Nazmiye ULUERGÜVEN

Obez Bireylerde HIF-1α ve VEGF Düzeyleri ile Beden Kitle İndeksi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

ALKÜ 2022

T.C.

ALANYA ALAADDİN KEYKUBAT ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

OBEZ BİREYLERDE HIF-1α VE VEGF DÜZEYLERİ İLE BEDEN KİTLE İNDEKSİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Nazmiye ULUERGÜVEN

Danışman
Prof. Dr. Ramazan GÜNEŞAÇAR

ALANYA
2022

T.C.

ALANYA ALAADDİN KEYKUBAT ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

OBEZ BİREYLERDE HIF-1α VE VEGF DÜZEYLERİ İLE BEDEN KİTLE İNDEKSİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Nazmiye ULUERGÜVEN

Anabilim Dalı: Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Program Adı: Moleküler Tıp

Danışman

Prof. Dr. Ramazan GÜNEŞAÇAR

Bu tez çalışması ALKÜ-BAP Komisyonunca kabul edilen 2021-04-01-LTP01 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

ALANYA

2022

ONAY SAYFASI

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilemeyen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi tarafından kullanılan "bilimsel intihal tespit programıyla tarandığını ve "intihal içermediğini" beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Nazmiye ULUERGÜVEN

TEŞEKKÜR SAYFASI

Tez çalışmam boyunca her türlü bilimsel katkı ve desteğini esirgemeyen, bütün bilgi ve deneyimi ile bana ışık tutan, öğrencisi olduğum için şanslı olduğum değerli hocam ve danışmanım Sayın Prof. Dr. Ramazan GÜNEŞAÇAR başta olmak üzere,

Yüksek lisans tezim aşamasındaki laboratuvar çalışmalarımda bilgi ve deneyimleriyle yardımcı olan Sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Erkan MAYTALMAN'a,

Kliniğine başvuran obez bireyler konusunda yardımcı olan Dr. Kemal TÜRKER'e,

Çalışmamıza 2021-04-01-LTP01 no'lu proje kapsamında destek veren Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğü'ne

Bilgi paylaşımı ve katıklarından dolayı bütün bölüm hocalarıma,

Hayatta ve mesleğimde ulaştığım bu noktaya gelmemi sağlayan, zorlu geçen bir eğitim sürecinde bana olan desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen, her türlü fedakârlık ve özveriyi gösteren annem Ayşe SARI'ya, babam Mustafa SARI ve eşim Kaan ULUERGÜVEN'e,

Sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Obez Bireylerde HIF-1α ve VEGF Düzeyleri ile Beden Kitle İndeksi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Nazmiye ULUERGÜVEN

Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ocak, 2022 (64 Sayfa)

Amaç: Çalışmamızda, obez bireylerde plazma HIF-1α ve VEGF düzeylerinin obezite patogenezindeki önemini ve bu moleküller ile beden kitle indeksi, vücut yağ yüzdesi ve bel/kalça oranları arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod: Çalışmamıza, 45 obez birey ile normal kilolu 28 sağlıklı kontrol dahil edildi. Kırk beş obez bireyin 19'unda eşlik eden en az bir metabolik hastalık mevcuttu. Çalışmaya katılan bireylerden 12 saatlik açlık sonrası, biyoelektrik impedans analiz cihazı ile BKİ, yağ dokusu yüzdesi ve bel/kalça oranı ölçümleri gerçekleştirildi. Plazma HIF-1α ve VEGF düzeylerinin ölçümü için mikroeliza yöntemi uygulandı.

Bulgular: HIF-1α plazma düzeyleri obez bireylerde 2.78 ± 0.46 ng/mL, kontrol grubunda ise 1.37 ± 0.045 ng/mL olarak saptanmış olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.0192$), VEGF plazma düzeyleri de obez bireylerde (1396 ± 250 ng/L), kontrol grubuna (594.90 ± 15.65 ng/L) göre anlamlı yüksek bulundu ($p=0.0141$). Obez bireylerde BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel/kalça oranı kontrol grubuna göre oldukça yüksekti ($p<0.05$). Obez bireylerde HIF-1α ve VEGF düzeyleri arasında kuvvetli pozitif korelasyon belirlendi ($r=0.966$, $p=0.0001$). Yine, obez bireylerde vücut yağ yüzdesi ile BKİ arasında ve vücut yağ yüzdesi ile bel/kalça oranı arasında anlamlı pozitif korelasyonlar saptandı (sırasıyla $r=0.383$, $p=0.009$ ve $r=0.617$, $p=0.0001$). Obez bireyler, obeziteye eşlik eden en az bir metabolik hastalığı bulunanlar ile herhangi bir hastalığı olmayanlar şeklinde iki gruba ayrılıp gruplar arasında istatistiksel karşılaştırma yapıldığında, metabolik hastalığı olanlarda, olmayanlara göre hasta yaşı (yıl) ve vücut yağ yüzdesinde anlamlı bir artış gözlendi (sırasıyla $p=0.0006$ ve $p=0.0083$), diğer parametrelerde ise herhangi bir fark saptanamadı ($p>0.05$).

Tartışma: Çalışmamızda, plazma HIF-1α ve VEGF düzeylerinin yüksek bulunması obezite gelişiminde hipoksinin rolünü ve HIF-1α ve VEGF'in obezite patogenezindeki önemini gösterebilir. Obez bireylerde plazma HIF-1α ve VEGF düzeyleri arasında güçlü

korelasyon gözlenmesi, hipoksiye yanıt olarak adipoz dokuda eksprese edilen HIF-1α transkripsiyon faktörünün VEGF promotörünü uyararak VEGF ekspresyonunu sağladığı ve adipoz dokuda üretilen bu proteinlerin dolaşıma geçerek kandaki düzeylerinin de yükseldiğini düşündürmektedir. Literatürde VEGF ve/veya HIF-1α seviyeleri ile BKİ ilişkisine dair konsensus bulunmamaktadır. Çalışmamızda, obez bireylerde plazma VEGF seviyeleri ile BKİ arasında ilişkiye rastlanamamıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar ve literatür bulguları incelendiğinde, çalışmalara dahil edilen birey sayılarının yetersiz olması, HIF-1α ve VEGF ile BKİ arasındaki ilişkiyi belirlemeye yönelik çalışmaların daha geniş bir popülasyonda yapılması gerektiğini göstermektedir. Çalışmamızda ayrıca, metabolik hastalığı bulunan obez bireylerde, hastalığı bulunmayan obez bireylere göre yaş (yıl) ve vücut yağ yüzdelerinin yüksek bulunması, yaş ve vücut yağ yüzdesindeki artışın obezitede metabolik hastalık riskini artırabileceğini göstermektedir. Buna karşın, eşlik eden en az bir metabolik hastalığı bulunan obez bireyler ile hastalığı olmayan obez bireyler arasında plazma HIF-1α veya VEGF düzeylerinin farksız bulunması, yüksek HIF-1α ve VEGF seviyelerinin obez bireylerde metabolik hastalıkların gelişimi için risk faktörleri olmadığını yansıtabilir.

Anahtar kelimeler: Obezite, Hipoksi, HIF-1α, VEGF, Beden kitle indeksi

ABSTRACT

Investigation of the Relationship Between HIF-1α and VEGF Levels, and Body Mass Index in Obese Individuals

Nazmiye ULUERGÜVEN

Department of Molecular Medicine

Alanya Alaaddin Keykubat University Institute of Graduate Studies

January, 2022

Objective: In the present study, we aimed to investigate the importance of plasma HIF-1α and VEGF levels in the pathogenesis of obesity and the relationship between these molecules and BMI, body fat percentage and waist/hip ratios in obese individuals.

Materials and Methods: 45 obese individuals and 28 healthy controls with normal weight were included in our study. Nineteen of 45 obese individuals had at least one accompanying metabolic disease. After 12 hours of fasting body mass index (BMI), body fat percentage and waist/hip ratio measurements were performed with a bioelectrical impedance analyzer from the individuals participating in the study. Microelisa method was used for the measurement of plasma HIF-1α and VEGF levels.

Results: HIF-1α plasma levels were found to be 2.78 ± 0.46 ng/mL in obese individuals and 1.37 ± 0.04 ng/mL in the control group, the difference was statistically significant ($p=0.0192$), VEGF plasma levels were also found in obese individuals (1396 ± 250 ng/l) was significantly higher than the control group (594.90 ± 15.65 ng/l, $p=0.0141$). BMI, body fat percentage and waist/hip ratio were significantly higher in obese individuals compared to the controls ($p<0.05$ for all). A strong positive correlation was found between HIF-1α and VEGF levels in obese individuals ($r=0.966$, $p=0.0001$). Again, significant positive correlations were found between body fat percentage and BMI, and between body fat percentage and waist/hip ratio in obese individuals ($r=0.383$, $p=0.009$ and $r=0.617$, $p=0.0001$, respectively). A significant increase was observed in age (years) and body fat percentage in obese individuals with metabolic disease compared to those without metabolic desease ($p=0.0006$ and $p=0.0083$, respectively). However there was no difference in other parameters between obese individuals with and without metabolic disease ($p>0.05$ for all).

Discussion: High plasma HIF-1α and VEGF levels in our study may indicate the role of hypoxia in the development of obesity and the importance of HIF-1α and VEGF in the pathogenesis of obesity. The strong correlation between plasma HIF-1α and VEGF levels in obese individuals suggests that the transcription factor HIF-1α, which is expressed in adipose tissue in response to hypoxia, provides VEGF expression by stimulating the VEGF promoter, and these proteins produced in adipose tissue pass into the circulation and their levels increase in the blood. There is no consensus in the literature regarding the relationship between VEGF or HIF-1α levels and BMI. In our study, no relationship was found between plasma VEGF levels and BMI in obese individuals. When our results and literature findings are examined, it is seen that studies to determine the relationship between VEGF and BMI should be conducted in a larger population due to the insufficient number of individuals included in the studies. In our study, the fact that obese individuals with metabolic disease have higher age (years) and body fat percentages than obese individuals without the disease show that the increase in age and body fat percentage may increase the risk of metabolic diseases in obesity. On the other hand, finding that plasma HIF-1α or VEGF levels are not different between obese individuals with at least one accompanying metabolic disease and obese individuals without the disease may reflect that elevated HIF-1α and VEGF levels are not risk factors for the development of metabolic diseases in obese individuals.

Keywords: Obesity, Hypoxia, HIF-1α, VEGF, Body mass index

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI

ONAY SAYFASI i

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ ii

TEŞEKKÜR SAYFASI iii

ÖZET iv

ABSTRACT vi

TABLOLAR LİSTESİ x

ŞEKİLLER LİSTESİ xi

SİMGELER VE KISALTMALAR xii

1. GİRİŞ 1

2. LİTERATÜR 2

2.1. Obezite Epidemiyolojisi 2

2.2. Obezite ve Sınıflandırma 2

2.3. Obezite Ölçüm Yöntemleri 3

2.3.1. Yağ miktarının ölçümünde kullanılan direk yöntemler 3

2.3.2. Vücut yağ miktarının ölçümünde indirek yöntemler 3

2.4. Obezitenin Nedenleri ve Mekanizmaları 5

2.4.1. Çevresel faktörler 5

2.4.2. Genetik faktörler 6

2.4.3. Hormonal bozukluklar 8

2.5. Obezite ve Bilişsel Kontrol 8

2.6. Obezite ve İnflamasyon 9

2.7. Metabolik Sendrom, Diyabet ve Kardiyovasküler Hastalıklar ile Obezite İlişkisi 10

2.8. Obeziteyi Düzenlediği Bilinen Metabolik Yollar 12

2.8.1. Açlık ve tokluk 13

2.8.2. Besin emilimi 13
2.8.3. Enerji harcanması 13
2.8.4. Nitrik oksit - endojen oluşum ve genel biyolojik etki yolları 14
2.8.5. NO' nun biyokimyasal özellikleri 15
2.9. Hipoksi İle İndüklenebilir Faktör-1 Alfa (HIF-1α) 16
2.10. Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF) 19
2.10.1.VEGF türleri 20
2.10.2. VEGF ve obezite 22
2.10.3. VEGF ve obezite kaynaklı insülin direncine karşı koruma 23
2.11. HIF-1α ve VEGF ilişkisi 23
3. MATERYAL VE METOD 26
3.1. HIF-1α plazma düzeylerinin belirlenmesi 26
3.2. VEGF Plazma Düzeylerinin Belirlenmesi 29
3.3.İstatistiksel Analiz 31
4. BULGULAR 32
5. TARTIŞMA 44
6. SONUÇLAR 49
7. KAYNAKLAR 51
8. EKLER 63
EK- 1: Etik Kurul Onayı 63
ÖZGEÇMİŞ 64

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 Beden kitle İndeksi Sınıflandırma…….3

Tablo 2.2 Monogenik Obezite Sendromlarına Neden Olan Genler ve Fenotipik Özellikleri……7

Tablo 4.1 Sağlıklı kontrol grubunda HIF-1α, VEGF, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel kalça oranı değerleri……33

Tablo 4.2 Obez bireylere ait HIF-1α, VEGF, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel kalça oranı değerleri……..34

Tablo 4.3 Kontrol ve Obez Bireylerin yaş(yıl), cinsiyet, HIF-1α, BKİ, vücut yağ yüzdesi, bel/kalça oranlarının ortalama ve P değerleri……36

Tablo 4.4 Obez bireylerde eşlik eden en az bir metabolik hastalığı olan ve olmayan bireylerin yaş (yıl), cinsiyet, HIF-1α, BKİ, vücut yağ yüzdesi, bel/kalça oranlarının ortalama ve P değerleri……36

Tablo 4.5 Obez bireylerde plazma HIF-1α ve VEGF düzeyleri ile BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel/kalça oranları arasındaki korelasyonlar……..36

Tablo 4.6 Herhangi bir metabolik hastalığı bulunmayan obez bireylerde HIF-1α, VEGF, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel/ kalça oranı değerleri…….39

Tablo 4.7 Eşlik eden herhangi bir metabolik hastalığa sahip olmayan obez bireylerde plazma HIF-1α ve VEGF düzeyleri ile BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel/kalça oranları arasındaki korelasyonlar……..40

Tablo 4.8 Eşlik eden en az bir metabolik hastalığa sahip obez HIF-1α, VEGF, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel/kalça oranı değerleri……42

Tablo 4.9 Eşlik eden en az bir metabolik hastalığa sahip obez bireylerde HIF-1α, VEGF, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel/kalça oranları arasındaki korelasyon ……43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1 HIF-1α plazma düzeyinin belirlenmesinde standart solüsyonların hazırlanması ve konsantrasyon değerleri…….....27

Şekil 3.2 HIF-1α absorbans(OD) ve konsantrasyon(ng/ml) standart eğri grafiği…….28

Şekil 3.3 VEGF plazma düzeyinin belirlenmesinde standart solüsyonların hazırlanması ve konsantrasyon değerleri……..29

Şekil 3.4 VEGF absorbans(OD) ve konsantrasyon(ng/ml) standart eğri grafiği……..30

Şekil 4.1 Obez bireylerde HIF-1α ve VEGF korelasyon grafiği…….37

Şekil 4.2 Obez bireylerde bel/ kalça oranı ve BKİ korelasyon grafiği……37

Şekil 4.3 Obez bireylerde vücut yağ yüzdesi ve BKİ korelasyon grafiği……...38

Şekil 4.4 Eşlik eden herhangi bir metabolik hastalığı olmayan obez bireylerde HIF-1α ve VEGF korelasyon grafiği…….....40

Şekil 4.5 Eşlik eden herhangi bir metabolik hastalığı olmayan obez bireylerde bel/ kalça oranı ve BKİ korelasyon grafiği.....41

Şekil 4.6 Eşlik eden en az bir metabolik hastalığa sahip obez HIF-1α, VEGF arasındaki korelasyon grafiği.....43

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

BKİ	Beden Kitle İndeksi
BİA	Bioelektrik İmpedans Analizi
DEXA	Dual Enerji X-ray Absorbsiyon
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
BAİ	Beden Adipozite İndeksi
SD	Standart Deviasyon
GRACE	Glikoz Tepkisi Korunan Element
SREBP-1c	Sterol regulatory element-binding Protein-1c
Mlx	Max-like protein X
ChREBP	Carbohydrate-Responsive Element-Binding Protein
FTO	Fat mass and obesity-associated gene
WAGR	Wilms Tümörü, Aniridia, Genitoüriner Anomaliler ve Zeka geriliği
POMC	Proopiomelanokortin
MC4R	Melanokortin-4 Reseptör
PC1	Prokonvertaz 1 Enzimi
PKOS	Polikistikover
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
mikroRNA	Mikro Ribo Nükleik Asit
GLP-1	Glukagon like-Peptide 1
TNF	Tumor necrosis factor
İR	İnsülin Resistance

HFD	High fat diet
JnK	Jun N-terminal kinaz
NF-kβ	Nükleer Faktör kappa β
IL	İnterlökin
CVD	Cardiovascular diseases
NEFA	Non-Ester Yağ Asitleri
HOMA-IR	İnsülin Direnç İndeksi
DAG	Diaçil gliserol
HDAC	Histon Deasetilazlar
IRS	İnsülin Reseptör Substratı
PI	Fosfatidilinositol
EGF	Epidermal Growth Factor
ApoB	Apolipoprotein B
HDL	High Density Lipoprotein
CCK	Kolesistokinin
BMH	Bazal Metabolizma Hızı
Ucp1	Uncoupling protein 1
BAT	Brown adipose tissue
Ppar	Peroxisome proliferator-activated receptors
Pgc-1α	Koaktivatör-1α
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid

FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
FMN	Flavin Mononükleotid
BH4	Tetrahidrobiopterin
sGC	Guanilat siklaz
O2-	Süperoksit
RNS	Reaktive Nitrogen Species
HIF-1	Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör-1
ARNT	Aril Hidrokarbon Reseptör Nükleer Translokatör
DMOG	Dimetiloksalilglisin
HRE	Hipoksi Yanıtı Element
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
Pgk	Fosfogliserat Kinaz
ATH	Adipose Tissue Hipoksi
ATM	Ataksi-Telenjiektazi Mutasyon
PlGF	Plasental Büyüme Faktör
IPAS	İnhibitör PAS domain Proteini
WAT	White adipose tissue
FATP	Fatty Acid Transport Protein
IAL	İnflamasyonla İlişkili Lenfanjiyogenez
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
DLL4	Delta like 4
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
SFA	Saturated Fatty Acids

EPO	Eritropoetin
MCP -1	Monosit Kemoatraktan Proteini
OD	Optik Dansite
SEM	Standart Hata (Standard Error Mean)
X	Ortalama
K	Kadın
E	Erkek

1. GİRİŞ

Obezite; yağ dokusu kitlesinin genişlemesi ile karakterize, tip 2 diyabet, hipertansiyon, dislipidemi, kardiyovasküler hastalıklar ve kansere eğilimle ilişkili kronik hipoksik bir durumdur [1-3]. Aşırı beslenme, fiziksel aktivite azlığı ve genetik yatkınlık gibi faktörler obeziteye neden olabilmektedir. Yetişkinlerde, Beden Kitle İndeksinin (BKİ) hesaplanmasında boy kilo oranı esas alınmaktadır. BKİ hesaplamak için; kişinin beden ağırlığı (kg), boyun (m) karesine bölünür. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ); BKİ'nin $\leq$18.5 kg/m^2 zayıf, 18.5 – 24.9 kg/m^2 arası normal kilolu, 25 -29.9 kg/m^2 fazla kilolu, $\geq$ 30 kg/m^2 ve üzerini ise obez olarak tanımlamaktadır [4]. Diğer dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de obezite görülme sıklığı gün geçtikçe artmaktadır. Türkiye'de yetişkinlerdeki obezite sıklığı; erkeklerde %20.5, kadınlarda %41, toplamda ise %30.3 olarak belirlenmiştir. Fazla kilolu olanlar %34.6, fazla kilolu ve şişman olanlar %64.9, aşırı şişman olanların oranı %2.9 olarak bulunmuştur [5].

Obez farelerin yağ dokusunda hipoksik yanıtın gösterilmesi obezitede kronik inflamasyon ve yağ dokusu disfonksiyonunun altında yatan hücresel mekanizmayı öngörmektedir [6, 7]. Yağ dokusu hipoksisi dikkatleri HIF-1α ve VEGF gibi hipoksi belirtecin genlerine yönlendirmiştir. HIF-1, aktivitesi hipoksi tarafından indüklenen bir transkripsiyon faktörüdür ve adipoz doku hipoksisinin bir göstergesi olarak kullanılmıştır [8-11].

Moushira ve ark. obez kadınlarda serum VEGF seviyelerinin oldukça yüksek olduğunu ayrıca bu belirtecin insülin direnci ve yüksek viseral yağ indeksi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir [12]. HIF-1 ve VEGF'in obez farelerde arttığı, HIF-1 protein düzeyindeki artışın adipoz dokudaki VEGF ekspresyonundan sorumlu olabileceği ve HIF-1 proteininin obez farelerin yağ dokusunda yükseldiği gösterilmiştir [11]. Çalışmalar, obez farelerde adipositlerdeki VEGF ekspresyonu düzeyi ile plazma VEGF düzeyleri arasındaki ilişkiyi desteklemektedir [13-15].

HIF-1α ile ilgili çok sayıda deneysel çalışma bulunmakla birlikte, bilgilerimize göre obezitede HIF-1α serum düzeyleri ile ilgili bir adet çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda, obez bireylerde plazma HIF-1α ve VEGF düzeyleri ile BKİ arasındaki ilişki ve bu proteinlerin obezite patogenezindeki öneminin araştırılmasını amaçladık.

2. LİTERATÜR

2.1. Obezite Epidemiyolojisi

Fazla kilo ve obezite prevalansı dünya çapında 1980'den beri ikiye katlanmıştır. Dünya nüfusunun neredeyse üçte biri fazla kilolu veya obez olarak sınıflandırılmaktadır. Obezite vücudun nerdeyse tüm fizyolojik fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemekte ve önemli bir sağlık tehdidi oluşturmaktadır. Diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalık, çeşitli kanser türleri, kas-iskelet sistemi bozuklukları ve ruh sağlığının bozulması gibi birden çok hastalık durumu geliştirme riskini artırmaktadır. Bunlar yaşam kalitesi, iş verimliliği ve sağlık hizmetlerinin maliyetleri üzerinde de olumsuz etkilere sahiptir. ABD'de, tek bir obez bireyin maruz kaldığı sağlık maliyeti 2014 yılında yıllık 1901 doları iken ulusal düzeyde maliyetin 149.4 milyar dolara çıktığı görülmektedir. Obezite her yaşta ortaya çıkabilir. Obezite eğilimlerini değerlendiren çalışmalarda yaygınlığının coğrafi konum, etnik köken, sosyoekonomik statü ayrımı yapılmaksızın her yaştan hem yetişkinlerde hem de çocuklarda arttığı görülmüştür. Düşük gelirli ülkelerde, obezite genellikle zengin ve kentsel çevrelerden gelen orta yaşlı yetişkinlerde (özellikle kadınlarda) daha yaygındır; yüksek gelirli ülkelerde ise her iki cinsiyeti hem de tüm yaşları etkilemektedir [16].

2.2. Obezite ve Sınıflandırma

Şişmanlıkta adipoz yağ dokusu artışı mevcuttur. Mevcut bulunan yağ hücrelerine lipit eklenerek genişleme durumu hipertrofi, yeni hücre sentezi ile yağ hücre sayısı artma durumu ise hiperplazi olarak adlandırılmaktadır. Ağırlık artışı her iki şekilde de olabilmektedir. Hipertrofik ağırlık kazanımı daha çok yetişkinlerde hiperplazi yağ hücre sayı artma durumu daha çok ergenlik döneminde görülmektedir. Hipertrofi durumununda kilo kaybı hiperplaziye göre daha kolaydır [17]. Obezite klinik gözlemler, boy ve ağırlık ölçülerinin standartlarla karşılaştırılması, deri kıvrım kalınlığının ölçülmesi gibi yöntemlerle saptanır. Beden kitle indeksi (BKİ), yetişkinlerde aşırı kilo ve obeziteyi sınıflandırmak için yaygın olarak kullanılan boy-ağırlık oranı için basit bir endekstir. Bir kişinin kilogram cinsinden kilosunun metre cinsinden boyunun karesine (kg/m2) bölünmesiyle tanımlanır [18].

Tablo 2.1. Beden kitle indeksi sınıflandırma

	SINIFLANDIRMA	BKİ(kg/m^2)
	ZAYIF	<18.5
	NORMAL AĞIRLIK	18.5- 24.9
	HAFİF KİLOLU	25- 29.9
	OBEZ	≥30
1.	DERECE	30- 34.9
2.	DERECE	35-39.9
3.	DERECE	≥40

* Dünya Sağlık Örgütü

2.3. Obezite Ölçüm Yöntemleri

Obezite tanısı için vücutta bulunan yağ miktarının doğru bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir. Ölçümde direk ve indirek yöntemler kullanılmaktadır [19].

