

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**HASHİMOTO TİROİDİTİ HASTALARINDA
ADİPONEKTİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE PARP-1 GEN
POLİMORFİZMLERİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

FUNDA KARAKURT

PROF. DR. GÖNÜL KANIGÜR

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI**


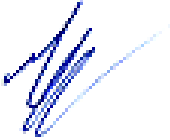


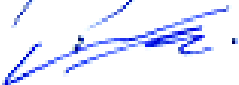
İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

Istanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında Funda Karakurt tarafından hazırlanan HASHİMOTO TİROİDİTİ HASTALARINDA ADİPONEKTİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE PARP-1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

06 / 01 / 2012

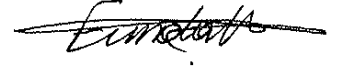
Tez Sınav Jürisi

Ünvanı, Adı, Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)	İmzası
1. PROF. DR. GÖNÜL KANIGÜR	
2. PROF. DR. MEHMET GÜVEN	
3. DOÇ. DR. AHMET ÖZAYDIN	
4. DOÇ. DR. MÜGE SAYITOĞLU	
5. YARD. DOÇ. DR. CAN ERZİK	

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün saffhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

FUNDA KARAKURT



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

*Tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesi sırasında desteğini esirgemeyen
danışmanım Sayın Prof. Dr. Gönül Kanıgür'e,*

*Yüksek lisans eğitimin boyunca, çalışmalarımı destekleyen ve her türlü yardımda
bulunan Tıbbi Biyoloji A.D. Başkanı Sayın Prof. Dr. Turgut Ulutin'e,*

*Çalışmamın yürütülmesi sırasında desteğini aldığım
Sayın Prof. Dr. İlhan Onaran'a,*

*Hasta temin edilmesi aşamasında yardımlarını aldığım Endokrinoloji ve Metabolizma
Hastalıkları A.D'na*

*Çalışmamın yürütülmesi sırasında desteğini aldığım ve
DETAM Genetik Laboratuvarı imkanlarını kullanmama olanak sağlayan
Doç. Dr. Müge Sayitoğlu'na*

Yüksek Lisans eğitimim boyunca birlikte olmaktan mutluluk duyduğum arkadaşlarıma,

Ayrıca;

*Yüksek lisans eğitimim boyunca hiçbir özveriden kaçınmayarak bana her zaman destek
olan biricik aileme,*

Sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
desteklenmiştir. Proje No: 7061

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tiroiditler	3
2.1.1. Tiroiditlerin Sınıflandırılması	3
2.2. Otoimmün Tiroiditler.....	3
2.3. Hashimoto Tiroiditi.....	4
2.4. Epidemiyoloji.....	4
2.5. Hashimoto Tiroiditi Patogenezi	5
2.6. İnflamasyon.....	6
2.7. Adipoz Doku.....	7
2.8. Leptin	9
2.8.1. Leptinin Yapısı.....	9
2.8.2. Leptin ve İnflamasyon	9
2.9. Adiponektin.....	11
2.9.1. Adiponektinin Yapısı	11
2.9.2. Adiponektin ve İnflamasyon	12
2.10. PARP Süperaillesi.....	13
2.10.1. PARP Süperaillesinin Genel Yapısı.....	13
2.10.2. PARP-1 Proteini.....	14
2.10.3. Poli ADP Ribozilasyon	15

2.11. PARP-1 - İnflamasyon.....	17
2.12. PARP-1 Gen Polimorfizmleri.....	18
2.13. PARP-1 Gen Anlatım Düzeyleri.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1. DNA İzolasyonu.....	22
3.1.1. DNA Saflığının ve Miktarının Ölçümü.....	23
3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	24
3.2.1. Primer Stok Çözeltileri.....	24
3.2.2. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde İncelenmesi.....	26
3.2.3. PZR ürünlerinin Restriksiyon Enzimleri ile Kesimi.....	28
3.2.4. PARP-1 Geninin Restriksiyon Enzimleriyle Oluşan Kesim Ürünleri.....	29
3.3. PARP-1 Gen Anlatım Düzeyleri.....	29
3.3.1. Beyaz Hücrelerin Ayrıştırılması.....	29
3.3.2. Total RNA İzolasyonu.....	30
3.2.5. Gerçek Zamanlı (Real Time) Kantitatif PZR.....	32
3.4. ELISA Yöntemi.....	33
3.4.1. ELISA Yöntemi ile Adiponektin Tayini.....	34
3.4.1.1. Kullanılan Reaktifler.....	34
3.4.1.2. Reaktif Hazırlama.....	35
3.4.1.3. Ölçüm Yöntemi.....	36
3.4.1.4. Data Analizi.....	36
3.4.1.5. Presizyon, Sensitivite ve Spesivite.....	36
3.4.2. ELISA Yöntemi ile Leptin Tayini.....	36
3.4.2.1. Kullanılan Reaktifler.....	37
3.4.2.2. Reaktif Hazırlama.....	37
3.4.2.3. Ölçüm Prosedürü.....	38
3.4.2.4. Data Analizi.....	39
3.4.2.5. Presizyon, Sensitivite ve Spesivite.....	39
3.5. İstatiksel Analizler.....	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. PARP-1 Geni G1672A Polimorfizmi.....	40
4.2. PARP-1 Geni G1672A Polimorfizmi Genotiplerinin RFLP Analizi.....	41
4.3. PARP-1 Geni C410T Polimorfizmi.....	42

