tissue increase in body. Obesity shows increase in childhood although observed in all age groups. Childhood obesity is important in terms of potential to cause hypertension, diabetes, cardiovascular disease and high cholesterol in adulthood. CART gene localized on chromosome 5 and one of the polymorphismsidentified in this region is the A1475G polymorphism. The aim of this study is to determine the prevalence of A1475G gene polymorphisms of obese children and to reveal its relationship between metabolic and anthropometric parameters in Turkish population.

This study is done with 134 obese and 143 healty volunteer whose ages are between 3 and 18. Genotipes of the people have been identified by Real-Time PCR method after DNA isolation. It is observed that relationship between A1475G polimorfisms and metabolic-antropometrics parameters.

Weight, BMI (Body Mass Index), fat mass, waist circumference and fat ratio values of the obese volunteers, have been determined higher than others and this statistically significant. Obese people have more triglyceride level than control group and they have lower HDL level ($p < 0,05$). Preprandial blood glucose value has been examinated significantly lower, ($p < 0,05$) in obese volunteer who have G allel.

It is obviously seen that CART gene does not affect intensely Turkish population. Making the observation with higher population could gives us more comprehensive results.

Key Words: CART, A1475G, Obesite, polymorphism

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite; genel bir halk sağlığı problemidir ve her yaşta başlayabilir. Yapılan araştırmalar obez yetişkinlerin üçte birinin çocukluk döneminde de obez olduğunu göstermiştir. Obezite, genetik, çevresel, metabolik hormonal ve psikososyal etmenlerle oluşan multifaktöriyel bir temele sahiptir [1].

Günümüzde obezite gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ve her yaş grubunda hızla artmaktadır. Bu durumun esas nedenleri modern yaşamın getirdiği beslenme alışkanlıklarında yağ ve karbonhidrat miktarlarının artması, çocukların fiziksel aktivite yerine bilgisayar ve televizyon ile büyümesidir [2], [3], [4].

Türkiye'de yapılan çalışmaların sınırlı olmasıyla birlikte, 11-15 yaş aralığındaki ergenlerden yüksek sosyo-ekonomik düzeyde olanların %7.4'ü, düşük sosyo-ekonomik düzeyde olanların %15.3'ü obez olarak saptanmıştır [5]. Yapılan başka bir araştırmada 1024 ilkokul çocuğu üzerinde yapılan araştırmada obezite görülme sıklığı yüksek gelirli ailelerin çocuklarında %1.7, orta gelirli ailelerin çocuklarında %1.9 ve dar gelirli ailelerin çocuklarında %0.5 olarak saptanmıştır [6], [7].

CART peptidi ve beslenme arasındaki ilişkinin CART'ın yağ metabolizması üzerindeki etki mekanizmaları sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir. CART 55-102 fragmanının intraserebroventriküler olarak uygulandığında dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin arttığı tespit edilmiştir [8].

Bu çalışmada yaşları 3-18 arasında değişen 143 kontrol ve 134 obez hasta CART geni A1475G polimorfizmi açısından değerlendirilmiştir. Çalışmanın amacı hasta ve kontrol grubunda A1475G SNP'sinin prevalansını saptamak ve bu SNP'nin çocukluk çağı obezitesinde metabolik ve antropometrik parametreler ile olan olası ilişkisini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezitenin Tanımı

Obezite; alınan enerjiyle harcanan enerji arasındaki dengenin sağlanamaması nedeniyle vücutta aşırı yağlanmayla sonuçlanan bir hastalıktır [2]. Dünya Sağlık Örgütüne göre obezite, yağ dokularında sağlığı bozacak şekilde yağ birikmesidir. Obezite; genel bir halk sağlığı problemidir ve her yaşta başlayabilir. Yapılan araştırmalar obez yetişkinlerin üçte birinin çocukluk döneminde de obez olduğunu göstermiştir. Obezite, genetik, çevresel, metabolik hormonal ve psikososyal etmenlerle oluşan multifaktöriyel bir temele sahiptir [1].

Vücut ağırlığının %10'u kemik ve kaslardan, geri kalan kısmın %75'i yağ, %25'i bağ ve destek dokulardan meydana gelir. İdeal kilodaki erkeklerde vücut yağ oranı %12-18, kadınlarda ise %20-30 olmalıdır [9].

2.2. Epidemiyoloji

Günümüzde obezite gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ve her yaş grubunda hızla artmaktadır. Bu durumun esas nedenleri modern yaşamın getirdiği beslenme alışkanlıklarında yağ ve karbonhidrat miktarlarının artması, çocukların fiziksel aktivite yerine bilgisayar ve televizyon ile büyümesidir [2], [3], [4]. Çocuklarda obezite 5-6 yaş arası ve ergenlik döneminde artış gösterir [10]. Yetişkinlikte görülen obezite hastalarının yaklaşık %30'unun çocukluk çağından kaynaklandığı bilinmektedir [11]. Düşük ya da iri doğan bebeklerin ileriki dönemlerde obez olma olasılıklarının yüksek olduğu belirtilmiş ve bu durumun nedeni olarak da maternal dönemdeki hipergliseminin amniyotik sıvıdaki insülin yoğunluğunun arttırması ve böylece pankreas beta hücre aktivitelerinin kalıcı bir şekilde etkilendiği gösterilmiştir [10], [11].

Çocuklarda obezite prevalansı oldukça değişkendir, bu değişkenlikler ölçüm yöntemleri ve teşhis ölçütlerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır [12]. WHO MONICA çalışması Avrupa'da obezite ile ilgili en kapsamlı verileri elde etmeyi sağlamıştır. Bu çalışmayla 39 ülkedeki obezite insidansı ve prevalansı yıllardır izlenmektedir. Buna göre obezite sıklığı kadınlarda ortalama %15, erkeklerde %22 olarak belirlenmiştir. 35-65 yaş arası bireylerde ise %50'den fazlası kilolu ya da obezdir [13]. NHANES III çalışmasında Amerikada kilolu çocuk prevalansı %22, obez çocuk prevalansı %10.9 olarak belirlenmiştir. Ayrıca kız çocuklardaki prevalans %13.7, erkeklerde ise 11.7'dir [14].

Türkiye'de yapılan çalışmaların sınırlı olmasıyla birlikte, 11-15 yaş aralığındaki ergenlerden yüksek sosyo-ekonomik düzeyde olanların %7.4'ü, düşük sosyo-ekonomik düzeyde olanların %15.3'ü obez olarak saptanmıştır [5]. Yapılan başka bir araştırmada 1024 ilkokul çocuğu üzerinde yapılan araştırmada obezite görülme sıklığı yüksek gelirli ailelerin çocuklarında %1.7, orta gelirli ailelerin çocuklarında %1.9 ve dar gelirli ailelerin çocuklarında %0.5 olarak saptanmıştır [6], [7].

2.3. Obezite Teşhisi

Obezite tanısı vücuttaki yağ oranının doğrudan veya dolaylı yöntemlerle belirlenmesi sonucu konulmaktadır.

2.3.1.Doğrudan yöntemler

Vücuttaki yağın doğrudan ölçümünü sağlayan yöntemler şunlardır:

- Kadavradan kimyasal analiz
- Vücuttaki toplam potasyum miktarının ölçülmesi
- Vücuttaki toplam suyun izotop dilüsyonu ile saptanması
- Vücut dansitesinin ölçümü
- Ultrasound ile yağ kalınlığının ölçülmesi
- Bilgisayarlı tomografi
- Biyoelektriksel impedans analizi
- Nükleer manyetik rezonana
- Dual-enerji X- ışını absorpsiyometresi [15]

2.3.2.Dolaylı Yöntemler

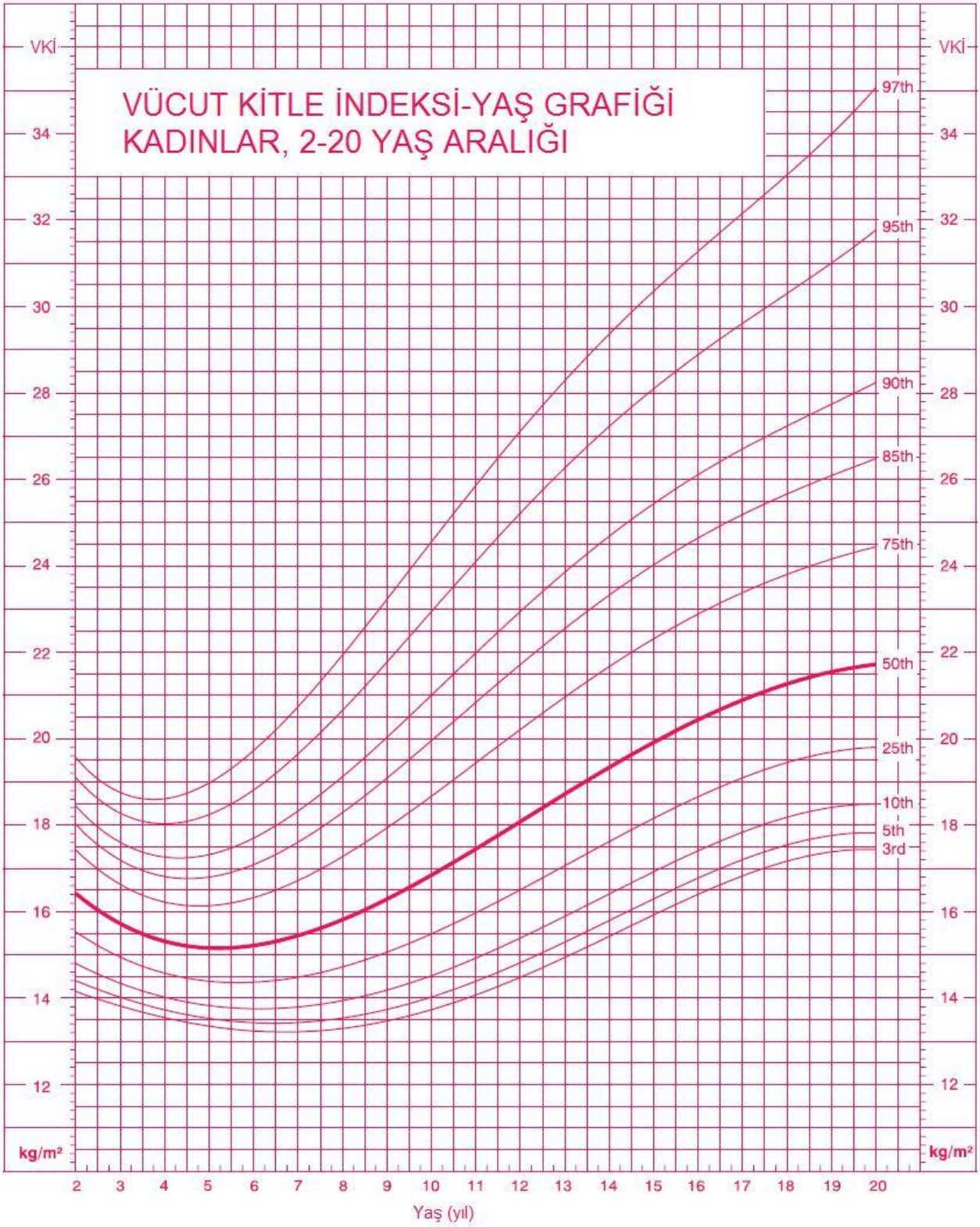
2.3.2.1. Vücut kitle indeksi

Vücut kitle indeksi; ağırlığın (kg), boyun (m) karesine oranıyla direkt olarak hesaplanabildiği gibi yayımlanmış tablolar ve nomogramlarla da belirlenebilir [16],[17].

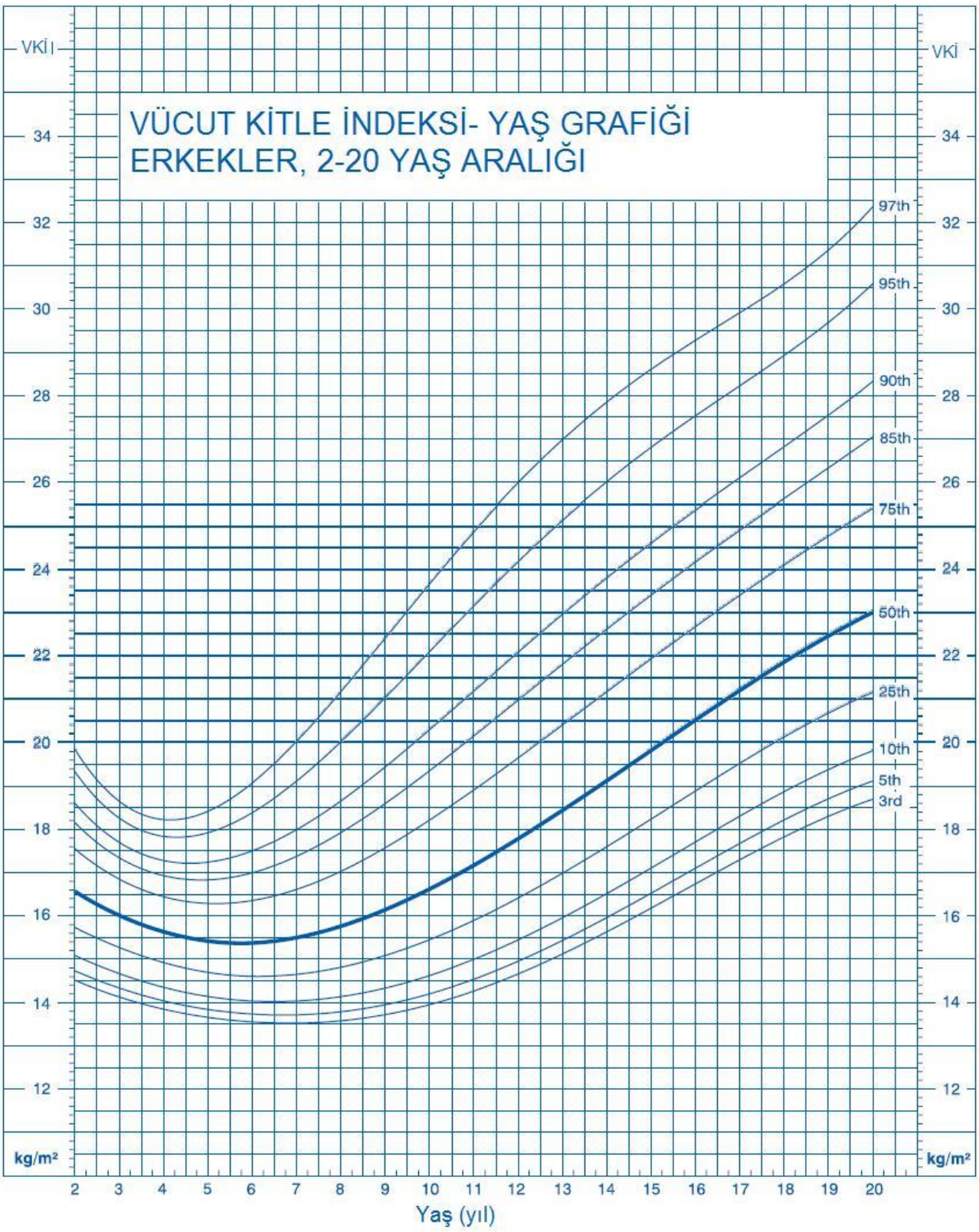
Tablo 1 : Dünya Sağlık Örgütü VKİ Değerleri [18]

	VKİ (kg/m^2)
Düşük Kilolu	<18.50
Normal	18.50-24.99
Aşırı Kilolu	≥25.00
Obez	≥30.00

VKİ için normal patern 2 yaşından 5-6 yaşına kadar düşmesi, sonrasında ise artmasıdır. VKİ'nin erken dönemlerdeki düşüşü cilt altı yağındaki ve vücut yağ oranındaki azalmaya karşılık gelmektedir [19]. Erken çocuklukta oluşan bu V şeklindeki motif adipoz geri tepkisi olarak adlandırılır [20]. VKİ en düşük seviyesine 4-7 yaş aralığında ulaşır ve sonrasında artar. Erken adipoz geri tepkisinin, ileriki dönemlerde obezite için risk faktörü olduğu gösterilmiştir [21].

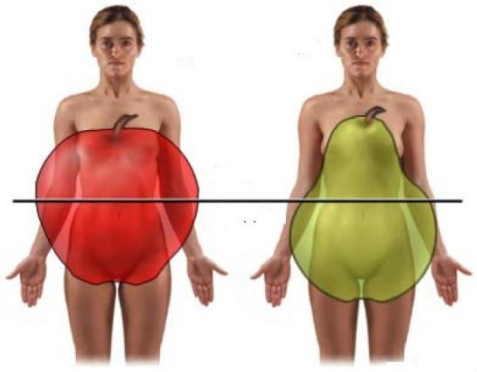


Şekil 1 : VKİ-Yaş Grafiği, Kadınlar, 2-20 Yaş Aralığı [22]



Şekil 2 : VKİ-Yaş Grafiği, Erkekler, 2-20 Yaş Aralığı [22]

2.3.2.2. Bel-Kalça Oranı



Belin kalçaya olan oranı vücuttaki yağ dağılımını belirlemede önemli bir ölçüttür. Yağ bedenin üst bölümünde toplanmışsa "android", alt bölümünde toplanmışsa "jenosid" şişmanlık olarak adlandırlır [23].

