



**T.C.**

**DÜZCE ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**SENDROMİK OLMAYAN OBEZ HASTALARDA YENİ NESİL DİZİ  
ANALİZİ İLE URİDİN DİFOSFAT GLUKRONİL TRANSFERAZ 1A1  
(UGT1A1) GENİNİN ARAŞTIRILMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DR. MERVE ASLANTAŞ**

**DÜZCE-2019**





**T.C.**

**DÜZCE ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**SENDROMİK OLMAYAN OBEZ HASTALARDA YENİ NESİL DİZİ  
ANALİZİ İLE URİDİN DİFOSFAT GLUKRONİL TRANSFERAZ 1A1  
(UGT1A1) GENİNİN ARAŞTIRILMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DR. MERVE ASLANTAŞ**

**TEZ DANIŞMANI**

**DR. ÖĞR. ÜY. ÖNDER KILIÇASLAN**

**DÜZCE-2019**



## ÖNSÖZ

*Asistanlık eğitimim boyunca mesleki bilgi birikim ve tecrübeleriyle bize yol gösteren, iyi birer hekim olmamız için emek veren Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Kenan Kocabay'a*

*Değerli bilgileri ve meslekifedakarlığı ile her zaman imrenerek baktığım, bitmeyen çalışma azmi ve bilimselliği ile hepimize örnek olan Prof. Dr. İlknur ARSLANOĞLU'na*

*Tez hazırlama sürecimin her aşamasına yardımcı olan , çalışma fırsatı bulduğum için çok şanslı hissettiğim, insani ve ahlaki değerleri ile de bir ömür örnek alacağım Doç. Dr. Recep Eröz'e*

*Asistanlığım süresinde en yakınlarımdan olan, tez hazırlama sürecimi benim kadar sahiplenen, yol gösteren, her koşulda "orada" olduğunu bildiğim tez danışmanı hocam, abim Dr. Öğr. Üyesi Önder Kılıçaslan'a*

*Kriz yönetimi konusundaki başarısı ile bizlere örnek olan, hasta hekim ilişkisine bambaşka bir pencereden bakmamızı sağlayan, birlikte çalıştığım için gurur duyduğum Dr. Öğr. Üyesi Ramazan Cahit Temizkan'a*

*Cerrahi alanda hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen hocalarım Dr. Öğr. Üy. Aybars Özkan, Dr. Öğr. Üy. Murat Kaya ve Dr. Öğr. Üy. Murat Kabaklıoğlu'na*

*Zorlu asistanlık süresince iyi niyetini, hoşgörüsünü asla bırakmayan, özellikle beraber çalışmayı kolaylaştıran asistan ve hemşire arkadaşlarıma,*

*Ailemden uzakta bana aile olan değerli dostlarım Tuğba İlhan, Sevgi Ertem ve Öznur Çiçek'e*

*Hayatımın her alanında olduğu gibi bu meşakkatli süreçte de her an yanımda olan, elimi asla bırakmayan, en büyük destekçim canım aileme çok teşekkür ederim.*

*Dr. Merve Aslantaş*



## ÖZET

### SENDROMİK OLMAYAN OBEZ HASTALARDA YENİ NESİL DİZİ ANALİZİ İLE URİDİN DİFOSFAT GLUKRONİL TRANSFERAZ 1A1 (UGT1A1) GENİNİN ARAŞTIRILMASI

**Amaç:** Obezite dünya genelinde artan prevalansı ve özellikle gelişmiş ülkelerde en önemli sağlık sorunlarından biridir. Bildiğimiz kadarıyla literatürde UGT1A1 geninin non sendromik obezlerde yeni nesil dizi analizi yöntemi ile değerlendirildiği çalışma yoktur. Bu çalışma ile Düzce Üniversitesi Hastanesi Çocuk Polikliniklerine obezite tanısıyla başvuran olgularda yeni nesil dizi analizi ile UGT1A1 genindeki değişimleri ortaya koymayı amaçladık.

**Materyel metod:** Olguların hedeflenen moleküler genetik tanısı için ilk olarak rutin amaçlı istenilen tam kan örneklerinden geriye kalan atık kanlardan DNA izolasyon işlemi yapıldı ve hedefe yönelik yeni nesil dizi analizi yöntemiyle moleküler genetik analizi yapıldı

**Bulgular:** Çalışmaya 45 obez (%76,3), 14 kontrol (%23,7) dahil edildi. UGT1A1 gen değişimi açısından Obez çocukların 28'inde (%62) genetik değişim varken kontrol grubunda genetik değişim 7'sinde (%50) idi ( $p>0.05$ ). Kontrol grubunda sadece 2 varyasyon saptanmışken, obez grubunda bu varyasyona ek 7 varyasyon daha saptandı. Obezite başlangıç yaşının 2 yaş altında ve üstünde oluşmasına göre sınıflandırdığımızda ilk 2 yıl içinde (erken başlangıçlı) olan hastaların %38,9'unda, 2 yaş sonrası herhangi bir yaşta (geç başlangıçlı) obezite kliniği gelişen hastaların %77,8'inde UGT1A1 geninde varyasyon oluştuğunu gözlemledik. 2 yaş altında obezite gelişen çocuklarda hem total hem direk bilirubin seviyesinin anlamlı olarak daha düşük saptandı.

**Sonuç:** Geç başlangıçlı grupta UGT1A1 geninde oluşmuş olan genetik değişimler lojistik regresyon analizi ile değerlendirildiğinde obezitenin geç yaşta olma riskini 3 kat (3,42 %95 CI, 0,15-5,11;p 0,000) oranında arttırdığını gösterdik. Ancak bilirubin koruyucu etkisi göz önüne alındığında erken başlangıçlı obezitede bilirubin daha düşük saptanması nedeniyle takiplerinin daha dikkatli yapılması gerekmektedir. Çalışmamız obezite başlangıç yaşı, UGT1A1 gen poliformizmi çeşitliği ve bilirubin seviyesinin yaş bağımlı değişimini gösteren ilk çalışmadır.

**Anahtar kelimeler:** Çocuk, Obezite, UGT1A1 geni, Bilirubin,

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF URIDINE DIPHOSPHATE GLUCURONYL TRANSFERASE 1A1 (UGT1A1) GENE BY NEXT GENERATION SEQUENCİNG IN NON-SYNDROMIC OBESE PATIENTS

**Aim:** Obesity prevalence is increasing worldwide and it is one of the most important health problems especially in developed countries. To the best of our knowledge, there are no studies in the literature which the UGT1A1 gene has been evaluated by the next generation sequence analysis method in non-syndromic obese patients. In this study, we aimed to determine the changes in the UGT1A1 gene by next generation sequence analysis in patients admitted to the Pediatric Polyclinics of Düzce University Hospital with the diagnosis of obesity.

**Methods:** For the targeted molecular genetic diagnosis of the cases, DNAs isolated from the remaining waste blood which were obtained from whole blood samples for routine purposes and molecular genetic analysis was performed by using targeted next generation sequence analysis method.

**Results:** Forty-five obese patients (76.3%) and 14 controls (23.7%) were included in the study. In terms of genetic changing in UGT1A1 gene, while 28 (62%) of the obese children had genetic changes, there were a genetic changes in 7 (50%) of the control group ( $p > 0.05$ ). While only 2 genetic variations were detected in the control group, 7 additional variations were detected in the obese group. After classifying according to onset age of obesity (below and over the age of 2 years), we observed that 38.9% of the patients with early onset obesity and 77.8% of the patients with late onset obesity (at any age over 2 years of age) had UGT1A1 gene variations. Both total and direct bilirubin levels were significantly lower in children with obesity under 2 years of age.

**Conclusion:** In the late-onset group, the genetic changes in the UGT1A1 gene were evaluated by logistic regression analysis and we showed that these genetic changes increased the risk of late onset obesity 3 times (3.42 % 95 CI, 0.15-5.11  $p:0.000$ ). However, considering the protective effect of bilirubin, especially for early-onset obesity, follow-up should be performed more carefully because of lower levels of bilirubin. Our study is the first study showing age-related changes between the diversity of UGT1A1 gene polymorphisms, bilirubin levels and onset age of obesity.

**Keywords:** Child, Obesity, UGT1A1 gene, Bilirubin



## SİMGE VE KISALTMALAR

**ACTH:** Adrenokortikotropik Hormon

**AgRP:** Agouti İlişkili Protein

**BAD:** Beyaz Adipoz Doku

**BDNF:** Beyin-Kaynaklı Nörotrofik Faktör

**BIA:** Biyoelektrik İmpedans Analizi

**BKİ:** Beden Kitle İndeksi

**CART:** Kokain ve Amfetaminle Düzenlenen Transkript

**DKK:** Deri Kıvrım Kalınlığı

**DXA:** Dual Enerji X-Işını Absorpsiyonu

**FTO:** Yağ Kütlesi ve Obezite İlişkili Gen

**GNG:** Glukoneogenez

**GWAS:** Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları

**HDL:** Yüksek Dansiteli Lipoprotein

**IGF-1:** İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1

**IOTF:** Uluslararası Obezite Çalışma Grubu

**KSR2:** Kinaz Baskılayıcı Ras 2

**KSV:** Kopya Sayısı Varyasyonları

**LDL:** Düşük Dansiteli Lipoprotein

**LEPR:** Leptin Reseptörü

**MC4R:** Melanokortin-4 Reseptörü

**MRG:** Manyetik Rezonans Görüntüleme

**MSH:** Melanosit Uyarıcı Hormon

**NGS:** (Next Generation Sequence) Yeni Nesil Dizi Analiz

**NHANES:** Ulusal Sağlık ve Beslenme Muayene Araştırması

**NPY:** Nöropeptit Y

**PC1/3:** Proprotein Konvertaz 1/3

**POMC:** Proopiomelanokortin

**PVN:** Paraventriküler Nükleus

**RA:** Relatif Ağırlık

**RVAT:** Nadir Varyant İlişkilendirme Testleri

**SH2B1:** Src Homolojisi 2 B Adaptör Proteini 1

**SHBG:** Seks Hormon Bağlayıcı Globülin

**SIM1:** Single-Minded Transkripsiyon Faktörü-1

**TES:** Tüm Ekzom Sekanslama

**TNF:** Tumor Nekroz Faktörü

**TRKB:** Tirozin Kinaz Reseptörü

**TVS:** Total Vücut Suyu

**UGT1A1:** UDP Glukroniltransferaz Ailesi 1A1

**VLDL:** Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein

**YDA:** Yeni Nesil Dizi Analizi

# TABLO VE ŞEKİLLER

**Tablo 1.** PCR reaksiyon miks içeriği

**Tablo 2.** Yapılacak olan PCR analizi için hazırlanmış olan döngüleri ve süresini gösteren protokol

**Tablo 3.** 24 örneklik kit içeriği Nextera XTDNA Library Prep Kit, 24 Indexes (fc-131-1024) 24-IndexKit

**Tablo 4.** Obez ve kontrol grubunun demografik, laboratuvar ve klinik bulguları karşılaştırılması

**Tablo 5.** Obez ve kontrol grubunun cinsiyet, doğum şekli, hepatosteatoz varlığı durumu, anne sütü alımı, neyle başladığı, mama kullanım durumu ve ek gıdaya başlangıç ayı karşılaştırılması

**Tablo 6.** Obez ve kontrol grubunda tespit edilen genetik varyasyonların karşılaştırılması

**Tablo 7.** 2 yaş altı ve 2 yaş üstü obez gelişen grupların total bilirubin, direk bilirubin, HbA1c ve UGT1A1 genetik varyasyon karşılaştırılması

**Şekil 1.** 0-18 yaş 25 ve 30 kg/m<sup>2</sup> beden kitle indeksine göre aşırı kiloluk ve obezite için cinsiyete göre uluslararası eşik noktaları.

**Şekil 2.** Beyaz yağ doku disfonksiyonu ve etkileri.

**Şekil 3.** Bilirubin metabolizmasında UDG T enzim rolü

**Şekil 4.** Yeni nesil dizileme basamakları

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
SİMGE VE KISALTMALAR.....	vi
TABLO VE ŞEKİLLER.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>4</b>
2.1. ÇOCUKLUK ÇAĞINDA OBEZİTE.....	4
2.1.1. Tanım.....	4
2.1.2. Epidemiyoloji.....	5
2.1.3. Obezite Etiyolojisi.....	6
2.1.3.1. Diyet.....	6
2.1.3.2. Fiziksel Aktivite.....	8
2.1.4. Obezite Değerlendirme Yöntemleri.....	8
2.1.4.1. Vücuttaki yağın direkt ölçümü.....	9
2.1.4.2. Vücuttaki yağın indirekt ölçümü.....	10
2.1.5. Obezite Komplikasyonları.....	12
2.1.5.1. Erken Dönem Komplikasyonlar.....	12
2.1.5.2. Geç Dönem Komplikasyonlar.....	14
2.1.6. Tedavi.....	16
2.1.6.1. Farmakolojik Tedavi.....	17
2.1.6.2. Cerrahi Tedavi.....	18
2.2. OBEZİTE VE GENETİK.....	19
2.2.1. Poligenik Obezite.....	19
2.2.2. Non-Sendromik Obezitenin Monogenik Formları.....	20
2.2.2.1. Hipotalamus Gelişimi ve İştah Kontrolü.....	20
2.2.2.2. Non-Sendromik Monogenik Obezite Resesif Formları.....	22
2.2.2.3. Non-Sendromik Monogenik Obezite Dominant Formları.....	24
2.3. OBEZİTENİN GENETİK TANISINDA KULLANILAN YÖNTEMLER.....	26

2.3.1. Genetik Bağlantı Analizi.....	26
2.3.2. Aday Gen Sekanslama .....	27
2.3.3. Kromozomal Mikrodizi Analizi .....	27
2.3.4. Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS).....	28
2.3.5. Yeni Nesil Dizi Analizi.....	28
2.3.6. Nadir Varyant İlişkilendirme Testleri (RVAT).....	30
2.4. NON-SENDROMİK MONOGENİK OBEZİTEDE GÜNCEL KLİNİK YAKLAŞIMLAR	30
2.5. UGT1A1 GENİ VE İLİŞKİLİ KLİNİK DURUMLAR.....	31
2.5.1. Normal Fonksiyon .....	31
2.5.2. İlişkili Klinik Durumlar .....	32
2.5.2.1. Crigler-Najjar Sendromu .....	32
2.5.2.2. Gilbert Sendromu .....	33
2.5.2.3. Diğer Hastalıklar .....	33
2.5.3. Bilirubin Metabolizmasının Obezite, Metabolik Sendrom ve Kardiovasküler Hastalıklar ile İlişkisi .....	34
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>36</b>
3.1. ARAŞTIRMA TİPİ, YERİ VE HASTALARIN SEÇİMİ .....	36
3.2. ARAŞTIRMAYA DAHİL OLMA KRİTERLERİ .....	36
3.3. ARAŞTIRMANIN GENEL PLANI.....	37
3.4. GENETİK ÇALIŞMALAR .....	38
3.4.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) .....	38
3.4.2. DNA İzolasyonu .....	40
3.4.3. Primerlerin tasarımı .....	41
3.4.4. Çalışma stratejisi.....	41
3.4.5. PCR Optimizasyonu .....	41
3.4.6. Yeni Nesil Dizi Analizi.....	42
3.5. ÇALIŞMA PRENSİBİ .....	43
3.5.1. Nextera Protokol .....	38
3.5.2. PCR Amplifikasyonu .....	39
3.5.3. DNA Tagmentasyonu .....	39
3.5.4. İndeks PCR .....	40
3.5.5. PCR Purifikasyonu .....	40
3.5.6. Kütüphane Havuzlama ve Miseq Cihazlama Yükleme .....	40

3.5.7. Analiz.....	40
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	41
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>48</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>53</b>
<b>KAYNAKÇA.....</b>	<b>59</b>



# 1. GİRİŞ

Vücutta artmış yağ miktarı olarak tanımlanabilen obezite, yalnızca yetişkinlerde değil çocukluk çağında bile ortaya çıkan metabolik bir hastalıktır. Dünya sağlık örgütünün 2010 verilerine göre 43 milyon okul öncesi çocuk fazla kilolu veya obezdir ve 1990 yılı ile kıyaslandığında ise bu oranda %4,2'lik artış görülmektedir. Türkiye'de 2001 ile 2002 yılları arasında yapılan çalışmaya göre 11 yaş grubundaki kızların %7'si, erkeklerin %14'ü, 13 yaş grubundaki çocuklardan kızların %7'si, erkeklerin %13'ü, 15 yaş grubundaki çocuklardan kızların %5'i, erkeklerin ise %14'ü obezdir. Dünya sağlık örgütü 2009 yılı verilerine göre Türkiye'deki çocuklarda obezite prevalansı %16,1'dir. Cinsiyetlere göre bakıldığında ise prevalans, erkeklerde %15,6, kızlarda %23,9 olarak tespit edilmiştir.

Obezite tanısında beden kitle indeksi (BKİ) erişkin yaş grubu için sık kullanılan güvenilir bir metottur ve  $\text{ağırlık/boy}^2$  ( $\text{kg/m}^2$ ) olarak hesaplanır. BKİ güvenli, basit, ucuz ve kolay uygulanabilir olması nedeni ile yaygın olarak çocuklar için de kullanılabilir fakat BKİ yaşa ve cinse göre değişkenlik gösterebilmektedir. Bu nedenle yaşa ve cinse göre BKİ persantilleri belirlenmiştir ve obezite tanısında bu persantil çizelgesinde %85'in üzerinde kalanlar aşırı kilolu ve %95'in üzerinde kalanlar ise obez olarak değerlendirilmektedir. Çocuklar için kullanılabilen diğer bir antropometrik yöntem ise boya göre ağırlık (relatif ağırlık) (RA) ölçümüdür. Bu ölçüm çocuğun boyunun boy persantil çizelgesinde denk geldiği 50. persantile karşılık gelen 50 persantildeki ağırlıktan saptığı miktarın hesaplanmasıdır. RA'nın %120'nin üzerinde olması obezite olarak kabul edilir.

Vücuda harcanandan daha fazla enerji alınması, yaşam tarzındaki hızlı değişimler ve her türlü besine çok rahat ulaşabilme son yıllarda obezitenin çok hızlı şekilde artmasına neden olmuştur. Ancak bireylerin bu 'obesogenik' çevresel değişimlere verdikleri yanıt birbirinden farklı olmaktadır. Bu farklılığın altında çok güçlü bir genetik varyasyon bulunmaktadır. Obezite bireyin genetik yapısı ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile belirlenmektedir. Yapılan ikiz ve aile çalışmaları, kalıtımın BKİ üzerindeki etkisinin %40-70 arasında olduğunu ortaya koymaktadır.

Yapılan çalışmalar plazma bilirubin konsantrasyonlarının sigara içme, diyabet ve obezite gibi koroner arter hastalığı için çeşitli risk faktörleriyle ters korelasyon içinde olduğunu ve doğrudan HDL kolesterol ile korele olduğunu göstermiştir. Dolaşımdaki bilirubin konsantrasyonları ile kardiyovasküler risk arasında U şeklinde bir ilişki olduğu gözlemlenmiş, düşük serum bilirubin konsantrasyonlarının iskemik kalp hastalığı riskinin artmasıyla ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır.

İndirekt bilirubin, hepatositlerin düz endoplazmik retikulum mikrozomlarında; mikrozomal bir enzim olan *UDP-glukuronil transferaz* enziminin katalizlediği bir reaksiyonda, UDP-glukuronik asitle tepkimeye girer ve glukuronik asitle konjuge olur, böylece direkt bilirubin (konjuge bilirubin) oluşur.

Ayrıca çalışmalarda bilirubin önemli ve güçlü bir endojen antioksidan ve anti-enflamatuar ajandır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, metabolizma ve bağışıklık sistemi arasında yakın ilişki olduğu gösterilmiş olup obezitenin kronik, düşük düzeyde bir inflamasyona neden olduğu bildirilmiştir.

Bildiğimiz kadarıyla literatürde UGT1A1 geninin nonsendromik obezlerde yeni nesil dizi analizi yöntemi ile araştırıldığı bir çalışma yoktur. Biz bu çalışma ile Düzce Üniversitesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Poliklinikleri'ne başvuran obez hastalardaki etyolojiden sorumlu genetik değişimi, yeni nesil dizi analizi yöntemiyle ortaya koymayı amaçladık. Böylece hastalığın oluşumunda UGT1A1 geninde meydana gelen değişiklikler göz önünde bulundurularak uygulanacak olan terapötik yaklaşımlar ile tedavi maliyetinin ucuzlamasının yanı sıra, hastalar için yan etkilerin az olduğu yeni bir tedavi stratejisinin geliştirilmesine de katkı sağlanabilecektir. Buna ek olarak, mutasyon taşınmasına rağmen klinik açıdan henüz bulgu vermemiş olan bireylerin çok erken aşamada tanı alması sağlanabilecek ve oluşabilecek morbidite ve mortalitelerin önüne geçilebilecektir. Sonuç olarak hastaların ileriki yaşantıları için hayat kaliteleri arttırılabileceği gibi, gereksiz zaman kaybı, harcanan tedavi masrafları ve hastane giderleri erken tanı sayesinde önlenilecektir. Bunlara ilaveten bu çalışmayla birlikte bu konu ile ilgili literatürde eksik olan bilgiler giderilmiş olacaktır.

Bu çalışmada kliniğimizde nonsendromik obezite tanısı ile takip ettiğimiz hastalarda UGT1A1 genindeki değişiklikler araştırılmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

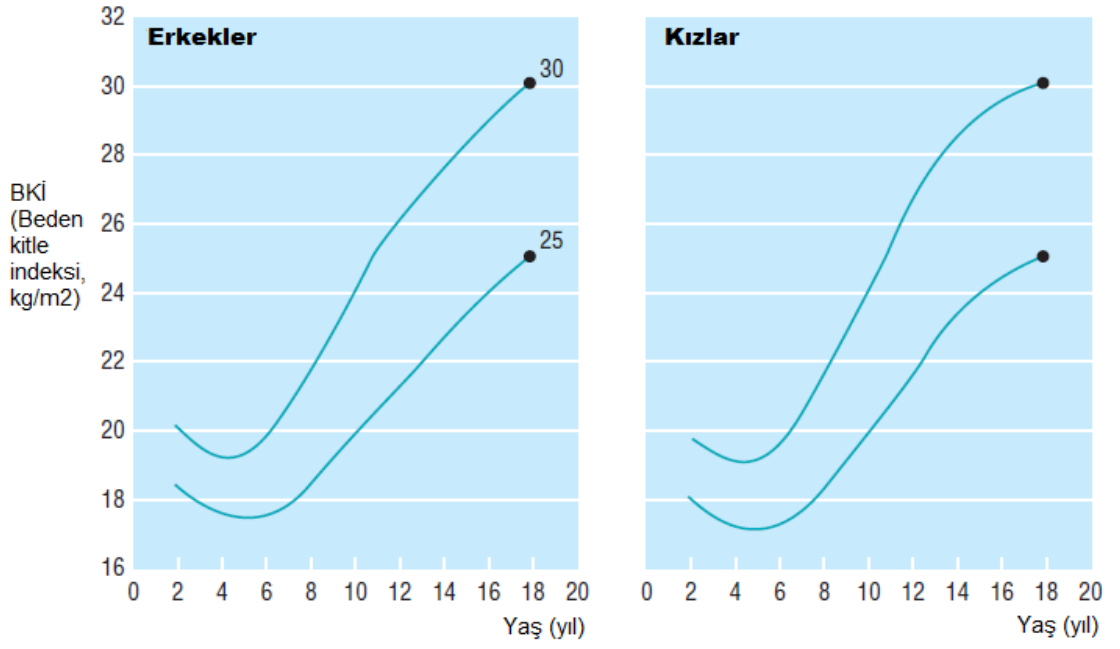
### 2.1. Çocukluk Çağında Obezite

#### 2.1.1. Tanım

Obezite terimi enerji alımının enerji tüketimini geçtiği durumlarda vücuttaki yağ dokusunun artmasını ifade etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ise obeziteyi, sağlığı bozacak ölçüde vücutta aşırı yağ birikmesi olarak tanımlanmıştır. Ancak günlük pratikte vücut yağını direkt olarak ölçebilen bir yöntem bulunmamaktadır. Bu nedenle, obezitede genellikle, klinik amaçlar için doğruluk payı yeterince yüksek düzeyde vücut yağı hakkında bir tahmin sağlayabilen bir yöntem olarak; boy ve kilo arasındaki ilişki ile değerlendirilir.

Yetişkinlerde zayıf, normal kilolu, aşırı kilolu ve obezitenin tanımlanması için uluslararası olarak kabul edilmiş beden kitle indeksi (BKİ) eşikleri vardır, ancak çocuklarda yaş, cinsiyet, ergenlik durumu ve ırk/etnik kökenlerin büyüme üzerindeki belirgin etkileri sınıflandırmayı zorlaştırmaktadır. Obezitenin tanımlanmasında iki temel zorluk bulunmaktadır; 1) standardize edilmiş yaş ile ilişkili büyüme tablosu, 2) klinik olarak anlamlı obezite ve aşırı kiloluluk için eşik değerler. Uluslararası Obezite Çalışma Grubu (IOTF), prevalansın global olarak karşılaştırılmasını sağlayan uluslararası bir standart büyüme tablosu hazırlamıştır (1). Ancak ABD’de dahil olmak üzere pek çok ülkede standartları, güncel epidemik tablodan önce, 1960’ların başında gerçekleştirilmiş ulusal anketlere dayanan, kendi ülkelerine spesifik tablolar kullanılmaktadır (2).

Çocukluk çağında aşırı kiloluluk ve obezite için sıkça kullanılan eşik değerler şu şekildedir: ideal boya göre ağırlığın %110-120’si; >1 ve >2 boya göre ağırlık Z skoru, (uluslararası veya ülke spesifikreferans popülasyona göre) 85.-90.-95. ve 97. persantillerdeki BKİ (3). IOTF uluslararası oluşturdukları büyüme tablolarını ve erişkin değerlere karşılık gelen yaş-cinsiyet spesifik eşik noktaların kullanımını önermektedir (Şekil 1). IOTF sınıflandırmasının yüksek düzeyde spesifik olduğu ancak duyarlılığının düşük olduğu gösterilmiştir (4).