4.4. PARP-1 Geni C410T Polimorfizmi Genotiplerinin RFLP Analizi	43
4.5. PARP-1 Geni C410T ve G1672A Polimorfizmleri Genotiplerinin Birlikte Görülme Sıklığının İstatistik Sonuçları	44
4.6. Haplotip Analizi.....	45
4.7. PARP-1 Geni mRNA Düzeyleri ile G1672A Genotiplerinin Karşılaştırılması.....	47
4.8. PARP-1 Geni mRNA Düzeyleri ile C410T Genotiplerinin Karşılaştırılması	48
4.9. Hasta ve Kontrollerde Leptin Seviyelerinin Karşılaştırılması	49
4.10. Hasta ve Kontrol Gruplarında Adiponektin Seviyelerinin Karşılaştırılması	51
5. TARTIŞMA	53
KAYNAKLAR	59
ETİK KURUL KARARI	72
ÖZGEÇMİŞ	73

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: PARP-1 geni promotör bölge polimorfizmleri ve inflamatuvar hastalıklar ...	20
Tablo 2-2: C410T genotiplerinin ve allellerinin popülasyonlarda görülme sıklığı	21
Tablo 2-3: G1672A genotiplerinin ve allellerinin popülasyonlarda görülme sıklığı.....	21
Tablo 3-1: PZR' de kullanılan primerler	25
Tablo 3-2: PZR karışımı	25
Tablo 3-3: PZR programı.....	25
Tablo 3-4: cDNA sentezi PZR içeriği.....	31
Tablo 3-5: Reaksiyon karışımının içeriği	31
Tablo 3-6: Gerçek zamanlı PZR içeriği	32
Tablo 3-7: Gerçek zamanlı PZR sıcaklık koşulları.....	33
Tablo 3-8: Gerçek zamanlı PZR'de kullanılan primerler	33
Tablo 4-1: G1672A polimorfizmi genotip dağılımları	40
Tablo 4-2: G1672A polimorfizmi allel frekansları dağılımı	40
Tablo 4-3: C410T polimorfizmi genotip dağılımları	42
Tablo 4-4: C410T polimorfizmi allel frekansları dağılımı	43
Tablo 4-5: Hasta ve kontrol gruplarında C410T ve G1672A genotiplerinin birlikte görülme sıklıkları.....	45
Tablo 4-6: G1672A genotiplerine göre mRNA düzeyleri	47
Tablo 4-7: C410T genotiplerine göre mRNA düzeyleri.....	48
Tablo 4-8: G1672A genotiplerine göre leptin seviyeleri	50
Tablo 4-9: C410T genotiplerine göre leptin seviyeleri.....	50
Tablo 4-10: G1672A genotiplerine göre adiponektin seviyeleri	51
Tablo 4-11: C410T genotiplerine göre adiponektin seviyeleri.....	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Hashimoto tiroiditi'nin olası patojenik mekanizması	6
Şekil 2-2: İnflamasyonda Th1 ve Th2 yolu	7
Şekil 2-3: Adipositlerden salgılanan metabolitler	8
Şekil 2-4: Leptinin immün sistem ve inflamasyon üzerine etkisi.....	10
Şekil 2-5: Leptinin doğal ve kazanılmış bağışıklıktaki rolü	11
Şekil 2-6: Adiponektin proteininin moleküler yapısı	12
Şekil 2-7: Adiponektinin immün sistem ve inflamasyon üzerine etkisi	13
Şekil 2-8: PARP-1 proteininin kromozom üzerindeki konumu.....	14
Şekil 2-9: PARP-1 proteininin genel yapısı.....	15
Şekil 2-10: Poli ADP-riboz yapısı	16
Şekil 2-11: PARP-1 proteininin DNA zincir kırığına etkisi.....	17
Şekil 2-12: PARP-1 geni promotör bölgesi ve tespit edilen polimorfizmler.....	19
Şekil 3-1: C410T polimorfizmine ait PZR agaroz jel görüntüsü.....	27
Şekil 3-2: G1672A polimorfizmine ait PZR agaroz jel görüntüsü	27
Şekil 4-1: G1672A genotiplerinin RFLP agaroz jel görüntüsü	41
Şekil 4-2: Hasta ve kontrol gruplarında G1672A polimorfizmi genotip dağılımı.....	42
Şekil 4-3: C410T RFLP agaroz jel görüntüsü	43
Şekil 4-4: Hasta ve kontrol gruplarında C410T polimorfizmi genotip dağılımı	44
Şekil 4-5: Hasta ve kontrol grupları C410T ve G1672A haplotiplerinin birlikte kalıtılma sıklığı	46
Şekil 4-6: G1672A genotiplerine göre mRNA düzeyleri	47
Şekil 4-7: C410T genotiplerine göre mRNA düzeyleri	48
Şekil 4-8: Hasta ve kontrol gruplarında leptin seviyeleri	49
Şekil 4-9: Hasta ve kontrol gruplarında adiponektin seviyeleri	51

