



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**OBEZİTE OLUŞUMUNDA LEPTİN, ANAPLASTİK LENFOMA
KİNAZ (ALK), CD-44 DÜZEYLERİ VE LEPTİN RESEPTÖR GEN
POLİMORFİZMİNİN İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kübra KARATAŞ

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Figen GÜZELGÜL

TOKAT-2025

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Dr. Öğr. Üyesi Figen GÜZELGÜL danışmanlığında hazırlamış olduğum “Obezite Oluşumunda Leptin, Anaplastik Lenfoma Kinaz (ALK), CD-44 Düzeyleri ve Leptin Reseptör Gen Polimorfizminin İlişkisinin Belirlenmesi” adlı yüksek lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

29/08/2025

Kübra KARATAŞ

JÜRİ KABUL VE ONAY SAYFASI

Kübra Karataş tarafından hazırlanan “**Obezite Oluşumunda Leptin, Anaplastik Lenfoma Kinaz (ALK), CD-44 Düzeyleri ve Leptin Reseptör Gen Polimorfizminin İlişkisinin Belirlenmesi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 29.08.2025 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Üye (Başkan): Prof. Dr. Serap YALIN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Figen GÜZELGÜL

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Nihan BOZKURT

ONAY

...../...../.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖNSÖZ

Tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Figen GÜZELGÜL'e, bu süreç boyunca karşılaştığım zorlukları aşmamda bana yardımcı olduğu, yüksek lisans eğitimim süresince yol gösterdiği ve bu araştırmayı tamamlayarak tezimi yazmam konusunda bana çok şey öğrettiği için en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki tüm öğretim üyelerin derslerimde bana yardımcı oldukları ve bu akademik yolculuk süresince deneyimlerini benimle paylaştıkları için teşekkür ederim.

Tez dönemimde çalışmalarına desteklerinden dolayı Dr. Öğr. Üyesi Merve ÇATAK, Dr. Öğr. Üyesi Nihan BOZKURT, Dr. Kübra ŞAHİN, Uzm. Kimyager Marwa ABDELMAGED ve Arş. Gör. Sadegül Şavkın TUNCER'e bilgi ve tecrübelerini benimle cömertçe paylaştıkları, bilimsel yaklaşımımı geliştirmemde katkı sundukları için şükranlarımı sunarım.

Bu tez çalışması Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2024/34 numaralı proje ile desteklenmiştir. Sağladıkları katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Tez süreci boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme ve tüm sevdiklerime, her zaman yanımda olduklarını hissettirdikleri için sonsuz teşekkür ederim. Bu çalışmanın, obeziteyle ilişkili biyobelirteçlerin anlaşılmasına ve gelecekte yapılacak bilimsel araştırmalara katkı sunmasını temenni ederim.

ÖZET

OBEZİTE OLUŞUMUNDA LEPTİN, ANAPLASTİK LENFOMA KİNAZ (ALK), CD-44 DÜZEYLERİ VE LEPTİN RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMİNİN İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ

Karataş, Kübra

Yüksek Lisans, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Figen Güzelgöl

Ağustos 2025, xv+107 sayfa

Obezite, enerji alımı ve harcaması arasındaki dengenin bozulması sonucu gelişen ve hormonal, inflamatuvar ile hücresel düzeyde bozukluklara yol açan karmaşık bir metabolik hastalıktır. Bu çalışmada, leptin, CD44 ve ALK biyobelirteçlerinin obezite ile ilişkisi araştırılmış; ayrıca leptin reseptör geni (LEPR) G223A (rs1137101) polimorfizminin bu biyobelirteçler ve metabolik parametrelerle ilişkisi değerlendirilmiştir. Çalışmaya katılan bireyler beden kitle indeksine (BKI) göre dört gruba ayrılmış; serum leptin, CD44 ve ALK düzeyleri ELISA ile, genetik analizler PCR-RFLP yöntemiyle yapılmıştır. Elde edilen bulgulara göre, ALK, ALT ve leptin düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermiştir. Morbid obez bireylerde, kontrol grubuna kıyasla HbA1c, ALK, CD44 ve leptin düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır. Hafif şişman ve morbid obez gruplar arasında LDL ve ALK düzeylerinde, kontrol ile şişman gruplar arasında ise ALT, ALK ve leptin düzeylerinde anlamlı fark bulunmuştur. ROC analizinde, leptin biyobelirteci en yüksek tanısal performansı göstermiş (AUC = 0,797, %71,2 duyarlılık, %90,9 özgüllük), ALK için AUC 0,768 bulunurken, CD44'ün tanısal değeri istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır (AUC = 0,697). LEPR G223A polimorfizmi açısından ise genotipler (AA, AG, GG) arasında glikoz, TG ve D vitamini düzeylerinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Sonuç olarak, leptin, ALK ve CD44 biyobelirteçleri obezitenin değerlendirilmesinde potansiyel klinik önem taşımakta; LEPR G223A polimorfizmi ise bazı metabolik değişikliklerle ilişkili olabilir. Bu çalışma leptin, ALK ve CD44 biyobelirteçlerini LEPR gen polimorfizmi ile değerlendiren ilk çalışma olarak, literatüre özgün ve değerli bir katkı sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Obezite, Gen Polimorfizmi, Leptin, CD-44, ALK

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN LEPTIN, ANAPLASTIC LYMPHOMA KINASE (ALK), CD44 LEVELS AND LEPTIN RECEPTOR GENE POLYMORPHISM IN THE DEVELOPMENT OF OBESITY

Karataş, Kübra

Master Thesis, Department of Medical Biochemistry

Supervisor: Assist. Dr. Öğr. Üyesi Figen Güzelgül

August, 2025. xv+107 Page.

Obesity is a complex metabolic disorder that develops as a result of an imbalance between energy intake and expenditure, leading to hormonal, inflammatory, and cellular-level disturbances. In this study, the relationship between obesity and the biomarkers leptin, CD44, and ALK was investigated. Additionally, the relations of the leptin receptor gene (LEPR) G223A (rs1137101) polymorphism with these biomarkers and metabolic parameters was evaluated. Participants were divided into four groups based on body mass index (BMI), serum leptin, CD44, and ALK levels were measured using ELISA with genetic analyses were performed using the PCR-RFLP method. According to the findings, ALK, ALT, and leptin levels showed significant differences between the groups. In morbidly obese individuals, levels of HbA1c, ALK, CD44, and leptin were significantly higher compared to the control group. Significant differences were also observed in LDL and ALK levels between the mildly overweight and morbidly obese groups, and in ALT, ALK, and leptin levels between the control and obese groups. In the ROC analysis, leptin exhibited the highest diagnostic performance (AUC = 0.797, 71.2% sensitivity, 90.9% specificity), while ALK showed an AUC of 0.768. The diagnostic value of CD44, however, was not statistically significant (AUC = 0.697). Regarding the LEPR G223A polymorphism, significant differences were identified among genotypes (AA, AG, GG) in glucose, triglyceride (TG), and vitamin D levels. In conclusion, leptin, ALK, and CD44 appear to be clinically important biomarkers in the evaluation of obesity. Moreover LEPR G223A polymorphism may be linked with certain metabolic alterations. This study is among the first to simultaneously examine ALK and CD44 biomarkers together with the LEPR polymorphism, highlighting its' unique contribution.

Keywords: Obesity, Gene Polymorphism, Leptin, CD44, ALK

İÇİNDEKİLER

ETİK SÖZLEŞME.....	i
JÜRİ KABUL VE ONAY SAYFASI.....	ii
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	xiii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 OBEZİTE.....	3
2.1.1 Obezitenin Tanımı ve Değerlendirilmesi.....	3
2.1.2 Obezitenin Epidemiyolojisi	4
2.1.3 Obeziteye Neden Olan Faktörler	5
2.2 LEPTİN.....	9
2.2.1 Leptin Reseptörleri	9
2.2.2 Leptinin Etki Mekanizması.....	10
2.2.3 Leptin Salınımını Etkileyen Faktörler	12
2.2.4 Leptin Hastalıklarla İlişkisi.....	12
2.2.4 Leptin ve Obezite.....	14
2.3 CD-44.....	15
2.3.1 CD-44 Ligand Bağlanması	17
2.3.2 CD-44 Metabolik Düzenleme ve CD-44 Sinyalizasyonu.....	19

2.3.3 CD-44 ve Hastalıklarla İlişkisi	19
2.3.4 CD-44 ve Obezite	22
2.4 ANAPLASTİK LENFOMA KİNAZ(ALK).....	23
2.4.1 Anaplastik Lenfoma Kinaz Aktivasyonu ve Sinyal Yolu.....	26
2.4.2 Anaplastik Ligandları ve Ligan Bağlanması	28
2.4.3 Anaplastik Lenfoma Kinaz'ın Hastalıklarla İlişkisi	29
2.4.4 ALK ve Obezite	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1 MATERYALLER.....	31
3.1.1 Kimyasal Materyaller	31
3.1.2 Alet ve Cihazlar	31
3.2 ÇALIŞMA TASARIMI	32
3.3 KATILIMCILAR.....	32
3.4 ÖRNEK TOPLAMA	33
3.5 BİYOKİMYASAL ANALİZLER	33
3.5.1 Rutin Biyokimya Analizleri.....	33
3.5.2 Elisa Yöntemine Göre Leptin Düzeylerinin Belirlenmesi	34
3.5.3 Elisa Yöntemine Göre ALK Düzeylerinin Belirlenmesi	37
3.5.4 Elisa Yöntemine Göre CD-44 Düzeylerinin Belirlenmesi	43
3.6 PERİFERİK KANDAN DNA İZOLASYONU	46
3.6.1 DNA'nın Kalitatif Tayini.....	48
3.6.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Tekniği	48
3.7 RESTRİKSİYON PARÇA UZUNLUK POLİMORFİZMİ (RFLP).....	49
3.8 ELEKTROFEREZ TEKNİĞİ.....	49

3.9 RFLP YÖNTEMİ İLE LEPR G223A GEN POLİMORFİZMİNİN BELİRLENMESİ.....	49
3.9.1 PCR Aşaması	50
3.9.2 Bileşenler	50
3.9.3 PCR Protokolü	50
3.9.4 Agaroz Jel Elektroferezi ile PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi	51
3.9.5 RFLP	51
3.10 İSTATİSTİKSEL ANALİZ	52
4. BULGULAR.....	53
5. TARTIŞMA	76
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	95
7. KAYNAKÇA.....	96
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL ONAY BELGESİ	106
ÖZGEÇMİŞ	107

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1 Yaşı Göre Uygun BKİ Değerleri	4
Tablo 2.2 CD-44 Varyantları ve İlgili Biyolojik İşlevleri	16
Tablo 3.1 Standart Konsantrasyonları	40
Tablo 4.1 Çalışma Parametrelerinin Çalışmanın Ana Grupları Olan Obez ve Kontrol Gruplar Arasında Karşılaştırılması	53
Tablo 4.2 Dört Grup Arasında Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması	55
Tablo 4.3 Morbid Obez ve Hafif Şişman Gruplarının Çalışma Parametreleri Açısından Karşılaştırılması	56
Tablo 4.4 Morbid Obez ve Kontrol Gruplar Arasındaki Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması	57
Tablo 4.5 Morbid Obez ve Şişman Gruplar Arasındaki Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması	58
Tablo 4.6 Kontrol ve Hafif Şişman Gruplar Arasındaki Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması	59
Tablo 4.7 Şişman ve Hafif Şişman Gruplar Arasındaki Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması	60
Tablo 4.8 Şişman ve Kontrol Gruplar Arasındaki Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması	61
Tablo 4.9 Gruplar Arasında ALK, CD44 ve Leptin Verilerine ait ROC Eğrisi Sonuçları	65
Tablo 4.10 LEPR G223A (rs1137101) Polimorfizminin Genotip ve Allel Dağılımının Morbid Obez ve Kontrol Bireylerde Karşılaştırılması	67
Tablo 4.11 AA, AG ve GG Genotip Grupları Arasında Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması	68
Tablo 4.12 AA ve GG Genotip Grupları Arasında Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması	70

Tablo 4.13 AA ve AG Genotip Grupları Arasında Çalışma Parametrelerin Karşılaştırılması.....	71
Tablo 4.14 AG ve GG Genotip Grupları Arasındaki Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması.....	72



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 Leptin Sinyallemesi.....	11
Şekil 2.2 Leptinin Doğal Bağışıklık ve Edinilmiş Bağışıklık Üzerine Etkisi.....	13
Şekil 2.3 CD-44 Ligand Sinyal Yolağı.....	18
Şekil 2.4 CD-44 Kanser Hücrelerinde Glikoz Metabolizması.....	21
Şekil 2.5 ALK ile Reseptör Tirozin Kinaz Ailelerinin Alan Yapısı.....	23
Şekil 2.6 ALK'nin Çeşitli Özellikleri.....	25
Şekil 2.7 ALK Sinyalizasyonu.....	27
Şekil 2.8 ALK, ALK'nin Anormal Formları, ALK Amplifikasyonu, ALK İzoformlarının Şematik Gösterimi.....	28
Şekil 3.1 Standart Konsantrasyonları.....	35
Şekil 3.2 Leptin Standart Eğri Grafiği.....	37
Şekil 3.3 Standart Solüsyonlarının Hazırlanması	40
Şekil 3.4 Elisa Uygulama Adımları.....	42
Şekil 3.5 ALK Standart Eğri Grafiği.....	43
Şekil 3.6 Standartların Hazırlanması.....	44
Şekil 3.7 CD-44 Standart Eğri Grafiği.....	46
Şekil 3.8 İzolasyon Sonrası DNA Görüntüsü.....	48
Şekil 4.1 Kontrol, Hafif Şişman, Şişman ve Morbid Obez Bireylerde Ortalama Leptin düzeyleri.....	62
Şekil 4.2 Kontrol, Hafif Şişman, Şişman ve Morbid Obez Bireylerde Ortalama ALK Düzeyleri.....	63
Şekil 4.3 Kontrol, Hafif Şişman, Şişman ve Morbid Obez Bireylerde Ortalama CD44 Düzeyleri.....	64
Şekil 4.4 ALK, CD44 ve Leptin Biyobelirteçlerine ait ROC Eğrileri ile Tanısal Performansın Karşılaştırılması.....	65

Şekil 4.5 RFLP Analizine ait %2'lik Agaroza Jel Elektroforez Görüntüsü.....	66
Şekil 4.6 Leptin Düzeylerinin Genotiplere (AA, AG, GG) Göre Ortalama Dağılımı.....	73
Şekil 4.7 ALK Düzeylerinin Genotiplere (AA, AG, GG) Göre Ortalama Dağılımı.....	74
Şekil 4.8 CD44 Düzeylerinin Genotiplere (AA, AG, GG) Göre Ortalama dağılımı.....	75



KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

ALK	Anaplastik Lenfoma Kinaz
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
BKI	Beden Kitle İndeksi
BDNF	Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
LEP	Leptin
LEPR	Leptin Reseptör
POMC	Proopiomelanokortin
PCSK1	Prohormon Dönüştürücü 1
MC4R	Melanokortin 4 Reseptörü
SIM1	Single-minded Homolog 1
NTRK2	Nörotrofik Tirozin Kinaz Reseptör Tip 2 Geni
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
PWS	Prader-Willi Sendromu
NHANES	Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör α
IL-6	İnterlökin-6
OB	Obezite
OB-RB	Uzun Reseptörler
OB-RA	Kısa Reseptörler
OB-RE	Sekretuar Reseptörler
α -MSH	α -Melanosit Uyarıcı Hormon
NPY	Nöropeptid Y
AgRP	Aguti ile İlişkili Peptid
CAR	Cocaine-Amphetamine-Regulated Transcript
JAK	Janus Kinaz

IRS	İnsülin Reseptörü Substratı
PI3K	Fosfoinozotid 3-Kinaz
SH2	Src Benzeri Homoloji 2
SHP-2	SH2 Domain İçeren Protein Tirozin Fosfataz
SOCS3	Sitokin Sinyallemesinin Baskılayıcısı 3
STAT	Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü
SF	Sinovyal Sıvı
OA	Osteoartrit
KKH	Koroner Kalp Hatalığı
KVH	Kardiyovasküler Hastalık
NAFLD	Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
HA	Hyaluronik Asit
OPN	Osteopontin
GlcNAc	N-Asetil Glikozamin
GlcA	Glukuronik Asit
ERM	Ezrin/Radixin/Moesin
ROCK	Rho İlişkili Protein Kinaz
PAK 1	P21-Aktive Kinaz 1
LDH	Laktat Dehidrogenaz
TPH2	Triptofan Hidroksilaz 2
ALCL	Anaplastik Büyük Hücreli Lenfoma
ATP	Adenozin Trifosfat
RTK	Reseptör Tirozin Kinaz
LTK	Lökosit Tirozin Kinaz
LDLa	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein a
ALKAL	Anaplastik Lenfoma Kinaz Activating Ligand
NSCLC	Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri
IMT	İnflamatuar Miyofibroblastik Tümör
TKI	Tirozin Kinaz İnhibitör

CD-44	Cluster of Differentiation
ELISA	Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analiz
AKŞ	Açlık Kan Şekeri
TG	Trigliserid
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
CRP	C-Reaktif Protein
BUN	Kan Üre Azotu
PTH	Parathormon
HRP	Horseradish Peroksidaz
OD	Optik Yoğunluk
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
EtBr	Etidyum Bromür
ROC	Receiver Operating Characteristic

1. GİRİŞ

Obezite, enerji alımı ile enerji harcaması arasındaki homeostatik dengenin bozulması sonucu gelişen, multifaktöriyel özellik gösteren kompleks bir hastalık olup, günümüzde hem gelişmiş hem de gelişmekte olan toplumlarda artan prevalansı nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), obeziteyi, vücutta sağlığı bozacak ölçüde anormal veya aşırı yağ birikimi olarak tanımlamaktadır (World Health Organization [WHO], 2023). Obezite, yalnızca vücut ağırlığında artış anlamına gelmemekte; aynı zamanda insülin direnci, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diyabet, bazı kanser türleri ve metabolik sendrom gibi çok sayıda kronik hastalığın gelişiminde önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Gregor ve ark., 2011).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, obezitenin yalnızca bir enerji metabolizması bozukluğu olmadığını, aynı zamanda düşük dereceli kronik inflamasyon, oksidatif stres ve hücresel sinyal iletiminde bozulmalarla karakterize karmaşık bir patofizyolojik süreç olduğunu ortaya koymuştur (Gregor ve ark., 2011). Bu bağlamda, klasik metabolik belirteçlerin yanı sıra, inflamasyon ve hücresel iletişimde rol alan bazı yeni biyobelirteçlerin de obezite ile ilişkisi araştırılmaya başlanmıştır. Bu biyobelirteçlerden biri olan leptin, başlıca adipositler tarafından sentezlenen ve hipotalamik düzeyde enerji dengesi ile iştah kontrolünü düzenleyen önemli bir hormondur. Leptin düzeyleri, vücut yağ kütlesiyle doğru orantılı olarak artmakta; ancak obez bireylerde yüksek leptin düzeylerine rağmen leptin duyarsızlığı (leptin direnci) gelişebilmektedir. Leptin'in fizyolojik etkileri, leptin reseptörü (LEPR) aracılığıyla gerçekleşmektedir ve LEPR geninde meydana gelen polimorfizmler, leptin sinyallemesini etkileyerek obeziteye yatkınlık üzerinde belirleyici rol oynayabilmektedir. Özellikle LEPR G223A (rs1137101) polimorfizminin, leptin düzeyleri, insülin direnci ve beden kitle indeksi (BKI) gibi parametrelerle ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Yiannakouris ve ark., 2001).

Diğer biyobelirteçlerden biri olan CD44, hücre yüzeyinde bulunan ve hücre-hücre ile hücre-matriks etkileşimlerinde görev alan bir adezyon molekülüdür. CD44, hyaluronan başta olmak üzere çeşitli ekstraselüler matris bileşenlerine bağlanarak hücre proliferasyonu, migrasyonu ve inflamatuvar süreçlerde görev alır (Ponta ve ark., 2003).

Obezitenin inflamatuvar doğası göz önünde bulundurulduğunda, CD44'ün bu süreçte önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Nitekim yapılan bazı hayvan ve insan çalışmaları, CD44 ekspresyonunun obez bireylerde arttığını ve adiposit doku iltihabında rol oynayabileceğini ortaya koymuştur (Wu ve ark., 2014). Ayrıca, CD44'ün makrofaj infiltrasyonu, insülin direnci ve glikoz metabolizmasındaki bozulmalarla da ilişkili olabileceği bildirilmektedir (Kodama ve ark., 2012).

Diğer yandan, hücrel büyüme, proliferasyon ve farklılaşma süreçlerinde görev aldığı bilinen Anaplastik Lenfoma Kinaz (ALK) da obezite ile potansiyel olarak ilişkili olabileceği düşünülen yeni biyobelirteçlerden biridir. ALK, temel olarak sinir dokusunda ve gelişimsel süreçlerde ekspresyon gösteren bir tirozin kinaz reseptörüdür ve genellikle çeşitli malignitelerle ilişkilendirilmiştir (Chiarle ve ark., 2008). Ancak son dönem çalışmalarda, ALK'nın metabolizma üzerinde de etkili olabileceğine dair veriler ortaya çıkmaya başlamıştır. Özellikle hayvan modellerinde yapılan bazı genetik çalışmalar, ALK geninin baskılanmasının kilo artışı önleyebileceğini ve enerji harcamasını artırabileceğini göstermiştir. Bu bulgular, ALK'nın enerji dengesi, yağ metabolizması ve obezite gelişiminde rol oynayabilecek potansiyel bir düzenleyici olduğunu düşündürmektedir (Orthofer ve ark., 2020).

Leptin, CD44 ve ALK biyobelirteçlerinin, obeziteyle ilişkili patolojik süreçlerdeki olası rolleri henüz tam olarak netlik kazanmamış olsa da mevcut bulgular bu moleküllerin obezite ile ilişkili inflamatuvar yanıtlar ve metabolik dengesizliklerle bağlantılı olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu nedenle leptin ve CD44 ile ALK gibi yeni aday biyobelirteçlerin, obezite tanısında, risk öngörüsünde veya tedavi hedeflerinin belirlenmesinde kullanılabilecek potansiyel araçlar olup olmadığının araştırılması bilimsel açıdan büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışma, leptin, CD44 ve ALK biyobelirteçlerinin bireylerdeki düzeylerini değerlendirmenin yanı sıra, LEPR G223A gen polimorfizminin bu belirteçlerle olan ilişkisini de inceleyerek, bu moleküllerin obezite patogeneziindeki rollerini bütüncül bir yaklaşımla ortaya koymayı ve bu sayede obezitenin tanısı veya prognostik süreçlerinde kullanılabilecek yeni hedeflerin belirlenmesine katkı sunmayı amaçlamaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite

2.1.1. Obezitenin Tanımı ve Değerlendirilmesi

Obezite bedendeki yağ kütlesinin yağsız kütleyle oranla aşırı artmasına bağlı vücut ağırlığının boya göre ideal ağırlığın üzerine çıkmasıyla sonuçlanan bireyleri sosyal, psikolojik ve fizyolojik yönlerden etkileyen çok faktörlü bir hastalıktır (Uzogara, 2017). Vücut yağ miktarının ortalama olarak yetişkin erkek bireylerde %15-20, yetişkin kadın bireylerde ise %25-30 arasında olması istenir. Erkeklerde %20, kadınlarda %30 üzerinde yağ birikimi obezite olarak kabul edilmektedir (Baysal ve ark., 1999).

Obezitenin tanısında çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan ucuz, pratik ve güvenilir bir yöntem olan antropometrik ölçümler en çok tercih edilenidir. Pratikte vücut ağırlığının boyun karesine bölünmesi ile elde edilen Beden Kitle İndeksi (BKI) sınıflaması en çok başvurulan kriterdir (BKI: kg/m^2). DSÖ sınıflandırmasına göre; BKI değeri $<18,5 \text{ kg/m}^2$ ise zayıf birey, $18,5-24,9 \text{ kg/m}^2$ ise normal kilolu birey, $25-29,9 \text{ kg/m}^2$ ise fazla kilolu birey ve $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ ise obezitesi olan birey olarak kabul edilmektedir. BKI değerine göre obezitenin sınıflandırması yapıldığında ise $30-34,9 \text{ kg/m}^2$ birinci derece obezite, $35-39,9 \text{ kg/m}^2$ ikinci derece obezite ve $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ üçüncü derece (morbide) obezite olarak kabul edilmektedir (Baysal ve ark., 1999). Obezitenin sınıflandırılmasında temel yöntem her ne kadar BKI olsa da tek başına bu yöntem vücut yağlarının lokasyonu hakkında sağlıklı bilgi vermeyebilir bu nedenle DSÖ de vücut yağlarının dağılımını belirlemede BKI nin, bel çevresi ve bel çevresinin kalça çevresine oranı ile beraber değerlendirilmesini önermektedir (Taşlı ve Sağır, 2021). Bel çevresine göre obezite sınıflamasında esas alınan ölçümler erkekte 94 cm, kadınlarda 80 cm üstü hafif şişman aralığına girerken erkekte 102 cm, kadınlarda 88 cm ve üzeri şişman-obez olarak değerlendirilmektedir (Baysal ve ark., 1999).

Yaşa bağı olarak bazal metabolik hızın da yavaşlamasıyla BKİ'de artış gözlenebilmektedir. Tablo 2.1 de belirli yaş aralıklarında olması gereken BKİ aralıkları verilmiştir (Baysal ve ark., 1999).

Tablo 2.1. Yaşa Göre Uygun BKİ Değerleri

Yaş (yıl)	BKİ (kg/m ²)
19-24	19-24
25-34	20-25
35-44	21-26
45-54	22-27
55-64	23-28
65+	24-29

2.1.2 Obezitenin Epidemiyolojisi

Obezite ülkelerin gelişmişlik düzeyleri fark etmeksizin toplumlarda gittikçe artan ve ciddi komplikasyonları olan bir halk sağlığı sorunudur (TEMD, 2019). DSÖ bu sorunun ciddiyetini kabul ederek 2022'deki 75. Dünya Sağlık Asamblesi'nde, Obeziteyi Durdurma Hızlandırma Planı'nı kabul etmiştir. Bu plan, meyve, sebze ve tam tahıl tüketiminin artırılması, yağ ve şeker alımının azaltılması ve düzenli fiziksel aktivite gibi önleyici tedbirleri savunmaktadır. Ayrıca, politika girişimlerinin önemini vurgulayarak, sağlıklı beslenme ve egzersizin günlük yaşama entegre edilmesini teşvik etmektedir (Duarte ve ark., 2024). Yapılan çalışmalar dünya genelindeki nüfusun üçte birinin fazla kilolu veya obez olduğunu göstermektedir. DSÖ'nün 2016 yılında küresel ölçekli sunduğu raporlara bakılınca 41 yılda obezite görülme sıklığında neredeyse 3 kat artış yaşandığı, toplam 1,9 milyar yetişkinin fazla kilolu ve 609 milyon bireyin obez olduğu tahmin edilmektedir; bu da dünya nüfusunun yaklaşık %39'unu temsil etmektedir (World Health Organization [WHO], 2021). Sağlıksız beslenme, sedanter yaşam tarzı, artan olanaklar ile kolaylaşan yaşam standartları, değişen ve gelişen teknoloji ile artan obezite insidansı özellikle sosyoekonomik düzeyi düşük ülkeler için büyük bir sıkıntı haline gelmekte olup bakıldığında bu durumun 20 yaşından itibaren artarak 50-65 yaşta pik yaptığı arkasından hafif bir düşme yaşandığı gözlenmiştir (Zhang ve ark., 2023). Yapılan

bir diğerk araştırmada 1995–2016 yılları arasında, erkeklerde ve kadınlarda obezite prevalansı en yüksek sırasıyla gelir düzeyi yüksek Batı ölkelerinde (%9–30) ve Orta Asya, Orta Doğu ve Kuzey Amerika'da (%12–35) oranlarında görölmüştür. Buna karşılık, Güney Afrika (%0,2–3) ve Asya Pasifik ölkeleri (%1–4) sırasıyla erkeklerde ve kadınlarda en düşük obezite prevalansına sahip bölgeler olmuştur (Zhang ve ark., 2023).

DSÖ 2016 yılında yayınladığı raporda Türkiye'nin, %29,5 prevalansıylav Avrupa'da obezitenin en sık göröldüğü ölked olduğunu bildirmiştir (TEMD, 2019). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)-Türkiye Sağlık Araştırması 2022 raporuna göre, Türkiye'de obezitesi olan bireylerin oranı 2019 yılında %21,1 ve 2022 yılında %20,2 olarak belirlenmiştir. 2008 ile 2022 yılları arasında, 15 yaş ve üzeri bireylerde cinsiyete göre obezite dağılımını araştırdıklarında kadınlarda normal kilolu bireylerin %48,2'den %40,6'ya düştüğü, fazla kilolu bireylerin %27,4'ten %30,9'a çıktığı ve obezitesi olan bireylerin %18,5'ten %23,6'ya çıktığı tespit edilmiştir.

Erkeklerde incelendiğinde ise normal kilolu bireylerin %48,1'den %40,6'ya düştüğü, fazla kilolu bireylerin %36,9'dan %40,4'e çıktığı ve obezitesi olan bireylerin %12,3'ten %16,8'e çıktığı tespit edilmiştir (Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK], 2010).

2.1.3 Obeziteye Neden Olan Faktörler

Obezitenin nedeni ve nasıl oluştuğu günümüzde de halen araştırma konusu iken temel mekanizmanın enerji alımının harcanana nazaran fazlalığı buna eşlik etmesi muhtemel çevresel faktörler, genetik metabolik veya fizyolojik yatkınlık, fiziksel aktivite azlığı olarak sıralanabilir (Baysal ve ark., 1999).

Vücut ağırlığının korunması ve sürdürölmesi, iştah regölasyonu, yağ hücrelerinin boyutu ve sayısı, yağların vücuttaki birikim yerleri ve bazal metabolik hıza etki eden hormonal ve sinirsel faktörler kalıtsal olup bu faktörlerin vücut ağırlığına olan etkisinin %33 civarında olduğu tahmin edilmektedir (Baysal ve ark., 1999). Obezite de önemli bir neden olan genetik, çok uzun yıllar boyunca araştırmalara konu olmuş artan teknolojik gelişmeler ve değişen yöntemlerle saptanması daha da kolay hale gelmiştir. Son yıllarda yapılan genom çalışmaları ve yeni bir yöntem olarak ortaya çıkan yeni nesil dizileme

(NGS) gibi gelişmeler obezitenin özellikle monogenik (tek gen kaynaklı), poligenik (çok gen kaynaklı) veya sendromik olup olmadığının keşfinin yapılmasında oldukça önemli gelişmelerdir.

Monogenik obezite isminden de anlaşılacağı üzere tek gen kaynaklı mutasyonları içermekte olup görülme sıklığı nadir fakat erken başlangıçlı bir obeziteye sebep olabilir. Genetiğin obezite üzerindeki etkinliğini aydınlatmaya yönelik çalışmalar tek gen kaynaklı mutasyonlar içerisinde özellikle leptin (LEP), leptin reseptörü (LEPR), proopiomelanokortin (POMC), prohormon dönüştürücü 1 (PCSK1), melanokortin 4 reseptörü (MC4R), single-minded homolog 1 (SIM1), beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) ve nörotrofik tirozin kinaz reseptör tip 2 geni (NTRK2) gibi genlere odaklanmıştır. Obezitede gen etkisinin en belirgin örneği fareler üzerinde yapılan LEP ve LEPR üzerine yapılmış çalışmalar olup bu genlerdeki mutasyonların obeziteye yol açtığı saptanmıştır. Aynı zamanda benzer sonuçlar insan çalışmalarında da elde edilmiştir. Poligenik obezite ise birden fazla gendeki mutasyonunun eşlik ettiği genelde daha karmaşık olgularda karşımıza çıkabilen bir çeşittir. Bu genlerin etkisine baktığımızda özellikle iştah regülasyonu, enerji alım ve harcaması gibi süreçleri yöneten hormonların veya hormon benzeri maddelerin metabolik süreçlerini yönettiğini gözlemleyebiliriz (Duarte ve ark., 2024). Monogenik ve poligenik obezite kapsamında olmayan sendromik obezite ise Prader-Willi sendromu (PWS), Down sendromu, Bardet-Biedl sendromu, Fragile X sendromu, Alström sendromu ve Cornelia de Lange sendromu gibi kromozomal anomalilerden kaynaklı ve özellikle çocuk yaşta ortaya çıkan veya konjenital olarak tanısı konabilen, kişileri sadece ağırlık kazanımı yönüyle değil nörolojik bozukluk, zekâ geriliği, endokrin bozukluklarıyla da etkileyebilen bir diğer genetik obezite çeşididir. Yapılan genom çalışmalarında ise insan genomunda obeziteye etki edebilecek ya da sebebiyet verebilecek 127 bölge ve 500'den fazla da gen tanımlanmıştır (Mahmoud ve ark., 2022).

Kalıtımsal faktörlerin dışında insanların beslenme alışkanlıkları da obezite gelişimini etkilemektedir. Beslenme alışkanlıkları içinde yer alan öğün sayısı ve öğün atlama durumu, ara öğün tüketme alışkanlığı, yemek pişirme yöntemleri, katı yağ kullanımı, besinleri çiğneme ve hızlı yeme faktörü, su tüketimi, alkol tüketimi, besinlerin porsiyon büyüklüğü gibi konulara önem verilmeli, obezitenin oluşumunda etkili

olabilecek faktörlerin önemi vurgulanmalı ve bu alanlarda daha özendirici bir yol izlenmelidir (World Health Organization [WHO], 2010).

Obezite gelişiminde bir diğer etmen ise cinsiyet faktörüdür. Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi'ne (NHANES) göre 2005-2014 yılları arasında obezite prevalansı kadınlarda %40 iken erkeklerde bu oran yüzde %35 olmuştur (Flegal ve ark., 2016). Kadınlarda yaş ile azalan östrojen hormonu, insülin direnci, diyabet ve buna paralel obezite gelişimi ile sonuçlanırken erkeklerde yaşla birlikte azalan testosteron seviyeleri kas kütlesinin azalmasına yağ birikiminin artmasına sebep olmaktadır (Muscogiuri ve ark., 2024).

Yaşlanma ile azalan metabolizma hızı da kilo alımı ve kas kaybına yol açmaktadır. Yapılan araştırmalar 30 yaşına kadar maksimum düzeyde seyreden kas yapımının bu yaştan sonra azalarak vücudun yağ depolamaya eğiliminin arttığını belirtmektedir (Wang ve ark., 2020).

Uyku durumu da bireylerin açlık tokluk sinyallerini etkileyebilir. Özellikle kısa süreli uyku, yorgunluğa bağlı fiziksel aktivitede azalmaya, iştah açan hormonları aktive ederek bireyleri hazzal yemeye yöneltebilir. Uyku süresinin kısalmasıyla geceleri salgılanan ve tokluk sağlayan leptin seviyeleri azalır, iştahı artıran ghrelin seviyelerinde artma görülür (Aksoy, 2022).

Günümüzde bireyler kolaylaşan yaşam şartları ile daha az enerji gerektiren eylemlere yönelmekte bu da harcanan enerjinin alınan enerjiden az olmasına bağlı olarak ağırlık kazanımına neden olmaktadır. Fiziksel aktivite düzeyinin azalması obeziteyi de beraberinde getirmektedir (Baysal ve ark., 1999).

Obezite gelişimine etkisi yadsınamayacak bir diğer önemli faktör de kişilerin sosyoekonomik düzeyidir. Yapılan araştırmalar düşük gelir düzeylerinde daha fazla obezite gözlemlendiğini göstermiştir. Bunun nedeni olarak da düşük maliyetli besinlerin düşük besin değerlerine rağmen yüksek enerji yoğunluğu, meyve sebze ve lif tüketiminin minimum düzeyde olması ve gelişim çağında çocuklara uygulanan yanlış beslenme davranışlarıdır (İpek, t.y.).

Mevcut literatür çalışmaları duygu durum bozukluklarının ve olumsuz duyguların obezite gelişiminde rol oynayabileceğini belirtmiştir. Stres ve duygusal durumlar bir grup insanı aşırı yeme davranışına iterken bazılarında iştah kapanmasına bağlı kilo kayıpları yaratmakta bu duruma duygusal yeme bozukluğu denilmektedir. Duygusal yeme durumlarında bireylerin kalorisi, karbonhidrat ve şeker içeriği yüksek gıdalara eğiliminin daha fazla olduğu belirtilmiştir (Dakanalis ve ark., 2023).

Ağırlık artışından ilaçlar da etkili olabilmekte, bu etki özellikle antipsikotikler, antidepresanlar, antiepileptik ilaçlar, antihipertansifler ve bazı antidiyabetik ilaçlarda görülmektedir (Pekkolay, 2018).

