

Pediatric Obesity ile İlişkili Anahtar Genlerin ve Yolakların Tanımlanması

Identification of Key Genes and Pathways Associated With Pediatric Obesity

Aynur Karadağ Gürel¹ , Selçuk Gürel² 

1. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uşak/Türkiye
2. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü, Uşak Öztan Hastanesi, Uşak/Türkiye

ÖZET

AMAÇ: Bu çalışmada, pediatrik obezite ile ilişkili olası moleküler mekanizmaları araştırmak için obezite tanısı konmuş çocuklarda, obezitede rol oynayan potansiyel anahtar genleri ve yolakları belirlemek için biyoinformatik analiz yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Biyoinformatik analiz için GEO veri tabanından pediatrik obezite verilerine ait GSE9624 ve GSE139400 erişim numarasına sahip ekspresyon verileri seçilmiştir. GSE9624 veri seti 14 obez ve 13 obez olmayan çocuktan, GSE139400 veri seti ise 5 obez ve 5 normal kilolu çocuklardan alınan adipoz doku ve kan örnekleri örnekler ile çalışılmıştır. Obes çocuklardan alınan örneklerle normal kilolu çocuklardan alınan örnekler farklı şekilde ifade edilen genleri (DEG) bulmak için GEO2R ile analiz edildi. DEG'ler için GO ve KEGG zenginleştirme analizleri gerçekleştirilmiştir. Cytoscape yazılımıyla bir protein-protein etkileşimi (PPI) ağı oluşturuldu ve obezite ile ilişkili önemli genler belirlendi.

BULGULAR: GEO2R ile analiz sonucunda P-değeri <0.05 ve $\log_2FC \geq 0$ veya ≤ 0 olan DEG'ler seçildi. GSE9624 veri setinde obezite grubunda kontrol grubuna göre 1933 genin ifadesi artarken 1462 genin ifadesi azalmıştır. GSE139400 veri setinde ise obezite grubunda kontrol grubuna göre 725 genin ifadesi artarken 1372 genin ifadesi azalmıştır. Her iki veri setinde ortak olarak ifadesi artan 89, ifadesi azalan 161 DEG tanımlanmıştır. İfadesi değişen genlerin lipid ve ateroskleroz, Doğal öldürücü hücre aracılı sitotoksinite, mTOR sinyal yolağı ve Paratiroid hormon sentezi, salgılanması ve etkisi yolaklarında toplandığı görülmüştür. Ayrıca, ALB, RHOA, KRAS, CREB1, GNAQ, GATA3, CXCR3, EZR, SERPINA1, GNAO1 genleri en önemli genler arasında çıkmıştır.

SONUÇ: Bu çalışmanın sonuçları, ortaya çıkan yolak ve genlerin pediatrik obezitede önemli bir rolü olabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: pediatrik obezite, gen ifadesi, biyoinformatik analiz, GEO, mikroarray

ABSTRACT

OBJECTIVE: In this study, it was aimed to identify potential key genes and pathways that play a role in obesity in children diagnosed with obesity in order to investigate possible molecular mechanisms associated with childhood obesity.

MATERIALS AND METHODS: Expression data of pediatric obesity data with accession numbers GSE9624 and GSE139400 were selected from the GEO database for bioinformatics analysis. The GSE9624 dataset was studied with samples from 14 obese and 13 non-obese children, and the GSE139400 dataset was studied with samples of adipose tissue and blood samples from 5 obese and 5 normal-weight children. Samples from obese children and samples from normal-weight children were analyzed by GEO2R to find differentially expressed genes (DEG). GO and KEGG enrichment analyzes were performed for DEGs. A protein-protein interaction (PPI) network was created with the Cytoscape software and important genes associated with obesity were identified.

RESULTS: DEGs with a P-value <0.05 and $\log_2FC \geq 0$ or ≤ 0 as a result of analysis with GEO2R were selected. In the GSE9624 dataset, the expression of 1933 genes increased in the obesity group compared to the control group, while the expression of 1462 genes decreased. In the GSE139400 data set, while the expression of 725 genes increased in the obesity group compared to the control group, the expression of 1372 genes decreased. In both data sets, 89 DEGs with increased expression and 161 DEGs with decreased expression were identified. It has been observed that the genes whose expression changes are collected in Lipid and atherosclerosis, Natural killer cell mediated cytotoxicity, mTOR signaling pathway and Parathyroid hormone synthesis, secretion and effect pathways. In addition, ALB, RHOA, KRAS, CREB1, GNAQ, GATA3, CXCR3, EZR, SERPINA1, GNAO1 genes were among the most important genes.

CONCLUSION: The results of this study showed that emerging pathways and genes may have an important role in childhood obesity.

Keywords: pediatric obesity, gene expression, bioinformatics analysis, GEO, microarray

GİRİŞ

Obezite, aşırı vücut yağının belirli bir dereceye kadar biriktiği ve etkilenen bireylerin yaşam beklentisinin kısaldığı

ve sağlık sorunlarının arttığı tıbbi bir durumdur (1).