**Şekil 1.** 0-18 yaş 25 ve 30 kg/m<sup>2</sup> beden kitle indeksine göre aşırı kiloluk ve obezite için cinsiyete göre uluslararası eşik noktaları (Brezilya, İngiltere, Hong Kong, Hollanda, Singapur ve Amerika Birleşik Devletleri'nden elde edilen verilere dayanarak oluşturulmuştur) (1).

### 2.1.2. Epidemiyoloji

Çocukluk çağında görülen obezite, gelişmiş ülkelerde epidemik düzeylere ulaşmıştır. ABD'deki çocukların %25'i aşırı kiloluyken %11'i obez olarak tanımlanmaktadır. Obez adolesanların yaklaşık %70'i ise erişkin çağda obez olarak kalmaktadır (5). İskandinav ülkeleri gibi bazı Avrupa ülkelerinde çocukluk çağı obezite prevalansı Akdeniz ülkelerine kıyasla daha düşüktür. Bununla birlikte obez çocukların oranı her iki bölgede artmaya devam etmektedir (6). Çocukluk çağı obezitesine ait en yüksek prevalans değerlerine gelişmiş ülkelerde rastlanmaktadır, ancak gelişen ülkelerde de prevalans artış göstermektedir. Çocukluk çağı obezite prevalansı Orta Doğu, Doğu ve Orta Avrupa'da yüksek seyretmektedir (7). Örnek olarak, 1998'de kardiovasküler hastalıkların takibi için yürürlüğe sokulan Dünya Sağlık Örgütü Projesi'nde (MONICA) çocukluk çağı obezitesinde en yüksek prevalansa sahip yedi ülkeden birinin İran olduğu belirtilmiştir. BKİ'nin (yüzde olarak) kızlarda 85. ve 95. persantiller arasında olma prevalansı erkeklere kıyasla kayda değer oranda yüksek bulunmuştur. Benzer bir durum BKİ > 95. persantil

prevelansında da görülmektedir (6). Suudi Arabistan'da, 6-18 yaş arası her altı çocuktan biri obezdir (8). Dahası, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde, özellikle adolesanlarda erkeklere oranla daha fazla kız çocuğunda aşırı kiloluluk dikkati çekmektedir (9, 10).

### **2.1.3. Obezite Etiyolojisi**

Obezite gelişim mekanizması tam olarak anlaşılammış olsa da; obezitenin, enerji alımının enerji tüketimini geçtiğinde ortaya çıktığı doğrulanmıştır. Bu dengesizliğin altında yatan çok sayıda etiyojik neden bulunmaktadır. Bundan dolayı obezite ve prevelansındaki bu denli artış tek bir etiyojiye indirgenememektedir. Genetik faktörler bir çocuğun obeziteye yol açabilecek çevresel faktörlere olan duyarlılığını etkilemektedir. Ancak, çevresel faktörler, yaşam tarzı tercihleri ve kültürel çevrenin obezitenin dünya çapındaki artan prevelansında majör bir rolü olduğu görülmektedir (11). Az sayıdaki vakada, çocukluk çağı obezitesi leptin eksikliği gibi genlere veya hipotiroidi ve büyüme hormon eksikliği gibi medikal nedenlere veya steroid gibi ilaçların yan etkilerine bağlı gelişmektedir (12). Yine de çoğu zaman kişisel yaşam tarzı seçimleri ve kültürel çevre obezite gelişimini kayda değer miktarda etkilemektedir.

#### **2.1.3.1. Diyet**

Geçtiğimiz on yıllarda, yiyecek fiyatları gelir düzeyine oranla azalmış böylelikle daha fazla insan için yiyecek elde edilmesi kolaylaşmış ve "yiyecek" kavramı, bir beslenme yönteminden bir yaşam tarzına ve bir zevk kaynağına dönüşmüştür. Açıkçası, fiziksel aktivitedeki artışın, enerji açısından zengin ve zayıf bir beslenme diyetini dengeleme olasılığı yoktur. Bir fast food restoranında tek bir büyük boy (yani  $\geq 785$  kcal) çocuk yemeğini dengelemek için 1-2 saat arası aşırı hareketli aktivite gerekir. Böyle bir diyetin sık tüketilmesi ortalama bir çocuk veya yetişkin tarafından fiziksel aktivite ile zorlukla dengelenebilir (13).

#### **Kalori Alımı**

Aşırı kilo ve şişmanlığın çoğunlukla kalorik alımdaki artışın sonucu olduğu kabul edilmekle birlikte, bu fenomen için yeterli destekleyici kanıt yoktur. Besin alım sıklığını değerlendiren yöntemler normal diyetleri ölçmekle birlikte kalorik

alımı tam olarak belirleyememektedir. 24 saatlik hatırlama veya yiyecek günlüğü gibi diğer yöntemler, kısa vadeli kalorik alımları daha doğru değerlendirir, ancak uzun vadeli alımı tahmin etmede yetersizdir (14). Toplam enerji alımının popülasyon düzeyinde doğru bir şekilde ölçülmesi zordur. Bununla birlikte küçük bir kalori dengesizliğinin uzun bir süre boyunca devam etmesi, obeziteye yol açmak için yeterlidir. ABD'de çocukluk çağı obezite prevalansının artmasıyla birlikte gerçekleştirilen Ulusal Sağlık ve Beslenme Muayene Araştırmasında (NHANES), ABD'li çocuklarda 1970'lerden 1988-1994'e kadar kalori alımında sadece düşük miktarda bir değişiklik olduğu gösterilmiştir (15).

### **Yağ Tüketimi**

Uzun yıllar boyunca, pediatrik obezitede artışın, yüksek yağ alımındaki bir artıştan kaynaklandığı iddia edilmekle birlikte, kesitsel ve uzunlamasına çalışmalarla çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. NHANES çalışmasına göre Amerikan çocuklarının yağ tüketiminin son otuz yılda düştüğü gösterilmiştir. Örneğin; 12-19 yaş arasındaki erkeklerde ortalama diyetel yağ tüketimi, 1971-1974'te toplam kalori alımının %37,0'dan 1999-2000'de %32,0'adüşmüştür. Bulgular yağ tüketimi %36,7'den %32,1'e düşen kızlar için de benzerdir (16, 17). Gregory ve arkadaşları Birleşik Krallık'taki 4-18 yaş arası çocuklarda ortalama yağ tüketiminin, hükümetin de önerdiği enerjinin %35'ine yakın seyrettiğini göstermiştir (18). Diğer taraftan, bazı kesitsel çalışmalarda karıştırıcı faktörlerin kontrolünden sonra bile çocuklarda yağ alımı ile adipozite arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir (19, 20). Diyetel yağın hızlanmış pediatrik obezite epidemisinde sorumlu olduğu düşüncesine dair temel karışıklık, çocukluk çağı obezite prevalansında artış olmasına rağmen farklı popülasyonlarda diyetel yağ tüketiminin azalıyor oluşudur (15).

### **Diğer Diyetel Faktörler**

Günlük süt alımındaki yaklaşık iki porsiyon kadar artışın, aşırı kiloluluk riskini %70'e kadar azaltabileceğine dair artan kanıtlar vardır (21). Ek olarak, kalsiyum alımı, aşırı kilolu genç yetişkinler arasında %21 oranında insülin direnci gelişim riskinde azalma ile ilişkili bulunmuştur ve diyabet riskini azaltabilir (22).

Daha fazla kalsiyum tüketimi ve günlük süt tüketim sıklığında artış uzamsal çalışmalarda çocuklarda adipozitenin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (23).

1970 ve 1997 yılları arasında, ABD Tarım Bakanlığı (USDA) anketlerinde kişi başına düşen karbonatlı içecek tüketiminde %118'lik bir artış ve süt tüketiminde ise %23'lük bir düşüş olduğu gösterilmiştir (24). Alkolsüz içecek alımı, çocuklarda obezite epidemisine tip II diyabet ile ilişkili bulunmuştur (25, 26).

### **2.1.3.2. Fiziksel Aktivite**

Tüm yaş grupları arasında fiziksel aktivitedeki sabit bir düşüşün, tüm dünyada artan obezite oranlarına büyük ölçüde katkıda bulunduğu varsayılmaktadır. Monozigotik ikizlerde yapılan bir çalışmada, fiziksel aktivitenin kilo alımını kuvvetli düzeyde etkilediği gösterilmiştir (27). Çok sayıda çalışma, televizyon izlemek ve bilgisayar oyunları oynamak gibi hareketsiz davranışların artan obezite prevalansı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (28, 29). Ayrıca ebeveynler, çocuklarına göz kulak olurken ev işlerini tamamlayabildiklerinden çocuklarının gözetimsiz dışarıda oynamak yerine evde televizyon izlemelerini tercih ettiklerini bildirmektedir (30). Ayrıca, okula arabayla ulaştırılan çocuk oranlarının artması ve özellikle ergen kızlar arasında spor ve beden eğitime düşük katılım oranları, obezite prevalansının artması ile ilişkilidir (28). Hem ebeveynlerin hem de çocukların tercihleri bu davranışları şekillendirdiğinden, fazla kilolu çocukların fazla kilolu ebeveynlere sahip olma eğiliminde olmaları ve normal kilolu çocuklardan daha fazla kilolu yetişkinlere dönüşme eğiliminde olmaları şaşırtıcı değildir (31).

### **2.1.4. Obezite Değerlendirme Yöntemleri**

Vücut kompozisyonu ölçümleri yapılarak yağ kütlesi, yağsız kas miktarı ve adipozitenin bölgesel değerleri elde edilerek, obezitenin objektif değerlendirmesi sağlanabilir. Bu anlamda BKİ, deri kıvrım kalınlığı, üst kol ve uyluk çevresi ölçümleri gibi indirekt ölçüm metotlarının yanında; izotop/total vücut su dilusyonu, dual enerji x-ışını absorpsiyonu, manyetik rezonans görüntüleme ve total vücut potasyumu gibi direkt ölçüm metotları da bulunmaktadır (32).

### **2.1.4.1. Vücuttaki yağın direkt ölçümü**

#### **İzotop/Total Vücut Suyu dilüasyon yöntemi**

İzotip dilüasyon yöntemi, yağsız kütle ölçümünde uluslararası kabul görmüş protokollerde kullanılan ve yüksek güvenilirliği olan isabetli bir araçtır. Normal vücut su havuzu doğal olarak az miktarda döteryum ( $^2\text{H}$ ) içerir (33). Belirli miktarda döteryum oksit olguya verildikten sonra belirli aralıklarla düzeyleri ölçülür (33). Döteryum su ile aynı oranda vücut dokularına dağılım gösterdiğinden, vücutta dengeye ulaştığında kan veya idrarda düzeylerinin ölçümü total vücut suyunu (TVS) belirlememizi sağlar (34). Vücut yağının anhidroz olduğu düşünüldüğünde ve yağsız vücut kütesinin hidrasyonu için bir sabit değer alındığında TVS değerlerini vücut kompozisyonunda kullanmak mümkün hale gelir (33).

#### **Dual Enerji X-Işını Absorbsiyonu (DXA)**

Dual enerji X-Işını absorpsiyonunda (DXA), hastanın altına sabitlenmiş bir x-ışını tüpü ve üstünde sıkı bir şekilde ayarlanmış, dar bir x-ışını geçiren bir x-ışını detektörü kullanır (35). Farklı enerji tepe noktalarına sahip iki x-ışını demeti olgu içerisinde geçerken bunlardan biri büyük oranda kemik ve diğer yumuşak dokularca absorbe edilir ve her bir enerji tepe noktasında bir kıyaslama yapılır. Farklı dansitometre modelleri, tarama modları ve yazılımlar kullanılmaktadır ve bunlar vücut kompozisyonunun doğru bir şekilde tespit edilebilmesinde etkilidir (36).

#### **Manyetik Rezonans Görüntüleme**

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG), tüm yaş gruplarında vücut kompozisyonunu değerlendirmek için kullanılabilen non invazif, direkt ve radyasyonsuz bir görüntüleme modalitesidir (37). Doğruluğu ve tekrarlanabilirliği bu yöntemi vücut kompozisyon değerlendirmesinde gold standart hale getirmiştir. Ek olarak yağ dokunun dağılımı, yağsız doku ve iskelet kası kantifikasyonu ve visseral adipozite ölçümünde kullanılabilir (38).

#### **Total Vücut Potasyumu**

Total vücut potasyumu (TVK) ölçümü, vücutta bulunan doğal oluşan bir radyoaktif izotopu olan  $^{40}\text{K}$ 'un küçük bir kısmının ölçümüne dayanmaktadır. Bu

işlem, arka plan radyasyonundan gelen girişimi engellemek için olgunun altına en az 10 cm kurşun koruma ile çevrelenmiş bir tüm vücut sayacının yerleştirilmesini gerektirir (39).

#### **2.1.4.2. Vücuttaki yağın indirekt ölçümü**

##### **Boya Göre Ağırlık (Rölatif Ağırlık- RA)**

Çocukluk döneminde obezite değerlendirilirken boya göre ağırlığın değerlendirilmesi daha sağlıklıdır. Buna göre %90-110 normal, %110-120 fazla kilolu, >%120 obez olarak değerlendirilmektedir (40).

##### **Deri Kıvrım Kalınlığı**

Deri kıvrım kalınlığı (DKK) vücut kompozisyonu ve adipozitenin değerlendirilmesinde görece kolay ve maliyetsiz bir yöntemdir. DKK ölçümü subkutan yağın değerlendirilmesinde iyi kurgulanmış bir metottur. Testi yapan kişi deriyi belirli bir lokalizasyondan tutarak katlar ve gerer. Gerilmiş olan deri kalınlığı bu düzeydeki deri ve yağın kalınlığını ölçmemizi sağlar. Ölçümler 4 ayrı bölgeden yapılır (41).

##### **Beden Kitle İndeksi (“Quetelet İndeksi”)**

Beden kitle indeksi obezitenin değerlendirilmesinde en sık kullanılan yöntemdir. Vücut ağırlığının (kg) boyun (m<sup>2</sup>) karesine oranı şeklinde hesaplanır. BKİ çocuklarda yaşa ve cinsiyete göre değişkenlik göstermekte olup persantilleri belirlenmiştir. Buna göre BKİ %85-95 arasında olanlar fazla kilolu, %95’in üzerinde olanlar obez olarak değerlendirilmektedir (40). BKİ ağırlık ve boydan hesaplanan bir parametreden daha fazlası değildir ve vücut kompozisyonu ile ilgili kesin sonuçlar bildirmez.

##### **Üst Kol ve Uyluk Çevresi Ölçümü**

Bu yöntemde muayeneyi yapan kişi esnek olmayan bir mezura vasıtasıyla üst kol veya uyluk orta kesimde maksimal çevre ölçümü alır. Elde edilen değerler adipozitenin belirlenmesinde kullanılabilir.

## **Dansitometri ve Hava Yer Değiştirmeli Pletismografi**

Hava yer değiştirmeli pletismografide bir test bölmesi içerisinde olgu içerde ve dışardayken havanın hacmindeki değişim hesaplanır. Böylelikle olgunun hacmi ve yoğunluğu hesaplanabilir. Yağ kütlesi ve yağsız kütlenin referans yoğunluk değerleri kullanılarak olgunun bu değerlere göre relatif oranları tespit edilebilir. Yağ kütlesi ve yağsız kütle referans değerleri bireyler arası farklılık gösterebilmektedir. Hidrodansitometre veya su altı ağırlık ölçümü hava yer değiştirmeli pletismografi ile benzer prensiplerde gerçekleştirilir ancak su altı ölçümde uyum problemleri nedeniyle çocuklarda uygulama kısıtlıdır.

## **Biyoelektrik İmpedans Analizi**

Biyoelektrik impedans analizi (BIA), büyük çocuklarda ve yetişkinlerde vücut kompozisyonu değerlendirmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır ve günümüzde ticari olarak temin edilebilen cihazlarla halkın erişimine açıktır. Elektrot yerleştirme yoluyla yapılan invaziv olmayan ve taşınabilir bir ölçümdür. Analizin temeli, olgu üzerinden zayıf bir alternatif frekanslı elektrik akımı geçirmektir. Akım yönüne karşı gelişen empedans ölçülür ve bu değer iletkenin uzunluğu ile doğrudan, iletkenin kesit alanı ile ters olarak ilişkilidir (42). Vücut suyu insanlarda ana iletken hacmi oluşturmaktadır; böylelikle BIA lmleri TVS'yi yansıtacaktır. TVS'nin neredeyse tamamı yağsız vücut kütlesinde lokalize olduğundan BIA, empedans değerini yağsız vücut kütlesi değerine dönüştüren bir tahmin denklemi kullanılarak yağsız vücut kütlesini lmede kullanılabilir (42).

## **Total Vücut Elektrik İletkenliği**

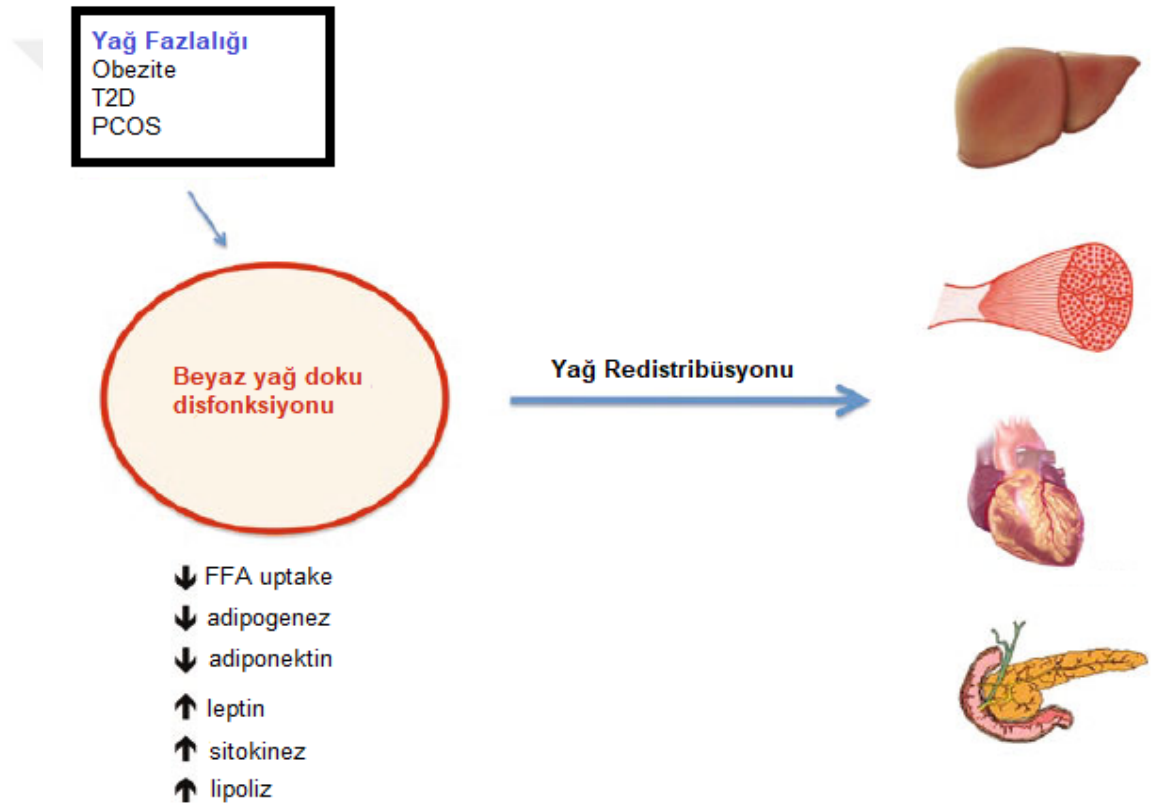
Total vücut elektrik iletkenliği, dalgalanan manyetik alanın koil empedansındaki değişimleri tespit ederek, iletkenliği belirleyebilmesi prensibine dayanmaktadır. Yağlı ve yağsız dokular arasındaki iletkenlik farklılıkları vücut kompozisyon değerlerinin elde edilen değerlerden çıkarımını sağlar (43).

## 2.1.5. Obezite Komplikasyonları

### 2.1.5.1. Erken Dönem Komplikasyonlar

#### İnsülin Rezistansı

İnsülin direncinin önemli bir belirleyicisi, visseral ve abdominal bölgelerde yağ depolanması ve yağın beyaz adipoz dokudan (BAD) karaciğer, iskelet kası, kalp ve pankreas gibi ekstra adipoz dokulara yeniden dağıtılmasıdır (Şekil 2) (44). İnsülin direnci olan obez kişilerde, yağın yeniden dağılımı BAD disfonksiyonunu yansıtabilir (45).



Şekil 2. Beyaz yağ doku disfonksiyonu ve etkileri.

**T2D:** Tip 2 Diabetes Mellitus, **PCOS:** Polikistik Over Sendromu, **FFA:** Serbest Yağ Asidi (45).

Ekstra adipoz dokularda lipidlerin birikmesi, insülin etkisine dirence ek olarak doku metabolizması ve fonksiyonundaki değişiklikler ile de ilişkilidir (44). Hepatik ve renal glukoneogenezin (GNG) artması açlık hiperglisemisine; postprandiyal hiperglisemiye neden olan iskelet kası glukoz alımında azalmalara;

hepatik GNG ve lipolizi destekleyen, glukagon sekresyonunda paradoksal bir artışa; bir kemik oluşumu belirteci ve insülin duyarlılaştırıcısı olan serum osteokalsininde azalmaya neden olur. Beyindeki insüline direnç, lipolizi ve GNG'yi arttırmakta ve böylece serbest yağ asidi ve glukoz seviyelerini arttırmaktadır, bu durum obez kişilerde bazal ve uyarılmış büyüme hormonu seviyelerinin düşmesini kısmen açıklayabilir (45).

### **Hiperinsulinemi**

Obezitede, insülin direncinin doku ve fonksiyon selektif olduğuna dikkat edilmelidir. Bazı dokular insülin etkisine dirençli hale gelirken, diğerleri insüline duyarlı kalır. Benzer şekilde, belirli bir organ içindeki belirli metabolik işlemler insülin etkisine karşı dirençli olabilirken, aynı organ içindeki diğer işlemler insüline duyarlılığı koruyabilir.

Obezite ve diğer insüline dirençli hallerde, insülin salgılanmasında abartılı fakat düzenlenmemiş bir artış olması, beta hücresi yetmezliği oluşana kadar aşikar metabolik dekompanseasyona karşı koruma sağlar. Akantozis gelişimine ek olarak, hiperinsülineminin önemli metabolik sonuçları vardır (44). Hepatik glukoz üretiminin insülini baskılamasına karaciğer dirençli hale gelirken, insülin rezistansı kaynaklı hiperinsulinemi hepatik lipogenezi uyarır. Bu durum, karaciğerde trigliserit depolanmasına (“yağlı karaciğer”), VLDL üretimine, sistemik hipertrigliseridemiye ve HDL seviyelerinde sekonder bir azalmaya yol açar. Şiddetli hipertrigliseridemi eruptif ksantomalar ve pankreatite neden olabilir. Hepatik insülin-benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 1 ve 2 sayesinde oluşturulan insülin downregülasyonu, serbest insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) düzeylerini artırabilir. Bu durumda düşük büyüme hormonu (GH) sekresyonuna rağmen lineer büyüme devam ettirilebilir veya hızlanabilir. Hepatik seks hormon bağlayıcı globülinin (SHBG) insülin tarafından baskılanmasıyla beraber ovaryen tekal androjen üretiminin upregülasyonu serbest androjen düzeylerini artırır, böylelikle erken adrenarş ve gençlerde polikistik over sendromu ortaya çıkabilir. Hiperinsulinemi oreksijenik bir hormon olan ghrelin sekresyonunu baskılayarak daha fazla kilo alımını sınırlayabilir. Ancak insülin fazlalığı renal sodyum ve su tutulumunu, vasküler endotelin 1 üretimini ve sempatik sinir sistemi aktivitesini artırarak

vazokonstriksiyon ve hipertansiyona neden olur. Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda, insülin direncinin arka planında hiperinsülineminin olması, metabolik sendromun klinik fenotipini büyük ölçüde açıklamaktadır (45).

### **Kronik Enflamasyon**

Obezite ile birlikte makrofajlar selektif olarak dokularda birikir; leptin, interlökin-6, TNF $\alpha$  ve osteopontin gibi proinflamatuvar sitokin düzeyleri artar ve antiinflamatuvar bir sitokin olan adiponektin düzeyleri azalır. Kronik enflamasyon hücresel fonksiyonu bozabilir ve hücre hasarına yol açabilir; bunun en önemli örneklerinden biri yağlı karaciğer hastalığıdır. Bu hastalık zamanla steatohepatit, siroz ve nadiren (çocuklarda) hepatik yetmezliğe neden olabilir (45).

### **Aşırı Yağ Birikimine Sekonder Kitle Etkisi**

Karaciğer ve kalpte aşırı yağ birikimi hepatomegali ve kardiomegali gelişimine katkı sağlar. Boyun, damak ve tonsiller/adenoid bölgelerde yağ birikimi aşırı horlama, huzursuz uyku ve gün içi yorgunluk ile seyreden obstrüktif uyku apnesine yatkınlığı artırır. Obez (özellikle de kadın) hastalarda psödötümör serebri gelişimi abdominal venöz ve intratorasik basınç artışı ile ilişkili olabilir. Herhangibir nedenle aşırı kilo alımı, kemik ve eklemler üzerine aşırı yük binmesine neden olarak Blount hastalığı gibi ortopedik sorunlara yol açabilir (45).

### **2.1.5.2. Geç Dönem Komplikasyonlar**

#### **Tip 2 Diabetes Mellitus**

Tip 2 diabet gelişiminde obezitenin merkezi bir rol oynadığı çeşitli çalışmalarla net bir şekilde ortaya konmuştur (46, 47). Bu çalışmalarda adolesan çağda da devam eden çocukluk çağı obezitesinin genç erişkinlikte tip 2 diyabet riskini 4-28 kat artırabildiği gösterilmiştir. Yapılan bir meta-analizde çocukluk çağındaki (7-18 yaş) BKİ'de 1 SD'lik bir artışın erişkinlikte tip 2 diyabet riskini %74 oranında artırdığı tespit edilmiştir (48).

