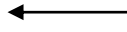
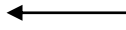


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**DİYET İLE İNDÜKLENMİŞ DENEYSEL OBEZİTE
MODELİNDE OTOFAJİ İLE İLİŞKİLİ GENLERİN
EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

MSC/MOL.BİO FARUK ÇELİK

**DANIŞMAN
PROF. DR. Ş. ÜMİT ZEYBEK**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP DOKTORA PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

TEZ ONAYI





İTHAF

Aileme ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca şahsıma danışman bir tarafa bir aile yakını gibi davranan, eğitim hayatımda, özel hayatımda, iyi günümde, kötü günümde her zaman desteğini esirgemeyen, yol gösteren. Derslerde, kongrelerde, seminerlerde, eğitimlerde, laboratuvar çalışmalarında her zaman öne çıkmamı sağlayan ve beni bu yönde teşvik eden. Projelerin dizaynlarında, hazırlanmalarında, yazılmalarında, uygulamalarında, analizlerinde sonuna kadar getirmemde bana güvenip destek olan saygı değer Hocam Prof. Dr. Ümit ZEYBEK. Size teşekkürlerimi sunmak yetersiz kalır. Bana gösterdiğiniz bu desteği anca sizin gibi ileriki zamanlarda öğrenci yetiştirme imkanım olup sizi gibi, öğrenci adaylarına davranırsam yeterli olacağını düşünüyorum. İyi ki sizin öğrenciniz olup uzun süre sizinle çalışma imkanına sahip olabilmişim. Herşey için iyi ki varsınız...

Zahmetli ve uzun süreli doktora hayatım boyunca güzel günlerimizde mutluluğumuzu, zor günlerimizde kahrımızı çeken ve desteğini esirgemeyen Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanımız saygı değer hocam Prof. Dr. İlhan YAYLIM'a, tezimde desteğini esirgemeyen saygı değer hocam Prof. Dr. Arzu ERGEN'e, Prof. Dr. Bedia ÇAKMAKOĞLU'ya ayrı ayrı teşekkür ederim. Doktora eğitimim süresince bilgilerinden ve deneyimlerinden yararlandığım saygı değer hocalarım Prof. Dr. Hülya YILMAZ AYDOĞAN'a, Prof. Dr. Oğuz ÖZTÜRK'e, Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN'e, Doç. Dr. Özlem TİMİRCİ KAHRAMAN'a, Doç. Dr. Canan CACINA'ya, Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı Başkanı Dr. Öğr. Üyesi Aydın ÇEVİK'e ve tez süresince desteğini dostluğunu esirgemeyen Öğr. Gör. Mehmet Tolgahan HAKAN'a ve çalışma arkadaşım MSc. Şermin DURAK'a tez yazımda verdiği destekten teşekkür ederim.

Tez çalışmamın laboratuvar ayağında malzeme teminindeki desteklerinden ve dostluğundan dolayı değerli kardeşim Hüseyin Remzi KAPUCI'ye teşekkür etmek ayrı bir önem teşkil etmektedir. .

Uzun ve meşakatli eğitim hayatıma beni teşvik eden ve her zaman destek olan vazgeçmeye niyetlendiğim zamanlarda bile beni tekrardan bu sevdiğim mesleğe yönlendiren değerli Eşim Hafsa ÇELİK, biricik kızım Amine ÇELİK, beni her zaman gururla gözlemleyen Anne'm Fatime ÇELİK ve bu süreçte kaybettiğim ama hala desteğini dağ gibi hissettiğim rahmetli Baba'm Enver ÇELİK, iyi ki varsınız(vardın) iyi ki hayatımdasınız hep hayatımda olun...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2017-23779

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİ.....	3
2.1. Kilolu Olma ve Obez Olma Durumunun Tanımı:	3
2.2. Kilo ve Obezitenin Epidemiyolojisi.....	7
2.3. Obezite’yi Etkileyen Faktörler.....	8
2.3.1. Genetik Faktörler	9
2.3.2. Çevresel Faktörler	10
2.3.3. Enerji Harcaması.....	11
2.3.4. Enerji Alımı.....	11
2.3.5. Kültür	11
2.4. Tıbbi Problem Olarak Obezite	12
2.4.1. Obezite ve Tip 2 Diabetes Mellitus.....	12
2.4.2. Obezite’de Kardiovasküler Fonksiyonlar:	14
2.4.3. Obezitede Uyku-Solunum Bozuklukları.....	15
2.5. Deney Hayvanı Modeli	16
2.5.1. İndüklenmiş (Deneysel) Hayvan Modelleri	17
2.5.2. Spontan (Genetik) Hayvan Modelleri	17
2.5.3. Transgenik Knock-out Hayvan Modelleri	17
2.5.4. Negatif Hayvan Modelleri	17
2.5.5. Orphan (Olası) Hayvan Modelleri	18

2.6. Otofaji	19
2.6.1. Otofaji Süreci	21
2.6.2. Otofagozom Oluşumu	22
3. MATERYAL METOD	24
3.1. Hayvan Modeli.....	24
3.1.1. Doku Örnekleri	24
3.1.2. “RNA İzolasyonu”	24
3.1.2.1. “cDNA Sentezi”	25
3.1.3. “RT-PCR Uygulaması”	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. Elde Edilen Bulgular.....	27
4.2. İstatistiksel Analiz ve Elde Edilen Sonuçlar	29
5. SONUÇ.....	34
6. TARTIŞMA	36
7. KAYNAKLAR	39
ETİK KURUL KARARI	49
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	50
ÖZGEÇMİŞ	51

TABLÖLAR LİSTESİ

TABLO 2-1 OBEZİTE TANIMI	4
TABLO 2-2 AŞIRI KİLONUN SINIFLANDIRILMASI İÇİN DSÖ UZMAN KOMİTESİ TARAFINDAN ÖNERİLEN CUT-OFF NOKTALARI	4
TABLO 2-3 METABOLİK KOMPLİKASYONLARDA BEL ÇEVRESİ RİSK ÖNGÖRÜSÜ.	6
TABLO 3-1: RNA İZOLASYON AŞAMALARI	24
TABLO 3-2: CDNA SENTEZ	26
TABLO 3-3: ATG3, ATG5 VE ATG8 PRİMERLERİ	26
TABLO 3-4: RT-PCR UYGULAMA PROTOKOLÜ:	26
TABLO 4-1: ATG3 HAM VERİLERİ.....	27
TABLO 4-2: ATG5 HAM VERİLERİ.....	28
TABLO 4-3: ATG8 HAM VERİLERİ.....	28
TABLO 4-4: DENEY 1 GRUBU YAĞ DOKU SONUÇLARI	31
TABLO 4-5: DENEY 1 GRUBU KARACİĞER DOKU SONUÇLARI	32
TABLO 4-6: DENEY 2 GRUBU YAĞ DOKU SONUÇLARI	33
TABLO 4-7: DENEY 2 GRUBU KARACİĞER DOKU SONUÇLARI	34

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL 2-1 VKİ 30'A KADAR OLAN BİREYLERDE TİP 2 DİYABET, HİPERTANSİYON, KOLELİTİAZİS VE KORONER KALP HASTALIKLARI İLE İLİŞKİLİ RİSK DÜZEYİ.	6
ŞEKİL 2-2 ÜLKELERE GÖRE YETİŞKİNLERDE OBEZİTE PREVELANSI (2009 YILI DAHİL)	8
ŞEKİL 2-3: OBEZİTE GELİŞİMİNDE ETKİLİ OLAN FAKTÖRLER	9
ŞEKİL 2-4 OBEZİTE VE TİP 2 DİYABET	13
ŞEKİL 2-5 OBEZİTEDE KARDİYOYASKÜLER FONKSİYONLAR	15
ŞEKİL 2-6: OBEZİTEDE UYKU SOLUNUM BOZUKLUĞU	16
ŞEKİL 2-7 OBEZİTE'YE YATKINLIĞI BİLİNEN C57BL/6J DENEYSEL HAYVAN MODELİ	19
ŞEKİL 2-8 MEMELİ HÜCRELERİNDE MAKROTOFAJİ SÜRECİ	20
ŞEKİL 2-9: PAS LOKALİZASYONU	23
ŞEKİL 4-1: ATG3 ERİME NOKTASI (MELT PEAK) / ERİME EĞRİSİ VE AMPLİFİKASYON EĞRİSİ	27
ŞEKİL 4-2: ATG5 ERİME NOKTASI(MELT PEAK) / ERİME EĞRİSİ VE AMPLİFİKASYON EĞRİSİ	28
ŞEKİL 4-3: ATG5 ERİME NOKTASI(MELT PEAK) / ERİME EĞRİSİ VE AMPLİFİKASYON EĞRİSİ	29
ŞEKİL 4-4: YAĞ DOKUSU DAĞILIMI	31
ŞEKİL 4-5: KARACİĞER DOKU DAĞILIMI	32
ŞEKİL 4-6: YAĞ DOKUSU DAĞILIMI	33
ŞEKİL 4-7: KARACİĞER DOKUSU DAĞILIMI	34

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ACTB:	Beta Aktinin
Ams1:	Alpha-mannosidaz
AMPK:	AMP-aktive eden Protein Kinaz
ATG:	Otofaji ile İlişkili Genler
Ape1:	Amino peptidaz 1
BAT:	Kahverengi Adipoz Doku
DM:	Tip 2 diabetes mellitus
FFA:	Serbest yağ asidi
HFD:	Yüksek yağlı diyet
IL-6:	İnterlökin-6
IP3:	İnositol-1,4,5-trifosfat”
IR:	İnsülin direnci
KKH:	Kronik Kalp Hastalıkları
NFD:	Normal Yağlı Diyet
OECD:	Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü
PAS:	Preotofagosomal yapı
PE:	Fosfatidiletanolamin
PWS:	Prader-Willi Sendromu
ROS:	Reaktif Oksijen Türleri(), kalsiyum,
RNA:	Ribonükleik asit
RT-qPZR:	Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu
STZ:	Streptozotosin
SYA-FFA:	Plazma Serbest Yağ Asitleri
TRAIL:	Tümör nekroz faktör ilişkili apoptoz indükleyici ligand
T2DM:	Tip 2 diabetes mellitus
VKİ:	Vücut kitle indeksi
WAT:	Beyaz Adipoz Doku)

ÖZET

Çelik Faruk. Diyet ile İndüklenmiş Deneysel Obezite Modelide Otofajiile İlişkili Genlerin Ekspresyon Düzeylerinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2022.

Son yıllarda dünya genelinde özellikle gelişmiş toplumların en önemli sağlık sorunlarından biri haline gelen ve şimdiye kadar en büyük sorun olarak görünen yetersiz beslenme ve enfeksiyon hastalıklarından daha büyük bir problem şeklinde karşımıza çıkan ve metabolik bir hastalık olan obezite, sağlıksız beslenme, spordan uzak yaşam tarzı, stresli iş ve genel hayat tarzı da eklenince tip 2 diabetes mellitus, hipertansiyon, koroner kalp hastalıkları, belirli kanser türleri, uyku solunum bozukluğu ve osteoarthritis gibi ilişkili olduğu hastalıkların da ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Obezite Vücut Kitle İndeksi (VKİ) ile tanımlanmaktadır. Obezitenin özellikle modern toplumlarda küresel salgın halini almasının ana nedenleri olarak genetik duyarlılık, yüksek enerjili gıdalara kolay erişim, fiziksel aktivitede azalma olarak sıralanabilir. Obezitenin artık bireysel kozmetik yada görsel bir sıkıntı olmaktan öte küresel sağlığı tehdit eden bir salgın olarak nitelendirilmesi gerekmektedir. Otofaji, uzun ömürlü proteinlerin ve hasarlı veya fonksiyonel olarak gereksiz olan hücre içi yapıların düzeylerinden sorumludur. Hücresel homeostazın sürdürülmesi için gerekli olan işlemdir, açlık (ATP-üreten substratlar, örneğin amino asitler sağlamak için) ve diğer stres-indükleme koşulları ile aktive edilmektedir. Mekanizmadaki herhangi bir düzensizlik birçok bozukluğa yol açar ve yaşlanmada rol oynar. Hepatik otofajinin obezite ve diabette bozuk olduğu ve bunun düzenlenmesinin insülin duyarlılığını artırdığı bilinmektedir.

Otofaji, sitoplazmik bileşenleri lizozoma ileten hücre içi bir degradasyon sistemidir. Sadeliğine rağmen, son gelişmeler, otofajinin bazen karmaşık olan çok çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik roller oynadığını göstermiştir. Bu sebeplerden dolayı otofaji ile ilişkisi literatürler ve çalışmalar ile kanıtlanan ATG3, ATG5 ve ATG8 genleri çalışmamızda deney hayvan modeli örneklerinde çalışılmıştır.

Çalışmamızda RNA izolasyonu, cDNA sentezi, gerçek zamanlı real-time PCR (RT-qPCR) yöntemleri kullanılmıştır. Oluşturulan 2 adet deney grubu ve kontrol grubunda (20'er hayvan) C57BL6J hayvan modelinin karaciğer ve yağ dokularından

yapılan çalışma sonucu deney grupları ve kontrol grubu yağ ve karaciğer dokusu verileri arasında yapılan karşılaştırmalı istatistiksel analize göre deney grubu 1 (D1) yağ doku örneklerinde ATG5 (Kat Değişimi-1.13: p değeri-0.001: %95 güven aralığı-0,75-1,83) ve ATG8 (Kat Değişimi-0.23: p değeri-0.019: %95 güven aralığı-0,21-2,46) ekspresyon seviyelerinde artış ve anlamlılık olduğu görülmüştür.

D1 grubu karaciğer doku örneklerinde ATG8 (Kat Değişimi-0.60: p değeri-0.001: %95 güven aralığı-1,47-3,73) ekspresyon seviyesinde artış görülmüştür. Kontrol grubu karaciğer doku örneklerinde ATG3 (Kat Değişimi-2.81: p değeri-0.031: %95 güven aralığı-0,19-3,83) ve ATG5 (Kat Değişimi-2.39: p değeri-0.016: %95 güven aralığı-0,36-3,25) ekspresyon seviyelerinde artış ve anlamlılık olduğu görülmüştür.

Deney grubu 2 (D2) ve kontrol grubu yağ doku örnekleri verilerine göre yapılan analiz sonucu, D2 grubunda ATG5 (Kat Değişimi-1.65: p değeri-0.007: %95 güven aralığı-0,23-1,35) ve ATG8 (Kat Değişimi-0.19: p değeri-0.008: %95 güven aralığı-0,45-2,68) ekspresyon seviyelerinde artış ve anlamlılık olduğu görülmüştür.

Deney grubu 2 (D2) ve kontrol grubu karaciğer doku örnekleri verilerine göre yapılan analiz sonucu karaciğer doku örneklerinde ATG8 (Kat Değişimi-0.61: p değeri-0.001: %95 güven aralığı-0,24-3,42) ve kontrol grubunda ATG5 (Kat Değişimi-2.01: p değeri-0.015: %95 güven aralığı-0,33-2,88) ekspresyon seviyelerinde artış ve anlamlılık olduğu görülmüştür.

Çalışmamıza incelenen ATG3, ATG5 ve ATG8 otofaji gen bölgeleri ve uluslararası literatürlere göre yapılan çalışmalar bu araştırmanın devam etmesi gerektiğini göstermektedir. Bu konu ile ilgili örnek sayısını artırarak yapılacak araştırmalarla elde edilen verilerin metabolik bir hastalık olan obezitenin kanser ile ilişkisini daha sağlam temellere bağlayacağını ve bu genlerin tanıda (diagnostikte) birer potansiyel aday gen olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Obezite, Otofaji, Deney Hayvanı Modeli, ATG3,ATG5,ATG8, Ekspresyon,

Proje Desteği: Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2017-23779

ABSTRACT

Çelik Faruk . Expression Levels Investigation of Autophagy Related Genes in Diet Induced Experimental Obesity Model. Istanbul University Institute of Health Sciences, Molecular Medicine Department. Doctoral Thesis. İstanbul. 2022.

Obesity, which is a metabolic disease, which has become one of the most important health problems of especially developed societies throughout the world in recent years, and which has become a bigger problem than malnutrition and infectious diseases, which have been the biggest problems until now, unhealthy diet, lifestyle away from sports, stress When work and general lifestyle are added, it also causes related diseases such as type 2 diabetes mellitus, hypertension, coronary heart diseases, certain types of cancer, sleep breathing disorder and osteoarthritis. Obesity is defined by the Body Mass Index (BMI). Genetic susceptibility, easy access to high-energy foods, and decreased physical activity can be listed as the main causes of obesity becoming a global epidemic, especially in modern societies. Obesity should now be described as an epidemic that threatens global health, rather than an individual cosmetic or visual nuisance. Autophagy is responsible for levels of long-lived proteins and damaged or functionally unnecessary intracellular structures. It is the process necessary for the maintenance of cellular homeostasis, activated by starvation (to provide ATP-producing substrates, eg amino acids) and other stress-inducing conditions. Any irregularity in the mechanism plays a role in many disorders and aging. It is known that hepatic autophagy is impaired in obesity and diabetes, and its regulation increases insulin sensitivity.

Autophagy is an intracellular degradation system that delivers cytoplasmic components to the lysosome. Despite its simplicity, recent advances have shown that autophagy plays a wide variety of physiological and pathophysiological roles that are sometimes complex. For these reasons, ATG3, ATG5 and ATG8 genes, whose relationship with autophagy has been proven by literature and studies, will be studied in experimental animal model samples.

In our study, RNA isolation, cDNA synthesis, real-time PCR (RT-qPCR) methods were used. According to the comparative statistical analysis made between the liver and adipose tissues of the C57BL6J animal model in the two experimental groups and the control group (20 animals each), the experimental groups and the control group adipose and liver tissue data, ATG5 in the experimental group 1 (D1) adipose tissue

samples (Fold change -1.13: p value -0.001: 95% confidence interval -0.75-1.83) and ATG8 (Fold change -0.23: p value -0.019: 95% confidence interval -0.21-2.46) The expression levels were increased and found to be significant.

An increase in the expression level of ATG8 (Cold Change -0.60: p value -0.001: 95% confidence interval -1.47-3.73) was observed in D1 group liver tissue samples. In the liver tissue samples of the control group, ATG3 (Cold Change-2.81: p value-0.031: 95% confidence interval-0.19-3.83) and ATG5 (Cold Change-2.39: p value-0.016: 95% confidence interval-0, 36-3.25) expression levels were increased and found to be significant.

The results of the analysis based on the data of the experimental group 2 (D2) and control group adipose tissue samples showed that ATG5 (Colle Change-1.65: p value-0.007: 95% confidence interval-0.23-1.35) and ATG8 (Fold Change-1.35) in the D2 group. -0.19: p value-0.008: 95% confidence interval -0.45-2.68) was found to be significant and increased in expression levels.