Çocukluk çağı obezitesi gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde bir sağlık sorunu haline gelmektedir (2, 3).

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Aynur Karadağ Gürel, Uşak Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Uşak/ Türkiye

E-Posta/E-Mail: aynur.karadag@usak.edu.tr || Tel: +90 532 682 1113

Received/Geliş Tarihi: 04 08 2022 || **Accepted/Kabul Tarihi:** 28 08 2022

Bu Eser Creative Commons Atif-Gayriticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile Lisanslanmıştır. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).



Obezite, genetik, davranışsal, sosyal, kültürel, metabolik ve fizyolojik faktörlerin kombinasyonundan kaynaklanmaktadır ve hiperlipidemi, insülin direnci ve hipertansiyon gibi bazı hastalıkların olasılığını artırmaktadır. Obezite, adipoz dokularda bulunan veya bu dokuları işgal eden hem adipositlerde hem de makrofajlarda inflamatuvar yolakların kalıcı aktivasyonu ile bağlantılı olan yağ dokusunda artış ile karakterize edilir (4, 5). Obezite ile ilişkili fizyolojik mekanizmalar derinlemesine araştırılmaktadır (6), ancak obezite ile ilgili bazı anahtar moleküler mekanizmalar tanımlanamamıştır. Obezite yaşamın erken dönemlerinde geliştiğinden, çocuklarda bu bozukluğa yol açan mekanizmaları anlamak önemlidir. Sadece obezitenin karmaşık etiolojisinin ve ilgili bozuklukların daha iyi anlaşılması, etkin müdahalelerinin yolunu açacaktır (7).

Obezite ile ilgili yeni bilgi ve teorilere rağmen, mevcut araştırma yöntemleri obez hastalar için kişiselleştirilmiş tedaviler sağlamada yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, sonuçları hafifletmek ve dünya çapında artan obez hasta popülasyonunu durdurmak için obezite için spesifik terapötik hedeflere ihtiyaç vardır. Moleküler teknolojinin ve biyoinformatiğin gelişmesiyle birlikte, giderek daha yüksek düzeyde diferansiyel olarak ifade edilen aday genler taranmaktadır. Bu sayede kişiselleştirilmiş tedavi yöntemleri geliştirmemize olanak sağlayacaktır (8).

Obezite ile ilgili genlerin tanımlanması için güçlü araçlar olan DNA mikrodizileri ve RNA dizileme (RNA-seq) teknolojileri, transkript seviyelerini ölçerek diferansiyel gen ekspresyonu profilini çıkarmayı sağlamaktadır. İnsan adipoz dokusu üzerindeki bu yaklaşım, diferansiyel olarak eksprese edilen genler (DEG'ler) açısından zengin olan ve dolayısıyla potansiyel olarak obezitenin patogenezinde yer alan moleküler fonksiyonların ve yolakların belirlenmesine yardımcı olmuştur. Gen ekspresyonu analizi, çeşitli yağ dokusu veya hücrelerinden elde edilen ve gen ekspresyonunun fonksiyonel genomik veri kümelerinin arşivlenmesini, işlenmesini ve alınmasını kolaylaştıran genel bir havuz olan Gene Expression Omnibus (GEO) veri tabanında depolanan nispeten büyük bir veri koleksiyonuna yol açmıştır (9).

Bu çalışmada, GEO veri tabanından obez ve sağlıklı çocuklarda yapılan, 2 çalışmanın gen ekspresyon mikrodizin veri setlerini kullanarak, biyolojik ağlar, gen imzaları ve obezite ile ilişkili yolaklar bağlamında DEG'leri tanımlamak için biyoinformatik analiz gerçekleştirilmiştir. Obezitenin altında yatan moleküler mekanizmaları aydınlatmak için

aday genleri ve obezite ilişkili yolakları tanımlayarak tedavi için yeni bilgiler sağlanması amaçlanmıştır. mRNA düzenleyici ağ sisteminin ortaya çıkarılması ile yeni mekanizmaları daha fazla araştırmak için yeni teorik rehberlik sağlayacak ve gen hedefli tedavinin altında yatan biyolojik süreçleri anlamak için yeni bir bakış açısı sağlayacaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mikrodizin verileri

Pediatrik obezite ile ilgili tüm birincil gen ekspresyon verilerini belirlemek için PubMed ve GEO veri tabanını kullanarak bir literatür araştırması yapılmıştır. Gen ifadesi veri kümeleri, "pediatrik obezite" arama terimi kullanılarak Gene Expression Omnibus (GEO; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) veri tabanından çocukluk çağı obezite verilerine ait GSE9624 ve GSE139400 erişim numarasına sahip ekspresyon verileri seçilmiştir. Dahil etme kriterleri: (a) mikrodizi gen ekspresyon verilerini içeren veri setleri, (b) çalışmalar hem obez hem de obez olmayan denekleri içermekte ve (c) gen ekspresyon analizi yapılan çalışma olması, olarak belirlenmiştir.