2.3.1. Yağ miktarının ölçümünde kullanılan direk yöntemler

Toplam vücut suyunun izotop dilüsyon tespiti, bioelektrik impedans analizi (BİA), toplam vücut potasyum tespiti, su altı tartımı, nötron aktivasyon, radyolojik görüntüleme yöntemleri (USG, MRG, BT), yağda eriyen gaz yöntemi ve dual enerji x-ray absorbsiyon yöntemi (DEXA) gibi çeşitli yöntemlerle yağ miktarı ölçülmektedir. Bu ölçüm yöntemlerinin uygulanması zor ve maliyetlidir [20].

2.3.2. Vücut yağ miktarının ölçümünde indirek yöntemler

Antropometrik teknikler bireylerden alınan antropometrik ölçümlerle, bulunduğu toplumun standart verilerin kıyaslanmasıyla yapılan tahmine dayalı saptamalardır. Bu ölçümler kolay ve maliyetli olmamasından dolayı obezitenin belirlenmesinde sıkça kullanılan yöntemlerdendir [19].

2.3.2.1. Beden kitle indeksi

Obezitenin değerlendirilmesinde en çok kullanılan antropometrik ölçümdür. BKİ kilonun, boy uzunluğunun karesine bölünmesiyle (kg/m^2) elde edilen değerdir.

DSÖ, yetişkinler için aşırı kilo ve obeziteyi şu şekilde tanımlamaktadır. BKİ değeri 18.5-24.9 kg/m^2 arasında normal kilolu, 25-29.9 kg/m^2 arasında aşırı kilolu , ≥30 kg/m^2 üzeri ise obezite durumudur. BKİ, aşırı kilo ve obezite için en yararlı ölçüm yöntemidir. Bununla birlikte, farklı kişilerde aynı şişmanlık derecesine karşılık gelmeyebileceğinden BKİ kaba bir kılavuz olarak düşünülmektedir [4].

2.3.2.2. Kalça/boy oranı

Kalça/boy oranı ile ilgili literatürde yapılan çalışma sayısı yeterli değildir. Kalça/boy oranı değerleri erkeklerde daha düşük bulunmaktadır. Kalça(cm)/boy(m) oranıyla elde edilen değer, boy uzunluğunun karekökü($\sqrt{m}$) bölünmekte ve bulunan değerden 18 çıkarılarak beden adipozite indeksi (BAİ) değeri bulunmaktadır. Bu indeks vücut yağ oranı tahmininde kullanılmaktadır [20].

2.3.2.3. Bel/boy oranı

Bu oran bazı hastalıkların risk durumunun değerlendirilmesinde önemli bir veridir. Bazı çalışmalarda bu oranın hesaplanmasının kardiyovasküler hastalıklar riskinin saptanmasında en doğru yöntem olduğu kabul edilmektedir. Bel/boy oranı ≥0,5'in üzerinde olması abdominal yağlanmanın göstergesidir [20].

2.3.2.4. Bel/kalça oranı

Bedendeki yağ miktarının dağılımı önemlidir. Yağın vücudun alt bölümlerinde toplanması jenoid, üst bölümde toplanması android şişmanlık olarak tanımlanmaktadır. Bel çevresinin erkekte 94 cm, kadınlarda 80 cm olması BKİ değerinin 25'e; erkekte 102 cm kadında 88 cm olması BKİ değerinin 30 ve üzerine denk gelmektedir. Bel çevresinin normal ölçülerin üzerinde olması bir ya da daha çok kardiyovasküler risk faktörüyle ilişkilendirilmektedir. Bel/kalça oranı erkeklerde 1.0, kadınlarda 0.8'in üzerinde olması şişmanlığın belirtisidir. Şişmanlık bireyin sağlığını olumsuz yönde etkilemekte olup orta yaşlı, yaşlılarda eklem ağrılarının artmasına, gençlerde psikolojik olarak etkilenmelere, kas hareketlerinin azalmasıyla fiziksel, mental hareketsizliğe, kalp damar, böbrek ve pankreas gibi organların işlevsel bozukluğuna neden olabilir. Bazı organların işlevsel bozukluğu ile kronik hastalıklara eğilim artmaktadır [18].

Şişmanlığın ölçütlerinden birisi de bel çevresidir [18]. Çocuklar için aşırı kilo ve obezite tanımlanırken yaş dikkate alınmaktadır. DSÖ Çocuk Büyüme Standartlarına göre beş yaş altı çocuklarda fazla kilo durumu medyan değeri >2 standart sapma (SD), obezite durumu ise >3 SD üzeridir. Yaş aralığı 5-19 olan çocuklarda ise fazla kilo ve obezite şu şekilde tanımlanmaktadır. Aşırı kilo durumu medyan değeri >1 SD, obezite durumu medyan değeri ise > 2 SD üzeridir. DSÖ' ye göre, 2016 yılında 18 yaş ve üzeri 1,9 milyardan fazla yetişkinin %39'u (erkeklerin %39'u ve kadınların %40'ı) fazla kilolu, yaklaşık %13'ü (erkeklerin %11'i ve kadınların %15'i) ise obez olarak

belirlenmiştir [4]. Dünya çapında obezite prevalansının 1975-2016 yılları arasında ortalama üç kat arttığı görülmektedir. [4].

2.3.2.5. Deri kıvrım ölçümleri

Deri altında toplanan yağ dokusunun ölçümü için kullanılan en önemli yöntem deri kıvrım kalınlığı ölçümleridir. Ölçüm yapılan alet skinfold caliper' dir. Deri kıvrım kalınlıkları ölçülen bölgeler triceps, biceps, subscapular ve suprailiac bölgeleridir. Alınan sonuçlar bireylerin cinsiyet ve yaşına göre farklılık göstermektedir [21]. Triseps deri kıvrım kalınlığının erkeklerde 23 mm, kadınlarda 30 mm üzerinde olması şişmanlığın göstergesidir [18].

2.4. Obezitenin Nedenleri ve Mekanizmaları

Obeziteye neden olan etmenler genetik faktörler, çevresel faktörler ile hormonal bozukluklardır [22-25].

2.4.1. Çevresel faktörler

Obezojenik ortam sedanter yaşam tarzı, yüksek kalorili diyetin ucuz ve kolay bulunabilirliğini ifade eder. İnsanın yeme alışkanlıkları, farklı genlerin ekspresyonu ile birlikte obezitenin gelişimindeki faktörlerden biri olabilir [26].

Fiziksel aktivitenin azalması, televizyon karşısında geçen sürenin artması, yüksek kalorili, şekerli diyet ve porsiyon miktarlarının artması çevresel faktörler arasında sayılabilir. Bu faktörlere maruz kalan bireylerin tamamının obez olacağı düşünülmemelidir çünkü bazı bireylerin obeziteye yatkınlığında farklı genetik mekanizmalar da etkili olabilir [22-25].

Karbonhidratlar yağ dokularında glikoliz, novo yağ asidi sentezi ve depolanmasından sorumlu carbohydrate-responsive element-binding protein (ChREBP), sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) gibi transkripsiyon faktörlerini aktive ederler. Fazla karbonhidrat tüketildiğinde glikoz seviyeleri yükselir ve hücre içinde glikoz 6 fosfat şeklinde tutulurlar. Glikoz tepkisi korunan element (GRACE) üzerindeki inhibisyon ile ChREBP maksimum benzeri protein X (Mlx) ile dimerleşir ve yağ asidi sentezinde yer alan genlerin promotör bölgesindeki element (ChoRE) karbonhidrat yanıtına bağlanır. Her iki ChREBP, Mlx heterodimerleri ve SREBP-1c, piruvat kinaz, asetil-CoA karboksilaz, yağ asidi sentaz, stearoil-CoA

desatüraz 1 ve gliserol-3-fosfat açiltransferaz ve karbonhidrat alımı arttığında promotör bölgelerde etkileşime girerek glikojen depolama kapasitesini artırır. SREBP-1c ve Karaciğer X reseptörlerindeki (LXR) polimorfizm obezite ve morbid obezite ile ilişkili bulunmuştur [26].

2.4.2. Genetik faktörler

Çalışmalarda, obezite ile ilişkili bazı genler tanımlanmıştır. İkiz çalışmalarında yeme davranışları ve genlerin obezite üzerine etkinliğinin %53-84 arasında olduğu görülmüştür [27, 28]. Obezite hastalarının anne ve/veya babalarında obezitenin görülmesi çocukluk ve adölesan dönemindeki bireyler için oldukça önemli bir risk oluşturmaktadır [29]. Normal kilolu anne ve babanın çocukları arasında şişmanlık oranı %8-9 iken, anne ya da babadan birinin şişman olması durumunda çocuklarda şişmanlık oranı %40, her iki ebeveynin şişman olması halinde ise çocuklardaki şişmanlık oranının %80 olduğu gösterilmiştir. Ailenin beslenme durumu da şişmanlığı etkilemektedir. Şişmanlık genetik ve öğrenilmiş şişmanlık olarak gruplandırılabilir. Kırktan fazla genin şişmanlıkla ilgili olduğu bildirilmiştir [18].

Yüksek kalorili diyet uygulayarak monozigot yetişkin ikiz gruplarla yapılan bir çalışmada abdominal yağ ve vücut ağırlığındaki artışın ortalama olarak birbirine yakın olduğu, fakat bu artışların gruplar arasında farklılık gösterdiği saptanmıştır. Bu duruma tam belirlenememiş genetik faktörlerin etkili olabileceği düşünülmüştür [29, 30].

Obeziteyle ilişkili olan, yaşam tarzı değişikliği ile kontrol altına alınan yağ kütlesi ve obezite ile ilişkili gen (FTO) ile de çalışmalar bulunmaktadır [29]. Yaklaşık 200 kadar tek gen mutasyonunun obezite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. [31].

Obezite vakalarının %10'unda leptin, leptin reseptörü veya melanokortin4 reseptöründeki tek gen mutasyonlarını bulunmaktadır [32, 33]. Az miktarda vaka oluşturan sendromik obezite formları da genetik bozukluklarla birlikte farklı fenotip göstermektedirler. En yaygın biçimleri WAGR (Wilms tümörü, aniridia, genitoüriner anomaliler ve zeka geriliği), Prader-Willi, Bardet Biedl ve Cohen sendromlarıdır [34].

2.4.2.1. Obezitede tek gen mutasyonları

Farelerde yapılan deneysel çalışmalarda homolog genlerdeki mutasyonların enerji dengelenmesi ile ilgili yolaklardaki rolünün önemini ortaya koymuştur. Yapılan çalışmalarda obezite ile ilişkili birçok gen bulunmuştur. Farede obezite ile ilişkili bulunan ilk gen agouti genidir. Farelerde obeziteye yatkınlık yapan bu gen dominant, diğer gen mutasyonları ise resesif geçişlidir. Resesif geçişli gen mutasyonları obezitenin yanında endokrin ve metabolik disfonksiyonlarla beraber kompleks fenotiplere neden olmaktadır [35-39].

2.4.2.2. Monogenik Obezite

Tek gen mutasyonları ile oluşan ve nadir olarak çocukluk çağında başlayan obezite çeşitidir [29, 40]. Obezite ile ilişkili bazı gen mutasyonları Tablo 2.2.'de verilmiştir.

TABLO 2.2. Monogenik obezite sendromlarına neden olan genler ve fenotipik özellikleri

Gen	**Major fenotipik özellikler**	**Kalıtım Modeli**
Leptin	Erken gelişen obezite, hiperfaji, hipogonadotropikhipogonadizm, T-hücre immün yetmezlik	Resesif
Leptin reseptörü	Erken gelişen obezite, hiperfaji, hipogonadotropik hipogonadizm, kısa boy, santral hipotroidizm	Resesif
PC1	Erken gelişen obezite, hiperfaji, hipogonadotropik hipogonadizm, hiperinsülinemi, reaktif hipoglisemi, geç diabet, hipoadrenalizm, intestinal disfonksiyon	Resesif
MC4R	Erken gelişen obezite, hiperfaji,	Ko-dominant
MC3R	uzun boy, belirgin hiperinsülinemi, kemik dansitesinde artış	Ko-dominant
POMC	Erken gelişen obezite, hiperfaji, neonatal ciddi hipoadrenalizm, soluk cilt, kızıl saç	Resesif

Semerci NC. Obezite ve genetik (35)

İnsanlarda ve farelerde obezite genleri ile homolog genlerde ya da aynı metabolik yolakta etkili olan genlerde mutasyonlar tanımlanmıştır. Bu genler leptin ve leptin reseptörü, proopiomelanokortin (POMC), melanokortin-4 reseptör (MC4R) ve prokonvertaz 1 enzimini (PC1) kodlayanlar genlerdir. Bu beş gen tarafından kodlanan bütün proteinler aynı besin alım regülasyon yolağında görev yapmaktadır [36, 41, 42].

2.4.2.3. Poligenik Obezite

Genetik varyantlar ve çevresel etkileşim sonucu meydana gelen obezite çeşitidir ve monogenik obeziteye göre daha sık görülmektedir. Bu obezite çeşitinde rol alan genler incelendiğinde bireylerin ağırlıklarında çok az etkili oldukları tespit edilmiştir. Bu genlerin kümülatif katkısı önemli iken azalmış fiziksel aktivite, aşırı yemek yeme, sosyo-ekonomik faktörler, hormonal değişimler gibi çevresel faktörlerin hepsi genlerin fenotipik ifadesini etkilemektedir [29, 40, 43].

2.4.3. Hormonal bozukluklar

Genetik faktörler dışında nöroendokrin etmenler hipotroidizm, Cushing hastalığı, psödohipoparatiroidizm, büyüme hormonu eksikliği, hipotalamik nedenler ve polikistikover sendromu (PKOS) obeziteye neden olmaktadır. Altta yatan bu etmenlere sahip bireylerde erken teşhis obezite için önem arzetmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda DNA metilasyonu mikroRNA ifadesi ve kodlamayan mikroRNAlar gibi epigenetik faktörlerinde obezitede etkili olduğu görülmüştür [44, 45].

2.5. Obezite ve Bilişsel Kontrol

Obezitenin daha iyi anlaşılması için merkezi sinir sisteminde iştahın kontrolüyle görevli merkezdeki düzensizliğin anlaşılması da önemlidir. Önceki çalışmalar hipotalamusa odaklansa da yeni çalışmalarda ödül, duygu ve dikkatin insanlarda iştahın kontrolünde daha güçlü bir rol oynayan bilişsel kontrol olduğu görülmektedir [46]. Hipotalamus çevreden gelen hormonal sinyaller ve bu sinyallerin merkezi sinir sistemine iletilmesi, enerji alımı ve harcanmasının düzenlenmesinde etkili bir bölgedir. Leptin, hem gıda alımını azaltarak hem de enerji tüketimini uyararak vücut ağırlığının düzenlenmesinde kritik rol oynayan önemli bir protein hormondur. Leptin eksikliği nöroendokrin disfonksiyona, iştah artışına ve obeziteye yol açar. [47-49]. Obezitede durumunda ise tersi olur ve dolaşımdaki leptin hormonu konsantrasyonu oldukça yükselir. Leptin, hipotalamustaki leptin reseptörlerine bağlanarak aktivasyon gösterir. Leptin direncinde enerji alımı azalmaz, enerji tüketimi artmaz [50, 51]. Bu yüzden açlık durumunda enerji alımının homeostatik kontrolü daha kritik olmaktadır. Artan kanıtlarda diğer periferik moleküllerin glukagon benzeri peptid 1(GLP-1) ve analogları gibi dikkat ve ödül ağları üzerinde etki ettiği gösterilmiştir [52, 53].

Homeostatik sistemin yanı sıra ödül sistemi de iştah ve obezitede etkin olabilmektedir [54, 55]. Yemek doğal olarak ödüllendiricidir ve bu sistem obezite hastalarında değişerek kilo alımına neden olabilmektedir. Bireylerde aşırı ödüllendirme durumunda fazla kalorili ya da yağ alımı ve lezzetli yiyecekler aramaya yönelik aşırı duyarlılık iki temel etkendir. Bu etkenler obezitede dopamin D2 reseptörünün düşük olmasıyla desteklenmekte ve beyindeki artan aktivite bölgeleri (orbitofrontal korteks) de ödüle cevap vermektedir [56, 57].

Duygular aynı zamanda iştah düzenleyici olarak da görülmektedir. Depresif duygudurum ve anksiyete obezitenin komorbiditelerindendir [58, 59]. Stres durumu, iştahta değişikliğe neden olarak obeziteye yol açabilmektedir. Hipokampus tarafından düzenlenen hafıza, yemek yemeyi ve hipokampüs yollarının işleyişini etkileyebilir. İşleyişin bozulmasıyla birlikte artan besin alımı obeziteye yol açabilir. Bu nedenle ödül, duygu ve hafıza besin alımını tetikleyerek obezitenin gelişiminde etkili olabilmektedir [60, 61].

Merkezi sinir sisteminde dikkat ve bilişsel kontrolü düzenleyen merkezin obezite de değiştiği görülmüştür. Obez ve hatta normal kilolu bireylerin de daha sonra kilo almalarının nedenleri arasında gıda içeriklerine karşı daha dikkatli olmaktan vazgeçmelerinin etkili olduğu görülmüştür [62, 63]. Öncelikle paryetal ve oksipital görsel korteksler tarafından kontrol edilen göze çarpan ögelerin algılanmasında bu bölgelerin aktivasyonu obez bireylerde artmıştır [64, 65]. Bilişsel alandaki prefrontal korteks, tokluğu ve sağlıklı/sağlıksız beslenme davranışlarını kontrol etmektedir. Obez bireylerde kilo alma durumu yeme davranışıyla birlikte prefrontal korteksin diğer görevlerinde de bozulmalara sebep olmuştur [66-68]. Bilişsel kontrolün bozulduğu obezitenin de ödül sisteminin aktivasyonunun artmasından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür [69].

2.6. Obezite ve İnflamasyon

Yapılan çalışmalarda obez insan ve farelerin yağ dokusunda tümör faktör (TNF-α) –α'nın arttığı ve TNF- α obezite, insülin direnci ve metabolik sendrom ile ilişki bulunduğu gösterilmiştir. Yine, artmış sitokin düzeyinin ve çoklu inflamatuar yolakların obezite ve insülin direnci (İR)'nde rol oynadığı görülmüştür [70, 71]. De Souza ve arkadaşları [72] uzun süreli yüksek yağlı diyetle (HFD) beslenen sıçanlarda Jun N-

terminal kinaz (JunK) aktivasyonunun arttığı ve nükleer faktör kappa β (NF-kβ) inflamasyon yolağın üzerinden mediobazal hipotalamik bölgede interlökin [IL] -6, TNF-α ve IL-1β arttığını saptamışlardır. Ayrıca bu inflamasyonun insülin ve leptin sinyallerinde bozulmaya yol açtığı görülmüştür. Sıçanlarda HFD bağlı inflamasyon, hipotalamusun reaktif gliyozisine neden olmaktadır. Sıçanlarda proliferasyon ve proliferasyona bağlı reaktif gliyozis astrosit ve mikrogliaların morfolojik dönüşümünün HFD diyetinden normal diyete geçilmesiyle 24 saat ile 4 haftaya kadar düzeldiği görülmüştür [73, 74]. Uzun süreli HFD diyeti gliyozis nedeniyle sinaps kaybına, hipotalamusta geri dönüşümü olmayan değişikliklere, POMC nöronlarında ve hipotalamik bölgede nörojenezin azalmasına ve kan beyin bariyerinde yapısal değişikliklere yol açmaktadır [75].

Obezite derecesine bağlı olarak mortalite, morbidite riski de artmaktadır. Kardiyovasküler hastalık ve komorbidite riskinin BKİ indeksi birinci derece obezitelerde, II. ve III. derece obezite ile karşılaştırıldığında arttığı bulunmuştur [75, 76]. Ancak diabetes mellitus, hiperlipidemi, insülin direnci (IR) ve kardiyovasküler hastalık gibi kardiyometabolik komplikasyonları bulunmayan sağlıklı obez bireyler de mevcuttur. Tüm obezite hastalarına birinci basamak tedavi yöntemi olarak yaşam tarzı müdahaleleri önerilmektedir. Sağlıklı obezite durumunun aksine ilgi çeken başka bir fenotip normal ağırlığa sahip fakat metabolik olarak sağlıksız fenotip tipidir. Bu hastalar BKİ değerine göre obez olmamakla birlikte işlevsiz metabolik profilleri obeziteyle ilişkilidir. Bu durum daha çok asya kökenli hastalarda görülmekte olup bu hastalarda normal BKİ ve artmış organ yağlanması görülmektedir [77].

2.7. Metabolik Sendrom, Diyabet ve Kardiyovasküler Hastalıklar ile Obezite İlişkisi

Obezite; diabetes mellitus tip 2, hipertansiyon, dislipidemi, kardiyovasküler hastalıklar, inme, uyku apnesi, ürogenital sorunlar, safra kesesi hastalığı ve çoklu kanserler gibi 20'den fazla hastalık riskinde artış ile ilişkili bulunmuştur. Obezite, sadece fiziksel sağlığı etkilememekte aynı zamanda hastaları psikolojik olarakta etkilemekte ve yetersiz özgüven ile ilişkilendirilmektedir. Bu durum depresyona ve yaşam kalitesinin düşmesine neden olmaktadır.

Komorbiditelerin gelişiminde obezite ile ilişkili birden fazla patofizyolojik mekanizma mevcuttur [22]. Obezite, artmış mortalite ile ilişkilendirilmektedir. BKİ değerinin 25 kg/m^2 üzerindeki her 5 kg/m^2'lik artış kardiyovasküler kaynaklı ölüm oranını % 40 artırmaktadır. Renal, hepatik ve diyabet kaynaklı mortalitede ise % 60'dan fazla artırmaktadır. Sağ kalım oranları, BKİ değeri 30-35 kg/m^2 arasındaki bireylerde 2-4 yıl, 40-45 kg/m^2 arasındakileri ise 8-10 yıl azalmaktadır. Obezitede başlıca ölüm nedenleri arasında iskemik kalp hastalığı, inme ve diyabetle ilişkili komplikasyonlar yer almaktadır. Obezitede mortalitenin artmasına neden olan kısır döngüde IR'nin yanı sıra hiperglisemi, dislipidemi ve hipertansiyon gibi metabolik sendromun tüm bileşenleri yer almaktadır [78, 79].

Obezite ile diyabet riski artmaktadır. Normal ağırlığından %20 daha fazla olan bireylerde diyabet sıklığı %8, normal ağırlığının %20 altında olanlarda diyabet sıklığı %2 olarak bulunmuştur [18]. IR ve hiperinsülinemi obezite gelişimine katkıda bulunur. IR'de karaciğer, kas ve yağ dokusunda pankreas tarafından salgılanan insülin hormonu yağ hücrelerinde artışa neden olmaktadır. Sağlıklı pankreas beta hücreleri artan talepleri karşılamak için işlevlerini düzenleyebilir. Bununla birlikte genetik ve çevresel faktörler beta hücre işlev bozukluğuna yol açabilmektedir [80, 81]. Belirli mutasyonlar veya tek nükleotid polimorfizmleri kritik beta hücre yolaklarında yer alan genlerdeki doğrudan beta hücre fonksiyonunu ve hayatta kalmasını etkilemektedir. Bu genetik mutasyonlar beta hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve neticede artan kalori alımı, azalmış fiziksel aktivite ve hiperglisemiye neden olmaktadır. Hiperglisemi ve hiperlipidemi (glukolipotoksisite) beta hücre ölümünü hızlandırarak insülin sekresyonunu azaltmakta ve hiperglisemiyi şiddetlendirmektedir [82, 83].

Obezite, artan IR riski ile de ilişkili bulunmuştur. İnsülin direnç indeksi (HOMA-IR) güçlü bir şekilde viseral yağ kütlesi, toplam yağ kütlesi, BKİ ve bel çevresi ile ilişkilidir. Bununla birlikte alt ekstremitedeki yağ kütlesi HOMA-IR arasında ilişki bulunmamıştır [84]. Yağ dokusu non-ester yağ asitleri (NEFA), gliserol, proinflamatuar sitokin düzeyleri, bağışıklık sistemi (makrofajlar, lenfositler) , leptin ve adiponektin gibi hormon metabolizmalarını düzenleyerek kontrol etmektedir [80]. Obezitede bu moleküllerin çoğunun üretimi artmakta ve insülin duyarlılığını birden fazla yolla etkilemektedir. Obezitenin IR üzerindeki biyokimyasal ve fizyolojik etkilerinin ortaya çıkışı üzerine makanizmaları açıklayan çalışmalar bulunmaktadır. Birincisi, artan NEFA seviyesi ve dolayısıyla yüksek hücre içi düzeyleri substrat oksidasyonu için glikoz ile

rekabet etmekte ve glikolize katılan fosfofruktokinaz, piruvat dehidrojenaz, heksokinaz II gibi önemli enzimlerin inhibisyonuyla sonuçlanmaktadır. Yağ asidi metabolitleri olan seramidler, diaçilgliserol (DAG), açil-koenzim A (açil-CoA) düzeyleri artmakta, insülin reseptör substratı-1 (IRS-1) -1 serin veya treonin fosforilasyonu, IRS-2, fosfatidilinositol (PI-3) -3-kinazların azaltılmış aktivasyon veya inhibisyonu insülin reseptörü sinyallemesinin aşağı yönde düzenlenmesiyle sonuçlanmaktadır [80, 85]. İkincisi; TNF-α, IL-6 ve monosit kemoatraktan protein-1 salınımının artması yağ dokusu, karaciğer ve kas dokuda proinflamatuar sinyal yolaklarını aktive eder. Proinflamatuar sinyal yolları JNK'nın aktivasyonunu ve nükleer faktör kappa-β kinaz inhibitörünü içermekte, bu da hem IRS-1 ve IRS-2'nin fosforilasyonuna hem de inflamatuar genlerin transkripsiyonunu uyarır. Son olarak, retinol bağlayıcı protein-4 konsantrasyonundaki artış, leptin ve düşük adiponektin seviyeleri kastaki PI-3 kinaz sinyalini bozarak, karaciğerde glukoneojenik enzim fosfoenolpiruvat karboksilinaz ekspresyonunu indükleyerek ve yağ asidi oksidasyonunu uyararak insülin duyarlılığını etkilemektedir [81].

