

TLQP-21 Nöropeptit Plazma Seviyesinin Morbid Obezlerde Belirlenmesi

Gülşah Koç 
Ahu Soyocak 
Burak Kankaya 
Halil Aliş 

Determination of TLQP-21 Neuropeptide Plasma Level in Morbid Obese

Öz

Amaç: Obezitenin engellenmesinde ya da tedavisinde etkili olabileceği düşünülen TLQP-21 nöropeptidinin morbid obez ve normal kilodaki sağlıklı bireylerin plazmalarındaki seviyelerinin ölçülmesi ve iki grup arasında karşılaştırma yapılması hedeflenmiştir.

Yöntem: Beden kitle indeksi (BKİ) 40 kg/m² ve üzerinde olan 51 morbid obez hasta ve BKİ 18,5-24,9 kg/m² arasında olan herhangi bir metabolik hastalığı olmayan normal kiloda 22 sağlıklı birey çalışmaya dâhil edilmiştir. Çalışmaya katılan tüm bireylerden alınan plazma örneklerinde enzim bağılı immunosorbent analizi (ELISA) testi yapılmıştır. Tüm veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Morbid obez bireylerin TLQP-21 peptit miktarlarının normal kilodaki sağlıklı bireylere göre arttığı gözlemlense de bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) ($p=0,718$). TLQP-21 peptit miktarı tüm çalışma grubunda cinsiyet dağılımlarına göre de değerlendirilmiş, ancak istatistiksel olarak bir farklılık belirlenmemiştir.

Sonuç: Obezitenin çözümlenmesinde anahtar rol oynayabileceği düşünülen TLQP-21 nöropeptidin morbid obez ve sağlıklı bireylerin plazma seviyelerinde bir fark olmadığı çalışmamızda gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: TLQP-21, obezite, nöropeptit

ABSTRACT

Objective: In this study, it was aimed to measure TLQP-21 neuropeptide plasma levels, which is thought to be effective in preventing or treating obesity in morbidly obese and normal weight healthy individuals, and to make a comparison between both groups.

Method: Fifty-one morbidly obese patients with a body mass index (BMI) of 40 kg/m² and above and 22 healthy individuals of normal weight with a BMI between 18.5-24.9 kg/m² without any metabolic disease were included in the study. Enzyme-linked immunosorbent analysis (ELISA) test was performed on plasma samples taken from all individuals participating in the study. All data were evaluated statistically.

Results: Although it was observed that TLQP-21 peptide values in morbidly obese individuals increased compared to healthy individuals with normal weight, this increase was not statistically significant ($p>0.05$) ($p=0.718$). The amount of TLQP-21 peptide was also evaluated according to gender distributions in the whole study group, but any statistically significant difference was not determined.

Conclusion: Our study showed that there is no difference in plasma levels of TLQP-21 neuropeptide, which is thought to play a key role in the treatment of obesity, in morbidly obese and healthy individuals.

Keywords: TLQP-21, obesity, neuropeptide

Received/Geliş: 20.08.2020
Accepted/Kabul: 22.12.2020
Published Online/Online yayın: 02.02.2021

Cite as: Koç G, Soyocak A, Kankaya B, Aliş H. TLQP-21 Nöropeptit plazma seviyesinin morbid obezlerde belirlenmesi. İKSSTD 2021;13(1):6-10.

Gülşah Koç
İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
İnönü Cad. No: 38 Küçükçekmece
34295 İstanbul - Türkiye
✉ gulsahkoc@gmail.com
ORCID: 0000-0002-9678-5652

A. Soyocak 0000-0003-0999-2774
İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
İstanbul - Türkiye

B. Kankaya 0000-0002-5451-7166
H. Aliş 0000-0003-0907-6047
İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Genel Cerrahi Anabilim Dalı,
İstanbul - Türkiye

GİRİŞ

Dünya çapında giderek yaygınlaşan ve en ölümcül hastalıklardan biri olarak kabul edilen obezite; her yaş grubunda gözlenen ve farklı nedenlerle oluşabilen bir rahatsızlıktır. Bireylerin yüksek oranda kalorili beslenmesi ve sedanter yaşam şekli obezitenin başlıca nedenidir. Bunun dışında, hormonal ve metabolik bozukluklar, psikolojik sorunlar, kullanılan bazı ilaçlar da obeziteyi tetikleyen faktörler arasındadır. Çevresel etmenler artan obezite prevalansına oldukça katkıda bulunmaktadır, ancak genetik faktörler de bir bireyin kilo almaya yatkınlığını belirlemede kritik öneme sahiptir. Bireylerdeki genetik farklılıklar kişilerin iştahına, metabolizmasına ve davranış biçimine etki etmekte ve bu durum da obezite oluşma riskini artırmaktadır ^(1,2).

