T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PARAOKSONAZ 1 (PON1) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ÇOCUKLUK ÇAĞI OBEZİTESİNDE METABOLİK VE ANTROPOMETRİK PARAMETRELER İLE OLAN İLİŞKİSİ

DERYA POLAT

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZMİR-2014

TEZ KODU:DEU.HSI.MSc- 2011970101

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PARAOKSONAZ 1 (PON1) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ÇOCUKLUK ÇAĞI OBEZİTESİNDE METABOLİK VE ANTROPOMETRİK PARAMETRELER İLE OLAN İLİŞKİSİ

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ

DERYA POLAT

Danışman Öğretim Üyesi: Doç. Dr. Sefa KIZILDAĞ

(Bu araştırma Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından 2013.KB. SAG. 078 sayı ile desteklenmiştir)

TEZ KODU:DEU.HSI.MSc- 2011970101

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans programı öğrencisi Derya POLAT **'PARAOKSONAZ 1 (PON1) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ÇOCUKLUK ÇAĞI OBEZİTESİNDE METABOLİK VE ANTROPOMETRİK PARAMETRELER İLE OLAN İLİŞKİSİ'** konulu Yüksek Lisans tezini 28.08.2014 tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.

Doç. Dr. Sefa Kızıldağ
BAŞKAN

Yrd. Doç. Dr. Çiğdem Eresen Yazıcıoğlu
ÜYE

Doç. Dr. Ayhan Abacı
ÜYE

Doç. Dr. Zeynep Sercan
YEDEK ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Yasemin Soysal
YEDEK ÜYE

İÇİNDEKİLER ..... **i**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **iv**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR ..... **viii**
TEŞEKKÜR ..... **ix**
ÖZET **1**
ABSTRACT **3**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **5**
2. GENEL BİLGİLER **7**
2.1. Obezitenin Tanımı ve Görülme Sıklığı 7
2.2. Obezitenin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler 9
2.2.1. Direkt Yöntemler 9
2.2.1.1. Vücut Dansitesinin Ölçülmesi 9
2.2.1.2. Toplam Vücut Suyunun İzotop Kullanılarak Hesaplanması 9
2.2.1.3. Toplam Vücut Potasyumunun Ölçümü 9
2.2.1.4. Biyoelektriksel İmpedans 10
2.2.1.5. Dual Enerjili X-ışını Absorbsiyometrisi 10
2.2.1.6. Manyetik Rezonans ve Bilgisayarlı Tomografi Yöntemleri 10
2.2.2. İndirekt Yöntemler 10
2.2.2.1. Cilt Kıvrım Kalınlığı 10
2.2.2.2. Boya Göre Ağırlık 11
2.2.2.3. Çevre Ölçümleri 11
2.2.2.4. Beden Kitle İndeksi 11
2.3. Obezite İçin Risk Faktörleri 15
2.3.1. Genetik Faktörler 15
2.3.2. Çevresel Faktörler 15
2.3.2.1. Yaş 16
2.3.2.2. Cinsiyet 16
2.3.2.3. Beslenme 16
2.3.2.4. Fiziksel Aktivite 17
2.3.2.5. Diğer Etmenler 17
2.4. Paraoksonaz Gen Ailesi 17

2.4.1. Paraoksonaz 1 (PON1 18
2.4.1.1. Tarihçe 18
2.4.1.2. Paraoksonaz Yapısı ve Fonksiyonu 19
2.4.1.3. Paraoksonaz Ekspresyonu ve Enzim Aktivitesinin Regülasyonu 20
2.4.1.4. PON1 Polimorfizmleri 21
2.4.1.4.1. Promotor Polimorfizmleri 21
2.4.1.4.2. Kodlayan Bölge Polimorfizmleri 21
2.4.1.5. PON1 ve Hastalıklarla İlişkisi 22
2.4.2. PON2 ve PON3 23
2.5. PCR-RFLP Metodu 24
3. GEREÇ VE YÖNTEM 25
3.1. Araştırmanın Tipi 25
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı 25
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/ Çalışma Grupları 25
3.4. Çalışma Materyali 26
3.5. Araştırmanın Değişkenleri 26
3.6.Veri Toplama Araçları 26
3.6.1. Metabolik ve Antropometrik Ölçümler 26
3.6.2.Polimorfizmin Belirlenmesinde Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Malzemeler . 27
3.6.3. DNA İzolasyonu 28
3.6.4. PCR Aşaması 30
3.6.3.1. PON 1 L55M Polimorfizmi PCR Aşaması 31
3.6.3.2. PON 1 Q192R Polimorfizmi PCR Aşaması 33
3.6.4. PCR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimleri ile Kesilmesi 34
3.6.4.1. PON1 L55M Polimorfizm Bölgesi Enzim Kesimi 35
3.6.4.2. PON1 Q192R Polimorfizm Bölgesi Enzim Kesimi 36
3.7. Araştırma Planı ve Takvimi 36
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi 37
3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları 37
3.10. Etik Kurul Onayı 38
4. BULGULAR 39
4.1. Metabolik ve Antropometrik Ölçüm Sonuçları 39

4.2. PON1 L55M Polimorfizm Bölgesi 40
4.3. PON1 Q192R Polimorfizm Bölgesi 42
4.4. Polimorfizmlerin Metabolik ve Antropometrik Parametreler ile İlişkisi 44
5. TARTIŞMA 47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 53
7. KAYNAKLAR 54
8. EKLER 66
EK 1: Hasta Grubu İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu 66
EK 2: Kontrol Grubu İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu 71
EK 3:Olgu Rapor Formu 73
EK 4: Etik Kurul Onayı 74
EK 5: Özgeçmiş 76

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.Türkiye'nin farklı şehirlerinde çocuklarda aşırı kilo ve obezite prevalansı……..8

Tablo 2.2. Beden kitle indeksine göre obezitenin sınıflandırılması……12

Tablo 3.1. Araştırmada kullanılan cihazlar……..27

Tablo 3.2. Araştırmada kullanılan kimyasal malzemeler…….28

Tablo 3.3. PON1 geni polimorfizm bölgesi ve kullanılan primerler……30

Tablo 3.4. PON1 L55M polimorfizmi PCR işleminde kullanılan malzemeler ve miktarları……...31

Tablo 3.5. PON1 L55M polimorfizminin PCR optimizasyon koşulları……..32

Tablo 3.6. PON1 Q192R Polimorfizmi PCR işleminde kullanılan malzemeler ve miktarları…….....33

Tablo 3.7. PON1 Q192R polimorfizminin PCR optimizasyon koşulları……...34

Tablo 3.8. Polimorfizmlerin belirlenmesinde kullanılan enzimler ve kesim bölgeleri…….35

Tablo 3.9. PON1 L55M polimorfizmi RFLP analizinde kullanılan malzemeler ve miktarları……...35

Tablo 3.10. PON1 Q192R polimorfizmi RFLP analizinde kullanılan malzemeler ve miktarları……...36

Tablo 3.11. Araştırma Zaman Çizelgesi……...37

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grubunda cinsiyet dağılımı……..39

Tablo 4.2. Hasta ve kontrol grubunun antropometrik ölçüm sonuçları……39

Tablo 4.3. Hasta ve kontrol grubunun metabolik ölçüm sonuçları…….....40

Tablo 4.4. PON1 L55M genotip ve allel dağılımı……42

Tablo 4.5. PON1 Q192R genotip ve allel dağılımı……..44

Tablo 4.6. Obez ve kontrol grubunun ölçüm değerleri ile PON1 Q192 R polimorfizminin ilişkisi…….....45

Tablo 4.7. Obez ve kontrol grubunun ölçüm değerleri ile PON1 L55M polimorfizminin ilişkisi……46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. 2-20 yaş arası kız çocuklarda BKİ ve yaşa göre düzenlenmiş persentil eğrileri……...13

Şekil 2.2. 2-20 yaş arası erkek çocuklarda BKİ ve yaşa göre düzenlenmiş persentil eğrileri……...14

Şekil 2.3. PON gen ailesi genetik haritası……18

Şekil 2.4. İnsanda PON1, PON2 ve PON3 genlerinin dokularda dağılımı……..18

Şekil 2.5. Paraoksonazın yapısı ve HDL ile ilişkisi……..20

Şekil 3.1. 99 bp'lik hedef bölgenin PCR ürünleri…….32

Şekil 3.2. 171 bp'lik hedef bölgenin PCR ürünleri……...34

Şekil 4.1. PON1 L55M enzim kesim sonuçları……....41

Şekil 4.2. PON1 Q192R enzim kesim sonuçları……..43

KISALTMALAR

BKİ: Beden Kitle İndeksi

bp: Baz Çifti

CDC: Centers for Disease Control and Prevention (Hatalık Kontrol ve Korunma Merkezleri)

CI: Güven Aralığı

dNTP: Deoksiribonükleotid

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

KAH: Koroner Arter Hastalığı

kb: Kilo Baz

KHz: Kilohertz

HDL: High density lipoprotein (Yüksek yoğunluklu lipoprotein)

LDL: Low Density Lipoprotein (Düşük yoğunluklu lipoprotein)

L55M: PON1 geni 55. Pozisyonda Lösin(L)/ Metiyonin(M) değişimi ile oluşan polimorfizm

NHANES: The National Health and Nutrition Examination Surveys (Ulusal Beslenme ve Sağlık Araştırması)

OR: Odds Oranı

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PON: Paraoksonaz

PON1$^{-/-}$: PON1 geninden yoksun

Q192R: PON1 geni 192. PozisyondaGlutamin(Q) /Arjinin(R) değişimi ile oluşan polimorfizm

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)

RA: Rölatif Ağırlık

SNP: Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

TE: Tris EDTA

TG: Trigliserit

TCK: Triseps Cilt Kalınlığı

UTR: Untranslated Region

UV: Ultraviyole

WHO: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren, çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen, ilgi, anlayış ve hoşgörüsü ile her konuda yol gösteren değerli hocam Doç. Dr. Sefa KIZILDAĞ' a,

Çalışmalarımın başlangıcında uzun süre laboratuvarını paylaşarak iyi bir çalışma ortamı yaratan sayın Yrd. Doç. Dr. Çiğdem ERESEN YAZICIOĞLU' na, ayrıca destek ve ilgilerinden dolayı Anabilim Dalı'ndaki tüm öğretim üyesi hocalarıma, tez çalışmamın en önemli öğelerinden olan hasta kanlarının toplanması ve bilgilerinin saklanması konusunda verdiği destekten dolayı sayın Doç. Dr. Ayhan ABACI' ya, istatiksel analizlerde yardımlarından dolayı Dr. Nur DEMİRPENÇE' ye,

Laboratuvar çalışmalarımda desteklerinden dolayı ve birlikte aynı laboratuvarda çalışmaktan keyif aldığım arkadaşım Fatima DEDEMOĞLU'na, çalışmalarımda beni destekleyen güler yüzlü bölüm arkadaşlarıma,

Bugüne kadar maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bana güvenen ve her zaman yanımda olan canım annem, babam ve kardeşime en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

PARAOKSONAZ 1 (PON1) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ÇOCUKLUK ÇAĞI OBEZİTESİNDE METABOLİK VE ANTROPOMETRİK PARAMETRELER İLE OLAN İLİŞKİSİ

Derya POLAT

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Balçova- İzmir/Türkiye,derya_p0lat@hotmail.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. Paraoksonaz 1 lipoproteinleri oksidatif modifikasyonlardan koruyabilen antioksidan bir enzimdir. Bu enzim LDL'nin lipit peroksidasyonunu inhibe eder. PON1 geni 7. kromozom üzerinde lokalizedir ve kodlayan bölgede iki polimorfizm (Q192R ve L55M) belirlenmiştir. Bu çalışmanın amacı Türk populasyonunda obez çocuklardaki PON1 geni polimorfizmlerinin prevalansını saptamak ve metabolik-antropometrik parametreler ile ilişkisini ortaya koymaktır.

Bu çalışma yaşları 3- 18 arasında değişen 126 obez ve 137 sağlıklı kontrolde yapılmıştır. DNA izolasyonunun ardından PCR-RFLP yöntemi ile hastaların genotipleri belirlenmiştir. Q192R ve L55M polimorfizmlerinin metabolik ve antropometrik parametreler ile ilişkisi araştırılmıştır.

İstatiksel analizler sonucu PON1 Q192R polimorfizmi RR genotip sıklığı kontrol grubunda anlamlı derecede yüksek çıkmıştır ($p<0.05$). PON1 Q192R polimorfizminde obez grubunda QQ genotipi sıklığı kontrol grubuna göre daha yüksek olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). PON1 L55M polimorfizminde ise genotip ve allel frekansları açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır($p>0.05$). Ağırlık, BKİ, bel çevresi, yağ kütlesi, insulin ve trigliserit değerleri obez grupta kontrol grubundan daha

yüksek çıkmıştır. Hasta grubunda total kolesterol ve trigliserit değerleri Q192R polimorfizmi QQ genotipinde yüksek çıkmıştır ($p<0.05$).

Analizlerimiz sonucu Q192R polimorfizmininçocukluk çağı obezitesi ileilişkili olabileceğini düşünüyoruz.Daha geniş gruplarda yapılacak araştırmalarla bulgularımızın karşılaştırılması sonucu daha kapsamlı veriler elde edilebilecektir.

Anahtar Kelimeler: Obezite, Paraoksonaz1, PON1, Polimorfizm

THE RELATION OF PARAOXONASE 1 (PON1) GENE POLYMORPHISMS WITH METABOLIC AND ANTHROPOMETRIC PARAMETERS IN CHILDHOOD OBESITY

Derya POLAT

Dokuz Eylul University School of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics
Balcova- Izmir/ Turkey, derya_p0lat@hotmail.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. In recent years, increased oxidative stress has been shown in obese individuals. Paraoxonase-1 is an antioxidant enzyme able to protect lipoproteins from oxidative modifications. This enzyme inhibits lipid peroxidation of LDL-C. PON1 gene is located on chromosome 7, and two polymorphisms (Q192R and L55M) have been identified on its coding regions. The aim of this study is to determine the prevalence of PON1 polymorphisms of obese children and to reveal its relationship between metabolic and anthropometric parameters in Turkish population.

This study is made 126 obese and 137 healthy controls ranging in age from 3 to 18. After DNA isolation, the genotypes were determined of the patients by PCR-RFLP methods. Association of Q192R and L55M polymorphisms with metabolic and anthropometric parameters were investigated.

As a result of the statistical analysis, PON1 Q192R polymorphisms RR genotype frequency was significantly higher in the control group ($p<0,05$). Although PON1 Q192R polymorphisms QQ genotype frequency in the obese group were higher than the control group, this difference was not statistically significant ($p>0.05$). There was no significant difference in PON1 L55M polymorphisms in terms of genotype and allele frequencies between the groups ($p>0.05$). Weight, BMI, waist circumference, fat mass, insulin and

triglyceride levels were higher in the obese group than in the control group. Total cholesterol and triglyceride levels were higher in QQ genotypes ($p<0.05$).

We think Q192R polymorphism might be associatedwith obesity. Research to be done in larger groups when compared our findings, more comprehensive data can be obtained.

Key Words: Obesity, Paraoxonase 1, PON1, Polymorphisms

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite enerji alımının fazla olduğu durumlarda yağ dokusunun artmasıyla ortaya çıkan sosyal, psikolojik ve tıbbi sorunlar yaratabilen önemli bir sağlık problemidir. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization -WHO) tarafından da "vücutta sağlığı bozacak ölçüde anormal düzeyde yağ birikmesi" şeklinde tanımlanmıştır (1,2).

Dünya genelinde fazla kilo ve obezite ölüm nedenleri arasında 5. sırada yer almakta ve her yıl en az 2,8 milyon insanın obeziteden öldüğü bildirilmektedir. 1980'den beri obezitenin prevalansı yaklaşık iki kat artmıştır (1). Günümüzde obezite tüm yaş gruplarında yaygın olmakla birlikte özellikle çocukluk çağında artış göstermektedir. Çocukluk çağında görülen obezite erişkin dönemde hipertansiyon, diyabet, kalp ve damar hastalıkları, yüksek kolesterol, kas ve eklem problemleri ve psikolojik sorunlar oluşturma potansiyeli açısından önemlidir. Obezite, modern toplumlarda aynı zamanda sağlık sistemleri üzerinde de ciddi bir yüktür (3). Sağlık giderlerinin % 5-11'inin obeziteye harcandığı tahmin edilmektedir (4). Bu nedenlerden dolayı çocukluk çağı obezitesi günümüzdeki en önemli sağlık problemlerinden birisi olarak görülmektedir.

Obezite genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile oluşan kompleks bir hastalıktır (3). Çevresel faktörlere çocuğun aşırı beslenmesi, yanlış beslenmesi, fiziksel aktivitede bulunmaması, bilgisayar ve televizyon karşısında fazla zaman geçirmesi örnek olarak verilebilir. Ayrıca çocuklarda yeme-içme alışkanlığının sosyal bir davranış olduğu düşünülürse, özellikle anne-babanın beslenme tarzı, öğün sayısı ve günlük aktivite şekli de çocukluk çağı obezitesi üzerinde etkili olmaktadır. Bunların dışında obezite oluşumunda genetik yatkınlık da önemli bir etkendir. Yapılan ikiz çalışmaları, genetik faktörlerin obezitenin etiyolojisinde büyük rol oynadığını göstermiştir (5).

Oksidatif stres, oksidan ve anti-oksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması sonucu lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen ürünlerinin açığa çıkarak organizmada hücresel hasara yol açması şeklinde tanımlanabilir ve birçok hastalığın patogenezinde kritik öneme sahip bir olaydır (6). Son yıllarda obez bireylerde çeşitli komplikasyonların gelişmesinde oksidatif stres ve çeşitli nedenlerle oluşmuş olan oksidantların etkisi kanıtlanmıştır (7,8).