Obezite dislipidemi ile karakterize olup kanda trigliserid ve apolipoprotein B (apoB) düzeyinde artış, HDL-kolesterol düzeyinde azalma ile ilişkilidir. Aktif visseral yağ birikimi sonucu IR gelişimi dolaşımda serbest yağ asitlerinin belirgin artışına yol açmaktadır. Karaciğerde yüksek trigliserit sentezi ve daha sonra damarlarda plak oluşumu ile sonuçlanmaktadır [86]. Şişman bireylerde hipertansiyon ve kalp damar hastalıkları sıklığında artış görülmektedir. Ülkemizde, LDL kolesterol düzeyleri şişman bireylerde normal değerden daha yüksek, HDL kolesterol düzeyleri ise düşük bulunmuştur [17].

2.8. Obeziteyi Düzenlediği Bilinen Metabolik Yollar

Yağlanmaya neden olan mekanizmaları anlamak artan metabolik gelgiti engellemek için önemlidir. Obeziteye karşı tedavilerin geliştirilmesi için öncelikle enerji dengesinin ve bununla ilişkili tüm biyokimyasal yolakların anlaşılması gereklidir. Obezite tedavisinde enerji alımı azaltılmalı, enerji tüketimi artırılmalı veya her ikisini birlikte yapılmalıdır [87].

2.8.1. Açlık ve tokluk

Merkezi sinir sistemi kalori alımını ve yemek sonrası doygunluk hissini düzenlemektedir. Bu düzenleme kısa ve uzun vadeli kontrolü sağlayan nöral ve endokrin olaylara bağlıdır. Nöral sinyal ile kombinasyon halinde çalışan kolesistokinin (CCK) hormonu bağırsak distansiyonuna yanıt veren güçlü bir tokluk sinyalidir ve beslenmenin tamamlandığını belirlemektedir. Yağ dokusu tarafından üretilen leptin hormonu, hipotalamusun melanokortin nöronal devresini vücudun enerji depolarıyla bütünleştirerek önemli bir rol oynamaktadır. Leptine ek olarak nöropeptid Y beslenme davranışını, metabolizmayı ve vücut kompozisyonunu doğrudan etkilemektedir. NY ayrıca hem mide hem de beyinde eksprese edilebilen kortikotropin salgılayıcı hormon, büyüme hormonu, galanin ve ghrelin'i etkileyerek açlık ve tokluk sinyallerinde işlev görmektedir. Norepinefrin, dopamin ve serotonin gibi nörotransmiter moleküller de merkezi enerji dengesinde oldukça önemlidir ve bu moleküllerin sibutramin gibi ilaçlarla inhibisyonu, bu moleküllerin geri alımını engellemek için önemli bir stratejidir [87].

2.8.2. Besin emilimi

Bağırsaklardaki besin emilimini engellemek etkili bir obezite tedavisi olabilmektedir. Postprandiyal olarak bağırsaktan salınan sinyaller yalnızca gıda alımını düzenlemede değil aynı zamanda sindirim ve besin emiliminde de önemlidir. Ghrelin ve CCK' nın yanı sıra peptid Y, glukagon benzeri peptidler 1 ve 2, gastrik inhibitör peptid ve kortikotropin salıcı faktör hem sinyallemeyi hem de sindirimi düzenleme işlevi görmektedir. Orlistat tedavisi yoluyla mide ve pankreatik lipazların inhibisyonu trigliserid hidrolizini azaltır, yutulan yağın emilimini %30 oranında inhibe eder ve günde yaklaşık 200 kalorilik açığa katkıda bulunur. Nörotransmiter geri alım inhibitörlerinde olduğu gibi orlistat kilo vermeyi destekler ancak yan etkiler birçok hastada ilacın kesilmesine neden olmuştur [87].

2.8.3. Enerji harcanması

Zorunlu enerji harcamasına en büyük katkı beslenmeme durumunda termonötrallikte dinlenme enerji harcaması olarak tanımlanan bazal metabolizma hızıdır. Bazal metabolizma hızı (BMH) hücresel döngü, onarım ve temel fonksiyonları (örn., iyon gradyanlarının bakımı, transmembran metabolit transferi), bazal sentez reaksiyonları (örn., RNA, DNA protein sentezi) ve mitokondriyal proton transferi ve

aynı zamanda sindirim ve emilim olayları gibi zorunlu termojenezi içermektedir. Mitokondri enerji harcanması ve düzenlenmesinde merkezi bir role sahip olup mitokondriyal faaliyetlerin düzenlenmesi son on yılda obezite tedavileri için bir ümit haline gelmiştir. Fizyolojik antiobezojenik etkileri taklit eden tedaviler muhtemelen en etkili tedavi şekli olacaktır. Örneğin beyaz adipoz doku (WAT) veya iskelet kasında substrat kullanımını ve elektron transfer zinciri döngüsünü artıran ayrıştırıcı protein 1'in (UCP1) aşırı ekspresyonu, farelerde diyetle indüklenmiş obeziteyi önleyebilir, bu da, WAT veya iskelet kasında oksidatif fosforilasyon mekanizmasının çözülmesinin vücut kompozisyonunu düzenlemek için yeterli olduğunu düşündürmektedir. İnsanlarda düşük miktarda kahverengi yağ (BAT) bulunmasına rağmen 50 g kadar az BAT'ın bazal kalori ihtiyacının %20 kadarını karşılayabileceği tahmin edilmektedir. Genetik olarak azaltılmış BAT kütlesine sahip olan fareler obeziteye yatkındır. Yetişkin insanların iskelet kası ve diğer dokularda UCP-2 ve UCP-3'ün tanımlanmasıyla bağlantılı olarak aktif BAT depolarını sürdürdüğüne dair son keşif, mitokondriyal aktivitenin arttırılmasının obezite ile mücadele için umut vaat edebileceğini düşündürmektedir. Bazı WAT depolarındaki yağ hücrelerinin BAT' a benzer olacak şekilde programlanabileceği bulgusu, yağ dokusunun sistemik metabolizmadaki rolünü anlamaya yönelik araştırmaları daha da canlandırmıştır. Genel düşünce WAT' da mitokondri ve UCP1' i artırarak daha yüksek bir BMH'ı teşvik edebilir. Peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör–γ (PPAR–γ), koaktivatör-1α (pgc-1α) kritik öneme sahip olan birkaç moleküler hedef olarak tanımlanmıştır. Pgc-1α enerji metabolizmasının ve mitokondriyal biyogenezin bilinen bir düzenleyicisidir ve in vitro olarak WAT' da karakteristik BAT özelliklerinin çoğunu indüklediği gösterilmiştir. Son çalışmalarda, BAT termojenezini uyaran ve kahverengi adipositlerin WAT'ta toplanmasını sağlayan proteinler tanımlanmıştır. Vasküler fonksiyondaki değişikliklerin metabolik homeostazı düzenleyebileceğine dair ortaya çıkan kanıtlar ve birçok çalışma gazlı sinyal molekülü nitrik oksit (NO)' in sistemik metabolizmanın, vücut kompozisyonunun ve insülin duyarlılığının düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir [87].

2.8.4. Nitrik oksit - endojen oluşum ve genel biyolojik etki yolları

Nitrik oksit (NO) ve bununla ilişkili nitrojen oksitler hücre ve doku fonksiyonunun kritik düzenleyicileri olarak ortaya çıkmıştır. NO üretiminin en yaygın yolu nitrik oksit sentaz (NOS) enzim ailesinin etkisidir. NOS enzimleri NO üreten L-

argininin sitrüline NADPH ve O2'ye bağlı oksidasyonunu katalize eder. NO'nun bu tür sentezi flavin adenine dinucleotide (FAD), flavin mononucleotide (FMN) ve tetrahidrobiopterin (BH4) gibi kofaktörlerin ve ayrıca prostetik grubunun mevcudiyetine bağlıdır. NOS'un üç izoformu farklı oranlarda NO üretir. Genellikle endotelyal NOS veya eNOS olarak adlandırılan NOS3 enzimi vasküler endotelyumda bulunmakla birlikte nöronlarda, epitel hücrelerinde, kardiyomiyositlerde ve ayrıca adiposit ve hepatositlerde de bulunmaktadır. NOS3 nispeten düşük miktarlarda NO üretir ve aktivitesi Ca2 + ve kalmodulin, translasyon sonrası modifikasyonlar ve kan akış gerilimi gibi fiziksel kuvvetler tarafından kontrol edilir. Sıklıkla nöronal NOS veya nNOS olarak adlandırılan NOS1 aynı zamanda N-metil-D-aspartat reseptörünün agonistleri tarafından aktive edilebilen Ca2 +/kalmodüline bağımlı bir izoformdur. Çoğunlukla nöronlarda, iskelet kasında ve epitel hücrelerde ifade edilir. Son olarak NO üretme kapasitesi en yüksek olan NOS2 (ayrıca indüklenebilir NOS veya iNOS olarak adlandırılır) inflamatuar uyaranlara yanıt olarak birden fazla hücre tipinde eksprese edilir. Posttranslasyonel modifikasyonlara, substrat ve kofaktör kullanılabilirliğine ek olarak NOS aktivitesi, hücrelerdeki lokalizasyonu ve kendisiyle ve diğer proteinlerle etkileşimleriyle düzenlenir. NOS enzimleri aracılığıyla doğrudan üretime ek olarak, NO daha fazla oksitlenmiş nitrojen oksit olan nitritten endojen olarak üretilebilir. Nitritin NO'ya indirgenmesi asidik ve hipoksik koşullar altında artar, indirgenme deoksihemoglobin veya deoksimiyoglobin gibi hem proteinleri tarafından enzimatik olarak gerçekleştirilir. Diyet veya farmakolojik nitritin terapötik potansiyeli, miyokard enfarktüsü sonrası reperfüzyon hasarında, pulmoner hipertansiyonda ve organ transplantasyonu sonrası hasarda iyileşmeleri tanımlayan çok sayıda çalışma tarafından desteklenmektedir [87].

2.8.5. NO' nun biyokimyasal özellikleri

NO, oldukça sınırlı biyolojik reaktiviteye sahip bir serbest radikaldir. NO'nun endojen yarı ömrünün, reaktanların mevcudiyetine bağlı olarak 2 ms-2 sn aralığında olduğu gösterilmiştir. NO öncelikle demirli (Fe2+) ve diğer radikallerle reaksiyona girmekte ve bu tür reaksiyonlar NO'nun hemen hemen tüm biyolojik etkilerinin temelini oluşturmaktadır. NO'nun en yüksek afinite etkileşimleri çözünür guanilat siklaz (sGC), sitokrom c oksidaz ve hemoglobin gibi metaloproteinlerledir. NO hem olmayan (non-hem) demir ile de reaksiyona girer. NO'nun proteindeki Fe2+ ile reaksiyonu yani NO'in proteinin Fe2+ çekirdeğine bağlanması nitrosilasyon olarak adlandırılır. Süperoksit gibi

serbest radikallerin varlığında NO peroksinitrit oluşturur ve bu durumda artık heme bağlanamaz. Peroksinitrit ve ondan türetilen nitrojen dioksit gibi reaktif türler inflamatuar tepkilerde önemli olup kısmen geniş bir biyomolekül yelpazesinin oksidasyonunu veya nitrasyonunu teşvik ederek hücre sinyalini modüle edebilir [87].

2.9. Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör-1 Alfa (HIF-1α)

Yüksek ökaryotlar, oksijen homeostazını korumak için oksijen alımını ve dağılımını düzenleyen özel mekanizmalar geliştirmiştir. Bu nedenle, oksijen aracılı yanıtlar hemen hemen her memeli hücresinde ifade edilir [88]. HIF-1, hipoksi ile uyarılan bir transkripsiyon faktörüdür ve HIF-1 aktivitesi adipoz doku hipoksisi için bir göstergedir [15]. HIF-1 molekülü Semenza ve ark. [89] tarafından eritrosit üretimi için eritropoietin hormonunun kodlanmasından sorumlu olan eritropoietin (EPO) geni üzerinde yapılan bir çalışma sırasında keşfedilmiştir. HIF proteini, hipoksiye yanıt elemanı (HRE) olarak tanımlanan genin enhancer bölgesindeki çekirdek dizisine (5'-RCGTG-3') bağlanarak hedef genlerin ekspresyonlarını uyarmaktadır. Memelilerde üç farklı HIF α izoformu bulunur; bunlar arasında HIF-1α'nın ekspresyonu oldukça yaygınken, HIF-2α ve HIF-3α ekspresyonu doku hücrelerinin tipine bağlı olarak değişmektedir [90].

HIF-1, VEGF ve eritropoietin de dahil olmak üzere 60'dan fazla proteinin transkripsiyonunu indükler. Bu protein ürünleri, glikoz taşınması ve metabolizmasında yer alan genleri aktive eden eritropoez ve anjiyogenezi teşvik ederek oksijenin kullanılabilirliğini arttırır [91, 92]. Oksijenin ana düzenleyicisi olarak işlev gören HIF-1, oksijen seviyelerine tepki olarak yapısal değişikliklere uğrar [93-95].

HIF1, 120-kD α alt birimi ile aril hidrokarbon reseptörü nükleer translokatör olarak da bilinen, 91-94-kD β alt birimlerinden oluşan heterodimerik bir transkripsiyon faktörüdür. HIF1-α ve HIF1-β'yı kodlayan cDNA'lar Wang ve ark. [96] tarafından tanımlanmıştır. Bu alt birimlerin her ikisi de temel Helix-Loop-Helix (bHLH) faktörleri olup her bir alt birim bHLH-PAS (Per/Arnt/Sim) ailesine aittir. HIF-lα'nın transkripsiyon faktörü olarak görev yapabilmesi için HIF-1β ile dimerize olması gerekir. Her alt birim, PAS-A ve PAS-B olarak adlandırılan iki PAS alanı içerir. bHLH ve PAS bölgeleri, HIF-1α ve β alt birimleri arasında heterodimer oluşumu ve DNA'ya bağlanma için gereklidir [97]. HIF-lα alt birimi, bir inhibitör bölge tarafından birbirine bağlanan TAD-N ve TAD-C (sırasıyla N-terminal ve C-terminal transaktivasyon bölgeleri)

alanları içerir [98]. TAD-N, oksijene bağımlı degredasyon (ODD) bölgesi ile çakışır ve aktivitesi protein stabilitesine bağlıdır. TAD-C ise protein stabilitesinden bağımsız olarak p300/CBP gibi bir koaktivatörler ile etkileşime girer ve tam HIF aktivitesi için gereklidir [99]. HIF-lα'nın yanı sıra, bHLH-PAS süper ailesinin iki üyesi daha bulunmaktadır. Bunlardan birisi endotelyal PAS domain proteini 1 (EPAS1) olarak adlandırılan HIF-2α, diğeri ise HIF-3α'dır [100]. bHLH-PAS ailesi olarak sınıflandırılan bu izoformlar yapısal olarak benzerdir. HIF-1α 'nın yapısı ve fonksiyonları, HIF-2α veya HIF-3α'dan daha kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Wenger ve ark. [101] fare ve insanda HIF-lα proteinlerinin %90 homoloji gösterdiğini bildirmişlerdir. HIF-1α mRNA'sının alternatif kesip ekleme (splays) mekanizması ile şimdiye kadar en az sekiz farklı HIF-lα varyantı rapor edilmiştir. Iyer ve arkadaşları'nın [102], DNA dizi analizi çalışmaları alternatif splicing olaylarının insanlarda görülme olasılığının düşük olduğunu ortaya koymuştur. HIF-1α genlerinin 5' flanking ve 5' UTR (untranslated region) bölgelerinin insan ve farede %70 benzer olduğu belirlenmiştir.

İnsan embriyonik böbrek hücrelerinde yapılan RT-PCR çalışmalarında iki adet HIF-1α varyantı tanımlanmıştır. Bu transkriptlerden birisi, Wang ve ark. [96] tarafından klonlanmış olan cDNA ile karşılaştırıldığında birinci ekzonda ilave 3 nükleotit (TAG) içerdiği, bu değişikliğin bHLH alanının yukarısında iki amino asit değişikliğine sahip olan ve HIF-lα^{FL} veya HIF-1α^{827} olarak adlandırılan 827 amino asit uzunluğunda tam bir proteinin oluşumu ile sonuçlandığı gösterilmiştir. HIF-lα^{FL} varyantı, genin 1. ve 2. ekzonu arasında ek olarak bulunan üç baz çifti (TAG) hariç tutulursa, doğal tip HIF-1α'ya benzemektedir. HIF-1α^{736} varyantında ise 2. ekzonda bir TAG insersiyonuna ek olarak, çerçeve kayması üreten bir değişiklik sonucu oluşan stop kodonu nedeniyle 14. ekzonun kaybı söz konusudur. Bu durum 736 amino asit uzunluğunda, normalden kısa bir protein oluşumu ile sonuçlanır. Bu kısa protein, C-terminal transaktivasyonu ve inhibe edici bölgelerden yoksundur. HIF-lα^{FL} ve HIF-lα^{736} hipoksik koşullarda VEGF promotorörünü aktive eder [103]. Birkaç insan hücre dizisinde ve deri fibroblastlarında bu 3 varyantın da ekspresyonu saptanmış, ana varyantın ek olarak TAG nükleotidlerine sahip olmadığı görülmüştür. HIF-lα^{FL} ve HIF-lα^{736}'nın aksine HIF-lα^{557} (HIF-lα -z) ve HIF-lα^{516}, HIF-lα'nın dominant negatif varyantları olarak işlev görür. HIF-lα^{557}, çinko iyonuyla indüklenen ekson 12'yi kaybeder. HIF-lα^{516} ekson 11 ve ekzon 12'den yoksundur HIF-lα^{785} varyantı tüm fonksiyonel bölgeleri içerdiğinden transkripsiyonel aktivatör olarak işlev görür. Bu varyantta ODD bölgesini kodlayan 11. ekzonun kaybı

söz konusudur [104-106]. Diğer bir HIF-1α varyantı, HIF-1α^{417} ise sadece DNA ve ARNT arasındaki bağlanma için gerekli olan bHLH ve PAS bölgelerini içerir, bununla birlikte ODD ve TAD gibi diğer tüm önemli bölgelerden yoksundur [107]. Alternatif ekson 1 (I.1 izoform) içeren HIF-lα^{TM} varyantının ise testiste eksprese olduğu gösterilmiştir [108].

HIF-2α ve HIF-3α alt birimlerin rolleri ayrıntılı olarak bilinmemektedir. HIF-lα gibi, HIF-2α'da ubikitin E3 ligaz kompleksi aracılığıyla normoksik koşullarda degredasyona neden olan korunmuş prolin rezidüsünün enzimatik hidroksilasyonu ile düzenlenir [95, 109, 110]. HIF-3α'nın poliubikitinasyon proteazom yolağı ile degradasyona uğradığı bildirilmiştir [111]. İnsanda HIF-3α'nın birden fazla varyantı bulunmaktadır: Human HIF-3α 1, HIF-3α 2 ve HIF-3α 3 prolin hidroksilazın konsensüs motifini içeren ve normoksik koşullarda VHL E3 ligaz kompleksine bağlanan ortak bir ODD'yi paylaşır. Bununla birlikte, HIF-3α varyantı transaktivasyon bölgesinden yoksundur. Transaktivasyon bölgesi olmayan IPAS (inhibitör PAS domain proteini) adı verilen HIF-1'in bir dominant negatif regülatörü, HIF-3α varyantı olarak tanımlanmıştır [112]. IPAS, HIF-lα'nın HIF-lβ ile etkileşimini önler çünkü IPAS, HIF-lα ile dimerize olur ve IPAS/HIF-1α kompleksi hipoksi yanıt elementine (HRE) bağlanamaz. Bu nedenle, IPAS, HIF aracılı hedef gen ekspresyonunu başaramaz ve HIF-lα'nın transkripsiyonel aktivasyonunu inhibe eder. Bu nedenle HIF-3α, HIF sisteminin antagonisti olarak görev yapabilir. HIF-3α'nın aksine, HIF-2α transkripsiyonu aktive eder ve hipoksi aracılı gen ekspresyonunu indükler. Hipoksik koşulların HIF-1α, HIF-1β ve HIF-2α'nın mRNA düzeylerini etkilemediği, ancak HIF-3α mRNA düzeyinin 2 saatlik hipoksiden sonra arttığı bildirilmiştir [113]. HIF ailesinin gen ekspresyonu üzerindeki etkisi hücre tiplerine göre farklılık gösterebilir. Örneğin, HIF-lα ve HIF-2α böbrekte yüksek düzeyde eksprese edilir. Bununla birlikte, HIF-2α'nın aşırı ekspresyonu, renal karsinomu teşvik eder [114-116]. Buna karşın HIF-lα, meme kanseri hücre hattında hipoksik genlerin uyarılması için gerekli olan majör izoformdur [117].

Memeli hücrelerinde HIF-1 transkripsiyon kompleksi, hücresel ve sistemik oksijen homeostazisinde önemli bir rol oynar [118, 119]. HIF-1α alt birimi oksijene hassas iken, beta birimi oksijene dirençlidir. HIF-1α alt biriminin ekspresyonu hipoksik koşullarda oldukça yüksek, normoksik koşullarda ise birçok hücrede düşük seviyelerde tutulur. Alfa alt birimi, HIF-1'in transkripsiyonel aktivitesini belirler ve hipoksik koşullara yanıt olarak HIF-1α düzeyi artar. Oksijen seviyeleri, HIF-1α alt biriminin stabilitesini, hücre içi lokalizasyonunu ve transkripsiyonel potansiyelini etkilemektedir.

Northern blot ve Western blot analizleri, HIF-1 mRNA ve HIF-1 proteininin %1 oksijene maruz kalan hücrelerde indüklendiğini, %20 oksijenli ortamda ise hızla bozunduğunu göstermiştir. Aril hidrokarbon reseptörü nükleer translokatör olarak ta bilinen beta alt birimi ise yapısal olarak ifade edilir ve aktivitesi oksijenden bağımsız olarak kontrol edildiği için hipoksiden etkilenmez [120-122].

Normoksik koşullarda HIF-1, von Hippel-Lindau (VHL) içeren bir ubikitin ligaz kompleksine yüksek afinitede bağlanmasına yol açan prolin ve asparaginil rezidüleri üzerinde hidroksile edilir. Ubikütinasyon, proteazom aracılı HIF-1 degradasyonunu uyarır. Hipoksik koşullar degradasyonu inhibe ederek HIF-1'in transkripsiyonel aktivitesinde ve HIF-1 protein ekspresyonunda artışa yol açar. HIF-1 geni tüm nükleuslu hücrelerde eksprese edilir. HIF-1 mRNA transkripsiyonunun artışı HIF-1 protein miktarında artışı gerektirmez. HIF-1'in transkripsiyonel aktivitesi, nükleer koaktivatör ve korepresörler tarafından düzenlenir. Koaktivatörler, histon proteinlerinin asetilasyonunu ve gen transkripsiyonunun başlamasını katalize eden p300 ve CBP molekülleridir [123, 124]. Korepressor aktivitesi ise çoklu izoformlara sahip histon deasetilazlar (HDAC) tarafından belirlenir [121]. Hangi HDAC izoformunun HIF-1 aktivitesini spesifik olarak inhibe ettiği net değildir [125-128].

2.10. Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF)

Kan damarları besin ögelerini dokulara ve organlara taşıdığı, katabolik ürünleri uzaklaştırdığı için neovasküler bir kaynak olmakla beraber anjiyogenezin gelişimi için önemli homeostatik rollere de sahiptir. Bununla birlikte kan damarlarının kontrolsüz büyümesi; tümör, göz içi vasküler bozukluklar dahil olmak üzere çok sayıda hastalık sürecinde etken rol oynamaktadır. Anjiyogenezi uyarıcı faktörlerin salınması ile mevcut damarlardan yeni damarların oluşumunu indüklenmesi tümör hücrelerine büyüme avantajı sağlar. Aynı zamanda sadece normal retinal damar sisteminin gelişiminden değil, proliferatif diyabetik retinopati ve diğer bozukluklarda patolojik neovaskülarizasyondan da sorumlu olabileceği öne sürülmüştür. Endotel hücrelerinin mevcut kan damarlarından yeni damarların oluşumu ve gelişimi süreci olan anjiyogenez, gelişim ve fizyolojik homeostazda kritik öneme sahiptir. Ancak kanserlerde ve çeşitli oftalmik hastalıklarda patojenik olabilmektedir. VEGF endotel hücre proliferasyonu, lökosit kemotaksisi ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu sağlayan bir sitokin olup anjiyogenez ve vasküler geçirgenliğin ana mediyatörüdür.

