



T.C.

İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

***Obezite ve Tip 2 Diyabet'te Önemli Rol Oynayan Aday
Polimorfizmlerin ve Ait Oldukları Genlerin Tespit Edilerek Sebep Olan
Genlerin In Silico Analizi***

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özge ÖNLÜTÜRK AYDOĞAN

OCAK 2021



T.C.

İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

***Obezite ve Tip 2 Diyabet'te Önemli Rol Oynayan Aday
Polimorfizmlerin ve Ait Oldukları Genlerin Tespit Edilerek Sebep Olan
Genlerin In Silico Analizi***

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özge ÖNLÜTÜRK AYDOĞAN

DANIŞMAN

PROF. DR. TURGAY ÇAKMAK

OCAK 2021

BİLDİRİM

HAZIRLADIĞIM TEZİN TAMAMEN KENDİ ÇALIŞMAM OLDUĞUNU,
AKADEMİK VE ETİK KURALLARI GÖZETEREK ÇALIŞTIĞIMI VE
HER ALINTIYA KAYNAK GÖSTERDİĞİMİ TAAHHÜT EDERİM.

Özge ÖNLÜTÜRK AYDOĞAN

ONAY

İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nde Yüksek Lisans öğrencisi olan Özge ÖNLÜTÜRK AYDOĞAN'ın hazırladığı ve jüri önünde savunduğu "Obezite ve Tip 2 Diyabet'te Önemli Rol Oynayan Aday Polimorfizmlerin ve Ait Oldukları Genlerin Tespit Edilerek Sebep Olan Genlerin In Silico Analizi" başlıklı tez başarılı kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ İMZA

Tez Danışmanı:

İMZA

Prof. Dr. Turgay ÇAKMAK

.....

İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Üyeler:

Doç. Dr. Zeynep ELİBOL ÇAKMAK

.....

İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Beste TURANLI

.....

Marmara Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 09.02.2021

TEŞEKKÜR

Medeniyet Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü'nde yapmış olduğum bu çalışmanın her aşamasında tecrübelerini ve yardımlarını benden hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım, Prof. Dr. Turgay ÇAKMAK başta olmak üzere,

bu çalışmamın yazımında ve değerlendirilmesinde verdikleri katkılardan dolayı Doç. Dr. Zeynep ELİBOL ÇAKMAK ve Doç. Dr. Beste TURANLI hocalarıma,

Gebze Teknik Üniversitesi'nde geçirdiğim süre boyunca benden desteklerini esirgemeyen OBEDIA Laboratuvarı mensupları başta bir hoca ve sonrasında arkadaş olarak M.Soner TÜRKÜNER'e, gösterdiği çeşitli destek ve arkadaşlığı için Ayşe YAZICI'ya, uzaktan destekçilerim İlkay Göksu POLAT ve Nazlı ERTÜRK'e, burada başlayan serüvenimizin sonrasında da özel veya akademik her konuda benim yanımda bulunan ve desteklerini her daim yanımda hissettiren Gülcan KARTAL'a ve Mecbure Nur AKÇA'ya,

lisans yıllarımdan başlayan dopdolu bir arkadaşlıkta en güzel zamanları paylaştığım, en zor zamanlarda omuzlarını yanı başımda bulduğum Büşra DAĞAŞAN, Nagihan GENEL ve Ezgi KILIÇOĞLU'na,

uzun yıllardır hayatımda ikinci bir aile olarak yer alan, ilk akademik idolüm, manevi ablam Aydan UZUN ve onun benim için hala minik olan kızları, manevi kardeşlerim Halime ve Nesibe'ye,

hayatıma girdiği andan beri en büyük destekçilerimden biri olan, iyi-kötü her anımda yanımda olan hayat arkadaşım, biricik eşim Olcay Gürabi AYDOĞAN'a ve beni her türlü fedakarlıkla büyüten ve şu andaki ben olmamı sağlayan canım annem ve babam Ayşe ÖNLÜTÜRK ve Necdet ÖNLÜTÜRK'e, abla ve abiden öte bana evlatları gibi sınımsız sarılan abim ve ablam Ali ÖNLÜTÜRK ve Nihal YILMAZ'a, can yoldaşı teyzelerime en büyük teşekkürlerimi borç bilirim.

ÖZET

Gelişmiş ülkelerde prevelansı giderek artan bir hastalık olan obezite, Beden Kitle İndeksi (BKİ)'nin 30'un üzerinde olması veya adipoz dokunun vücutta çok fazla artması olarak tanımlanmaktadır. Obeziteye sebep olan durumlar içerisinde çevre, sosyoekonomik düzey ve genetik gibi birçok farklı faktör yer almaktadır. Yapılan birçok çalışmada obezite ile, inflamatuvar, nöroendokrin sorunlar, immün hastalıklar ve tip 2 diyabet gibi çeşitli metabolik sorunların da beraberinde meydana gelebileceği gösterilmiştir. Obez birey sayısının dünyada hızla artmaya devam etmesi sebebiyle gelecekte çok daha büyük sorunların meydana geleceği düşünülmektedir. Öncesinde öngörülebilen ve meydana gelmeden belirli önlemler veya tedavilerle önüne geçilebilecek bir hastalık olması sebebiyle insanlar sağlıklı beslenmeye, hareketli yaşam tarzına ve düzenli spor yapmaya teşvik edilerek obezitenin önüne geçilmeye çalışılmaktadır.

Tip 2 diyabet, pankreasın yeterli düzeyde insülin üretememesi ya da ürettiği insülini etkili bir şekilde kullanamamasından kaynaklı oluşan metabolik bir sendromdur. Sağlıklı bireylerde, besinler glikoza kadar parçalanıp bağırsaklardan kana geçmekte ve kandaki şeker düzeyi yükselmeye başlamaktadır. Yükselen kan şekere yanıt olarak pankreastan üretilen insülin hormonu ile glikozun fazlasının kandan hücrelerin içerisine taşınması sağlanıp, kandaki şeker seviyesi dengede tutulmaktadır. Bu durumun aksine, diyabetik bireylerde ise kandaki fazla glikozun hücrelere taşınamamasına bağlı olarak, kan şekeri yükselmekte ve hiperglisemi denilen durum gelişmektedir. Bu probleme sahip kişiler ise ileriki yaşlarda teşhis edilmekte ve erken aşamalarda ilaca bağlı kalmaksızın beslenme ve yaşam tarzının düzenlenmesiyle tedavi edilebilmektedir. Obezitede de olduğu gibi beslenme türü ve şekli, yaşam tercihleri, genetik yapı vb, çeşitli etkenler bu hastalık da büyük önem taşımaktadır.

Birçok hastalığı da beraberinde getirebilen ve artış oranıyla gelecekte çok daha fazla tehlike teşkil edeceği düşünülen obezite ve tip 2 diyabeti önleyebilmek/tedavi edebilmek amacıyla genomik alanında da çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmekte ve artan bu riskin önüne geçilmeye çalışılmaktadır. Bu anlamda en büyük önem taşıyan araştırmalardan biri de Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS) olup oldukça kapsamlı ve obezite ve tip 2 diyabet gibi birçok kompleks hastalık için önem teşkil

eden çalışmalara imza atılmaktadır. Yeni genetik yollar ve mekanizmalar keşfedilmeye ve tedavi veya önleyici hizmetler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu çalışmaların gelişmesi ve bunun yanında dizileme alanında atılan önemli adımlar, tek bir nükleotidin değişiminden kaynaklı varyasyonlar olarak literatürde yer alan ‘Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP)’nin önemini ortaya koymaktadır. Değişen nükleotid, genetik kod üzerinde aminoasit değişikliğine veya aynı aminoasitin farklı formunun oluşmasına sebep olarak farklı bir proteinin kodlanmasına, protein erken sonlandırılmasına veya proteinin yapısında herhangi bir yapısal değişikliğe sebep olmadan ekspresyon düzeyinde farklılıklara sebep olmaktadır. Bu durum da belirli hastalıklara karşı yatkınlık veya koruma kalkanı oluşturmaktadır ve kişilerin sahip olduğu hastalık risk profilini değiştirebilmektedir. Genom Boyu İlişkilendirme alışmaları ile SNP üzerinde gerçekleştirdikleri analizler doğrultusunda genotip frekansı, polimorfizmlerin popölasyonlar arasında bulunma sıklığı, linkaj dengesizliği değerleri (LD) ve kompleks hastalıklardan sorumlu aday gen ve polimorfizmler tespit edilmeye çalışılmaktadır.

Bu tez kapsamında, Genom aplı İlişkilendirme alışmaları sonucunda elde edilen veriler, ilgili veri tabanlarından çekilerek, obezite veya tip 2 diyabet ile eşleşen polimorfizmler ve bu polimorfizmlerin hangi genler üzerinde meydana geldiği ayrı ayrı tespit edilmiş, bazı biyoinformatiksel veya istatistiksel araçlar kullanılarak fonksiyonel analizler uygulanmış, elde edilen bu sonuçlar literatür üzerinden fonksiyonel çalışmalarla doğruluğu kontrol edilmiş ve bu iki hastalığın gelişmesinde en büyük etkiye sahip olan polimorfizm ve genler ortaya konulmaya ve bu sonuçlar görselleştirilmiş/simüle edilmiştir. Bir sonraki adım olarak ise ayrı ayrı tespit edilen bu gen ve polimorfizmler birbirleriyle karşılaştırılmış ve ortak olarak eşleşenler tespit edilmiş ve elde edilen aday genlerle, obezite ve tip 2 diyabete sebep olan moleküler mekanizma ve bu iki hastalığın hangi yollar aracılığıyla etkileştiği aydınlatılmaya çalışılmıştır. Böylece, gelişen dünyanın büyük bir problemi haline gelen bu iki hastalığın, tedavisi veya önlenmesi için hedef genler ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: obezite, tip 2 diyabet, polimorfizm, mutasyon, genom boyu ilişkilendirme alışamları

ABSTRACT

Obesity, which is a disease with an increasing prevalence in developed countries, is defined as a Body Mass Index (BMI) above 30 or an excessive increase in adipose tissue in the body. There are many different factors such as environment, socioeconomic level, and genetics among the conditions that cause obesity. In many studies, it has been shown that various metabolic problems such as obesity, inflammatory, neuroendocrine problems, immune diseases, and type 2 diabetes can occur together. As the number of obese individuals continues to increase rapidly in the world, it is thought that much bigger problems will occur in the future. Because it is a predictable disease that can be prevented with certain precautions or treatments before it occurs, people are encouraged to eat a healthy diet, active lifestyle, and regular sports to prevent obesity.

Type 2 diabetes is a metabolic syndrome caused by the inability of the pancreas to produce sufficient insulin or to use the insulin it produces effectively. In healthy individuals, foods are broken down into glucose and pass into the blood from the intestines and the blood sugar level begins to rise. With the insulin hormone produced from the pancreas in response to the rising blood sugar, excess glucose is carried from the blood into the cells, and the sugar level in the blood is kept in balance. On the contrary, in diabetic individuals, blood sugar rises and a condition called hyperglycemia develops due to the inability to carry excess glucose in the blood to the cells. People with this problem are diagnosed at an advanced age and can be treated in the early stages by regulating their diet and lifestyle without being dependent on medication. As in obesity, various factors such as diet type and shape, life preferences, genetic structure, etc. are of great importance in this disease.

In order to prevent/treat obesity and type 2 diabetes, which can bring many diseases with it and are thought to pose much more danger in the future with its increased rate, various studies are carried out in the field of genomics and this increased risk is tried to be prevented. One of the most important researches in this sense is the Genome-Wide Association Studies (GWAS), which are quite comprehensive and important for many complex diseases such as obesity and type 2 diabetes. New genetic pathways and mechanisms are tried to be discovered and treatment or preventive services

developed. The development of these studies and the important steps taken in the field of sequencing reveal the importance of "Single Nucleotide Polymorphisms (SNP)", as variations arising from the change of a single nucleotide. The changed nucleotide causes changes in the expression level without causing a change in the genetic code of the amino acid or the formation of a different form of the same amino acid, without causing a different protein-coding, protein premature termination, or any structural change in the protein's structure. This creates a susceptibility or protection shield against certain diseases and can change the disease risk profile of individuals. Genotype frequency, frequency of polymorphisms among populations, linkage imbalance values (LD), and candidate gene and polymorphisms responsible for complex diseases are tried to be determined in line with the analysis they perform on the SNP with Genome-Wide Association Studies.

Within the scope of this thesis, the data obtained as a result of Genome-Wide Association Studies were extracted from relevant databases, polymorphisms matched with obesity or type 2 diabetes, and on which genes these polymorphisms occurred, functional analyzes were performed using some bioinformatics or statistical tools. The accuracy of these results has been checked by functional studies over the literature, and the polymorphisms and genes that have the greatest impact on the development of these two diseases have been revealed, and these results have been visualized/simulated. As the next step, these genes and polymorphisms, which were determined separately, were compared with each other and the common matched ones were determined, and the molecular mechanism that caused obesity and type 2 diabetes and the pathways through which these two diseases interact with the obtained candidate genes were tried to be elucidated. Thus, target genes have been put forward for the treatment or prevention of these two diseases, which have become a major problem of the developing world.

Keywords: obesity, type 2 diabetes, single nucleotide polymorphisms, mutation, genome wide association studies

KISALTMALAR

GWAS	: Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları (Genome Wide Association Studies)
BKİ	: Beden Kitle İndeksi
MAF	: Minör Allel Frekansı
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmleri (Single Nucleotide Polymorphisms)
BD	: Bağlantı Dengesizliği
YV-YH	: Yaygın Varyant Yaygın Hastalık Hipotezi
NV-YH	: Nadir Varyant Yaygın Hastalık Hipotezi

İÇİNDEKİLER

BİLDİRİM	iii
ONAY	iv
TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. ÇALIŞMANIN AMACI, KATKISI VE İÇERİĞİ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	2
2.1. OBEZİTE	2
2.1.1. Obeziteye Neden Olan Etkenler	2
2.1.2. Obezitenin Sebep Olduğu Durumlar	3
2.2. TİP 2 DİYABET	5
2.3. OBEZİTE VE TİP 2 DİYABETİN TEDAVİSİ VE ÖNLENMESİNE GENOM BOYU İLİŞKİLENDİRME ÇALIŞMALARI (GWAS)	5
2.4. GENOM BOYU İLİŞKİLENDİRME ÇALIŞMALARI	6
2.4.1. GWAS'ta Kullanılan Genotip Belirleme Teknolojileri	8
2.4.1.1. Tüm genom dizileme	8
2.4.1.2. Tek Nükleotid Polimorfizm (SNP) array	8
2.4.2. GWAS'ta Örneklem Grubunun Belirlenmesi	9
2.5. MUTASYON VE POLİMORFİZM	9
2.5.1. Tek Nükleotid Polimorfizmleri	10
2.5.1.1. Oluştugu bölgeye göre tek nükleotid polimorfizmleri	11
2.5.1.1.1. Kodlanmayan bölgede meydana gelen tek nükleotid polimorfizmleri	11
2.5.1.1.2. Protein kodlanan bölgede meydana gelen polimorfizmler;	12
2.5.1.1.2.1. Sinonim polimorfizmler	12
2.5.1.1.2.2. Sinonim olmayan polimorfizmler	12
2.5.1.1.2.2.1. Kayıp (missense) gen polimorfizmleri	13
2.5.1.1.2.2.2. Anlamsız polimorfizmler;	13
2.5.2. Tek Nükleotid Polimorfizm Çalışmaları ve İlgili Kavramlar	14
2.5.2.1. Minor allel frekansı (MAF)	14
2.5.2.2. Kayıp kalıtım	15
2.5.2.3. Bağlı gen kavramı ve linkaj analizi	16
2.5.2.4. Yaygın Varyant Yaygın Hastalık Hipotezi (YV-YH)' ve 'Nadir Varyant Yaygın Hastalık Hipotezi (NV-YH)	17
2.5.2.5. Bağlantı dengesizliği	18
2.5.2.6. Direkt eşleşme ve Direkt olmayan eşleşme	18
3. GEREÇLER VE YÖNTEM	19

3.1.	<i>OBEZİTE VE TİP 2 DİYABET İLE EŞLEŞEN TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİNE AİT VERİ SETLERİNİN ELDE EDİLMESİ</i>	19
3.2.	POLİMORFİZMLERİN İLGİLİ HASTALIKLAR ÜZERİNDE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ	20
3.3.	POLİMORFİZMLERİN BİRBİRLERİYLE OLAN BAĞLANTILARININ TESPİT EDİLMESİ	20
3.4.	VARYANT VE GENLERİN HASTALIKLARIN ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI	21
3.5.	İKİ HASTALIK İÇİN ORTAK GEN VE POLİMORFİZMLERİN VE ETKİLEŞİM YOLAKLARININ TESPİT EDİLMESİ	22
4.	BULGULAR	23
4.1.	OBEZİTEYE DAYALI GWAS VERİLERİNDEN İLGİLİ POLİMORFİZMLERİN TESPİTİ VE LİNKAJ ANALİZİ	23
4.2.	OBEZİTEYLE İLİŞKİLENDİRİLEN TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ VE GENLERİN FONKSİYONEL ANALİZİ	28
4.3.	TİP 2 DİYABETE DAYALI GWAS VERİLERİNDEN İLGİLİ POLİMORFİZMLERİN TESPİTİ VE LİNKAJ ANALİZİ	33
4.4.	TİP 2 DİYABETLE İLİŞKİLENDİRİLEN TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ VE GENLERİN FONKSİYONEL ANALİZİ	40
4.5.	OBEZİTE VE TİP 2 DİYABETLE ORTAK OLARAK İLİŞKİLENDİRİLEN TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ VE GENLERİN TESPİTİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ	45
5.	SONUÇ, TARTIŞMA, KISITLILIKLAR VE ÖNERİLER	48
5.1.	SONUÇ VE TARTIŞMA	48
5.2.	KISITLILIKLAR VE ÖNERİLER	50
	KAYNAKÇA	51
	ÖZGEÇMİŞ	63

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Obezitenin Sebep ve Sonuçları.....	2
Şekil 2. Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS) çalışma dizaynları.....	7
Şekil 3. Tek Nükleotid Polimorfizmi.....	10
Şekil 4. Sinonim Olmayan Mutasyon Türleri.....	13
Şekil 5. Kromozom Üzerinde Bağlı Gen ve Bağlı Olmayan Gen Yapısı.....	16
Şekil 6. Disgenet Gen-Hastalık Skorlama Yöntemi	21
Şekil 7. DisGeNet Gen-Hastalık Skorlama Yöntemi	22
Şekil 8. Obeziteye Dayalı GWAS Verilerinin VEP Aracı ile Analizinden Elde Edilen Polimorfizm Sınıflandırma Sonuçları.....	23
Şekil 9. FTO Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu	25
Şekil 10. CADM2 Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu	26
Şekil 11. ADAMTSL3 Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu	27
Şekil 12. Obezite ile Fonksiyonel Olarak İlişkilendirilen Polimorfizmlerin Skorlanması	28
Şekil 13. Obezite ile Fonksiyonel Olarak İlişkilendirilen Genlerin Skorlanması	30
Şekil 14. POMC, AgRP ve LEP genlerinin görev yolları	32
Şekil 15. SIRT1 geninin görev yolları	33
Şekil 16. Tip 2 Diyabete Dayalı GWAS Verilerinin VEP Aracı ile Analizinden Elde Edilen Polimorfizm Sınıflandırma Sonuçları.....	34
Şekil 17. KCNQ1 Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu	35
Şekil 18. IGF2BP2 Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu	36
Şekil 19. CDKAL1 Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu	37
Şekil 20. TCF7L2 geni görev yolları	38
Şekil 21. TCF7L2 Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu	39
Şekil 22. FTO Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu	40
Şekil 23. Tip 2 Diyabet ile Fonksiyonel Olarak İlişkilendirilen Polimorfizmlerin Skorlanması	41
Şekil 24. Tip 2 Diyabet ile Fonksiyonel Olarak İlişkilendirilen Genlerin Skorlanması	43
Şekil 25. Obezite ve Tip 2 Diyabetle Ortak Olarak Eşleşen Gen ve Polimorfizmlerin Görselleştirilmesi.....	46
Şekil 26. Obezite ve Tip 2 Diyabetle Ortak Olarak İlişkilendirilen Genlerin Birbirleriyle Etkileşim Profiliinin Ortaya Konulması	47

1. GİRİŞ

1.1. ÇALIŞMANIN AMACI, KATKISI VE İÇERİĞİ

Obezite ve Tip 2 Diyabet, tüm dünyada prevalansı artan ve mortalite riski taşıyan önemli metabolik sendromlar arasında yer almaktadır. Obeziteyle birlikte vücutta artan yağ kütlesinin değiştirdiği sinyal yolları diğer organları da uyarmakta insülin direnci, kanser, kardiyovasküler rahatsızlıklar vb. gibi kompleks hastalıkları da beraberinde getirebilmektedir. Hareketsiz yaşam tarzı, kötü beslenme koşulları, sosyoekonomik durum gibi çevresel faktörlerin etkisiyle meydana geldiği bilinen bu iki sendromun en büyük etkenlerinden birinin de bireyin genetik yapısı olduğu yapılan çalışmalarda görülmüş ve özellikle son yıllarda bu alanda çokça araştırma yapılmıştır. Genetik yapının obezite ve tip 2 diyabet üzerindeki etkilerini göstermek amacıyla Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS)' na ait sonuçlar oldukça fazla kullanılmakta ve geniş kitlelerden toplanan genetik örneklerin üzerinde yapılan çalışmalarla bu iki önemli hastalıkla ilişkili olan polimorfizmler ortaya konulmaya çalışılmaktadır.

Bu çalışma ile amaçlanan, tüm bu çalışmalar ile bulunmuş polimorfizm ve varyantları ilgili veritabanlarından çekilip incelenerek, bu iki hastalığın gelişmesinde en büyük etkiye sahip olan aday polimorfizm ve genler tespit edilmesi ve bu iki hastalık için ortak olanları keşfedilmeye çalışılmasıdır. Elde edilen bu sonuçlar ışığında da obezite ve tip 2 diyabete sebep olan moleküler mekanizmalar ve bu iki hastalığın hangi yollar aracılığıyla etkileştiği aydınlatılarak iki hastalığın, tedavisi veya önlenmesi için büyük önem arz edeceği düşünülen aday gen ve polimorfizm bilgilerinin literatüre kazandırılıp, bu anlamda; hastalığın önceden önlenmesine dair alınacak tedbirlerin veya yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunulması amaçlanmaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1.OBEZİTE

Obezite, Beden Kitle İndeksi (BKİ) 'nin 30'un üzerinde olması veya adipoz dokunun (yağ dokusu) vücutta olması gerekenden çok daha fazla bulunması olarak adlandırılan ve beraberinde birçok kompleks hastalığa yol açabilen metabolik bir sendromdur (Nuttall, 2015; Obin; OFEI, 2005). Dünya Sağlık Örgütü'nün yayınladığı bir bilgiye göre 2015 yılında, 15 yaşının üzerinde yaklaşık 2,3 milyar kilolu, 700 milyonun üzerinde ise obez birey bulunmaktadır (Chan & Woo, 2010). Görülme oranı dünyada hızla artmaya devam etmekte olan bu hastalığın gelecekte çok daha büyük sorunlara yol açabileceği ön görülmektedir. Aslında öngörülebilir ve böylece daha oluşmadan önüne geçilebilecek bir hastalık olması sebebiyle dünya genelinde çeşitli girişimlerde bulunulmakta ve insanlar sağlıklı beslenmeye, hareketli yaşam tarzına ve düzenli spor yapmaya teşvik edilerek obezitenin önüne geçilmeye çalışılmaktadır (Chan & Woo, 2010; Hruby & Hu, 2015; OFEI, 2005).

2.1.1. Obeziteye Neden Olan Etkenler



Şekil 1. Obezitenin Sebep ve Sonuçları

Obezitenin altında çevresel, sosyoekonomik düzey ve genetik gibi birçok farklı faktör yer almaktadır (Wehby, Domingue, Ullrich, & Wolinsky, 2017). Sedanter yaşam tarzına ve/veya kötü beslenme alışkanlıklarına sahip çocuk ve yetişkinlerin obeziteye daha yatkın olduğu yapılan birçok çalışmayla görülmüştür. Hatta beslenme alışkanlıklarında öğün atlama ya da düzenli beslenme şeklinde gerçekleşen tercihlerin de kilo alma üzerinde etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır (E. Cha et al., 2015; Kerkadi et al., 2019). 2016 yılında yapılan bir diğer araştırmada da sosyoekonomik düzeyin obezite üzerindeki etkisi araştırılmış ve düşük sosyoekonomik düzeye sahip bireyler arasında obezitenin daha yaygın olduğu gözlemlenmiştir (Pigeyre et al., 2016). Tüm bu çevresel ve yaşam tarzı etkilerinin yanısıra genetik yapının da obezite üzerinde çok önemli etkileri bulunmaktadır. İkizler üzerinde yapılan bazı çalışmalarda Beden Kitle İndeksi (BKİ)'nin kalıtsallığı incelenmiş ve çevresel etkenlerin dışında genetik yapının büyük oranda etkisinin olduğu istatistiksel olarak görülmüştür (Nan et al., 2012; Wehby et al., 2017). Ayrıca bazı genler üzerinde meydana gelen polimorfizmlerin obeziteye yatkınlık sağladığını ve obeziteyle büyük oranda eşleştiği sonucuna varılmıştır (Choquet1 & Meyre, 2011). Melanokortin 4 Reseptör (MC4R) geninde meydana gelen bir nokta mutasyonu obezite riskini oldukça arttırmaktadır (Loos et al., 2008; Xi, Chandak, Shen, Wang, & Zhou, 2012). Yapılan bir çalışma bu gen üzerinde meydana gelen rs17782313 adlı polimorfizmde C allelinin BKİ değerini yaklaşık 0,22 kg/m² oranında değiştirdiğini rapor etmiştir (Scherag et al., 2010).

2.1.2. Obezitenin Sebep Olduğu Durumlar

Yapılan birçok araştırma, obez bireylerin büyük risk altında olduğunu, obezitenin önemli hastalıkları beraberinde getirdiğini ve mortalite riskini arttırdığını göstermektedir. Özellikle Tip 2 Diyabet, Kalp-Damar Hastalıkları, Kanseri gibi kompleks hastalıkların eşlik ettiği gözlenmektedir (Guh et al., 2009; Pantalone et al., 2017). Komorbidite veya Eşlik Eden Hastalık olarak adlandırılan bu durumun sebeplerinden biri de özellikle yağ dokusundan salgılanan sitokin (adipokin) profili kilo alımıyla birlikte değişmekte ve bu durum diğer organların farklı şekillerde uyarılarak ek hastalıkları tetiklenmesine yol açmaktadır (Heymsfield & Wadden, 2017). Bu sitokinlerin başında gelen Leptin, adipoz dokudan salgılanmakta ve vücutta enerji metabolizmasında önemli rol oynamaktadır. Adipoz dokudan salgılan bu hormon

vücudu dolaşarak merkezi sinir sistemine doğru yol almakta ve Kan-Beyin Bariyerini aşarak hipotalamustaki açlık-tokluk merkezinde bulunan nöronları uyarak vücutta tokluk hissini oluşturmakta ve aynı zamanda enerji harcanmasını arttırmaktadır. Obezite durumunda ise artan adipoz doku miktarıyla, sentezlenen leptin de çok fazla artmakta ve bu durumda fazlaca sirküle olan bu hormon ilgili nöronların aşırı uyarımına ve zamanla duyarsızlaşmasına sebep olmakta ve bu durum da 'Leptin Direnci' denilen durumu geliştirmektedir. Nöronların duyarsız hale gelmesiyle de vücutta tokluk hissi oluşmamakta ve birey hiç durmadan yeme ihtiyacı duymaktadır. Böylece obezitenin sebep olduğu bu durum bir kısır döngü oluşturarak obeziteyi beslemektedir. Ayrıca damar düz kas hücrelerinin proliferasyonu, damar kasılması, insülin duyarlılığı vb. gibi olaylarda da görev almakta ve aşırı sentezlenmesi durumunda bu yollarda da problemlere yol açarak, kalp-damar rahatsızlıkları, Tip 2 Diyabet gibi kompleks hastalıklara yol açmaktadır (Izquierdo, Crujeiras, Casanueva, & Carreira, 2019; Landecho et al., 2019; Zorena, Jachimowicz-Duda, Slezak, Robakowska, & Mrugacz, 2020). Adiponektin ise insülin duyarlılığını arttıran bir diğer önemli adipokin olup, leptinin tersine kilo alımıyla birlikte seviyesi azalmakta ve durum da insülin duyarlılığını azaltarak insülin direncinin gelişmesine yol açmaktadır (Balistreri, Caruso, & Candore, 2010; Landecho et al., 2019). Ayrıca Adiponektin geni susturulmuş fareler üzerinde yapılan bir deneyde TNF-a (Tümör Nekroz Faktör Alfa) ekspresyonunun arttığı da görülmüş ve böylece inflamasyon üzerindeki etkisi de tespit edilmiştir (Ohashi, Shibata, Murohara, & Ouchi, 2014). TNF-a ve IL-6 (İnterlökin 6) da adipoz dokudan salgılanan pro-inflamatuvar sitokinler olup, kilo artışıyla birlikte seviyeleri artmakta ve vücutta inflamasyonu tetiklemektedir. Artan inflamasyon da ateroskleroz, Tip 2 Diyabet, kanser vb gibi kompleks hastalıkları beraberinde getirebilmektedir. Ayrıca obezitenin ilerlemesiyle birlikte adipokin profilindeki bu değişimler makrofajları uyarmakta M2 fazından M1 fazına geçişlerini uyarak inflamasyonu tetiklemektedir. M1 fazına polarize olan makrofajların ise bu iki pro-inflamatuvar sitokinin seviyesini arttırdığı da bilinmektedir (Kern et al., 2018; Makki, Froguel, & Wolowczuk, 2013; Mancuso, 2016; Ohashi et al., 2014). Tüm bu örneklerle görülüyor ki obezite başta Tip 2 Diyabet olmak üzere birçok hastalığı farklı yollar üzerinden tetiklemektedir.