Şekil 3: Yağ Oranları [45]

Tablo 2 : Bel-Kalça Oranları [24]

	Kabul Edilebilir		Kabul Edilemez		
	Mükemmel	İyi	Ortalama	Yüksek	Aşırı
Kadın	< 0.75	0.75 - 0.80	0.80 - 0.85	0.85 - 0.90	> 0.90
Erkek	< 0.85	0.85 - 0.90	0.90 - 0.95	0.95 - 1.00	> 1.00

2.3.2.3. Deri Kıvrım Kalınlığının Ölçülmesi

Cilt altı yağ dokusu, deri kıvrım kaliperi adı verilen bir aletle ölçülür. Kaliperler mm^2'ye 10 gram basınç yapacak şekilde tasarlanmıştır [25]. Ölçümler biseps, triseps, subskapuler, subrailiak deri kıvrım kalınlıklarından yapılır [26]. Vücudun sağı ve solu arasında istitastiksel olarak anlamlı bir farklılık olmasa da ölçümler genellikle sağ taraftan yapılır [27]. Vücut yağ oranının hesaplanması için hazırlanan standart tablolar kullanılarak yağ yüzdesi bulunur.

2.3.2.4. Kol Kas Alanının Ölçülmesi

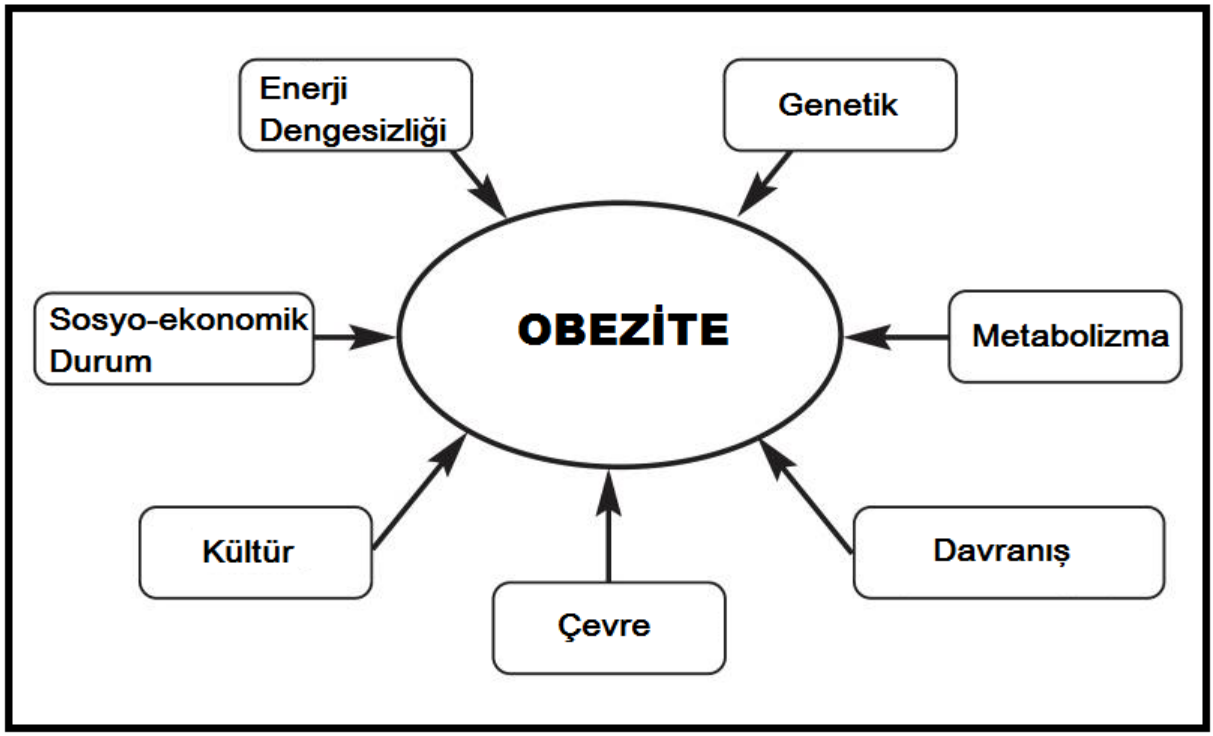
Kol kas alanı ölçümü fazla güvenilir bir yöntem olmasa da yine de kullanılan bir yöntemdir.

Kol kas alanı : (kol çevresi- (π * triseps deri kalınlığı)) 2 / 4 π

Elde edilen sonuçtan kadınlardan 6.5, erkeklerden 10.0 çıkartılması formülün düzeltilmiş halidir [25].

Ülkeler obeziteyi tanımlamada farklı ve kendilerine özgü yöntemler kullandıkları için, obezitenin epidemiyolojisinin incelenmesi oldukça zordur. 90'lı yıllarda vücut kitle indeksi bunun için evrensel ölçüt kabul edilmiştir [28].

2.4. Etiyoloji



Şekil 4 : Obezite Oluşumunu Etkileyen Faktörler [29]

2.4.1. Enerji Alımı

Karbonhidrat ana enerji kaynağıdır ve vücut tarafından depolanması sınırlı ve kontrollü olur. Fazla alınan karbonhidrat insülin hormonu etkinliğiyle karaciğer ve kaslarda glikojen olarak depolanırlar. Bu şekilde depolanamayacak kadar çok karbonhidrat alındıysa yine insülin hormonu etkisiyle yağ dokusunda yağa dönüşerek depolanır [30].

Protein dengesi günlük olarak sağlanır. Proteinle aşırı beslenme protein depolarında fazlalığa sebep olmaz. [31].

2.4.2. Beslenme Alışkanlığı

Bebeklik dönemindeki beslenme şekli, ileri yaşlardaki beslenme alışkanlığını etkiler. Anne sütü ile beslenmenin obeziteyi önlemedeki etkileri iyi bilinmektedir[32]. 1-3 yaş arası çocuklarda zamanından önce başlayan ek gıdalar ve mamalar, yapay beslenme ileride oluşacak obezite riskini arttırır[33].

2.4.3. Enerji Harcanması

Enerji harcanması için çeşitli yollar vardır: bazal metabolik hız, alınan yiyeceklerin termik etkisi, fiziksel aktivite gibi. Bazal metabolizma hızı, yaklaşık 12 saattir aç olan, fiziksel ve ruhsal olarak rahatlamış bir insanın, kan dolaşımı, kap atışı, vücut sıcaklığını sabit tutma gibi hayati fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için gerekli olan enerji miktarıdır [34]. Bazal metabolik hız sağlıklı yetişkinlerde toplam enerji harcanmasının %45-70'ini oluşturur; yaş, cinsiyet, vücut yüzey alanı, genetik faktörler, hormonal durum ve gebeliğe göre değişkenlik gösterir [35]. Buna rağmen 1919 yılında Harris ve Benedict BMH'yi hesaplamak için bir formül geliştirmişler [36]. 1984 yılında yapılan bir revizyonla bugün hala aynı formülü kullanılmaktadır [37].

Tablo 3 : Harris - Benedict Formülü [36]

Erkekler	66.4730 + (13.7516 x ağırlık kg) + (5.0033 x boy cm) – (6.7550 x yaş yıl)
Kadınlar	655.0955 + (9.5634 x ağırlık kg) + (1.8496 x boy cm) – (4.6756 x yaş yıl)

Tablo 4 : Revize Harris- Benedict Formülü [37]

Erkekler	88.362 + (13.397 x ağırlık kg) + (4.799 x boy cm) – (5.677 x yaş yıl)
Kadınlar	447.593 + (9.247 x ağırlık kg) + (3.098 x boy cm) – (4.330 x yaş yıl)

Obezitenin önlenme stratejileri oluşturmak için BMH'nin bilinmesi önemlidir. BMH'nın yanı sıra dinlenme metabolizma hızı (DMH) denilen bir kavram da vardır. DMH oda sıcaklığında kişinin dinlenme pozisyonunda harcadığı enerjidir. BMH'den farkı 12 saatlik açlık sonrası ölçüm gerektirmemesidir. Günlük enerjinin %60-75 ini oluşturur [35].

2.4.4. Metabolik ve Hormonal Faktörler

Yağ dokusu gelişimi perinatal dönemde başlayıp yaşam boyunca devam eden bir süreçtir. Preadolasan dönemdeki kalori alımındaki artış, yağ doku hücrelerinin sayısının artışına neden olur [38].

Obezite gelişimine zemin hazırlayan bazı endokrin nedenler vardır: Büyüme ve tiroid hormon eksiklikleri, kortizol fazlalığı, pseudohipoparatiroidizm, primer hiperinsülinemi gibi [39], [40].

Bunun yanı sıra, hipotalamik nöropeptidlerdeki değisimler, 11-beta hidroksisteroid dehidrogenaz aktivitesinde ve kortizonun kortizole dönüsümündeki artış da obeziteye neden olabilir [41].

2.5. Obezite Tipleri

Kapsamlı olarak obezite üç farklı şekilde sınıflandırılır.

2.5.1.Anatomik Sınıflandırma

Anatomik sınıflandırma mikroskopik ve makroskopik olarak iki bölümde incelenir. Mikroskopik olarak yağ hücresi büyüklüğüne ve sayısına bakılır. Makroskopik olarak ise vücut total yağ kütlesi, cilt-altı yağ dokusu, viseral yağ kütlesi, olağan dışı yağ birikimleri değerlendirilir.

2.5.2. Etiyolojik Sınıflandırma

Bu sınıflandırma tipinde ise hipotalamik, endokrin, diyabete bağlı, fiziksel inaktiviteye bağlı, ilaca bağlı, ve genetik olarak değerlendirilir.

2.5.3. Fonksiyonel Sınıflandırma

Fonksiyonel sınıflandırma tipinde iki alt sınıf vardır. Bunlardan birincisi VKİ'den çıkarılan tahmini risk derecesine göre sınıflandırmadır. İkincisi ise eşlik eden risklere göre

sınıflandırmadır. Bu alt sınıflandırmada obezite yanında kan basıncının yüksek olması, insülin rezistansı veya diyabet, HDL kolesterol, LDL kolesterol oranının düşük olması, EKG ile LVH saptanması, Uyku apne sendromu, hirsutizm veya LH/FSH oranlarının yüksek olması, sigara alışkanlığı, kişinin zorlanarak yemek yemesi, kişinin fiziksel aktivitesinin az olması kriterlerinin eşlik etmesi ile ilşkilendirilir.

2.6. Obezite Dağılımı

Obezitenin kaynağı temel olarak alınan enerjinin harcanandan daha fazla olmasıdır. Obezite; bazal metabolizma hızı, vücut ısı üretimi, fiziksel aktivite faktörlerinin bozulması ile ortaya çıkar. Bu bozulmanın sebepleri genetik ve ya çevresel olabilir [42]. İkizlerle yapılan çalışmalarda, farklı yerlerde yetişen çocukların VKİ değerlerinde belirgin bir farklılık olmaması, obezitenin genetik etkisini gösteren güzel bir örnektir [10].

Termogenez ile alınan fazla kalori yok edilmektedir. Başta karaciğer olmak üzere dokularda meydana gelen bazı kimyasal olaylarla da termogenezle kalori harcanmaktadır [42], [43]. Obezite oluşumunda termik yanıtın bozuk olmasının etkisinin olduğu saptanmıştır [43]. Yağ dokusu termal enerji deposu olan dokudur. Bunlardan salgılanan önemli hormonlardan biri leptindir. Leptin ob geni tarafından kodlanır. Leptin Nöropeptid-Y' nin sentez ve salımını inhibe eder, iştahı azaltır dolayısıyla kilo alımını engeller. Leptin adipositlerde üretildikten sonra kan-beyin bariyerini aşar, arkuat nükleustaki leptin reseptörlerine bağlanır, Nöropeptid-Y salgısını baskılar ve tokluk hissini sürdürür. Arkuat nükleustaki nöronlar hipotalamus ile etkileşir ve melanokortikotopin hormon oreksin salgılayıp serebral korteks üzerinden iştah ve yeme davranışını düzenler [3].

Obezitede serum leptin düzeyleri artmaktadır [43]. Hipotalamustaki iştah merkezi obezite oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Kolesistokinin, ürokortin ve nöropeptid-Y besin alımını etkileyen peptidlerdendir. Nöropeptid-Y besin alımını artırırken, diğerleri azaltır. Birçok obez hastasında Nöropeptid-Y ve Nöropeptid-Y mRNA'sında artış saptanmıştır. Nöropeptid-Y'nin insülin ile sürekli etkileşim halinde olduğu belirlenmiştir. Yağ hücre kütlesinin büyümesi ve insülin gereksiniminin artmasına rağmen reseptör sayısındaki azalma insülin direncine yol açar, böylelikle tip 2 diyabet hastalığının obez çocuklarda ortaya çıkışı kolaylaşır [2], [10], [42], [43].

2.6.1. Ekzojen Obezite

Altta yatan başka bir sebep, hastalık olmadan obez olmak, ekzojen obezite olarak adlandırılır ve çoğu obez hastası bu gruba girer. Kalori alımı ve kullanımı arasındaki dengesizlik sonucu obez olunsa da ekzojen obezite oluşumunu etkileyen farklı faktörler vardır; genetik, yaş, cinsiyet, beslenme alışkanlıkları, fiziksel aktivite.

2.6.2. Genetik

İkizlerle yapılan çalışmalarda obezitenin genetik etkisinin olduğu görüşleri desteklemektedir [10].

2.6.3. Yaş

Bebeklik döneminde başlayan obezite yaşla beraber kendiliğinden düzelebilse de çocukluk ve ergenlik döneminde başlayan obezitenin yetişkinlik döneminde devam etme riski yüksektir [10].

2.6.4. Cinsiyet

Ergenlik dönemindeki erkeklerde obezitenin başlayıp devam etme olasılığı ergenlik dönemindeki kızlardan daha düşüktür. Buna sebep olarak cinsiyet hormonlarının kas ve yağ metabolizması üzerindeki etkileri gösterilmektedir [10].

2.6.5. Beslenme Alışkanlıkları

Aşırı yeme, özellikle çocukların şekerli ve unlu besinleri çok fazla tüketme eğiliminde olmaları obezite oluşumunu kolaylaştıran etmenlerdendir. Buna engel olabilmek için dengeli ve yeterli beslenme, doymamış yağ oranının ve karbonhidratların alımının azaltılması oldukça etkili olabilmektedir.

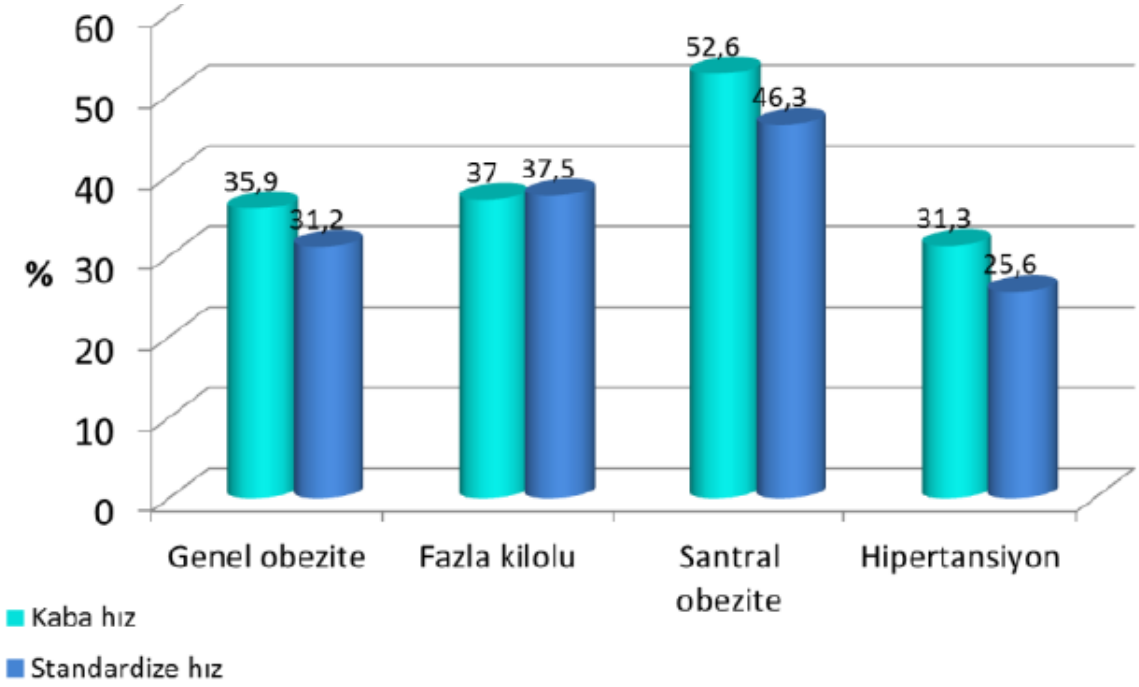
2.6.6. Fiziksel Aktivite

Hareketsiz yaşam şekli alınan enerjinin harcanandan daha fazla olmasına neden olduğundan çocuklarda obezite riskini arttıran bir faktördür. Yapılan araştırmalar obez olmayan çocukların obez olanlara oranla %30 daha fazla fiziksel aktivitede bulunduklarını göstermiştir.