VEGF, 25 yılı aşkın bir süre önce izole edilmiş ve klonlanmıştır. VEGF esas olarak endotel hücreleri hedef alırken bu faktörün ek hücre tipleri üzerinde çoklu etkileri olduğu gösterilmiştir. VEGF-B, VEGF-C ve plasental büyüme faktörü (PlGF) dahil olmak üzere birkaç ilişkili gen olmasına rağmen homeostaz ve hastalık sırasında anjiyogenezin düzenlenmesindeki anahtar rolünden dolayı en çok dikkat VEGF-A'ya odaklanılmıştır. VEGF çeşitli hücre ve dokularda fizyolojik vasküler homeostaz için gerekli olmasına rağmen tümör büyümesi ve metastazın moleküler patogenezinde ve yaşa bağlı maküler dejenerasyon, diyabetik ve hipertansif retinopati dahil olmak üzere çeşitli göz hastalıkları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [129, 130].

VEGF aracılı patojenik durum, VEGF'nin öncelikle vasküler geçirgenlik ve neoanjiyogenez (neovaskülarizasyon) üzerindeki etkilerinden kaynaklanmaktadır. [131].

2.10.1.VEGF türleri

VEGF türleri VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F ve plasental büyüme faktörü (PlGF)'nü içermektedir [132].

2.10.1.2. VEGF-A

İlk tanımlanan VEGF türüdür. VEGF-A embriyonik gelişim için temel büyüme faktörüdür [133]. VEGF-A anjiyogenez, vasküler geçirgenliğin kontrolü, dokunun yeniden şekillenmesi, vaskülojenez gibi süreçlerde anahtar molekül olarak kabul edilmektedir. Yağ dokusunda aşırı VEGF-A ekspresyonun transgenik fareleri diyabet, obezite ve insülin direncine karşı koruduğu rapor edilmiştir. Aşırı VEGF-A üretiminin yüksek düzeyde enerji harcanmasında etkili olduğu görülmüştür. Termojenez esas olarak transgenik modelde geliştirilmiştir. Bununla birlikte, indüklenebilir modelde VEGF-A aşırı ekspresyonunun etkileri en çok WAT üzerinde görülmüş olup artan termojenezle birlikte "kahverengileşme" sonucu BAT depolarında değişiklik olmadan, WAT hücrelerinin kahverengileştiği gözlenmiştir. VEGF-A, BAT'ın farklılaşmasında potansiyel olarak rol almaktadır. Son verilere göre yetişkin obez bireylerde BAT aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Bu nedenle obezite tedavisi için termojenik aktivitenin artırılması etkili olabilir. İndükleyicilerden birisi de soğuğa maruz bırakmadır. Titremesiz termojenez, hipoksiden bağımsız olarak BAT ve WAT'ın damarlanmasında artışa neden olmaktadır. VEGF-A'nın aşırı ekspresyonu WAT, PGC-1α ve UCP-1'in yukarı yönde regülasyonunda etkilidir, ancak BAT üzerinde etkisi görülmemektedir [134].

2.10.1.2. VEGF- B

Yetişkinlerde WAT'ın aşırı genişlemesi obezite ile ilişkilidir. VEGF-B enerji-metabolizma regülasyonunda yer almaktadır. Yakın tarihli bir raporda VEGF-B, yağ asidi transport proteininin (FATP) düzenlenmesinde, VEGF reseptörü 1 (VEGFR1) ve nueropilin (Nrp) -1'de rol almaktadır. Farelerde, VEGF-B'nin, kahverengi yağda biriktiği, WAT'ta azaldığı belirlenmiştir [132].

2.10.1.3. VEGF-C ve VEGF-D

VEGF-C, 1996 yılında insan prostat kanseri hücre dizisi PC3'ün hücre kültürü süpernatanından VEGFR-3'ün ligandı olarak keşfedilmiştir. Aynı yıl, murin VEGF-C de tanımlanmış ve başlangıçta VRP (VEGF ile ilgili protein) olarak adlandırılmıştır. VEGF-C'nin spesifik lenfanjiyojenik özellikleri, çeşitli hayvan modellerinde gösterilmiştir. Hem lenfatik hem de kan damarları için mitojenik ve koruyucu bir rol ortaya koymaktadır. VEGF-C kalpte, plasentada, kaslarda, yumurtalıklarda ve bağırsaklarda eksprese edilmektedir. VEGF-C aynı zamanda lenf damarlarının geçirgenliği ve çapındaki artıştan da sorumludur.

VEGF-D, lenfanjiyogenik VEGF alt grubunun ikinci üyesidir. Hem VEGF-C hem de VEGF-D, N ve C-terminal bölgelerinde proteolitik kesim ile translasyon sonrası modifikasyonlarla olgunlaşırlar, ancak modifikasyonda görevli proteazlar farklıdır. VEGF-D akciğerler, deri, kalp, iskelet kası ve gastrointestinal sistemde eksprese edilir. Endotel hücrelerinin büyümesini ve göçünü uyarır. VEGF-C gibi VEGF-D de lenfanjiyogenez sürecine katılır. Çalışmalar, VEGF-D'nin aşırı ekspresyonunun tümör lenfanjiyogenezini indüklediğini ve farelerdeki tümör modellerinde lenfatik metastazları desteklediğini göstermiştir [135, 136].

2.10.1.4. VEGF-E

VEGF familyasının bir üyesi olan ve diğer VEGF'lere nazaran daha az araştırılmış olan VEGF-E parapox virüslerinde sentezlenmektedir VEGF-A'ya benzer bir biyoaktiviteye sahip güçlü bir anjiyogenik faktör olduğu, vasküler endotel hücrelerinin proliferasyonunu, göçünü, in vivo anjiyogenezi indüklediği ve ayrıca Parapox virüslerinin neden olduğu cilt enfeksiyonlarındaki vazodilatasyondan sorumlu olduğu düşünülmektedir [137].

2.10.1.5. VEGF-F

Yılan zehirinde bulunan VEGF-F, VEGF familyasının en son tanımlanan üyesidir. Çalışmalar, VEGF-F'nin vasküler geçirgenliği artırdığı ve kan basıncını düşürdüğünü göstermiştir. Reseptör bağlanma profillerinin terapötik avantajlara sahip olabileceği düşünülmektedir. VEGF-F'nin, yılan zehirinden izole edilen vammin ve VR-1 olarak isimlendirilen iki adet izoformu bulunur. Vammin sadece VEGFR-2 ile bağlanırken, VR-1 izoformu VEGFR-1'e zayıf, VEGFR-2'ye ise yüksek afinite ile bağlanır. Mekanizması henüz bilinmemekle birlikte, yılan zehirlenmelerinde VEGF-F izoformlarının toksin gibi davrandığı düşünülmektedir [138, 139].

2.10.1.6. Plasental büyüme faktörü (PlGF)

VEGF familyasının bir üyesi ve ilk kez plasentadan izole edilmiş olan plasental büyüme faktörü (PlGF), akciğer ve kalp gibi diğer dokularda da santezlenmektedir. PlGF, gelişim için vazgeçilmez bir moleküldür, ancak iskemi, malignite, inflamasyon ve diğer birçok hastalıkta çeşitli rollere sahip olduğu gösterilmiştir. Yedi ekzon içeren PlGF geni, alternatif kesip ekleme (splays) mekanizması ile PlGF-1 (PlGF131), PlGF-2 (PlGF152), PlGF-3 (PlGF203) ve PlGF-4 (PlGF224) olmak üzere dört izoformun sentezlenmesinden sorumludur. PlGF yetersizliğinde damarlarda kollateral oluşumu ve anjiogenez bozulur, yara iyileşmesi gecikir ve iskemi gelişir. Fazla miktarlarda PlGF sentezlendiğinde ise anjiogenezle seyreden inflamasyon, ödem, tümör oluşumu gibi çeşitli patolojiler görülmektedir [140].

2.10.2. VEGF ve obezite

Obezite, kardiyovasküler hastalıklar için aterosklerozun erken gelişimine neden olan ana risklerden birini oluşturmaktadır. Hastalarda artan anjiyogenezle periferal arterial hastalığı ortaya çıkmıştır. VEGF-A, anahtar bir proanjiyogenik faktördür. Oysa çözünür sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 reseptörler anjiyogenik inhibitörler olarak kabul edilmektedir. Ana anjiyogenez aktivatörleri arasında hipoksi, sitokinler ve onkojenler bulunur. Yağ dokusu, VEGF-A üretiminden sorumlu hormonlar ve sitokinler (örn. interlökin-6) gibi birçok molekülün kaynağıdır. Aşırı kilo veya obezite, hemostatik anormalliklerin çok önemli bir rol oynadığı tromboembolik olaylar için kanıtlanmış bir risk faktörüdür. Ülserde iyileşme, aylık döngü, implantasyon, fetal gelişim, tümör gelişimi, diyabetik retinopati gibi birçok fizyolojik ve patolojik durumda anjiyogenezin rolü vurgulanmıştır. Fazla kilo veya obezite, birçok sitokin ve hormonun kaynağı olan

yağ hücrelerinin endokrin rolü nedeniyle anjiyogenez aşamaları üzerinde önemli bir etkisi olabileceği görülmektedir. Ekstremite hastalarında VEGF-A gibi proanjiyogenik faktörlerin tedavi amaçlı uzuv iskemi uygulama girişimleri olmuştur ancak tedavi net değildir. Fazla kilo veya obezitenin iskemik ülserlerin iyileşme süreçlerini etkileyebileceği varsayılabilir [141].

Yağ dokusu oldukça vaskülarize bir yapıdır. Bu anlamda anjiyogenez inhibitörleri ile neovaskülarizasyonun bloke edilmesi, yağ dokusu büyümesini etkili bir şekilde bozarak bununla birlikte kilo ve yağ dokusu kaybında etkili olduğu görülmüştür. Adipositler ve endotel hücreler damar gelişimini iş birliği içinde kontrol eden birkaç anjiyogenik düzenleyici aracılığıyla gerçekleştirmektedir. VEGF anjiyogenezin önemli bir fizyolojik ve patofizyolojik düzenleyicisidir. Genel olarak VEGF/VEGFR sistemi yağ dokusunda anjiyogenik aktivitenin çoğunu açıklamaktadır. Anti-VEGF antikorları anjiyogenezi inhibe eder [130].

2.10.3. VEGF ve obezite kaynaklı insülin direncine karşı koruma

VEGF-A'nın anti-inflamatuar özellikleri ve termojenez aktivasyonundaki rolü obezitede önemli olabilir. Obez insanlarda ve hayvan modellerinde VEGF-A ekspresyonu kapsamlı bir şekilde belirlenmesine rağmen, obezitede VEGF'nin lokal ve sistemik seviyelerine ilişkin sonuçlar net değildir. Bazı çalışmalarda, aşırı kilolu ve obez bireylerde ve hayvan modellerinde serum VEGF-A konsantrasyonu ile BKI arasında önemli ölçüde ilişki olduğu iddia edilmektedir. Ancak bu konuda çalışmalar yetersizdir. Bir çalışmada, düşük insülin direncine sahip morbid obez bireylerin, yüksek insülin direncine sahip obez bireylerden daha yüksek yağ dokusu VEGF-A seviyelerine sahip olduğu gösterilmiştir. Diyabette VEGF-A ekspresyonundaki değişikliklerle ilgili az sayıda çalışma bulunmasına rağmen, Tip 2 diyabetli hastaların hücrelerinde VEGF-A üretimi azalmış gibi görünmektedir. Bu veriler ışığında, VEGF-A'nın obezite kaynaklı insülin direncine karşı koruyucu olduğu düşünülmektedir [134].

2.11. HIF-1α ve VEGF ilişkisi

HIF-1, VEGF ve eritropoietin dahil 60'dan fazla hedef genin transkripsiyonunu indükler. HIF-1 hedef genleri özellikle anjiyogenik faktörleri, proliferasyon/sağkalım faktörlerini, glikoz taşıyıcıları ve glikolitik enzimleri kapsamaktadır [92]. Bu moleküller, glikoz taşınması ve metabolizmasında yer alan genleri aktive eden

eritropoez ve anjiyogenezi teşvik ederek oksijenin kullanılabilirliğini arttırır [91, 92]. Düşük oksijen stresi çeşitli pro-anjiyogenik genlerin uyarılmasının sonucu olarak patolojik veya fizyolojik olarak anjiyogenezi tetikler [91]. VEGF, başlıca hedef genlerden biridir, özellikle endotel hücrelerini hipoksik ve vasküler bölgeye toplayarak proliferasyonlarını uyarır. VEGF, anjiyogeneze doğrudan katıldığı bilinen endotele özgü güçlü bir mitojendir. VEGF, endotelyal hücrelerde spesifik olarak eksprese edilen reseptörü, VEGFR, ile etkileşime girer ve endotelyal hücre proliferasyonunu uyarır. Hipoksinin ayrıca, VEGF molekülü ve VEGF mRNA ekspresyonunu uyardığı da gösterilmiş, bu da hipoksinin VEGF ekspresyonunun yukarı yönde düzenlenmesi (upregulation) ile anjiyogenezin bir uyaranı olduğunu düşündürmüştür [142-148].

Semenza [119], oksijen homeostazisinde hipoksi ve HIF1'in rolünü incelediği derlemesinde, hipoksiye yanıt olarak genel protein sentezi inhibe edilirken, transkripsiyonel aktivasyonun artması nedeniyle VEGF mRNA düzeyinin arttığını rapor etmiştir. VEGF geninin 5' ucundaki transkripsiyonel başlangıç bölgesine 1 kb uzaklıkta yerleşmiş bulunan HRE'ye HIF1 bağlanması, VEGF'nin uyarılmasını sağlamaktadır. Araştırıcı ayrıca, HIF-1'in doğrudan bağlandığı; enerji metabolizması, demir homeostazı, anjiyogenez ve hücre proliferasyonu ve canlılığı ile ilgili 28 adet geni listelemiştir. Gothie ve ark. [103], hem HIF-1α^{827} hem de HIF-1α^{736}varyantlarının transfekte edilmiş insan embriyonik böbrek hücrelerinde hipoksi tarafından yukarı yönlü düzenlendiğini belirlemişlerdir. Araştırıcılar, her iki rekombinant proteinin ARNT ile dimerize olduğunu, VEGF promotörünü doza bağlı olarak indüklediğini ve hipoksi ile aktive edildiğini göstermişlerdir. HIF-1 ve VEGF'in ekspresyonunun obez farelerde arttığı, HIF-1 protein düzeyindeki artışın adipoz dokudaki VEGF ekspresyonundan sorumlu olabileceği ve HIF-1 proteininin obez farelerin yağ dokusunda yükseldiği gösterilmiştir [11]. Patofizyolojik koşullarda lokal kan akışı HIF-1'in hedef genleri olan indüklenebilir nitrik oksit sentaz, hem oksigeneaz 1, endotelin 1, adrenomedulin veya α1B-adrenerjik reseptörün aktivasyonu yoluyla vasküler kasılmanın düzenlenmesi ile kontrol edilir [149-153]. Bu nedenle HIF-1, basit VEGF uyarımından çok daha karmaşık mekanizmalarla muhtemelen damar olgunlaşmasında yer alan ilave hedef genleri uyararak anjiyogeneze katkıda bulunur [154].

3.MATERYAL VE METOD

Çalışmamıza, Manavgat, Antalya'da bulunan özel bir klinikte obezite tanısı konmuş 45 obez birey (23 kadın, 22 erkek; yaş ortalaması ± standart hata: 39.04 ± 1.592 yıl) ile aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan ve bilinen herhangi bir hastalığı olmayan 28 sağlıklı kontrol (15 kadın, 13 erkek; yaş ortalaması ± standart hata: 38.32 ± 2.46 yıl) dahil edildi. Kırk beş obez bireyin 19'unda diyabet, hipertansiyon, yüksek kolesterol, hipotiroidi, astım veya periferik arter hastalığı gibi en az bir metabolik hastalık mevcuttu.

Çalışma Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 23-22 karar numarası ile onaylanmıştır. Çalışmaya katılmayı kabul eden bireylere, Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun kuralları çerçevesinde hazırlanmış olan Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu doldurtulmuştur. Çalışmaya katılan bireylerden 12 saatlik açlık sonrası, sabah saatlerinde kan alımı ve bioelektrik impedans analiz cihazı (BİA, İnbody 270, Güney Kore) ile hafif kıyafetlerle ölçüm işlemleri gerçekleştirildi. BİA cihazı ile el ve ayaklara temas eden elektrotlar yardımıyla vücuda hafif elektriksel akım gönderilerek vücudun yağ dokusu, kas dokusu, vücut sıvısı, yumuşak doku ölçümleri, BKİ hesaplaması, bel/kalça oranı ölçümleri gerçekleştirildi.

Hasta ve kontrollerden alınan 5 ml'lik venöz kan örnekleri toplandı. Antikoagülanlı (EDTA) tüplere alınan kan örnekleri hafifçe alt üst edildikten sonra 5-10 dakika oda ısısında bekledikten sonra soğutmalı santrifüj kullanılarak 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Ayrılan plazmalar ependorf tüplerde porsiyonlara bölünerek çalışma gününe kadar -20 °C' de saklandı. Çalışma yapılacağı gün derin dondurucudan çıkarılan örnekler oda sıcaklığında çözündürüldükten sonra vortekslenerek homojen hale getirildi. Obez bireyler ve sağlıklı kontrol grubunda plazma HIF-1α ve VEGF düzeyleri mikroeliza test yöntemiyle çalışıldı.

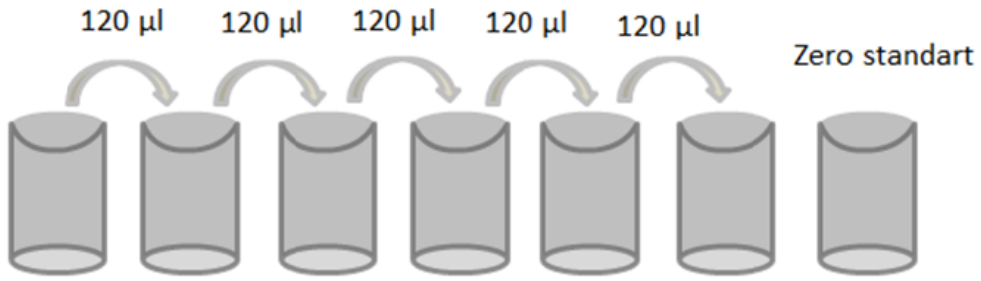
3.1. HIF-1α plazma düzeylerinin belirlenmesi

HIF-1α ölçümü mikroeliza test kiti (BT LAB, China, Katalog no: E0422HU) kullanılarak üretici firmanın talimatlarına uygun olarak gerçekleştirildi

Çalışma solüsyonları ve hazırlanması

- *Yıkama Solüsyonu (Wash Buffer):* 20 ml, 25X konsantre yıkama solüsyonu 480 ml saf su içinde çözündürülerek hazırlandı
- *Standartların hazırlanması*

Altı adet 1 ml'lik tüp alınarak, her bir tüpe 120 µl standart dilüent pipetlendi. Konsantrasyonu 16 ng/ml olan stok standart solüsyonu kullanılarak Şekil 3.1'de görüldüğü gibi seri dilüsyon gerçekleştirildi. İçerisinde sadece serum dilüenti bulunan 6. tüp 0 ng/ml olarak kullanıldı. Dilüsyon işlemi yapıldıktan sonra sonra 15 dakika beklendi.



Standart conc.	S. No: 5	S. No: 4	S. No: 3	S. No: 2	S. No: 1
16 ng/ ml	8 ng/ ml	4 ng/ ml	2 ng/ ml	1 ng/ ml	0,5 ng/ ml

Şekil 3.1. HIF-1α plazma düzeyinin belirlenmesinde kullanılan standart solüsyonların hazırlanması ve konsantrasyon değerleri

1. Tüm reagentler ve örnekler oda sıcaklığına getirildi.

2. Kör (blank) kuyucuğu hariç olmak üzere, eliza plağının uygun kuyucuklarına her bir standarttan 50'şer µl, diğer kuyucuklara ise sırayla kontrol ve hasta grubuna ait plazma örnekleri 40'ar µl eklendi.

3. Kör ve standart kuyucukları hariç, eliza plağının diğer kuyucuklarına 10'ar µl biotinle işaretli anti-HIF-1α antikoru eklendi (Standart solüsyonu biotinle işaretli anti-HIF-1α antikoru içerdiği için standart kuyucuklarına biotinle işaretli anti-HIF-1α antikoru eklenmedi).

4. Kör kuyucuğu hariç, eliza plağının diğer kuyucuklarına 50'şer µl streptavidin ile işaretli HRP ilave edildikten sonra plağın üzeri kapatılarak 37 °C'de 60 dk. inkübe edildi.

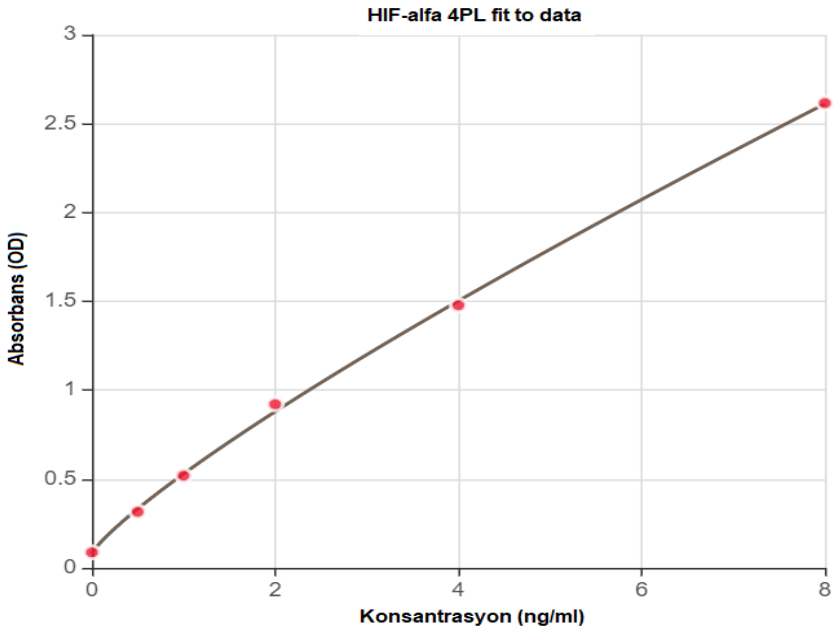
5. Eliza plağının kuyucukları 350 µl yıkama solüsyonu ile her bir yıkama işlemi 0.5 dk. olmak üzere 5 kez yıkandı. Son yıkama işleminden sonra plak ters çevrilerek bir kurutma kağıdı üzerinde çırpılarak kuyucuklardaki sıvılar tamamen uzaklaştırıldı.

6. Eliza plağının her bir kuyucuğuna 50 µl substrat A ve takiben 50 µl substrat B solüsyonu eklendi ve plak kapatılarak 37 °C'de karanlık bir ortamda 10 dk. inkübe edildi.

7. Eliza plağının bütün kuyucuklarına 50'şer µl stop solüsyonu eklendi.

8. Mikroeliza plak okuyucusunda (BioTek Synergy H1 microplate reader, Belgium) 450 nm'de okuma yapıldı.

9. Standartların konsantrasyonlarına karşı okunan optik dansitesi değerleri baz alınarak, obez bireyler ve kontrol grubunun plazma HIF-1α düzeyleri online hesaplama programı kullanılarak belirlendi (Şekil 3.2, https://www.arigobio.com/elisa-calculator, erişim tarihi 11.10.2021).



Şekil 3.2. HIF-1α absorbans(OD) ve konsantrasyon(ng/ml) standart eğri grafiği

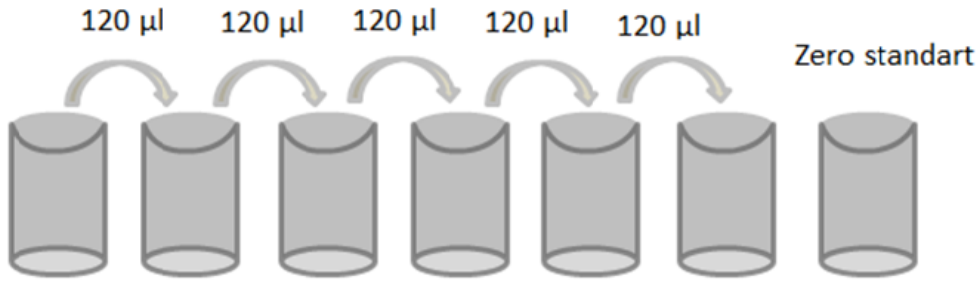
3.2. VEGF Plazma Düzeylerinin Belirlenmesi

VEGF ölçümü mikroeliza test kiti (BT LAB, China, Katalog no: E0422HU) kullanılarak üretici firmanın talimatlarına uygun olarak gerçekleştirildi.