Obezite gelişiminde üzerinde durulan bir diğer faktör de hormonal mekanizmalardır. Besin alımının düzenlenmesi, enerji harcaması ve iştah regülasyonuna yönelik hormon ve nörotransmitter maddelerin üretimini hipotalamus gerçekleştirmektedir. Kilo yönetiminde en aktif hormonlar adipoz dokudan salgılanmakta olup etkileri lokal veya sistemik olarak değişen yağ dokusundaki enerji depolarının yeterlilikleri ile alakalı bilgi veren biyoaktif moleküllere adipokinler denilmektedir. Leptin, adiponektin, rezistin, Tümör Nekroz Faktör (TNF- α), İnterlökin 6 (IL-6), visfatin, apelin, renin anjiyotensin proteinleri, fasting induced adipoz faktör gibi bileşenler önemli adipokinler arasındadır. Adipokinlerden özellikle TNF- α çeşitli sinyal yollarında görev aldığı ve salınımının fazla olduğu durumlarda insülin salınımını inhibisyona uğratarak insülin direncine yol açabileceği belirtilmiştir. IL-6'nın yüksek seviyeleri ise visseral obezitede kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet ile ilişkilendirilmiştir. Yine yağ dokusundan salgılanan leptin ile benzer özelliklere sahip olan adiponektinin de düşük seviyeleri inflamasyon, insülin direnci, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve ateroskleroz ile ilişkilendirilmiş olup kilo kaybına paralel bu durumlarda iyileşme sağlandığı bildirilmiştir (Dhawan ve Sharma, 2020). Kısa süreli olarak yeme davranışını etkileyen ghrelin ise mide hücreleri tarafından üretilen 28 aminoasitlik bir peptid hormondur. Bu hormon başlangıçta büyüme hormonu salınımını arttıran bir uyaran olarak kabul edilmiş sonraları ise leptin ve insülininden daha kısa süreyle etkili olan güçlü bir iştah uyarıcı olarak kabul edilmiştir. Adipoz dokudan salgılanan leptinin en önemli işlevi ise besin alımını azaltıp enerji harcamasını arttırarak vücudun ağırlık denetimini sağlamaktır (Aksoy, 2022). Hipotalamusta meydana gelebilecek herhangi bir inflamasyonda insülin ve leptin bağıntılı metabolik bozukluklar meydana gelebilir. Bu durumda bozulmuş

regülasyona istinaden enerji harcamasındaki azalma ve besin alımındaki artış ile ağırlık kazanımı, glikoz homeostazında bozulmalar ve buna bağlı endokrin bozukluklar görülebilir (Chung, 2012).

2.2. Leptin

Leptin adını Yunanca ‘leptos’ (ince) kelimesinden alan obezite (ob) geninden sentezlenen 167 aminoasit içeren protein yapılı bir hormondur. 1994 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından keşfedilen leptin hormonunun vücuttaki en önemli işlevi enerji dengesini korumak olup bunun dışında gıda alımını, vücut kütlesini, üreme fonksiyonlarını düzenler ve fetal büyüme, proinflatuar yanıtlar, anjiyogenez ve lipoliz gibi süreçlerde hayati bir rol oynar. Çoğunlukla adipoz dokudan çok az miktarda da kahverengi yağ dokusundan sentezlenen leptinin, enerji depoları azaldığında (örneğin açlık durumunda) seviyeleri düşer ve beyine enerji tasarrufu yapması ve iştah arttırması için sinyaller gönderir. Tam tersi durumda ise leptin seviyeleri yükselir, bu da tokluk hissini arttırarak gıda alımını azaltıcı yönde etki yapar. Bu mekanizma vücudun enerji dengesinin sağlanması ve ağırlığın korunmasında kritik bir rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalar leptinin açlık ve enerji kısıtlaması gibi durumlarda dolaşımdaki seviyesinin düştüğünü tam tersi durumlarda ise arttığını göstermiştir (Obradovic ve ark., 2021).

2.2.1. Leptin Reseptörleri

Bilinen leptin reseptörlerinin hemen hemen hepsi aynı genin varyantları olup leptin, yapısal olarak sitokin reseptör ailesi sınıf I'e benzerlik gösteren transmembran reseptörleri olan LEP-R'ler aracılığıyla etki gösterir. Uzun reseptörler (Ob-Rb), kısa reseptörler (Ob-Ra) ve sekretuar reseptörler (Ob-Re) olmak üzere üç gruba ayrılır. Ob-Rb leptin reseptörleri sinyal transdüksiyonu kapasitesine sahiptirler ve en çok hipotalamusta bulunmalarına rağmen vücudun diğer dokularında da (akciğer, böbrek, karaciğer, iskelet kası, kalp, testis, hematopoetik hücreler, yağ dokusu) az miktarlarda saptanmışlardır. Ob-Ra reseptörler ise intrasellüler sinyal için gerekli olan segmentlerin tümünü taşımadıklarından sinyal iletiminde rolleri çok az veya yoktur. Ob-Ra reseptörlerinin bulunduğu başlıca dokular ise böbrek, akciğer, plevus koroideus ve beyin kapillerleridir. Beyin kapillerleri ve plevus koroideus'da Ob-Ra reseptörlerinin bol

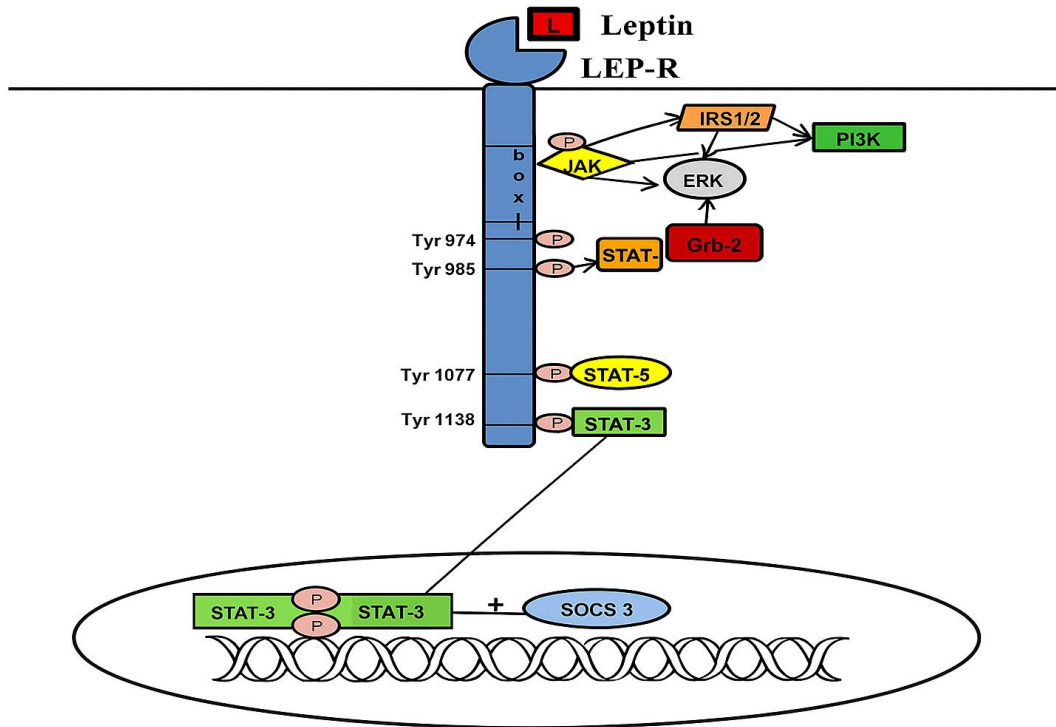
olarak bulunması, bu reseptörlerin leptinin merkezi sinir sistemine transportunda daha önemli görevleri olduğunu düşündürmektedir. Ob-Re izoformu ise hücre dışına salınarak leptin bağlanmasında dolaylı bir etki göstermektedir (Tartaglia, 1997). Bu reseptörlerin yapısı ve işlevi, leptin ile ilişkili hastalıkların (obezite, diyabet vb.) patofizyolojisini anlamak için kritik öneme sahiptir (Obradovic ve ark., 2021).

2.2.2. Leptinin Etki Mekanizması

Beyindeki tokluk merkezi olarak adlandırılan Ventromedial Nükleus besin alımını baskılayarak tokluk hissinin oluşmasını sağlar. Bu merkezde gerçekleşen herhangi bir harabiyet aşırı yeme ve obezite ile sonuçlanabilir. Açlık merkezi olarak adlandırılan Lateral Hipotalamik Nükleus ise açlık sinyalleri oluşturarak besin alımını teşvik eder. Bu merkezin tahribatı besin reddi ve anoreksiyaya sebep olabilir. Leptinin bu iki merkez üzerindeki etkisi ise ventromedial nükleusu uyararak tokluk sinyalleri oluşturmak, lateral hipotalamik nükleusu ise baskılayarak açlık sinyallerini azaltıp enerji harcamasını arttırmaktır (Obradovic ve ark., 2021).

Leptin normalde kan-beyin bariyerini geçerek taşınır fakat kan-beyin bariyeri tarafından korunmayan hipotalamus bölgelerinde uzun form leptin reseptörü olan Ob-Rb'ye bağlanarak aktivitesini gerçekleştirir. Leptinin hipotalamusun arkuat çekirdeğindeki etkisine bakıldığında öncelikle pro-opiomelanokortin (POMC) içeren nöronları aktive eder ve bu nöronlar, α -melanosit uyarıcı hormon (α -MSH) gibi iştah baskılayıcı moleküller üretir. Aynı zamanda, iştah artırıcı nöropeptitler olan nöropeptit Y (NPY) ve aguti ile ilişkili peptit (AgRP) içeren nöronları baskılar. Dolayısıyla enerji depolarının düşük olduğu açlık durumlarında POMC nöronlarının aktivitesinin azalır ve NPY ile AgRP nöronlarının aktivitesi artarak iştahın ve gıda alımının artmasına neden olur (Perakakis ve ark., 2021). Arkuat çekirdekte bulunan POMC den salgılanan bir transmitter olan Cocaine-Amphetamine-Regulated Transcript (CART) ise NPY ile yarışa girerek gıda alımını engellemeye yönelik etki gösterir. Yapılan çalışmalarda CART ekspresyonunun leptin defekti veya eksikliği olan farelerde daha düşük olduğu bulunmuştur (Daniel ve arkadaşları, 2002). Leptin hormonu, LEP-R aracılığıyla çeşitli sinyal iletim yollarını aktive edip ve vücutta birçok hücrel işlevi düzenlemektedir. LEP-R, JAK-STAT yolu başta olmak üzere PI3K ve MAPK/ERK gibi sinyal kaskadlarını

harekete geçirir (Şekil 2.1). Bu sinyal kaskadlarının sinyalleri ile leptinin iştahı baskılama, kilo kaybını uyarma ve termojenezi artırma gibi işlevleri gerçekleştirilmektedir. Bu sinyal yollarına bakıldığında leptinin metabolik ve kardiyovasküler etkilerinin de farklı yollar ile düzenlendiği görülmektedir. Örneğin, JAK2/STAT3 yolu öncelikle gen ekspresyonu değişikliklerini düzenlerken, PI3K yolu genellikle sitoplazmik proteinlerin fosforilasyonu yoluyla daha hızlı sinyal iletir. PI3K yolu, leptinin akut etkilerinde (örneğin, gıda alımını düzenleme ve arteriyel hipertansiyon) önemli bir rol oynamaktadır. Leptinin diğer etkileri ise, akut faz reaktanlarına benzer; IL-6, IL-12 ve TNF- α gibi çeşitli inflamatuvar sitokinlerin salınımını artırır ve bunun dışında makrofajlarda IL-1Ra, CD25, CD44, CD69 ve CD71 ekspresyonunu uyarak anormal sitokin üretimi ile inflamasyona sebep olmaktadır (Obradovic ve ark., 2021).



Şekil 2.1. Leptin Sinyallemesi.

(Obradovic ve ark., 2021)

2.2.3. Leptin Salınımını Etkileyen Faktörler

Leptin salınımını etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Vücut yağı ve gıda alımı sekresyonu direkt olarak etkilemektedir. Bunun dışında insüline baktığımızda uzun süreli hiperinsülinemi leptin konsantrasyonunu arttırırken kısa süreli olanı bu etkiyi göstermez. 24 saatlik yüksek yağlı diyet uygulamaları leptin seviyelerini azaltarak kilo alımına ve obeziteye yol açabilir. Katekolaminler insülinin aksine β -2 ve β -3 adrenerjik reseptörlere bağlanarak leptin salınımını inhibe eder. Kortikosteroidler ve TNF- α leptin sentezini uyarırken, tiroid hormonları leptin sentezini azaltır (Obradovic ve ark., 2021).

2.2.4. Leptin ve Hastalıklarla İlişkisi

Vücutta bir sinyal molekülü olarak işlev gören leptinin eksikliği ya da vücutta belli nedenlerden dolayı kullanılamaması birçok komplikasyonu da beraberinde getirmektedir. Leptinin özellikle insülin ile ilişkisine odaklanılmasının sebebi plazmada artmış insülin konsantrasyonuna paralel leptin seviyelerinin de artmasıdır. İnsülin tedavisi gören bazı diyabetik hastalarda leptin düzeylerinin yüksek seyretmesinin insülinin leptin sekresyonunu uyarısına mı bağlı olduğu yoksa insülin direncinin hem insülin hem de leptin düzeylerini mi arttırdığı konusu hala tartışmalıdır (Keleş ve ark., 2018).

Leptinin diğer hastalıklarla ilişkisini incelediğimizde çeşitli klinik çalışmalar serum/plazma ve/veya sinovyal sıvı (SF) ile leptin seviyelerinin osteoartrit (OA) ile ilişkisini şu şekilde göstermektedir; OA hastalarında leptin ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla her iki cinsiyette de arttığı, ancak kadın hastalarda bu artışın erkeklere göre daha belirgin olduğu bulunmuştur (Min ve ark., 2021).

Son yıllarda yapılan çalışmalar leptinin doğal bağışıklık ve edinilmiş bağışıklık üzerinde de önemli rol oynadığını ortaya koymuş, leptin seviyelerinin belirgin şekilde yükseldiği durumlarda, bireylerin tip 2 diyabet, dejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve otoimmün hastalıklara daha yatkın hale gelirken leptin seviyelerindeki düşüş (örneğin yetersiz beslenen bireylerde) enfeksiyon riskine yol açabildiği görülmüştür (Şekil 2.2). Bunun yanı sıra leptin, T hücrelerinin aktivasyonunu,

çoğalmasını ve sitokin üretimini teşvik etmektedir. Leptin reseptörü eksik olan obez farelerde timus atrofisi ve T hücre lenf azalması görülmekte; T hücrelerinin JAK-STAT sinyal yolunu kullanarak sitokin üretmesini sağlamaktadır (Al-Hussaniy ve ark., 2021). Leptinin kilo alma ve zayıflama fazlarındaki artma ve azalmalarından kaynaklı yağ dokusunun vasküleritesindeki fizyolojik artma ve azalmalar leptinin anjiyogenezde de bir düzenleyici olarak işlev gördüğünü düşündürmektedir (Crandall ve ark., 1997). Leptin seviyeleri ile arteriyel hipertansiyon ve koroner kalp hastalığı (KKH), inme ve karotis arter hastalığı gibi kardiyovasküler hastalıklar (KVH) arasındaki ilişkileri inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır. KKH hastalarında kontrol grubuna kıyasla daha yüksek leptin seviyeleri bildirilmiştir (Perakakis ve ark., 2021). Ayrıca, nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) prevalansının hızla artması nedeniyle, leptinin bu hastalığın noninvaziv tanısı ve evrelendirilmesi için yararlı bir biyobelirteç olup olmadığı da araştırılmıştır. İnsanlarda yapılan çalışmada, NAFLD hastalarında leptin seviyeleri kontrol grubuna kıyasla daha yüksektir ve hastalığın şiddeti arttıkça kademeli olarak bu seviyelerin de arttığı gösterilmektedir (Perakakis ve ark., 2021).



Şekil 2.2. Leptinin Doğal Bağışıklık ve Edinilmiş Bağışıklık Üzerine Etkisi

(Al-Hussaniy ve ark., 2021)

2.2.5. Leptin ve Obezite

Artmış yağ dokusunun dolaşımdaki leptin seviyelerini doğrudan yükselttiği bu nedenle obezitenin en yaygın formlarının hiperleptinemi (kanda aşırı leptin bulunması) ve leptin direnci ile karakterize olduğu gösterilmiştir (Genchi ve ark., 2021). Vücutta leptine bağlı obezite nedenleri; kan beyin bariyerindeki bozulmalar, leptin reseptörlerinde meydana gelen bozulmalar, sinyal yolu engellemeleri, hipotalamik inflamasyon, oksidatif stres ve endoplazmik retikulum kaynaklı stresler olarak sıralanabilir (Genchi ve ark., 2021). Obez bireylerin leptin seviyelerinin zayıf bireylere oranla daha yüksek olmasının sebebi genellikle leptinin obezlerde kan beyin bariyerini aşamaması veya leptin reseptörlerine karşı gelişen bir dirençten kaynaklanmaktadır. Obezitenin yüksek leptin seviyesi ile seyretmesini bu olumsuzlukların getirdiği enerji harcamasında dengesizlik ve iştah regülasyonundaki bozukluklar açıklamaktadır (Keleş ve ark., 2018). Diğer bir önemli faktör olarak gen polimorfizmleri de obezitenin seyrinde önemli rol oynamaktadır. Obezitenin en yaygın olarak görülen tek genle ilişkili formu melanokortin-4 reseptörü (MC4R) mutasyonlarından kaynaklanmaktadır. MC4R, melanokortin-leptin yolağında kritik rol oynayan G proteinine bağlı bir reseptördür. MC4R gen mutasyonlarının en yaygın form olması dışında leptin ve leptin reseptörlerine ait genetik çalışmalar da 1990'lardan beri sürmektedir.

En yaygın çalışılan polimorfizm, LEP rs7799039 olup bazı çalışmalar, LEP rs7799039'un G alelinin daha yüksek antropometrik ölçümler ve obezite riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Buna karşılık, diğer çalışmalar A alelinin daha yüksek antropometrik parametrelerle bağlantılı olduğunu bulmuştur. LEPR geninin rs1137101 polimorfizmi, en yaygın polimorfizmlerden biridir ve LEPR sinyal iletim kapasitesinin bozulması nedeniyle artan vücut ağırlığı ve yüksek leptin seviyesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ancak, LEPR tek nükleotid polimorfizminin fazla kiloluluk ve leptin seviyesi ile ilişkisini yalnızca bazı çalışmalar kanıtlamıştır (Raskiliene ve ark., 2021).

Rekombinant leptin uygulamasının fare ve insanlarda iştahın azalmasına bağlı gıda alımının azalması sonucu leptinin insülin gibi kullanılabileceği düşünülmüştür (Novelli ve ark., 2023).

2.3. CD-44

Tümör progresyonu ve metastaz mekanizmalarında önemli rol üstlenen bir hücre adezyon molekülü olan CD44, hücre çoğalması, adezyon (yapışma) ve göçü, hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi, inflamasyon ve anjiyogenez gibi çeşitli hücresel olaylarda rol oynayan, sitoplazmik, ekstraselüler ve transmembran olmak üzere üç ana bölgeden oluşan hücre zarında yer alan bir glikoproteindir. CD-44 bağlanmalarını ekstraselüler alanda bulunan ve bir polisakkarit olan hyaluronik asit (HA) ve bir fosfoprotein olan osteopontin (OPN) ile sağlar (Weng ve ark., 2022). İnsanlarda 19 ekzondan oluşan CD-44 geni 11p13 kromozom lokusunda yer almaktadır. Farelerde ise ekstra V1 adı verilen bir ekzon daha bulunarak toplamda 20 ekzondan oluşmaktadır (Wu ve ark., 2025).

CD-44'ün ekzonlarının işlevlerine bakacak olursak; ekzon 1-5; hücre dışı alanın sabit (değişmeyen) bölgesini, ekzon 6-15; hücre dışı alanın değişken kısımlarını kodlar ve alternatif splicing ile farklı CD44 varyantlarının oluşumunu sağlar.

Ekzon 16-17; hücre dışı alanın proksimal (yakın) bölgesini kodlar, ekzon 18; hidrofobik bir bölgeyi ve CD44'ün sitoplazmik kuyruğundaki ilk 3 amino asidi kodlayan sabit bir ekzondur.

Ekzon 19; adenin ve timin bakımından zengin bir bölgedir ve translasyon yapılmayan (kodlamayan) bir bölge içerir. Bu ekzonun, 3 amino asit uzunluğunda kısa bir sitoplazmik kuyruk oluşturduğu düşünülmektedir.

Ekzon 20; CD44 proteininin uzun sitoplazmik kuyruğunun oluşumuna katkıda bulunur (41). Bu yapısal çeşitlilikler CD-44'ün hücrelerde farklı işlevler üstlenmesini sağlar. Özellikle alternatif splicing mekanizması tümoral gelişimde rol oynayan farklı CD-44 izoformlarının ortaya çıkmasını sağlar (Basakran, 2015).

20'den fazla izoformu olduğu bilinen CD-44'ün en yaygın olan 12 izoformu bulunmaktadır. Bu izoformlar varyantlar olarak adlandırılıp 'v' ile gösterilir. Bu

varyantlar normal hücrelerden izole edilebildiği gibi patolojik hücrelerde de gözlenebilmektedir.

CD-44H standart form olarak adlandırılmakta ve hematopoietik bir izoformdur. CD-44H ve CD-44s en yaygın izoformlardan olup hemen hemen tüm kan hücrelerinden eksprese edilebilmektedir. Bununla birlikte bazı CD-44 varyantlarının metastatik hücrelerde ve kök hücrelerinde oldukça yüksek düzeyde eksprese edildiği bildirilmiş, özellikle CD-44v6'nın meme ve kolorektal kanser prognozunda hastalıkların seyrini kötüleştirdiği belirtilmiştir (Basakran, 2015). Tablo 2.2 de çeşitli varyantlar ile biyolojik fonksiyonları gösterilmiştir (Williams ve ark., 2013).

Tablo 2.2. CD-44 Varyantları ve İlgili Biyolojik İşlevleri

CD-44 VARYANT	BİYOLOJİK FONKSİYONU
CD-44v1	Kodonun erken sonlandırılması sonucu kesilmiş bir protein üretir.
CD-44v2	Kök hücrelerde işlevi henüz tanımlanmamıştır, CD44v2-10 aşırı ekspresyonu SKHep1 hücrelerinin metastatik tümörleri ile ilişkilendirilmiştir.
CD-44v3, 8-10	Adenomların ve kolorektal karsinomların %90'ından fazlasında bulunur.
CD-44v4	E-selektin bağlanması yoluyla meme kanseri hücrelerinin endotelial monolayerlere yapışmasına aracılık eder
CD-44v5	SRm160 ve Sam64 (splicing co-activator) RNA splicing sırasında CD44v5 ifadesini düzenler. v5 ifadesinin azaltılması in vitro HeLa hücrelerinde invazivliği ve tümör geniteyi bozduğu bulunmuştur.
CD-44v6	Kolon kanserinde CD44, artmış küre oluşumu ve beta-katenin fosforilasyonu ile yüksek oranda ilişkilidir.
CD-44v7	Kemik iliği stromal hücrelerinde CD44v7+/+ ekspresyonu, hematopoietik hücre öncüllerinin kemik iliğine yerleşimini destekler. Nitekim, CD44v7'nin spesifik bir antikora tedavi edilmesi,

	mononükleer hücrelerin üretimini ve bunların periferik kan dolaşımına proliferasyonunu artırır.
CD-44v8-10	CD44v8-10 eksprese eden hücrelerin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu p38MAPK hücre sinyal yolunun aktivasyonunu baskıladığı tespit edilmiştir. Ayrıca, bu hücreler antioksidan tedavisine dirençli olup glutatyon sentezini daha verimli bir şekilde artırır.
CD-44v9	Androjen reseptör gen sentezi için gereklidir. CD-44v9 hepatosit büyüme faktörü ile etkileşime girerek hepatosit büyüme faktörü reseptörü ve insülin benzeri büyüme faktörünün fosforilasyonunu aktive eder.
CD-44v10	CD44v10 kemik İliği stromal hücrelerinde yaygın eksprese olur. CD44v10, progenitör hücrelerin olgunlaşmasını ve β hücre farklılaşmasını teşvik eder. Anti-CD44v10 antikor tedavisi progenitör hücre mobilizasyonunu artırabilir

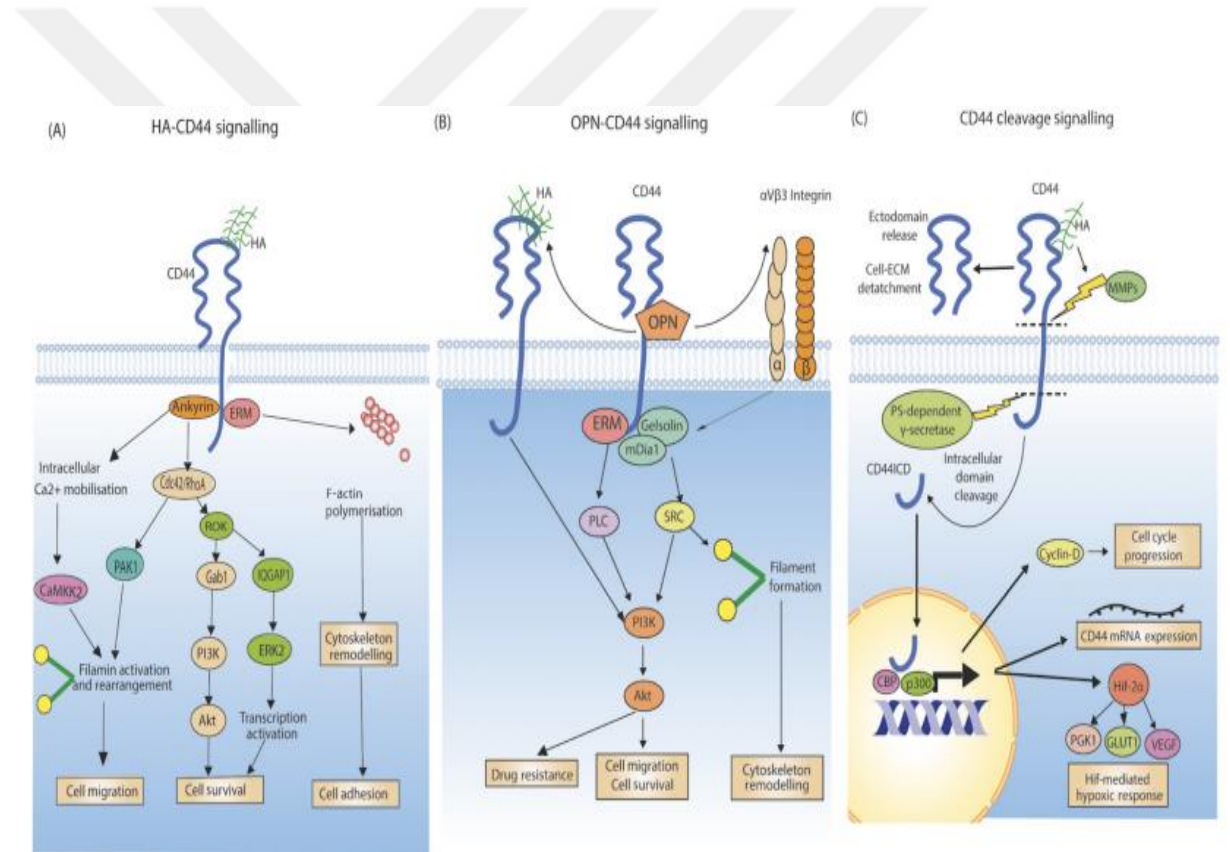
2.3.1. CD-44 Ligand Bağlanması

Hyaluronik asit, sülfatlanmamış bir glikozaminoglikan olup, N-asetil-glukozamin (GlcNAc) ve glukuronik asit (GlcA) birimlerinin tekrarlayan dizilerinden oluşmaktadır. CD-44 ün ana ligandı olan hyaluronik asit aynı zamanda hücre dışı matrisin de temel bileşenlerinden biridir. Suyu bağlanarak suyu tutma ve viskoz jel oluşturma özelliği olan hyaluronik asit doku stabilizasyonu ve biyomekanik bütünlük sağlayarak hücre dışı matrisin yeniden şekillenmesinde ve dayanıklılığında önemli rol oynar. Yapılan araştırmalar hyaluronik asidin anormal ekspresyonunun çeşitli kanserler ve metabolik bozukluklara neden olabileceğini göstermektedir. Hyaluronik asidin CD-44 ile sinyal yolları da şekil 2.3'te gösterildiği üzere 3 farklı şekilde gerçekleşebilmektedir. Hücre iskeleti proteinlerinden olan ankirin ile etkileşimi ile hücre zarında lipid raft benzeri caveolae oluşumunu tetikler. Kolesterol ve sfingolipid gibi bileşenler içeren bu molekül ise hücre hayatta kalması, bölünmesi, göçü ve tümör invazyonunu düzenleyen sinyal yollarını aktive eder (Weng ve ark., 2022). Diğer bir etkileşimi ise ezrin/radixin/moesin

(ERM) proteinleri ile olan hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi, hücre zarı şekillenmesi ve madde taşınımının sağlandığı yolaktır (Weng ve ark., 2022).

Sinir sistemi üzerine olan HA-CD44 etkileşimi ise temelde beyin yaralanmaları ve tümörlerinde söz konusu dokuya astrosit adı verilen hücrelerin göçünü sağlayan bu doğrultuda onarımı yahut tümör yayılımını arttırabilen düzenlemedir (Weng ve ark., 2022).

Osteopontin ise T hücrelerinden salgılanan, CD-44 ile etkileşiminde hücre göçü, ilaç direnci, aktin reorganizasyonu ve tümör agresifliği gibi kritik süreçleri modüle eden, inflamasyon, immün yanıt ve metabolik regülasyonda rol oynayan bir matris proteinlerinden bir fosfoproteindir (Weng ve ark., 2022).



Şekil 2.3. CD-44 Ligand Sinyal Yolağı. (A) Hyaluronan (HA)-CD44 Sinyalleşmesi. (B) OPN-CD44 Sinyalleşmesi. (C) CD-44 Bölünme Sinyali (Weng ve ark., 2022).

Osteopontin, CD-44 ile etkileşiminde PI3K sinyal yolağını aktifleyerek aktin filamentlerin ve osteoklastların (kemik yıkımından sorumlu hücreler) oluşumunu artırır. Bunun sonucu kemik yıkımı süreci hızlanır, kırık iyileşmesi durumlarında ise kemiğin yeniden şekillenmesine katkıda bulunur. Fakat aşırı aktivasyon osteoporoz gibi kemik erimesi hastalıklarına ve kemik iliğinde yer alan olası tümöral hücrelerin yayılımına neden olur (Weng ve ark., 2022).

2.3.2. Metabolik Düzenleme ve CD-44 Sinyalizasyonu

CD-44'ün metabolik yollarda da oldukça aktif bir glikoprotein olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir. Rho ilişkili protein kinazların (ROCK) ile perifer dokularda glikojen sentezi ve glikoz taşınımını regüle ettiği gösterilmiştir. İlginçtir ki ROCK'ın bir türevi olan ROCK1 geninin baskılanması obeziteye bağlı insülin direncini azaltmıştır. CD-44'ün pankreas üzerine etkilerine bakıldığında HA-CD44-Ankyrin sinyal yolunun bir başka bileşeni olan P21-aktive kinaz 1'in (PAK1), hem mitokondriyal fonksiyonun yerine getirilmesi hem de pankreasta yer alan β hücrelerin stabilizasyonu için önemlidir (Weng ve ark., 2022).

ERM proteinleri ile etkileşiminde CD-44 hücre iskeletinin yeniden yapılanmasının yanı sıra glikoz ile uyarılmış insülin granülü taşınımı ve salgılanmasında rol oynamaktadır. CD-44'ün adipozitedeki düzenlemesinde ise 3T3-L1 preadiposit hücreleriyle yapılan çalışmalarda, HA düzeylerinde değişiklikler olmuş, HA takviyesi adipogenez sürecini desteklerken, HA seviyesinin azaltılması bu süreci baskılamıştır (Weng ve ark., 2022).

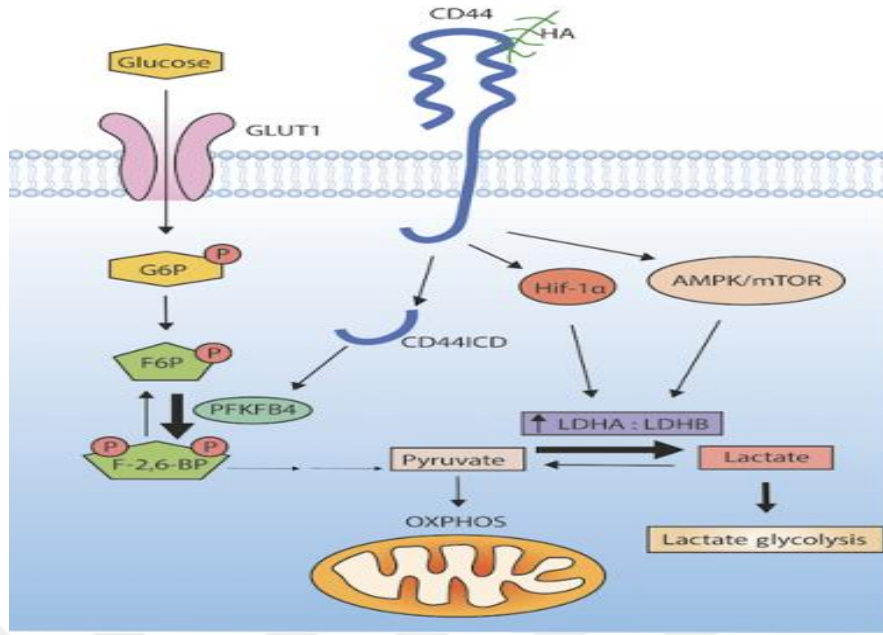
CD-44'ün ana ligandı olan HA'nın bir diğer etkileşimi ise kök hücreleri üzerinedir. Kök hücrelerinin hedef dokulara yerleşimi CD-44 ile sağlanır. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü aktivitesi ile kök hücreleri daha fazla CD-44 üretimini teşvik eder. Bunun da doku gelişimi ve iyileşmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. CD-44'ün kontrolsüz artmasının da malignitenin seyrini aynı şekilde hızlandıracağı düşünülmektedir (Basakran, 2015).

2.3.3. CD-44 ve Hastalıklarla İlişkisi

CD-44'ün özellikle glikoz metabolizmasında etkinliğini göz önünde bulundurulduğunda CD-44/HA/Ankyrin sinyal yolağının önemli bir bileşeni olan P21 aktive kinaz 1 (PAK1), özellikle mitokondriyal fonksiyonun sürdürülmesi ve β hücrelerinin işlevselliğinin sağlanması açısından çok önemlidir. Bu yolla gerçekleşen bir bozukluk veya olası PAK1 baskılanması β hücre ölümüne buna bağlı insülin üretiminin azalmasına yol açarak glikoz intoleransı ve diyabet gelişimine yol açar (Weng ve ark., 2022). Araştırmalar hem tip 1 diyabet hem de tip 2 diyabette pankreasta CD-44 ve HA etkileşiminin önemli ölçüde rol oynadığını göstermektedir. Obez olmayan diyabetik farelerin pankreas adacıklarında CD-44 ekspresyonu ve HA birikimi arttığı, CD-44 ekspresyonunun artması β hücrelerini otoimmün saldırı ve hücre ölümüne daha duyarlı hale getirirken anti CD-44 monoklonal antikor uygulaması ile hyaluronidaz uygulaması ile süreçlerin iyileştiği bildirilmiştir (Weiss ve ark., 2000). Ayrıca yapılan bir çalışmada ise fare β hücrelerinde CD-44v baskılanmasının insülin biyosentezini ve salınımını arttırdığı gözlenmiştir (Kobayashi ve ark., 2018).

Birçok çalışma, CD-44'ün kök hücreleri farklılaşması ve çoğalması üzerine odaklanmış bunun kanser hücrelerindeki etkinliğine yönelik araştırmalar yapmış fakat net bir sonuca ulaşamamıştır. Üzerinde en çok durulan konu CD-44'ün HA'yı sentezlemesi ile tümörle ilişkili makrofajların kanser kök hücrelerine çekilmesi bunun sonucunda ise bu makrofajların tümör hücrelerini sürekli çoğalma fazında tutan trombosit kaynaklı büyüme faktörünü üretmesidir. Bu etkileşim ile kök hücre diğer çoklu büyüme faktörleri ile kontrolsüz aktivite göstermekte bu da kanser gelişimini hızlandırmaktadır (Basakran, 2015).