2.7. Obezitenin Komplikasyonları

Obezite yalnızca bir görünüm sorunu değildir, beraberinde bazı kronik hastalıkların da zeminini hazırlar [44]. Bu hastalıkların en yaygın olanları hiperlipidemi, koroner kalp hastalıkları, kanser ve çeşitli akciğer hastalıklarıdır [10], [44].

Şekil 5 : TURDEP-II, Obezite ve Hipertansiyon [54]



Obezite, kalbin yapısında ve fonksiyonunda birtakım farklılıklara yol açabilir. Obezite ve hipertansiyonun birlikte bulunması kalp üzerine olan etkinin çok daha yoğun olmasına yol açar [45].

BKİ değeri 27 kg/m^2'nin üzerinde olan aşırı kilolu bireylerin hipertansiyon riskinin, aşırı kilolu olmayan bireylerden üç kat daha yüksektir. Beden ağırlığı olması gerekenin %20 üzerinde olanlarda hipertansiyon sıklığı normal ağırlıktakilerin 2 katıdır. Özellikle bel/kalça oranı kan basıncı ile önemli bağıntı göstermektedir[45]

2.8. Tedavi

Obezitenin oluşmasını önlemek tedavi etmekten çok daha kolaydır. Dolayısıyla çocuktan itibaren doğru beslenme alışkanlıklarının kazanılması ve diyet eğitimi kilo kontrolü yanında sağlıklı yaşam için gereklidir [46].

Önlem alınmayıp obezite oluştuğunda ise tedavi edilmesi gereklidir. Tedavi çocuğun fizyolojik büyümesine engel olmayacak vasıflarda, uzun süreli ve kalıcı olmalıdır [47].

2.8.1. Beslenme Tedavisi

Obeziteye sebep olan faktörlerin başında beslenme alışkanlıkları gelir. Birçok obez yetişkinin çocukluk ve ergenlik döneminde de kilolu olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, çocukluk çağından itibaren sağlıklı beslenme alışkanlıklarının kazanılması, kazandırılması ileri dönemlerdeki obeziteyi önleme açısından da önemlidir [48].

Diyetisyenler yasam tarzı değişiklikleri ile bağlantılı olarak dengeli ve enerji alımı kontrollü diyetler ile ağırlık kaybının sağlanmasını savunmaktadırlar ve çeşitli diyet önerileri vermektedirler [49]. Obezitenin tedavisinde belirli sürelerde uygulanacak diyetler ile başarılı olmak mümkün değildir. Bununla beraber sağlıklı beslenme alışkanlıkları kazandırılmalı, sağlıklı beslenme bilinci oluşturulmalı ve beslenme eğitiminin sürekli olması sağlanmalıdır [50]–[52].

2.8.2. Egzersiz Tedavisi

İnsanlarda vücuda alınan enerji baslıca 3 yolla tüketilmektedir.

1. Bazal Metabolizma Hızı, en büyük tüketim kaynağıdır. Tüm enerji tüketiminin %67-75 kadarını
2. Diyete bağlı termogenezis; %15 kadarını
3. Egzersize bağlı enerji tüketimi; %8–15 kadarını oluşturmaktadır.

Hareketsiz yaşam süren bireylerde günlük enerji harcanması toplamın %15'ini oluştururken, aktif bireylerde %30-40'ını olusturabilir[49], [53]. Bu nedenle egzersiz, obezitenin önlenmesinde ve tedavisinde önemli bir yer tutmaktadır.

2.8.3. İlaç Tedavisi

Bütün kronik hastalıklarda olduğu gibi obezite de ilaçla tedavi edilmeye çalışılmıştır. 1893 yılından bu yana obezite farmakokinetisi uygulanmaktadır [49]. Obezitenin tedavisinde kullanılan ilaçlar tablo 5'te listelenmiştir.

2.8.4. Cerrahi Tedavi

Obezitede cerrahi yaklaşım temelde ikiye ayrılır; bariyatrik cerrahi ve rekonstrüktif cerrahi. Bariyatrik tedavide besinlerle alınan enerjinin ve gastrointestinal sistemde emilimlerini azaltmak hedeflenir. Bu amaçla bypass, gastroplasti, gastrik bantlama, gastrik balon vb. yöntemleri kullanılır. Rekonstrüktif cerrahi ise daha çok estetik ağırlıklıdır. Amaç vücudun çeşitli bölgelerinde lokalize olmuş mevcut yağ dokularının uzaklaştırılmasıdır [54].

2.8.5. Davranış Tedavisi

Obez bireyler için diğer yöntemlerde istenilen vücut ağılığına ulaşılsa bile bunu korumak için bir davranış tedavisi gereklidir. Çünkü obezite: tekrar oluşma riski yüksek olan kronik bir durumdur. Diğer tedavilerin yanı sıra uygulanan davranış değişikliği tedavisinin, istenilen kilo kaybını sağlamaya daha da önemlisi kaybedilen kilonun korunmasında elde edilen başarı oranını arttırdığı görülmektedir [55]

Tablo 5 : Obezitenin İlaçla Tedavisi [56]

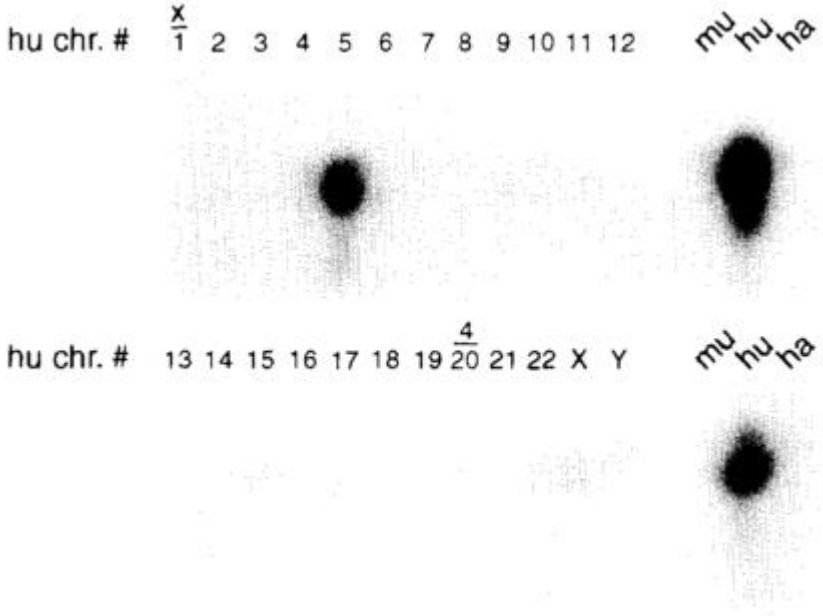
Santral Etkili		
	Katekolaminler Üzerine Etkili	
		Amfetaminler Noradrenerjik İlaçlar Noradrenerjik a 1 agonist
	Serotoninerjik	
		Fenfluramine Dexfenfluramine Fluoxetine Sibutramine
	Diğer	
		Difenilhidantoin Dopaminerjik Histaminerjik g -aminobutyric acid (GABA erjik)
Periferik Etkili		
	Efedrin Beta agonistler Tiroid hormonu	
Gastrointestinal Etkili		
	Lifler	
		Glukomannan
	Gastrointestinal Enzimlerin Etkisini Engelleyen	
		Alfa glucosidase inhibitörleri Tetrahydrolipstatin
	Benzocaine	
	Gastrik Boşalmayı Engelleyen	
	Simetidin	
Hormonlar		
Diğer		

Tablo 6 : Risklere Göre Obezite Tedavisinin Sınıflandırılması [56]

Risk	200-800kcal/gün kalori kısıtlaması	>800 kcal/gün kalori kısıtlaması	Egzersiz	İlaç	Cerrahi
Düşük	3	2	1	NA	NA
Orta	2	1-2	1	3	NA
Yüksek	1	2	3	2	NA
Çok yüksek	1	1	3	1	1-2

NA: Uygunsuz, 1: İlk seçenek, 2: ikinci seçenek, 3:Üçüncü seçenek

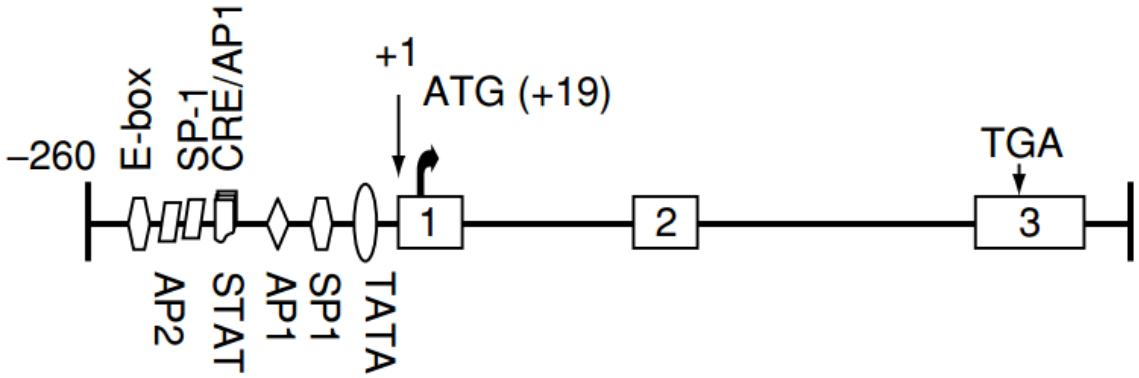
2.9. CART (Kokain ve amfetamin düzenleyen transkript)



Şekil 6 : *CART* Geninin Kromozomal Lokalizasyonu [57]

CART nöropeptidi ilk olarak 1981 yılında koyun hipotalamusundan izole edilmiştir [58]. CART geni 5q13-14 üzerinde yer alıp 3 ekzon ve 2 introndan oluşmaktadır [57] [59]. İnsanlarda CART geni 116 aminoasitten oluşur; CART proteini ise 102 veya 89 amino asitten oluşmaktadır [59]. CART geni türler arasında evrimsel olarak iyi korunmuştur. Fare ve sıçanda ProCART birbirinden farksızdır; 102 amino asit içerir. İnsan ProCART'ında fare ve sıçanlarda bulunan 27.-35. sekansları arası yoktur ve 55. pozisyonda isolösin yerine valin bulunmaktadır [60]. Fare ve sıçanlarda aktif peptid fragmanları CART 55-102 ve CART 62-102 iken; insanlarda CART 42-89 ve CART 49-89'dur [61].

CART peptidi 27 aminoasitten oluşan bir başlangıç sinyali dizisine sahiptir. Salınımı kalsiyuma bağlı olarak gerçekleşmektedir [62], [63]. CART geninin promoter bölgesinde değişik transkripsiyon faktörleri için bağlanma bölgeleri bulunur. Bunlar CRE bağlanma bölgesi, STAT, AP1 E-kutusu bağlanma bölgesidir. CRE, siklik AMP'ye cevap oluşturan elementleri bağlar; STAT transkripsiyon sinyal ileticisi ve aktivatörü; E-kutusu, biyolojik saatin düzenlenmesinde başlıca rol oynayan 'Per' geni ekspresyonu için sirkadien transkripsiyon faktörlerini bağlayan bölgedir [64]–[66].



Şekil 7 : *CART* Geni ve Promotör Bölgesinin Şematik Diagramı [67]

Yapılan in vivo çalışmalar sonucunda CART geni ekspresyonunun cAMP/PKA/CREB yolağı tarafından düzenlendiği bulunmuştur [68], [69]. STAT bağlanma bölgesinin varlığı CART geninin sitokin sinyalizasyon süreçlerinden de etkilendiğini göstermektedir [70].

CART peptidinin hem periferde hem de merkezi sinir sisteminde (MSS) dağılımı vardır. Retinada, olfaktör bulbusta ve omuriliğin arka köklerinde yüksek yoğunlukta bulunması sebebiyle duyusal işlem süreçlerinde rol oynadığı düşünülmektedir [59], [71]. CART peptidi aynı zamanda bağırsaklarda, pankreastaki Langerhans adacıklarında, ince bağırsağın miyenterik pleksusunda, adrenal medullada ve sempatik ganglion nöronlarında da bulunmaktadır [72], [73].

2.9.1. CART ve Beslenme

Sıçan ve farelerde CART 55-102 fragmanının lateral veya 4. ventriküler uygulanması sonucunda akut anoreksi oluşmuştur. Hayvanlardaki kilo kaybı öğün sayısının azalması değil, öğünlerde yenilen miktarın azalması şeklinde ortaya çıkmıştır. Aynı CART fragmanının lateral ventriküllere kronik icv infüzyonu sonucunda ise, hem zayıf hem de obez sıçanlarda beslenmeyi azaltan yönde uzun süreli etkiler gözlemlenmiştir [74]–[76].

CART peptidi ve beslenme arasındaki ilişkinin CART'ın yağ metabolizması üzerindeki etki mekanizmaları sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir. CART 55-102 fragmanının icv olarak uygulandığında dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin arttığı tespit edilmiştir [8].

CART peptidi santral uygulamadan sonra adipoz dokuda uncoupling proteins seviyelerini yükseltmektedir [77]. Bu etki leptin tarafından aktive edilen CART nöronlarının sempatik preganglionik nöronları innerve etmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Akut icv CART uygulamasının kahverengi adipoz dokuda UCP-1, beyaz adipoz dokuda UCP-2 ve iskelet kasında UCP-3 ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir [75]. 34. kodonda G-T değişimi sonucu lösin yerine fenilalanin aminoasitinin oluşmasının insanda obeziteyle ilişkili olduğu saptanmıştır [67].

CART hipotalamusta en çok bulunan mRNA'lardan biri olarak saptanmıştır [78]. Memeli beslenme davranışının kontrolünde CART'ın rol aldığını gösteren çok sayıda kanıt bulunmaktadır. Hipotalamusun iştah kontrolünde görevi olduğu bilinen arkuat ve paraventriküler çekirdeğinde yoğun miktarda eksprese edilmektedir [79], [80].

Genel olarak, CART proteininin iştah baskılanmasında rol aldığı ve CART sinyalinde bulunan bir farklılığın obezite etiyolojisinde rol aldığı düşünülebilir, bu da CART genini obezite araştırmalarında önemli bir aday yapar [81].

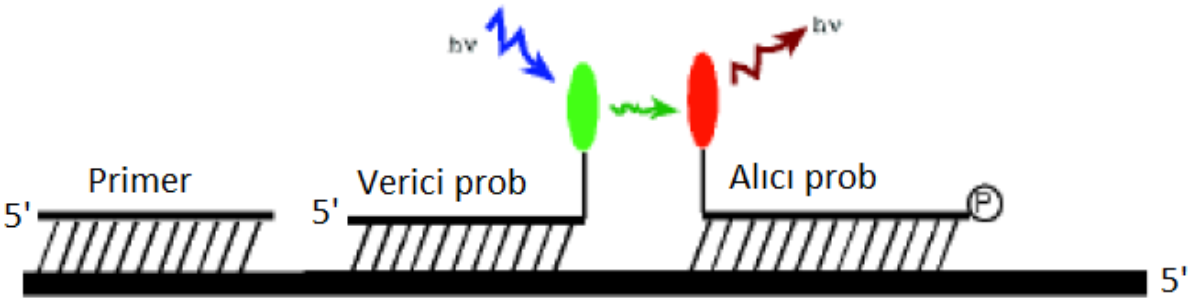
2.10. Real Time-PCR

2.11. Hibridizasyon Probu

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), günümüzde mevcut en güçlü moleküler biyoloji araçlardan biridir. PCR'ın hassaslığı DNA'daki birkaç molekül farklılığını bile görmemizi

sağlar [82]. Günümüz teknikleriyle genotiplemede PCR ve hibridizasyon problarının birleştirilmesi analizlerin 1 saat içerisinde yapılmasına olanak sağlamıştır [83].

Hibridizasyon probları alıcı ve verici florofor ile etiketlenmiş oligonükleotidlerdir [83] ve floresan rezonans enerji transferi (FRET) prensibine dayanırlar [84]. Verici prob 3' ucundaki floresanla ışığı cihazdan alır, alıcı probun 5' ucundaki floresanla ışığı verici proptan absorbe eder. Alıcı prob LightCycler'a spesifik floroforla 5' ucundan (LC Red 640, LC Red 705), verici prob floresinle 3' ucundan işaretlenir [82], [84]. Alıcı proptan floresan yayılması yalnızca 2 prob da ürüne bağlandığında meydana gelir [82].