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Anti – TG	Anti Troglobulin Antikor
Anti – TPO	Anti Peroksidaz Antikor
Bç	Baz Çifti
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CI	Güven Aralığı
EDTA	Etilendiamin Tetraasetikasit
HT	Hashimoto Tiroiditi
IL	İnterlökin
IFN- γ	İnterferon Gamma
kDa	Kilodalton
Markır	Molekül Ağırlıklı Belirteç
MHC	Majör Doku Uygunluk Kompleksi
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NF- κ B	Nekroz Faktör Kappa Beta
OD	Optik Dansite
OR	Görelî Orantı
PAR	Poli (ADP-riboz)
PARG	Poli (ADP-riboz) Glukohidrolaz
PARP	Poli (ADP-riboz) Polimeraz
PARP-1	Poli (ADP-riboz) Polimeraz-1
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RA	Romatoid Artrit
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)
SLE	Sistemik Lupus Eritromatöz
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA
Tg	Tiroglobulin
Th	T helper (yardımcı)
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör Alfa
TPO	Tiroperoksidaz
UV	Ultraviyole

ÖZET

Karakurt, F. (2012). Hashimoto Tiroiditi Hastalarında Adiponektin Düzeyleri Üzerine PARP-1 Gen Polimorfizmlerinin Etkisinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Tiroid bezinin kronik inflamatuvar otoimmün hastalığı olan Hashimoto tiroiditi, tiroiditlerin en sık görülenidir. Avrupa popülasyonundaki ikiz çalışmalarından; hastalığın tek yumurta ikizlerinde, ikiz olmayanlara göre %55 konkordans oranı göstermesi hastalıkta genetiğin önemini göstermektedir. Poli(AD-riboz)polimeraz aday genlerden birisidir fakat mekanizma aydınlatılabilmiş değildir. Diğer taraftan, leptin ve adiponektinin otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. Son senelerde PARP-1'in adiponektin düzeylerini düşürüp inflamasyonu etkilediğine dair bulgular vardır. Bu bölge içindeki bazı polimorfizmlerin PARP-1 konsantrasyonun yanı sıra aktivitesini de etkilediği ileri sürülmüştür. Bu polimorfizmler ile bazı otoimmün/inflamatuvar hastalıklar arasındaki ilişki araştırılmış ve bu polimorfizmlerin hastalık riskine katkıda bulunabileceği ortaya konmuştur.

Çalışma kapsamında hasta ve sağlıklı bireylerin kanlarından (141 hasta, 150 kontrol) DNA izolasyonu yapılarak PARP-1 geni C410T ve G1672A polimorfizmleri PZR-RFLP yöntemi ile genotiplendirilmiştir. Gerçek zamanlı PZR ile mRNA düzeyleri ölçülmüştür. Serum örneklerinden ELISA yöntemi ile leptin ve adiponektin seviyeleri tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre; C410T polimorfizmi hasta ve kontrol grupları arasında anlamlılık göstermezken, G1672A polimorfizmi G/G genotipinin hasta grubunda yüksek olduğu ve G allelinin hastalıkta risk faktörü olduğu bulunmuştur. Adiponektin seviyesi hasta ve kontrollerde farklılık göstermezken, leptin seviyesi hasta grubunda kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur. Bu da leptinin inflamasyonla pozitif korelasyon gösterdiğini kanıtlamaktadır. PARP-1 geni C410T ve G1672A polimorfizmlerinin mRNA düzeylerini etkilemediği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hashimoto tiroiditi, PARP-1, Polimorfizm, Leptin, Adiponektin

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:7061

ABSTRACT

Karakurt, F. (2012). PARP-1 Gene Polymorphisms Effects on Adiponectin Levels in Hashimoto Thyroiditis Patients. İstanbul University, Institute of Health Science, Medical Biology Department.