2.2. TİP 2 DİYABET

Tip 2 Diyabet de obezite gibi görülme oranı giderek artan ve insanın yaşam kalitesini yüksek oranda etkileyen riskli bir hastalık olup, pankreastan üretilen insülinin yetersiz gelmesi veya üretilen insülinin verimli bir şekilde kullanılamaması sonucunda gelişen metabolik bir sendromdur. Bunun sonucunda da vücutta insülin direnci gelişmekte, karaciğerden üretilen glukozun kontrolünde aksamalar meydana gelmekte ve insülini salgılayan Beta hücreleri zarar görmektedir. Beslenme türü ve şekli, yaşam tercihleri vb, gibi obeziteyi tetikleyen çevresel faktörlerin etki ettiği gibi yine aynı şekilde genetik yapı da bu hastalık da büyük önem taşımaktadır (Ali, 2013; El-Tantawy, 2019; J., MAHLER, & ADLER, 1999; Kahn, Cooper, & Del Prato, 2014; Olokoba, Obateru, & Olokoba, 2012). Tip 2 Diyabete sahip kişilerin yaklaşık %55' i ise obezitenin sebep olmasıyla bu hastalığa yakalanmaktadır (Olokoba et al., 2012). Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Gama (PPAR γ) insülin yolaklarında görev alan ve insülin hassasiyetine etki eden bir gen olup yapılan birçok çalışma bu gen üzerinde meydana gelen polimorfizmlerin Tip 2 Diyabet üzerinde etkili olduğunu ve yatkınlık sağladığını göstermiştir (Florez et al., 2007; Witka, Oktaviani, Marcellino, Barliana, & Abdulah, 2019).

2.3. OBEZİTE VE TİP 2 DİYABETİN TEDAVİSİ VE ÖNLENMESİNE GENOM BOYU İLİŞKİLENDİRME ÇALIŞMALARI (GWAS)

Dünya genelinde giderek daha çok tehlike arz eden obezite ve tip 2 diyabeti önleyebilmek ve tedavi edebilmek amacıyla çeşitli girişimlerde bulunmaktadır. Bu girişimlerle de artan risk tersine döndürülmesi çalışılmaktadır. Özellikle son yıllarda Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları ile bu anlamda önemli yollar kat edilmiştir. Yeni genetik yolaklar ve mekanizmalar aydınlatılarak tedavi ve önleyici hizmetler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Büyük örneklem grupları üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmalarla, bireylerden toplanan genetik materyallerin dizilimleri belirlenerek üzerlerinde gerçekleştirilen gruplamalar ve istatistiksel yöntemlerle hangi polimorfizmlerin obezite ve/veya tip 2 diyabetle eşleştiği aydınlatılmaya çalışılmakta ve bu polimorfizmlerin bulunduğu genler tespit edilerek gen tedavileri veya önceden tespit için yeni yöntemler keşfedilmeye çalışılmaktadır (DUMAN et al., 2010;

Ingelsson & McCarthy, 2018; Xue et al., 2018). Bu anlamda gerçekleştirilen birçok GWA çalışması, Transkripsiyon Faktörü 7 Benzeri 2 (TCF7L2) geninde meydana gelen polimorfizmlerin tip 2 diyabet riski, FTO geninde meydana gelen polimorfizmlerin ise BKİ üzerinde etkisinin olduğunu ve dolayısıyla obezite için risk taşıdığını tespit etmiştir. Bunun üzerine 2014 yılında yapılan bir çalışma ile de bu iki genin etki mekanizmaları ve bu hastalıkların kalıtımı üzerindeki etkileri aydınlatılmaya çalışılmıştır (Basile, Johnson, Xia, & Grant, 2014).

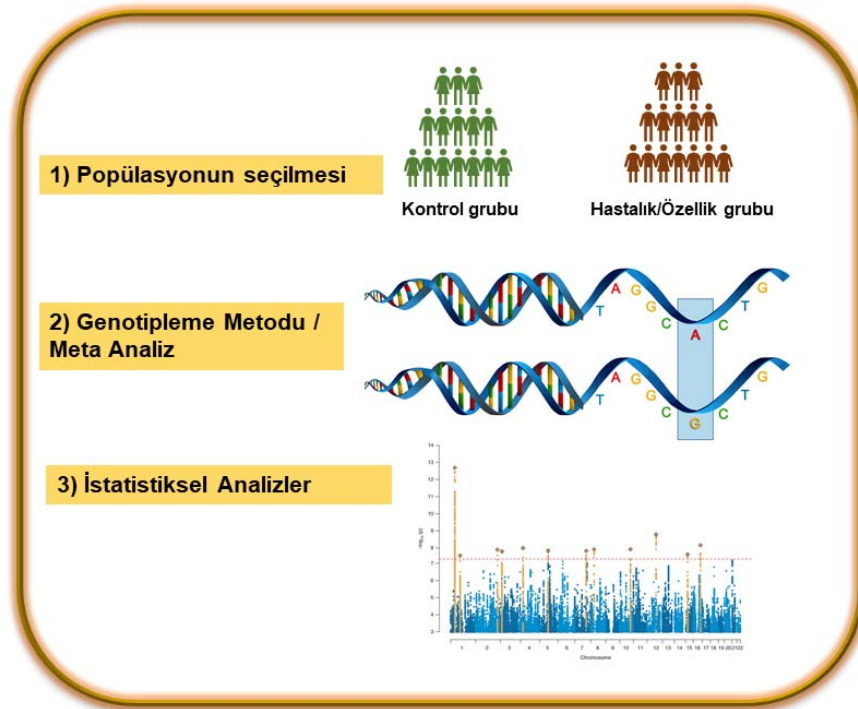
2.4. GENOM BOYU İLİŞKİLENDİRME ÇALIŞMALARI

Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları, milyonlarca bireyden toplanan örneklerin genetik sekanslarının çıkarılmasının ardından genotip-kompleks özellik (hastalık vb.) eşleştirmelerinin elde edilmeye çalışıldığı kapsamlı deneyleri ve analizleri içermektedir. Bu çalışmalar ile geniş kitleden oluşan bir örneklem grubu üzerinde dizileme çalışmaları gerçekleştirilmektedir. Dizilemenin ardından binlerce genetik varyant karşılaştırılarak bireylerin genotip ve fenotipleri arasındaki bağlantı, bazı hastalıkların gelişimine sebep olan ve arttırıcı risk olarak görülebilecek varyantlar ortaya konulmaya çalışılmaktadır. Ayrıca kompleks hastalıkların genetikle olan ilişkisiyle birlikte evrimsel gelişimi de incelenebilmektedir (Barrett et al., 2008; William S. Bush, 2019; Correia, Diekmann, Vicente, & Pereira-Leal, 2014; Hirschhorn & Daly, 2005). İlk örneği 2002 yılında miyokardiyal enfarktüs ile ilgili yapılan bir çalışma olup, Japanese Single- Nucleotide Polymorphisms (JSNP) adlı veritabanında elde edilen 100.000 SNP üzerinde çalışma gerçekleştirilmiştir (Ikegawa, 2012; Ozaki et al., 2002).

2019 yılının başlarında yayınlanan bir çalışmada, yaklaşık 3.700 GWAS çalışmasının bulunduğu ve tüm bu çalışmalarla yaklaşık 37.000 tek baz varyantının ve 50.000 varyant-kompleks özellik eşleşmesi keşfedildiği rapor edilmiştir. Tip 2 Diyabet'ten obeziteye, nöronal rahatsızlıklardan davranış bozukluklarına, kalp damar hastalıklarından kansere kadar birçok hastalık için önemli veriler elde edilmiş bulunmakta ve yeni tedavi yolları geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bir hastalıkla çok yüksek eşleşme gösteren bazı varyantlar ileri araştırmaların da katkısıyla kimi zaman risk varyantı olarak belirlenip o hastalığın önceden öngörülmesi ve tespit edilmesi için klinik belirteç olarak kullanılabilmektedir (Makki et al., 2013). Elde edilen tüm bu

bilgilerle genler ve/veya proteinler arası etkileşimler tespit edilerek yeni biyolojik yollar keşfedilmektedir (Correia et al., 2014).

GWAS'ın üzerinde durduğu bir diğer konu ise tespit edilen polimorfizmlerin farklı etnik kökenlerdeki frekanslarını belirleyerek, etnik kökenler arasındaki farklılıkları ortaya koymaya çalışmaktır (Pontoriero et al., 2015). Tip 2 Diyabet üzerine yapılan bazı GWAS çalışmaları tespit edilen polimorfizmlerin etnik kökenler üzerindeki dağılımı incelemiş ve bunların arasından TCF7L2, KCNQ1, SLC16A11 genlerinde meydana gelen ve bu hastalık için risk oluşturduğu düşünülen bazı polimorfizmlerin sırasıyla Avrupalı, Doğu Asyalı ve Meksikalı toplumlarda daha yüksek oranda görüldüğü keşfedilmiştir (Consortium et al., 2014; Sladek et al., 2007; Unoki et al., 2008; Yasuda et al., 2008). Hastalık ve polimorfizm eşleştirmelerinde bulunan yaygın polimorfizmlerin yanında nadir olarak rastlanan ve düşük frekansta bulunan polimorfizmlerin/allellerin de büyük önem taşıdığı tespit edilmiştir. GWAS elde ettiği sonuçlarla bu konuda da değerli bilgiler sunmakta ve birçok kompleks özellik için aydınlatıcı sonuçlar elde etmektedir (Bomba, Walter, & Soranzo, 2017; Panagiotou, Evangelou, & Ioannidis, 2010). Ancak GWAS elde ettiği bu verilerle nadir varyantları tam anlamıyla çalışmak için kısıtlı kalmakta ve ileri teknolojilere ya da çok daha maliyetli olan çok büyük örneklem gruplarına ihtiyaç duymaktadır (Tam et al., 2019).



Şekil 2. Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS) çalışma dizaynları

2.4.1. GWAS'ta Kullanılan Genotip Belirleme Teknolojileri

GWAS'ta kullanılacak sekanslama yönteminin seçilmesi için iki önemli kriter bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi gerekli olan ya da bakılacak olan SNP sayısı diğeri ise analiz başına denk gelen maliyet miktarıdır. Bu nedenle seçilecek olan yöntemin hem ihtiyacı karşılayacak kadar detaylı bilgi içermesi hem de gereksiz yere bir maliyete sebep olmaması gerekmektedir. Özellikle çok büyük örneklem grupları ve fazla sayıda SNP bakılması gereken çalışmalarda bu dengenin korunması çok daha fazla önem taşımaktadır. Bu bağlamda GWA çalışmalarında kullanılan iki temel yöntem yer almaktadır (Pavan et al., 2020).

2.4.1.1. Tüm genom dizileme

Tek seferde tüm genomun dizilenmesini sağlayan bir yöntemdir. Bir canlının sahip olduğu tüm genetik yapıyı ortaya koyulmasına olanak sağlamakta ve özellikle linkaj çalışmalarında kaybolan gen bölgelerinin tespit edilmesi için büyük avantaj sağlamaktadır. Ancak sunduğu geniş çaplı bilginin dezavantajı olarak analiz süresinin uzaması ve maliyetin çok fazla artması söz konusu olmaktadır(William S. Bush, 2019).

2.4.1.2. Tek Nükleotid Polimorfizm (SNP) array

Tüm genomun dizilenmesi yerine ilgilenilen polimorfizm bölgelerine özel olarak oluşturulmuş problemler aracılığıyla ilgili bölgelerin sekanslarının çıkarılmasını sağlayan bir yöntemdir. Tüm genomu sekanslamak yerine seçilen spesifik kısımların incelenmesi hem zaman olarak hem de maliyet olarak büyük avantajlar sağlamaktadır. Bu yöntem ilk olarak 1998 yılında kullanılmış olup o zaman sadece 558 gen bölgesi için uygulanabilmekteydi, daha sonra üzerine yapılan birçok geliştirmeyle şu anda çok büyük bir havuz için tercih edilebilmektedir. Bu yöntem için çok yaygın olarak kullanılan ve mikrodarray tabanlı iki temel metodoloji bulunmaktadır; Affymetrix ve Illumina. Affymetrix küçük boyutta DNA dizilerini tespit edebilen çip tabanlı bir yöntemken, Illumina daha uzun DNA dizilerini tespit edebilen boncuk tabanlı bir yöntemdir ve daha yüksek spesifikliğe sahiptir. Bu sağladığı avantajlar da onu Affymetrix ile kıyaslandığında daha yüksek maliyetler gerektirmesine sebep olmakta ve dezavantaj sağlamaktadır (William S. Bush, 2019; Mao, D., & Lu, 2007; Pavan et al., 2020; Sebastiani, Timofeev, Dworkis, Perls, & Steinberg, 2009).

2.4.2. GWAS'ta Örneklem Grubunun Belirlenmesi

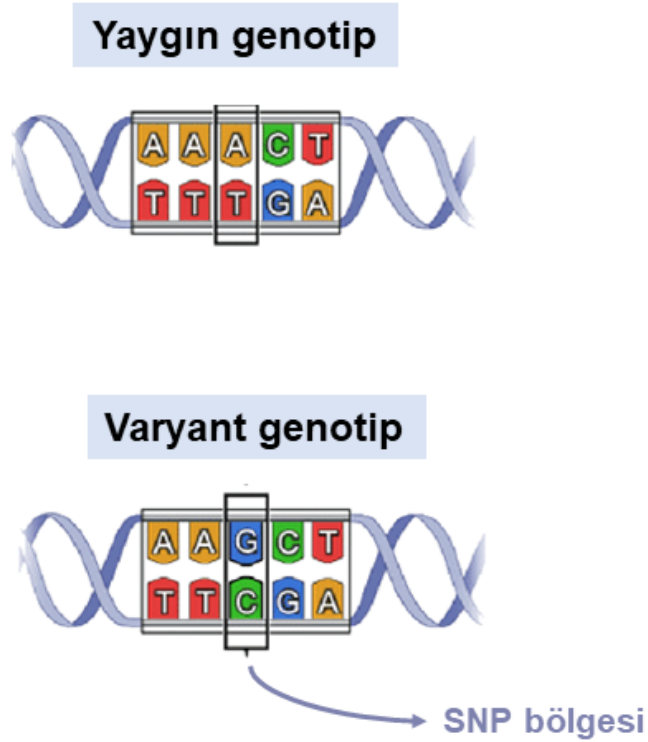
GWAS çalışmalarında en önemli kriterlerden bir tanesi örneklem grubunun belirlenmesi ve dizayn edilmesidir. Yapılan klinik çalışmaların limitli olması sebebiyle deney grubunun sayısı da çoğu zaman sınırlı kalmaktadır. Bu nedenle çalışmaya başlamadan önce bu kriter oldukça iyi bir şekilde değerlendirilmeli ve belirlenmelidir. Bu aşamada örneklem grubu belirlenirken çalışmanın içeriği ve amacı da oldukça önem taşımakta ve çoğu zaman örneklem grubunun büyüklüğü buna göre belirlenmektedir. Çalışmanın içeriğine göre de grup içerisinde yer alan kişilerin ırk, cinsiyet, yaş, kilo, boy, sigara kullanımı vb. gibi fiziksel, davranışsal ve atasal özelliklerine bağlı olarak da alt sınıflandırmalar yapılmaktadır. Deney grubunun oluşturulmasının yanında ayrıca hangi gen bölge veya bölgelerinin de dizileneceğinin de önceden belirlenmesi önem taşımaktadır. Hedef bir bölge seçmediğimiz sürece çalışmanın maliyeti çok yükselmektedir. Bunun yanında elde etmek istenilen sonuçtan da uzaklaşmaktadır. Bu iki parametre gibi diğer değişkenler belirlendiğinde, iki farklı deney grubu oluşturulmaktadır. Bu gruplardan bir tanesi araştırılması ya da yeni bilgiler elde edilmesi beklenen bir hastalık veya herhangi bir özelliğe sahip olan grup, diğeri ise kontrol olarak adlandırılan bu özellik veya hastalığa sahip olmayan topluluğu içeren grup olarak yer almaktadır.

2.5. MUTASYON VE POLİMORFİZM

Dış faktörler sebebiyle DNA diziliminde meydana gelen değişiklikler mutasyon olarak adlandırılmaktadır (Smith, 2002; Tang, 2019). Bazı tanımlarda ise bu değişikliklerin polimorfizm olarak nitelendirildiği görülebilmektedir. Genel olarak aynı şeyi ifade eden bu iki tanım arasında ufak ama oldukça önemli olan bir detay bulunmaktadır. DNA sekansında meydana gelen bu değişim eğer düşük frekansta diğer bir tanımla toplumun %1'inden daha az bir kesimde görülüyorsa mutasyon, %1'inden daha büyük bir kesimde görülüyorsa da polimorfizm olarak adlandırılmaktadır. Yani kısacası iki terim de DNA diziliminde meydana gelen farklılıklardan bahsediyorken, ayrıldıkları nokta toplum içerisinde görülme yüzdeleridir (W. S. Bush & Moore, 2012; Karki, Pandya, Elston, & Ferlini, 2015). Bu mutasyonlar DNA üzerinde farklı bölgelerde meydana gelebilmekte ve protein, gen veya farklı mekanizmalar üzerinde çeşitli sonuçlara sebep olabilmektedir. Örneğin; protein kodlanan bir bölgede meydana geldiğinde aminoasit diziliminin değişmesine ve dolayısıyla protein yapısının ve işlevinin değişmesine yol açabilmektedir. Bazen ise bu bölgede meydana gelen bir mutasyon durdurma kodonunun erken oluşmasına ve proteinin erken

sonlandırılmasına sebep olarak proteinin hiç sentezlenmemesi durumu ortaya çıkabilmektedir. Ya da protein düzenleyici bölgede oluşan mutasyonlar mRNA ekspresyon yani transkripsiyon düzeyini etkileyerek proteinin fazla ya da eksik sentezlenmesiyle ortaya çıkan rahatsızlıklara sebep olabilmektedir. Nadir olan bazı durumlarda ise DNA üzerinde bir bölge koparak proteinin fonksiyonu bozulabilmektedir. Bu mutasyonlar delesyon mutasyonları olarak nitelendirilmekte ve nadir olmasının sebebi ise doğal seçilim sonucu bu durumun popülasyon gen havuzundan silinmesidir (Robert & Pelletier, 2018; Shastri, 2007; Tang, 2019; Wright, 2005).

2.5.1. Tek Nükleotid Polimorfizmleri



Şekil 3. Tek Nükleotid Polimorfizmi

Tek Nükleotid Polimorfizmleri, DNA dizisi üzerinde tek bazın değişmesi, eklenmesi veya silinmesiyle meydana gelen mutasyon türleri olup en yaygın olarak görülen insan genetik varyasyon tipidir. DNA üzerinde bir proteinin kodlandığı, kodlanmadığı bölgelerde veya iki farklı protein kodlanan bölgenin arasında meydana

gelebilmektedir. Böylece bulunduğu bölgeye bağlı olarak da protein veya gen düzeyinde farklı etkilere sebep olarak bazı hastalıklara yatkınlık veya koruyucu etki oluşturabilmekte hatta ilaçların ve besinlerin etki mekanizmalarında değişikliklere sebep olabilmektedir (Elkhattabi et al., 2019; Madelaine et al., 2018).

2.5.1.1. Oluştığı bölgeye göre tek nükleotid polimorfizmleri

2.5.1.1.1. Kodlanmayan bölgede meydana gelen tek nükleotid polimorfizmleri

DNA üzerinde herhangi bir proteinin kodlanmasına katılmayan bölgelerde meydana gelen baz değişiklikleridir. Bu bölgeler her ne kadar protein sentezine katılmasa da son yıllarda yapılan çalışmalarla protein sentezi için oldukça önemli regülatör bölgeler olduğu görülmüştür. Bir genin veya proteinin uç birleştirme (alternatif kırılma) sürecine veya ilgili proteinin mRNA degradasyonuna sebep olarak ya da farklı yollarla transkripsiyonuna etki edebilmekte ve böylece dolaylı yollardan da olsa protein ve gen düzeyinde önemli değişikliklere sebep olabilmektedir (Elkhattabi et al., 2019; Fareed & Afzal, 2013; G. Li et al., 2018; Madelaine et al., 2018; Tang, 2019). Yapılan bazı GWAS çalışmaları, karşılaşılan hastalık ve polimorfizm eşleşmelerinin protein kodlanan bölgenin dışında meydana gelen bu polimorfizmlerin sebep olduğunu ve yaygınlığının yüksek olduğunu rapor etmiştir (Elkhattabi et al., 2019; Madelaine et al., 2018).

Bir polimorfizm, protein kodlanan bir bölgenin hemen yakınında promotör diye adlandırılan ve bu protein için oldukça önem taşıyan transkripsiyon faktörlerinin bağlandığı bir noktada meydana gelebilmekte ve bu değişim kimi zaman;

- İlgili transkripsiyon faktörlerinin DNA'nın spesifik olan bölgeye bağlanma afinitesini düşürmekte ve bu durum da transkripsiyon seviyesine etki ederek daha az miktarda mRNA üretilmesine,
- İlgili bölgeden transkribe edilen mRNA'nın yapısında değişikliğe neden olarak mRNA'nın stabilitesinin bozulmasına ve dolayısıyla ilgili proteinin translasyon seviyesinin düşmesine ve daha az üretilmesine,
- İlgili bölgeden üretilen proteinin yapısında değişikliklere sebep olarak ilgili proteinin yanlış katlanmasına veya katlanamamasına veya stabilitesinin bozulmasına yol açabilmektedir (Fareed & Afzal, 2013).

2.5.1.1.2. Protein kodlanan bölgede meydana gelen polimorfizmler;

DNA üzerinde bir proteinin kodlanmasına katılan bölgelerde meydana gelen baz değişiklikleridir. Bu polimorfizmler protein üzerinde oluşturduğu etkiye göre 2 farklı gruba ayrılmaktadır.

2.5.1.1.2.1. Sinonim polimorfizmler

Proteinin kodlandığı bölgede bir bazın değişmesiyle oluşan ancak aminoasit dizilimini değiştirmeyen ve dolayısıyla proteinin sentezlenmesini engellemeyen tip polimorfizmlerdir. Bu tip polimorfizmlere 'sessiz polimorfizmler' de denilmektedir. Sinonim polimorfizmler, protein sentezinde herhangi bir değişikliğe sebep olmasa da mRNA düzeyinde ciddi değişikliklere yol açmakta; mRNA'nın stabilitesini, yarı ömrünü etkileyebilmektedir (Robert & Pelletier, 2018; Srivastav, 2019; Vage & Lingaas, 2008). Bu durum bir aminoasiti kodlayan birden fazla kodonun olması durumuyla açıklanmaktadır. AAA kodonu Lizin aminoasitini kodlamaktadır. Bu kodonun üçüncü bazında meydana gelen bir polimorfizm ile Adenin yerine Guanin bazı geldiğinde kodlanan aminoasit yine Lizine ait olacaktır (Benyó, Biro, & Benyó, 2004; Srivastav, 2019). Örneğin yapılan bazı çalışmalarla, COMT geninde meydana gelen bir sinonim polimorfizmin sentezlenen ilgili proteine ait mRNA'sının ikincil yapısına etki ederek ağrı mekanizmasını düzenlediği görülmüştür (Q. Li & Qu, 2013). Aynı zamanda sentezlenen proteinin katlanma sürecinde de problemlere yol açabilmektedir (Hunt, Sauna, Ambudkar, Gottesman, & Kimchi-Sarfaty, 2009).

2.5.1.1.2.2. Sinonim olmayan polimorfizmler

Proteinin kodlandığı bölgede bir bazın değişmesiyle oluşan, aminoasit dizilimini değiştiren ve dolayısıyla farklı bir proteinin sentezlenmesine veya protein sentezinin durdurulmasına sebep olan polimorfizmlerdir. Protein yapısının veya fonksiyonunun değişmesine yol açmaktadırlar. Sinonim Olmayan Polimorfizmler, fenotipte en çok etkisinin olduğu düşünülen polimorfizm çeşitleridir (Shihab et al., 2014; Vage & Lingaas, 2008). IL-8 geni üzerine yapılan bir çalışmada 8 önemli sinonim olmayan polimorfizm tespit edilmiş olup, bu polimorfizmlerin protein yapısında oluşturduğu değişiklikler sebebiyle IL-8'in deregülasyonuna yol açtığı ve bu durumun da kanser gibi hastalıklarda risk oluşturduğu tespit edilmiştir (Dakal et al., 2017). Yine yapılan başka çalışmalar, bu polimorfizmlerin yağ, karbonhidrat ve açlık/tokluk metabolizması üzerine çok önemli etkilerinin olduğunu göstermiştir. Melanokortin 3 Reseptör geninde meydana gelen baz değişikliği sebebiyle Valin aminoasiti İzolösin aminoasitine dönüşmekte ve bu durum kilo vermeyi zorlaştırarak obeziteye yatkınlık sağladığı bilinmektedir (Zaharan et al., 2018). Sinonim Olmayan Polimorfizmler de, protein

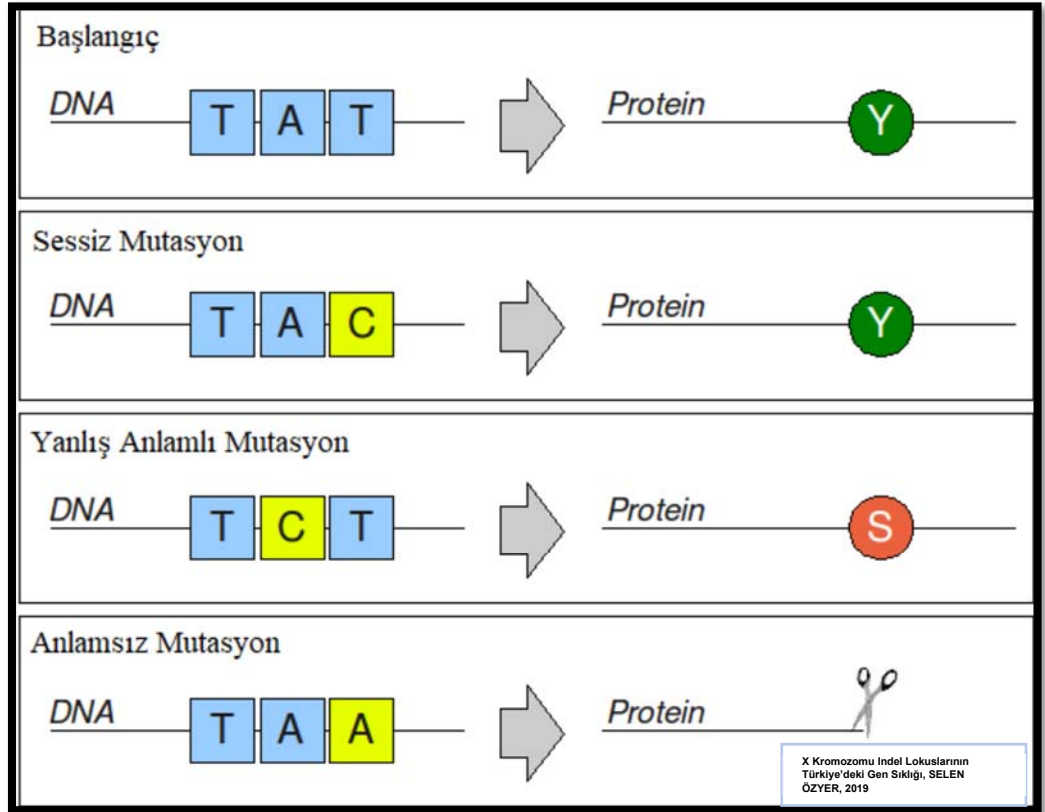
dizisi üzerinde neden oldukları değişikliğe göre 2 farklı gruba ayrılmaktadır (ÖZYER, 2019; Sukhumsirichart, 2018).