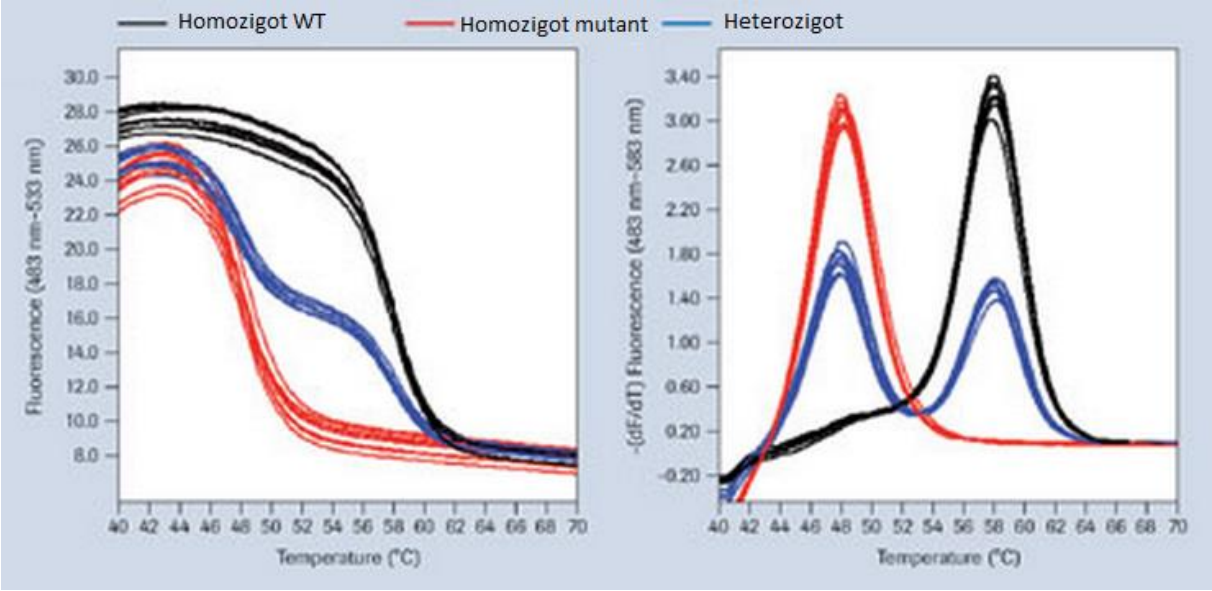
Şekil 8 : Hibridizasyon probları [82]

Hibridizasyon probları yüksek özgüllüğe sahip, dizaynı ve optimizasyonları çok zor olmayan problardır [82].

2.11.1. Erime Eğrisi Analizi

Erime eğrisi grafiği, reaksiyon ısısı arttıkça çift zincirli DNA'nın tek zincirli DNA'ya "erime"si ve bunun floresanlarla gözlemlenmesine dayanır. Hibridizasyon probları ya da SYBR Green boyaları bu yöntemde kullanılabilir. Taqman probları bunun için uygun değildir, çünkü hidrolize uğramaktadırlar [85] .

LightCycler 15-20 dk lık PCR reaksiyonunu gerçekleştirdikten sonra, erime eğrsi analizine başlar. Bunun için çoğaltılan PCR ürünü çok yavaş bir biçimde ısıtılmaya başlanır ve örneklerin Tm'leri incelenir. Prob bir sekans varyantıyla hibridize olduğunda mismatch meydana gelir bu da Tm'e bir değişiklik olarak yansır [83].



Şekil 9 : Erime Eğrisi Analizi Örnek Grafiği [86]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın tipi

Deneysel, kontrollü randomize ve multidisipliner bir araştırma yapılmıştır.

3.2. Araştırmanın yeri ve zamanı

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD'nda yapılmıştır. DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Endokrinoloji Ve Metabolizma Hastalıklari Bilim Dalı çalışmaya katılan disiplinlerdir. Çalışma yaklaşık olarak iki yılda tamamlanmıştır.

3.3. Araştırmanın evreni ve örneklemi

Çalışma bir olgu kontrol grubu çalışmasıdır. 143 kişilik olgu ve 134 kişilik kontrol grubu kullanılmıştır.

Olgular için dahil olma ve dışlama kriterleri şöyledir :

Çalışmaya dahil edilme kriterleri: Kilo artışı şikayeti ile başvuran vücut kitle indeks (VKI) persentili 2000 CDC (Centers for Disease Control and Prevention) verilerine göre 95 p üzerinde olan ekzojen obez çocuklar (3-17 yaş) çalışmaya alınacaktır.

Dışlama kriterleri: Obeziteye neden olabilecek herhangi bir kronik hastalığı (kardiyovasküler, gastrointestinal, solunumsal v.s), ilaç kullanım öyküsü olan (steroid, antipsikotik, v.s), Cushing sendromu ve hipotiroidizm gibi endokrin patolojisi saptanan, sendromik kaynaklı (Prader Willi, Laurence–Moon Biedle sendromu v.s) obezite düşünülen, aktif enfeksiyon odağı olan ve aydınlatılmış onam formunu imzalamayan vakalar çalışma dışı bırakılacaktır.

3.4. Çalışma materyali

Çalışma materyali olarak kan kullanılmıştır. 4 ml EDTA’ lı (Etilen diamin tetra asetik asit) tüplere periferik kan alınmıştır. Olgu ve kontrol kanları Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, DEUTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Endokrinoloji Bilim Dalı'ndan alınmıştır.

3.5. Araştırmanın değişkenleri

Araştırmamızda "obezite" bağımlı değişken, CART geninin A1475G polimorfizmi de bağımsız değişkendir.

3.6. Veri toplama araçları

Hem kontrol hem de olgu grubunu oluşturan bireyler bilgilendirilerek kişilerin onayı alınmıştır (Bkz. EK 1).

Olgu grubundaki kişilerin onayı alındıktan sonra olgu rapor formu doldurulmuştur (Bkz. EK 2).

3.6.1 Metabolik ve Antropometrik Ölçümler

Obez tanısı almış ve kontrol grubunu oluşturan hastalar bilgilendirilip yazılı onayları alındıktan sonra hastaların kan örnekleri en az 12 saatlik açlık durumundan sonra venöz damardan alınmıştır. Açlık total kolesterol, trigliserid (TG), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyleri ve açlık-tokluk glukoz ve insülin düzeyleri enzimatik kalorimetrik yöntem ile ölçülmüştür. Biyokimyasal analizler Dokuz Eylül Üniversitesi Merkez laboratuvarında bulunan Architect c16000 (Abott, ABD) analizöründe standardize yöntemlerle firmanın orijinal reaktifleri kullanılarak çalışılmıştır.

Dislipidemi için sağlıklı çocuklarda tanımlanmış >95 persentil değerleri, bozulmuş açlık glukoz için uluslararası tanımlanmış kriterler kullanılmıştır.

Boy 0.1 cm ölçme hassasiyetine sahip Harpender stadiometresi ile, kilo 0.1 kg ölçme hassasiyete sahip SECA tartısı ile ölçülmüştür. Hastaların kiloları, iç çamaşırları hariç, bütün elbiseleri çıkartıldıktan sonra değerlendirilip, BKİ, vücut ağırlığının boyun m^2'sine bölünmesi ile hesaplanmıştır.

Vücut kompozisyonu (yağ analizi) Tanita BC-418 MA, Body Composition Analyser cihazı ile değerlenirilmiştir.

3.6.2. Polimorfizmin Belirlenmesinde Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Malzemeler

Araştırmada kullanılan cihaz ve kimyasal malzemeler markaları ile beraber listelenmiştir

Tablo 7 : Araştırmada Kullanılan Cihazlar

Kullanılan Cihazlar	**Markası**
Mikrosantrifüj	Eppendorf
Vorteks	Labnet
Otomatik Mikropipet Seti	Eppendorf
Hassas Terazi	Applichem, A2114
Real Time-PCR Cihazı	Lightcycler 2.0
Mikrodalga Fırın	Samsung
Elektroforez Sistemi	Thermo Scientific
Buzdolabı(+4 °C)	Beko
Derin Dondurucu(-20 °C)	Beko
Jel Görüntüleme Sistemi	Vilber Lourm

Tablo 8 : Araştırmada Kullanılan Kimyasallar

Kullanılan Kimyasallar	**Markası**
DNA İzolasyon Kiti	Roche
Absolute Ethanol	Merck
LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe	Roche
Primer dizileri (CART)	Alpha DNA
Agaroz	Prona
TBE10X	Gibco
6X Jel yükleme tamponu	Fermentas
Etidyum Bromür(EtBr)	Sigma
50 bp DNA Moleküler Ağırlık Belirteci	Fermentas
Hibridizasyon probları	Roche

3.6.1. Kandan DNA İzolasyonu

Kandan DNA izolasyonu için “DNA Isolation Kit for Mammalian Blood" (Roche) kullanılmıştır. Kit içeriğinde tanımlanmış olan protokol 400 µl kandan izolasyon olacak şekilde uyarlanmıştır.

3.6.1.1. DNA İzolasyon Kitinin Çalışma Prensibi:

Prosedür ilk olarak eritrositlerin parçalanması ile başlar. Arda kalan lökositler güçlü anyonik deterjan ile parçalanır, proteinler dehidrasyon ve presipitasyon (çöktürme) ile uzaklaştırılır. Etanol presipitasyonu ile genomik DNA elde edilir.

3.6.1.2. Kit içindeki ve temin edilmesi gereken solusyonlar

Kit içindeki solüsyonlar :

- Eritrosit parçalama tamponu (Red Blood Cell Lysis Buffer)
- Lökosit parçalama tamponu (White Cell Lysis Buffer)
- Potein Çöktürme Solusyonu (Protein Precipitation Solution)

Temin edilmesi gereken ek ajanlar:

- %70 Etanol
- %100 Etanol
- 1X TE Buffer (pH 8.0)

3.6.1.3. Roche Memeli Kanından DNA İzolasyon kiti ile DNA izolasyon protokolü

1. 1,5’luk steril eppendorfa 1,1 ml red blood lysis buffer eklenir.
2. Üzerine 400 µl kan eklenir (+15 - 25 ^{0}C’de) . Tüp hafifçe karıştırılır.
3. Tüp sallanan platforma konur 10 dk karışması sağlanır.
4. Eppendorf tüpü 0.9 rcf’te 10 dakika santrifüj edilir.
5. Süpernatant dökülür.
6. Üzerine 400 µl red blood lysis buffer eklenir, hafifçe karıştırılır.

7. Tüp sallanan platforma konur 10 dk karışması sağlanır.

8. Eppendorf tüpü 0.9 rcf'te 10 dakika santrifüj edilir.

9. Süpernatant dökülür. Dipte biraz sıvı bırakılır.

10. Kalan pellet iyice karışıncaya kadar vortekslenir.

11. 300 µl white cell lysis buffer eklenir.

12. 37^0C'de 30 dakika inkübasyon yapılır.

13. 150 µl protein presipitasyon solusyonu eklenir. 25 sn iyice vortekslenir.

14. 12 rcf'de 10 dakika santrifüj edilir.

15. Süpenatant yeni tüpe alınır.

16. Süpernatantın iki katı kadar %100 (+24^0C) etanol eklenir. Hafifçe DNA iplikçiklerini görünür hale gelene kadar sallanır.

17. Eppendorf tüpü 0.9 rcf'te 10 dakika santrifüj edilir.

18. Süpernatant atılır.

19. Pellete 300 µl %70'lik etanol (-20^0C) eklenir.

20. Eppendorf tüpü 0.9 rcf'te 5 dakika santrifüj edilir.

21. Süpernatant dökülür.

22. DNA pelleti kurumaya bırakılır.

23. 100 µl TE eklenir.

24. DNA +4^0C'de 1 gün bırakılır.

25. Ertesi gün 3-4 saat kadar 37 ^{0}C'de inkübe edilir.

26. TE'de çözme işlemi tamamlanan DNA'lar -20 ^{0}C'de saklanır.

3.6.2. Elde Edilen Genomik DNA'nın Konsantrasyonunun ve Saflığının saptanması

Genomik DNA örneklerinin konsantrasyonunun ve saflığının tespit edilmesi için spektrofotometre cihazında (Thermoscientific NanoDrop 2000) 260 ve 280 nm dalga boyunda ışığı soğurma (OD) ölçümü yapılmıştır. 260nm'deki OD/280 nm'deki OD oranı hesaplanarak DNA'nın saflık derecesi bulunmuştur.

Stok DNA örneklerinden, standardizasyonu sağlamak amacı ile 25ng/µl konsantrasyonlu dilüsyonlar hazırlanmıştır.

3.6.3. Real-Time PCR

3.6.3.1. Real Time-PCR reaksiyonunda kullanılan komponentler

3.6.3.1.1. Örnek Materyal

Örnek materyal olarak genomik DNA kullanılmıştır. 500ng'a kadar DNA kullanılabilir.

3.6.3.1.2. Primerler

Sentezlenen oligonükleotidler (Forward 5′-CCTCCTGAAGTGCTTATG-3′, Reverse 5′- CCAAACTCCAGGGAGGAA-3′) HPLC yöntemi ile saflaştırıldıktan sonra liyofilize bir şekilde gönderilmiştir. Liyofilize gelen primerler firmanın gönderdiği konsantrasyon bilgisi doğrultusunda son konsantrasyonu 100 pmol/µl olacak şekilde; DNase ve RNase free steril distile su eklenerek çözüldü. Sulandırılan primer stokları Real Time-PCR'da kullanılmak üzere distile su ile 10 pmol/µl olacak şekilde 1: 10 oranında dilüe edildi. Primerlerin final konsantrosyonu 0.2-1 µM arasında olmalıdır.

3.6.3.1.3. Hibridizasyon Probları

Proplar Sentezlenen oligonükleotidler (Alıcı prob LCRed640 5'-GGGGATGTATGGAGGAGAATGGACG-3' P, verici probe 5'-CTCTGGGGAAAGTAGAGG-3'Floresin) liyofilize bir şekilde gönderilmiştir. Firmanın gönderidiği konsantrasyon bilgisi doğrultusunda son konsantrasyonu 100 pmol/µl olacak şekilde steril distile su eklenerek çözülmüştür. Sulandırılan prob stokları Real Time-PCR'da kullanılmak üzere distile su ile 2 pmol/µl olacak şekilde dilüe edildi.

3.6.3.1.4. $MgCl_2$

LightCycler ile spesifik ve etkin amplifikasyou sağlamak için, PCR reaksiyon karışımında bulunan $MgCl_2$ her bir DNA örneği için optimize edilmelidir. LightCycler® FastStart Reaction MixHybProbe kiti 25mM konsantrasyonlu $MgCl_2$ içerir. Real Time-PCR için uygun $MgCl_2$ konsantrasyonu 1 ile 5 nM arasında olmalıdır.

3.6.3.2 RealTime-PCR Deney Protokolü

- Pre-inkübasyon : FastStart Taq DNA polimerazın aktivasyonu ve kalıp DNA'nın denatürasyonu,
- Amplifikasyon : Kalıp DNA'nın amplifikasyonu,
- Erime Eğrisi : Amplikon analizi,
- Soğuma : Cihazın soğuması.

3.6.3.3 RealTime-PCR Floresan Parametreleri

Hibridizasyon probunu işaretlemek için kullandığımız florofor boya LC RED 640 olduğu için, light cycler kanal 640 olarak ayarlandı.

3.6.3.4 RealTime-PCR Karışımı

Bütün işlemler soğutucu blok üzerinde yapılmıştır.

60µl "Reaction Mix" ten alınıp enzimin içerisine konulur, pipetleme yapılarak karıştırılır. Kullanılan malzemelerin miktarları ve termal profileri tablolarda belirtilmiştir.