Çalışma solüsyonları ve hazırlanması

- *Yıkama Solüsyonu (Wash Buffer):* 20 ml, 25X konsantre yıkama solüsyonu 480 ml saf su içinde çözündürülerek hazırlandı.
- *Standartların hazırlanması*

Altı adet 1 ml'lik tüp alınarak, her bir tüpe 120 µl standart dilüent pipetlendi. Konsantrasyonu 6400 ng/L olan stok standart solüsyonu kullanılarak Şekil 3.3'te görüldüğü gibi seri dilüsyon gerçekleştirildi. İçerisinde sadece serum dilüenti bulunan 6. tüp 0 ng/ml olarak kullanıldı. Dilüsyon işlemi yapıldıktan sonra sonra 15 dakika beklendi.



Standart conc.	S. No: 5	S. No: 4	S. No: 3	S. No: 2	S. No: 1
6400 ng/ L	3200 ng/ L	1600 ng/ L	800 ng/ L	400 ng/ L	200 ng/ L

Şekil 3.3. VEGF plazma düzeyinin belirlenmesinde kullanılan standart solüsyonların hazırlanması ve konsantrasyon değerleri.

1. Tüm reagentler ve örnekler oda sıcaklığına getirildi.

2. Kör kuyucuğu hariç olmak üzere, eliza plağının uygun kuyucuklarına her bir standarttan 50'şer µl, diğer kuyucuklara ise sırayla kontrol ve hasta grubuna ait plazma örnekleri 40'ar µl eklendi.

3. Kör ve standart kuyucukları hariç, eliza plağının diğer kuyucuklarına 10'ar µl biotinle işaretli anti-VEGF antikoru eklendi (Standart solüsyonu biotinle işaretli anti-VEGF antikoru içerdiği için standart kuyucuklarına biotinle işaretli anti-VEGF antikoru eklenmedi).

4. Kör kuyucuğu hariç, eliza plağının diğer kuyucuklarına 50'şer µl streptavidin ile işaretli HRP ilave edildikten sonra plağın üzeri kapatılarak 37 °C'de 60 dk. inkübe edildi.

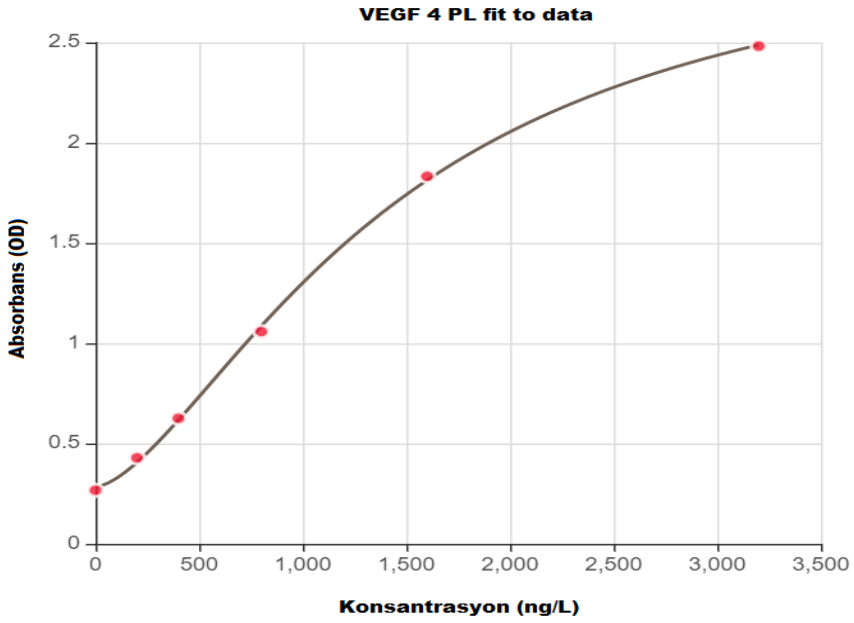
5. Eliza plağının kuyucukları 350 µl yıkama solüsyonu ile her bir yıkama işlemi 0.5 dk. olmak üzere 5 kez yıkandı. Son yıkama işleminden sonra plak ters çevrilerek bir kurutma kağıdı üzerinde çırpılarak kuyucuklardaki sıvılar tamamen uzaklaştırıldı.

6. Eliza plağının her bir kuyucuğuna 50 µl substrat A ve takiben 50 µl substrat B solüsyonu eklendi ve plak kapatılarak 37 °C'de karanlık bir ortamda 10 dk. inkübe edildi.

7. Eliza plağının bütün kuyucuklarına 50'şer µl stop solüsyonu eklendi.

8. Mikroeliza plak okuyucusunda (BioTek Synergy H1 microplate reader, Belgium) 450 nm'de okuma yapıldı.

9. Standartların konsantrasyonlarına karşı okunan optik dansitesi değerleri baz alınarak, obez bireyler ve kontrol grubunun plazma VEGF düzeyleri online hesaplama programı kullanılarak belirlendi (Şekil 3.4, https://www.arigobio.com/elisa-calculator, erişim tarihi 11.10.2021).



Şekil 3.4. VEGF absorbans (OD) ve konsantrasyon (ng/ml) standart eğri grafiği

3.3.İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi için GraphPad Prism7 programı kullanıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda parametrik veriler için T testi, parametrik olmayan veriler için ise Mann Whitney-U testi, gruplar arasındaki ilişkileri test etmek için ise Pearson Korelasyon Analizi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel anlam düzeyi $p>0.05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışmamıza, 45 obez birey (23 kadın, 22 erkek; yaş ortalaması ± SEM: 39.04 ± 1.592 yıl) ile aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan ve bilinen herhangi bir hastalığı olmayan 28 sağlıklı kontrol (15 kadın, 13 erkek; yaş ortalaması ± standart hata: 38.32 ± 2.469 yıl) dahil edildi. Gruplar arasında yaş ortalamaları açısından herhangi bir fark yoktu (p=0.7972) Çalışmaya dahil edilen obez bireyler ve kontrol grubuna ait HIF-1α, VEGF, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel kalça oranı Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.3'de görüldüğü üzere, ortalama HIF-1α plazma düzeyleri obez bireylerde 2.781 ± 0.4606 ng/mL, kontrol grubunda ise 1.376 ± 0.04501 ng/mL olarak saptanmış olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.0192). Aynı şekilde, ortalama VEGF plazma düzeyleri de obez bireylerde (1396 ± 250 ng/L), kontrol grubuna (594.9 ± 15.65 ng/L) göre anlamlı derecede yüksek olarak saptanmıştır (p=0.0141). Ortalama BKİ obez bireylerde (34.16 ± 0.55 kg/m2), kontrol grubuna (23.04 ± 0.40 kg/m2) göre oldukça yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.0001). Obez bireylerde ortalama vücut yağ yüzdesi 40.28 ± 0.90, kontrollerde ise 25.50 ± 1.29 düzeyinde belirlenmiş ve aradaki fark obez bireylerde, kontrol grubuna nazaran oldukça yüksek bulunmuştur (p=0.0001). Bel/kalça oranı obezite grubunda (1.024 ± 0.009), kontrol grubuna (0.884 ± 0.012) göre yüksek olarak gözlenmiştir (p=0.0001).

Bilinen herhangi bir hastalığı olmayanlar (26 birey) ile eşlik eden en az bir metabolik hastalığa sahip olan (19 birey) obez bireylerde HIF-1α, VEGF, beden kitle indeksi (BKİ, kg/m2), vücut yağ yüzdesi ve bel kalça oranı Tablo 4.4'te verilmiştir. Obez bireyler, herhangi bir hastalığı olmayanlar ile obeziteye eşlik eden en az bir metabolik hastalığı bulunanlar şeklinde iki gruba ayrılıp, gruplar arasında istatistiksel karşılaştırma yapıldığında metabolik hastalığı olanlarda, olmayanlara göre hasta yaşı (yıl) (p=0.0006) ve vücut yağ yüzdesinde anlamlı bir artış saptanmış (P=0.0083), diğer parametrelerde ise herhangi bir fark saptanamamıştır (p>0.05), (Tablo 4.7).

Yapılan korelasyon analizinde (Tablo 4.5), obez bireylerde HIF-1α ve VEGF düzeyleri arasında kuvvetli pozitif bir korelasyon belirlenmiştir (r=0.966, p=0.0001, Tablo 4.5). Yine, obez bireylerde vücut yağ yüzdesi ile BKİ arasında (r=0.383, p=0.009) ve vücut yağ yüzdesi ile Bel/Kalça Oranı arasında (r=0.617, p=0.0001) anlamlı pozitif korelasyonlar saptanmıştır. Bununla birlikte, BKİ ile HIF-1α veya BKİ

ile VEGF arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (HIF-1α için: r=-0.219, p=0.148; VEGF için: r=-0.194, p=0.199). Vücut yağ yüzdesi ile BKİ ve Vücut yağ yüzdesi ile Bel/kalça oranı arasındaki korelasyon analiz grafikleri Tablo 4.6 ve Tablo 4.7'de gösterilmiştir. Eşlik eden en az bir metabolik hastalığa sahip olan obez bireylerde (19 birey) yapılan korelasyon analizinde HIF-1α ve VEGF değerleri (r=0.961, p=0.0001) BKİ, bel/kalça oranı (r=0.793, p=0.0001) arasında pozitif bir ilişki gözlenmiştir. Çalışılan diğer parametrelerde ise fark saptanamamıştır (p>0.05), (Tablo 4.7). HIF-1α ve VEGF, BKİ ile bel/kalça oranı korelasyon grafiği şekil 4.4 ve şekil 4.5'te gösterilmiştir.

Yapılan korelasyon analizinde, eşlik eden en az bir metabolik hastalığa sahip obez bireylerde HIF-1α ile VEGF (r=0.989, p=0.0001) arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir. Çalışılan diğer parametrelerde ise fark saptanamamıştır (p>0.05) (Tablo 4.9). HIF-1α ve VEGF korelasyon grafiği şekil 4.6'da gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Sağlıklı kontrol grubunda HIF-1α, VEGF, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel/ kalça oranı değerleri

İSİM	CİNSİYET	YAŞ (yıl)	HIF-1 α (ng/mL)	VEGF (ng/L)	BKİ (kg/m2)	YAĞ (%)	BEL/KALÇA ORANI
O.E.	E	23	1.554	493.753	20.8	11.5	0.80
M.E.	E	41	1.391	539.163	24.4	25.8	0.93
M.C.	E	56	1.312	581.137	24.7	18.3	0.97
D.D.	K	31	1.402	613.943	21.6	26.8	0.83
A.K.	K	35	1.363	635.886	20.1	23.3	0.91
G.G.	K	26	1.516	567.702	24.1	29.1	0.88
N.G.	K	21	1.307	584.497	24.7	32.9	0.85
S.C	K	36	1.568	643.500	23.3	34.2	0.90
H.K.	K	29	1.496	580.297	24.9	39.4	1.01
M.S.	E	56	0.852	497.125	24.6	25.6	0.97
F.A.	E	54	1.351	587.018	24.6	27.4	0.84
K.A.	K	55	1.337	592.061	23.9	30.3	0.87
M.A.	K	31	1.113	538.324	19.1	20.8	0.82
O.B.	E	43	1.439	640.961	23.2	23.4	0.90
H.S.	K	32	1.377	552.593	24.3	33.9	0.90
E.Ç.	K	28	1.548	696.279	20.5	20.9	0.84
A.Ç.	E	34	1.534	602.154	24.8	22.4	0.95
O.S.	E	42	1.462	603.837	24.9	21.5	0.82
H.C.	E	59	1.284	593.743	24.6	20.1	0.85
A.S.	E	50	1.097	551.754	22.2	13.9	0.84
H.S.	K	22	1.307	674.921	21.7	24.6	0.82

R.Y.	K	37	1.256	507.23	24.9	36.5	0.82
İ.Y.	E	61	1.377	601.313	24.8	26.3	0.97
F.A.	K	49	1.116	813.230	20.1	23.8	0.86
D.Ö.	E	52	1.496	659.609	24.9	28.6	1.02
F.K.	K	27	2.175	765.526	17.7	14.0	0.77
F.Ş.	K	19	1.514	396.382	21.2	33.9	0.88
S.Y.	E	24	0.973	543.361	24.5	24.9	0.91

Tablo 4.2. Obez bireylere ait HIF-1α, VEGF, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel/kalça oranı değerleri

İSİM	CİNSİYET	YAŞ (Yıl)	HIF-1α (ng/mL)	VEGF (ng/L)	BKİ (kg/m2)	YAĞ (%)	BEL/KALÇA ORANI
E.D.	E	43	1.414	773.417	37.2	36.1	1.09
M.S.	E	28	9.951	6000.00	36.4	46.4	1.13
İ.K.	E	41	1.371	660.458	36.9	32.8	1.03
M.K.	K	49	1.752	729.849	33.2	42.1	1.06
A.U.	E	41	1.385	675.773	41.8	42.0	1.07
D.O.	K	27	11.18	6000.00	30.5	43.4	0.98
Ş.M.	K	27	7.042	2435.846	31.2	38.7	0.95
H.S.	K	45	0.904	485.315	30.2	44.4	1.03
İ.Ç.	E	49	2.095	696.279	36.8	36.1	1.11
S.F.	K	29	1.696	806.996	30.3	38.5	0.96
E.S.	K	55	1.439	808.775	31.7	41.5	1.03
C.Ö.	E	28	5.549	3187.59	37.1	36.6	1.09
A.S.	K	58	1.254	889.381	33.9	39.9	0.99
H.A.	E	36	1.537	959.788	31.3	35.5	1.00
E.Y.	E	31	1.332	853.702	39.0	37.8	1.04
D.Ç.	K	41	1.494	697.993	30.0	33.8	0.94
H.U.	K	37	1.377	657.911	30.0	40.1	0.92
A.C.	K	54	1.519	629.127	39.4	51.7	1.25
S.R.	E	45	3.575	1067.09	34.6	37.1	1.10
H.Ş.	K	59	1.781	688.577	30.9	41.8	1.00

A.A.	E	24	2.712	939.818	34.3	34.1	1.04
İ.S.	K	31	1.473	687.722	31.0	41.1	0.95
G.K.	E	35	1.251	972.256	30.3	32.6	1.02
Ş.O.	E	29	7.292	5508.765	30.2	30.8	0.97
E.Ş.	K	31	1.315	832.928	32.6	44.0	0.98
T.S.	E	43	1.383	858.244	32.6	32.6	0.99
Z.K.	K	41	1.368	976.11	36.0	48.8	1.03
A.Ç.	E	35	1.245	626.594	33.5	35.2	1.02
H.Ö.	E	31	1.127	534.966	40.5	41.2	1.15
B.U.	K	29	1.612	601.313	30.1	36.8	0.99
İ.T.	E	26	12.194	6000.00	32.1	36.4	1.04
A.H.	E	33	1.417	610.573	39.7	41.0	1.09
F.Y.	E	37	1.496	503.863	32.4	42.3	0.97
S.Ç.	K	43	1.059	626.594	42.5	53.2	0.98
M.K.	E	56	1.064	719.485	39.5	39.0	1.00
E.S.	E	33	1.212	663.007	31.1	28.4	0.97
A.B.	E	61	1.173	749.81	41.1	52.4	1.09
A.S.	K	30	1.187	569.381	30.3	36.0	0.97
F.Y.	K	59	1.193	603.837	37.2	46.8	0.98
A.D.	K	40	12.526	6000.00	31.2	42.5	0.95
F.E.	K	27	3.097	1024.977	31.8	50.3	0.99
A.Ö.	K	52	1.436	616.471	31.6	45.2	0.99
M.U.	K	36	1.184	560.147	35.0	43.6	0.99
Z.K.	K	47	1.838	529.927	34.8	50.6	1.06
A.U.	E	25	2.621	787.503	33.5	31.6	1.08

Tablo 4.3. Kontrol ve obez bireylerin yaş, cinsiyet, HIF-1α, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel/kalça oranlarının ortalama ve P değerleri

	Kontrol Grubu ($\bar{X}$ ± SEM)	Obezite ($\bar{X}$ ± SEM)	P değeri
Sayı	28	45	
Yaş (Yıl)	38.32 ± 2.469	39.04 ± 1.592	0.7992
Cinsiyet(K/E)	15K/13/E	23K/22E	0.8406
HIF-1α	1.376 ± 0.045	2.781 ± 0.4606	0.0192
VEGF	594.9 ± 15.650	1396 ± 250	0.0141
BKİ	23.04 ± 0.400	34.16 ± 0.5533	0.0001
Vücut Yağ Yüzdesi	25.5 ± 1.293	40.28 ± 0.9066	0.0001
Bel/Kalça Oranı	0.8846 ± 0.012	1.024 ± 0.009641	0.0001

X: Ortalama, SEM: Standart Hata (Standard Error Mean), K: Kadın, E: Erkek,HIF-1α: Hipoksi ile indüklenebilir faktör, VEGF: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü, BKİ: Beden Kitle İndeksi

Tablo 4.4. Obez bireylerde eşlik eden en az bir metabolik hastalığı olan ve olmayan bireylerin yaş, cinsiyet, HIF-1α, VEGF, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel/kalça oranlarının ortalama ve P değerleri

	Obez bireyler Hastalık (+) ($\bar{X}$ ± SEM)	Obez bireyler Hastalık (-) ($\bar{X}$ ± SEM)	P değeri
Sayı	19	26	
Yaş (Yıl)	45.37± 2.453	34.42±1.590	0.0006
Cinsiyet (K/E)	14/5	9/17	
HIF-1α	1.991 ± 0.587	3.358 ± 0.658	0.1057
VEGF	995.3 ± 279.3	1688 ± 375.9	0.2754
BKİ	34.92 ± 0.908	33.61 ± 0.685	0.3015
Vücut Yağ Yüzdesi	43.12 ± 1.428	38.22 ± 1,013	0.0083
Bel/Kalça Oranı	1.015 ± 0.016	1.03 ± 0.011	0.3633

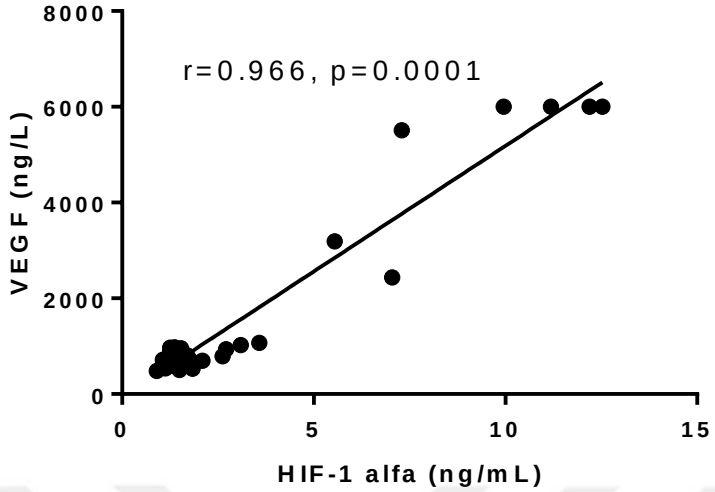
X: Ortalama, SEM: Standart Hata (Standard Error Mean), K: Kadın, E: Erkek, HIF-1α: Hipoksi ile indüklenebilir faktör, VEGF: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü, BKİ: Beden Kitle İndeksi

Tablo 4.5. Obez bireylerde plazma HIF-1α ve VEGF düzeyleri ile BKİ, Vücut Yağ Yüzdesi ve bel/kalça oranları arasındaki korelasyonlar

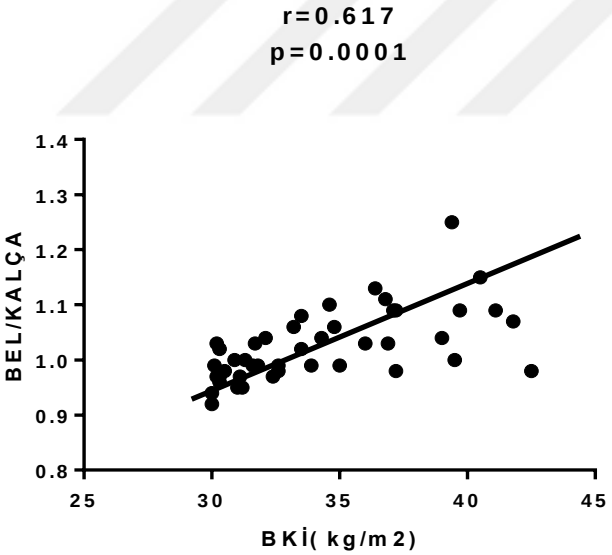
	HIF-1α	**VEGF**	**BKİ**	**VÜCUT YAĞ YÜZDESİ**	**BEL/KALÇA ORANI**
HIF-1α		r=0.966 p=0.0001	r=-0.219 p=0.148	r=-0.032 p=0.830	r=-0.037 p=0.804
VEGF	**r=0.966 p=0.0001**		r=-0.194 p=0.199	r=-0.053 p=0.726	r=-0.039 p=0.795
BKİ	r=-0.219 p=0.148	r=-0.194 p=0.199		**r=0.383 p=0.009**	**r=0.617 p=0.0001**
VÜCUT YAĞ YÜZDESİ	r=-0.032 p=0.830	r=-0.053 p=0.726	r=0.383 p=0.009		r=0.205 p=0.175
BEL/KALÇA ORANI	r=-0.037 p=0.804	r=-0.039 p=0.795	**r=0.617 p=0.0001**	r=0.205 p=0.175	

HIF-1α: Hipoksi ile indüklenebilir faktör, VEGF: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü, BKİ: Beden Kitle İndeksi

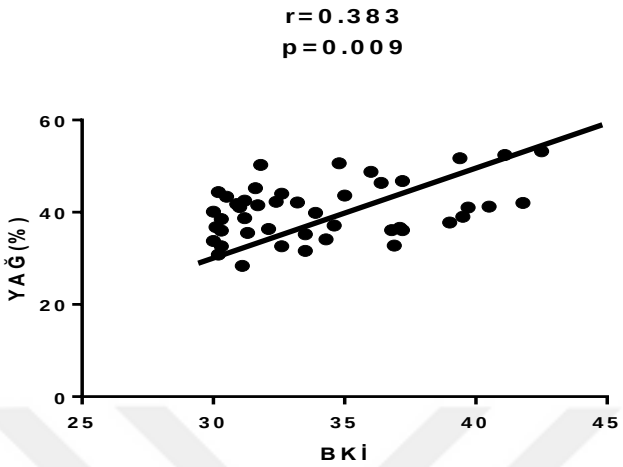
Yapılan istatistik korelasyon analizinde obez bireylerde VEGF ile HIF-1α (r=0.966, p=0.0001), BKİ ile vücut yağ yüzdesi(r=0.383, p=0.009) ve bel/kalça oranı(r=0.617, p=0.0001) pozitif korelasyon göstermiştir.