2.5.1.1.2.2.1. Kayıp (missense) gen polimorfizmleri

Meydana gelen baz değişikliğiyle yeni bir aminoasitin oluşmasına ve proteinin yapısında ve fonksiyonunda değişikliklere yol açan polimorfizmlerdir.

2.5.1.1.2.2.2. Anlamsız polimorfizmler;

Meydana gelen baz değişikliği sonucu dizilim üzerinde durdurma (stop) kodonunun oluşmasına ve anlamsız, erken sonlanmış protein parçalarının sentezlenmesine



Şekil 4. Sinonim Olmayan Mutasyon Türleri

sebebi olan polimorfizmlerdir.

Mevcut olan Tek Nükleotid Polimorfizmleri incelendiğinde, yaklaşık %60'ının gen bölgesinin dışında oluşan polimorfizmler olduğu tespit edilmiştir (Hunt et al., 2009).

2.5.2. Tek Nükleotid Polimorfizm Çalışmaları ve İlgili Kavramlar

2.5.2.1. Minor allel frekansı (MAF)

Tek nokta polimorfizmlerinde genel olarak ebeveynleri temsil eden iki allel bulunmaktadır. Bu iki allelden biri toplumda daha sık rastlanan varyant diğeri ise diğeri oranla daha az bulunan varyant olabilmektedir. Bu durumlarda, bir popülasyon içerisinde diğeri göre daha az bulunan varyant 'minör allel' ve bu allelin popülasyon içerisinde görülme sıklığının ölçüsü ise 'minör allel frekansı' olarak adlandırılmaktadır. Daha yaygın olarak bulunan varyant ise 'majör allel' olarak nitelendirilmektedir (W. S. Bush & Moore, 2012; De la Cruz & Raska, 2014; Lasky-Su, 2017) Buna örnek olarak, A ve T allellerine sahip olan bir polimorfizm için A alleli belirli bir popülasyonun %25'inde, T alleli ise %75'inde görülüyorsa, A alleli minör alleli, T ise majör alleli temsil etmektedir. Her iki allelin bulunma sıklığını gösteren frekans değeri ise A alleli için 0,25, T alleli için 0,75 olarak ifade edilmektedir (W. S. Bush & Moore, 2012) %5 ve üzeri MAF değerine sahip varyantlar 'yaygın genetik varyant' olarak adlandırılmakta ve GWAS, kompleks kişisel özellik ve genotip eşleştirme çalışmalarında genel olarak bu varyantları kullanmaktadır. HapMap Projesinde de yine aynı şekilde $MAF \geq 5\%$ değerine sahip SNP'ler esas alınmış bulunmaktadır. %5 MAF değerinin altında ve %1 MAF değerinin üstünde kalan varyantlar ise 'yaygın olmayan genetik varyant' olarak nitelendirilirken %1 ve altında kalan MAF değerine sahip varyantlar 'nadir genetik varyant' olarak isimlendirilmektedir. Bazı kaynaklarda ise %5 MAF ve altında yer alan tüm varyantlar 'nadir genetik varyant' olarak geçmektedir (Bomba et al., 2017; Grasso et al., 2014; Lasky-Su, 2017; Q. Li, Zhang, & Yu, 2010; Panagiotou et al., 2010; Sukhumsirichart, 2018). Nadir genetik varyantlarla çalışmanın en büyük problemi toplum içerisinde çok az bir oranla bulunmaları sebebiyle bu alanda sonuç elde etmeye çalışırken çok büyük popülasyonlara ihtiyaç duymaktır (Lasky-Su, 2017; Sukhumsirichart, 2018)

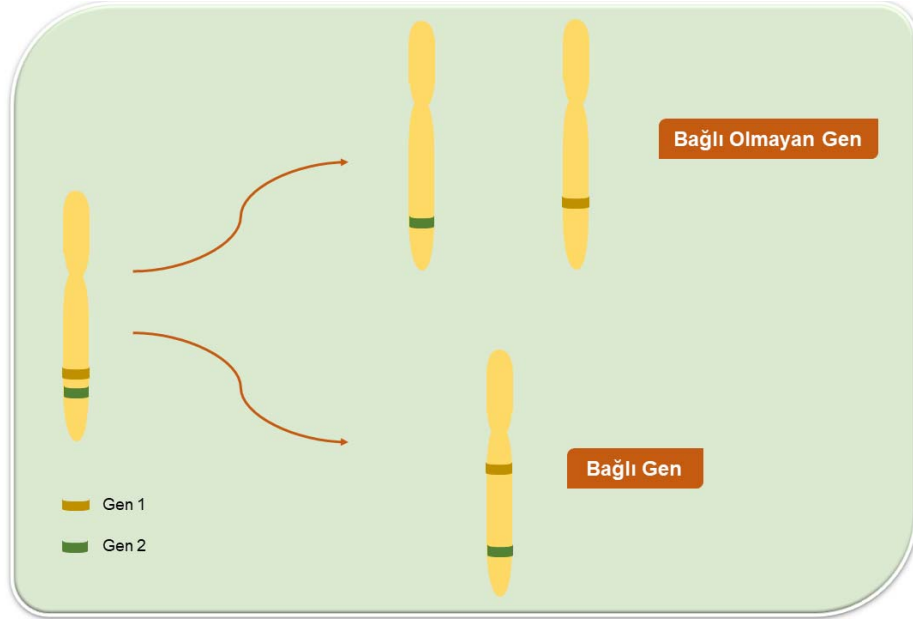
Yapılan çalışmalar ile, bir popülasyonun yapısı ortaya konmak istendiğinde en önemli etkenlerden bir tanesinin tek nokta polimorfizmlerinin minör allel frekansının belirlenmesi olduğu görülmüştür (De la Cruz & Raska, 2014). Ayrıca, Genom Boyu İlişkilendirme Analizleri kapsamında, kompleks hastalıklar ve polimorfizm ilişkilendirilmeleri sonucunda, risk allelinin; hastalığa yatkınlık sağlayan/ortaya çıkmasına sebep olan allelin çok yüksek oranla minör allel olduğu görülmüştür. Bu nedenle de son zamanlarda GWAS çalışmalarında özellikle daha az rastlanan bu varyantlar belirlenerek genotip-fenotip ilişkilendirme profili ortaya konulmaya

çalışılmaktadır (De la Cruz & Raska, 2014; Kido et al., 2018; Lasky-Su, 2017; Mathieson & McVean, 2012; Park et al., 2011).

2.5.2.2. Kayıp kalıtım

Polimorfizm çalışmalarında bir diğer konu ise fenotipik veya karakteristik bir özelliğin kalıtılabilirliğinin belirlenmesidir. Bunun için seçilen o özellik ve eşleşen genotip yakın akrabalar içerisinde hatta mümkün olan durumlarda ikizler veya kardeşler üzerinde karşılaştırılarak bir ölçüm gerçekleştirilir. Ancak bu ölçüm genom boyunda ve kompleks özellikler için gerçekleştirildiğinde büyük boşluklar ortaya çıkmaktadır. Bu boşluğun sebebinin epigenetik, dizileme sırasında kullanılan yöntem vb. gibi birçok faktörün olabileceği düşünülürken hala temel sebebin neden olduğu tam olarak bulunamamıştır (Sandoval-Motta, Aldana, Martinez-Romero, & Frank, 2017; Young, 2019). 2009 yılında yapılan bir çalışmada insan boyuna etki eden yaklaşık 40 farklı varyasyon tespit edilmiş olup kayıp kalıtım durumu nedeniyle bu varyasyonların sadece %5'ini tam olarak açıklayabilmişlerdir (Manolio et al., 2009). Bu durumu açıklayan güzel örneklerden bir tanesi de Yaşa Bağlı Makula Dejenarasyonu ve Crohn Hastalığıyla eşleşen varyantları bulmak amacıyla yapılan GWAS çalışmalarıdır. Yapılan çalışmalar sonucunda, Yaşa Bağlı Makula Dejenarasyonu için 5 varyant ile kalıtımsallığı hakkında yüksek ölçüde bilgi edinilebilmişken, Crohn Hastalığı için 32 farklı varyant bulunmasına rağmen kalıtımsallığı hakkında çok az bir çıkarım elde edilebilmiştir (Barrett et al., 2008; Jakobsdottir, Gorin, Conley, Ferrell, & Weeks, 2009; Manolio et al., 2009). Bu nedenle yapılan bu çalışmalarda, bir hastalık veya herhangi bir özellik ile eşleşen polimorfizmleri tespit edebilmek için bulunan varyant sayısından ziyade elde edilen bu varyantların belirli çerçeveler altında anlamlandırabilmesi büyük önem taşımakta ve kayıp kalıtım sorunu büyük önem arz etmektedir. Bu yüzden ki birçok çalışmada etkileşim halinde olan genlerin tespiti, popülasyon için elde edilen kalıtımsallık değerinin üzerine yapılan overestimasyon yaklaşımları gibi farklı yöntemler kullanılarak bu problem ortadan kaldırılmaya veya etkisi olabildiğince azaltılmaya çalışılmaktadır (Young, 2019; Zuk, Hechter, Sunyaev, & Lander, 2012).

2.5.2.3. Bağlı gen kavramı ve linkaj analizi



Şekil 5. Kromozom Üzerinde Bağlı Gen ve Bağlı Olmayan Gen Yapısı

Modern genetiğin kurucusu olarak bilinen Mendel, Bağımsız Kalıtım Yasası ile kromozom üzerinde yer alan genlerin anne-babadan yavru dőle bağımsız bir şekilde aktarıldığını göstermiştir. Ancak Mendel'in bu çalışmaları yaparken atladığı bir nokta tüm genlerin bu kurala uymadan, fiziksel olarak yakın oldukları bazı diğer genlerle birlikte aktarılması durumuydu (Şekil 5). Bu şekilde aktarılan genler 'bağlı gen' olarak adlandırılmakta ve bu durum 'linkaj' olarak geçmektedir (Allen, 2003; ÖZŞENSOY & KURAR, 2013).

Linkaj kavramı ilk olarak Thomas Hunt Morgan'ın yaptığı çalışmalarda geçmiş bulunmaktadır. Morgan, model organizma olarak oldukça yaygın olarak kullanılan *Drosophila Melanogaster* ile yaptığı çalışmalarla, kanat ve göz renginin Mendel'in Kalıtım Yasası'na uymadığını, genlerin kromozom üzerinde bağlı bir şekilde bulunabileceğini ve genler arasındaki bu bağın fiziksel yakınlık arttıkça kuvvetlendiğini göstermiştir (ÖZŞENSOY & KURAR, 2013; Pulst, 1999).

Linkaj alışmaları, gen haritalama ve özellikle hangi genin hangi hastalıkla ilişkisinin bulunduğunu tespit edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Böylece bu ilişkilerin altında yatan genetik mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Ayrıca hastalıkların birbirleriyle olası bağlantılarının da ortaya konulması amaçlanmaktadır. Gelişen sekanslama teknolojisi, hastalıkların altında yatan temel genetik mekanizmaların

tespit edilmesi ve bu şekilde keşfedilecek yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine olan ihtiyacın artmasıyla, linkaj analizlerine verilen değer her geçen gün artmaktadır (W. S. Bush & Moore, 2012; Ferreira, 2004; Laird & Lange, 2011; Lin & Zhao, 2010). Bu analizlerin temelinde ise mayoz sırasında homolog kromozomlar arasında gerçekleşen parça değişimi (crossing-over) ile anne ve babadan farklı özelliklere sahip yeni yavru döllerin oluşabilmesi yatmaktadır. Bu şekilde gerçekleşen olaya 'rekombinasyon', rekombinasyon ile ebeveynlerinden farklı özelliklere sahip yavru bireylere ise 'rekombinant' denmektedir. Rekombinant bireylerin popülasyon içerisinde görülme oranı 'rekombinasyon frekansı' olarak adlandırılmakta ve ' θ ' olarak gösterilmektedir. $\theta < 1/2$ (%50) olduğu durumlar bize iki gen ya da söz konusu olan genlerin birbirleriyle bağlantılı halde olduğunu, $\theta > 1/2$ olması ise tam tersi bu genler arasında herhangi bir linkaj durumunun söz konusu olmadığını göstermektedir. %1 θ genetik haritalama da 1 cM'karşılık gelmekte ve her 100 mayoz bölünmede 1 rekombinasyon olduğuna işaret etmektedir.

2.5.2.4. Yaygın Varyant Yaygın Hastalık Hipotezi (YV-YH)' ve 'Nadir Varyant Yaygın Hastalık Hipotezi (NV-YH)

Birçok kompleks hastalığın arkasında genetik tabanlı sebeplerin olduğu ve bu hastalıkların Mendel'in bahsettiği şekilde aile içinde aktarılmadığının görülmesine üzerine temel mekanizmanın aydınlatılması ve bir kural çerçevesinde toplanabilmesi adına yeni hipotezlerin varlığına ihtiyaç duyulmuştur. Böylece 'Yaygın Varyant Yaygın Hastalık Hipotezi (YV-YH)' ve 'Nadir Varyant Yaygın Hastalık Hipotezi (NV-YH)' ortaya çıkmıştır (Hemminki, Forsti, & Bermejo, 2008; Mayo, 2007; Schork, Murray, Frazer, & Topol, 2009). YV-YH'ye göre toplumda sık olarak rastlanan bir hastalık yine toplumda görülme frekansı yüksek olan bir varyasyon ve allel ile eşleşmektedir. Örneğin; Alzheimer hastalığı toplumda belirli yaş üzerinde görülme sıklığı giderek artan kompleks bir hastalık olup bu hastalıkla ilgili yapılan araştırmaların sonucunda Apolipoprotein E geninde meydana gelen bir polimorfizmin bu hastalık için artan risk oluşturduğu görülmüştür. APOE4 bu şekilde oluşan bir varyant olup toplumda artan riskle eşlesen bir alleldir. NV-YH ise bu tezin tersini savunarak, toplumda yaygın olarak görülen hastalıkların toplum içerisinde nadir olarak görülen ve risk alleli olarak düşünülen çok sayıda gende meydana gelen nadir varyantların risk oluşturduğunu söylemektedir (Blanco-Gomez et al., 2016; Hemminki et al., 2008; Mayo, 2007; Saint Pierre & Genin, 2014; Schork et al., 2009). GWAS çalışmalarının sonucunda yaygın olarak görülen özellik ile eşleşen 500 bin ile 1 milyon arasında yaygın SNPs olduğu

görülmüştür. Son zamanlarda yapılan çalışmalar da YV-YH'yi doğrulayacak yönde sonuçlar sunmaktadır. Ancak tüm doğrulayıcı sonuçlara rağmen bu hipotezin yaygın hastalıkların oluşmasının tek sebebinin yaygın olarak görülen bu alleller olduğunu gösterdiği anlaşılmamalıdır, bu hastalıkların altında çok farklı faktörler yer alabilmektedir (W. S. Bush & Moore, 2012).

2.5.2.5. Bağlantı dengesizliği

Bağlantı Dengesizliği (BD) kromozom üzerinde bulunan birden fazla bölgenin allel bilgilerinin kendi içinde eşleşmesi ve bu eşleşmenin rastgele olmaması durumunun nitelendirmektir. BD bilgisiyle tür içi ve türler arası gerçekleşen değişimleri, doğal veya yapısal seçilime verilen cevabı ayrıntılı bir şekilde ortaya koyabildiği için evrimsel çalışmalar için oldukça önem arz etmektedir (Shifman, Kuypers, Kokoris, Yakir, & Darvasi, 2003; Slatkin, 2008; Weir, 2008).

2.5.2.6. Direkt eşleşme ve Direkt olmayan eşleşme

Genetik bağlantı kurma çalışmalarında bir hastalık veya herhangi bir özellik spesifik olarak bir SNP ile eşleşiyorsa ve bu durum genotipte doğrudan tespit edilebiliyorsa 'direkt eşleşme', bir hastalık veya herhangi bir özellikle spesifik olarak eşleşmiyor ancak eşleşen bir SNP ile yüksek derecede linkaja sahip ise 'direkt olmayan eşleşme' olarak adlandırılmaktadır. Direkt olarak eşleşen SNP 'fonksiyonel SNP' olarak adlandırılmaktadır. GWAS çalışmaları ise daha çok direkt olmayan eşleşmeler üzerinde durmakta ve etkileşim haritalarını tespit ederek hastalık veya herhangi bir özellik için etken olan aday bölgeleri belirlemeye çalışmaktadır (W. S. Bush & Moore, 2012; Ferreira, 2004; Mansur, Rojano, Ranea, & Perkins, 2018; Singh & Singh, 2018). Son yıllarda yapılan çalışmalarla da her iki hipotezin de avantajları ve dezavantajlarının bulunduğu ve yaygın hastalıkların belirlenmesinde kullanılmasının avantaj sağlayacağı görülmektedir. Örneğin, direkt olmayan eşleşme gösteren SNP'ler öncül bir deney gerektirmezken bir yandan da çok fazla sayıda SNP'in genotiplenmesine gereksinim olduğu için maliyetli ve zor olması sebebiyle dezavantaj sağlamaktadır (Carlson, Eberle, Kruglyak, & Nickerson, 2004).

3. GEREÇLER VE YÖNTEM

3.1. OBEZİTE VE TİP 2 DİYABET İLE EŞLEŞEN TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİNE AİT VERİ SETLERİNİN ELDE EDİLMESİ

Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları sonucunda elde edilen tüm tek nükleotid polimorfizmlerine ait veri setleri GWAS Catalog'dan çekilmiştir (McLaren et al., 2016). GWAS Catalog, 2008 yılında 'Ulusal İnsan Genom Araştırmaları Enstitüsü' (National Human Genome Research Institute (NHGRI) tarafından kurulmuş bir veritabanıdır. 2010 yılından itibaren bu projeye EMBL-EBI de katılmış ve şu an hali hazırda siteye erişim bu alt yapı tarafından desteklenmektedir. Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmalarının ivmeli artışına yönelik olarak, araştırmacıların ilgili veri setlerine daha kolay ulaşabilmesi, veri karmaşasını ve kaybını önlemek amacıyla oluşturulmuş tamamen ücretsiz bir veri depolama alanıdır. Burada bulunan tüm veriler yayınlanmış çalışmalardan elde edilen ve görevli küratörler tarafından doğruluğu tespit edildikten sonra veritabanının eklenmekte ve kullanıcıya sunulmaktadır. Yaygın veya nadir olarak bulunan tüm varyantlara ait;

- Hangi çalışmadan geldiği,
- Çalışmanın kaç kişi üzerinde ve hangi etnik köken üzerinde gerçekleştirildiği,
- Polimorfizmin hangi kromozom üzerinde bulunduğu, gen bölgesine olan uzaklığı veya hangi gende meydana geldiği,
- Varyasyona dair hangi allelin ilgili hastalık/özellik için risk taşıdığı,
- Hangi sekanslama ve genotipleme yönteminin kullanıldığı,
- İstatistiksel değerler,

vb. gibi detaylı birçok sonuca erişilebilmektedir.

GWAS Catalog'dan tüm polimorfizm verilerinin indirilmesinin ardından ilgili hastalıklara ait olanların ayrılması için bir filtreleme yapılmıştır. Bunun için;

- Obezite için; Body mass index, obesity, obese terimleriyle eşleşen
- Tip 2 diyabet için; type 2 diabetes, diabetes mellitus, insulin resistance terimleriyle eşleşen

sonuçlar seçilmiş ve ileriki analizler bunlar üzerinde gerçekleştirilmiştir.

3.2. POLİMORFİZMLERİN İLGİLİ HASTALIKLAR ÜZERİNDE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Hastalıklar ile eşleşen polimorfizmlerin genome üzerindeki etkilerinin belirlenmesi ve haritalanması amacıyla ‘Variant Effect Predictor (VEP)’ aracı kullanılmıştır. VEP, Ensembl üzerinde kayıtlı varyantların etkilerinin öngörülmesi amacıyla oluşturulmuş fonksiyonel bir araçtır. İnternet tabanlı kullanıma açık olduğu gibi aynı zamanda program olarak da indirilip kullanıcılara daha detaylı kullanım imkanı sunmaktadır(McLaren et al., 2016). Aranılan varyant listesi girildiğinde;

- Polimorfizmin hangi kromozom üzerinde bulunduğu, gen bölgesine olan uzaklığı, veya hangi gende meydana geldiği,
- Polimorfizmin genom üzerindeki etkisi,
- SIFT ve PolyPhen skorları,
- İlgili PubMed ID,
- İstatistiksel değerler

vb. gibi birçok bilgiye erişilebilmektedir.

3.3. POLİMORFİZMLERİN BİRBİRLERİYLE OLAN BAğLANTILARININ TESPİT EDİLMESİ

Kromozom üzerinde bazı genler/bölgeler birlikte kalıtılabilmektedir. Bu durumda bir gen üzerinde meydana gelen polimorfizmler de birlikte kalıtılabilmekte ve bazen bir polimorfizmin varlığı diğerinin varlığına işaret ediyor olabilmektedir. Bu nedenle LDLink aracı kullanılarak genlere ait polimorfizmler arasındaki linkaj değerleri tespit edilmiş ve paternleri ortaya konulmaya çalışılmıştır. LDLink, girilen listede bulunan sorguların ikili olarak bağlantı dengesizliği değerini tespit eden ve bu bağlantıyı farklı popülasyonlara göre analiz edebilen internet tabanlı bir araçtır. Bünyesinde bulunan 10 ayrı modül ile kullanıcılara farklı analiz fırsatları sunmaktadır(Machiela & Chanock, 2015). Bu alışmada, LDMatrix ile girilen polimorfizmlerin birbirleriyle bağlantısı Heatmap yapısıyla görsel bir şekilde sunulmaya ve LDtraits ile girilen polimorfizmlerin ilgili hastalık bağlamında birbirleriyle olan spesifik olarak ortaya

konulmaya çalışılmıştır. LDLink'in kullandığı ve bu çalışmada baz alınan bazı hesaplamalar ise şu şekildedir;

- D üssü (D'); iki varyantın birbirinden ayrı olmasının ölçüsüdür. 0 ile 1 arasında bir değere sahip olmakla birlikte daha yüksek değerler daha yüksek bir bağlantıyı nitelendirmektedir.
- R Kare (R^2); iki varyantın birbiriyle olan bağlantı derecesinin allel frekanslarına bağlı olarak hesaplanan ölçüsüdür. 0 ile 1 arasında bir değer ile ölçülmekte ve daha yüksek değerler daha yüksek bağlantıyı temsil etmektedir. 0 değeri herhangi bir bağlantının olmadığını, 1 ise iki varyantın birbirine bağlı olduğunu göstermektedir.

3.4. VARYANT VE GENLERİN HASTALIKLARIN ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

İlgili hastalıklarla eşleşen polimorfizmler ve bu polimorfizmlerin meydana geldiği genlerin hangisinin daha yüksek etkiye sahip olduğu DisGeNet veritabanı/aracı kullanılarak fonksiyonel bir analiz gerçekleştirilmiştir. DisGeNet farklı veritabanlarından (CLINVAR, UNIPROT, CLINGEN, GWAS CATALOG, GWAS DB vb) gen-hastalık ve varyant- hastalık bilgilerini çekip kendi skortlama sistemini kullanarak en etkili varyant ve gen adaylarını hesaplayan bir araçtır. Bu hesaplamaları yaparken kullandığı tüm denklemleri de açık bir şekilde sunmaktadır (Pinero et al., 2020).

- DisGeNet Gen-Hastalık Skortlama Yöntemi

$$S = C + M + I + L$$

where:

$$C = \begin{cases} 0.6 & \text{if } N_{sources_i} > 2 \\ 0.5 & \text{if } N_{sources_i} = 2 \\ 0.3 & \text{if } N_{sources_i} = 1 \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases}$$

where:
 $N_{sources_i}$ is the number of CURATED sources supporting a GDA
 $i \in \text{CGI, CLINGEN, GENOMICS ENGLAND, CTD, PSYGENET, ORPHANET, UNIPROT}$

$$M = \begin{cases} 0.2 & \text{if } N_{sources_j} > 0 \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases}$$

where:
 $j \in \text{Rat, Mouse from RGD, MGD, and CTD}$

$$I = \begin{cases} 0.1 & \text{if } N_{sources_k} > 0 \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases}$$

where:
 $k \in \text{HPO, CLINVAR, GWASCAT, GWASDB}$

$$L = \begin{cases} 0.1 & \text{if } N_{pubs} > 9 \\ N_{pubs} * 0.01 & \text{if } N_{pubs} < 9 \end{cases}$$

where:
 N_{pubs} is the number of publications supporting a GDA in the sources LHGDN and BEFREE

Şekil 6. Disgenet Gen-Hastalık Skortlama Yöntemi

- DisGeNet Varyant-Hastalık Skorlama Yöntemi

$$S = C + L$$

where:

$$C = \begin{cases} 0.9 & \text{if } N_{sources_i} > 2 \\ 0.8 & \text{if } N_{sources_i} = 2 \\ 0.7 & \text{if } N_{sources_i} = 1 \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases}$$

where:

$N_{sources_i}$ is the number of CURATED sources supporting a VDA
 $i \in \text{UNIPROT, CLINVAR, GWASCAT, GWASDB}$

$$L = \begin{cases} 0.1 & \text{if } N_{pubs} > 9 \\ N_{pubs} * 0.01 & \text{if } N_{pubs} < 9 \end{cases}$$

where:

N_{pubs} is the number of publication supporting a VDA in the source in BeFree

Şekil 7. DisGeNet Gen-Hastalık Skorlama Yöntemi

3.5. İKİ HASTALIK İÇİN ORTAK GEN VE POLİMORFİZMLERİN VE ETKİLEŞİM YOLAKLARININ TESPİT EDİLMESİ

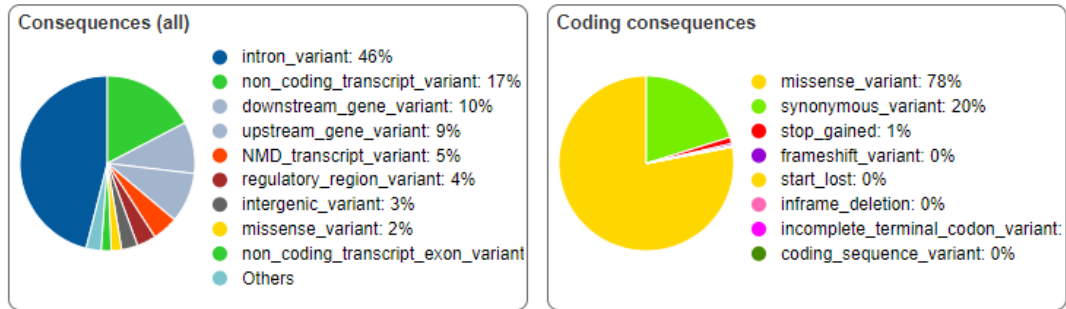
DisGeNet ve VEP veritabanından elde edilen tüm polimorfizm sonuçları birbirleriyle karşılaştırılmış, ortak olanlar Cytoscape ile tespit edilmiş ve görselleştirme uygulanmıştır. Ardından ortak olan genler STRING veritabanına yüklenmiş ve birbirleriyle olan iletişim ağı tespit edilmeye çalışılmıştır. STRING öngörülen veya bilinen protein-protein etkileşim ağlarını içeren bir veritabanıdır. 5090 organizmaya ait 24.584.628 protein bilgisini bünyesinde barındırmaktadır (Shannon et al., 2003; Szklarczyk et al., 2019).