Paraoksonaz enzimi de hem arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitesine sahip kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır. İnsanlarda paraoksonaz gen ailesi kromozom 7' nin uzun kolunda q21.3-22.1 bölgesinde, birbiriyle bağlantılı PON1, PON2 ve PON3 şeklinde üç üyeden oluşmaktadır (9). PON1 geninin kodlama bölgesi; pozisyon 55'de lösin (L) ve metiyonin (M) (55 L>M) ve pozisyon 192'de glutamin (Q) ve arginin (R) (192 Q>R) değişimi olmak üzere iki polimorfik bölge içerir (10). Yapılan birçok araştırmada PON1 geninde bu polimorfizmlere bağlı değişiklikler çeşitli metabolik ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (11, 12). Literatürde, PON1 geninde sık gözlenen iki SNP'nin (tek nükleotid polimorfizmi) obezite ile olan ilişkisini inceleyen çalışma oldukça azdır (13, 14). Ülkemizde ise PON1 geni polimorfizmlerinin obez çocuklardaki prevalansını ve metabolik-antropometrik parametreler ile ilişkisini inceleyen çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada yaşları 3-18 arasında değişen 137 kontrol ve 126 obez hasta Paraoksonaz 1 (PON1) geni polimorfizmleri açısından değerlendirilmiştir. Çalışmanın amacı hasta ve kontrol grubunda PON1 geni SNP'lerinin prevalansını saptamak ve bu SNP'lerin çocukluk çağı obezitesinde metabolik ve antropometrik parametreler ile olan olası ilişkisini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezitenin Tanımı ve Görülme Sıklığı

Obezite enerji alınımının enerji tüketiminden fazla olduğu durumlarda yağ dokusunun artmasıyla ortaya çıkan mutlaka tedavi edilmesi gereken ciddi bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü tarafından da "vücutta sağlığı bozacak ölçüde anormal düzeyde yağ birikmesi" şeklinde tanımlanmıştır.

Son 20 yılda dünya genelinde obezite prevalansı gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde hızla artmıştır. 2008'de dünyada 20 yaş üzeri 1.4 milyarın üzerinde fazla kilolu birey bulunduğu ve bu grup içinde yaklaşık 200 milyon erkeğin ve 300 milyon kadının obez olduğu bildirilmiştir. Hastalığın sıklığı yetişkinlerde olduğu kadar çocuklarda da yüksek bulunmuştur. 2011 yılında 5 yaşın altında 40 milyondan fazla çocuğun fazla kilolu olduğu ve dünya genelinde çocuk ve adolesanlarda obezite sıklığının sürekli artma eğiliminde olduğu belirtilmektedir (1,2). Görülme sıklığındaki bu artıştan dolayı hastalık epidemik bir sorun olarak görülmektedir.

Obezite tüm dünyada etkili olan ciddi bir halk sağlığı problemidir. Multifaktöriyel bir hastalık olup gelişiminde hem genetik hem çevresel faktörler etkilidir. Bu nedenle dünyanın farklı coğrafik bölgelerinde yaşayan çocuklarda hastalığın sıklığı değişiklik göstermektedir. Obezite gelişmiş ülkelerin alt ve orta gelirli bölgelerinde, gelişmekte olan ülkelerin ise orta ve üst gelirli kesimlerinde daha sık görülür. Toplumun beslenme alışkanlıkları, spor alışkanlıkları, yaşadıkları ortam ve çalışma koşulları gibi faktörler etkilidir.

ABD' de 1988 ile 1994 yılları arasında yapılan NHANES III (Ulusal Beslenme ve Sağlık Araştırması, The National Health and Nutrition Examination Surveys) çalışmasında obeziteyi değerlendirme metodu olarak BKİ (Beden Kitle İndeksi) kullanılmış olup 95. persentilin uzerinde olan 6-11 yaş cocukların oranı %13.7 ve 12-17 yaş grubu cocuklarda ise %11.5 olarak bulunmuştur (15). NHANES' in yaptığı başka bir çalışmada 2-19 yaş arası çocuk ve adolesanların yaklaşık %17'sinin obez olduğu, 2011-2012 yılları arasında 2-5 yaş arası çocuklarda % 8.4, 6-11 ve 12-19 yaş grubunda ise sırasıyla % 17.7 ve % 20.5 olduğu

bulunmuştur (16). ABD'de 1960-2004 yılları arasında yapılan NHANES verilerine göre tüm yaş gruplarında obezite sıklığında artış görülmüştür (17).

İtalya'da yapılan bir çalışmada RA(Rölatif Ağırlık) verileri kullanılmış ve 2-5, 7-8 ve 9-11 yaş grubunda obezite prevalansı değerlendirilmiştir. Hollanda'da yapılan bir çalışmada BKİ 97 persentil ve üzeri alınmış ve prevalans %8 olarak bulunmuştur. Yunanistan'da yapılan bir çalışmada RA 95 persentil üzeri alınarak obezite prevalansı %32,5 bulunmuştur. İspanya'da yapılan bir çalışmada ise BKİ 95 persentil üzeri obez kabul edilmiş ve çalışmanın sonucunda obezite prevalansı 6-7 yaş grubu erkeklerde % 6.4 ve kızlarda % 10 olarak bulunmuştur (18). Portekiz'de 7-9 yaş aralığındaki 4511 çocuk üzerinde yapılan bir çalışmada çocukların % 20.3'ü fazla kilolu, % 11.3'ü obez olarak bulunmuştur (19).

Ülkemizde ise İstanbul, Ankara ve İzmir'de yürütülen 12-13 yaş aralığında 1044 çocuğun yer aldığı bir çalışmada çocukların % 12'si zayıf, % 12'si fazla kilolu ve % 2'si ise obez olarak bulunmuştur (20). Yine farklı şehirlerde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar gösterilmiştir (Tablo 2.1) (21).

Tablo 2.1.Türkiye'nin farklı şehirlerinde çocuklarda aşırı kilo ve obezite prevalansı (21)

Şehir	**Yıl**	**Yaş (yıl)**	**Aşırı Kilo (%)**	**Obez (%)**
Van	2010	6-18	11.1	2.2
Elazığ	2010	6-11	13.2	1.6
Aydın	2009	6-16	12.2	3.7
Kocaeli	2009	10-19	11.5	6.8
Bolu	2008	6-17	10.3	6.1
Bursa	2008	6-12	12.4	7.8
Antalya	2006	6-17	14.3	3.6
Kayseri	2004	6-17	10.6	1.6
Edirne	2004	12-17	10.9	1.9
Ankara	2004	10-16	10.7	3.6
İstanbul	2001	3-18	17.6	4.3
İzmir	2009	2-15	9.9	6.3

2.2.Obezitenin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

Çocuklarda obezitenin erken yaşlarda tanısının konularak tedavi edilmesi ileri yaş dönemlerinde yaşayabilecekleri sağlık sorunlarını engelleme açısından çok önemlidir. Günümüzde obezite tanısının konulmasında kullanılan çeşitli yöntemler vardır. Vücuttaki yağ miktarının belirlenmesinde kullanılan bu yöntemler direkt ve indirekt yöntemler olmak üzere 2 gruba ayrılır.

2.2.1. Direkt Yöntemler

Vücuttaki yağ miktarının doğrudan ölçümünü sağlayan yöntemlerdir.

2.2.1.1.Vücut Dansitesinin Ölçülmesi (Hidrodansitometri)

Vücuttaki yağ miktarının ölçümünde kullanılan en hassas yöntemlerden biridir. Geçerliliği ve güvenilirliği yüksek bir yöntemdir (23). Ancak bu yöntem yetişkinlerde kullanılabilirken çocuklar için uygun değildir (24).

2.2.1.2.Toplam Vücut Suyunun İzotop Kullanılarak Hesaplanması

İki veya üç değerlikli hidrojen izotopu kullanılarak izotop dilusyonu metodu ile toplam vücut suyunun hesaplanabildiği bir yöntemdir. Yağsız dokulardaki su miktarı sabit (%72) kabul edilerek hesaplama yapılır. Vücuttaki yağ miktarı vücut ağırlığından hesaplanan yağsız vücut kitlesinin çıkartılması ile tespit edilir. Bu yöntemin dezavantajı yağsız vücut dokusunda %72'den fazla su bulunan kişilerde (hamileler, çocuklar, vücudunda ödem olanlar) vücut yağı daha az hesaplanabilmektedir (25,26).

2.2.1.3.Toplam Vücut Potasyumunun Ölçümü

Bu yöntemde yağsız doku kompartmanlarında bulunan potasyumdan faydalanılır. K-42 kullanılarak izotop dilusyonu yöntemiyle vücuttaki yağsız doku kitlesi hakkında bilgi sahibi olunur (25, 26).

2.2.1.4.Biyoelektriksel İmpedans

Yağsız doku kitlesi ile yağ dokusunun elektriksel geçirgenliklerinin farklı olmasına dayanan bir yöntemdir (23). Düşük voltajlı (50 KHz) elektrik akımı uygulanarak yağ dokusunun rezistansının ölçülmesiyle vücuttaki yağ miktarı hesaplanır (27).

2.2.1.5.Dual Enerjili X – Işını Absorbsiyometresi (DEXA)

Dokular tarafından ışınların farklı tutulmasına bağlı olarak vücut yağ dokusu, kas kitlesi ve kemik mineral düzeyinin saptanabildiği bir yöntemdir. Düşük dozda radyasyona maruz kalındığından çocuklarda da kullanılabilmektedir.Vücut bileşimi hesaplanmasında kullanılan en güvenilir yöntemlerden biridir (23).

2.2.1.6. Manyetik Rezonans ve Bilgisayarlı Tomografi Yöntemleri

Bu yöntemler yüksek maliyet gerektirdiğinden, analiz süresi uzun olduğundan ve yüksek düzeyde iyonize radyasyona maruz kalındığından özellikle çocuklarda kullanımı sınırlıdır.

2.2.2. İndirekt Yöntemler

Antropometrik ölçümler direkt yöntemlere nazaran daha kolay, hızlı ve ucuz olduğundan obezite tanısında sıklıkla kullanılmaktadır.

2.2.2.1.Cilt Kıvrım Kalınlığı

Obezitede vücutta biriken yağın bir kısmı deri altında toplanmaktadır. Bu nedenle biseps, triseps, subskapular ve suprailiak gibi belirli vücut bölgelerinde ölçüm yapmak iyi bir obezite tanıkriteridir. Çocuklarda ise sıklıkla Triseps Cilt Kalınlığı (TCK) ölçülmektedir. TCK yaşa ve cinsiyete göre farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle persentil çizelgelerinden yararlanılır. Çizelgede %85 üzeri fazla kilolu, %95 üzeri ise obezite olarak tanımlanır (28). Pediatrik yaş grubunda yapılan çalışmalarda TCK ile obezite derecesi arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (29, 30). Bu yöntemin avantajı deri altı yağ kalınlığının gerçek değerini ortaya çıkarması, dezavantajı ise çocukların bu ölçümden rahatsız olmalarıdır.

2.2.2.2.Boya Göre Ağırlık (Rölatif Ağırlık- RA)

Çocuklarda obezitenin tanısında sıklıkla kullanılan yöntemlerden biridir. Yaş ve cinsiyete göre düzenlenmiş boy ve ağırlık tabloları kullanılarak çocuğun boy yaşına uygun ideal ağırlığı (boyunun 50 persentilde olduğu yaşın 50 persentildeki ağırlığı) bulunur. Rölatif ağırlık ise ölçülen ağırlığın ideal ağırlığa oranlanması ile aşağıdaki gibi hesaplanır.

$$\text{Relatif Vücut Ağırlığı} = \frac{\text{Vücut ağırlığı (kg)}}{\text{İdeal ağırlık (kg)}} \times 100$$

Sonuçta Relatif Ağırlığın %90-110 arasında olması normal kiloyu, % 110-120 olması aşırı kilolu olmayı gösterirken, %120'nin üzerinde olması obezite olarak kabul edilir (34).

2.2.2.3.Çevre Ölçümleri

Çevre ölçümleri ile vücuttaki yağ dağılımı hakkında bilgi sahibi olunur. En sık olarak bel, kalça, üst orta kol, uyluk ve baldır çevreleri kullanılır.

Yetişkinlerde bel çevresinin erkeklerde 102, kadınlarda 88 cm'den yüksek olması kardiyovasküler hastalık riskini artırmaktadır. Bel kalça oranı ise erkeklerde 1, kadınlarda 0.9'dan büyükse obezite olarak kabul edilir (27). Çocuklarda ise 0.85 den büyükse anormal kabul edilir (31).

2.2.2.4. Beden Kitle İndeksi

Obezite tanısının konulmasında sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Ağırlığın boyun karesine bölünmesiyle (Ağırlık [kg]/Boy [m^2]) bulunan bir indekstir (32). WHO'ya göre obezitenin sınıflandırılması gösterilmiştir (Tablo 2.2) (33).

Tablo 2.2. Beden kitle indeksine göre obezitenin sınıflandırılması (33)

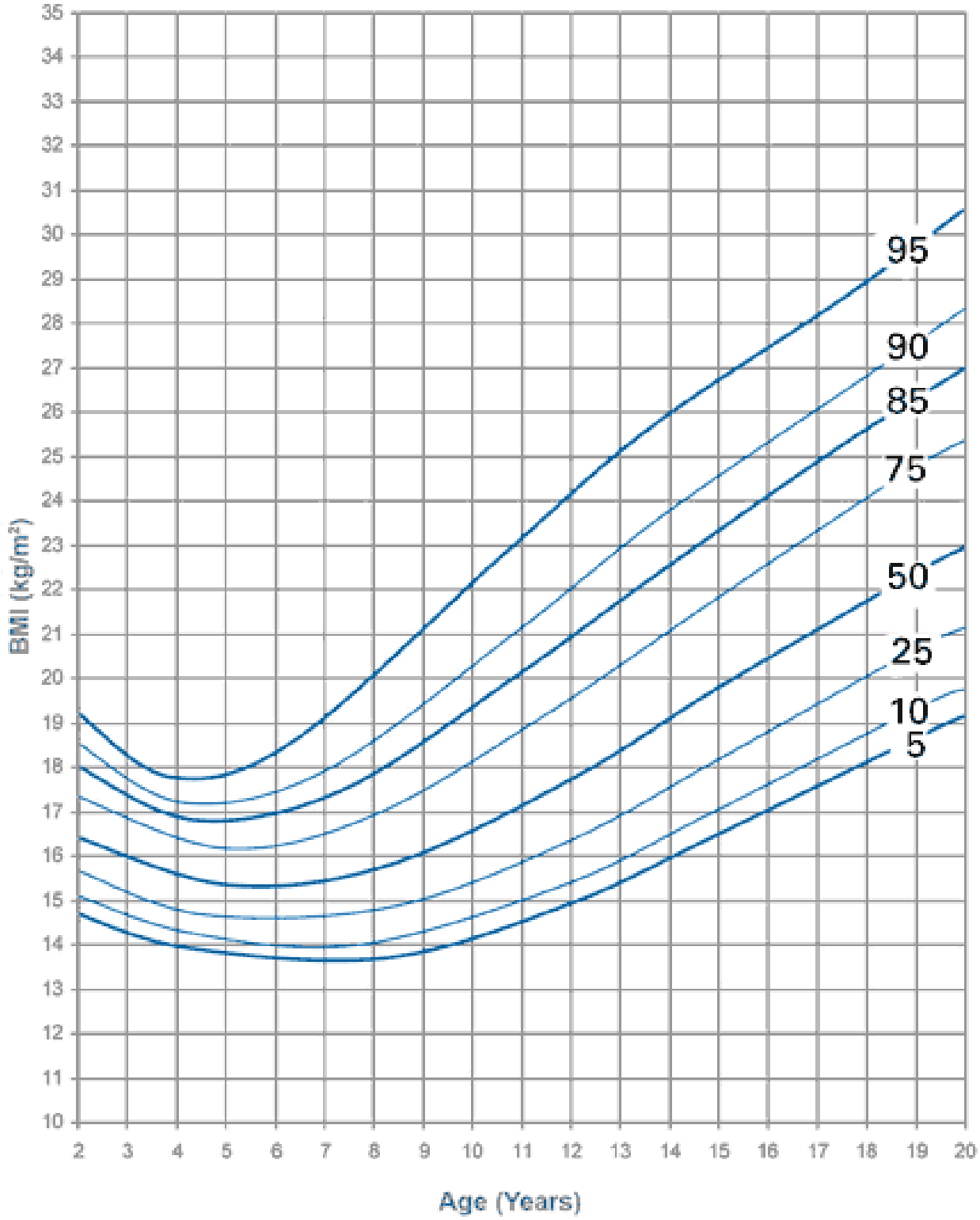
Sınıflama	**BKİ (kg/m²)**
Zayıf	<18.50
Aşırı	<16,0
Orta	16,0-16,99
Hafif	17,0-18,49
Normal Kilolu	18,50-24,99
Fazla Kilolu	25,0-29,99
Obez	≥30,00
Sınıf 1 Obez	30,0-34,99
Sınıf 2 Obez	35,0-39,99
Sınıf 3 Obez	≥40

BKİ vücuttaki yağ dağılımı hakkında doğrudan bir bilgi vermese de vücuttaki yağ miktarı hakkında bilgi sahibi olunabilmesini sağlamaktadır. Uygulanması kolay, ucuz ve güvenilir olması nedeniyle en çok tercih edilen antropometrik yöntemdir. Vücuttaki yağ miktarı yaşa ve cinsiyete göre farklılık göstermektedir. Örneğin aynı BKİ değerine sahip olsa da vücut yağ oranı kadınlarda erkeklerden daha fazla olup, yine yaşla birlikte bu oranın her iki cinsiyette de arttığı bilinmektedir (36).

Çocuk ve adolesanlarda ise BKİ değeri yaşa ve boya göre düzenlenmiş persentil eğrileri ile hesaplanmaktadır (26) (Şekil 2.1). Bu persentil eğrilerinde BKİ değeri %85-95 arası olanlar fazla kilolu, %95 ve üzeri olanlar ise obez olarak değerlendirilmektedir (28).



Şekil 2.1. 2-20 yaş arası kız çocuklarda BKİ ve yaşa göre düzenlenmiş persentil eğrileri (35).



Şekil 2.2. 2-20 yaş arası erkek çocuklarda BKİ ve yaşa göre düzenlenmiş persentil eğrileri (35).