GSE9624 veri seti adipoz doku ve kan örnekleri, 14 obez ve apendiks ameliyatı geçiren 13 obez olmayan çocuktan alınmıştır. GSE139400 veri seti 5 Obezite ve 5 normal kilolu çocuklardan alınan rektus femoristen alınan örneklerle çalışılmıştır. Her iki çalışmada GPL570 [HG-U133_Plus_2] Affymetrix İnsan Genomu U133 Plus 2.0 array kullanılmıştır.

Mikrodizin veri işleme

Her iki veri setindeki vakalar ve kontroller arasındaki diferansiyel olarak ifade edilen genler, GEO veri setindeki iki numune grubunu karşılaştıran çevrimiçi bir araç olan GEO2R (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r>) ile analiz edilmiştir. P-değeri <0.05 ve $\log_2FC \geq 0$ veya ≤ 0 olan DEG'ler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel olarak anlamlı genler venny programı (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) ile karşılaştırılarak ortak DEG'ler bulundu ve sonraki analizlere bu genler ile devam edildi.

Farklı ifade edilen genlerin fonksiyonel analizleri

İki veri setinde ortak DEG'lerin rol oynadıkları moleküler yolakları ve biyolojik süreçlerin analizi için DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) çevrimiçi aracı kullanılmıştır. Gen Ontolojisi (GO) biyolojik işlemler, hücresel bileşenler ve moleküler fonksiyonlarına göre belirlenmiştir. Kyoto Genler

ve Genomlar Ansiklopedisi (KEGG) ile biyolojik yolaklar tespit edilmiştir. Fonksiyon zenginleştirme analizinde göre $p < 0.05$ olan terimleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Protein etkileşim ağ network analizi ve hub genlerin tanımlanması

İlk olarak, ortak DEG'ler, protein-protein etkileşimlerini (PPE) analiz etmek için STRING veri tabanına (<https://string-db.org/>) aktarıldı ve güven sınırı > 0.4 seçilerek protein etkileşim ağı oluşturuldu. Ağ görselleştirilmesi ve ağın topolojik özelliklerinin analizi Cytoscape yazılımında (Cytoscape v3.9.2) Cytohubba eklentisi kullanılarak yapılarak hub genler tespit edildi. Seçilen proteinler protein etkileşim ağına en fazla etkileşime sahip hub genlerdir.

BULGULAR

DEG analizleri ve ortak DEG'lerin tanımlanması

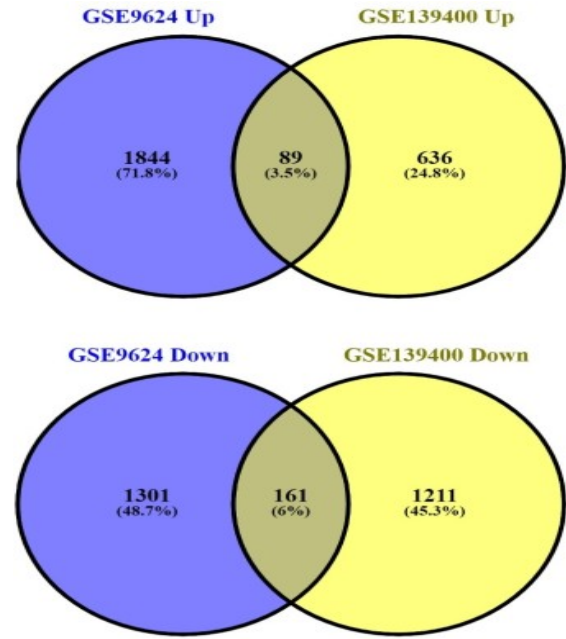
GEO2R ile analiz sonucunda P-değeri < 0.05 ve $\log_2FC \geq 0$ veya ≤ 0 olan DEG'ler seçildi. GSE9624 veri setinde obezite grubunda kontrol grubuna göre 1933 genin ifadesi artarken 1462 genin ifadesi azalmıştır. GSE139400 veri setinde obezite grubunda kontrol grubuna göre 725 genin ifadesi artarken 1372 genin ifadesi azalmıştır. Her iki veri setinde artan ve azalan DEG'ler karşılaştırıldığında, ortak olarak ifadesi artan 89, ifadesi azalan 161 DEG tanımlanmıştır (Şekil 1).