As a result of the analysis performed according to the liver tissue samples of the experimental group 2 (D2) and control group, ATG8 (Cold Change-0.61: p value-0.001: 95% confidence interval-0.24-3.42) in liver tissue samples and ATG5 (Fold Change-2.01: p value-0.015: 95% confidence interval-0.33-2.88) expression levels were found to be increased and significant.

ATG3, ATG5 and ATG8 autophagy gene regions, which are the subject of our study, and studies conducted according to international literature show that this research should continue, and we think that increasing the number of samples related to this subject and the obtained data will connect the relationship between obesity, a metabolic disease, and cancer to a more solid basis. We think that genes are potential candidate genes in diagnosis.

Key Words: Obesity, Autophagy, Animal Model, ATG3,ATG5,ATG8, Expression,

Project Support: This study was supported by Istanbul University, Scientific Research Project Unit. Project Number: TDK-2017-23779

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Otofaji, çift zarla bölümlere ayrılmış olan organeller ve diğer bileşenleri otofagozomda lizozomal enzimlerle parçalayan evrim süresince korunmuş olan bir biyolojik süreçtir(1). Son yıllarda yapılan çalışmalarda otofajinin obez kişilerin adipoz (yağ) dokularında arttığı gözlemlenmiştir. Otofaji belirteçlerinin yağlanma, visceral yağ dağılımı ve adiposit büyüklüğüyle kantitatif değerlendirmede ilişkili olduğu görülmüştür. Ayrıca otofajinin insülin direnci derecesiyle ilişkili olduğu, otofaji ve insülin direncinin obeziteden bağımsız olarak geliştiği bildirilmektedir (2).

Beslenme sırasındaki obez kişilerin adipoz dokularında otofaji artmaktadır, fakat hala diyet altında olan kişilerdeki adipoz doku otofajisi bilinmeyen olarak durmaktadır (3). Obezite ise adipositlerin sayı ya da boyutlarındaki artışla sonuçlanan adipoz doku kütleindeki genişleme ile karakterizedir. Triglicerid(TG) formunda olan lipidler anatomik olarak farklı bölgelerde biriken “beyaz (White adipose tissue WAT)” veya “kahverengi (Brown adipose tissue BAT)” adipositler olarak bilinirler(4). WAT ve BAT arasındaki dengenin obezitenin gelişmesinde esas faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir, kahverengi adipoz dokular doğum sonrasında gelişmezler (5).

Deneysel hayvan modelleri, klinik çalışmalarla karşılaştırıldığında, obezite gibi çok faktörlü poligenik bozukluklar için çok önemlidir. İnsan çalışmalarında, beslenme faktörlerini eşleştirmek ve saf ırktan oluşan bir çalışma grubu oluşturmak uygun değildir (6).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise otofajinin; metabolizma düzenlenmesinde, morfogenezis, hücre farklılaşması, yaşlanma, hücre ölümü ve bağışıklık sistemin bir parçası olarak hücre içi patojenlerin yıkımında da etkili bir rol oynadığını ortaya koymuştur. İnsanlarda 16 “ATG (Autophagy RelaTed Genes - otofaji ile ilişkili genler)” geni mevcuttur ve bu genler ökaryotik hücre içi geri dönüşüm işlemleri boyunca çok iyi korunmaktadır. Ayrıca araştırmalar, otofaji anormalliklerinin, kanser, diyabet, enfeksiyon hastalıkları ve nörodejeneratif hastalıklar gibi önemli sağlık sorunlarında nedenleri arasında yer aldığını göstermektedir. Otofaji ilişkili genlerin (ATG) ürünleri, otofaji işlemlerinde görev alan ana ürünlerdir ve bu genlerden ATG3, ATG5, ATG8 ve ATG12 genleri 7 veya daha fazla mononükleotit tekrarlarına sahiptir (6).

Çalışmamızda diyet ile indüklenmiş kontrol ve deney hayvan modellerinden alınan karaciğer ve yağ dokularında ATG3, ATG5 ve ATG8 gen bölgelerinin ekspresyon düzeyleri bakılmış, metabolik bir hastalık olan ve diyabetle sıkı bağlantısı olan obezitenin aynı şekilde diyabetle ilişkisi bulunan otofaji arasında karşılaştırma yapılarak bilime katkıda bulunması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİ

Son yıllarda dünya genelinde özellikle gelişmiş toplumların en önemli sağlık sorunlarından biri haline gelen ve şimdiye kadar en büyük sorun olarak görünen yetersiz beslenme ve enfeksiyon hastalıklarından daha büyük bir problem şeklinde karşımıza çıkan ve metabolik bir hastalık olan obezite, sağlıksız beslenme, spordan uzak yaşam tarzı, stresli iş ve genel hayat tarzı da eklenince tip 2 diabetes mellitus, hipertansiyon, koroner kalp hastalıkları, belirli kanser türleri, uyku solunum bozukluğu ve osteoarthritis gibi ilişkili olduğu hastalıkların da ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Obezite Vücut Kitle İndeksi (VKİ) ile tanımlanmaktadır. Obezitenin özellikle modern toplumlarda küresel salgın halini almasının ana nedenleri olarak genetik duyarlılık, yüksek enerjili gıdalara kolay erişim, fiziksel aktivitede azalma olarak sıralanabilir. Obezitenin artık bireysel kozmetik yada görsel bir sıkıntı olmaktan öte küresel sağlığı tehdit eden bir salgın olarak nitelendirilmesi gerekmektedir. (8)

2.1. Kilolu olma ve obez olmanın tanımı:

Klinik uygulamada, vücut yağ oranı genellikle ve basit olarak kişinin kilosunun boy karesine bölünmesiyle hesaplanmaktadır (Kg/m^2). Bu hesaplama göre 30 üzeri olan bireyler obez olarak nitelendirilmektedirler. Bu formül genellikle epidemiyolojik çalışmalarda VKİ olarak tanımlanmaktadır. VKİ değerleri kullanılarak aşırı kiloluluk ve obezite'nin dereceli sınıflandırılmasında kullanılması, şişmanlık hakkında çok değerli bilgilerin elde edilmesine olanak sağlamıştır. Popülasyonlar içindeki /arasındaki ağırlık durumunun anlamlı bir şekilde karşılaştırılması ve morbidite/mortalite riski taşıyan bireylerin veya grupların tanımlanmasını sağlamaktadır. Ayrıca, birey veya topluluk düzeyinde müdahale için önceliklerin belirlenmesine ve bu tür müdahalelerin etkinliğinin değerlendirilmesine de izin vermektedir. Vücut oranlarındaki farklılıklar nedeniyle, VKİ'nin farklı popülasyonlarda aynı derecede yağ ile uyuşamayabileceğini bilmek önem arz etmektedir ve farklı bireyler ve popülasyonlar arasındaki obezite'nin doğallığındaki geniş çeşitlilikten de sorumlu değildir. “Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)” uzmanlar komitesi erkek/kadın, tüm yetişkin yaş grupları için geçerli olan aşırı kilo ve obezite sınıflandırılmasını önermiştir (9,10) Tablo 2-1.

Tablo 2-1 Obezite Tanımı

Metod	Tanım	Avantajlar/Sınırlandırmalar
VKİ	Kilogram cinsinden ağırlık, metre cinsinden yüksekliğin karesine bölünür	VKİ, yağ kitlesinin densitometri ölçümleriyle güçlü bir şekilde korelasyon gösterir; temel sınırlama yağ kitlesini yağsız kütleden ayırt etmemesidir.
Bel Çevresi	Kaburgaların alt kenarları ile pelvisin üst kenarları arasındaki orta noktada ölçülen (santimetre cinsinden)	Bel çevresi ve bel-kalça oranı, üst vücutta yağ birikmesini değerlendirmek için önem sağlamaktadır; karın içi (visseral) yağ kesinliği sağlamaktadır
Deri Kıvrım Kalınlığı	Deri kıvrım kalınlığının (santimetre cinsinden) kumpaslarla ölçülmesi, birden fazla alanda alındığında daha kesin bir değerlendirme sağlar	Ölçümler doğru kaliperler gerektirir ve abdominal ve kas içi yağ herhangi bir bilgi sağlamaz, gözlemciler arasında belirgin farklılıklar söz konusudur
Bioempedans	Yağsız kütlenin akımı, yağ kütlesinden daha iyi ilettiği prensibine dayanır, çünkü temelde bir elektrolit çözeltisidir; Ekstremitte boyunca uygulanan zayıf akıma (empedans) direnç ölçümünü ampirik kullanarak bir vücut yağ tahmini sağlayan türetilmiş bir denklemdir	Cihazlar basit ve pratiktir fakat yağ ölçümleri ve biyolojik veriler basit antropometrik cihazlardan daha kesin değildir.

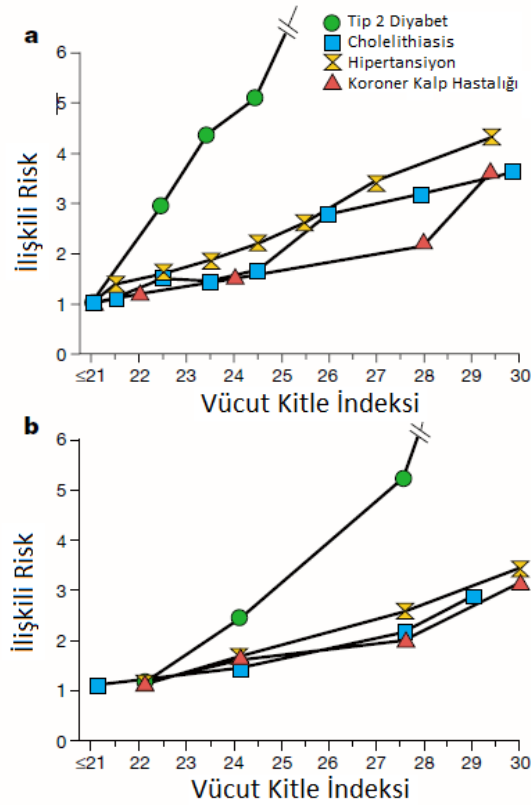
Tablo 2-2 Aşırı kilonun sınıflandırılması için DSÖ uzman komitesi tarafından önerilen Cut-off noktaları

VKİ (kg m-2)	DSÖ sınıflandırması	Popüler tanımlama
<18.5	Normal altı	İnce
18.5–24.9	—	"Sağlıklı", "normal", "kabul edilebilir"
25.0–29.9	Derece 1 kilolu	Kilolu
30.0–39.9	Derece 2 kilolu	Obez
>40.0	Derece 3 kilolu	Morbid obez

* VKİ kilogram cinsinden ağırlık, metre cinsinden yüksekliğin karesine bölünür. Tablo 2-2 ve 2-3'te sunulan veriler, büyük ölçüde gelişmiş ülkelerdeki epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen bilgileri yansıtmaktadır. Gelişmekte olan ülkelere gelen ön bilgiler, hem BMI hem de bel çevresi için düşük Cut-off seviyelerinin (bkz. Tablo 2-3), nispeten ılımlı denebilecek aşırı kilo değerlerinin özellikle risk altında olan bazı popülasyonlar için gerekli olduğunu göstermektedir.

Belirli toplumlar için “Sağlıklı Kilo” tanımını kullanmak problemler doğurmaktadır. İlk olarak tanımlamanın yanıltıcılığı toplam ölüm oranlarına dayanılmasından kaynaklanmaktadır. İnsanlar verilerin toplandığı zamanda hastalıklardan kaynaklı kilo kaybına uğrayabilmekte hatta bazı durumlarda ölüm gözlemlenmektedir. Bu, düşük ağırlıktaki kişilerde ölüm oranının yüksek olması anlamına gelmektedir ve ters nedensellik olarak adlandırılmaktadır. İkinci büyük temel sıkıntı ise VKİ ile ölüm oranı arasındaki ilişkiyi bozabilecek kadar etkili olan ve kanserle dolaylı olarak otofaji ile ilişkisi olabilecek faktörlerden sayılan sigara kullanımı bulunmaktadır. ABD’de “Nurses Helath Study (Hemşirelik Sağlık Çalışması)” bünyesinde 17 yıl boyunca 116.000 kadın üzerinde VKİ ile ölüm arasında yaş temelli analiz içerikli, prospektif çalışma sonucunda U şeklinde bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir. Ancak bu çalışmada sigara içmeyenler analize alındığında ve sadece bu vakalar ile sınırlı kaldığında ilişkinin basit olarak pozitif bağlantı haline geldiği görülmektedir (11).

Hesaplamalardaki bu tür eksikliklere rağmen VKİ ile tip 2 Diyabet, Hipertansiyon, Kronik Kalp Hastalıkları (KKH) ve kolelitiazis dahil olmak üzere aşırı yağ birikmesinin neden olduğu çeşitli kronik durumlarla, görülme sıklığı arasında yakın bir ilişki olduğu görülmektedir (Şekil 2-1). VKİ 29 altında olan bireylerde indeks dizisi doğrusal ilişki göstermekte olup VKİ 29 üzeri olanlarda tüm riskler büyük ölçüde artmıştır (12,13).



Şekil 2-1 VKİ 30'a kadar olan bireylerde tip 2 diyabet, hipertansiyon, kolelitiazis ve koroner kalp hastalıkları ile ilişkili risk düzeyi.

- a. Başlangıç yaşı 30-55 arası 18 yıldır takip edilen kadın bireyler.
b. Başlangıç yaşı 40-65 arası 10 yıla kadar takip edilen erkek bireyler

Bel çevresi, hipertansiyon veya kan lipid düzeyleri gibi KKH risk ölçümleriyle ilişkilidir. Bel çevresi sürekliliği üzerindeki Cutt-off noktaları seçimi, VKİ'dekine benzer hassasiyet ve özgüllük arasında bir denge kurulmasını gerektirmektedir. Bel çevresi için cinsiyete göre ut-off noktaları yetişkinler için değerlerin yorumlanmasında yol gösterici olabilir. Önerilen Cut-off seviyeleri Tablo 2-3'te gösterilmiştir, seviye 1 klinisyenleri potansiyel risk konusunda uarmaya yöneliktir, ancak seviye 2 tedavi başlatmaya yöneliktir (14).

Tablo 2-3 Metabolik komplikasyonlarda bel çevresi risk öngörüsü.

	Artan risk	Büyük ölçüde artan risk
Erkek	≥94 cm	≥102 cm
Kadın	≥88 cm	≥88 cm

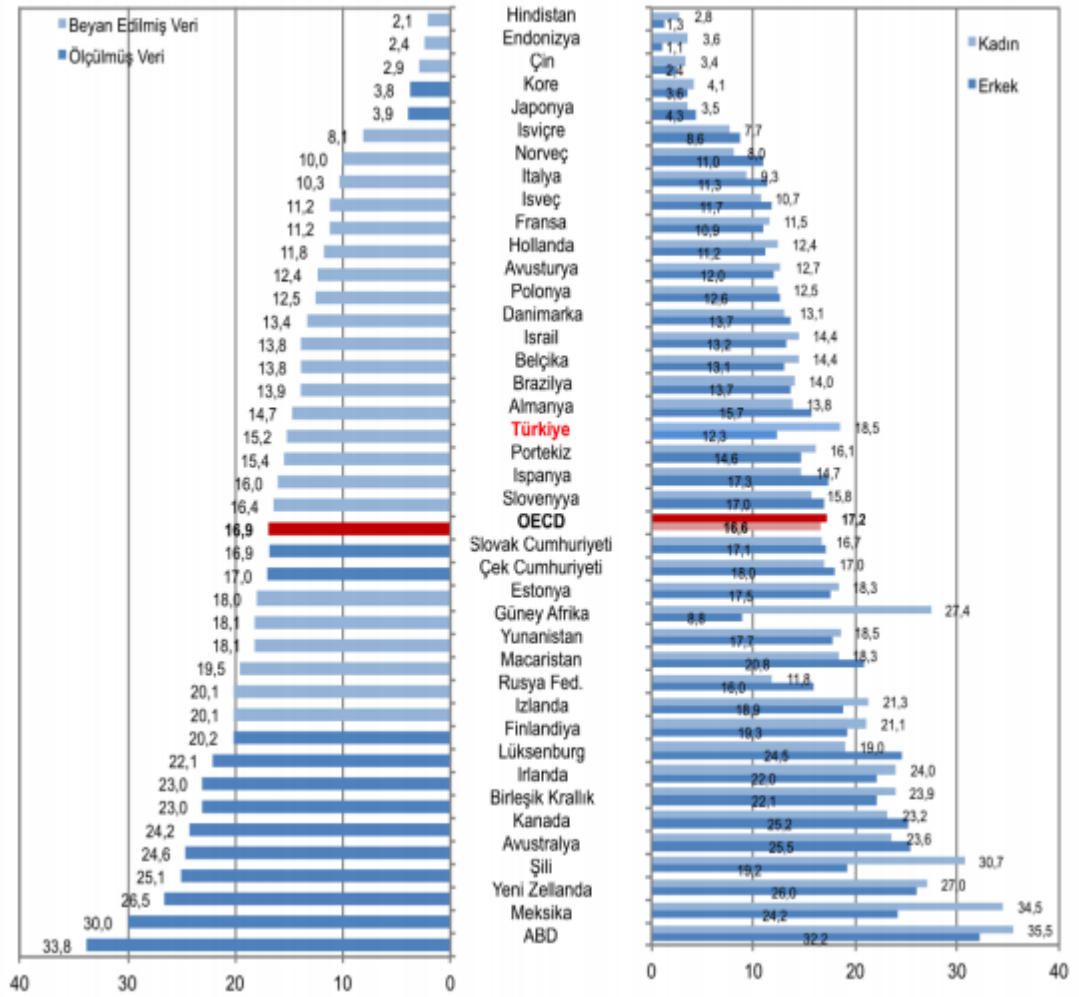
Kafkasya ırkında obezite ile ilişkili metabolik komplikasyonların tedavisine yönelik cinsiyete özgü bel çevresi ‘artan risk’ (seviye 1) ve ‘büyük ölçüde artan risk’ (seviye 2) olarak belirlenmiştir. Seviye 1, klinisyenleri KKH için potansiyel risk konusunda uyarmaya yöneliktir seviye 2 ise terapötik etkinin başlatılması önerilmektedir.