Kanser gelişimini hızlandırmasındaki diğer bir görüş ise normal hücreler enerji eldesini mitokondriyal oksidatif fosforilasyon ile sağlarken kanser hücrelerinin enerji üretimi için oksijenden bağımsız anaerobik glikolizi tercih etmesi ve gerçekleşen laktat glikolizi ile mitokondriyal oksidatif fosforilasyon arasındaki geçişte CD-44'ün kilit rol oynamasıdır (Weng ve ark., 2022) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. CD44, Kanser Hücrelerinde Glikoz Metabolizması

(Weng ve ark., 2022)

Tüm bunların yanı sıra CD-44-MMP7 kompleksi heparin bağlayıcı EGF'nin aktive edilmesinden sorumludur ki heparin bağlayıcı EGF'nin özellikle tümörlerin metastik ve invaziv davranışlarına katkıda bulunduğu göz önüne alınırsa bu da vücutta tümöral gelişimi ve inflamasyonu tetikleyeceği anlamına gelmektedir (Weng ve ark., 2022). Laktat dehidrogenaz (LDH), pirüvatın laktata çift yönlü dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir ve bu dönüşüm, LDH'nin iki izoenzimi olan LDHA ve LDHB'nin oranına bağlıdır. Yüksek bir LDHA/LDHB oranı laktat glikolizini teşvik ederken, düşük bir oran mitokondriyal oksidatif fosforilasyona geçişi destekler. Yapılan çalışmalarda CD-44'ün yokluğu LDHA/LDHB oranını azaltarak mitokondriyal enerji üretimini teşvik ederken aşırı ekspresyonu bu oranı arttırarak meme kanseri hücrelerinde laktat glikolizini desteklemiştir. Yine CD-44 ekspresyonunun baskılandığı meme ve kolorektal kanser hücrelerinde oksijen tüketim oranı artmış bu da mitokondriyal enerji üretimini teşvik etmiştir. CD44'ün hücre içi bölgesi (CD44ICD)'nin, kanser hücrelerinde glikolizi kontrol ettiği düşünülmektedir (Weng ve ark., 2022). CD-44'ün karaciğer üzerine etkilerine bakıldığı çalışmalarda ise obez farelerin karaciğerinde artmış olarak bulunan CD-44'ün gen ifadesinin baskılanması yüksek yağlı diyetle rağmen karaciğer yağlanması, inflamasyon ve fibrozis azalmıştır.

Yine fareler üzerine yapılan bir çalışmada anti CD-44 tedavisi açlık kan şekeri seviyelerini, kilo alımını, karaciğer yağlanmasını ve insülin direncini metformin gibi insülin duyarlılığını arttıran ilaç tedavilerine kıyasla daha fazla iyileştirmiştir (Weng ve ark., 2022).

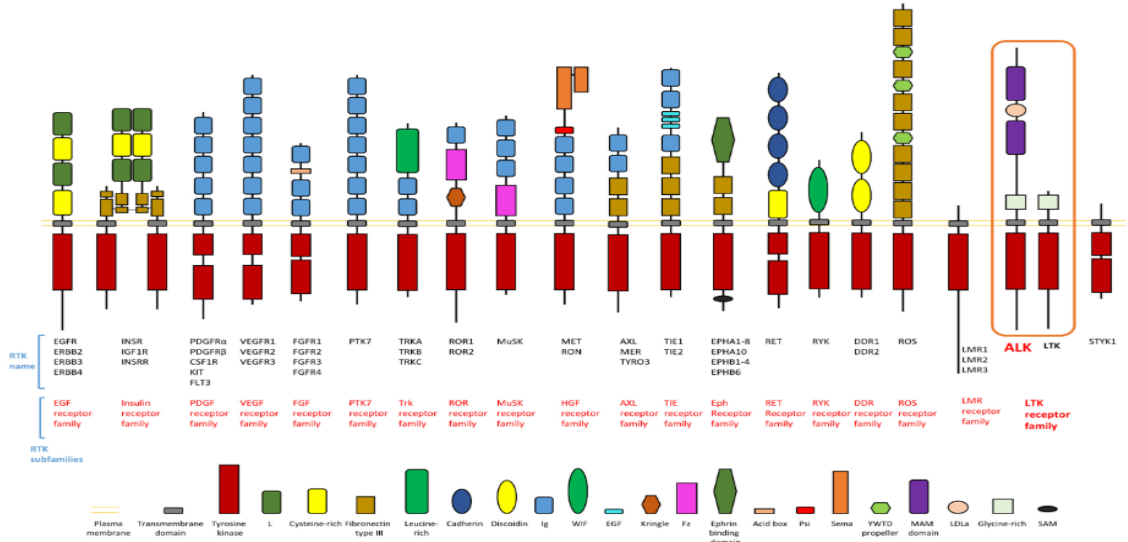
2.3.4. CD-44 ve Obezite

CD-44'ün glikoz metabolizması ve adipoz dokudaki etkinliklerine bakıldığında obezitenin hızlanmasına da katkı sağladığı açıkça görülmektedir. Farelerde yapılan çalışmalarda CD-44'ün hem genetik hem de ilaç tedavileriyle inhibisyonunun, yağ dokusunda bulunan hücre infiltrasyonunu, makrofaj belirteçlerinin ekspresyonunu ve proinflamatuvar sitokinleri azalttığı buna paralel olarak da obeziteye ve insülin direncine karşı koruyucu bir etkinlik gösterdiği saptanmıştır (Kodama ve ark., 2012). Yağ dokusundaki etkinliğinin yine ligandları yoluyla olduğu öne sürülmektedir. Özellikle OPN farelerde obezite ile gelişen insülin direncinde rol oynamakta OPN geninin yokluğu ile azalmış obezite ve artmış enerji harcaması gerçekleşmektedir (Liu ve ark., 2015). OPN ve CD-44 mRNA seviyeleri arasında doğrusal bir ilişki bulunmuş, CD44'ün de eksikliği obez farelerde karaciğerdeki OPN ifadesini azaltmıştır. Bir diğer çalışmada ise kilo kaybı ile CD-44 ve OPN ekspresyonunun belirgin bir şekilde azaldığı görülmüştür (Liu ve ark., 2015). Obeziteye yatkın farelerde CD-44 eksikliğinin kilo alımını azaltıp vücut yağ yüzdesini düşürdüğü ve cinsiyet olarak bakıldığında ise erkeklerde daha belirgin sonuçlar elde edildiği belirtilmiştir (VerHague ve ark., 2022). CD-44 geninin yokluğu triptofan hidroksilaz 2 (TPH2) /serotonin (5-HT) oranı ile beyaz adipositlerde adipogenezi nasıl baskıladığını ve yüksek yağlı diyetle tetiklenen obeziteye karşı koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise CD-44 geni olmayan farelerde beyaz adipoz dokuda adipositlerin küçüldüğü, lipid birikiminin azaldığı, adipojenik transkripsiyon faktörlerinin anlamlı bir şekilde düştüğü gözlenmiştir (Wu ve ark., 2025). Serotoninin adipogenezi teşvik ettiği ve buna paralel CD-44 gen inhibisyonu olan farelerin de adipoz dokularında serotonin düzeylerini düşürerek, adipogenezin bu yolla inhibe olduğu da belirtilmiştir. Yağlı diyetle beslenmelerine rağmen CD-44 geni inhibe olan fareler olanlara nazaran daha az kilo almış, karaciğerde yağlanmaları daha az olmuştur. Bununla beraber insanlarda CD-44 geninin

baskılanması güvenilirlik yönünden tartışmalı olup halen daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Wu ve ark., 2025).

2.4. Anaplastik Lenfoma Kinaz (ALK)

Anaplastik lenfoma kinaz ilk kez 1994 yılında anaplastik büyük hücreli lenfoma (ALCL) hücre hatlarında bir tirozin kinaz olarak tanımlanmıştır. 2. kromozomun 2p23.2–p23.1 bölgesinde yer alan insan ALK geni 26 ekzon içerirken 1620 aminoasitlik tam uzunlukta ALK proteinini kodlar. ALK, adenosin trifosfat (ATP)’ten bir gama-fosfat grubunun bir substrat proteindeki tirozin kalıntısına aktarılmasını katalizleyen tirozin kinaz aktivitesine sahip bir enzim olup substrat proteinlerde tirozin kalıntılarının fosforilasyon reaksiyonunu gerçekleştirir (Huang, 2018). Katalitik reseptörler ya da enzim bağlantılı reseptörler olarak adlandırılan reseptör tirozin kinazlar (RTK) hücre yüzeyinde yer alan ve ligandlarına bağlanan aynı zamanda katalitik fonksiyonlarını da yerine getiren büyük bir hücre yüzeyi protein grubudur. RTK’lar hem reseptör hem de enzim olarak çalıştığından hayati öneme sahip bileşenlerdir. Pek çok RTK hücreler arası iletişim ve sinyalizasyonda rol oynar (Huang, 2018). Tüm RTK’lar gibi ALK de bir hücre dışı bölge, bir transmembran bölge ve bir hücre içi bölge içerir (Şekil 2.5).

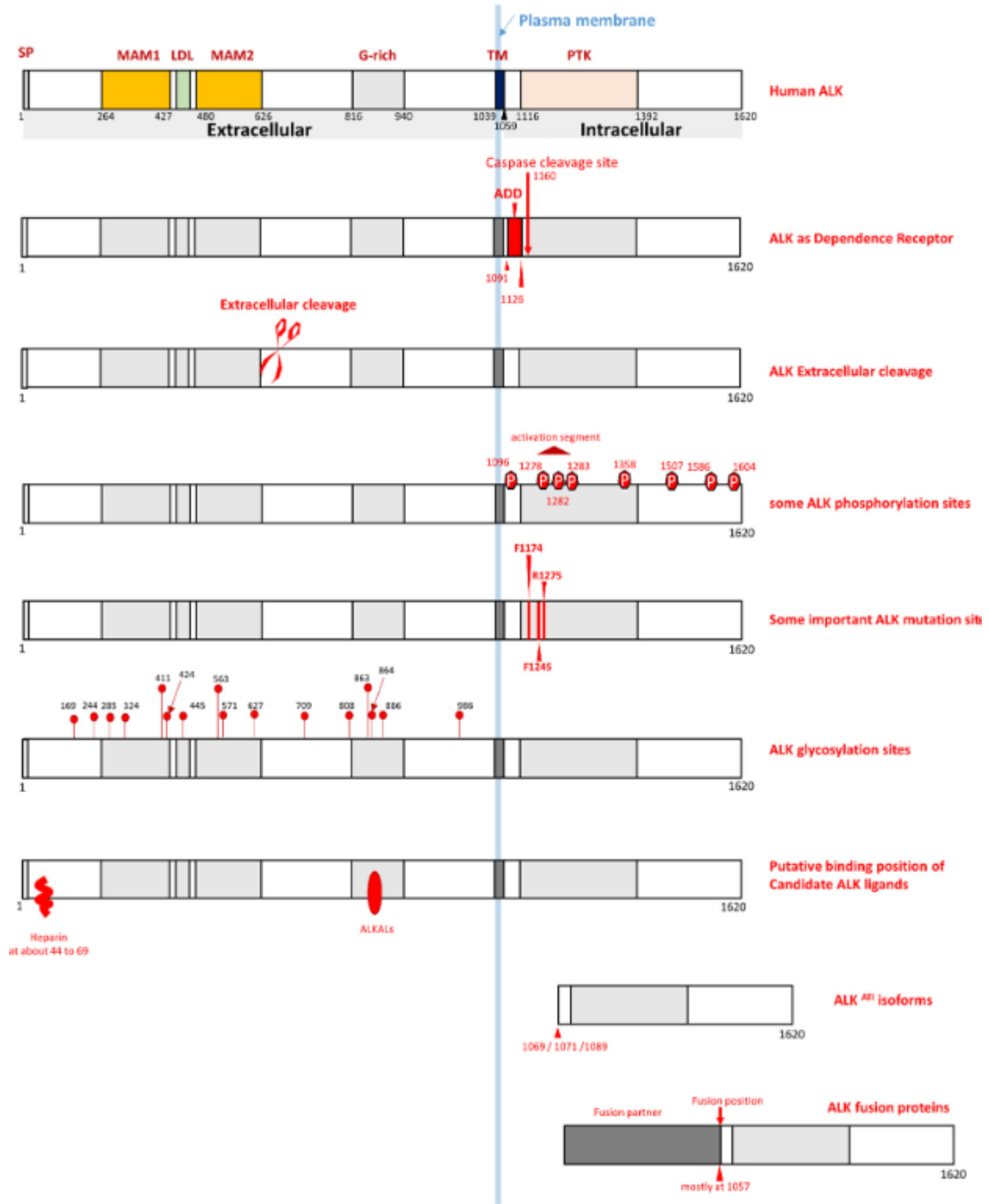


Şekil 2.5. Anaplastik Lenfoma Kinaz (ALK) ile Reseptör Tirozin Kinaz Ailelerinin Alan Yapısı

(Huang, 2018)

ALK, lökosit tirozin kinaz (LTK) reseptör alt ailesine aittir. Bu ailede yalnızca lökosit tirozin kinaz ve anaplastik lenfoma kinaz bulunmaktadır. Bu iki tirozin kinaz her ne kadar birbirine benzese de ALK ayırıcı özelliklere sahiptir. Örneğin hücre dışı alanda iki meprin, A5 protein ve reseptör protein tirozin fosfataz mu (MAM) alanı ve bir düşük yoğunluklu lipoprotein a (LDLa) alanı kombinasyonu sadece ALK'ye özgüdür (Şekil 2.6). Bu iki alanın işlevi hala kesin olarak ortaya konamasa da hücre-hücre etkileşimlerinde rol oynayabileceği varsayılmaktadır (Huang, 2018).

ALK'nin yapısı hala tam olarak anlaşılamamış mevcut çalışmalar çoğunlukla doğrudan katalitik aktiviteyi gerçekleştiren kinaz bölgesine odaklanmıştır. ALK, genellikle sinir sistemi gelişimi sırasında ifade edilmiş, fare gelişimi esnasında ALK ekspresyonu omurilik motor nöronları, sempatik gangliyonlar ve dorsal kök gangliyonları gibi merkezi ve çevresel sinir sisteminde gözlemlenmiştir. Araştırmalar ALK'nin fare beyinde hipokampusün çeşitli bölgelerinde ifade edildiğini ortaya koymuştur; fakat zamanla sinir sistemindeki ALK ifadesi azalmaktadır. ALK'nin işlevi tam olarak anlaşılamasa da yapılan diğer bir çalışmada ALK geni çıkarılmış farelerin normal farelere kıyasla daha fazla etanol tükettiğini ortaya koymuştur (Huang, 2018).



Şekil 2.6. ALK'nin Çeşitli Özellikleri

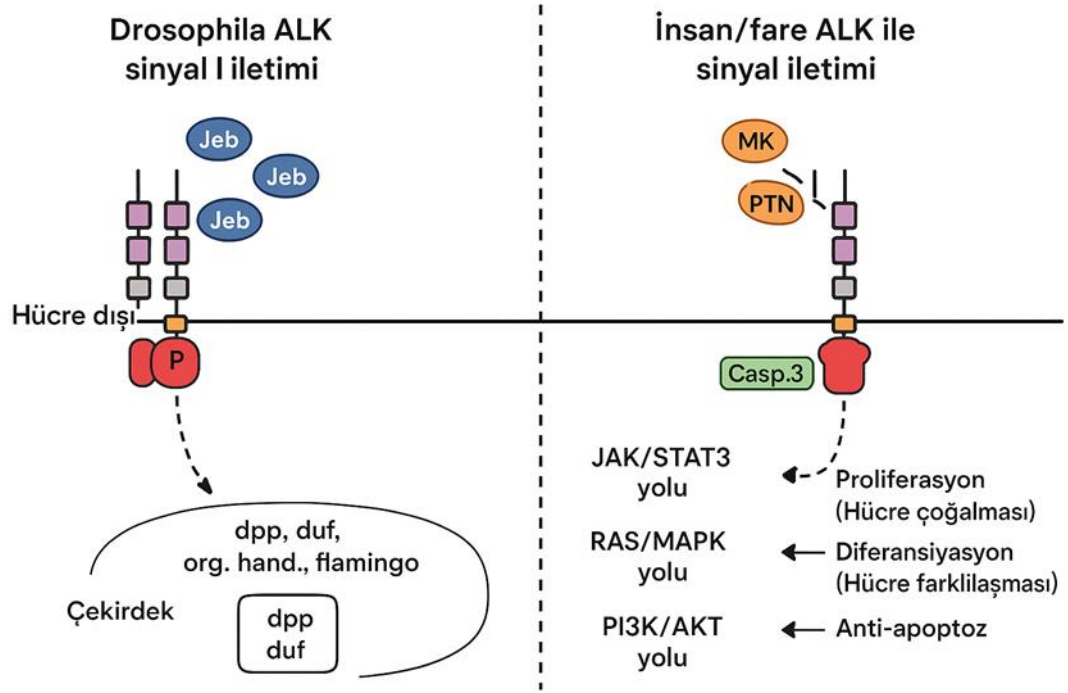
(Huang, 2018)

2.4.1 Anaplastik Lenfoma Kinaz Aktivasyonu ve Sinyal Yolu

ALK'nin aktivasyon mekanizması tamamen aydınlatılamamış olsa da RTK aktivasyon mekanizması yoluyla gerçekleşebileceği düşünülmektedir. RTK'ların aktivasyon modeli ise ligand-bağımlı aktivasyon olup hücre dışı bölgesi hücre dışı alanda bulunan ligandına bağlandıktan sonra ligand bağımlı homodimerizasyon ve heterodimerizasyon meydana gelerek RTK'nın sitoplazmik bölgesindeki belirli tirozin kalıntılarının trans-fosforilasyonuna neden olur. Bu olay aynı RTK üzerinde başka tirozin kalıntılarını da tetikleyerek RTK'nın katalitik aktivitesini başlatabilir. Aktive olan RTK, substrat proteinlerinin üzerindeki tirozin kalıntılarını fosforile ederek sinyal iletimini başlatır (Huang, 2018).

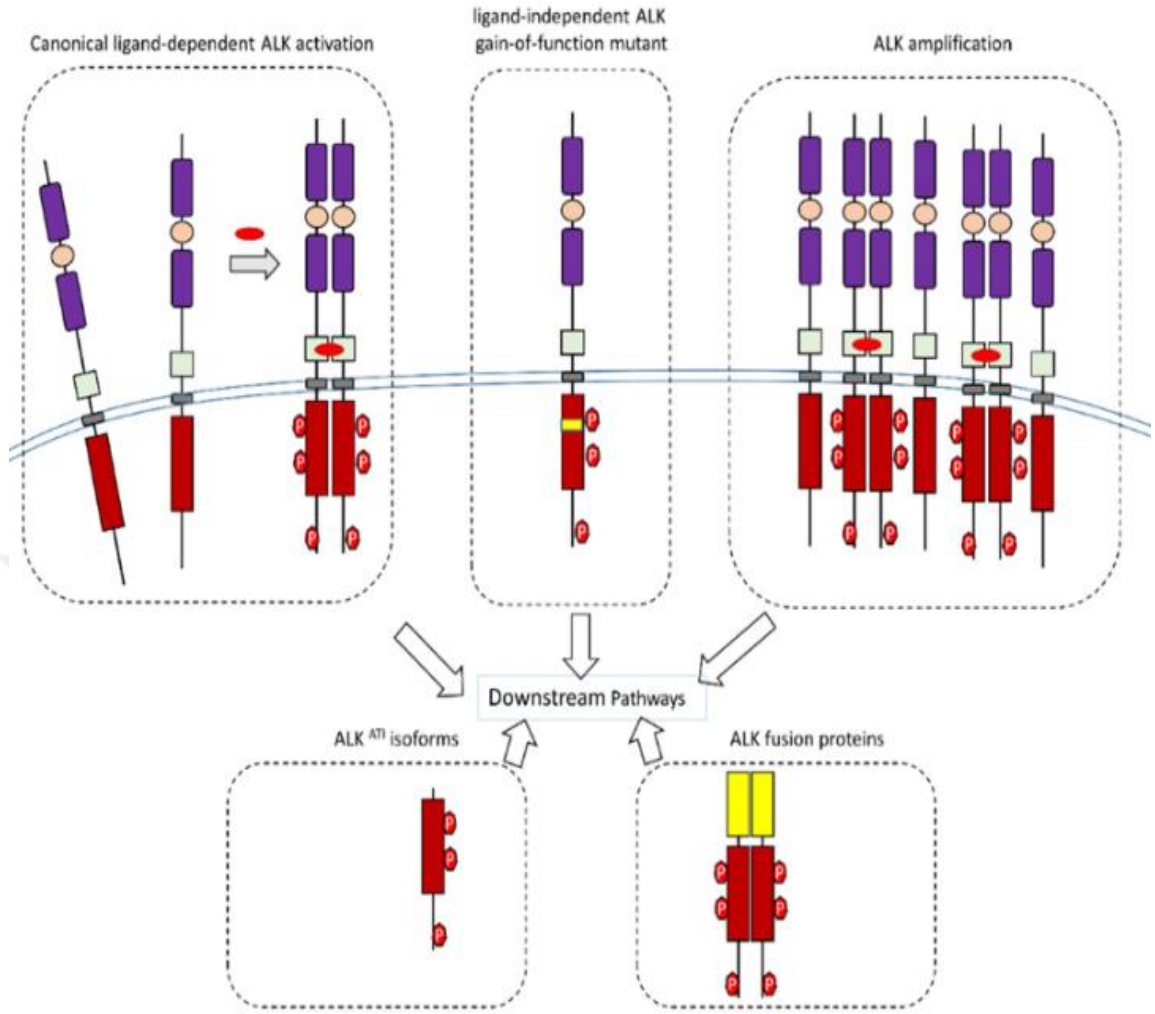
Aktive edilen RTK'nın sinyalizasyonunun sonlanabilmesi için tirozin fosfatazlar yoluyla defosforilasyon ve endositoz sonrası yıkım gereklidir.

ALK'nin aktivasyon ve sinyal düzenlemesine bakacak olursak dimerizasyon, ALK'nin aktivasyon döngüsünde Y1278, Y1282 ve Y1283 gibi tirozin kalıntılarının trans-fosforilasyonunu destekler. Dimerizasyon sonrasında başka tirozin kalıntıları da fosforile olarak ALK aktivasyonu tam anlamıyla sağlanır. Aktif ALK'nin aktive edebileceği olası sinyal yolları; RAS/MAPK yolu, JAK/STAT yolu, PI3K/Akt yolu ve PLC-γ (fosfolipaz-C) yollarıdır (Şekil 2.7). Y1258, Y1507, Y1604 gibi tirozin kalıntılarının fosforillenmesi ile de sinyalizasyon başlamaktadır (Huang, 2018). Doğal ALK'nin aktivasyonuna ek olarak anormal ve izoformlar da çeşitli sinyal yollarını aktive edebilir. Şekil 2.8 de gösterilmiştir.



Şekil 2.7. ALK Sinyalizasyonu

(Huang, 2018)



Şekil 2.8. ALK, ALK'nin Anormal Formları, ALK Amplifikasyonu ve ALK İzoformlarının Şematik Gösterimi

(Huang, 2018)

2.4.2 Anaplastik Lenfoma Kinaz Ligandları ve Ligand Bağlanması

Anaplastik Lenfoma Kinaz Activating Ligand (ALKAL), ALK ona çok benzeyen bir başka reseptör olan LTK'yı aktive eden doğal bağlayıcı moleküllerdir. İki farklı ALKAL proteini olan FAM150A ve FAM150B ALK'nin doğal ligandları olarak kabul edilmiştir. Araştırmalar bu ligandların ALK'nin hücre dışına bağlanarak onu aktif hale getirdiğini göstermektedir. Bir diğer olası ligand ise heparin olup özellikle uzun zincirli olanlarının (örn: 25 birim uzunluğunda olanlar) ALK'nin dış kısmına fiziksel olarak bağlayabilmekte ve aktive edebilmektedir (Huang, 2018).

2.4.3. Anaplastik Lenfoma Kinaz'ın Hastalıklarla İlişkisi

ALK'nin özellikle anormal formları çeşitli kanser türlerinde tespit edilmiştir. ALK'nin normalden fazla ifade edilmesindeki etmenler; ALK füzyon mutasyonları, ALK fonksiyonunu kazanırken aktivasyon mutasyonları ve ALK geninin çoğalmasdır (amplifikasyon) (Huang, 2018).

ALK füzyon proteinlerinde, ALK'nin birleştiği ortak protein ligand olmadan bile ALK füzyon proteinlerinin dimerleşmesine neden olarak ALK'nin kanserojen bir şekilde aktive olmasına neden olabilir. Özellikle küçük hücre dışı akciğer kanseri (NSCLC), ALCL, inflamatuvar miyofibroblastik tümör (IMT) türlerinin önemli sebebidir (Huang, 2018).

Çocukluk çağı kanseri olan nöroblastomda ise daha çok ALK aktivasyon mutasyonları ve amplifikasyon görülmektedir. ALK gen artışı ve kopya sayısının artmasının etkili olduğu bir diğer kanser türü de yine çocukluk çağında görülen ve iskelet kaslarında miyosit farklılaşamamasından kaynaklı gelişen rabdomyosarkomdur. ALK genindeki translokasyonlar yoluyla oluşan füzyonların birçok kanser türünde öncül bir tümör oluşum mekanizmasını desteklediği görülmektedir (Huang, 2018).

ALK füzyonları, farklı hücre soylarına ait çok çeşitli tümörleri tetikleyebilen dikkat çekici derecede çok yönlü onkoproteinler olup bu tümörler arasında lenfoma, akciğer kanseri, inflamatuvar miyofibroblastik tümörler (IMT), Spitz tümörleri, böbrek karsinomu, tiroit kanseri, sindirim sistemi kanserleri, meme kanseri, lösemi ve over karsinomu yer alır. Ayrıca, ALK translokasyonuna sahip kanser türlerinde çok sayıda farklı ALK füzyon partneri tanımlanmıştır. Hastalıkların tedavisinde rasyonel olarak tasarlanmış yeni tirozin kinaz inhibitörler (TKI), ilaç direnci mekanizmalarının incelenmesi, downstream sinyal yollarını hedefleyen çift blokajlı tedaviler ve aktif reseptör tirozin kinazlara karşı immünoterapiler gibi yöntemler denenmektedir (Cao ve ark., 2019).

2.4.4. ALK ve Obezite

ALK'nin obezite üzerindeki etkinliğini anlamamız için çok fazla insan çalışmaları olmasa da farelerde yapılan çalışmalar konu hakkında bize yol göstermektedir. Yapılan bu çalışmada ALK gen inhibisyonu olan farelerde artmış enerji harcaması ve normale kıyasla daha zayıf oldukları görülmüş, obeziteye karşı direnç geliştirdikleri saptanmıştır. Bunun dışında vücutta enerji harcamasını arttırıp, besin alımını azaltan bir adipokin olan adiponektin düzeyleri de artmış olarak bulunmuştur. Böylelikle ALK'nin sadece kanser hücrelerinde değil iştah, kilo kontrolü ve enerji harcaması gibi konularda da etkinliğinin olduğu anlaşılmıştır. Yakın bir zamanda yapılan çalışmada ALK geni baskılanan farelerin zayıflama eğiliminde olduğu ve enerji harcamalarının arttığı gözlemlenmiştir. Yine bu farelerde adiponektin düzeylerinde artış tespit edilmiştir. Diğer bir çalışmada ALK'nin hipotalamustaki sinir hücrelerinde enerji harcamasını kontrol ettiği ve bunu da yağ dokusunda lipolizi arttırarak yaptığını göstermiştir. Bu bilgiler ışığında ALK'nin anoreksiya nervozadaki etkinliğini anlamak için fareler üzerinde yapılan çalışmada ALK reseptör düzeylerinin anoreksiya benzeri durumlarda düştüğü ve bunun hastalığın patofizyolojisinde bir rol oynayabileceği belirtilmiştir (Dedoni ve ark., 2023).

Özetle diyebiliriz ki ALK geninin baskılanması ile zayıflık ve kilo kaybı gelişebilir. Normal koşullarda aktif olan ALK vücut ağırlığı korunumu sağlarken aşırı ekspresyonu kilo alımı ile bağlantılı olabilir (Dedoni ve ark., 2023).

Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışma, leptin, CD44 ve ALK biyobelirteçlerinin bireylerdeki düzeylerini değerlendirmenin yanı sıra, LEPR G223A gen polimorfizminin bu belirteçlerle olan ilişkisini de inceleyerek, bu moleküllerin obezite patogenezindeki rollerini bütüncül bir yaklaşımla ortaya koymayı ve bu sayede obezitenin tanısal veya prognostik süreçlerinde kullanılabilecek yeni hedeflerin belirlenmesine katkı sunmayı amaçlamaktadır.

3. MATERYAL VE METHOD

3.1. Materyaller

3.1.1. Kimyasal Materyaller

- Human ALK (Anaplastic Lenfoma Kinase) ELISA Kit 96T (Wuhan Fine Biotech Co. Ltd., Wuhan, China) (Cat. no. EH6241)
- Human Lep (Leptin) ELISA Kit 96T (Bioassay Technology Laboratory Co. Ltd., Zhejiang, China) (Cat. no. E1559Hu)
- Human CD44 (Cluster of Differentiation) ELISA Kit 96T (Bioassay Technology Laboratory Co. Ltd., Zhejiang, China) (Cat. no. E0239Hu)
- Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fischer Scientific İnvitrogen PureLink, ABD) (Lot. 2918392)
- Taq polimeraz (Thermo Scientific, Lot. 00991697)
- MgCl₂ (Magnezyum Klorür) (Thermo Scientific)
- Taq Buffer (Thermo Scientific, Lot. 00603946)
- Agarose (Agaroz) (BioShop, Canada, Lot. 4C86758)
- TBE (Tris bazı/ Borik asit/EDTA) (Thermo Scientific, Lot. 01091115)
- dNTP (Fermantas Lot. 00070408)
- MspI (HpaII) Restriction Enzyme (Thermo Scientific Cat no. ER0541)
- Primer (Forward ve Reverse) (Thermo Scientific)

3.1.2. Alet ve Cihazlar

- Soğutmalı Mikrosantrifüj (Hettich Micro 22)
- Soğutmalı Santrifüj (Hettich Rotana 460 R)
- Derin Dondurucu (Haier Bio-Medical)
- Etüv (Memmert)
- Spektrofotometre (Techcomp UV1000)
- Buzdolabı (Uğur)
- Vorteks (VELP)
- Mikrosantrifüj (Stratagene PicoFuge II)

- Su Banyosu (Medingen SWB 20)
- Mikropipet (Thermo Fisher P10-P100-P1000)
- Mikroplate Okuyucu (Organon Technika Microwell system)
- PCR Cihazı (Termal Cyclers) (Techne, TC 4000, TC 412)
- Elektroferez Tankı (Cleaver Scientific, MSCHOICE)
- Elektroferez Güç Kaynağı (Thermo Scientific EC 300 x L)
- Jel Görüntüleme Sistemi (QUANTUM ST-4, 1000/20M, 09200806)

3.2. Çalışma tasarımı

Çalışma Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 24-KAEK-075 referans numarası ile onaylanmıştır. Hastalara ve yakınlarına çalışma hakkında bilgi verildikten sonra bilgilendirilmiş onam formları toplandı.

Çalışmada, Eylül 2024 – Şubat 2025 tarihleri arasında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hastanesi Endokrinoloji Polikliniği'ne başvuran 76 kadın hastadan elde edilen veriler kullanılmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastalar herhangi bir kronik rahatsızlığı bulunmayan, WHO BKİ sınıflamasına göre zayıf, normal ve şişman olan bireylerdir. Bireylerin yaş, boy, kilo ve eşlik eden hastalıklarına ilişkin bilgiler toplandı.

3.3. Katılımcılar

Yapılan G*Power analizine göre güç:0,80, etki büyüklüğü:0.33 ve yanılma payının:0,05 olarak hesaplanan çalışmada her bir gruptan en az 30 hastanın olması gerektiği bulunmuştur. Araştırmamızın örneklemini BKİ si zayıf, normal ve şişman olgular oluşturmaktadır. Çalışmadaki hasta grubunu >18 yaşında olan ve BKİ>25 kg/m² (n=53) bireyler oluştururken; kontrol grubunu ise BKİ: 18,5-24,99 kg/m² (n=23) olan bireyler oluşturmaktadır. Hastalara zayıf ve şişman tanısı WHO BKİ sınıflamasına göre konulmuştur. Bu sınıflamaya göre kriterler:

Kriterler;

1- BKİ<18,5 kg/m²

2- BKİ: 18,5 -24,99 kg/m²

- 3- BKİ: 25 – 29,99 kg/m² hafif şişman
- 4- BKİ: 30- 34,99 kg/m² 1. Derece obez
- 5- BKİ: 35-39,99 kg/m² 2. Derece obez
- 6- BKİ> 40 kg/m² morbid obez olacak şekilde belirlendi.

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri ise hasta grubunun <18 yaş olması, kronik bir rahatsızlığının bulunması şeklinde belirlendi. Biyokimyasal analizlerde sadece kadın olguların verileri kullanılırken, gen polimorfizmine ait istatistikte sonuçların etkilenmemesi adına erkek olgulara ait veriler de dahil edildi.

Hastaların demografik bilgileri, rutin biyokimya ve hematolojik verileri sistemden alındı.

3.4. Örnek toplama

Her katılımcıdan ELISA ve biyokimyasal analizler amacıyla vakumlu tüplere 5 ml, gen çalışmaları için EDTA içeren tüplere 3 ml venöz kan örneği alınmıştır. Analizlerde kullanılmayan artan kan örnekleri, araştırmanın sonraki basamaklarında değerlendirilmek üzere saklandı. Biyokimyasal analizler için kan örnekleri laboratuvara ulaştırıldıktan sonra Hettich Zentrifügen Rotanta 460R (Germany) cihazı kullanılarak 14.000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra serum kısmı ayrıldı ve mikrotüplere aktarıldı. Tüm serum örnekleri, analiz zamanına kadar -80 °C'de saklandı; bu saklama koşulu ile örneklerin bütünlüğü korunarak protein bozulması önlenmiş oldu.

3.5. Biyokimyasal analizler

3.5.1. Rutin Biyokimya Analizleri

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hastanesi Merkezi Laboratuvarında açlık kan şekeri (AKŞ) (mg/dL) alanin aminotransferaz (ALT)(u/L), aspartat aminotransferaz (AST)(u/L), trigliserit (TG)(mg/ dL), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)(mg/ dL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) (mg/ dL), çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) (mg/ dL), ferritin (ng/ mL), C-reaktif protein (CRP)(mg/L), kan üre azotu

(BUN) (mg/ dL) ve D vitamini (ng/ mL), düzeyleri, HbA1c (mg/ dL), TSH(mIU/L), B12(pg/ dL), C peptit(ng/ mL),parathormon (PTH) (pg/ dL), ürik asit (mg/ dL), kortizol(µg/dL),kreatinin(mg/ dL), total insülin (µIU/mL), ve T3 (Triiyodotironin) (pg/ dL) ROCHE Cobas 6000/c501/e601 kimya analizörü kullanılarak analiz edildi.

3.5.2. ELISA Yöntemine Göre Leptin Düzeylerinin Belirlenmesi

Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analiz (ELISA) yöntemi, belirli bir hedef molekülü (örneğin bir protein veya hormon) tespit etmek ve miktarını belirlemek için kullanılan bir immünoassay (bağışıklık temelli test) tekniğidir. Bu yöntemin temel prensibi, iki farklı antikorun aynı antijene bağlanması esasına dayanır. Bu kitte [Human Lep (Leptin) ELISA Kit 96T (Bioassay Technology Laboratory Co. Ltd., Zhejiang, China) (Cat. no. E1559Hu)], ELISA yöntemi uygulandı. Plaka, insan leptin antikoruna ile önceden kaplandı. Örneğe eklenen leptin, kuyucuklara kaplanmış antikora bağlandı. Daha sonra biyotin ile işaretlenmiş ikinci bir insan leptin antikoruna eklendi ve örnek içindeki leptine bağlandı. Ardından Streptavidin ile konjuge edilmiş horseradish peroksidaz (HRP) eklendi ve biyotinli antikora bağlandı. İnkübasyon süresinin sonunda, bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama adımıyla uzaklaştırıldı. Substrat çözeltisi eklendiğinde, leptin miktarı ile orantılı olarak renk oluştu. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisi ile sonlandırıldı ve oluşan renk 450 nm’de Organon Teknika 12 420 mikropiloda okuyucusunda okutuldu.

Leptin düzeyleri nanogram/mililitre (ng/ml) cinsinden ifade edildi. Hesaplamalar Microsoft Excel 2016 programı kullanılarak yapıldı.