2.3. Obezite İçin Risk Faktörleri

Obezite etiyolojisi tam olarak aydınlatılmamış, gelişiminde hem çevresel hem genetik faktörlerin etkili olduğu multifaktöriyel bir hastalıktır.

2.3.1. Genetik Faktörler

Son yıllarda pek çok çalışmada obez olan bireylerin ailelerinde de obezite prevalansının yüksek olduğu gösterilmiştir.Yapılan bir çalışma obez anne ve babanın çocuklarının, obez olmayanlara göre çocukluk çağının tüm dönemlerinde daha kilolu olduğunu göstermiştir (37). Yani obez ailelerin çocukları çocukluk ve yetişkinlik döneminde obez olma açısından yüksek risk taşımaktadır. Bu risk ebeveynlerin her ikisinin de obez olma durumunda daha da artmaktadır (38). Bir çalışmada her iki ebeveynin obez olması durumunda risk % 80, tek ebeveyn obez ise % 40, iki ebeveynde normal kiloda ise %10 olarak bulunmuştur (39).

Aile çalışmalarının yanısıra ikizlerle yapılan çalışmalarda genetik faktörlerin obezite etiyolojisinde rol oynadığını göstermiştir (40, 41). 3-17 yaş arası monozigotik ve dizigotik ikizleri içeren bir çalışmada vücut yağ oranında genetik faktörlerin etkisi gösterilmiştir (42). Monozigotik ikizlerde BKİ değerleri ile uyumun dizigotik ikizlerden daha yüksek olduğu görülmüştür.

Genetik yapının öneminin artması ile birlikte araştırıcılar hastalık üzerinde etkili olabilecek genleri araştırmaya başlamışlardır. Enerji metabolizmasını düzenleyen ve iştah mekanizmasını kontrol eden bazı genler (Leptin, Peroksizom proliferatör aktivatör reseptör gamma -2, Melanokortin -3 reseptör geni, Prohormon konvertaz -1, Melanokortin- 4 reseptör geni, Leptin reseptör, Pro-opiomelanokortin geni) bilinmektedir. İnsanlarda obeziteye neden olan genler henüz tamamen bilinmemektedir. Genom tarama çalışmaları devam etmekte ve bugün yaklaşık 200 kadar üzerinde çalışılan aday gen bulunmaktadır (43,44).

2.3.2. Çevresel Faktörler

Genetik faktörlerin yanısıra çevresel faktörlerde hastalığın etiyolojisinde önemlidir.

2.3.2.1.Yaş

Obezite günümüzde tüm yaş gruplarını etkileyen ciddi bir hastalıktır. Çocuklarda özellikle 3 gelişim dönemi obezite riski açısından önemlidir. Bunlar ilk yaşın ikinci altı aylık dönemi, 4-6 yaş ve ergenlik dönemidir. BKİ verilerine göre yaşamın ilk döneminde yağlanma artmakta sonraki dönemlerde azalmaktadır. 4 yaşından itibaren ise BKİ tekrar yükselmekte ve bu yaş civarında obez olan çocukların ergen ve yetişkinlik dönemlerinde de obez olma riski artmaktadır. Kalıcı yağlanmayı etkileyen bir diğer dönem ise ergenlik dönemidir. Bu dönem kızlarda yağ miktarı erkeklerden daha fazladır ve uzun izleme çalışmaları ile şişman kadınların %30'unun ergenlik döneminde obez oldukları bildirilmiştir (45).

2.3.2.2.Cinsiyet

Kız çocuklarında obezite sıklığı erkek çocuklara göre daha fazladır. Yağ dokusundaki artışın kız çocuklarının ergenliğe daha erken girmesi nedeniyle olabileceği düşünülmektedir. Ancak bu durum bazı ülkelerde farklılık göstermiştir. Örneğin İngiltere, İspanya, ABD ve Finlandiya'da obezite kız çocuklarında daha sık görülürken, İtalya ve Avusturya'da erkek çocuklarda daha sık görülmektedir (46,47).

2.3.2.3.Beslenme

Çocuğun bebeklik dönemindeki beslenme şekli çok önemlidir. Anne sütü ile beslenen bebeklerde ileri yaş dönemlerinde obezitenin daha az görüldüğü gösterilmiştir (48). Almanya'da yapılan bir çalışmada anne sütünün obezite önleyici etkisi gösterilmiştir. Çalışmada 5-6 yaş aralığındaki 9206 çocuktan elde edilen BKİ verilerine göre obezite prevalansı hiç anne sütü almamış çocuklarda daha yüksek çıkmıştır. Ayrıca emzirme süresi ile obezite sıklığı da ilişkili bulunmuştur. 2, 3-5, 6-12 ve 12 ay anne sütü ile beslenen çocuklarda obezite prevalansı sırasıyla % 3.8, 2.3, 1.9 ve 0.8 bulunmuştur (49). Ancak anne sütü ile çok sık ve aşırı bir şekilde beslemek yüksek enerji alımı olduğundan ileride obeziteye yatkınlık sağlayabilir (50).

Vücut ağırlığını etkileyen bir diğer faktör de öğün miktarı ve sıklığıdır. Örneğin tek öğün ve düzensiz beslenen kişilerde üç öğün ve düzenli beslenen kişilere göre yağ oluşumu artmaktadır. Günümüzde hazırlanması kolay ve ucuz olan yüksek kalorili yiyecekler

milyonlarca kişi tarafından kullanılmaktadır. Yine yüksek kalorili hazır gıdalar (fast-food) çocuklar tarafından da sıklıkla tüketilmektedir (51). Bu yiyeceklerin aşırı miktarda tüketilmesi riski arttırmaktadır. Çocukluk döneminde kazanılan hatalı beslenme davranışları ilerleyen dönemlerde obezite gelişiminde rol oynar.

2.3.2.4.Fiziksel Aktivite

Obezite prevalansının tüm yaş gruplarında artışında etkili olan bir diğer etmen de fiziksel aktivitenin azalmasıdır. Özellikle çocuk ve adölesanlarda televizyon seyretmek, bilgisayar başında fazla vakit geçirmek gibi hareketsiz yapılan aktiviteler ile obezite arasında anlamlı ilişki olduğu görülmüştür (47,52).

2.3.2.5.Diğer Etmenler

- Hormonal ve metabolik bozukluklar (Cushing sendromu, hipotroidizm, büyüme hormonu eksikligi, insülinoma, polikistik over sendromu)

- İlaçlar (Glukokortikoidler, tiroid ilaçları, östrojen, progesterone, psikotropik ilaçlar)

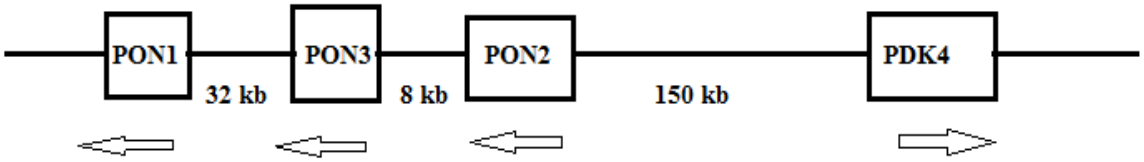
- Bazı genetik hastalıklar (Turner sendromu, prader – willi sendromu, bardet- biedl sendromu, cohen sendromu, carpenter sendromu, down Sendromu)

- Sosyoekonomik ve kültürel etmenler

- Psikolojik faktörler

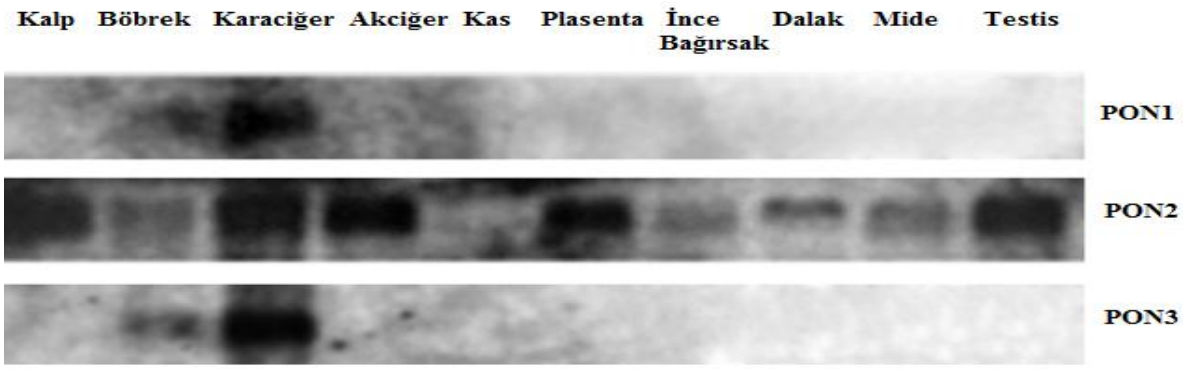
2.4. Paraoksonaz Gen Ailesi

İnsanda PON genleri (PON 1, PON 2, PON 3) kromozom 7'nin q21.3-22 bölgesinde birbirine komşu halde bulunur (Şekil 2.3) (53).Farede ise 6q22.3-23.1 bölgelerinde lokalizedir (54). PON1, PON2 ve PON3 genleri memeliler arasında aminoasit seviyesinde %60, nükleotit seviyesinde %70 sekans benzerliği gösterir. PON1 memeli türleri arasında geniş dağılıma sahip olmasına karşın balık, kuş ve eklembacaklılar gibi omurgasızlarda bulunmamaktadır (9).



Şekil 2.3. PON gen ailesi genetik haritası

Yapısal homoloji çalışmaları sonucu evrimsel olarak en eski üyenin PON2 olduğu, onu PON3 ve PON1'in takip ettiği ortaya çıkmıştır (55). İmmunohistokimyasal yöntemlerle insanlarda PON1 ve PON3'ün karaciğer ve plazmada bulunduğu, PON2'nin ise beyin, böbrek, kalp, karaciğer, mide ve testis gibi dokularda bulunduğu gösterilmiştir (56).



Şekil2.4. İnsanda PON1, PON2 ve PON3'ün dokularda dağılımı

2.5.1. Paraoksonaz 1 (PON1)

Paraoksonaz (PON1), hem arilesteraz (E.C. 3.1.1.2) hem de paraoksonaz (E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip, kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır (9).

2.5.1.1. Tarihçe

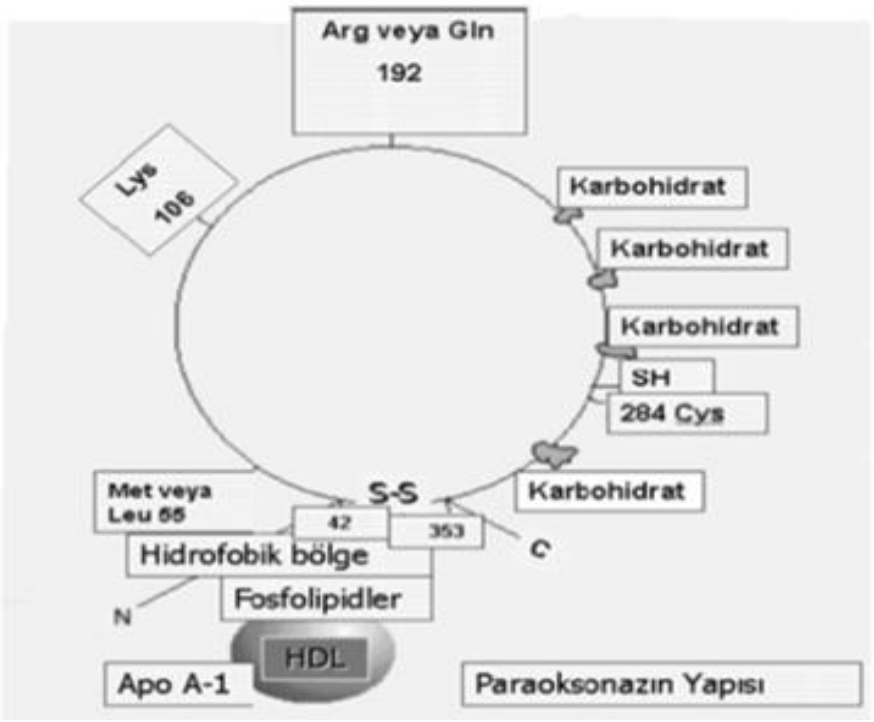
İlk olarak 1946 yılında Abraham Mazur tarafından hayvan dokusunda organofosfat bileşiklerini hidroliz edebilen bir enzimin varlığı gösterilmiştir (56). 1953 yılında ise bu enzim Alridge tarafından 'insan serum paraoksonazı' olarak isimlendirmiştir. İnsektisid ve sinir gazları gibi organofosfatları hidrolize eden A esteraz grubunda yer alan enzim, aktivite ölçümünde substrat olarak paraoksonu kullandığından bu şekilde isimlendirilmiştir (57,58).

1961 yılında insan serumunda yapılan bir çalışmada ilk kez HDL-PON ilişkisi gösterilmiştir (59).İmmunoaffinite kromatografi çalışmaları ile paraoksonazın HDL'nin yapısındaki apolipoprotein AI ve klusterin (apolipoprotein J) ile ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır (60,61,27).

Önceleri insektisitleri ve somon, sarin gibi sinir gazlarını yıkabilme yeteneğinden dolayı çalışılan enzim, serumda HDL ile olan ilişkisi bulunduktan sonra daha çok dikkat çekmiştir. Oksidatif strese karşı bir antioksidan olarak görev yapan enzim, lipitleri oksidasyondan koruması nedeniyle son yıllarda sıkça çalışılmakta ve hastalıklarla olan ilişkisi araştırılmaktadır.

2.5.1.2. Paraoksonaz Yapısı

İnsan serumundan saflaştırılan PON1 molekül ağırlığı 43 kDa olan, 354 amino asit kodlayan bir glikoproteindir (62). Karbonhidrat üniteleri ağırlığının %15.8'ini oluşturur ve 4 farklı konumda protein bağlı olarak bulunur (63). Yapısında bulunan 3 sistein rezidüsünden 284. pozisyondaki serbest iken diğer ikisi (Cys 42-353) arasında tek disülfit bağı bulunur. Serbest sistein substrat tanınması ve bağlanmasında önemlidir. Karaciğerde sentezlenip dolaşıma verilen PON1'in ApoA1 ile birlikte HDL'ye bağlı olduğu gösterilmiştir. Hidrofobik N-terminal bölgesi sayesinde HDL lipitlerine kolayca bağlanabilmektedir (64) (Şekil 2.4). PON1 enziminin merkezinde yapı ve katalitik aktivitenin korunması için gerekli iki kalsiyum atomu bulunmaktadır.



Şekil 2.5. Paraoksonazın yapısı ve HDL ile ilişkisi

2.5.1.3. Paraoksonaz Ekspresyonu ve Enzim Aktivitesinin Regülasyonu

PON1 aktivitesi yeni doğanlarda yetişkinlerin yarısı kadardır. Doğumdan itibaren 15-25 aya kadar artarak erişkin evrede en üst düzeye ulaşmaktadır. PON1 aktivitesi düzeyi 5 regülatör bölge polimorfizmi ve bireyin genetik zemini ile belirlenir (61,65). PON1 aktivitesi ve konsantrasyonu bireyler arasında varyasyon göstermektedir.

Genetik faktörlerin yanısıra pek çok çevresel faktörün de PON1 ekspresyonu ve aktivitesini değiştirdiği bilinmektedir. İlaçlar, çevresel kimyasallar, fizyolojik ve patolojik durumlar, diyet ve yaşam şekli gibi çeşitli faktörlerin PON1 aktivitesi üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (65).

PON1 aktivitesi beslenme ve yaşam tarzı gibi faktörlerden etkilenmektedir. Sigara kullanımı ve trans yağların insanlarda *PON1* aktivitesini düşürdüğü, C ve E vitaminleri, alkol kullanımı ve simvastatin gibi ilaçların ise bu aktiviteyi güçlendirdiğinedair çalışmalar yapılmıştır (66- 69).

2.5.1.4. PON1 Polimorfizmleri

2.5.1.4.1. PON1 promotor polimorfizmleri

İnsan PON1 geninin promotor bölgesinde 5 polimorfizm (-909/907 (C/G), -832/824 (A/G), −162 (A/G), −126 (C/G) ve −108/−107 (C/T) belirlenmiştir (70,71). Bu polimorfizmlerden özellikle 909, 162 ve 108 pozisyonlarındaki polimorfizmlerin ekspresyon seviyesi üzerinde önemli etkiye sahip olduğu görülmüştür (70). Pozisyon 108'de T/C değişiminin enzimin serum seviyesi üzerinde ve PON1 geninin ekspresyonunda önemli etkiye sahip olduğu görülmüştür. Promotor polimorfizmlerinin enzimin serum konsantrasyonu üzerinde etkili olduğu bulunmuştur (72).

2.5.1.4.2. Kodlayan bölge polimorfizmleri

PON1 geni 9 ekzondan oluşmakta ve bu gen üzerinde 2 polimorfizm sıklıkla görülmektedir.Bu polimorfizmlerekzon 3'ün 55. kodonunda lösinin metiyonine (L55M) ve ekzon 6'nın 192. kodonunda glutaminin arjinine (Q192R) dönüşümüdür (10).

PON1 geni 192. Kodonda Adenin yerine Guanin bazının geçmesi (A→G) proteinde Glutamin (Q) yerine Arginin (R) aminoasitinin oluşmasına neden olur. R polimorfizmi taşıyanlarda paraoksonaz aktivitesi yüksek iken Q polimorfizmi taşıyanlar düşük enzim aktivitesine sahiptir. Bu polimorfizm, substrat olarak paraokson kullanıldığında 192. pozisyon için A (Q alleli düşük aktiviteli) ve B (R alleli yüksek aktiviteli) alloenzimleri olarak tanımlanmışlardır (73). Bazı çalışmalarda ise PON1 Q alloenziminin LDL'yi oksidasyona karşı korumada daha etkili olduğu görülmüştür (74).