DEG'lerin Gen ontolojisi ve KEGG Yolak Analizi

Çalışmamızda her 2 veri setinde ortak ifade olan DEG'lerin fonksiyonel ve yol zenginleştirme analizleri için DAVID yazılımı kullanılarak GO ve KEGG analizleri yapıldı. GO analizi ifadesi artan ve azalan DEG'lerin 'moleküler fonksiyon (MF)', 'biyolojik süreç (BP)' ve 'hücrenel bileşen (CC)' gruplarında çeşitli açılardan fazla miktarda zenginleştiği görülmüştür ($p < 0.05$). Plazma zarı (CC), DNA bağlama (MF) ve transkripsiyonun pozitif düzenlenmesi, DNA template (BP)'de en fazla genin değiştiği gösterilmiştir. GO terimleri ve zenginleşen genlerin listesi Tablo 1 'te gösterilmiştir.

KEGG yolak analizlerinde ifadesi azalan genlerin lipid ve ateroskleroz, doğal öldürücü (NK) hücre aracılı sitotoksitesite, mTOR sinyal yolu, Kompleman ve pıhtılaşma kaskadları, Paratiroid hormon sentezi, salgılanması ve etkisi" başta olmak üzere 10 yolakta anlamlı olarak zenginleştiği, ifadesi artan genlerin ise 3 yolakta zenginleştiği görülmüştür (Tablo 2).

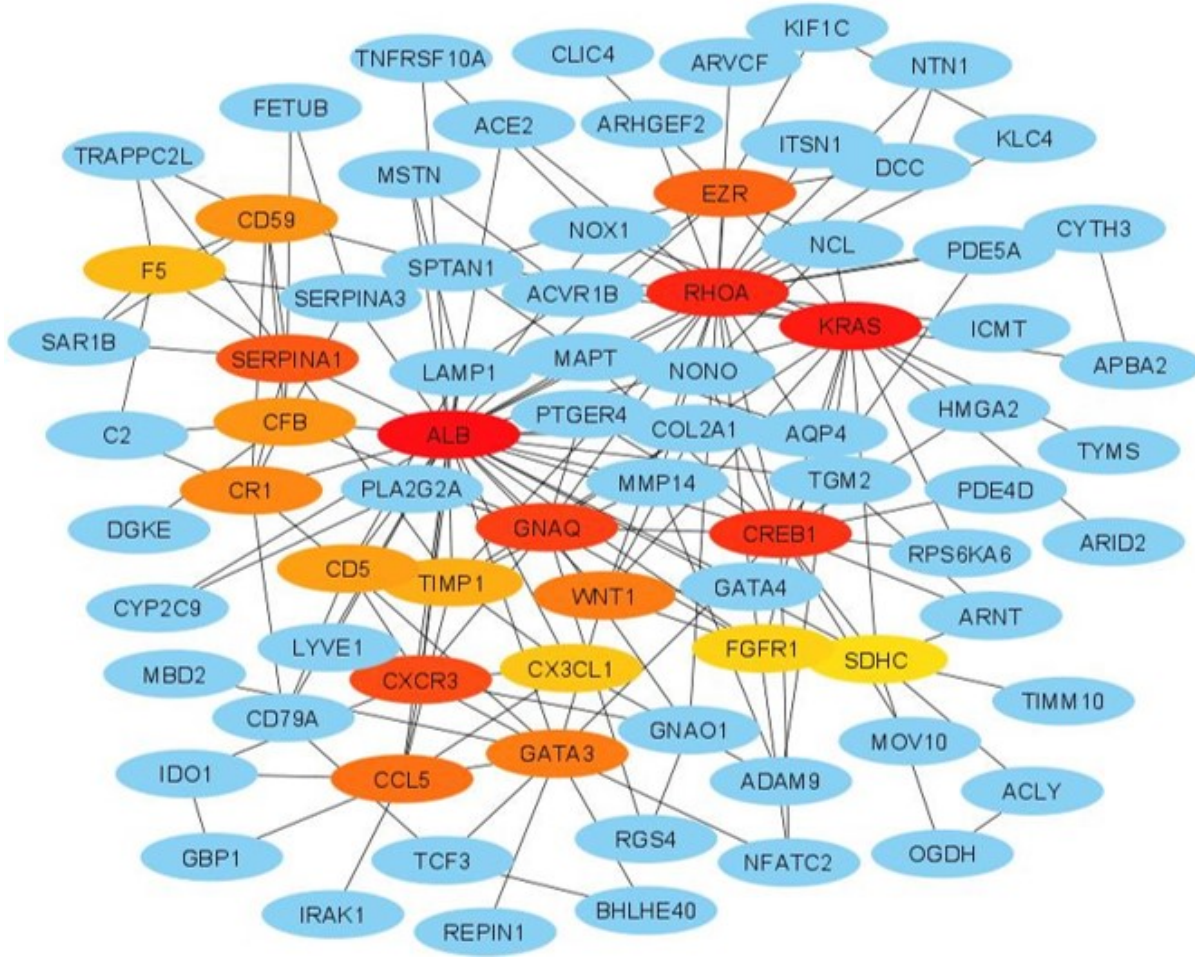
Şekil 1. GEO veri setlerine ait ortak DEG'lerin Ven diyagramları