Tablo 9 : Real Time-PCR İşleminde Kullanılan Malzemeler ve Miktarları

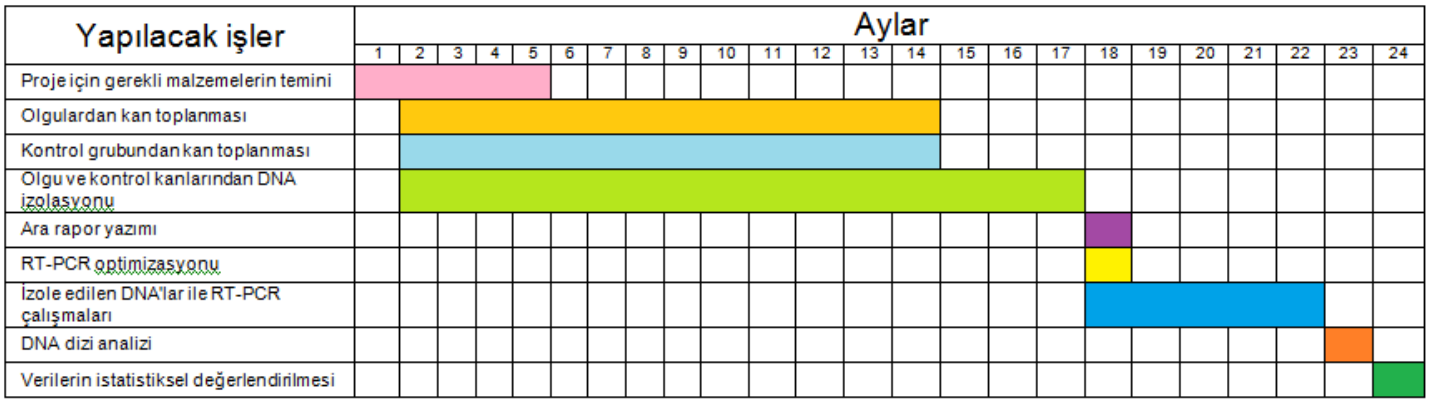
Bileşen	**Hacim**	**Konsantrasyon**
H_2O	10.4 µl	
$MgCl_2$ stok solusyonu, 25Mm	1.6 µl	3mM
PCR Primer Karışımı	2 µl	Her birinden 0.2-1.0 µM
Hibridizasyon Prop Karışımı 10x	2 µl	Her birinden 0.2-0.4 µM
Kalıp DNA	2 µl	20-100ng/ µl
LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe	2 µl	1 x
Toplam Hacim	20 µl	

Tablo 10 : Real Time-PCR Protokolünün Termal Profili

Analiz Modu	Döngü Sayısı	Bölüm	Sıcaklık	Süre	Okuma Modu
Denatürasyon					
Yok	1		95°C	30 s	Yok
Amplifikasyon					
Kantifikasyon	45	Denatürasyon	95°C	0 s	Yok
		Bağlanma	60 °C		Tek
		Uzama	72°C		Yok
Erime Eğrisi					
Erime Eğrisi	1	Denatürasyon	95°C	0 s	Yok
		Bağlanma	60 °C	45 s	Yok
		Uzama	95°C eğim=0.1°C	0 s	Sürekli
Soğuma					
Yok	1		40°C	30 s	Yok

3.7. Araştırma planı

Tablo 11 : Araştırma Planı



3.8. Verilerin değerlendirilmesi

İstatistiksel verilerin hesaplanmasında "SPSS 15.0" programı kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirildi. Gruplar arası farklılıklar Ki-kare testi ile, allelik dağılım ve sıklığının gruplar arası farklılıkları da Fisher's exact testi ile değerlendirildi, hasta ve kontrol grubunun metabolik ve antropometrik ölçümlerinin değerlendirilmesinde T-testi, normal dağılıma uymayan durumlarda ise Mann-Whitney U testi kullanıldı.

3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları

CART genindeki sadece tek bir polimorfizmin incelenmesi, hastalığın multifaktöriyel oluşu nedeniyle tek başına kalıtımın etkisini belirlemenin zor oluşu ve araştırmada tek bir genin kullanılması araştırmanın sınırlılıklarındandır. Ayrıca, aynı gen üzerinde obezite ile ilgili olabilecek başka SNP bölgeleri de olmasına rağmen, probların sentezlenip bize ulaşması uzun süre aldığından ve maliyetinin yüksek olmasından dolayı başka SNP bölgeleri incelenememiştir.

3.10. Etik Kurul Onayı

Ek.5

4. BULGULAR

Bu çalışma 139 obez hasta ve 131 sağlıklı çocuktan oluşan kontrol grubunda yapılmıştır. Cinsiyet dağılımına bakıldığında hasta grubundaki bireylerin yaşları 4-18 arası değişmekle beraber ortalama yaş 11'dir. Kontrol grubundaki bireylerin yaşları 3-18 arası değişmekte olup ortalama yaş 10'dur. Hasta ve kontrol grubunda cinsiyet dağılımı açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05)

Tablo 12 : Kontrol ve Hasta Grubunun Cinsiyet Dağılımı

Cinsiyet	Obez	Kontrol
Kız	71 (%51.1)	58 (%44.3)
Erkek	68 (%48.9)	59 (%45.0)
Toplam	139 (%100)	131 (%100)

4.1. Metabolik ve Antropometrik Ölçüm Sonuçları

Hasta ve kontrol grubunun antropometrik değerleri (ağırlık, boy, BKİ vb.) ve metabolik değerleri (glukoz, insülin vb.) ölçülmüştür. Elde edilen veriler aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir.

Tablo 13 : Hasta ve Kontrol Grubunun Antropometrik Ölçüm Sonuçları

	Hasta (n=139)	Kontrol (n=131)	P
VKI	29.8 (±4.8)	17.8 (±3.0)	<0.001
Boy	154.4 (±15.8)	132.4 (±22.6)	<0.001
Ağırlık	73.2 (±22.8)	33.7 (±14.2)	<0.001
Yağ Ağırlığı*	27.1 (±10.7)	7.9 (±5.2)	<0.001
Yağ Yüzdesi*	36.9 (±6.8)	23.3 (±6.7)	<0.001
Bel çevresi	98.6 (±14.3)	64.3 (±11.1)	<0.001

Gruplar arası farklılıkların hesaplanmasında student T test kullanılmıştır (p<0.05)

* Gruplar normal dağılıma uymadığından farklılıkların hesaplanmasında Mann- Whitney U testi kullanılmıştır (p<0.05).

Tablo 14 : Hasta ve Kontrol Grubunun Metabolik Ölçüm Sonuçları

	Hasta	Kontrol	P Değeri
TSH*	2.4 (±1.1)	2.3 (±0.7)	0.987
AKŞ*	81.2 (±13.7)	84.0 (±4.6)	0.496
İnsülin	15.5 (±9.3)	13.9 (±22.3)	0.715
Kolesterol	168.1 (±37.9)	176.8 (±24.6)	0.134
HDL	45.3 (±14.2)	56.71 (±17.4)	0.000
LDL	104.6 (±28.6)	103.9 (±23.4)	0.894
TG	119.3 (±72.8)	82.0 (±35.6)	0.007

Gruplar arası farklılıkların hesaplanmasında student T test kullanılmıştır ($p<0.05$)

* Gruplar normal dağılıma uymadığından farklılıkların hesaplanmasında Mann- Whitney U testi kullanılmıştır ($p<0.05$).

Hasta grubunda ağırlık, VKİ, bel çevresi, yağ kütlesi ve yağ yüzdesi değerleri daha yüksektir ve istatiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Metabolik ölçümler sonucu trigliserit değeri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek, HDL ise daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). LDL, TSH, insülin ve total kolesterol ölçümü de hasta grubunda yüksek olmasına rağmen bu farklılık istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p> 0,05$).

4.2. A1475G Polimorfizm Belirlenmesi

Hasta ve kontrol grubuna ait erime eğrisi sıcaklık sonuçları aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir

Tablo 15 : Hasta Grubunun Erime Eğrisi Sıcaklıkları

Örnek Adı	Tm1	Tm2	Genotip
OBEZ 1	55.82		AA
OBEZ 2		63.84	GG
OBEZ 3	55.50	62.34	AG
OBEZ 4	55.70		AA
OBEZ 5	55.16		AA
OBEZ 6		62.38	GG
OBEZ 7	55.80		AA
OBEZ 8	55.70		AA
OBEZ 9	56.14		AA
OBEZ 10	55.89		AA
OBEZ 11	55.41		AA
OBEZ 12	55.42	62.61	AG
OBEZ 13	55.70	62.39	AG
OBEZ 14	55.77		AA
OBEZ 15	55.76		AA
OBEZ 16	55.64		AA
OBEZ 17	55.67		AA
OBEZ 18	55.70	62.51	AG
OBEZ 19	55.70		AA

OBEZ 20	55.73		AA
OBEZ 21	55.20		AA
OBEZ 22	55.76		AA
OBEZ 23	54.78	60.73	AG
OBEZ 24	59.95		AA
OBEZ 26		61.58	GG
OBEZ 27	54.91		AA
OBEZ 28	54.82	61.30	AG
OBEZ 30	53.64	59.59	AG
OBEZ 31	54.54		AA
OBEZ 32	54.51		AA
OBEZ 33	54.80	61.52	AG
OBEZ 34	55.86		AA
OBEZ 35	55.77		AA
OBEZ 36	54.87		AA
OBEZ 37	55.21		AA
OBEZ 38	55.24		AA
OBEZ 39	55.27		AA
OBEZ 40	55.08		AA
OBEZ 41	55.43	62.33	AG
OBEZ 42	55.31		AA
OBEZ 43	55.11	61.76	AG
OBEZ 44	55.36		AA
OBEZ 45	55.49		AA
OBEZ 46	55.11	61.89	AG
OBEZ 47	55.27	62.03	AG
OBEZ 48	55.18	61.47	AG
OBEZ 49	55.11	61.62	AG
OBEZ 50	55.09		AA
OBEZ 51	55.52		AA
OBEZ 52	55.02		AA
OBEZ 53	54.56		AA
OBEZ 54	54.57	61.34	AG
OBEZ 55	55.57		AA
OBEZ 57	55.29		AA
OBEZ 58		61.70	GG
OBEZ 59		61.63	GG
OBEZ 60		61.58	GG
OBEZ 61		61.87	GG
OBEZ 62	54.94		AA
OBEZ 63	55.18		AA
OBEZ 64	55.33		AA
OBEZ 65	55.38		AA

OBEZ 66	55.37		AA
OBEZ 67	55.57	62.00	AG
OBEZ 68	55.84	62.46	AG
OBEZ 69	55.23	61.28	AG
OBEZ 70	54.92		AA
OBEZ 71	55.09		AA
OBEZ 72	54.98	61.31	AG
OBEZ 73	55.16		AA
OBEZ 74	55.19		AA
OBEZ 75	55.08	61.41	AG
OBEZ 76	55.36	61.41	AG
OBEZ 77	55.17		AA
OBEZ 78	55.17		AA
OBEZ 79	55.48		AA
OBEZ 80	55.23		AA
OBEZ 81	55.02		AA
OBEZ 82	54.95		AA
OBEZ 83	55.26		AA
OBEZ 84	55.18		AA
OBEZ 85		61.14	GG
OBEZ 86	55.11		AA
OBEZ 87		61.14	GG
OBEZ 88	55.10		AA
OBEZ 89		61.44	GG
OBEZ 90	55.17		AA
OBEZ 91	55.00		AA
OBEZ 92		61.50	GG
OBEZ 93	54.81		AA
OBEZ 94		61.34	GG
OBEZ 95		61.29	GG
OBEZ 96		61.26	GG
OBEZ 97		61.36	GG
OBEZ 98		61.21	GG
OBEZ 99	55.04	61.60	AG
OBEZ 100		61.43	GG
OBEZ 101		61.49	GG
OBEZ 102		61.79	GG
OBEZ 103		61.52	GG
OBEZ 104		61.33	GG
OBEZ 105	54.66		AA
OBEZ 106	55.02		AA
OBEZ 107		61.10	GG
OBEZ 108		61.36	GG

OBEZ 109	61.40	GG
OBEZ 110	61.29	GG
OBEZ 121	61.41	GG
OBEZ 122	61.55	GG
OBEZ 123	61.55	GG
OBEZ 124	60.95	GG
OBEZ 125	61.18	GG
OBEZ 126	60.91	GG
OBEZ 127	61.36	GG
OBEZ 128	61.15	GG

OBEZ 129		61.18	GG
OBEZ 130		61.30	GG
OBEZ 132		61.26	GG
OBEZ 133		61.58	GG
OBEZ 134		61.67	GG
OBEZ 135	55.38		AA
OBEZ 136	55.71		AA
OBEZ 138	55.06		AA

Tablo 16 : Kontrol Grubunun Erime Eğrisi Sıcaklıkları

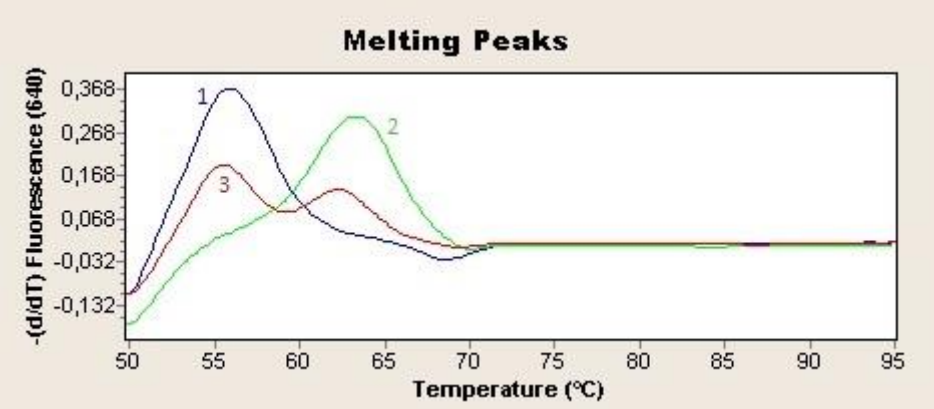
Örnek Adı	**Tm 1**	**Tm 2**	**Genotip**
KONTROL 1		62.09	GG
KONTROL 2	55.84	62.09	AG
KONTROL 3	55.84		AA
KONTROL 4	55.69		AA
KONTROL 5	55.29		AA
KONTROL 6	55.19		AA
KONTROL 7	55.33		AA
KONTROL 8	55.44		AA
KONTROL 9	55.18	61.34	AG
KONTROL 10	55.71		AA
KONTROL 11		62.03	GG
KONTROL 12	55.93		AA
KONTROL 13	55.96		AA
KONTROL 14	54.61	60.99	AG
KONTROL 15	55.81		AA
KONTROL 16	56.07		AA
KONTROL 17	55.50	61.53	AG
KONTROL 19	55.23	62.24	AG
KONTROL 20	55.33	62.21	AG
KONTROL 21	55.58		AA
KONTROL 22	55.36		AA
KONTROL 23	55.65		AA
KONTROL 24	55.93		AA
KONTROL 25	60.42		AA
KONTROL 26		61.35	GG
KONTROL 27		61.76	GG

KONTROL 28		61.43	GG
KONTROL 29	55.88		AA
KONTROL 30	54.94		AA
KONTROL 31		61.60	GG
KONTROL 32	55.10		AA
KONTROL 33	55.36		AA
KONTROL 34	55.10		AA
KONTROL 35	54.15		AA
KONTROL 36		61.38	GG
KONTROL 37	55.20		AA
KONTROL 38	55.35		AA
KONTROL 39	55.40		AA
KONTROL 40	55.26		AA
KONTROL 41	55.00		AA
KONTROL 42		61.66	GG
KONTROL 43	55.55		AA
KONTROL 44	55.17		AA
KONTROL 45	55.51		AA
KONTROL 46	55.58		AA
KONTROL 48	55.19		AA
KONTROL 49	55.13		AA
KONTROL 50	55.32		AA
KONTROL 51		61.70	GG
KONTROL 52	55.46		AA
KONTROL 53	55.24		AA
KONTROL 54	55.16		AA
KONTROL 55	54.99		AA
KONTROL 56	55.20		AA

KONTROL 57	55.09		AA
KONTROL 58	55.39		AA
KONTROL 59	55.15		AA
KONTROL 60		61.58	GG
KONTROL 61	55.07		AA
KONTROL 62	55.29		AA
KONTROL 63		61.67	GG
KONTROL 64	55.36	61.79	AG
KONTROL 65	55.28		AA
KONTROL 66		61.34	GG
KONTROL 67		61.47	GG
KONTROL 68	55.31		AA
KONTROL 69	55.12		AA
KONTROL 70		61.51	GG
KONTROL 71	55.05		AA
KONTROL 72	55.05		AA
KONTROL 73	55.09		AA
KONTROL 74	54.87		AA
KONTROL 75	54.98		AA
KONTROL 76	55.33		AA
KONTROL 77	55.01		AA
KONTROL 78	55.12		AA
KONTROL 79		61.37	GG
KONTROL 81		61.18	GG
KONTROL 82		61.22	GG
KONTROL 83	54.71		AA
KONTROL 84	54.14		AA
KONTROL 85	54.74		AA
KONTROL 86		61.34	GG
KONTROL 87		61.38	GG
KONTROL 88	54.83		AA
KONTROL 89		61.15	GG
KONTROL 90	55.05		AA
KONTROL 91		61.43	GG
KONTROL 92		61.18	GG
KONTROL 95		61.25	GG
KONTROL 96		61.49	GG
KONTROL 97		61.25	GG
KONTROL 98		61.23	GG

KONTROL 99		61.13	GG
KONTROL 100		61.16	GG
KONTROL 101	55.12		AA
KONTROL 102	55.32		AA
KONTROL 103		61.25	GG
KONTROL 104		61.58	GG
KONTROL 105		61.63	GG
KONTROL 106	55.11		AA
KONTROL 107		61.64	GG
KONTROL 108		61.82	GG
KONTROL 109	55.52		AA
KONTROL 110		62.07	GG
KONTROL 111	55.08		AA
KONTROL 112		61.50	GG
KONTROL 114		61.52	GG
KONTROL 115	54.64		AA
KONTROL 116		61.40	GG
KONTROL 117		61.30	GG
KONTROL 118		61.35	GG
KONTROL 119		61.54	GG
KONTROL 120		61.52	GG
KONTROL 121	55.33	61.42	AG
KONTROL 122	55.13		AA
KONTROL 123	55.00		AA
KONTROL 124	55.02		AA
KONTROL 125		61.38	GG
KONTROL 126	54.90		AA
KONTROL 127	54.90		AA
KONTROL 128	54.93		AA
KONTROL 129	54.75		AA
KONTROL 130	55.06		AA
KONTROL 131	54.96		AA
KONTROL 132	55.37	61.34	AG
KONTROL 133	54.72		AA
KONTROL 134	54.89		AA
KONTROL 135	55.15		AA
KONTROL 136	54.91	61.42	AG

Hasta ve kontrol grubuna ait erime eğrisi grafik sonuçlarından 3 örnek aşağıdaki şekilde gösterilmiştir. Sıcaklık grafiğine göre 1 numaralı örneğin TM'i 55.82 ^{o}C, homozigot AA; 2 numaralı örneğin TM'i 63.84 ^{o}C , homozigot GG; 3 numaralı örneğin TM'i 55.50 ve 62.34 ^{o}C AG'dir.