Vücut kompozisyonunu, iştah kontrolü ve enerji harcamasını kontrol eden mekanizmaların anlaşılması için yapılan çalışmalar, merkezi sinir sisteminin bu süreçlerde kritik rol oynadığını göstermektedir ⁽³⁾. Ağırıklı olarak hipotalamusta nöroendokrin hücrelerde eksprese olan VGF (nerve growth factor inducible) geninin insülin salgı süreci, aşırı yeme ile ilgili biyolojik süreçlerde ilişkisi olduğu son çalışmalarda belirtilmiştir. VGF, 5 ekzondan oluşmakta olup, 7q22 kromozom bölgesinde lokalizedir ⁽⁴⁾. VGF geninden eksprese olan nöronal biyoaktivitelere sahip peptitler arasında TLQP-21 oldukça dikkat çekicidir.

TLQP-21 potansiyel olarak enerji homeostazı, ağrı modülasyonu, stres ve üreme dâhil olmak üzere çeşitli fizyolojik fonksiyonların kontrolünde yer alan çok fonksiyonlu bir nöropeptittir. TLQP-21 peptidinin, adipoz dokuda G-proteinine bağlı reseptör TLQP-21'i (Complement-3a-Receptor1) hedeflediği anlaşılmıştır. TLQP-21, adiposit fonksiyonlarının yeni bir modülatörü ve obezite ile ilişkili hastalıkları çözümlenmek için potansiyel bir aday olarak ortaya çıkmaktadır. Moleküler mekanizma hâlâ büyük oranda karakterize edilmemiş durumdadır ⁽⁵⁾.

Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde TLQP-21'in intraserebroventriküler (14 gün boyunca günde 15 mikrogram) enjeksiyonunun, bazal enerji tüketimini, rektal sıcaklığı arttırdığı ve farelerde kilo kaybına neden olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, TLQP-21'in vücut ağırlığının artmasını engellemeyi yanı sıra yağlı bes-

lenme kaynaklı hormonal değişiklikleri de önlediği belirtilmiştir ⁽⁶⁾. TLQP-21'in, C3aR1 için doğal bir agonist olduğu keşfi, obezite için potansiyel bir ilaç hedefi olabileceği yönünde ilgiyi artırmaktadır ⁽⁷⁾.

Obezitenin önüne geçilmesinde ya da tedavisinde etkili olabileceği düşünülen TLQP-21 peptidinin obez insanlardaki etkisini gösterecek çalışma neredeyse yok denecek kadar azdır. Bu amaçla, çalışmamızda, BKİ parametrelerine göre morbid obez olduğu belirlenen hastalar ile BKİ parametrelerine göre normal kiloda olan sağlıklı bireylerin kan örneklerinde TLQP-21 peptit plazma seviyelerini belirlemek ve her iki grup arasında karşılaştırma yapılarak obezite ile olan ilişkisinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma Grubu

Bu çalışmaya İstanbul Aydın Üniversitesi Medical Park Florya Hastanesi'ne başvuran BKİ 40 kg/m² ve üzerinde olan bariatrik cerrahi operasyonu geçirmesine karar verilen 51 (25 kadın-26 erkek) morbid obez hasta ve BKİ 18,5-24,9 kg/m² arasında olan herhangi bir metabolik hastalığı olmayan normal kiloda 22 (13 kadın-9 erkek) sağlıklı birey (kontrol) dâhil edilmiştir. Çalışmaya katılan hasta grubun yaş ortanca değerleri 37 (30-62), kontrol grubu yaş ortanca değerleri 33 (27-43)'tür.