Çocuk ve adolesanlarda obezite oranlarındaki artış dünya çapında 35 yaş üzeri tip 2 diyabet oranlarındaki artışın en azından bir kısmını açıklamaktadır. NCD Risk Faktörü İşbirliği verilerine göre, 1980-2014 yılları arasında dünya çapında yaş

standardizasyonu yapılmış diabetes mellitus prevalansı erkeklerde %4,3'ten %9,0'a, kadınlarda ise %5'ten %7,9'a çıkmıştır (49). Diyabeti olan erişkinlerin sayısı 1980'de ~180 milyondan 2014'te ~422 milyona çıkmıştır; kesin rakamlardaki bu artışın yalnızca %40'ı popülasyondaki artış ve yaşlanmaya atfedilebilir. Diabet prevalansındaki artış en dramatik olarak Asya, Kuzey Afrika, Orta Doğu ve Okyanusya'daki değişim içerisinde olan toplumlarda gözlenmektedir (45).

### **Kardiovasküler Hastalıklar**

Çocukluk ve adolesan çağıdaki obezite, erişkinlikteki gibi hipertansiyon, hiperinsulinemi ve hipertrigliseridemiye yatkınlık yaratır. LDL partikül sayısı artarken HDL düzeyleri azalmaktadır. Çeşitli çalışmalarda gösterildiği üzere obezite ve kardiyak risk faktörleri adolesan ve erişkinlerde ateroskleroz ve karotis intima-media kalınlık artışında sinerjistikdir (47, 50, 51).

İsrailli adolesanlar üzerinde gerçekleştirilen büyük çaplı bir çalışmada obezite koroner arter hastalığında 4,9 kat risk artışı ile ve 47-57 yaş aralığında kardiovasküler ölümlerde 4,1 kat artışla ilişkilendirilmiştir; bunun tüm kardiyovasküler ölümlerin beşte birini ve koroner arter hastalığına bağlı ölümlerin dörtte birini oluşturduğu tahmin edilmektedir (52). Ayrıca, bir meta-analizde çocukluk çağı ve adolesan çağda (7-18 yaş) BKİ'de 1 SD'lik bir artışın erişkinlikte koroner kalp hastalığı gelişim riskini %14-30 oranında artırabileceği ortaya koyulmuştur (48).

Pubertal kilo alımının kritik bir rolü olduğu, yapılan güncel bir çalışmada gösterilmiştir. Kardiovasküler mortalite adolesan çağda kilo alan erişkin erkeklerde artarken; çocukluk çağında obez olup adolesan çağda obezitesi olmayanlarda böyle bir risk artışına rastlanmamıştır (53).

### **Hipertansiyon ve Renal Hastalık**

Sistolik hipertansiyon, obezitenin sık görülen bir komplikasyonudur ve ventriküler hipertrofi, karotid arter intima media kalınlaşması, endotel disfonksiyonu, proteinüri, renal skar ve inme ile ilişkilidir (54). Hipertansiyon olmasa bile, obezite

fokal glomerüloskleroza neden olabilir; bununla birlikte, obezite ve hipertansiyonun kombinasyonu böbrek yetmezliğine ilerleyebilecek kısır bir döngü oluşturur (45).

### **Maligniteler**

Yağsız erişkinlere kıyasla, obez erişkinlerde özofagus adenokarsinomu, endometriyal karsinom, karaciğer, mide, böbrek, safra kesesi, pankreas ve kolon kanserleri gibi çeşitli maligniteler açısından risk artışı mevcuttur. Yetişkin obezitesinde karsinogenezi desteklediği düşünülen mekanizmalar arasında hiperinsülinemi, hipoadiponektinemi, seks steroid dengesindeki anormallikler ve serbest IGF-1, leptin ve proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerinde artışlar bulunmaktadır (45).

Çocukluk çağı obezitesi ve yetişkin malignitesi arasındaki ilişkiye dair çalışmalar sınırlıdır, ancak yapılan bir meta-analizde, çocukluk çağında BKİ'de 1 SD'lik bir artışın, erişkin dönem kolon ve böbrek kanseri oranlarında ~%20 artış ve karaciğer kanseri oranında %10–30 oranında artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir (48). Eşzamanlı tip 2 diyabet, yağlı karaciğer hastalığı olan kişilerde karaciğer kanseri riskini belirgin şekilde artırmaktadır (45).

#### **2.1.6. Tedavi**

Obezite, gittikçe artan bir halk sağlığı problemi olmaktadır. Son kanıtlara göre obezite ABD'de önlenebilir ölüm nedenleri arasında sigaraya yakın şekilde ikinci sırada yer almaktadır. Çocuk ve adölesan obezite tedavisinde şu anda mevcut üç modalite bulunmaktadır, bunlar diyet ve davranış modifikasyonu, farmakolojik tedavi ve cerrahi tedavi olarak gruplanabilir. Cerrahi müdahale BKİ  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup> olduğu ve tip 2 diyabet, obstrüktif uyku apnesi veya psödotümör serebri gibi hastalıkların eşlik ettiği durumlarda veya BKİ  $\geq 50$  kg/m<sup>2</sup> ve eşlik eden hipertansiyon, dislipidemi veya metabolik sendrom gibi hastalıklar varlığında düşünülebilir. Davranışsal yaklaşımlar genellikle psikolog, davranış terapisti, diyetisyen veya egzersiz fizyoloğu tarafından uygulanır. Kilo kaybı için davranış tedavilerinin çocuklarda erişkinlere göre daha kalıcı olduğuna dair bulgular mevcuttur (55).

Nütrisyonel balansın sağlanması iki yolla olur: Alınan kalenin kısıtlanması ve harcanan kalenin artırılması. Obezite gelişmesinde önemli rol oynayan

faktörlerden birincisi hatalı beslenmedir. Bu bağlamda yüksek kalorili gıdaların alınması, hazır yemek, hızlı yemek, sık veya seyrek yemek, gece yatmadan önce yemekobezite gelişmesini kolaylaştırıcı unsurlardır (56).

Yapılan kontrollü çalışmalarda diyet ve egzersiz kombinasyonu sadece diyet ile karşılaştırıldığında daha fazla kilo kaybı gözlenmiştir ve egzersiz, kilo kaybının uzun süreli olmasına yardımcı olmaktadır (57). Başarılı egzersiz programlarının ortak özellikleri, sık profesyonel bağlantı ile birlikte denetlenmeyen, resmi bir kimlik taşımayan egzersizlerin ve egzersiz modu olarak yürümenin kullanılması, orta dereceli intensiteye sahip evde gerçekleştirilen egzersizleri temel almasıdır (58).

Egzersiz, kalori kullanımını gerektirir ve orta dereceli bir egzersiz bile hareketsizlikten iyidir. Bu nedenle çocuklar boş zamanlarını pasif eylemler yerine hareketli geçirmeleri için teşvik edilmelidirler. Egzersiz, yağsız vücut kütlesi kaybını azaltabilir. Diyetle kaybedilen kilonun %25 kadarı yağsız vücut kütlesidir. Aerobik çalışmalar ve dayanıklılık çalışmaları yağsız vücut kütlesindeki azalmayı en aza indirir. Egzersiz yapan çocukların yapmayanlara göre belirgin olarak daha az visceral yağ dokusu depolanması gösterilmiştir (57).

Çocukluk ve ergenlik döneminde sık görülen ve önemli bir sağlık sorunu olan obezite etyolojisinde organik etkenlerin yanında çevresel ve psikolojik etkenlerinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Sıklıkla uygulanan tedavi, yeme tutumlarını değiştirmeye yönelik davranışçı tedavidir. Değerlendirme sürecinde ayrıntılı öykü alınması çok önemlidir. Tercih edilen yemek çeşitleri, tatlılara eğilim, aşırı yeme dönemlerinin ortaya çıktığı zaman, iştahın uyarıldığı çevresel koşullar, gece atıştırma, sosyal baskılar, stres etkenleri, eşlik eden depresyon ve diğer psikiyatrik bozukluklar ile ilgili ayrıntılı öykü alınması gereklidir. Önemli olan aşırı yeme davranışını özendiren çevresel etkenleri kontrol edebilmektir.

#### **2.1.6.1. Farmakolojik Tedavi**

Pediyatrik obezitede farmakoterapi için daha ileri çalışmalar yapılmasını beklemek gerekmektedir. Farmakoterapinin diyet, egzersiz ve davranış tedavisini içeren bir program ile etkinliğini karşılaştıran randomize, çift kör, plasebo kontrollü, uzun süreli (1 yıldan fazla) çalışmalar yoktur. Oldukça nadir olan genetik temelli

leptin eksikliğinde rekombinant leptin tedavisi kanıtlanmıştır. Klinik deneyleri sürdürülen diğer ilaçların arasında hipotalamik obezite sendromu olan çocuk ve adolesanlarda kullanılan octreotid (bir somatostatin agonisti) bulunmaktadır. Bilinen bir sendromu olmayan çocuklarda orlistat (bir gastrointestinal lipaz inhibitörü), sibutramine (bir norepinefrin, serotonin ve dopamin geri alım inhibitörü) ve metformin (kilo kaybı etkisinin mekanizması tam olarak ortaya konmamıştır) aktif olarak araştırılmaktadır (59).

### **2.1.6.2. Cerrahi Tedavi**

Morbid obezlerde uygulanan cerrahi tedaviye genel olarak bariatrik cerrahi denilmektedir. Bariatrik cerrahide; jejunoileal ve gastrik bypass, gastrik duplikasyon, gastrik bandaj gibi yöntemler uygulanmaktadır. Cerrahi tedavi için hasta seçim ölçütleri çeşitlilik göstermekle birlikte en sık kullanılan ölçütler şunlardır (60):

1. Masif obezite (ideal ağırlığın iki katından fazla ağırlık) bulunması
2. Masif obezitenin en az iki yıldır var olması
3. En az bir yıl süre ile diyet tedavisi uygulanması ve bu tedavinin yetersiz olduğunun klinisyenlerce belirlenmesi
4. Obeziteye yol açabilecek metabolik veya endokrin bir hastalık (Cushing Sendromu, hipotiroidizm) bulunmaması
5. Ameliyat riskini artırabilecek ek hastalık bulunmaması
6. Ameliyat sonrası yan etkiler ve komplikasyonlar anlatıldıktan sonra hastanın tedaviye istekli olması
7. Hastanın mental kapasitesinin ve emosyonel durumunun ameliyatı ve ameliyat sonrası oluşacak değişiklikleri tolere edebilecek düzeyde olması
8. Hastanın psikolojik olarak stabil olduğunun psikiyatristlerce belirlenmiş olması

Son yıllarda morbid obez adolesanlarda bariatrik cerrahi uygulamalarıyla erişkinlerdeki gibi başarılı sonuç elde edilmelerine rağmen barsak obstruksiyonları,

pulmoner emboli, ülserler, mikronutrient eksiklikleri gibi ciddi komplikasyonlar görülebilmektedir (60).

## **2.2. Obezite ve Genetik**

Obezite epidemisinin kökenini açıklamak için birçok farklı hipotez öne sürülmüştür. İki önemli olası katkıda bulunan faktörün spesifik gıda pazarlaması ve tüketim alışkanlıkları ile fiziksel aktivitede azalma olduğu genel olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, enfeksiyonlar, anne yaşı, uyku açığı, endokrin sistemi bozucu maddeler (endüstriyel kimyasallar gibi), ortam sıcaklığı değişimlerinde azalma, intrauterin ve nesiller arası etkiler ve ilaca bağlı kilo artışı gibi diğer katkı yapan faktörler de vardır (61). Bu katkı yapan faktörlerin önemine rağmen, genetik faktörlerin obez olma riskinde kilit bir rol oynadığı bilinmektedir (62).

Genetiğe atfedilebilen obezite yüzdesi %6 ila 85 arasında değişmektedir (63). Kalıtım derecesinin yüksek olması tahmin edilmesine ve onlarca yıllık moleküler genetik araştırmalara rağmen, obezite ile ilişkili çok az gen fraksiyonu tespit edilmiştir. Obezitenin genetik bileşenini anlamak için ikiz çalışmalar kullanılmıştır (64). Bouchard ve arkadaşları aşırı besleme ve düzenli egzersizler deneyerek, monozigotik ikizlerin, dizigotik ikizlere kıyasla vücut ağırlığı, vücut kompozisyonu ve enerji harcamasında daha benzer değişiklikler olduğunu bildirmişlerdir (65). Ek olarak, evlat edinme çalışmaları, biyolojik ebeveynlerin BKİ'si ile evlat edinilen çocukları arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir; ancak evlat edinen ebeveynlerle benzerlik bulunamamıştır. Bu çalışmalar, obezite ve adipozitenin kalıtsal faktörler olduğunu göstermektedir (66).

### **2.2.1. Poligenik Obezite**

Obezite epidemisinin yalnızca tek gen hastalıklarından kaynaklanmadığı, ancak karmaşık bir genetik arka plana sahip olduğu iyi karakterize edilmiştir. Yaygın obezitesi olan bir hasta, vücut ağırlığı üzerinde küçük birer etkiye sahip olan birçok genetik duyarlılık varyantına sahiptir (67). Obezite patogenezinde genlerin etkileri sıklıkla diğer genler ve çevreyle birleştiğinde daha güçlü hale gelir. Bu genlerin obezite ile ilişkileri bağlantı analizleri, aday gen sekanslama ve genom çapında

ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) gibi çeşitli yaklaşımlar ile değerlendirilmektedir (62).

Son yıllarda, genetik epidemiyolojik çalışmalarda obezitede önemli biyolojik görevler üstlenebilecek olan çeşitli genler tanımlanmıştır. Güncel olarak, Locke ve arkadaşları BKİ için GWAS ve Metabochip meta analizi yürütmüşlerdir (68). Bu geniş çaplı çalışmada toplam 97 adet BKİ ile ilişkili lokus tanımlanmış olup bunların 56'sı yeni keşfedilmiştir. Bu lokusların birçoğu farklı biyolojik işlemlerde rol alan genlerin içinde veya komşuluğunda yer almaktadır. Bu biyolojik işlemler arasında nöral gelişim (FAIM2, PTBP2 ve ST5), hipotalamik ekspresyon ve düzenleyici fonksiyon (TMEM18, SCG3 ve GRP); uzuv gelişimi (RARB, TFAP2B ve LMX1B), lipid biyosentezi ve metabolizması (CYP27A1, CYP17A1 ve NR1H3), hücre proliferasyonu (PARK2 ve OLFM4) ve immün sistem (IL22RA2, MAN1A1, IFNGR1) bulunmaktadır. Dahası bazı genler, daha önce şiddetli erken başlangıçlı obezite ile ilişkilendirilmiştir (BDNF, MC4R, SH2B1, TUB ve POMC). Bu 97 lokus BKİ varyasyonlarının %2,7'sine karşılık gelmektedir ve bunların sık rastlanan varyantları obezite vakalarının yaklaşık %21'ini etkilemektedir. Ancak bu geniş çaplı çalışmaya rağmen, insanlardaki obezitede var olan genetik değişkenliklerin çoğu bilinmemektedir (62).

### **2.2.2. Non-Sendromik Obezitenin Monogenik Formları**

Son 15-20 yıl boyunca, tek gen mutasyonlarının insanlarda şiddetli erken başlangıçlı obeziteye neden olabildiği gösterilmiştir (69). Bu tür vakaların değerlendirilmesi, obeziteye yol açabilecek kritik patofizyolojik yollarda yer alan genler hakkında yeni ufuklar açan bilgiler sağlamıştır. Bu genler hipotalamus ve leptin-melanokortin sisteminin gelişiminde fizyolojik birer rolü olan enzim ve reseptörleri kodlamaktadır (62).

#### **2.2.2.1. Hipotalamus Gelişimi ve İştah Kontrolü**

Hipotalamus vücudun sıcaklık, fertilité, susama ve iştah fonksiyonlarının düzenlenmesinde görevli olan beyin bölgesidir (70). Hipotalamusun şiddetli obezitedeki rolü 20. yüzyılın başından beri temellendirilmektedir. İlk olarak, kedi ve farelerin hipotalamuslarını kimyasal ve elektriksel olarak hasarlayarak oluşturulan deneylerde kilo alımı veya kaybı lezyon lokasyonu ve büyüklüğü ile

ilişkilendirilmiştir. Bu deneylerde hipotalamusta yiyecek alımını baskılayan veya artıran belirli bir devrenin varlığı öne sürülmüştür (71). İnsanlarda, hipotalamik bölgede tümörü olan hastaların obez olması vücut kilo regülasyonunda hipotalamusun rol aldığını akla getirmiştir (72). Günümüzde, hipotalamusun, nöral ve hormonal sinyaller yoluyla vücudun besinsel durumu ve enerji depoları hakkında bilgi toplayarak enerji homeostazını sağlayıcı bir görevi olduğu bilinmektedir (73). Hipotalamusun nöronal farklılaşması beyin-kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), single-minded transkripsiyon faktörü 1 (SIM1) ve tirozin kinaz reseptörü (TRKB) gibi çeşitli proteinlerle kontrol edilmektedir (70). İlginç olarak, bu protein fonksiyonlarını bozan patojenik mutasyonlar insanlarda şiddetli başlangıçlı obeziteye yol açabilmektedir (74, 75).

Obezite gelişimi uzunca bir zaman aralığı boyunca enerji alımı ve tüketimi arasındaki dengesizlikten kaynaklanmaktadır (76). Yiyecek alımı ve vücut ağırlığının kontrolünden sorumlu yolların en önemlilerinden biri hipotalamusta bulunan leptin-melanokortin sistemidir. Bu sistem, nöral dolaşımı olan periferik organların besinsel durumu ve enerji depolarından gelen bilgileri işleyen önemli bir enerji dengesi yolağıdır (77).

Bu yolak, leptin (adipositler tarafından üretilir) kan beyin bariyerini geçip hipotalamusun arkuat çekirdeğindeki iki farklı nöron grubunda bulunan reseptörlerine bağlandığında aktive olur. Her iki nöron grubu enerji homeostazı için önemli olan yiyecek alımı ve enerji tüketiminin düzenlenmesi üzerinde görev almaktadır. Bu gruplardan biri yiyecek alımını uyaran nöropeptit Y (NPY) ve agouti ilişkili protein (AgRP) salgılayan, diğer grup yiyecek tüketimini baskılayan (anoreksijenik yolak) proopiomelanokortin (POMC), kokain ve amfetaminle düzenlenen transkript (CART) salgılamaktadır (78).

Beyin, vücudun beslenme durumu ve periferik hormonlar tarafından enerji depoları hakkında bilgi alarak enerji homeostazisini kontrol edebilir. Vücutta yiyecek kısıtlaması, açlık hali ve/veya enerji depolarında azalma varsa, mideden ghrelin salgılanır ve bu hormon oreksijenik nöronlarda bulunan ghrelin reseptörüne bağlanarak NPY ve AgRP üretimini artırır. Oreksijenik nöronlar hipotalamusun paraventriküler çekirdeği ile bağlantı kurar ve bunların nöropeptitleri yiyecek alımını

uyaran ve bazal enerji tüketimini azaltan melanokortin reseptörleri üzerinde antagonistik etki oluştururlar. Ancak, vücutta adipozite ve/veya enerji replasmanı olduğunda beyaz yağ dokusu oreksijenik nöronlardaki reseptörüne bağlanacak olan (LEPR) leptin sekresyonu yaparak bu yolağı baskılar. Dahası, leptin anoreksijenik nöronlardaki reseptörüne de bağlanarak POMC ve CART üretimini artırır. POMC hormonu, proprotein konvertaz 1/3 (PC1/3) ile işlenerek  $\alpha$  melanosit uyarıcı hormona ( $\alpha$ -MSH) parçalanan ve paraventriküler nükleusta (PVN) bulunan melanokortin-4 reseptörüne (MC4R) bağlanan bir protein öncüsüdür.  $\alpha$ -MSH ve CART tarafından MC4R aktivasyonu neticesinde doyumluk sinyali artarak iştahı baskılar ve bazal enerji tüketimi artar. Leptin-melanokortin yolağıyla ilişkili genlerdeki mutasyonlar enerji dengesi için kritik rol oynamaktadır ve şiddetli erken başlangıçlı obezite gelişimi ile ilişkilidir (62).

#### **2.2.2.2. *Non-Sendromik Monogenik Obezite Resesif Formları***

Monojenik obezitenin ilk kanıtı 1950'lerin başlarında kemirgenlerde bulundu. Ob/ob mutant farelerin normal hayvanlardan dört kat daha fazla ağırlığa sahip olduğu rapor edilmiştir (79). Daha ileri araştırmalar ile Coleman, ob/ob farelerinin, gıda alımını ve metabolizmasını düzenleyen yağ dokusundan gelen sinyal yolu eksikliğine sahip olduğunu keşfetti (80). Konumsal klonlama ve dizilemeden sonra, leptin geni (LEP) tanımlandı ve karakterize edildi (81). İnsanlarda, LEP genindeki patojenik mutasyonlar, düşük leptin seviyeleri, hiperfaji ve şiddetli erken başlangıçlı obezite ile ilişkilidir (82, 83).

Son 15 yıldır leptin eksikliği olan az sayıdaki vaka üzerinde yürütülen çalışmalarda leptin eksikliğinin fenotipik bulguları ve leptin replasman tedavisinin etkileri araştırılmıştır (62). Monogenik aşırı obezite resesif formlarının incelenmesi, genlerin rolünü leptin-melanocortin yolundan ayırmada faydalı olmuştur. Bununla birlikte, LEP'teki fonksiyonel mutasyonlara bağlı olarak bu resesif obezite formları çok nadirdir ve çoğunlukla akraba evliliklerinin sık olduğu ailelerde tespit edilmiştir. Bugüne kadar, bu mutasyonların her biri için  $\leq 40$  kişinin homozigot olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, 73 bireyde LEP sekanslama için yapılan sistematik bir çalışmada vakaların %22'sinin LEP mutasyonları açısından homozigot olduğu ortaya

çıkarıldı. Bu çalışmada, az sayıda gene odaklanılsa bile erken başlangıçlı şiddetli obezitenin sistematik olarak genetik değerlendirilmesi monogenik obezite vakalarında anlamlı oranlar ortaya çıkarabildiği gösterilmiştir (83). Leptin eksikliği fenotipindeki pek çok hastada düşük düzeyde veya tespit edilemeyecek düzeylerde serum leptini olsa da var olan leptin biyolojik olarak inaktiftir (84).

LEP'e ek olarak, LEPR reseptöründe homozigot fonksiyon kaybı da insanlarda şiddetli hiperfaji ve erken başlangıçlı ekstrem obezite ile ilişkilidir. LEPR'deki homozigot mutasyonlar, hiperfaji, erken başlangıçlı morbid obezite, pubertal gelişim yetersizliği, büyüme hormonu ve tirotropinin salgılanmasında bozulma ile karakterize hastalarda tanımlanmıştır. Farooqi ve ark. nonsens veya missens LEPR mutasyonu olan sekiz adet şiddetli obez vaka bildirmiştir (85).

POMC, dokuya özgü post-translasyonel işleme ile aktive edilen hipotalamus, hipofiz bezi ve beyin sapında ifade edilen kompleks bir propeptittir (70). POMC, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve  $\alpha$ ,  $\beta$ - ve  $\gamma$ -melanosit uyarıcı hormon (MSH) gibi melanocortin peptit ailesi öncülüdür. Bu peptidlerin cilt pigmentasyonu, adrenal büyümenin ve enerji dengesinin kontrolü üzerinde önemli bir rolü vardır (86). Çocuklarda POMC genini inaktive eden farklı mutasyonlar bildirilmiş olup, bu çocuklarda şiddetli erken başlangıçlı obezite, adrenal yetmezlik ve pigmentasyon anormallikleri ortaya çıkmıştır (87). Krude ve arkadaşları ilk kez insanlarda konjenital POMC eksikliği bildirmiştir (88). Yaptıkları çalışmada şiddetli çocukluk çağı obezitesi olan iki hastada adrenal hipoplazi, kırmızı saç ve soluk ten varlığı bildirilmiştir. Her ne kadar POMC mutasyonları bir pigmentasyon anormalliğine yol açsa da, bu özellik tüm vakalarda mevcut değildir (62). Yakın zamanda, POMC eksikliğinin klasik fenotipinde ilginç bir başka varyasyon Samuels ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (89). Bu çalışmada immünojenik olarak tespit edilebilir non fonksiyone peptitler üreten varyantlardan kaynaklı dolaşımda yüksek düzeyde ACTH bulunan 4 yaşında bir kız çocuğu ile 4 aylık bir erkek çocuk bildirilmiştir.

Proprotein dönüştürücüsü subtilisin/kexin tip 1 genindeki (PCSK1) boş mutasyonlar nadir görülen bir sendromik olmayan obezite formuna neden olur (90). PCSK1, nöral ve endokrin dokularda salgılanan PC1/3'ü kodlar (94). Beyinde, PC1/3 hipotalamusta yüksek seviyelerde salgılanır ve POMC'un a-MSH'ye bölünme

işlemine etki eder (91). Hiperfaji, santral diyabet insipidus, şiddetli malabsorptif diyare ve diğer endokrin disfonksiyonlar ile seyreden birkaç PC1/3 eksikliği vakası bildirilmiştir. Bu eksiklik, protein olgunlaşmasını etkileyen ve katalitik aktivitede bozulma oluşturan mutasyonlarla açıklanabilir (90). PC1/3 eksikliği otozomal resesif bir hastalık olarak tanımlansa da, şiddetli obezite fenotipi vahşi bir allelin kaybı ile ilişkilendirilmektedir (62).

### **2.2.2.3. Non-Sendromik Monogenik Obezite Dominant Formları**

Obezite arka planını anlamadaki ilerleme çoğunlukla nadir genetik formların tanımlanmasıyla sağlanmaktadır. Her ne kadar çeşitli gen varyantlarının resesif obezite formlarına neden olduğu tespit edilmiş olsa da, BDNF, NTRK2, SIM1, MC4R, SH2B1, MRAP2 ve LRP2'deki zararlı mutasyonlar için heterozigotluk da ciddi erken başlangıçlı obezite ile ilişkilendirilmiştir (62).