Son olarak aday gen ve polimorfizmlerin belirlenebilmesi uygun tedavi yöntemlerinin bulunabilmesi için STRING veritabanından elde edilen etkileşim bilgileri literatür üzerinden kontrol edilerek bağlantı yolları tespit edilmeye çalışılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. OBEZİTEYE DAYALI GWAS VERİLERİNDEN İLGİLİ POLİMORFİZMLERİN TESPİTİ VE LİNKAJ ANALİZİ

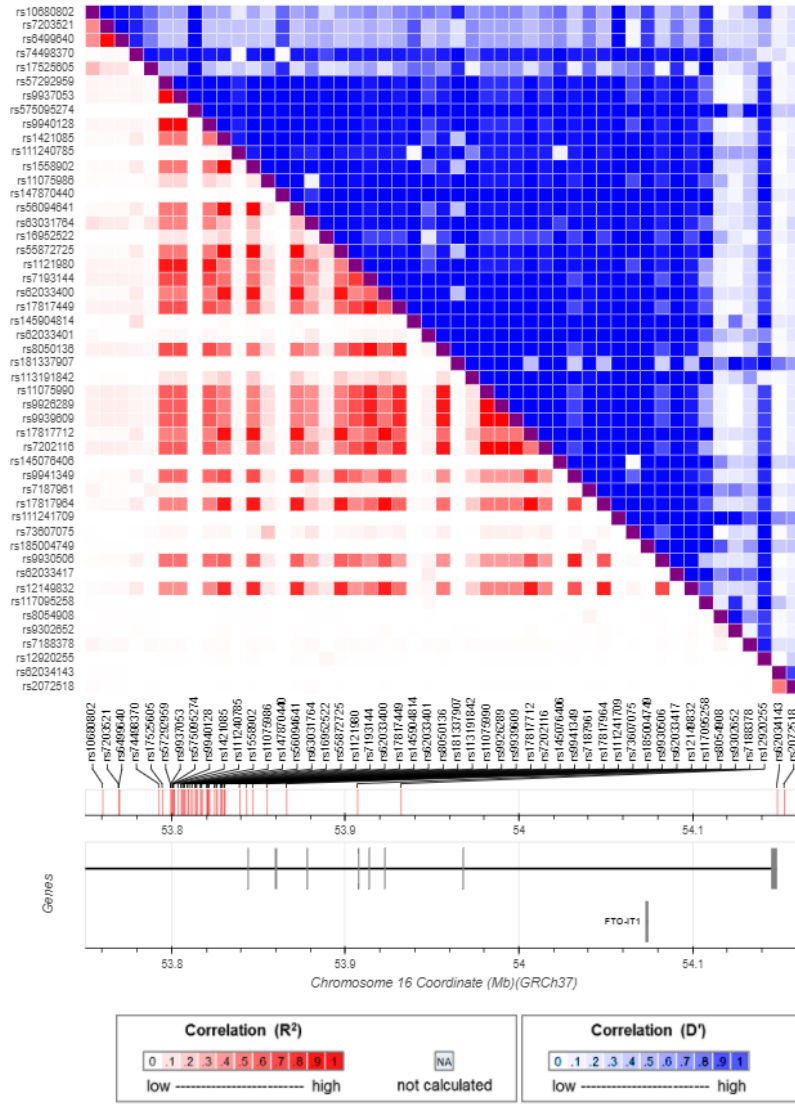
Farklı çalışmalardan toplanan verileri içeren GWAS Catalog'dan Obezite ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde eşleşen 12311 farklı tek nükleotid polimorfizmi tespit edilmiştir. Elde edilen bu polimorfizmler, VEP (Variant Effect Predictor) aracı kullanılarak hangi gen üzerinde bulundukları, kromozom üzerinde lokasyonları vb. gibi detaylı sınıflandırma sonuçları elde edilmiştir. Bunun sonucunda tespit edilen 1205 varyant içerisinde yaklaşık 5663 tanesinin intron, 369 tanesinin intergenik bölge, 1107'sinin upstream, 1231'inin downstream bölge üzerinde bulunduğu görülmüştür. Kodlanan bölge içerisinde bulunan bu varyantların yüksek bir oranda Sinonim Olmayan Polimorfizmi olduğu; %78 Kayıp (missense) Protein Polimorfizmi, %1 Anlamsız Polimorfizm, %20'nin ise Sinonim Polimorfizm olduğu tespit edilmiştir (Şekil 6).



Şekil 8. Obeziteye Dayalı GWAS Verilerinin VEP Aracı ile Analizinden Elde Edilen Polimorfizm Sınıflandırma Sonuçları

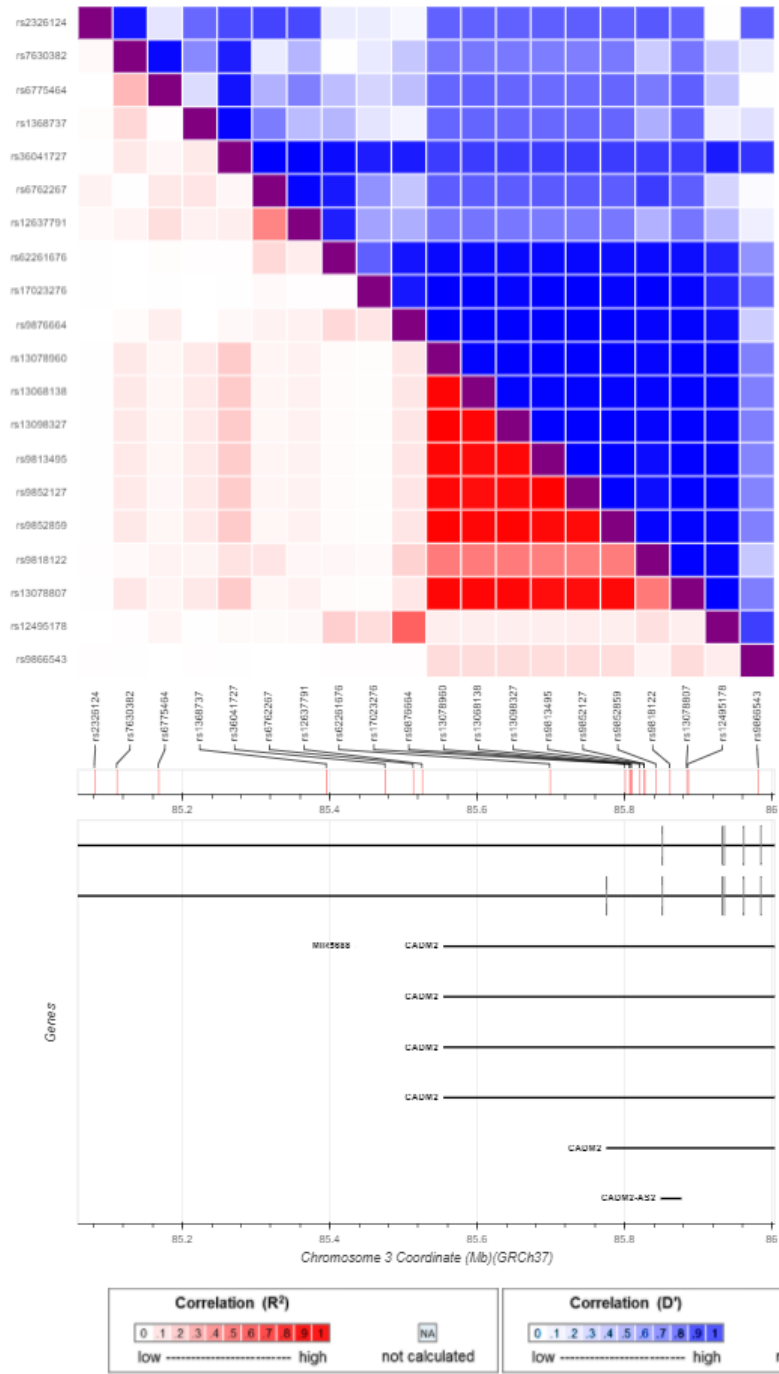
İlgili polimorfizm ve ait olduğu genler incelendiğinde, obezite ile eşleşen bu polimorfizmlerin diğer genlere nispeten özellikle bazı genler (FTO, LINC01122, CADM2, ADAMTSL3, CPNE4, NRXN3, BDNF, KCNQ1, MAP2K5, COBLL1, FBXL17, AL356534.1, AUTS2) üzerinde yoğunlaştığı görülmüştür.

FTO geni, DNA tamiri, posttranslasyonel modifikasyonlar ve yağ asiti metabolizmasında rol oynamakta ve özellikle merkezi sinir sistemi ve sonrasında da adipoz doku tarafından sentezlenmektedir. Beyinde özellikle açlık merkezinde rol almakta ve açlık-tokluk duygusunun kontrolünü sağlamaktadır. Adipoz dokuda ise özellikle adipogenezin erken safhalarında ekspresyonunun oldukça önemli olduğu ve adipogenez sürecini düzenlediği bilinmektedir. FTO geni üzerinde meydana gelen polimorfizmlerin ise obezite üzerinde en büyük etkenlerden biri olduğu da yapılan birçok GWAS çalışmasıyla görülmektedir (Fawcett & Barroso, 2010; Hess & Bruning, 2014; Merkestein & Sellayah, 2015). Analiz sonucunda FTO geni üzerinde bulunan ve obezite ile eşleşen 58 tek nükleotid polimorfizmi arasındaki bağlantı dengesizliği değeri tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen analiz sonucuna göre rs7202116 ve rs7185735, rs9926289 ve rs9939609, rs11075990 ve rs9936385, rs9937053 ve rs9928094, rs9926289 ve rs7185735, rs7202116 ve rs9939609 polimorfizmlerinin arasında yüksek oranda bir linkaj ($r^2 > 0,998$ ve P value $< 1 \times 10^{-5}$) olduğu bulunmuştur. Elde edilen bu linkaj bilgileri ilgili veritabanlarından kontrolleri sağlanmış ve bu linkaj bilgilerine ek olarak rs9936385 polimorfizminin Beden Kitle İndeksiyle kuvvetli bir eşleşme gösteren rs9930506 polimorfizmiyle birlikte kalıtıldığı bilgisine varılmıştır (Scuteri et al., 2007). FTO geninde meydana gelen bir intron varyantı olan bu polimorfizmde yaygın allel olan A allelinin yerine G allelinin gelmesiyle Beden Kitle İndeksi'ni 1,3 kat arttırdığı bilinmektedir (Doaei et al., 2019; Scuteri et al., 2007). Bu polimorfizm aynı zamanda rs9937053, rs8043757, rs3751812, rs9923233, rs9932754 ve rs9922619 polimorfizmleriyle de birlikte kalıtılmaktadır (Scuteri et al., 2007). Veritabanlarında yapılan araştırma sonucu rs1121980 polimorfizminin de obezitede önemli bir risk unsuru olduğu tespit edilmiş ve GWAS katalogdan indirilen veriler içerisinden de bu sonuç doğrulanmıştır (P value $< 1 \times 10^{-6}$). Bu polimorfizmin gerçekleştiği bölgede T alleleline sahip olan bireylerin T alleleline sahip olmayan bireylere kıyasla obeziteye oldukça yüksek bir eğilime sahip olduğu bilinmektedir (Hinney et al., 2007).



Şekil 9. FTO Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu

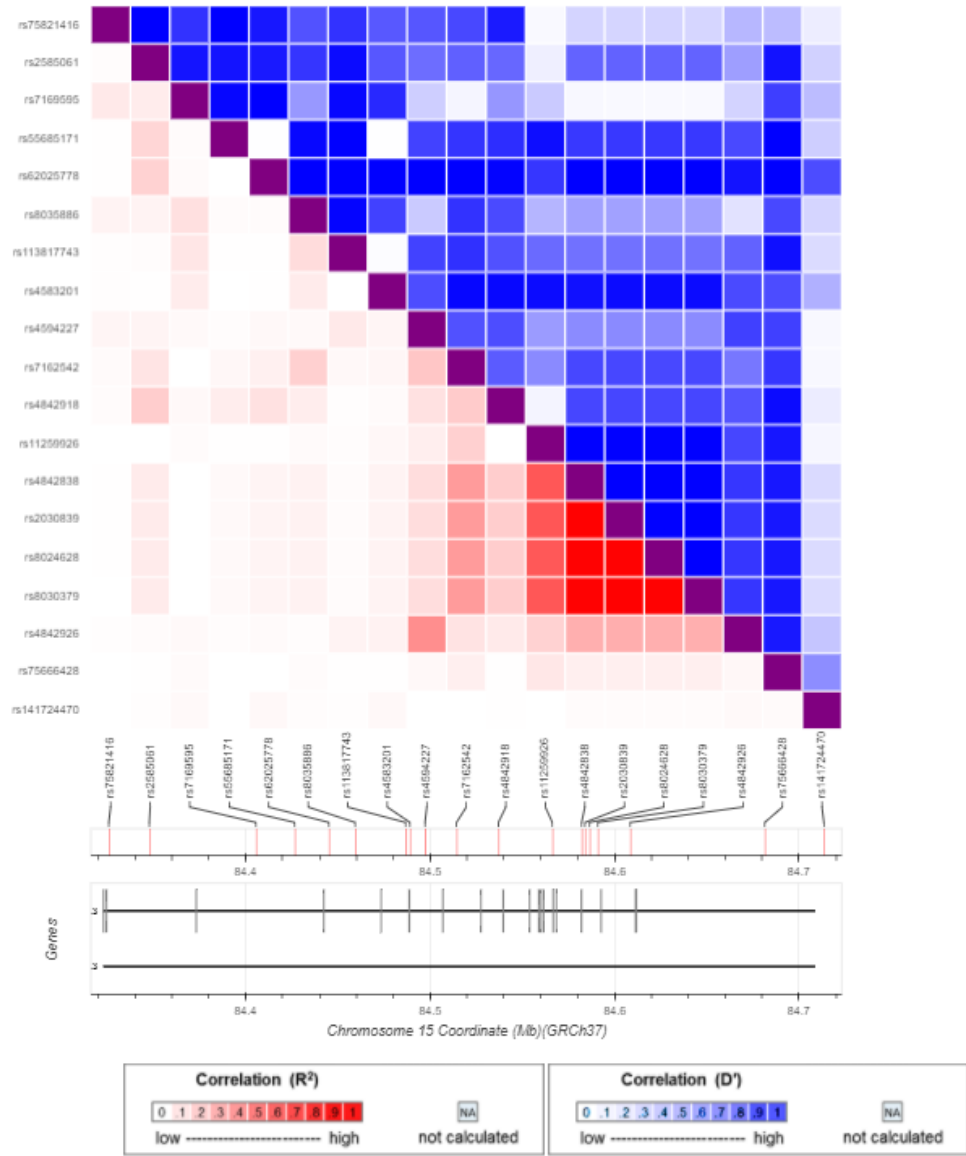
CADM2 geninin, merkezi sinir sisteminde görev aldığı bilinmekte ve özellikle hipokampus ve hipotalamustaki ekspresyonuyla Beden Kitle Endeksi üzerine etkisi olduğu düşünülmektedir (Yan et al., 2018). Elde edilen veri seti üzerinde gerçekleştirilen linkaj analizi ile rs13078960 ve rs13098327, rs9813495 ve rs13098327, rs13078960 ve rs9852859 polimorfizmleri arasında yüksek oranda bir bağlantı/linkaj ($r^2 > 0,997$ ve P value $< 1 \times 10^{-5}$) olduğu gözlemlenmiştir. Bu bağlantıyı destekleyici yeterli veri literatürden elde edilememiştir.



Şekil 10. CADM2 Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu

ADAMTSL3 geni ADAMTS ailesinde yer alan bir metalloproteazdır. Anjiyogenezden bağ dokusu yenilenmesi ve hemostaz gibi çeşitli rollerde anahtar görevlere sahip olmakla birlikte, beyin nöronal altyapısının oluşmasında da önemli etkileri olduğu bilinmektedir (Dow et al., 2011; Koo et al., 2007). Uygulanan linkaj analizi

doğrultusunda rs13078960 ve rs13098327, rs9813495 ve rs13098327, rs13098327 ve rs13078960 ve rs9852859, rs9852859 ve rs13098327 polimorfizmleri arasında önemli derece bir linkaj ($r^2 > 0,995$ ve P value $< 1 \times 10^{-5}$) olduğu bulunmuş ve bu gende bulunan polimorfizmlerin linkaj bilgisi literatürdeki çalışmalarda incelendiğinde obeziteye dair bir linkaj bilgisi edilememiş ve sadece şizofreni için rs2135551, rs950169 and rs1911155 polimorfizmleri arasında kuvvetli bir bağlantı olduğu bulunmuştur (Dow et al., 2011).



Şekil 11. ADAMTSL3 Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu

4.2. OBEZİTEYLE İLİŞKİLENDİRİLEN TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ VE GENLERİN FONKSİYONEL ANALİZİ

Polimorfizm-gen eşleştirmeleri sonucunda obezite için merkezde bulunan genlerin tespitinin ardından obezite üzerinde en etkili polimorfizmlerin ve genlerin belirlenmesi adına DisGeNet skorlama sistemi kullanılarak fonksiyonel analiz gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu analiz sonucunda en etkili polimorfizmler tespit edilmiş ve mekanizmaları aydınlatılmaya çalışılmış ve ilk 25 polimorfizm tabloda gösterilmiştir.

Hastalık	Varyant	Gen	Sonucu	Allel	Skor
Obezite	rs1421085	FTO	intron variant	T/C	0.9
Obezite	rs17782313		intergenic variant	T/C	0.9
Obezite	rs8050136	FTO	intron variant	C/A	0.9
Obezite	rs10938397		intergenic variant	A/G	0.89
Obezite	rs17817449	FTO	intron variant	T/A;G	0.89
Obezite	rs7498665	SH2B1	missense variant	A/G;T	0.88
Obezite	rs7138803		intergenic variant	G/A;T	0.86
Obezite	rs1121980	FTO	intron variant	G/A;C	0.84
Obezite	rs1805081	NPC1	missense variant	T/C	0.83
Obezite	rs1558902	FTO	intron variant	T/A	0.82
Obezite	rs10508503		intergenic variant	C/A;T	0.81
Obezite	rs10968576	LINGO2	intron variant	A/G	0.81
Obezite	rs13447331	MC4R	missense variant	G/A	0.81
Obezite	rs1412239	LINGO2	intron variant	C/G	0.81
Obezite	rs1424233		regulatory region variant	T/C	0.81
Obezite	rs1516725	ETV5;DGKG	intron variant	T/C	0.81
Obezite	rs1800437	GIPR	missense variant	G/C	0.81
Obezite	rs187152753	MC4R	missense variant	C/T	0.81
Obezite	rs2568958	LOC105378797	intron variant	G/A;C	0.81
Obezite	rs564343	PACS1	intron variant	A/G	0.81
Obezite	rs7185735	FTO	intron variant	A/G;T	0.81
Obezite	rs8043757	FTO	intron variant	A/T	0.81
Obezite	rs988712	BDNF-AS	intron variant	G/A;T	0.81
Obezite	rs9941349	FTO	intron variant	C/T	0.81

Şekil 12. Obezite ile Fonksiyonel Olarak İlişkilendirilen Polimorfizmlerin Skorlanması

Obezite üzerinde en çok etkisi olduğu tespit edilen rs1421085 polimorfizmi, FTO geninin intronunda bulunan bir varyant olup T yerine C allelinin gelmesiyle obezite üzerinde yüksek oranda ve anlamlı derecede bir risk oluşturduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Claussnitzer et al., 2015; Dina et al., 2007). 2019 yılında yapılan bir çalışmada CT genotipinin yaklaşık 1.6 kat obezite riskini arttırdığı, yüksek antropometrik değerlerle eşleştiği ve bazı kan değerlerinde artışa sebep olduğu görülmüştür (Rana & Bhatti, 2020). Bu polimorfizm üzerinde yapılan linkaj çalışmaları ise rs1421085, rs17817449 and rs9939609 polimorfizmlerinin yüksek derecede linkaj içerisinde olduğunu tespit etmiştir (Antonio et al., 2019; Price, Li, & Zhao, 2008). C alleleline olan dönüşümün ARID5B represörünün korunmuş motif yapısına zarar verdiği ve bu durumda erken adiposit farklılaşması sürecinde görev alan IRX3 ve IRX5'in ikiye katlanmasına yol açtığı bulunmuştur (Claussnitzer et al., 2015). Bağlantı içerisinde bulunan rs17817449 polimorfizmi de yapılan fonksiyonel analiz sonucunda en yüksek etkiye sahip olan varyantlar arasında 5. Sırada yer almaktadır. Yine FTO geninde bulunan bir intron varyantı olup T yerine G allelinin gelmesi durumunda yüksek obezite riskiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (S. W. Cha et al., 2008).

Gerçekleştirilen analiz sonucunda en etkili ikinci polimorfizm rs17782313 olarak bulunmuştur. Bu polimorfizm, MC4R geninin yakınlarında bulunan intergenik bir bölgede meydana gelmekte ve T allelinin yerini C allelinin almasıyla obezite riskini arttırdığı bilinmektedir (Leonska-Duniec, Jastrzebski, Zarebska, Smolka, & Cieszczyk, 2017). Ruth J F Loos ve grubu yaptıkları çalışmayla C alleleline sahip bireylerin 0,22 kat daha yüksek obezite riskine sahip olduğu tespit etmiştir (Loos et al., 2008). Başka bir çalışmada ise bazı polimorfizmlerin beslenme alışkanlıkları üzerindeki etkisi araştırılmış ve rs17782313 varyasyonuna sahip kişilerin daha yüksek kalori ve yağ aldıklarını görülmüştür (Qi, Kraft, Hunter, & Hu, 2008). F Stutzmann ve ekibi de yine aynı konu üzerinde çalışma gerçekleştirmiş ve bu polimorfizmin beslenme alışkanlıklarına etkisinin olduğu fikrini desteklemiş ve daha çok araştırılması gereken bir konu olduğunu belirtmiştir (Stutzmann et al., 2009). Bu konuda etkisi araştırılan ve yapılan analiz sonucunda üçüncü sırada yer alan rs8050136 da FTO geni üzerinde meydana gelmekte ve A allelinin bulunması durumunda obeziteye yatkınlığa sebep olmaktadır. Beslenme ile ilgili olan ilişkisinde ise besin tüketimini arttırdığı tespit edilmiştir (Haupt et al., 2009; Y. Liu et al., 2010). Yine bu gen üzerinde meydana gelen ve yüksek skor değerine sahip olan rs1121980 polimorfizminde T allelinin de obezite ile yüksek anlamda bağlantılı olduğu

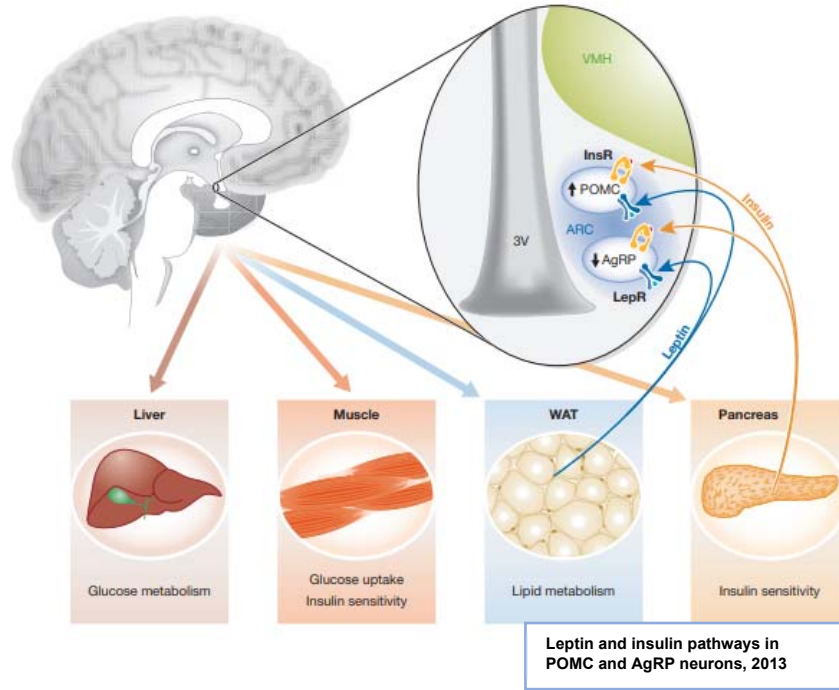
görülmüştür (Hinney et al., 2007; Hotta et al., 2008). Ayrıca bu polimorfizmin rs8050136 ve rs9939609 polimorfizmleriyle de yüksek oranda bağlantılı olduğu bu tezde bulunmuş ve bu bilgi literatür çalışmalarıyla da desteklenmiştir.

Obezite üzerinde en etkili genleri bulmak için yine aynı şekilde fonksiyonel analiz gerçekleştirildi ve DisGeNet skortlama sistemi kullanıldı. Yapılan analiz sonucunda şaşırtıcı olarak varyant sıralamasından farklı bir sıralama elde edilmiştir. Bu farklılığın temel sebebinin ise polimorfizmlerden bağımsız olarak gen üzerinde veya gen ürünü protein yapısında meydana gelebilecek herhangi bir hasarın obeziteye katkı sağlayabileceği bu nedenle de varyant ve gen sıralamasında farklılıklar olduğu düşünülmektedir.