Çalışmaya katılan tüm kişilerin ameliyat öncesi değerlendirilmesi, ayrıntılı anamnez, antropometrik ölçümleri, metabolik değerlendirmesi uzman sağlık ekibi tarafından gerçekleştirilmiştir. İstanbul Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi Etik Komitesi 2017/253 No'lu izni ile yapılan bu çalışmada tüm katılımcılar, gönüllü onam formunu imzalamıştır. Çalışmaya katılan tüm kişilerden, 2 cc kan örneği EDTA'lı tüplere alınmıştır. 2.000 g +4°C derecede soğutmalı santrifüjde çevrilen kan örneklerinden plazmaları ayrılarak -20°C derecede saklanmıştır.

Protein Miktar Tayini

Çalışmamızda, TLQP-21 peptit miktarını belirlemek amacıyla ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemi kullanılmıştır. ELISA, antijen-antikor ilişkisini, antikora bağlanmış bir enzimin aktivitesini araştırmak temeline dayanan kantitatif ölçüm yöntemidir. Antijene karşı antikör ya da antikora karşı anti-

jen aramak için kullanılabilir. ELISA yönteminde araştırılacak antikor-antijen enzim ile işaretlenir. Test reaksiyonunda kullanılacak enzimler test reaktifleri arasında yer alan substratları renklendirir. Reaksiyon sonucu ortaya çıkan renklenme ise spektrofotometre cihazı ile ölçülür ve test yorumlanır. TLQP-21 peptit miktarını belirlemek amacıyla hasta ve kontrol grubundan hazırlanan plazma örneklerinde ELISA yöntemi çalışılmıştır. TLQP-21 peptid miktarı ELISA kit üreticisi firmanın (Phoenix Pharmaceuticals, USA) önerdiği prosedür izlenerek mikroparka okuyucuda saptanmıştır. Okuyucuda tespit edilen değer 450 nm absorbans değer karşılığıdır. Elde edilen değerler, standart eğriye göre Four Parameter Logistic (4PL) logaritmik işlemi ile hesaplanmış ng/ml cinsinden plazmada yer alan peptit miktarı bulunmuştur.

İstatistiksel Değerlendirmeler

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows. Version 25.0. Armonk. NY: IBM Corp.) istatistik paket programı kullanılmıştır. Değişkenler normallik varyansların homojenliği ön şartlarının kontrolü yapıldıktan sonra (Shapiro Wilk ve Levene Testi) değerlendirilmiş ve ortanca (%25-%75) değerleri kullanılarak ifade edilmiştir. İki grup karşılaştırması için Mann Whitney-U testi kullanılmıştır. Testlerin anlamlılık düzeyi için $p < 0,05$; $p < 0,01$ ve $p < 0,001$ değerleri kabul edilmiştir.

BULGULAR

Normal kilodaki sağlıklı bireylerle morbid obez bireylerin yaşları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında bir farklılık gözlenmemiştir ($p = 0.065$) Normal kilodaki sağlıklı bireylerle morbid obez bireylerin yaşları cinsiyetlere göre karşılaştırıldığında iki grup arasında kadınlar arasında bir fark gözlenirken ($p=0.008$), erkekler arasında bir fark gözlenmemiştir ($p=0.590$) (Tablo 1). Çalışma grubunda cinsiyete göre yüzde dağılımları da değerlendirilmiş olup istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p=0.429$) (Tablo 1).

Morbid obez bireylerin TLQP-21 peptit miktarlarının normal kilodaki sağlıklı bireylere göre arttığı gözlenirse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.718$) (Tablo 2). TLQP-21 peptit miktarları cinsiyete göre karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

TARTIŞMA

VGF geni silinmiş (nakavt) farelerin zayıf, hipermetabolik, hiperaktif olduğu, belirgin şekilde azalmış leptin seviyeleri ve obeziteye dirençli bir fenotipe sahip olduğu gözlemi, VGF'den eksprese olan TLQP-21 nöropeptidi üzerine olan ilgiyi artırmıştır⁽⁸⁾. TLQP-21 biyolojik etkileri ve işlevleri açısından son yıllarda geniş çapta araştırılmaya başlanmıştır.

Nöropeptit TLQP-21'in, adipoz hücre membranında

Tablo 1. Sağlıklı kontrol ve morbid obez gruplarında cinsiyet ve yaş dağılımları.