BDNF, NTRK2 ve SIM1 hipotalamus gelişiminde rol alan önemli proteinlerin kodlanmasından sorumludur (70). BDNF ve reseptörü olan TrkB (NTRK2 tarafından kodlanmıştır), merkezi sinir sistemindeki nöronların, özellikle de hipotalamik nöronların çoğalmasında, hayatta kalmasında ve farklılaşmasında rol oynar (92). SIM1 gıda alımının düzenlenmesi için kritik bir bölge olan paraventriküler çekirdeğin gelişiminde ve fonksiyonunda major rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür (93). İnsanlarda, bu genlerdeki patojenik mutasyonlar hiperfaji ve ağır obezite fenotipi ile ilişkilidir (62).

Obezite aynı zamanda insanlarda SIM1 haplo-yetmezliği ile de ilişkilendirilmiştir (94). SIM1'deki nadir görülen missens mutasyonlar da obezite ile ilişkilendirilmiştir (95). Son zamanlarda, SIM1'in kodlama bölgesi 2100 şiddetli erken başlangıçlı obezite probandlarında ve 1680 kontrolde sekanslanarak 28 hastada 13 heterozigot varyant belirlenmiş ve bunlardan dokuzunun SIM1'in in vitro aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir. Patojenik varyantları olan bu hastalar arasında, 11 bireyde, şiddetli erken başlangıçlı obeziteye ek olarak, bozulmuş konsantrasyon, duygusal değişkenlik ve hafıza eksikliği gibi kognitif eksikliklere dair bulgular tespit edilmiştir (96). Bu nedenle, BDNF, NTRK2 ve SIM1 haplo-yetmezliği, insanlarda bilişsel bozulmanın yanı sıra erken başlangıçlı obezite ile de ilişkilendirilmiştir (62).

MC4R, a-MSH için reseptördür ve doygunluğu düzenlemesi nedeniyle enerji homeostazında, gıda alımında ve vücut ağırlığında kilit bir rol oynar (97). Bu rolle uyumlu olarak, MC4R işlev kaybı mutasyonları, insanlarda şiddetli erken başlangıçlı obeziteye yol açan iştah artışı ile ilişkilidir (98). Günümüzde 150'den fazla varyant bilinmektedir ve zararlı MC4R varyantlarının prevalansı obez çocuklarda %0,5 ile %5 arasında değişmektedir (99). MC4R mutasyonları, monogenik obezitenin en yaygın genetik nedenidir ve ayrıca poligenik formlara katkıda bulunur (100). MC4R eksikliğinin nadir formları ko-dominant formda kalıtılır (101). MC4R eksikliği olan çeşitli vakalarda erken başlangıçlı obezite, hiperfaji, şiddetli hiperinsulinemi ve lineer büyümede artış tanımlanırken; endokrin ve antropometrik fenotipler diğer raporlarda doğrulanmamıştır (98). Farmakolojik ilaçlar MC4R eksikliği olan hastaların tedavisi için geliştirilmekte olduğundan, patojenik mutasyonların tanımlanması oldukça önem arz etmektedir (102).

Src homologisi 2 B adaptör proteini 1 (SH2B1), leptin-melanokortin sinyalizasyonunu modüle eden bir sitoplazmatik adaptör proteinini kodlar (103). SH2B1'deki heterozigot çerçeve kayması ve missens varyantlar, sosyal izolasyon ve agresif davranış eğilim gibi davranışsal anormallikler, obezite ve insülin direnci ile ilişkilendirilmiştir (104).

Ek olarak, bir iskelet proteini görevi gören kinaz baskılayıcı ras 2 de (KSR2) daha önce obezite ile ilişkilendirilmiştir (105). KSR2, enerji homeostazında, insülin duyarlılığında ve hücrel yakıt oksidasyonunda rol oynar. Erken çalışmalar farelerde KSR2 delesyonunun obezite ve insülin direnci ile ilişkili olduğunu göstermiştir (106). Ayrıca, KSR2, obezite ve tip 2 diyabetle bağlantılı bir kromozom bölgesinde yer almaktadır (107, 108).

Daha yakın zamanda, dominant monojenik obezite ile ilişkili genlerin listesine LRP2 de eklenmiştir (109). LRP2, uzun form leptin reseptörüne (LepRb) bağlanarak ko-lokale olan ve hipotalamik nöronlarda endositoza maruz kalan bir kompleks oluşturur. Daha sonra, bu ortak lokalize kompleksin endositozu, hipotalamik nöronlarda transkripsiyon 3 sinyal transdüseri ve aktivatörünün (STAT3) aktivasyonuna yol açar. Sonuç olarak, gıda alımı ve vücut ağırlığı azalır.

Fonksiyonel LRP2'nin yokluğunda, STAT3 sinyalleri azalır. Bu nedenle açlık uyarılır ve tokluk azalır, obezite ortaya çıkar (110).

## **2.3. Obezitenin Genetik Tanısında Kullanılan Yöntemler**

### **2.3.1. Genetik Bağlantı Analizi**

Bağlantı analizi, familyal agregasyonlu mendelyen özelliklerin genetik haritalanması için en çok kullanılan yöntemdir. Bu genetik yaklaşım, ebeveynlerden yavrulara aktarma modelinin yanı sıra, araştırılmakta olan varyantlar/lokuslar için alel sıklıklarını da tespit eder. Bu miktar belirleme işlemi, test edilen lokuslar arasındaki rekombinasyon örneklerini de dikkate alır. Bu bilgilerin tümü, alternatif hipotez altında (değişkenler ve hastalık arasında bağlantı veya ko-segregasyona dair kanıtların eldesinde) bir olasılık oranı oluşturmak için kullanılır. Bu teknik ilişkili kişilerde bir hastalık veya spesifik bir fenotip ile ko-segregat oluşturan lokusları tanımlamak için kullanılır. Leptin geninin pozisyonel klonlama ile keşfedilmesinde, bağlantı kavramının metodolojik yaklaşımında kullanılmış olması dikkat çekicidir (81).

Nükleer ailelerin (ebeveynler ve yavrular dahil) veya obezite fenotipini gösteren geniş ailelerin mevcudiyeti, bağlantı analizi yapmak için uygun bir paradigma teşkil edecektir. Bu tür bir yaklaşımda genetik homojenliğin en üst düzeye çıkarıldığını ve bu analizleri çok güçlü kıldığını da belirtmek gerekir. Kohortların genetik olarak homojen popülasyonlardan seçilmesi şartıyla, az sayıda aile için bile geçerlidir. Diğer taraftan, ilişkilendirme çalışmaları yalnızca daha düşük fenotipik etkilerin vakaları ve kontrolleri arasındaki allel-frekans farklılıklarını tespit edebilir ve bu durum ekstrem düzeyde fazla örneklem sayısı gerektirir. Dolayısıyla, LOD puan hesaplamasının bu faktörlerin birçoğunu içerdiği ve sadece vakalar ve kontroller arasındaki allel sıklığı farklarını içermediği göz önünde bulundurulduğunda, bu analiz GWAS ve/veya diğer ilişkilendirme analizlerinden çok daha güçlü bir sonuç vermektedir. Bu durum özellikle majör etkinin nadir varyantlarını tanımlarken hastalar hastalığın ekstrem fenotipik formlarını taşıdığına önem arz edecektir. Öte yandan GWAS, sık görülen hastalık-sık görülen varyant hipotezine dayanır ve bu nedenle en iyi ihtimalle sadece küçük etkileri olan

varyantlar saptanabilir. İlişkilendirme çalışmalarında majör etkinin nadir görülen varyantlarını tespit etmek için çok büyük örneklem boyutlarına ihtiyaç vardır (62).

Son olarak, aday hastalık varyantları olarak de novo mutasyonları tanımlayabilme kabiliyeti olan yeni bağlantı algoritmaları ortaya çıkmıştır. Böylelikle, tüm bu avantajlarla birlikte, ilişkilendirme ve bağlantı analizlerinin gücünü kombine etmek için geliştirilen yeni stratejiler de geliştirilmektedir (111).

### **2.3.2. Aday Gen Sekanslama**

Bu yaklaşımda aday genlerde spesifik bir karakteristik özellik açısından genetik belirteçler üzerinde çalışma amaçlanır. Bu genler, öncesinde çalışılan fenotipe uygun yolaklarla ilişkili bilimsel kanıtlar ve hastalıkla gen arasında olası bir ilişki gösterilmiş erken çalışmalar vasıtasıyla belirlenir (112). Bu genin aday varyantları doğrulama için Sanger sekanslamaya sokulur ve bunların sekansları referans insan genomuyla kıyaslanır. Sanger sekanslama son 20 yıldır genomik bulguları doğrulamada gold standarttır. İyi belirlenmiş vakalarda, sekanslama sayesinde hastaların %46'sına kadar genetik tanıya ulaşılabilmektedir (113). Güncel olarak, spesifik bir gen hakkında yüksek bir şüphe olması halinde bile, yeni jenerasyon sekanslama oldukça maliyet etkin bir birinci basamak yaklaşımdır (62).

### **2.3.3. Kromozomal Mikrodizi Analizi**

Farklı çalışmalarda kopya sayısı varyasyonlarının (KSV; duplikasyonlar, delesyonlar gibi) tanımlanmasına odaklanılarak obeziteye duyarlılık hakkındaki bilgiler artırılmak istenmiştir. Daha önceki çalışmalarda şiddetli erken başlangıçlı obezitesi olan bireylerin KSV'lerinde bir zenginleşme olduğu belirtilmiş olup bu durum varyasyonların bu hastalık için bir risk artışı temsil edebileceğini düşündürmektedir (114). Bu bağlamda kromozomal mikrodizi analizi, genomda KSV'leri araştırmak için kullanışlı bir araçtır (115).

Kromozomal mikrodizileme; özellikle mikrodelesyonlar, mikroduplikasyonlar ve kromozom sayısına ilişkin pek çok anomaliyi tanımlamada kullanışlıdır. Etkinliği düşse de bu yöntem ile dengeli olmayan yeniden düzenlemeler, imprinting, triploidi ve dakik "punctual" mutasyonlar büyük oranda tanımlanabilmektedir. Ancak, fragil X sendromu gibi daha büyük delesyon ve

mutasyonlar ile inversiyon ve dengeli translokasyonlar gibi dengeli yeniden düzenlemeler, bu yöntem ile tespit edilemez (62).

#### **2.3.4. Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS)**

Yeni teknoloji çağı, karmaşık multigenik bozukluklarla ilişkili ortak varyantların tanımlanmasının önünü açmıştır. GWAS'da, genom boyunca çok sayıda DNA belirteci taranır ve istatistiksel analizler yoluyla, hastalık veya spesifik fenotip ile ilişkili lokusları tanımlamak mümkündür (69). Şimdiye kadar, GWAS metodolojileri vasıtasıyla obezite duyarlılığı veya ilgili özellikleri 119 ortak gen varyantı ile ilişkilendirilmiştir (116). Yağ kütlesi ve obezite ilişkili gen (FTO), obezitenin GWAS çalışmalarında ilk bulunan lokus olarak bilinmektedir. Bu bulgu, Avrupa ve Afrika kökenli kohortları da içeren farklı çalışmalarda tekrarlanmıştır. Bu araştırmacılar, BKİ artışı ile ilişkili FTO'nun ilk intronundaki sık karşılaşılan bir varyant kümesi tanımlamışlardır. Dahası bu sık görülen polimorfizmler, vücut ağırlığı ve vücut yağ dağılımı ile ilişkilendirilmiştir (117).

Yakın bir zamanda, bir GWAS meta-analiz çalışmasında, BKİ varyasyonlarının %2,7'sine karşılık gelen obezite ile ilişkili 97 lokus tanımlanmıştır. GWAS, obeziteye yatkınlık yaratan bölgeleri tanımlamak için yapılan etkili ve güçlü bir yöntem olsa da; bulgular bu hastalığın tahmini kalıtsallığını açıklamada yeterince güçlü değildir (22). Ayrıca GWAS, popülasyon düzeyinde poligenik obezite ile ilişkili olan ancak bireysel düzeyde Mendelyen form tanısında uygulanamayan sık rastlanan varyant ve lokusları belirlemede kullanışlı bir yaklaşımdır. Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda, obezitenin genetik alt yapısının anlaşılmasında daha fazla moleküler çalışma ve yeni metodolojilere ihtiyaç duyulmaktadır (62).

#### **2.3.5. Yeni Nesil Dizi Analizi**

Henüz yeterli veri ve bulgular elde edilememiş olmasından, obezitenin genetik alt yapısının aydınlatılması için farklı moleküler stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır. Son zamanlarda, monojenik obezite formlarının teşhisinde daha kesin ve hızlı bir tarama yaklaşımı geliştirilmiştir ve başarıyla uygulanmaktadır (118). Yeni nesil dizi analizi, hasta için daha iyi bir yaşam sağlayacak kişiselleştirilmiş ilaçların gelişiminin önünü açabilecek mutasyonların belirlenmesine olanak sağlar

(119). Bu bağlamda en yaygın örneklerden biri, rekombinant leptin ile tedavi edilebilen, LEP geninde fonksiyon kaybı mutasyonları olan ağır obez hastalardır (120).

Yeni nesil dizi analizi, nörogelişimsel ve otoimmün hastalıklar gibi durumların tanısı için kliniklerde kullanılmaktadır (121, 122). Vakaların %22-46'sında bu yöntem vasıtasıyla bir tanı konulabilmektedir. Belirgin genetik heterojenite varlığında ve diğer spesifik testlerden sonuç alınmadığında, aile hikayesi ve fenotip spesifik olmayan bir genetik hastalığın kuvvetle düşünüldüğü durumlarda bu analiz endikedir (123). Trioların sekanslaması (her iki biyolojik ebeveyn ve proband), anlamlı mutasyonların keşfedilme ihtimalini artırmaktadır (yalnız proband sekanslandığında %23 iken, trio sekanslama %30). Ek olarak, bu yöntem de novo mutasyonlar ile bileşik heterozigotların tespitini kolaylaştırır (124). Kardeşler sekanslandığında resesif mutasyon keşfetme ihtimali artmaktadır; singleton sekanslama çocuklarda daha yüksek tanısal oranlar sağlamaktadır (erişkin %18, çocuk %23) (125).

Güncel olarak tüm-ekzom sekanslama (TES), tüm genom sekanslamaya kıyasla daha ucuz olduğundan ve protein kodlayan genomun %95'ini kapsadığından varyantların tanımlanmasında daha sık kullanılır hale gelmiştir. Obezite alanında TES uygulaması henüzyeni başlamıştır ancak halihazırda daha önceki yaklaşımlarla tespit edilememiş erken başlangıçlı şiddetli obezite ile ilişkili yeni genlerin (KSR2, SH2B1 ve LRP2) tanımlanmasına katkı sağlamıştır (104, 105, 109). Ek olarak Saeed ve ark. Pakistanda şiddetli obezitesi olan 73 çocuğu analiz etmiş ve vakaların %30'unu açıklayacak şekilde LEP, LEPR ve MC4R genlerindeki homozigot varyantlarda fonksiyon kayıpları tanımlamıştır (83). Aynı çalışma grubu, LEP, LEPR, MC4R, NTRK2, PCSK1, POMC ve SIM1'i içeren obezite ile ilişkili 26 gendeki kodlayıcı bölgeleri de sekanslamış, homozigositesi olan iki yeni LEPR mutasyonu bulunan erken başlangıçlı şiddetli obezite ve yüksek leptin düzeyleriyle seyreden iki proband tespit etmişlerdir (126). Bu nedenle hem tüm ekzom hem de tüm genom sekanslama, nadir obezite formlarının genetik tanısında kullanılabilecek önemli araçlardır (62).

Ekzomun %5'lik kısmının incelenememesi ve bazı mutasyonların atlanması TES teknik kısıtlılıkları arasında bulunmaktadır. Dahası TES, yalnızca genomun %2'sinden az bir kısmına karşılık gelen protein kodlayıcı bölgeleri kapsamaktadır. Ayrıca CG tekrarlarından oluşan bazı alanların sekanslanması güçtür, küçük insersiyonlar/delesyonlar yanlış verilere yol açmaktadır, uzamış gen ve psödogenlerin haritalandırması zordur. Genişlemiş yapısal varyasyonlar tüm genom sekanslama yoluyla daha iyi tespit edilebilirken kopya sayısı varyasyonları önceki bölümlerde bahsedildiği gibi kromozomal mikrodizileme ile daha iyi yapılabilmektedir (62).

### **2.3.6. Nadir Varyant İlişkilendirme Testleri (RVAT)**

GWAS'ın analizleri geçmişte hastalığa neden olan varyantları başarıyla tanımlamış olsa da, ortak hastalık-ortak varyant hipotezine dayanmaktadır. Bu nedenle özellikle büyük etkiye sahip hastalık yapıcı allellerin düşük sıklıkta görülme eğiliminde olduğunu belirten hipotezler dikkate alındığında bu tür analizler, eksik kalıtıma yol açabilecek nadir varyant çalışmaları için uygun değildir. Bu nedenle son yıllarda, nadir varyant ilişkilendirme testlerini (RVAT) yapmak için yeni yöntemler geliştirilmiştir. Bunların en dikkat çeken Çekirdek Bazlı Adaptif Küme (Kernel Based Adaptive Cluster)'dir. Bu gen bazlı ilişkilendirme testi, potansiyel olarak majör etkiler yaratabilecek nadir varyantların küçük bireysel etki büyüklüğü nedeniyle tamamen gözden kaçırılmasını engellemektedir (127).

## **2.4. Non-Sendromik Monogenik Obezitede Güncel Klinik Yaklaşımlar**

Yüksek verimli yeni nesil sekanslama teknolojilerine dayanan umut verici yaklaşımlar, genetik tanıya kılavuzluk etme ve gelecekte yeni genler ve yollar belirleme potansiyeline sahiptir. Monogenik obezitenin moleküler teşhisi hastalar ve aileleri için önemlidir, çünkü klinisyenler bu vasıta ile hastayı uygun şekilde yönetebilir ve genetik danışmanlık sağlayabilirler (128). Bu hastaların yaşam tarzı ve davranışsal modifikasyona dayalı olarak yönetilmeleri, uzun vadede çok etkili görünmemektedir, çünkü kilo vermeye ve/veya kilo vermelerini devam ettirmeye karşı nispeten dirençlidirler (129).

Bariatrik cerrahi şiddetli obezite için etkili bir tedavidir; bununla birlikte monogenik obezite formlarına sahip hastalarda etkinlik hakkında veriler son derece sınırlıdır ve hala tartışmalara açıktır (130). Roux-en-Y gastrik by-pass'a yönlendirilen heterozigot MC4R mutasyonlu erişkin hastalarda, MC4R mutasyonları olmayan kontrol grubu hastalarla kıyaslandığında aşırı kilo kaybı etkisi gözlenmiştir. Bu hastalar cerrahi sonrası yaklaşık %60 düzeyinde fazla kilolarını kaybedebilmektedir (131).

Günümüzde, leptin eksikliği olan hastalarda spesifik tedavi bulunmaktadır. Bu vakalarda, erişkin ve çocuklar insan rekombinan leptin subkutan enjeksiyonlarıyla tedavi edilerek yiyecek ve kilo alımları azaltılmaktadır. Ayrıca metreleptin uygulaması, bu hastalarda görülen metabolik ve endokrin disfonksiyonları büyük oranda düzeltmektedir (132). Ne yazık ki leptin tedavisi, LEPR-eksikliği olan hastalarda reseptörler non-fonksiyone olduğundan etkisizdir. Ek olarak non-sendromik monogenik obezitesi olan diğer hastalarda spesifik bir tedavi henüz bulunmamaktadır. İştah kontrolü ve vücut kilosunu düzenleyen fizyolojik sistemler anti obezite ilaçları için çok sayıda hedef noktaya ev sahipliği yapabilir. Bu alanda halen yürütülmekte olan klinik deneyler bulunmaktadır (133).

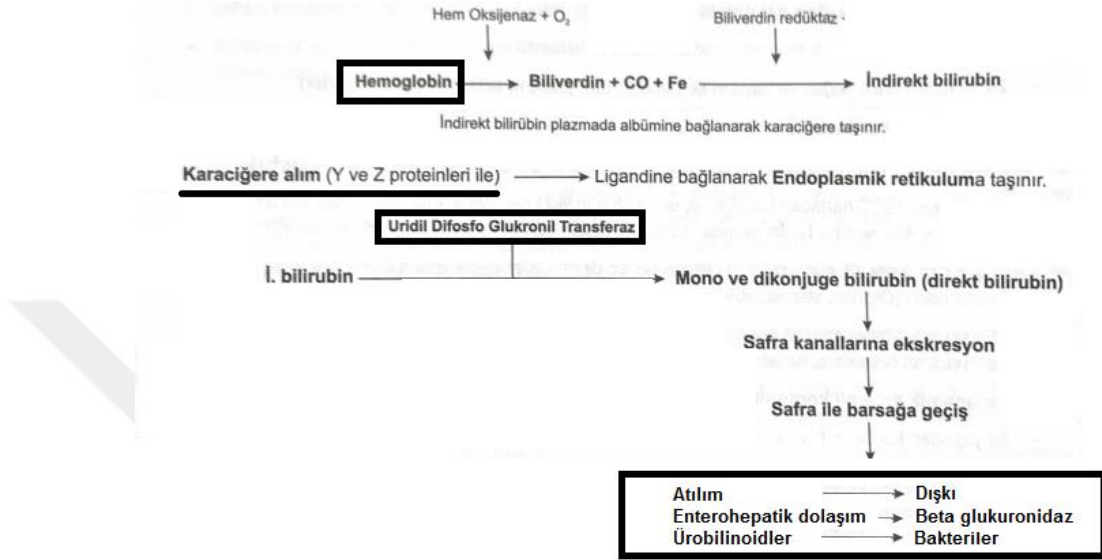
## **2.5. UGT1A1 Geni ve İlişkili Klinik Durumlar**

### **2.5.1. Normal Fonksiyon**

UGT1A1 geni sitogenetik olarak 2. Kromozomun uzun (q) kolunda 37,1 pozisyonunda konumlanmaktadır. UGT1A1 geni, UDP-glukuroniltransferazlar adı verilen enzimlerin üretiminde görev alan bir gen ailesine aittir. Bu enzimler, glukuronidasyon adı verilen ve glukuronik asit denilen bir bileşiğin birkaç farklı maddeden birine bağlandığı (konjüge edilmiş) kimyasal bir reaksiyon gerçekleştirir (134).

UGT1A1 geninin proteini, bilirubin üridin difosfat glukronil transferaz (bilirubin-UGT) enzimi olarak da bilinir, bilirubini glukronidasyona uğratan tek enzimdir. Bu enzim bilirubinin toksik formunu (konjüge olmayan bilirubin) non-toksik forma (konjüge bilirubin) çevirerek çözünür hale getirir ve vücuttan atılımını sağlar (134).

Bilirubin-UGT enzimi, bilirubin glukronidasyonun gerçekleştiği yer olan karaciğer hücrelerinde primer olarak bulunmaktadır. Konjuge bilirubin safrada çözünür (134) (Şekil 3).



Şekil 3. Bilirubin metabolizmasında UGT enziminin rolü

## 2.5.2. İlişkili Klinik Durumlar

### 2.5.2.1. Crigler-Najjar Sendromu

UGT1A1 geninde, Crigler-Najjar sendromuna neden olan en az 85 mutasyon tanımlanmıştır. UGT1A1 geninin her iki kopyası da etkilendiğinde hastalık ortaya çıkmaktadır. Crigler-Najjar sendromu, kanda yüksek oranda indirekt bilirubin (indirekt hiperbilirubinemi) ve cildin, gözlerin sararması (sarılık) ile karakterizedir. Etkilenen bazı kişilerde, beyinde indirekt bilirubin birikimi nedeniyle ölümcül olabilen kernikterus tablosu gelişebilmektedir (134).

UGT1A1 genindeki Crigler-Najjar sendromuna neden olan mutasyonlar bilirubin-UGT enziminde fonksiyon azalması veya kaybına neden olur. Crigler-Najjar sendromu tip 1 (CN1) olan kişilerde enzim fonksiyonu yoktur. Crigler-Najjar sendromu tip 2 (CN2) olan kişiler normal fonksiyonun yüzde 20'sinden azına sahiptir. CN1'in belirti ve semptomları, CN2'den daha şiddetlidir (134).

### **2.5.2.2. Gilbert Sendromu**

UGT1A1 genindeki değişiklikler Gilbert sendromuna neden olabilir. Bu durum nadiren sarılık ataklarına yol açan hafif indirekt hiperbilirubinemi dönemleri ile karakterizedir (134).

Gilbert sendromu dünya çapında görülebilmekle birlikte bazı mutasyonlar belirli popülasyonlarda daha sık görülür. Birçok popülasyonda, Gilbert sendromuna neden olan en yaygın genetik değişim, bilirubin-UGT enziminin üretimini kontrol eden, promotör bölgesi adı verilen UGT1A1 geninin yakınındaki bir alanda meydana gelir. Gilbert sendromuna neden olması için bu değişikliğin UGT1A1 geninin her iki kopyasında da meydana gelmesi gerekmektedir (134).

UGT1A1\*28' değişimi, Asya popülasyonlarında nadir görülür. Gilbert sendromlu Asyalılar, genellikle UGT1A1 geninin bir kopyasında bilirubin UGT enziminde tek bir protein yapı bloğunun (amino asit) değişmesine neden olan bir mutasyona sahiptir. Bu popülasyondaki en yaygın mutasyon, glisini amino asidini enzimin 71 konumundaki arginin ile değiştirir (Gly71Arg veya G71R olarak yazılır). Missens mutasyon olarak bilinen bu tip mutasyon, enzim fonksiyonunun azalmasına neden olur (134).

Gilbert sendromlu kişiler normal bilirubin-UGT enzim fonksiyonunun yaklaşık %30'una sahiptir. Sonuç olarak, konjuge olmayan bilirubin yeterince hızlı bir şekilde glukuronize edilmez ve vücutta birikir ve hafif hiperbilirubinemiye neden olur (134).