2.2. Kilo ve Obezitenin Epidemiyolojisi

Obezite, sağlığın olumsuz yönde etkilenebileceği şekilde fazla vücut yağının biriktiği bir hastalık olarak tanımlanabilir. Gelişmiş ülkelerde obezite’nin ekonomik maliyet tahminleri, ulusal sağlık bütçelerinin önemli bir harcamasını temsil eden toplam sağlık maliyetlerinin %2 ila 7’si arasındadır (15). Farklı seviyelerde risk taşıyan bazı etnik popülasyonlarda karın içi yağ birikimiyle birlikte aşırı şişman olan obez bireylerin olumsuz sağlık sonuçlarının riski altında olduğu bilinmektedir (16). Ülkeler arasındaki obezite yükünün gerçek karşılaştırmasını yapmak için, aynı süre zarfında ölçüm ve toplama için aynı protokolleri izleyen, boy ölçümü ve ağırlık ile popülasyona dayalı verileri karşılaştırmak gerekmektedir. Bir popülasyonun VKİ aralığı, bir ülkenin ekonomik geçiş aşamasına (besin açığından besin fazlalığına geçiş gibi) ve sanayileşmesine göre önemli ölçüde değişmektedir. VKİ’si düşük olan nüfusun oranı azaldıkça, VKİ’si 25’ten büyük olan nüfusun popülasyonunda neredeyse simetrik bir artış söz konusudur. Sosyo-ekonomik durumun değişimiyle birlikte popülasyon genelinde zayıf bireylerin yerine kilolu bireylerin geçtiği de gözlemlenmiştir. Geçişin ilk aşamalarında toplumun daha varlıklı olan kesimlerinde VKİ’si yüksek olan bireylerin oranında artış gözükürken, orta ve düşük gelirli kesimde ise zayıflık veya açlık ana endişe kaynağı olmaya devam etmektedir. VKİ’nin dağılımı, daha sonraki geçiş evrelerinde düşük gelirli kesim içinde yüksek VKİ prevalansının artmasıyla tekrar değişme eğilimindedir. Burada önemli olan husus sanayileşmiş ve gelişmekte olan ülkelerde çocuk ve ergenlerde ki obezite’de göze çarpan bir artış sonucunda erişkin obezite prevelansındaki değişikliklerin gözlenmesidir. Erken obezite başlangıcı, bireylerin yaşamlarındaki sonraki evrelerinde obezite olasılığının artmasına ve ayrıca obezite’ye bağlı hastalıkların prevalansının yükselmesine yol açmaktadır (17,18).

1980 yılına kadar olan OECD raporlarına göre 10 kişiden 1’i ve/veya daha azı obez iken daha sonrasında bu oran 34 OECD ülkesinden 19’unda iki ya da üç kat

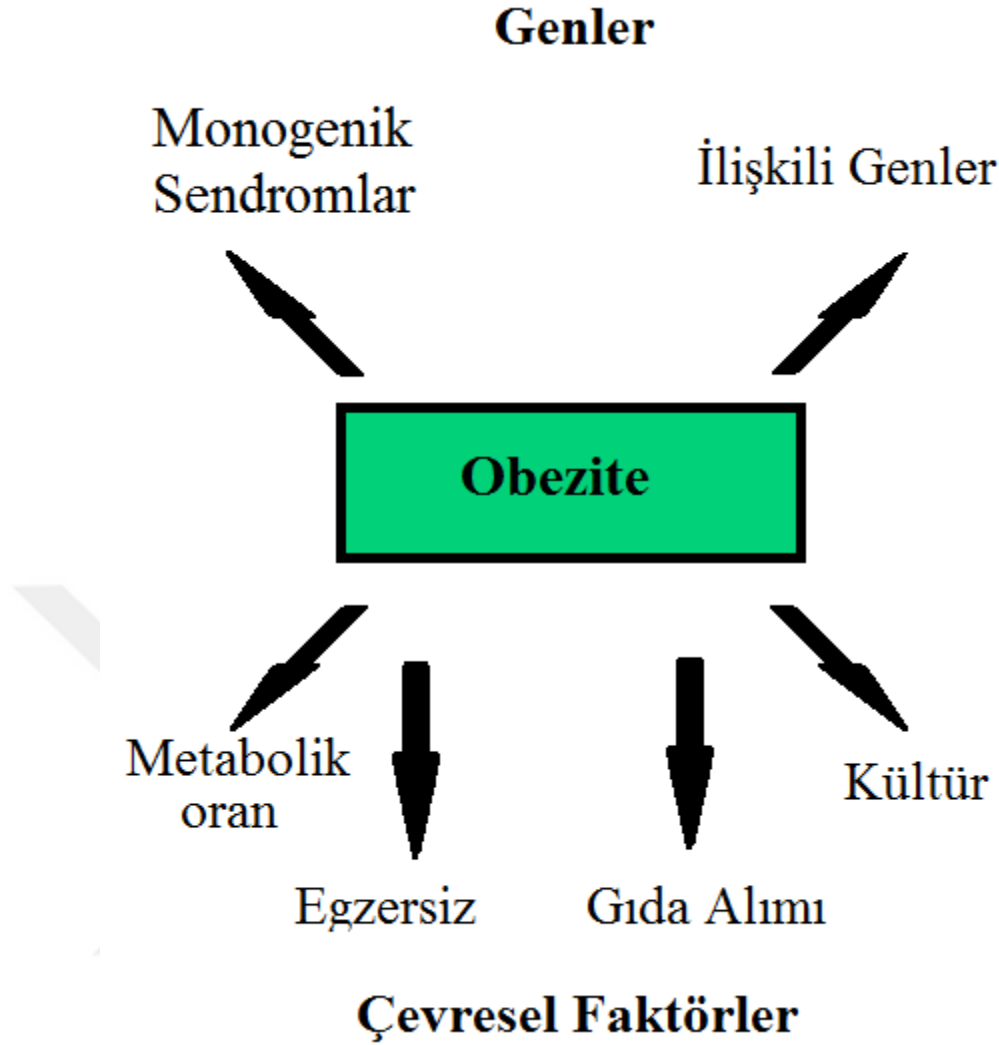
artmıştır. Şekil 2-2’de OECD ülkelerinin VKİ’lerine göre obezite prevelansları verilmektedir (19).



Şekil 2-2 Ükelere göre yetişkinlerde obezite prevelansı (2009 yılı dahil)

2.3. Obezite’yi etkileyen faktörler

Obezite tek başına bir hastalık olarak görülmemektedir. Birden fazla nedeni olan heterojen bir yapıya sahiptir. Vücut ağırlığı fizyolojik mediyatörlerin enerji alımı ve harcaması sırasında genetik, çevresel ve psikososyal faktörler arasındaki etkileşim ile belirlenmektedir. Her ne kadar genetik farklılıklar şüphe götürmez durumda olsa da, obezite prevelansındaki belirgin artışın en iyi açıklaması teknolojik imkanların sonucu olarak davranışsal ve çevresel değişimlerle olduğu söylenebilmektedir (Şekil 3).



Şekil 2-3: Obezite gelişiminde etkili olan faktörler

2.3.1. Genetik Faktörler

Şişmanlık aile içinde nesilden nesile geçmektedir. Ancak genotipin obezite etiyolojisi üzerindeki etkisi genetik olmayan faktörler tarafından hafifletilebilir veya daha da şiddetlenebilir. Obezite ile ilişkili nadir olarak görülen sendromlar haricinde genetik etkinliğin duyarlı genler üzerinden gerçekleştiği gözlenmektedir. Bu türdeki genler obezite geliştirme riskini artırmasına rağmen kendi başlarına hastalığın gelişmesi veya ekspresyon saptanması için yeterli değildir. Duyarlı gen hipotezi, ikiz çiftlerin pozitif ve negatif enerji dengesi dönemlerinde elde edilen bulgular ile desteklenmektedir (20).

Aday bir gen, belirli bir hastalıkla yakından ilişkili olan belirli bir polipeptit zincirinin sentezini yönlendiren DNA molekülünün bu parçası olarak tanımlanmaktadır. Obezite genlerinin araştırılması, hayvan modellerinden elde edilen potansiyel aday genlerin, insan obezite sendromlarının ve insan genomunu kapsayan mikrosatelitlerin kullanıldığı genom çapında bir araştırmanın yapılmasını içeren çok yönlü bir yaklaşım gerektirmektedir. Obezite için aday genleri, vücut yağ kompozisyonu, yağın anatomik dağılımı, besin alımı ve enerji harcaması üzerindeki olası etkileri için seçilmektedir.

Birçok aday gen, insan obezitesi veya metabolik komplikasyonları ile ilişkilendirilmiştir. Bunlar, iştah düzenlemesinde yer alanların yanı sıra, termojenez mekanizmalarında (örneğin, β -3 adrenerjik reseptör geni ve ayrışma proteinleri ailesi) önemli olan reseptörleri içerir. Ayrıca deney hayvanları modelleri üzerinde yapılan diğer çalışmalarda Leptin ve Leptin-reseptör genindeki mutasyonların insandaki obezite ile ilişkili olduğunu kanıtlayan çalışmalar görülmüştür (21). Obezite ile ilişkili ortaya atılan ilk hipotez, Leptin'in göreceli veya mutlak eksikliğinden kaynaklandığına yöneliktir. Bu hipotez obez bireylerin kan dolaşımında yüksek miktarda leptin seviyesine sahip olmalarından kaynaklanmaktadır (22). Sonrasında yapılan araştırmalarda konjenital eksiklik veya leptin- reseptör genindeki mutasyon sonucu şiddetli obeziteye sahip bireyler tanımlanmıştır (23).

Tek gen bozukluğu ve obezite ilişkisi olarak vücut üst kısmı obezitesi, kısa boy, zeka geriliği ve hipogonadizm ile karakterize olan 1/25000 doğumda görülen, ailesel kalıtım gösteren ve babadan gelen 15. kromozomdaki delesyon sonucu ortaya çıkan Prader-Willi Sendromu (PWS) gösterilebilir. Tek gen bozukluğu ile ilgili olarak Bardet-Biedl sendromu da örnek olarak verilebilir. Karakteristik olarak PWS ile özellikleri aynı olmasına rağmen araştırmalarda hastalığa sebep olan (16, 11, 3 ve 15 kromozom) farklı kromozom lokuslarının sorumlu olduğu görülmüştür.

2.3.2. Çevresel Faktörler

Genler ve çevresel faktörler arasındaki olası etkileşimler hakkındaki tahminler zordur çünkü bireyin “obezojenik” bir çevreye maruz kalmasında bir gecikme yaşanabilmekte veya yaşam koşullarıyla ilgili yaşam tarzında bir değişiklik veya kilo alma zamanının başlangıcı hakkında kesin zamanlama ile ilgili belirsizlikler etkili olmaktadır.

2.3.3. Enerji Harcaması

Enerji harcamasının en değişken bileşeni, toplam enerji harcamasının %20-50'ini temsil eden fiziksel aktivitedir. Fiziksel aktivite seviyesinin analizi, BMI <20, 20–25 ve 25-35 olan denek gruplarında benzerdir; bu da benzer alışılmış aktivite seviyelerini gösterir (24). Enerji harcaması ve obezite arası herhangi bir ilişki olduğu gözlemlenmemiştir. Ancak düşük fiziksel aktivite gösteren bireyler ile obezite arasında ilişki olduğu yapılan bazı çalışmalarla ortaya konmuştur (25).

2.3.4. Enerji Alımı

Enerji alımının obezite etiyolojisindeki rolünün anlaşılması, gıda alımını doğru rapor etmemekle karıştırılmaktadır. Obezite konusunda enerji alım ve harcaması karşılaştırması hakkında yapılan az sayıdaki raporlama obezite hatalığının temel özelliklerinde biri olarak kabul edilmektedir (26,27). Ağırıklı protein, yağ ve karbonhidrat gibi makrobesinlerin bireysel olarak doyum üzerindeki etkilerinin bir sonucu olarak yeme alışkanlıklarının farklı etkileri olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. Yağ, özellikle protein ile karşılaştırıldığında, doyurucu bir kapasiteye sahiptir ve deneysel durumdaki denekler, yüksek yağ içeren gıdalarla birlikte sunulduklarında kolayca tüketilmektedir (28). Çevresel faktörlerin artan enerji alımı ve/veya azalan enerji harcamasını tetiklemesi muhtemeldir. Yüksek yağlı diyetlerin popülasyonlarda artan bir obezite riski ile ilişkili olduğuna dair bazı kanıtlar mevcuttur. Ancak kültürlerarası diyet çalışmaları ile beslenme faktörleri ve göreceli ağırlıklar arasında tutarlı bir ilişki olduğuna kanıtlanamamıştır (29).

2.3.5. Kültür

Çevresel faktörlerin obezite gelişimindeki en büyük kanıtlarından biri olarak gelişmiş ülkelere yapılan insan göçmenler ile yapılan çalışmalardan gösterilmektedir. Aynı genetik alt yapıya sahip olmalarına rağmen değişik çevre koşullarında ve değişik beslenme alışkanlıkları ve fiziksel aktivitelere sahip olan bireyler arası görülen farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Buna örnek olarak Meksika'da yaşayan Pima yerlileri ile Amerika Birleşik Devletleri'nde yaşayan göçmen Pima yerlileri arasında VKİ bakımından ortaya çıkan farklılıklar verilebilir (30). (Buna benzer bir sonuç; Nijerya/Afrika ortalama VKİ erkek ve kadın (21,7 ve 22,6), aynı genetik altyapıya sahip Afrikalıların ABD'de ortalama VKİ erkek ve kadın (27,1 ve 30,8) (31)). Artış gösteren

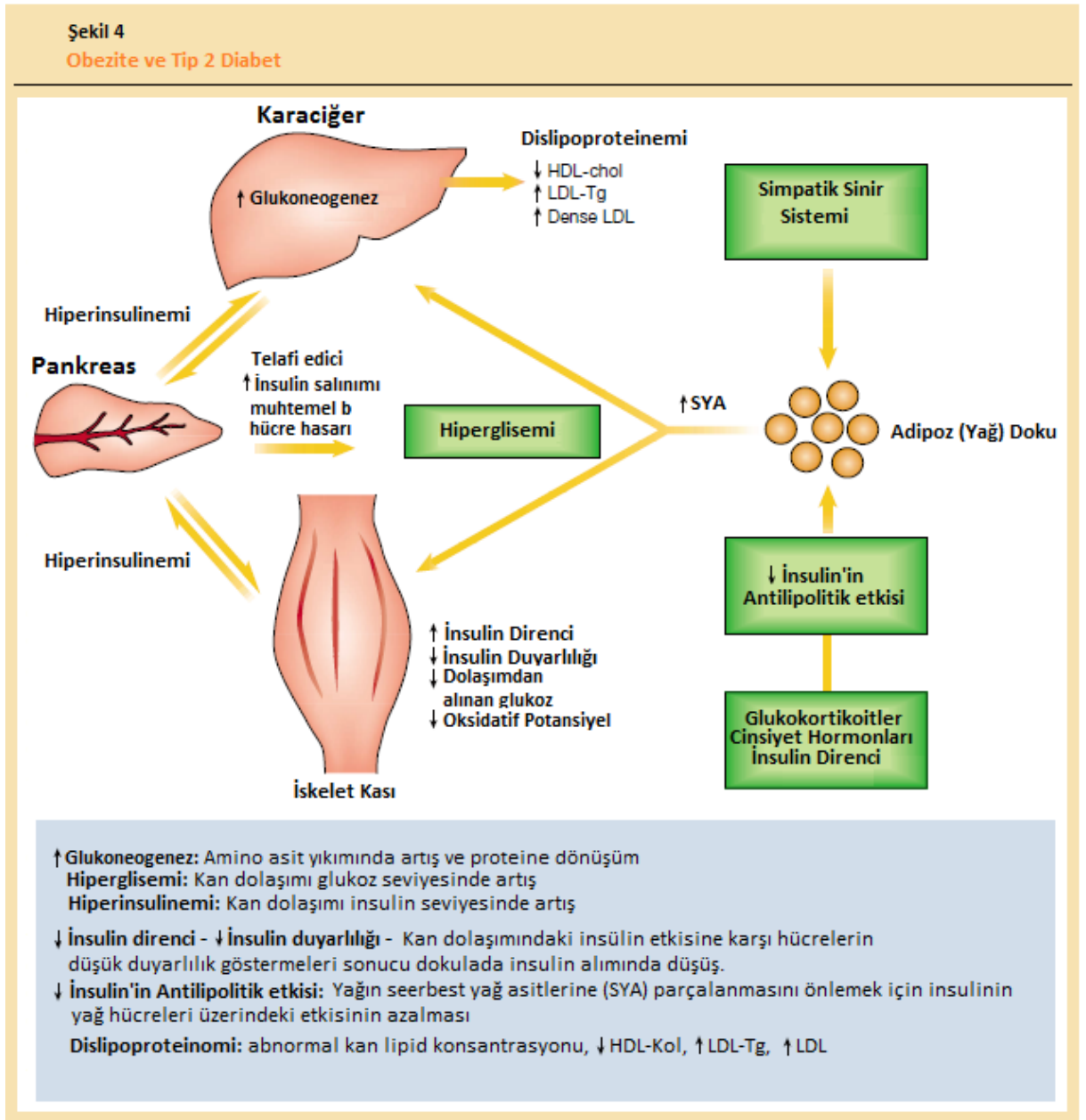
bu obezite prevalansı olumsuz sağlık sonuçları ile ilişkilidir. Afrika'da yaşayan Nijeryalılarda Hipertansiyon prevalansı %15 iken ABD yaşayanlarda bu oran %30 olarak saptanmıştır. Gelişmiş ülkelerde var olan ekonomik/toplumsal farklılıklar ve bireylerin iş çevresi, yaşam koşulları, alışkanlıkları, sosyal aktiviteler vb aşırı kiloluluk obeziteyi tetiklemektedir (32).

2.4. Tıbbi Problem Olarak Obezite

Fiziksel fonksiyonlarda oluşan farklılıklar ile beraber gelişen vücut şişkinliği gibi değişiklikler yağ dokusunun bölgesel dağılımına bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Genelde obezite toplam kan hacmi ve kardiyak fonksiyonda değişikliğe neden olurken, torasik kafes ve karın bölgesi etrafındaki yağ dağılımı solunum fonksiyonunu değiştirerek solunumu kısıtlamaktadır. Üst vücut obezitesi ile karakterize eden karın içi visceral viskoz birikimi, hipertansiyon, yüksek plazma insülin konsantrasyonları ve insülin direnci, diabetes mellitus ve hiperlipideminin gelişimine önemli bir katkıda bulunmaktadır.

2.4.1. Obezite ve Tip 2 Diabetes Mellitus

Obezite, uzun süreli açlıkta plazma insülini ve oral glikoz yüküne abartılı bir insülin tepkisi ile karakterize edilir(33). Genel olarak şişmanlık ve vücut yağının dağılımı glikoz metabolizmasını bağımsız fakat ilave mekanizmalar aracılığıyla etkilemektedir. Üst vücut obezitesinin gelişimiyle birlikte oral glikoz alımında, glikoz ve insülin yanıtında ciddi bir artış oluşmaktadır. Üst vücut obezitesi ve insülin direncinin ölçülmesi arasında pozitif korelasyon gözlemlenmiştir. Üst vücut obezitesinde Post-hepatic insülin direncin artmasıyla beraber belirgin periferik insülin konsantrasyonlarına yola açarak periferik insülin direnci de gelişmektedir (Şekil 2-4).