Hastalık	Gen	UniProt ID	Genin Tam İsmi	Skor
Obezite	MC4R	P32245	Melanocortin 4 Receptor	1.0
Obezite	PPARG	P37231	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma	1.0
Obezite	POMC	P01189	Proopiomelanocortin	0.9
Obezite	CPE	P16870	Carboxypeptidase E	0.7
Obezite	AGRP	O00253	Agouti Related Neuropeptide	0.7
Obezite	SH2B1	Q9NRF2	Sh2b Adaptor Protein 1	0.7
Obezite	LEP	P41159	Leptin	0.7
Obezite	LEPR	P48357	Leptin Receptor	0.7
Obezite	PCSK1	P29120	Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 1	0.7
Obezite	ENPP1	P22413	Ectonucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase 1	0.7
Obezite	SIM1	P81133	Sim Bhlh Transcription Factor 1	0.7
Obezite	UCP3	P55916	Uncoupling Protein 3	0.7
Obezite	NR0B2	Q15466	Nuclear Receptor Subfamily 0 Group B Member 2	0.69
Obezite	BBS4	Q96RK4	Bardet-Biedl Syndrome 4	0.6
Obezite	MKKS	Q9NPJ1	Mckusick-Kaufman Syndrome	0.6
Obezite	BBS1	Q8NFJ9	Bardet-Biedl Syndrome 1	0.6
Obezite	CNR1	P21554	Cannabinoid Receptor 1	0.6
Obezite	CRP	P02741	C-Reactive Protein	0.6
Obezite	ESR1	P03372	Estrogen Receptor 1	0.6
Obezite	SIRT3	Q9NTG7	Sirtuin 3	0.6
Obezite	SIRT1	Q96EB6	Sirtuin 1	0.6
Obezite	HSD11B1	P28845	Hydroxysteroid 11-Beta Dehydrogenase 1	0.6
Obezite	IL6	P05231	Interleukin 6	0.6
Obezite	IRS1	P35568	Insulin Receptor Substrate 1	0.6

Şekil 13. Obezite ile Fonksiyonel Olarak İlişkilendirilen Genlerin Skorlanması

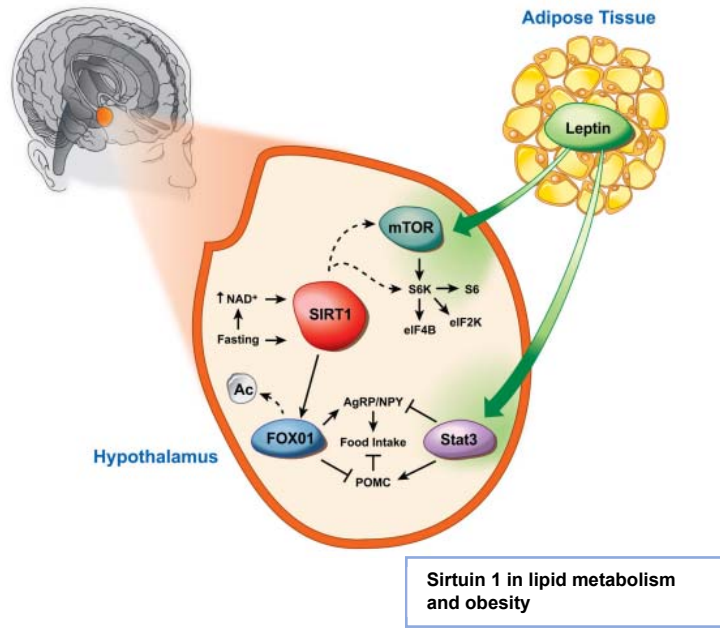
Bu sıralamada en üstte yer alan MC4R geni enerji homeostazı ve açlık-tokluk sinyallerinin oluşturulmasında görev alan bir gen olup insanlar üzerinde yapılan genetik araştırmalar sonucunda monogenik obeziteye sebep olduğu keşfedilmiştir. Merkezi sinir sisteminde en çok görülmekle birlikte özellikle hipotalamustaki açlık/tokluk merkezi olan kavisli çekirdek bölgesinde de oldukça yüksek bir ekspresyona sahiptir. Besin tüketiminin ardından tokluk sinyallerini üreten POMC nöronları aktifleşerek açlık sinyallerini oluşturan AgRP nöronlarını inhibe eder, böylece MC4R aktivasyonu artar ve açlık baskılanır ve besin alımı durdurulur. Rol oynadığı temel yollar sebebiyle bu gen üzerinde meydana gelen herhangi bir mutasyon veya protein düzeyindeki bir hasar erken gelişen obeziteye sebep olduğu görülmüştür (da Fonseca et al., 2019; Iepson et al., 2018; R. Liu, Kinoshita, Adolphi, & Scharf, 2019; Tao, 2010). Yapılan bir çalışma bu gende meydana gelen bir polimorfizmin yüksek proteinli diyet durumunda daha fazla acıkmaya sebep olduğunu göstermiştir (T. Huang et al., 2017). Genlerin obezite üzerinde etkisini gösteren bu analiz sonucunda yine MC4R geni ile bağlantılı olan POMC, AgRP, LEP (Leptin) ve LEPR (Leptin Reseptör) genleri baş sıralarda yer almakta ve obezitenin genetik kaynaklı temel sebeplerinin belirli bir odak noktasında yoğunlaşması dikkat çekmektedir. Bu 4 genin de MC4R geni ile birlikte hipotalamusta açlık/tokluk dengesini sağlamak ve birbirleriyle kuvvetli bir etkileşim içerisinde oldukları bilinmektedir. Leptin adipoz doku tarafından salgılanmakta ve kan-beyin bariyerinden beyine ulaşarak hipotalamustaki POMC ve AgRP nöronlarını uyarmakta ve açlık-tokluk dengesinin sağlanmasına etki etmektedir. Leptinin bu iki nöronu uyarması ise POMC ve AgRP nöronlarında ekspresyonu oldukça fazla olan LEPR sayesinde gerçekleşmektedir. Beslenme durumunda artan leptin ekspresyonu ile beyindeki tokluğu sağlayan LEPR aracılığıyla POMC nöronları aktive edilirken açlık uyarımını sağlayan AgRP nöronları inhibe edilerek MC4R aktivasyonu artmakta ve bu durumda vücutta tokluk durumu oluşmaktadır. Bu durumda tokluk duygusunun oluşmasında merkezi bir yerde bulunan LEP ve LEPR geninde bir hasar meydana geldiğinde obezite durumunun geliştiği yapılan fare deneylerinde de görülmüştür (Gamber et al., 2012; Goncalves, Li, Garcia, Figueiredo, & Bjorbaek, 2014; Huo et al., 2009; Varela & Horvath, 2012).



Şekil 14. POMC, AgRP ve LEP genlerinin görev yolları

Sıralamada ikinci sırada yer alan PPAR γ geni, yağ hücrelerin farklılaşma sürecini başlatan anahtar genlerden biri olup lipid metabolizmasında, inflamasyonda ve enerji dengesinin kurulmasında rol oynamaktadır. Aynı zamanda termogenez sürecinde de yer almaktadır. Bu görevini ise yine yapılan analiz kapsamında obeziteyle ilişkilendirilen genlerin başlarına bulunan UCP1 geni ile birlikte gerçekleştirmektedir. Aktifleşen PPAR γ geni UCP ekspresyonunu tetikler ve ısı üretimini tetikleyerek vücudun ısı dengesini korumaya aracılık etmektedir (Lasar et al., 2018; Ma, Wang, Zhao, & Xu, 2018; Mattevi, Zembruski2, & Hutz, 2007). PPAR γ geninde meydana gelen mutasyonlar sonucun lipid ve enerji metabolizmasında oynadığı kilit roller de doğrultusunda obezite etiyolojisinde kuvvetli etkiye sahip olmaktadır (Mansoori, Amini, Kolaheidoz, & Seyedrezazadeh, 2015; Mattevi et al., 2007). Yapılan bir çalışma PPAR γ geni zarar görmüş farelerin PPAR γ geninde herhangi bir mutasyon olmayan farelere kıyasla daha küçük yağ hücrelerine sahip olduğu ve obezite riskinin düşük olduğunu göstermiştir (Kadowakia et al., 2002). SIRT1 geni de yapılan analiz sonucunda etkili genlerden biri olup lipid metabolizmasında PPAR γ geni ile etkileşim içerisinde bulunmaktadır. SIRT1 geni enerji metabolizmasının önemli düzenleyicilerinden biri olmakla birlikte vücudun yağlanma (adipozite) kapasitesi

üzerinde de etkileri bulunmaktadır. Aktifleşen SIRT1, PPAR γ genine bağlanabilme ve onu inhibisyonuna sebep olabilmektedir. Böylece adipogenez sürecinin de durdurulmasına sebep olarak periferal dokularda obezite karşıtı bir etki göstermektedir. Ancak bunun tersine hipotalamusta artan SIRT1 ekspresyonunun besin alınımlı tetiklediği ve obeziteyi tetiklediği görülmüştür (Cakir et al., 2009; Jiang, Wang, Miner, & Fromm, 2012; Mariani et al., 2018; Mariani et al., 2020; Schug & Li, 2011).

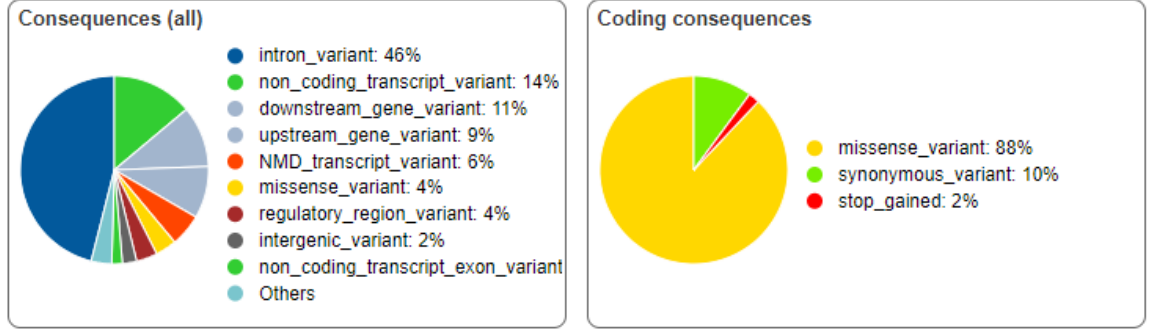


Şekil 15. SIRT1 geninin görev yolları

4.3. TİP 2 DİYABETE DAYALI GWAS VERİLERİNDEN İLGİLİ POLİMORFİZMLERİN TESPİTİ VE LİNKAJ ANALİZİ

GWAS Catalog'dan Tip 2 Diyabet ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde eşleşen 3903 varyant tespit edilmiştir. Elde edilen bu polimorfizmler, VEP (Variant Effect Predictor) aracı kullanılarak hangi gen üzerinde bulundukları, kromozom üzerinde lokasyonları vb. gibi detaylı sınıflandırma sonuçları elde edilmiştir. Bunun sonucunda tespit edilen 3903 varyant içerisinde yaklaşık 1795 tanesinin intron, 2 tanesinin intergenik bölge, 351'inin upstream, 429'unun downstream bölge üzerinde bulunduğu görülmüştür. Kodlanan bölge içerisinde bulunan bu varyantların yüksek bir oranda Sinonim Olmayan Polimorfizmi olduğu; %88 Kayıp (missense) Protein Polimorfizmi, %2

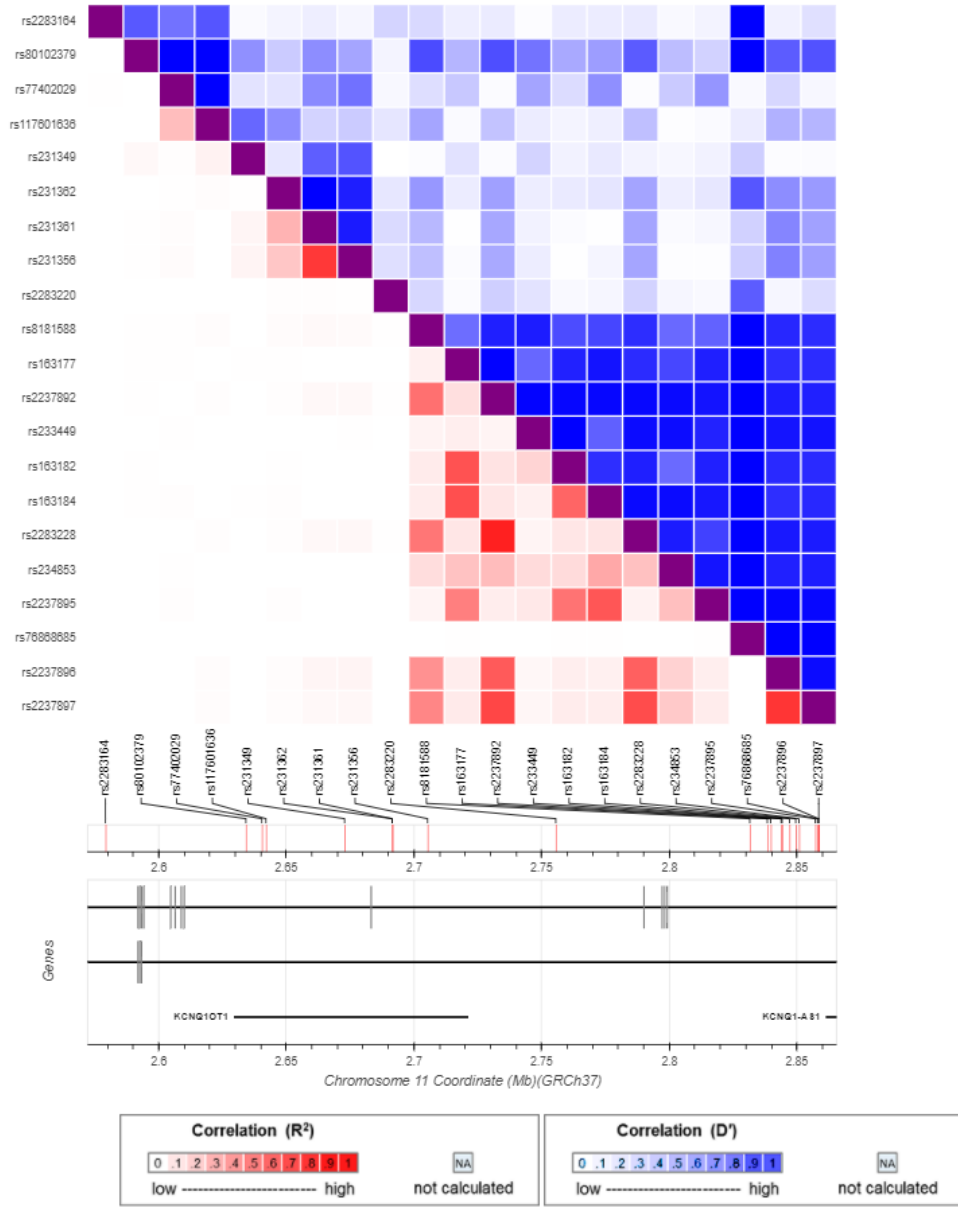
Anlamsız Polimorfizm, %10'unun ise Sinonim Polimorfizm olduğu tespit edilmiştir (Şekil14).



Şekil 16. Tip 2 Diyabete Dayalı GWAS Verilerinin VEP Aracı ile Analizinden Elde Edilen Polimorfizm Sınıflandırma Sonuçları

Tip 2 diyabetle ilgili polimorfizm ve ait olduğu genler incelendiğinde, polimorfizmlerin diğer genlere nispeten özellikle bazı genler (KCNQ1, IGF2BP2, CDKAL1, TCF7L2, C5orf67, GPSM1, THADA, UBE2E2, ANK1, GLIS3, ZMIZ1, AP3S2, FTO) üzerinde yoğunlaştığı görülmüştür.

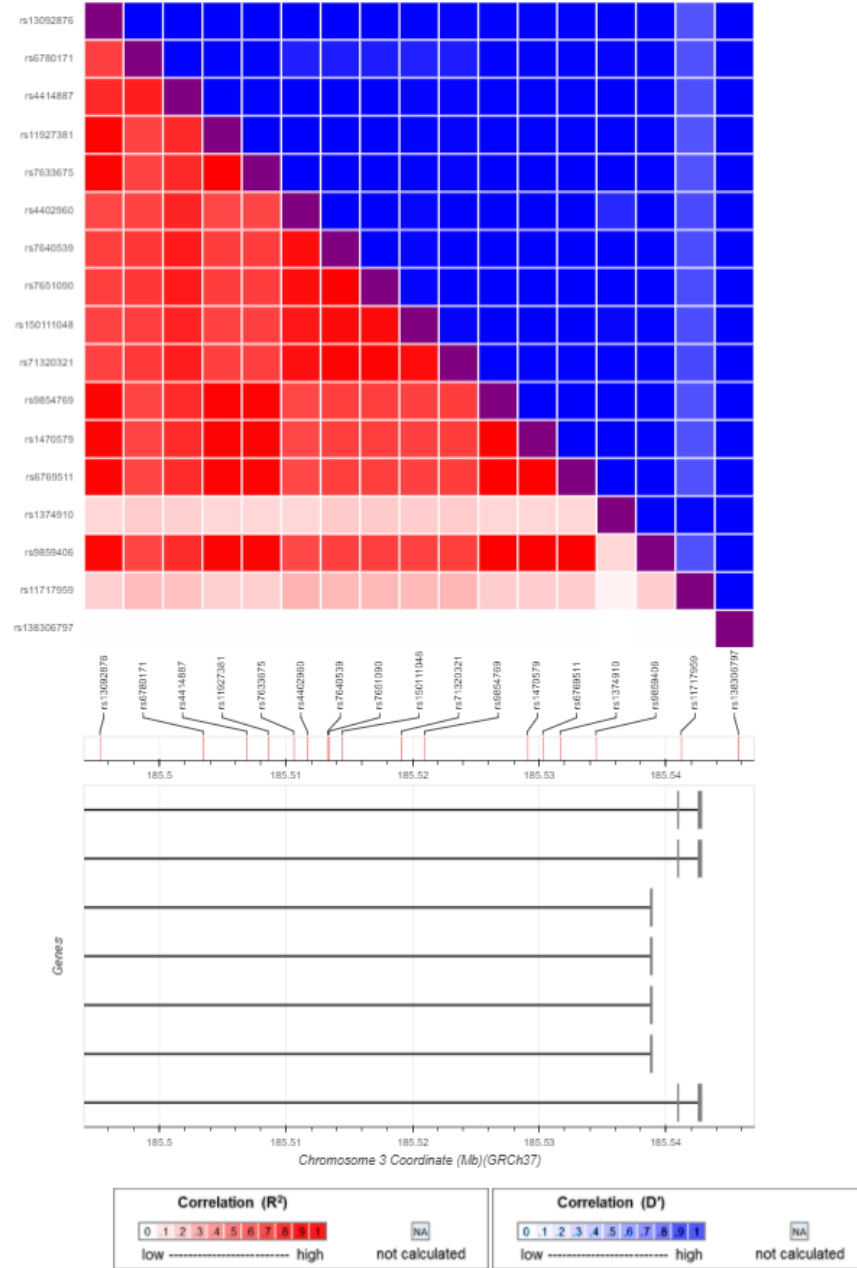
KCNQ1 geni, Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalları'nın por yapısını kodlayan bir gen olup temel görevi kalp hareketinin gerçekleşmesi için repolarizasyonun sağlanmasıdır. Aynı zamanda periferel dokularda su ve tuz moleküllerinin taşınmasında ve insülin sinyal yollarında da görev almaktadır. Pankreastaki Beta hücrelerinde elektriksel bir uyarımla insülin salımlarını sağlamaktadır. Yapılan birçok çalışmayla bu gen üzerinde meydana gelen bazı tek nükleotid polimorfizmlerinin insülin sinyal yollarını bozarak tip 2 diyabete öncülük ettiği tespit edilmiştir (Riobello et al., 2016; Q. Sun, Song, Shen, & Cai, 2012; Yasuda et al., 2008). GWAS'ta yer alan bu polimorfizmlerin tespitinin ardından bu polimorfizmlerin birbirleriyle olan bağlantısını ortaya koyabilmek için linkaj analizi gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda en yüksek linkaj değerine rs2237892 ve rs2283228 ($r^2 > 0,875$ ve P value $< 1 \times 10^{-5}$), rs2237896 ve rs2237897 ($r^2 > 0,791$ ve P value $< 1 \times 10^{-5}$) polimorfizmlerinin sahip olduğu görülmüştür. Elde edilen bu bilgi literatürden kontrol edildiğinde destekleyici bir sonuç bulunamamıştır. Ancak yapılan bir çalışmada rs2237892 ve rs2237895 polimorfizmlerinin orta derecede bir linkaja sahip olduğu tespit edilmiştir (Q. Sun et al., 2012). rs2237892 üzerine yapılan çalışmalar C alleli yerine T allelinin bulunması durumunda kişinin tip 2 diyabete olan yatkınlığını önemli oranda arttırdığını göstermektedir (Y. Y. Li, Wang, & Lu, 2014; W. Zhang, Wang, Guan, Niu, & Li, 2015).



Şekil 17. KCNQ1 Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu

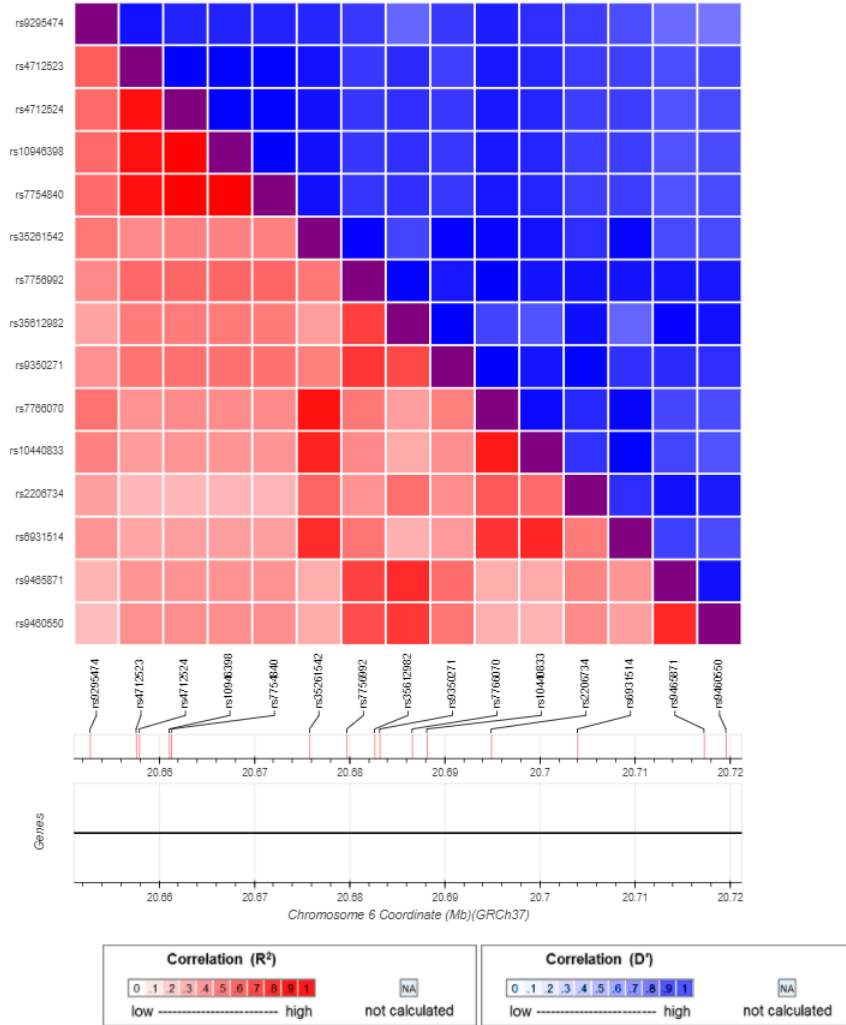
IGF2BP2 geni, İnsülin Benzeri Büyüme Hormonu 2'nin transkripsiyon sonrası modifikasyonlarında görev alarak Beta hücrelerinin fonksiyonunu yerine getirmesinde rol oynadığı ve insülin salınımını düşürdüğü bilinmektedir. Ekspresyonu özellikle pankreatik beta hücrelerinde yüksek miktarda bulunmaktadır (Rao et al., 2016; L. F. Zhang et al., 2014; Zhao et al., 2012). Linkaj analizi sonucunda rs1470579, rs9854769 ve rs6769511 polimorfizmleri birbirleriyle bağlı olduğu ($r^2 \geq 1$ ve P value $< 1 \times 10^{-5}$) ve yine rs7640539 ve rs7651090 polimorfizmlerinin yüksek derecede linkaj içerisinde

($r^2 > 0,999$ ve P value $< 1 \times 10^{-5}$), bulundukları tespit edilmiştir. Elde edilen linkaj sonuçları literatürde kontrol edilmiş ancak doğrulayıcı bir sonuç elde edilememiştir. Ancak literatürde rs1470579 ve rs4402960 ($r^2 > 0,87$) polimorfizmlerinin anlamlı derecede linkaj içerisinde bulunduğu ve bu polimorfizmlerin tip 2 diyabet için riski üzerinde çok önemli etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Omori et al., 2008; Rao et al., 2016; Tabara et al., 2009).



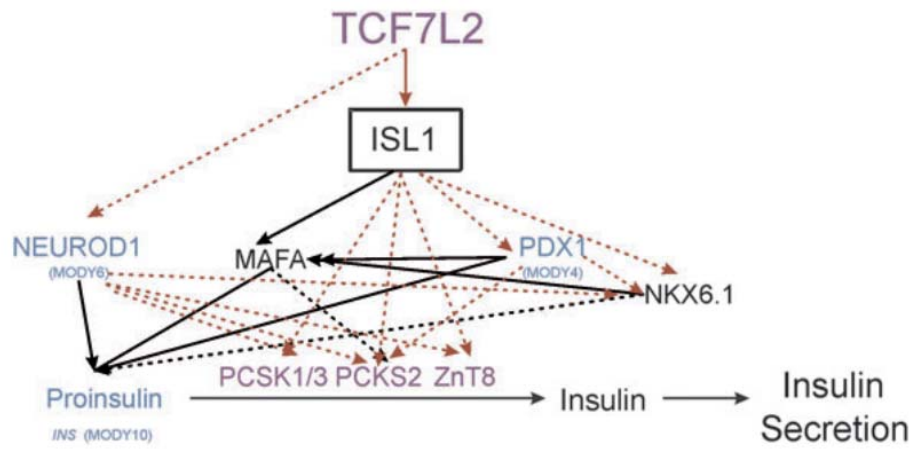
Şekil 18. IGF2BP2 Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu

CDKAL1 geni tip 2 diyabet patolojisiyle yüksek oranda eşleşen ve bu gende meydana gelen varyasyonlar, glikoz uyarımının ardından proinsülin salınımı ve insülin sinyallerinin oluşumunda probleme neden olmaktadır (Y. Y. Li et al., 2013; Tian et al., 2019). rs10946398, rs7754840 ve rs4712524 , rs4712524, rs7754840 ve rs4712523 polimorfizmlerinin yapılan analizde yüksek derecede ($r^2 > 0,93$ ve P value $< 1 \times 10^{-5}$) bağlantılı oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca rs10946398, rs7754840 ve rs4712523 polimorfizmleri arasında tespit edilen linkaj Laura J. Scott¹ ve ekibinin 2007 yılında yaptığı bir çalışma ile doğrulanmıştır (Scott et al., 2007). Yapılan bir çalışmada, rs7754840 polimorfizminde heterozigot ve homozigot olarak C allelini taşıyan bireylerin sırasıyla %11 ve %24 daha az insülin salınımına sahip oldukları görülmüş ve bu polimorfizmin tip 2 diyabet riskini arttırdığı belirtilmiştir (Stancakova et al., 2008).



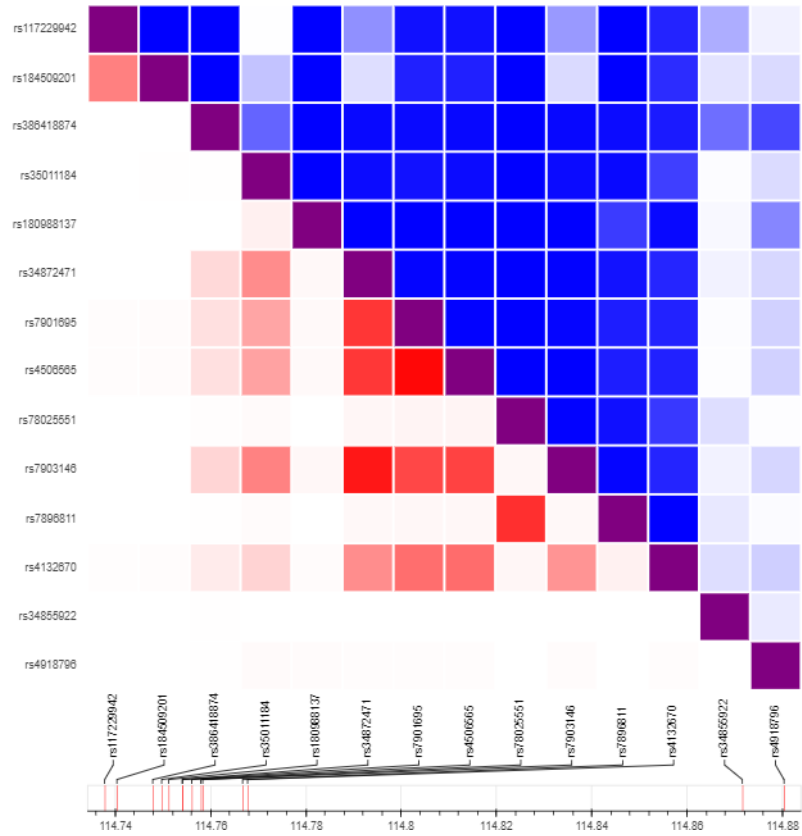
Şekil 19. CDKAL1 Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu

Analiz sonucunda tek nükleotid polimorfizmlerinin yoğunlaştığı bir diğer gen TCF7L2 geni olu bu genin literatürde de tip 2 diyabetle yüksek ilişki olduğu ve bu ilişkinin tüm ırklarda gözlemlendiği belirtilmiştir (Z.-q. Huang, Liao, Huang, Chen, & Sun, 2018; Marinkovic et al., 2007; Zhou et al., 2014). TCF7L2 çoğu periferel dokuda ekspresyonu bulunan ve Wnt sinyal yolağındaki bir transkripsiyon faktörüdür. Yuedan Zhou ve ekibi bir yayınlarında, proinsülinin insüline dönüşmesini kontrol eden ve insülin sinyal yolağında master düzenleyicilerden biri olan bir gen olduğunu bildirmiştir (Zhou et al., 2014). Başka bir çalışma ise GWAS çalışmaları üzerinde yaptıkları incelemeler sonucunda bu genin tip 2 diyabeti regüle eden ilk ve en kuvvetli genlerden biri olduğu göstermiştir (Grant, 2019).