PON1 L55M polimorfizmi PON1'in substratlarıyla etkileşimini etkilemez ancak enzimin aktivitesi ve düşük serum konsantrasyonu ile ilişkilidir (75,76). MM homozigot olan bireyler LL homozigot bireylere kıyasla daha düşük PON1 aktivitesi gösterirler. PON1 55 polimorfizmi, 107 C/T'yi de içeren promotor bölgesindeki polimorfizmlerle de bağlantılı bulunmuştur, Bu nedenle enzim konsantrasyonundaki varyasyonlarla ilişkilendirilmiştir. PON1 55M alleli taşıyan bireylerde, mRNA düzeylerinde düşüş olduğu saptamıştır (77,78)

2.5.1.5. PON1 ve Hastalıklarla İlişkisi

Son yıllarda yapılan çalışmalar ateroskleroz gelişiminde oksidatif stresin rolünü göstermiştir. LDL serumda oksidasyona uğradığında okside LDL formuna dönüşmekte ve bu ürünlerin makrofajda birikmesiyle köpük hücreleri olumakta ve aterom plağı gelişmektedir (79). İn-vitro çalışmalarda PON1'in LDL'yi serbest radikallerin indüklediği oksidasyona karşı koruduğunu, LDL türevi okside fosfolipidleri inaktive ettiğini ve HDL'nin oksidasyonunu inhibe ederek HDL'nin fonksiyonunu koruduğu gösterilmiştir (69). Shih ve ark. ise invivo çalışmalarda gen hedefleme yöntemiylePON1 geni taşımayan ($PON1^{-/-}$) fareler üretmişlerdir. $PON1^{-/-}$ farede, plazmada paraoksonaz aktivitesi gözlenmemiş, heterozigot farelerde ise yaban tip farelere nazaran % 50 daha düşük plazma paraoksonaz aktivitesi görülmüştür.$PON1^{-/-}$ fare makrofajlarının LDL oksidasyonunu indirgeme kapasitesi daha düşük olduğundan HDL' nin arter duvarı kültür modelinde LDL'yi oksidasyondann koruyamadığı ve ateroskleroza daha yatkın hale getiridiği gösterilmiştir (80).

Yine kardiyovasküler hastalıklarla PON1 polimorfizmleri ve serum aktivitesi arasındaki ilişkiyi inceleyen çok sayıda çalışma yapılmıştır. PON1 Q192R polimorfizmi ile koroner kalp hastalığı arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalardan çelişkili sonuçlar elde edilmiştir.

Oksidatif hasar sonucu gelişen nörodejeneratif hastalıklarda PON1'in etkili olabileceği bilinmektedir. Alzheimer hastalığı gibi pekçok nörodejeneratif hastalıkta oksidatif stres önemli bir mekanizma olarak düşünülmektedir. PON1 Q192R polimorfizmi ile Alzheimer hastalığı arasındaki ilişki gösterilmiş ve PON1 R allel frekansı hasta grubunda daha düşük bulunarak R allelinin hastalık için koruyucu bir faktör olabileceği belirtilmiştir (81). Yine başka bir çalışmada Alzheimer hastalarında PON1 aktivitesi düşük bulunarak R alleli taşıyan hastaların Q alleli taşıyan hastalardan daha yüksek serum aktivitesi gösterdiği bulunmuştur. Alzheimer hastalarını vasküler demans ve sağlıklı kişilerden ayırt etmede Q192R polimorfizminin güvenilir bir belirteç olduğu belirtilmiştir (82). Yaygın görülen bir diğer nörodejeneratif hastalık da Parkinson hastalığıdır. Epidemiyolojik çalışmalar pestisidlerdeki artışla Parkinson hastalığı arasındaki ilişkiyi göstermiştir (83). Homozigot RR polimorfizmi paraoksona karşı yüksek, diazokson, somon, sarin gibi nörotoksinlere karşı ise düşük enzim aktivitesi gösterir. Q192R polimorfizminin Parkinson hastalığına genetik yatkınlığı artırabileceği gösterilmiştir (84). PON1 polimorfizm frekanslarındaki ve enzim seviyesindeki

farklılıklar şizofreni ve multipl skleroz gibi başka nörolojik hastalıklarda da araştırılmıştır (85,86).

Tip 1 ve Tip 2 diyabette oksidatif stresin artmasına bağlı olarak PON1 aktivitesinin azaldığı belirtilmiştir. PON1 L55M ve Q192R polimorfizmi ile diyabetik komplikasyonlar arasındaki ilişki araştırılmıştır. L55M polimorfizminin diyabetik bir komplikasyon olan retinopati ile, Q192R polimorfizminin ise hastalarda kalp rahatsızlıkları ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (87). Türkiye'de yapılan bir çalışmada hasta ve kontrol grubu PON1 aktivitesi ve gen polimorfizmleri açısından karşılaştırılmıştır. PON1 aktivitesi hasta grubunda daha düşük bulunurken, PON1 L55M ve Q192R gen frekansları açısından anlamlı bir farklılık gözlenememiştir (88).

PON1 serbest radikalleri temizleyebilen bir ajan olduğundan kanser oluşumundaki rolü sıkça çalışılmıştır. Lee ve ark.nın yaptığı bir çalışmada QQ genotipini taşıyan hastalarda akciğer kanseri gelişme riskinin arttığı belirtilmiştir (89). Akçay ve ark.nın gastrik kanserli hastalarda yaptığı çalışmada serum paraoksonaz seviyesi kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (90).

2.5.2. Paraoksonaz 2 (PON2) ve Paraoksonaz 3 (PON3)

PON2, 44 kDa molekül ağırlığına sahip yaygın şekilde eksprese olan bir hücre içi proteindir (53,91). Populasyon çalışmaları kodon 148' de Alanin Glisin değişimi A/G 148) ve kodon 311' de Sistein Serin (C/S 311) değişiminin sıklıkla görüldüğünü göstermiştir. A148G polimorfizminin total ve LDL kolesterol seviyesi, plazma glukoz seviyesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(62,92,93). C311S polimorfizmi ise koroner kalp hastalıkları, tip 2 diyabetli hastalarda iskemik felç ve Alzheimer hastalığı ile ilişkili bulunmuştur (94,95). PON2'nin mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber hücreleri oksidatif stresten koruyan bir antioksidan olarak görev yaptığı düşünülmektedir (96).

PON3 40 kDa molekül ağırlığına sahip dolaşımda PON1'den daha düşük seviyede bulunan HDL ilişkili bir proteindir (97,99). PON gen ailesi içinde en son belirlenen ve en az karakterize edilenidir. PON1 ve PON2 ile benzer olarak antioksidan özellikler gösterir ve LDL oksidasyonuna karşı koruyucudur.

2.6. PCR ve RFLP Yöntemi

PCR

Polimera Zincir Reaksiyonu DNA'nın belirli bir bölgesinin in-vitro olarak klonlanmasıdır. Yöntem ilk olarak 1985 yılında Kary Mullis tarafından keşfedilmiş ve bu buluşundan dolayı 1993 yılında Nobel Kimya Ödülü kazanmıştır.

PCR Moleküler Biyoloji alanında çok önemli bir yer tutan geniş uygulama alanına sahip bir yöntemdir. Nükleik asitlerin bir tüp içerisinde uygun koşullarda çoğaltılmasıdır (99). Bu işlemler için hedef DNA molekülü diziye özgü tasarlanan primerler yardımıyla sınırlandırılır. Reaksiyonun oluşup devam edebilmesi için gerekli olan bileşenler (PCR tamponu, $MgCl_2$, dNTP ve Taq DNA polimeraz) ile reaksiyon devam eder.

PCR 3 temel aşamadan oluşur. Birinci aşama çift iplikli DNA molekülünün yüksek sıcaklıkta (93-97^{o}C) ayrılarak tek iplikli hale gelmesi, ikinci aşama daha düşük bir sıcaklıkta (45-60 ^{o}C) primerlerin tek iplikli DNA molekülünde hedef bölgeye bağlanması ve üçüncü aşama DNA Polimeraz enziminin (72-78 ^{o}C) kalıp zincirdeki baz bilgisini kullanarak primerlerin 3' ucuna dNTP'leri eklemesidir. Oluşan DNA'lar bir sonraki döngüde kalıp görevi görmektedir. Böylece hedef DNA her döngüde iki kat artarak örneğin 35 döngü sonunda 2^{36} kez çoğaltılmış olur.

RFLP

RFLP ilk kez 1980 yılında Botstein ve ark. tarafından genetik haritalama amacıyla kullanılmıştır (100). Yöntem DNA'nın restriksiyon enzimleri kullanılarak farklı uzunlukta fragmanlara ayrılmasıdır. Restriksiyon endonükleazlar DNA çift zincirini spesifik tanıma bölgelerinden kesen enzimlerdir. Bu kesim sırasında genomik DNA'da tanıma bölgesinde meydana gelen değişiklikler (mutasyon veya ten nükleotit değişimi gibi) sonucu enzim tarafından tanınmaz ve kesilmezler. Dolayısıyla değişik bireylere ait DNA'lar farklı uzunluklarda kesilirler. Bu fragmanların agaroz jelde görüntülenmesi ile farklı bant profilleri incelenir ve bireylerin genotipi belirlenebilir. Bu yöntem tek nükleotit polimorfizmlerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (101).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi

Olgu ve kontrol gruplarından oluşan deneysel, klinik araştırma çalışmasıdır.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Araştırmanın Yeri: Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı.

Araştırmanın Zamanı: 10.07.2013-20.07.2014

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/ Çalışma Grupları

Hasta ve kontrol grubunu 3-18 yaş arasındaki çocuklar oluşturmaktadır. Hasta grubunda 126, kontrol grubunda 137 hasta ile çalışılmıştır. Hem hasta hem kontrol grubu için bu sayı 100'ün üzerinde tutulmuştur. Çünkü bir değişikliğin polimorfizm olarak adlandırılabilmesi için populasyonda %1'den daha yüksek bir oranda gözlenmesi gerekir. Populasyonda %1'den daha düşük oranda gözlenen değişiklikler ise mutasyon olarak tanımlanır. Polimorfizmler toplumda mutasyonlardan daha sık varyant alleller olarak bulunurlar ve mutasyonlar gibi hastalığa neden olmazlar ancak yatkınlık oluşturabilirler ve tedaviye yanıtta etkilidirler.

Hasta grubunu Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Endokrinolojisi polikliniğine kilo artışı şikayeti ile başvuran beden kitle indeks (BKİ) persentili 2000 CDC (Centers for Disease Control and Prevention) verilerine göre 95 p üzerinde olan obez çocuklar oluşturmaktadır. Ancak 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 çalışmaya dahil edilmemiştir.

Kontrol grubunu ise herhangi bir sağlık problemi şüphesi ile (rutin kontrol, iştahsızlık, yorgunluk, kansızlık, büyüme geriliği, karın ağrısı, boy kısalığı, guatr, erken ergenlik ve gecikmiş ergenlik şüphesi gibi) Genel Pediatri ve Endokrinoloji polikliniğine başvuran ve kronik hastalık ve endokrin patoloji saptanmayan, yaş ve cinsiyet açısından hasta grubuna benzeyen ve obez olmayan (BKİ persentili yaş ve cinsiyete göre <85 olan) gönüllü vakalar oluşturmaktadır.

3.4. Çalışma Materyali

Çalışma materyali olarak insan kanı kullanılmıştır. Hastaların açlık kan örnekleri en az 12 saatlik açlık durumundan sonra venöz damardan alınmıştır. Hastadan obezitesine yönelik tetkikler için kan alındığı sırada 4 ml EDTA'lı tüpe kan alınmıştır.Sağlıklı gönüllülerden başvuru şikayetine yönelik herhangi bir nedenle kan alınacağı sırada çalışma için 4 ml EDTA'lı tüpe kan alınmıştır. Bu işlemlerden önce hem hasta hem kontrol grubunu oluşturan bireyler ve ebeveynleri bilgilendirilerek onayları alınmıştır (Bkz. EK1, EK2).

3.5. Araştırmanın Değişkenleri

Paraoksonaz 1 (PON1) gen polimorfizmlerinin **(Bağımsız Değişken)** çocukluk çağı obezitesinde metabolik ve antropometrik parametreler **(Bağımlı Değişken)** ile olan ilişkisi

3.6. Veri Toplama Araçları

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 çocuklar için 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 3.1-3.2).

Tablo 3.1. Araştırmada kullanılan cihazlar

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

Tablo 3.2. Araştırmada kullanılan kimyasal malzemeler

Kullanılan Kimyasallar	**Markası**
DNA İzolasyon Kiti	Roche
Absolute Ethanol	Merck
Taq DNA Polimeraz	Fermentas
10X Buffer	Fermentas
MgCl2	Fermentas
dNTP mix	Fermentas
Primer dizileri (PON1 L55M ve Q192R)	Alpha DNA
Agaroz	Prona
TBE10X	Gibco
6X Jel yükleme tamponu	Fermentas
Etidyum Bromür(EtBr)	Sigma
100 bp DNA Moleküler Ağırlık Belirteci	Fermentas
Bsp PI Restriksiyon Enzimi ve Tamponu	Thermo Scientific
NIaIII Restriksiyon Enzimi ve Tamponu	New England Biolabs

3.6.3. *DNA İzolasyonu*

Periferik kandan DNA izolasyonu, ‘‘DNA Isolation Kit for Mammalian Blood’’ (Roche) kullanılarak ve kitte belirtilen prosedür uygulanarak gerçekleştirildi.

Kit içinde bulunan ve temin edilmesi gereken solusyonlar

Kit içindeki solusyonlar :

- ✓ 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)

DNA izolasyon aşamaları

- 1,5 ml'lik eppendorf tüpe 1,1 ml Red Blood Lysis Buffer, üzerine 400 µl kan eklenip (15-25°C'de) tüp sallanan platforma konuldu ve 10 dakika karışması sağlandı.
- Eppendorf tüp 0.9 rcf' te 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant dökülüp üzerine 400 µl Red Blood Lysis Buffer eklenerek sallanan platformda 10 dakika karışması sağlandı.
- Eppendorf tüp 0.9 rcf' te 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant dipte biraz sıvı bırakılacak şekilde döküldü. Pellet iyice karışıncaya kadar vortekslendi.
- Üzerine 300 µl White Cell Lysis Buffer eklendi ve 37 °C' de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 150 µl Protein Presipitasyon Solüsyonu eklenerek iyice vortekslendi.
- 12 rcf' te 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant yeni tüpe alınarak süpernatantın iki katı kadar %100 etanol (+24°C) eklendi. Hafifçe DNA iplikçikleri görünür hale gelene kadar sallandı.
- Eppendorf tüpü tekrar 0.9 rcf' te 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atılıp pellete 300 µl %70'lik etanol (-20°C) eklendi.
- Tüp 0.9 rcf' te 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant dökülerek DNA pelleti kurumaya bırakıldı.
- Pellet kuruduktan sonra 100 µl TE eklendi ve DNA 4°C'de 1 gün bırakıldı.
- Ertesi gün 2 saat 37°C' de bekletilerek çözme işlemi tamamlanan DNA' lar jelde kontrol edildi

Agaroz Jelin Hazırlanması ve Jel Elektroforeziyle Örneklerin Kontrolü

Agaroz jel yürütülecek molekülün büyüklüğüne göre değişik yüzdelerde hazırlandı. DNA izolasyon sonuçlarının kontrolü için %1' lik, PCR ürünlerinin kontrolü için %2 ve RFLP analizi için %3'lük agaroz jel hazırlandı.

%1'lik agaroz jel hazırlamak için; 0,5 gr agaroz hassas terazide tartılıp üzerine 50 ml 1X TBE tamponu eklendi. Hafifçe karıştırılarak mikrodalga fırına konuldu. Mikrodalga fırında bir süre tutulup ara sıra çıkarılıp karıştırılarak agarozun erimesi sağlandı. Agaroz tamamen eridikten sonra 10 dk. soğumaya bırakıldı. Çözelti hafif soğuduktan sonra 2 µl Etidyum Bromür (EtBr) eklendi ve karıştırılarak çözelti içinde dağılması sağlandı. Jel tankına trayler yerleştirilerek üzerine çözelti yavaşça döküldü. Jele taraklar yerleştirilerek katılaşana kadar 15-20 dakika beklendi. Örnekler jele yüklenerek elektroforez işlemi yapıldı ve DNA ürünlerinin saflığı kontrol edildi.

Sonraki tüm kontrollerde ve değerlendirmelerde agaroz miktarı değiştirilerek yukarıdaki şekilde hazırlandı.

3.6.4.PCR Aşaması

PON1 geni L55M ve Q192R polimorfizmlerini belirlemek üzere ilgili gen bölgelerini çoğaltmak için PCR işlemi uygulanmıştır. PCR işleminde kullanılan primer dizileri Tablo 3.3'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3. PON1 geni polimorfizm bölgesi ve kullanılan primerler

Polimorfizm Bölgesi	**Primer Dizileri**
L55M	5'-GAAGAGTGATGTATAGCCCCAG-3' 5'-TTTAATCCAGAGCTAATGAAAGCC-3'
Q192R	5'-TATTGTTGCTGTGGGACCTGAG-3' 5'-CACGCTAAACCCAAATACATCTC-3'

3.6.4.1. PON 1 L55M Polimorfizmi PCR Aşaması

PON1 geni L55M polimorfizmini belirlemek üzere ilgili gen bölgesini çoğaltmak amacıyla PCR reaksiyonunda kullanılan malzemeler kullanım miktarlarıyla beraber Tablo 3.4'de, her reaksiyonun sıcaklık ve sürelerini gösteren PCR koşulları ise Tablo 3.5'de verilmiştir.