Şekil 4.1. Obez bireylerde HIF-1α ve VEGF korelasyon grafigi



Şekil 4.2. Obez bireylerde bel/ kalça oranı ve BKİ korelasyon grafigi



Şekil 4.3. Obez bireylerde vücut yağ yüzdesi ve BKİ korelasyon grafigi

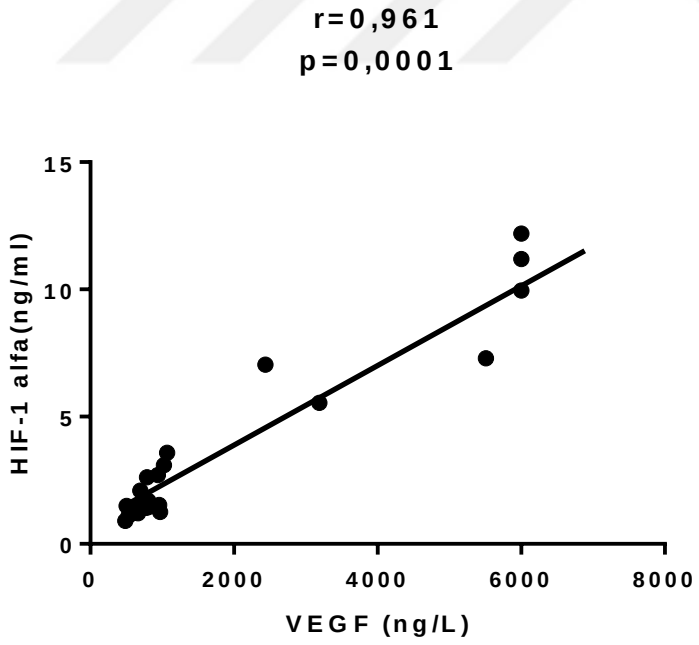
Tablo 4.6. Herhangi bir metabolik hastalığı bulunmayan obez bireylerde HIF-1α, VEGF, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel kalça oranı değerleri

İSİM	CİNSİYET	YAŞ (Yıl)	HIF-1α (ng/mL)	VEGF (ng/L)	BKİ (kg/m2)	YAĞ (%)	BEL/KALÇA ORANI
E.D.	E	43	1.414	773.417	37.2	36.1	1.09
M.S.	E	28	9.951	6000.00	36.4	46.4	1.13
A.U.	E	41	1.385	675.773	41.8	42.0	1.07
D.O.	K	27	11.188	6000.00	30.5	43.4	0.98
Ş M.	K	27	7.042	2435.84	31.2	38.7	0.95
H S.	K	45	0.904	485.315	30.2	44.4	1.03
İ.Ç.	E	49	2.095	696.279	36.8	36.1	1.11
S F.	K	29	1.696	806.996	30.3	38.5	0.96
E S.	K	55	1.439	808.775	31.7	41.5	1.03
C Ö.	E	28	5.549	3187.59	37.1	36.6	1.09
H A.	E	36	1.537	959.788	31.3	35.5	1.00
D.Ç.	K	41	1.494	697.993	30.0	33.8	0.94
S.R.	E	45	3.575	1067.099	34.6	37.1	1.10
A.A.	E	24	2.712	939.818	34.3	34.1	1.04
G.K.	E	35	1.251	972.256	30.3	32.6	1.02
Ş.O.	E	29	7.292	5508.765	30.2	30.8	0.97
A.Ç.	E	35	1.245	626.594	33.5	35.2	1.02
H.Ö.	E	31	1.127	534.966	40.5	41.2	1.15
İ.T.	E	26	12.194	6000.00	32.1	36.4	1.04
A.H.	E	33	1.417	610.573	39.7	41.0	1.09
F.Y.	E	37	1.496	503.863	32.4	42.3	0.97
E.S.	E	33	1.212	663.007	31.1	28.4	0.97
A.S.	K	30	1.187	569.381	30.3	36.0	0.97
F.E.	K	27	3.097	1024.97	31.8	50.3	0.99
M.U.	K	36	1.184	560.147	35.0	43.6	0.99
A.U.	E	25	2.621	787.503	33.5	31.6	1.08

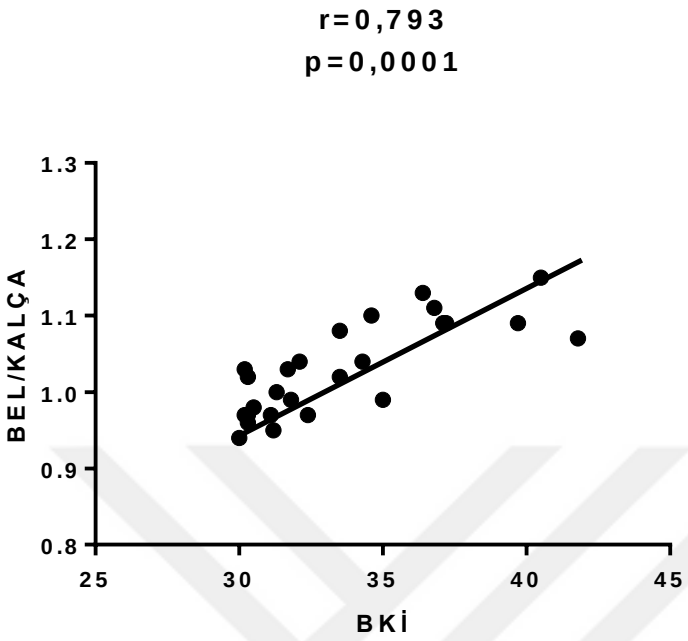
Tablo 4.7. Eşlik eden herhangi bir metabolik hastalığa sahip olmayan obez bireylerde plazma HIF-1α ve VEGF düzeyleri ile BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel/kalça oranları arasındaki korelasyonlar

	HIF-1α	**VEGF**	**BKİ**	**VÜCUT YAĞ YÜZDESİ**	**BEL/KALÇA ORANI**
HIF-1α		**r=0.961 p=0.0001**	r= -0.138 p=0.501	r= 0.127 p=0.537	r= 0.019 p=0,926
VEGF	**r=0.961 p= 0.0001**		r= -0.143 p=0.485	r=0.079 p=0.702	r= 0.793 p=0.937
BKİ	r=-0.138 p=0.501	r=-0.143 p=0.485		r= 0.232 p=0.255	**r=0.793 p=0.0001**
VÜCUT YAĞ YÜZDESİ	r= 0.127 p=0.537	r= 0.079 p=0.702	r=0.232 p=0.255		r= 0.142 p=0.491
BEL/KALÇA ORANI	r= 0.019 p=0.926	r= 0.793 p=0.937	**r=0.793 p= 0.0001**	r= 0.142 p= 0.491	

HIF-1α: Hipoksi ile indüklenebilir faktör, VEGF: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü, BKİ: Beden Kitle İndeksi



Şekil 4.4. Eşlik eden herhangi bir metabolik hastalığı olmayan obez bireylerde HIF-1α ve VEGF korelasyon grafiği



Şekil 4.5. Eşlik eden herhangi bir metabolik hastalığı olmayan obez bireylerde bel/ kalça oranı ve BKİ arasındaki korelasyon grafigi

Tablo 4.8. Eşlik eden en az bir metabolik hastalığa sahip obez bireylerde HIF-1α, VEGF, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel/kalça oranı değerleri

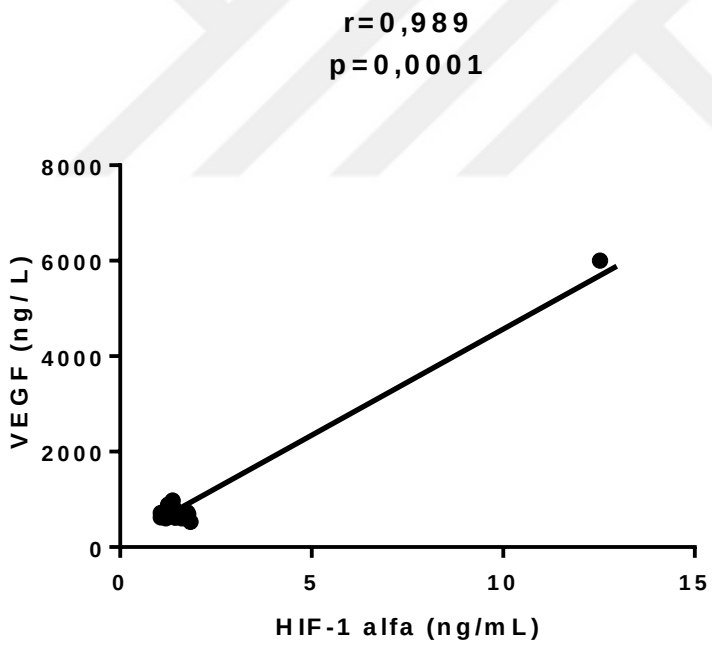
İSİM	Cinsiyet	Yaş(yıl)	HIF-1α	VEGF	Boy(m)	Kilo(kg)	BKİ(kg/m2)	Vücut yağ %	Bel/Kalça	Metabolik Hastalık
İ. K.	E	41	1.371	660.458	1.77	115.7	36.9	32.8	1.03	Tiroid, IR
M. K.	K	49	1.752	729.849	1.60	85.1	33.2	42.1	1.06	HT
A. S.	K	58	1.254	889.381	1.56	82.4	33.9	39.9	0.99	HT, Kolesterol
E. Y.	E	31	1.332	853.702	1.89	139.3	39.0	37.8	1.04	Ateroskleroz
H. U.	K	37	1.377	657.911	1.60	76.7	30.0	40.1	0.92	Ritm bozukluğu
A. C.	K	54	1.519	629.127	1.51	89.9	39.4	51.7	1.25	Tiroid
H. Ş.	K	59	1.781	688.577	1.52	71.4	30.9	41.8	1.00	HT
İ. S.	K	31	1.473	687.722	1.56	75.5	31.0	41.1	0.95	Tiroid
E. Ş.	K	31	1.315	832.928	1.57	80.3	32.6	44.0	0.98	Tiroid
T. S.	E	43	1.383	858.244	1.65	88.8	32.6	32.6	0.99	DM
Z. K.	K	41	1.368	976.11	1.73	107.6	36.0	48.8	1.03	HT
B. U.	K	29	1.612	601.313	1.60	77.0	30.1	36.8	0.99	Tiroid
S. Ç.	K	43	1.059	626.594	1.63	112.9	42.5	53.2	0.98	DM
M. K.	E	56	1.064	719.485	1.68	111.6	39.5	39.0	1.00	HT
A. B.	E	61	1.173	749.81	1.48	90.0	41.1	52.4	1.09	HT, DM, Kolesterol
F. Y.	K	59	1.193	603.837	1.53	87.0	37.2	46.8	0.98	DM, HT
A. D.	K	40	12.526	6000	1.67	86.9	31.2	42.5	0.95	HT
A. Ö.	K	52	1.436	616.471	1.60	80.9	31.6	45.2	0.99	DM
Z. K.	K	47	1.838	529.927	1.56	84.6	34.8	50.6	1.06	Tiroid

HT: Hipertansiyon, DM: Diabetes Mellitus, IR: İnsülin direnci

Tablo 4.9. Eşlik eden en az bir metabolik hastalığa sahip obez bireylerde HIF-1α, VEGF, BKİ, vücut yağ yüzdesi ve bel /kalça oranları arasındaki korelasyonlar

	HIF-1α	**VEGF**	**BKİ**	**VÜCUT YAĞ YÜZDESİ**	**BEL/KALÇA ORANI**
HIF-1α		**r=0.989 p=0.0001**	r=-0.276 p=0.253	r=-0.030 p=0.903	r=-0.202 p=0.406
VEGF	**r=0.989 p=0.0001**		r=-0.224 p=0.357	r=-0.046 p=0.852	r=-0.228 p=0.348
BKİ	r=-0.276 p=0.253	r=-0.224 p=0.357		r=0.465 p=0.045	**r=0.508 p=0.026**
VÜCUT YAĞ YÜZDESİ	r=-0.030 p=0.903	r=-0.046 p=0.852	r=0.465 p=0.045		r=0.414 p=0.078
BEL/KALÇA ORANI	r=-0.202 p=0.406	r=-0.228 p=0.348	**r=0.508 p=0.026**	r=0.414 p=0.078	

HIF-1α: Hipoksi ile indüklenebilir faktör, VEGF: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü, BKİ: Beden Kitle İndeksi



Şekil 4.6. Eşlik eden en az bir metabolik hastalığa sahip obez bireylerde HIF-1α ve VEGF arasındaki korelasyon grafiği

5. TARTIŞMA

Obezite, yaygın olarak tip 2 diabetes mellitus, hipertansiyon, koroner kalp hastalığı, inme, dislipidemi, safra kesesi hastalığı, hepatik steatoz, uyku apnesi, endometriyal hastalıklar ve kanser ile ilişkilendirilen karmaşık bir metabolik bozukluk olup bu bozuklukların çoğu vasküler disfonksiyon ile yakından ilişkilidir [155-158]. Vücutta bir endokrin organ olarak kabul edilen yağ dokusu tarafından önemli miktarda üretilen VEGF ise vasküler geçirgenliği ve vazodilatasyonu arttırdığı bilinen önemli bir sitokindir [159, 160]. VEGF, adiposit farklılaşması ve adipoz doku büyümesi için gerekli bir süreç olan anjiyogenezi teşvik eder [161-164]. Adipositler, anjiyogenezi uyarmak ve adipoz doku kapasitesini artırmak için yüksek düzeyde VEGF eksprese ederler [165-167]. Bununla birlikte, adipositlerde VEGF ekspresyonunun moleküler mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır.

Çalışmalar, fazla kilolu ve obez bireylerde dolaşımdaki VEGF düzeylerinin yükseldiğini göstermektedir [13, 14, 168, 169]. Bu çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızda da obez bireylerde plazma VEGF düzeyleri yüksek bulunmuştur. Yine bazı çalışmalarda, tedavi sonrası dramatik kilo kaybı olan obez bireylerde kilo kaybına paralel olarak yüksek konsantrasyonda bulunan kan ve adipoz doku VEGF seviyelerinin düştüğü gösterilmiştir [13, 168, 170]. Çalışmamızda da obez bireylerde plazma VEGF düzeylerinin oldukça yüksek bulunması, VEGF'in obezite patogenezinde önemli bir rolü olabileceğini gösterebilir. Bununla birlikte, bu alanda yapılan ilk çalışmada obezite ve dolaşımdaki VEGF düzeyleri arasında ilişki bulunmadığı bildirilmiştir [171]. Çalışmalar arasındaki farklılıklar çalışmaya dahil edilen birey sayısısının yetersizliğinden ve/veya etnik farklılıklardan kaynaklanabilir. VEGF'in obezite patogenezindeki rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için daha fazla sayıda örnek içeren popülasyonlar ile yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Literatürde, obez bireylerde kan VEGF seviyeleri ile BKİ arasındaki ilişkiye dair ortak bir konsensus bulunmamaktadır. Loebig ve arkadaşları [172], yaşları 18-30 arasında olan 15 normal kilolu (BKI 20–25 kg/m^2), 15 düşük kilolu (BKI<20 kg/m^2) ve 15 obez (BKI>30 kg/m^2) erkekte VEGF düzeylerini inceledikleri çalışmada, obez bireylerde VEGF düzeylerinin diğer gruplara göre anlamlı derecede yükseldiğini ayrıca, VEGF seviyeleri ile beden kitle indeksi arasında pozitif korelasyon bulunduğunu

göstermişlerdir. Araştırıcılar, yüksek serum VEGF seviyelerinin zayıf bireylere kıyasla, obezlerde iyi ve faydalı bir role sahip olabileceğini bildirmişlerdir. Miyazawa-Hoshimoto ve ark. [13] da fazla kilolu veya obez 38 bireyde serum VEGF düzeyleri ile BKİ ve artmış viseral indeks arasında pozitif korelasyon bulunduğunu, visseral yağ bölgesinin VEGF seviyeleri için önemli bir belirleyici faktör olduğunu, diyet, egzersiz, davranış ve beslenme danışmanlığından oluşan multidisipliner bir yaklaşımla uygulanan tedavi sonrası, hastalarda VEGF konsantrasyonlarının azalmasına paralel olarak iç organlardaki yağ alanının da azaldığını göstermişlerdir. Bu araştırıcılar ayrıca, serum VEGF düzeyinin yağ dokularından, özellikle de intra-abdominal adipoz dokudan VEGF salınımıyla kontrol edilebileceğini bildirmişlerdir. Silha ve ark. da [14], serum VEGF düzeylerinin normal kilolu bireylerde (BKI, 22.2±0.3; n=58), fazla kilolu ya da obez bireylere (BKI, 33.5±1.2; n=42) nazaran oldukça yüksek ve BKİ ile korele olduğunu saptamışlardır. Yine, Siervo ve ark. [173, 174] fazla kilolu veya obez bireylerde plazma VEGF düzeyleri ile BKİ arasında pozitif korelasyon bulunduğunu bildirmişlerdir. Buna karşın, Wieczor ve ark., periferal arter hastalığı bulunan 15 zayıf, 21 fazla kilolu, 10 obez ve nornal kilolu 30 sağlıklı bireyde yaptıkları çalışmada VEGF ile BKİ arasında ilişki bulamamışlardır. Çalışmamızda da obez bireylerde plazma VEGF seviyeleri ile BKİ arasında ilişkiye rastlanamamıştır. Görüldüğü üzere sonuçlarımız ve literatürdeki diğer çalışmalar incelendiğinde çalışmaya dahil edilen birey sayılarının yetersiz olduğunu, bu nedenle de VEGF ve BKİ arasındaki ilişkileri belirlemeye yönelik çalışmaların daha geniş bir popülasyonda yapılması gerektiğini göstermektedir.

Metabolik sendrom; miyokard infarktüsü, inme ve diyabet riskini artıran faktörlerin bir arada bulunduğu ciddi bir tablodur. Obezitede BKİ, bel/kalça oranı ve vücut yağ yüzdesi metabolik hastalıklar için risk faktörleri arasında yer almaktadır. Obez bireyler, bilinen herhangi bir metabolik hastalığı olmayanlar ile obeziteye eşlik eden en az bir metabolik hastalığı bulunanlar şeklinde iki gruba ayrılıp, gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında metabolik hastalığı olanlarda yaş ortalamasının (45.37± 2.453 yıl), metabolik hastalığı olmayanlara (34.42± 1.590 yıl) göre anlamlı derecede yüksek bulunması (P=0.0006), obez bireylerde yaşa bağlı olarak metabolik hastalık riskinin arttığını göstermektedir. Yine, çalışmamızda vücut yağ yüzdesi de metabolik hastalığı bulunan obez bireylerde 43.12 ± 1.43, hastalığı olmayanlarda ise 38.22 ± 1.01 olarak saptanmış olup metabolik hastalığı olanlarda, olmayanlara göre vücut yağ yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (P=0.0083). Bu bulgu

da vücut yağ yüzdesindeki artışın obezitede metabolik hastalık riskini artırabileceğini göstermektedir. HIF-1α ve VEGF'nin de metabolik hastalıklarda önemli bir rol oynayabileceği bildirilmiştir [175, 176]. Çalışmamıza dahil edilen ve diyabet, insülin direnci, hipertansiyon, tiroidi, ateroskleroz gibi metabolik hastalıklardan en az birine sahip olan 19 obez bireyle, metabolik hastalığı olmayan 26 obez birey arasında plazma HIF-1α veya VEGF düzeylerinin farksız bulunması, plazma HIF-1α ve VEGF yüksekliğinin obezitede metabolik hastalıklar için risk faktörleri olmadığını düşündürebilir. Bununla birlikte, metabolik hastalıklarla, dolaşımdaki HIF-1α veya VEGF ilişkisini ortaya koyabilmek için daha geniş hasta ve kontrol serileriyle yapılacak çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Aktivitesi hipoksi tarafından indüklenen bir transkripsiyon faktörü olan HIF-1α, adipoz doku hipoksisinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır [8-11]. Yapılan çalışmalarda, obezitede yağ dokusu hipoksisi ve HIF-1α'nın yukarı yönde düzenlendiği gösterilmiştir [177, 178]. Obezitede adipoz doku hipoksisi gözlenmekte olup bu olay düzensiz adipokin üretimine, inflamasyona ve metabolik hastalıklara yol açabilir [9]. HIF-1α hipoksik koşullarda oldukça yüksek, normoksik koşullarda ise birçok hücrede düşük seviyelerde eksprese edilir [97, 120-122]. Obezite ve insülin direncinde adipoz dokuda hipoksinin rolü hala tartışmalı olmakla birlikte mevcut kanıtlar, obezite ve metabolik hastalıkların patogenezinde HIF-1α aktivasyonunun zararlı rolü olduğuna işaret etmektedir. Hipoksiye maruziyetin adipositlerde HIF-1α üzerinden insülin sinyal yolağını inhibe edebileceği bildirilmiştir [179]. Jiang ve ark. da [180], yüksek yağlı diyetle beslenen obez farelerde adiposit spesifik HIF-1α inhibisyonunun obezite ve insülin direncine karşı koruma sağladığını bildirmişlerdir. Bu bulgular, aşırı HIF-1α eksprese eden transgenik farelerde insülin direnci ve yağ dokusu fibrozisini gösteren verilerle desteklenmiştir [8]. Bütün bu çalışmalar, obezite patogenezinde HIF-1α'nın önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, genetik veya farmakolojik (HIF-P4H, prolyl 4-hydroxylases) inhibisyon yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalarda, metabolik hastalıklarda HIF aktivasyonunun faydalı bir rolü olduğunu, *Hif-p4h-2* hipomorfik farelerin, ister normal ister yüksek yağlı diyetle beslensin azalmış yağlanma, yağ dokusu inflamasyonu, glikoz toleransı ve insülin duyarlılığı sergilediklerini bildirmişlerdir. Bu araştırıcılar ayrıca, HIF-P4H inhibitör FG-4497'nin yaşlı veya yüksek yağlı diyetle beslenen ob/ob farelerde metabolik disfonksiyonu tersine çevirebilileceğini iddia etmişlerdir [181]. Hayvan çalışmalarının sonuçları arasındaki farklılıklar, metabolik hastalıklarda HIF sinyalinin karmaşık rolünü ve

hipoksik yağ dokusunda homeostazın sürdürülmesi için yeterli ve dengeli HIF fonksiyonunun temel önemini gösterebilir.

Bilgilerimize göre literatürde, obez bireylerde serum HIF-1α düzeylerinin ölçüldüğü bir tek çalışma mevcuttur. Bu çalışmada, Figueroa-Vega ve ark. [182], BKİ 42.6 ± 6.5 olan, 11'ü kadın 4'ü erkek olmak üzere 15 morbid obez bireyde mide tüp operasyonu (sleeve gastrectomy) sonrası 3. ve 6. aylarda BKİ değerlerinin sırasıyla 34.4 ± 5.0 ve 32.2 ± 4.2 seviyelerine gerilediğini, hastaların operasyon öncesi ve operasyondan sonraki 3. ve 6. aylardaki HIF-1α düzeylerinin ise sırasıyla 2.6 ± 2.6, 2.1 ± 2.5 ve 1.4 ± 2.1 ng/ml'ye kadar düştüğü belirlenmiştir. Araştırıcılar, morbid obez bireylerde HIF-1α'nın aşırı ekspresyonunun kilo kaybı sonrası azalmasını, metabolik aktivitedeki azalma ile açıklamışlardır. HIF-1α seviyeleri ile insülin direnç indeksi (HOMA-IR) arasındaki korelasyonun ise HIF-1α 'nın insülin direncindeki rolüne işaret ettiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise toplam 45 obez bireyin ortama BKİ değerleri 34.16 ± 0.55 olarak saptanmış olup, bu bireylerin plazma HIF-1α düzeyleri (2.78 ± 0.46 ng/mL), kontrol grubuna göre (1.37 ± 0.04 ng/mL) oldukça yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.0192). Hem Figueroa-Vega ve hem de çalışmamızda, kan dolaşımındaki HIF-1α seviyelerinin yüksek bulunması, obezitede hipoksinin önemini ve aynı zamanda HIF-1α'nın obezite için bir biyomarker olabileceğini gösterebilir. Bununla birlikte, HIF-1α'nın obezite ve metabolik hastalıklardaki rolünü aydınlatabilmek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Yağ dokusu hipoksisi dikkatleri HIF-1α ve VEGF gibi hipoksi marker genlerine yönlendirmiştir. HIF-1α bir transkripsiyon faktörü olup VEGF ve eritropoietin dahil 60 adetten fazla hedef genin transkripsiyonunu indükler. HIF-1α'nın hedef genleri özellikle anjiyogenik faktörleri, proliferasyon/sağkalım faktörlerini, glikoz taşıyıcıları ve glikolitik enzimleri kapsamaktadır. Bu moleküller, glikoz taşınması ve metabolizmasında yer alan genleri aktive eden eritropoez ve anjiyogenezi teşvik ederek oksijenin kullanılabilirliğini arttırır [89, 91, 92, 183].

Hipoksik koşullar, pro-anjiyogenik genlerin uyarılmasının sonucu olarak patolojik veya fizyolojik olarak anjiyogenezi tetikler [91, 145, 184]. Hipoksinin ayrıca VEGF molekülü ve VEGF mRNA ekspresyonunu uyardığı da gösterilmiş, bu da hipoksinin VEGF ekspresyonunun yukarı yönde düzenlenmesi (upregulation) ile anjiyogenezin bir uyaranı olduğunu düşündürmüştür [142, 144, 147, 148, 185]. Semenza [119], oksijen homeostazisinde hipoksi ve HIF-1'in rolününün incelendiği çalışmasında, hipoksiye yanıt olarak transkripsiyonel aktivasyonun artması nedeniyle

VEGF mRNA düzeyinin arttığını rapor etmiştir. VEGF geninin 5' ucundaki transkripsiyonel başlangıç bölgesine 1 kb uzaklıkta yerleşmiş bulunan hipoksi yanıt elemanına (HRE) HIF-1α bağlanması, VEGF'nin uyarılmasını sağlamaktadır [119]. Gothie ve ark. [103], HIF-1α'nın transfekte edilmiş insan embriyonik böbrek hücrelerinde hipoksi ile aktive edildiğini ve VEGF promotörünü doza bağlı olarak indüklediğini göstermişlerdir. Çalışmamızda da obez bireylerde plazma HIF-1α ve VEGF düzeyleri arasında çok güçlü bir korelasyon gözlenmesi ($r=0.966$, $P=0.0001$), diğer bir deyişle HIF-1α ve VEGF arasındaki yakın ilişki, hipoksiye yanıt olarak adipoz dokuda eksprese edilen HIF-1α transkripsiyon faktörünün VEGF promotörünü uyararak VEGF ekspresyonunu sağladığı ve adipoz dokuda üretilen bu proteinlerin dolaşıma geçerek kandaki düzeylerinin de yükseldiğini düşündürmektedir.

6. SONUÇLAR

Aşırı kilo ve obezite prevalansı dünya çapında 1980' den beri ikiye katlanmıştır. Dünya nüfusunun neredeyse üçte biri fazla kilolu veya obez olarak sınıflandırılmaktadır. Obezite vücudun nerdeyse tüm fizyolojik fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemektedir ve önemli bir sağlık tehdidi oluşturmaktadır. Obezite yağ dokusu kitlesinin genişlemesi ile ilişkili kronik hipoksik bir durumdur. Yağ dokusu hipoksisi dikkatleri HIF-1α ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi hipoksi belirteçlerine yönlendirmiştir. HIF-1, aktivitesi hipoksi tarafından indüklenen bir transkripsiyon faktörüdür ve adipoz doku hipoksisinin bir göstergesi olarak kullanılan moleküldür. HIF-1, VEGF de dahil birçok hedef genin transkripsiyonunu indükler.