Entegre Protein-Protein Etkileşim Ağı (PPI)

Her 2 veri setinin karşılaştırmasında ortak olarak azalan ve artan genlerin PPI ağı yapısı STRING veri tabanı kullanılarak analiz edildi. STRING analizi sonucu, ifadesi değişen genlerde gen etkileşim ağı 219 düğüm ve 282 kenar içermektedir. Düğümler DEG'leri ve kenarlar DEG'ler arasındaki etkileşimleri göstermektedir ($p < 0.05$) (Şekil 2). STRING analizi sonrasında TIMP1-MMP14'nın en yüksek güven aralığında etkileşim gösterdiği bulunmuştur. Bu genleri analiz etmek için Cytoscape yazılımındaki Network Analyzer kullanıldı ve çekirdek genler, tahmin edilen puanlara göre sıralandı. İlk 10 yüksek dereceli hub düğümü ALB (Albumin), RHOA (Ras Homolog Family Member A), KRAS (KRAS Proto-Oncogene, GTPase), CREB1 (CAMP Responsive Element Binding Protein 1), GNAQ (G Protein Subunit Alpha Q), GATA3 (GATA Binding Protein 3), CXCR3 (C-X-C Motif Chemokine Receptor 3), EZR (Ezrin), SERPINA1 (Serpin Family A Member 1), GNAO1 (G Protein Subunit Alpha O1) genlerdir. Bu genler arasında ALB, RHO ve KRAS en yüksek düğüm derecesi olan genlerdir. Daha sonra, gen etkileşim ağının modüllerini taramak için Cytoscape yazılımında cytoHubba analizi ile hub genler seçildi. Şekil 2'de skoru en yüksek olan 20 gen gösterildi. Hub genler mcc skoruna göre sırasıyla ALB, KRAS, RHOA, CREB1, GNAQ, SERPINA1, EZR, CCL5, WNT1, GATA3, CR1, CFB, CD59, CD5, TIMP1, F5, CX3CL1, FGFR1, SDHC genleri olarak sıralanmıştır. Şekil 2 de proteinlerin birbirleri ile bağlantıları gösterilmiştir. Kırmızıdan sarıya skor azalmaktadır.

Şekil 2. Ayrıntılı protein etkileşimlerini gösteren düzenleyici genlerin protein-protein etkileşimi (PPI) ağı; PPI zenginleştirme p-değeri >0.05



Tablo 1. İfadesi artan ve azalan genlerin GO analizi

İfadesi artan genlerin GO analizi		
GOTERM_BP_DIRECT	Gen Sayısı	Genler
GO:0006661~phosphatidylinositol biosynthetic process	4	DGKE, MTMR3, OCRL, SYNJ2
GO:0007623~circadian rhythm	4	CREB1, NONO, BHLHE40, TYMS
GO:0046856~phosphatidylinositol dephosphorylation	3	MTMR3, OCRL, SYNJ2
GOTERM_CC_DIRECT		
GO:0005886~plasma membrane	56	RAB3B, CLIC4, DGKE, ITS1, AQP4, SLC4A4, RGS4, GPR173, LAMP1, SLC20B1, TGM2, CR1, DCC, PDE4D, OCRL, F5, ACLY, MMP14, FRMD8, GPRIN1, RAB35, EZR, IL6ST, CFB, SLC29A2, PTGER4, SDC3, NAIF1, SLC5A12, ACVR1B, CYTH3, CD79A, ARVCF, IRAK1, TMEM204, CXCR3, KCNMB2, PLA2G2A, LSAMP, ATP2B4, SYNJ2, LYVE1, PTPRD, GNAO1, SLC6A6, CYP2C9, NEDD1, RIT1, VNN1, KCNS2, GNAQ, TDP1, APBA2, NOX1, FGFR1, SNTB2
GO:0000785~chromatin	14	BNC2, ARNT, HMGA2, SMARCA2, KLF3, TOX4, MTBP, CREB1, HOXB9, BHLHE40, TCF3, E2F5, SPDEF, TGM2
GO:0090575~RNA polymerase II transcription factor complex	6	HOXB9, CREB1, NONO, ARNT, TCF3, E2F5
GO:0045177~apical part of cell	4	DYNC2L1, NEDD1, CLIC4, EZR
GOTERM_MF_DIRECT		
GO:0046872~metal ion binding	29	ZNF551, DGKE, MTMR3, BNC2, SAR1B, ITS1, PRDM15, ACVR1B, GNS, C2, PHF21B, REPIN1, TGM2, ZNF286A, PDE4D, ATP2B4, CDKAL1, KLF3, AGMAT, GNAO1, ACLY, GNAQ, OGDH, ADAM9, PDE5A, ZMYND11, NOX1, NAIP, RNF187
GO:0003924~GTPase activity	8	GNAO1, RAB3B, RGS4, RIT1, SAR1B, GNAQ, RAB35, TGM2
GO:0061629~RNA polymerase II sequence-specific DNA binding transcription factor binding	5	CREB1, BHLHE40, ARNT, HMGA2, TCF3