		Sağlıklı kontrol (n=22)	Morbid obez (n=51)	P
Cinsiyet	Kadın/Erkek n, (%)	13 (59) / 9 (41)	25 (45) / 26 (51)	0,429
Yaş*	Kadın	46 (33-63)	30 (24-37)	0,008
	Erkek	32 (30-45)	35 (30-45)	0,590
	Toplam	33 (27-43)	37 (30-62)	0,065

*Ortanca (çeyrekler arası açıklık)

Tablo 2. Normal kilodaki sağlıklı ve morbid obez bireylerde cinsiyete göre TLQP-21 peptit miktarları.

TLQP-21 miktarı (ng/ml)	Sağlıklı Kontrol (n = 22) Ortanca (%25-%75)	Morbid Obez (n = 51) Ortanca (%25-%75)	P
Kadın	1,89 (1,63 - 1,96)	2,13 (1,69 - 2,25)	0,178
Erkek	1,88 (1,54 - 2,39)	1,86 (1,50 - 2,02)	0,424
Toplam	1,83 (1,60 - 2,07)	1,88 (1,61 - 2,16)	0,718

bulunan C3aR1 reseptörüne bağlandığı ve adipoz dokuda $\beta 3$ adrenerjik reseptör bağlantılı lipoliz yolunu teşvik ettiği hayvan deneyleriyle gösterilmiştir. Obez farelerde, yağ dokusuna özgü C3aR1 ekspresyonunda önemli bir artış meydana geldiği bulunmuştur ^(7,9).

Yüksek yağlı diyetle beslenen obez farelerde TLQP-21 kronik subkütan tedavisi, obezitenin erken evrede engellenebildiğini, kilo alımı ve adipoz doku artımını önlediği ve murin adipositlerinde lipolizi artırdığı gösterilmiştir. TLQP-21'in adipoz hücre membranına bağlanma afinitesinde de eşzamanlı bir artış gösterdiği saptanmıştır ^(6,10).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, TLQP-21'in obezite tedavisi için güçlü bir farmakolojik aday olduğunu göstermektedir. Öte yandan, TLQP-21'in kinetiği hakkında şu anda oranla az şey bilinmektedir ⁽¹¹⁾.

TLQP-21 nöropeptidinin obezite üzerine etkisi hayvan deneyleri ile çok aktif olarak çalışılmaktadır. Ancak bu konuda insan üzerine yapılan çalışmalar yok denecek kadar azdır.

İnsan ve fare metabolik fonksiyonlarında TLQP-21 / C3aR1'in rolünün araştırıldığı bir çalışmada, TLQP-21'in kemirgen adipositlerinde lipolitik etkisinin olduğu, ancak insan adipositlerinde (hücre kültür çalışması) aynı etkiyi göstermediği saptanmıştır. Bu çalışmada kullanılan mikromolar dozlardaki uygulama lipolizin yeterince gerçekleşmeme nedeni olarak ortaya atılmıştır ⁽¹²⁾.

Çalışmamızda, morbid obez hastalar ile sağlıklı kontrollerin plazma TLQP-21 miktarlarına bakılarak karşılaştırma yapılmıştır, ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p=0.718$). Cinsiyete göre kadın ve erkek arasında da belirgin bir farklılık bulunmamaktadır. TLQP-21 plazmadaki peptid miktarının morbid obez ve normal kilodaki kişilerde birbirine yakın olması, obeziteye yol açabilecek faktörün TLQP-21 peptidi yerine reseptörü C3aR1'in olabileceği sonucunu düşündürmektedir. Obezlerde, C3aR1 reseptöründe oluşabilecek mutasyon, gen düzeyinde ekspresyon seviyesinde farklılık, reseptör-ligand afinitesinde azalma gibi nedenlerle TLQP-21 / C3aR1'in eşlik ettiği $\beta 3$ adrenerjik reseptör bağımlı lipolitik yolakta sorun oluşturuyor olması mümkündür.

Sonuç olarak, obezitenin çözümlenmesinde anahtar rol oynayabileceği düşünülen TLQP-21 nöropeptidin morbid obez ve sağlıklı bireylerin plazma seviyelerinde bir fark olmadığı çalışmamızda gösterilmiştir. Bu konudaki ileri çalışmaların reseptör C3aR1 üzerine yoğunlaşması gerektiği gözlenmektedir.