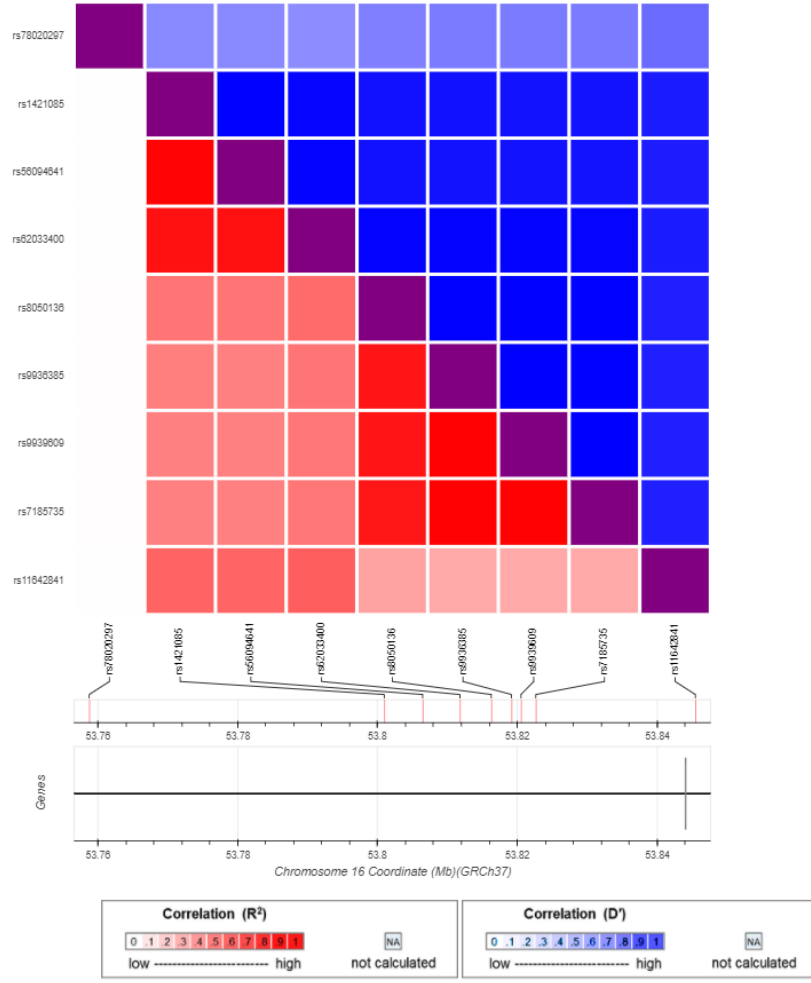
Şekil 20. TCF7L2 geni görev yolakları

TCF7L2 genine ait polimorfizmler üzerine linkaj analizi uygulandığında, rs386418874 ve rs60216684 polimorfizmlerinin bağlı olduğu, rs7901695 ve rs4506565, rs7903146 ve rs34872471 polimorfizmlerinin anlamlı derecede yüksek linkaja derecede ($r^2 > 0,90$ ve P value $< 1 \times 10^{-5}$) sahip oldukları tespit edilmiştir. rs7901695 ve rs7903146 arasındaki linkaj literatürden de doğrulanmıştır (Scott et al., 2007). rs4506565 ve rs7903146 polimorfizmlerinin tip 2 diyabet riskini oldukça arttırdığı bilinmektedir (Wellcome Trust Case Control, 2007).



Şekil 21. TCF7L2 Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu

Tip 2 diyabetle yüksek oranda eşleşen ve bu ilişkinin literatürde de birçok çalışmayla doğrulandığı FTO geni polimorfizmlerine uygulanan linkaj analizi sonucunda rs9939609, rs9936385 ve rs7185735, rs56094641, rs62033400 ve rs1421085 polimorfizmlerinin yüksek derecede ($r^2 > 0,93$ ve P value $< 1 \times 10^{-5}$) bağlantılı olduğu bulunmuştur. rs9939609 ve rs9936385 arasındaki kuvvetli linkaj literatürde yapılan araştırma sonucunda da doğrulanmıştır ($r^2 > 0,97$) (H. Li et al., 2008).



Şekil 22. FTO Geninde Meydana Gelen Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Linkaj Analizinden Elde Edilen Heatmap Sonucu

4.4. TİP 2 DİYABETLE İLİŞKİLENDİRİLEN TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ VE GENLERİN FONKSİYONEL ANALİZİ

GWAS verilerinin değerlendirilmesi ve analizinin ardından obezitede olduğu gibi DisGeNet veritabanında tip 2 diyabetle eşleşen polimorfizmler ve ait oldukları genler üzerine fonksiyonel bir analiz gerçekleştirilmiştir.

Hastalık	Varyant	Gen	Sonucu	Allel	Skor
Diabetes Mellitus	rs9939609	FTO	intron variant	T/A	0.8
Diabetes Mellitus	rs1333049	CDKN2B-AS1	intron variant	G/C	0.74
Diabetes Mellitus	rs780094	GCKR	intron variant	T/C	0.74
Diabetes Mellitus	rs587783672	KCNJ11	missense variant	C/T	0.72
Diabetes Mellitus	rs13333226	UMOD	intron variant	A/G	0.71
Diabetes Mellitus	rs193929355	KCNJ11	missense variant	C/T	0.71
Diabetes Mellitus	rs4420638	APOC1	downstream gene variant	A/G	0.71
Diabetes Mellitus	rs80356625	KCNJ11	missense variant	G/A	0.71
Diabetes Mellitus	rs10084572	LOC105372829	downstream gene variant	T/A;C;G	0.7
Diabetes Mellitus	rs10224002	PRKAG2	intron variant	A/G	0.7
Diabetes Mellitus	rs10224210	PRKAG2	intron variant	T/C	0.7
Diabetes Mellitus	rs10401969	SUGP1	intron variant	T/C	0.7
Diabetes Mellitus	rs1047891	CPS1	missense variant	C/A	0.7
Diabetes Mellitus	rs10497721	LOC101927366;	intron variant	C/A;T	0.7
Diabetes Mellitus	rs1057515576	TMEFF2 ARL6	frameshift variant	TAT/GAAAA	0.7
Diabetes Mellitus	rs1057518903	MEN1	splice region variant	C/-	0.7
Diabetes Mellitus	rs10811652	CDKN2B-AS1	intron variant	A/C;T	0.7
Diabetes Mellitus	rs10941191		intergenic variant	C/A;T	0.7
Diabetes Mellitus	rs11124945	PLEKHH2	intron variant	A/G	0.7
Diabetes Mellitus	rs113296370	PLEKHH2	upstream gene variant	A/C	0.7
Diabetes Mellitus	rs1135401784	CP	missense variant	A/G	0.7
Diabetes Mellitus	rs11622435	LOC101928462	intron variant	G/A	0.7
Diabetes Mellitus	rs11864909	PDILT	intron variant	C/T	0.7
Diabetes Mellitus	rs12310617		intergenic variant	C/T	0.7
Diabetes Mellitus	rs12369179	ZCCHC8	intron variant	C/T	0.7

Şekil 23. Tip 2 Diyabet ile Fonksiyonel Olarak İlişkilendirilen Polimorfizmlerin Skorlanması

Fonksiyonel analizden elde edilen sonuca göre en yüksek skora sahip, tip 2 diyabetle en çok ilişkilendirilen polimorfizm FTO geninde meydana gelen rs9939609 polimorfizmidir. T allelinin yerine A allelinin gelmesiyle oluşan bu polimorfizm, heterozigot veya homozigot olarak bulunması durumunda bir kişinin sahip olduğu tip 2 diyabet riskini sırasıyla 1,34 ve 1,55 kat arttırdığı tespit edilmiştir (Wellcome Trust Case Control, 2007). Daha önce de belirtildiği gibi literatürde bu polimorfizmin rs1421085 ve rs17817449 polimorfizmleriyle anlamlı derecede yüksek linkaja sahip olduğu belirtilmiştir. Bu polimorfizmler fonksiyonel olarak değerlendirildiğinde ise tip 2 diyabetle düşük derecede eşleştiği veya herhangi bir eşleşmenin bulunmadığı görülmüştür. Bu bilgi literatürde de kontrol edilmiş ve düşük korelasyon doğrulanmıştır (H. Li et al., 2008).

Analiz sonucunda yüksek skorla elde edilen diğer polimorfizmlerin ilişkisi literatürde de kontrol edilmiş ancak şaşırtıcı bir şekilde kuvvetli görülen bu ilişkilerin varlığı literatürde bulunamamıştır. Bu tez kapsamında elde edilen bu sonucun literatüre yeni etkileşim ağlarını sunmuş olduğu ve bu etkileşim ağlarının ise hastalık için yeni bir umut olabileceği düşünülmektedir. Özellikle bu sonuçların içerisinde yer alan rs780094 polimorfizminin insülin salınımında önemli etkilerinin olduğu bilinmekte ve ileri araştırmaların çok daha anlamlı sonuçları beraberinde getireceği beklenmektedir.

Polimorfizmlerin fonksiyonel olarak sınıflandırılmasının ardından aynı analiz genler üzerinde gerçekleştirilmiş ve en yüksek skora sahip olan genler belirlenmiştir.

Hastalık	Gen	Genin Tam İsmi	Skor
Diabetes Mellitus	INS	insulin	0.7
Diabetes Mellitus	PPARG	peroxisome proliferator activated receptor gamma	0.5
Diabetes Mellitus	CP	ceruloplasmin	0.46
Diabetes Mellitus	RAC1	Rac family small GTPase 1	0.45
Diabetes Mellitus	APPL1	adaptor protein, phosphotyrosine interacting with PH domain and leucine zipper 1	0.43
Diabetes Mellitus	EIF2S3	eukaryotic translation initiation factor 2 subunit gamma	0.41
Diabetes Mellitus	FN1	fibronectin 1	0.4
Diabetes Mellitus	SIRT1	sirtuin 1	0.4
Diabetes Mellitus	IRS1	insulin receptor substrate 1	0.4
Diabetes Mellitus	LEPR	leptin receptor	0.4
Diabetes Mellitus	ATP6	ATP synthase F0 subunit 6	0.4
Diabetes Mellitus	POMC	proopiomelanocortin	0.4
Diabetes Mellitus	PON1	paraoxonase 1	0.4
Diabetes Mellitus	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2	0.4
Diabetes Mellitus	SOD1	superoxide dismutase 1	0.4
Diabetes Mellitus	CAT	catalase	0.4
Diabetes Mellitus	NR1I2	nuclear receptor subfamily 1 group I member 2	0.4
Diabetes Mellitus	ADIPOQ	adiponectin, C1Q and collagen domain containing	0.4
Diabetes Mellitus	AOC3	amine oxidase copper containing 3	0.39
Diabetes Mellitus	IL2RA	interleukin 2 receptor subunit alpha	0.38
Diabetes Mellitus	PAX6	paired box 6	0.38
Diabetes Mellitus	CYBB	cytochrome b-245 beta chain	0.36
Diabetes Mellitus	NR1I3	nuclear receptor subfamily 1 group I member 3	0.35
Diabetes Mellitus	MAP3K5	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5	0.34
Diabetes Mellitus	MT2A	metallothionein 2A	0.34

Şekil 24. Tip 2 Diyabet ile Fonksiyonel Olarak İlişkilendirilen Genlerin Skorlanması

En yüksek skora sahip gen INS geni olarak bulunmuştur. INS geni sadece pankreatik Beta hücreleri tarafından transkribe edilebildiği bilinmektedir. Glikozun uyarımıyla birlikte bu hücrelerden insülin salınımı gerçekleşmektedir. Bu gen üzerinde bir mutasyon meydana geldiğinde fonksiyonunu tam olarak yerine getirememekte ve dolayısıyla bu durum tip 2 diyabet riskini yönetmektedir (Barroso et al., 2003; Pugliese & Miceli, 2002; Raile et al., 2011). Bir diğer önemli gen olan PPAR γ , insülin yolaklarında insüline karşı duyarlılığı artırıcı olarak görev almakta ve insüline olan duyarlılığı arttıran ve tip 2 diyabet için ilaç olarak da kullanılan tiazolidindionlara reseptör görevi görmektedir. Çok yaygın olarak görülen Pro12Ala veya rs1801282 olarak da adlandırılan polimorfizm tip 2 diyabet ile yüksek oranda etkileşime sahip olduğu bilinmektedir. C yerine G allelinin gelmesiyle tip 2 diyabete yatkınlığa sebep olmaktadır (Celi & Shuldiner, 2002; Wellcome Trust Case Control, 2007). Negar Sarhangi ve ekibi ise bu etkiyi farklı kökenler üzerinde de denemiş ve sonucun benzer olduğunu göstermiştir (Sarhangi et al., 2020). rs1805192 ve rs3856806 polimorfizmlerinin de tip 2 diyabet riskini arttırabileceği belirtilmiştir (Lv et al., 2017). Tip 2 diyabet fizyolojisinde oldukça önemli bir diğer gen olan ADIPOQ geni, PPAR γ agonisti bazı moleküllerin bu geni aktiveştirmesinin ardından ADIPOQ geninin ekspresyonunu arttırdığı ve plasma adiponektin seviyesinin indüklendiği hem insanlar hem de hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda görülmüştür (AlSaleh, Sanders, & O'Dell, 2012; Sanghera et al., 2010).

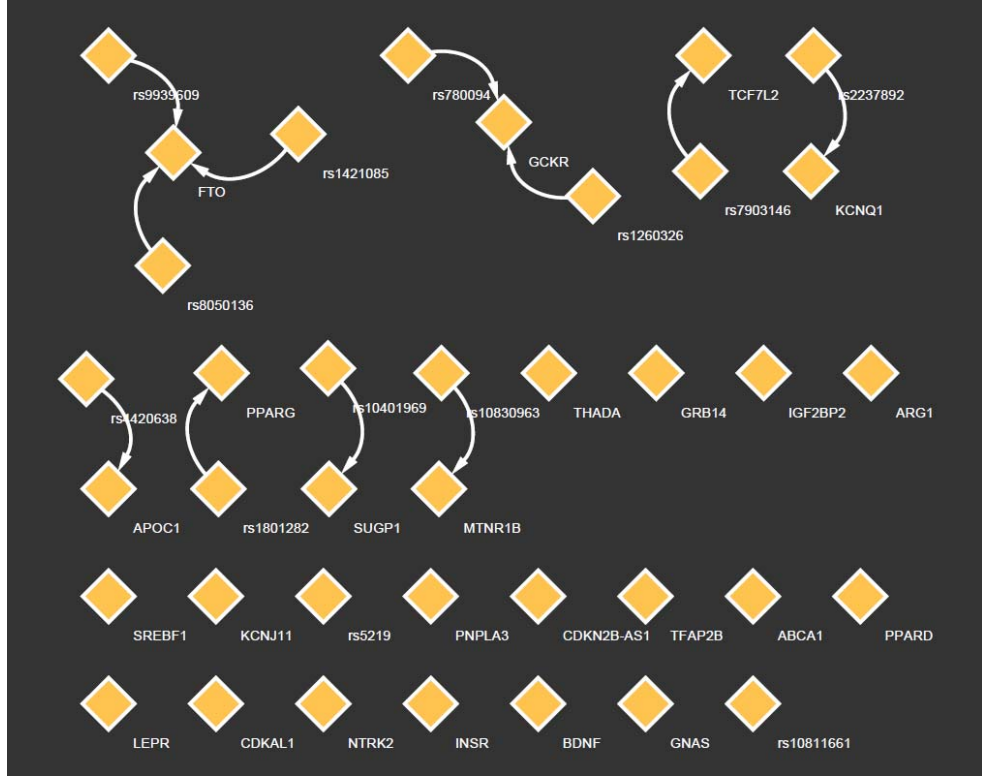
SIRT1 geni, vücutta glikoz homeostazının sağlanmasında, insülin salınımında rol oynamakta ve pankreatik beta hücrelerinin toksik streslerden korunmasını sağlamaktadır. Ayrıca bir insülin reseptör substratı olan IRS2 geninin fosforilasyonunu indüklediği ve böylece insülin molekülünün temel mekanizmasında görev aldığı rapor edilmiştir. Başka bir çalışma da kas hücrelerinde IR ve IRS1 genlerinin de fosforilasyonunda rol oynadığını göstermiştir (Kitada & Koya, 2013; Song et al., 2018; C. Sun et al., 2007; J. Zhang, 2007) SIRT1 ile etkileşimi olduğu bilinen IRS1 geni yapılan analiz sonucunda en fonksiyonel olarak bulunan genlerden bir tanesi olarak tespit edilmiştir. Son araştırmalar SIRT1 geninin tip2 diyabet tedavisinde yeni hedef olabileceğini ve öneminin büyük olduğunu göstermektedir. Ming-Ming Cao ve ekibi fareler üzerinde yaptıkları çalışmada resveratrolun SIRT1 geninin ekspresyonuna etki ederek tip 2 diyabeti önlediğini görmüşlerdir (Cao et al., 2018). Tip 2 diyabetin tedavisi için sıkça başvuru alan kalori kısıtlama yönteminin SIRT1 geni üzerinde de etkisi olduğu 2013 yılındaki bir çalışmada gözlemlenmiştir (Kitada & Koya, 2013).

Açlık ve tokluk hissinin dengesini sağlayan ve hipotalamusta bulunan LEPR ve POMC genlerinin tip 2 diyabetle yüksek etkileşim içerisinde bulunduğu yapılan analizde görülmüştür. LEPR geninin tokluk hissinin oluşturmada yanında insülin salınımına da etki ettiği bilinmektedir. NPY nöronuna bağlanarak inhibisyonuna ve insülin salınımının azalmasına sebep olmakta, aynı zamanda beta hücrelerinde de insülin salınımını kontrol etmekte ve insülin hassasiyetini arttırmaktadır (Borges, Han, Allen, Garcia-Galiano, & Elias, 2019; Y.-Y. Li et al., 2017). rs1137101 polimorfizmi bu gen üzerinde meydana gelen bir polimorfizm olup G allelinin bulunması tip 2 diyabete yüksek yatkınlığa sebep olmakla eşleşmektedir (Y.-Y. Li et al., 2017; Yang et al., 2016). Hipotalamusta LEPR birlikte görev yapan POMC geninin ise periferik dokulardaki insülin hassasiyetini düzenlediği ve bu gende meydana gelen bozuklukların tip 2 diyabete olan yatkınlık derecesini regüle edebildiği bilinmektedir (Rubinstein & Low, 2017; Witka et al., 2019).

PON1 geni vücutta zararlı maddelerin dışarı atılması yani detoksifikasyon yollarında görev almakta ve aynı zamanda lipoproteinleri oksidasyondan koruyarak LDL oksidasyonuna da etki etmektedir. Bu gen üzerinde meydana gelen bazı tek nükleotid polimorfizmlerinin de bu genin fonksiyonunu bozarak tip 2 diyabete karşı risk artışına sebep olduğu bulunmuştur (Hashemi, Mousavi, Arab-Bafrani, Nezhadebrahimi, & Marjani, 2019; Wang et al., 2013). rs854560 polimorfizmi bu gen üzerinde meydana gelmekte ve A allelinin gelmesi durumunda yüksek tip 2 diyabet riskiyle eşleştiği bilinmektedir (BARBIERI et al., 2002).

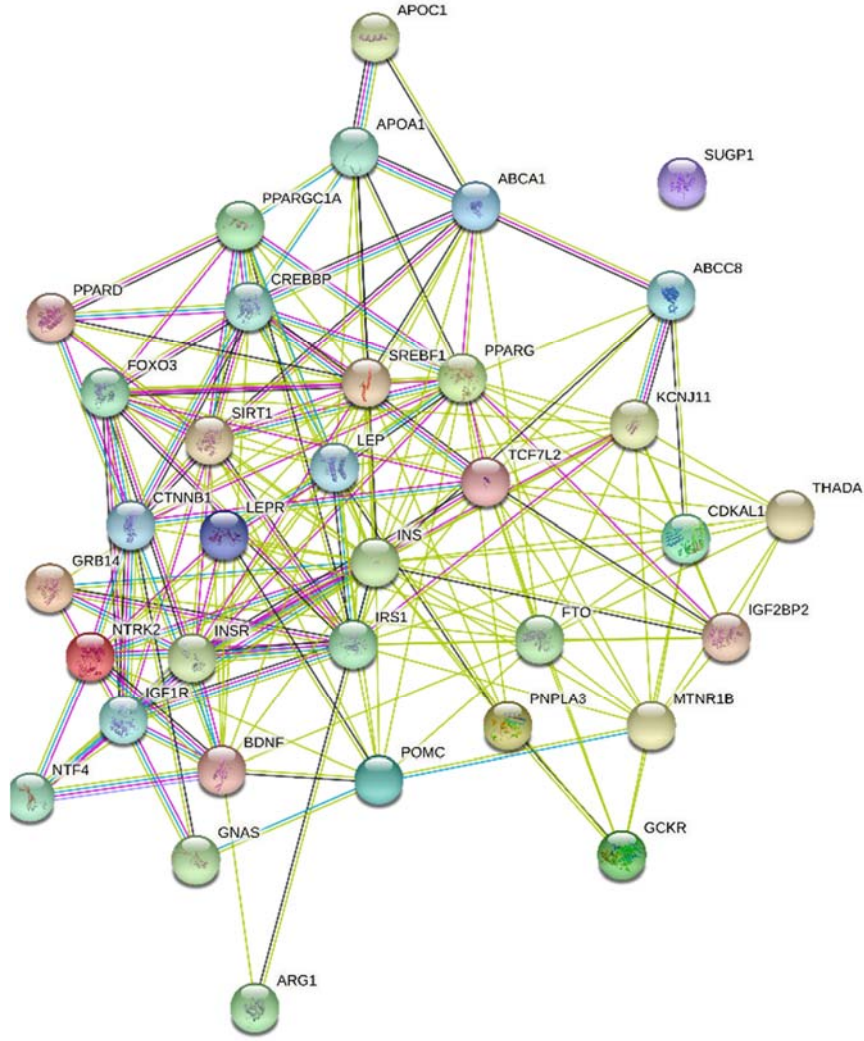
4.5. OBEZİTE VE TİP 2 DİYABETLE ORTAK OLARAK İLİŞKİLENDİRİLEN TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ VE GENLERİN TESPİTİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ

GWAS Katalogdan obezite ve tip 2 diyabet için indirilen polimorfizm-gen veri setleri ve fonksiyonel analizin gerçekleştirildiği DisGeNet veritabanından çekilen veriler birbirleriyle kıyaslanmış ve ortak polimorfizmler ve genler tespit edilmiştir.



Şekil 25. Obezite ve Tip 2 Diyabetle Ortak Olarak Eşleşen Gen ve Polimorfizmlerin Görselleştirilmesi

Ardından fonksiyonel olarak bu hastalıklarla eşleştiği tespit edilen genler bu listeye eklenerek STRING veritabanından hangi yollarda yer aldığı ve birbirleriyle olan etkileşimlerinin kaynağı belirlenmeye çalışılmıştır.



Şekil 26. Obezite ve Tip 2 Diyabetle Ortak Olarak İlişkilendirilen Genlerin Birbirleriyle Etkileşim Profilinin Ortaya Konulması

STRING analizinden elde edilen sonuca göre en çok etkileşime sahip olarak merkezde bulunan gen INS geni olduğu tespit edilmiştir. INS genin ardından ise PPARG, FTO, TCF7L2 genlerinin en çok etkileşim ağına sahip diğer genler olarak yer aldığı görülmüştür. En dışta kalan ve bu genlerle öngörülmuş bir etkileşimi bulunmayan gen ise SUGP1 geni olarak bulunmuştur.

5. SONUÇ, TARTIŞMA, KISITLILIKLAR ve ÖNERİLER

5.1. SONUÇ VE TARTIŞMA

Obeziteye yönelik analizler sonucunda, obeziteyle ilişkilendirilen genlerin özellikle hipotalamustaki açlık-tokluk merkezinde yoğunlaşmış olması dikkat çekmektedir. Vücutta besin alımıyla birlikte oluşması beklenen tokluk sinyalleri bu genlerde gelen mutasyonlar sonucu zarar görmekte ve oluşması gereken cevabın engellenmesine yol açmaktadır. İkinci önemli grup ise özellikle lipid ve enerji metabolizmasında rol oynayan genlerden oluşmaktadır. Bu genler ise yağ oluşumu ve depolanması, vücutta ısı dengesinin korunmasını sağlarken meydana gelen herhangi bir hasar bu genlerin görevini yerine getirememesine ve dolayısıyla fazla yağın/enerjinin vücutta tutularak obezitenin gelişmesine yol açtığı sonucuna varılmıştır. Elde edilen tüm bu sonuçlar doğrultusunda da obezitenin gen bağlamında birincil kaynağının açlık/tokluk hissinin oluşmasının engellenmesi ikincil sebebinin ise yağ ve enerji mekanizmalarında meydana gelen bozukluklar sebebiyle fazla yağın ve enerjinin vücutta tutulması olduğu düşünülmektedir. 2014 yılında yapılan obezitenin etiyolojisini aydınlatabilmek amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada da, bu hastalık genetik kapsamında değerlendirildiğinde ilgili genlerin vücuttaki yağ miktarına önemli etkisinin olduğunu fakat bunu birincil olarak tokluk sinyalleri üzerinden gerçekleştirdiğini bildirmektedir (Llewellyn, Trzaskowski, van Jaarsveld, Plomin, & Wardle, 2014). Bu çalışma tez kapsamında elde edilen bu sonucu desteklemektedir. Bu nedenle özellikle hipotalamustaki kavisli çekirdek bölgesini hedef alan, tokluk sinyallerinin oluşmasını destekleyici ilaç ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi obezitenin önlenmesi veya düzeltilmesi için ümit vaat edeceği düşünülmektedir. Ancak obeziteye genetik kısmından bağımsız genel bağlamda yaklaştığımızda hangi sistemin diğerinden daha önem arz ettiğine dair literatürde yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Tip 2 diyabete yönelik analizler sonucunda, ilgili polimorfizmlerin ise insülin üretimi ve salınımına dair birbirleriyle etkileşim olan genlerin etrafında yoğunlaştığı görülmüştür. INS geninin en yüksek skora sahip olmasının sebebinin insülin salınımında başlıca görev alan gen olup insülin reseptörüyle direkt olarak etkileşiyor olmasının olduğu

düşünülmektedir. PPAR γ geni ise yine insülin sinyal yolağında temel görevleri üstlenen ve lipid metabolizmasında da master regülatörlerden olduğu bilinen bir gen olup tip 2 diyabetle eşleşen diğer önemli genlere de etki edebilen bir gen olması sebebiyle yine temelde yer aldığı düşünülmektedir. Literatürde de bu iki gende meydana gelen bozuklukların hastalığın oluşmasında ve gelişmesinde büyük önem arz ettiği gösterilmektedir (Celi & Shuldiner, 2002; Pugliese & Miceli, 2002; Raile et al., 2011). Ancak tip 2 diyabetin genetik kapsamında toparlayıcı ve en çok etkiye sahip genlerin tespit edimesine yönelik yeterli bilgiye ulaşılammıştır. Yine literatürde de olduğu gibi periferel sistemde daha çok görev alan bu genlerin yanında LEPR ve POMC gibi hipotalamusta bolca etkinlik gösteren genlerin de sebepler çerçevesinde yer aldığı görülmüştür(Witka et al., 2019; Yang et al., 2016).