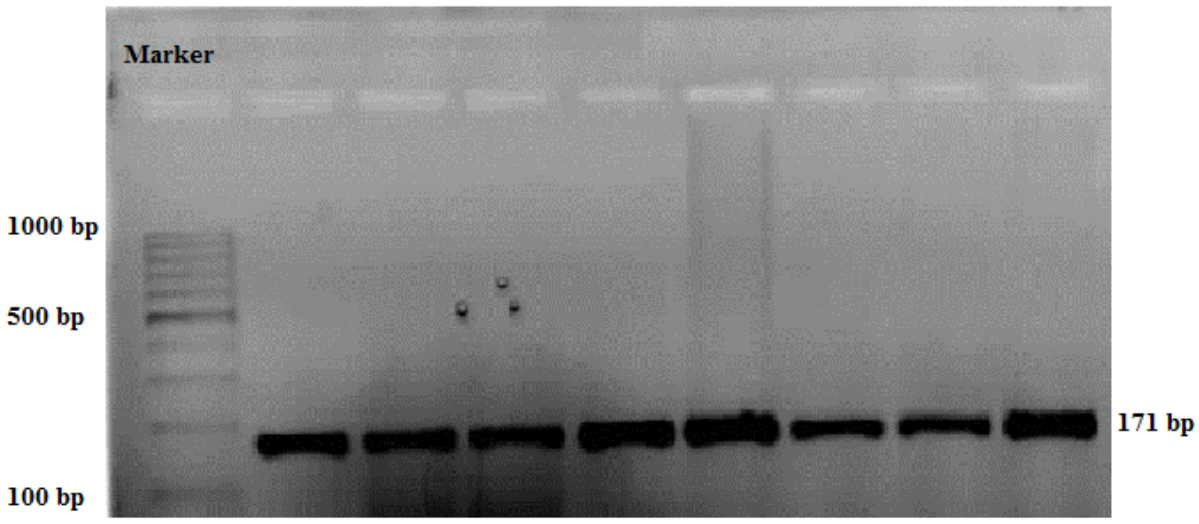
Tablo 3.4. PON1 L55M polimorfizmi PCR işleminde kullanılan malzemeler ve miktarları

PCR BİLEŞENLERİ	**KONSANTRASYON**	**1X (µl)**
dH2O		16.75
Taq Buffer	10X	3
MgCl2	25 mM	3
dNTP	10 mM (2 mM olacak şekilde dilue edildi)	3
Forward Primer	100 pmol/ µl (10 pmol/ µl olacak şekilde dilue edildi)	0.5
Reverse Primer	100 pmol/ µl (10 pmol /µl olacak şekilde dilue edildi)	0.5
Taq DNA Polimeraz	5 U/µl	0.25
DNA	20-100ng/ µl	3
Toplam		**30**

Tablo 3.5. PON1 L55M polimorfizminin PCR optimizasyon koşulları

PCR KOŞULLARI	**SICAKLIK (°C)**	**SÜRE**
Başlangıç Denatürasyonu	94	5 dk
Denatürasyon	94	30 sn
Annealing (40 siklus)	65	30 sn
Extension	72	30 sn
Final Extension	72	5 dk

5 µl PCR ürünü, 1 µl yükleme boyası ile birlikte %2'lik agaroz jele yüklenerek 105 V'da 30 dakika yürütülmüştür. Elektroforez işleminden sonra UV sistemi ile görüntülenerek 171 bp uzunluğundaki bantların varlığı kontrol edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. 171 bp'lik hedef bölgenin PCR ürünleri

3.6.4.2. PON 1 Q192R Polimorfizmi PCR Aşaması

PON1 Q192R polimorfizmini belirlemek üzere ilgili gen bölgesini çoğaltmak amacıyla PCR reaksiyonunda kullanılan malzemeler kullanım miktarlarıyla beraber Tablo 3.6' da, her reaksiyonun sıcaklık ve sürelerini gösteren PCR koşulları ise Tablo 3.7' de verilmiştir.

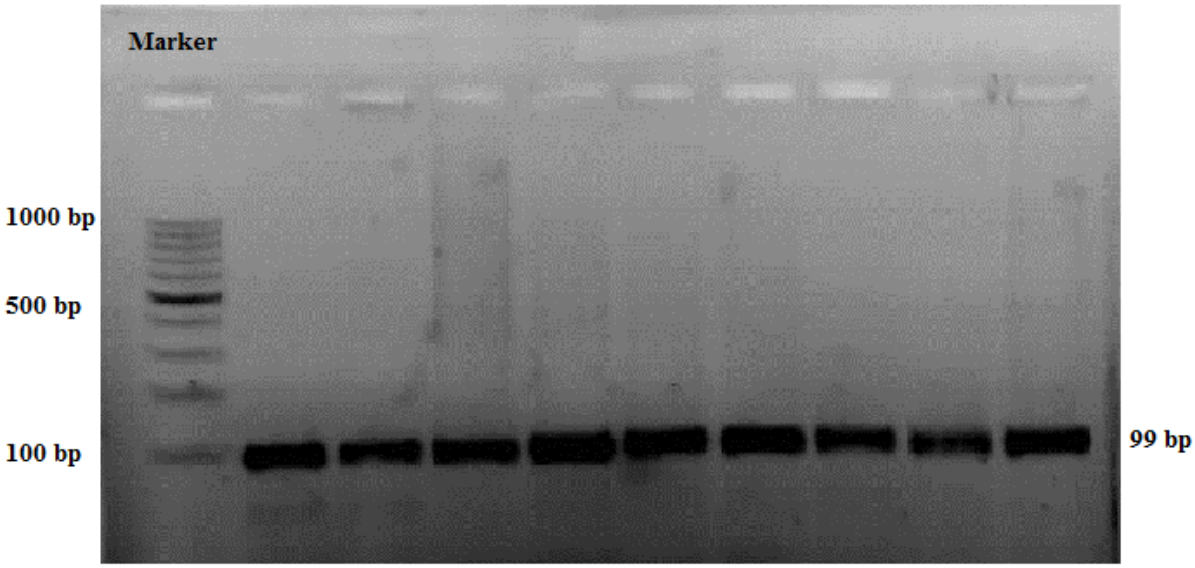
Tablo 3.6. PON1 Q192R Polimorfizmi PCR işleminde kullanılan malzemeler ve miktarları

PCR BİLEŞENLERİ	**KONSANTRASYON**	**1X (µl)**
dH2O		15,95
Taq Buffer	10X	3
MgCl2	25 mM	4
dNTP	10 mM (2 mM olacak şekilde dilue edildi)	3
Forward Primer	100 pmol/ µl (10 pmol/ µl olacak şekilde dilue edildi)	0.4
Reverse Primer	100 pmol/ µl (10 pmol /µl olacak şekilde dilue edildi)	0.4
Taq DNA Polimeraz	1 U/µl	0.25
DNA	20-100ng/ µl	3
Toplam		**30**

Tablo 3.7. PON1 Q192R polimorfizminin PCR optimizasyon koşulları

PCR KOŞULLARI		SICAKLIK (°C)	SÜRE
Başlangıç Denatürasyonu		94	5 dk
Denatürasyon	38 siklus	94	30 sn
Annealing		56	30 sn
Extension		72	40 sn
Final Extension		72	5 dk

99 bp uzunluğundaki bantların kontrolü ise her bir PCR ürününden 5 µl %2' lik jele yükleme boyası ile yüklenerek 100 V'da 30 dakika yürütüldükten sonra yapılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. 99 bp'lik hedef bölgenin PCR ürünleri

3.6.5.PCR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimleri ile Kesilmesi

Uygun PCR koşullarında çoğaltılıp yerlerinin doğruluğu saptanan ürünler, özgül restriksiyon enzimleri kullanılarak ilgili polimorfizmlerin varlığı tespit edilmeye çalışılmıştır.

Polimorfizmlerin belirlenmesinde kullanılan enzimler vekesim bölgeleri Tablo 3.8'de gösterilmiştir.

Tablo 3.8. Polimorfizmlerin belirlenmesinde kullanılan enzimler ve kesim bölgeleri

Polimorfizm	**Kullanılan Enzim**	**Kesim Bölgesi**
L55M	NIaIII	5'CATG.3' 3'GTAC5'
Q192R	BspP1 (AlwI)	5'GATC(N)45' 3'CTAG(N)55'

3.6.5.1.PON1 L55M Polimorfizm Bölgesi Enzim Kesimi

PON1 geni L55M polimorfizminin belirlenmesi için; RFLP analizi yapılacak olan örnekler Tablo 3.9'da ki oranlarda karıştırılarak son hacim 30µl olacak şekilde hazırlandı. 37 °C'de bir gece inkübe edilerek kesim işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 3.9. PON1 L55M polimorfizmi RFLP analizinde kullanılan malzemeler ve miktarları

Malzemeler	**1X (µl)**
dH2O	23.5
10X NE Buffer 4	3
Nla III Restriksiyon Enzimi	0.5
PCR Ürünü	3
Toplam	**30**

30 µl'lik enzim kesim ürünleri 3µl yükleme boyası ile karıştırılarak %3'lük agaroz jele yüklendi ve 95 V'da 1 saatlik elektroforez işleminden sonra UV ışık altında görüntülenerek analiz edilmişlerdir.

3.6.5.2.PON1 Q192R Polimorfizm Bölgesi Enzim Kesimi

PON1 geni Q192R polimorfizminin belirlenmesi için; RFLP analizi yapılacak olan örnekler Tablo 3.10'da ki oranlarda karıştırılarak son hacim 30µl olacak şekilde hazırlandı. 55°C'de 2 saat inkübe edilerek kesim işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 3.10. PON1 Q192R polimorfizmi RFLP analizinde kullanılan malzemeler ve miktarları

Malzemeler	**1X (µl)**
dH2O	17.9
10X NE Buffer 4	2
Bsp P1 Restriksiyon Enzimi	0.1
PCR Ürünü	10
Toplam	**30**

30 µl'lik enzim kesim ürünleri yükleme boyası ile karıştırılarak %3'lük agaroz jele yüklenmiş ve 95 V'da 1 saatlik elektroforez işleminden sonra UV ışık altında görüntülenerek analiz edilmişlerdir.

3.7. Araştırma Planı ve Takvimi

Tez çalışması boyunca yapılan işlemler ve süreleri Tablo 3.11. de gösterilmiştir.

Tablo3.11. Araştırma zaman çizelgesi

YAPILACAK İŞ	AYLAR											
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
1. Proje için gerekli malzemelerin temini **2**. Hasta ve kontrol grubundan kanların toplanması **3**. DNA izolasyonu												
4.PCR ve enzim kesimi optimizasyonları **5**.İzole edilen DNA'lar ile PCR ve enzim kesimi çalışmaları												
6.Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi												
7.Sonuçların yorumlanması ve tez yazımı												

3.8.Verilerin Değerlendirilmesi

İstatiksel hesaplamalar için SPSS 15 paket programı kullanılmıştır. PON1 Q192R ve L55M genotip dağılım ve sıklığının gruplar arası farklılıkları 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. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

3.9.Araştırmanın Sınırlılıkları

PON1 genindeki sadece iki polimorfizmin incelenmesi, hastalığın multifaktöriyel oluşu nedeniyle tek başına kalıtımın etkisini belirlemenin zor oluşu ve araştırmada tek bir genin kullanılması araştırmanın sınırlılıklarındandır. Ayrıca daha fazla kan miktarına gereksinim duyulduğundan serum paraoksonaz aktiviteleri ölçülüp çalışmaya dahil edilememiştir.

3.10.Etik kurul Onayı

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından; 07.08.2014tarihinde; 1015-GOA protokol numaralı 2014/26-24karar numarası ile alınmış "Paraoksonaz 1 (PON1) Gen Polimorfizmlerinin Çocukluk Çağı Obezitesinde Metabolik ve Antropometrik Parametreler İle Olan İlişkisi" başlıklı araştırmaya ilişkin etik kurul onayı EKLER kısmında verilmiştir (EK 4).Hasta ve kontrol grubu için ayrı ayrı bilgilendirilmiş gönüllü olur formları hazırlanmış ve izinleri alınmıştır (EK1, EK 2)

4. BULGULAR

Bu çalışma 126 obez hasta ve 137 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 4.1).

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grubunda cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	**Obez**	**Kontrol**
Kız	62 (%49,2)	64 (%46,7)
Erkek	64 (%50,8)	73 (%53,3)
Toplam	126 (%100)	137 (%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 Tablo 4.2 ve Tablo 4.3'de özetlenmiştir.

Tablo 4.2. Hasta ve kontrol grubunun antropometrik ölçüm sonuçları

	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	P Değeri
Ağırlık	72,5 (±23,5)	34 (±14,9)	0,001
Boy	153 (±16,4)	137 (±23,4)	0,001
BKİ	29 (±4,7)	17 (±2,8)	0,001
Bel çevresi	97 (±13,6)	61 (±10,7)	0,001
Yağ yüzdesi	37 (±5,6)	20 (±4,9)	0,001
Yağ kütlesi	27 (±11,9)	6 (±3,9)	0,001

Gruplar arası farklılıkların hesaplanmasında T testi kullanılmıştır (p<0,05)

Tablo 4.3. Hasta ve kontrol grubunun metabolik ölçüm sonuçları

	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	P değeri
Glukoz	82 (±11,3)	86 (±7,8)	0,035*
İnsülin	15 (±9,4)	7 (±3,8)	0,001*
Trigliserit (TG)	112 (±54,8)	72 (±26)	0,001*
Total Kolesterol	173 (±32,4)	169 (±25,3)	AD**
HDL	44 (±8,09)	58 (±17)	0,001*
LDL	107 (±27,5)	97 (±21,3)	AD**
TSH	2,38 (±1,1)	2,21 (±0,9)	AD**

*Gruplar normal dağılıma uymadığından farklılıkların hesaplanmasında Mann- Whitney U testi kullanılmıştır.

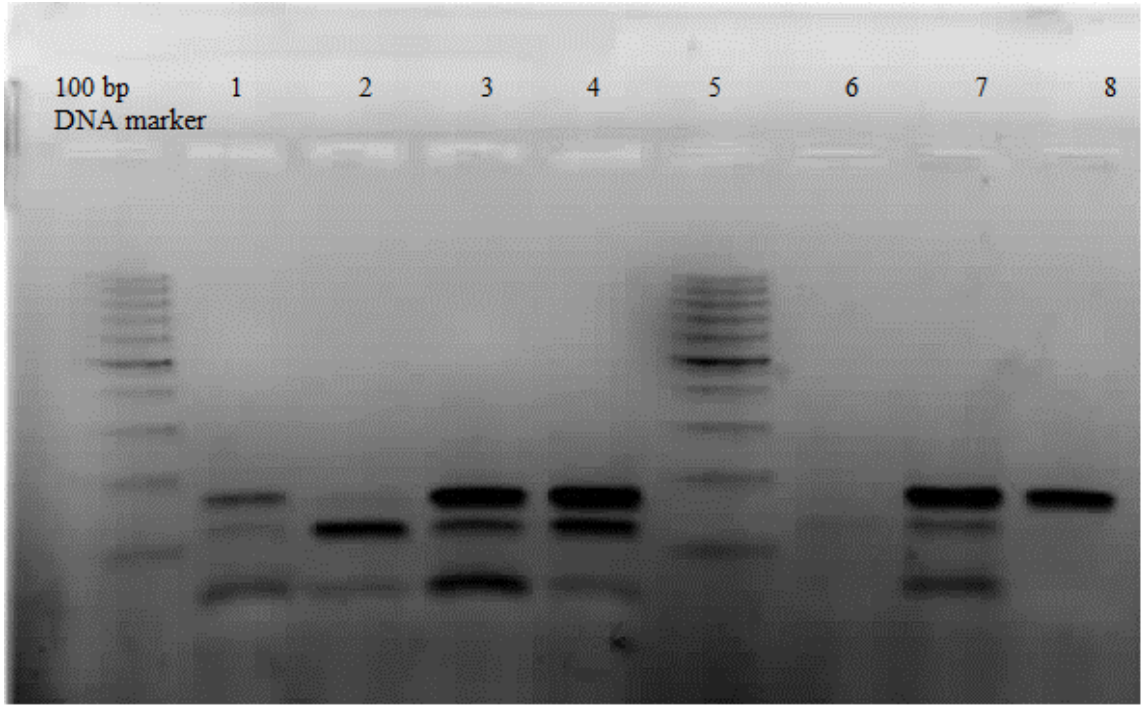
**Gruplar arası farklılıkların hesaplanmasında T testi kullanılmıştır.

AD: İstatiksel olarak anlamlı değil (p>0,05).

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

4.2. PON1 L55M Polimorfizm Bölgesi

PCR sonucu 171 bp'lik ürünler oluşmuştur. Enzim kesimi sonucu ise 127 ve 44 bp'lik ürünler oluşmuştur. Şekil 4.1'de PON1 L55M gen polimorfizmine ait genotip örnekleri gösterilmiştir. 8 no'lu birey homozigot LL, 1, 3 4 ve 7 no'lu bireyler heterozigot LM ve 2 no'lu birey homozigot MM genotipindedir.