### **2.5.2.3. Diğer Hastalıklar**

Sarılık yenidoğanlarda sık görünse de, UGT1A1 genindeki mutasyonlar geçici ailesel neonatal hiperbilirubinemi adı verilen daha ciddi bir durum gelişme riskini arttırır. Bu durumda, yenidoğanlarda ağır konjuge olmayan hiperbilirubinemi ve sarılık görülür ve genellikle 1-2 haftada kaybolur. Bazı bebeklerde kernikterus, işitme kaybı veya diğer nörolojik problemler görülür. G71R mutasyonu geçici ailesel neonatal hiperbilirubinemi ile ilişkili en yaygın mutasyondur. UGT1A1 gen mutasyonu olan Asyalı fakat beyaz olmayan yenidoğanlarda bu durumun gelişme riski vardır (134).

Bazen yenidoğan sarılığı emzirme ile ilişkilidir: Konjuge olmayan bilirubin, bebek emzirildiğinde artar, sarılığa neden olur ve emzirme uzun bir süre durduğunda normale döner. Genellikle anne sütü sarılığı olarak adlandırılan bu durum doğumdan 5 veya 10 gün sonra ortaya çıkar ve yaklaşık 4 aylıkken kaybolur. Kernikterus, tipik olarak anne sütü sarılıklı bebeklerde görülmez. Araştırmalar, etkilenen bebeklerin annelerinin anne sütündeki bir maddenin, glukuronidasyonu engellediğini göstermektedir. Ek olarak etkilenen birçok bebek UGT1A1 geninin bir kopyasında mutasyona sahiptir, en yaygın olarak G71R mutasyonu görülmekte olup mutasyonun konjuge olmayan hiperbilirubineminin altında yatan neden olduğu düşünülmektedir. Anne sütündeki madde, zaten bozulmuş bilirubin-UGT enzim işlevine sahip bebeklerde konjuge olmayan bilirubin oluşumunu tetikleyebilir (134).

### **2.5.3. Bilirubin Metabolizmasının Obezite, Metabolik Sendrom ve Kardiovasküler Hastalıklar ile İlişkisi**

Bilirubin seviyeleri ile koroner arter hastalıkları arasında ilk kez 1994 yılında negatif bir ilişki tanımlanmıştır (135). Bu tarihten beri, serum bilirubin seviyeleri düşük kişilerde hem koroner hem de periferik aterosklerotik hastalıklar açısından risk artışı olduğunu ortaya koyan çok sayıda çalışma yayınlanmıştır (136). Serum bilirubin konsantrasyonlarının koroner arter kalsifikasyonu ve iskemik inme ile de negatif olarak ilişkili olduğu bulunmuştur (137, 138); ek olarak Gilbert sendromlu hiperbilirubinemili kişilerde karotid arterlerde intima-media kalınlık artışında belirgin bir yavaşlama olduğunu gösteren bir çalışma yapılmıştır (139). Yapılan bir çalışmada serum bilirubin seviyesinde her 1,0 µmol/L'lik artışın kardiovasküler hastalık riskini %6,5 oranında azalttığı gösterilmiştir (140).

Serum bilirubin konsantrasyonları ile anormal glukoz testleri arasında ilk kez 1996 yılında negatif bir ilişki olduğuna değinilmiş ve günümüze kadar çok sayıda araştırmada bilirubin düzeyleri ile diyabet riski arasındaki ilişki incelenmiştir (141). Inoguchi ve ark. Gilbert sendromu olan diyabetik hastalarda vasküler komplikasyon prevalansının azaldığını ortaya koymuştur (142). Yapılan bir başka çalışmada ise UGT1A1 geninde (TA)<sub>7</sub> promoter varyasyonu olan kişilerde diyabet prevalansının daha düşük olduğu belirtilmiştir (143). Benzer şekilde, yapılan diğer çalışmalarda bilirubinün diyabetik hastalarda hem klinik hem de laboratuvar sonuçları

üzerine koruyucu etkilerini destekleyen bulgular elde edilmiştir. Serum bilirubin konsantrasyonlarının albuminüri, HbA1c düzeyleri ile negatif ilişkili olduğu gösterilmiştir (136).

Çocuk ve adolesanlarda hem insulin rezistansı hemde metabolik sendrom prevalansı serum bilirubin konsantrasyonları ile negatif ilişkili olduğu tespit edilmiştir (144). Bu veri ile uyumlu olarak Kore’de 12.000 katılımcı üzerinde yapılan geniş çaplı güncel bir çalışmada metabolik sendrom prevalansının fenotipik Gilbert sendromlu kişilerde daha düşük olduğu gösterilmiştir (145).

Bilirubin düzeyleri ve abdominal obezite arasında negatif bir ilişki olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (136). Kilo vermenin çeşitli kardiovasküler risk faktörlerini azalttığı göz önünde bulundurulduğunda, kilodaki her yüzde birlik azalmanın serum bilirubin konsantrasyonlarında lineer bir artış ile ilişkili olduğuna dikkat edilmelidir (146). Bilirubin düzeyleri ile UGT1A1 gen promoter varyantları arasındaki yakın ilişki, Asyalı popülasyonlarda Gilbert sendromundan, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı riskindeki azalmadan sorumludur (147). Dahası obezite, metabolik sendrom, diyabet ve komplikasyonlarının patogenezinde “hem” katabolik yolağının önemini ortaya koymaktadır (136).

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Araştırma Tipi, Yeri ve Hastaların Seçimi

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk polikliniklerine başvuran obez hastalarda yapılmış genetik bir çalışmadır. Hastalar ve ailelerine araştırma ile ilgili sözlü, yazılı bilgi verilmiş olup, yazılı olarak sunulan katılımcı bilgilendirme formunu onaylayan gönüllüler çalışmaya dahil edildi. Araştırma kesitsel bir çalışmadır.

### 3.2. Araştırmaya Dahil Olma Kriterleri

Çalışmaya Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk polikliniklerine başvuran hastalar dahil edildi. Çalışmamızda okul çağındaki 6-17 yaş çocuklardan oluşan, BKM>95p olan 45 hasta ve BKM<85p olan 14 kontrol grubu olmak üzere 2 grup vardı. Hem obez hem de kontrol grubu içine aşağıdaki kriterlerden en az bir tanesi pozitif olanlar çalışma dışı tutuldu:

- a) Akut enfeksiyonel hastalık bulunması
- b) Sigara içenler
- c) Tip 1-2 Diyabetes Mellitusu olanlar
- d) Kronik hastalığı olanlar (kardiyovasküler, gastrointestinal ve solunum sistemi)
- e) Kalıtsal hastalığı olanlar
- f) İnflamatuvar hastalığı olanlar
- g) Bulaşıcı hastalığı olanlar
- h) Obeziteye sebep olabilecek ilaç kullanım öyküsü olanlar (steroidler ve antipsikotikler)
- i) İkincil obezite ile sonuçlanan endokrin patolojisi olan (Cushing sendromu, hipotroidi vb.)
- j) Obezite ile ilişkili sendromlardan (Prader-Willi ve Laurence-Moon, Bardet-Biedl sendromları dahil)

### 3.3. Araştırmanın Genel Planı

Çalışma için Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındı (Etik kurul onay tarihi: 27.05.2019 ve Onay numarası:2019/120). Araştırmamız, 2018.04.03.797 numaralı proje ile Düzce Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeler Birimi tarafından desteklenmiştir. Hastalara ve ailelerine sözlü olarak araştırmanın konusu ve amacı hakkında bilgi verildi, çalışmaya katılmayı kabul eden katılımcıların velilerinden bilgilendirilmiş onam formu alındı.

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşı ve cinsiyeti, doğum şekli, doğum haftası, doğum ağırlığı, ilk obezite tanısı aldıkları yaşları, antropometrik bulguları, anne sütü alma süreleri, mama kullanım durumları ve süreleri, ek gıdaya geçiş zamanları anket formuna kaydedildi.

Çalışmaya katılan 59 çocuğun boy ve ağırlık ölçümleri yapıldı. Ölçümler aynı ekip tarafından, çocukların üst giysileri ve ayakkabıları çıkartılarak, aynı tartı aleti ve boy-ölçer kullanılarak gerçekleştirildi. Boyları duvara monte Stadiometre (Harperden) ile dik ve ağırlık iki ayağa eşit dağıtılmış pozisyonda, baş arkaya dik yaslanmış şekilde ve ayakkabısız ölçüldü, ağırlıkları ise ADE marka digital tartı cihazı ile ölçüldü.

Alınan ağırlık ve boy ölçümleri kullanılarak her çocuğun vücut kitle indeksi [VKI=Ağırlık/boy<sup>2</sup> (kg/m<sup>2</sup>)] hesaplandı. Ayrıca her çocuğun ağırlık ve boy ölçümleri Neyzi standartlarına göre değerlendirildi ve persentilleri belirlendi. BKİ 95 persentil üzerinde olanlar ise obez kabul edildi.

Total bilirubin, direkt bilirubin, indirekt bilirubin, CRP,Glukoz, AST, ALT, TG, LDL, HDL, VLDL, GGT, ve ürik asit laboratuvarımızda bulunan BECKMAN COULTER AU680 cihazı ile çalışıldı.

TSH, sT4, insülin laboratuvarımızda bulunan BECKMAN COULTER UNİCEL DxI 600 cihazı ile çalışıldı.

HBA1C, BİO-RAD VARIANT II cihazı ile çalışılmıştır. Kortizol ROCHE cobas 6000 cihazı ile çalışıldı.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan genetik analiz için ekstra kan alınmadı. Rutin amaçlı alınan kanlardan geriye kalan atık kanlar kullanıldı. Atık kanlardan 2 cc EDTA'lı (Etilenediaminetetraasetik asit) tüpe kan örnekleri alındı. Örnekler, örnek toplama işlemi tamamlanıncaya kadar -20°C'de saklandı.

Obez hastalar obezitenin başladığı yaş baz alınarak "2 yaş atında obezite başlayan olgular" ve "2 yaş üstünde obezite başlayan olgular" olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Ailelere herhangi bir sağlık kuruluşunda bir hekim tarafından ilk kez ne zaman "obez" tanısı konulduğu soruldu.

### **3.4. Genetik Çalışmalar**

Genetik çalışma için çalışmaya dahil edilecek olan tüm bireylerin periferik kanlarından DNA izolasyon yapıldı. İzole edilen DNA örneklerinden hedeflenen gen bölgeleri, bu bölgelere spesifik olarak dizayeedilen primerler kullanılarak çoğaltıldı ve daha sonra saflaştırma işlemi uygulandıktan sonra hedefe yönelik yeni nesil dizi analizi yöntemiyle bu bölgelerin moleküler genetik analizi yapıldı. Yapılan işlemlerin detayları aşağıda sunulmuştur.

#### **3.4.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)**

Dizisi bilinen bir DNA bölgesinin in vitro olarak çoğaltılmasını sağlayan ve DNA molekülünün milyonlarca, hatta milyarlarca kopyasını kısa zamanda yapmaya olanak sağlayan bir tekniktir.

Nükleik asit dizilerinin canlı dışında, kolay bulunabilen bir ekipman ile kısa bir süre içerisinde ve yüksek miktarda çoğaltılmasına olanak sağlayan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) keşfedildikten sonra birçok uygulamanın önünü açmış ve yaygın olarak kullanılmasına neden olmuştur. Öyle ki PCR moleküler genetikteki devrim niteliğindeki buluşlardan biridir. DNA'nın üstel olarak artmasını sağlar ve teorik olarak sadece 20 döngüde 1 milyon kez çoğalma sağlanabilir. Ayrıca ısıya dayanıklı DNA polimeraz enziminin kullanılması, PCR için otomasyonun kolayca uygulanmasını sağlamıştır.

Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi, çoğaltılması (replikasyon) istenen DNA veya RNA'nın, bir tüp içerisine gereken diğer maddelerle birlikte konularak üç

değişik ısıda, bir döngü içerisinde tutulmasına ve bu siklusların belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır.

İşlem sırasında ortama konmuş olan *Thermus aquaticus* (Taq) polimerazı veya başka ısıya dayanıklı polimerazlar, uygun sentez sıcaklığı olan 72-74°C'de hedef DNA'ya yapışmış primerlerin 3' ucundan başlayarak istenen DNA bölgesinin kopyasını sentezler. Bu tekrarlayan sentezleme işlemi sonunda milyonlarca kopyalık çok yüksek yoğunluğa ulaşan hedef DNA/RNA molekülü, PCR sonrası agaroz jel elektroforezi gibi bir yöntemle gösterilebilir.

Polimeraz zincir reaksiyonu döngüsünde ilk aşamada DNA'nın iki zinciri yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılır, amplifiye edilecek kalıp DNA başlangıçta 95-100°C'ye kadar ısıtılır ve sonrasında çift iplikçikli DNA iki tek iplikçiğe ayrılmış olur.

Primerler 15-30 bazlık oligonükleotidlerdir. İkinci aşamada sıcaklığın 50°C'ye düşürülmesi ile primerler tek iplikçik halindeki kalıp DNA'ya spesifik olarak bağlanırlar (annealing). Primerlerden biri kendine ait 5' ucu ile hedef DNA'lardan birinin 3' ucuna ve diğer primerler de, ikinci tek iplikçik DNA'nın, anti paralel olarak diğer ucunda bulunan 3' ucuna bağlanarak, DNA polimeraz'ın çalışma yönüne uygun olarak (5'-3') bağlanırlar. Üçüncü aşamada 72-74 °C'de sentez veya zincir uzaması aşaması (polimerizasyon) olur. Primerlerle sınırlandırılmış olan bölgenin taq polimeraz enzimi ile amplifikasyonu gerçekleşir. Yeni şekillenmiş olan sarmal, orijinal hedef DNA'dan denatürasyon yolu ile ayrılır. Bu üç basamak bir siklusu oluşturur ve her özgül DNA parçası kopyalanarak iki katına çıkarılmış olur. Sonradan yeni sentezlenen DNA da bir sonraki döngüde kalıp olarak kullanılır ve bu DNA parçaları logaritmik (üssel) bir artış gösterir. Burada önemli olan konu, çalışılacak olan DNA parçasının her iki ucunun nükleotid diziliminin bilinmesidir. Çünkü bu bilgi, ilgilenilen DNA parçasının her iki ucu için primer geliştirilmesini zorunlu kılar. Primerler oluşturulduktan sonra iki uç arasındaki bölüm PCR kullanılarak çoğaltılabilir.

Denatürasyon ve uzama aşamalarındaki ısılar değişmezken, bağlanma ısısı istenen DNA/RNA dizisinin AT/GC içeriğine göre değişiklik gösterir. Bu üç aşama

yaklaşık olarak 30-45 siklus kadar devam eder, bunun sonucunda hedef DNA/RNA parçasının yüz milyonlarca kopyasının oluşması sağlanır.

Polimeraz zincir reaksiyonu için; DNA/RNA örneği, bir çift sentetik primer, DNA polimeraz enzimi, nükleotid bazlar (A,T,C,G), uygun pH ve iyon koşullarını sağlayan tampon karışımı gereklidir.

### 3.4.2. DNA İzolasyonu

Hastalardan alınan EDTA'lı kanlardan spin kolon yöntemi ile DNA izole edildi. DNA izolasyonu REALPURE SPIN KIT–REAL kiti (Durviz, S.L.U) ile yapıldı. DNA izolasyonu için geliştirilmiş bu kit için kullanılan prosedür aşağıdaki gibidir:

1. 1,5 ml'lik tüp içerisine 100 µl tam kan eklendi.
2. 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.
3. 180 µl Tissue Lysis Buffer (REAL-E22) ve 20 µl proteinaz K (20 mg / ml) eklendi.
4. 55°C'de 30 dakika inkübe edildi.
5. 200 µl Lysis / Binding Buffer (REAL-REA01) eklendi.
6. 70°C'de 10 dakika inkübe edildi.
7. 300 µl saf izopropanol (MP Biomedicals -No: 19400690) eklendi.
8. Karışım toplama tüpü (REAL-R30) içerisine yerleştirilen kolon (REAL-RSC01) içerisine eklendi.
9. 8000 rpm'de 60 saniye çevrildi (Eppendorf–Centrifuge 5415R).
10. Toplama tüpü atılır, kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
11. 500 µl Disinhibition Buffer (REAL-REA03) eklendi.
12. 8.000 rpm'de 60 saniye çevrilir (Eppendorf – Centrifuge 5415R).  
Toplama tüpü atık kabına boşaltıldı.

13. 500 µl Wash Buffer (REAL-REA04) eklendi.
14. 8.000 rpm'de 60 saniye çevrilir (Eppendorf – Centrifuge 5415R).  
Toplama tüpü atık kabına boşaltıldı.
15. 13. ve 14. basamaklar tekrar edildi.
16. En yüksek hızda 90 saniye çevrilir (Eppendorf – Centrifuge 5415R).  
Toplama tüpü atılarak kolon 1,5 ml'lik steril tüpe yerleştirildi.
17. 70°C'ye ısıtılmış 10 µl Elution Buffer (REAL-REA05) kolona eklendi.  
70°C'de 60 saniye inkübe edildi.
18. En yüksek hızda 90 saniye çevrildi (Eppendorf–Centrifuge 5415R).
19. 17. ve 18. basamaklar iki defa tekrar edildi.
20. Kolon atıldı ve 1,5 ml'lik tüpte izole edilen DNA elde edildi.

### **3.4.3. Primerlerin tasarımı**

Çalışmaya dahil edilen bireylerde UGT1A1 geninin yeni nesil dizi analizi yapılacağından, UGT1A1 genine özgü ileri ve geriprimerlerinin tasarımında “PRIMER© – Primer Designer v.2.0 (Scientific & Educational Software)” yazılımı kullanılarak primer sentezi yapıldı.

### **3.4.4. Çalışma stratejisi**

MISEQ-Illumina yeni nesil dizileme cihazında havuzlama yöntemi ile DNA'lar eşit oranda karıştırılarak değerlendirildi, mutasyon olduğu belirlenen ekzonlar tüm hastalarda yeni nesil analizi tekniği kullanılarak her bir hastada ayrı ayrı değerlendirildi.

### **3.4.5. PCR Optimizasyonu**

Hedeflenen gen bölgelerinin amplifikasyonları aşağıda verildi olan tabloda gösterilen her bir havuz için hazırlandı olan PCR reaksiyon mikseri kullanılarak yapıldı.

**Tablo 1:** PCR reaksiyon miks içeriği

İçerik	Reaksiyon başına miktar (µl)
dH <sub>2</sub> O	15
5x Tampon (MgCl <sub>2</sub> 'li)	5
dNTP karışımı, her biri 10mM(ThermoFisherScientificInc.)	0,5
İleri Primer (5 µM)	1
Geri Primer (5 µM)	1
Phire II Taq DNA Polymerase (Thermo Fisher Scientific Inc.)	0,5
Kalıp DNA (20-50 ng/µl)	2
Toplam	25

PCR reaksiyonu için hazırlanmış olan mixler PCR tüplerine konularak T100 (BioradInc.) termal döngü cihazlarına yerleştirilmiş ve aşağıdaki protokol uygulanarak amplifikasyon işlemi gerçekleştirildi.

**Tablo 2:** Yapılacak olan PCR işlemi için hazırlanmış olan döngüleri ve süresini gösteren protokol

Sıcaklık (°C)	Süre (dk:sn)	Döngü
95	01:00	1
95	00:10	
60	00:10	45
72	00:20	
72	01:00	1
4	∞	1

### 3.4.6. Yeni Nesil Dizi Analizi (Next-Generation Sequencing (NGS))

Next-Generation Sequencing (NGS) olarak adlandırılan yeni nesil dizi analizi yönteminin temeli DNA'nın enzimatik reaksiyonlar sonucu parçalara ayrılarak çok sayıda DNA parçasıyla bir kütüphane oluşturulması ve sonrasında bu DNA parçalarının çoğaltılmasına dayanmaktadır. Online Mendelian Inheritance in Man

tarafından yapılan araştırmalara göre günümüzde 6000'den fazla tek gen hastalığı bulunmaktadır, bunlardan daha önemlisi bu hastalıkların nerdeyse %70'inin moleküler temeli bilinmemektedir. NGS yöntemiyle birçok hastalığın moleküler temelini anlaşılmasında büyük ilerlemeler kaydedilmeye başlanmıştır. NGS teknolojileri ile tüm genom ve tüm ekzom dizilenmesinin yanında hedefe yönelik olarak oluşturulan NGS panelleri ile etiyolojisi genetik heterojenite gösteren hastalıklar için çok sayıda gen aynı anda dizilenebilmektedir. Bu sayede obezite gibi fenotipik ve genotipik heterojenite gösteren hastalıkların genetik temelini ortaya konması mümkün olmaktadır. Hastalıklara neden olan genetik patolojinin gösterilmesiyle hastalara daha doğru genetik danışmanlık verilebilmekte, risk faktörü olan bireyler hızlıca taranabilmekte ve ayrıca gelecekte yapılan genetik araştırmalar sonucunda hatalı genlerin işlevlerinin yeniden düzenlenmesi ya da gen aktarımı yoluyla bu genlerin sağlıklı olanlarıyla değiştirilmesiyle hastalarda kalıcı tedavi sağlanacağı öngörülmektedir.

### **3.5. Çalışma Prensipleri**

Yeni Nesil Dizi Analizi yönteminin temeli DNA'nın enzimatik reaksiyonlar sonucu parçalara ayrılarak çok sayıda DNA parçasıyla bir kütüphane oluşturulması ve sonrasında bu DNA parçalarının çoğaltılmasına dayanmaktadır. Milyonlarca küçük DNA parçasının paralel sekanslama ile eř zamanlı olarak dizilenmesi sağlanmakta; bu sayede genomdaki her bir bazın birden çok kez okunması mümkün olmakta ve varyasyonlar daha doğru bir biçimde saptanabilmektedir. Sistem ana hatlarıyla; çalışma yapılacak biyolojik materyalin elde edilmesi, elde edilen biyolojik materyallerden genomik DNA'nın izolasyonu, izole edilen DNA'daki hedef bölgelerin seçilmesi, DNA'nın enzimatik reaksiyonla kesilerek DNA kütüphanesinin oluşturulması, kütüphaneyi oluşturan DNA parçalarının oğaltılması, DNA parçalarının dizilenmesi, dizileme sonrası ham verinin oluşturulması, kaynak dizi üzerine haritalama, olası değişimlerin tanımlanarak yorumlanması, sanger dizileme veya NGS ile doğrulama ve segregasyon analizi, aday patojenik değişimlerin belirlenmesi ve son olarak ta elde edilen bu verilerin raporlanması basamaklarından oluşmaktadır.

Bu çalışmada ise MiSeq (Illumina, San Diego, CA) sistemi kullanılmış ve hedefe yönelik dizileme (Targeted resequencing) yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntem için önce tasarlanan primer ile dizilenecek bölgeler çoğaltılmış ve ardından da barkodlanarak dizilenmiştir.

### 3.5.1. Nextera Protokol

Yeni Nesil Dizi Analizi için kütüphane hazırlığında Nextera V2 kit kullanılmaktadır. Kütüphane hazırlığı aşamaları aşağıdaki gibidir:

**Tablo 3:** 24 Örneklik Kit İçeriği Nextera XTDNA Library Prep Kit, 24 Indexes (FC-131-1024) 24-IndexKit

#### **Nextera XTDNA Library Prep Kit, 24 Indexes (FC-131-1024) 24-IndexKit Contents, Box 1**

Quantity	Acronym	Reagent Name	Storage Temperature
1	ATM	Amplicon Tagment Mix, 24 rxn	-25°C to -15°C
1	TD	Tagment DNA Buffer	-25°C to -15°C
1	NPM	Nextera PCR Master Mix	-25°C to -15°C
1	RSB	Resuspension Buffer	-25°C to -15°C
1	LNA1	Library Normalization Additives 1	-25°C to -15°C
1	LNW1	Library Normalization Wash 1	2°C to 8°C
1	HT1	Hybridization Buffer	-25°C to -15°C

#### **24-IndexKit Contents, Box 2**

Quantity	Acronym	Reagent Name	Storage Temperature
1	NT	Neutralize Tagment Buffer	Room temperature
1	LNBI	Library Normalization Beads 1	2°C to 8°C
1	LNS1	Library Normalization Storage Buffer 1	Room temperature

#### **IndexKit (24 Indexes) (FC-131-1001)**

Quantity	Reagent Name	Storage Temperature
4	tubes Index Primers, S502 to S504, and S517	-25°C to -15°C
6	tubes Index Primers, N701 to N706	-25°C to -15°C

### 3.5.2. PCR Amplifikasyonu

1. Her bir amplicon kendi metot talimatına göre hazırlanır.
2. Tüm ampliconlar exosap ile purifiye edilir.
3. Purifiye edilmiş ampliconların DNA konsantrasyonları nanodrop ile ölçülür.

4. Verilen listedeki havuzlar oluşturulur ve her amplicon havuzu qubid ile ölçülür.
5. Havuzdaki örnkeler 0,2ng/ul olacak şekilde seyreltilir ve sonraki aşamalara geçilir.

### **3.5.3. DNA Tagmentasyonu**

1. Tagmentasyon aşaması ( VTA plate)
2. 5ul örnek enzimatik olarak parçalanır ve sonrasında enzim aktivitesini durdurmak için nötralizasyon aşaması uygulanır.

### **3.5.4. Indeks PCR**

1. Tagmentasyon yapılmış örneklere 5 ul ( i7 ) ve 5ul ( i5 ) indeks primeri ile çift taraflı olarak barkot eklenir. Bu aşama kısa bir PCR işlemi ile uygulanır.