Tüm bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde INS geninin bu iki hastalığın etkileşim noktasının merkezinde yer aldığı, bu etkiyi ise bu çalışmada da elde edilen sonuçlarla tutarlılık gösteren PPAR γ , FTO ve TCF7L2 genlerinin takip ettiği görülmüştür. İki hastalığın fizyolojisinde ortak olarak yer alan polimorfizmlerin de bu iki hastalığın etkileşiminde rol oynuyor olacağı düşünülmektedir. Bu iki hastalık arasındaki genetik bağlantıyı aydınlatmaya çalışan Kevin J. Basile ve ekibinin yaptığı bir çalışmada FTO ve TCF7L2 genlerinin tip 2 diyabet ve obeziteye sebep olan ortak genlerden olduğu ve tedavi için bu iki geni hedef alan ilaçların geliştirilmesinin önemi vurgulanmaktadır (Basile et al., 2014). Yine Erik Ingelsson ve ekibi de bu iki hastalığın mekanizmalarının aydınlatılarak önlenmesi ve tedavisinin toplum için öneminin büyük olduğunu ve bu yolun temel kaynağının ise genetik arka planlarının keşfedilmesi olarak gördüğü belirtmektedir (Ingelsson & McCarthy, 2018).

Tüm bilgiler ışığında, bu çalışma kapsamında tespit edilen polimorfizmlerin ilgili iki hastalığın önceden öngörülmesi ve hastalık ilerlemeden veya meydana gelmeden önlemlerin alınabilmesine ya da bu polimorfizmlerin ilgili genlerin fonksiyonunda meydana getireceği eksikliklerin giderilmesine yönelik spesifik tedavi yöntemlerinin geliştirilebileceğine olanak sağlayacağı umut edilmektedir. Yine aynı şekilde etkileşim ağında bulunan aday genlerin fonksiyonlarının korunması adına aday ilaçların, gen tedavilerinin veya besin desteklerinin tasarlanabileceği düşünülmektedir. Böylece bu çalışmanın prevelansı ve mortalite riski giderek yükselen bu iki hastalığın önlenmesi veya yeni ve çok daha spesifik tedavi yöntemlerinin geliştirilmesiyle ilgili hastalıkların önüne geçilmesine katkı sağlaması planlanmaktadır.

5.2. KISITLILIKLAR VE ÖNERİLER

Toplum için giderek daha çok risk arz eden obezite ve tip 2 diyabet hastalıklarının önlenmesi veya tedavi yollarının geliştirilebilmesi için genetik mekanizmalarının aydınlatılmasının gerektiği ve bu durumun büyük önem arz etmektedir. Ancak bu iki hastalık üzerine yapılan çalışmalar oldukça fazla ve kapsamlı olmasına rağmen genetik bağlamında yapılan araştırmaların temel mekanizmaları aydınlatmak için yetersiz olduğu görülmüş ve bunun geliştirilmesinin bu iki hastalığa dair kesin çözümlerin üretilmesine olanak sağlayacağı düşünülmektedir.

GWAS verilerinden elde edilen sonuçların önemli olduğu bilinmekte ancak bu çalışmaların sadece popülasyon kıyaslamaları üzerinde elde edilmiş olması ve bunları destekleyici fonksiyonel çalışmaların yetersiz kaldığı farkedilmiştir. Bu sonuçların kesinliğinden emin olmak adına bu çalışmaların insanlar ve/veya hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen fonksiyonel çalışmalarla da desteklenmesinin gerektiği ve bu çalışmaların yapılmasının yeni tedavi yolları için umut vaat edebileceği düşünülmektedir.

Obezite ve tip 2 diyabetin önlenmesi veya tedavisi için diyet, yaşam tarzı, çevresel koşullar vb. etkenlerin düzenlenmesinin önemi oldukça yüksektir ve bu konuda toplum bilinçlendirilmeye çalışılmaktadır. Bu etkenler gibi genetik yapının da en az onlar kadar önemli olduğu artık görülmüştür. Ancak bilinmesine rağmen günümüzde bu hastalıkların klinik uygulamalarında pek yer edememiştir. Bu sebeple genetik mekanizmaların aydınlatıldıktan sonra, bu iki hastalığın klinik uygulamalarında da kullanılabileceği düşünülmektedir. Hatta kişiler daha bu hastalığa yakalanmadan geliştirilen genetik kitler veya metodlar ile kişilerin genetik yapısı doğrultusunda bilgiler edinilebilir ve buna yönelik önlemler de alınabilir.

Bu hastalığa sahip kişilere uygulanan birçok tedavi yöntemi bulunmakta ancak bunlar genellikle hayat boyu uygulanması veya kullanılması gereken ve yorucu olan uygulamalardır. Bu bağlamda genetik yapının aydınlatılmasıyla gen tedavisine yönelik çok daha spesifik ilaçların veya yöntemlerin keşfedilmesinin daha kesin çözümler oluşturabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Ali, O. (2013). Genetics of type 2 diabetes. *World J Diabetes*, 4(4), 114-123. doi:10.4239/wjd.v4.i4.114
- Allen, G. E. (2003). Mendel and modern genetics: the legacy for today. *Endeavour*, 27(2), 63-68. doi:10.1016/s0160-9327(03)00065-6
- AlSaleh, A., Sanders, T. A., & O'Dell, S. D. (2012). Effect of interaction between PPARG, PPARG and ADIPOQ gene variants and dietary fatty acids on plasma lipid profile and adiponectin concentration in a large intervention study. *Proc Nutr Soc*, 71(1), 141-153. doi:10.1017/S0029665111003181
- Antonio, J., Knafo, S., Kenyon, M., Ali, A., Carson, C., Ellerbroek, A., . . . Tartar, J. L. (2019). Assessment of the FTO gene polymorphisms (rs1421085, rs17817449 and rs9939609) in exercise-trained men and women: the effects of a 4-week hypocaloric diet. *J Int Soc Sports Nutr*, 16(1), 36. doi:10.1186/s12970-019-0307-6
- Balistreri, C. R., Caruso, C., & Candore, G. (2010). The role of adipose tissue and adipokines in obesity-related inflammatory diseases. *Mediators Inflamm*, 2010, 802078. doi:10.1155/2010/802078
- BARBIERI, M., BONAFE, M., MARFELLA, R., RAGNO, E., GIUGLIANO, D., FRANCESCHI, C., & PAOLISSO, G. (2002). LL-Paraoxonase Genotype Is Associated with a More Severe Degree of Homeostasis Model Assessment IR in Healthy Subjects.
- Barrett, J. C., Hansoul, S., Nicolae, D. L., Cho, J. H., Duerr, R. H., Rioux, J. D., . . . Daly, M. J. (2008). Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat Genet*, 40(8), 955-962. doi:10.1038/ng.175
- Barroso, I., Luan, J. a., Middelberg, R. P. S., Harding, A.-H., Franks, P. W., Jakes, R. W., . . . Wareham, N. J. (2003). Candidate Gene Association Study in Type 2 Diabetes Indicates a Role for Genes Involved in b-Cell Function as Well as Insulin Action. doi:10.1371/journal.pbio.0000020.st001
- Basile, K. J., Johnson, M. E., Xia, Q., & Grant, S. F. (2014). Genetic susceptibility to type 2 diabetes and obesity: follow-up of findings from genome-wide association studies. *Int J Endocrinol*, 2014, 769671. doi:10.1155/2014/769671
- Benyó, B., Biro, J. C., & Benyó, Z. (2004). Codes in the Codons: Construction of a Codon/Amino Acid Periodic Table and a Study of the Nature of Specific Nucleic Acid - Protein Interactions.
- Blanco-Gomez, A., Castillo-Lluva, S., Del Mar Saez-Freire, M., Hontecillas-Prieto, L., Mao, J. H., Castellanos-Martin, A., & Perez-Losada, J. (2016). Missing heritability of complex diseases: Enlightenment by genetic variants from intermediate phenotypes. *Bioessays*, 38(7), 664-673. doi:10.1002/bies.201600084
- Bomba, L., Walter, K., & Soranzo, N. (2017). The impact of rare and low-frequency genetic variants in common disease. *Genome Biol*, 18(1), 77. doi:10.1186/s13059-017-1212-4
- Borges, B. C., Han, X., Allen, S. J., Garcia-Galiano, D., & Elias, C. F. (2019). Insulin signaling in LepR cells modulates fat and glucose homeostasis independent of leptin. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 316(1), E121-E134. doi:10.1152/ajpendo.00287.2018

- Bush, W. S. (2019). Genome-Wide Association Studies. In *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology* (pp. 235-241).
- Bush, W. S., & Moore, J. H. (2012). Chapter 11: Genome-wide association studies. *PLoS Comput Biol*, 8(12), e1002822. doi:10.1371/journal.pcbi.1002822
- Cakir, I., Perello, M., Lansari, O., Messier, N. J., Vaslet, C. A., & Nillni, E. A. (2009). Hypothalamic Sirt1 regulates food intake in a rodent model system. *PLoS One*, 4(12), e8322. doi:10.1371/journal.pone.0008322
- Cao, M. M., Lu, X., Liu, G. D., Su, Y., Li, Y. B., & Zhou, J. (2018). Resveratrol attenuates type 2 diabetes mellitus by mediating mitochondrial biogenesis and lipid metabolism via Sirtuin type 1. *Exp Ther Med*, 15(1), 576-584. doi:10.3892/etm.2017.5400
- Carlson, C. S., Eberle, M. A., Kruglyak, L., & Nickerson, D. A. (2004). Mapping complex disease loci in whole-genome association studies. *Nature*, 429(6990), 446-452. doi:10.1038/nature02623
- Celi, F. S., & Shuldiner, A. R. (2002). The Role of Peroxisome Proliferator-activated Receptor gamma in Diabetes and Obesity.
- Cha, E., Akazawa, M. K., Kim, K. H., Dawkins, C. R., Lerner, H. M., Umpierrez, G., & Dunbar, S. B. (2015). Lifestyle habits and obesity progression in overweight and obese American young adults: Lessons for promoting cardiometabolic health. *Nurs Health Sci*, 17(4), 467-475. doi:10.1111/nhs.12218
- Cha, S. W., Choi, S. M., Kim, K. S., Park, B. L., Kim, J. R., Kim, J. Y., & Shin, H. D. (2008). Replication of genetic effects of FTO polymorphisms on BMI in a Korean population. *Obesity (Silver Spring)*, 16(9), 2187-2189. doi:10.1038/oby.2008.314
- Chan, R. S., & Woo, J. (2010). Prevention of overweight and obesity: how effective is the current public health approach. *Int J Environ Res Public Health*, 7(3), 765-783. doi:10.3390/ijerph7030765
- Choquet, H., & Meyre, D. (2011). Genetics of Obesity: What have we Learned? *Current Genomics*.
- Claussnitzer, M., Dankel, S. N., Kim, K. H., Quon, G., Meuleman, W., Haugen, C., . . . Kellis, M. (2015). FTO Obesity Variant Circuitry and Adipocyte Browning in Humans. *N Engl J Med*, 373(10), 895-907. doi:10.1056/NEJMoa1502214
- Consortium, S. T. D., Williams, A. L., Jacobs, S. B., Moreno-Macias, H., Huerta-Chagoya, A., Churchhouse, C., . . . Altshuler, D. (2014). Sequence variants in SLC16A11 are a common risk factor for type 2 diabetes in Mexico. *Nature*, 506(7486), 97-101. doi:10.1038/nature12828
- Correia, C., Diekmann, Y., Vicente, A. M., & Pereira-Leal, J. B. (2014). Hope for GWAS: relevant risk genes uncovered from GWAS statistical noise. *Int J Mol Sci*, 15(10), 17601-17621. doi:10.3390/ijms151017601
- da Fonseca, A. C. P., Abreu, G. M., Zembrzuski, V. M., Junior, M. C., Carneiro, J. R. I., Magno, F., . . . Cabello, P. H. (2019). Identification of the MC4R start lost mutation in a morbidly obese Brazilian patient. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 12, 257-266. doi:10.2147/DMSO.S189455
- Dakal, T. C., Kala, D., Dhiman, G., Yadav, V., Krokhotin, A., & Dokholyan, N. V. (2017). Predicting the functional consequences of non-synonymous single nucleotide polymorphisms in IL8 gene. *Sci Rep*, 7(1), 6525. doi:10.1038/s41598-017-06575-4
- De la Cruz, O., & Raska, P. (2014). Population structure at different minor allele frequency levels. *BMC Proc*, 8(Suppl 1 Genetic Analysis Workshop 18 Vanessa Olmo), S55. doi:10.1186/1753-6561-8-S1-S55
- Dina, C., Meyre, D., Gallina, S., Durand, E., Korner, A., Jacobson, P., . . . Froguel, P. (2007). Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nat Genet*, 39(6), 724-726. doi:10.1038/ng2048

- Doaei, S., Mosavi Jarrahi, S. A., Sanjari Moghadam, A., Akbari, M. E., Javadi Kooshesh, S., Badeli, M., . . . Mirzaei Dahka, S. (2019). The effect of rs9930506 FTO gene polymorphism on obesity risk: a meta-analysis. *Biomol Concepts*, 10(1), 237-242. doi:10.1515/bmc-2019-0025
- Dow, D. J., Huxley-Jones, J., Hall, J. M., Francks, C., Maycox, P. R., Kew, J. N., . . . Barnes, M. R. (2011). ADAMTSL3 as a candidate gene for schizophrenia: gene sequencing and ultra-high density association analysis by imputation. *Schizophr Res*, 127(1-3), 28-34. doi:10.1016/j.schres.2010.12.009
- DUMAN, B. S., ZENGİN, A. K., KAYHAN, F. E., KOLDEMİR, M., ÇAĞATAY, P., TAŞKIN, H. E., & TAŞKIN, M. (2010). Yağ Dokularında FTO Gen Ekspresyonunun İlaç ve Hastalıklar ile İlişkisi.
- El-Tantawy, W. H. (2019). Nutrition in the management of type 2 diabetes mellitus: review. *Arch Physiol Biochem*, 1-18. doi:10.1080/13813455.2019.1657899
- Elkhattabi, L., Morjane, I., Charoute, H., Amghar, S., Bouafi, H., Elkarhat, Z., . . . Barakat, A. (2019). In Silico Analysis of Coding/Noncoding SNPs of Human RETN Gene and Characterization of Their Impact on Resistin Stability and Structure. *J Diabetes Res*, 2019, 4951627. doi:10.1155/2019/4951627
- Fareed, M., & Afzal, M. (2013). Single nucleotide polymorphism in genome-wide association of human population: A tool for broad spectrum service. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 14(2), 123-134. doi:10.1016/j.ejmhg.2012.08.001
- Fawcett, K. A., & Barroso, I. (2010). The genetics of obesity: FTO leads the way. *Trends Genet*, 26(6), 266-274. doi:10.1016/j.tig.2010.02.006
- Ferreira, M. A. R. (2004). Linkage Analysis: Principles and Methods for the Analysis of Human Quantitative Traits.
- Florez, J. C., Jablonski, K. A., Sun, M. W., Bayley, N., Kahn, S. E., Shamon, H., . . . Diabetes Prevention Program Research, G. (2007). Effects of the type 2 diabetes-associated PPARG P12A polymorphism on progression to diabetes and response to troglitazone. *J Clin Endocrinol Metab*, 92(4), 1502-1509. doi:10.1210/jc.2006-2275
- Gamber, K. M., Huo, L., Ha, S., Hairston, J. E., Greeley, S., & Bjorbaek, C. (2012). Over-expression of leptin receptors in hypothalamic POMC neurons increases susceptibility to diet-induced obesity. *PLoS One*, 7(1), e30485. doi:10.1371/journal.pone.0030485
- Goncalves, G. H., Li, W., Garcia, A. V., Figueiredo, M. S., & Bjorbaek, C. (2014). Hypothalamic agouti-related peptide neurons and the central melanocortin system are crucial mediators of leptin's antidiabetic actions. *Cell Rep*, 7(4), 1093-1103. doi:10.1016/j.celrep.2014.04.010
- Grant, S. F. A. (2019). The TCF7L2 Locus: A Genetic Window Into the Pathogenesis of Type 1 and Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 42(9), 1624-1629. doi:10.2337/dci19-0001
- Grasso, A. N., Goldberg, V., Navajas, E. A., Iriarte, W., Gimeno, D., Aguilar, I., . . . Ciappesoni, G. (2014). Genomic variation and population structure detected by single nucleotide polymorphism arrays in Corriedale, Merino and Creole sheep.
- Guh, D. P., Zhang, W., Bansback, N., Amarsi, Z., Birmingham, C. L., & Anis, A. H. (2009). The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*, 9, 88. doi:10.1186/1471-2458-9-88
- Hashemi, M. M., Mousavi, E., Arab-Bafrani, Z., Nezhadebrahimi, A., & Marjani, A. (2019). The most effective polymorphisms of paraoxonase-1 gene on enzyme activity and concentration of paraoxonase-1 protein in type 2 diabetes mellitus patients and non-diabetic individuals: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract*, 152, 135-145. doi:10.1016/j.diabres.2019.05.007

- Haupt, A., Thamer, C., Staiger, H., Tschritter, O., Kirchhoff, K., Machicao, F., . . . Fritsche, A. (2009). Variation in the FTO gene influences food intake but not energy expenditure. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 117(4), 194-197. doi:10.1055/s-0028-1087176
- Hemminki, K., Forsti, A., & Bermejo, J. L. (2008). The 'common disease-common variant' hypothesis and familial risks. *PLoS One*, 3(6), e2504. doi:10.1371/journal.pone.0002504
- Hess, M. E., & Bruning, J. C. (2014). The fat mass and obesity-associated (FTO) gene: Obesity and beyond? *Biochim Biophys Acta*, 1842(10), 2039-2047. doi:10.1016/j.bbadis.2014.01.017
- Heymsfield, S. B., & Wadden, T. A. (2017). Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med*, 376(3), 254-266. doi:10.1056/NEJMra1514009
- Hinney, A., Nguyen, T. T., Scherag, A., Friedel, S., Bronner, G., Muller, T. D., . . . Hebebrand, J. (2007). Genome wide association (GWA) study for early onset extreme obesity supports the role of fat mass and obesity associated gene (FTO) variants. *PLoS One*, 2(12), e1361. doi:10.1371/journal.pone.0001361
- Hirschhorn, J. N., & Daly, M. J. (2005). Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet*, 6(2), 95-108. doi:10.1038/nrg1521
- Hotta, K., Nakata, Y., Matsuo, T., Kamohara, S., Kotani, K., Komatsu, R., . . . Nakamura, Y. (2008). Variations in the FTO gene are associated with severe obesity in the Japanese. *J Hum Genet*, 53(6), 546-553. doi:10.1007/s10038-008-0283-1
- Hruby, A., & Hu, F. B. (2015). The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics*, 33(7), 673-689. doi:10.1007/s40273-014-0243-x
- Huang, T., Zheng, Y., Hruby, A., Williamson, D. A., Bray, G. A., Shen, Y., . . . Qi, L. (2017). Dietary Protein Modifies the Effect of the MC4R Genotype on 2-Year Changes in Appetite and Food Craving: The POUNDS Lost Trial. *J Nutr*, 147(3), 439-444. doi:10.3945/jn.116.242958
- Huang, Z.-q., Liao, Y.-q., Huang, R.-z., Chen, J.-p., & Sun, H.-l. (2018). Possible role of TCF7L2 in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32(4), 830-834. doi:10.1080/13102818.2018.1438211
- Hunt, R., Sauna, Z. E., Ambudkar, S. V., Gottesman, M. M., & Kimchi-Sarfaty, C. (2009). Silent (synonymous) SNPs: should we care about them? *Methods Mol Biol*, 578, 23-39. doi:10.1007/978-1-60327-411-1_2
- Huo, L., Gamber, K., Greeley, S., Silva, J., Huntoon, N., Leng, X. H., & Bjorbaek, C. (2009). Leptin-dependent control of glucose balance and locomotor activity by POMC neurons. *Cell Metab*, 9(6), 537-547. doi:10.1016/j.cmet.2009.05.003
- Iepsen, E. W., Zhang, J., Thomsen, H. S., Hansen, E. L., Hollensted, M., Madsbad, S., . . . Torekov, S. S. (2018). Patients with Obesity Caused by Melanocortin-4 Receptor Mutations Can Be Treated with a Glucagon-like Peptide-1 Receptor Agonist. *Cell Metab*, 28(1), 23-32 e23. doi:10.1016/j.cmet.2018.05.008
- Ikegawa, S. (2012). A short history of the genome-wide association study: where we were and where we are going. *Genomics Inform*, 10(4), 220-225. doi:10.5808/GI.2012.10.4.220
- Ingelsson, E., & McCarthy, M. I. (2018). Human Genetics of Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus: Past, Present, and Future. *Circ Genom Precis Med*, 11(6), e002090. doi:10.1161/CIRCGEN.118.002090
- Izquierdo, A. G., Crujeiras, A. B., Casanueva, F. F., & Carreira, M. C. (2019). Leptin, Obesity, and Leptin Resistance: Where Are We 25 Years Later? *Nutrients*, 11(11). doi:10.3390/nu11112704

- J., R., MAHLER, & ADLER, M. L. (1999). Type 2 Diabetes Mellitus: Update on Diagnosis, Pathophysiology, and Treatment.
- Jakobsdottir, J., Gorin, M. B., Conley, Y. P., Ferrell, R. E., & Weeks, D. E. (2009). Interpretation of genetic association studies: markers with replicated highly significant odds ratios may be poor classifiers. *PLoS Genet*, 5(2), e1000337. doi:10.1371/journal.pgen.1000337
- Jiang, S., Wang, W., Miner, J., & Fromm, M. (2012). Cross regulation of sirtuin 1, AMPK, and PPARgamma in conjugated linoleic acid treated adipocytes. *PLoS One*, 7(11), e48874. doi:10.1371/journal.pone.0048874
- Kadowakia, T., Haraa, K., Kubotaa, N., Tobea, K., Terauchia, Y., Yamauchia, T., . . . Akanumab, Y. (2002). The role of PPARg in high-fat diet-induced obesity and insulin resistance.
- Kahn, S. E., Cooper, M. E., & Del Prato, S. (2014). Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *The Lancet*, 383(9922), 1068-1083. doi:10.1016/s0140-6736(13)62154-6
- Karki, R., Pandya, D., Elston, R. C., & Ferlini, C. (2015). Defining "mutation" and "polymorphism" in the era of personal genomics. *BMC Med Genomics*, 8, 37. doi:10.1186/s12920-015-0115-z
- Kerkadi, A., Sadig, A. H., Bawadi, H., Al Thani, A. A. M., Al Chetachi, W., Akram, H., . . . Musaiger, A. O. (2019). The Relationship between Lifestyle Factors and Obesity Indices among Adolescents in Qatar. *Int J Environ Res Public Health*, 16(22). doi:10.3390/ijerph16224428
- Kern, L., Mittenbuhler, M. J., Vesting, A. J., Ostermann, A. L., Wunderlich, C. M., & Wunderlich, F. T. (2018). Obesity-Induced TNFalpha and IL-6 Signaling: The Missing Link between Obesity and Inflammation-Driven Liver and Colorectal Cancers. *Cancers (Basel)*, 11(1). doi:10.3390/cancers11010024
- Kido, T., Sikora-Wohlfeld, W., Kawashima, M., Kikuchi, S., Kamatani, N., Patwardhan, A., . . . Butte, A. J. (2018). Are minor alleles more likely to be risk alleles? *BMC Med Genomics*, 11(1), 3. doi:10.1186/s12920-018-0322-5
- Kitada, M., & Koya, D. (2013). SIRT1 in Type 2 Diabetes: Mechanisms and Therapeutic Potential. *Diabetes Metab J*, 37(5), 315-325. doi:10.4093/dmj.2013.37.5.315
- Koo, B. H., Hurskainen, T., Mielke, K., Aung, P. P., Casey, G., Autio-Harmainen, H., & Apte, S. S. (2007). ADAMTSL3/punctin-2, a gene frequently mutated in colorectal tumors, is widely expressed in normal and malignant epithelial cells, vascular endothelial cells and other cell types, and its mRNA is reduced in colon cancer. *Int J Cancer*, 121(8), 1710-1716. doi:10.1002/ijc.22882
- Laird, N. M., & Lange, C. (2011). Basic Concepts of Linkage Analysis. In *The Fundamentals of Modern Statistical Genetics* (pp. 87-97).
- Landecho, M. F., Tuero, C., Valenti, V., Bilbao, I., de la Higuera, M., & Fruhbeck, G. (2019). Relevance of Leptin and Other Adipokines in Obesity-Associated Cardiovascular Risk. *Nutrients*, 11(11). doi:10.3390/nu11112664
- Lasar, D., Rosenwald, M., Kiehlmann, E., Balaz, M., Tall, B., Opitz, L., . . . Wolfrum, C. (2018). Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma Controls Mature Brown Adipocyte Inducibility through Glycerol Kinase. *Cell Rep*, 22(3), 760-773. doi:10.1016/j.celrep.2017.12.067
- Lasky-Su, J. (2017). Statistical Techniques for Genetic Analysis. In *Clinical and Translational Science* (pp. 347-362).
- Leonska-Duniec, A., Jastrzebski, Z., Zarebska, A., Smolka, W., & Cieszczyk, P. (2017). Impact of the Polymorphism Near MC4R (rs17782313) on Obesity- and Metabolic-Related

- Traits in Women Participating in an Aerobic Training Program. *J Hum Kinet*, 58, 111-119. doi:10.1515/hukin-2017-0073
- Li, G., Martinez-Bonet, M., Wu, D., Yang, Y., Cui, J., Nguyen, H. N., . . . Nigrovic, P. A. (2018). High-throughput identification of noncoding functional SNPs via type IIS enzyme restriction. *Nat Genet*, 50(8), 1180-1188. doi:10.1038/s41588-018-0159-z
- Li, H., Wu, Y., Loos, R. J., Hu, F. B., Liu, Y., Wang, J., . . . Lin, X. (2008). Variants in the fat mass- and obesity-associated (FTO) gene are not associated with obesity in a Chinese Han population. *Diabetes*, 57(1), 264-268. doi:10.2337/db07-1130
- Li, Q., & Qu, H. Q. (2013). Human coding synonymous single nucleotide polymorphisms at ramp regions of mRNA translation. *PLoS One*, 8(3), e59706. doi:10.1371/journal.pone.0059706
- Li, Q., Zhang, H., & Yu, K. (2010). Approaches for evaluating rare polymorphisms in genetic association studies. *Hum Hered*, 69(4), 219-228. doi:10.1159/000291927
- Li, Y.-Y., Wang, H., Kim, J., Yang, Z.-J., Yang, X.-X., Wu, J.-J., & Wang, L.-S. (2017). LEPR gene Gln223Arg polymorphism and type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of 3,367 subjects.
- Li, Y. Y., Wang, L. S., Lu, X. Z., Yang, Z. J., Wang, X. M., Zhou, C. W., . . . Chen, A. L. (2013). CDKAL1 gene rs7756992 A/G polymorphism and type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of 62,567 subjects. *Sci Rep*, 3, 3131. doi:10.1038/srep03131
- Li, Y. Y., Wang, X. M., & Lu, X. Z. (2014). KCNQ1 rs2237892 C-->T gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus in the Asian population: a meta-analysis of 15,736 patients. *J Cell Mol Med*, 18(2), 274-282. doi:10.1111/jcmm.12185
- Lin, S., & Zhao, H. (2010). *Handbook on Analyzing Human Genetic Data*.
- Liu, R., Kinoshita, M., Adolphi, M. C., & Scharf, M. (2019). Analysis of the Role of the Mc4r System in Development, Growth, and Puberty of Medaka. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 10, 213. doi:10.3389/fendo.2019.00213
- Liu, Y., Liu, Z., Song, Y., Zhou, D., Zhang, D., Zhao, T., . . . Xu, H. (2010). Meta-analysis added power to identify variants in FTO associated with type 2 diabetes and obesity in the Asian population. *Obesity (Silver Spring)*, 18(8), 1619-1624. doi:10.1038/oby.2009.469
- Llewellyn, C. H., Trzaskowski, M., van Jaarsveld, C. H. M., Plomin, R., & Wardle, J. (2014). Satiety mechanisms in genetic risk of obesity. *JAMA Pediatr*, 168(4), 338-344. doi:10.1001/jamapediatrics.2013.4944
- Loos, R. J., Lindgren, C. M., Li, S., Wheeler, E., Zhao, J. H., Prokopenko, I., . . . Mohlke, K. L. (2008). Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet*, 40(6), 768-775. doi:10.1038/ng.140
- Lv, X., Zhang, L., Sun, J., Cai, Z., Gu, Q., Zhang, R., & Shan, A. (2017). Interaction between peroxisome proliferator-activated receptor gamma polymorphism and obesity on type 2 diabetes in a Chinese Han population. *Diabetol Metab Syndr*, 9, 7. doi:10.1186/s13098-017-0205-5
- Ma, X., Wang, D., Zhao, W., & Xu, L. (2018). Deciphering the Roles of PPARgamma in Adipocytes via Dynamic Change of Transcription Complex. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9, 473. doi:10.3389/fendo.2018.00473
- Machiela, M. J., & Chanock, S. J. (2015). LDlink: a web-based application for exploring population-specific haplotype structure and linking correlated alleles of possible functional variants. *Bioinformatics*, 31(21), 3555-3557. doi:10.1093/bioinformatics/btv402
- Madelaine, R., Notwell, J. H., Skariah, G., Halluin, C., Chen, C. C., Bejerano, G., & Mourrain, P. (2018). A screen for deeply conserved non-coding GWAS SNPs uncovers a MIR-9-