Şekil 10 : Real Time PCR Erime Eğrileri

97 bp uzunluğundaki Real Time-PCR ürünleri, doğrulama için jel elektroforezinde yürütülüp, görüntülendi.



Şekil 11 : Real Time-PCR Sonucunun Jel Elektroforez Görüntüsü

CART A1475G polimorfizminde genotiplerin dağılımına bakıldığında obez grubunun (n=134) 70'nde (%52.2) AA, 22'sinde (%16.4) AG, 42'sinde (%31.3) GG genotipi

görülürken; kontrol grubunun (n=128); 78'inde (%60.9) AA, 10'unda (%7.8) AG,40'ında (%31.3) GG genotipi saptanmıştır. Hasta grubunda AG genotip sıklığı kontrol grubuna gore anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Allel dağılımına bakıldığında G allel taşıyıcılığı hasta grubunda daha yüksek bulunmuş ancak bu fark istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 17 : CART A1475G Genotip Dağılımı

Genotip	Hasta	Kontrol	P Değeri
AA	70 (%52.2)	78 (%60.9)	0.156
AG	22 (%16.4)	10 (%7.8)	0.033
GG	42 (%31.3)	40 (%31.3)	0.987
Toplam	134 (%100)	128 (%100)	

İstatiksel analizler Ki-kare ile yapılmış ve $p<0,05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

Tablo 18 : CART A1475G Allel Dağılımı

Allel Dağılımı	Hasta	Kontrol	P Değer
A	162 (%60.4)	166 (%64.8)	0.978
G	106(%39.6)	90 (%35.2)	0.156
Toplam	268 (%100)	256 (%100)	

İstatiksel analizler Ki-kare ile yapılmış ve $p<0,05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

4.3. CART A1475G Polimorfizminin Metabolik ve Antropometrik Parametreler İle İlişkisi

Hasta ve kontrol grubunda CART A1475G polimorfizminin çeşitli laboratuvar parametreleri ile ilişkisi araştırılmıştır.

CART A1475G polimorfizmi için genotipler AA (polimorfizmi taşımayan) ve AG+GG (polimorfizmi taşıyanlar) olmak üzere 2 gruba ayrıldı ve laboratuvar parametreleri ile ilişkisi yönünden incelendi. Sonuç olarak hasta grubunda açlık kan şekeri G alleline sahip bireylerde anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Diğer parametreler açısından ise hem hasta hem kontrol grubunda genotipler arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 19 : Obez ve Kontrol Grubununun Antropometrik-Metabolik Parametreleri İle CART A1475G Polimorfizmlerinin İlişkisi

		AA	AG+GG	P Değeri
Yaş	Hasta	11.35 (±3.1)	12.3 (±2.9)	0.151
	Kontrol	10.48 (±3.6)	10.87 (±2.7)	0.264
HDL (mg/dl)	Hasta	48.2 (±18.2)	42.0 (±7.3)	0.598
	Kontrol	58.17 (21.7)	56.3 (±9.)	0.179
VKI (kg/m^2)	Hasta	29.6 (±4.6)	30.2 (±5.0)	0.545
	Kontol	17.5 (±3.1)	18.3 (2.8)	0.554
TSH	Hasta	2.4 (±1.0)	2.3 (±1.0)	0.792
	Kontrol	2.3 (±0.8)	2.3 (±0.5)	
AKŞ	Hasta	85.1 (±10.9)	77.04 (±15.7)	0.011
	Kontrol	84.3 (±4.9)	82.0	
İnsülin (mg/dl)	Hasta	14.9 (±9.9)	16.2 (±9.2)	0.390
	Kontol	18.2 (±29.1)	7.6 (±3.9)	0.308
Kolesterol	Hasta	165 (±39.2)	169.2 (±38.1)	0.370
	Kontrol	174.3 (±17.7)	186.5 (±30.1)	0.258
Trigliserit (mg/dl)	Hasta	104.1 (±45.5)	130.2 (±88.7)	0.522
	Kontrol	77.0 (±35.7)	88.2 (±38.9)	0.258
LDL (mg/dl)	Hasta	172 (±103.8)	105.98 (±28.7)	0.375
	Kontol	100.7(±19.1)	112.9 (±28.1)	0.293
Ağırlık	Hasta	71.8 (±22.9)	75.9 (±22.7)	0.555
	Kontol	34.4 (±14.6)	33.1 (±13.5)	0.287
Boy	Hasta	153.5 (±15.4)	156.4 (±16.8)	0.598
	Kontrol	133.1 (±23.6)	132.0 (±20.9)	0.615
Bel Çevresi (cm)	Hasta	96.9 (±13.4)	100.7 (±15.3)	0.425
	Kontrol	63.4 (±12.1)	65.7 (±8.8)	0.530
Yağ Ağırlığı	Hasta	25.7 (±9.9)	28.6 (±11.4	0.308
	Kontol	7.3 (±5.3)	10.2 (±4.8)	0.516
Yağ Yüzdesi	Hasta	35.5 (±7.3)	38.1 (±6.6)	0.257
	Kontrol	22.7 (±6.9)	25.2 (±7.1)	0.947

İstatiksel olarak anlamlı değil ($p>0.05$)

5. TARTIŞMA

Obezite, bütün dünyada görülme sıklığı gittikçe artmakta olan, önüne geçilebilir bir toplum sağlığı sorundur. Dünya'da 1980 yılından bu yana obezite prevalansı ikiye katlanmıştır ve VKİ ortalama olarak yıllık 0.4-0.5 kg/m^2 artış göstermiştir [87]. Obezite, kalp hastalıklarının ve diyabetin gelişiminde önemli rol almaktadır. Obez bireylerde hipertansiyon ve dislipidemiler daha fazla görülmektedir [88] .

Ulusal düzeyde yapılan TURDEP-1 (1997) çalışmasına göre 25 yaş üstü erkeklerde obezite sıklığı yüzde 12,8, kadınlarda yüzde 29,2'dir [89]. 2010 yılında yapılan TURDEP-2 çalışmasında ise 20 yaş üstü erkeklerde obezite sıklığı yüzde 27,3, kadınlarda yüzde 44,2 olarak bildirilmiştir [90].

Çocukluk döneminde gelisen obezite, ileri yaslarda görülen kardiovasküler hastalıklar için risk faktörü olan pek çok metabolik bozukluga sebep olmaktadır. Çocukluk döneminde baslayan bu bozukluklar zamanında fark edilip önlem alınmazsa ileri yaslarda daha ciddi problemlere sebep olabilmektedir. Obezite, mortalite ve morbidite gelisiminde tek basına bir risk faktörü olup yalnızca görünüm sorunu degil, aynı zamanda kronik hastalıkları hazırlayıcı bir etmendir. Çocukluk dönem obezitesinin eriskin dönem hastalıkları ile iliskisi bunda önemli rol oynamaktadır.

Ülkemizde Sağlık Bakanlığının yaptığı araştırmada çocuk ve adolesanlarda obezite sıklığı 0-5 yaşta % 8.5 (erkek %10.1, kız %6.8), 6-18 yaşta % 8.2 (erkek %9.1, kız %7.3) olarak bulunmuştur. 0-5 yaşta fazla kilolu olanlar %17.9, fazla kilolu ve şişman olanlar %26.4 iken, 6-18 yaşta fazla kilolu olanlar %14.3, fazla kilolu ve şişman olanlar %22.5 olarak bulunmuştur. Obezitenin giderek yaygınlaşması ve halk sağlığı sorunu haline gelmesi, tüm dünyada obezite ile mücadele çalışmalarının başlamasına neden olmuştur [93].

Multifaktöriyel bir hastalık olan obezitenin genetik temelleri ikiz çalışmalarıyla atılmıştır. En önemli bulgular monizigotik ikizlerde VKİ ile yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Obezitede genetik faktörlerin rolü komplekstir. Hastalığın giderek yaygınlaşması ve ileride oluşabilecek komplikasyonlar nedeni ile son yıllarda hastalıkla ilgili genetik çalışmalar artmıştır [94].

Obezite tam bir mendeliyen kalıtım göstermez. Ayrı yetiştirilmiş tek yumurta ikizlerinin VKİ varyasyonları yüksek kalıtılabilirli düzeyi oluştururken, evlatlık çalışmaları az kalıtılabilirlik düzeyi göstermiştir [95]. Akrabalarla yapılan bir çalışma, 840 obez bireyin 2349 birinci derece akrabasında elde edilen risk oranlarının toplumdakinden 2 kat fazla olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda obezitenin ciddiyeti arttıkça riskinde arttığı gösterilmiştir. Kanada'da 15245 kişide yapılan bir çalışmada ailesel obezite riskinin genel topluma oranla 5 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir [96], [97].

Fare genetik çalışmaları temel alınarak seçilen aday genlerde yapılan mutasyon çalışmaları oldukça başarılı olmuştur. Mutasyon bulguları enerji dengesinde yolağın rolününün önemini ortaya koymuştur. Farede obezite ilgili bulunan ilk gen agouti genidir. Diğer mutasyonlar resesiftir ve endokrin metabolik disfonksiyonlarla birlikte etki eder.

Son yıllarda obeziteye sebep olan 5 monogenik farklılık tespit edilmiştir; leptin [98], [99], leptin reseptörleri [100], prohormone convertase (PC-1) [101], pro-opiomelanocortin (POMC) [102]ve melanocortin-4 receptor (MC4R)[103], [104]. Bütün bu sendromlarda, hiperfaji, tokluk merkezini kontrol eden hipotalamik yolakların disfonksiyonundan kaynaklanmaktadır. Bu genlerdeki varyasyonlar obezitenin sadece küçük bir bölümünden sorumudur ve iştah kontrolü mekanizmasının daha ayrıntılı bir şekilde açıklanması için başka aday genlerin incelenmesi önemlidir. Bu moleküllerden biri de kokain ve amfetamin ile regüle olan transkript (CART)'tir[80].

Yapılan çalışmalarda CART'ın hipotalamusta çok fazla bulunan bir mRNA olduğu tespit edilmiştir [78]. CART iştah kontrol alanı olarak bilinen hipotalamusun arkuat ve paraventriküler çekirdeğinde yoğun miktarda eksprese edilmektedir [79], [80]. Bir obez hasta CART geninin 2. Ekzonunda bulunan Ser66Thr missense mutasyonu için heterozigot olarak tespit edidlmiştir (Gen-Bank erişim numarası U20325). CART hakkında çok detaylı bilgiler bulunmasa bile serin amino asitinin insanlarda ve farelerde korunduğunu biliyoruz. Beyaz ırka ait, 14 yaşında 95 kilo olan, daha 4 yaşındaken ciddi obezite teşhisi konmuş bir hastada bu mutasyon bulunmuştur. Hastanın 4'ü obez 7'si obez olmayan 11 aile üyesi üzerinde de analiz yapılmış ve mutasyon obez fenotip ile bağdaştırılamamıştır (4 obez üyenin 3'ünde, 7 obez olmayan üyenin 3'ünde bu mutasyona rastlanmıştır). Başka bir çalışmada yine obez bir hastada Ser66Thr mutasyonuna rastlanmış, aynı mutasyon kontrol grubunda bulunan 100 kişiden hiç birinde bulanamamıştır [105]

Bu nadir mutasyonun yanı sıra, 3. ekzonun 3' UTR bölgesinde 2 SNP saptanmıştır. 3. ekzonun 3' UTR bölgesinde stop kodonundan sonraki 39. bazda bulunan heterozigot varyant (A1475G), 18 hastada (%19.8) bulunmuştur. İkinci varyant yine aynı bölgedeki 21. bazda bulunan delesyondur (ΔA1457). Bir çalışmada ΔA1457 varyantı 91 hastada incelenmiş 80 tanesi homozigot AA (87.9%), 10 tanesi heterozigot (11.0%), 1 tanesi de homozigot delesyon (1.1%) olarak saptanmıştır. Aynı varyasyonlar Danimarka populasyonundaki 757 obez ve890 kontrol grubunda incelenmiş, anlamlı bir sonuç bulnamamıştır [81]

İtalya'da yapılan bir başka araştırmada 130 obez çocuk ve adölasan incelenmiştir. Sekanslama yapılan 130 hastada bu iki mutasyon ön plana çıkmış 1457delA'nın allel frekansı 0.035, A1475G allel frekansı 0.042 olarak hesaplanmıştır [106]. 3' UTR bölgesinde bulunan bu varyantlar direkt olarak mRNA sabilitesine etki edebilirler ya da indirekt olarak CART geninde ya da yakınlarındaki genlerde linkaj dengesizliğine sebep olarak CART ekspresyonuna etki edebilirler[105] . Bundan yola çıkarak biz de bu varyantlardan A1475G'yi obezite teşhisi konmuş ve sağıklı Türkiye populasyonunda incelemeye aldık.

Kontrol ve hasta grubunda cinsiyetler açısından anlamlı bir farklılık yoktur. Antropometrik ölçümleri değerlendirildiğindeVKİ, boy, ağırlık, yağ ağırlığı, yağ yüzdesi ve bel çevresi hasta grubundan anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Metabolik ölçümler değerlendirildiğinde trigliserit değeri hasta grubunda anlamlı yüksek, HDL ise anlamlı oranda düşük bulunmuştur. Hast ve kontrol grubunun genotip dağılımı inelendiğinde AG genotipine sıklığı kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur. Allel frekansı değerlendirildiğinde G allel taşıyıcılığı hasta gruunda daha yüksek bulunmuş fakat bu fark istatitiksel olarak anlamlı değildir. Çalışılan birey sayısı arttırıldığında daha anlamlı sonuçlar elde edilecektir. Antropometrik ve metabolik parametrelerle A1475G polimorfizmi ilişkisi incelendiğinde anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

Sonuç olarak bu polimorfizmde erime eğrisi analizi ilk defa kullanılmıştır. Primerler ve problar bizim tarafımızdan dizayn edilmiş ve çok hızlı sonuç elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Türkiye popülasyonu için anlamlı değildir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda CART genindeki A 1475G polimorfizmin çocukluk çağı obezitesinde metabolik ve antropometrik parametreler ile olan ilişkisi değerlendirildi. Polimorfizmi değerlendirmek için 139 hasta ve 143 kontrol kanından DNA izolasyonu, ve RealTime PCR ile erime eğrisi analizi yapıldı.

Yapılan istatiksel analizler sonucunda A1475G polimorfizminde G alleline sahip hastalarda AKŞ anlamlı oranla düşük çıkmıştır Allel frekansları açısından kontrol ve obez grubunda anlamlı bir farklılık bulunamamıştır Ayrıca çeşitli metabolik ve antropometrik parametreler hasta ve kontrol grubunda karşılaştırılmıştır. Ağırlık, BKİ, yağ ağırlığı, yağ yüzdesi ,TG değerleri hasta grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.. Yine HDL hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Bu parametreler polimorfizm ilişkisi yönünden değerlendirildiğinde ise anlamlı açısından bir farklılık çıkmamıştır.

Bundan yola çıkarak biz de bu varyantlardan A1475G'yi obezite teşhisi konmuş ve sağıklı Türkiye populasyonunda incelemeye aldık, kullandığımız yöntem bu mutasyonun belirlenmesi için ilk defa kullanılan bir yöntmdir, probların sensitivite ve spesifitelerinin noldukça yüksek olması aynı zamanda çok hızlı sonuç vermeleri bu yöntemi seçem nedenimizdir. Sonuçlar incelendiğinde Türkiye popülasyonunda anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

7. KAYNAKLAR

[1] G. A. Bray, "Obesity: definition, diagnosis and disadvantages.," *Med. J. Aust.*, vol. 142, no. 7 Suppl, pp. S2–8, Apr. 1985.

[2] R. J. Deckelbaum and C. L. Williams, "Childhood obesity: the health issue.," *Obes. Res.*, vol. 9 Suppl 4, p. 239S–243S, Nov. 2001.

[3] D. T. Noller and D. Paulk, "Childhood obesity: curbing an American epidemic.," *JAAPA*, vol. 18, no. 12, pp. 32–8; quiz 57–8, Dec. 2005.

[4] C. S. W. Rand and J. M. Kuldau, "The epidemiology of obesity and self-defined weight problem in the general population: Gender, race, age, and social class," *Int. J. Eat. Disord.*, vol. 9, no. 3, pp. 329–343, May 1990.

[5] L. B. Salans, J. L. Knittle, and J. Hirsch, "The role of adipose cell size and adipose tissue insulin sensitivity in the carbohydrate intolerance of human obesity.," *J. Clin. Invest.*, vol. 47, no. 1, pp. 153–65, Jan. 1968.