### **3.5.5. PCR Purifikasyonu**

1. Bu aşamada Ampure magnetik beadler kullanılarak örnekler purifiye edilir.

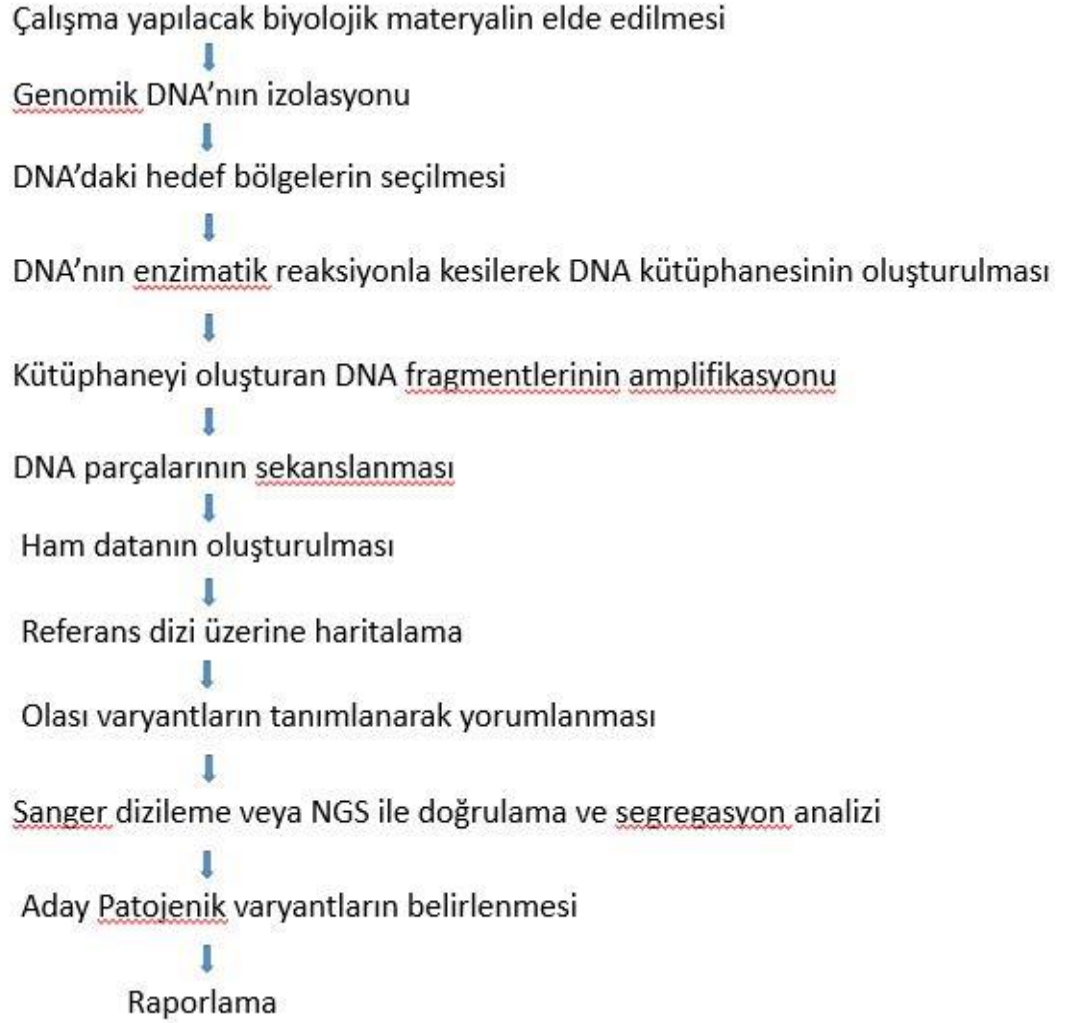
### **3.5.6. Kütüphane Havuzlama ve Miseq Cihazına Yükleme**

1. Bu aşamada her bir barkotlu örnek havuza eklenir. Bu örnek havuzu NaOH ile denatüre edilir ve üzerine gerekli miktarda HT1 eklenerek 600ul örnek kütüphanesi kartuşa yüklenir ve koşum başlatılır.

### **3.5.7. Analiz**

1. Koşum sonrası cihazda 3 tip veri elde edilir ( BAM, VCF, FASTQ ) .
2. VCF dosyaları variant studio programı ile analiz edilir.
3. Sonrasında elde edilen sonuçlar FASTQ dosyasından Nextegene analiz programı ile konfirme edilir.
4. BAM dosyaları kullanılarak her gendeki farklı bölgelerin kaplamı kontrol edilir ve zayıf amplifikasyon bölgeleri tespit edilir.

Yeni nesil dizi analizinin basamakları aşağıda sunulmuştur (Şekil 4).



Şekil 4. Yeni nesil dizileme basamakları

### 3.6. İstatistiksel analiz

Bütün veriler bilgisayar ortamında SPSS 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois, USA) istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Araştırmanın tüm verileri için öncelikle tanımlayıcı istatistikler uygulanmıştır. Ölçümle belirlenen değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; ortalama ve standart sapma şeklinde verilmiştir. Kullanılan verilerin öncelikle normal dağılıma uygunluk testleri (Shapiro-Wilk testi) yapılmıştır. Yapılan testler sonucu verilerin normal dağılım göstermediği ( $p < 0,05$ ) saptanmıştır. Veriler normal dağılım göstermediğinden dolayı istatistiksel analizde non-parametrik testler yapılmasının uygun olacağı belirlenmiştir. Bunun için ikili kıyaslamalarda Mann-Whitney U Testi, ikiden fazla kıyaslamalarda Kruskal-Wallis

Testi kullanılmıştır. İki grup arasındaki ilişkinin araştırılması için korelasyon testi yapılmıştır. İki kategorik (isimsel veya dereceli) değişken arasındaki ilişkiyi incelemek için çapraz tablo (Cross Tab) analizi yapılmıştır. Elde edilen 0.05'ten kk p değerleri anlamlı kabul edilmiştir. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verilmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark tespit edilen değişkenler için lojistik regresyon analizi yapılarak risk oranları (Odds Ratio-OR) ve bu değerlerin % 95 güven aralıkları (% 95 Confidence interval-CI) hesaplandı. Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi (p değeri) 0,05 olarak kabul edildi.



## 4. BULGULAR

Çalışmaya 45 Obez(%76,3), 14 Kontrol(%23,7) dahil edilmiştir. Obez hastalarının başvuru yaşı, doğumhaftası, doğum ağırlığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak farklılık gözlenmedi ( $p>0,05$ ).

Obez grupta HbA1c değeri  $5,269\pm0,406$  iken Kontrol grubunda bu değer  $5,177\pm0,181$  idi ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p>0,05$ ). ALT değerleri Obez grubunda ( $24,136\pm13,510$  U/L) Kontrol grubuna göre ( $15,671\pm5,203$  U/L) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek idi ( $p:0,007$ ).

Direkt Bilirubin Obez çocuklarda ortalama  $0,090\pm0,026$  iken Kontrol grubunda  $0,123\pm0,557$  idi. Obez çocuklarda direkt bilirubin seviyesi normal sınırlarda olmakla birlikte anlamlı derecede kontrol grubuna göre daha düşük izlendi ( $p:0,026$ ).

Obez çocuklarda ortalama İnsülin, GGT, Total Kolesterol ve LDL değerleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ( $p:0,001$ ,  $p:0,000$ ,  $p:0,000$ ). Obez hastaların ve sağlıklı Kontrol grubunun demografik, laboratuvar ve klinik özellikleri Tablo 4'te gösterilmiştir.

**Tablo 4. Obez ve kontrol grubunun demografik, laboratuvar ve klinik bulguları karşılaştırılması**

	<b>Obez Grubu (Min-Max) n:45</b>	<b>Kontrol Grubu (Min-Max) n:14</b>	<b>z</b>	<b>p</b>
<b>Başvuru Yaşı (ay)</b>	142,889±38,838 (76-215)	134,615±39,163 (77-208)	-0,330	0,742
<b>Gestasyon yaşı (hafta)</b>	39,311±1,564 (32-41)	39,615±0,768 (38-40)	-0,402	0,687
<b>Doğum ağırlığı (gr)</b>	3365,333±544,316	3359,231±135,982	-0,590	0,555
<b>Başvuru Boy SDS</b>	0,908±1,109 (-2,0-2,91)	0,025±0,901 (-1,69-1,68)	<b>-2,539</b>	<b>0,011</b>
<b>Başvuru BKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b>	29,913±5,658 (17-43,70)	17,854±3,329 (14,10-25,30)	<b>-5,239</b>	<b>0,000</b>
<b>Başvuru BKİ (SDS)</b>	2,731±0,606 (2,01-4,20)	-0,308±0,860(-1,81-1,46)	<b>-5,613</b>	<b>0,000</b>
<b>Açlık Kan Şekeri(mg/dL)</b>	90,358±9,642 (72,10-118)	99,557±11,314 (84,20-122,70)	<b>-2,744</b>	<b>0,006</b>
<b>HbA1c (%)</b>	5,269±0,406 (4,30-6,30)	5,177±0,181 (4,90-5,58)	-0,842	0,400
<b>İnsulin(uIU/mL)</b>	14,884±7,308 (4,77-36,87)	9,26±6,303 (2,70-19,77)	<b>-2,512</b>	<b>0,012</b>
<b>sT4 (ng/ml)</b>	0,863±0,127 (0,56-1,18)	0,842±0,151 (0,53-1,14)	-0,294	0,769
<b>TSH(uIU/mL)</b>	2,820±1,195 (1,32-6,75)	2,488±1,077(0,87-4,84)	-0,232	0,817
<b>ALT (U/L)</b>	24,136±13,510 (9,65-62,40)	15,671±5,203 (8,84-25,90)	<b>-2,700</b>	<b>0,007</b>
<b>AST (U/L)</b>	25,346±8,999 (0,39-53,40)	27,038±7,094(20,16-39,46)	-0,900	0,368
<b>Total Bilirubin(mg/dL)</b>	0,506±0,187 (0,26-1)	0,595±0,327 (0,22-1,32)	-0,802	0,422
<b>Direkt Bilirubin(mg/dL)</b>	0,090±0,026 (0,04-0,15)	0,123±0,557 (0,06-0,25)	<b>-2,234</b>	<b>0,026</b>
<b>İndirekt Bilirubin(mg/dL)</b>	0,418±0,183 (0,22-1,01)	0,472±0,275 (0,13-1,07)	-0,571	0,568
<b>GGT(U/L)</b>	18,790±7,371 (6-46)	13,021±4,888 (9-25,50)	<b>-3,405</b>	<b>0,001</b>
<b>CRP(mg/dL)</b>	0,447±0,282 (0,10-1,63)	1,054±2,183 (0,10-7,73)	-1,663	0,096
<b>Total Kolesterol(mg/dL)</b>	170,017±29,743 (90-239,30)	133,207±23,936 (92,20-171,40)	<b>-3,707</b>	<b>0,000</b>
<b>Trigliserit(mg/dL)</b>	137,614±76,691 (41-342)	62,709±21,591 (28,78-102,19)	<b>-3,982</b>	<b>0,000</b>
<b>HDL(mg/dL)</b>	47,052±11,649 (30,70-72,40)	47,484±12,236 (26,31-68,50)	-0,241	0,810
<b>LDL(mg/dL)</b>	94,439±22,568 (47,80-157)	72,607±12,947 (46,90-96,60)	<b>-3,525</b>	<b>0,000</b>
<b>Kortizol(ug/dL)</b>	9,694±5,297 (2,22-26,50)	13,391±13,193 (2,25-41,40)	0,000	1
<b>Ürik Asit(mg/dL)</b>	5,293±1,265 (3,14-9,43)	4,051±1,318 (2,20-6,42)	<b>-2,771</b>	<b>0,006</b>

*Mann Whitney U test; p<0,05* **BKİ:** Beden kitle indeksi **HDL:** High-densitylipoprotein  
**LDL:** Low-densitylipoprotein **TSH:** Tiroid sitümüle edici hormon **Min-Max:** Minimum-  
Maximum **SD:** Standard deviation

Obez ve Kontrol grubu karşılaştırıldıklarında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi (p:0,942). Sezeryan ile doğum oranı Obez çocuklarda Kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek tespit edildi (p:0,018). Kontrol grubunun hiçbirinde hepatosteatoz saptanmamışken Obez hastaların (n:16) %35,5'inde hepatosteatoz saptandı. Gruplar arasında anne sütümü alımı, ek gıda ilk başlangıç yiyecekleri ve mama kullanımı yönünden anlamlılık saptanmadı (Tablo 5).

**Tablo 5. Obez ve kontrol grubunun cinsiyet, doğum şekli, hepatosteatoz varlığı durumu, anne sütü alımı, neyle başladığı, mama kullanım durumu ve ek gıdaya başlangıç ayı karşılaştırılması**

		Obez Grubu(%) n:45	Kontrol Grubu(%) n:14	p
<b>Cinsiyet</b>	Kız	22 (48,9)	7 (50)	0,942
	Erkek	23 (51,1)	7 (50)	
<b>Doğum Şekli</b>	Sezeryan	28 (62,2)	3 (21,40)	<b>0,018</b>
	NVD	17 (37,8)	11 (78,6)	
<b>Hepatosteatoz varlığı</b>	var	16 (35,5)	0 (0)	
	yok	29 (64,5)	14 (100)	
<b>Anne Sütü Alımı (ay)</b>		16,5±5,2	15,2±11,3	0,621
<b>Ek Gıdaya Neyle Başladığı</b>	Meyve püresi	6 (13,33)	2 (14,3)	0,480
	Sebze çorbası	14 (31,11)	5 (35,7)	
	Yoğurt	25 (55,56)	7 (50)	
<b>Mama kullanımı</b>	var	18(40)	6 (42,9)	0,849
	yok	27 (60)	8 (57,1)	
<b>Ek gıdaya başlangıç (4 ay)</b>	var	1 (2,5)	0(0)	
	yok	44 (97,5)	14 (100)	
<b>Ek gıdaya başlangıç (5 ay)</b>	var	1 (2,5)	1 (7,1)	
	yok	44 (97,8)	13 (92,9)	
<b>Ek gıdaya başlangıç (6 ay)</b>	var	28 (62,2)	12 (85,7)	
	yok	17 (37,8)	2 (54,3)	
<b>Ek gıdaya başlangıç (7 ay)</b>	var	5 (11,1)	0(0)	
	yok	40 (88,9)	14 (100)	
<b>Ek gıdaya başlangıç (8 ay)</b>	var	3 (6,7)	1 (7,1)	
	yok	42 (93,9)	13 (92,9)	
<b>Ek gıdaya başlangıç (9 ay)</b>	var	1 (2,2)	0 (0)	
	yok	44 (97,8)	14 (100)	
<b>Ek gıdaya başlangıç (12 ay)</b>	var	1 (2,2)	0 (0)	
	yok	44 (97,8)	14 (100)	

*Ki kare test:p<0,05, NVD: Normal vajinal doğum*

Tablo 3’de Obez ve Kontrol grubunda saptanan UGT1A1 geninde oluşmuş olan genetik değişimler gösterilmiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm çocuklarda genetik değişimler göz önünde bulundurulduğunda, 35 olguda (%59,3) genetik değişim varken 24 olguda (%40,7) hiçbir genetik değişim yoktu. Obez çocukların 28’inde genetik değişim varken (%62,2), Kontrol grubunda genetik değişim 7’sinde saptandı (%50). UGT1A1 geninde tespit edilen genetik değişimlerin çeşidi açısından

incelendiğinde Kontrol grubunda yalnızca Ekzon 1 c.41-40dupT>A heterozigot genetik değişikliği tespit edilmişken, Obez grubunda bu değişimden farklı olarak Ekzon 5 c.\*24A>G heterozigot, Ekzon 1 c141C>A p.ile47ile heterozigot, Ekzon 1 c211G>A p.Gly71Arg heterozigot, Ekzon 1 c211G>A p.Gly71Arg heterozigot/ ekzon 1 varyant c.41-40dupT>A heterozigot, Ekzon c211G>A p.Gly71Arg heterozigot/intron 2 c996+307 A>G heterozigot, İntron 1 c.865-850 T>A homozigot ve İntron 2 c.997-82T>C heterozigot değişimleri vardı. Buna göre UGT1A1geninde oluşmuş olan genetik değişimler Kontrol grubuna göre daha yüksek oranda idi ( $p<0,05$ ).

**Tablo 6. Obez ve kontrol grubunda tespit edilen genetik varyasyonların karşılaştırılması**

UGT1A1 Genindeki Genetik Varyasyonlar		Obez Grubu(%)	Kontrol Grubu(%)
Ekzon 5 c.*24A>G heterozigot	var	1 (2,2)	0(0)
	yok	44 (97,8)	14 (100)
Ekzon 1 c141C>A p.İle47İle heterozigot	var	1 (2,2)	0 (0)
	yok	44 (97,8)	14 (100)
Ekzon 1 c211G>A p.Gly71Arg heterozigot	var	7 (15,6)	0 (0)
	yok	38 (84,4)	14 (100)
Ekzon 1 c211G>A p.Gly71Arg heterozigot/ ekzon 1 varyant c.41-40dupT>A heterozigot	var	1 (2,2)	0 (0)
	yok	44 (97,8)	14 (100)
Ekzon1 c211G>A p.Gly71Arg heterozigot/intron 2 c996+307 A>G heterozigot	var	1 (2,2)	0 (0)
	yok	44 (97,8)	14 (100)
Ekzon 1 c.41-40dupT>A heterozigot	var	11 (24,4)	5 (35,7)
	yok	34 (75,6)	9 (64,3)
Ekzon1 c.41-40dupT>A heterozigot/intron 2 c.997-86C>A heterozigot	var	1 (2,2)	2 (14,3)
	yok	44 (97,8)	12 (85,7)
İntron 1 c.865-850 T>A homozigot	var	1 (2,2)	0(0)
	yok	44 (97,8)	14 (100)
İntron 2 c.997-82T>C heterozigot	var	4 (8,9)	0 (0)
	yok	41 (91,1)	14 (100)
Varyasyon Olmayan	var	28(62,2)	7 (50)
	yok	17(37,8)	7 (50)

Obez çocuklarda obezite başlangıç yaşı ilk 2 yıl içinde olan 17 hasta (%37,8) varken 2 yaş sonrası herhangi bir yaşta obezite kliniği gelişen hasta sayısı 28 (%62,2)

olarak tespit edildi. İki yaş sonrası Obez olan grupta total bilirubin ve direk bilirubin düzeyleri anlamlı yüksek saptandı (p:0,013; p:0,01). HbA1c değerleri ise 2 yaş öncesi obezite gelişen grupta yüksekti ve yine bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı idi (p:0,002). Gruplar genetik varyasyonun olup olmaması açısından yüzdelerle dilimler ile ki kare testinde kıyaslandığında 2 yaşından sonra obezite gelişen grupta daha yüksek oranda genetik varyasyon izlendi (p:0,000) (Tablo 7).

Geç başlangıçlı grupta UGT1A1 geninde oluşmuş olan genetik değişimler daha yüksek gözlenmesi nedeni ile genetik varyasyonlar ile obezite kliniğinin görüldüğü yaş grubu arasındaki ilişki lojistik regresyon analizi ile değerlendirildi ve genetik varyasyon olmasının obezitenin geç yaşta olma riskini 3 kat (3,42 %95 CI, 0,15-5,11 *p*:0,000) oranında arttırdığı gözlemlendi.

**Tablo 7. 2 yaş altı ve 2 yaş üstü obez gelişen grupların total bilirubin, direk bilirubin, HbA1c ve UGT1A1 genetik varyasyon karşılaştırılması**

	<2 Yaş Obezite Gelişen n:17	>2 Yaş Obezite Gelişen n:28	<i>p</i>
Total Bilirubin(mg/dL)	0,42±0,09	0,56±0,24	<b>0,013**</b>
Direk Bilirubin (mg/dL)	0,081±0,001	0,096±0,03	<b>0,010**</b>
HbA1c(%)	5,38±0,23	5,09±0,35	<b>0,002**</b>
UGT1A1 Varyasyon	7(%38,9)	21(%77,8)	<b>0,000*</b>

\*Ki Kare Test \*\* Mann Whitney U test *p*<0,05

## 5. TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2016 yılı açıklamasına göre dünya üzerinde fazla tartılı ya da obez 5 yaş altı çocuk sayısı 41 milyondan, 5-19 yaş arası çocuk sayısı ise 340 milyondan fazladır. Obezite, çocuk ve adölesanların %25-30'unu etkileyen önemli bir beslenme problemidir. Çocukluk çağı obezitesi özellikle gelişmiş ülkelerde olmakla beraber bütün dünyada artan bir prevalansa sahiptir (148, 149). Obeziteye bağlı problemlerin yanı sıra çocukluk çağında obez olanlarda erişkin dönemde morbidite ve mortalitenin artması, adölesan döneme obez girenlerin %50'sinin erişkin dönemde de obez olması ve obezitenin hem aileler hem de hekimler tarafından tedavi edilmesi gereken bir hastalık olarak görülmemesi açısından önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır (150).

Çocukluk çağında obezite ile ilgili çalışmalar çocuklarda obezitenin antenatal dönemde anneye ait medikal durumlardan ve bebeğe ait intrauterin gelişme geriliği gibi sorunlardanda etkilendiğini göstermiştir. Bu bozukluklar, obezite gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. Bu nedenlerle ve çeşitli metabolik olmayan faktörlerin etkisiyle çocuklar yetişkinlik döneminde obez olmaya yatkındırlar (151). Örneğin obez annelerden doğan bebeklerde daha sık metabolik sendrom, obezite, kalp hastalığı sıklığının arttığı, gestasyonel diabeti olan, polikistik over sendrom hikayesi olan gebelerin doğan çocuklarında obez olma sıklığının arttığı gösterilmiştir (152-154). Sendromların bir parçası olan obezitenin çocukluk çağında gelişmesini gözlemlemek şaşırtıcı olmasa da demografik olarak benzer koşullarda bulunan çocukların hangi nedenle obeziteye ilerlediğini belirlemek oldukça güç olmaktadır.

İnsan sağlığına ve hem kişisel hem de ülkelerin ekonomisine verdiği zarar nedeni ile obezite ile ilgili araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır (155). Yarattığı tüm büyük sorunlar göz önüne alındığında obezitenin genetik nedenleri ile ilgili çalışmalar da insan genom haritasında obeziteye neden olan izleri aramaya kadar uzanmıştır. Bildiğimiz kadarı ile literatürde obez bireylerde UGT1A1 genindeki tek nükleotitlik değişikliklerin incelendiği çok az sayıda çalışma olmakla birlikte, obez

bireylerde UGT1A1 geninin yeni nesil dizi analizi ile tarandığı hiçbir çalışma yapılmamıştır. Bizim çalışmamız bu nedenle ilk çalışma özelliği taşımaktadır.

Çalışmamızda obez çocuklar ile sağlıklı çocuklar cinsiyet, doğum haftası, doğum kilosu ve cinsiyet açısından anlamlı bir farklılık göstermiyordu. DSÖ Avrupa Çocukluk Çağı Şişmanlık Sürveyans Girişimi çalışmasında Türkiye sonuçlarına göre 7-8 yaşındaki çocuklarda obezite prevalansı %22,5'dir (Erkeklerin %23,3'ü, kızların %21,6'sı fazla tartılı ve obez) (156). Cinsiyete göre karşılaştırıldığında tüm yaş gruplarında erkeklerde kızlara göre obezite prevalansının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda olduğu gibi Ülkemizde yapılan çalışmalarda da benzer şekilde obezite prevalansının erkek cinsiyette daha yüksek olduğu belirlenmiştir (157). Çalışmamızda gruplar arasında cinsiyet yönünden istatistiksel anlamlı fark yoktu. Bu durumun nedenlerinden biri çalışmamızı prevalans çalışması olarak tasarlamamış olmamız diğer bir nedeni de UGT1A1 geninde oluşmuş olan genetik değişimler arasındaki ilişkiyi incelerken cinsiyet farkı nedeni ile oluşabilecek farklılıkları azaltmak istememizdir. Luyckx ve arkadaşları 12 ülkeye ait demografik verileri karşılaştırdıkları çalışmalarında doğum ağırlığının 3500 gr üzerinde olmasının çocukluk çağı obezitesi ile anlamlı ilişki içinde olduğunu göstermiştir (158). Çalışmamıza dahil olan obez çocuklarda doğum ağırlığı ortalaması  $3365,333 \pm 544,316$  gr idi. Bu nedenle doğum ağırlığının yüksek olmasının getireceği obez olma ile ilişkili ek risk faktörünü dışlamış olduk. Preterm doğumlarda çocuklarda obezite sıklığının arttığını iddia eden çalışmalar bulunmakla birlikte bu konu ile ilgili devam eden birçok tartışmada mevcuttur (159, 160). Gruplarımız arasında doğum haftaları açısından da istatistiksel farklılık saptanmadı (p:0,687).

Sezeryan ile doğum şeklinin çocukluk çağı obezitesi riskini artırdığını gösteren çalışmalar olduğu gibi herhangi bir ilişki olmadığı ifade eden çalışmalarda mevcuttur (161, 162). Rutayisire ve arkadaşları 8900 çocuğu inceledikleri çalışmalarında diğer maternal faktörler ve sezeryan ile doğum nedeninin elektif veya endikasyon nedeni olma etkisini dışlandığında sezeryan ile doğumun 1.25 kat daha fazla obez olma riski oluşturduğunu göstermişlerdir (163). Çalışmamızdaki çocukları

doğum şekli açısından incelediğimizde sezeryan doğum oranının obez çocuklarda anlamlı olarak daha yüksek olduğunu gözlemledik.