Hashimoto thyroiditis is an autoimmune disease of the thyroid gland, which is the most common. European population's twin studies shows that monozygot twins shows %55 concordance rate than the twins without monozygot, it demonstrates the importance of the genetics in disease. Poly (ADP-ribose) polymerase gene is the one of the candidate gene but the mechanism is not elucidated yet. On the other hand, leptin and adiponectin has been shown to play a role in pathogenesis of many autoimmune disease. In recent years there's an evidence that PARP-1 decrease adiponectin levels and influences the inflammation. It has been suggested that some polymorphisms which are in the promoter region affects concentration and also the enzymatic activity. The relationship between these polymorphisms (C410T, C1362T, G1672A) and some autoimmune/inflammatory diseases investigated and these polymorphisms may be contribute the disease's risk.

We isolate the blood of patients and healthy people's DNA (141 patients and 150 control). PARP-1 gene promoter region polymorphisms C410T and G1672A were genotyped from DNA by PCR-RFLP methods. mRNA levels were measured by Realtime PCR. Samples of serum leptin and adiponectin levels were determined by ELISA.

According to the result; C410T polymorphism is not seem any difference between patients and controls. G1672A polymorphism G/A genotype is lower in control grup and G allele is the risk in disease. Adiponectin level is not seem any difference in patients and controls, leptin is higher in patients than controls. This means that there is a correlation between leptin and inflammation. PARP-1 gene's C410T and G1672a polymorphism doesn't effect of mRNA levels.

Key Words: Hashimoto thyroiditis, Polymorphism, İnflammation, Leptin, Adiponectin

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No:7061

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hashimoto tiroiditi (HT), en sık görülen tiroidit tipidir. HT, kronik olarak seyreden inflamatuvar bir otoimmün hastalıktır. Birçok otoimmün hastalıkla benzer biçimde HT' nin multifaktöriyel bir hastalık olduğu bilinmektedir. Avrupa popülasyonunda yapılan çalışmalarda tek yumurta ikizlerinde hastalık görülme oranının, hasta olmayanlara göre %55 daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. Otoimmün tiroditler, genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak gelişir. Ailesel tiroid öyküsü olan bireylerde HT görülme sıklığı, normal popülasyona oranla daha fazladır. Bununla birlikte, bazı alerjik hastalıklar, kromozomal anomaliler veya otoimmün hastalıkların HT prevalansını arttırdığı bildirilmiştir.

Otoimmün hastalıklar, organizmanın kendi hücre ve dokularına karşı uzun süreli immün cevap ve inflamasyon oluşmasından kaynaklanmaktadır. İnflamasyon, hücreler ve vasküler dokuların hasara karşı yanıtını içeren kompleks bir reaksiyondur. Son senelerde, yapılan çalışmalarda immün cevap ile adipoz doku arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Adipoz dokunun sadece pasif enerji deposu olmadığı, aktif bir endokrin organ olarak fonksiyon gördüğü anlaşılmış olup, adipokinler olarak adlandırılan çok çeşitli biyoaktif maddeleri ürettiği bilinmektedir. Özellikle leptin ve adiponektinin çok sayıda otoimmün hastalığın (Romatoid Artrit, Sistemik Lupus Eritromatöz, Tip 1 Diyabet gibi) patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir. Leptin, akut enfeksiyonlarda inflamatuvar immün sistem hücrelerini aktive ederek konağı zararlı etkilerden korur. Adiponektin, antiinflamatuvar bir moleküldür. Adiponektin baskılayıcı etkisini TNF- α , IL-6 ve bazı adezyon moleküllerinin ekspresyonu üzerinden gerçekleştirir.

Otoimmün hastalıklardan biri olan HT patogenezinde genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı bilinmesine rağmen, hastalıklığın etyolojisinde hangi genetik faktörlerin rolü olduğu tam olarak açıklanamamış değildir. PARP-1, aday genlerden birisidir. PARP-1 enziminin interlökin genlerini transkripsiyonel düzeyde düzenlemek suretiyle otoimmünitede inflamatuvar süreçte rol oynadığı bilinmektedir ancak mekanizması tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir.

Son senelerde, PARP-1' in adiponektin seviyelerini düşürüp, leptin seviyelerini arttırarak inflamasyonu etkilediğine dair bulgular vardır. Diğer taraftan PARP-1 geni susturulmuş sıçanların, inflamasyona karşı korunduğu gösterilmiştir.