Şekil 2-4 Obezite ve Tip 2 Diyabet

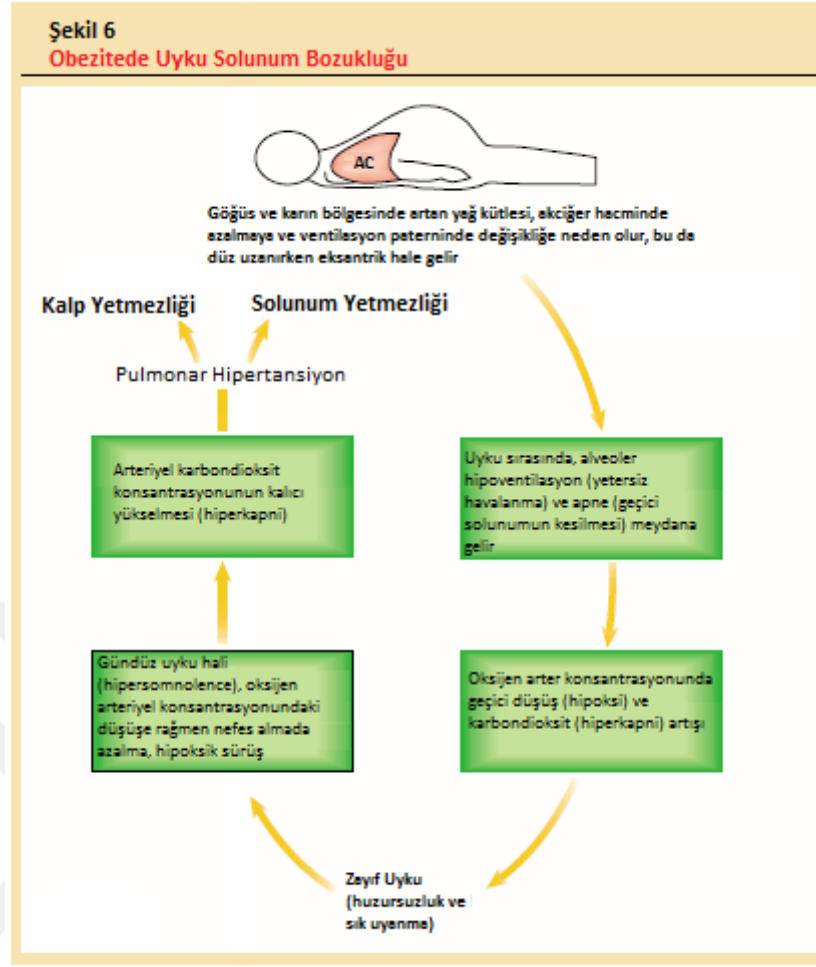
Farklı yağ depoları, lipolizi düzenleyen hormonlara karşı duyarlılıklarında değişkenlik gösterir ve bu yağ dağılımına göre de değişmektedir (34). Hem erkeklerde hem kadınlarda noradrenaline verilen lipolitik cevap, gluteal veya femoral yağ dokusundan farklı olarak abdominalde daha belirgindir (35). Kortizol ayrıca, insülinin antilipolitik etkisini daha da inhibe ederek bu arttırılmış lipolize katkıda bulunabilir. Bu faktörler abdominal adipositlerden s'erbest yağ asitlerinin (Free Fatty Acids - FFA'lar)' portal sisteme salınmasına yol açmaktadırlar (36). FFA'lar karaciğer tarafından insülin alımı üzerinde zararlı bir etkiye sahiptir ve üst vücut obezitesinde gözlenen artmış

hepatik glukoneogenez ve hepatik glukoz salınımına katkıda bulunurlar. İnsülin duyarsızlığı sadece adipositlerle sınırlı değildir; bu süreç iskelet kasının insülin direnci ile vurgulanmaktadır.

“Plazma Serbest Yağ Asitleri (SYA-FFA)” konsantrasyonundaki yükselme, özellikle doğum sonrası insülin tarafından bastırıldığından, glukoz üretiminin uygun olmayan bir şekilde korunmasına ve “hepatik glikoz kullanımının bozulmasına (bozulmuş glikoz toleransı)” yol açmaktadır. İnsülinin azalmış hepatik boşluğu, periferik (sistemik) insülin konsantrasyonu ve insülin reseptörlerinin daha da düşürülmesine (downregulation) yol açarak etkisini göstermektedir. Hiperinsülinemi ve insülin direnci, dislipoproteinemik durumun önemli bağlantıları olarak bilinmekte ve obezite ile bağlantılı plazma lipid profilinin karakteristik değişikliklerine katkıda bulunmaktadır: yüksek açlıkta plazma trigliserit konsantrasyonu, düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, düşük kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol konsantrasyonları ve artan apo-B taşıyan lipoprotein sayısı karakteristik değişiklikleri olarak tanımlanabilir (37)

2.4.2. Obezite’de Kardiovasküler Fonksiyonlar:

Obezitenin kardiovasküler fonksiyonlarına etkileri tahmin edilebilir niteliktedir (Şekil 5). Genişlemiş yağsız doku kütlesi ve metabolik olarak aktif yağ dokusunun artan oksidatif isteği toplam vücut oksijen tüketimi ile sonuçlanmakta ve ayrıca buna kardiyak verimdeki bir artış da eşlik etmektedir. Bununla birlikte vücut yüzey alanına göre normalize edildiğinde değerlerin normal aralık içinde olduğu söylenebilmektedir (38). Obezitede toplam vücut ağırlığı artışı ile orantılı olarak toplam kan hacmi de artmaktadır. Kan hacmindeki bu artış sol ventrikül preloadında ve istirahat kardiyak çıkışında bir artışa sebep olmaktadır (39). Kalp atış hızında herhangi bir değişim olmamasına rağmen kardiyak çıkışta ortaya çıkan zorlanma inme hacminin artmasıyla oluşmaktadır. Obeziteye bağlı inme hacmindeki artış, sol ventrikülün diyastolik dolumundaki artıştan kaynaklanmaktadır (40). Kalp çıkışındaki hacim genişlemesi ve artması, kalbin yapısal değişikliklerine yol açar ve sol ventrikül dolumundaki artış, sol ventrikül boşluğu boyutunda bir artışa ve duvar stresinde bir yükselişe neden olmaktadır. Sol ventrikül kütlesi, VKİ ve aşırı kilo derecesi ile doğru orantılı olarak artmaktadır (41).



Şekil 2-6: Obezitede Uyku Solunum Bozukluğu

REM uykusu sırasında, arteriyel oksijen satürasyonunda azalma ve karbon dioksitte artış ile beraber kas tonusunda azalma görülmektedir. Bu değişiklikler genelde bütün bireyleri etkilemektedir ama özellikle obez bireylerde bu değişimler daha etkili olarak ortaya çıkmaktadır. Düzensiz solunum ve nadir oluşan apnoik ataklar genellikle REM uykusu sırasında zayıf insanlarda görülmektedir. Ancak obez bireylerde yağ kütlesinin solunum mekaniği üzerindeki etkisi ile sıklıkları artmakta ve sonuçta ortaya çıkan kardiyak aritmiler ile ciddi hipoksiye neden olabilmektedir (44).

2.5. Deney Hayvanı Modeli

Normal biyoloji ve davranışların yanı sıra spontan yada indüklenmiş bir patolojik durumun araştırılmasına olanak sağlayan modellerdir. Bir model en az bir biyolojik işlev yönünden insan yada diğer hayvan türlerine benzerlik göstermelidir.

HASTALIK MODELLERİ;

- İndüklenmiş (Deneyssel) Hayvan Modelleri
- Spontan (Genetik) Hayvan Modelleri
- Transgenik-Knock-out Hayvan Modelleri
- Negatif Hayvan Modelleri
- Orphan (Olası) Hayvan Modelleri

2.5.1. İndüklenmiş (Deneyssel) Hayvan Modelleri

Deneyssel olarak (cerrahi, kimyasal, viral vs) hayvanlarda oluşturulan hastalıkların hedef organizmada görülenlere benzemesidir (STZ ya da EMC virüsü ile diyabet oluşturma). Fare ve sıçan türlerinin biyolojik özellikleri genel olarak benzerlik gösterirken insan hastalıkları modeli olarak farklı yanıtlar verebilmektedirler. Örneğin fareler “schistosomiasis” enfeksiyonu için iyi bir modeldir fakat sıçanlar için aynı durumdan söz edilemez.

2.5.2. Spontan (Genetik) Hayvan Modelleri

İnsan hastalıklarının kendiliğinden geliştiği ve insanlardakine benzer patoloji ve semptomların ortaya çıktığı hayvan modelleridir. Spontan hastalık modellerinin oluşturulmasında doğal olarak genetik varyantlardan “mutantlar” yararlanılır. Doğal mutant formun en iyi örneklerinden biri “Nude Mouse” soyudur. “Heterotransplantasyon-Snell’s Dwarf mice” bir başka mutant soydur. Fonksiyonel tükrük bezinden yoksundur.

2.5.3. Transgenik Knock-out Hayvan Modelleri

Genomlarına yapay olarak yerleştirilmiş yabancı bir DNA içeren hayvanlar transgenik hastalık modeli olarak adlandırılırlar.

Aynı şekilde gen-hedefleme teknolojisi sonucunda hücrelerde belirli bir genin susturulması mümkün olabilmektedir. “Knock-out” olarak bilinen bu modeller de bu kategoriye dahil edilmektedir.

2.5.4. Negatif Hayvan Modelleri

Spontan modellerin aksine bazı hastalıkların gelişmediği modelleridir. Negatif modellerde hayvan bilinen bir uyarıya reaksiyon göstermez. Genellikle fizyolojik bir olayı aydınlatmada karşılaşılan zorlukları aşmak için kullanılırlar.

2.5.5. Orphan (Olası) Hayvan Modelleri

Öncelikle hayvanlarda tanımlanan sonra da insanlarda benzeri tanımlanma amacı ile çalışılan hastalık modelleridir. Daha sonra benzer bir hastalık insanlarda görülürse tanı konulabilmektedir (45,46,47,48).

Diyabet ve kardiyovasküler hastalık gibi obezite komplikasyonlarının gelişmesi genellikle on yıllar gerektirdiğinden, obezitenin moleküler yönlerini ve patofizyolojik etkilerini incelemek için deney hayvan modellerinin vazgeçilmez oldukları yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır (49). Bunlar arasında, genetik işlev kaybı mutasyonları, transgenik işlev kazanımı mutasyonları, poligenik modeller ve farklı çevresel maruz kalma modelleri gibi kemirgen modelleri sayılır bu modellet içinde fare, sıçan, tavşan gibi hayvanlar sayılabilmektedir (49,50,51). Burada diyetle indüklenen deneysel obezite (DIO) modelleri, insan obezite ile ilgili patolojilerle karşılaştırma için en uygun olanı temsil etmektedir (49).

C57BL/6J fare modelinin, özellikle obezitede gözlemlenen insan metabolik bozukluklarını taklit eden iyi bir model olduğu gösterilmiştir (49,51). “Yüksek yağlı diyet (HFD-%60)” ile ad libitum beslendiğinde, bu farelerde obezite, hiperinsülinemi, hiperglisemi ve hipertansiyon oluşur. “Normal Yağlı Diyet (NFD%10)” ad libitum beslenen kontrol grupları ancak herhangi bir metabolik anormallik geliştirmez (49,52).

Kemirgenlerde obezite ve buna bağlı metabolik bozuklukları tetiklemek için çeşitli yüksek enerjili diyetler kullanılmaktadır (53). Modeller diyet aracılığı ile tam olarak standartlaştırılmamış olsa da geleneksel olarak bu diyetler yağdan elde edilen kalorilerle basit bir karbonhidrat türevli kalori değişiminin bir standartla karşılaştırılmasının kontrol olarak kullanıldığı Normal Yağ Diyetidir. Bu Yüksek Yağ Diyeti'nin kontrole kıyasla mikro ve makro besin içeriğinde belirgin farklılıklar sergilemesi bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır (54). Bu nedenle, elde edilen sonuçlar yalnızca Yüksek Yağ Diyeti ile doğru bir şekilde ilişkilendirilemez.

Belirlenen şartlar ve edinilen bilgiler ışığında model olarak C57BL/6J fare modeli seçilmiştir (Şekil 2-7).



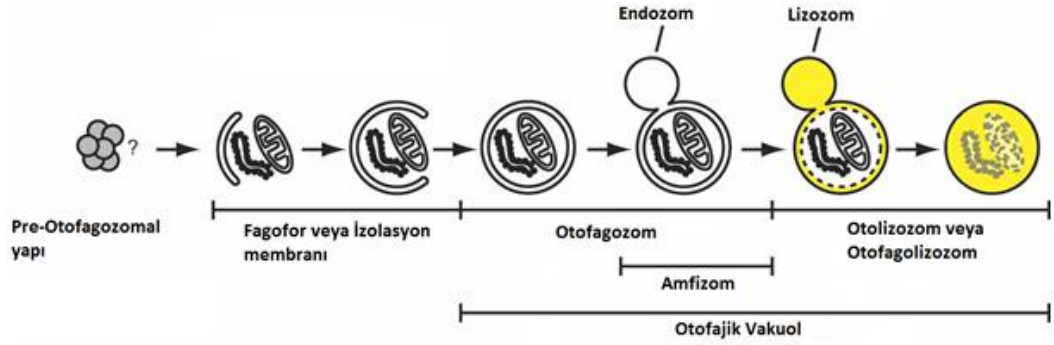
Şekil 2-7 Obezite'ye Yatkınlığı bilinen C57BL/6J Deneyisel Hayvan Modeli

2.6. Otofaji

Otofaji, uzun ömürlü proteinlerin ve hasarlı veya fonksiyonel olarak gereksiz olan hücre içi yapıların düzeylerinden sorumludur. Hücresel homeostazın sürdürülmesi için gerekli olan işlemdir, açlık (ATP-üreten substratlar, örneğin amino asitler sağlamak için) ve diğer stres-indükleme koşulları ile aktive edilmektedir. Mekanizmadaki herhangi düzensizlik birçok bozuklukta ve yaşlanmada rol oynar (54). Hepatik otofajinin obezite ve diabette bozulabildiğini ve bunun düzenlenmesinin insülin duyarlılığını artırdığı bilinmektedir.

Otofaji, sitoplazmik bileşenleri lizozoma ileten hücre içi bir degradasyon sistemidir. Sadeliğine rağmen, son gelişmeler, otofajinin bazen karmaşık olan çok çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik roller oynadığını göstermiştir. Otofaji birkaç ardışık adımdan oluşmaktadır. Bu adımlar “sekestrasyon, lizozomlara taşıma, degradasyon ve degradasyon ürünlerin kullanımı” ayrıca her adım farklı işlev uygulayabilmektedir. Otofaji, lizozomlar içindeki sitoplazmik bileşenlerin degradasyonu için kullanılan genel bir terimdir (56,57). Bu süreç, hücre dışı ve plazma membran proteinlerinin endositoz aracılığıyla lizozomal degradasyondan oldukça farklıdır.

Üç tür otofaji mevcuttur; “makrootofaji, mikrootofaji ve şaperon aracılı Otofaji” Ayrıca "Otofaji" terimi, aksi belirtilmedikçe genellikle makrootofajiyi belirtmektedir (Şekli 2-8).



Şekil 2-8 Memeli hücrelerinde makrotofaji süreci. Organeller de dahil olmak üzere sitoplazmanın bir kısmı, bir otofagozom oluşturmak için bir fagofor veya izolasyon membranı ile çevrelenmiştir. Otofagozomun dış zarı daha sonra endozomla ve ardından lizozomla birleşir ve içindeki materyaller degrade olur. Mayada, otofagozomlar, memeli hücrelerinde henüz tanımlanmamış olan PAS'tan üretilir. Çeşitli otofajik yapılar için isimlendirmeler yapılmıştır (Noboru Mizushima "Autophagy: process and function").

Otofajiye, otofagozom adı verilen benzersiz bir organel aracılık eder. Otofagozomlar sitoplazmanın bir bölümünü yutabilir. Otofajinin genellikle seçici olmayan bir degradasyon sistemi olduğu düşünülmektedir. Bu özellik, proteazomal degradasyon için yalnızca ubikuitin proteinlerini spesifik olarak tanıyan ubikitin-proteazom sistemine belirgin bir farklılık oluşturmaktadır. Bu nedenle, ubikitin-proteazom sisteminin çok sayıda spesifik işlevi olduğunu varsaymak mantıklıdır çünkü binlerce substratı seçici olarak bozabilmektedir. Bununla birlikte, son araştırmalar otofajinin açlık adaptasyonu (uyum süreci), hücre içi protein ve organel temizlenmesi, gelişme, yaşlanmayı önleme, mikroorganizmaların ortadan kaldırılması, hücre ölümü, tümör baskılama ve antijen gibi beklenenden daha fazla fizyolojik ve patofizyolojik rollere sahip olduğunu açıkça göstermiştir (58).

Ek olarak, bazı durumlarda, otofajinin katkısı çok karmaşık görünmektedir. Örneğin otofajinin kanser ve hücre ölümündeki rolünü genelleştirmek çok zordur. Otofajinin çeşitli rollerini anlamak için, makrotofajiyi "indüklenmiş otofaji" ve "bazal otofaji" olarak alt sınıflara ayırmak faydalı olabilir (58). İlki, açlıktan sonra amino asitleri üretmek için kullanılırken, ikincisi sitozolik bileşenlerin yapıcı dönüşümü için önemlidir. Bununla birlikte, bu ayırım bile çok basitleştirilmiştir ve daha karmaşık konulara uygulanamaz. Yukarıda bahsedildiği gibi otofaji birkaç ardışık adımdan oluşur: "sekestrasyon, degradasyon ve amino asit / peptid üretimi". Her adım, çeşitli

hücrel bağlamlarda farklı işlevler uyguladığı görünmektedir. Bu adıma bağlı fonksiyonlar, otofajinin çok işlevli olmasına izin vermektedir.