- **Çalışma Çözeltilerinin Hazırlanması**

Tüm reaktifler ve numuneler testten önce 20 dk oda sıcaklığında bekletildi.

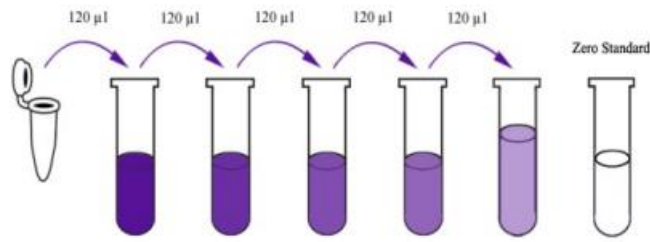
- **Standartların Hazırlanması**

120 µl’lik standart (12.8 ng/ml), 120 µl standart dilüent ile yeniden çözündürüldü ve 6 ng/ml konsantrasyonunda bir stok standart çözelti elde edildi. Seyreltmelere geçilmeden önce, standart hafifçe çalkalanarak 15 dakika bekletildi. Çiftli standart noktaları hazırlanmak üzere, stok standart çözeltisi (6 ng/ml), standart dilüent ile 1:2 oranında seri olarak seyreltilerek aşağıdaki konsantrasyonlarda çözeltiler elde edildi:

- 3 ng/ml
- 1.5 ng/ml
- 0.75 ng/ml
- 0.375 ng/ml

Kalan çözelti, -20°C’de dondurularak saklandı ve bir ay içinde kullanılmak üzere ayrıldı. Önerilen standart çözelti seyreltmeleri aşağıda bulunan şekil 3.2’deki gibi gerçekleştirildi.

6ng/ml	Standard No.5	120ul Original standard + 120ul Standard diluent
3ng/ml	Standard No.4	120ul Standard No.5 + 120ul Standard diluent
1.5ng/ml	Standard No.3	120ul Standard No.4 + 120ul Standard diluent
0.75ng/ml	Standard No.2	120ul Standard No.3 + 120ul Standard diluent
0.375ng/ml	Standard No.1	120ul Standard No.2 + 120ul Standard diluent



Standard concentration	Standard No.5	Standard No.4	Standard No.3	Standard No.2	Standard No.1
12.8ng/ml	6ng/ml	3ng/ml	1.5ng/ml	0.75ng/ml	0.375ng/ml

Şekil 3.1. Standart Konsantrasyonları

- **Yıkama Çözeltisinin (Wash Buffer) Hazırlanması**

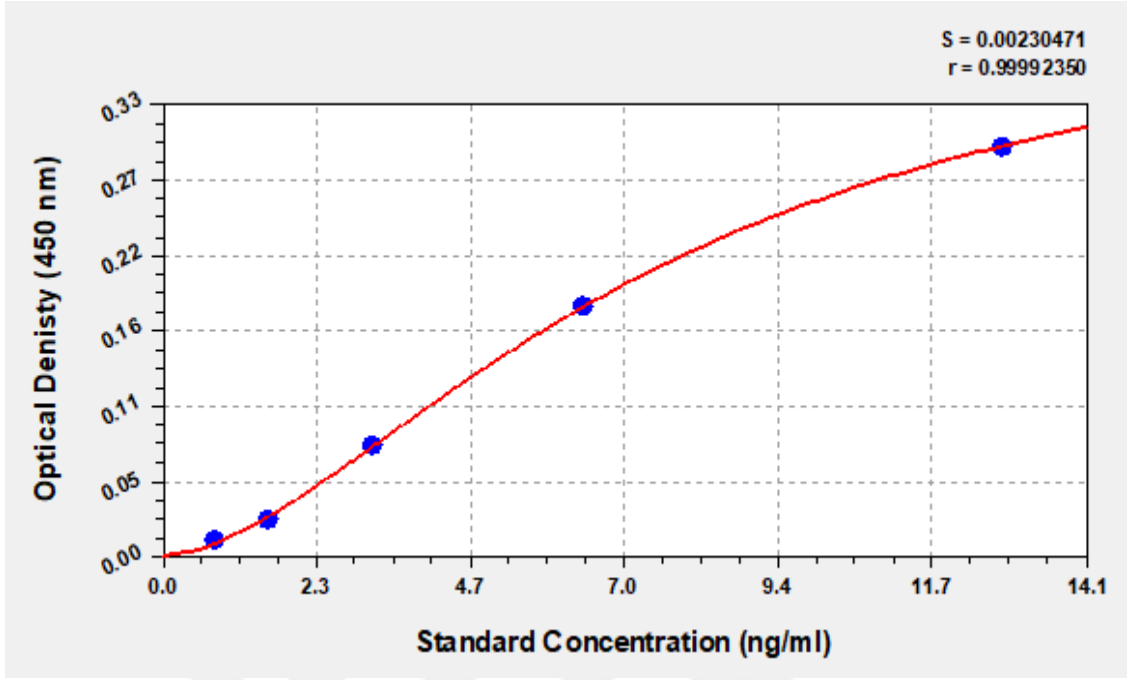
20 ml wash buffer behere tamamen boşaltıldı. Üzerine 500 ml’ye kadar distile su eklendi.

Kristal oluşmayacak şekilde karıştırıldı.

- **ELISA Protokolü**

- Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve örnekler talimatlara uygun şekilde hazırlandı. Kullanımdan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Test oda sıcaklığında gerçekleştirildi.
- Test için gerekli strip (şerit) sayısı belirlendi. Stripler uygun çerçevelere yerleştirildi. Kullanılmayan stripler 2-8°C arasında saklandı.
- Her bir standart kuyusuna 50 µl standart çözelti eklendi. (Not: Standart çözeltisi biyotinile antikor içerdiğinden standart kuyusuna ayrıca antikor eklenmedi.)
- Her bir örnek kuyusuna 40 µl örnek eklendi, ardından 10 µl insan leptin antikoru eklendi. Daha sonra örnek ve standart kuyularına (boş kontrol kuyusu hariç) 50 µl streptavidin-HRP eklendi. İyice karıştırıldı. Plaka yapışkanlı film ile kapatıldı ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
- Film çıkarıldı ve plaka, yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Her yıkama için kuyular 300 µl yıkama tamponu ile 30 saniye ila 1 dakika bekletildi. 5 kez yıkama solüsyonu ile dikkatlice yıkandı. Plaka kâğıt havlu ya da emici başka bir malzeme üzerine hafifçe bastırılarak kurutuldu.
- Her bir kuyuya 50 µl Substrat Solüsyon A, ardından 50 µl Substrat Solüsyon B eklendi. Plaka yeni bir yapışkanlı film ile kapatılarak karanlıkta 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.
- Her bir kuyuya 50 µl Durdurma Solüsyonu eklendi; mavi renk anında sarıya döndü.
- Durdurma solüsyonunun eklenmesinden sonra 10 dakika içinde, 450 nm dalga boyuna ayarlanmış Organon Teknika 12 420 mikropilok okuyucusu kullanılarak her kuyunun optik yoğunluk (OD) değeri belirlendi.
- **Hesaplamalar**

Numunelerin bağıl optik dansite (O.D) değerleri, her bir kuyunun O.D değerinden boş (blank) kuyunun O.D değeri çıkarılarak hesaplandı. Standart eğri Curve Expert yazılımı kullanılarak çizildi; eğride Y eksenini standart çözeltilerin O.D değerlerini, X eksenini ise bu çözeltilerin bilinen konsantrasyonlarını gösterdi. Numunelere ait hedef konsantrasyon değerleri bu standart eğri üzerinden interpolasyon yöntemi ile elde edildi.



Şekil 3.2. Leptin Standart Eğri Grafiği

3.5.3. ELISA Yöntemine Göre ALK Düzeylerinin Belirlenmesi

- **Testin Prensibi**

Bu kit, Anaplastik Lenfoma Kinaz düzeyi Human ALK (Anaplastic Lenfoma Kinase) ELISA Kit 96T (Wuhan Fine Biotech Co. Ltd., Wuhan, China) (Cat. no. EH6241)] kullanılarak ELISA yöntemi ile ölçüldü.

Anti-ALK antikoru, 96 kuyucuklu plaka üzerine önceden kaplandı. Biotin ile konjuge edilmiş anti-ALK antikoru, tespit antikoru olarak kullanıldı. Standartlar ve örnekler kuyucuklara sırasıyla eklendi. İnkübasyon sonrasında, bağlanmamış konjugatlar yıkama tamponu ile uzaklaştırıldı. Ardından, kaplanmış antikora bağlanmış ALK ile etkileşime girmesi için biotinile tespit antikoru eklendi. Bağlanmamış konjugatlar yıkama ile uzaklaştırıldı ve ardından HRP-konjuge Streptavidin eklendi. Üçüncü bir yıkama

işlemi yapıldıktan sonra, HRP enziminin katalitik reaksiyonunu görünür kılmak amacıyla TMB substratı eklendi.

TMB, HRP tarafından katalizlenerek mavi renkli bir ürün oluşturuldu. Durdurma çözeltisinin eklenmesiyle bu renk sarıya dönüştü. Optik yoğunluk (OD) değerleri, Organon Teknika 12 420 mikroparka okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okundu. Örneklerdeki ALK konsantrasyonu, çizilen standart eğri aracılığıyla hesaplandı. Hedef maddenin konsantrasyonunun, OD 450 değeriyle doğru orantılı olduğu belirlendi.

- **Çalışma Çözeltilerinin Hazırlanması**

ELISA kiti, buzdolabından çıkarıldıktan sonra yaklaşık 20 dakika oda sıcaklığına (18–25 °C) ulaşması için bekletildi. Tekrarlanan analizlerde, yalnızca o anki analiz için gerekli olan stripler ve standartlar alındı; kalan materyaller, ilgili saklama koşullarına uygun şekilde muhafaza edildi.

- **Yıkama Çözeltisinin (Wash Buffer) Hazırlanması**

30 ml (48 kuyucuklu plaka için 15 ml) konsantre yıkama tamponu, 750 ml (48T için 375 ml) yıkama tamponu elde edilecek şekilde deiyonize ya da distile su ile seyreltilerek iyice karıştırıldı. (Ultrasaf suyun önerilen direnç değeri 18 MΩ olarak belirtildi.) Alternatif olarak, analiz ihtiyacına uygun miktarda konsantre yıkama tamponu alındı ve 25 kat seyreltilerek homojen bir karışım elde edildi. Artan çözelti, 2–8 °C arasında saklandı.

Konsantre yıkama tamponunda oluşan kristallerin tamamen çözünmesi için 40 °C sıcaklıktaki su banyosunda ısıtma işlemi uygulandı. Takip eden adımlar öncesinde çözelti iyice karıştırıldı. Hazırlanan yıkama tamponunun aynı gün içerisinde kullanıldı. Artan tampon çözeltisi, 48 saat içinde kullanılmak üzere 2–8 °C’de muhafaza edildi.

- **Standartların Hazırlanması**

Standart Hazırlama Protokolü

Amaç: Standart çözeltinin hazırlanması ve seyreltilmesidir

1. Başlangıç İşlemleri

Standart tp, 1 dakika boyunca $10.000 \times g$ kuvvetinde santrifüjlendi.

Bu tp ‘‘Sıfır Tüpü’’ olarak etiketlendi.

2. Sıfır Tüpünün Hazırlanması

Sıfır tüpüne 1 ml örnek seyreltme tamponu eklendi.

Kapağı sıkıca kapatılarak oda sıcaklığında 2 dakika bekletildi.

Tp birkaç kez ters çevrilerek karıştırıldı. (Alternatif olarak, düşük devirli vortex cihazında 3–5 saniye karıştırılabilir.)

Hazırlanan tp, 1 dakika boyunca $1.000 \times g$ kuvvetinde santrifüjlenerek sıvının dibine toplanması ve kabarcıkların giderilmesi sağlandı.

3. Standartların Seyreltilmesi

7 adet EP tp sırasıyla şu şekilde etiketlendi: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 ve Blank

Her bir tüpe 0.3 ml örnek seyreltme tamponu eklendi.

Sıfır tüpten 0.3 ml alınarak 1/2 tüpüne aktarıldı ve iyice karıştırıldı.

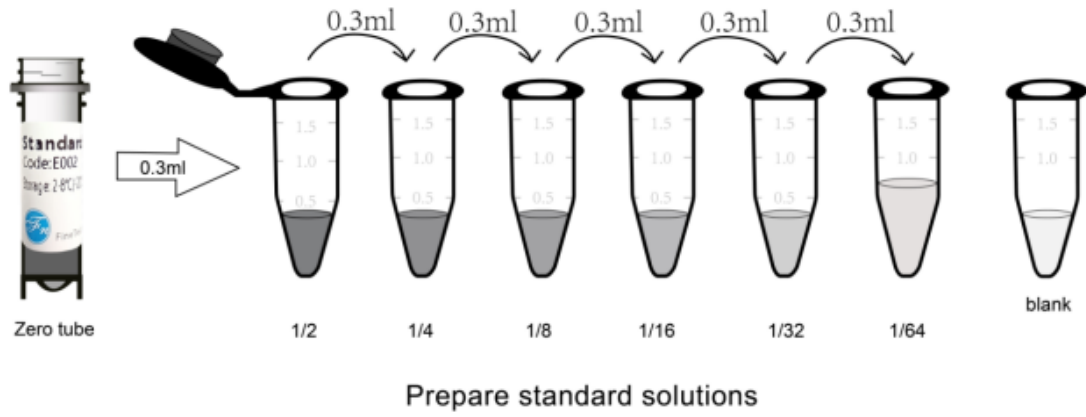
Ardından bu işlem sırasıyla şu şekilde tekrarlandı:

- 1/2 tüpten 0.3 ml $\rightarrow$ 1/4 tüpüne
- 1/4 tüpten 0.3 ml $\rightarrow$ 1/8 tüpüne
- 1/8 tüpten 0.3 ml $\rightarrow$ 1/16 tüpüne
- 1/16 tüpten 0.3 ml $\rightarrow$ 1/32 tüpüne
- 1/32 tüpten 0.3 ml $\rightarrow$ 1/64 tüpüne

Blank tp sadece 0.3 ml örnek seyreltme tamponu içerdiğinden, başka hiçbir madde eklenmedi.

Tablo 3.1. Standart Konsantrasyonları

Tüp	Konsantrasyon (ng/ml)
Sıfır	10
$\frac{1}{2}$	5
$\frac{1}{4}$	2,5
$\frac{1}{8}$	1,25
$\frac{1}{16}$	0,625
$\frac{1}{32}$	0,312
$\frac{1}{64}$	0,156
Blank	0



Şekil 3.3. Standart Solüsyonların Hazırlanması

- **Biotin ile İşaretlenmiş Antikor Çalışma Solüsyonunun Hazırlanması**

Çalışma solüsyonu, testten 30 dakika önce hazırlandı.

Gerekli toplam hacim, kullanılacak kuyu sayısı $\times$ 100 μ l olacak şekilde hesaplandı. (İhtiyaç halinde kullanılmak üzere 100–200 μ l fazladan hazırlandı.)

Konsantre biotin ile işaretli antikorun tüpün dibine toplanması için, düşük hızda (1000 $\times$ g) 1 dakika santrifüj uygulandı.

Biotinile tespit antikoru, antikor seyreltme tamponu ile 1:99 oranında seyreltilerek iyice karıştırıldı. (Örneğin; 10 μ l konsantre antikor, 990 μ l seyreltme tamponuna eklendi.)

- **HRP Hazırlanması**

Çalışma solüsyonu, testten 30 dakika önce hazırlandı.

Gerekli toplam solüsyon hacmi, kullanılan kuyu sayısı $\times$ 100 μ l şeklinde hesaplandı. (İhtiyaç durumunda kullanılmak üzere 100–200 μ l fazladan hazırlandı.)

Konsantre SABC'nin tüpün dibine inmesi için, düşük hızda (1000 $\times$ g) 1 dakika süreyle santrifüj uygulandı.

Konsantre SABC, SABC seyreltme tamponu ile 1:99 oranında seyreltilerek iyice karıştırıldı. (Örneğin; 10 μ l konsantre SABC, 990 μ l SABC seyreltme tamponuna eklendi.)

- **ELISA Protokolü**

- Her bir kuyuya 100 μ l standart veya örnek eklendi, plaka kapatıldı ve 37 °C’de 90 dakika boyunca inkübe edildi.

Yıkama: Süre sonunda plaka yıkama solüsyonu ile iki kez yıkandı.

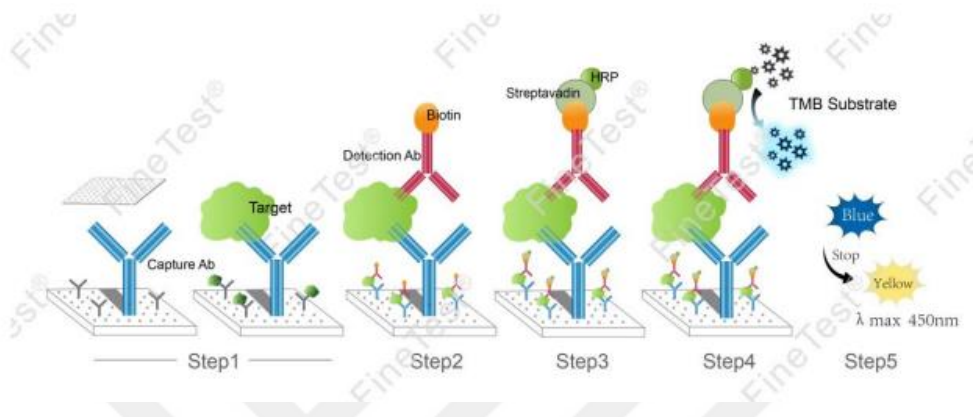
Her bir kuyuya 100 μ l biotin ile işaretli antikor çalışma solüsyonu eklendi, plaka tekrar kapatıldı ve 37 °C’de 60 dakika süreyle inkübe edildi.

Yıkama: Plaka, her seferinde 1 dakika bekletilerek üç kez yıkandı.

- Her bir kuyuya 100 μ l SABC çalışma solüsyonu eklendi, plaka kapatıldı ve 37 °C’de 30 dakika süreyle inkübe edildi.

Yıkama: Plaka, her yıkama arasında 1 dakika beklenerek beş kez yıkandı.

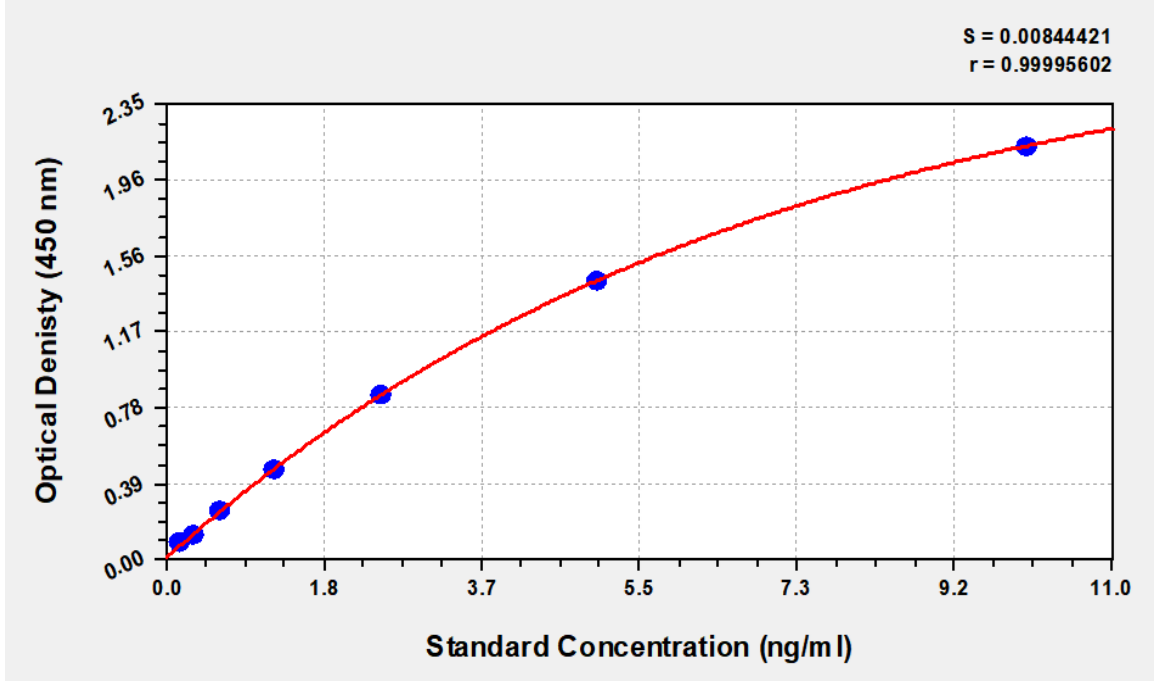
- Her bir kuyuya 90 µl TMB substrat çözeltisi eklendi, plaka kapatıldı ve 37 °C’de 10–20 dakika boyunca statik inkübasyona bırakıldı. (TMB renk gelişimi dikkatle izlenmelidir.)
- Her bir kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi. Organon Teknika 12 420 mikroparka okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okutularak sonuçlar hesaplandı.



Şekil 3.4. ELISA Uygulama Adımları

- **Hesaplamalar**

Numunelerin bağıl optik dansite (O.D) değerleri, her bir kuyunun O.D değerinden boş (blank) kuyunun O.D değeri çıkarılarak hesaplandı. Standart eğri Curve Expert yazılımı kullanılarak çizildi; eğride Y eksenini standart çözeltilerin O.D değerlerini, X eksenini ise bu çözeltilerin bilinen konsantrasyonlarını gösterdi. Numunelere ait hedef konsantrasyon değerleri bu standart eğri üzerinden interpolasyon yöntemi ile elde edildi.



Şekil 3.5. ALK Standart Eğri Grafiği

3.5.4. ELISA Yöntemine Göre CD-44 Düzeylerinin Belirlenmesi

- **Testin Prensibi**

Cluster of Differentiation (CD-44) düzeyi, Human CD44 (Cluster of Differentiation) ELISA Kit 96T (Bioassay Technology Laboratory Co. Ltd., Zhejiang, China) (Cat. no. E0239Hu) kullanılarak ELISA yöntemi ile ölçüldü.

Plaka, CD-44 antikoruna ile önceden kaplanmış olup örneklerde bulunan CD-44 molekülleri, kuyucukların yüzeyine tutturulmuş antikorlara bağlandı. Ardından, biyotin ile işaretlenmiş insan CD-44 antikoruna eklendi ve örnekteki CD-44'e spesifik olarak bağlandı. Daha sonra Streptavidin-HRP ilave edildi ve bu kompleks, biyotininle edilmiş CD-44 antikoruna bağlandı.

İnkübasyon sürecinin ardından bağlanmamış Streptavidin-HRP, yıkama adımları ile uzaklaştırıldı. Devamında substrat çözeltisi eklendi ve renk gelişimi, örnekteki insan CD-44 miktarıyla orantılı olarak gerçekleşti. Renk oluşumu, asidik durdurma solüsyonu

eklenerek sonlandırıldı ve optik yoğunluk (O.D) değeri, 450 nm dalga boyunda Organon Teknika 12 420 mikroparka okuyucusu ile ölçüldü.

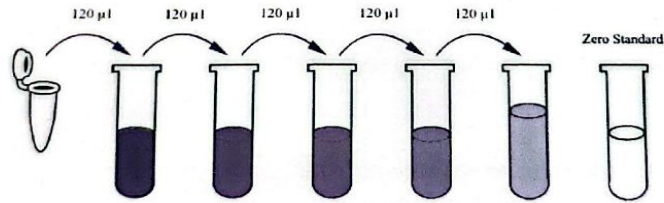
- **Yıkama Çözeltisinin Hazırlanması**

20 ml yoğunlaştırılmış yıkama tamponu, saf (deiyonize veya distile) su ile 25 kat seyreltilerek toplam 500 ml %1'lik yıkama tamponu hazırlandı ve kristaller oluşmaması için iyice karıştırıldı.

- **Standartların Hazırlanması**

Tüm reaktifler kullanım öncesi oda sıcaklığına getirildi. 1600 ng/ml konsantrasyonundaki standart çözeltisinin 120 µl'si, 120 µl standart seyreltici ile yeniden oluşturularak 800 ng/ml'lik bir standart stok solüsyon hazırlandı. Bu karışım 15 dakika boyunca hafifçe çalkalanarak bekletildi. Daha sonra seri olarak bu standart stok çözelti (800ng/ml), 1:2 oranında standart ile seyreltilerek 400 ng/ml, 200 ng/ml, 100 ng/ml ve 50 ng/ml konsantrasyonlarında standartlar hazırlandı. Standart seyreltici, 0 ng/ml'lik sıfır standardı olarak kullanıldı. Kalan çözelti -20 °C'de dondurularak 1 ay içerisinde kullanıldı.

800ng/ml	Standard No.5	120µl Original Standard + 120µl Standard Diluent
400ng/ml	Standard No.4	120µl Standard No.5 + 120µl Standard Diluent
200ng/ml	Standard No.3	120µl Standard No.4 + 120µl Standard Diluent
100ng/ml	Standard No.2	120µl Standard No.3 + 120µl Standard Diluent
50ng/ml	Standard No.1	120µl Standard No.2 + 120µl Standard Diluent



Standard Concentration	Standard No.5	Standard No.4	Standard No.3	Standard No.2	Standard No.1
1600ng/ml	800ng/ml	400ng/ml	200ng/ml	100ng/ml	50ng/ml

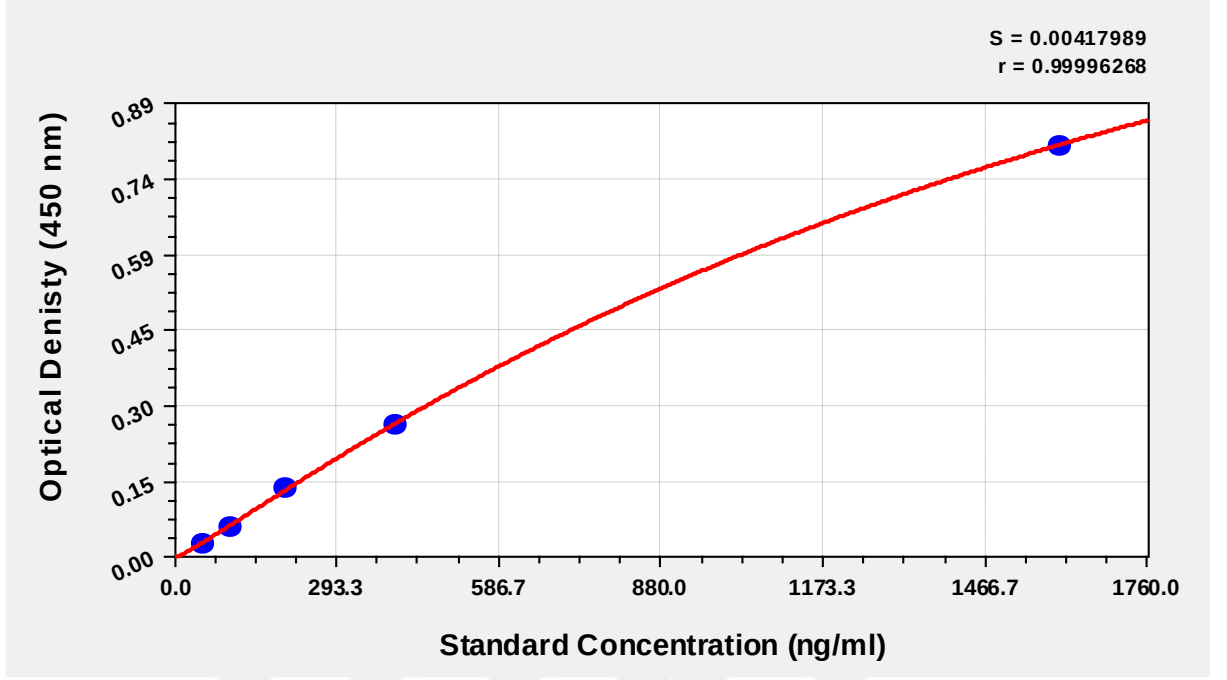
Şekil 3.6. Standartların Hazırlanması

- **ELISA Protokolü**

- Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırlandı. Tüm bileşenler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi ve prosedür oda sıcaklığında gerçekleştirildi.
- Test için gereken strip sayısı belirlendi. Stripler kullanım çerçevesine yerleştirildi. Kullanılmayan stripler 2-8 °C'de saklandı.
- Her standart kuyucuğa 50 µl standart eklendi. (NOT: Standart çözelti biyotinile antikor içerdiğinden standart kuyucuklara biyotinile antikor eklenmedi.)
- Her numune kuyucuğuna 40 µl numune ardından 10 µl anti CD-44 antikor eklenildi. Sonrasında hem numune hem de standart kuyucuklara (boş kontrol kuyucuğu hariç) 50 µl streptavidin-HRP eklendi. Karıştırıldı. Plakanın üzeri bir kapatıcı ile örtülerek 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
- Kapatıcı çıkarılarak plaka yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Her kuyucuk 300 µl yıkama tamponu ile 30 saniye ile 1 dakika boyunca bekletildi. 5 kez bu işlem tekrarlandı. Her seferinde havluda silkeleme yapıldı.
- Her kuyucuğa 50 µl substrat A çözeltisi ve ardından 50 µl substrat B çözeltisi eklendi. Plakanın üzeri yeni bir kapatıcı ile örtülerek karanlıkta 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi.
- Her kuyucuğa 50 µl durdurma çözeltisi eklenip ve mavi rengin sarı hali alması beklendi.
- Her kuyucuğun optik yoğunluğu plaka okuyucu kullanılarak okutuldu. Durdurma çözeltisi eklendikten sonraki 10 dakika içinde 450 nm'de Organon Teknika 12 420 mikroparka okuyucusu ile ölçüm yapıldı.

- **Hesaplamalar**

Numunelerin bağıl optik dansite (O.D) değerleri, her bir kuyunun O.D değerinden boş (blank) kuyunun O.D değeri çıkarılarak hesaplandı. Standart eğri Curve Expert yazılımı kullanılarak çizildi; eğerde Y eksenini standart çözeltilerin O.D değerlerini, X eksenini ise bu çözeltilerin bilinen konsantrasyonlarını gösterdi. Numunelere ait hedef konsantrasyon değerleri bu standart eğri üzerinden interpolasyon yöntemi ile elde edildi.



Şekil 3.7. CD-44 Standart Eğri Grafiği

3.6. Periferik kandan DNA izolasyonu

Hastalardan intravenöz yolla alınan kanlar EDTA içeren tüplere 3 ml olacak şekilde alınıp alt üst edildikten sonra kullanılabilecek +4 °C'de saklandı. Bu aşamada Invitrogen PureLink Genomic DNA Kiti (Lot No: 2918392, Kat No: 182002) kullanıldı. DNA izolasyonunu aşamaları aşağıda belirtilen sıralamaya göre gerçekleştirildi.

- **Lizat Hazırlama**

Su banyosu 55 °C'ye ayarlandı. Steril eppendorf tüplerine hasta sayısına numaralandırıldı ve 200 µl kan eklendi. Üzerlerine hücre çeperini parçalamak amacı ile 200 µl Lysis/binding buffer (lisis bağlanma tamponu) ve 20 µl Proteinaz K ve 20 µl RNase A eklenerek vortekslendi ve oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi. Proteinlerin parçalanması için 10 dakika boyunca 55 °C'de inkübe edildi. Lizatın üzerine 200 µl etanol

eklenerek homojen bir karışım elde etmek adına 5 saniye vortekslenip daha sonrasında hemen bağlama aşamasına geçildi.

Spin Kolonlar Kullanılarak Saflaştırma Prosedürü

Bu santrifüj aşamaları oda sıcaklığında uygulandı. Steril 1.5 ml'lik santrifüj tüpleri ve santrifüj cihazı kullanıldı. Başlamadan önce Wash Buffer I (yıkama tamponu I) ve Wash Buffer II'ye (yıkama tamponu II) belirtilen miktarda %96 -100'lük etanol eklenip iyice karıştırıldı ve etanol eklendi olarak işaretlendi. Her etanol eklenmiş yıkama tamponu oda sıcaklığında muhafaza edildi.

- **Bağlama Aşaması**

Toplam hacmi 640 µl olan lizat filtreli tüplere eklendi. Filtreli tüpler oda sıcaklığında 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpleri atıldı ve filtreli tüpler yeni toplama tüplerine yerleştirildi.

- **Yıkama Aşaması**

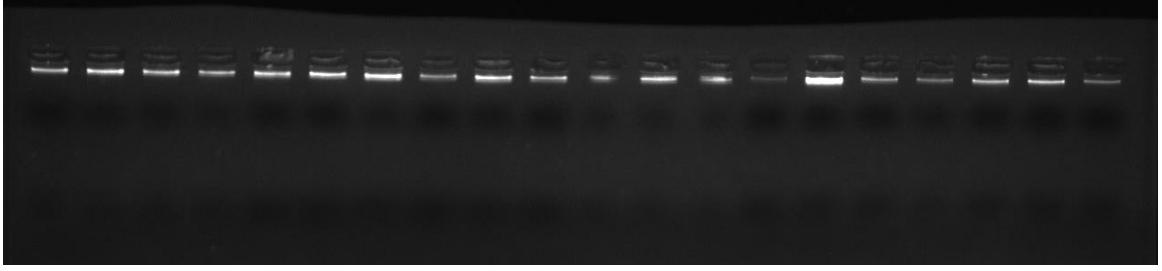
Filtreli tüplere 500 µl Wash Buffer I (yıkama tamponu I) eklendi. Filtreli tüpler oda sıcaklığında 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpleri atılarak filtreli tüpler yeni toplama tüplerine yerleştirildi. Filtreli tüplere 500 µl Wash Buffer II (yıkama tamponu II) eklendi, oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dakika santrifüj edildikten sonra toplama tüpleri atıldı.

- **DNA Eldesi**

Filtreli tüpler steril olan 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine yerleştirildi. Filtreli tüplere 200 µl Elution Buffer (elüsyon tamponu) eklendi, oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi. Ardından maksimum hızda 1 dakika santrifüj edildi. Filtreli tüpler atılarak saflaştırılmış DNA'yı içeren tüpler kullanılıncaya dek -20 °C'de saklandı.

3.6.1 DNA'nın Kalitatif Tayini

DNA kalitatif tayininde standart görüntüleme oranı olan %1'lik hazırlanan agaroz jel kullanıldı. Bu doğrultuda ortalama 1 gram agaroz 100 ml TBE içerisinde çözündürüldü. 60 °C'ye kadar soğutulduktan sonra 3 µl Etidyum Bromür eklendi. Sıvı haldeki jel, tarakları yerleştirilmiş olan agaroz jel elektroferez kabına dökülerek donmaya bırakıldı. 1 µl DNA toplam hacim 5 µl olacak şekilde boyar madde ile (Bromophenol Blue) ile muamele edilerek jeldeki kuyucuklara yüklendi. 120 voltta 15 dakika yürütüldükten sonra jel UV altında incelendi ve genomik DNA'nın kalitesi analiz edildi (Şekil 3.1)



Şekil 3.8. İzolasyon Sonrası DNA Görüntüsü

3.6.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Tekniği

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) çok az miktarda bulunan DNA'yı milyonlarca kopya haline getiren bir moleküler biyoloji tekniği olup 1983 yılında Kary Mullis tarafından geliştirilmiştir. Bu teknik temel olarak denatürasyon (94–96 °C'de 30-90 sn), bağlanma (50-65 °C'de 30-120 sn), uzama (72 °C'de 60-180 sn) aşamalarının tekrar eden döngülerinden oluşmaktadır. Bu sırada reaksiyona özel kullanılan primer dizileri hedef DNA'nın çoğaltılmasını sağlar ve bu aşama ortalama 25-40 döngü boyunca tekrarlanır. Tekrarlama işlemi sonucunda DNA sayısı katlanarak artar. Döngü sonunda n döngü sayısı kabul edilirse 2^n miktarda DNA elde edilir. PCR'de kullanılan bileşenler ve kullanış amaçlarına bakacak olursak kalıp DNA çoğaltılacak örnek DNA'dır. dNTP'ler (A,T,C,G) taq polimeraz her döngüde bu nükleotitleri kullanarak DNA'nın çoğaltılmasını

sağlar. Taq polimeraz ısıya dayanıklı DNA'yı çoğaltan enzimdir. Primerlerin bağlandığı yerden yeni DNA zinciri sentezler. $MgCl_2$ enzim aktivitesi için gerekli kofaktörü içerir. Primerler, PCR'de hedef DNA bölgesine özgü olarak bağlanarak DNA polimerazın senteze başlamasını sağlayan kısa DNA dizileridir. Buffer reaksiyon ortamını dengede tutmak için su ise enzim aktivitesi için gerekli ortamı sağlamak amacı ile kullanılmaktadır (Saiki ve ark., 1988).