PARP-1 konsantrasyonunun genin promotör bölgesiyle doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir. Promotör bölge içindeki bazı polimorfizmlerin PARP-1 konsantrasyonu ile birlikte aktivitesini de etkilediği ileri sürülmüştür. Bu polimorfizmler (C410T, C1362T ve G1672A) ile bazı otoimmün/inflamatuar hastalıklar arasındaki ilişkiler araştırılmış ve bu polimorfizmlerin hastalık riskine katkıda bulunabileceği ortaya konmuştur.

Ancak literatürde ilgili polimorfizmlerin HT ile ilişkisini kuran bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu çalışmada PARP-1 geninin promotör bölgesindeki C410T, G1672A tek gen polimorfizmlerin hastalık için bir risk faktörü olup olmadığının gösterilmesi ve sözü edilen bu polimorfizmlerin, hastaların serum leptin ve adiponektin seviyeleri ile ilişkisinin araştırılmasının yanı sıra bu polimorfizmlerin genin mRNA düzeylerine etkisini olup olmadığının araştırılması hedeflenmiştir. Elde edeceğimiz sonuçlar ile HT' nin etyolojisini anlamak ve sözü edilen polimorfizmlerin hastalık ile ilişkisini ortaya koymak açısından literatüre katkıda bulunmayı amaçlamaktayız. PARP-1 geni polimorfizmleri, leptin ve adiponektin seviyeleri ile HT arasındaki ilişkiyi araştırmış herhangi bir çalışma olmadığından çalışmamız öncül nitelik taşımaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tiroiditler

Tiroiditler, inflamasyon, fibrozis veya lenfositik infiltrasyonun baskın olduğu, tiroid bezinin farklı etyolojik nedenlerine bağlı olarak ortaya çıkan inflamatuvar hastalıklardır. Tiroiditler, tiroidal inflamasyonun neden olduğu farklı klinik tabloların ortaya çıkmasına neden olurlar (1).

2.1.1. Tiroiditlerin Sınıflandırılması

Tiroiditlerin çoğunda hastalığın nedeni tam olarak bilinmediğinden uluslararası sınıflandırma yapılamamıştır (2). Ancak, genelde kabul gören sınıflandırma şekli; hastalığın klinik seyrine göre akut, subakut ve kronik olarak sınıflandırılmasıdır (1).

- Akut tiroidit
- Subakut tiroidit
- Kronik tiroidit
- Hashimoto tiroiditi (Kronik lenfositik tiroidit, Otoimmün tiroidit)

2.2. Otoimmün Tiroiditler

Otoimmünite; bağışıklık sisteminin kendi doku ve organlarına karşı immün reaksiyon göstermesidir. İmmün sistemin en önemli özelliklerinden biri, kendine ait olanı yabancından ayırabilmesidir. İmmün sistem kendisine ait antijene karşı reaksiyon göstermezken, yabancı antijeni hemen tanır ve savunmaya geçer. Vücudun, tüm doku ve moleküllerine karşı toleranslı olması sağlayan mekanizmalar vardır. Yeterli toleransın oluşmaması veya sonradan yok olması, vücudun kendi doku veya moleküllerine karşı immün reaksiyon oluşturmaya neden olmaktadır. Bu reaksiyon sonucunda ilgili doku, organ veya molekülde fonksiyonel bozukluk, inflamatuvar sürecin aktivasyonu veya hücre apoptozu gibi olaylarla karşılaşmaktadır (3,4).

Otoimmünitenin nedeni tam olarak bilinmese de, temelinde genetik yatkınlığı barındırmaktadır. Otoimmün hastalığı olan bireylerin 1. derece akrabalarında da benzer hastalıkların toplumun genel ortalamasından daha yüksek oranda görülmesi genetik faktörlerin rolünü kanıtlamaktadır (4).

2.3. Hashimoto Tiroiditi

Hashimoto tiroiditi, ilk kez 1912 yılında Dr. Hakaru Hashimoto tarafından tiroid bezinde büyüme olan dört kadın hastada tanımlanıp, “Struma Lymphamotosa” olarak adlandırılmıştır. Bu hastalarda tiroid bezinin plazma hücreleri ve lenfositlerce infiltrasyonu, parankimde fibrozis, atrofi ve eozinofilik dejenerasyonun geliştiği görülmüştür (5,7). Yıllar sonra benzer hasta gruplarında antitiroid antikorların gösterilmiş olmasıyla patogeneizde otoimmüitenin rol oynadığı sonucuna varılmıştır (2). Diffüz lenfoplazmositik infiltrasyon, farklı derecelerde tiroid fonksiyon bozuklukları, dolaşımda tiroid antijenlerine karşı oluşan antikorların varlığı ile karakterize olan bu hastalık “kronik otoimmün tiroidit” olarak da adlandırılmaktadır. Tiroid bezine karşı oluşan anormal hücrel ve humoral immün yanıt, hastalığın gelişimine neden olur (6).