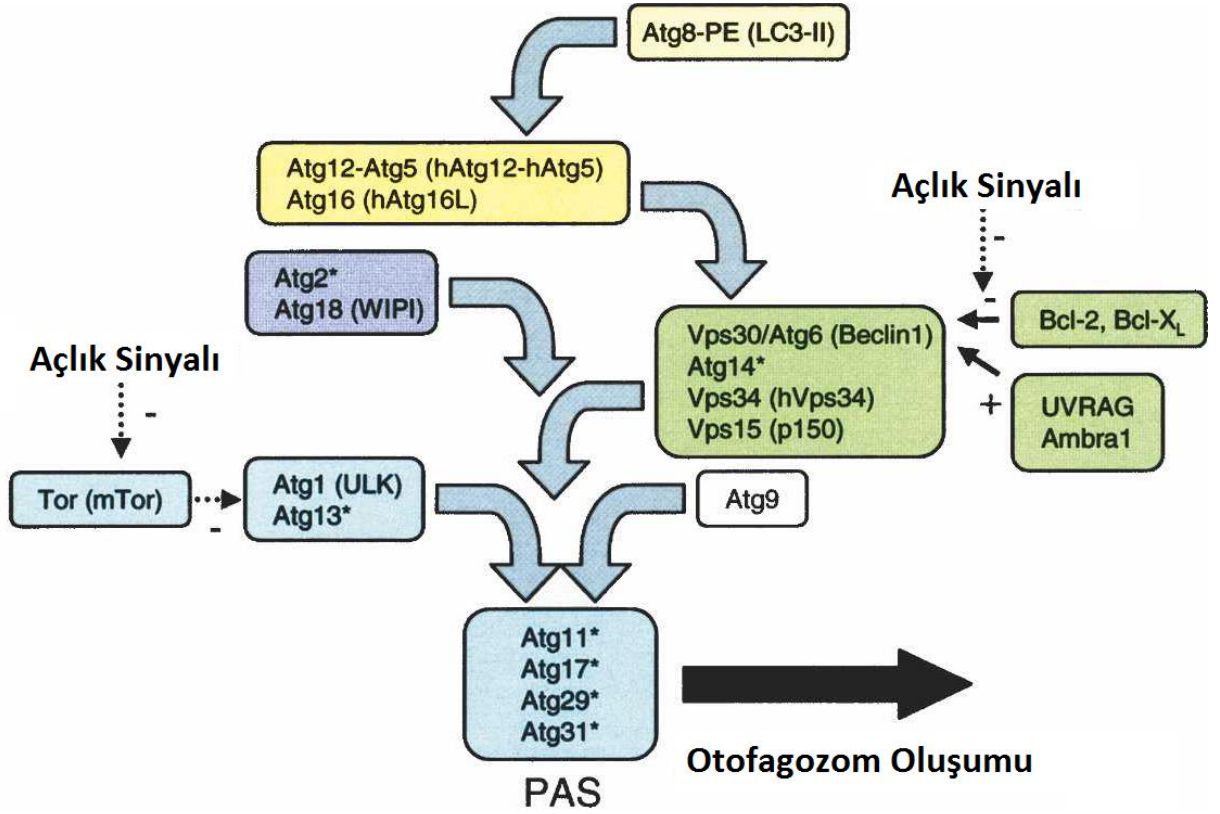
2.6.1. Otofaji Süreci

Otofajinin en tipik tetikleyicisi besin açlığıdır; bu anlamda, herhangi bir temel besin maddesinin eksikliği otofajiye neden olabilmektedir. Mayalarda azot açlığı en güçlü uyarıcıdır, ancak karbon, oksotrofik amino asitler ve nükleik asitler gibi diğer temel faktörlerin geri çekilmesi ve hatta sülfat, daha az etkili olsa da otofajiyi tetikleyebilmektedir (59). Memelilerde otofajinin düzenlenmesi oldukça karmaşık görünmektedir. Var olan amino asitlerin tükenmesi, kültürlenmiş birçok hücre türünde güçlü bir şekilde otofajiye neden olmaktadır, ancak tek tek amino asitlerin etkileri farklılık göstermektedir. “Leu, Tyr, Phe, Gln, Pro, His, Trp, Met ve Ala” ex vivo perfüze karaciğerde otofajiyi baskılamaktadır. Bununla birlikte, bu tür profiller hücre tipine bağlıdır çünkü amino asit metabolizması dokular arasında büyük farklılıklar gösterir. Örneğin, sadece lösün iskelet kası ve kalp üzerinde baskın bir etkiye sahiptir (60). Çok hücreli organizmalarda, her hücre mutlak olarak besin varlığını algılayamaz. Aksine, besin tüketimi organizma için bir sorundur ve bu nedenle otofajinin oldukça organize bir sistem tarafından düzenlenmesi gerektiğini düşünmek mantıklı bir seçenek olarak görünmektedir. Artık endokrin sisteminin, özellikle de insülinin, in vivo otofaji düzenlemesini yönettiğine inanılmaktadır. Karaciğer otofajisinin insülin tarafından baskılandığı ve glukagon tarafından arttırıldığı anlaşılmıştır (59). Diğer hormonlar ve büyüme faktörleri de otofaji düzenlemesine katkıda bulunuyor gibi görünmektedir. Serum açlığının birçok kültürlenmiş hücre tipinde otofajiyi indükleyebileceği iyi bilinmektedir. Örnek olarak “hematopoietik büyüme faktörü interlökin-3 (IL-3)”, en azından kısmen besin mevcudiyetinin düzenlenmesi yoluyla otofajiyi bastırdığı görülmüştür (61). İnsülin ve amino asit yollarına ek olarak “Bcl2, Reactive Oxygen Spesies(ROS), kalsiyum, AMP-activated Protein Kinase(AMPK), BNIP3, p19 ARF, DRAM, TRAIL, Calpain, FADD ve myo-inositol-1,4,5-triphosphate(IP₃)” gibi yolların otofaji düzenlemesinde etkili faktörler olduğu yakın zamanda gösterilmiştir (62,63,64,65,66,67,68,69,70,71,72).

2.6.2. Otofagozom Oluşumu

Otofaji sırasında membran dinamikleri mayadan bitkilere ve hayvanlara kadar yüksek oranda korunmuştur. Otofagozom oluşumunun ilk adımında, organeller de dahil olmak üzere sitoplazmik bileşenler, Golgi aygıtı gibi çok yassı bir organel olan fagofor veya izolasyon zarı adı verilen benzersiz bir zar tarafından sarılmıştır. Uzayan fagofor tarafından tam ayrıştırmaya uğrayan tipik çift zarlı bir organel olan otofagozomun oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Mayada, 31 ATG (otofaji ile ilgili) proteini tanımlanmıştır ve bunların çoğu, floresan mikroskobu ile vakuolar membrana çok yakın nokta şeklinde bir nokta olarak tanımlanabilen bir bölgede toplanır. Otofagozomlar bu bölgede üretildiğinden “preotofagosomal yapı (PAS)” (723 olarak adlandırılır. Ne yazık ki, PAS ile ilgili ayrıntılı yapısal bilgi şu anda mevcut değildir ve membranöz bir yapı olup olmadığı da bilinmemektedir. Memeli hücrelerinde eşdeğer yapılar gözlenmemiştir. Maya hücreleri, “sitoplazmadan vakuole hedefleme (Cvt) yolu, amino peptidaz 1 (Ape1) ve alpha-mannosidaz (Ams1)” için sitozolden vakuole yapısal bir taşıma yolu ile paylaşıldığı için stabil bir PAS'a sahip olabilir (74). 31 ATG proteini arasında “18 ATG proteini -ATG1-10, ATG12-14, ATG16-18, ATG29 ve ATG31”- otofagozom oluşumunda yer alır ve “AP-ATG proteinleri” olarak adlandırılır (Şekil 2-9).

Her bir proteinin kesin işlevlerinin anlaşılması için çalışmalar devam etse de, ATG8 mayalarda beklenmeyen bir işlev gösterilmiştir. Ubikuitin benzeri bir protein olan ATG8, “otofajik membranlarda fosfatidiletanolamin (PE)-konjuge form (ATG8-PE)” olarak bulunmaktadır. ATG8, bir in vitro sistemde ATG8-PE içeren lipozomların bağlanmasına ve hemifüzyonuna aracılık etmektedir (76). Bu benzersiz membran füzyon prosesi, in vivo olarak fagofor/izolasyon membranlarının, membran uzamasını açıklamak için önerilmiştir.



Şekil 2-9: PAS lokalizasyonu için ATG proteinlerinin karşılıklı bağımlılığı. Bu şekil, mayada gerçekleştirilen hiyerarşik sınıflandırma analizine göre dayanmaktadır. Mavi oklar, PAS hedeflemesi için ATG proteinlerinin birbirine bağımlılığını göstermektedir. Örneğin, ATG5'in PAS hedeflemesi, büyük ölçüde sınıf III PI3-kinaz kompleksine bağlıdır, ancak ATG8 veya ATG2'ye bağlı değildir. Siyah oklar, pozitif ve negatif düzenlemeyi gösterir. Bazı memelilere özgü proteinler “(Bcl-2, Bcl-XL, UVRAG ve Ambra1)” listelenmiştir, ancak memeli hücrelerinde PAS eşdeğeri bir yapı tanımlanmadığından PAS hedeflemesi belirlenmemiştir. Parantezler memeli terminolojisini gösterir. Yıldız işaretleri (*) yalnızca mayada analiz edilen faktörleri gösterir (Noboru Mizushima "Autophagy: process and function").

3. MATERYAL METOD

3.1. Hayvan Modeli

Bu çalışmada, daha önce çalışılan ve Deney Hayvanları Yerel Etik Kurul'u tarafından onaylanan (25/2010 etik kurul kararı ile) Aziz Sancar Deneysel Tıp "Araştırma Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı" tarafından "HFD(Yüksek Yağ Diyeti %60) "kaynaklı obezite modeli için başlangıç ağırlığı 18-20 g olan C57BL/6J soyundan 8 haftalık 40 adet erkek fare ve %10 Yağ diyeti uygulanan 20 adet erkek fare sağlandı. Fareler, $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında, %40-60 bağıl nemde, 40 lüks ışık yoğunluğunda, 12 saat aydınlık/12 saat karanlıkta, saatte 10 ila 15 hava değişimine sahip klimalı bir ortamda ve 85 dB'nin altında bir gürültü seviyesi ortamında barındırılmıştır. Hayvanlar 3 grup altında ayrılmıştır. 1'ci grup %60 HFD 3 aylık uygulama, 2'ni grup %60 HFD 6 aylık uygulama ve %10 HFD 6 aylık uygulama içeren 20 hayvandan oluşmuştur. Hayvanlara uygulanan ameliyatlar ketamin anestezisi altında yapılmıştır.

3.1.1. Doku Örnekleri

Çalışmamızda kurban edilen hayvanlardan alınan ve -80°C 'de kriyotüplerde saklanan karaciğer ve yağ dokuları kullanılmıştır.

3.1.2. "RNA İzolasyonu"

"Dokulardan RNA izolasyonu TRIzol Reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)" ile ticari şirketin belirlediği uygulamaya uygun olarak aşağıda gösterilen tablodaki (Tablo 3-1) gibi yapılmıştır.

Tablo 3-1: RNA İzolasyon Aşamaları

1	30 mg örnek ve 1ml Trizol ile vortekslenerek örnek homojenize edilir
2	lizis için 1 ml Trizol başına 0.5 ml izoprpanol ekleyin
3	4°C 'de 10 dakika inkübe edilir

4	4°C'de 12.000 x g'de 10 dakika santrifüjleyin. Tüpün uç kısmında beyaz jel benzeri toplam RNA çökeltisi içeren bir pelet oluşmaktadır.
5	Süpernatantı Mikropipet ile uzaklaştırılır
6	1ml %75 alkol ile pelleti çözündürülür
7	örneği vorteksleyin ve 4°C 7500 x g'de 5 dakika santrifüjlenir
8	Süpernatantı Mikropipet ile uzaklaştırılır
9	5-10 dakika kuruması için bırakılır
10	20-50 µL Rnase-free su ekleyerek pipetaj yapın
11	ısı blokunda 10-15 dakika 55-60°C'de inkübe edilir
12	-70°C'de saklayın

3.1.2.1. “cDNA Sentezi”

İzolasyon aşaması sonucu -70°C'de saklanan örneklerden cDNA sentezi ticari şirketin protokolüne uygun şekilde çalışılmıştır.

- Reaksiyon başına 0,5 µL “DNase” ve 1,5 µL “DNase Buffer” eklenerek DNase mastermix karışımı hazırlanır pipet ile karıştırılır
- 2 µL “DNase mastermix” üzerine 11 µL RNA eklenerek pipet ile karıştırılır
- “Thermal cycler cihazı” kullanılarak aşağıdaki tabloda (Tablo 3-2) bulunan inkübasyon aşaması uygulanmaktadır:

Tablo 3-2: cDNA sentez

Kademe	Sıcaklık(°C)	Süre(dakika)
DNA oluşumu	25	5
Dnase inaktivasyonu	75	5

3.1.3. “RT-PCR Uygulaması”

Uygulama için taranan literatürlerden ve belirlenen gen bölgelerine göre dizayn edilen primerler aşağıdaki tablodaki (Tablo 3-3) görünmektedir:

Tablo 3-3: ATG3, ATG5 ve ATG8 Primerleri

Primer	Dizi
ATG3 (Forward):	5' ATA GTT TTT GAC TCC CCT GTG 3'
ATG3 (Reverse):	5' CAA TGT AGT GGA GAG GCT ATA 3'
ATG5 (Forward):	5' AAG TCT GTC CTT CCG CAG TC 3'
ATG5 (Reverse):	5' TGA AGA AAG TTA TCT GGG TAG CTC A 3'
ATG8/LC3 (Forward):	5'CCG TCC GAG AAG ACC TTC AAG CAG C3'
ATG8/LC3 (Reverse):	5'TTG TTG GAG TCT TAC ACA GCC ATT G3'

Tablo 3-4: RT-PCR Uygulama Protokolü:

Kademe	Sıcaklık(°C)	Süre	Süreç
Ön Denatürasyon	95°C	5 dakika	
PCR	95°C	10 saniye	45 siklus her sikluste amplifikasyon okuması
	60°C	30 saniye	
	72°C	20 saniye	
Erime Eğrisi Melt Curve	65°C - 95°C 0.5°C artışla		her 5 saniyede erime eğrisi okuması

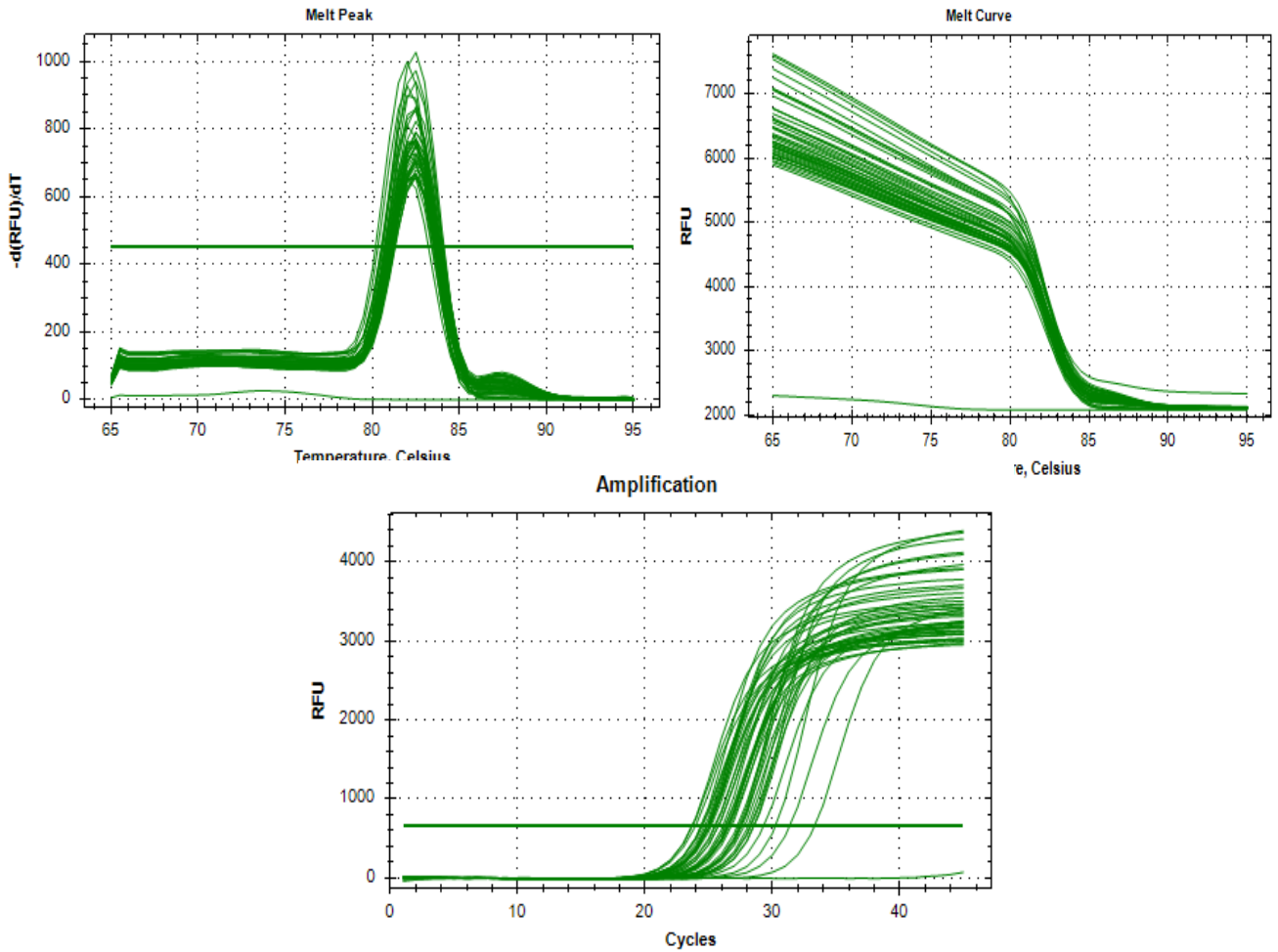
4. BULGULAR

4.1. Elde Edilen Bulgular

Yapılan RT-PCR uygulamasında ATG3, ATG5, ATG8 ve ACTB(beta Aktinin) kontrol geni sonuçları:

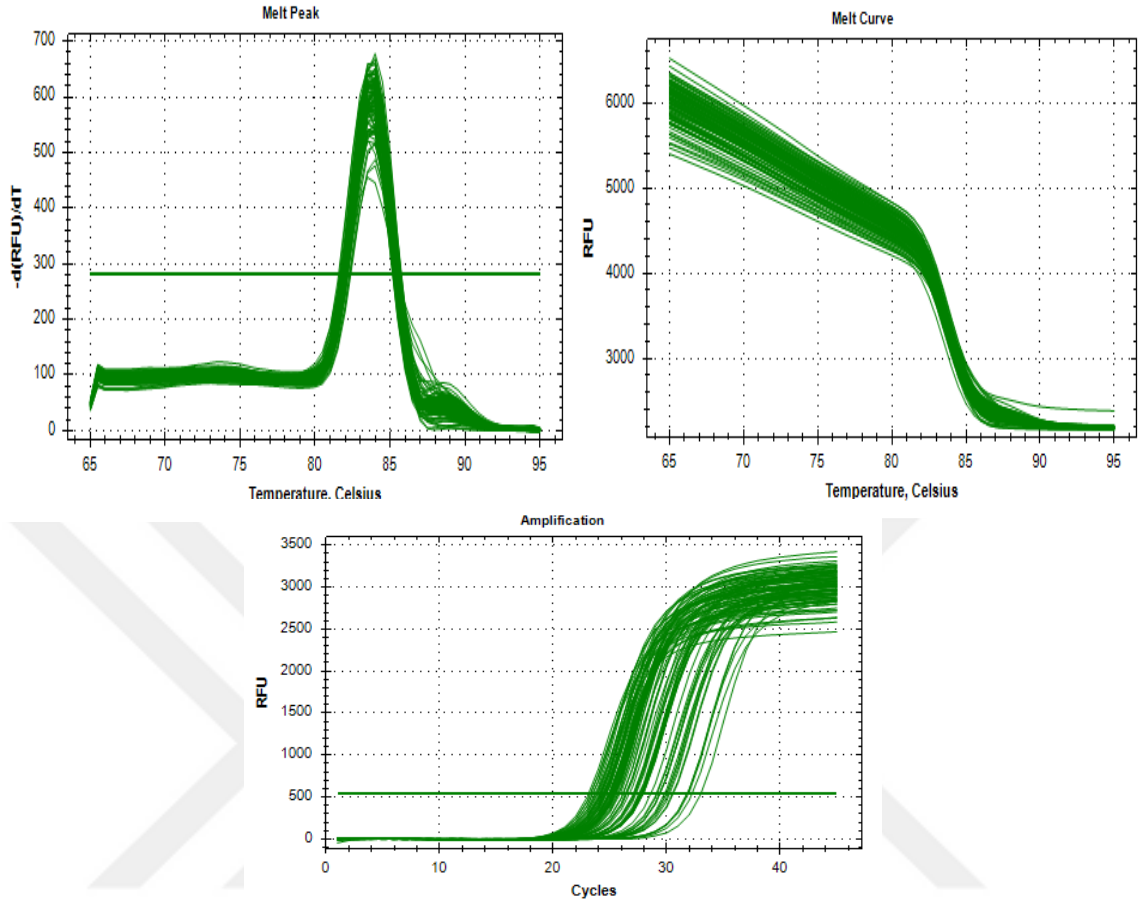
Tablo 4-1: ATG3 ham verileri

Tüp No:	Hasta Adı	ATG3				ACTB
		Ct	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	Ct
1	D1.1.1Y	24,81	5,41	-2,19	4,56	19,4
2	D1.1.2Y	24,16	6,89	-0,71	1,64	17,27
3	D1.1.3Y	26,25	7,19	-0,41	1,33	19,06
4	D1.1.4Y	24,43	5,52	-2,08	4,23	18,91
5	D1.1.5Y	25,49	5,72	-1,88	3,68	19,77
6	D1.2.1Y	26,39	7,2	-0,4	1,32	19,19
7	...	...	...	...	...	...
8	...	...	...	...	...	...



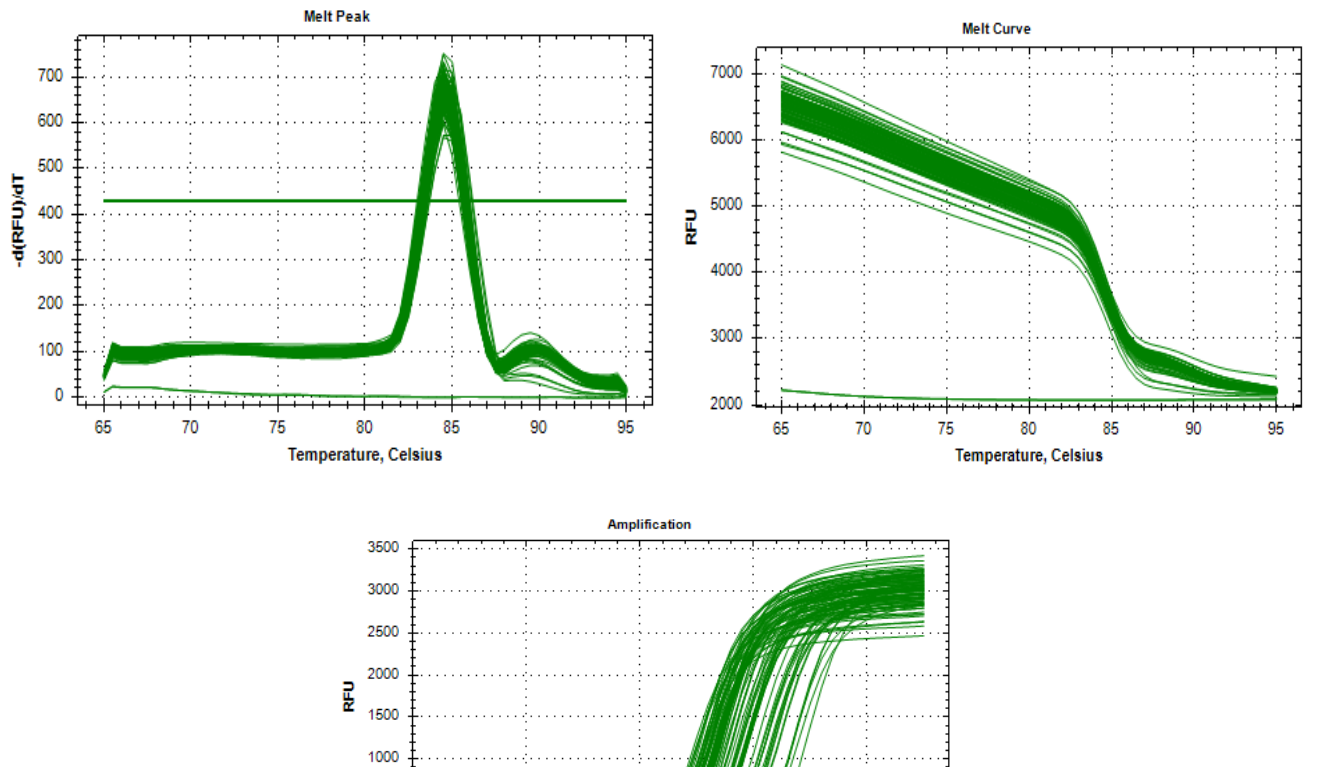
Şekil 4-1: ATG3 Erime Noktası (Melt Peak) / Erime Eğrisi ve Amplifikasyon Eğrisi

Tablo 4-2: ATG5 ham verileriHata! Bağlantı geçersiz.



Şekil 4-2: ATG5 Erime Noktası(Melt Peak) / Erime Eğrisi ve Amplifikasyon Eğrisi

Tablo 4-3: ATG8 ham verileriHata! Bağlantı geçersiz.



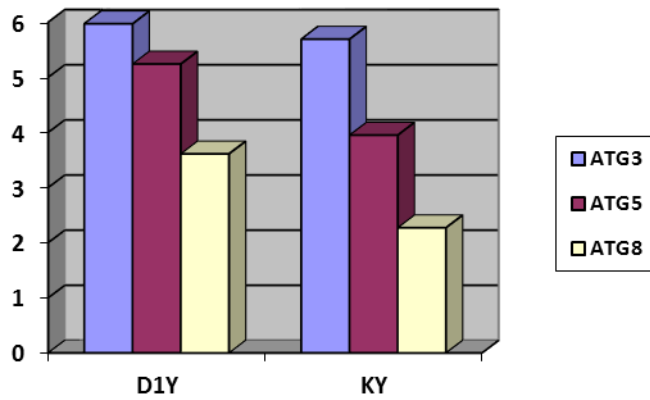
Şekil

	Kat Değişimi	P değeri	%95 güven aralığı
ATG3	3,45	0,47	0,51-1,09
ATG5	1,13	0,001*	0,75-1,83
ATG8	0,23	0,019*	0,21-2,46

4-3: ATG5 Erime Noktası(Melt Peak) / Erime Eğrisi ve Amplifikasyon Eğrisi

4.2. İstatistiksel Analiz ve Elde Edilen Sonuçlar

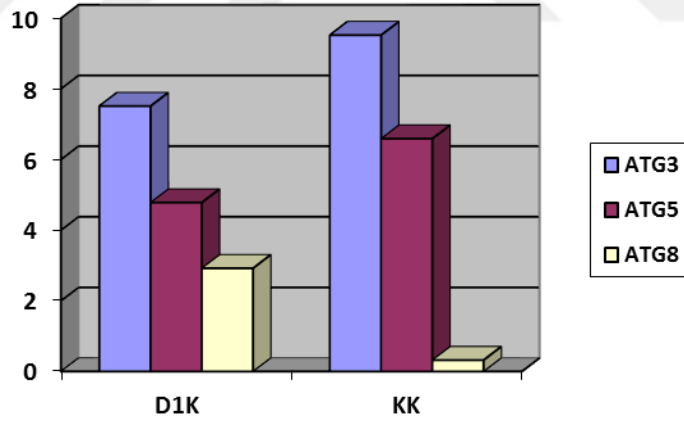
Tablo 4-4: Deney 1 Grubu Yağ Doku Sonuçları



Şekil 4-4: Yağ Dokusu Dağılımı-(Deney 1 grubunda yağ doku örneklerinde ATG5 ve ATG8’de kontrol genine göre yapılan istatistiki sonuçlara göre ekspresyon seviyelerinde artış ve p değerine göre anlamlılık olduğu görülmüştür).

	Kat Değişimi	P değeri	%95 güven aralığı
ATG3	2,81	0,031*	0,19-3,83
ATG5	2,39	0,016*	0,36-3,25
ATG8	0,60	0,001*	1,47-3,73

Tablo 4-5: Deney 1 grubu Karaciğer Doku Sonuçları

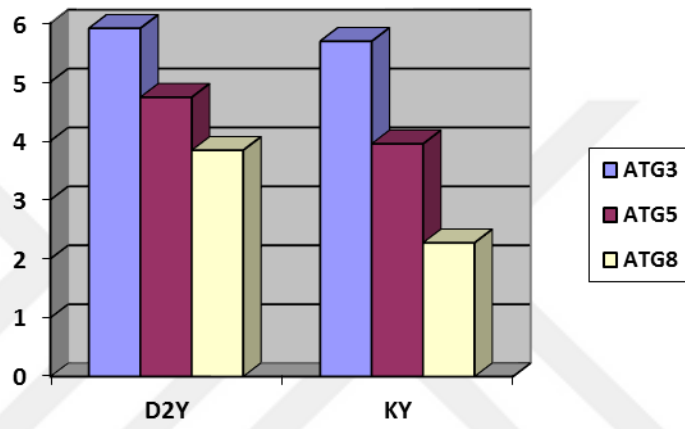


Şekil 4-5: Karaciğer Doku dağılımı (Deney 1 grubunda karaciğer doku örneklerinde ATG3 ve ATG5’de, kontrol grubunda ATG8 kontrol genine göre yapılan istatistiki sonuçlara göre ekspresyon seviyelerinde artış ve p değerine göre anlamlılık olduğu görülmüştür.)

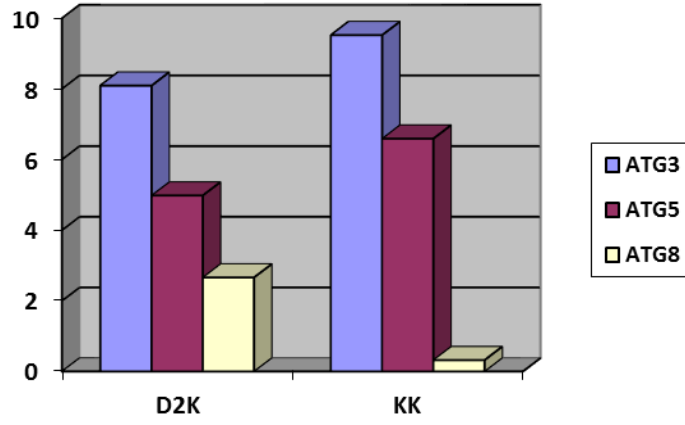
	Kat Değişimi	P değeri	%95 güven aralığı
ATG3	3,71	0,580	0,59-1,03
ATG5	1,65	0,007*	0,23-1,35
ATG8	0,19	0,008*	0,45-2,68

Tablo 4-6: Deney 2 Grubu Yağ Doku Sonuçları

	Kat Değişimi	P değeri	%95 güven aralığı
ATG3	2,91	0,153	0,55-3,42
ATG5	2,01	0,015*	0,33-2,88
ATG8	0,61	0,001*	0,24-3,42



Şekil 4-6: Yağ Dokusu Dağılımı (Deney 2 grubunda yağ doku örneklerinde ATG5 ve ATG8’de kontrol genine göre yapılan istatistiki sonuçlar ekspresyon seviyelerindeki artış ve p değerine göre anlamlı olduğu görülmüştür)

Tablo 4-7. Deney 2 Grubu Karaciğer Doku Sonuçları

Şekil 4-7: Karaciğer Dokusu Dağılımı (Deney 2 grubunda karaciğer doku örneklerinde ATG5 ve Kontrol grubunda ATG8’de kontrol genine göre yapılan istatistik sonuçlar ekspresyon seviyelerindeki artış ve p değerine göre anlamlı olduğu görülmüştür)

Grup	Başlangıç	3 Ay	6 Ay	P değeri	%95 güven aralığı
D1	25,60±1,50	40,20±5,70	-	0,001	11,98-17,21
D2	24,72±1,72	-	41,76±7,34	0,001	13,56-20,51
K	24,70±1,60	-	27,61±2,10	0,001	1,86-3,96

Tablo 4-8: Örnek gruplarının ağırlık dağılımı

5. SONUÇ

Elde edilen deney grupları ve kontrol grubu yağ ve karaciğer dokusu verileri arasında yapılan karşılaştırmalı istatistiksel analize göre deney grubu 1 (D1) yağ doku örneklerinde ATG5 (Kat Değişimi-1.13: p değeri-0.001: %95 güven aralığı-0,75-1,83) ve ATG8 (Kat Değişimi-0.23: p değeri-0.019: %95 güven aralığı-0,21-2,46) “ekspresyon seviyelerinde artış ve anlamlılık olduğu” görülmüştür.

D1 grubu karaciğer doku örneklerinde ATG8 (Kat Değişimi-0.60: p değeri-0.001: %95 güven aralığı-1,47-3,73) “ekspresyon seviyesinde artış görülmüştür”. Kontrol grubu karaciğer doku örneklerinde ATG3 (Kat Değişimi-2.81: p değeri-0.031: %95 güven aralığı-0,19-3,83) ve ATG5 (Kat Değişimi-2.39: p değeri-0.016: %95 güven aralığı-0,36-3,25) “ekspresyon seviyelerinde artış ve anlamlılık olduğu” görülmüştür.

Deney grubu 2 (D2) ve kontrol grubu yağ doku örnekleri verilerine göre yapılan analiz sonucu, D2 grubunda ATG5 (Kat Değişimi-1.65: p değeri-0.007: %95 güven aralığı-0,23-1,35) ve ATG8 (Kat Değişimi-0.19: p değeri-0.008: %95 güven aralığı-0,45-2,68) “ekspresyon seviyelerinde artış ve anlamlılık olduğu” görülmüştür.

Deney grubu 2 (D2) ve kontrol grubu karaciğer doku örnekleri verilerine göre yapılan analiz sonucu karaciğer doku örneklerinde ATG8 (Kat Değişimi-0.61: p değeri-0.001: %95 güven aralığı-0,24-3,42) ve kontrol grubunda ATG5 (Kat Değişimi-2.01: p değeri-0.015: %95 güven aralığı-0,33-2,88) “ekspresyon seviyelerinde artış ve anlamlılık olduğu” görülmüştür.



6. TARTIŞMA

Tez çalışmamızda yapılan deneysel çalışma ve elde edilen verilerin istatistiksel analizi ışığında deney gruplarında karaciğer dokusunda D1’de ATG8 ($p < 0.001$) D2’de ATG8 ($p < 0.001$) olarak ortaya çıkmıştır. Yağ dokusunda D1 de ATG5 ($p < 0.001$) ve ATG8 ($p < 0.019$), D2 de ATG5 ($p < 0.007$) ve ATG8 ($p < 0.008$) olarak ortaya çıkmıştır.

Her iki doku örneğinde ATG8 için anlamlılığın ($p \geq 0.001$) ve ekspresyon seviyesinin fazla olması proteozom yolağında, hücre döngüsünde, apoptozisde, transkripsiyonda, DNA onarımı gibi pek çok hücre içi protein yıkımında görev alan ve ubiquitin’in benzeri olan ATG8 proteinin etkisinin obez hayvanlarda yüksek olabileceğini ve ATG8’in obezite’yi doğrudan etkileyebileceği ifade edilebilir. Ayrıca bu bağlamda ATG8’in kanserle olan sıkı ilişkisine atıf yapılabilir. ATG5’in ise sadece karaciğer dokusunda seviyesinin artmış olmasının ve istatistiksel olarak anlamlılığının bulunmasının ise obezitenin artış göstermesi ve karaciğerin yağlanması ile doğru orantılı olduğu söylenebilir.

Çalışma sonucunda kontrol grubunda ekspresyon seviyelerinde artış gözlemlenen ve analiz sonucuna göre anlamlı olan veriler karaciğer doku örneklerinde D1 ile karşılaştırıldığında ATG3 ($p < 0.031$) ATG5 ($p < 0.016$), D2 ile karşılaştırıldığında ATG5 ($p < 0,015$) olarak görülmüştür.

Kontrol grubunda sadece karaciğer doku örneklerinde ATG3 ve ATG5 seviyelerinin artmış ve anlam kazanmış olması bu iki genin bireyleri obeziteye karşı bir koruyucu etken olabileceğinin göstergesi olarak sayılabilir.

Han S. ve arkadaşlarının 2021 yılında yayınladıkları araştırmada yüksek yağ diyeti ve normal yağ diyeti ile indüklenmiş dişi C57BL/6J hayvanlarda diyetin 17’nci haftasında ATG3, ATG5, ATG8 gen ekspresyon düzeyleri ile ilgili olarak karaciğer dokusunda araştırma yapılmıştır. Elde ettikleri sonuçlara göre yüksek yağ diyeti ile indüklenen hayvanların örneklerinde ATG3 ve ATG5 genlerinin ekspresyon düzeylerinde normal yağ diyeti ile indüklenen hayvanlara göre azalma olduğu

görülmüştür (76). Bu sonucun bizim araştırmamızın verileriyle paralel olduğu gözlenmiştir.