Tablo 1. İfadesi artan ve azalan genlerin GO analizi **DEVAMI**

İfadesi azalan genlerin GO analizi		
GOTERM_BP_DIRECT	Gen sayısı	Genler
GO:0045893~positive regulation of transcription, DNA-templated	9	MSTN, RBPMS, MBD2, NFATC2, RFX3, GATA4, GATA3, WNT1, PHF8
GO:0045165~cell fate commitment	4	SOX13, GATA4, GATA3, WNT1
GO:0071356~cellular response to tumor necrosis factor	4	CCL5, GATA3, GBP1, CX3CL1
GO:0048568~embryonic organ development	3	MBD2, GATA3, ARID2
GO:0071347~cellular response to interleukin-1	3	CCL5, GBP1, CX3CL1
GOTERM_CC_DIRECT		
GO:0005886~plasma membrane	26	GABRB3, STAU2, ABHD6, CX3CL1, CBARP, ATXN3, CD59, WNT1, ARID2, GBP1, SPTAN1, KIR2DL5A, MAGI1, GABRA5, HIP1R, PTOV1, NPY1R, TNFRSF10A, PARVB, RHOA, SLC7A4, ACE2, CD5, KRAS, MAPT, CNGB1
GO:0030424~axon	6	STAU2, TAOK2, FEZ2, KIF1C, MAPT, RHOA
GO:0005874~microtubule	5	KLC4, STAU2, KIF1C, MAPT, TPGS2
GOTERM_MF_DIRECT		
GO:0003677~DNA binding	11	MBD2, ALB, SOX13, NFATC2, RFX3, CAMTA1, GATA4, GATA3, MAPT, ARID2, SIM1
GO:0003700~transcription factor activity, sequence-specific DNA binding	6	SOX13, NFATC2, RFX3, GATA4, GATA3, SIM1
GO:0003779~actin binding	5	HIP1R, PARVB, MAPT, SPTAN1, GBP1
GO:0008134~transcription factor binding	4	NFATC2, GATA4, TNFRSF10A, GATA3
GO:0019003~GDP binding	3	KRAS, GBP1, RHOA

Tablo 2. İfadesi artan ve azalan genlerin KEGG yolakları

Term	Count	Genes
İfadesi artan genlerin KEGG Yolağı		
hsa05417:Lipid and atherosclerosis	5	CCL5, NFATC2, KRAS, TNFRSF10A, RHOA
hsa04650:Natural killer cell mediated cytotoxicity	4	NFATC2, KRAS, TNFRSF10A, KIR2DL5A
hsa05163:Human cytomegalovirus infection	5	CCL5, NFATC2, KRAS, RHOA, CX3CL1
hsa05022:Pathways of neurodegeneration - multiple diseases	7	KLC4, ATXN3, KRAS, SDHC, MAPT, AMBRA1, WNT1
hsa05010:Alzheimer disease	6	KLC4, KRAS, SDHC, MAPT, AMBRA1, WNT1
hsa04150:mTOR signaling pathway	4	RPS6KA6, KRAS, WNT1, RHOA
İfadesi azalan genlerin KEGG Yolağı		
hsa04610:Complement and coagulation cascades	5	SERPINA1, CR1, CFB, F5, C2
hsa04962:Vasopressin-regulated water reabsorption	4	DYNC2LI1, DCTN5, CREB1, AQP4
hsa04928:Parathyroid hormone synthesis, secretion and action	5	MMP14, CREB1, PDE4D, GNAQ, FGFR1
hsa05130:Pathogenic Escherichia coli infection	6	CYTH3, IRAK1, NCL, ARHGFE2, EZR, NAIP

TARTIŞMA

Çocukluk çağı obezitesi, potansiyel olarak yaşamı tehdit eden sonuçları olan çok sistemli bir hastalıktır (10). Çocukluk çağı obezitesinin patogenezi aydınlatmayı amaçlayan çok sayıda genetik çalışmaya rağmen, bu hastalığın gelişimi ve ilerlemesindeki moleküler mekanizmalar belirsizliğini koruyor. Bu çalışmada, belirgin şekilde ifadesi artmış 3 gen (ALB, KRAS ve RHOA) ve ifadesi azalmış 3 gen (CREB1, GNAQ ve CXCR3) tanımlanmıştır. İfadesi artan genlerin "Lipid ve ateroskleroz (CCL5, NFATC2, KRAS, TNFRSF10A, RHOA), Doğal öldürücü (NK) hücre aracılı sitotoksikite (NFATC2, KRAS, TNFRSF10A, KIR2DL5A), mTOR

sinyal yolağı (RPS6KA6, KRAS, WNT1, RHOA) yolaklarında, ifadesi azalan genlerin ise Complement ve koagülasyon kaskadı (SERPINA1, CR1, CFB, F5, C2), Parathyroid hormon sentezi (MMP14, CREB1, PDE4D, GNAQ, FGFR1) yolaklarında, düzenlenmesi dahil olmak üzere çeşitli fonksiyonların bu DEG'ler tarafından önemli ölçüde zenginleştirildiği gözlemlendi.