2.4. Epidemiyoloji

HT prevalansı, hastalığın tanısı için kullanılan kriterlerin farklı olmasına, çalışmanın yapıldığı bölgenin çevresel koşullarına, cinsiyete ve yaş faktörlerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Son yıllarda hastalığın görülme sıklığı giderek artmaktadır. Bunun nedenleri arasında; günümüzde tanıda daha güvenilir testlerinin kullanılması ve diyetle alınan iyot miktarının artması yer almaktadır (8).

HT, iyot alımının çok olduğu ülkelerde hipotiroidizmin en sık nedenidir (9,10) Günümüzde iyot eksikliğinin giderilmesi ile otoimmün tiroidite bağlı guatr sıklığının giderek arttığı görülmektedir (10). Ülkemizde de iyot eksikliğinin giderilmesi amacıyla yapılan iyot profilaksisiyle otoimmün tiroiditlerin prevalansında artış saptanmıştır (11).

HT, en sık orta yaş grubunda olmak üzere her yaş grubunda görülebilmektedir. Genel popülasyonun %2’ sinden fazlasında görülen HT, kadınlarda erkeklerden daha sık görülmektedir. HT, kadınlarda morbiditeden sorumlu en sık görülen otoimmün hastalılardan birisidir (12,13).

Otoimmün tiroiditler, genetik ve genetik olmayan faktörlere bağlı olarak oluşmaktadır. Ailesinde tiroid hastalığı öyküsü olan bireylerde Hashimoto tiroiditi gelişme riski normal popülasyona göre daha fazladır (14,15,16).

Hashimoto hastalığı saptanan bireylerin 1. derece yakınlarında bu hastalığın görülme sıklığı %18-33 olup, bu bireylerdeki tiroid antikor pozitifliği oranı toplumun ortalama değerlerine göre daha yüksek bulunmuştur (17,18).

2.5. Hashimoto Tiroiditi Patogenezi

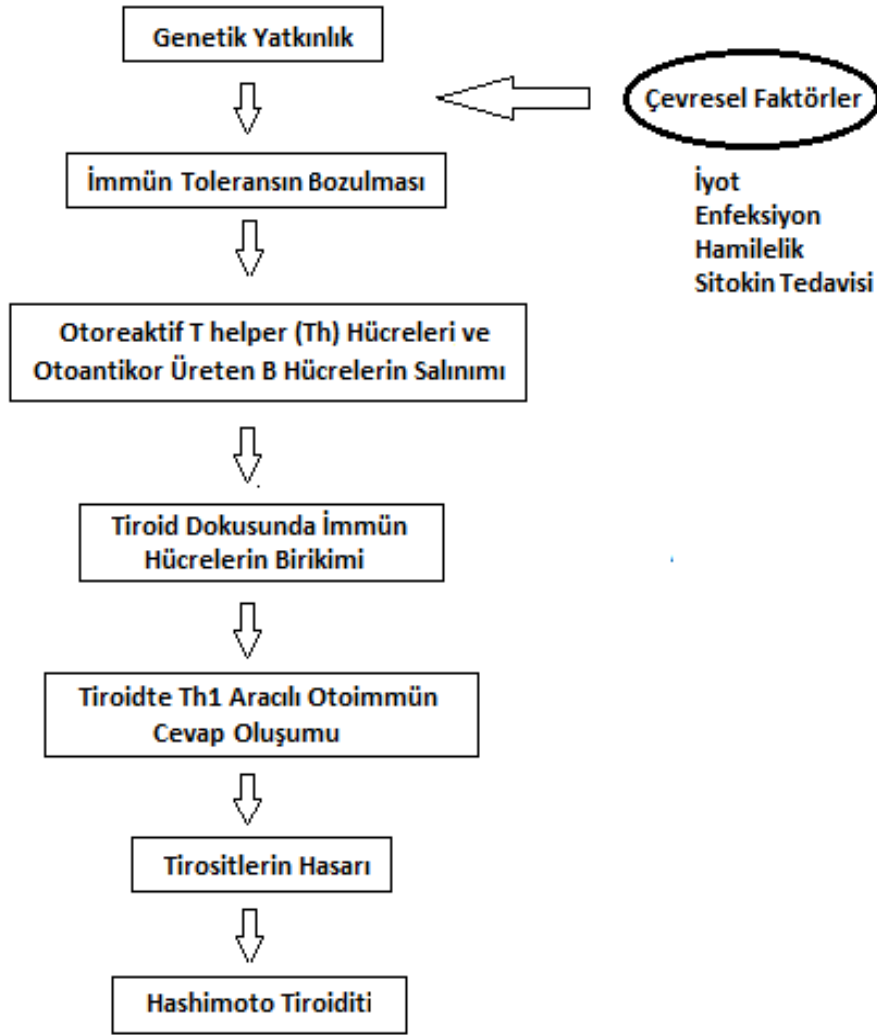
T hücre aracılı otoimmünite ile oluşan HT' de, genetik ve çevresel faktörler önemli rol oynar (19). Bütün otoimmün hastalıklarda olduğu gibi HT oluşumunda da genetik ve çevresel faktörlerin zararlı etkileşimi söz konusudur. Ancak genetik faktörler, hastalığın oluşumunda daha ağır basmaktadır (17).