3.7. Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP)

DNA düzeyindeki nükleotid farklılıkları DNA polimorfizmi olarak adlandırılmaktadır. Tür içinde değişikliklere de neden olan bu polimorfizmleri her 1000 bazda bir görülen tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ve kısa DNA dizilerinin sayılarındaki değişiklikleri içerenler olarak iki sınıfa ayırabiliriz. SNP'ler restriksiyon enzimlerince (DNA'yı tanımlanmış ve üretilebilir fragmentlere kesen bakteriyel enzimler) teşhis edilebilen kısa diziler içerisinde oluşur böylelikle de bir restriksiyon enzimi tarafından DNA molekülünün kesilmesi ile elde edilen fragmentin uzunluğu her bir alel için farklı olur. Bu durum restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) olarak adlandırılır. Özellikle genetik hastalıkların teşhisinde allele spesifik bir RFLP belirteç olarak kullanılabilir. Restriksiyon enzimleri, PCR ürünleri gibi aynı uzunluktaki DNA dizgilerinde bulunan SNP'lerin belirlenmesinde jel elektroferez tekniği kullanılabilir (Turner ve ark., 2004).

3.8. Elektroferez tekniği

Elektroferez, sulu bir çözelti içerisinde çözünmüş veya süspanse olmuş elektrik yüklü parçacıkların anottan katoda doğru göç etmesidir. Agaroz ise deniz yosunundan üretilen bir polisakkarit olup %0,5-2 oranında sulu çözeltilerde katı jel oluşturmaktadır (52).

3.9. RFLP yöntemi ile LEPR G-223A gen polimorfizminin belirlenmesi

LEPR polimorfizminin belirlenmesi amacıyla hastalardan toplanan 52 örnek moleküler bazlı bir yöntem olan PCR-RFLP yöntemi ile değerlendirildi. RFLP-PCR

uygulamaları sırasıyla DNA izolasyonu, LEPR G-223A polimorfizmini içeren bölgelerin PCR ile amplifikasyonu, ampikonların Restriksiyon enzimi (MspI Thermo) ile kesimi ve oluşan fragmentlerin agaroz jelde görüntülenerek tanımlanması olarak belirlendi.

3.9.1. PCR Aşaması

Bu çalışmada, LEPR geninin G-223A rs1137101 polimorfizmini içeren bölgenin amplifikasyonu, PCR yöntemi ile gerçekleştirildi. Hedef bölgeye özgü Forward Primer 5'-CTTTTGT TTTTGT TTTTGC GACAGGGGTGC-3', Reverse Primer olarak ise 5'-GCTCCCTTTGCCCGACCCCG-3' primer dizileri kullanılarak özgül DNA segmenti çoğaltıldı.

3.9.2. Bileşenler

1. 10X PCR tamponu-----→2,5 µl
2. dNTP (25mM)-----→ 0,3 µl
3. MgCl₂ (250 mM) -----→ 1,7 µl
4. Primerler
Forward primer (10 µM) -----→ 0,6 µl
Reverse primer (10 µM) -----→ 0,6 µl
5. Taq DNA polimeraz (10 U/µl) -----→ 0,1 µl
6. Deiyonize su -----→ 16,2 µl
7. Kalıp DNA -----→ 3,0 µl
- Toplam -----→ 25 µl

Tüm bileşenler 0.2 ml PCR tüplerine ilave edilerek pipetleme ile homojenleştirilmiş ve kısa süreli santrifüj uygulanarak içerik tüp tabanına toplandı. Ardından tüpler termal döngü cihazına (thermal cycler, Techne, TC 4000, TC 412) yerleştirildi.

3.9.3 PCR Protokolü

PCR işlemi aşağıda belirtilen sıcaklık ve sürelerden oluşan program kullanılarak gerçekleştirildi:

1. Başlangıç denatürasyonu: 94 °C'de 5 dakika
2. Amplifikasyon döngüleri (36 döngü):
 - Denatürasyon: 94 °C'de 30 saniye
 - Primer bağlanması (annealing): 53 °C'de 30 saniye
 - Uzama: 72 °C'de 45 saniye
3. Final uzama: 72 °C'de 10 dakika
4. Saklama: 4 °C'de bekletildi.

3.9.4. Agaroz Jel Elektroforezi ile PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi

PCR işlemi sonrasında elde edilen ürünler, %2 agaroz jel içerisinde elektroforez yöntemiyle analiz edildi. Jel yürütme işlemi 120 volt altında 20 dakika boyunca gerçekleştirildi ve referans olarak 100 bp'lik DNA Ladder (Genesta™) kullanıldı. Jel, Etidyum Bromür (EtBr) ile boyandı ve UV transillüminatör altında görüntülendi. PCR ile amplifiye edilen hedef DNA bölgesinin yaklaşık uzunluğu 421 baz çifti (bp) olarak belirlendi.

3.9.5. RFLP

PCR ile çoğaltılan ampliconlar, identifikasyon için MspI (thermo) restriksiyon enzimi ile kesildi. Kesim sonucu ortaya çıkan DNA fragmentlerindeki polimorfizm LEPR geninin G223A düzeyinde tanımlanması sağlandı.

Bu çalışmada restriksiyon enzimi ile kesiminde bileşim oranları aşağıdaki gibidir.

• Deiyonize dH ₂ O	8.5 µl
• Tampon	1.2 µl
• Enzim (Msp I) (thermo scientific)	0.3 µl
• PCR Ürünü	10 µl
Toplam	20 µl

LEPR G223A gen polimorfizmini belirlemeye yönelik hazırlanan reaksiyon karışımı, üretici firmanın önerileri doğrultusunda, Msp I (Thermo Scientific) restriksiyon enzimi ile optimum aktiviteyi sağlamak amacıyla 1,5 saat boyunca 37 °C’de inkübe edildi. Restriksiyon enzimi ile kesim sonrası oluşan DNA fragmentlerinin analiz edilebilmesi için amplikonlar, %2 agaroz jel içerisinde elektroforez yoluyla migrasyonel seperasyona tabi tutuldu.

Jel, ultraviyole (UV) ışık altında incelendiğinde; 421 bp uzunluğundaki bant A-223A genotipini, 294 ve 127 bp uzunluğundaki fragmentler ise G-223A genotipini temsil etti. Buna göre, hasta ve kontrol grubundaki bireylerin LEPR G-223A (rs 1137101) polimorfizmi; homozigot normal (GG), heterozigot (GA) ve homozigot mutant (AA) olarak sınıflandırıldı.

3.10. İstatistiksel analiz

İstatistiksel veriler IBM SPSS Statistics 20.0 yazılımı kullanılarak analiz edildi. Veri dağılımının normalliğini değerlendirmek amacıyla Shapiro-Wilk testi uygulandı. Normal dağılım gösteren parametreler parametrik testlerle analiz edildi ve ortalama $\pm$ standart sapma (SS) şeklinde ifade edildi. Normal dağılım göstermeyen parametreler ise medyan, minimum ve maksimum değerler ile ifade edilerek non-parametrik testlerle analiz edildi. İki grup karşılaştırmaları, veriler normal dağılım gösterdiğinde bağımsız örneklem t-testi ile, normal dağılım göstermediğinde ise Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Çalışma parametrelerinin ortalama ve medyan değerlerinin ikiden fazla grup arasında anlamlılığını belirlemek amacıyla Kruskal-Wallis testi uygulandı. Sonuçlar $p < 0.05$ değeri altında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Leptin, ALK ve CD44’ün obezite için biyobelirteç olarak tanısal potansiyelini araştırmak amacıyla Receiver Operating Characteristic (ROC) eğrisi analizi uygulandı. Tanısal performans, eğri altında kalan alan (AUC), duyarlılık, özgüllük ve cut-off (eşik) değerlerine göre değerlendirildi. ROC analizinde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Allel ve genotip frekanslarının analizi için SPSS 16.0 ve WinPepi (Sürüm 11.65) istatistik yazılımı kullanıldı. Hasta ve kontrol gruplarındaki genotip ve allel frekansları χ^2 testi kullanılarak belirlenmiştir. $P < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 18-74 yaş aralığında 15 morbid obez, 26 şişman, 12 hafif şişman ve 23 sağlıklı kontrol, olmak üzere toplam 76 kadın olgu dahil edilmiştir. Normal BKİ aralığında olan kontrol grubu ile obez hasta grupları, çalışma parametreleri açısından analiz edilmiş, normal dağılım göstermeyen parametreler için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır (Tablo 4.1). BKİ (kg/m^2) ($p < 0,001$) obez ve kontrol gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuş, rutin biyokimya analizinde ise ALT (U/L) ($p = 0,006$) obez gruplarda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Obez ve kontrol gruplarda, ELISA yöntemi ile bakılan ALK (ng/mL) ($p = 0,001$) ve Leptin (ng/mL) ($p = 0,001$) düzeyleri obez bireylerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$) (Tablo 4.1). Bunun dışında; yaş, glikoz (mg/dL), trigliserid(mg/dL), LDL (mg/dL), kreatinin(mg/dL), AST(U/L), HbA1c, TSH ($\mu\text{IU/mL}$), T4($\mu\text{g/dL}$), ferritin(ng/mL), D3(ng/mL), CD44(ng/mL) gibi diğer parametrelerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Çalışma Parametrelerinin, Çalışmanın Ana Grupları Olan Obez ve Kontrol Gruplar Arasında Karşılaştırılması

Parametre	Obez n= 53	Kontrol n=23	P-Değeri
Yaş	41,0 (21,0 – 74,0)	37,5 (18,0 – 55,0)	0,145*
BKI (kg/m^2)	35,0 (26,0 – 48,0)	23,0 (20,0 – 25,0)	<0,001*
Glikoz(mg/dL)	94,0 (60,8 – 146,0)	92,5 (84,0 – 107,0)	0,522*
TG (mg/dL)	102,0 (48,0 – 299,0)	83,0 (58,0 – 173,0)	0,289*
LDL (mg/dL)	117,7 (49,0 – 189,3)	122,0 (85,1 – 196,4)	0,640*
Kreatinin(mg/dL)	0,7 (0,4 – 0,9)	0,6 (0,5 – 0,7)	0,366*
ALT(U/L)	16,9 (8,0 – 63,0)	10,7 (8,0 – 39,0)	0,006*
AST(U/L)	17,0 (11,2 – 44,0)	16,0 (12,0 – 34,0)	0,439*
HBA1C (%)	5,5 (4,5 – 7,1)	5,3 (4,8 – 5,5)	0,082*
TSH($\mu\text{IU/mL}$)	2,6 (0,02 – 12,4)	1,5 (0,1 – 4,8)	0,158*
T4($\mu\text{g/dL}$)	1,2 (0,9 – 1,8)	1,2 (0,9 – 1,6)	0,633*
Ferritin(ng/mL)	23,8 (9,3 – 116,4)	30,3 (5,7 – 78,7)	0,956*
D3(ng/mL)	19,4 (7,7 – 47,3)	18,3 (3,3 – 32,6)	0,340*
ALK (ng/mL)	0,3 (0,2 – 2,4)	0,2 (0,1 – 0,4)	0,001*
CD44(ng/mL)	385,0 (180,1 – 3093,5)	300,1 (202,0 – 1055,4)	0,082*
Leptin(ng/mL)	4,3 (3,1 – 35,7)	3,6 (3,1 – 6,9)	0,001*

*Mann-Whitney U-Test, $p < 0,05$

Bu çalışmada, BKİ'ye (kg/m²) göre sınıflandırılan dört farklı grubun (morbid obez, şişman, hafif şişman ve kontrol grubu) çeşitli biyokimyasal ve hormonal parametreleri karşılaştırılmıştır. Parametreler arasındaki farklar parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiştir (Tablo 4.2).

Analizler sonucunda gruplar arasında anlamlı bulunması beklenen BKİ (kg/m²) ($p < 0,001$), biyokimya analizinde ALT(U/L) ($p = 0,038$), ELISA yöntemi ile bakılan ALK (ng/mL) ($p = 0,002$) ve Leptin (ng/mL) ($p = 0,002$) düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0,05$) (Tablo 4.2).

Buna karşın, glikoz(mg/dL), HbA1c(%), lipid profili (mg/dL) (TG, LDL), tiroid fonksiyon testleri (TSH (μ IU/mL), T4(μ g/dL)), ferritin(ng/mL), D vitamini(ng/mL), CD44(ng/mL) düzeyleri arasında tablo 4.2'ye bakıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Dört Grup Arasında Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması

Parametre	Morbid Obez n= 15	Şişman n= 26	Hafif Şişman n= 12	Kontrol n= 23	P-Değeri
Yaş	42,0 (21,0 – 57,0)	41,0 (21,0- 61,0)	39,0 (24,0 – 74,0)	37,5 (18,0 – 55,0)	0,435*
BKI (kg/m ²)	42,0 (40,0 – 48,0)	35,0 (30,0 – 39,0)	28,0 (26,0 – 29,0)	23,0 (20,0 -25,0)	<0,001*
Glikoz(mg/dL)	95,0 (86,1 – 146,0)	93,0 (60,8 – 122,0)	95,0 (79,0 – 118,0)	92,5 (84,0 – 107,0)	0,797*
TG (mg/dL)	102,0 (63,4 – 276,0)	102,0 (48,0 – 299,0)	104,0 (67,0 – 247,0)	83,0 (58,0 – 173,0)	0,680*
LDL (mg/dL)	103,0 (49,0 – 157,0)	117,8 (75,1 – 172,0)	140,6 (64,0 – 189,30)	122,0 (85,1 – 196,4)	0,139*
Kreatinin(mg/dL)	0,6 (0,4 – 0,9)	0,7 (0,4 – 0,9)	0,7 (0,4 – 0,9)	0,6 (0,5 – 0,7)	0,660*
ALT(U/L)	17,7 (10,0 – 25,3)	15,5 (8,0 – 63,0)	15,0 (8,0 – 26,0)	10,7 (8,0 – 39,0)	0,038*
AST(U/L)	15,5 (12,7 – 22,0)	17,1 (11,2 – 44,0)	17,0 (14,3 – 21,0)	16,0 (12,0 – 34,0)	0,465*
HBA1C (%)	5,7 (4,9 – 6,6)	5,5 (4,5 – 7,1)	5,4 (4,7 – 7,0)	5,3 (4,8 – 5,5)	0,290*
TSH(μIU/mL)	1,9 (0,8 – 11,8)	2,9 (0,02 – 12,37)	1,93 (1,3 – 3,8)	1,4 (0,1 – 4,8)	0,519*
T4(μg/dL)	1,1 (0,9 – 1,4)	1,2 (0,9 – 1,78)	1,1 (1,0 – 1,3)	1,2 (0,9 – 1,6)	0,461*
Ferritin(ng/mL)	32,8 (14,5 – 98,0)	19,2 (9,3 – 116,4)	29,8 (16,4 – 69,4)	30,3 (5,7 – 78,7)	0,483*
D3(ng/mL)	13,0 (10,2 – 22,6)	21,8 (8,8 – 47,4)	27,2 (7,7 – 31,9)	18,3 (3,3 – 32,6)	0,254*
ALK (ng/mL)	0,4 (0,2 – 2,4)	0,3 (0,2 – 2,3)	0,3 (0,2 – 0,9)	0,2 (0,1 – 0,4)	0,002*
CD44(ng/mL)	408,5 (296,8 – 2087,7)	347,3 (180,0 – 3093,5)	387,8 (277,3 – 1215,7)	300,1 (202,0 – 1055,4)	0,121*
Leptin(ng/mL)	4,3 (3,5 – 35,7)	4,5 (3,1 – 15,24)	3,8 (3,4 – 11,02)	3,6 (3,1 – 6,9)	0,002*

*Kruskal Wallis test, $p<0,05$

Çalışmanın bir sonraki aşaması, morbid obez (n=15) ve hafif şişman (n=12) bireyler arasında çeşitli biyokimyasal ve hormonal parametreler karşılaştırılmaktadır. Normal dağılım gösteren veriler için bağımsız örneklem t testi, normal dağılmayan veriler için ise Mann-Whitney U testi kullanılmıştır (Tablo 4.3). İstatistiksel analizler sonucunda BKİ (kg/m²), LDL (mg/dL) ve ALK (ng/mL) düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (BKİ (kg/m²), p<0,001; LDL (mg/dL), p=0,029; ALK (ng/mL), p=0,028). Morbid obez bireylerde BKİ (kg/m²) ve ALK (ng/mL) düzeylerinin daha yüksek, LDL (mg/dL) düzeylerinin ise daha düşük olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.3).

Diğer yandan tablo 4.3'ye bakıldığında, yaş, glikoz (mg/dL), TG (mg/dL), ALT(U/L), AST(U/L), HbA1c(%), kreatinin, tiroid fonksiyon testleri (TSH, T4), ferritin, D3, CD44 (ng/mL) ve Leptin(ng/mL) düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Morbid Obez ve Hafif Şişman Gruplarının Çalışma Parametreleri Açısından Karşılaştırılması

Parametre	Morbid Obez n= 15	Hafif Şişman n= 12	P-Değeri
Yaş	42,3±10,7	44,0±14,8	0,737*
BKİ (kg/m ²)	43,1±2,7	27,7±1,2	<0,001*
Glikoz(mg/dL)	95,0 (86,1 – 146,0)	95,0 (79,0 – 118,0)	0,557**
TG (mg/dL)	102,0 (63,4 – 276,0)	104,0 (67,0 – 247,0)	0,879**
LDL (mg/dL)	103,6±30,3	141,1±42,6	0,029*
Kreatinin(mg/dL)	0,7±0,1	0,7±0,1	0,681*
ALT(U/L)	17,7 (10,0 – 25,3)	15,0 (8,0 – 26,0)	0,241**
AST(U/L)	15,5 (12,7 – 22,0)	17,0 (14,3 – 21,0)	0,228**
HBA1C (%)	5,6±0,5	5,5±0,6	0,607*
TSH(μIU/mL)	1,9 (0,8 – 11,8)	1,93 (1,3 – 3,8)	0,624**
T4(μg/dL)	1,1±0,2	1,1±0,1	0,917*
Ferritin(ng/mL)	32,8 (14,5 – 98,0)	29,8 (16,4 – 69,4)	0,506**
D3(ng/mL)	14,7±5,0	21,9±10,1	0,158*
ALK (ng/mL)	0,4 (0,2 – 2,4)	0,3 (0,2 – 0,9)	0,028**
CD44(ng/mL)	408,5 (296,8 – 2087,7)	387,8 (277,3 – 1215,7)	0,126**
Leptin(ng/mL)	4,3 (3,5 – 35,7)	3,8 (3,4 – 11,02)	0,060**

*Independent Sample T-test, p<0,05

**Mann-Whitney U test, p<0,05

Morbid obez (n=15) ve kontrol gruplar (n=23) çalışma parametreleri açısından analiz edilmiştir. Normal dağılım göstermeyen parametreler için Mann-Whitney U testi, varyanslar homojen olup normal dağılım gösteren parametreler bağımsız örneklem t-testi kullanılmıştır (Tablo 4.4). Her iki testte de $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Bağımsız T-testine göre anlamlı parametreler BKİ (kg/m^2) ($p < 0,001$), HbA1c (%) ($p = 0,048$) iken Mann-Whitney U testine göre morbid obez gruplarında ELISA yöntemi ile değerlendirilen ALK (ng/mL) ($p < 0,001$), CD44(ng/mL) ($p = 0,019$) ve leptin(ng/mL) ($p = 0,001$) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir (Tablo 4.4).

Buna karşın tablo 4.4'te de gösterildiği üzere yaş, glikoz (mg/dL), TG (mg/dL), LDL (mg/dL), kreatinin (mg/dL), ALT (U/L), AST (U/L), TSH ($\mu\text{IU/mL}$), T4 (ng/dL), ferritin (ng/mL) ve D vitamini (ng/mL) düzeylerinde iki grup arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Morbid Obez ve Kontrol Gruplar Arasındaki Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması

Parametre	Morbid Obez n= 15	Kontrol n= 23	P-Değeri
Yaş	42,3±10,7	35,6±12,8	0,141*
BKİ (kg/m^2)	43,1±2,7	22,7±1,8	<0,001*
Glikoz(mg/dL)	95,0 (86,1 – 146,0)	92,5 (84,0 – 107,0)	0,341**
TG (mg/dL)	102,0 (63,4 – 276,0)	83,0 (58,0 – 173,0)	0,320**
LDL (mg/dL)	103,6±30,3	132,4±48,3	0,129*
Kreatinin(mg/dL)	0,7±0,1	0,6±0,1	0,541*
ALT(U/L)	17,7 (10,0 – 25,3)	10,7 (8,0 – 39,0)	0,110**
AST(U/L)	15,5 (12,7 – 22,0)	16,0 (12,0 – 34,0)	0,624**
HBA1C (%)	5,6±0,5	5,2±0,3	0,048*
TSH($\mu\text{IU/mL}$)	1,9 (0,8 – 11,8)	1,4 (0,1 – 4,8)	0,328**
T4($\mu\text{g/dL}$)	1,1±0,2	1,2±0,2	0,359*
Ferritin(ng/mL)	32,8 (14,5 – 98,0)	30,3 (5,7 – 78,7)	0,421**
D3(ng/mL)	14,7±5,0	14,5±10,5	0,567*
ALK (ng/mL)	0,4 (0,2 – 2,4)	0,2 (0,1 – 0,4)	<0,001**
CD44(ng/mL)	408,5 (296,8 – 2087,7)	300,1 (20,0 – 1055,4)	0,019**
Leptin(ng/mL)	4,3 (3,5 – 35,7)	3,6 (3,1 – 6,9)	0,001**

*Independent Sample T-test, $p < 0,05$

**Mann-Whitney U test, $p < 0,05$

Çalışma parametreleri morbid obez (n=15) ve şişman olgularda (n=26) Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiş ve $p < 0,05$ olan parametreler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (Tablo 4.5).

Morbid obez (n=15) ve şişman (n=26) bireyler arasında yapılan karşılaştırmada yalnızca BKİ, (kg/m^2) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Morbid obez grubun BKİ şişman bireylere kıyasla anlamlı ölçüde daha yüksek bulunmuştur; bu da obezitenin derecesinin gruplar arasında belirgin şekilde ayrıştığını göstermektedir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5'e bakıldığında diğer parametreler olan yaş, glikoz (mg/dL), TG (mg/dL), LDL (mg/dL), kreatinin (mg/dL), ALT (U/L), AST (U/L), HbA1c (%), TSH ($\mu\text{IU/mL}$), serbest T4 (ng/dL), ferritin (ng/mL), D vitamini (ng/mL), ALK (ng/mL), CD44 (ng/mL) ve leptin (ng/mL) düzeyleri bakımından iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Morbid Obez ve Şişman Gruplar Arasındaki Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması

Parametre	Morbid Obez n= 15	Şişman n= 26	P-Değeri
Yaş	42,0 (21,0 – 57,0)	41,0 (21,0-61,0)	0,495*
BKİ (kg/m^2)	42,0 (40,0 – 48,0)	35,0 (30,0 – 39,0)	<0,001*
Glikoz(mg/dL)	95,0 (86,1 – 146,0)	93,0 (60,8 – 122,0)	0,482*
TG (mg/dL)	102,0 (63,4 – 276,0)	102,0 (48,0 – 299,0)	0,529*
LDL (mg/dL)	103,0 (49,0 – 157,0)	117,8 (75,1 – 172,0)	0,181*
Kreatinin(mg/dL)	0,6 (0,4 – 0,9)	0,7 (0,4 – 0,9)	1,0*
ALT(U/L)	17,7 (10,0 – 25,3)	15,5 (8,0 – 63,00)	0,988*
AST(U/L)	15,5 (12,7 – 22,0)	17,1 (11,2 – 44,0)	0,260*
HBA1C (%)	5,7 (4,9 – 6,6)	5,5 (4,5 – 7,1)	0,617*
TSH($\mu\text{IU/mL}$)	1,9 (0,8 – 11,8)	2,9 (0,02 – 12,37)	0,589*
T4($\mu\text{g/dL}$)	1,1 (0,9 – 1,4)	1,2 (0,9 – 1,78)	0,215*
Ferritin(ng/mL)	32,8 (14,5 – 98,0)	19,2 (9,3 – 116,4)	0,172*
D3(ng/mL)	13,0 (10,2 – 22,6)	21,8 (8,8 – 47,4)	0,055*
ALK (ng/mL)	0,4 (0,2 – 2,4)	0,3 (0,2 – 2,3)	0,201*
CD44(ng/mL)	408,5 (296,8 – 2087,7)	347,3 (180,0 – 3093,5)	0,165*
Leptin(ng/mL)	4,3 (3,5 – 35,7)	4,4 (3,1 – 13,1)	0,922*

*Mann-Whitney U test, $p < 0,05$

Hafif şişman (n=12) ve kontrol grupları (n=23) çalışma parametreleri Mann-Whitney U testi ve Bağımsız Örneklem T testi ile analiz edilmiştir (Tablo 4.6). Her iki testte de $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Tablo 4.6'ya bakıldığında bağımsız örneklem T testine göre BKİ (kg/m^2) ($p < 0,001$) istatistiksel olarak anlamlı bulunurken Mann Whitney U testine göre hafif şişman olgularda ALK (ng/mL) ($p = 0,046$) düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir (Tablo 4.6).

Buna karşın, diğer biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Bu parametreler arasında yaş (yıl), glikoz (mg/dL), TG (mg/dL), LDL, (mg/dL), kreatinin (mg/dL), ALT (U/L), AST (U/L), HbA1c (%), TSH ($\mu\text{IU/mL}$), serbest T4 (ng/dL), ferritin (ng/mL), D vitamini (ng/mL), CD44 (ng/mL) ve leptin (ng/mL) düzeyleri yer almaktadır ($p > 0,05$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Kontrol ve Hafif Şişman Gruplar Arasındaki Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması

Parametre	Hafif Şişman n= 12	Kontrol n= 23	P-Değeri
Yaş	44,0±14,8	35,6±12,8	0,136*
BKİ (kg/m^2)	27,7±1,2	22,7±1,8	<0,001*
Glikoz(mg/dL)	95,0 (79,0 – 118,0)	92,5 (84,0 – 107,0)	0,776**
TG (mg/dL)	104,0 (67,0 – 247,0)	83,0 (58,0 – 173,0)	0,406**
LDL (mg/dL)	141,1±42,6	132,4±48,3	0,725*
Kreatinin(mg/dL)	0,7±0,1	0,6±0,1	0,235*
ALT(U/L)	15,0 (8,0 – 26,0)	10,7 (8,0 – 39,0)	0,568**
AST(U/L)	17,0 (14,3 – 21,0)	16,0 (12,0 – 34,0)	0,753**
HBA1C (%)	5,5±0,6	5,2±0,3	0,217*
TSH($\mu\text{IU/mL}$)	1,93 (1,3 – 3,8)	1,4 (0,1 – 4,8)	0,468**
T4($\mu\text{g/dL}$)	1,1±0,1	1,2±0,2	0,327*
Ferritin(ng/mL)	29,8 (16,4 – 69,4)	30,3 (5,7 – 78,7)	0,931**
D3(ng/mL)	21,9±10,1	14,5±10,5	0,444*
ALK (ng/mL)	0,3 (0,2 – 0,9)	0,2 (0,1 – 0,4)	0,046**
CD44(ng/mL)	387,8 (277,3 – 1215,7)	300,1 (202,0 – 1055,4)	0,143**
Leptin(ng/mL)	3,8 (3,4 – 11,02)	3,6 (3,1 – 6,9)	0,060**

*Independent Sample T-test, $p < 0,05$

**Mann-Whitney U test, $p < 0,05$

Mann-Whitney U testi kullanılarak hafif şişman (n=12) ve şişman gruplar (n=26) arasında yapılan analizde ise gruplar arasında yalnızca BKİ (kg/m²) (p <0,001) anlamlı bir farklılık göstermiştir (Tablo 4.7).

Diğer parametrelerde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p>0,05) (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Şişman ve Hafif Şişman Gruplar Arasındaki Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması

Parametre	Hafif Şişman n= 12	Şişman n= 26	P-Değeri
Yaş	39,0 (24,0 – 74,0)	41,0 (21,0-61,0)	0,525*
BKİ (kg/m ²)	28,0 (26,0 – 29,0)	35,0 (30,0 – 39,0)	<0,001*
Glikoz(mg/dL)	95,0 (79,0 – 118,0)	930 (60,8 – 122,0)	0,953*
TG (mg/dL)	104,0 (67,0 – 247,0)	102,0 (48,0 – 299,0)	0,793*
LDL (mg/dL)	140,6 (64,0 – 189,30)	117,8 (75,1 – 172,0)	0,139*
Kreatinin(mg/dL)	0,7 (0,4 – 0,9)	0,7 (0,4 – 0,9)	0,370*
ALT(U/L)	15,0 (8,0 – 26,0)	15,5 (8,0 – 63,0)	0,538*
AST(U/L)	17,0 (14,3 – 21,0)	17,1 (11,2 – 44,0)	0,858*
HBA1C (%)	5,4 (4,7 – 7,0)	5,5 (4,5 – 7,1)	0,772*
TSH(µIU/mL)	1,93 (1,3 – 3,8)	2,9 (0,02 – 12,37)	0,629*
T4(µg/dL)	1,1 (1,0 – 1,3)	1,2 (0,9 – 1,78)	0,253*
Ferritin(ng/mL)	29,8 (16,4 – 69,4)	19,2 (9,3 – 116,4)	0,274*
D3(ng/mL)	27,2 (7,7 – 31,9)	21,8 (8,8 – 47,4)	1,0*
ALK (ng/mL)	0,3 (0,2 – 0,9)	0,3 (0,2 – 2,3)	0,451*
CD44(ng/mL)	387,8 (277,3 – 1215,7)	347,3 (180,0 – 3093,5)	0,730*
Leptin(ng/mL)	3,8 (3,4 – 11,02)	4,5 (3,1 – 15,24)	0,056*

*Mann-Whitney U test, p<0,05

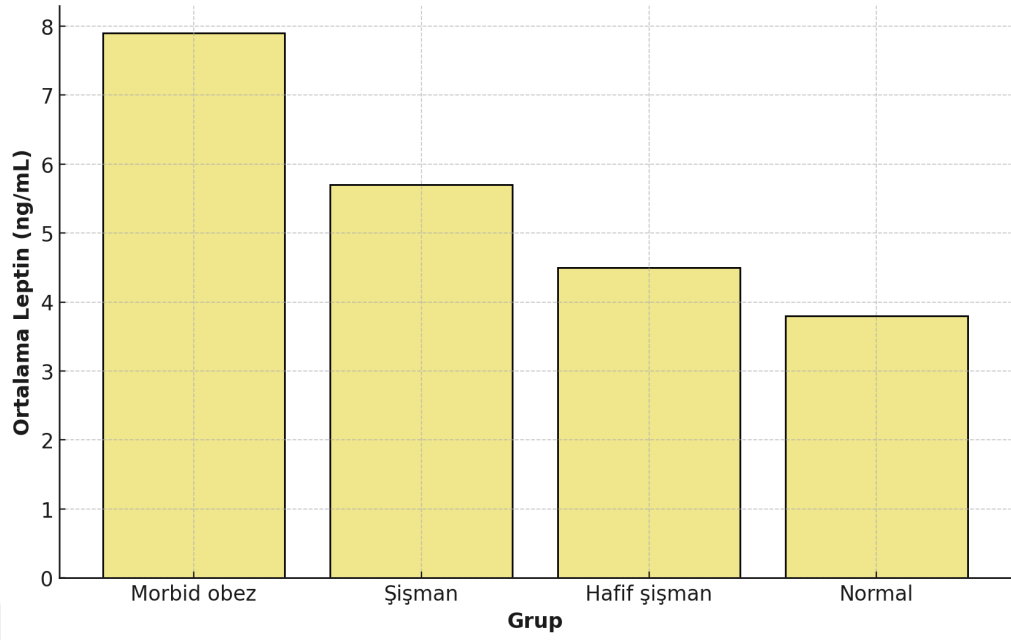
Kontrol (n=23) ve şişman(n=26) bireyler arasında çalışma parametrelerinin karşılaştırılması sonucunda BKİ (kg/m²) iki grup arasında anlamlı bir şekilde farklı bulunmuştur (p <0,001). ALT(U/L) düzeyleri şişman grupta anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (p = 0,011). ALK (ng/mL) düzeyleri de iki grup arasında anlamlı bir farklılık göstermiştir (p = 0,046) (Tablo 4.8). Leptin(ng/mL) düzeyleri anlamlı bir şekilde şişman grupta daha yüksek bulunmuştur (p = 0,002). Diğer parametreler açısından iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Şişman ve Kontrol Gruplar Arasındaki Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması

Parametre	Kontrol n= 23	Şişman n= 26	P-Değeri
Yaş	37,5 (18,0 – 55,0)	41,0 (21,0 – 61,0)	0,292*
BKI (kg/m ²)	23,0 (20,0 – 25,0)	35,0 (30,0 – 39,0)	<0,001*
Glikoz(mg/dL)	92,5 (84,0 – 107,0)	93,0 (60,8 – 122,0)	0,704*
TG (mg/dL)	83,0 (58,0 – 173,0)	102,0 (48,0 – 299,0)	0,476*
LDL (mg/dL)	122,0 (85,1 – 196,4)	117,8 (75,1 – 172,0)	0,755*
Kreatinin(mg/dL)	0,6 (0,5 – 0,7)	0,7 (0,4 – 0,9)	0,497*
ALT(U/L)	10,7 (8,0 – 39,0)	15,5 (8,0 – 63,0)	0,011*
AST(U/L)	16,0 (12,0 – 34,0)	17,1 (11,2 – 44,0)	0,344*
HBA1C (%)	5,3 (4,8 – 5,5)	5,5 (4,5 – 7,1)	0,152*
TSH(µIU/mL)	1,4 (0,1 – 4,8)	2,9 (0,02 – 12,37)	0,252*
T4(µg/dL)	1,2 (0,9 – 1,6)	1,2 (0,9 – 1,78)	0,723*
Ferritin(ng/mL)	30,3 (5,7 – 78,7)	19,2 (9,3 – 116,4)	0,557*
D3(ng/mL)	18,3 (3,3 – 32,6)	21,8 (8,8 – 47,4)	0,238*
ALK (ng/mL)	0,2 (0,1 – 0,4)	0,3 (0,2 – 2,3)	0,046*
CD44(ng/mL)	300,1 (202,0 – 1055,4)	347,3 (180,0 – 3093,50)	0,141*
Leptin(ng/mL)	3,6 (3,1 – 6,9)	4,5 (3,1 – 15,24)	0,002*

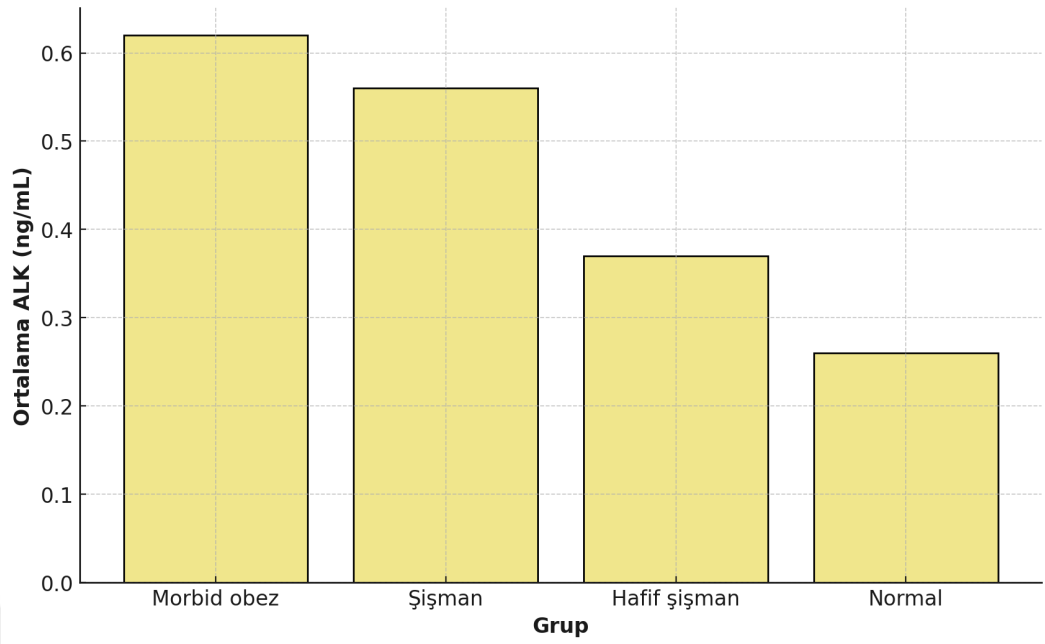
*Mann-Whitney U test, $p<0,05$

Morbid obez, şişman, hafif şişman ve kontrol gruplara ait leptin ortalama düzeylerinin grafiksel gösterimi şekil 4.1'deki gibidir. En yüksek ortalama leptin düzeyinin morbid obez grupta olduğu, bunu sırasıyla şişman, hafif şişman ve kontrol grupların izlediği gözlemlenmiştir. Kontrol grupta leptin düzeyinin en düşük olduğu dikkat çekmiştir. Obezite ile paralel seyreden düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçülen leptin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren bir parametre olarak bulunmuştur.