Etik Kurul Onayı: İstanbul Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Komitesi'nden onay alınmıştır (2017/253).

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: Bu çalışma İstanbul Aydın Üniversitesi Bap Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2018/05).

Hasta Onamı: Tüm katılımcılardan onam formu alınmıştır.

Ethics Committee Approval: İstanbul Bakırköy Dr. Sadi Konuk Training and Research Hospital has been approved by the Clinical Research Ethics Committee (2017/253).

Conflict of Interest: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Funding: This work was supported by the İstanbul Aydın University Bap committee (Project No: 2018/05).

Informed Consent: Consent forms were obtained from all participants.

KAYNAKLAR

1. Patel JJ, Rosenthal MD, Miller KR, Codner P, Kiraly L, Martindale RG. The critical care obesity paradox and implications for nutrition support. *Curr Gastroenterol Rep.* 2016;18(9):45. <https://doi.org/10.1007/s11894-016-0519-8>
2. Heianza Y, Qi L. Gene-diet interaction and precision nutrition in obesity. *Int J Mol Sci.* 2017;18(4):787. <https://doi.org/10.3390/ijms18040787>
3. Ozturk AS. Diyet çeşitlerine bilimsel bakış: besin alımının düzenlenmesi. Editör Özer C. Diyet çeşitlerine bilimsel bakış. 1.baskı.Türkiye: Akademisyen kitabevi: 2020. p. 23-41.
4. Sabbagh U, Mullegama S, Wyckoff GJ. Identification and evolutionary analysis of potential candidate genes in a human eating disorder. *Biomed Res Int.* 2016;2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7281732>
5. Bresciani E, Possenti R, Coco S, Rizzi L, Meanti R, Molteni L, et al. TLQP-21, A VGF-Derived Peptide Endowed of Endocrine and Extraendocrine Properties: Focus on In Vitro Calcium Signaling. *Int J Mol Sci.* 2020;21(1):130. <https://doi.org/10.3390/ijms21010130>
6. Bartolomucci A, La Corte G, Possenti R, Locatelli V, Rigamonti AE, Torsello A, et al. TLQP-21, a VGF-derived peptide, increases energy expenditure and prevents the early phase of diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci.* 2006;103(39):14584-9. <https://doi.org/10.1073/pnas.0606102103>
7. Cero C, Razzoli M, Han R, Sahu BS, Patricelli J, Guo Z, et al. The

- neuropeptide TLQP-21 opposes obesity via C3aR1-mediated enhancement of adrenergic-induced lipolysis. *Mol Metab.* 2017;6(1):148-58.
<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.10.005>
8. Levi A, Ferri GL, Watson E, Possenti R, Salton SRJ. Processing, distribution, and function of VGF, a neuronal and endocrine peptide precursor. *Cell Mol Neurobiol.* 2004;24(4):517-33.
<https://doi.org/10.1023/B:CEMN.0000023627.79947.22>
 9. Mamane Y, Chan CC, Lavalley G, Morin N, Xu LJ, Huang J, et al. The C3a anaphylatoxin receptor is a key mediator of insulin resistance and functions by modulating adipose tissue macrophage infiltration and activation. *Diabetes.* 2009;58(9):2006-17.
<https://doi.org/10.2337/db09-0323>
 10. Possenti R, Muccioli G, Petrocchi P, Cero C, Cabassi A, Vulchanova L, et al. Characterization of a novel peripheral pro-lipolytic mechanism in mice: role of VGF-derived peptide TLQP-21. *Biochem J.* 2012;441(1):511-22.
<https://doi.org/10.1042/BJ20111165>
 11. Guo Z, Sahu BS, He R, Finan B, Cero C, Verardi R, et al. Clearance kinetics of the VGF-derived neuropeptide TLQP-21. *Neuropeptides.* 2018;71:97-103.
<https://doi.org/10.1016/j.npep.2018.06.003>
 12. Sahu BS, Rodriguez P, Nguyen ME, Han R, Cero C, Razzoli M, et al. Peptide/receptor co-evolution explains the lipolytic function of the neuropeptide TLQP-21. *Cell Rep.* 2019;28(10):2567-80.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.07.101>