Şekil 4.1. PON1 L55M Enzim Kesim Sonuçları

PON1 L55M polimorfizminde genotiplerin dağılımına bakıldığında hasta grubunun (n=126); 35'inde (%27,8) LL, 83'ünde (%65,9) LM, 8'inde (%6,3) MM genotipi görülürken, kontrol grubunun (n=137); 43'ında (%31,4) LL, 82'inde (%59,9) LM, 12'unda (%8,8) MM genotipi saptanmıştır. Hasta grubunda LM genotip sıklığı LL genotip sıklığından daha yüksek bulunmuştur. LM genotip sıklığının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmış ancak bu fark istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Allel dağılımına bakıldığında, M allel taşıyıcılığı hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmış ancak bu fark istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

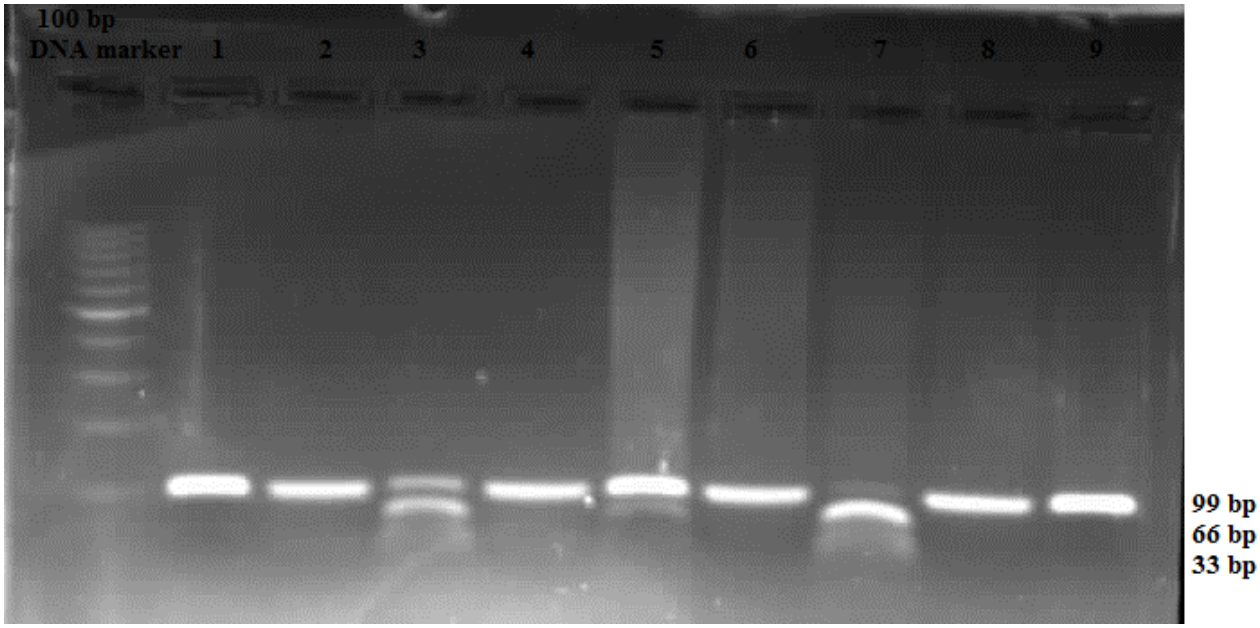
Tablo 4.4. PON1 L55M genotip ve allel dağılımı

	Hasta Grubu n=126	**Kontrol Grubu n=137**	**OR [%95CI]**	**P değeri**
Genotip Dağılımı				
LL	35 (%27,8)	43 (%31,4)	1.202 [0.707-2.044]	0,522
LM	83 (%65,9)	82 (%59,9)	0.772 [0.467-1.276]	0,313
MM	8 (%6,3)	12 (%8,8)	1.416 [0.559-3.586]	0,461
Allel Dağılımı				
L	153 (% 60,7)	168 (%61,3)	0.975 [0.686-1.384]	0,888
M	99 (%39,3)	106 (%38,7)	1.025 [0.7221.456]	

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

4.3. PON2 Q192R Polimorfizm Bölgesi

PCR sonucu 99 bp'lik, enzim kesimi sonucu ise 66 ve 33 bp'lik bantlar görülmüştür. Şekil 4.2' de Q192R gen polimorfizmine ait genotip profilleri gösterilmiştir. Buna göre 1,2,4,6 ve 8 no'lu bireyler homozigot QQ, 3 ve 5 no'lu bireyler heterozigot QR ve 7 no'lu birey homozigot RR genotipindedir.



Şekil 4.2. PON1 Q192R Enzim Kesimi Sonuçları

PON1 Q192R polimorfizminde genotiplerin dağılımına bakıldığında hasta grubunun (n=126); 86'sında (%68,3) QQ, 39'unda (%31) QR, 1'inde (%0,8) RR genotipi görülürken, kontrol grubunun (n=137); 90'ında (%65,7) QQ, 38'inde (%27,7) QR, 9'unda (%6,6) RR genotipi saptanmıştır. Hasta grubunda QQ genotip sıklığının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmış ancak bu fark istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır($p>0.05$). RR genotip sıklığı ise kontrol grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Allel dağılımına bakıldığında, Q allel taşıyıcılığı hasta grubunda R allel taşıyıcılığı ise kontrol grubunda daha yüksek bulunmuş ancak bu fark istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 4.5. PON1 Q192R genotip ve allel dağılımı

	Hasta grubu n=126	**Kontrol grubu n=137**	**OR [%95 CI]**	**P değeri**
Genotip Dağılımı				
QQ	86 (%68,3)	90 (%65,7)	0.890 [0.532-1.490]	0,659
QR	39 (%31)	38 (%27,7)	0.856 [0.503-1.457]	0,567
RR	1 (%0,8)	9 (%6,6)	8.789[1.097-70.396]	**0,020**
Allel Dağılımı				
Q	211 (%83,8)	218 (%79)	1.322 [0.847-2.063]	0,219
R	41 (%19,9)	56 (%25)	0.756 [0.484-1.180]	

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

4.4. Polimorfizmlerin Metabolik ve Antropometrik Parametreler İle İlişkisi

Hasta ve kontrol grubunda PON1 Q192R ve L55M polimorfizmlerinin çeşitli laboratuvar parametreleri ile ilişkisi araştırılmıştır.

PON1 Q192R polimorfizmi için genotipler QQ (polimorfizmi taşımayan) ve QR+RR (polimorfizmi taşıyanlar) olmak üzere 2 gruba ayrıldı ve laboratuvar parametreleri ile ilişkisi yönünden incelendi. Sonuç olarak hasta grubunda total kolesterol ve trigliserit düzeyleri QQ genotipine sahip bireylerde anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0.05). Diğer parametreler açısından ise hem hasta hem kontrol grubunda genotipler arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p>0,05) (Tablo 4.6).

L55M polimorfizmi için genotipler LL ve LM+MM gruplarına ayrıldı. Polimorfizm ile laboratuvar parametreleri arasında hasta ve kontrol grubunda istatiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (p>0,05) (Tablo 4.7).

Tablo 4.6. Obez ve kontrol grubununun antropometrik-metabolik parametreleri ile PON1 Q192R polimorfizmlerinin ilişkisi

		QQ (medyan)	**QR+RR (medyan)**	**P değeri**
Ağırlık (kg)	Hasta	73	74	0,349
	Kontrol	36	32	0,483
Boy (cm)	Hasta	155	158	0,439
	Kontrol	138	142	0,694
BKİ (kg/m^2)	Hasta	28,9	28,8	0,392
	Kontrol	17,2	16,7	0,191
Bel Çevresi (cm)	Hasta	100	96,5	0,347
	Kontrol	60	61	0,994
Yağ kütlesi (%)	Hasta	26,7	26,4	0,909
	Kontrol	20,9	19,3	0,702
Glukoz (mg/dl)	Hasta	79,5	81	0,516
	Kontrol	88	87,5	0,999
İnsülin (mg/dl)	Hasta	14,5	12,6	0,108
	Kontrol	6,9	5	0,138
(TC) (mg/dl)	Hasta	174,5	161,5	**0,036**
	Kontrol	159	170	0,320
(TG) (mg/dl)	Hasta	107	84	**0,008**
	Kontrol	60	86	0,056
HDL (mg/dl)	Hasta	43	49	0,863
	Kontrol	55	52,5	0,984
LDL (mg/dl)	Hasta	104	97	0,219
	Kontrol	89,5	101,5	0,227
TSH (uIU/ml)	Hasta	2,5	2,2	0,271
	Kontrol	1,9	2,5	0,073

$p<0,05$ olanlar istatiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 4.7.Obez ve kontrol grubununun antropometrik-metabolik parametreleri ile PON1 L55Mpolimorfizmlerinin ilişkisi

		LL (medyan)	**LM+MM (medyan)**	**P Değeri**
Ağırlık (kg)	Hasta	28,3	29,9	0,628
	Kontrol	29,5	35,5	0,564
Boy (cm)	Hasta	158	154	0,467
	Kontrol	138,5	142	0,675
BKİ (kg/m^2)	Hasta	28,3	28,9	0,851
	Kontrol	16,15	17,5	0,219
Bel Çevresi (cm)	Hasta	99,5	100	0,910
	Kontrol	60	62,5	0,679
Yağ kütlesi (%)	Hasta	38,2	36	0,314
	Kontrol	18,95	20,9	0,471
Glukoz (mg/dl)	Hasta	82	79	0,572
	Kontrol	85	88	0,066
İnsülin (mg/dl)	Hasta	15,4	13,9	0,449
	Kontrol	5,1	7	0,156
(TC) (mg/dl)	Hasta	166	169	0,511
	Kontrol	169	165	0,559
(TG) (mg/dl)	Hasta	103	98	0,696
	Kontrol	75	63	0,572
HDL (mg/dl)	Hasta	42	43	0,940
	Kontrol	56,5	52,5	0,424
LDL (mg/dl)	Hasta	98	104	0,295
	Kontrol	100	96	0,800
TSH (uIU/ml)	Hasta	2,5	2,2	0,523
	Kontrol	2,28	1,96	0,734

$p<0.05$ olanlar istatiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Obezite son yıllarda dünya genelinde gittikçe artan bir prevalansa sahip olması, yüksek mortalite ve morbidite oranı ile ciddi bir sağlık problemi olarak kabul edilmektedir. Sağlık üzerindeki etkilerinin yanında sosyal ve psikolojik etkileri nedeniyle de tüm yaş ve sosyoekonomik grupları etkilemektedir. Özellikle çocukluk çağında görülen obezite erişkin dönemde hipertansiyon, diyabet, kalp ve damar hastalıkları, yüksek kolesterol, kas ve eklem problemleri ve psikolojik sorunlar oluşturma potansiyeli açısından önemlidir. Dünya genelinde çocuklarda ve adolesanlarda obezitenin alarm verici düzeyde olduğu bildirilmekte ve çocukluk çağında obezitenin her yıl daha da arttığı görülmektedir.

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de obezitenin sıklığı gün geçtikçe artmaktadır. Sağlık Bakanlığı tarafından yapılan Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010 ön çalışma raporuna göre Türkiye'de obezite sıklığı erkeklerde %20.5, kadınlarda % 41.0 ve toplamda % 30.3 olarak bulunmuştur. Bölgesel dağılımlar gözönüne alındığında obezitenin sıklığı Marmara Bölgesi özellikle İstanbul'da ve Batı Anadolu'da yüksek bulunmuştur. Bu durum gelişmiş bölgelerde hareketsiz yaşam ve yeme içme alışkanlıklarının etkisini de göstermektedir. Ön çalışma raporunda çocuk ve adolesanlarda obezite sklığı 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 (102).

Obezite genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile oluşan multifaktöriyel bir hastalıktır. Beslenme alışkanlıkları, sosyoekonomik düzey gibi çeşitli çevresel faktörler hastalık üzerinde etkili olduğu kadar yapılan ikiz çalışmaları ile hastalığın genetik temelide gösterilmiştir. Hastalığın giderek yaygınlaşması ve ileride oluşabilecek komplikasyonlar nedeni ile son yıllarda hastalıkla ilgili genetik çalışmalar artmıştır. PON1 lipid metabolizmasında görevli ve HDL bağımlı bir enzimdir. PON1 kodlayan genler 7. kromozomda yer alır ve bu gende iki polimorfizm yaygın olarak gözlenir. Polimorfizmler populasyonda %1'den daha yüksek oranda bulunurlar ve bireyler arasında varyasyon gösterirler. Hastalığa yatkınlık ve dirençte etkilidirler. Bu çalışmada Türk populasyonunda iki

PON 1 polimorfizminin çocukluk çağı obezitesi ile ilişkisi araştırıldı. Daha sonra bu polimorfizmlerin çeşitli laboratuvar parametreleri ile ilişkisi karşılaştırıldı. Yapılan analizler sonucu Q192R polimorfizmi için hasta grubunda QQ genotip frekansı, kontrol grubunda ise RR genotip frekansı daha yüksek bulunmuştur. L55M polimorfizminde ise LM genotip sıklığı obezlerde daha yüksek bulunmuştur. Hasta grubunda M, kontrol grubunda L allelinin frekansı daha yüksek çıksa da bu fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Her iki polimorfizmin metabolik ve antropometrik parametreler ile ilişkisini incelediğimizde hasta grubunda, QQ genotipinde trigliserit ve total kolesterol değerleri yüksek çıkmıştır ($p<0,05$). Obezlerde PON1'in rolüne ilişkin çalışmalar oldukça sınırlı olmakla beraber sonuçlarda çelişkilidir. Yapılan bazı çalışmalarda bu polimorfizmler obezite ile ilişkilendirilirken bazı çalışmalarda ise ilişkili bulunmamıştır. Ülkemizde ise PON1 gen polimorfizmlerinin obezite ile ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Polimorfizm bulguları ve laboratuvar değerlerini karşılaştırdığımızda bizim çalışmamızı destekleyen çalışamlar olmakla beraber farklı sonuçlar elde edilen çalışmalar da bulunmaktadır.

Portekiz'de 81 (34.3±8.2) obez ve 75 (35.9±8.2) sağlıklı birey ile yapılan bir çalışmada, Q192R ve L55M polimorfizmlerinin obezite olan ilişkisi saptanmaya çalışılmıştır. Q192R polimorfizminde R allelinin frekansı obez kadınlarda daha yüksek bulunmuş ve bu durum obezite riskini artırması ile ilişkilendirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise R allelinin frekansı kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılığın yetişkin bireylerde çevresel faktörlerin etkisinin daha fazla olması nedeniyle ya da polimorfizmi belirlemede kullanılan yöntemin farklılığından kaynaklanabileceğini düşünüyoruz. Çalışmanın L55M polimorfizmi açısından sonuçları ise bizim bulgularımızla benzerdir. Obez grupta LM genotip frekansı LL genotip frekansından fazla bulunmuştur. Homozigot LL sıklığı kontrol grubunda obezlerle kıyaslandığında daha yüksek bulunmuştur. Ancak L55M polimorfizmi açısından gruplar arasında bir farklılık gözlenmemiştir. Bu çalışmada PON1 aktiviteleri de değerlendirilmiş olup normal ve obez bireyler arasında önemli bir farklılık görülmemiştir. Ancak Q192R polimorfizmi olanlarda PON1 aktivitesi QQ da en düşük, QR de orta, RR de en yüksek aktivite olarak saptanmıştır ($p<0.01$). L55M polimorfizmi olanlarda ise MM de en düşük, ML de orta ve LL de aktivite en yüksek olarak saptanmıştır ($p<0.01$). Bu çalışmada obez grupta BKİ, bel çevresi, bel-kalça oranı, yağ kütlesi, total kolesterol anlamlı derecede ($p<0.01$)

yüksek bulunmuş olup, yine bizim çalışmamıza benzer olarak trigliseritin yüksek, HDL'nin ise düşük olduğu saptanmıştır (13).

Meksika'da 20-56 yaş arası 64 normal 63 obez yetişkinde yapılan bir çalışmada ise PON1 Q192R polimorfizmi her iki grupta benzer bulunmuştur ve hastalıkla ilişkilendirilememiştir. PON1 L55M polimorfizminin ise homozigot L genotipinin frekansı obez grupta normal kilolu gruba göre daha yüksek bulunmuştur. Çalışmada sistolik ve diastolik tansiyon, glukoz, TG, TC, LDL-C, insülin değerleri obez grupta anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. HDL-C ise kontrol grubunda yüksek çıkmıştır (14). Bizim çalışmamızda ise L allelinin frekansı kontrol grubunda, M alleli ise obez grupta daha yüksek çıkmıştır. Hastalıkta risk belirlenmesinde genetik etkenlerin katkısının erken yaştaki bireylerde, çevresel etkenlere oranla daha belirgin olacağı düşünülmektedir. Dolayısıyla bu farklılığın Meksika'daki çalışmanın obez yetişkinlerle yapılmış olması, yeme-içme alışkanlıkları ve sosyo-ekonomik durum gibi çevresel etmenlerden kaynaklanabileceğini düşünüyoruz.

Amerika'da 2 ve 5 yaş grubunda olan 373 çocuğun yer aldığı bir araştırma ile PON1 ile obezite arasında genetik kökenden bağımsız bir ilişki olabileceği belirtilmiştir. Q alleli ile BKİ artışı arasında anlamlı ilişki olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamıza benzer olarak PON1 QQ genotipinin daha yüksek ve obezite için artmış risk taşıdığı bulunmuştur (103).

Ferre ve ark. çocukluk çağı obezitesinde serum PON1 aktivitesi, insülin direnci ve metabolik sendrom arasındaki ilişkiyi, benzer yaş ve cinsiyet dağılımına sahip 110 obez ve 36 obez olmayan çocukta çalışmıştır. Sonuçlarda polimorfizmler açısından hasta ve kontrol grubunda anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (104).

Revenga-Frauca ve arkadaşlarının 126 obez çocuk ve adelosanla (60 erkek ve 66 kız) yaptığı, abdominal yağlanma ve metabolik riskleri incelendiği bir çalışmada, bizim çalışmamıza benzer olarak insülin, CRP (C-reaktif protein), TG ve HDL-K düzeylerinde farklılıklar ortaya konmuştur (105).

Ayer ve arkadaşlarının 19 obez ve 19 obez olmayan genç bireyde yaptıkları bir çalışmada CRP ve insülin düzeyi önemli derecede yüksek ve HDL-K düzeyi ise düşük bulunmuştur (106).

Ferretti ve ark.nın 12 obez kadın ve 31 sağlıklı kontrol ile yaptığı çalışmalarında HDL-PON aktivitesi obez bireylerde kontrollere göre daha düşük bulunmuştur($p < 0.001$). HDL ve LDL ilişkili lipit hidroperoksit seviyelerinde ise artış gözlenmiştir(8).

Tabur ve ark. nın 30 obez,40 nondiabetik metabolik sendromu olan ve 30 kontrol grubu birey içeren çalışmalarında SKB, DKB, trigliserit, LDL-K, hsCRP, TAS, HOMA-IR düzeylerinin yükseldiği, HDL-K ve TOS düzeylerinin ise düştüğü gösterilmiştir ($p<0.01$). PON1 aktivitesi açısından ise gruplararası bir farklılık bulunmamıştır (107).

Aslan ve ark. nın 25 obez ve 23 kontrol ile yaptıkları bir çalışmada serum PON1 ve arilesteraz aktiviteleri ölçülmüştür. Sonuçta her iki enzim aktivitesi de obezlerde kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p <0.001$). PON1 Q192R fenotip dağılımı açısından gruplar arsında bir farklılık gözlenmemiştir ($p >0.05$). BKİ ile paraoksonaz aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur($p <0.001$). Obez bireylerde artmış oksidatif stres ve düşük PON1 aktivitesi belirlenmiştir(108).