Otoimmün olayın nasıl tetiklendiği henüz bilinmemekle beraber yaş ilerledikçe hastalığın insidansının artması çevresel faktörlerin etkili olabileceğini düşündürmektedir. HT oluşumunu tetikleyen çevresel faktörler; iyot alımı (20,21), bakteriyel ve viral enfeksiyonlar (22,23), sitokin tedavisi (24) ve gebeliktir (25,26). Epidemiyolojik çalışmalar (27,28) ve hayvan çalışmalarında (29,30,31) diyet ile alınan iyodun etyolojideki rolü iyi tanımlanmış olup, tiroidit oluşumunu tetikleyen en önemli çevresel faktör olarak bildirilmiştir (32).

HT oluşumunu etkileyen genetik faktörlere karşı, hücrel ve humoral immün cevap birlikte rol oynar. HT' de tiroid bezi yaygın olarak lenfosit ve plazma hücreleri ile infiltre edilmiştir. Bu hücrelerden lenfositlerin %60' ını T lenfositler, %30' unu B lenfositler, T lenfosit popülasyonunu ise; CD4⁺ (yardımcı), CD8⁺ (sitotoksik) ve CD8⁺ (süpresör) hücreler oluştururlar (33). (Şekil 2-1)

HT' de genetik defekt sonucunda hücrel immünitinin bozulması söz konusudur. Süpresör özelliğe sahip CD8⁺ T hücreleri HT' de sayıca azalmıştır. Bu hücrelerin azalması, organizmanın kendi doku antijenlerine karşı olması gereken toleransın da azalmasına neden olmaktadır. Bu defekt sonucu süpresör CD8⁺ T lenfositleri, yardımcı CD4⁺ T lenfositlerini süprese edemez (2,32). Aktive olmuş yardımcı CD4⁺ T lenfositleri B lenfositleri ile etkileşime girer ve aktive olan B lenfositleri çeşitli tiroid antijenlere karşı antikor üretirler, bu da tiroid dokunun haraplanmasına neden olur (6,8).

Yardımcı CD4⁺ T lenfositler bakteriyel antijenlerle uyarıldığında, INF- γ ' yı da içeren birçok sitokin salgılanır. IFN- γ , tiroid hücreleri tarafından MHC (Major Histocompatibility Complex) sınıf II moleküllerinin ekspresyonunu indükler (19). Bu sitokinler, tirositleri uyararak MHC-II yüzey antijenlerinin oluşmasını sağlar ve böylece tiroid hücreleri, T hücrelerine antijen sunan hücreler haline gelir. MHC molekülleri HT oluşumunda önemli rol oynar (19,32).



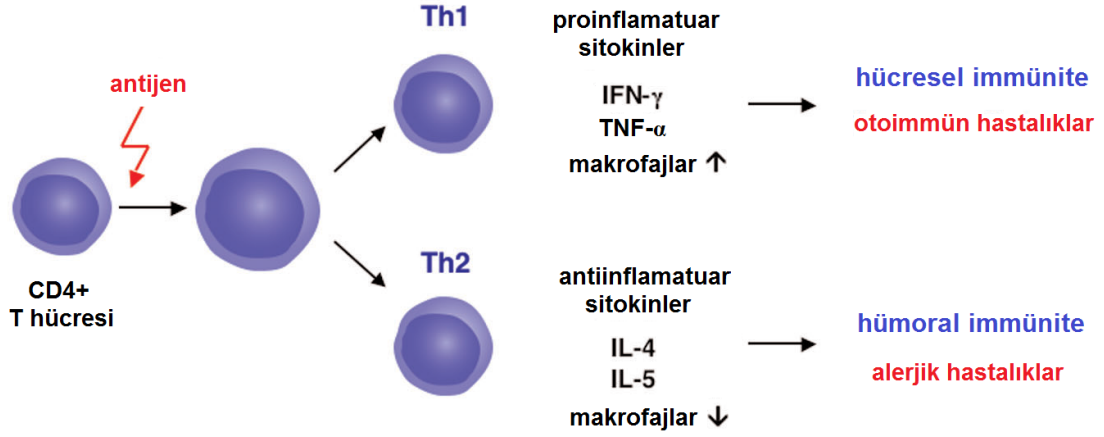
Şekil 2-1: Hashimoto tiroiditi'nin olası patojenik mekanizması (34)

2.6. İnflamasyon

İnflamasyon, hücreler ve vasküler dokuların hasara karşı yanıtını içeren kompleks bir reaksiyondur. Herhangi bir uyarın, plazmada bulunan ve hücrelerden serbestleşen bazı kimyasal mediatörleri tetikleyerek inflamasyonu başlatır (35).