Yaşamın ilk yıllarında anne sütü ile beslenmenin obezite riskini azalttığı bilinmektedir (164). Ek gıdaya geçiş ve ek gıda alım özelliklerinin çocukluk çağı obezitesi ile ilişkili olduğu ve hazır mama alımının obezite riskini arttırdığı da bilinmektedir (165). Çalışmamızda anne sütü ile beslenme zamanı ve ek gıdaya geçiş süreci ve içeriği açısından obez ve kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu. Doğum ağırlığı, doğum haftası, cinsiyet, anne sütü alımı, mama kullanım durumu ve ek gıda dönemi gibi obezite ile ilişkilendirilebilecek natal ve postnatal bazı faktörler yönünden gruplar arası fark saptanmaması, obezite oluşumunda etkisi olabileceğini düşündüğümüz UGT1A1 geninde ve diğer olası genlerdemeydana gelen değişikliklerin obezite açısından risk oluşturabileceğini bu varyasyonları taşıyan bireylerin obeziteye yatkınlığının taşımayanlara göre daha yüksek olabileceğini varsaymakla birlikte bu konuda daha net bilgiler elde edebilmek için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

Obez çocuklarda serum lipid değerlerinin sağlıklı çocuklara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir ve bu durum erken yaş grubunda başlayan obezitenin ileri yaşlarda artan kardiyovasküler hastalık riskini arttırması ile ilişkilendirilmiştir (166). Ayrıca Çocukluk çağı obezitesinin ileri yıllarda tip 2 DM riskini arttırdığı bilinmektedir ve bu nedenle bu çocuklarda kan şekeri profili takibi yapılmaktadır (167). Eehalt ve arkadaşları yaptıkları prospektif çalışmada açlık kan şekeri düzeyinin obez ve sağlıklı çocuklarda anlamlı fark göstermese bile HbA1c düzeyinin anlamlı olarak yüksek olduğunu ve HbA1c düzeyinin takipte daha anlamlı olduğunu belirtmişlerdir (168). Çalışmamızda obez çocuklarda total kolesterol, trigliserid, LDL seviyeleri ve insülin düzeyi beklenildiği gibi sağlıklı çocuklara göre daha yüksekti ve fark anlamlıydı. Ancak gruplar arasında açlık kan şekeri düzeyleri açısından anlamlı farklılık yoktu. Obez çocuklarda HbA1c düzeyi anlamlı olmamasına rağmen kontrol grubuna göre daha yüksek idi. Bu sonuçlara göre obez çocuklarda sadece kan şekeri ile değil HbA1c ve insülin düzeylerinin de düzenli aralıklarla takip edilmesi oluşabilecek komplikasyonları erken önlemek açısından önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

Çocukluk çağı sendromlarla ilişkisi saptanmamış obezite ile UGT1A1 geninde oluşmuş olan genetik değişimler arasındaki ilişkiyi incelediğimiz çalışmamızda obez çocukların 28'inde (%62,2) genetik değişim varken kontrol grubunda 7 çocukta (%50) olduğunu gözlemledik. Buna ilaveten UGT1A1 geninde tespit edilen genetik değişimlerin çeşidi açısından bakıldığında kontrol grubunda toplam 7 çocukta Ekzon 1 c.41-40dupT>A (5 çocuk)ve Ekzon1 c.41-40dupT>A heterozigot/intron 2 c.997-86C>A heterozigot (2 çocuk) genetik değişikliği tespit edilmişken, obez grubunda ise kontrol grubunda tespit edilen bu değişimden farklı olarak Ekzon 5 c.\*24A>G heterozigot, Ekzon 1 c141C>A p.İle47İle heterozigot, Ekzon 1 c211G>A p.Gly71Arg heterozigot, Ekzon 1 c211G>A p.Gly71Arg heterozigot/ ekzon 1 varyant c.41-40dupT>A heterozigot, Ekzon c211G>A p.Gly71Arg heterozigot/intron 2 c996+307 A>G heterozigot, İntron 1 c.865-850 T>A homozigot ve İntron 2 c.997-82T>C heterozigot değişimleri vardı. Yalnızca obez hastalarda olması nedeniyle tespit edilen bu değişikliklerin obezite için bir belirteç olarak kullanılabileceğini söyleyebiliriz. Ancak bu değişimlerin obez hastalarda meydana getirdikleri klinik ve biyokimyasal etkileri ile ilgili daha net bilgiler elde etmek için çok sayıda olguyu içeren ilave çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Obez çocuklarda bilirubin değerleri ve UGT1A1 gen değişimleri, ilişkili olduğu bilirubin metabolizması açısından değerlendirildiğinde obez çocuklarda direk bilirubin değerleri normal sınırlarda olmakla birlikte sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az olduğu fakat total ve indirek bilirubin seviyeleri arasında fark olmadığı gözlemlendi.

Çocukluk çağındaki obezite ile UGT1A1 gen polimorfizmini inceleyen tek çalışma Belo ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları UGT1A1\*28 gen değişimi ile genç obezler arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmadır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre obez ve sağlıklı kontrol grubu çocuklar arasında total bilirubin değerleri açısından anlamlı fark olmasa bile vücut yağ kitlesinin UGT1A1\*28gen polimorfizmi ile anlamlı ilişki içinde olduğunu göstermişlerdir (169). Çalışmamız bildiğimiz kadarıyla obez çocuklarda UGT1A1 geninin yeni nesil dizi analizi ile yapıldığı ilk çalışma olmakla birlikte, çalışmamızın sonucunda obez ve sağlıklı

çocuklar arasında total bilirubin seviyeleri açısından anlamlı fark yok iken direk bilirubin seviyesini obez çocuklarda anlamlı olarak daha düşük bulduk. Bilirubin antioksidan etkilerini inceleyen çalışmalarda düşük total bilirubin seviyesi ile okside LDL seviyesinin arttığı gösterilmiştir. Metabolik sendrom riskinin ise düşük total bilirubin seviyesi ile ilişkili olduğu Wu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gösterilmiştir (170). Bizim de çalışmamızda obez grupta total bilirubin seviyesinde anlamlı olmasa da azalma olmasını literatür ile uyumlu olarak artan kilo alımına bağlayabiliriz. Ayrıca serum antioksidan seviyesi ile ilişkiyi gösteren GGT seviyesinin obez çocuklarda anlamlı olarak arttığını saptadık (171).

Çalışmamızda UGT1A1 geninde tespit edilen değişiklikler ile obezite başlangıç yaşı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu gözlemledik. Anne sütü bilindiği kadarıyla obeziteden koruyucu etkisini ilk 2 yaşta göstermektedir (172). Obezite başlangıç yaşını anne sütünden ayrılarak anne sütü olmaksızın beslenmenin olduğu ve ek gıda alım çabalarının yerini oyun çocuğu beslenmesinin aldığı, ayrıca tüm olguların yürüme, koşma gibi fiziksel aktiviteleri tamamladığı 2 yaş sınırı olarak belirlediğimizde, 2 yaş sonrası obezite gelişen grupta UGT1A1 geninde varyasyon saptanma oranının diğer gruba göre yaklaşık 2 kat (%38,9; %77,8) yüksek bulundu. Ayrıca 2 yaş üzeri obezite başlangıcı ile UGT1A1 gen değişimi arasında anlamlı ilişki olduğunu (regresyon analizi; 3,42 %95 CI, 0,15-5,11  $p:0,000$ ) ve bu ilişkinin bilirubin değerlerini de kapsadığını gösterdik. 2 yaş altında obezite gelişen çocuklarda hem total hem direk bilirubin seviyesinin anlamlı olarak daha düşük saptandı. Literatürde yüksek bilirubin değerlerinin koroner ve periferik arter hastalıkları, iskemik hastalıklar, kardiovasküler hastalıklar, metabolik sendrom, diabetik hastalarda albuminüri ve HbA1c düzeyleri üzerine koruyucu etkisini gösteren çalışmalar mevcuttur (135-138, 144, 145). Bu bilgiler ışığında ilk 2 yılda başlayan obezitede UGT1A1 geninde daha az oranda saptanan bozukluk sonucunda meydana gelen düşük bilirubin düzeylerinin belkide obezitede oluşturacağı koruyucu etkinin azalacağı düşünülebilir. Bu varsayımın geniş katılımlı çalışmalarla desteklenmesi halinde ilk 2 yılda oluşan obezite takibinde hastaların takip ve tedavilerinin daha özenle yapılması, obezite önleyici stratejilerin yaşamın ilk yılında başlanması önerilebilir.

Bu araştırma obez bireylerde UGT1A1 geninin yeni nesil dizi analizi ile tarandığı ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Ayrıca obezite başlangıç yaşı, UGT1A1 gen değişimi ve bilirubin seviyesinin yaş bağımlı değişimini gösteren ilk çalışmadır. UGT1A1 gen değişimi ile obezite arasındaki var olan ilişki ve obezite başlangıç yaşının bu gen değişimi ve bilirubin seviyeleri arasındaki ilişki bu konu ile yapılan çalışmaların azlığı nedeni ile halen araştırılmaya devam edilmesi gereken bir noktadadır. Sonuç olarak; yapılacak olan yeni ve daha geniş kapsamlı çalışmalar ile obezite gelişme riski ve UGT1A1 gen değişimi ilişkisinin varlığının gösterilebileceğini ve obez çocukların dünyada artan prevalans ve karşılaştıkları morbidite ve mortalite oranlarında azalmaya yardımcı olabileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamızın zayıf yönleri maternal faktörlerin tam olarak değerlendirilememesi, sağlıklı kontrol ve obez grubunda olan çocukların yüksek sayıda olmaması, obezite açısından aile hikayelerinin ayrıntılı alınmaması, günlük beslenme ve spor yapma alışkanlıklarının irdelenmemesi ve obezite ile ilişkili diğer genlerin araştırmamızda değerlendirilememesidir.

Çalışmamızın güçlü yönleri UGT1A1 gen değişimi ile obezite başlangıç yaşı ve bu yaş grubu ile ilgili bilirubin seviyeleri arasındaki değişimi gösteren ilk çalışma olmasıdır. Ayrıca literatürde henüz UGT1A1 geninin non sendromik obezlerde yeni nesil dizi analizi yöntemi ile değerlendirildiği başka bir çalışma yoktur.

## 6. SONUÇLAR

1. Çalışmaya 45 Obez(%76,3), 14 Kontrol(%23,7) dahil edildi.
2. Obez hastalarının başvuru yaşı, doğum haftası, doğum ağırlığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak farklılık gözlenmedi ( $p>0,05$ ).
3. Obez grupta HbA1c değeri  $5,269\pm 0,406$  iken Kontrol grubunda bu değer  $5,177\pm 0,181$  idi ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p>0,05$ ).
4. ALT değerleri Obez grubunda ( $24,136\pm 13,510$  U/L) Kontrol grubuna göre ( $15,671\pm 5,203$  U/L) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek idi ( $p:0,007$ ).
5. Obez çocuklarda direkt bilirubin seviyesi normal sınırlarda olmakla birlikte anlamlı derecede Kontrol grubuna göre daha düşük izlendi ( $p:0,026$ ).
6. Obez çocuklarda ortalama İnsülin, GGT, Total Kolesterol ve LDL değerleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi
7. Obez ve Kontrol grubu karşılaştırıldıklarında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi ( $p:0,942$ ).
8. Sezeryan ile doğum oranı Obez çocuklarda Kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek tespit edildi ( $p:0,018$ ).
9. Kontrol grubunun hiçbirinde hepatosteatoz saptanmamışken Obez hastaların ( $n:16$ ) %35,5'inde hepatosteatoz saptandı.
10. Gruplar arasında anne sütümü alımı, ek gıda ilk başlangıç yiyecekleri ve mama kullanımını yönünden anlamlılık saptanmadı.
11. Genetik değişimler göz önünde bulundurulduğunda, 35 olguda (%59,3) genetik değişim varken 24 olguda (%40,7) hiçbir genetik değişim yoktu.
12. Obez çocukların 28'inde genetik değişim varken (%62,2), Kontrol grubunda genetik değişim 7'sinde saptandı (%50).
13. Kontrol grubunda sadece 2 varyasyon saptanmışken, obez grubunda bu varyasyona ek 7 varyasyon daha saptandı.
14. Obez çocuklarda obezite başlangıç yaşı ilk 2 yıl içinde olan 17 hasta (%37,8) varken 2yaş sonrası herhangi bir yaşta obezite kliniği gelişen hasta sayısı 28 (%62,2) idi.
15. İki yaş sonrası Obez olan grupta total bilirubin ve direk bilirubin düzeyleri anlamlı yüksek saptandı ( $p:0,013$ ;  $p:0,01$ ).

16. HbA1c değerleri ise 2 yaş 6ncesi obezite gelişen grupta y6ksekti ve yine bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı idi (p:0,002).
17. Gruplar genetik varyasyonun olup olmaması açısından y6zdelik dilimler ile ki kare testinde kıyaslandığında 2 yaşından sonra obezite gelişen grupta daha y6ksek oranda genetik varyasyon izlendi (p:0,000).
18. Geç başlangıçlı grupta UGT1A1 geninde oluşmuş olan genetik değişimler lojistik regresyon analizi ile değerlendirildiğinde obezitenin geç yaşta olma riskini 3 kat (3,42 %95 CI, 0,15-5,11;p 0,000) oranında arttırdığı saptandı.



## KAYNAKÇA

1. Cole, T. J., Bellizzi, M. C., Flegal, K. M., & Dietz, W. H. (2000). Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *Bmj*, 320(7244), 1240.
2. Troiano, R. P., Flegal, K. M., Kuczmarski, R. J., Campbell, S. M., & Johnson, C. L. (1995). Overweight prevalence and trends for children and adolescents: the National Health and Nutrition Examination Surveys, 1963 to 1991. *s.l.: Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 149(10), 1085-1091.
3. Wang, Y., & Lobstein, T. I. M. (2006). Worldwide trends in childhood overweight and obesity. *International journal of pediatric obesity*, 1(1), 11-25.
4. Neovius, M. G., Linné, Y. M., Barkeling, B. S., & Rossner, S. O. (2004). Sensitivity and specificity of classification systems for fatness in adolescents. *The American journal of clinical nutrition*, 80(3), 597-603.
5. Nicklas, T. A., Baranowski, T., Cullen, K. W., & Berenson, G. (2001). Eating patterns, dietary quality and obesity. *Journal of the American College of Nutrition*, 20(6), 599-608.
6. Livingstone, M. B. E. (2001). Childhood obesity in Europe: a growing concern. *Public health nutrition*, 4(1a), 109-116.
7. James, P. T. (2004). Obesity: the worldwide epidemic. *Clinics in dermatology*, 22(4), 276-280.
8. Al-Nuaim, A. R., Bangboye, E. A., & Al-Herbish, A. (1996). The pattern of growth and obesity in Saudi Arabian male school children. *s.l. : International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity*, 20(11), 1000-1005.
9. Kelishadi, R., Hashemi Pour, M., Sarraf-Zadegan, N. I. Z. A. L., Sadry, G. H., Ansari, R. E. Z. V. A. N., Alikhassy, H. A. S. S. A. N., & Bashardoust, N. A. S. R. O. L. L. A. H. (2003). Obesity and associated modifiable environmental factors in

Iranian. s.l. : adolescents: Isfahan Healthy Heart Program— heart health promotion from childhood. *Pediatrics international*, 45(4), 435-442.

10. McCarthy, H. D., Ellis, S. M., & Cole, T. J. (2003). Central overweight and obesity in British youth aged 11–16 years: cross sectional surveys of waist circumference. *Bmj*, 326(7390), 624.

11. Hill, J. O., & Peters, J. C. (1998). Environmental contributions to the obesity epidemic. *Science*, 280(5368), 1371-1374.

12. Link, K., Moëll, C., Garwicz, S., Cavallin-Ståhl, E., Björk, J., Thilén, U., ... & Erfurth, E. M. (2004). Growth hormone deficiency predicts cardiovascular risk in young adults treated for acute lymphoblastic leukemia in childhood. s.l. : *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(10), 5003-5012.

13. Styne, D. M. (2005). Obesity in childhood: what's activity got to do with it?. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 337-338.

14. Willett, W.(1998). *Food Frequency Methods In: Nutritional epidemiology 2nd Edition*. Oxford University Press, 74.

15. Dehghan, M., Akhtar-Danesh, N., Merchant, A. T. (2014) *Childhood Obesity, Prevalence And Prevention In: Childhood Obesity: Prevalence, Pathophysiology, and Prevention* Ed. Ahima, R. S. s.l. : Apple Academic Press, 319-330.

16. Troiano, R. P., Briefel, R. R., Carroll, M. D., & Bialostosky, K. (2000). Energy and fat intakes of children and adolescents in the United States: data from the National Health and Nutrition Examination Surveys. s.l. : *The American journal of clinical nutrition*, 72(5), 1343s-1353s.

17. Wright, J. D., Kennedy-Stephenson, J., Wang, C. Y., McDowell, M. A., & Johnson, C. L. (2004). Trends in intake of energy and macronutrients-United States, 1971-2000. *JAMA*, 291(10), 1193-1193.

18. Gregory, J., Lowe, S., Bates, C. J., Prentice, A., Jackson, L. V., Smithers, G., ... & Farron, M. (2000). National diet and nutrition survey: young people aged 4 to 18 years. Report of the diet and nutrition survey. Stationery Office.
19. Maffeis, C., Pinelli, L., & Schutz, Y. (1996). Fat intake and adiposity in 8 to 11-year-old obese children. *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity*, 20(2), 170-174.
20. Tucker, L. A., Seljaas, G. T., & Hager, R. L. (1997). Body fat percentage of children varies according to their diet composition. *Journal of the American Dietetic Association*, 97(9), 981-986.
21. Heaney, R. P., Davies, K. M., & Barger-Lux, M. J. (2002). Calcium and weight: clinical studies. *Journal of the American College of Nutrition*, 21(2), 152S-155S.
22. Pereira, M. A., Jacobs Jr, D. R., Van Horn, L., Slattery, M. L., Kartashov, A. I., & Ludwig, D. S. (2002). Dairy consumption, obesity, and the insulin resistance syndrome in young adults: the CARDIA Study. *Jama*, 287(16), 2081-2089.
23. Carruth, B. R., & Skinner, J. D. (2001). The role of dietary calcium and other nutrients in moderating body fat in preschool children. *International Journal of Obesity*, 25(4), 559.
24. Skinner, J. D., Bounds, W., Carruth, B. R., & Ziegler, P. (2003). Longitudinal calcium intake is negatively related to children's body fat indexes. *Journal of the American Dietetic Association*, 103(12), 1626-1631.
25. Putnam, J. J., & Allshouse, J. E. (1999). Food consumption, prices, and expenditures, 1970-97 (No. 1487-2016-122671).
26. Ludwig, D. S., Peterson, K. E., & Gortmaker, S. L. (2001). Relation between consumption of sugar-sweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis. *The Lancet*, 357(9255), 505-508.

27. Gittelsohn, J., Wolever, T. M., Harris, S. B., Harris-Giraldo, R., Hanley, A. J., & Zinman, B. (1998). Specific patterns of food consumption and preparation are associated with diabetes and obesity in a Native Canadian community. *s.l. : The Journal of nutrition*, 128(3), 541-547.
28. Heitmann, B. L., Kaprio, J., Harris, J. R., Rissanen, A., Korkeila, M., & Koskenvuo, M. (1997). Are genetic determinants of weight gain modified by leisure-time physical activity? A prospective study of Finnish twins. . *s.l. : The American journal of clinical nutrition*, 66(3), 672-678.
29. Swinburn, B., & Egger, G. (2002). Preventive strategies against weight gain and obesity. *Obesity reviews*, 3(4), 289-301.
30. Tremblay, M. S., & Willms, J. D. (2003). Is the Canadian childhood obesity epidemic related to physical inactivity?. *International journal of obesity*, 27(9), 1100.
31. Gordon-Larsen, P., Griffiths, P., Bentley, M. E., Ward, D. S., Kelsey, K., Shields, K., & Ammerman, A. (2004). Barriers to physical activity: qualitative data on caregiver–daughter perceptions and practices. . *s.l. : American journal of preventive medicine*, 27(3), 218-223.
32. Andrews, E. T., Beattie, R. M., & Johnson, M. J. (2019). Measuring body composition in the preterm infant: Evidence base and practicalities. *Clinical Nutrition*.
33. International Atomic Energy Agency. (2010). Introduction to Body Composition Assessment Using the Deuterium Dilution Technique with Analysis of Saliva Samples by Fourier Transform Infrared Spectrometry. *Internat. Atomic Energy Agency*.
34. Pinson, E. A. (1952). Water exchanges and barriers as studied by the use of hydrogen isotopes. *Physiological Reviews*, 32(2), 123-134.

35. Venkataraman, P. S., & Ahluwalia, B. W. (1992). Total bone mineral content and body composition by x-ray densitometry in newborns. *Pediatrics*, 90(5), 767-770.
36. Rigo, J., Nyamugabo, K., Picaud, J. C., Gerard, P., Pieltain, C., & De Curtis, M. (1998). Reference values of body composition obtained by dual energy X-ray absorptiometry in preterm and term neonates. *s.l. : Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 27(2), 184-190.
37. Uthaya, S., Bell, J., & Modi, N. (2004). Adipose tissue magnetic resonance imaging in the newborn. *Hormone Research in Paediatrics*, 62(Suppl. 3), 143-148.
38. Ross, R., Goodpaster, B., Kelley, D., & Boada, F. (2000). Magnetic resonance imaging in human body composition research: from quantitative to qualitative tissue measurement. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 904(1), 12-17.
39. Spady, D. W., Filipow, L. J., Overton, T. R., & Szymanski, W. A. (1986). Measurement of total body potassium in premature infants by means of a whole-body counter. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 5(5), 750-755.
40. Pekcan, G.(2008). Bilimsel uygulama ve beslenme durumunun saptanması. Sağlık Bakanlığı Yayın., Ankara Klasmat Matbaacılık, 726 (13),34-39.
41. Simsek, M., Ergenekon, E., Beken, S., Kulalı, F., Unal, S., Kazancı, E., ... & Koç, E. (2015). Skinfold thickness of preterm newborns when they become late preterm infants. *Nutrition in Clinical Practice*, 30(2), 266-273.
42. Collins, C. T., Reid, J., Makrides, M., Lingwood, B. E., McPhee, A. J., Morris, S. A., ... & Ward, L. C. (2013). Prediction of body water compartments in preterm infants by bioelectrical impedance spectroscopy. . *s.l. : European journal of clinical nutrition*, 67(S1), S47.

43. Cochran, W. J., Klish, W. J., Wong, W. W., & Klein, P. D. (1986). Total body electrical conductivity used to determine body composition in infants. *Pediatric research*, 20(6), 561.
44. Freemark, M. (2014). Predictors of childhood obesity and pathogenesis of comorbidities. *Pediatric annals*, 43(9), 357-360.
45. Freemark, M. (2018). Childhood Obesity in the Modern Age: Global Trends, Determinants, Complications, and Costs. In *Pediatric Obesity* (pp. 3-24). Humana Press, Cham.
46. Copeland, K. C., Zeitler, P., Geffner, M., Guandalini, C., Higgins, J., Hirst, K., ... & Pyle, L. (2011). Characteristics of adolescents and youth with recent-onset type 2 diabetes: the TODAY cohort at baseline. . s.l. : *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(1), 159-167.
47. Magnussen, C. G., Cheriyan, S., Sabin, M. A., Juonala, M., Koskinen, J., Thomson, R., ... & Hutri-Kähönen, N. (2016). Continuous and dichotomous metabolic syndrome definitions in youth predict adult type 2 diabetes and carotid artery intima media thickness. s.l. : : *the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. The Journal of pediatrics*, 171, 97-103.
48. Llewellyn, A., Simmonds, M., Owen, C. G., & Woolacott, N. (2016). Childhood obesity as a predictor of morbidity in adulthood: a systematic review and meta-analysis. *Obesity reviews*, 17(1), 56-67.
49. NCD Risk Factor Collaboration. (2016). Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4· 4 million participants. *The Lancet*, 387(10027), 1513-1530.
50. Morrison, J. A., Glueck, C. J., Woo, J. G., & Wang, P. (2012). Risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes retained from childhood to adulthood predict adult outcomes: the Princeton LRC Follow-up Study. . s.l. : *International journal of pediatric endocrinology*, 2012(1), 6.

51. Magnussen, C. G., Koskinen, J., Chen, W., Thomson, R., Schmidt, M. D., Srinivasan, S. R., ... & Taittonen, L. (2010). Pediatric metabolic syndrome predicts adulthood metabolic syndrome, subclinical atherosclerosis, and type 2 diabetes mellitus but is no. s.l. : better than body mass index alone: the Bogalusa Heart Study and the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Circulation*, 122(16), 1604-1611.

52. Twig, G., Yaniv, G., Levine, H., Leiba, A., Goldberger, N., Derazne, E., ... & Haklai, Z. (2016). Body-mass index in 2.3 million adolescents and cardiovascular death in adulthood. *New England Journal of Medicine*, 374(25), 2430-2440.

53. Ohlsson, C., Bygdell, M., Sundén, A., Rosengren, A., & Kindblom, J. M. (2016). Association between excessive BMI increase during puberty and risk of cardiovascular mortality in adult men: a population-based cohort study. . s.l. : The Lancet Diabetes & Endocrinology, 4(12), 1017-1024.

54. Guo, Y., Yue, X. J., Li, H. H., Song, Z. X., Yan, H. Q., Zhang, P., ... & Li, T. (2016). Overweight and obesity in young adulthood and the risk of stroke: a meta-analysis. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 25(12), 2995-3004.

55. Daniels, S. R. (2005). Regulation of body mass and management of childhood overweight. *Pediatric blood & cancer*, 44(7), 589-594.

56. Bilginturan N. (2000) Çocukluk yaşı obezitelerinde tedavi. *Katkı Pediatri Dergisi*, 21(4), 527-536.

57. Atalay A, Kutsal YG. (2000) Pediatrik obezite ve egzersiz. *Katkı Pediatri Dergisi*, 21(4), 537-548.

58. Hillsdon, M., Thorogood, M., Anstiss, T., & Morris, J. (1995). Randomised controlled trials of physical activity promotion in free living populations: a review. *Journal of Epidemiology & Community Health*, 49(5), 448-453.

59. Yanovski, J. A. (2001). Aggressive treatment for childhood and adolescent obesity. In *Nestle Nutrition Workshop Series Pediatric Program* (Vol. 49, pp. 41-43).