Çin'de yaşları 32 ile 72 arasında değişen 154 kontrol ve 154 miyokard infarktüsü (MI) olgusu ile yapılan çalışmada PON1 Q192R polimorfizminin ilişkisi incelenmiştir. Hasta grubun BKİ daha yüksek olduğu saptanmış ve hastaların çoğuna hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabet ve obezite teşhisi konulduğu görülmüştür. Q ve R allelinin frekansı ise sırasıyla hasta grubunda 0.44 ve 0.56 kontrol grubunda ise 0.39 ve 0.61 bulunmuştur. R allelinin frekansı olgularda daha yüksek bulunmuş ancak bu farklılık istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. QQ genotipli obez olmayan bireylerle karşılaştırıldığında, QR/RR genotipli obez bireyler MI açısından daha yüksek risk taşımaktadır (109).

İspanya'da yaşları 4-13 arasında değişen 189 normal (109 erkek, 80 kız) ve 179 obez (95 erkek, 89 kız) prepubertal çocukta paraoksonaz aktivitesi ile polimorfizmler arası ilişkiyi değerlendirmek amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Sonuç olarak serum PON1 aktivitesi obez çocuklarda önemli ölçüde farklı çıkmamıştır. PON1 Q192R ve L55M polimorfizmleri çocukluk çağı obezitesi ile ilişkili bulunmamıştır (110).

Barath ve ark. nın adolesanlarla yaptığı bir çalışmada da Q192R polimorfizminin genotip frekansı kontrol grubunda %63 QQ, %35 QR ve %2 RR (Q = 80.5, R = 19.5), obez

grupta ise %51 QQ, %45 QR ve %4 RR (Q = 73.5, R = 26.5) olarak bulunmuştur. Q192R polimorfizmi ile obezite arasında bir ilişki gösterilmemiştir (111). Çocukluk çağı obezitesi ile genetik varyasyonlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çeşitli çalışmalardaki bu farklılıkların obezitenin multifaktöriyel bir hastalık olması nedeniyle olabileceği tahmin edilmektedir. Yine değişiklikler üzerinde etnik kökenin de etkisi olacağından farklı toplumlarda yapılan çalışmalar değişiklik gösterebilmektedir.

Metabolik sendrom hiperkolesterol, hipertansiyon, açlık kan şekerinde yükseklik ve obezite gibi belirtileri olan ciddi bir hastalıktır. Yaş ilerledikçe bireylerin kalp rahatsızlıkları ve diyabete yakalanma riskini artırır.İran'da 119 metabolik sendromlu (44.9 ±15.1 yaş) 201 sağlıklı kontrol (34.7 ± 13.5 yaş) grubunda yapılan çalışmada QR+RR genotipleri metabolik sendrom için artmış risk taşımaktadır (OR = 1.62; 95% CI: 1.0–2.63; P = 0.059). L55M polimorfizminde ise LM+MM genotipleri hastalık için risk faktörü olarak değerlendirilmiştir (OR = 1.12; 95% CI: 0.68–1.85; P = 0.73) (112).

Obezite kardiyovasküler hastalıklar için artmış bir risk faktörüdür. Yapılan birçok çalışmada PON 1 gen polimorfizmleri kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili bulunmuştur.Bhattacharya ve ark.nın kardiyovasküler risk ile PON polimorfizmleri arsındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmalarında QQ genotipinin yüksek risk taşıdığı belirtilmiştir (113).

178 erken yaş KAH (koroner arter hastalığı) tanısı almış hasta ve 180 sağlıklı bireyle yapılan çalışmada hasta grubunda Q allel frekansı kontrol grubundan yüksek bulunmuş (%78) ve bu allelin hastalık için bir risk oluşturduğunu düşündürmüştür(114).

Türkiye'de 277 koroner arter hastası ve 92 sağlıklı bireyde yapılan çalışmada, LL, LM ve MM genotipleri hastalarda sırasıyla % 44.4, % 44.4 ve % 11.2 iken sağlıklı kontrollerde % 32.6, % 46.7 ve % 20.7 (p=0.031) olarak bulunmuştur. L ve M allelleri de sırasıyla, hastalarda % 66.4 ve % 33.6 ile sağlıklılarda % 56 ve % 44 bulunmuştur (p=0.011). *PON1* Q192R QQ, QR ve RR genotipleri ise hastalarda sırasıyla % 42.2, 41.2, 16.6 iken sağlıklı kontrollerde % 46.7, 44.6 ve 8.7, Q ve R allelleri de sırasıyla, hastalarda % 62.8 ve 37.2 ile sağlıklılarda % 69 ve 31 bulunmuş fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır. Araştırıcılar, sonuç olarak KAH ile L55M polimorfizminin

ilişkilendirilebileceğini, ama Q192R polimorfizmiyle ilişki kurulamadığını bildirmişlerdir (115).

Son yıllarda PON1 genine olan önem artmış ve birçok hastalıkla ilişkisi incelenmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda PON1 geni obezite ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışma da Türk popülasyonunda PON1 gen polimorfizmleri ile çocukluk çağı obezitesi arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Diğer hastalıklar üzerinde ve farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlardaki farklılıkların, gen-gen ve gen-çevre etkileşimleri nedeniyle olabileceğini düşünüyoruz. Farklı etnik popülasyonlarda daha geniş örnek gruplarıyla yapılacak çalışmalarla PON1'in hastalıklar üzerindeki etkisi daha iyi açıklanabilecektir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda PON1 genindeki iki polimorfizmin (Q192R ve L55M) çocukluk çağı obezitesinde metabolik ve antropometrik parametreler ile olan ilişkisi değerlendirildi. Polimorfizmleri değerlendirmek için 126 hasta ve 137 kontrol kanından DNA izolasyonu, PCR ve Alw1 (Q192R) ve NlaIII (L55M) restriksiyon enzimleri ile kesim yapıldı.

Yapılan istatiksel analizler sonucunda Q192R polimorfizminde QQ genotip frekansı hasta grubunda daha yüksek çıkmıştır. RR genotip frekansı ise kontrol grubunda anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. Bu durum RR genotipinin hastalığa koruyucu rolünün olabileceğini düşündürmektedir. Allel frekansları açısından Q alleli obez çocuklarda, R alleli ise kontrol grubunda daha yüksek çıkmıştır. Ancak bu fark istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. L55M polimorfizmi için ise genotip ve allel frekansları açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Ayrıca çeşitli metabolik ve antropometrik parametreler hasta ve kontrol grubunda karşılaştırılmıştır. Ağırlık, BKİ, yağ kütlesi, insulin ve TG değerleri hasta grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bel çevresi, total kolesterol, LDL ve TSH değerleri hasta grubunda yüksek bulunmuş ancak bu fark istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yine HDL hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Bu parametreler polimorfizmlerle ilişkisi yönünden değerlendirildiğinde ise L55M genotipleri açısından bir farklılık gözlenmezken Q192R QQ genotipinde trigliserit ve total kolesterol seviyesi anlamlı derecede yüksek çıkmıştır.

Literatürde PON1 geninde sık gözlenen iki SNP'nin obezite ile ilişkisini inceleyen çalışmalar olmakla beraber sonuçlar çelişkilidir.Ülkemizde ise PON1 geni polimorfizminin obez çocuklardaki prevalansını ve metabolik-antropometrik parametreler ile olan ilişkisini inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır. Çocukluk çağı obezitesinin tanımlanmasına katkıda bulunulması, ileri yaşlarda ortaya çıkabilecek kalp-damar rahatsızlıkları gibi ciddi hastalıkların önlenebilmesi ve doğru tedavi seçeneklerinin kullanılabilmesi açısından önemlidir. Obezitenin artan insidansı da göz önüne alınarak ülkemizde benzer genetik çalışmaların yapılması; hem sonuçların daha doğru bir şekilde yorumlanmasını sağlayacak hem de koruyucu yaklaşımların geliştirilmesi açısından önem taşıyacaktır.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization, Obesity and Overweight.http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/

2. World Health Organization, Obesity.http://www.who.int/topics/obesity/en/

3. Zhao J, Grant SF. Genetics of Childhood Obesity. Journal of Obesity. Volume 2011, Article ID 845148, 9 pages

4. Allender S ve Rayner M. The burden of overweight and obesity-related ill health in the UK. Obesity Reviews 2007; 8: 467–473.

5. Bouchard C, Tremblay A, Despre´s JP, Nadeau A,ve ark. The response to long-term overfeeding in identical twins. N Engl J Med 1990; 322: 1477–82

6. Fearon IM, Faux SP. Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight. J Mol Cell Cardiol 2009; 47: 372-81.

7. Vincent HK & Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. International Journal of Obesity 2006; 30: 400–418.

8. Ferretti G, Baccheti T, Moroni Cve ark. Paraoxonase activity in high density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90:1728–1733

9. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001; 21: 473-80.

10. Adkins S, Gan KN, Mody M ve ark. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. Am J Hum Genet 1993; 52:598–608

11. Flekac M, Skrha J, Zı´dkova´ K, Lacinova´ Z & Hilgertova´ J. Paraoxonase 1 gene polymorphisms and enzyme activities in diabetes mellitus. Physiological Research 2008; 57: 717–726.

12. Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E, Roberts C, Durrington PN & Mackness MI. Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2001; 21: 1451–1457.

13. Veiga L, Silva-Nunes J, Melao A, Oliveira A ve ark. Q192R polymorphism of the paraoxonase-1 gene as a risk factor for obesity in Portuguese women. European Journal of Endocrinology 2011; 164: 213–218

14. Martinez-Salazar MF, Almenares-Lopez D, Garcı´a-Jime´nez L ve ark. Relationship between the paraoxonase (PON1) L55M and Q192R polymorphisms and obesity in a Mexican population: a pilot study. Genes Nutr 2011; 6:361–368

15. Update: prevalence of overweight among children, adolescents, and adults--United States, 1988-1994. MMWRMorb MortalWkly Rep 1997;46:198-202.

16. Ogden C, Carroll M ve ark. Prevalence of Childhood and Adult Obesity in the United States, 2011-2012. JAMA. 2014;311(8):806-814.

17. Ogden, C.L., Yanovski, S.Z., Carroll, M.D., Flegal, K.M. The epidemiology of obesity. Gastroenterology 2007; 132(6), 2087-102.

18. Livingstone B. Epidemiology of childhood obezity in Europe. Eur J Pediatr 2000;159:14

19. Padez C, Fernandes T, Mourão I, Moreira P ve ark. Prevalence of overweight and obesity in 7-9-year-old Portuguese children: trends in body mass index from 1970-2002. American Journal of Human Biology, 2004;16 (6): 670-8.

20. Sur H, Kolotourou M, Dimitriou M, Kocaoglu B ve ark. Biochemical and behavioral indices related to BMI in schoolchildren in urban Turkey. Preventive Medicine 2005; 41 (2), 614-21.

21. Bereket A ve Atay Z. Current Status of Childhood Obesity and its Associated Morbidities in Turkey. J Clin Res Pediatr Endokrinol 2012;4(1):1-7

23. Akbulut G.Ç., Özmen M., Besler H.T. Çağın hastalığı obezite [Elektronik Sürüm] Tübitak Bilim ve Teknik. Mart eki. 2007.

24. Ellis K, Shypailo R, Pratt J, PondW. Accuracy of dual X-ray absorptiometryfor body composition measurement in children.AmJ Clin Nutr 1994;60:660-665.

25. Lukaski HC. Methods for the assessment of human body composition: Traditional and new. Am J Clin Nutr 1987; 46: 537-556.

26. Cole TJ, Freeman JV, Preece MA. Body mass index reference curves for the UK, Arch Dis Child 1990;73:25-29.

27. Kaya A, Gedik VT, Bayram F, Bahçeci M. Obezite, Dislipidemi, Hipertansiyon. Hekim için tanı ve tedavi rehberi. [Elektronik Sürüm] Ankara. 2011.

28. Must A, Dallal GE, Dietz WH. Referans data for obezity: 85 and 95 percentiles of body mass index (wt/ht) and triceps skinfold thickness.Am J Clin Nutr 1991;53:839-46.

29. Gray D, Bauer M, Kaplan K, Gemayel N, Wool R, Greenway F, Kirk S. Skinfold Thickness Measurements in Obese Subjects. Am. J. Clin 1990; 51: 571.577.70.

30. Michielutte R, Disker RA, Corbett WT, Schey HM, Ureda JR. The relationship between weight-height indices and triceps skinfold measure among children age 5-12. AmJ Public Health 1984;74:604-6.

31. Taylor, R.W., Jones, I.E., Williams, S.M., Goulding, A. Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3-19 y. The American Journal of Clinical Nutrition 2000; 72 (2), 490-5.

32. Garrow JS, Webster J, Qutelet's Index (W/H2) as a Measure of Fatness Int. J.Obes. 1985; 9:147-153.

33. BMI classification.http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html.

34. Alikaşifoğlu A, Yordam N. Obezitenin tanımı ve prevalansı. Katkı pediatric dergisi 2000;21:475-81.

35. http://www.texasheartinstitute.org/HIC/Topics/HSmart/children_risk_factors.cfm

36. http://www.cdc.gov/healthyweight/assessing/bmi/adult_bmi/

37. Clark DC, Garn SM. Trends in fatness and the origins of obesity. ad hoc committee to review the ten-state nutrition survey. pediatrics. 1976;57:443–56.

38. Horton TJ, Drougas H, Brachey A, Reed, GW ve ark. Fat and carbohydrate overfeeding in humans: different effects on energy storage. The American Journal of Clinical Nutrition 1995; 62 (1), 19-29.

39. Garn SM, Sullivan TV, Hawthorne VM. Fatness and obesity of the parents of obese individuals. Am J Clin Nutr 1989; 50:1308–1313.

40. Bouchard C, Tremblay A, Despre´s JP, Nadeau A ve ark. The response to long-term overfeeding in identical twins. N Engl J Med 1990; 322: 1477–82

41. Stunkard AJ, Harris JR, Pedersen NL, McClearn GE. The body-mass index of twins who have been reared apart. N Engl J Med 1990; 322:1483–1487.

42. Faith MS, Pietrobelli A, Nunez C ve ark. Evidence for independent genetic influences on fat mass and body mass index in a pediatric twin sample. Pediatrics 1999; 104:61–67

43. Cummings, D. E. and M. W. Schwartz .Genetics and pathophysiology of human obesity. Annu Rev Med 2003;54: 453-71.

44. Clement, K. Genetics of human obesity. Journ Annu Diabetol Hotel Dieu 2005; 39-53.

45. Dietz W, Bandini L, Morelli J ve ark. Effects of Sedantary Activities on Resting Metabolic Rate. Am. J. Clin. Nutr 1994; 59: 556-559

46. Jebb SA, Lambert J. Overweight and Obezity in European children and adolescents. Eur J Pediatr 2000;159:2-4

47. Maffeis C. Aetiology of overweight and obezity in children and adolescents. Eur J Pediatr 2000; 159:35-44.

48. Von Kries R, Koletzko B, Sauerwald T, et al. Breast feeding and obesity; cross sectional study. BMJ 1999; 319: 147-150

49. Von Kries, R., Koletzko, B., Sauerwald, T., von Mutius, E. Does breastfeeding protect against childhood obesity? Advances in Experimental Medicine and Biology 2000; 478, 29-39.

50. Agras WS, Kraemer HC, Berkowitz RI, Hammer LD. Influence of early feeding style on adiposity at 6 years of age. J Pediatr 1990; 116: 805-809.

51. Wright, S.M., Aronne, L.J. Causes of obesity. Abdominal Imaging Journal 2012; 37 (5), 730-2.

52. Yalçin, S.S., Tugrul, B., Naçar, N., Tuncer, M., Yurdakök, K. Factors that affect television viewing time in preschool and primary schoolchildren. Pediatrics International 2002; 44 (6), 622-7.

53. Primo-Parmo, S.L., Sorenson, R.C., Teiber, J., La Du, B.N. 1996. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. Genomics, 33;498–507.

54. Rowles J, Scherer SW, Xi T, Majer M, ve ark. Cloning and characterisation of PDK4 on 7q21.3 encoding a fourth pyruvate dehydrogenase kinase isoenzyme in human. J Biol Chem, 1996;271: 22376–22382.

55. Draganov DI, La Du BN. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol,2004; 369:78–88.

56. Mazur A. An enzyme in animal tissues capable of hydrolyzing the phosphorus-fluorine bond of alkyl fluorophospates. J Biol Chem 1946;164: 271-89.

57. Aldridge WN. Serum esterases. I. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination. Biochem J 1953;53(1):110-7.

58. Aldridge WN. Serum esterases. II. An enzyme hydrolysing diethyl pnitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. Biochem J 1953;53(1):117-24.

59. Uriel, A. Characterısation des cholinesterases et d'eutres esterases carboxylique après electrophorese en gelose. Am ınstit Pasteur. 1961;101, 104.

60. Mackness, B., Durrington, P.N., Mackness, M., Human Serum Paraoxonase, Gen. Pharmac. 1998; 31 (3): 329-336.

61. Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. J Mol Med. 2003 Dec; 81(12):766-79

62. Hegele RA. Paraoxonase genes and disease. Ann Med 1999; 31: 217-224

63. La Du BN, Aviram M, Billecke S ve ark. On the physiological role(s) of the paraoxonases. Chem Biol Interact 1999; 119-120: 379-388.

64. Sorenson RC, Primo-Parmo SL, Kuo CL, Adkins S, Lockridge O, La Du BN. Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian paraoxonase/ arylesterase. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92: 7187-7191.

65. Cole, T.B., Jampsa, R.L., Walter, B.J., Arndt, T.L., Richter, R.J., Shih, D.M., Tward, A., Lusis, A.J., Jack, R.M., Costa, L.G., Furlong, C.E. Expression of human paraoxonase (PON1) during development. Pharmacogenetics 2003; 13;357–364.

66. Jarvik, G.P., Tsai, N.T., McKinstry, L.A., Wani, R., Brophy, V.H., Richter, R.J., Schellenberg, G.D., Heagerty, P.J., Hatsukami, T.S., Furlong, C.E. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol 2002; 22:1329–1333.