Obez bireylerde serum HIF-1α ve VEGF düzeyleri ile BKİ arasındaki ilişkinin araştırılmasını amaçladığımız çalışmamızda;

1- HIF-1α plazma düzeyleri obez bireylerde 2.78±0.46 ng/mL, kontrol grubunda ise 1.376±0.04501 ng/mL olarak saptanmış olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.0192).
2- VEGF plazma düzeyleri de obez bireylerde (1396 ± 250 ng/L), kontrol grubuna (594.9±15.65 ng/L) göre anlamlı derecede yüksek olarak saptanmıştır (p=0.0141).
3- BKİ obez bireylerde (34.16 ± 0.55 kg/m2), kontrol grubuna (23.04± 0.40 kg/m2) göre oldukça yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.0001).
4- Obez bireylerde ortalama vücut yağ yüzdesi 40.28±0.90, kontrollerde ise 25.50±1.29 düzeyinde belirlenmiş ve aradaki fark obez bireylerde, kontrol grubuna nazaran oldukça yüksek bulunmuştur (p=0.0001).
5- Bel/kalça oranı obezite grubunda (1.024±0.009), kontrol grubuna (0.884±0.012) göre yüksek olarak gözlenmiştir (p=0.0001).
6- Obez bireyler, herhangi bir hastalığı olmayanlar ile obeziteye eşlik eden en az bir metabolik hastalığı bulunanlar şeklinde iki gruba ayrılıp, gruplar arasında istatistiksel karşılaştırma yapıldığında metabolik hastalığı olanlarda, olmayanlara göre hasta yaşı (p=0.0006) ve vücut yağ yüzdesinde anlamlı bir artış saptanmış (P=0.0083), diğer parametrelerde ise herhangi bir fark bulunamamıştır (p>0.05),
7- Obez bireylerde HIF-1α ve VEGF düzeyleri arasında kuvvetli pozitif bir korelasyon gözlenmiştir (r=0.966, p=0.0001).

8- Obez bireylerde vücut yağ yüzdesi ile BKİ arasında (r=0.383, p=0.009) ve vücut yağ yüzdesi ile bel/kalça oranı arasında (r=0.617, p=0.0001) anlamlı pozitif korelasyonlar saptanmıştır.
9- Obez bireylerde BKİ ile HIF-1α ve BKİ ile VEGF arasında anlamlı bir ilişki gözlenememiştir (HIF-1α için: r=-0.219, p=0.148; VEGF için: r=-0.194, p=0.199).
10- Eşlik eden en az bir metabolik hastalığa sahip obez bireylerde (19 birey) HIF-1α ile VEGF değerleri arasında (r=0.961, p=0.0001) ve BKİ ile bel/kalça oranı arasında (r=0.793, p=0.0001) pozitif korelasyonlar gözlenmiştir. Çalışılan diğer parametrelerde ise korelasyon bulunamamıştır (p>0.05).

Çalışmamızda, plazma HIF-1 α ve VEGF düzeylerinin oldukça yüksek bulunması, obez bireylerin yağ dokularındaki hipoksik koşullardan kaynaklanabileceği, dolayısıyla da HIF-1 α ve VEGF'in obezite patogenezinde önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir. Metabolik hastalığı olan obez bireylerde yaş ortalaması ve vücut yağ yüzdesinin, metabolik hastalığı olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek bulunması yaş faktörü ve vücut yağ yüzdesindeki artışın obezitede metabolik hastalık riskini artırabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda ayrıca, obez bireylerde plasma HIF-1α ve VEGF düzeyleri arasında çok güçlü bir korelasyon gözlenmesi, hipoksiye yanıt olarak adipoz dokuda eksprese edilen HIF-1α transkripsiyon faktörünün VEGF promotörünü uyararak VEGF ekspresyonunu sağladığı ve adipoz dokuda üretilen bu proteinlerin dolaşıma geçerek kandaki düzeylerinin de yükseldiğini düşündürmektedir. Literatürde, obezitede HIF-1α ve VEGF seviyeleri ile BKİ arasındaki ilişkiye dair ortak bir konsensus bulunmamaktadır. Çalışmamızda, obez bireylerde plazma VEGF seviyeleri ile BKİ arasında ilişkiye rastlanamamıştır. Sonuçlarımız ve literatür bulguları incelendiğinde, çalışmalara dahil edilen birey sayılarının yetersiz olduğu, bu nedenle obezitede HIF-1α ve VEGF ile BKİ arasındaki ilişkiyi belirlemeye yönelik çalışmaların daha geniş bir popülasyonda yapılması gerektiğini göstermektedir.

7. KAYNAKLAR

[1] C. T. Montague and S. O'Rahilly, "The perils of portliness: causes and consequences of visceral adiposity," *Diabetes*, vol. 49, no. 6, pp. 883-888, 2000.

[2] A. Misra and L. Khurana, "Obesity and the metabolic syndrome in developing countries," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 93, no. 11_supplement_1, pp. s9-s30, 2008.

[3] P. Gonzalez-Muniesa *et al.*, "Impact of intermittent hypoxia and exercise on blood pressure and metabolic features from obese subjects suffering sleep apnea-hypopnea syndrome," *Journal of physiology and biochemistry*, vol. 71, no. 3, pp. 589-599, 2015.

[4] W. H. Organization. "Obesity." https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1, Erişim Tarihi: 13.08.2020.

[5] T. C. S. B. H. S. G. M. S. B. v. H. H. D. Başkanlığı. "Türkiye'de Obezitenin Görülme Sıklığı." https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/obezite/turkiyede-obezitenin-gorulme-sikligi.html, Erişim Tarihi: 13.08.2020.

[6] J. Ye, "Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance," *International journal of obesity*, vol. 33, no. 1, pp. 54-66, 2009.

[7] P. Trayhurn, B. Wang, and I. S. Wood, "Hypoxia in adipose tissue: a basis for the dysregulation of tissue function in obesity?," *British Journal of Nutrition*, vol. 100, no. 2, pp. 227-235, 2008.

[8] N. Halberg *et al.*, "Hypoxia-inducible factor 1α induces fibrosis and insulin resistance in white adipose tissue," *Molecular and cellular biology*, vol. 29, no. 16, pp. 4467-4483, 2009.

[9] N. Hosogai *et al.*, "Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation," *Diabetes*, vol. 56, no. 4, pp. 901-911, 2007.

[10] M. Rausch, S. Weisberg, P. Vardhana, and D. Tortoriello, "Obesity in C57BL/6J mice is characterized by adipose tissue hypoxia and cytotoxic T-cell infiltration," *International journal of obesity*, vol. 32, no. 3, pp. 451-463, 2008.

[11] J. Ye, Z. Gao, J. Yin, and Q. He, "Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice," *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, vol. 293, no. 4, pp. E1118-E1128, 2007.

[12] M. E. Zaki, W. Basha, R. N. Yousef, and M. Awad, "Serum Vascular Endothelial Growth Factor in Egyptian Obese Women with Insulin Resistance," *Open access Macedonian journal of medical sciences*, vol. 7, no. 8, p. 1330, 2019.

[13] S. Miyazawa-Hoshimoto, K. Takahashi, H. Bujo, N. Hashimoto, and Y. Saito, "Elevated serum vascular endothelial growth factor is associated with visceral fat accumulation in human obese subjects," *Diabetologia*, vol. 46, no. 11, pp. 1483-1488, 2003.

[14] J. Silha, M. Krsek, P. Sucharda, and L. Murphy, "Angiogenic factors are elevated in overweight and obese individuals," *International journal of obesity*, vol. 29, no. 11, pp. 1308-1314, 2005.

[15] Q. He, Z. Gao, J. Yin, J. Zhang, Z. Yun, and J. Ye, "Regulation of HIF-1α activity in adipose tissue by obesity-associated factors: adipogenesis, insulin, and hypoxia," *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, vol. 300, no. 5, pp. E877-E885, 2011.

[16] Y. C. Chooi, C. Ding, and F. Magkos, "The epidemiology of obesity," (in eng), *Metabolism*, vol. 92, pp. 6-10, Mar 2019, doi: 10.1016/j.metabol.2018.09.005.

[17] S. Attila, "KADIN SAĞLIĞI VE ŞİŞMANLIK (OBEZİTE)." http://www.huksam.hacettepe.edu.tr/Turkce/SayfaDosya/kadin_sagligi_ve_sismanlik.pdf, Erişim tarihi: 15.6.2020.
[18] P. D. A. Baysal, *Beslenme* (Özel Durumlarda Beslenme). hatiboğlu kitabevi, 2012.
[19] F. KAYA, "Lise Öğrencilerinde Vücut Kompozisyonu ve Obezite Prevalansının Biyoelektrik İmpedans Analiz Yöntemiyle Araştırılması," Y.L. tez. T.C. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üni. Sağlik Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, 2019.
[20] H. N. Küçükdağ, "Normal kilolu ve fazla kilolu kadınlarda vücut yağ oranının antropometrik ve metabolik parametrelerle ilişkisi; normal kilolu obezite kavramı," Tıpta uzm. Tezi. T.C. Düzce Üni. Tıp Fak. Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Düzce, 2018.
[21] H. TAŞLI and S. SAĞIR, "Obezitenin Belirlenmesinde Kullanılan Beden Kitle İndeksi, Bel Çevresi, Bel-Kalça Oranı Metotlarının Karşılaştırılması," *Ahi Evran Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi,* vol. 7, no. 1, pp. 138-150.
[22] J. Upadhyay, O. Farr, N. Perakakis, W. Ghaly, and C. Mantzoros, "Obesity as a disease," *Medical Clinics,* vol. 102, no. 1, pp. 13-33, 2018.
[23] T. S. Church *et al.*, "Trends over 5 decades in US occupation-related physical activity and their associations with obesity," *PloS one,* vol. 6, no. 5, p. e19657, 2011.
[24] B. M. Popkin and C. Hawkes, "Sweetening of the global diet, particularly beverages: patterns, trends, and policy responses," *The lancet Diabetes & endocrinology,* vol. 4, no. 2, pp. 174-186, 2016.
[25] V. Y. Njike *et al.*, "Snack food, satiety, and weight," *Advances in nutrition,* vol. 7, no. 5, pp. 866-878, 2016.
[26] A. B. Sheikh *et al.*, "The interplay of genetics and environmental factors in the development of obesity," *Cureus,* vol. 9, no. 7, 2017.
[27] L. Cooke and C. Llewellyn, "Nature and nurture in early feeding behavior," *Preventive Aspects of Early Nutrition,* vol. 85, pp. 155-165, 2016.
[28] M. S. Bray *et al.*, "NIH working group report—using genomic information to guide weight management: from universal to precision treatment," *Obesity,* vol. 24, no. 1, pp. 14-22, 2016.
[29] F. Kılınç, "Obezite ve Genetik," *fırat tıp dergisi,* vol. 23, no. özel sayı, pp. 9-13, 2018.
[30] D. B. Allison, J. Kaprio, M. Korkeila, M. Koskenvuo, M. C. Neale, and K. Hayakawa, "The heritability of body mass index among an international sample of monozygotic twins reared apart," *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity,* vol. 20, no. 6, pp. 501-506, 1996.
[31] D. Albuquerque, E. Stice, R. Rodríguez-López, L. Manco, and C. Nóbrega, "Current review of genetics of human obesity: from molecular mechanisms to an evolutionary perspective," *Molecular genetics and genomics,* vol. 290, no. 4, pp. 1191-1221, 2015.
[32] I. S. Farooqi *et al.*, "Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency," *The Journal of clinical investigation,* vol. 110, no. 8, pp. 1093-1103, 2002.

[33] G. Ho and R. G. MacKenzie, "Functional characterization of mutations in melanocortin-4 receptor associated with human obesity," *Journal of Biological Chemistry,* vol. 274, no. 50, pp. 35816-35822, 1999.
[34] I. S. Farooqi and S. O'Rahilly, "Monogenic obesity in humans," *Annu. Rev. Med.,* vol. 56, pp. 443-458, 2005.
[35] D. C. N. SEMERCİ, "OBEZİTE VE GENETİK ," *Gülhane Tıp Dergisi,* no. 46, pp. 353-359, 2004.
[36] K. Clement, P. Boutin, and P. Froguel, "Genetics of obesity," *American Journal of Pharmacogenomics,* vol. 2, no. 3, pp. 177-187, 2002.
[37] C. T. Montague *et al.*, "Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans," *Nature,* vol. 387, no. 6636, pp. 903-908, 1997.
[38] M. Rosenbaum and R. L. Leibel, "The physiology of body weight regulation: relevance to the etiology of obesity in children," *Pediatrics,* vol. 101, no. Supplement 2, pp. 525-539, 1998.
[39] Y. Yang and C. Harmon, "Recent developments in our understanding of melanocortin system in the regulation of food intake," *Obesity reviews,* vol. 4, no. 4, pp. 239-248, 2003.
[40] D. M. Mutch and K. Clément, "Genetics of human obesity," *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism,* vol. 20, no. 4, pp. 647-664, 2006.
[41] F. Krempler *et al.*, "A functional polymorphism in the promoter of UCP2 enhances obesity risk but reduces type 2 diabetes risk in obese middle-aged humans," *Diabetes,* vol. 51, no. 11, pp. 3331-3335, 2002.
[42] M. Mergen, H. Mergen, M. Ozata, R. Oner, and C. Oner, "A novel melanocortin 4 receptor (MC4R) gene mutation associated with morbid obesity," (in eng), *J Clin Endocrinol Metab,* vol. 86, no. 7, p. 3448, Jul 2001, doi: 10.1210/jcem.86.7.7809.
[43] K. Clément, "Genetics of human obesity," *Comptes rendus biologies,* vol. 329, no. 8, pp. 608-622, 2006.
[44] T. Rönn *et al.*, "A six months exercise intervention influences the genome-wide DNA methylation pattern in human adipose tissue," *PLoS Genet,* vol. 9, no. 6, p. e1003572, 2013.
[45] M. S. Almén *et al.*, "Genome wide analysis reveals association of a FTO gene variant with epigenetic changes," *Genomics,* vol. 99, no. 3, pp. 132-137, 2012.
[46] O. M. Farr, R. L. Chiang-shan, and C. S. Mantzoros, "Central nervous system regulation of eating: Insights from human brain imaging," *Metabolism,* vol. 65, no. 5, pp. 699-713, 2016.
[47] O. M. Farr, A. Gavrieli, and C. S. Mantzoros, "Leptin applications in 2015: what have we learned about leptin and obesity?," *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity,* vol. 22, no. 5, p. 353, 2015.
[48] M. R. Stieg, C. Sievers, O. Farr, G. K. Stalla, and C. S. Mantzoros, "Leptin: a hormone linking activation of neuroendocrine axes with neuropathology," *Psychoneuroendocrinology,* vol. 51, pp. 47-57, 2015.
[49] O. M. Farr, M. A. Tsoukas, and C. S. Mantzoros, "Leptin and the brain: influences on brain development, cognitive functioning and psychiatric disorders," *Metabolism,* vol. 64, no. 1, pp. 114-130, 2015.
[50] E. Balland and M. A. Cowley, "New insights in leptin resistance mechanisms in mice," *Frontiers in neuroendocrinology,* vol. 39, pp. 59-65, 2015.

[51] N. Sáinz, J. Barrenetxe, M. J. Moreno-Aliaga, and J. A. Martínez, "Leptin resistance and diet-induced obesity: central and peripheral actions of leptin," *Metabolism,* vol. 64, no. 1, pp. 35-46, 2015.
[52] O. M. Farr *et al.*, "GLP-1 receptors exist in the parietal cortex, hypothalamus and medulla of human brains and the GLP-1 analogue liraglutide alters brain activity related to highly desirable food cues in individuals with diabetes: a crossover, randomised, placebo-controlled trial," *Diabetologia,* vol. 59, no. 5, pp. 954-965, 2016.
[53] O. M. Farr *et al.*, "Short-term administration of the GLP-1 analog liraglutide decreases circulating leptin and increases GIP levels and these changes are associated with alterations in CNS responses to food cues: a randomized, placebo-controlled, crossover study," *Metabolism,* vol. 65, no. 7, pp. 945-953, 2016.
[54] J.-H. Baik, "Dopamine signaling in food addiction: role of dopamine D2 receptors," *BMB reports,* vol. 46, no. 11, p. 519, 2013.
[55] H. Ziauddeen, M. Alonso-Alonso, J. O. Hill, M. Kelley, and N. A. Khan, "Obesity and the neurocognitive basis of food reward and the control of intake," *Advances in Nutrition,* vol. 6, no. 4, pp. 474-486, 2015.
[56] J. P. Dunn *et al.*, "Relationship of dopamine type 2 receptor binding potential with fasting neuroendocrine hormones and insulin sensitivity in human obesity," *Diabetes care,* vol. 35, no. 5, pp. 1105-1111, 2012.
[57] G.-J. Wang *et al.*, "Brain dopamine and obesity," *The Lancet,* vol. 357, no. 9253, pp. 354-357, 2001.
[58] C. Dong, L. Sanchez, and R. Price, "Relationship of obesity to depression: a family-based study," *International journal of obesity,* vol. 28, no. 6, pp. 790-795, 2004.
[59] G. E. Simon *et al.*, "Association between obesity and psychiatric disorders in the US adult population," *Archives of general psychiatry,* vol. 63, no. 7, pp. 824-830, 2006.
[60] A. A. Martin and T. L. Davidson, "Human cognitive function and the obesogenic environment," *Physiology & behavior,* vol. 136, pp. 185-193, 2014.
[61] M. B. Parent, J. N. Darling, and Y. O. Henderson, "Remembering to eat: hippocampal regulation of meal onset," *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology,* vol. 306, no. 10, pp. R701-R713, 2014.
[62] K. J. Doolan, G. Breslin, D. Hanna, and A. Gallagher, "Attentional bias to food-related visual cues: is there a role in obesity?," *Proceedings of the Nutrition Society,* vol. 74, no. 1, pp. 37-45, 2015.
[63] T. Van Strien, G. M. Schippers, and W. M. Cox, "On the relationship between emotional and external eating behavior," *Addictive behaviors,* vol. 20, no. 5, pp. 585-594, 1995.
[64] D. Führer, S. Zysset, and M. Stumvoll, "Brain activity in hunger and satiety: an exploratory visually stimulated FMRI study," *Obesity,* vol. 16, no. 5, pp. 945-950, 2008.
[65] E. Schur, N. Kleinhans, J. Goldberg, D. Buchwald, M. Schwartz, and K. Maravilla, "Activation in brain energy regulation and reward centers by food cues varies with choice of visual stimulus," *International journal of obesity,* vol. 33, no. 6, pp. 653-661, 2009.
[66] S. Anzman-Frasca, L. A. Francis, and L. L. Birch, "Inhibitory control is associated with psychosocial, cognitive, and weight outcomes in a longitudinal

sample of girls," *Translational issues in psychological science*, vol. 1, no. 3, p. 203, 2015.
[67] R. Levitan *et al.*, "Gender differences in the association between stop-signal reaction times, body mass indices and/or spontaneous food intake in pre-school children: an early model of compromised inhibitory control and obesity," *International Journal of Obesity*, vol. 39, no. 4, pp. 614-619, 2015.
[68] C. Nederkoorn, E. Jansen, S. Mulkens, and A. Jansen, "Impulsivity predicts treatment outcome in obese children," *Behaviour research and therapy*, vol. 45, no. 5, pp. 1071-1075, 2007.
[69] C. D. Chapman, C. Benedict, S. J. Brooks, and H. Birgir Schiöth, "Lifestyle determinants of the drive to eat: a meta-analysis," *The American journal of clinical nutrition*, vol. 96, no. 3, pp. 492-497, 2012.
[70] C. N. Lumeng and A. R. Saltiel, "Inflammatory links between obesity and metabolic disease," *The Journal of clinical investigation*, vol. 121, no. 6, pp. 2111-2117, 2011.
[71] J. R. Brestoff and D. Artis, "Immune regulation of metabolic homeostasis in health and disease," *Cell*, vol. 161, no. 1, pp. 146-160, 2015.
[72] C. T. De Souza *et al.*, "Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus," *Endocrinology*, vol. 146, no. 10, pp. 4192-4199, 2005.
[73] J. P. Thaler *et al.*, "Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans," *The Journal of clinical investigation*, vol. 122, no. 1, pp. 153-162, 2012.
[74] M. Valdearcos, M. M. Robblee, D. I. Benjamin, D. K. Nomura, A. W. Xu, and S. K. Koliwad, "Microglia dictate the impact of saturated fat consumption on hypothalamic inflammation and neuronal function," *Cell reports*, vol. 9, no. 6, pp. 2124-2138, 2014.
[75] C. M. Phillips *et al.*, "Defining metabolically healthy obesity: role of dietary and lifestyle factors," *PloS one*, vol. 8, no. 10, p. e76188, 2013.
[76] A. H. Mokdad *et al.*, "Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001," *Jama*, vol. 289, no. 1, pp. 76-79, 2003.
[77] K. Lee, "Metabolically obese but normal weight (MONW) and metabolically healthy but obese (MHO) phenotypes in Koreans: characteristics and health behaviors," *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, vol. 18, no. 2, p. 280, 2009.
[78] D. Canoy *et al.*, "Body fat distribution and risk of coronary heart disease in men and women in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition in Norfolk cohort: a population-based prospective study," (in eng), *Circulation*, vol. 116, no. 25, pp. 2933-43, Dec 18 2007, doi: 10.1161/circulationaha.106.673756.
[79] Y.-M. Song, J. Sung, G. D. Smith, and S. Ebrahim, "Body mass index and ischemic and hemorrhagic stroke: a prospective study in Korean men," *Stroke*, vol. 35, no. 4, pp. 831-836, 2004.
[80] S. E. Kahn, R. L. Hull, and K. M. Utzschneider, "Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes," *Nature*, vol. 444, no. 7121, pp. 840-846, 2006.
[81] O. Osborn and J. M. Olefsky, "The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease," *Nature medicine*, vol. 18, no. 3, pp. 363-374, 2012.