Çocukluk çağında lipid yönetimi, genetik lipid bozuklukları ve artan obezite ile ilişkili bulunmuştur (11). Çocukluk çağı obezitesi, tip 2 diyabet, hipertansiyon, ateroskleroz, koroner arter hastalığı ve yetişkinlikte bazı kanser türleri gibi yüksek metabolik ve kardiyovasküler bozukluklar riski taşır (12).

Bizimde sonuçlarımız arasında ifadesi artan genlerin lipit ve ateroskleroz yolağında toplandığı gösterilmiştir. CCL5, NFATC2, KRAS, TNFRSF10A ve RHOA genlerinin ise çalışmamızda ilk defa önemli olduğu ve obezitenin gelişmesinde rol alabilecekleri gösterilmiştir.

Obeziteye, sistemik kronik düşük dereceli inflamasyonun yanı sıra çeşitli doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık hücrelerinin işlev bozuklukları eşlik eder. Son bulgular, obez koşullar altında doğal öldürücü (NK) hücrelerin işlevsellik ve fenotipinin bozulduğunu vurgulamaktadır. İn vitro olarak incelenen NK hücrelerinin alt kümelerinde, dağılımında, fenotipinde, sitotoksitesinde, sitokin salgılanmasında ve sinyalleşme basamaklarında obezite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (13). Bizimde çalışmamızda Doğal öldürücü hücre aracılı sitotoksitesite yolağında rol alan NFATC2, KRAS, TNFRSF10A ve KIR2DL5A genlerinin ifadesinin arttığı artığı bulunmuştur.

Çalışmada öne çıkan ifadesi artan genlerin toplandığı diğer bir yolak mTOR sinyal yolağıdır. Yapılan çalışmalarda mTOR sinyal yolağının aktivitesindeki bozulmalar, sayısız malignite, kardiyovasküler hastalıklar, obezite, nörodejeneratif hastalıklar ve metabolik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir (14). Bizimde çalışmamızda RPS6KA6, KRAS, WNT1, RHOA genleri ilk defa obezite ile ilişkilendirilmiştir.

Obez ve aşırı kilolu ergenlerde D vitamini eksikliğinin yüksek olduğu bilinmektedir. Yapılan az sayıda çalışma, yüksek D vitamini eksikliğine rağmen obez ergenlerde daha düşük paratiroid hormon (PTH) düzeylerini göstermiştir (15). Serum 25 hidroksivitamin D [25(OH)D] ve PTH düzeylerinin de ters orantılı olduğu bilinmektedir (16). D vitamini eksikliği olanlarda paratiroid hormonunun PTH sentezi ve salgılanması daha yüksektir (17). Hem PTH hem de 25(OH)D, kalsiyum homeostazında önemli roller oynar. Çalışmamızda ifadesi azalan genler arasında MMP14, CREB1, PDE4D, GNAQ, FGFR1 genleri öne çıkmış ve PTH yolağı ile ilişkili bulunmuştur.

Çalışmamızda öne çıkan bir diğer yolak kompleman ve koagülasyon kaskadı yolağı olmuştur. Kompleman sistemi başlangıçta mikrobiyal istilacılara karşı destekleyici bir ilk savunma sistemi olarak görülüyordu. Fakat yapılan son çalışmalarda kompleman sisteminin aktivasyonunun obezite, insülin direnci ve diabetes mellitus dahil olmak üzere metabolik bozuklukların başlaması ve ilerlemesinin rolü

olduğunu göstermiştir (18). Çalışmamızda SERPINA1, CR1, CFB, F5, C2 genlerinin ifadesinin obez çocuklarda azaldığı görülmüştür.

SONUÇ

Sonuç olarak, bu çalışmanın sonuçları NFATC2, KRAS, TNFRSF10A, RHOA genlerinin çocukluk çağı obezitesi ile ilgili olabileceğini ortaya koymuştur. Mevcut çalışmanın gözlemlerinin, çocukluk çağı obezitesi için moleküler mekanizmaların anlaşılması ve aday terapötik ajanların tanımlanması için etkileri olabilir. Bununla birlikte, bu bilgilerin klinik bir ortamda kullanılması amacıyla aday genleri doğrulamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Pediatrik obezitenin endişe verici eğilimi, büyümeyi ve işlevselliği etkileyen metabolik komplikasyonların erken başlangıcını engellemek için en büyük farkındalığı hak etmektedir. Şu anda, çocukluk çağı obezitesinin moleküler mekanizmaları ve ilişkili metabolik komorbiditeler hakkında bilgi sınırlıdır ve pediatrik obezite ilişkili anahtar genler ve yolaklar hakkında daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır

Etik: Etik kurul onayı tüm veriler anonim olduğundan bu çalışma için geçerli ve gerekli değildir.