Da Silva Lima ve arkadaşlarının 2022 yılında yayınladıkları ve C57BL/6J hayvanları yüksek yağ diyetiyle indükledikleri araştırmada 8 haftalık hayvanların karaciğer dokusunda ATG3 gen ekspresyon düzeylerine bakılmıştır. ATG3 geninde kontrole göre ekspresyon farkı yüksek olarak gözlemlenmiş ve anlamlı bulunmuştur (77).

Xu ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmada ise obez ve normal bireylerde otofaji ile ilişkili genlerin ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlara göre ATG5 ve ATG8 düzeylerinin obez bireylerde arttığı gözlemlenmiştir (78).

Pyo ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ATG5 transgenik hayvanlar ve yabani hayvanlarda ATG5 ekspresyon düzeyleri karşılaştırılması yapılmış ve transgenik hayvanlarda düzeylerin artmış olduğu saptanmıştır (79).

Kovsan ve arkadaşlarının çalışmasında insan adipoz yağ dokusu (omental ve subcutan) kullanılmıştır. Bu çalışma sonucunda ATG5 ve ATG8 ekspresyon düzeylerinde omentumda subcutana göre önemli artış olduğu gözlemlenmiştir(80).

Maixner ve arkadaşlarının çalışmasında bizim araştırmamıza benzer oluşturulan hayvan modelinde karaciğer ve adipoz doku ekspresyonları karşılaştırılmıştır. ATG5 ve ATG8 düzeylerinin adipoz dokuda daha yüksek olduğu görülmüştür (81).

Haim ve arkadaşları obez bireylerde yaptıkları araştırmada omental ve subkutan örneklerinde ATG3 ve ATG8 ekspresyon seviyelerinin omentumda subkutana göre VKİ artıkça ekspresyon düzeyinin de arttığını gözlemlemiştir (83).

Jansen ve arkadaşları insan adipoz dokusunda yaptıkları çalışma sonucunda normal bireylere göre ATG5, ATG7 ve ATG8 düzeylerinin arttığını saptamışlardır (84)

Kosacka ve arkadaşları ise obez ve tip 2 diyabet hasralarının adipoz dokularında yaptıkları araştırma sonucunda ATG5 ve ATG8 ekspresyon düzeylerinde artışla

beraber adipoz dokuda enflamasyon gözlemlemişler, diğer yandan p63 ve mTOR düzeylerinde azalma belirlemişlerdir (85).

Lu ve arkadaşları 2020 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada ApoE eksikliği olan, normal ve yüksek yağ diyeti ile indükledikleri hayvan modellerinde yaptıkları araştırma sonucunda yağ dokusunda ciddi bir artış gözükmesine rağmen çalışmamız verileriyle ilişkili şekilde ATG8 geninde downregulasyon olduğunu gözlemlemişlerdir (86).

Çalışmamızda konu olan otofaji gen bölgeleri ve uluslararası literatürlere göre yapılan çalışmalar bu araştırmanın devam etmesi gerektiğini göstermekte ve bu konu ile ilgili numune sayısını artırmak ve elde edilen verilerin metabolik bir hastalık olan obezitenin kanser ile ilişkisini daha sağlam temellere bağlayacağını düşünmekte ve bu genlerin tanıda(diagnostikte) birer potansiyel aday gen olduğunu düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Kundu M, Thompson CB. Autophagy: basic principles and relevance to disease. *Annu Rev Pathol* 2008; 3: 427–455.
2. Kovsky J, Blüher M, Tarnowski T, Klötting N, Kirshtein B, Madar L et al. Altered autophagy in human adipose tissues in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: E268–E277.
3. Nuñez CE, Rodrigues VS, Gomes FS, Moura RF, Victorio SC, Bombassaro B, Chaim EA, Pareja JC, Geloneze B, Velloso LA, Araujo EP. Defective regulation of adipose tissue autophagy in obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2013 Nov;37(11):1473-80. doi:10.1038/ijo.2013.27. Epub 2013 Mar 12. PubMed PMID: 23478428.
4. Singh R, Xiang Y, Wang Y, Baikati K, Cuervo AM, Luu YK, Tang Y, Pessin JE, Schwartz GJ, Czaja MJ. Autophagy regulates adipose mass and differentiation in mice. *J Clin Invest*. 2009 Nov;119(11):3329-39. doi: 10.1172/JCI39228. Epub 2009 Oct 12. PubMed PMID: 19855132; PubMed Central PMCID: PMC2769174.
5. Gesta, S., Tseng, Y.H., and Kahn, C.R. 2007. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell*. 131:242–256.
6. Timirci-Kahraman O, Yilmaz U, Yilmaz N, Cevik A, Horozoglu C, Celik F, Gokce MO, Ergen A, Melekoglu A, Zeybek U. A Study of Short- and Long-term mRNA Levels of the Retn, Iapp, and Drd5 Genes in Obese Mice Induced with High-fat Diet. *In Vivo*. 2018 Jul-Aug;32(4):813-817. doi: 10.21873/invivo.11312.
7. Joshua D. Rabinowitz, Eileen White : Autophagy and Metabolism. *Sciencemag*, Vol 330 . 3. December 2010
8. Peter G. Kopelman; “Obesity as a medical problem” insight review article
9. World Health Organization Expert Committee. *Physical Status: The Use and Interpretation of Anthropometry*, WHO Tech. Rep. Ser. no. 854 (World Health Organization, Geneva, 1995).
10. World Health Organization. *Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic* (World Health Organization, Geneva, 1997).
11. Manson, J. E. et al. Body weight and mortality among women. *N. Engl. J. Med.* 333, 677–685 (1995).

12. Willett, W. C. *et al.* Weight, weight change, and coronary heart disease in women: risk within the “normal” weight range. *J. Am. Med. Assoc.* **273**, 461–465 (1995).
13. Willett, W. C., Dietz, W. H. & Colditz, G. A. Guidelines for healthy weight. *N. Engl. J. Med.* **341**, 427–433 (1999).
14. Han, T. S., van Leer, E. M., Seidell, J. C. & Lean, M. E. J. Waist circumference action levels in the identification of cardiovascular risk factors: prevalence study in a random sample. *Br. Med. J.* **311**, 1401–1405 (1995).
15. Seidell, J. C. The impact of obesity on health status: some implications for health care costs. *Int. J. Obesity* **19**(Suppl. 6), S13–S16 (1996).
16. McKeigue, P. M., Shah, B. & Marmot, M. G. Relation of central obesity and insulin resistance with high diabetes prevalence and cardiovascular risk in South Asians. *Lancet* **337**, 382–386 (1991).
17. Kotani, K. *et al.* Two decades of annual medical examinations in Japanese obese children: do obese children grow into obese adults? *Int. J. Obesity* **21**, 912–921 (1997).
18. Dietz, W. H. Critical periods in childhood for the development of obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* **59**, 829–840 (1994).
19. Health at a Glance 2011: OECD Indicators, <http://dx.doi.org/10.1787/888932523994> International Association for the Study of Obesity
20. Bouchard, C. *et al.* The response to long term overfeeding in identical twins. *N. Engl. J. Med.* **322**, 1477–1482 (1990).

21. Campfield, L. A., Smith, F. J., Guisez, Y., Devos, R. & Burn, P. Recombinant mouse ob protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* **280**, 546–549 (1995).
22. Maffei, M. *et al.* Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight reduced subjects. *Nature Med.* **11**, 1155–1161 (1995).
23. Farooqi, I. S. *et al.* Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N. Engl. J. Med.* **341**, 879–884 (1999).
24. Prentice, A. M., Black, A. E., Coward, W. A. & Cole, T. J. Energy expenditure in affluent societies: an analysis of 319 doubly-labelled water measurements. *Eur. J. Clin. Nutr.* **50**, 93–97 (1996).
25. Rissanen, A. *et al.* Determinants of weight gain and overweight in adult Finns. *Eur. J. Clin. Nutr.* **45**, 419–430 (1991).
26. Lichtman, S. *et al.* Discrepancy between self-reported and actual calorie intake and exercise in obese subjects. *N. Engl. J. Med.* **327**, 1893–1898 (1993).
27. Poppitt, S. D., Swann, D., Black, A. E. & Prentice, A. M. Assessment of selective under-reporting of food intake by both obese and non-obese women in metabolic facility. *Int. J. Obesity* **22**, 303–311 (1998).
28. Lawton, C., Burley, V., Wales, J. & Blundell, J. Dietary fat and appetite control in obese subjects: weak effects on satiation and satiety. *Int. J. Obesity* **17**, 409–416 (1993).
29. Blundell J. E. & Macdiarmid, J. I. Passive overconsumption: fat intake and short term energy balance. *Ann. NY Acad. Sci.* **827**, 392–407 (1997)
30. Ravussin, E. Metabolic differences and the development of obesity. *Metabolism* **9**(Suppl. 3), 12–14 (1995).

31. Wilks, R. *et al.* in *The Origins and Consequences of Obesity* (eds Chadwick, D. & Cardew, G.) 37–53 (Wiley, Chichester, 1996).
32. Bennett, N., Dodd, T., Flatley, J., Freeth, S. & Bolling, K. *Health Survey for England 1993* (HMSO, London, 1995).
33. Kolterman, O. G., Insel, J., Sackow, M. & Olefsky, M. Mechanisms of insulin resistance in human obesity. *J. Clin. Invest.* **65**, 1272–1284 (1980).
34. Reynisdottir, S., Ellerfeldt, K., Wahrenberg, H., Lithell, H. & Arner, P. Multiple lipolysis defects in insulin resistance [metabolic] syndrome. *J. Clin. Invest.* **93**, 2590–2599 (1994).
35. Lonnquist, F., Thorne, A., Nilsell, K., Hoffstedt, J. & Arner, P. A pathogenic role of visceral fat α -adrenoceptors in obesity. *J. Clin. Invest.* **95**, 1109–1116 (1995).
36. Frayn, K. N., Williams, C. M. & Arner, P. Are increased plasma non-esterified fatty acid concentrations a risk marker for coronary heart disease and other chronic diseases? *Clin. Sci* **90**, 243–253 (1996).
37. Sniderman, A. & Cainflone, K. Metabolic disruptions in the adipocyte-hepatocyte fatty acid axis as the cause of hyperapoB. *Int. J. Obesity* **19**(Suppl. 1), S27–S33 (1995).
38. Masserli, F. H. *et al.* Borderline hypertension and obesity: two prehypertensive states with elevated cardiac output. *Circulation* **66**, 55–60 (1982).
39. De Divitiis, O. *et al.* Obesity and cardiac function. *Circulation* **64**, 477–482 (1981).
40. Licata, G. *et al.* Effect of obesity on left ventricular function studied by radionuclide angiography. *Int. J. Obesity* **15**, 295–302 (1991).

41. Lauer, M. S., Anderson, K. M., Kannel, W. B. & Levy, D. The impact of obesity on left ventricular mass and geometry. *J. Am. Med. Assoc.* **266**, 231–236 (1991).
42. Kopelman, P. G. Sleep apnoea and hypoventilation in obesity. *Int. J. Obesity* **16**(Suppl. 2), S37–S42 (1992).
43. Grunstein, R. R. in *Clinical Obesity* (eds Kopelman, P. G. & Stock, M. J.) 248–289 (Blackwell Science, Oxford, 1998).
44. Kopelman, P. G., Apps, M. C. P., Cope, T. & Empey, D. W. Nocturnal hypoxia and sleep apnoea in asymptomatic men. *Int. J. Obesity* **10**, 211–217 (1986).
45. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51:216–226, 2008.
46. Srinivasan K and Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: An overview. *Indian J Med Res* 125,, pp 451-472 2007
47. Akbarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi MR. Induction Of Diabetes By Streptozotocin In Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 22 (2) 60-64, 2007.
48. Timirci-Kahraman O, Yilmaz U, Yilmaz N, Cevik A, Horozoglu C, Celik F, Gokce MO, Ergen A, Melekoglu A, Zeybek U. A Study of Short- and Long-term mRNA Levels of the *Retn*, *Iapp*, and *Drd5* Genes in Obese Mice Induced with High-fat Diet. *In Vivo*. 2018 Jul-Aug;32(4):813-817. doi: 10.21873/invivo.11312. PMID: 29936463; PMCID: PMC6117763.
49. Wang, C. Y. & Liao, J. K. A mouse model of diet-induced obesity and insulin resistance. *Methods Mol. Biol.* **821**, 421–433 (2012).
50. Sampey, B. P. *et al.* Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity (Silver Spring)* **19**, 1109–1117 (2011).

51. Buettner, R., Scholmerich, J. & Bollheimer, L. C. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity (Silver Spring)* **15**, 798–808 (2007).
52. Inui, A. Obesity—a chronic health problem in cloned mice? *Trends Pharmacol. Sci.* **24**, 77–80 (2003).
53. Sasidharan, S. R. *et al.* An experimental approach for selecting appropriate rodent diets for research studies on metabolic disorders. *BioMed Res. Int.* **2013**, 752870 (2013).
54. Warden, C. H. & Fisler, J. S. Comparisons of diets used in animal models of high-fat feeding. *Cell Metab.* **7**, 277 (2008).
55. Meijer, A.J., and Codogno, P. (2009). *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **46**, 210–240.
56. Cuervo, A.M. 2004. Autophagy: In sickness and in health. *Trends Cell Biol.* **14**: 70–77.
57. Mizushima, N. and Klionsky, D.J. 2007. Protein turnover via autophagy: Implications for metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* **27**: 19–40.
58. Mizushima, N. and Klionsky, D.J. 2007. Protein turnover via autophagy: Implications for metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* **27**: 19–40.
59. Takeshige, K., Baba, M., Tsuboi, S., Noda, T., and Ohsumi, Y. 1992. Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *J. Cell Biol.* **119**: 301–311.
60. Mortimore, G.E. and Pösö, A.R. 1987. Intracellular protein catabolism and its control during nutrient deprivation and supply. *Annu. Rev. Nutr.* **7**: 539–564.

61. Lum, J.J., Deberardinis, R.J., and Thompson, C.B. 2005b. Autophagy in metazoans: Cell survival in the land of plenty. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **6**: 439–448.
62. Codogno, P. and Meijer, A.J. 2005. Autophagy and signaling: Their role in cell survival and cell death. *Cell Death Differ.* **12 (Suppl. 2)**: 1509–1518.
63. Djavaheri-Mergny, M., Amelotti, M., Mathieu, J., Besancon, F., Bauvy, C., Souquere, S., Pierron, G., and Codogno, P. 2006. NF- κ B activation represses tumor necrosis factor- α induced autophagy. *J. Biol. Chem.* **281**: 30373–30382.
64. Hoyer-Hansen, M., Bastholm, L., Szyniarowski, P., Campanella, M., Szabadkai, G., Farkas, T., Bianchi, K., Fehrenbacher, N., Elling, F., Rizzuto, R., et al. 2007. Control of macroautophagy by calcium, calmodulin-dependent kinase kinase- β , and Bcl-2. *Mol. Cell* **25**: 193–205.
65. Meley, D., Bauvy, C., Houben-Weerts, J.H., Dubbelhuis, P.F., Helmond, M.T., Codogno, P., and Meijer, A.J. 2006. AMP-activated protein kinase and the regulation of autophagic proteolysis. *J. Biol. Chem.* **281**: 34870–34879.
66. Daido, S., Kanzawa, T., Yamamoto, A., Takeuchi, H., Kondo, Y., and Kondo, S. 2004. Pivotal role of the cell death factor BNIP3 in ceramide-induced autophagic cell death in malignant glioma cells. *Cancer Res.* **64**: 4286–4293.
67. Reef, S., Zalckvar, E., Shifman, O., Bialik, S., Sabanay, H., Oren, M., and Kimchi, A. 2006. A short mitochondrial form of p19ARF induces autophagy and caspase-independent cell death. *Mol. Cell* **22**: 463–475.
68. Crichton, D., Wilkinson, S., O'Prey, J., Syed, N., Smith, P., Harrison, P.R., Gasco, M., Garrone, O., Crook, T., and Ryan, K.M. 2006. DRAM, a p53-induced modulator of autophagy, is critical for apoptosis. *Cell* **126**: 121–134.
69. Demarchi, F., Bertoli, C., Copetti, T., Tanida, I., Brancolini, C., Eskelinen, E.-L., and Schneider, C. 2006. Calpain is required for macroautophagy in mammalian cells. *J. Cell Biol.* **175**: 595–605.

70. Mills, K.R., Reginato, M., Debnath, J., Queenan, B., and Brugge, J.S. 2004. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) is required for induction of autophagy during lumen formation in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **101**: 3438–3443.
71. Pyo, J.O., Jang, M.H., Kwon, Y.K., Lee, H.J., Jun, J.I., Woo, H.N., Cho, D.H., Choi, B., Lee, H., Kim, J.H., et al. 2005. Essential Roles of ATG5 and FADD in autophagic cell death: Dissection of autophagic cell death into vacuole formation and cell death. *J. Biol. Chem.* **280**: 20722–20729.
72. Sarkar, S., Floto, R.A., Berger, Z., Imarisio, S., Cordenier, A., Pasco, M., Cook, L.J., and Rubinsztein, D.C. 2005. Lithium induces autophagy by inhibiting inositol monophosphatase. *J. Cell Biol.* **170**: 1101–1111.
73. Kim, J., Huang, W.-P., and Klionsky, D.J. 2001. Membrane recruitment of Aut7p in the autophagy and cytoplasm to vacuole targeting pathways requires Aut1p, Aut2p, and autophagy conjugation complex. *J. Cell Biol.* **152**: 51–64.
74. Klionsky, D.J. and Ohsumi, Y. 1999. Vacuolar import of proteins and organelles from the cytoplasm. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **15**: 1–32.
75. Klionsky, D.J., Cregg, J.M., Dunn Jr., W.A., Emr, S.D., Sakai, Y., Sandoval, I.V., Sibirny, A., Subramani, S., Thumm, M., Veenhuis, M., et al. 2003. A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes. *Dev. Cell* **5**: 539–545.
76. Nakatogawa, H., Ichimura, Y., and Ohsumi, Y. 2007. ATG8, a ubiquitin-like protein required for autophagosome formation, mediates membrane tethering and hemifusion. *Cell* **130**: 165–178.
77. Han S, Zhu F, Huang X, Yan P, Xu K, Shen F, Sun J, Yang Z, Jin G, Teng Y. Maternal obesity accelerated non-alcoholic fatty liver disease in offspring mice by reducing autophagy. *Exp Ther Med.* 2021 Jul;22(1):716. doi: 10.3892/etm.2021.10148. Epub 2021 May 3. PMID: 34007325; PMCID: PMC8120514.