[82] K. Hara, N. Shojima, J. Hosoe, and T. Kadowaki, "Genetic architecture of type 2 diabetes," *Biochemical and biophysical research communications,* vol. 452, no. 2, pp. 213-220, 2014.
[83] A. E. Butler, J. Janson, S. Bonner-Weir, R. Ritzel, R. A. Rizza, and P. C. Butler, "β-cell deficit and increased β-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes," *Diabetes,* vol. 52, no. 1, pp. 102-110, 2003.
[84] M. Zhang, T. Hu, S. Zhang, and L. Zhou, "Associations of different adipose tissue depots with insulin resistance: a systematic review and meta-analysis of observational studies," *Scientific reports,* vol. 5, no. 1, pp. 1-6, 2015.
[85] G. I. Shulman, "Cellular mechanisms of insulin resistance," *The Journal of clinical investigation,* vol. 106, no. 2, pp. 171-176, 2000.
[86] D. C. Chan, H. P. Barrett, and G. F. Watts, "Dyslipidemia in visceral obesity," *American Journal of Cardiovascular Drugs,* vol. 4, no. 4, pp. 227-246, 2004.
[87] B. E. Sansbury and B. G. Hill, "Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide," *Free radical biology and medicine,* vol. 73, pp. 383-399, 2014.
[88] R. K. Bruick, "Oxygen sensing in the hypoxic response pathway: regulation of the hypoxia-inducible transcription factor," *Genes & development,* vol. 17, no. 21, pp. 2614-2623, 2003.
[89] G. L. Semenza, M. K. Nejfelt, S. M. Chi, and S. E. Antonarakis, "Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3'to the human erythropoietin gene," *Proceedings of the National Academy of Sciences,* vol. 88, no. 13, pp. 5680-5684, 1991.
[90] J. A. Bertout, S. A. Patel, and M. C. Simon, "The impact of O 2 availability on human cancer," *Nature Reviews Cancer,* vol. 8, no. 12, pp. 967-975, 2008.
[91] G. L. Semenza, "HIF-1 and tumor progression: pathophysiology and therapeutics," *Trends in molecular medicine,* vol. 8, no. 4, pp. S62-S67, 2002.
[92] G. L. Semenza, "Targeting HIF-1 for cancer therapy," *Nature reviews cancer,* vol. 3, no. 10, pp. 721-732, 2003.
[93] R. K. Bruick and S. L. McKnight, "A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF," *Science,* vol. 294, no. 5545, pp. 1337-1340, 2001.
[94] A. C. Epstein *et al.*, "C. elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation," *Cell,* vol. 107, no. 1, pp. 43-54, 2001.
[95] M. Ivan *et al.*, "HIFα targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O2 sensing," *Science,* vol. 292, no. 5516, pp. 464-468, 2001.
[96] G. L. Wang, B.-H. Jiang, E. A. Rue, and G. L. Semenza, "Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O2 tension," *Proceedings of the national academy of sciences,* vol. 92, no. 12, pp. 5510-5514, 1995.
[97] B.-H. Jiang, E. Rue, G. L. Wang, R. Roe, and G. L. Semenza, "Dimerization, DNA binding, and transactivation properties of hypoxia-inducible factor 1," *Journal of Biological Chemistry,* vol. 271, no. 30, pp. 17771-17778, 1996.
[98] J. L. Ruas, L. Poellinger, and T. Pereira, "Functional analysis of hypoxia-inducible factor-1α-mediated transactivation: Identification of amino acid residues critical for transcriptional activation and/or interaction with CREB-binding protein," *Journal of Biological Chemistry,* vol. 277, no. 41, pp. 38723-38730, 2002.
[99] D. Lando, D. J. Peet, J. J. Gorman, D. A. Whelan, M. L. Whitelaw, and R. K. Bruick, "FIH-1 is an asparaginyl hydroxylase enzyme that regulates the

transcriptional activity of hypoxia-inducible factor," *Genes & development,* vol. 16, no. 12, pp. 1466-1471, 2002.
[100] H. Tian, S. L. McKnight, and D. W. Russell, "Endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cells," *Genes & development,* vol. 11, no. 1, pp. 72-82, 1997.
[101] R. H. Wenger, A. Rolfs, H. H. Marti, J.-L. Guénet, and M. Gassmann, "Nucleotide sequence, chromosomal assignment and mRNA expression of mouse hypoxia-inducible factor-1α," *Biochemical and biophysical research communications,* vol. 223, no. 1, pp. 54-59, 1996.
[102] N. V. Iyer, S. W. Leung, and G. L. Semenza, "The human hypoxia-inducible factor 1α gene: Hif1astructure and evolutionary conservation," *Genomics,* vol. 52, no. 2, pp. 159-165, 1998.
[103] E. Gothié, D. E. Richard, E. Berra, G. Pagès, and J. Pouysségur, "Identification of alternative spliced variants of human hypoxia-inducible factor-1α," *Journal of Biological Chemistry,* vol. 275, no. 10, pp. 6922-6927, 2000.
[104] Y.-S. Chun, E. Choi, E.-J. Yeo, J. H. Lee, M.-S. Kim, and J.-W. Park, "A new HIF-1 alpha variant induced by zinc ion suppresses HIF-1-mediated hypoxic responses," *Journal of cell science,* vol. 114, no. 22, pp. 4051-4061, 2001.
[105] Y.-S. Chun *et al.,* "Phorbol ester stimulates the nonhypoxic induction of a novel hypoxia-inducible factor 1α isoform: implications for tumor promotion," *Cancer research,* vol. 63, no. 24, pp. 8700-8707, 2003.
[106] Y.-S. Chun, E. Choi, T.-Y. Kim, M.-S. Kim, and J.-W. Park, "A dominant-negative isoform lacking exons 11 and 12 of the human hypoxia-inducible factor-1α gene," *Biochemical Journal,* vol. 362, no. 1, pp. 71-79, 2002.
[107] K.-H. Lee, J.-W. Park, and Y.-S. Chun, "Non-hypoxic transcriptional activation of the aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator in concert with a novel hypoxia-inducible factor-1alpha isoform," *Nucleic acids research,* vol. 32, no. 18, pp. 5499-5511, 2004.
[108] R. Depping *et al.,* "A dominant-negative isoform of hypoxia-inducible factor-1α specifically expressed in human testis," *Biology of reproduction,* vol. 71, no. 1, pp. 331-339, 2004.
[109] P. H. Maxwell *et al.,* "The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis," *Nature,* vol. 399, no. 6733, pp. 271-275, 1999.
[110] K. Tanimoto, Y. Makino, T. Pereira, and L. Poellinger, "Mechanism of regulation of the hypoxia-inducible factor-1α by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein," *The EMBO journal,* vol. 19, no. 16, pp. 4298-4309, 2000.
[111] M. A. Maynard *et al.,* "Multiple splice variants of the human HIF-3α locus are targets of the von Hippel-Lindau E3 ubiquitin ligase complex," *Journal of Biological Chemistry,* vol. 278, no. 13, pp. 11032-11040, 2003.
[112] Y. Makino, A. Kanopka, W. J. Wilson, H. Tanaka, and L. Poellinger, "Inhibitory PAS domain protein (IPAS) is a hypoxia-inducible splicing variant of the hypoxia-inducible factor-3α locus," *Journal of Biological Chemistry,* vol. 277, no. 36, pp. 32405-32408, 2002.
[113] M. Heidbreder, F. Fröhlich, O. Jöhren, A. Dendorfer, F. Qadri, and P. Dominiak, "Hypoxia rapidly activates HIF-3α mRNA expression," *The FASEB Journal,* vol. 17, no. 11, pp. 1-19, 2003.
[114] K. Kondo, J. Klco, E. Nakamura, M. Lechpammer, and W. G. Kaelin Jr, "Inhibition of HIF is necessary for tumor suppression by the von Hippel-Lindau protein," *Cancer cell,* vol. 1, no. 3, pp. 237-246, 2002.

[115] J. K. Maranchie, J. R. Vasselli, J. Riss, J. S. Bonifacino, W. M. Linehan, and R. D. Klausner, "The contribution of VHL substrate binding and HIF1-α to the phenotype of VHL loss in renal cell carcinoma," *Cancer cell,* vol. 1, no. 3, pp. 247-255, 2002.
[116] C. Rosenberger *et al.,* "Expression of hypoxia-inducible factor-1α and-2α in hypoxic and ischemic rat kidneys," *Journal of the American Society of Nephrology,* vol. 13, no. 7, pp. 1721-1732, 2002.
[117] C. Blancher, J. W. Moore, K. L. Talks, S. Houlbrook, and A. L. Harris, "Relationship of hypoxia-inducible factor (HIF)-1α and HIF-2α expression to vascular endothelial growth factor induction and hypoxia survival in human breast cancer cell lines," *Cancer research,* vol. 60, no. 24, pp. 7106-7113, 2000.
[118] N. V. Iyer *et al.,* "Cellular and developmental control of O2 homeostasis by hypoxia-inducible factor 1α," *Genes & development,* vol. 12, no. 2, pp. 149-162, 1998.
[119] G. L. Semenza, "HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia," *Journal of applied physiology,* 2000.
[120] H. Li, H. P. Ko, and J. P. Whitlock Jr, "Induction of phosphoglycerate kinase 1 gene expression by hypoxia: Roles of ARNT and HIF1α," *Journal of Biological Chemistry,* vol. 271, no. 35, pp. 21262-21267, 1996.
[121] G. L. Wang and G. L. Semenza, "General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia," *Proceedings of the National Academy of Sciences,* vol. 90, no. 9, pp. 4304-4308, 1993.
[122] G. L. Wang, B.-H. Jiang, and G. L. Semenza, "Effect of protein kinase and phosphatase inhibitors on expression of hypoxia inducible factor 1," *Biochemical and biophysical research communications,* vol. 216, no. 2, pp. 669-675, 1995.
[123] Z. Arany *et al.,* "An essential role for p300/CBP in the cellular response to hypoxia," *Proceedings of the National Academy of Sciences,* vol. 93, no. 23, pp. 12969-12973, 1996.
[124] M. Ema *et al.,* "Molecular mechanisms of transcription activation by HLF and HIF1α in response to hypoxia: their stabilization and redox signal-induced interaction with CBP/p300," *The EMBO journal,* vol. 18, no. 7, pp. 1905-1914, 1999.
[125] H. Kato, S. Tamamizu-Kato, and F. Shibasaki, "Histone deacetylase 7 associates with hypoxia-inducible factor 1α and increases transcriptional activity," *Journal of Biological Chemistry,* vol. 279, no. 40, pp. 41966-41974, 2004.
[126] J.-H. Lim, Y.-M. Lee, Y.-S. Chun, J. Chen, J.-E. Kim, and J.-W. Park, "Sirtuin 1 modulates cellular responses to hypoxia by deacetylating hypoxia-inducible factor 1α," *Molecular cell,* vol. 38, no. 6, pp. 864-878, 2010.
[127] D. Z. Qian *et al.,* "Class II histone deacetylases are associated with VHL-independent regulation of hypoxia-inducible factor 1α," *Cancer research,* vol. 66, no. 17, pp. 8814-8821, 2006.
[128] D. M. Fath *et al.,* "Histone deacetylase inhibitors repress the transactivation potential of hypoxia-inducible factors independently of direct acetylation of HIF-α," *Journal of Biological Chemistry,* vol. 281, no. 19, pp. 13612-13619, 2006.
[129] A. P. Adamis and D. T. Shima, "The role of vascular endothelial growth factor in ocular health and disease," *Retina,* vol. 25, no. 2, pp. 111-118, 2005.

[130] N. Ferrara, "VEGF and intraocular neovascularization: from discovery to therapy," *Translational vision science & technology,* vol. 5, no. 2, pp. 10-10, 2016.
[131] N. Ferrara and A. P. Adamis, "Ten years of anti-vascular endothelial growth factor therapy," *Nature reviews Drug discovery,* vol. 15, no. 6, pp. 385-403, 2016.
[132] X. Lu *et al.,* "Resistance to obesity by repression of VEGF gene expression through induction of brown-like adipocyte differentiation," *Endocrinology,* vol. 153, no. 7, pp. 3123-3132, 2012.
[133] A. Romero-Corral, S. M. Caples, F. Lopez-Jimenez, and V. K. Somers, "Interactions between obesity and obstructive sleep apnea: implications for treatment," *Chest,* vol. 137, no. 3, pp. 711-719, 2010.
[134] I. Elias, S. Franckhauser, and F. Bosch, "New insights into adipose tissue VEGF-A actions in the control of obesity and insulin resistance," *Adipocyte,* vol. 2, no. 2, pp. 109-112, 2013.
[135] A. Chakraborty *et al.,* "Vascular endothelial growth factor–D (VEGF-D) overexpression and lymphatic expansion in murine adipose tissue improves metabolism in obesity," *The American journal of pathology,* vol. 189, no. 4, pp. 924-939, 2019.
[136] M. Zajkowska, E. Lubowicka, W. Fiedorowicz, M. Szmitkowski, J. Jamiołkowski, and S. Ławicki, "Human plasma Levels of VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, their soluble receptor-VEGFR-2 and applicability of these parameters as tumor markers in the diagnostics of breast cancer," *Pathology & Oncology Research,* vol. 25, no. 4, pp. 1477-1486, 2019.
[137] M. Meyer *et al.,* "A novel vascular endothelial growth factor encoded by Orf virus, VEGF-E, mediates angiogenesis via signalling through VEGFR-2 (KDR) but not VEGFR-1 (Flt-1) receptor tyrosine kinases," *The EMBO journal,* vol. 18, no. 2, pp. 363-374, 1999.
[138] Y. Yamazaki, Y. Tokunaga, K. Takani, and T. Morita, "Identification of the heparin-binding region of snake venom vascular endothelial growth factor (VEGF-F) and its blocking of VEGF-A165," *Biochemistry,* vol. 44, no. 24, pp. 8858-8864, 2005.
[139] P. I. Toivanen, T. Nieminen, J. P. Laakkonen, T. Heikura, M. U. Kaikkonen, and S. Ylä-Herttuala, "Snake venom VEGF Vammin induces a highly efficient angiogenic response in skeletal muscle via VEGFR-2/NRP specific signaling," *Scientific reports,* vol. 7, no. 1, pp. 1-12, 2017.
[140] M. Dewerchin and P. Carmeliet, "PlGF: a multitasking cytokine with disease-restricted activity," *Cold Spring Harbor perspectives in medicine,* vol. 2, no. 8, p. a011056, 2012.
[141] R. Wieczór *et al.,* "Overweight and obesity versus concentrations of VEGF-A, sVEGFR-1, and sVEGFR-2 in plasma of patients with lower limb chronic ischemia," *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B,* vol. 17, no. 11, pp. 842-849, 2016.
[142] G. Neufeld, T. Cohen, S. Gengrinovitch, and Z. Poltorak, "Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors," *The FASEB journal,* vol. 13, no. 1, pp. 9-22, 1999.
[143] F. Q. An, M. Matsuda, H. Fujii, and Y. Matsumoto, "Expression of vascular endothelial growth factor in surgical specimens of hepatocellular carcinoma," *Journal of cancer research and clinical oncology,* vol. 126, no. 3, pp. 153-160, 2000.

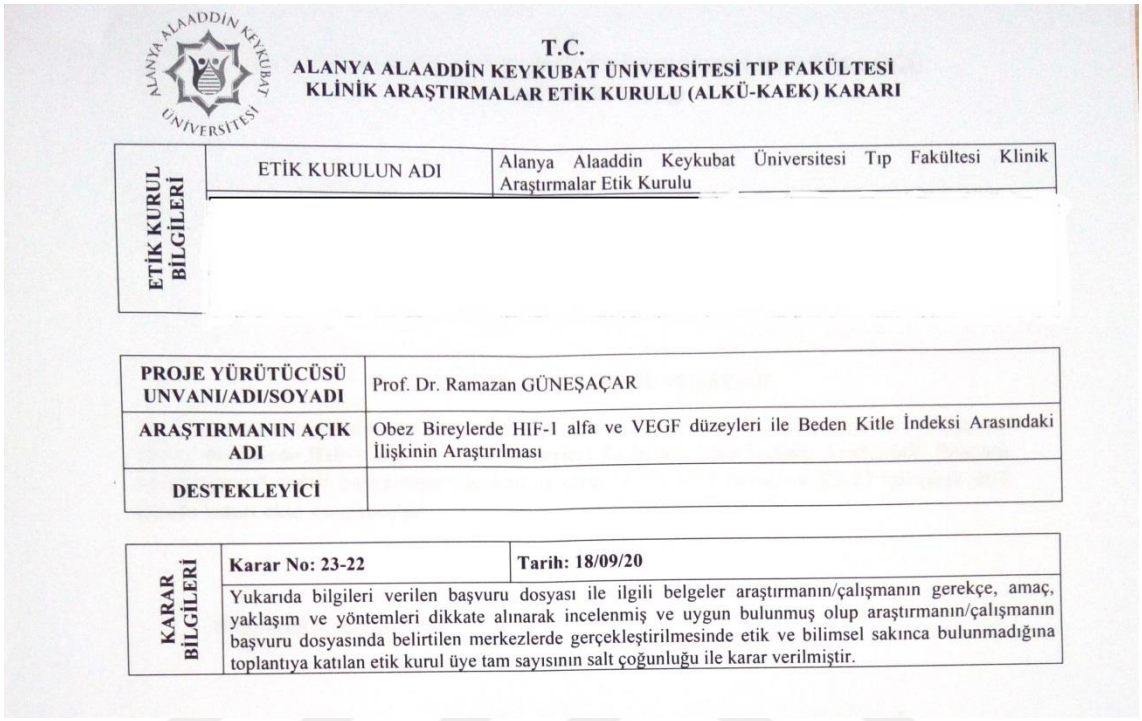
[144] A. Ahmed, C. Dunk, S. Ahmad, and A. Khaliq, "Regulation of placental vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PlGF) and soluble Flt-1 by oxygen—a review," *Placenta,* vol. 21, pp. S16-S24, 2000.
[145] E. M. Conway, D. Collen, and P. Carmeliet, "Molecular mechanisms of blood vessel growth," *Cardiovascular research,* vol. 49, no. 3, pp. 507-521, 2001.
[146] E. Berra *et al.*, "Signaling angiogenesis via p42/p44 MAP kinase and hypoxia," *Biochemical pharmacology,* vol. 60, no. 8, pp. 1171-1178, 2000.
[147] A. L. Harris, "von Hippel-Lindau syndrome: target for anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor therapy," *The oncologist,* vol. 5, pp. 32-36, 2000.
[148] J. Jośko, B. Gwóźdź, H. Jedrzejowska-Szypułka, and S. Hendryk, "Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its effect on angiogenesis," *Med Sci Monit,* vol. 6, no. 5, pp. 1047-52, 2000.
[149] A. D. Eckhart, N. Yang, X. Xin, and J. E. Faber, "Characterization of the α1B-adrenergic receptor gene promoter region and hypoxia regulatory elements in vascular smooth muscle," *Proceedings of the National Academy of Sciences,* vol. 94, no. 17, pp. 9487-9492, 1997.
[150] P. J. Lee *et al.*, "Hypoxia-inducible factor-1 mediates transcriptional activation of the heme oxygenase-1 gene in response to hypoxia," *Journal of Biological Chemistry,* vol. 272, no. 9, pp. 5375-5381, 1997.
[151] J. Hu, D. J. Discher, N. H. Bishopric, and K. A. Webster, "Hypoxia regulates expression of the endothelin-1 gene through a proximal hypoxia-inducible factor-1 binding site on the antisense strand," *Biochemical and biophysical research communications,* vol. 245, no. 3, pp. 894-899, 1998.
[152] L. A. Palmer, G. L. Semenza, M. H. Stoler, and R. A. Johns, "Hypoxia induces type II NOS gene expression in pulmonary artery endothelial cells via HIF-1," *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology,* vol. 274, no. 2, pp. L212-L219, 1998.
[153] S. V. Nguyen and W. C. Claycomb, "Hypoxia regulates the expression of the adrenomedullin and HIF-1 genes in cultured HL-1 cardiomyocytes," *Biochemical and biophysical research communications,* vol. 265, no. 2, pp. 382-386, 1999.
[154] R. H. Wenger, "Cellular adaptation to hypoxia: O2-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O2-regulated gene expression," *The FASEB journal,* vol. 16, no. 10, pp. 1151-1162, 2002.
[155] J. M. Friedman, "Obesity in the new millennium," *Nature,* vol. 404, no. 6778, p. 632, 2000.
[156] D. M. McDonald and P. L. Choyke, "Imaging of angiogenesis: from microscope to clinic," *Nature medicine,* vol. 9, no. 6, pp. 713-725, 2003.
[157] J. Roth, X. Qiang, S. L. Marbán, H. Redelt, and B. C. Lowell, "The obesity pandemic: where have we been and where are we going?," *Obesity research,* vol. 12, no. S11, pp. 88S-101S, 2004.
[158] P. Carmeliet, "Angiogenesis in life, disease and medicine," *Nature,* vol. 438, no. 7070, pp. 932-936, 2005.
[159] G. J. Mick, X. Wang, and K. McCormick, "White adipocyte vascular endothelial growth factor: regulation by insulin," *Endocrinology,* vol. 143, no. 3, pp. 948-953, 2002.
[160] N. Ferrara, "Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress," *Endocrine reviews,* vol. 25, no. 4, pp. 581-611, 2004.

[161] Y. Cao, "Adipose tissue angiogenesis as a therapeutic target for obesity and metabolic diseases," *Nature reviews Drug discovery,* vol. 9, no. 2, pp. 107-115, 2010.
[162] V. Christiaens and H. Lijnen, "Angiogenesis and development of adipose tissue," *Molecular and cellular endocrinology,* vol. 318, no. 1-2, pp. 2-9, 2010.
[163] D. L. Crandall, G. J. Hausman, and J. G. Kral, "A review of the microcirculation of adipose tissue: anatomic, metabolic, and angiogenic perspectives," *Microcirculation,* vol. 4, no. 2, pp. 211-232, 1997.
[164] G. Hausman and R. Richardson, "Adipose tissue angiogenesis," *Journal of animal science,* vol. 82, no. 3, pp. 925-934, 2004.
[165] K. P. Claffey, W. Wilkison, and B. Spiegelman, "Vascular endothelial growth factor. Regulation by cell differentiation and activated second messenger pathways," *Journal of Biological Chemistry,* vol. 267, no. 23, pp. 16317-16322, 1992.
[166] S. Miyazawa-Hoshimoto, K. Takahashi, H. Bujo, N. Hashimoto, K. Yagui, and Y. Saito, "Roles of degree of fat deposition and its localization on VEGF expression in adipocytes," *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism,* vol. 288, no. 6, pp. E1128-E1136, 2005.
[167] Q.-X. Zhang, C. J. Magovern, C. A. Mack, K. T. Budenbender, W. Ko, and T. K. Rosengart, "Vascular endothelial growth factor is the major angiogenic factor in omentum: mechanism of the omentum-mediated angiogenesis," *Journal of Surgical Research,* vol. 67, no. 2, pp. 147-154, 1997.
[168] N. García de la Torre *et al.,* "Effects of weight loss after bariatric surgery for morbid obesity on vascular endothelial growth factor-A, adipocytokines, and insulin," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism,* vol. 93, no. 11, pp. 4276-4281, 2008.
[169] J. Gómez-Ambrosi *et al.,* "Involvement of serum vascular endothelial growth factor family members in the development of obesity in mice and humans," *The Journal of nutritional biochemistry,* vol. 21, no. 8, pp. 774-780, 2010.
[170] I. Elias *et al.,* "Adipose tissue overexpression of vascular endothelial growth factor protects against diet-induced obesity and insulin resistance," *Diabetes,* vol. 61, no. 7, pp. 1801-1813, 2012.
[171] J. Rehman *et al.,* "Obesity is associated with increased levels of circulating hepatocyte growth factor," *Journal of the American College of Cardiology,* vol. 41, no. 8, pp. 1408-1413, 2003.
[172] M. Loebig *et al.,* "Evidence for a relationship between VEGF and BMI independent of insulin sensitivity by glucose clamp procedure in a homogenous group healthy young men," *PloS one,* vol. 5, no. 9, p. e12610, 2010.
[173] M. Siervo *et al.,* "Body mass index is directly associated with biomarkers of angiogenesis and inflammation in children and adolescents," *Nutrition,* vol. 28, no. 3, pp. 262-266, 2012.
[174] M. Siervo, V. Tomatis, B. C. Stephan, M. Feelisch, and L. J. Bluck, "VEGF is indirectly associated with NO production and acutely increases in response to hyperglycaemia 1," *European journal of clinical investigation,* vol. 42, no. 9, pp. 967-973, 2012.
[175] M. Mazidi, P. Rezaie, A. Kengne, M. G. Stathopoulou, M. Azimi-Nezhad, and S. Siest, "VEGF, the underlying factor for metabolic syndrome; fact or fiction?," *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews,* vol. 11, pp. S61-S64, 2017.

[176] F. J. Gonzalez, C. Xie, and C. Jiang, "The role of hypoxia-inducible factors in metabolic diseases," *Nature Reviews Endocrinology,* vol. 15, no. 1, pp. 21-32, 2019.
[177] E. Fleischmann *et al.*, "Tissue oxygenation in obese and non-obese patients during laparoscopy," *Obesity surgery,* vol. 15, no. 6, pp. 813-819, 2005.
[178] M. Todorčević *et al.*, "Markers of adipose tissue hypoxia are elevated in subcutaneous adipose tissue of severely obese patients with obesity hypoventilation syndrome but not in the moderately obese," *International Journal of Obesity*, pp. 1-5, 2021.
[179] C. Regazzetti *et al.*, "Hypoxia decreases insulin signaling pathways in adipocytes," *Diabetes*, vol. 58, no. 1, pp. 95-103, 2009.
[180] C. Jiang *et al.*, "Disruption of hypoxia-inducible factor 1 in adipocytes improves insulin sensitivity and decreases adiposity in high-fat diet–fed mice," *Diabetes,* vol. 60, no. 10, pp. 2484-2495, 2011.
[181] L. Rahtu-Korpela *et al.*, "HIF prolyl 4-hydroxylase-2 inhibition improves glucose and lipid metabolism and protects against obesity and metabolic dysfunction," *Diabetes*, vol. 63, no. 10, pp. 3324-3333, 2014.
[182] N. Figueroa-Vega, B. Jordán, E. L. Pérez-Luque, L. Parra-Laporte, S. Garnelo, and J. M. Malacara, "Effects of sleeve gastrectomy and rs9930506 FTO variants on angiopoietin/Tie-2 system in fat expansion and M1 macrophages recruitment in morbidly obese subjects," *Endocrine*, vol. 54, no. 3, pp. 700-713, 2016.
[183] W. Liu, S.-M. Shen, X.-Y. Zhao, and G.-Q. Chen, "Targeted genes and interacting proteins of hypoxia inducible factor-1," *International journal of biochemistry and molecular biology,* vol. 3, no. 2, p. 165, 2012.
[184] H. F. Bunn and R. O. Poyton, "Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia," *Physiological reviews,* vol. 76, no. 3, pp. 839-885, 1996.
[185] E. Berra, G. Pagès, and J. Pouysségur, "MAP kinases and hypoxia in the control of VEGF expression," *Cancer and Metastasis reviews,* vol. 19, no. 1, pp. 139-145, 2000.

8.EKLER

EK- 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
ALANYA ALAADDİN KEYKUBAT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (ALKÜ-KAEK) KARARI

ETİK KURUL BİLGİLERİ		
	ETİK KURULUN ADI	Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ramazan GÜNEŞAÇAR
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Obez Bireylerde HIF-1 alfa ve VEGF düzeyleri ile Beden Kitle İndeksi Arasındaki İlişkinin Araştırılması
DESTEKLEYİCİ	

KARAR BİLGİLERİ		
	Karar No: 23-22	**Tarih: 18/09/20**
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.	

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Nazmiye ULUERGÜVEN

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

2017, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü

2018, Erg Beslenme ve Danışmanlık Merkezi Kurucu Diyetisyen

Yabancı Dil Bilgisi: İngilizce (orta seviye)