67. Sierksma, A., van der Gaag, M.S., van Tol, A., James, R.W., Hendriks, H.F. Kinetics of HDL cholesterol and paraoxonase activity in moderate alcohol consumers. Alcohol Clin. Exp. Res 2002; 26:1430–1435.

68. Tomas, M., Senti, M., Garcia-Faria, F., Vila, J., Torrents, A., Covas, M., Marrugat, J. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol 2000; 20;2113–2119.

69. Aviram, M., Rosenblat, M., Bisgaier, C.L., Newton, R.S., Primo-Parmo, S.L., La Du, B.N. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein and preserves its functions. J ClinInvest 1998; 101:1581–90.

70. Brophy, V.H., Jampsa, R.L., Clendenning, J.B., McKinstry, L.A., Jarvik, G.P., Furlong, C.E. Effects of 5V regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene (PON1) expression. Am. J. Hum. Genet 2001; 68:1428–1436.

71. Suehiro T, Nakamura T, Inoue M ve ark. A polymorphism upstream from the human paraoxonase (PON1) gene and its association with PON1 expression. Atherosclerosis 200;150: 295–298

72. Leviev, I., James, R.W. Promoter polymorphisms of human paraoxonase PON1 gene and serum paraoxonase activities and concentrations. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000; 20:516-21.

73. Humbert R, Adler DA, Disteche CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. Nat Genet. 1993 Jan; 3(1):73-6

74. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. Am J Hum Genet 1983; 35: 214-227.

75. Deakin SP ve James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. Clin Sci 2004; 107: 435-447.

76. Leviev I, Deakin S, James RW. Decreased stability of the M54 isoform of paraoxonase as a contributory factor to variations in human serum paraoxonase concentrations. J Lipid Res. 2001 Apr;42(4):528-35

77. Leviev, I., Negro, F. and James, R. W. Two alleles of the human paraoxonase gene produce different amounts of mRNA: an explanation for differences in serum concentrations of paraoxonase associated with the (Leu-Met54) polymorphism. Arterioscler., Thromb., Vasc. Biol. 1997; 17: 3935–3939

78. Garin, M.C., James, R.W., Dussoix, P., Blanche, H., Passa, P., Froguel, P., Ruiz, J. Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. J Clin Invest 1997; 99:62–66.

79. Steinberg D. Beyond cholesterol: Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. New England J Med 1989; 320: 915-924.

80. Shih, D.M., Gu, L., Xia, Y.R., Navab, M., Li, W.F., Hama, S., Castellani, L.W., Furlong, C.E., Costa, L.G., Fogelman, A.M., Lusis, A.J. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. Nature 1998; 394:284–287.

81. He XM, Zhang ZX, Zhang JW, Zhou YT, Tang MN, Wu CB, Hong Z. Gln192Arg polymorphism in paraoxonase 1 gene is associated with Alzheimer disease in a Chinese Han ethnic population. Chin Med J 2006; 119: 1204–1209.

82. Dantoine TF, Drouet M, Debord J, Merle L, Cogne M, Charmes JP. Paraoxonase 1 192/55 gene polymorphisms in Alzheimer's disease. Alzheimer's disease: vascular etiology and pathology. Ann NY Acad Sci 2006;977:239-44

83. Le Couteur DG, McLean AJ, Taylor MC, Woodham BL, Board PG. Pesticides and Parkinson's disease. Biomed Pharmacother 1999;53(3):122-30.

84. Kondo I, Yamamoto M. Genetic polymorphism of paraoxonase 1 (PON1) and susceptibility to Parkinson's disease 1998; 806: 271-283.

85. Ferretti G, Bacchetti T, Principi F, Di Ludovico F, Viti B, Angeleri VA, Danni M, Provinciali L. Increased levels of lipid hydroperoxides in plasma of patients with multiple sclerosis: a relationship with paraoxonase activity. Mult Scler 2005; 11: 677–682.

86. Sarandol A, Kirli S, Akkaya C, Ocak N, Eroz E, Sarandol E. Coronary artery disease risk factors in patients with schizophrenia: effects of short term antipsychotic treatment. J Psychopharmacol 2007;21(8):857-

87. Letellier C, Durou MR, Jouanolle AM, ve ark. Serum paraoxonase activity and paraoxonase gene polymorphism in type 2 diabetic patients with or without vascular complications. Diabetes Metab 2002; 28: 297–304.

88. Agachan B, Yilmaz H, Karaali Z, Isbir T. Paraoxonase 55 and 192 polymorphism and its relationship to serum paraoxonase activity and serum lipids in Turkish patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. Cell Biochem Funct. 2004 May-Jun; 22(3):163-8

89. Lee CH, Lee KY, Choe KH, Hong YC, Kim YD, Kang JW ve ark. Effects of oxidative DNA damage induced by polycyclic aromatic hydrocarbons and genetic polymorphism of the paraoxonase-1 (PON1) gene on lung cancer. J Prev Med Pub Health 2005;38(3):345-50.

90. Akcay MN, Yilmaz I, Polat MF, Akcay G. Serum paraoxonase levels in gastric cancer. Hepatogastroenterology 2003;50 cclxxiii-v.

91. Ng, C. J.; Wadleigh, D. J.; Gangopadhyay, A.; Hama, S.; Grijalva, V. R.; Navab, M.; Fogelman, A. M.; Reddy, S. T. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. J. Biol. Chem. 2001;276:44444–44449.

92. Hegele, R. A.; Harris, S. B.; Connelly, P. W.; Hanley, A. J.; Tsui, L. C.; Zinman, B.; Scherer, S. W. Genetic variation in paraoxonase- 2 is associated with variation in plasma lipoproteins in Canadian Oji-Cree. Clin. Genet. 1998; 54:394– 399.

93. Hegele, R. A.; Connelly, P. W.; Scherer, S. W.; Hanley, A. J.; Harris, S. B.; Tsui, L. C.; Zinman, B. Paraoxonase-2 gene (PON2) G148 variant associated with elevated fasting plasma glucose in noninsulin-dependent diabetes mellitus. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1997; 82:3373– 3377.

94. Shi, J.; Zhang, S.; Tang, M.; Liu, X.; Li, T.; Han, H.; Wang, Y.; Guo, Y.; Zhao, J.; Li, H.; Ma, C. Possible association between Cys311Ser polymorphism of paraoxonase 2 gene and late-onset Alzheimer’s disease in Chinese. Brain Res. Mol. Brain Res.2004; 120: 201– 204.

95. Wang, X. Y.; Xue, Y. M.; Wen, S. J.; Zhang, N. L.; Ji, Z.; Pan, S. Y. The association of paraoxonase 2 gene C311S variant with ischemic stroke in Chinese type 2 diabetes mellitus patients. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi 2003;20:215– 219.

96. NG CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N ve ark. The paraoxonase gene family and atherosclerosis.Free Radical Biology & Medicine 2005;38: 153 – 163

97. Draganov, D. I.; Stetson, P. L.; Watson, C. E.; Billecke, S. S.; La Du, B. N. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. J. Biol. Chem. 2000;275:33435–33442.

98. Reddy, S. T.; Wadleigh, D. J.; Grijalva, V.; Ng, C.; Hama, S.; Gangopadhyay, A.; Shih, D. M.; Lusis, A. J.; Navab, M.; Fogelman, A. M. Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2001;21:542–547.

99. Saiki, R. K., S. Scharf, et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science 1985;230(4732): 1350-4.

100. Botstein, B., White, R. L., Skolnick, M. and Davis, R. W., Am. J. Hum.Genet. 1980;32: 314–331.

101. Strachan T, Read AP. Human Molecular Genetics, second edition 1999 page 119, Bath pres.

102. http://beslenme.gov.tr/index.php?lang=tr&page=40

103. Huen K, Harley K, Beckmann K, ve ark. Associations of PON1 and Genetic Ancestry with Obesity in Early Childhood. PLOS ONE 2013;Volume 8, Issue 5.

104. Ferre N, Feliu A, Garcia-Heredia A, ve ark. Impaired paraoxonase-1 status in obese children. Relationships with insulin resistance and metabolic syndrome. Clinical Biochemistry 2013; 46: 1830–1836

105. Revenga-Frauca J, Gonzales-Gil EM, Bueno-Lozano G, ve ark. Abdominal fat and metabolic risk in obese children and adolescents. J Physiol Biochem 2009; 65: 415-20.

106. Ayer JG, Harmer JA, David C, ve ark. Severe obesity is associated with impaired with arterial smooth muscle function in young adults. Obesity 2011; 19: 54-60.

107. Tabur S, Torun AN, Sabuncu T, ve ark. Non-diabetic metabolic syndrome and obesity do not affect serum paraoxonase and arylesterase activities but do affect oxidative stress and inflammation. European Journal of Endocrinology 2010; 162: 535-541.

108. Aslan M, Horoz M, Sabuncu T, Celik H, Selek S. Serum paraoxonase enzyme activity and oxidative stress in obese subjects. Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej 2011;121(6):181–5.

109. Li J, Wang X, Huo Y, Nio T, ve ark. PON1 polymorphism, diabetes mellitus, obesity, and risk of myocardial infarction: Modifying effect of diabetes mellitus and obesity on the association between PON1 polymorphism and myocardial infarction. Genet Med 2005; 7(1): 58-63

110. Rupe´rez AI, Lo´pez-Guarnido O, Gil F, Olza J ve ark. Paraoxonase 1 activities and genetic variation in childhood obesity. British Journal of Nutrition (2013), 110, 1639–1647.

111. Bara´th A, Ne´meth I, Karg E, et al. Roles of paraoxonase and oxidative stress in adolescents with uraemic, essential or obesity-induced hypertension. Kidney Blood Press Res 2006; 29: 144–151.

112.Kordi- Tamandani DM, Hashemi M, Sharifi N ve ark. Association between paraoxonase-1 gene polymorphisms and risk of metabolic syndrome.Mol Biol Rep 2012;39:937–943

113. Bhattacharyya T, Nicholls SJ, Topol EJ, Zhang R, Yang X, et al. (2008) Relationship of paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and functional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk. Jama 299: 1265–1276.

114. Balcerzyk, A., Zak, I., Krauze, J. 2007. Synergistic effects between Q192R polymorphism of paraoxonase 1 gene and some conventional risk factors in premature coronary artery disease. Arch Med Res., 38(5);545-50.

115. Kaman, D., Ilhan, N., Metin, K., Akbulut, M., Ustundag, B. 2009. A preliminary study of human paraoxonase and PON1 L/M55-PON1 Q/R 192 polymorphisms in Turkish patients with coronary artery disease. Cell Biochem Funct, 27;88–92.

EKLER

EK1: BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (HASTA GRUBU İÇİN)

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

Bu çalışma, obez (kilolu) çocuklarda obeziteye yol açması muhtemel genlerden birini araştırmaya yönelik bir çalışmadır. Obez hastaların kanında bazı gen tetkiklerin yapılması planlanmaktadır. Bu çalışmanın sonunda PON1 geni denilen bir genin toplumdaki dağılımına bakılacaktır. Bu durumun çocuğunuza herhangi bir zararı bulunmamaktadır.

Bu kan tahlilleri esnasında çalışmamızda kullanılmak üzere çocuğunuzdan alınacak 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.

Obezitede çok sayıda yeni protein ve genin tanımlanıyor olması ve bu konuda bilinmeyenlerin çok fazla olması nedeni ile de çalışma için alınan bu kanlar gelecekte yeni bilimsel çalışmalarda kullanılmak üzere saklanacaktır.

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. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Bu çalışmaya çocuğunuzun dahil olabilmesi 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.

Çocuğunuz bu çalışmaya katıldığı 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 ve Ebeveyninin 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

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Gönüllünün ebeveyni

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Gönüllü ve ebeveyni ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel.

İmza

EK 2 : BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU(KONTROL GRUBU İÇİN)

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. 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.

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. Bu nedenle obezite teşhisi konulmamış olan hastaların ise kontrol grubunu oluşturması planlanmaktadır. Bunun için ekstra kan alınmayacak rutin tetkikler sırasında alınan kanlar kullanılacaktır. Bu çalışmanın sonunda PON1 geni denilen bir genin toplumdaki dağılımına bakılacaktır. Bu durumun çocuğunuza herhangi bir zararı bulunmamaktadır.

Bu kan tahlilleri esnasında çalışmamızda kullanılmak üzere çocuğunuzdan alınacak 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.

Obezitede çok sayıda yeni protein ve genin tanımlanıyor olması ve bu konuda bilinmeyenlerin çok fazla olması nedeni ile de çalışma için alınan bu kanlar gelecekte yeni bilimsel çalışmalarda kullanılmak üzere saklanacaktır.

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. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Bu çalışmaya çocuğunuzu dahil edebilmemiz için çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgi vermemiz ve imzalı onayınızı almamız gerekmektedir. Çalışma amacıyla elde edilen bilgilerin eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgileriniz ihtimamla gizlenecektir.

Çocuğunuz bu çalışmaya katıldığı için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir ve 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 sizin ve çocuğunuzun kayıtları 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.

Gönüllü ve Ebeveyninin 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

Görüşme tanığı

Adı,soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Gönüllünün ebeveyni

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Gönüllü ve ebeveyni ile görüşen hekim

Adı, soyadı, unvanı:

Adres:

Tel.

İmza

EK 3: OLGU RAPOR FORMU

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ

ÇOCUK ENDOKRİNOLOJİ BÖLÜMÜ

Paraoksonaz 1 (PON1) Gen Polimorfizminin Çocukluk Çağı Obezitesinde Metabolik ve Antropometrik Parametreler İle Olan 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	
PON1 gen polimorfizm	
Glukoz	
Total kolesterol	
Trigliserit	
LDL	
HDL	

EK 4: ETİK KURUL KARARI

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

ETİK KOMİSYONUN ADI	**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**
AÇIK ADRES	**Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2. Kat İnciraltı-İZMİR**
TELEFON	**0 232 412 22 54-0 232 412 22 58**
FAKS	**0 232 412 22 43**
E-POSTA	**etikkurul@deu.edu.tr**

BAŞVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	1015-GOA	
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☐	AKADEMİK AMAÇLI ☐
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Paraoksonaz 1(PON1) Gen Polimorfizmlerinin Çocukluk Çağı Obezitesinde Metabolik ve Antropometrik Parametreler ile Olan İlişkisi	
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Doç.Dr.Sefa KIZILDAĞ Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D	
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ	-	
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ	-	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐

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

KARAR BİLGİLER	**Karar No:2014/26-24**	**Tarih: 07.08.2014**
	Doç.Dr.Sefa KIZILDAĞ'ın sorumlusu olduğu **"Paraoksonaz 1(PON1) ve Paraoksonaz 2(PON2) Gen Polimorfizmlerinin Çocukluk Çağı Obezitesinde Metabolik ve Antropometrik Parametreler ile Olan İlişkisi"** isimli klinik araştırmaya ait 25.07.2014 tarihli araştırıcı dilekçesine ilişkin olarak; -Çalışma adının **"Paraoksonaz 1(PON1) Gen Polimorfizmlerinin Çocukluk Çağı Obezitesinde Metabolik ve Antropometrik Parametreler ile Olan İlişkisi"** olarak değiştirilmesi uygun bulunmuştur.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu

ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Banu ÖNVURAL (Başkan)	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Ş.Reyhan UÇKU (Başkan Yardımcısı)	Halk Sağlığı	DEU Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.D.	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Nejat SARIOSMANOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Ece BÖBER	Pediatrik Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☒	H ☐	Katılmadı
Prof.Dr.Hüseyin BASKIN	Tıbbi Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Vesile ÖZTÜRK	Nöroloji	DEU Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Bilgin CÖMERT	İç Hastalıkları (Yoğun Bakım B.D)	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Mukaddes GÜNELİ	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Prof.Dr.Ayşe Aydan ÖZKÜTÜK	Tıbbi Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Prof.Dr.Nihal GELECEK	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Işıl TEKMEN	Histoloji ve Embriyoloji	DEU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Doç.Dr.Müge KİRAY	Fizyoloji	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Şeyda Seren İNTEPELER	Hemşirelik Yönetimi	DEU Hemşirelik Fakültesi Hemşirelik Yönetimi A.D	Kadın	E ☐	H ☒	katılmadı
Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN	Hukuk	DEU Tıp Tarihi ve Etik A.D	Erkek	E ☐	H ☒	
Mehmet Erhan ÖZKUL	Sağlık mensubu olmayan üye	D.E.U Tıp Fakültesi İdari Mali İşler	Erkek	E ☐	H ☒	

Prof.Dr.Ece BÖBER çalışmada yardımcı araştırıcı olduğu için proje görüşülürken toplantıda bulunmamıştır.

EK 5: ÖZGEÇMİŞ

Derya POLAT

TC Kimlik No / Pasaport No:	58477457636
Doğum Yılı:	1989
Yazışma Adresi :	1265 sokak No.8/G D.31 B1-17 Blok Evka-1/Buca İZMİR
Telefon :	05367115938
e-posta :	derya_p0lat@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Ülke	Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Mezuniyet Yılı
Türkiye	Dokuz Eylül Üniversitesi	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	Yüksek Lisans	2014
Türkiye	Ege Üniversitesi	Fen Fakültesi	Biyoloji	Lisans	2011

ÖDÜLLER

- Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü 2010-2011 eğitim yılı lisans mezuniyet üçüncülük ödülü.

Hakemli konferans/sempozyumların bildiri kitaplarında yer alan yayınlar

- Sefa Kızıldağ, Derya Polat, Fatima Dedemoğlu, Erdinç Yüksel, Tülay Canda, "Türk populasyonunda Erkek Meme Kanseri ve Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri Riski", XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 2013.
- Sefa Kızıldağ, Fatima Dedemoğlu, Derya Polat, Alper Soylu, Salih Kavukçu, "Renal Tutulum Olan ve Olmayan Henoch Shonlein Purpurasında TLR-2 Arg753Gln, TLR-4 Asp299Gly ve TLR-4 Thr399Ile Polimorfizmleri", XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 2013.
- Sefa Kızıldağ, Fatima Dedemoğlu, Derya Polat, Meral Bayram, Alper Soylu, Halil Ateş, Salih Kavukçu,"Ateşli idrar yolu enfeksiyonu ve renal skarda TLR-4 polimorfizmi ve lökosit TLR-4 ekspresyonu", XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, 2013