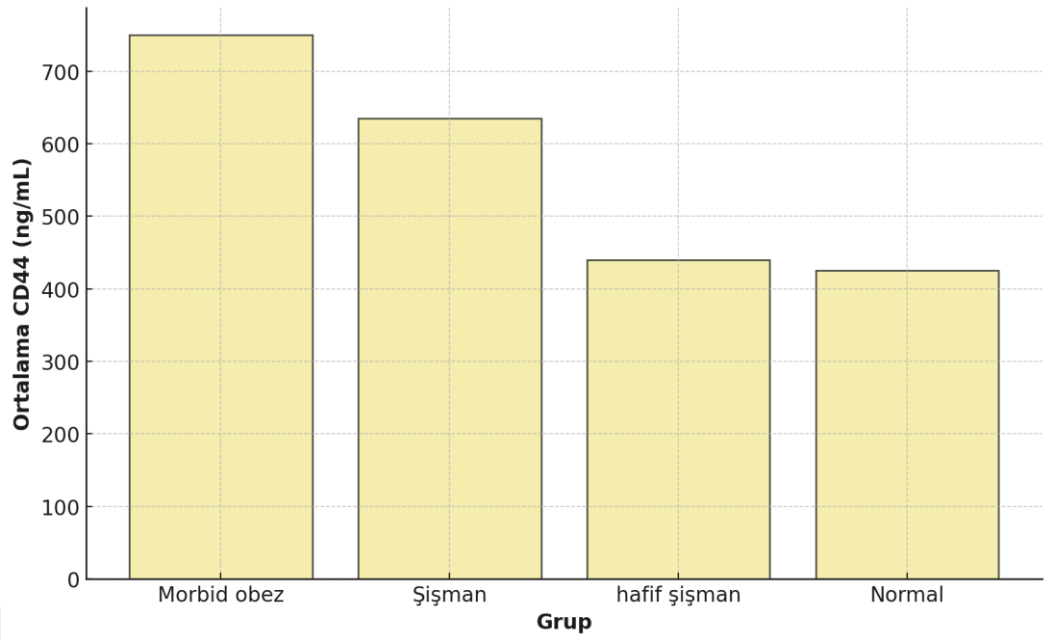
Şekil 4.1. Kontrol, Hafif Şişman, Şişman ve Morbid Obez Bireylerde Ortalama Leptin Düzeyleri

Şekilde 4.2’de, BKİ’ye göre gruplandırılmış bireylerde ölçülen ortalama ALK düzeyleri karşılaştırılmıştır. En yüksek ortalama ALK düzeyinin morbid obez grupta olduğu, bunu sırasıyla şişman, hafif şişman ve kontrol grupların izlediği gözlemlenmiştir. Kontrol grupta ALK düzeyinin en düşük seviyede olduğu dikkat çekmiştir. Bu durum, BKİ arttıkça ALK düzeylerinde artış eğilimi olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamızda 4 grup arasında yapılan karşılaştırmada ALK düzeyleri için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Kontrol, Hafif Şişman, Şişman ve Morbid Obez Bireylerde Ortalama ALK Düzeyleri

Kontrol, hafif şişman, şişman ve morbid obez gruplarda ortalama CD44 düzeylerine bakılmış buna göre morbid obez bireylerde CD44 düzeylerinin diğer gruplara kıyasla daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Şişman grubun da hafif şişman ve kontrol gruplara göre daha yüksek ortalama CD44 düzeyine sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.3). Ortalama CD44 düzeyi en düşük kontrol grupta bulunmuştur. Bu durum, BKİ'deki artışla birlikte CD44 düzeylerinde de artış eğilimi olabileceğini düşündürmektedir (Şekil 4.3).



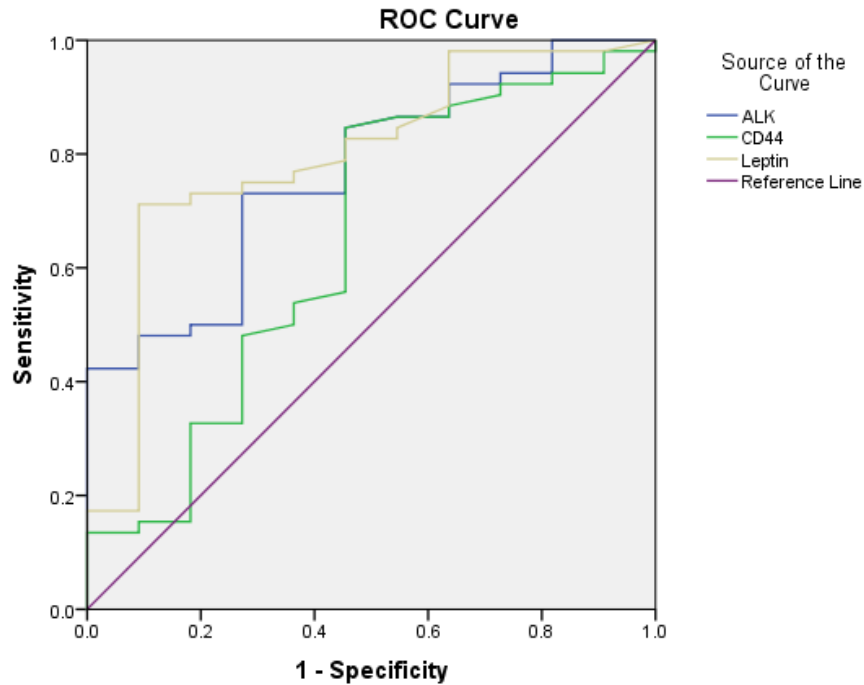
Şekil 4.3. Kontrol, Hafif Şişman, Şişman ve Morbid Obez Bireylerde Ortalama CD44 Düzeyleri

Şekil 4.4'te ALK, CD44 ve Leptin düzeylerinin tanısal gücünü değerlendirmek amacıyla oluşturulan Receiver Operating Characteristic (ROC) eğrilerinin verileri gösterilmiştir. ALK ve leptin, sırasıyla $p = 0,005$ ve $p = 0,002$ değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir. ALK için eğri altındaki alan (AUC) 0,768, leptin için ise 0,797 olarak bulunmuştur. ALK'da 0,277 pg/ml kesme noktası kullanıldığında, duyarlılık %73,1 ve özgüllük %72,7 olarak hesaplanmıştır. Leptin için ise 3,90 pg/ml kesme noktası ile duyarlılık %71,2 ve özgüllük %90,9 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.9) (Şekil 4.4).

Tablo 4.9. Gruplar Arasında ALK, CD44 ve Leptin Verilerine ait ROC Eğrisi Sonuçları

Biyobelirteç	AUC (%95)	P Değeri	Kesim Noktası	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
ALK (ng/ml)	0,768	0,005	0,277	73,1	72,7
CD44 (ng/ml)	0,697	-	-	-	-
Leptin (ng/ml)	0,797	0,002	3,90	71,2	90,9

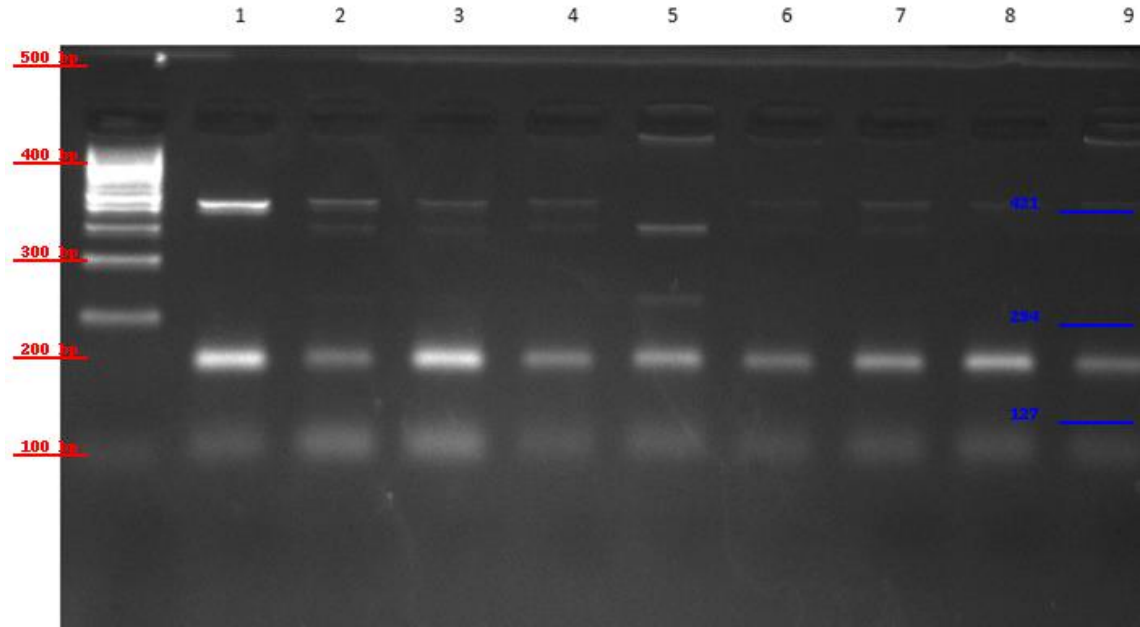
ROC analizi, biyobelirteçlerin özgüllük (Spesifite) ve duyarlılık (sensitivite) değerleri arasındaki ilişkiyi inceleyerek ayırt edicilik performansını ortaya koymaktadır. Referans çizgisine (mor çizgi) olan uzaklık, testin tanı gücünü yansıtmaktadır. Eğriler incelendiğinde, ALK ve Leptin'in ROC eğrileri referans çizgisinin belirgin şekilde üzerinde yer almakta olup, bu iki biyobelirtecin orta düzeyde tanısal ayırt ediciliğe sahip olduğu görülmüştür. Buna karşılık CD44'ün eğrisi ise referans doğrusuna daha yakın olup, göreceli olarak daha düşük bir tanısal performans sergilemiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. ALK, CD44 ve Leptin biyobelirteçlerine ait ROC eğrileri ile tanısal performansın karşılaştırılması

Çalışmamızın ikinci basamağında olguların LEPR G223A (rs1137101) polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemi belirlendi (Şekil 4.5). Rastgele olacak şekilde obez gruplarından 29 olgu belirlenerek kontrole(n=23) göre gen polimorfizm sonuçları değerlendirildi. Buna göre, LEPR G223A (rs1137101) gen polimorfizmine ait genotip ve allel frekansları hasta (n=29) ve kontrol (n=23) grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir($p>0,05$). Genotip dağılımı incelendiğinde, hasta grubunda AA genotipi %44,8, AG genotipi %48,3 ve GG genotipi %6,9 oranında tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise AA %43,5, AG %52,2 ve GG %4,3 oranında gözlenmiştir. Genotip grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,95$) (Tablo 4.10).

Allel frekansları açısından değerlendirildiğinde, A alleli hasta grubunda %69,0, kontrol grubunda ise %69,6 oranında saptanmış; G alleli hasta grubunda %31,0, kontrol grubunda ise %30,4 oranında saptanmış; bu fark da istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır ($p=0,91$). Genotipik modellemede (AA+AG vs GG) $p=0,78$ ve (AA vs AG+GG) $p=0,89$ bulunmuştur. (Tablo 4.10).



Şekil 4.5. RFLP Analizine ait %2'lik Agaroz Jel Elektroforez Görüntüsü

Tablo 4.10. LEPR G223A (rs1137101) Polimorfizminin Genotip ve Allel Dağılımının Morbid Obez ve Kontrol Bireylerde Karşılaştırılması

LEPR G223A (rs1137101)	Hasta Grubu n = 29 (%55,7)	Kontrol Grubu n = 23 (%44,3)	OR (95% CI) p değeri
Genotip			
AA	13 (%44,8)	10 (%43,5)	0,95
AG	14 (%48,3)	12 (%52,2)	
GG	2 (%6,9)	1 (%4,3)	
Allel			
A	40 (%69,0)	32 (%69,6)	0,91
G	18 (%31,0)	14 (%30,4)	
Genotipik Model			
AA + AG vs. GG	27: 2	22: 1	0,78
AA vs. AG + GG	13: 16	10: 13	0,89

Not: Veriler frekans (yüzde) şeklinde sunulmuştur. p değerleri Ki-kare testi ile hesaplanmıştır.

AA(n:23), AG(n:26) ve GG(n:3) genotiplerine sahip bireylerde rutin biyokimya bulguları ile ELISA yöntemi ile ölçülen parametreleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığı karşılaştırılmış, buna göre sadece glikoz(mg/dL) düzeyi gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur (p=0,035) (Tablo 4.11).

AA genotipine sahip bireyler kan glikoz miktarının yüksek görülmesine rağmen, ALK, CD-44 ve leptin parametrelerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. (Tablo 4.11).

Tablo 4.11. AA, AG ve GG Genotip Grupları Arasında Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması

Parametre	AA n= 23	AG n= 26	GG n= 3	P- Değeri
BKI (kg/m ²)	32,0 (20,0 – 48,0)	29,0(20,0-47,0)	35,0 (22,0- 40,0)	0,553*
Glikoz(mg/dL)	99,0 (84,0-146,0)	93,0(79,0-118,0)	89,0 (60,8- 105,0)	0,035*
TG (mg/dL)	125 (61,0 – 276,0)	128,0(48,0-229,0)	76,5 (57,0-162,0)	0,101*
LDL (mg/dL)	117,1(49,0 – 196,4)	120,6(7,1-172,0)	120,6 (67,3- 185,0)	0,945*
Kreatinin(mg/dL)	0,67 (0,4 – 0,9)	0,7 (0,4-0,9)	0,6 (0,4-0,9)	0,407*
ALT(U/L)	15,5 (8,0 – 63,0)	17,0 (9,0 -50,0)	13,3 (8,0-19,0)	0,403*
AST(U/L)	16,6 (11,2 – 44,0)	17,7 (12,5 -36,0)	14,7 (12,0-20,0)	0,246*
HBA1C (%)	5,5 (4,7 – 7,1)	5,4 (4,8 – 6,9)	5,4 (4,5-5,8)	0,540*
TSH(μIU/mL)	1,8 (0,1 – 11,6)	2,0 (0,02 -4,6)	4,2 (0,7-12,3)	0,475*
T4(μg/dL)	1,2 (0,8 -1,7)	1,1 (0,9 – 1,7)	1,2 (0,9-1,4)	0,517*
Ferritin(ng/mL)	29,1 (9,3 – 103,1)	24,3 (5,7 – 97,9)	20,4 (16,3-116,4)	0,882*
D3(ng/mL)	24,5 (3,3 – 47,40)	13,5 (6,4 – 32,6)	19,8 (7,7-42,7)	0,138*
ALK (ng/mL)	0,35 (0,15 – 2,4)	0,3 (0,2 – 2,3)	0,4 (0,2-1,5)	0,108*
CD44(ng/mL)	404,5 (180,0 – 2087,7)	326,5 (231,2 – 2356,1)	361,2 (240,1 – 3093,5)	0,545*
Leptin(ng/mL)	4,2 (3,1 – 16,2)	4,0 (3,1 – 16,26)	4,5 (3,3 – 15,24)	0,532*

*Kruskal Wallis Test, $p<0,05$.

AA (n: 23) ve GG (n:3) genotiplerine sahip bireylerin hormon, biyokimya ve ELISA yöntemi ile ölçülen parametrelerindeki istatistiksel farklılık Man-Whitney U test ile karşılaştırılmış $p<0,05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir (Tablo 4.12). AA ve GG genotip grupları arasında yapılan karşılaştırmada, ilk olarak yaş ve BKI (kg/m²) açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Glikoz(mg/dL) düzeyleri, gruplar arasında anlamlı farklılık gösteren parametrelerden biri olmuştur ($p=0,030$). GG genotip grubunda glikoz(mg/dL) düzeyleri, AA grubuna kıyasla daha düşük bulunmuştur. Benzer

şekilde, TG (mg/dL) düzeyleri de GG grubunda anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır (p=0,019) (Tablo 4.12).

LDL (mg/dL) düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte, GG genotipinin LDL (mg/dL) üzerinde anlamlı bir etkisi görülmemiştir (Tablo 4.12).

Karaciğer fonksiyon testleri olan ALT(U/L) ve AST(U/L) düzeyleri, GG grubunda AA'ya kıyasla biraz daha düşük seyretmiş olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aynı şekilde böbrek fonksiyonu göstergesi olan kreatinin(mg/dL) düzeyleri de gruplar arasında benzer olup anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 4.12).

HbA1c(%) ve TSH (μ IU/mL)-T4(ng/dL) gibi tiroid fonksiyonları, AA ve GG genotipleri arasında anlamlı bir farklılık göstermemektedir. Ferritin(ng/mL) ve vitamin D3(ng/mL) düzeyleri de benzer şekilde genotip grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

ELISA yöntemi ile tayini yapılan ALK (ng/mL), CD44(ng/mL) ve leptin (ng/mL) düzeyleri de gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. Özellikle leptin düzeylerinin benzer olması, bu polimorfizmin doğrudan leptin üretimi üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını düşündürmektedir (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. AA ve GG Genotip Grupları Arasında Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması

Parametre	AA n= 23	GG n= 3	P-Değeri
BKI (kg/m ²)	32,0 (20,0 – 48,0)	35,0 (22,0 – 40,0)	0,938*
Glikoz(mg/dL)	99,0 (84,0 – 146,0)	89,0 (60,8 – 105,0)	0,030*
TG (mg/dL)	125 (61,0 – 276,0)	76,5 (57,0 – 162,0)	0,019*
LDL (mg/dL)	117,1 (49,0 – 196,4)	120,6 (67,3 – 185,0)	0,937*
Kreatinin(mg/dL)	0,67 (0,4 – 0,9)	0,6 (0,4 – 0,9)	0,215*
ALT(U/L)	15,5 (8,0 – 63,0)	13,3 (8,0 – 19,0)	0,476*
AST(U/L)	16,6 (11,2 – 44,0)	14,7 (12,0 – 20,0)	0,199*
HBA1C (%)	5,5 (4,7 – 7,1)	5,4 (4,5 – 5,8)	0,289*
TSH(μIU/mL)	1,8 (0,1 – 116)	4,2 (0,7 – 12,3)	0,266*
T4(μg/dL)	1,2 (0,8 -1,7)	1,2 (0,9 – 1,4)	0,471*
Ferritin(ng/mL)	29,1 (9,3 – 103,1)	20,4 (16,3 – 116,4)	0,660*
D3(ng/mL)	24,5 (3,3 – 47,40)	19,8 (7,7 – 42,7)	0,712*
ALK (ng/mL)	0,35 (0,15 – 2,4)	0,4 (0,2 – 1,5)	0,289*
CD44(ng/mL)	404,5 (180,0 – 2087,7)	361,2 (240,1 – 3093,5)	0,650*
Leptin(ng/mL)	4,2 (3,1 – 16,2)	4,5 (3,3 – 15,24)	0,433*

*Mann-Whitney U-Test, p<0,05.

AA (n: 23) ve AG (n:26) genotiplerine sahip bireylerin hormon, rutin biyokimya ve elisa yöntemi ile ölçülen parametrelerindeki istatistiksel farklılık Mann-Whitney U testi ve Bağımsız Örneklem T testi ile karşılaştırılmış p<0,05 anlamlı olarak kabul edilmiştir (Tablo 4.13).

AA ve AG genotip grupları arasında yaş (p=0,108), BKI (kg/m²) (p=0,329), TG (mg/dL) (p=0,395), LDL (mg/dL) (p=0,839), kreatinin(mg/dL) (p=0,920), ALT (U/L) (p=0,487), AST (U/L) (p=0,534), HbA1c(%) (p=0,874), TSH (μIU/mL) (p=0,692), T4(ng/dL) (p=0,294), ferritin(ng/mL) (p=0,676), ALK (ng/mL) (p=0,145), CD44 (ng/mL) (p=0,271) ve leptin (ng/mL) (p=0,576) değerleri açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. Glikoz(mg/dL) düzeyleri AG grubunda daha düşük olup anlamlı olmadığı gözlenmiştir (p=0,064). Vitamin D3(ng/mL) ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiş ve AG grubunda daha düşük bulunmuştur (p=0,045). Genel olarak, iki genotip grubu arasında metabolik ve biyokimyasal parametrelerde önemli bir farklılık olmadığı, ancak vitamin D3(ng/mL) seviyesinin AG grubunda belirgin olarak düşük olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. AA ve AG Genotip Grupları Arasında Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması

Parametre	AA n= 23	AG n= 26	P-Değeri
BKI (kg/m ²)	33,2±7,8	31,1±7,6	0,329*
Glikoz(mg/dL)	99,0 (84,0 – 146,0)	93,0 (79,0 – 118,0)	0,064**
TG (mg/dL)	125 (61,0 – 276,0)	128,0 (48,0 – 229,0)	0,395**
LDL (mg/dL)	121,0±40,5	123,4±31,6	0,839*
Kreatinin(mg/dL)	0,6±0,1	0,7±0,1	0,920*
ALT(U/L)	15,5 (8,0 – 63,0)	17,0 (9,0 -50,0)	0,487**
AST(U/L)	16,6 (11,2 – 44,0)	17,7 (12,5 -36,0)	0,534**
HBA1C (%)	5,6±0,6	5,6±0,6	0,874*
TSH(μIU/mL)	1,8 (0,1 – 11,6)	2,0 (0,02 -4,6)	0,692**
T4(μg/dL)	1,2±0,2	1,2±0,2	0,294*
Ferritin(ng/mL)	29,1 (9,3 – 103,1)	24,3 (5,7 – 97,9)	0,676**
D3(ng/mL)	23,0±10,3	15,3±8,1	0,045*
ALK (ng/mL)	0,35 (0,15 – 2,4)	0,3 (0,2 – 2,3)	0,145**
CD44(ng/mL)	404,5 (180,0 – 2087,7)	326,5 (231,2 – 2356,1)	0,271**
Leptin(ng/mL)	4,2 (3,1 – 16,2)	4,0 (3,1 – 16,26)	0,576**

*Independent Sample T-test, $p<0,05$

**Mann-Whitney U-Test, $p<0,05$

AG ve GG genotip grupları arasında yapılan karşılaştırmalarda, değerlendirmeye alınan tüm klinik, biyokimyasal, hormonal ve ELISA yöntemi ile ölçülen parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p> 0,05$) (Tablo 4.14).

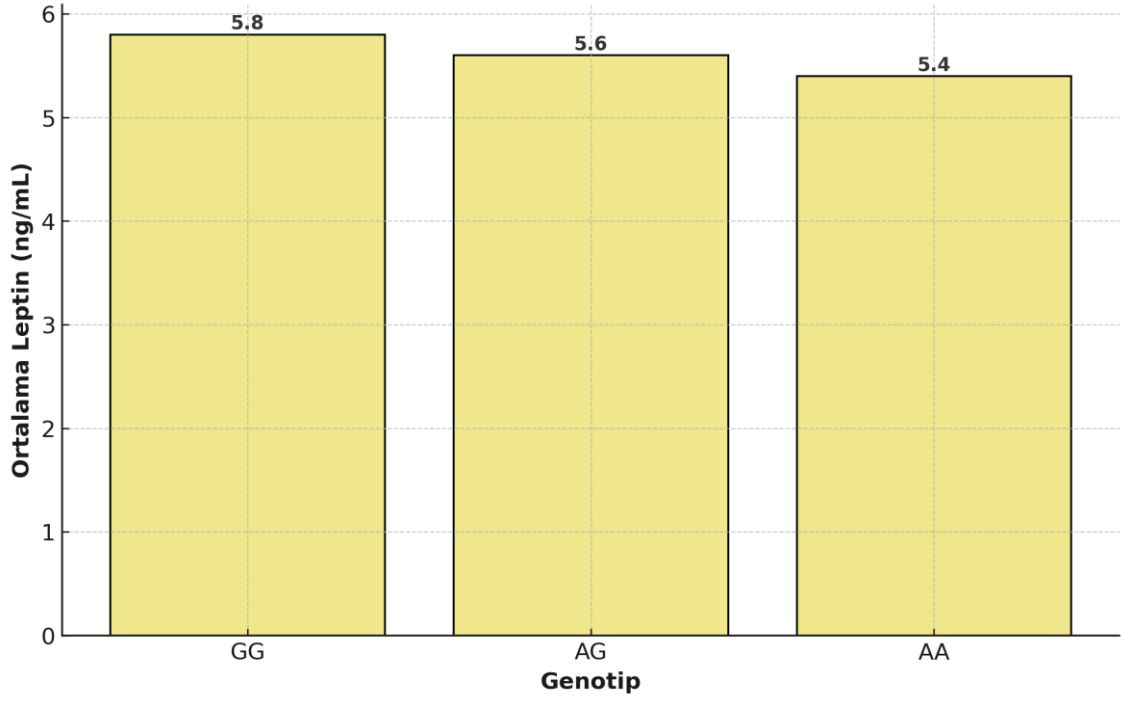
Tablo 4.14. AG ve GG Genotip Grupları Arasındaki Çalışma Parametrelerinin Karşılaştırılması

Parametre	GG n= 3	AG n= 26	P-Değeri
BKI (kg/m ²)	35,0 (22,0 – 40,0)	29,0 (20,0 – 47,0)	0,508*
Glikoz(mg/dL)	89,0 (60,8 – 105,0)	93,0 (79,0 – 118,0)	0,184*
TG (mg/dL)	76,5 (57,0 – 162,0)	128,0 (48,0 – 229,0)	0,293*
LDL (mg/dL)	120,6 (67,3 – 18,0)	120,6 (75,1 – 172,0)	0,938*
Kreatinin(mg/dL)	0,6 (0,4 – 0,9)	0,7 (0,4 – 0,9)	0,222*
ALT(U/L)	13,3 (8,0 – 19,0)	17,0 (9,0 -50,0)	0,151*
AST(U/L)	14,7 (12,0 – 20,0)	17,7 (12,5 -36,0)	0,105*
HBA1C (%)	5,4 (4,5 – 5,8)	5,4 (4,8 – 6,9)	0,482*
TSH(μIU/mL)	4,2 (0,7 – 12,3)	2,0 (0,02 -4,6)	0,325*
T4(μg/dL)	1,2 (0,9 – 1,4)	1,1 (0,9 – 1,7)	0,799*
Ferritin(ng/mL)	20,4 (16,3 – 116,4)	24,3 (5,7 – 97,9)	0,833*
D3(ng/mL)	19,8 (7,7 – 42,7)	13,5 (6,4 – 32,6)	0,361*
ALK (ng/mL)	0,4 (0,2 – 1,5)	0,3 (0,2 – 2,3)	0,061*
CD44(ng/mL)	361,2 (240,1 – 3093,5)	326,5 (231,2 – 2356,1)	0,850*
Leptin(ng/mL)	4,5 (3,3 – 15,24)	4,0 (3,1 – 16,26)	0,281*

*Mann-Whitney U-Test, p<0,05.

AA, AG ve GG genotipine sahip olan bireylerde yapılan karşılaştırma sonucu leptin düzeylerinin bu gruplardaki düzeyleri grafiksel olarak gösterilmiştir (Şekil 4.6). Gruplar arasında leptin düzeylerinin birbirine oldukça yakın olduğu gözlenmiş, GG genotipine sahip bireylerde diğer gruplara kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır.

GG genotipine sahip bireylerden sonra en yüksek konsantrasyon AG, en düşük olarak ise AA genotipine sahip grupta bulunmuştur (Şekil 4.6).

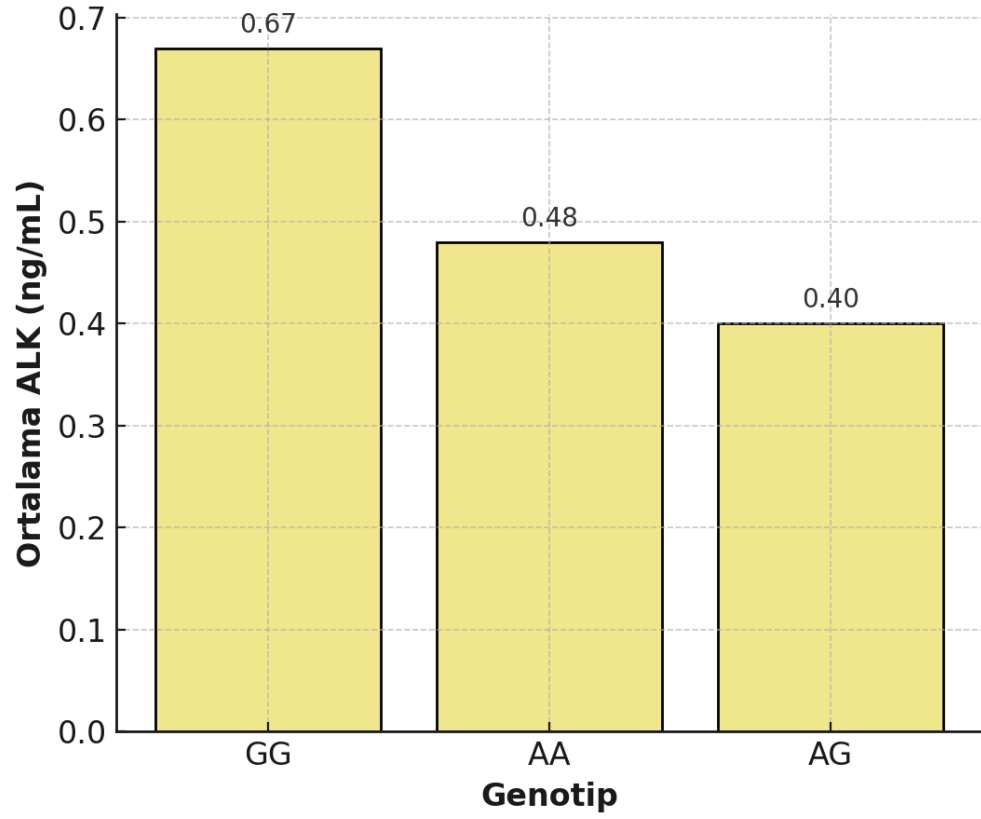


Şekil 4.6. Leptin Düzeylerinin Genotiplere (AA, AG, GG) Göre Ortalama Dağılımı

Şekil 4.7’de, ALK düzeylerinin farklı genotip gruplarına göre ortalama dağılımı gösterilmiştir.

GG genotipine sahip bireylerde ortalama ALK düzeyinin diğer genotiplere (AA ve AG) göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

AA genotipine sahip bireylerde ALK ortalaması orta düzeyde iken AG genotipinde ise ALK seviyeleri diğer genotiplere kıyasla en düşük olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.7).

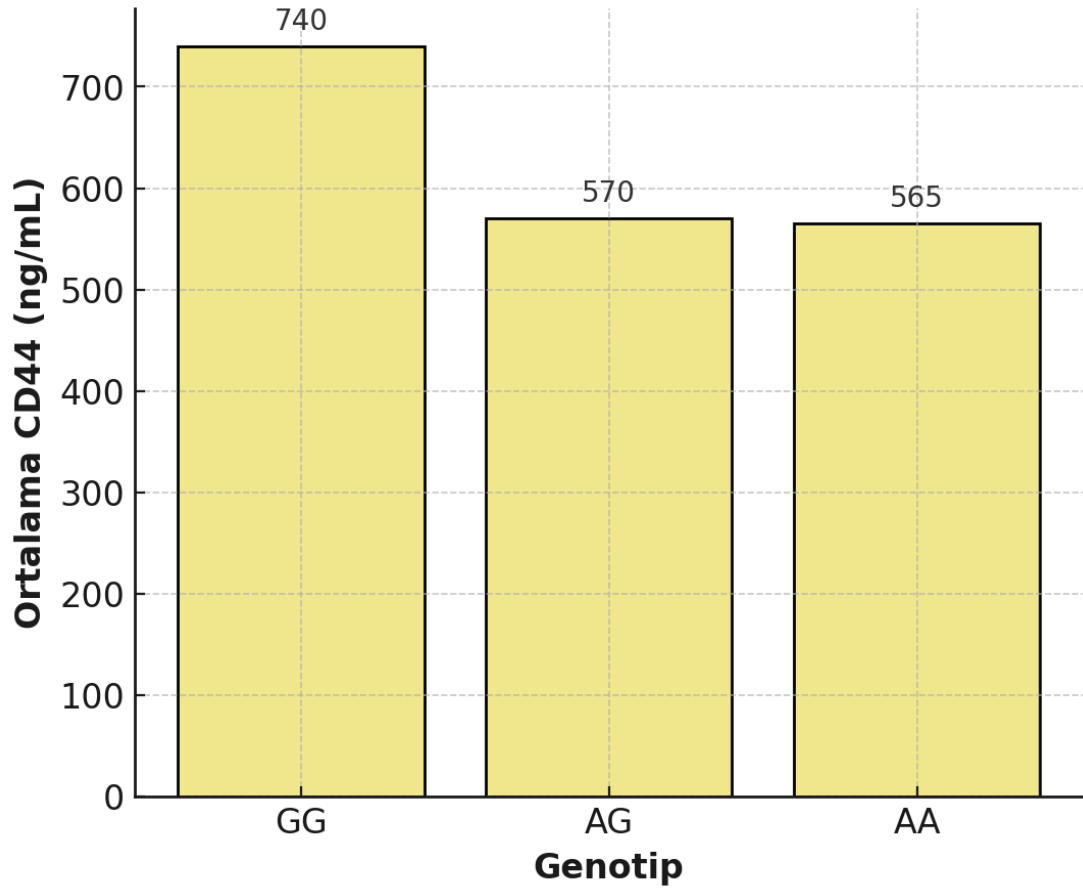


Şekil 4.7. ALK Düzeylerinin Genotiplere (AA, AG, GG) Göre Ortalama Dağılımı

Şekil 4.8’de, CD-44 düzeylerinin farklı genotip gruplarına göre ortalama dağılımı gösterilmiştir.

GG genotipine sahip bireylerde ortalama CD-44 düzeyinin diğer genotiplere (AA ve AG) göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

AA ve AG genotip gruplarının CD44 düzeyleri ise birbirine benzer seviyelerde seyretmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. CD44 Düzeylerinin Genotiplere (AA, AG, GG) Göre Ortalama Dağılımı

5. TARTIŞMA

Genetik yatkınlıkla çevresel etmenlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkan obezite, uzun süreli enerji dengesizliği nedeniyle vücutta aşırı yağ birikimiyle karakterize olup, çoğu zaman erken yaşlarda başlayarak bireyin yaşamı boyunca devam eden çok faktörlü ve karmaşık bir hastalık tablosu oluşturur (Faccioli ve ark., 2023). DSÖ'ye göre obezite prevalansı son yıllarda alarm verici düzeyde artış göstermektedir ve bu durum küresel sağlık yükünü önemli ölçüde artırmaktadır (WHO, 2025). Genetik yatkınlık, beslenme alışkanlıkları, fiziksel aktivite düzeyi ve hormonal dengesizlikler gibi birçok faktör obezite gelişiminde etkilidir (Kopelman, 2000). Obezite; tip 2 diyabet, dislipidemi, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser türleri gibi ciddi komorbiditelerle de ilişkilidir (Faccioli ve ark., 2023). Bu nedenle, obezitenin moleküler düzeyde anlaşılması ve bu sürece katkıda bulunan biyobelirteçlerin ve rutin kan biyokimya parametrelerinde meydana gelen değişimlerin araştırılması oldukça önemlidir.

Çalışmamızda leptin, ALK ve CD44 gibi belirteçler obezitenin hormonal ve inflamatuvar bileşenleriyle ilişkili olup, bu çalışmada söz konusu belirteçlerin ELISA yöntemi ile serum düzeyleri bireylerde incelenmiş ve elde edilen sonuçlar literatürle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Bunun yanı sıra rutin kan biyokimya analizindeki parametreler de karşılaştırılmış yine literatür çalışmaları ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda bireyler arasında obezite derecesini belirlemek amacıyla vücut ağırlığının (kg) boyun karesine (m²) bölünmesine dayanan BKİ sınıflaması kullanılmıştır. Bireyler BKİ sınıflamasına göre morbid obez, şişman, hafif şişman ve kontrol olarak gruplandırılmış ve rutin kan biyokimya parametreleri karşılaştırılmıştır. BKİ gruplar arasında daima anlamlı farklılık gösteren bir parametre olmuştur.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, BKİ'nin sadece bir yağ kütlesi göstergesi olmanın ötesinde, metabolik sağlık durumu ve kronik hastalık risklerinin belirlenmesinde önemli bir biyobelirteç olduğunu ortaya koymuştur. Bunun dışında BKİ obezite derecesinin belirlenmesinde kullanılan en sağlıklı gösterge olarak kabul edilmektedir. Smith ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, yüksek BKİ'nin tip 2 diyabet, hipertansiyon ve dislipidemi risklerini anlamlı biçimde artırdığını bildirmişlerdir (Smith ve ark., 2023).