- 2 functional mutation associated to retinal vasculature defects in human. *Nucleic Acids Res*, 46(7), 3517-3531. doi:10.1093/nar/gky166
- Makki, K., Froguel, P., & Wolowczuk, I. (2013). Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. *ISRN Inflamm*, 2013, 139239. doi:10.1155/2013/139239
- Mancuso, P. (2016). The role of adipokines in chronic inflammation. *Immunotargets Ther*, 5, 47-56. doi:10.2147/ITT.S73223
- Manolio, T. A., Collins, F. S., Cox, N. J., Goldstein, D. B., Hindorff, L. A., Hunter, D. J., . . . Visscher, P. M. (2009). Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*, 461(7265), 747-753. doi:10.1038/nature08494
- Mansoori, A., Amini, M., Kolahdooz, F., & Seyedrezazadeh, E. (2015). Obesity and Pro12Ala Polymorphism of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma Gene in Healthy Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann Nutr Metab*, 67(2), 104-118. doi:10.1159/000439285
- Mansur, Y. A., Rojano, E., Ranea, J. A. G., & Perkins, J. R. (2018). Analyzing the Effects of Genetic Variation in Noncoding Genomic Regions. In *Precision Medicine* (pp. 119-144).
- Mao, X., D., B., & Lu, Y. a. Y.-J. (2007). The Application of Single Nucleotide Polymorphism Microarrays in Cancer Research.
- Mariani, S., di Giorgio, M. R., Martini, P., Persichetti, A., Barbaro, G., Basciani, S., . . . Gnessi, L. (2018). Inverse Association of Circulating SIRT1 and Adiposity: A Study on Underweight, Normal Weight, and Obese Patients. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9, 449. doi:10.3389/fendo.2018.00449
- Mariani, S., Di Giorgio, M. R., Rossi, E., Tozzi, R., Contini, S., Bauleo, L., . . . Gnessi, L. (2020). Blood SIRT1 Shows a Coherent Association with Leptin and Adiponectin in Relation to the Degree and Distribution of Adiposity: A Study in Obesity, Normal Weight and Anorexia Nervosa. *Nutrients*, 12(11). doi:10.3390/nu12113506
- Marinkovic, D., Zhang, X., Yalcin, S., Luciano, J. P., Brugnara, C., Huber, T., & Ghaffari, S. (2007). Foxo3 is required for the regulation of oxidative stress in erythropoiesis. *J Clin Invest*, 117(8), 2133-2144. doi:10.1172/JCI31807
- Mathieson, I., & McVean, G. (2012). Differential confounding of rare and common variants in spatially structured populations. *Nat Genet*, 44(3), 243-246. doi:10.1038/ng.1074
- Mattevi, V. S., Zembrzusi2, V. M., & Hutz, M. H. (2007). Effects of a PPARG gene variant on obesity characteristics in Brazil.
- Mayo, O. (2007). The rise and fall of the common disease-common variant (CD-CV) hypothesis: how the sickle cell disease paradigm led us all astray (or did it?). *Twin Res Hum Genet*, 10(6), 793-804. doi:10.1375/twin.10.6.793
- McLaren, W., Gil, L., Hunt, S. E., Riat, H. S., Ritchie, G. R., Thormann, A., . . . Cunningham, F. (2016). The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biol*, 17(1), 122. doi:10.1186/s13059-016-0974-4
- Merkestein, M., & Sellayah, D. (2015). Role of FTO in Adipocyte Development and Function: Recent Insights. *Int J Endocrinol*, 2015, 521381. doi:10.1155/2015/521381
- Nan, C., Guo, B., Warner, C., Fowler, T., Barrett, T., Boomsma, D., . . . Zeegers, M. (2012). Heritability of body mass index in pre-adolescence, young adulthood and late adulthood. *Eur J Epidemiol*, 27(4), 247-253. doi:10.1007/s10654-012-9678-6
- Nuttall, F. Q. (2015). Body Mass Index. *Nutrition Today*, 50(3), 117-128. doi:10.1097/nt.0000000000000092
- Obin, A. S. G. a. M. S. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism.
- OFEI, F. (2005). OBESITY – A PREVENTABLE DISEASE. *GHANA MEDICAL JOURNAL*, 39.

- Ohashi, K., Shibata, R., Murohara, T., & Ouchi, N. (2014). Role of anti-inflammatory adipokines in obesity-related diseases. *Trends Endocrinol Metab*, 25(7), 348-355. doi:10.1016/j.tem.2014.03.009
- Olokoba, A. B., Obateru, O. A., & Olokoba, L. B. (2012). Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends.
- Omori, S., Tanaka, Y., Takahashi, A., Hirose, H., Kashiwagi, A., Kaku, K., . . . Maeda, S. (2008). Association of CDKAL1, IGF2BP2, CDKN2A/B, HHEX, SLC30A8, and KCNJ11 with susceptibility to type 2 diabetes in a Japanese population. *Diabetes*, 57(3), 791-795. doi:10.2337/db07-0979
- Ozaki, K., Ohnishi, Y., Iida, A., Sekine, A., Yamada, R., Tsunoda, T., . . . Tanaka, T. (2002). Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet*, 32(4), 650-654. doi:10.1038/ng1047
- ÖZŞENSOY, Y., & KURAR, E. (2013). Genetik Bağlantı Analizi ve Uygulama Alanları.
- ÖZYER, S. (2019). X KROMOZOMU INDEL LOKUSLARININ TÜRKİYE'DEKİ GEN SIKLIĞI.
- Panagiotou, O. A., Evangelou, E., & Ioannidis, J. P. (2010). Genome-wide significant associations for variants with minor allele frequency of 5% or less--an overview: A HuGE review. *Am J Epidemiol*, 172(8), 869-889. doi:10.1093/aje/kwq234
- Pantalone, K. M., Hobbs, T. M., Chagin, K. M., Kong, S. X., Wells, B. J., Kattan, M. W., . . . Burguera, B. (2017). Prevalence and recognition of obesity and its associated comorbidities: cross-sectional analysis of electronic health record data from a large US integrated health system. *BMJ Open*, 7(11), e017583. doi:10.1136/bmjopen-2017-017583
- Park, J. H., Gail, M. H., Weinberg, C. R., Carroll, R. J., Chung, C. C., Wang, Z., . . . Chatterjee, N. (2011). Distribution of allele frequencies and effect sizes and their interrelationships for common genetic susceptibility variants. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108(44), 18026-18031. doi:10.1073/pnas.1114759108
- Pavan, S., Delvento, C., Ricciardi, L., Lotti, C., Ciani, E., & D'Agostino, N. (2020). Recommendations for Choosing the Genotyping Method and Best Practices for Quality Control in Crop Genome-Wide Association Studies. *Front Genet*, 11, 447. doi:10.3389/fgene.2020.00447
- Pigeyre, M., Rousseaux, J., Trouiller, P., Dumont, J., Goumidi, L., Bonte, D., . . . Meirhaeghe, A. (2016). How obesity relates to socio-economic status: identification of eating behavior mediators. *Int J Obes (Lond)*, 40(11), 1794-1801. doi:10.1038/ijo.2016.109
- Pinero, J., Ramirez-Angueta, J. M., Sauch-Pitarch, J., Ronzano, F., Centeno, E., Sanz, F., & Furlong, L. I. (2020). The DisGeNET knowledge platform for disease genomics: 2019 update. *Nucleic Acids Res*, 48(D1), D845-D855. doi:10.1093/nar/gkz1021
- Pontoriero, A. C., Trinks, J., Hulaniuk, M. L., Caputo, M., Fortuny, L., Pratz, L. B., . . . Flichman, D. (2015). Influence of ethnicity on the distribution of genetic polymorphisms associated with risk of chronic liver disease in South American populations. *BMC Genet*, 16, 93. doi:10.1186/s12863-015-0255-3
- Price, R. A., Li, W. D., & Zhao, H. (2008). FTO gene SNPs associated with extreme obesity in cases, controls and extremely discordant sister pairs. *BMC Med Genet*, 9, 4. doi:10.1186/1471-2350-9-4
- Pugliese, A., & Miceli, D. (2002). The insulin gene in diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*, 18(1), 13-25. doi:10.1002/dmrr.261
- Pulst, S. M. (1999). Genetic Linkage Analysis.
- Qi, L., Kraft, P., Hunter, D. J., & Hu, F. B. (2008). The common obesity variant near MC4R gene is associated with higher intakes of total energy and dietary fat, weight

- change and diabetes risk in women. *Hum Mol Genet*, 17(22), 3502-3508.
doi:10.1093/hmg/ddn242
- Raile, K., O'Connell, M., Galler, A., Werther, G., Kuhnen, P., Krude, H., & Blankenstein, O. (2011). Diabetes caused by insulin gene (INS) deletion: clinical characteristics of homozygous and heterozygous individuals. *Eur J Endocrinol*, 165(2), 255-260.
doi:10.1530/EJE-11-0208
- Rana, S., & Bhatti, A. A. (2020). Association and interaction of the FTO rs1421085 with overweight/obesity in a sample of Pakistani individuals. *Eat Weight Disord*, 25(5), 1321-1332. doi:10.1007/s40519-019-00765-x
- Rao, P., Wang, H., Fang, H., Gao, Q., Zhang, J., Song, M., . . . Wang, W. (2016). Association between IGF2BP2 Polymorphisms and Type 2 Diabetes Mellitus: A Case-Control Study and Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health*, 13(6).
doi:10.3390/ijerph13060574
- Riobello, C., Gomez, J., Gil-Pena, H., Tranche, S., Reguero, J. R., de la Hera, J. M., . . . Coto, E. (2016). KCNQ1 gene variants in the risk for type 2 diabetes and impaired renal function in the Spanish Renastur cohort. *Mol Cell Endocrinol*, 427, 86-91.
doi:10.1016/j.mce.2016.03.007
- Robert, F., & Pelletier, J. (2018). Exploring the Impact of Single-Nucleotide Polymorphisms on Translation. *Front Genet*, 9, 507. doi:10.3389/fgene.2018.00507
- Rubinstein, M., & Low, M. J. (2017). Molecular and functional genetics of the proopiomelanocortin gene, food intake regulation and obesity. *FEBS Lett*, 591(17), 2593-2606. doi:10.1002/1873-3468.12776
- Saint Pierre, A., & Genin, E. (2014). How important are rare variants in common disease? *Brief Funct Genomics*, 13(5), 353-361. doi:10.1093/bfpg/elu025
- Sandoval-Motta, S., Aldana, M., Martinez-Romero, E., & Frank, A. (2017). The Human Microbiome and the Missing Heritability Problem. *Front Genet*, 8, 80.
doi:10.3389/fgene.2017.00080
- Sanghera, D. K., Demirci, F. Y., Been, L., Ortega, L., Ralhan, S., Wander, G. S., . . . Kamboh, I. M. (2010). PPARG and ADIPOQ gene polymorphisms increase type 2 diabetes mellitus risk in Asian Indian Sikhs: Pro12Ala still remains as the strongest predictor. *Metabolism*, 59(4), 492-501. doi:10.1016/j.metabol.2009.07.043
- Sarhangi, N., Sharifi, F., Hashemian, L., Hassani Doabsari, M., Heshmatzad, K., Rahbaran, M., . . . Hasanzad, M. (2020). PPARG (Pro12Ala) genetic variant and risk of T2DM: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*, 10(1), 12764. doi:10.1038/s41598-020-69363-7
- Scherag, A., Jarick, I., Grothe, J., Biebertmann, H., Scherag, S., Volckmar, A. L., . . . Hinney, A. (2010). Investigation of a genome wide association signal for obesity: synthetic association and haplotype analyses at the melanocortin 4 receptor gene locus. *PLoS One*, 5(11), e13967. doi:10.1371/journal.pone.0013967
- Schork, N. J., Murray, S. S., Frazer, K. A., & Topol, E. J. (2009). Common vs. rare allele hypotheses for complex diseases. *Curr Opin Genet Dev*, 19(3), 212-219.
doi:10.1016/j.gde.2009.04.010
- Schug, T. T., & Li, X. (2011). Sirtuin 1 in lipid metabolism and obesity. *Ann Med*, 43(3), 198-211. doi:10.3109/07853890.2010.547211
- Scott, L. J., Mohlke, K. L., Bonnycastle, L. L., Willer, C. J., Li, Y., Duren, W. L., . . . Boehnke, M. (2007). A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science*, 316(5829), 1341-1345.
doi:10.1126/science.1142382
- Scuteri, A., Sanna, S., Chen, W. M., Uda, M., Albai, G., Strait, J., . . . Abecasis, G. R. (2007). Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are

- associated with obesity-related traits. *PLoS Genet*, 3(7), e115.
doi:10.1371/journal.pgen.0030115
- Sebastiani, P., Timofeev, N., Dworkis, D. A., Perls, T. T., & Steinberg, M. H. (2009). Genome-wide association studies and the genetic dissection of complex traits. *Am J Hematol*, 84(8), 504-515. doi:10.1002/ajh.21440
- Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., . . . Ideker, T. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res*, 13(11), 2498-2504. doi:10.1101/gr.1239303
- Shastri, B. S. (2007). SNPs in disease gene mapping, medicinal drug development and evolution. *J Hum Genet*, 52(11), 871-880. doi:10.1007/s10038-007-0200-z
- Shifman, S., Kuypers, J., Kokoris, M., Yakir, B., & Darvasi, A. (2003). Linkage disequilibrium patterns of the human genome across populations. *Hum Mol Genet*, 12(7), 771-776. doi:10.1093/hmg/ddg088
- Shihab, H. A., Gough, J., Mort, M., Cooper, D. N., Day, I. N., & Gaunt, T. R. (2014). Ranking non-synonymous single nucleotide polymorphisms based on disease concepts.
- Singh, V., & Singh, K. (2018). Indirect Association. In *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior* (pp. 1-2).
- Sladek, R., Rocheleau, G., Rung, J., Dina, C., Shen, L., Serre, D., . . . Froguel, P. (2007). A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*, 445(7130), 881-885. doi:10.1038/nature05616
- Slatkin, M. (2008). Linkage disequilibrium--understanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Nat Rev Genet*, 9(6), 477-485. doi:10.1038/nrg2361
- Smith, K. (2002). Genetic Polymorphism and SNPs.
- Song, J., Yang, B., Jia, X., Li, M., Tan, W., Ma, S., . . . Feng, L. (2018). Distinctive Roles of Sirtuins on Diabetes, Protective or Detrimental? *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9, 724. doi:10.3389/fendo.2018.00724
- Srivastav, A. (2019). doi:10.1101/582213
- Stancakova, A., Pihlajamaki, J., Kuusisto, J., Stefan, N., Fritsche, A., Haring, H., . . . Consortium, E. (2008). Single-nucleotide polymorphism rs7754840 of CDKAL1 is associated with impaired insulin secretion in nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects and in a large sample of men with normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab*, 93(5), 1924-1930. doi:10.1210/jc.2007-2218
- Stutzmann, F., Cauchi, S., Durand, E., Calvacanti-Proenca, C., Pigeyre, M., Hartikainen, A. L., . . . Froguel, P. (2009). Common genetic variation near MC4R is associated with eating behaviour patterns in European populations. *Int J Obes (Lond)*, 33(3), 373-378. doi:10.1038/ijo.2008.279
- Sukhumsirichart, W. (2018). Polymorphisms. In *Genetic Diversity and Disease Susceptibility*.
- Sun, C., Zhang, F., Ge, X., Yan, T., Chen, X., Shi, X., & Zhai, Q. (2007). SIRT1 improves insulin sensitivity under insulin-resistant conditions by repressing PTP1B. *Cell Metab*, 6(4), 307-319. doi:10.1016/j.cmet.2007.08.014
- Sun, Q., Song, K., Shen, X., & Cai, Y. (2012). The association between KCNQ1 gene polymorphism and type 2 diabetes risk: a meta-analysis. *PLoS One*, 7(11), e48578. doi:10.1371/journal.pone.0048578
- Szklarczyk, D., Gable, A. L., Lyon, D., Junge, A., Wyder, S., Huerta-Cepas, J., . . . Mering, C. V. (2019). STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res*, 47(D1), D607-D613. doi:10.1093/nar/gky1131
- Tabara, Y., Osawa, H., Kawamoto, R., Onuma, H., Shimizu, I., Miki, T., . . . Makino, H. (2009). Replication study of candidate genes associated with type 2 diabetes based on genome-wide screening. *Diabetes*, 58(2), 493-498. doi:10.2337/db07-1785

- Tam, V., Patel, N., Turcotte, M., Bosse, Y., Pare, G., & Meyre, D. (2019). Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nat Rev Genet*, 20(8), 467-484. doi:10.1038/s41576-019-0127-1
- Tang, B. (2019). Preview of Single Nucleotide Polymorphism (Snp) and Potential Correlation between Human Genomes and Evolutionary History As Well As Religious Behaviors.
- Tao, Y. X. (2010). The melanocortin-4 receptor: physiology, pharmacology, and pathophysiology. *Endocr Rev*, 31(4), 506-543. doi:10.1210/er.2009-0037
- Tian, Y., Xu, J., Huang, T., Cui, J., Zhang, W., Song, W., . . . Cui, W. (2019). A Novel Polymorphism (rs35612982) in CDKAL1 Is a Risk Factor of Type 2 Diabetes: A Case-Control Study. *Kidney Blood Press Res*, 44(6), 1313-1326. doi:10.1159/000503175
- Unoki, H., Takahashi, A., Kawaguchi, T., Hara, K., Horikoshi, M., Andersen, G., . . . Maeda, S. (2008). SNPs in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes in East Asian and European populations. *Nat Genet*, 40(9), 1098-1102. doi:10.1038/ng.208
- Vage, J., & Langaas, F. (2008). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in coding regions of canine dopamine- and serotonin-related genes. *BMC Genet*, 9, 10. doi:10.1186/1471-2156-9-10
- Varela, L., & Horvath, T. L. (2012). Leptin and insulin pathways in POMC and AgRP neurons that modulate energy balance and glucose homeostasis. *EMBO Rep*, 13(12), 1079-1086. doi:10.1038/embor.2012.174
- Wang, J., Yang, M. M., Rong, S. S., Ng, T. K., Li, Y. B., & Liu, X. M. (2013). Association of paraoxonase gene polymorphisms with diabetic nephropathy and retinopathy. *Mol Med Rep*, 8(6), 1845-1851. doi:10.3892/mmr.2013.1710
- Wehby, G. L., Domingue, B. W., Ullrich, F., & Wolinsky, F. D. (2017). Genetic Predisposition to Obesity and Medicare Expenditures. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 73(1), 66-72. doi:10.1093/gerona/glx062
- Weir, B. S. (2008). Linkage disequilibrium and association mapping. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 9, 129-142. doi:10.1146/annurev.genom.9.081307.164347
- Wellcome Trust Case Control, C. (2007). Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*, 447(7145), 661-678. doi:10.1038/nature05911
- Witka, B. Z., Oktaviani, D. J., Marcellino, M., Barliana, M. I., & Abdulah, R. (2019). Type 2 Diabetes-Associated Genetic Polymorphisms as Potential Disease Predictors. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 12, 2689-2706. doi:10.2147/DMSO.S230061
- Wright, A. F. (2005). Genetic Variation: Polymorphisms and Mutations. In *Encyclopedia of Life Sciences*.
- Xi, B., Chandak, G. R., Shen, Y., Wang, Q., & Zhou, D. (2012). Association between common polymorphism near the MC4R gene and obesity risk: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 7(9), e45731. doi:10.1371/journal.pone.0045731
- Xue, A., Wu, Y., Zhu, Z., Zhang, F., Kemper, K. E., Zheng, Z., . . . Yang, J. (2018). Genome-wide association analyses identify 143 risk variants and putative regulatory mechanisms for type 2 diabetes. *Nat Commun*, 9(1), 2941. doi:10.1038/s41467-018-04951-w
- Yan, X., Wang, Z., Schmidt, V., Gauert, A., Willnow, T. E., Heinig, M., & Poy, M. N. (2018). Cadm2 regulates body weight and energy homeostasis in mice. *Mol Metab*, 8, 180-188. doi:10.1016/j.molmet.2017.11.010
- Yang, M. M., Wang, J., Fan, J. J., Ng, T. K., Sun, D. J., Guo, X., . . . Li, Y. B. (2016). Variations in the Obesity Gene "LEPR" Contribute to Risk of Type 2 Diabetes Mellitus: Evidence from a Meta-Analysis. *J Diabetes Res*, 2016, 5412084. doi:10.1155/2016/5412084
- Yasuda, K., Miyake, K., Horikawa, Y., Hara, K., Osawa, H., Furuta, H., . . . Kasuga, M. (2008). Variants in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet*, 40(9), 1092-1097. doi:10.1038/ng.207

- Young, A. I. (2019). Solving the missing heritability problem. *PLoS Genet*, 15(6), e1008222. doi:10.1371/journal.pgen.1008222
- Zaharan, N. L., Muhamad, N. H., Jalaludin, M. Y., Su, T. T., Mohamed, Z., Mohamed, M. N. A., & H, A. M. (2018). Non-Synonymous Single-Nucleotide Polymorphisms and Physical Activity Interactions on Adiposity Parameters in Malaysian Adolescents. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9, 209. doi:10.3389/fendo.2018.00209
- Zhang, J. (2007). The direct involvement of SirT1 in insulin-induced insulin receptor substrate-2 tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem*, 282(47), 34356-34364. doi:10.1074/jbc.M706644200
- Zhang, L. F., Pei, Q., Yang, G. P., Zhao, Y. C., Mu, Y. F., Huang, Q., & Zhu, Y. L. (2014). The effect of IGF2BP2 gene polymorphisms on pioglitazone response in Chinese type 2 diabetes patients. *Pharmacology*, 94(3-4), 115-122. doi:10.1159/000363414
- Zhang, W., Wang, H., Guan, X., Niu, Q., & Li, W. (2015). Variant rs2237892 of KCNQ1 Is Potentially Associated with Hypertension and Macrovascular Complications in Type 2 Diabetes Mellitus in A Chinese Han Population. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 13(6), 364-370. doi:10.1016/j.gpb.2015.05.004
- Zhao, Y., Ma, Y. S., Fang, Y., Liu, L., Wu, S. D., Fu, D., & Wang, X. F. (2012). IGF2BP2 genetic variation and type 2 diabetes: a global meta-analysis. *DNA Cell Biol*, 31(5), 713-720. doi:10.1089/dna.2011.1400
- Zhou, Y., Park, S. Y., Su, J., Bailey, K., Ottosson-Laakso, E., Shcherbina, L., . . . Hansson, O. (2014). TCF7L2 is a master regulator of insulin production and processing. *Hum Mol Genet*, 23(24), 6419-6431. doi:10.1093/hmg/ddu359
- Zorena, K., Jachimowicz-Duda, O., Slezak, D., Robakowska, M., & Mrugacz, M. (2020). Adipokines and Obesity. Potential Link to Metabolic Disorders and Chronic Complications. *Int J Mol Sci*, 21(10). doi:10.3390/ijms21103570
- Zuk, O., Hechter, E., Sunyaev, S. R., & Lander, E. S. (2012). The mystery of missing heritability: Genetic interactions create phantom heritability. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(4), 1193-1198. doi:10.1073/pnas.1119675109

ÖZGEÇMİŞ

PERSONAL INFORMATION

Ozge ONLUTURK AYDOGAN



📍 Mimar Sinan Cad. Timur Sok. Soğanlık Yeni Mahallesi, No:1/7 Kartal/ISTANBUL

☎ +90 535 982 09 74

✉ ozge.onluturk@gmail.com

Gender Female

Date of birth 02.03.1994

Nationality Turkish

WORK EXPERIENCE

June - Aug2015

Internship: Dr. Serdar Savaş on the relationship of polymorphisms, nutrients, and diseases for Gentest, which is a personalized health care model

Sept 2015- Nov 2019

GENTEST; part time researcher

Investigating the relationship between polymorphisms and chronic complex diseases, identifying these polymorphisms and clarifying their effect mechanism that can lead to more prone or less prone to these diseases, and also finding interacted nutrients, lifestyle conditions, exercises, etc. to decrease risk factors.

2015-2019

Gebze Technical University; started as a bachelor student for graduate Project and continue with master thesis researches; studied with actively proteomics experiments, cell culture methods including mutant stable and transient cell lines and less actively interested with cloning technologies, PCR, DNA isolation, transformation etc.

Dec 2019- May 2020

GENTEST; full time researcher

Investigating the relationship between polymorphisms and chronic complex diseases, identifying these polymorphisms and clarifying their effect mechanism that can lead to more prone or less prone to these diseases, and also finding interacted nutrients, lifestyle conditions, exercises, etc. to decrease risk factors. Developing a model that include all risk factors for each complex disease.

EDUCATION AND TRAINING

2019-

Master Programme on Bioengineering

Istanbul Medeniyet University, Istanbul, Turkey

- Completed the following courses; Fundamentals of Molecular Cell Biology, and Genetics for Bioengineers, Cell Culture Technologies, Mathematical Modeling of Biological Systems, Bioinformatics, Biotechnology

2017-2019

Master Programme on Molecular Biology and Genetics

Gebze Technical University, Kocaeli, Turkey

- Completed the following courses; Molecular Cell Biology, System Biology and Epigenetics, Mass Spectrometry, Prokaryotic Gene Expression, Protein Biotechnology
- (Not completed thesis because of some problems)

2012-2017 Bachelor Programme on Molecular Biology and Genetics

Gebze Technical University, Kocaeli, Turkey

- Started with English Prep School for 1 year. Completed the following courses; Molecular Genetics, Statistics, General Biology, General Biology Lab, General Chemistry, Organic Chemistry, Genetics, Genetics Lab, Physiology, Introduction to Computing and programming, Introduction to Biotechnology, Bioinformatics, Biochemistry, Molecular Cell Biology, Biochemistry Lab

2008-2012 High School

Burak Bora Anatolian High School – İstanbul

- Anatolian High Schools are special ones that admit students based on the scores made in a national exam.

PERSONAL SKILLS

Mother tongue(s) Turkish

Other language(s)	UNDERSTANDING		SPEAKING		WRITING
	Listening	Reading	Spoken interaction	Spoken production	
English	Upper	Upper	Upper	Upper	Upper
French	Beginner	Beginner	Beginner	Beginner	Beginner

Communication skills

- Improved communication skills and team work while working at the student club, as well as during the internship and other work experiences

Organisational / managerial skills

- Leadership (Currently responsible for a team of 10 people at the Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE) / Women in Engineering Committee (Wie)

Technical skills

- Participated Laboratory work for the following:
 - 2D gel electrophoresis
 - Mass spectrometry (Protein)
 - Human and Mouse Cell Culture (SGBS, 3T3-L1 and HEK293T cells, mHypo A2-30, Lisa-2)
 - Transfection and Transduction
 - Fluorescence microscopy
 - Knockdown/Overexpression and Knockout systems (CRISPR Cas9 and CRISPR V2)
 - Oil Red O Staining Protocol
 - Facs Protocol
 - Bioinformatic Tools
 - Western Blot
 - Some cloning methods; DNA isolation, transformation etc.
 - PCR
 - Real Time PCR

- Computer skills
- Good command of Microsoft Office™ tools
 - Beginner at C++ and Python (Program language)
 - Adobe Photoshop
 - Adobe Illustrator
 - Adobe Premiere