78. da Silva Lima N, Fondevila MF, Nóvoa E, Buqué X, Mercado-Gómez M, Gallet S, González-Rellán MJ, Fernandez U, Loyens A, Garcia-Vence M, Chantada-Vazquez MDP, Bravo SB, Marañón P, Senra A, Escudero A, Leiva M, Guallar D, Fidalgo M, Gomes P, Claret M, Sabio G, Varela-Rey M, Delgado TC, Montero-Vallejo R, Ampuero J, López M, Diéguez C, Herrero L, Serra D, Schwaninger M, Prevot V, Gallego-Duran R, Romero-Gomez M, Iruzubieta P, Crespo J, Martinez-Chantar ML, Garcia-Monzon C, Gonzalez-Rodriguez A, Aspichueta P, Nogueiras R. Inhibition of ATG3 ameliorates liver steatosis by increasing mitochondrial function. *J Hepatol*. 2022 Jan;76(1):11-24. doi: 10.1016/j.jhep.2021.09.008. Epub 2021 Sep 21. PMID: 34555423.

79. Xu Q, Mariman ECM, Roumans NJT, Vink RG, Goossens GH, Blaak EE, Jocken JWE. Adipose tissue autophagy related gene expression is associated with glucometabolic status in human obesity. *Adipocyte*. 2018 Jan 2;7(1):12-19. doi: 10.1080/21623945.2017.1394537. Epub 2018 Feb 5. PMID: 29400609; PMCID: PMC5915036.

80. Pyo JO, Yoo SM, Ahn HH, Nah J, Hong SH, Kam TI, Jung S, Jung YK. Overexpression of ATG5 in mice activates autophagy and extends lifespan. *Nat Commun*. 2013;4:2300. doi: 10.1038/ncomms3300. PMID: 23939249; PMCID: PMC3753544.

81. Kovsky J, Blüher M, Tarnowski T, Klötting N, Kirshtein B, Madar L, Shai I, Golan R, Harman-Boehm I, Schön MR, Greenberg AS, Elazar Z, Bashan N, Rudich A. Altered autophagy in human adipose tissues in obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Feb;96(2):E268-77. doi: 10.1210/jc.2010-1681. Epub 2010 Nov 3. PMID: 21047928.

82. Maixner N, Kovsky J, Harman-Boehm I, Blüher M, Bashan N, Rudich A. Autophagy in adipose tissue. *Obes Facts*. 2012;5(5):710-21. doi: 10.1159/000343983. Epub 2012 Oct 18. PMID: 23108431.

83. Haim Y, Blüher M, Slutsky N, Goldstein N, Klötting N, Harman-Boehm I, Kirshtein B, Ginsberg D, Gericke M, Guiu Jurado E, Kovsky J, Tarnowski T, Kachko

L, Bashan N, Gepner Y, Shai I, Rudich A. Elevated autophagy gene expression in adipose tissue of obese humans: A potential non-cell-cycle-dependent function of E2F1. *Autophagy*. 2015 Nov 2;11(11):2074-2088. doi: 10.1080/15548627.2015.1094597. PMID: 26391754; PMCID: PMC4824599.

84. Jansen HJ, van Essen P, Koenen T, Joosten LA, Netea MG, Tack CJ, Stienstra R. Autophagy activity is up-regulated in adipose tissue of obese individuals and modulates proinflammatory cytokine expression. *Endocrinology*. 2012 Dec;153(12):5866-74. doi: 10.1210/en.2012-1625. Epub 2012 Nov 1. PMID: 23117929.

85. Kosacka J, Kern M, Klöting N, Paeschke S, Rudich A, Haim Y, Gericke M, Serke H, Stumvoll M, Bechmann I, Nowicki M, Blüher M. Autophagy in adipose tissue of patients with obesity and type 2 diabetes. *Mol Cell Endocrinol*. 2015 Jul 5;409:21-32. doi: 10.1016/j.mce.2015.03.015. Epub 2015 Mar 26. PMID: 25818883.

86. Lu W, Mei J, Yang J, Wu Z, Liu J, Miao P, Chen Y, Wen Z, Zhao Z, Kong H, Wu C, Yang Y, Chen M. ApoE deficiency promotes non-alcoholic fatty liver disease in mice via impeding AMPK/mTOR mediated autophagy. *Life Sci*. 2020 Jul 1;252:117601. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117601. Epub 2020 Apr 15. PMID: 32304762.



İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

DİYET İLE İNDÜKLENMİŞ DENEYSEL OBEZİTE MODELİNDE OTOFAJİ İLE İLİŞKİLİ GENLERİN EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%**9**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**8**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**2**

YAYINLAR

%**4**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%**2**

2

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

%**1**

3

Submitted to Canakkale Onsekiz Mart
University

Öğrenci Ödevi

%**1**

4

docplayer.biz.tr

İnternet Kaynağı

%**1**

5

Submitted to Kahramanmaraş Sütçü İmam
University

Öğrenci Ödevi

<%**1**

6

genesdev.cshlp.org

İnternet Kaynağı

<%**1**

7

Submitted to Istanbul Aydın University

Öğrenci Ödevi

<%**1**

8

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

<%**1**



Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Yayınlar

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Yılmaz U, Zeybek U, Kahraman OT, Kafadar AM, Toptas B, Yamak N, **Celik F**, Yaylim I. Investigation of ICAM-1 and $\beta 3$ integrin gene variations in patients with brain tumors. Asian Pac J Cancer
2. Karatoprak O, Karaali Z.E, Incekara K, **Çelik F**, Zeybek U, Ergen H.A, İsbir T, "The role of mdrl gene polymorphism in type 2 diabetes mellitus" Turk J Biochem 2013
3. İkitimur-Armutak E, Ulukaya E, Gurel-Gurevin E, Yaylım I, İsbilen-Basok B, Sennazlı G, Yuzbasioglu-Ozturk G, Sonmez K, Celik F, Kucukhuseyin O, Korkmaz G, Yılmaz V.T, Zeybek S.U, Apoptosis-inducing Effect of a Palladium(II) Complex [PdCl(terpy)] (sac).2H₂O] on Ehrlich Ascites Carcinoma (EAC) in Mice: in vivo 30: 457-464(2016)
4. Bastu E, Zeybek U, Gurel Gurevin E, Yüksel Ozgor B, Celik F, Okumus N, Demiral I, Dural O, Celik C, Bulut H, İlkay Armutak E, Baysal B, Buyru F, Yeh J. Effects of Irisin and Exercise on Metabolic Parameters and Reproductive Hormone Levels in High-Fat Diet-Induced Obese Female Mice. Reprod Sci. 2018 Feb;25(2):281-291.
5. Ergen A, Fazliogulları O, Basaran C, Celik F, Candan G, Timirci-Kahraman O, Zeybek U; IRAK-4 Variants in acute coronary syndrome patients; Anatol J Cardiol 2017; 17: 414-8
6. Başaran C, Çelik F, Akgün S, Fazlıoğulları O, Çetiner N. G, Yaylım İ, Zeybek Ü; □ Investigation of ADIPOR1, ADIPOR2 and ADIPOQ Genetic Variations in Coronary Artery Obese patients: Deneysel Tıp Araştırma Dergisi Yıl:6 Cilt:6 Sayı:11 Sayfa:79-89 2016
7. Özyavuz M K, Çelik F, Işıkören E G, Çelikel B, Çetiner N G, Çakmakoğlu B, Gökçe M O, Zeybek Ü; Investigation of COX2 765 C>G and COX2 1195 G>A Gene Polymorphisms and Their Serum Levels in Patients with Shizophrenia: Deneysel Tıp Araştırma Dergisi Yıl:6 Cilt:6 Sayı:11 Sayfa:52-63 2016
8. Timirci-Kahraman O, Yılmaz U, Yılmaz N, Cevik A, Horozoglu C, Celik F, Gokce MO, Ergen A, Melekoglu A, Zeybek U. A Study of Short- and Long-term mRNA Levels of the Retn, Iapp, and Drd5 Genes in Obese Mice Induced with High-fat Diet. In Vivo. 2018 Jul-Aug;32(4):813-817.
9. Ali Osman Arslan, Faruk Celik, Ozlem Kucukhuseyin, Bulent Duran, Murat Diramali, Sakir Umit Zeybek, Selma Duzenli, Ilhan Yaylim "Investigation of variants of critically important antioxidant enzyme genes in patients with polycystic ovary syndrome" Exp Biomed Res 2019; 2(1):8-19 DOI: 10.30714/jebr.2019147578
10. A Çevik, ÖT Kahraman, F Çelik, B Çelik, G Çetiner, U Zeybek "İnflamatuar Barsak Hastalık Gelişimi Üzerinde Çevresel Faktörlerin Etkileşim Mekanizmalarının İncelenmesi"- Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü
11. A Çevik, F Çelik, S Bireller, B Çelikel, NG Çetiner, U Zeybek " İnflamatuar Barsak Hastalığı İle İlişkili Belirteçlerin Düzeylerinin Diyabet Hastalarında İncelenmesi - Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü ...
12. Mehmet ÖZSÜRMELİ , Ercan BAŞTU , Cihan COMBA , Mete SUCU , Erol ARSLAN , Selahattin MISIRLIOĞLU , Faruk ÇELİK , Şakir Ümit ZEYBEK ,

Ahmet BÜYÜKÖREN “Oral kontraseptif kullanan kadınlarda inflamatuvar belirteçlerinin ve adezyon moleküllerinin değişimi” Çukurova Medical Journal 2019

13. [Bahar Yuksel Ozgor](#), [Irem Demiral](#), [Umit Zeybek](#), [Faruk Celik](#), [Faruk Buyru](#), [John Yeh](#), [Ercan Bastu](#) “Effects of Irisin Compared with Exercise on Specific Metabolic and Obesity Parameters in Female Mice with Obesity” [Metabolic Syndrome and Related Disorders](#) 2020
14. Akif Arat, Ümit Yılmaz, Nesibe Yılmaz, Osman Fazlıoğulları, Faruk Çelik, Cem Başaran, Ümit Zeybek “Effects of Leptin, Resistin, and PPAR-Gama Gene Variants on Obese Patients with Acute Coronary Syndrome in the Turkish Population” 10.4274/ jarem.galenos.2020.2931 J Acad Res Med 2020;10(2):166-74
15. Kenan Ahmet Turkdogan, Semih KORKUT, Mustafa Kerem OZYAVUZ, Faruk CELIK, Mehmet Mesut SONMEZ, Ibrahim YILMAZ, Umit ZEYBEK “SCUBE-1 could be a guide in terms of home follow-up and hospitalization of SARS-CoV-2 infection patients?”; American Journal of Emergency Medicine 2021

Hakemli Kongre / Sempozyumların Bildiri Kitaplarında Yer Alan Posterler

1. Verim A, Cacina C, Tuna G, Ergen A, Zeybek Ü, Adıgüzel M, Çelik F, Yaylım Eraltan İ, “Analysis Of NOS3 (glu298asp) Gene Variation in Patients With Laryngeal Carcinoma”, EACR- Anticancer Agents Research Congress, P 49, October 13-16, Antalya, 2011.
2. Melike Gezen, Ümit Yılmaz, Ümit Zeybek, Faruk Çelik, Melis Yurdum, Nihal Yozgatlı, Ali Kafadar, Arzu Ergen, İlhan Yaylım, " Investigation of ICAM-1 and $\beta 3$ integrin gene variations in patients with brain tumors ", 4. Multidisipliner Cancer Research Congress, 13-16 December 2012, Bursa
3. Gökçe MO, Çelik F, Timirci-Kahraman O, Gökçe HH, Yurdum LM, Ergen A, Çakmakoglu B, Zeybek U. “Investigation of Gene Polymorphism of DNA Repair Genes XRCC1 and XRCC3 in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus” 5th Molecular Medicine Congress, May 20-22, İzmir, 2015
4. Horozoğlu C, Timirci-Kahraman O, Zeybek U, Ergen A, Kahraman R, Çelik F, “Investigation of Serum Adipokine Levels in Inflammatory Bowel Disease” 5th Molecular Medicine Congress, May 20-22, İzmir, 2015
5. Özyavuz K, Tunoğlu S, Çelikel B, Çelik F, Zeybek U, Çakmakoglu BKüçükali Cİ, “Investigation of Effects of COX2 765 G>C and COX2 1195 G>A Polymorphism and Serum COX2 Levels in Patients With Shisophrenia” 5th Molecular Medicine Congress, May 20-22, İzmir, 2015
6. Çelik F, Yılmaz U, Başaran C, Gökçe Mo, Ergen A, Zeybek U, “Investigation of TIMP 1 and TIMP 2 Gene Variations Effects and Their Serum Levels” 5th Molecular Medicine Congress, May 20-22, İzmir, 2015
7. Çevik A, Yılmaz N, Zeybek U, Çelik F, Çelikel B, Kahraman R, Çakmakoglu B, “ Investigation of Markers Associated with Inflammatory Bowel Disease in

Diabetes Mellitus Patients” 5th Molecular Medicine Congress, May 20-22, İzmir, 2015

8. Bayraktar B, Işıkören EG, Zeybek U, Çelik F, Tunoğlu S, Çelikel B, Ergen A, “Investigation of the Influence of Various Gene Variant on Exercise Performance” 5th Molecular Medicine Congress, May 20-22, İzmir, 2015
9. Arat A, Çelikel B, Zeybek U, Çelik F, Başaran C, Akgün S, Fazlıoğulları O, Ergen A, “ Research of the Influence of Leotin, Resistin and PPAR-gama Gene Variants to the Proaterogenic/Antiaterogenic Lipid Profile in Obese PATients with Acute Coronary Syndrome” 5th Molecular Medicine Congress, May 20-22, İzmir, 2015
10. Keskin M, Çelik F, Çelikel B, Tunoğlu S, Karip B, Zeybek U, “Evaluation of M30-M65 Cell Death for Tumor Regretion in Rectal Cancer Patients Treated with Neoadjuvant Therapy(Chemoradiotherapy)” Cell Membranes and Free Radical Research Congress, Isparta, 2014
11. Melike Gezen, Ümit Zeybek, Arzu Ergen, Özlem Timirci Kahraman, Faruk Çelik, Muhammed Oğuz Gökçe, Aydın Çevik, " Ghrelin Gene Expression and Protein Levels in Created C57BL/6J Experimental Model of Obese Mice", 3. National Laboratory Animal Congress , p100-104, Kayseri, 2013.
12. Özlem Timirci Kahraman, Ümit Zeybek, Arzu Ergen, Faruk Çelik, Muhammed Oğuz Gökçe, Leman Melis Yurdum, Nihal Yozgatlı, Aydın Çevik, “Leptin Gene and Protein Expression in Created Experimental Model of Obese Mice” XIII. National Medical Biology Congress, p352, ps06-112, Kuşadası, 27-30 Ekim 2013.
13. Ali Osman Arslan, Faruk Celik, Ozlem Küçükhüseyin, Murat Diramali, Ş. Umit Zeybek, Selma Düzenli, İlhan Yaylım, “INVESTIGATION OF CRITICAL ANTIOXIDANT ENZYME GENES VARIANTS IN POLYCYSTIC OVARIAN SYNDROME PATIENTS”, 6th Molecular Medicine Congress, 22-25 May 2017.
14. Şeyda Ercan, Roya Mesediyeva, Faruk Çelik, Dilara Sönmez, Selin Baltacı, Bilsay Metin Ekiz, Aysegul Verim, Gulbu Isitmangil, Ümit Zeybek, İlhan Yaylım, “IS THERE ANY RELATIONSHIP BETWEEN THE ICAM-1 +469 A/G POLYMORPHISM AND LARYNX CANCER IN A TURKISH POPULATION”, 6th Molecular Medicine Congress, 22-25 May 2017.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

1. Başaran C, Aksoyer Sezgin SB, Çelik F, Arslan AO, Zeybek ŞÜ. : Research of the AdipoQ, AdipoR1 and AdipoR2 genetic variation effects at the obese coronary artery disease patients. , VII. International Congress of Molecular Medicine, Haliç University, Istanbul/Turkey, 2019
2. Aksoyer Sezgin SB, Durak Ş, Çelik F, Gheybi A, Diramalı M, Çakmak R, Gürol AO, Yaylım İ, Zeybek Ü. Ivestigation Of The Effect Of Trail In Obese

Patients. VIII. International Congress of Molecular Medicine, Yeni Yüzyıl University, Istanbul/Turkey, 2021

3. Gheybi A, Çelik F, Arslan AO, Aksoyer Sezgin SB, Aksakal N, Çakmak R, Zeybek ŞÜ. Evaluation of Mutation Profiles of PLIN and POMC Genes in Different BMI Groups. VIII. International Congress of Molecular Medicine, Yeni Yüzyıl University, Istanbul/Turkey, 2021
4. Aktaş V, Durak Ş, Aksoyer Sezgin SB, Çelik F, Dıramalı M, Zeybek Ü. Investigation of genetic variations of PPAR- γ gene in patients with diabetic and obesity. VIII. International Congress of Molecular Medicine, Yeni Yüzyıl University, Istanbul/Turkey, 2021
5. "Investigation of Resistin Gene Expression and Serum Levels in Created Experimental Model of Obese Mice" Çelik F, 3. National Laboratory Animal Science Congress, Kayseri, 2013.
6. "Investigation of The Novel Genes Related With Athletic Performance" Celik F, " 5th Molecular Medicine Congress, May 20-22, İzmir, 2015
7. "INVESTIGATION OF NOVEL GENES ASSOCIATED WITH ENDURANCE AND STRENGHT IN ATHLETE" Celik F, 6'th Molecular Medicine Congress, May 22-25, İstanbul, 2017
8. "Development of a real-time PCR panel targeting 32 DNA polymorphisms related to athletic performance" Celik F, 7'th Molecular Medicine Congress, september 06-09, İstanbul, 2019
9. "Expression Levels Investigation of Autophagy Related Genes in Diet Induced Experimental Obesity Model" Celik F, 7'th Molecular Medicine Congress, september 06-09, İstanbul, 2019
10. "How Our Microbbbiata Affects Our Life?" Mustafa Kerem Ozyavuz, Faruk Celik; 2'nd International Conference on Preventive Medicine (2'nd ICPM 2020); 25-28 November 2020

Ödüller

- 1 Keskin M, Çelik F, Çelikel B, Tunoğlu S, Karip B, Zeybek U, "Evaluation of M30-M65 Cell Death for Tumor Regretion in Rectal Cancer Patients Treated with Neoadjuvant Therapy(Chemoradiotherapy)" Cell Membranes and Free Radical Research Congress, Isparta, 2014. Poster 2'lik ödülü
- 2 "Investigation of Resistin Gene Expression and Serum Levels in Created Experimental Model of Obese Mice" Çelik F, 3. National Laboratory Animal Science Congress, Kayseri, 2013. Sözlü sunum 2'lik Ödülü