Vücut yağ oranının artması da metabolik bozukluklara sebebiyet vermekte rutin biyokimya testlerindeki bazı parametrelerde de değişikliklere neden olmaktadır. Kan glikoz düzeyleri, özellikle karbonhidrat metabolizması ve diyabet tanısında kritik biyokimyasal parametrelerdendir. BKİ ile kan glikoz düzeyleri arasındaki ilişki, metabolik sendrom ve tip 2 diyabet gelişimi açısından önemli klinik sonuçlar doğurmaktadır. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar, artmış BKİ'nin özellikle açlık kan glikozu ve HbA1c düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Anderson ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma artan vücut yağ oranının insülin direncini artırarak glikoz metabolizmasını olumsuz etkilediğini desteklemektedir. Obez bireylerde pankreas beta hücrelerinin uzun süreli aşırı insülin üretimi sonucu fonksiyon kaybı yaşanmakta ve bu da hiperglisemiye yol açmaktadır (Anderson ve ark., 2022).

Mahley ve arkadaşları ise yaptıkları bir çalışmada bireylerin kan lipid profilini değerlendirmiş, obez bireylerde LDL partiküllerinin yapısını incelemiş ve bu kişilerin LDL partiküllerinin kontrol kilolulara kıyasla daha küçük ve yoğun olduğunu göstermiştir. Bu küçük yoğun LDL partiküllerinin, damar endoteline yapışma eğilimi daha yüksek olduğundan ateroskleroz riskini artırdığına dikkat çekmişlerdir. Ayrıca, obeziteye bağlı olarak LDL reseptör fonksiyonlarında azalma olduğunu ve bunun da plazma LDL seviyelerinin yükselmesine neden olduğunu bildirmişlerdir (Mahley ve ark., 2016).

Blaha ve arkadaşları da geniş çaplı bir kohort çalışmasında kontrol grubu ve obez bireylerin trigliserid düzeylerini karşılaştırmıştır. Kontrol grubu olgularda trigliserid seviyeleri genellikle referans aralığında iken, obez bireylerde özellikle abdominal obezite varlığında trigliserid düzeylerinin anlamlı şekilde yüksek olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar, bu artışın karaciğer tarafından artan VLDL üretimi ve insülin direnciyle bağlantılı olduğunu belirtmişlerdir (Blaha ve ark., 2019). Mevcut çalışmalarla birlikte bireylerdeki lipid ve karbonhidrat metabolizmasındaki bozukluklar karaciğerin yükünü arttırmakta ve karaciğer enzimleri olan ALT ve AST düzeylerinde de değişikliklere yol açmaktadır.

Yılmaz ve arkadaşları obez bireylerde ALT ve AST düzeylerini incelemiş ve obezitenin karaciğer fonksiyonları üzerinde olumsuz etkisi olduğunu göstermiştir. Çalışmada, özellikle visseral obezite ile ALT ve AST seviyeleri arasında pozitif

korelasyon bulunmuş, bu durumun non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) gelişim riskiyle ilişkilendirilebileceği vurgulanmıştır (Yılmaz ve ark., 2020). Literatür çalışmalarında D vitamini düzeylerinin özellikle bozulmuş lipid metabolizması, karaciğer yağlanması ve karaciğer disfonksiyonu ile ilişkilendirilmesi de oldukça ilgi çekicidir.

Smith ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada obez yetişkinlerde D vitamini düzeylerinin ALT, TG ve glikoz düzeyleriyle ilişkisi incelenmiş, D vitamini eksikliği olan bireylerde ALT ve trigliserid düzeyleri anlamlı şekilde yüksek, HDL düzeyleri ise düşük bulunmuştur. Bu bulgular, D vitamini eksikliğin karaciğer yağlanması ve dislipidemi ile ilişkili olduğunu desteklemektedir (Smith ve ark., 2016). Greco ve arkadaşlarının adolesanlarda yürüttüğü çalışmada, D vitamini düzeylerinin düşük olduğu bireylerde leptin seviyelerinin, insülin düzeylerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca, ALT ve glikoz düzeylerinin de paralel olarak arttığı belirtilmiştir (Greco ve ark., 2021).

Obezite ve tiroid hormonları arasındaki ilişkiyi ele alan çalışmalar da kilo alımının tiroid fonksiyonlarını etkileyebileceğini ve kilo kaybının bu parametrelerde iyileşmeye yol açabileceğini ortaya koymuştur. Tiroid hormonlarının yağ dokusu fonksiyonları, insülin direnci ve lipid metabolizması üzerinde düzenleyici etkilere sahip olması, bu eksenin obezitenin patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir (Smith ve ark., 2020). Nitekim Park ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmada, kontrol grubunda tiroid hormon düzeylerinin genellikle fizyolojik sınırlar içinde seyrettiği, ancak kilolu ve obez bireylerde çeşitli hormonal değişikliklerin gözlendiği bildirilmiştir. Bu çalışmada, yüksek BKİ ile subklinik hipotiroidi arasında pozitif bir ilişki saptanmış; özellikle TSH düzeylerinde hafif bir artış eğilimi, serbest T3 düzeylerinde artış ve serbest T4 düzeylerinde ise bireyler arası değişkenlik rapor edilmiştir (Park ve ark., 2022). Bu bulgular, tiroid hormonlarındaki değişimlerin obezitenin endokrin boyutunu anlamada dikkate değer bir parametre olabileceğini desteklemektedir.

Çalışmamızda ise temel hasta grubu olan obez gruba kontrol gruba kıyasla, anlamlı şekilde daha yüksek bir BKİ (kg/m^2) bulunmuştur ve bu fark, istatistiksel olarak son derece anlamlıdır ($p < 0,001$). Bu bulgu, grupların tanımlanmasında kullanılan obezite kriterinin istatistiksel olarak güçlü şekilde ayrıldığını göstermektedir.

Literatürdeki çoğu çalışmadan farklı olarak glikoz (mg/dL), HbA1c(%), TSH (μ IU/mL), T4 (ng/dL), ferritin (ng/dL), D3 (ng/dL), TG (mg/dL) ve LDL (mg/dL) düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$). Ancak HbA1c ve TSH düzeylerinde obez grupta gözlenen artış eğilimi, ilerleyen dönemlerde metabolik bozulmaların habercisi olabileceğini düşündürmektedir. Bu parametrelerin çalışmamızda anlamlı bulunmamasında örneklem büyüklüğünün de etkili olduğunu düşünmekteyiz. ALT(U/L) düzeyleri obez bireylerde kontrol gruba göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p = 0,006$). Bu durum, obez bireylerde karaciğer yağlanması veya obeziteye bağlı karaciğer disfonksiyonlarının gelişmiş olabileceğini düşündürmektedir. ALT düzeyleri ile ilgili sonucumuz obez ve kontrol gruplar için literatürdeki birçok çalışma ile uyumlu bulunmuştur (Tablo 4.1). Artan obezite derecesiyle birlikte ALT seviyelerinin yükselmesi, özellikle karaciğer yağlanması ve obeziteye bağlı inflamasyonun artmasıyla ilişkili olabilir. Morbid obez bireylerde yağ dokusundaki kronik düşük dereceli inflamasyon, karaciğer hücrelerinde hasar ve enzim salınımını artırarak ALT düzeylerinin yükselmesine yol açabilir. Bu durum, obezitenin metabolik komplikasyonlarından biri olarak karaciğer fonksiyonlarının olumsuz etkilenmesini göstermektedir.

Obez ve kontrol gruplarının rutin biyokimya analizleri açısından karşılaştırdığımız çalışmanın sonraki aşaması obezitenin derecesine göre rutin biyokimya analizlerinin sonuçlarını değerlendirmektir. Çalışmamızda BKİ (kg/m^2) kontrol, hafif şişman, şişman ve morbid obez gruplarında sırasıyla ($23,0 \pm 2,5$), ($28,0 \pm 1,5$), ($35,0 \pm 3,1$) ve ($43,1 \pm 2,7$) olarak ölçülmüş ve gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0,001$; Tablo 4.2). Karaciğer enzimlerinden ALT (U/L) değerleri de artan obezite derecesiyle yükselme eğiliminde olup, morbid obez grubunda en yüksek seviyelerde bulunmuştur ($p = 0,038$; Tablo 4.2).

LDL (mg/dL) seviyeleri hafif şişman grupta şişman gruba kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p = 0,029$; Tablo 4.3). LDL (mg/dL) seviyelerinin hafif şişman grupta şişmanlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunması, yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıklarındaki farklılıklar, şişmanlık ilerledikçe gelişen metabolik adaptasyonlar ve olası lipid metabolizması değişiklikleriyle açıklanabilir. Ayrıca, şişman bireylerde daha yaygın kullanılan lipid düşürücü tedaviler LDL düzeylerini düşürmüş olabilir. Örneklem büyüklüğü ve bireysel biyolojik varyasyonlar da bu sonuçlara katkı sağlamış olabilir.

Diğer parametreler arasında yaş, glikoz (mg/dL), TG (mg/dL), kreatinin (mg/dL), AST (U/L), HbA1c (%), TSH (μ IU/mL), T4 (ng/dL), ferritin (ng/mL), D3 (ng/mL) anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.2; Tablo 4.3)

Çalışmamızın bir sonraki adımında hasta gruplarını tek tek sağlıklı kontrol gruplarına göre karşılaştırdık. Buna göre HbA1c (%) değeri ise morbid obez grupta $5,6 \pm 0,5$ iken kontrol grubunda $5,2 \pm 0,3$ olarak saptanmış ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0,048$). Bu durum, mevcut çalışmaları destekler nitelikte olup morbid obez bireylerde insülin direnci ve glisemik kontrol bozukluğu riskinin daha yüksek olduğunu bununla beraber diyabetik eğilimi işaret edebilir (Tablo 4.4). Ancak glikoz düzeyleri morbid obez bireylerde 95,0 (86,1–146,0) mg/dL, kontrol grubunda ise 92,5 (84,0–107,0) mg/dL olarak ölçülmüş olup fark istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gösterilmiştir ($p = 0,341$) (Tablo 4.4). Benzer şekilde, TG düzeyleri morbid obezlerde 102,0 (63,4–276,0) mg/dL, kontrol grubunda ise 83,0 (58,0–173,0) mg/dL olup bu farklılık da anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,320$). Ancak LDL (mg/dL) düzeyleri kontrol grubunda daha yüksek gözlenmiştir ($132,4 \pm 48,3$ vs. $103,6 \pm 30,3$), fakat bu fark da istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır ($p = 0,129$) (Tablo 4.4). Bu veriler bize, morbid obez bireylerde lipid profilinin bozulmasının beklenmesine karşın, bu grupta LDL'nin görece daha düşük olabileceğini göstermekte; bu durumun beslenme alışkanlıkları, ilaç kullanımı veya örneklem büyüklüğü gibi faktörlerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

ALT(U/L) düzeyleri morbid obezlerde 17,7 (10,0–25,3) iken kontrol grupta 10,7 (8,0–39,0) olarak bulunmuştur; fark istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ($p = 0,110$), morbid obez grupta ortalama değerin yüksek olması, karaciğer yağlanması veya obeziteye bağlı hepatik stresin göstergesi olabilir. AST(U/L) düzeylerinde ise gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p = 0,624$). Kreatinin(mg/dL) düzeyleri de iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,541$) (Tablo 4.4).

Karadoğan ve arkadaşlarının 90 sağlıklı kadını (34 hafif şişman, BKİ 25–29,9; 56 obez, BKİ ≥ 30) karşılaştırdıkları bir çalışmada, açlık glikoz, trigliserid, LDL, ALT, AST ve üre gibi biyokimyasal parametrelerin hafif şişman bireylerde obez bireylere göre daha iyi olduğunu tespit etmişlerdir ($p < 0,05$). Aynı zamanda, HDL ve vitamin D düzeylerinin

obez bireylerde anlamlı olarak düşük, glikoz ve ALT düzeylerinin ise yüksek olduğu raporlanmıştır (Karadoğan ve ark., 2022).

Çalışmamızda morbid obez ve şişman bireylerin biyokimyasal parametreleri karşılaştırıldığında, glikoz(mg/dL) ($p=0,482$), TG (mg/dL) ($p=0,529$) ve LDL (mg/dL) ($p=0,181$) düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir istatistiksel fark görülmemiştir. Kreatinin(mg/dL) düzeyleri her iki grupta benzer bulunmuş ($p=1,0$), bu da renal fonksiyonlar açısından farklılık olmadığını göstermektedir. Karaciğer enzimlerinden ALT (U/L) ($p=0,988$) ve AST(U/L) ($p=0,260$) düzeylerinde de gruplar arasında istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır. HbA1c (%) düzeyleri morbid obez bireylerde hafif yüksek olmasına rağmen bu fark da anlamlı değildir($p=0,617$) (Tablo 4.5). Tiroid fonksiyon testlerinden TSH ($\mu\text{IU/mL}$) ($p=0,589$) ve T4(ng/dL) ($p=0,215$) düzeyleri benzer bulunmuştur. Ferritin(ng/mL) düzeyleri morbid obez grupta daha yüksek olmasına rağmen fark anlamlı değildir ($p=0,172$). D3(ng/mL) düzeyleri şişman grupta daha yüksek saptanmış ve fark anlamlılığa oldukça yaklaşmış fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır($p=0,055$). Sonuç olarak, morbid obez bireylerde BKT'nin belirgin olarak yüksek olması dışında, biyokimyasal parametrelerde anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ancak D vitamini düşüklüğü ve ferritin düzeylerindeki artış eğilimi dikkat çekmektedir (Tablo 4.5). Bu da mevcut literatür çalışmalarında var olan obeziteye bağlı D vitamini eksikliğini doğrular niteliktedir.

Hafif şişman ve kontrol bireyler arasında yapılan karşılaştırmada ise glikoz (mg/dL; $p=0,776$), TG (mg/dL; $p=0,406$), LDL (mg/dL; $p=0,725$), kreatinin (mg/dL; $p=0,235$), ALT (U/L; $p=0,568$), AST (U/L; $p=0,753$), HbA1c(%; $p=0,217$), TSH ($\mu\text{IU/mL}$; $p=0,468$), T4(ng/dL; $p=0,327$), ferritin (ng/mL; $p=0,931$) ve D3 (ng/mL; $p=0,444$) düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. (Tablo 4.6).

Çalışmamızda hafif şişman ve şişman bireyler biyokimyasal parametreler açısından değerlendirildiğinde; glikoz (mg/dL) ($p=0,953$), TG (mg/dL) ($p=0,793$), LDL (mg/dL) ($p=0,139$), kreatinin (mg/dL) ($p=0,370$), ALT (U/L) ($p=0,538$), AST (U/L) ($p=0,858$), HbA1c (%) ($p=0,772$), TSH ($\mu\text{IU/mL}$) ($p=0,629$), T4 (ng/dL) ($p=0,253$), ferritin (ng/mL) ($p=0,274$) ve D3 (ng/mL) ($p=1,0$) düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. (Tablo 4.7).

Genel olarak, bu veriler ile hafif şişmanlık ve şişmanlık arasında biyokimyasal düzeyde keskin farklar bulunmadığını göstermektedir. Fakat keskin ayrımın olmaması örneklem büyüklüğümüzden de kaynaklanıyor da olabilir. Bu nedenle erken dönemde kilo yönetimi ve sağlıklı yaşam tarzı değişikliklerinin uygulanması olası metabolik bozuklukların önlenmesinde önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, kontrol grup ile şişman bireyler karşılaştırılmış ve elde edilen verilere göre bazı biyokimyasal parametrelerde anlamlı farklılıklar gözlemlenmiştir. Şişman bireylerde ALT(U/L) düzeylerinin anlamlı olarak daha yüksek çıkması ($p = 0.011$), bu bireylerde karaciğer enzim aktivitesinde artış olabileceğine işaret etmiştir (Tablo 4.8). Bunun dışında glikoz (mg/dL), TG (mg/dL), LDL (mg/dL), kreatinin (mg/dL), AST (U/L), HbA1c (%), TSH (μ IU/mL), T4 (ng/dL), ferritin (ng/mL) ve D vitamini (ng/mL) gibi parametrelerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). (Tablo 4.8). Ancak ferritin ve D vitamini gibi değerlerdeki eğilimlerin, örneklem sayısının artırıldığı çalışmalarda klinik olarak anlamlı hale gelebileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızın temel amaçlarından birisi obezite ile leptin, ALK ve CD44 parametrelerinin ilişkisini değerlendirmektir. Özellikle ortalama leptin düzeyleri BKI birlikte ile tüm gruplarda artmış (Şekil 4.1) ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren bir parametre olmuştur($p < 0,05$) (Tablo 4.1,4.2, 4.4).

Serum düzeylerine baktığımız leptin vücutta yağ hücreleri tarafından salgılanan iştahın düzenlenmesinde rol oynayarak enerji harcamasını arttıran bir adipokindir (Al-Hussaniy ve ark., 2021). Özellikle obezite gelişiminde etkisinin yadsınamaz olduğu leptin ile ilgili yapılan ilk çalışmalar hayvansal çalışmalar olup iki fare modeli üzerine odaklanılmıştır.

1994 yılında ob/ob fareleri ve diyetle indüklenmiş obez fareler ile yapılan çalışmada ob farelerinde mutasyona uğrayan genin tanımlanmasıyla keşfedilen leptinin yokluğu, bu farelerde düşük vücut ısı ve enerji harcamasına, fiziksel aktivitenin azalmasına aşırı yemek yemeye, hiperglisemi, hiperinsülinemi, hiperlipidemi, infertilite ve karaciğer yağlanması gibi birçok metabolik bozukluğa yol açmıştır. Leptin replasmanı özellikle leptin eksikliği olan ob/ob farelerde bu yağ kütesini azaltarak vücut ağırlığını normale getirmiş; egzersiz kapasitesini artırmış, kan şekeri ve insülin düzeylerini

düşürmüş ve karaciğer yağlanmasını azaltmıştır. Ayrıca leptin, lipolizi artırmış, enerji kaynağı olarak karbonhidrattan lipide geçiş sağlamıştır (Friedman ve ark., 1994).

Al Maskari ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada ise obez bireylerde serum leptin düzeylerinin anlamlı düzeyde arttığı ve bu artışın vücut yağ kütlesiyle pozitif korelasyon gösterdiği raporlanmıştır (Al Maskari ve Alnaqdy, 2006). Maffei ve arkadaşları ise, leptin düzeylerinin obez bireylerde arttığını, kilo kaybıyla birlikte bu seviyelerin düştüğünü ve leptin sentezinin yağ dokusu miktarına bağlı olduğunu göstermiştir (Maffei ve ark., 1995).

Çalışmamızda obez ve kontrol grup arasında leptin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p = 0,001$). Obez bireylerde leptin medyan değeri 4,3 ng/mL iken, kontrol grubunda 3,6 ng/mL olarak bulunmuştur (Tablo 4.1). Bu durum, vücut yağ miktarının artmasıyla leptin düzeylerinin yükseldiğini ve leptinin yağ dokusu ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Ayrıca obezite derecesine göre leptin düzeylerini değerlendirdiğimiz çalışmaya göre gruplar (morbid obez, şişman, hafif şişman ve kontrol grubu) arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p = 0,002$) bulunmuştur. Bu durum, BKİ'nin artmasıyla birlikte serum leptin düzeylerinin yükseldiğini ortaya koymuştur. (Tablo 4.2).

Leptin düzeylerini gruplar arası tek tek karşılaştırdığımızda morbid obez [4,3 ng/mL (3,5–35,7)] bireyler ile hafif şişman [3,8 ng/mL (3,4–11,02)] bireyler arasında leptin düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sınırdan bulunmuş ($p = 0,060$), ancak klasik anlamlılık düzeyi olan $p < 0,05$ 'in üzerinde kalmıştır (Tablo 4.3). Sonuçlar, morbid obez bireylerde leptin düzeylerinin hafif şişman bireylere göre daha yüksek olma eğiliminde olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, leptin düzeylerinin vücut yağ miktarı arttıkça yükseldiğini ve yağ dokusunun leptin üretiminde temel rol oynadığını desteklemiştir. Bu bulgu, morbid obezlerde leptin düzeylerinin artmış olabileceğini ve bunun da leptin direnciyle ilişkili olabileceğini, leptin düzeylerindeki bu artışın, obeziteye bağlı metabolik bozuklukların patofizyolojisinde rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Ancak p değerinin anlamlılık eşiğini geçmemesi, örneklem büyüklüğünün sınırlı olması ya da bireyler arası varyasyonun etkili olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

Frühbeck ve arkadaşlarının da yapmış olduğu bir çalışma ile de bu durum desteklenmiştir. Bu çalışmada leptin düzeylerinin obezitede fizyolojik yanıt olarak artmış

olduğu fakat sinyal yollarındaki bozulmalar nedeniyle etkisiz kaldığı bulunmuştur ve bunun da zamanla hedef dokularda duyarsızlığa (leptin direncine) yol açtığı belirtilmiştir (Frühbeck ve ark., 2001).

Leptin düzeyleri morbid obez [düzeyi 4,3 ng/mL (3,5–35,7)] ve kontrol grubu [3,6 ng/mL (3,1–6,9)] arasında anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0,001$) (Tablo 4.4). Bu artış, leptin hormonunun yağ dokusundan salgılandığını ve yağ kütlesi arttıkça dolaşımdaki seviyesinin de yükseldiğini göstermektedir. Ancak bu artışa rağmen obez bireylerde leptinin işlevsel etkisinin azalmış olması, leptin direnci ile leptin artışının enerji dengesi üzerindeki düzenleyici etkisini kaybettiğini düşündürmektedir.

Morbid obez [4,3 ng/mL (3,5 – 35,7)] ve şişman [4,4 ng/mL (3,1 – 13,1)] bireyler arasında serum leptin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p = 0,922$) (Tablo 4.5). Bu değerler, her iki grubun da leptin düzeylerinin benzer aralıklarda olduğunu ve medyan değerlerin oldukça yakın seyrettiğini göstermektedir. Bu bulgu, leptin seviyelerinin obezitenin ileri derecelerinde (örneğin şişman ile morbid obez arasında) plato yapabileceğini ya da artış hızının azaldığını düşündürülebilir.

Çalışmamızda leptin düzeyi, kontrol grubunda 3,6 ng/mL (3,1–6,9), hafif şişman bireylerde 3,8 ng/mL (3,4–11,02) olarak saptanmış ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,060$; Tablo 4.6). Benzer şekilde, şişman bireylerde leptin düzeyi 4,5 ng/mL (3,1–15,24) olup hafif şişman gruba göre daha yüksek olmasına rağmen bu fark da anlamlı değildir ($p = 0,056$; Tablo 4.7). Kontrol grubunda leptin düzeyi 3,6 ng/mL (3,1–6,9) iken şişman bireylerde bu düzeyin 4,5 ng/mL (3,1–15,24) olduğu görülmüştür. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0,002$) (Tablo 4.8). Sonuçlar, BKİ arttıkça leptin düzeyinin de anlamlı şekilde yükseldiğini göstermiştir. Genel olarak çalışmamızda dört grup arasında yapılan karşılaştırmada elisa yöntemi ile düzeylerine bakılan leptin anlamlı farklılık gösteren parametre olmuştur (Tablo 4.2). Bu durum literatürde mevcut çalışmalarla örtüşmekte artan yağ dokusu ile leptin düzeylerinin de arttığı, bazı gruplarda leptin düzeylerinin yükselmiş olmasına rağmen etkili olmaması (fizyolojik yanıtın yetersiz kalması) durumu leptin direnci olasılığını gündeme getirmektedir. Bu da artan leptin düzeylerine rağmen iştah kontrolünün bozulduğu ve enerji dengesinin sürdürülemediği anlamına gelebilir.

ELISA yöntemi ile çalışmamızda düzeylerine bakılan ALK mevcut çalışmalarla onkogen olarak adlandırılan bir reseptör tirozin kinazdır. Çeşitli çalışmalarda tümör oluşumunu hızlandırdığı ve bazı kanser türlerinde aktivasyonunun arttığı belirtilmiştir (Huang, 2018). ALK'nin kanser ve tümör ile ilişkisinin yanısıra güncel çalışmalar obezite ve zayıflık ile ilişkisinin üzerinde durmaktadır. Fakat güncel ve üzerinde daha fazla çalışılması gereken bir konu olduğu için mevcut çalışmalar oldukça azdır.

Orthofer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, önce Estonya Biyobank verilerini kullanarak düşük BKİ ile ALK geninde bulunan bir varyant arasında anlamlı bir ilişki tespit etmişler, bunu takiben, farelerde ALK genini genetik olarak baskılamışlar ($Alk^{-/-}$ modelleri) ve enerji metabolizmasındaki etkilerini incelemişlerdir. ALK geni baskılanan farelerde gıda alımı ve fiziksel aktivite seviyeleri değişmezken, enerji harcamasının arttığı ve oksijen tüketiminin yükseldiği görülmüştür. Ayrıca, bu farelerde vücut ağırlığının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ve serum adiponektin düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir. Bu bulgular, ALK'nin enerji metabolizmasında önemli bir regülatör olduğunu ve ALK'nin inhibisyonunun obeziteye karşı koruyucu etkiler yaratabileceğini göstermiştir (Orthofer ve ark., 2020).

Dedoni ve arkadaşları tarafından ise Orthofer ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmayı temel alınarak anoreksiya nervoza modeli oluşturmak amacıyla aktivite bazlı anoreksiya (ABA) indüklenen farelerde hipotalamus bölgesindeki ALK reseptör düzeyleri ve ilgili sinyal yolları araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, ABA grubundaki farelerde ALK protein ekspresyonunun anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca, ALK yolak aktivitesinin önemli bir göstergesi olan fosfo-Akt (pAkt) düzeylerinde de belirgin bir düşüş saptanmıştır. Bu bulgular, ALK'nin hipotalamik düzeyde enerji dengesi ve yeme davranışı üzerinde düzenleyici bir rol oynayabileceğini ortaya koymuştur. Böylece çalışma, ALK sinyal yolunun anoreksiya nervozanın nörobiyolojik mekanizmalarında yer alabileceğini ve bu reseptörün potansiyel bir terapötik hedef olabileceğini düşündürmüştür (Dedoni ve ark., 2023).

ALK ailesine ait reseptörlerden biri olan ALK7 (ACVR1C) ile ilgili yapılan bir insan çalışmasında ise, van Harmelen ve arkadaşları, beden kitle indeksi açısından zıt kardeş çiftleri üzerinde gerçekleştirdikleri analizde, zayıf bireylerin subkutan yağ dokularında ALK7 ekspresyonunun obez kardeşlerine göre belirgin şekilde daha yüksek

olduğunu tespit etmişlerdir. Bu durum, ALK7'nin insanlarda enerji dengesi ve yağ metabolizmasında düzenleyici rol oynayabileceğini göstermiştir. Aynı zamanda, ACVR1C geni üzerinde yer alan rs13010956 adlı genetik varyantın kadınlarda metabolik sendrom riskini anlamlı ölçüde artırdığı gösterilmiştir. Bu bulgular, ALK7'nin sadece farelerde değil, insanlarda da metabolik sağlık ve obeziteye yatkınlık açısından önemli bir biyolojik hedef olduğunu ortaya koymuştur (van Harmelen ve ark., 2009).

Bizim çalışmamızda ise ALK düzeyleri toplam hasta grubu olan obez bireyler ve kontrol grubu arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0,001$). ALK düzeyleri obez bireylerde medyan olarak 0,3 ng/mL (0,2–2,4 aralığında), kontrol grubunda ise 0,2 ng/mL (0,1–0,4 aralığında) bulunmuştur (Tablo 4.1). Bu fark, obez grupta ALK düzeylerinin belirgin şekilde yüksek olduğunu göstermektedir.

Bu bulgu, ALK'nin enerji metabolizmasında potansiyel bir rolü olduğunu öne süren önceki hayvan çalışmalarını destekler niteliktedir. Fare modellerinde ALK geninin baskılanmasıyla artan enerji harcaması, artmış adiponektin düzeyleri ve obeziteye karşı koruyuculuk gözlenmiştir. Bu insan verisinde ise, obez bireylerde ALK düzeylerinin yükselmiş olması, ALK'nin olası obezite ile ilişkili metabolik düzensizliklerin bir göstergesi veya nedeni olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, bu veriler ALK düzeylerinin obez bireylerde anlamlı şekilde arttığını ortaya koymakta ve ALK'nin metabolik bozukluklarla ilişkili bir biyobelirteç olabileceğini desteklemektedir. Ancak bu ilişkinin nedenselliğini aydınlatmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda ALK düzeyleri, BKI gruplarına göre de anlamlı fark göstermiştir ($p = 0,002$). Medyan ALK düzeyleri, morbid obez bireylerde 0,4 ng/mL, şişmanlarda 0,3 ng/mL, hafif şişmanlarda 0,3 ng/mL ve kontrol grubunda 0,2 ng/mL olarak bulunmuştur (Tablo 4.2). Bu bulgular, ALK düzeylerinin obezite şiddetiyle birlikte kademeli olarak arttığını göstermektedir (Şekil 4.2).

ALK düzeyleri morbid obez bireylerde hafif şişman gruba göre anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur ($p = 0,028$). Medyan ALK düzeyi morbid obez grupta 0,4 ng/mL (0,2–2,4), hafif şişman grupta ise 0,3 ng/mL (0,2–0,9) olarak bulunmuştur (Tablo 4.3).

Morbid obez ve kontrol grubunda yapılan karşılaştırmada ALK düzeyleri morbid obez bireylerde anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). Morbid obez grubun ALK düzeyi 0,4 ng/mL (0,2–2,4) iken, kontrol grubunda bu değer 0,2 ng/mL (0,1–0,4) olarak saptanmıştır (Tablo 4.4).

Hafif şişman bireylerde ALK düzeyleri, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p = 0,046$). Hafif şişman grubunda ALK düzeyi 0,3 ng/mL (0,2–0,9), kontrol grubunda ise 0,2 ng/mL (0,1–0,4) aralığında bulunmuştur (Tablo 4.6). Bu bulgu, ALK'nin sadece ileri düzey obezite değil, hafif kilo artışı durumlarında bile enerji metabolizması veya yağ doku işlevleriyle ilişkili olabileceğine işaret etmektedir.

ALK düzeyleri şişman bireylerde, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p = 0,046$). Şişman grupta ALK medyan değeri 0,3 ng/mL (0,2–2,3), kontrol grubunda ise 0,2 ng/mL (0,1–0,4) olarak ölçülmüştür (Tablo 4.8). Tüm bu sonuçlar ALK'nin insanlarda obezite ile ilişkili metabolik süreçlerde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Literatür çalışmaları da göz önünde bulundurulursa ALK, obeziteyle ilişkili biyolojik mekanizmaları anlamada potansiyel bir biyobelirteç ve hedef molekül olarak dikkat çekmektedir diyebiliriz. Fakat yine de çok yeni bir belirteç olduğu için daha fazla çalışma ile desteklenmesi gerekmektedir.

Çalışmamızda ELISA yöntemi ile düzeylerine bakılan bir diğer parametre de CD44'tür. CD44, hücre yüzeyinde bulunan transmembran bir glikoprotein olarak hücre adezyonu, migrasyonu, proliferasyonu ve hücre-hücre etkileşimlerinde önemli rol oynar. CD44 ve obezite ilişkisini inceleyen çalışmalar genellikle CD44'ün inflamasyon, hücre adezyonu ve adipogenezdeki rolüne odaklanmıştır. Obezite sırasında artan inflamasyon ve yağ dokusundaki hücresel değişikliklerle ilişkilendirilmiştir.

Ojima ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, CD44 ekspresyonunun obez farelerde arttığını ve bu artışın inflamasyonla korele olduğunu bildirilmiştir. CD44'ün yağ dokusundaki makrofajların birikimini destekleyerek obezite kaynaklı inflamasyonu artırdığı öne sürülmüştür (Ojima ve ark., 2015).

Jiang ve arkadaşları ise CD44'ün adiposit diferansiyasyonu ve yağ depolanmasında rolü olduğunu, CD44 eksikliğinin obezite gelişimini ve metabolik bozuklukları azalttığını göstermiştir (Jiang ve ark., 2011).

Wu ve arkadaşları, CD44 adlı hücre yüzey proteininin beyaz yağ dokusundaki adipogenez üzerindeki etkisini araştırmışlar. Özellikle, CD44'ün serotonin üretimi (TPH2/5-HT eksenini üzerinden) yoluyla obezite gelişimine nasıl katkıda bulunduğunu incelemişler, çalışmada, yüksek yağlı diyetle beslenen fare modelleri kullanmışlardır. Çalışma sonucunda CD44'ün yokluğunun, beyaz yağ dokusundaki serotonin (5-HT) üretimini azalttığı ve bu azalmanın adipogenezin baskılanmasına neden olduğu bulunmuştur. CD44-ablasyonlu farelerin, yüksek yağlı diyetle beslenen farelere göre daha az kilo aldığı ve metabolik sağlıklarını daha iyi korudukları, CD44'ün TPH2/5-HT eksenini üzerinden beyaz yağ dokusunda yağ birikimini teşvik ettiği gösterilmiştir (Wu ve ark., 2025).

Kodama ve arkadaşlarının yaptığı geniş kapsamlı genom çapında ilişki çalışmasında (eGWAS), 130 bağımsız mikroarray veri seti analiz edilmiştir. Bu çalışmada CD44, tip 2 diyabetle ilişkili genler arasında anlamlı bir şekilde öne çıkmıştır. CD44 gen ekspresyonundaki artışın, insülin direnci ve inflamatuvar süreçlerle korele olduğu bildirilmiştir (Kodama ve ark., 2012). Yine Kodama ve ekibi yüksek yağlı diyetle beslenen fare modellerinde CD44'ün fonksiyonunu incelediği deneylerde, CD44'ün eksikliğinin insülin direncini azalttığını ve adipoz dokudaki makrofaj infiltrasyonunu engellediğini göstermiştir. Ayrıca, anti-CD44 antikoru ile tedavi edilen hayvanlarda glikoz toleransında anlamlı iyileşme gözlenmiştir (Kodama ve ark., 2015). Bu çalışmalar CD44'ün, metabolik inflamasyonda önemli bir aracılık mekanizması olduğunu doğrulamaktadır. Çalışmalarda CD44 geninin yokluğu, özellikle adipogenezin ve inflamasyonun azalmasıyla ilişkilendirilmiştir.

Çalışmamızda toplam hasta ve kontrol grubu arasında yapılan karşılaştırmada CD44 düzeyleri de obez grupta daha yüksek olmakla birlikte, bu fark istatistiksel anlamlılık göstermemiştir ($p = 0,082$) (Tablo 4.1).

CD44 düzeyleri dört grup arasında artış eğilimi göstermesine rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p = 0,121$). Morbid obez grupta CD44 medyan değeri 408,5 ng/mL (296,8 – 2087,7), şişmanlarda 347,3 ng/mL (180,0 – 3093,5), hafif şişmanlarda 387,8 ng/mL (277,3 – 1215,7), kontrol grubunda ise 300,1 ng/mL (202,0 – 1055,4) bulunmuştur (Tablo 4.2).

Bu sonuçlar, CD44 ifadesinin obezite şiddetiyle kısmen artış gösterebildiğini ancak örneklem büyüklüğü veya varyasyon nedeniyle anlamlılık kazanamadığını

düşündürmektedir. CD44'ün adiposit fonksiyonları, inflamasyon ve hücre adezyonu gibi metabolik süreçlerde rolü bilindiğinden, özellikle obez bireylerde artan CD44 seviyeleri, obezitenin patofizyolojisine katkıda bulunan inflamatuvar ve hücrel mekanizmaların işaretçisi olabilir. Daha geniş örneklemlerli çalışmalarda CD44'ün obezite ve ilişkili metabolik hastalıklardaki rolünün daha net ortaya konması gerekmektedir.