[6] A. Soylu, S. Kavukçu, M. Türkmen, N. Cabuk, and M. Duman, "Effect of socioeconomic status on the blood pressure in children living in a developing country.," *Pediatr. Int.*, vol. 42, no. 1, pp. 37–42, Feb. 2000.

[7] N. O. Kanbur, O. Derman, and E. Kinik, "Prevalence of obesity in adolescents and the impact of sexual maturation stage on body mass index in obese adolescents.," *Int. J. Adolesc. Med. Health*, vol. 14, no. 1, pp. 61–5.

[8] K. E. Wortley, G.-Q. Chang, Z. Davydova, S. K. Fried, and S. F. Leibowitz, "Cocaine- and amphetamine-regulated transcript in the arcuate nucleus stimulates lipid metabolism to control body fat accrual on a high-fat diet.," *Regul. Pept.*, vol. 117, no. 2, pp. 89–99, Feb. 2004.

[9] C. Dong, S. Wang, W.-D. Li, D. Li, H. Zhao, and R. A. Price, "Interacting genetic loci on chromosomes 20 and 10 influence extreme human obesity.," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 72, no. 1, pp. 115–24, Jan. 2003.

[10] M. Rosenbaum and R. L. Leibel, "Obesity in childhood.," *Pediatr. Rev.*, vol. 11, no. 2, pp. 43–55, Aug. 1989.

[11] T. Lobstein, L. Baur, and R. Uauy, "Obesity in children and young people: a crisis in public health.," *Obes. Rev.*, vol. 5 Suppl 1, pp. 4–104, May 2004.

[12] C. L. Birmingham, J. L. Muller, A. Palepu, J. J. Spinelli, and A. H. Anis, "The cost of obesity in Canada.," *CMAJ*, vol. 160, no. 4, pp. 483–8, Feb. 1999.

[13] W. Koenig, M. Sund, M. Frohlich, H.-G. Fischer, H. Lowel, A. Doring, W. L. Hutchinson, and M. B. Pepys, "C-Reactive Protein, a Sensitive Marker of Inflammation, Predicts Future Risk of

Coronary Heart Disease in Initially Healthy Middle-Aged Men : Results From the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 198," *Circulation*, vol. 99, no. 2, pp. 237–242, Jan. 1999.

[14] M. I. Harris, K. M. Flegal, C. C. Cowie, M. S. Eberhardt, D. E. Goldstein, R. R. Little, H. M. Wiedmeyer, and D. D. Byrd-Holt, "Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance in U.S. adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994," *Diabetes Care*, vol. 21, no. 4, pp. 518–524, Apr. 1998.

[15] *Brook's Clinical Pediatric Endocrinology*. Wiley-Blackwell, 2009, p. 632.

[16] J. H. Himes and W. H. Dietz, "Guidelines for overweight in adolescent preventive services: recommendations from an expert committee. The Expert Committee on Clinical Guidelines for Overweight in Adolescent Preventive Services.," *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 59, no. 2, pp. 307–16, Feb. 1994.

[17] A. E. Thomas, D. A. McKay, and M. B. Cutlip, "A nomograph method for assessing body weight.," *Am J Clin Nutr*, vol. 29, no. 3, pp. 302–304, Mar. 1976.

[18] "No Title." [Online]. Available: http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html. [Accessed: 21-Jul-2013].

[19] R. M. Malina, C. Bouchard, and O. Bar-Or, *Growth, Maturation, and Physical Activity*. Human Kinetics 10%, 2004, p. 712.

[20] M. F. Rolland-Cachera, M. Deheeger, F. Bellisle, M. Sempé, M. Guilloud-Bataille, and E. Patois, "Adiposity rebound in children: a simple indicator for predicting obesity.," *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 39, no. 1, pp. 129–35, Jan. 1984.

[21] W. H. Dietz, "Periods of risk in childhood for the development of adult obesity--what do we need to learn?," *J. Nutr.*, vol. 127, no. 9, p. 1884S–1886S, Sep. 1997.

[22] R. J. Kuczmarski, C. L. Ogden, S. S. Guo, L. M. Grummer-Strawn, K. M. Flegal, Z. Mei, R. Wei, L. R. Curtin, A. F. Roche, and C. L. Johnson, *2000 CDC Growth Charts for the United States: methods and development.*, no. 246. 2002, pp. 1–190.

[23] "Beslenme, Prof. Dr. Ayşe Baysal." [Online]. Available: http://www.seckin.com.tr/kitap/n/753583277/title/beslenme-ayse-baysal.html. [Accessed: 22-Jul-2013].

[24] "Waist to Hip Ratio." [Online]. Available: http://www.topendsports.com/testing/tests/WHR.htm. [Accessed: 22-Jul-2013].

[25] R. S. Gibson, *Principles of Nutritional Assessment*. 1990.

[26] J. V. G. A. Durnin and M. M. Rahaman, “The assessment of the amount of fat in the human body from measurements of skinfold thickness,” *Br. J. Nutr.*, vol. 21, no. 03, p. 681, Mar. 2007.

[27] J. V. G. a. Durnin and J. Womersley, “Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 Years,” *Br. J. Nutr.*, vol. 32, no. 01, pp. 77–97, Mar. 2007.

[28] “Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation.,” *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.*, vol. 894, pp. i–xii, 1–253, Jan. 2000.

[29] C. A. Motycka, E. St Onge, and S. A. Miller, “Treatment options for obesity and potential therapies on the horizon.,” *P T*, vol. 36, no. 5, pp. 282–301, May 2011.

[30] E. Ravussin and B. A. Swinburn, “Pathophysiology of obesity.,” *Lancet*, vol. 340, no. 8816, pp. 404–8, Aug. 1992.

[31] L. G. Bandini, D. A. Schoeller, H. N. Cyr, and W. H. Dietz, “Validity of reported energy intake in obese and nonobese adolescents.,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 52, no. 3, pp. 421–5, Sep. 1990.

[32] R. von Kries, B. Koletzko, T. Sauerwald, and E. von Mutius, “Does breast-feeding protect against childhood obesity?,” *Adv. Exp. Med. Biol.*, vol. 478, pp. 29–39, Jan. 2000.

[33] S. T. Kristensen, “Social and cultural perspectives on hunger, appetite and satiety.,” *Eur. J. Clin. Nutr.*, vol. 54, no. 6, pp. 473–8, Jun. 2000.

[34] M. I. Goran and M. S. Treuth, “Energy expenditure, physical activity, and obesity in children.,” *Pediatr. Clin. North Am.*, vol. 48, no. 4, pp. 931–53, Aug. 2001.

[35] J. R. Choi, I. Kwon, D. Y. Kwon, M. Kim, and M. Lee, “TT Mutant Homozygote of,” vol. 11, no. 4, pp. 263–271, 2013.

[36] “A biometric study of basal metabolism in man : Harris, James Arthur, 1880-1930 : Free Download & Streaming : Internet Archive.” [Online]. Available: https://archive.org/details/biometricstudyof00harruoft. [Accessed: 19-Mar-2014].

[37] A. Roza and H. Shizgal, “The Harris Benedict equation reevaluated: resting energy requirements and the body cell mass,” *Am J Clin Nutr*, vol. 40, no. 1, pp. 168–182, Jul. 1984.

[38] C. S. Yensel, D. Preud’homme, and D. M. Curry, “Childhood obesity and insulin-resistant syndrome.,” *J. Pediatr. Nurs.*, vol. 19, no. 4, pp. 238–46, Aug. 2004.

[39] M. Rosenbaum, J. M. Gertner, N. Gidfar, J. Hirsch, and R. L. Leibel, “Effects of systemic growth hormone (GH) administration on regional adipose tissue in children with non-GH-deficient short stature.,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 75, no. 1, pp. 151–6, Jul. 1992.

[40] P. Kokkoris and F. X. Pi-Sunyer, “Obesity and endocrine disease.,” *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, vol. 32, no. 4, pp. 895–914, Dec. 2003.

[41] D. Tiosano, I. Eisentein, D. Militianu, G. P. Chrousos, and Z. Hochberg, “11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase activity in hypothalamic obesity.,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 88, no. 1, pp. 379–84, Jan. 2003.

[42] R. Weiss and S. Caprio, “The metabolic consequences of childhood obesity.,” *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 19, no. 3, pp. 405–19, Sep. 2005.

[43] E. Nisoli and M. O. Carruba, “Emerging aspects of pharmacotherapy for obesity and metabolic syndrome.,” *Pharmacol. Res.*, vol. 50, no. 5, pp. 453–69, Nov. 2004.

[44] E. Suviolahti, H. E. Lilja, and P. Pajukanta, “Unraveling the complex genetics of familial combined hyperlipidemia.,” *Ann. Med.*, vol. 38, no. 5, pp. 337–51, Jan. 2006.

[45] G. (Hacettepe Ü.-S. B. F.-B. ve D. B. Samur, E. Yıldız, “OBEZİTE VE KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLAR- HİPERTANSİYON,” 2008.

[46] P. Arslan, *Yeterli - dengeli beslenme ve saglikli zayiflama rehberi*. Ozgur, 2001, p. 180.

[47] S. M. Byrne, “Psychological aspects of weight maintenance and relapse in obesity,” *J. Psychosom. Res.*, vol. 53, no. 5, pp. 1029–1036, Nov. 2002.

[48] “ The Practical Guide: Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults|NHLBI,” Jan. 2000.

[49] A. Bozbora, *Obezite ve tedavisi*. Nobel Tıp Kitabevleri, 2002, p. 347.

[50] “Handbook of Obesity Treatment: Thomas A. Wadden, Albert J. Stunkard: 9781572307223: Amazon.com: Books.” [Online]. Available: http://www.amazon.com/Handbook-Obesity-Treatment-Thomas-Wadden/dp/1572307226. [Accessed: 05-Jun-2014].

[51] H. A. Raynor, B. A. Polley, R. R. Wing, and R. W. Jeffery, “Is dietary fat intake related to liking or household availability of high- and low-fat foods?,” *Obes. Res.*, vol. 12, no. 5, pp. 816–23, May 2004.

[52] V. Provencher, V. Drapeau, A. Tremblay, J.-P. Després, and S. Lemieux, “Eating behaviors and indexes of body composition in men and women from the Québec family study.,” *Obes. Res.*, vol. 11, no. 6, pp. 783–92, Jun. 2003.

[53] O. Yusuf, *Şişmanlık Bilimi*. 2002.

[54] “Obezitenin tedavisi - Obezite, Diyabet ve Metabolik Hastalıklar Daire Başkanlığı.” [Online]. Available: http://beslenme.gov.tr/index.php?lang=tr&page=45. [Accessed: 19-Jun-2014].

[55] S. Erge, "Obezitede Diyet Tedavisini Destekleyen Davranışsal Tedavi," *Turkish J. Endocrinol. Metab.*, pp. 75–82, 2003.

[56] G. Ozgen, "Obezitenin İlaçla Tedavisi," *İç Hastalıkları Dergisi*, pp. 394–404, 1997.

[57] J. Douglass and S. Daoud, "Characterization of the human cDNA and genomic DNA encoding CAR T : a cocaine- and amphetamine-regulated transcript," vol. 169, pp. 241–245, 1996.

[58] J. Spiess, J. Villarreal, and W. Vale, "Isolation and sequence analysis of a somatostatin-like polypeptide from ovine hypothalamus," *Biochemistry*, vol. 20, no. 7, pp. 1982–1988, Mar. 1981.

[59] M. J. Kuhar, S. Adams, G. Dominguez, J. Jaworski, and B. Balkan, "CART peptides," *Neuropeptides*, vol. 36, no. 1, pp. 1–8, Feb. 2002.

[60] L. Maletínská, J. Maixnerová, R. Matysková, R. Haugvicová, E. Sloncová, T. Elbert, J. Slaninová, and B. Zelezná, "Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptide specific binding in pheochromocytoma cells PC12.," *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 559, no. 2–3, pp. 109–14, Mar. 2007.

[61] T. Dylag, J. Kotlinska, P. Rafalski, A. Pachuta, and J. Silberring, "The activity of CART peptide fragments.," *Peptides*, vol. 27, no. 8, pp. 1926–33, Aug. 2006.

[62] S. A. Stanley, C. J. Small, K. G. Murphy, E. Rayes, C. R. Abbott, L. J. Seal, D. G. Morgan, D. Sunter, C. L. Dakin, M. S. Kim, R. Hunter, M. Kuhar, M. A. Ghatei, and S. R. Bloom, "Actions of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptide on regulation of appetite and hypothalamo-pituitary axes in vitro and in vivo in male rats.," *Brain Res.*, vol. 893, no. 1–2, pp. 186–94, Mar. 2001.

[63] N. Vrang, M. Tang-Christensen, P. J. Larsen, and P. Kristensen, "Recombinant CART peptide induces c-Fos expression in central areas involved in control of feeding behaviour.," *Brain Res.*, vol. 818, no. 2, pp. 499–509, Feb. 1999.

[64] M. J. Kuhar, L. D. Adams, R. G. Hunter, S. D. Vechia, and Y. Smith, "CART peptides.," *Regul. Pept.*, vol. 89, no. 1–3, pp. 1–6, May 2000.

[65] A. Lakatos, G. Dominguez, and M. J. Kuhar, "CART promoter CRE site binds phosphorylated CREB.," *Brain Res. Mol. Brain Res.*, vol. 104, no. 1, pp. 81–5, Jul. 2002.

[66] A. Vicentic, "CART peptide diurnal variations in blood and brain.," *Peptides*, vol. 27, no. 8, pp. 1942–8, Aug. 2006.

[67] M. J. Kuhar, S. Adams, G. Dominguez, J. Jaworski, and B. Balkan, "CART peptides.," *Neuropeptides*, vol. 36, no. 1, pp. 1–8, Feb. 2002.

[68] G. Dominguez, “The CART gene: structure and regulation.,” *Peptides*, vol. 27, no. 8, pp. 1913–8, Aug. 2006.

[69] G. Dominguez and M. J. Kuhar, “Transcriptional regulation of the CART promoter in CATH.a cells.,” *Brain Res. Mol. Brain Res.*, vol. 126, no. 1, pp. 22–9, Jul. 2004.

[70] G. Dominguez, A. Lakatos, and M. J. Kuhar, “Characterization of the cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptide gene promoter and its activation by a cyclic AMP-dependent signaling pathway in GH3 cells.,” *J. Neurochem.*, vol. 80, no. 5, pp. 885–93, Mar. 2002.

[71] L. Thim, P. Kristensen, P. J. Larsen, and B. S. Wulff, “CART, a new anorectic peptide.,” *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, vol. 30, no. 12, pp. 1281–4, Dec. 1998.

[72] E. O. Koylu, B. Balkan, M. J. Kuhar, and S. Pogun, “Cocaine and amphetamine regulated transcript (CART) and the stress response.,” *Peptides*, vol. 27, no. 8, pp. 1956–69, Aug. 2006.

[73] J. J. Tebbe, E. Ortmann, K. Schumacher, H. Mönnikes, P. Kobelt, R. Arnold, and M. K.-H. Schäfer, “Cocaine- and amphetamine-regulated transcript stimulates colonic motility via central CRF receptor activation and peripheral cholinergic pathways in fed, conscious rats.,” *Neurogastroenterol. Motil.*, vol. 16, no. 4, pp. 489–96, Aug. 2004.

[74] S. Aja, G. J. Schwartz, M. J. Kuhar, and T. H. Moran, “Intracerebroventricular CART peptide reduces rat ingestive behavior and alters licking microstructure.,” *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, vol. 280, no. 6, pp. R1613–9, Jun. 2001.

[75] F. Rohner-Jeanrenaud, L. S. Craft, J. Bridwell, T. M. Suter, F. C. Tinsley, D. L. Smiley, D. R. Burkhart, M. A. Statnick, M. L. Heiman, E. Ravussin, and J. F. Caro, “Chronic central infusion of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART 55-102): effects on body weight homeostasis in lean and high-fat-fed obese rats.,” *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, vol. 26, no. 2, pp. 143–9, Feb. 2002.

[76] P. J. Larsen and R. G. Hunter, “The role of CART in body weight homeostasis.,” *Peptides*, vol. 27, no. 8, pp. 1981–6, Aug. 2006.

[77] Y.-H. Choi, M. A. Della-Fera, C. Li, D. L. Hartzell, D. E. Little, M. J. Kuhar, and C. A. Baile, “CART peptide: central mediator of leptin-induced adipose tissue apoptosis?,” *Regul. Pept.*, vol. 121, no. 1–3, pp. 155–62, Sep. 2004.

[78] K. M. Gautvik, L. de Lecea, V. T. Gautvik, P. E. Danielson, P. Tranque, A. Dopazo, F. E. Bloom, and J. G. Sutcliffe, “Overview of the most prevalent hypothalamus-specific mRNAs, as identified by directional tag PCR subtraction.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 93, no. 16, pp. 8733–8, Aug. 1996.

[79] E. O. Koylu, P. R. Couceyro, P. D. Lambert, N. C. Ling, E. B. DeSouza, and M. J. Kuhar, "Immunohistochemical localization of novel CART peptides in rat hypothalamus, pituitary and adrenal gland.," *J. Neuroendocrinol.*, vol. 9, no. 11, pp. 823–33, Nov. 1997.