Ethics committee approval is not applicable and not necessary for this study.

Yazar katkı durumu; Çalışmanın konsepti; AKG, SG, dizaynı; AKG, SG, Literatür taraması; AKG, SG, verilerin toplanması ve işlenmesi; AKG, SG, istatistik; AKG, SG, yazım aşaması; AKG, SG.

Author contribution status; The concept of the study; AKG, SG, design; AKG, SG, literature review; AKG, SG, collecting and processing data; AKG, SG, statistics; AKG, SG, writing phase; AKG, SG.

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

The author declares no conflict of interest.

Finansal Destek: yoktur / Funding: none

doi: <https://doi.org/10.33713/egetbd.1156405>

KAYNAKLAR

1. Haslam DW, James WP. Obesity. Lancet. 2005;366:1197-1209. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67483-1.
2. Hedley AA, Ogden CL, Johnson CL, Carroll MD, Curtin LR, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999-2002. Jama. 2004;291:2847-2850. doi: 10.1001/jama.291.23.2847.
3. Martorell R, Khan L Kettel, Hughes ML, Grummer-Strawn LM. Overweight and obesity in preschool children from developing countries. Int J Obes Relat Metab Disord. 2000;24:959-967. doi:

10.1038/sj.jjo.0801264.

4. National Institutes of Health, corp-author. The practical guide: identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults. National Heart, Lung and Blood Institute; 2002.

5. Freedman DS, Khan LK, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: The Bogalusa heart study. *Pediatrics*. 2001;108:712-718. doi: 10.1542/peds.108.3.712.

6. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: Their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev*. 2000;21:697-738. doi: 10.1210/edrv.21.6.0415.

7. Ahrens W, Moreno LA, Pigeot I. Childhood obesity: prevalence worldwide—synthesis part I. In: Moreno LA, Pigeot I, Ahrens W (eds). *Epidemiology of Obesity in Children and Adolescents—Prevalence and Etiology*. Springer Publisher, New York, USA, 2011, pp 219-235.

8. Wang J, Zhang C. Identification and validation of potential mRNA- microRNA- long-noncoding RNA (mRNA-miRNA-lncRNA) prognostic signature for cervical cancer. *Bioengineered*. 2021 Dec;12(1):898-913. doi: 10.1080/21655979.2021.

9. Barrett T, Wilhite SE, Ledoux P, Evangelista C, Kim IF, Tomashevsky M, Kimberly et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets—update. *Nucleic Acids Res*. 2013;41:D991-D995. D991-5. doi: 10.1093/nar/gks1193.

10. Ebbeling CB, Pawlak DB, Ludwig DS. Childhood obesity: Public-health crisis, common sense cure. *Lancet*. 2002;360:473-482. doi: 10.1016/S0140-6736(02)09678-2.

11. Leopold S, Zachariah JP. Pediatric Lipid Disorders. *Pediatr Ann*. 2021 Mar; 50(3): e105-e112. doi: 10.3928/19382359-20210218-01.

12. Sonali Malhotra S, Sivasubramanian R, Singhal V. Adult obesity and its complications: a pediatric disease? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2021 Feb 1;28(1):46-54. doi: 10.1097/MED.0000000000000592.

13. Bähr I, Spielmann J, Quandt D, Kielstein H. Obesity-Associated Alterations of Natural Killer Cells and Immunosurveillance of Cancer. *Front Immunol*. 2020 Mar 13;11:245. doi: 10.3389/fimmu.2020.00245.

14. Laplante, M.; Sabatini, D.M. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*. 2012 Apr 13;149(2):274-93. doi: 10.1016/j.cell.2012.03.017.

15. Bhongir AV, Vijaittha SM, Kuruguntla S, Yalamati P, Vyakaranam S. Association of Vitamin D and Parathyroid Hormone Levels in Overweight and Obese Adolescents. *Indian J Clin Biochem*. 2020 Jan;35(1):95-101. doi: 10.1007/s12291-018-0780-8.

16. Martins JS, Palhares M de O, Teixeira OCM, Gontijo Ramos M. Vitamin D status and its association with parathyroid hormone concentration in Brazilians. *J Nutr Metab*. 2017;2017:9056470. doi: 10.1155/2017/9056470.

17. Holick MF. The vitamin D epidemic and its health consequences. *J Nutr*. 2005;135:2739S-2748S. doi: 10.1093/jn/135.11.2739S.

18. Shim K, Begum R, Yang C, Wang H. Complement activation in obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2020 Jan 15;11(1):1-12. doi: 10.4239/wjd.v11.i1.1.