Çalışmamızda CD44 düzeyleri morbid obez bireylerde kontrole kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p = 0,019$). Morbid obez grubunda CD44 medyan değeri 408,5 ng/mL (296,8 – 2087,7) iken, kontrol grupta 300,1 ng/mL (202,0 – 1055,4) bulunmuştur (Tablo 4.4). Morbid obez ve şişman grupların CD44 düzeylerine bakıldığında CD44 medyan değeri morbid obezlerde 408,5 ng/mL (296,8 – 2087,7), şişmanlarda ise 347,3 ng/mL (180,0 – 3093,5) olarak bulunmuştur. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p = 0,165$) (Tablo 4.5). Hafif şişman bireyler ile kontrol grubunun CD44 düzeyleri karşılaştırılmıştır. CD44 düzeyi (hafif şişman) = 387,8 ng/mL (277,3 – 1215,7), CD44 düzeyi (kontrol) = 300,1 ng/mL (202,0 – 1055,4) ve p değeri = 0,143 olarak bulunmuştur (Tablo 4.6). Hafif şişman bireylerde CD44 düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bir medyana sahip olmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$).

Bu durum, hafif şişmanlıkta CD44 düzeylerinde artış eğilimi olabileceğini ancak bu artışın klinik düzeyde anlamlılık kazanmadığını göstermektedir. CD44'ün yağ dokusu artışı ve inflamatuvar süreçlerdeki rolü göz önüne alındığında, artış yönündeki bu eğilim biyolojik olarak anlamlı olabilir ancak bu çalışmada örneklem büyüklüğü nedeniyle istatistiksel anlamlılık elde edilememiş olabilir. Daha geniş örneklemlerli çalışmalarla bu eğilimin desteklenip desteklenmeyeceği netleşebilir.

Şişman bireylerde CD44 düzeyleri kontrol gruplarına göre daha yüksek bulunmasına rağmen, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p = 0,141$) (Tablo 4.8). Bu durum, CD44 düzeylerinin şişmanlıkla artış eğiliminde olabileceğini gösterse de anlamlılık düzeyine ulaşmadığı için bu farkın rastlantısal olabileceği de düşünülmelidir.

Çalışmamızda grupların ortalama CD44 düzeylerinde ise BKİ ile artış gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4.3). Tüm bu bulgular göz önünde bulundurularak çalışmamız grupların CD44 düzeyi ile BKİ'si arasında ilişki olabileceği yönünde veriler sağlamıştır.

Çalışmamızın ROC analiz bulgularına göre, leptin ve ALK düzeylerinin obez bireyleri tanımlamada anlamlı biyobelirteçler olduğu görülmüştür. Leptin düzeyi için belirlenen 3,90 ng/ml eşik değeriyle, %71,2 duyarlılık ve %90,9 özgüllük elde edilmiş; AUC değeri 0,797 olarak hesaplanmış ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0,002$) (Tablo 4.9) (Şekil 4.4). Bu bulgu, leptinin enerji homeostazı ve yağ kütlesiyle yakın ilişkisi nedeniyle obezite belirteci olarak güçlü bir tanısal değere sahip olduğunu bildiren çalışmalarla uyumludur (Shabana ve ark., 2022; Zaki ve ark., 2021). Leptin düzeylerinin artmış yağ dokusu ile paralel şekilde yükseldiği, leptin direncinin ise obez bireylerde yaygın görüldüğü bildirilmiştir (Myers ve ark., 2010).

Son yıllarda ALK'nın, özellikle inflamasyon ve sinyal iletim yolları üzerinden obeziteyle ilişkili hücresel süreçlerde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Chiarle ve ark., 2008; Huang ve Weiss, 2013). Bildiğimiz kadarıyla ilk kez yapılan bu çalışmada ALK'nın düzeyinin anlamlı olarak bir tanısal bir performansla sahip olduğu gösterilmiştir ($AUC = 0,768$, $p = 0,005$). Buna göre 0,277 ng/ml kesim noktasında %73,1 duyarlılık ve %72,7 özgüllükle ALK'nin obezitenin tanısında önemli bir biyobelirteç potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir (Tablo 4.9) (Şekil 4.4).

CD44 düzeyleri için hesaplanan AUC değeri 0,697 olup sınırlı bir tanı gücüne işaret etmektedir; ancak istatistiksel anlamlılık sağlanamamış ve kesim noktası belirlenememiştir (Tablo 4.9) (Şekil 4.4). CD44'ün hücre adezyonu, hücre-hücre etkileşimi ve inflamasyonla ilişkili olduğu, özellikle makrofaj infiltrasyonu ve yağ dokusu inflamasyonunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Weng ve ark., 2022; Bourguignon ve ark., 2014). Bu nedenle, CD44'ün obeziteyle ilişkili biyobelirteç potansiyeli literatürde vurgulansa da çalışmamızda elde edilen sınırlı tanısal gücü, örneklem büyüklüğü veya popülasyon farklılıklarıyla açıklanabilir. Sonuç olarak, leptin ve ALK biyobelirteçleri obezite tanısında dikkate değer ölçüde güvenilirlik göstermekte olup; CD44'ün klinik kullanım potansiyeli için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızın en önemli noktalarından biri LEPR G223A (rs1137101) gen polimorfizminin obez bireylerdeki dağılımını analiz etmektir (Tablo 4.10). Genotipik dağılım incelendiğinde obez grubunda AA (%44,8), AG (%48,3), GG (%6,9); kontrol grubunda ise sırasıyla AA (%43,5), AG (%52,2), GG (%4,3) oranlarında bulunmuştur. Her iki grupta da en sık görülen genotip AG olup, genotipler arasında anlamlı bir fark

saptanmamıştır ($p > 0,05$). Allel frekansları açısından da A ve G allellerinin sıklıkları obez grubunda %69,0 ve %31,0, kontrol grubunda ise %69, ve %30,4 olarak hesaplanmış; bu dağılım istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($OR = 0,91$, $p > 0,05$). Ayrıca genotipik modelleme analizlerinde hem AA + AG vs. GG karşılaştırmasında ($OR = 0,78$) hem de AA vs. AG + GG modelinde ($OR = 0,89$) anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu sonuçlar, çalışmamızda LEPR G223A (rs1137101) polimorfizminin obezite ile doğrudan ilişkili genetik bir risk faktörü olarak belirgin bir rol oynamadığını göstermektedir.

Literatürde bu polimorfizmin enerji dengesi, leptin sinyalleme ve leptin duyarlılığı üzerine etkileri incelenmiş ve bazı çalışmalarda A allelinin artmış leptin düzeyleri ve obezite ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir (Mammes ve ark., 2000; Yiannakouris ve ark., 2001). Ancak çalışmamıza benzer şekilde, bazı araştırmalarda da bu polimorfizmin obezite riskine anlamlı bir etkisinin bulunmadığı rapor edilmiştir (Quinton ve ark., 2001; Duarte ve ark., 2007).

Chiu ve arkadaşları çalışmalarında bu polimorfizmin vücut yağ yüzdesiyle ilişkili olduğunu göstermiştir (Chiu ve ark., 2004). Wauters ve arkadaşları ise çalışmasında A alleli taşıyan bireylerin kilo alımına daha yatkın olduğunu belirtmiştir (Wauters ve ark., 2001).

Çalışmamızda değerlendirilen LEPR G223A (rs1137101) polimorfizmi, literatürde özellikle Asya ve Kafkas kökenli popülasyonlarda obezite ile anlamlı ilişki gösteren önemli bir genetik faktör olarak rapor edilmiştir. Meta-analiz sonuçları, G allelinin çeşitli genetik modellerde obezite riski ile anlamlı şekilde korele olduğunu ortaya koymuştur (GG vs AA: $OR = 1,39$, $p = 0,003$; AG vs AA: $OR = 1,23$, $p = 0,005$) (Cheng ve ark., 2024). Ayrıca Sri Lanka’da yapılan bir çalışmada, G allelinin hem BKİ ($p = 0,04$) hem de bel çevresi ($p = 0,02$) ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir (Wijesundera ve ark., 2020).

Wang ve arkadaşlarının Çinli yetişkin bireylerde yaptıkları çalışmada, LEPR G223A polimorfizmi ile obezite arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. A alleli (Arg/Arg) taşıyan bireylerin BKİ değerleri ve serum leptin düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. G223A polimorfizminin, obeziteye genetik yatkınlık yaratabileceğini düşünmüşlerdir (Wang ve ark., 2016).

Dastgheib ve arkadaşlarının İranlı bireylerde yaptıkları çalışmada, AA genotipinin kadınlarda obeziteye yatkınlık oluşturduğu, aynı zamanda TG ve LDL seviyelerinin de yüksek olduğu bildirilmiştir. LEPR G223A polimorfizminin, özellikle kadınlarda metabolik sendrom riskiyle ilişkili olduğu saptanmıştır (Dastgheib ve ark., 2019).

LEPR G223A polimorfizmi ile ilgili yapılan çalışmalarda, bu polimorfizmin obezite ve metabolik bozukluklarla ilişkili olduğu görülmektedir.

Shabana arkadaşları Pakistanlı kadınlarda G223A polimorfizminin yüksek BKİ, total kolesterol ve TG düzeyleri ile anlamlı ilişkili olduğunu rapor etmiş; Zaki ve arkadaşları ise Mısırlı bireylerde AA genotipine sahip olanlarda HOMA-IR, serum glikoz ve leptin düzeylerinin anlamlı şekilde yüksek olduğunu bildirmiştir. Bu bulgular, LEPR G223A polimorfizminin metabolik risk faktörlerinin artışında rol oynayabileceğini ve genetik bir belirteç olarak değerlendirilebileceğini desteklemektedir (Shabana ve ark., 2022; Zaki ve ark., 2021)

Çalışmadaki bulgularımız ise LEPR G223A (rs1137101) polimorfizminin tek başına obezite oluşumunda belirleyici bir faktör olmadığını, ancak çevresel faktörler, leptin düzeyleri veya diğer genetik varyantlarla birlikte etkili olabileceğini düşündürmektedir.

LEPR genindeki G223A (rs1137101) polimorfizmine göre belirlenen AA, AG ve GG genotiplerine sahip bireyler arasında yaş, BKİ (kg/m²), LDL (mg/dL), ALT(U/L), AST(U/L), HbA1c (%), TSH (μIU/mL), T4 (ng/dL), ferritin (ng/mL), ALK (ng/mL), CD44(ng/mL) ve leptin(ng/mL) düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p> 0,05). Ancak glikoz düzeyleri genotipler arasında anlamlı farklılık göstermiştir (p=0.035); GG genotipine sahip bireylerde glikoz seviyelerinin diğer genotiplere kıyasla daha düşük olduğu saptanmıştır (Tablo 4.11).

TG (mg/dL), D3(ng/mL) ve diğer parametrelerde genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmamıştır (Tablo 4.11). Bu sonuçlar, LEPR G223A (rs1137101) polimorfizminin serum glikoz düzeyi üzerinde etkisi olabileceğini, ancak diğer metabolik ve inflamatuvar belirteçlerle olan ilişkilerinin net olmadığını düşündürmektedir. Literatürde de LEPR polimorfizmlerinin metabolik parametreler üzerindeki etkilerinin karmaşık ve genetik-çevresel faktörlerle modüle edildiği bildirilmektedir (Wijesundera ve ark., 2020; Wang ve ark., 2016). Bu nedenle, LEPR

genotiplerinin metabolik sağlık üzerindeki etkilerini daha iyi anlamak için daha geniş örneklemli ve çok merkezli çalışmalar gereklidir.

LEPR genindeki G223A (rs1137101) polimorfizmine göre belirlenen AA ve GG genotip grupları arasında yaş, BKi (kg/m²), LDL (mg/dL), kreatinin (mg/dL), ALT (U/L), AST (U/L), HbA1c (%), TSH (μIU/mL), T4 (ng/dL), ferritin (ng/mL), D3 vitamini (ng/mL), ALK (ng/mL), CD44 (ng/mL) ve leptin (ng/mL) düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (p>0,05). Ancak, glikoz(mg/dL) (p=0,030) ve TG (mg/dL) (p=0,019) düzeylerinde genotipler arasında anlamlı farklar görülmüştür; GG genotipine sahip bireylerde glikoz ve TG seviyeleri AA genotipine kıyasla daha düşük seyretmiştir (Tablo 4.12). Bu sonuçlar, LEPR G223A (rs1137101) polimorfizminin özellikle glikoz ve lipid metabolizması üzerinde potansiyel etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde de benzer şekilde, LEPR polimorfizmlerinin metabolik parametreler üzerindeki etkilerinin tartışmalı olduğu ve farklı popülasyonlarda farklı sonuçlar elde edildiği bildirilmektedir (Wijesundera ve ark., 2020; Wang ve ark., 2016).

Çalışmamızda LEPR G223A (rs1137101) genotipleri ile ortalama leptin düzeyleri karşılaştırıldığında, GG genotipli bireylerde leptin düzeyinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bunu sırasıyla AG ve AA genotipleri takip etmiştir (şekil 4.6). Ancak bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (p>0,05). Bulgularımız, bu gen polimorfizminin glikoz ve TG metabolizmasında rol oynayabileceğini desteklemekle birlikte, örneklem sayısının sınırlı olması nedeniyle daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucunu ortaya koymaktadır.

LEPR G223A (rs1137101) gen polimorfizmine göre belirlenen AA ve AG genotipine sahip bireyler arasında yaş, BKi (kg/m²), LDL (mg/dL), HbA1c (%), kreatinin (mg/dL), TSH (μIU/mL), T4 (ng/dL), ALT (U/L), AST (U/L), ferritin (ng/mL), ALK (ng/mL), CD44 (ng/mL) ve leptin (ng/mL) düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. (p>0,05). Ancak, D3(ng/dL) vitamini düzeyi AG genotipi taşıyan bireylerde anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (p=0,045). Glikoz(mg/dL) düzeyi de AA genotiplilerde AG grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen, bu fark istatistiksel anlamlılık sınırında kalmıştır (p=0,064) (Tablo 4.13).

Bu sonuçlar, LEPR G223A (rs1137101) polimorfizminin bazı metabolik belirteçler üzerinde sınırlı etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, mevcut bulgularımız LEPR G223A polimorfizminin bazı biyobelirteçler (özellikle glikoz ve D vitamini) ile ilişkili olabileceğini düşündürmekle birlikte, bu ilişkinin netleşmesi için daha büyük örneklemelerde, etnik farklılıkların dikkate alındığı ileri düzey çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda ALK düzeylerinin genotiplere (AA, AG, GG) göre ortalama dağılımına baktığımızda en yüksek ortalama ALK düzeyinin GG genotipine sahip bireylerde açıkça gözlenmektedir. Buna karşın AA genotipine sahip bireylerde ortalama ALK düzeyleri, GG genotipine göre daha düşüktür. Bu durum A alelinin ALK düzeylerini düşürücü veya daha düşük düzeyde tutucu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. AG genotipine sahip bireylerde ortalama ALK düzeyleri, AA ve AG genotipine sahip kişilerin arasında kalmıştır (Şekil 4.7).

Bu bulgular, özellikle AA genotipinin ALK düzeylerini artırıcı yönde etkide bulunabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu ilişkinin genetik etkiler dışında yaş, cinsiyet, obezite derecesi gibi diğer klinik faktörlerden bağımsız olup olmadığının belirlenmesi için daha kapsamlı analizlere ihtiyaç vardır.

Ortalama CD44 düzeyleri genotip gruplarına göre incelendiğinde, GG genotipli bireylerde CD44 düzeylerinin en yüksek olduğu gözlenmiştir. Buna karşın, AG ve AA genotipleri arasında çok bir fark bulunmamış ve bu iki grup CD44 düzeyleri açısından birbirine benzer bulunmuştur (Şekil 4.8).

Bu durum, CD44 düzeylerinin özellikle GG genotipine sahip bireylerde yükseldiğini, ancak heterozigot (AG) ve homozigot mutant (AA) genotipleri arasında belirgin bir farklılık olmadığını göstermektedir. Böylece, GG genotipi CD44 ifadesi üzerinde etkili bir faktör olabilir. Ancak, AG ve AA gruplarının benzer düzeylerde olması, polimorfizmin bu iki genotip için CD44 üzerinde aynı etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, leptin, CD44 ve ALK biyobelirteçlerinin yanı sıra LEPR G223A (rs1137101) gen polimorfizmini obezite ile ilişkili olarak birlikte değerlendiren, literatürdeki ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

Bulgularımız, leptin ve ALK düzeylerinin obezite grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklılık gösterdiğini ve özellikle morbid obez bireylerde bu biyobelirteçlerin belirgin şekilde arttığını ortaya koymuştur. CD44 düzeyleri ise gruplar arasında anlamlı bir fark göstermemiş, ancak morbid obez bireylerde kontrol grubuna göre yükselme eğiliminde olduğu gözlemlenmiştir. ROC analizleri sonucunda leptin, obeziteyi ayırt etmede en yüksek tanısal performansı göstermiş; ALK da anlamlı bir ayırt edicilik sunarken, CD44'ün tanısal değeri sınırlı bulunmuştur.

LEPR G223A (rs1137101) polimorfizminin genotip dağılımları ile bazı metabolik parametreler arasındaki ilişkiler değerlendirildiğinde; glikoz, trigliserid ve D vitamini düzeyleri açısından genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Bu durum, söz konusu polimorfizmin metabolik bozukluklarla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Leptin ve ALK düzeylerindeki artışın, BKİ ile pozitif yönde ilişkili olması, bu biyobelirteçlerin obezite şiddetinin belirlenmesinde potansiyel prognostik araçlar olabileceğini ortaya koymaktadır. Özellikle leptin düzeyinin yüksek özgüllük ve duyarlılıkla obez bireyleri ayırt edebilmesi, klinik uygulamalarda tanısal amaçla kullanılabileceğine işaret etmektedir.

LEPR G223A (rs1137101) polimorfizmiyle birlikte leptin, CD44 ve ALK biyobelirteçlerini değerlendirerek obeziteyle ilişkilerini inceleyen ilk kez araştırılan bu çalışma obeziteye yönelik biyolojik belirteçlerin çok yönlü değerlendirilmesine katkı sağlamaktadır. Bulgularımız, obeziteye bağlı gelişebilecek metabolik bozuklukların erken tanısı ve bireyselleştirilmiş müdahale stratejilerinin geliştirilmesi açısından ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

7. KAYNAKÇA

- Aksoy, M. (Ed.). (2022). *Beslenme biyokimyası* (7. baskı).
- Al Maskari, M. Y., & Alnaqdy, A. A. (2006). Correlation between serum leptin levels, body mass index and obesity in Omanis. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 6(2), 27–31.
- Al-Hussaniy, H. A., Alburghaif, A. H., & Naji, M. A. (2021). Leptin hormone and its effectiveness in reproduction, metabolism, immunity, diabetes, hopes and ambitions. *Journal of Medicine and Life*, 14(5), 600–605. <https://doi.org/10.25122/jml-2021-0153>
- Anderson, L., et al. (2022). Association between body mass index and fasting glucose levels in a multi-ethnic cohort. *Diabetes Care*, 45(8), 1721–1728. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Basakran, N. S. (2015). CD44 as a potential diagnostic tumor marker. *Saudi Medical Journal*, 36(3), 273–279. <https://doi.org/10.15537/smj.2015.3.9622>
- Baysal, A., Bozkurt, N., Pekcan, G., Aksoy, M., Kutluay Merdol, T., Besler, H. T., & Keçecioğlu, S. M. (1999). *Diyet El Kitabı*. Ankara.
- Blaha, M. J., et al. (2019). Lipid management in obesity: Focus on triglycerides and LDL cholesterol. *Journal of Clinical Lipidology*, 13(3), 393–400. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Bourguignon, L. Y., Singleton, P. A., Diedrich, F., Stern, R., & Gilad, E. (2014). CD44 interaction with Na⁺/H⁺ exchanger (NHE1) creates acidic microenvironments leading to hyaluronidase-2 and cathepsin B activation and breast tumor cell invasion. *Journal of Biological Chemistry*, 279(26), 26991–27007. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Cao, Z., Gao, Q., Fu, M., Ni, N., Pei, Y., & Ou, W. B. (2019). Anaplastic lymphoma kinase fusions: Roles in cancer and therapeutic perspectives. *Oncology Letters*, 17(2), 2020–2030. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9856>

- Cheng, Z., Liu, Y., Zhang, X., & Wang, J. (2024). Association of LEPR G223A polymorphism with obesity risk: A meta-analysis. *Heliyon*, 10(3), e03244. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Chiarle, R., Voena, C., Ambrogio, C., Piva, R., & Inghirami, G. (2008). The anaplastic lymphoma kinase in the pathogenesis of cancer. *Nature Reviews Cancer*, 8(1), 11–23.
- Chiu, K. C., et al. (2004). Polymorphisms in the leptin receptor gene are associated with obesity and insulin resistance. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(5), 2321–2326. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Chung, W. K. (2012). An overview of monogenic and syndromic obesities in humans. *Pediatric Blood & Cancer*, 58(1), 122–128. <https://doi.org/10.1002/pbc.23372>
- Crandall, D. L., Hausman, G. J., & Kral, J. G. (1997). A review of the microcirculation of adipose tissue: Anatomic, metabolic and angiogenic perspectives. *Microcirculation*, 4, 211–232.
- Dakanalis, A., Mentzelou, M., Papadopoulou, S. K., Papandreou, D., Spanoudaki, M., Vasios, G. K., Pavlidou, E., Mantzorou, M., & Giaginis, C. (2023). The association of emotional eating with overweight/obesity, depression, anxiety/stress, and dietary patterns: A review of the current clinical evidence. *Nutrients*, 15(5), 1173. <https://doi.org/10.3390/nu15051173>
- Daniel, P., Denis, G., Baskin, D., & Michael, W. S. (2002). Leptin and insulin action in the central nervous system. *Nutrition Reviews*, 60, 20–29.
- Dastgheib, S. A., Eskandari, N., Alipour, A., & Bahramali, E. (2019). Association of leptin receptor gene polymorphisms with obesity and lipid profile in Iranian population. *Journal of Research in Medical Sciences*, 24, 92. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Dedoni, S., Scherma, M., Camoglio, C., Siddi, C., Fratta, W., & Fadda, P. (2023). Anaplastic lymphoma kinase receptor: Possible involvement in anorexia nervosa. *Nutrients*, 15(9), 2205. <https://doi.org/10.3390/nu15092205>

- Dhawan, D., & Sharma, S. (2020). Abdominal obesity, adipokines and non-communicable diseases. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 203, 105737. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2020.105737>
- Duarte, M. K. R. N., Leite-Lais, L., Agnez-Lima, L. F., Maciel, B. L. L., & Morais, A. H. A. (2024). Obesity and nutrigenetics testing: New insights. *Nutrients*, 16(5), 607. <https://doi.org/10.3390/nu16050607>
- Duarte, S. F., Francischetti, E. A., Genelhu, V. A., Cabello, P. H., & Pimentel, M. M. (2007). LEPR gene polymorphisms are associated with obesity and metabolic syndrome markers in Brazilian individuals. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 51(3), 364–370. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Faccioli, N., Poitou, C., Clément, K., & Dubern, B. (2023). Current treatments for patients with genetic obesity. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, 15(2), 108–119. <https://doi.org/10.4274/jcrpe.galenos.2023.2023-3-2>
- Flegal, K. M., Kruszon-Moran, D., Carroll, M. D., Fryar, C. D., & Ogden, C. L. (2016). Trends in obesity among adults in the United States, 2005 to 2014. *JAMA*, 315(21), 2284–2291.
- Friedman, J. M., Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese (ob) gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505), 425–432.
- Frühbeck, G., Gómez-Ambrosi, J., Muruzábal, F. J., & Burrell, M. A. (2001). Leptin: Physiological mechanisms and therapeutic approaches for obesity. *Pharmacology & Therapeutics*, 92(1), 1–20. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Genchi, V. A., D'Oria, R., Palma, G., Caccioppoli, C., Cignarelli, A., Natalicchio, A., Laviola, L., Giorgino, F., & Perrini, S. (2021). Impaired leptin signalling in obesity: Is leptin a new thermolipokine? *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6445. <https://doi.org/10.3390/ijms22126445>
- Greco, E. A., et al. (2021). Vitamin D deficiency and its relation to leptin, glucose and liver function in adolescents with obesity. *Pediatric Obesity*, 16(3), e12736. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]

- Gregor, M. F., & Hotamisligil, G. S. (2011). Inflammatory mechanisms in obesity. *Annual Review of Immunology*, 29, 415–445.
- Huang, H. (2018). Anaplastic lymphoma kinase (ALK) receptor tyrosine kinase: A catalytic receptor with many faces. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3448. <https://doi.org/10.3390/ijms19113448>
- Huang, M., & Weiss, W. A. (2013). Neuroblastoma and MYCN. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(10), a014415. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- İpek, E. (yıl belirtilmemiş). Türkiye’de obezitenin sosyoekonomik belirleyicileri. *Uluslararası İktisadi ve İdari İncelemeler Dergisi*, No. 25, 57–70.
- Jiang, D., Liang, J., Fan, J., Yu, S., Chen, S., Luo, Y., ... & Noble, P. W. (2011). Regulation of adipocyte differentiation by CD44 through modulation of extracellular matrix components. *Diabetes*, 60(8), 2175–2184. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Karadoğan, D., Canbolat, Ö., & Çakıroğlu, F. P. (2022). Comparison of biochemical parameters according to body mass index in adult women. *Eastern Journal of Medicine*, 27(2), 196–201. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Keleş, V., Büyükgüzel, K., & Büyükgüzel, E. (2018). Leptin ve metabolik düzenlenmedeki rolü. *Turkish Journal of Diabetes and Obesity*, 2(1).
- Kobayashi, N., et al. (2018). CD44 variant inhibits insulin secretion in pancreatic β cells by attenuating LAT1-mediated amino acid uptake. *Scientific Reports*, 8.
- Kodama, K., et al. (2012). Expression-based genome-wide association study links the receptor CD44 in adipose tissue with type 2 diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 109, 7049–7054.
- Kodama, K., et al. (2012). eGWAS reveals a role for CD44 in type 2 diabetes and obesity-induced insulin resistance. *PLoS Genetics*, 8(7), e1002689. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Kodama, K., et al. (2015). Anti-CD44 antibody treatment improves insulin sensitivity and reduces adipose tissue inflammation in high-fat diet-induced obese mice. *Diabetes*, 64(3), 867–875. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]

- Kodama, K., Toda, K., Morinaga, H., Yamada, S., Butte, A. J., & Makino, H. (2012). CD44 expression in adipose tissue regulates inflammation in diet-induced obesity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 303(6).
- Kopelman, P. G. (2000). Obesity as a medical problem. *Nature*, 404(6778), 635–643.
- Liu, L. F., Kodama, K., Wei, K., Tolentino, L. L., Choi, O., Engleman, E. G., Butte, A. J., & McLaughlin, T. (2015). The receptor CD44 is associated with systemic insulin resistance and proinflammatory macrophages in human adipose tissue. *Diabetologia*, 58(7), 1579–1586. <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3603-y>
- Maffei, M., Halaas, J., Ravussin, E., Pratley, R. E., Lee, G. H., Zhang, Y., ... & Friedman, J. M. (1995). Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Medicine*, 1(11), 1155–1161. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Mahley, R. W., et al. (2016). Small, dense LDL particles: An emerging risk factor for cardiovascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 36(4), 757–765. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Mahmoud, R., Kimonis, V., & Butler, M. G. (2022). Genetics of obesity in humans: A clinical review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11005. <https://doi.org/10.3390/ijms231911005>
- Mammes, O., Betoulle, D., Aubert, R., Giraud, V., Tuzet, S., Petiet, A., ... & Fumeron, F. (2000). Novel polymorphisms in the 5' region of the LEPR gene: association with leptin levels and response to low-calorie diet in obese women. *Diabetes*, 49(12), 2196–2200. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Min, S., Shi, T., Han, X., Chen, D., Xu, Z., Shi, D., Teng, H., & Jiang, Q. (2021). Serum levels of leptin, osteopontin, and sclerostin in patients with and without knee osteoarthritis. *Clinical Rheumatology*, 40, 287–294.
- Muscogiuri, G., Verde, L., Vetrani, C., Barrea, L., Savastano, S., & Colao, A. (2024). Obesity: a gender-view. *Journal of Endocrinological Investigation*, 47(2), 299–306. <https://doi.org/10.1007/s40618-023-02196-z>

- Myers, M. G., Leibel, R. L., Seeley, R. J., & Schwartz, M. W. (2010). Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 21(11), 643–651. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Novelli, G., Cassadonte, C., Sbraccia, P., & Biancolella, M. (2023). Genetics: A starting point for the prevention and the treatment of obesity. *Nutrients*, 15(12), 2782. <https://doi.org/10.3390/nu15122782>
- Obradovic, M., Sudar-Milovanovic, E., Soskic, S., Essack, M., Arya, S., Stewart, A. J., Gojobori, T., & Isenovic, E. R. (2021). Leptin and obesity: Role and clinical implication. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 585887. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.585887>
- Ojima, M., Takahashi, H., Yoshida, T., & Iwamoto, M. (2015). Role of CD44 in obesity-associated inflammation and insulin resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 6837–6850. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Orthofer, M., Valsesia, A., Mägi, R., Wang, Q. P., Kaczanowska, J., Kozieradzki, I., ... & Zamboni, N. (2020). Identification of ALK in thinness. *Cell*, 181(6), 1246–1262.
- Park, S. Y., et al. (2022). Subclinical hypothyroidism and obesity: Association and clinical implications. *Thyroid*, 32(3), 297–304. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Pekkolay, Z. (2018). Obezite patogenezi. *Firat Tıp Dergisi*, 23, 5–8.
- Perakakis, N., Farr, O. M., & Mantzoros, C. S. (2021). Leptin in leanness and obesity: JACC state-of-the-art review. *Journal of the American College of Cardiology*, 77(6), 745–760. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.11.069>
- Ponta, H., Sherman, L., & Herrlich, P. A. (2003). CD44: From adhesion molecules to signalling regulators. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4(1), 33–45.
- Quinton, N. D., Lee, A. J., Ross, R. J. M., Eastell, R., & Blakemore, A. I. F. (2001). A single nucleotide polymorphism (–2548G/A) in the 5' untranslated region of the leptin gene is associated with weight gain in women. *Human Reproduction*, 16(9), 1999–2004. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]

- Raskiliene, A., Smalinskiene, A., Kriaucioniene, V., Lesauskaite, V., & Petkeviciene, J. (2021). Associations of MC4R, LEP, and LEPR polymorphisms with obesity-related parameters in childhood and adulthood. *Genes (Basel)*, 12(6), 949. <https://doi.org/10.3390/genes12060949>
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K., & Erlich, H. A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239(4839), 487–491. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Shabana, N., Shahid, A., & Saeed, M. (2022). Role of LEPR G223A gene polymorphism in obesity and lipid profile in Pakistani women. *Molecular Biology Reports*, 49, 4021–4029. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Smith, A. J., et al. (2016). Vitamin D deficiency and biochemical parameters in obese adults: A cross-sectional study. *Nutrition Research*, 36(7), 674–680. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Smith, A. L., et al. (2023). Association between BMI and risk of metabolic diseases: A population-based cohort study. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 108(4), 987–995. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Smith, D. S., et al. (2020). Impact of weight loss on thyroid hormone levels in obese individuals. *Obesity*, 28(8), 1397–1404. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Tartaglia, L. A. (1997). The leptin receptor. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 6093–6096.
- Taşli, H., & Sağır, S. (2021). Obezitenin belirlenmesinde kullanılan beden kitle indeksi, bel çevresi, bel-kalça oranı metotlarının karşılaştırılması. *Ahi Evran Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 7(1), 138–150.
- TEMĐ. (2019). *Obezite tanı ve tedavi kılavuzu*. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Ankara. ISBN: 978-605-4011-31-5.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). (2010). *Sağlık Araştırması*, Sayı: 49747, Ankara.
- Turner, P. C., McLennan, A. G., Bates, A. D., & White, M. R. H. (2004). *Moleküler biyoloji: Önemli notlar* (M. Konuk, Çev. Edt.). Nobel Yayın Dağıtım.

- Uzogara, S. G. (2017). Obesity epidemic, medical and quality of life consequences: A review. *International Journal of Public Health*, 5(1).
- van Harmelen, V., Ariapart, P., Östman, J., & Reynisdottir, S. (2009). Increased expression of ALK7 in adipose tissue of lean individuals and inverse correlation with obesity. *International Journal of Obesity*, 33(7), 748–756. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- VerHague, M., Albright, J., Barron, K., et al. (2022). Obesogenic and diabetic effects of CD44 in mice are sexually dimorphic and dependent on genetic background. *Biology of Sex Differences*, 13, 14. <https://doi.org/10.1186/s13293-022-00426-2>
- Wang, M., Tan, Y., Shi, Y., Wang, X., Liao, Z., & Wei, P. (2020). Diabetes and sarcopenic obesity: Pathogenesis, diagnosis, and treatments. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*, 11, 568. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00568>
- Wang, T., Liu, Y., Wang, X., Wang, X., & Wang, C. (2016). Association of leptin receptor gene polymorphisms with obesity in a Chinese population. *Journal of Genetics*, 95(1), 163–169. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Wauters, M., et al. (2001). The influence of the leptin receptor gene on weight gain and fat mass in adult women. *International Journal of Obesity*, 25(7), 1020–1027. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Weiss, L., et al. (2000). Induction of resistance to diabetes in non-obese diabetic mice by targeting CD44 with a specific monoclonal antibody. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97, 285–290.
- Weng, X., Maxwell-Warburton, S., Hasib, A., Ma, L., & Kang, L. (2022). The membrane receptor CD44: novel insights into metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 33(5), 318–332. doi: 10.1016/j.tem.2022.02.002. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Wijesundera, H. D. A., Gunawardana, N. C., Ranasinghe, P., Katulanda, P., & Matthews, D. R. (2020). Association of the leptin receptor Q223R (rs1137101) polymorphism with obesity measures in Sri Lankans. *Nutrition & Metabolism*, 17.

- Williams, K., Motiani, K., Giridhar, P. V., & Kasper, S. (2013). CD44 integrates signaling in normal stem cell, cancer stem cell and (pre)metastatic niches. *Experimental Biology and Medicine*, 238(3), 324–338. doi: 10.1177/1535370213480714
- World Health Organization. (2010). A healthy lifestyle-WHO recommendations, Body mass index–BMI. <https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/a-healthy-lifestyle--whorecommendations> [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- World Health Organization. (2021). Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- World Health Organization. (2023). Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Wu, Y., Ma, J., Chen, J., Liu, X., Wang, Z., Luo, L., & Sun, C. (2025). Ablation of CD44 attenuates adipogenesis in white adipocytes via the tryptophan 5-hydroxylase 2/5-hydroxytryptamine axis to protect mice from high-fat diet-induced obesity. *American Journal of Pathology*, 195(2), 247–264. doi: 10.1016/j.ajpath.2024.10.005. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Wu, H., & Ballantyne, C. M. (2014). Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in obesity. *Obesity Reviews*, 15(11), 836–847.
- Yiannakouris, N., Yannakoulia, M., Melistas, L., Chan, J. L., Klimis-Zacas, D., & Mantzoros, C. S. (2001). The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is associated with insulin resistance and obesity phenotypes in healthy women. *Diabetes Care*, 24(9), 1496–1501. <https://doi.org/10.2337/diacare.24.9.1496>
- Yiannakouris, N., Yannakoulia, M., Melistas, L., Chan, J. L., Klimis-Zacas, D., & Mantzoros, C. S. (2001). The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is associated with insulin resistance and obesity in healthy women. *Diabetes Care*, 24(7), 1205–1210. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Yılmaz, M. I., et al. (2020). Liver enzymes and visceral adiposity in obesity. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 54(2), 124–130. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]
- Zaki, M. E. S., Afifi, H. H., & El-Bassyouni, H. T. (2021). Impact of LEPR G223A polymorphism on obesity and insulin resistance in Egyptian adults. *Gene Reports*, 22, 100972. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]

Zhang, X., Ha, S., Lau, H. C., & Yu, J. (2023). Excess body weight: Novel insights into its roles in obesity comorbidities. *Seminars in Cancer Biology*, 92, 16–27. doi: 10.1016/j.semcancer.2023.03.008. [Erişim Tarihi: 23.02.2025]





T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : 83116987 - 2024
Konu : Etik Kurul Kararı
Toplantı Tarihi : 29.02.2024
Toplantı No : 2024/03
Proje No : 24-KAEK-075

21.03.2024

Sayın, Dr. Öğretim Üyesi Figen GÜZELGÜL

Etik Kurulumuzun 29.02.2024 tarihli toplantısında görüşülen 24-KAEK-075 kayıt numaralı **“Obezite Oluşunda Leptin, Anaplastik Lenfoma Kinaz (ALK), CD-44 Düzeyleri ve Leptin Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi”** başlıklı çalışmanız gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.

İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmeliğin 14-4. maddesi ve yönergemizin 18-3. maddesine göre çalışmanız tamamlandıktan sonra sonuç raporunun tarafımıza en geç 90 gün içerisinde bildirilmesi gerekmektedir.

Bilgilerinizi rica ederim.

1

ÖZGEÇMİŞ