[80] J. Douglass, A. A. McKinzie, and P. Couceyro, "PCR differential display identifies a rat brain mRNA that is transcriptionally regulated by cocaine and amphetamine.," *J. Neurosci.*, vol. 15, no. 3 Pt 2, pp. 2471–81, Mar. 1995.

[81] S. M. Echwald, T. I. Sørensen, T. Andersen, C. Hansen, N. Tommerup, and O. Pedersen, "Sequence variants in the human cocaine and amphetamine-regulated transcript (CART) gene in subjects with early onset obesity.," *Obes. Res.*, vol. 7, no. 6, pp. 532–6, Nov. 1999.

[82] B. E. Caplin, R. P. Rasmussen, P. S. Bernard, C. T. Wittwer, E. Pathology, and S. L. City, "LightCycler™ Hybridization Probes The most direct way to monitor PCR amplification for quantification and mutation detection.," no. 1, pp. 2–5, 1999.

[83] P. S. Bernard and C. T. Wittwer, "Homogeneous Amplification and Variant Detection by Fluorescent Hybridization Probes," *Clin. Chem.*, vol. 46, no. 2, pp. 147–148, Feb. 2000.

[84] G. Pont-Kingdon and E. Lyon, "Direct molecular haplotyping by melting curve analysis of hybridization probes: beta 2-adrenergic receptor haplotypes as an example.," *Nucleic Acids Res.*, vol. 33, no. 10, p. e89, Jan. 2005.

[85] "Real-time PCR handbook."

[86] C. W. Michael Hoffmann , Jochen Hurlebaus, "GEN | Magazine Articles: High-Performance Melting Curve Analysis," *Genetic engineering and biotechnology*, 2007.

[87] M. M. Finucane, G. A. Stevens, M. J. Cowan, G. Danaei, J. K. Lin, C. J. Paciorek, G. M. Singh, H. R. Gutierrez, Y. Lu, A. N. Bahalim, F. Farzadfar, L. M. Riley, and M. Ezzati, "National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9·1 million participants.," *Lancet*, vol. 377, no. 9765, pp. 557–67, Feb. 2011.

[88] I. Janssen, P. T. Katzmarzyk, and R. Ross, "Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk.," *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 79, no. 3, pp. 379–84, Mar. 2004.

[89] I. Satman, T. Yilmaz, A. Sengül, S. Salman, F. Salman, S. Uygur, I. Bastar, Y. Tütüncü, M. Sargin, N. Dinççag, K. Karsidag, S. Kalaça, C. Ozcan, and H. King, "Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP).," *Diabetes Care*, vol. 25, no. 9, pp. 1551–6, Sep. 2002.

[90] I. Satman, "TURDEP- II Sonuçları TURDEP- I : Türkiye ' de Diabetes Mellitus."

[91] A. Oğuz, A. Temizhan, A. Abaci, O. Kozan, C. Erol, Z. Ongen, and S. Celik, “Obesity and abdominal obesity; an alarming challenge for cardio-metabolic risk in Turkish adults.,” *Anadolu Kardiyol. Derg.*, vol. 8, no. 6, pp. 401–6, Dec. 2008.

[92] T. Delibasi, Y. Karaaslan, I. Ustun, E. Koroglu, and S. Hosgor, “National prevalence of underweight, overweight and obesity in Turkey: cross sectional study of a representative adult population,” *Cent. Eur. J. Med.*, vol. 2, no. 3, pp. 294–303, Sep. 2007.

[93] “Türkiye’de Görülme Sıklığı - Obezite, Diyabet ve Metabolik Hastalıklar Daire Başkanlığı.” [Online]. Available: http://beslenme.gov.tr/index.php?lang=tr&page=40. [Accessed: 06-Nov-2014].

[94] D. C. N. SEMERCİ, “Obesity and Genetics,” *Gulhane Med. J.*, vol. 46, no. 4, pp. 353–359, 2004.

[95] C. Bouchard, “The genetics of human obesity: recent progress.,” *Bull. Mem. Acad. R. Med. Belg.*, vol. 156, no. 10–12, pp. 455–62; discussion 463–4, Jan. 2001.

[96] J. H. Lee, D. R. Reed, and R. A. Price, “Familial risk ratios for extreme obesity: implications for mapping human obesity genes.,” *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, vol. 21, no. 10, pp. 935–40, Oct. 1997.

[97] P. T. Katzmarzyk, L. Pérusse, D. C. Rao, and C. Bouchard, “Familial risk of obesity and central adipose tissue distribution in the general Canadian population.,” *Am. J. Epidemiol.*, vol. 149, no. 10, pp. 933–42, May 1999.

[98] C. T. Montague, I. S. Farooqi, J. P. Whitehead, M. A. Soos, H. Rau, N. J. Wareham, C. P. Sewter, J. E. Digby, S. N. Mohammed, J. A. Hurst, C. H. Cheetham, A. R. Earley, A. H. Barnett, J. B. Prins, and S. O’Rahilly, “Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans.,” *Nature*, vol. 387, no. 6636, pp. 903–8, Jun. 1997.

[99] A. Strobel, T. Issad, L. Camoin, M. Ozata, and A. D. Strosberg, “A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity.,” *Nat. Genet.*, vol. 18, no. 3, pp. 213–5, Mar. 1998.

[100] K. Clément, C. Vaisse, N. Lahlou, S. Cabrol, V. Pelloux, D. Cassuto, M. Gourmelen, C. Dina, J. Chambaz, J. M. Lacorte, A. Basdevant, P. Bougnères, Y. Lebouc, P. Froguel, and B. Guy-Grand, “A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction.,” *Nature*, vol. 392, no. 6674, pp. 398–401, Mar. 1998.

[101] R. S. Jackson, J. W. Creemers, S. Ohagi, M. L. Raffin-Sanson, L. Sanders, C. T. Montague, J. C. Hutton, and S. O’Rahilly, “Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene.,” *Nat. Genet.*, vol. 16, no. 3, pp. 303–6, Jul. 1997.

[102] H. Krude, H. Biebermann, W. Luck, R. Horn, G. Brabant, and A. Grüters, “Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans.,” *Nat. Genet.*, vol. 19, no. 2, pp. 155–7, Jun. 1998.

[103] G. S. Yeo, I. S. Farooqi, S. Aminian, D. J. Halsall, R. G. Stanhope, and S. O’Rahilly, “A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity.,” *Nat. Genet.*, vol. 20, no. 2, pp. 111–2, Oct. 1998.

[104] C. Vaisse, K. Clement, B. Guy-Grand, and P. Froguel, “A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity.,” *Nat. Genet.*, vol. 20, no. 2, pp. 113–4, Oct. 1998.

[105] B. G. Challis, G. S. Yeo, I. S. Farooqi, J. Luan, S. Aminian, D. J. Halsall, J. M. Keogh, N. J. Wareham, and S. O’Rahilly, “The CART gene and human obesity: mutational analysis and population genetics.,” *Diabetes*, vol. 49, no. 5, pp. 872–5, May 2000.

[106] E. Miraglia, N. Santoro, G. Cirillo, L. D. Urso, R. Di Toro, and L. Perrone, “Mutational Screening of the CART Gene in Obese,” pp. 2157–2160.

8. EKLER

8.1. Ek 1 Bilgilendirilmiş Gönül Olur Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Obezite, günümüzde giderek artan önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Obezitenin en sık nedeni besinsel öğelerin fazla tüketilmesi ve enerji harcanımının en düşük düzeye düşürülmesidir. Bunun dışında kilo artışına neden olabilecek hormonal ve genetik faktörler de söz konusudur. Aşırı kilo nedeniyle polikliniğimize başvuru sonrası yaptığımız tetkikler ve ölçümler sonucunda **çocuğunuza obezite tanısı konmuştur.** Çocukluk çağı obezitesi tip 2 diyabet (şeker rahatsızlığı), hiperlipidemi (kan yağlarının yüksekliği), hipertansiyon (tansiyon yüksekliği) ve ileride görülebilecek kalp-damar hastalıklar için iyi bilinen bir risk faktörüdür. Bütün bu bilgiler obezitenin ileride ciddi yan etkilere neden olarak yaşamsal fonksiyonlarımızı bozacağını açıkça göstermektedir. Çocuğunuzda böyle bir riskin bulunup bulunmadığını saptamak amacıyla çocuğunuza uygulamamız gereken laboratuvar testleri bulunmaktadır. Bu çalışmaya dahil olmasanız da çocuğunuzda obezitenin neden olduğu bozuklukları saptamak amacıyla bazı kan tetkikleri yapılacaktır. Bu tetkikler kan şekeri ve insülin düzeyi, tiroid tahlilleri, karaciğer testleri ve kan yağlarıdır. Çocuğun vücut yağ analizi ise ise yine çocuğunuza herhangi bir zararı bulunmayan biyoimpedans cihazı ile yapılacaktır. Bu işlemde çocuğunuz tartı cihazına benzeyen bir cihaza çıplak ayak ile basacak, cihazın iki adet pedalını iki eli ile kavrayacak ve cihaz ölçüm yapacaktır (Resim 1).



Resim 1. Biyoimpedans cihazı

Obez olmayan "kontrol grubu" için: Bu çalışma, obez (kilolu) çocuklarda obeziteye yol açması muhtemel genlerden birini araştırmaya yönelik bir çalışmadır. Obez hastaların kanında bazı gen tetkiklerin yapılması planlanmaktadır. Ancak obez hastalardan alınacak sonuçların sağlıklı çocuklar ile karşılaştırılması gerekmektedir. Siz de bu çalışmada kontrol grubu olacaksınız. Herhangi bir sağlık probleminiz nedeni ile çocuğunuzdan kan alındığı sırada sizden/çocuğunuzdan çalışma için ilaveten kan alınacaktır. Bu çalışmanın sonunda CART geni denen ve iştah düzenlenmesinde rolü olduğu bilinen bir genin toplumdaki dağılımına bakılacaktır. Bu durumun çocuğunuza herhangi hiçbir bir zararı bulunmamaktadır.

Bu kan tahlilleri esnasında çalışmamızda kullanılmak üzere çocuğunuzdan alınacak ilave kan miktarı 4 mL olacaktır. Bu miktar yaklaşık olarak bir tatlı kaşığı kadardır. Kan alma işlemi sırasında ortaya çıkabilecek problemler arasında; kan alınan bölgede ağrı, çok nadir de olsa kan alınan bölgede bölgesel iltihap, yara bölgesinde küçük kan göllenmesi ve morarma sayılabilir.

Alınan kanlar çalışma sonrasında imha edilecektir

Bu testlerin çocuğunuza hiçbir zararı olmadığı gibi endokrin, karaciğer ve kardiyovasküler hastalık riskinin belirlenmesi sağlayacak ve erken tanı konularak bu risk faktörleri daha yakın takip edilebilmesine olanak kılacaktır. Sizin de bu çalışmaya katılmanızı öneriyoruz. Bu çalışmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Bu çalışmaya dahil olabilmeniz için size çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgi vermemiz ve katılmak isterseniz imzalı onayınızı almamız gerekmektedir. Çalışma amacıyla elde edilen bilgilerin eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgileriniz ihtimamla gizlenecektir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Bu çalışma sırasında uygulanacak testlerin ve araştırma ile ilgili gerçekleştirilecek diğer işlemlerin masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

Bu çalışmada yer aldığınız süre içerisinde kayıtlarınızın yanı sıra ilişkili sağlık kayıtlarınız kesinlikle gizli kalacaktır. Bununla birlikte kayıtlarınız kurumun yerel etik kurul komitesine ve Sağlık Bakanlığına açık olacaktır. Hassas olabileceğiniz kişisel bilgileriniz yalnızca araştırma amacıyla toplanacak ve işlenecektir. Çalışma verileri herhangi bir yayın ve raporda kullanılırken bu yayında isminiz kullanılmayacak ve veriler izlenerek size ulaşılamayacaktır.

Gönüllünün Beyanı

Doktorum Ayhan ABACI tarafından Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Çocuk Endokrinolojisi Bilim Dalı'nda tıbbi bir çalışma yapılacağı belirtilerek bu çalışma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgileri kendim de okudum ve çalışmaya "gönüllü" olarak davet edildim.

Eğer bu çalışmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu çalışma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Çalışma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (*Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için çalışmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim).*

Çalışma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

Çalışma sırasında herhangi bir problem olması durumunda doktorum **Doç. Dr. Ayhan Abacı'ya 02324126076** numaradan ulaşabileceğimi öğrendim.

Bu çalışmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Çalışmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımıma ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu çalışma projesinde "gönüllü" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Gönüllünün ebeveyni

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza:

Gönüllü ve ebeveyni ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel.

İmza

8.2. Ek 2 Olgu Rapor Formu

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ

ÇOCUK ENDOKRİNOLOJİ BÖLÜMÜ

Kokain ve Amfetamin-Düzenlenen Transkript [cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART)] Gen Polimorfizminin Çocukluk Çağı Obezitesi İle İlişkisi

Adı- Soyadı : Tarih :

Protokol : Telefon :

Doğum Tarihi : Şikayeti :

Cinsiyeti :

Bilinen Hastalığı : □ Var □ Yok

Kullandığı İlaç : □ Var □ Yok

Fizik Muayene

TY: BY: AY:

VA : (p) (SDS) Boy : (p) (SDS)
W/H : (p) (SDS) BMI : (p) (SDS)

TA : (p) (SDS) Nabız : (p) (SDS)

Bel Çevresi: TSF: MAC:

Guatr : □ Var □ Yok

Puberte:

Çalışmada kullanılacak Laboratuvar Parametreler:

PARAMETRE	

CART gen polimorfizm	
Glukoz	
Total kolesterol	
Trigliserit	
LDL	
HDL	

BAŞVURU BİLGİLERİ					
	DOSYA NO	**113-SBKAEK**			
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kokain ve Amfetamin-Düzenlenen Transkipt [Cocaine-and amphetamine-Regulated Transcript (CART)] Gen Polimorfizminin Çocukluk Çağı Obezitesinde Antropometrik ve Metabolik Parametreler ile Olan İlişkisi			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Sefa KIZILDAĞ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji ve Genetik			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐		
		Yüksek Doz Araştırması	☐		
		Diğer ise belirtiniz	İLAÇ DIŞI GİRİŞİMSEL ARAŞTIRMA		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLAR ARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mevcut	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mevcut	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Mevcut	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	-		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	TÜRKÇ ETİKET ÖRNEĞİ	☐	
	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	Mevcut
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER	☐	

Scanned by CamScanner

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2013/03-10	Tarih: 14.02.2013
	Doç.Dr.Sefa KIZILDAĞ'ın sorumlusu olduğu **"Kokain ve Amfetamin-Düzenlenen Transkipt [Cocaine-and amphetamine-Regulated Transcript (CART)] Gen Polimorfizminin Çocukluk Çağı Obezitesinde Antropometrik ve Metabolik Parametreler ile Olan İlişkisi "** isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, bilimsel ve etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.	

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Ayşegül YILDIZ

Unvanı/Adı/Soyadı	Kurumu	Uzmanlık Alanı	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr.Ayşegül YILDIZ	Psikiyatri	DEU Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Dr.Ecz.İskender İNCE	Biyofarmasötik ve Farmakokinetik	Ege Üniversitesi İlaç ve Farmakokinetik Arş-Uyg.Merk.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof.Dr.Nuray DUMAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları (Yeni Doğan)	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof.Dr.Hülya ELLİDOKUZ	Halk Sağlığı	DEU Onkoloji Enstitüsü Prevantif Onkoloji A.D.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof.Dr.Yeşim ÖZTÜRK	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları (Gastroenteroloji)	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof.Dr.Erol TAVMERGEN	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof.Dr.Şule KALKAN	Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof.Dr.A.Necati GÖKMEN	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç.Dr.Taner DAĞCI	Fizyoloji	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç.Dr.Pembe KESKİNOĞLU	Biyoistatistik	DEU Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim A.D	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç.Dr.Erdem YAKA	Nöroloji	DEU Tıp Fakültesi Nöroloji A.D	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Yard.Doç.Dr.Serdar NART	Hukuk	DEÜ Hukuk Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
İhsan ÇELİKDEMİR	75.Yıl Özel İlköğretim Okulu Md. Yard.	Sağlık Mesleği Mensubu Olmayan Üye	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	

* :Toplantıda Bulunma

Scanned by CamScanner

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans programı öğrencisi Fatima Dedemoğlu **'Kokain ve Amfetamin-Düzenlenen Transkript [cocaine-and amphetamine-regulated transcript(CART)] Gen Polimorfizminin Çocukluk Çagı Obezitesinde Antropometrik ve Metabolik Parametreler ile Olan ilişkisi '** konulu Yüksek Lisans tezini .....tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.

Doç. Dr. Sefa KIZILDAĞ

BAŞKAN

Prof. Dr. Ogün SERCAN

ÜYE

Doç. Dr. Ayhan ABACI

ÜYE

Yard. Doç. Dr. Çiğden E. YAZICIOĞLU

YEDEK ÜYE

Yard. Doç. Dr. Yasemin SOYSAL

YEDEK ÜYE

Scanned by CamScanner