60. Wilson, D. M., Abrams, S. H., Aye, T., Lee, P. D., Lenders, C., Lustig, R. H., ... & Feldman, H. A. (2010). Metformin extended release treatment of adolescent obesity: a 48-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial with 48-week follow-up. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 164(2), 116-123.
61. McAllister, E. J., Dhurandhar, N. V., Keith, S. W., Aronne, L. J., Barger, J., Baskin, M., ... & Elobeid, M. (2009). Ten putative contributors to the obesity epidemic. *Critical reviews in food science and nutrition*, 49(10), 868-913.
62. da Fonseca, A. C. P., Mastronardi, C., Johar, A., Arcos-Burgos, M., & Paz-Filho, G. (2017). Genetics of non-syndromic childhood obesity and the use of high-throughput DNA sequencing technologies. *Journal of Diabetes and its Complications*, 31(10), 1549-1556.
63. Yang, W., Kelly, T., & He, J. (2007). Genetic epidemiology of obesity. *Epidemiologic reviews*, 29(1), 49-61.
64. Bouchard, C., Tremblay, A., Després, J. P., Nadeau, A., Lupien, P. J., Thériault, G., ... & Fournier, G. (1990). The response to long-term overfeeding in identical twins. *New England Journal of Medicine*, 322(21), 1477-1482.
65. Bouchard, C., Tremblay, A., Després, J. P., Thériault, G., Nadeauf, A., Lupien, P. J., ... & Fournier, G. (1994). The response to exercise with constant energy intake in identical twins. *Obesity research*, 2(5), 400-410.
66. Stunkard, A. J., Sørensen, T. I., Hanis, C., Teasdale, T. W., Chakraborty, R., Schull, W. J., & Schulsinger, F. (1986). An adoption study of human obesity. *New England Journal of Medicine*, 314(4), 193-198.
67. Huvenne, H., Dubern, B., Clément, K., & Poitou, C. (2016). Rare genetic forms of obesity: clinical approach and current treatments in 2016. *Obesity facts*, 9(3), 158-173.
68. Locke, A. E., Kahali, B., Berndt, S. I., Justice, A. E., Pers, T. H., Day, F. R., ... & Croteau-Chonka, D. C. (2015). Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. *Nature*, 518(7538), 197.

69. Albuquerque, D., Stice, E., Rodríguez-López, R., Manco, L., & Nóbrega, C. (2015). Current review of genetics of human obesity: from molecular mechanisms to an evolutionary perspective. *Molecular genetics and genomics*, 290(4), 1191-1221.
70. Larder, R., Lim, C. T., & Coll, A. P. (2014). Genetic aspects of human obesity. In *Handbook of clinical neurology* (Vol. 124, pp. 93-106). Elsevier.
71. Anand, B. K., & Brobeck, J. R. (1951). Hypothalamic control of food intake in rats and cats. *The Yale journal of biology and medicine*, 24(2), 123.
72. Daousi, C., Dunn, A. J., Foy, P. M., MacFarlane, I. A., & Pinkney, J. H. (2005). Endocrine and neuroanatomic features associated with weight gain and obesity in adult patients with hypothalamic damage. *The American journal of medicine*, 118(1), 45-50.
73. Bell, C. G., Walley, A. J., & Froguel, P. (2005). The genetics of human obesity. *Nature reviews genetics*, 6(3), 221.
74. Ramachandrapa, S., Gorrigan, R., Clark, A., & Chan, L. (2013). The melanocortin receptors and their accessory proteins. *Frontiers in endocrinology*, 4, 9.
75. Yeo, G. S., Hung, C. C. C., Rochford, J., Keogh, J., Gray, J., Sivaramakrishnan, S., ... & Farooqi, I. S. (2004). A de novo mutation affecting human TrkB associated with severe obesity and developmental delay. *Nature neuroscience*, 7(11), 1187.
76. Romieu, I., Dossus, L., Barquera, S., Blottière, H. M., Franks, P. W., Gunter, M., ... & Nishida, C. (2017). Energy balance and obesity: what are the main drivers?. *Cancer Causes & Control*, 28(3), 247-258.
77. Vetter, M. L., Faulconbridge, L. F., Webb, V. L., & Wadden, T. A. (2010). Behavioral and pharmacologic therapies for obesity. *Nature Reviews Endocrinology*, 6(10), 578.
78. Tao, Y. X. (2005). Molecular mechanisms of the neural melanocortin receptor dysfunction in severe early onset obesity. *Molecular and cellular endocrinology*, 239(1-2), 1-14.

79. Ingalls, A. M., Dickie, M. M., & Shell, G. D. (1950). Obese, a new mutation in the house mouse. *Journal of Heredity*, 41, 317-318.
80. Coleman, D. L. (1973). Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. *Diabetologia*, 9(4), 294-298.
81. Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505), 425.
82. Gibson, W. T., Farooqi, I. S., Moreau, M., DePaoli, A. M., Lawrence, E., O'Rahilly, S., & Trussell, R. A. (2004). Congenital leptin deficiency due to homozygosity for the  $\Delta 133G$  mutation: report of another case and evaluation of response to four years of . s.l. : leptin therapy. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(10), 4821-4826.
83. Saeed, S., Bonnefond, A., Manzoor, J., Shabir, F., Ayesha, H., Philippe, J., ... & Butt, T. (2015). Genetic variants in LEP, LEPR, and MC4R explain 30% of severe obesity in children from a consanguineous population. *Obesity*, 23(8), 1687-1695.
84. Wabitsch, M., Funcke, J. B., Lennerz, B., Kuhnle-Krahl, U., Lahr, G., Debatin, K. M., ... & Fischer-Posovszky, P. (2015). Biologically inactive leptin and early-onset extreme obesity. *New England Journal of Medicine*, 372(1), 48-54.
85. Farooqi, I. S., Wangensteen, T., Collins, S., Kimber, W., Matarese, G., Keogh, J. M., ... & Dattani, M. T. (2007). Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor. *New England Journal of Medicine*, 356(3), 237-247.
86. Clark, A. J. (2016). 60 YEARS OF POMC: The proopiomelanocortin gene: discovery, deletion and disease. *Journal of molecular endocrinology*, 56(4), T27-T37.
87. Clément, K., Dubern, B., Mencarelli, M., Czernichow, P., Ito, S., Wakamatsu, K., ... & Leger, J. (2008). Unexpected endocrine features and normal

pigmentation in a young adult patient carrying a novel homozygous mutation in the POMC gene. . s.l. : *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93(12), 4955-4962.

88. Krude, H., Biebermann, H., Luck, W., Horn, R., Brabant, G., & Grüters, A. (1998). Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nature genetics*, 19(2), 155.

89. Samuels, M. E., Gallo-Payet, N., Pinard, S., Hasselmann, C., Magne, F., Patry, L., ... & Bouvier, M. (2013). Bioinactive ACTH causing glucocorticoid deficiency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(2), 736-742.

90. Frank, G. R., Fox, J., Candela, N., Jovanovic, Z., Bochukova, E., Levine, J., ... & Farooqi, I. S. (2013). Severe obesity and diabetes insipidus in a patient with PCSK1 deficiency. *Molecular genetics and metabolism*, 110(1-2), 191-194.

91. Valette, M., Bellisle, F., Carette, C., Poitou, C., Dubern, B., Paradis, G., ... & Czernichow, S. (2013). Eating behaviour in obese patients with melanocortin-4 receptor mutations: a literature review. *International journal of obesity*, 37(8), 1027.

92. Tapia-Arancibia, L., Rage, F., Givalois, L., & Arancibia, S. (2004). Physiology of BDNF: focus on hypothalamic function. *Frontiers in neuroendocrinology*, 25(2), 77-107.

93. Holder Jr, J. L., Zhang, L., Kublaoui, B. M., DiLeone, R. J., Oz, O. K., Bair, C. H., ... & Zinn, A. R. (2004). Sim1 gene dosage modulates the homeostatic feeding response to increased dietary fat in mice. . s.l. : *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 287(1), E105-E113.

94. Holder Jr, J. L., Butte, N. F., & Zinn, A. R. (2000). Profound obesity associated with a balanced translocation that disrupts the SIM1 gene. *Human molecular genetics*, 9(1), 101-108.

95. Zegers, D., Beckers, S., Hendrickx, R., Van Camp, J. K., De Craemer, V., Verrijken, A., ... & Massa, G. (2014). Mutation screen of the SIM1 gene in pediatric patients with early-onset obesity. *International journal of obesity*, 38(7), 1000.

96. Ramachandrappa, S., Raimondo, A., Cali, A. M., Keogh, J. M., Henning, E., Saeed, S., ... & Trowse, V. (2013). Rare variants in single-minded 1 (SIM1) are associated with severe obesity. *The Journal of clinical investigation*, 123(7), 3042-3050.
97. Does, R. M., Liang, L., Davis, P., Thomas, A. L., & Petko, B. (2016). 60 YEARS OF POMC: Melanocortin receptors: evolution of ligand selectivity for melanocortin peptides. *Journal of molecular endocrinology*, 56(4), T119-T133.
98. Farooqi, I. S., Keogh, J. M., Yeo, G. S., Lank, E. J., Cheetham, T., & O'Rahilly, S. (2003). Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *New England Journal of Medicine*, 348(12), 1085-1095.
99. Dubern, B., Clément, K., Pelloux, V., Froguel, P., Girardet, J. P., Guy-Grand, B., & Tounian, P. (2001). Mutational analysis of melanocortin-4 receptor, agouti-related protein, and  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone genes in severely obese children. *s.l. : The Journal of pediatrics*, 139(2), 204-209.
100. Xi, B., Chandak, G. R., Shen, Y., Wang, Q., & Zhou, D. (2012). Association between common polymorphism near the MC4R gene and obesity risk: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 7(9), e45731.
101. Farooqi, I. S., Yeo, G. S., Keogh, J. M., Aminian, S., Jebb, S. A., Butler, G., ... & O'Rahilly, S. (2000). Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 receptor deficiency. *s.l. : The Journal of clinical investigation*, 106(2), 271-279.
102. Rene, P., Le Gouill, C., Pogozheva, I. D., Lee, G., Mosberg, H. I., Farooqi, I. S., ... & Bouvier, M. (2010). Pharmacological chaperones restore function to MC4R mutants responsible for severe early-onset obesity. *s.l. : Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 335(3), 520-532.
103. Rui, L. (2014). SH2B1 regulation of energy balance, body weight, and glucose metabolism. *World journal of diabetes*, 5(4), 511.

104. Doche, M. E., Bochukova, E. G., Su, H. W., Pearce, L. R., Keogh, J. M., Henning, E., ... & Argetsinger, L. S. (2012). Human SH2B1 mutations are associated with maladaptive behaviors and obesity. *The Journal of clinical investigation*, 122(12), 4732-4736.
105. Pearce, L. R., Atanassova, N., Banton, M. C., Bottomley, B., van der Klaauw, A. A., Revelli, J. P., ... & Jeter-Jones, S. (2013). KSR2 mutations are associated with obesity, insulin resistance, and impaired cellular fuel oxidation. *Cell*, 155(4), 765-777.
106. Revelli, J. P., Smith, D., Allen, J., Jeter-Jones, S., Shadoan, M. K., Desai, U., ... & Suwanichkul, A. (2011). Profound obesity secondary to hyperphagia in mice lacking kinase suppressor of ras 2. *Obesity*, 19(5), 1010-1018.
107. Bowden, D. W., Sale, M., Howard, T. D., Qadri, A., Spray, B. J., Rothschild, C. B., ... & Freedman, B. I. (1997). Linkage of genetic markers on human chromosomes 20 and 12 to NIDDM in Caucasian sib pairs with a history of diabetic nephropathy. *Diabetes*, 46(5), 882-886.
108. Li, W. D., Dong, C., Li, D., Zhao, H., & Price, R. A. (2004). An obesity-related locus in chromosome region 12q23-24. *Diabetes*, 53(3), 812-820.
109. Paz-Filho, G., Boguszewski, M., Mastronardi, C., Patel, H., Johar, A., Chuah, A., ... & Licinio, J. (2014). Whole exome sequencing of extreme morbid obesity patients: translational implications for obesity and related disorders. *Genes*, 5(3), 709-725.
110. Gil, S. Y., Youn, B. S., Byun, K., Huang, H., Namkoong, C., Jang, P. G., ... & Shin, M. S. (2013). Clusterin and LRP2 are critical components of the hypothalamic feeding regulatory pathway. *Nature communications*, 4, 1862.
111. Hu, H., Roach, J. C., Coon, H., Guthery, S. L., Voelkerding, K. V., Margraf, R. L., ... & Wang, S. (2014). A unified test of linkage analysis and rare-variant association for analysis of pedigree sequence data. *Nature biotechnology*, 32(7), 663.

112. Moustafa, J. S. E. S., & Froguel, P. (2013). From obesity genetics to the future of personalized obesity therapy. *Nature Reviews Endocrinology*, 9(7), 402.
113. Shashi, V., McConkie-Rosell, A., Rosell, B., Schoch, K., Vellore, K., McDonald, M., ... & Goldstein, D. B. (2014). The utility of the traditional medical genetics diagnostic evaluation in the context of next-generation sequencing for undiagnosed genetic . s.l. : disorders. *Genetics in Medicine*, 16(2), 176.
114. Wheeler, E., Huang, N., Bochukova, E. G., Keogh, J. M., Lindsay, S., Garg, S., ... & O'Rahilly, S. (2013). Genome-wide SNP and CNV analysis identifies common and low-frequency variants associated with severe early-onset obesity. . s.l. : *Nature genetics*, 45(5), 513.
115. Hasstedt, S. J., Xin, Y., Mao, R., Lewis, T., Adams, T. D., & Hunt, S. C. (2015). A copy number variant on chromosome 20q13. 3 implicated in thinness and severe obesity. *Journal of obesity*, 2015.
116. Yazdi, F. T., Clee, S. M., & Meyre, D. (2015). Obesity genetics in mouse and human: back and forth, and back again. *PeerJ*, 3, e856.
117. Scuteri, A., Sanna, S., Chen, W. M., Uda, M., Albai, G., Strait, J., ... & Dei, M. (2007). Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS genetics*, 3(7), e115.
118. Need, A. C., Shashi, V., Hitomi, Y., Schoch, K., Shianna, K. V., McDonald, M. T., ... & Goldstein, D. B. (2012). Clinical application of exome sequencing in undiagnosed genetic conditions. *Journal of medical genetics*, 49(6), 353-361.
119. Philippe, J., Stijnen, P., Meyre, D., De Graeve, F., Thuillier, D., Delplanque, J., ... & Bonnefond, A. (2015). A nonsense loss-of-function mutation in PCSK1 contributes to dominantly inherited human obesity. *International journal of obesity*, 39(2), 295.
120. Paz-Filho, G., Mastronardi, C. A., & Licinio, J. (2015). Leptin treatment: facts and expectations. *Metabolism*, 64(1), 146-156.

121. Johar, A. S., Mastronardi, C., Rojas-Villarraga, A., Patel, H. R., Chuah, A., Peng, K., ... & Velez, J. I. (2015). Novel and rare functional genomic variants in multiple autoimmune syndrome and Sjögren's syndrome. *s.l. : Journal of translational medicine*, 13(1), 173.

122. Vélez, J. I., Lopera, F., Patel, H. R., Johar, A. S., Cai, Y., Rivera, D., ... & Easteal, S. (2016). Mutations modifying sporadic Alzheimer's disease age of onset. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 171(8), 1116-1130.

123. Ott, J., Wang, J., & Leal, S. M. (2015). Genetic linkage analysis in the age of whole-genome sequencing. *Nature Reviews Genetics*, 16(5), 275.

124. Wright, C. F., Fitzgerald, T. W., Jones, W. D., Clayton, S., McRae, J. F., Van Kogelenberg, M., ... & Bevan, A. P. (2015). Genetic diagnosis of developmental disorders in the DDD study: a scalable analysis of genome-wide research data. *s.l. : The Lancet*, 385(9975), 1305-1314.

125. Posey, J. E., Rosenfeld, J. A., James, R. A., Bainbridge, M., Niu, Z., Wang, X., ... & Xia, F. (2016). Molecular diagnostic experience of whole-exome sequencing in adult patients. *Genetics in Medicine*, 18(7), 678.

126. Saeed, S., Bonnefond, A., Manzoor, J., Philippe, J., Durand, E., Arshad, M., ... & Froguel, P. (2014). Novel LEPR mutations in obese Pakistani children identified by PCR-based enrichment and next generation sequencing. *Obesity*, 22(4), 1112-1117.

127. Liu, D. J., & Leal, S. M. (2010). A novel adaptive method for the analysis of next-generation sequencing data to detect complex trait associations with rare variants due to gene main effects and interactions. *PLoS genetics*, 6(10), e1001156.

128. Philippe, J., Derhourhi, M., Durand, E., Vaillant, E., Dechaume, A., Rabearivelo, I., ... & Froguel, P. (2015). What is the best NGS enrichment method for the molecular diagnosis of monogenic diabetes and obesity?. *PloS one*, 10(11), e0143373.

129. Reinehr, T., Hebebrand, J., Friedel, S., Toschke, A. M., Brumm, H., Biebermann, H., & Hinney, A. (2009). Lifestyle intervention in obese children with variations in the melanocortin 4 receptor gene. *Obesity*, 17(2), 382-389.

130. Steffen, R., Potoczna, N., Bieri, N., & Horber, F. F. (2009). Successful multi-intervention treatment of severe obesity: a 7-year prospective study with 96% follow-up. *Obesity surgery*, 19(1), 3-12.

131. Aslan, I. R., Campos, G. M., Calton, M. A., Evans, D. S., Merriman, R. B., & Vaisse, C. (2011). Weight loss after Roux-en-Y gastric bypass in obese patients heterozygous for MC4R mutations. *Obesity surgery*, 21(7), 930-934.

132. Farooqi, I. S., Matarese, G., Lord, G. M., Keogh, J. M., Lawrence, E., Agwu, C., ... & Lechler, R. I. (2002). Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin . s.l. : deficiency. *The Journal of clinical investigation*, 110(8), 1093-1103.

133. Boughton, C. K., & Murphy, K. G. (2013). Can neuropeptides treat obesity? A review of neuropeptides and their potential role in the treatment of obesity. *British journal of pharmacology*, 170(7), 1333-1348.

134. Genetics Home Reference. UGT1A1 gene. Erişim Tarihi: 01.10.2019, URL: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/UGT1A1>.

135. Schwertner, H. A., Jackson, W. G., & Tolan, G. (1994). Association of low serum concentration of bilirubin with increased risk of coronary artery disease. *Clinical chemistry*, 40(1), 18-23.

136. Vitek, L. (2012). The role of bilirubin in diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases. *Frontiers in pharmacology*, 3, 55.

137. Tanaka, M., Fukui, M., Tomiyasu, K. I., Akabame, S., Nakano, K., Hasegawa, G., ... & Nakamura, N. (2009). Low serum bilirubin concentration is associated with coronary artery calcification (CAC). *Atherosclerosis*, 206(1), 287-291.

138. Kimm, H., Yun, J. E., Jo, J., & Jee, S. H. (2009). Low serum bilirubin level as an independent predictor of stroke incidence: a prospective study in Korean men and women. *Stroke*, 40(11), 3422-3427.

139. Vitek, L., Novotný, L., Šperl, M., Holaj, R., & Spáčil, J. (2006). The inverse association of elevated serum bilirubin levels with subclinical carotid atherosclerosis. *Cerebrovascular diseases*, 21(5-6), 408-414.

140. Novotný, L., & Vitek, L. (2003). Inverse relationship between serum bilirubin and atherosclerosis in men: a meta-analysis of published studies. *Experimental Biology and Medicine*, 228(5), 568-571.

141. Ko, G. T., Chan, J. C., Woo, J., Lau, E., Yeung, V. T., Chow, C. C., ... & Cockram, C. S. (1996). Serum bilirubin and cardiovascular risk factors in a Chinese population. *Journal of cardiovascular risk*, 3(5), 459-463.

142. Inoguchi, T., Sasaki, S., Kobayashi, K., Takayanagi, R., & Yamada, T. (2007). Relationship between Gilbert syndrome and prevalence of vascular complications in patients with diabetes. *Jama*, 298(12), 1396-1400.

143. Jirásková, A., Jovanovská, J., Škrha, J., & Vitek, L. (2011). Association of low bilirubin levels and promoter variations in UGT1A1 gene with diabetes mellitus type 2. *Hepatol. Int*, 5, 37.

144. Lin, L. Y., Kuo, H. K., Hwang, J. J., Lai, L. P., Chiang, F. T., Tseng, C. D., & Lin, J. L. (2009). Serum bilirubin is inversely associated with insulin resistance and metabolic syndrome among children and adolescents. *Atherosclerosis*, 203(2), 563-568.

145. Choi, S. H., Yun, K. E., & Choi, H. J. (2013). Relationships between serum total bilirubin levels and metabolic syndrome in Korean adults. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 23(1), 31-37.

146. Andersson, C., Weeke, P., Fosbøl, E. L., Brendorp, B., Køber, L., Coutinho, W., ... & Caterson, I. D. (2009). SCOUT investigators. Acute effect of weight loss on levels of total bilirubin in obese, cardiovascular high-risk patients:.

s.l. : an analysis from the lead-in period of the Sibutramine Cardiovascular Outcome trial. *Metabolism*, 58(8), 1109-1115.

147. Lin, Y. C., Chang, P. F., Hu, F. C., Chang, M. H., & Ni, Y. H. (2009). Variants in the UGT1A1 gene and the risk of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Pediatrics*, 124(6), e1221-e1227.

148. COLE, Tim J., et al. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *Bmj*, 2000, 320.7244: 1240.

149. WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative (COSI) [Internet]. [cited 2018 Aug 10]. Available from: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease->.

150. Hedley, A. A., Ogden, C. L., Johnson, C. L., Carroll, M. D., Curtin, L. R., & Flegal, K. M. (2004). Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999-2002. *Jama*, 291(23), 2847-2850.

151. Gibson, L. Y., Byrne, S. M., Davis, E. A., Blair, E., Jacoby, P., & Zubrick, S. R. (2007). The role of family and maternal factors in childhood obesity. *Medical Journal of Australia*, 186(11), 591-595.

152. Portela, D. S., Vieira, T. O., Matos, S. M., de Oliveira, N. F., & Vieira, G. O. (2015). Maternal obesity, environmental factors, cesarean delivery and breastfeeding as determinants of overweight and obesity in children: results from a cohort. *BMC pregnan.*

153. Palomba, S., De Wilde, M. A., Falbo, A., Koster, M. P., La Sala, G. B., & Fauser, B. C. (2015). Pregnancy complications in women with polycystic ovary syndrome. *Human reproduction update*, 21(5), 575-592.

154. Ouyang, Fengxiu, et al. "Maternal BMI, gestational diabetes, and weight gain in relation to childhood obesity: the mediation effect of placental weight." *Obesity* 24.4 (2016): 938-946.

155. Brown, Tamara, et al. "Interventions for preventing obesity in children." *Cochrane Database of Systematic Reviews* 7 (2019).

156. Özcebe H, Bağcı AT, Keskinılıç B, Yardım N, Çelikay N, Çelikcan E. Çocukluk Çağı Obezite Araştırması (COSI-TR) Ön Rapor [Internet]. Ankara, Türkiye; 2013. Available from: <http://www.diabetcemiyeti.org/var/cdn/a/f/cosi-tr-sonuclari.pdf>.

157. Yılmaz, M., Kundakçı, G. A., Dereli, F., Oztornacı, B. O., & Cetişli, N. E. (2019). İlköğretim Öğrencilerinde Yaş ve Cinsiyete Göre Obezite ve İlişkili Özellikler Obezite ve İlişkili Faktörler. *Güncel Pediatri*, 17(1), 127-140.

158. Luyckx, V. A., & Brenner, B. M. (2015). Birth weight, malnutrition and kidney-associated outcomes—a global concern. *Nature Reviews Nephrology*, 11(3), 135.

159. McDonald, S. D., Han, Z., Mulla, S., & Beyene, J. (2010). Overweight and obesity in mothers and risk of preterm birth and low birth weight infants: systematic review and meta-analyses. *Bmj*, 341, c3428.

160. Salihu, H. M., Lynch, O. N., Alio, A. P., & Liu, J. (2008). Obesity subtypes and risk of spontaneous versus medically indicated preterm births in singletons and twins. *American journal of epidemiology*, 168(1), 13-20.

161. Carrillo-Larco RM, Miranda JJ, Bernabe-Ortiz A. Delivery by caesarean section and risk of childhood obesity: analysis of a Peruvian prospective cohort. *Peerj*. 2015;3:e1046.

162. Pei Z, Heinrich J, Fuertes E, Flexeder C, Hoffmann B, Lehmann I, Schaaf B, von Berg A, Koletzko S. Cesarean delivery and risk of childhood obesity. *J Pediatr*. 2014;164(5):1068–73. e1062.

163. Rutayisire, E., Wu, X., Huang, K., Tao, S., Chen, Y., & Tao, F. (2016). Cesarean section may increase the risk of both overweight and obesity in preschool children. *BMC pregnancy and childbirth*, 16(1), 338.

164. Armstrong, J., & Reilly, J. J. (2002). Breastfeeding and lowering the risk of childhood obesity. *The Lancet*, 359(9322), 2003-2004.

165. Koletzko, B., Von Kries, R., Monasterolo, R. C., Subías, J. E., Scaglioni, S., Giovannini, M., ... & Dobrzanska, A. (2009). Can infant feeding choices modulate later obesity risk?. *The American journal of clinical nutrition*, 89(5), 1502S-1508S.
166. Sharples, L., Sharma, V., Coleman, S., Nixon, J., Hamilton-Shield, J., Rutter, H., & Bryant, M. (2019). Systematic Review and Meta-Analysis of Co-morbidities Associated with Child and Adolescent Obesity. *Obesity Reviews*.
167. Vijayakumar, P., Nelson, R. G., Hanson, R. L., Knowler, W. C., & Sinha, M. (2017). HbA1c and the prediction of type 2 diabetes in children and adults. *Diabetes Care*, 40(1), 16-21.
168. Eehalt, S., Wiegand, S., Körner, A., Schweizer, R., Liesenkötter, K. P., Partsch, C. J., ... & Neu, A. (2017). Diabetes screening in overweight and obese children and adolescents: choosing the right test. *European journal of pediatrics*, 176(1), 89-97.
169. Belo, Luís, et al. "Body fat percentage is a major determinant of total bilirubin independently of UGT1A1\*28 polymorphism in young obese." *PloS one* 9.6 (2014): e98467.
170. Wu, Y., Li, M., Xu, M., Bi, Y., Li, X., Chen, Y., ... & Wang, W. (2011). Low serum total bilirubin concentrations are associated with increased prevalence of metabolic syndrome in Chinese. *Journal of diabetes*, 3(3), 217-224.
171. Lee, D. H., Blomhoff, R., & Jacobs, D. R. (2004). Review is serum gamma glutamyltransferase a marker of oxidative stress?. *Free radical research*, 38(6); 535-539.
172. Czajka-Narins, Dorice M., and Eduard Jung. "Physical growth of breast-fed and formula-fed infants from birth to age two years." *Nutrition Research* 6.7 (1986): 753-762.