Klasik immün davranışta etkili olan lenfositler; T lenfositler ve B lenfositler olarak iki gruba ayrılırlar. B lenfositler antikor üretiminden sorumlu iken, T lenfositler; antijen tanıma, B lenfositlerin farklılaşmasını stimüle etme, immün reaksiyonu baskılama, sitotoksiteyi doğrudan ya da dolaylı olarak modifiye etme gibi fonksiyonları yerine getirmektedir (4,35).

T lenfositleri iki türlü immün yanıt oluştururlar. Th1 yolunda IFN- γ , TNF- α sentezi; Th2 yolunda ise, B lenfositlerin stimülasyonu, ayrıca IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 sentezi gerçekleşmektedir (34). (Şekil 2-2)



Şekil 2-2: İnflamasyonda Th1 ve Th2 yolu (36)

Th1 yolu, hücrel bağışıklıkta rol oynar. Makrofajların aktive olmasını sağlar (37). Sitotoksik CD8⁺ T hücrelerinin ve makrofajların etkinliğini artırır. Ayrıca, IFN- γ ve TNF- α salınımından sorumludur (36).

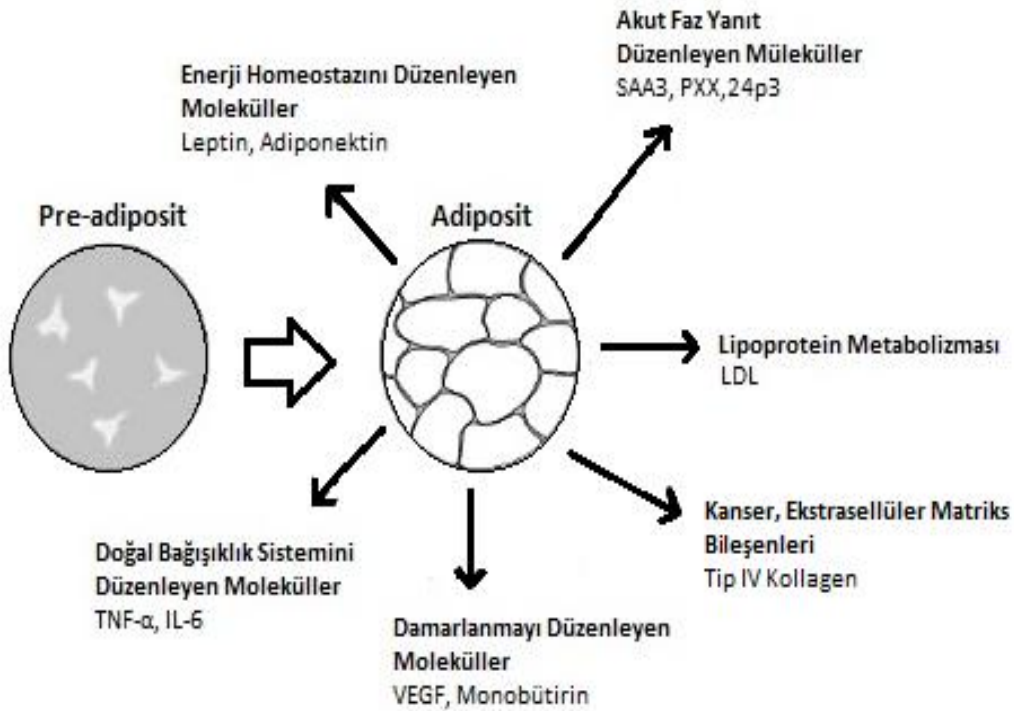
Th2 yolu, humoral bağışıklıkta rol oynar. Alerjik hastalıkların gelişiminde rolü vardır (38,39). Lenfosit membranında bulunan CD40L proteini ile B lenfosit membranında bulunan CD40 proteinleri birleşir. Bu birleşme ile antijenik sinyal B lenfositte geçer ve B lenfositler, antijene spesifik antikor üretmeye başlar (40,41). Bunun yanı sıra B lenfositleri IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13' ün salınımı indükler (36).

2.7. Adipoz Doku

Yağ dokusu, bağ dokusunun özel bir tipidir ve *adiposit* olarak adlandırılan lipit dolu hücrelerin gevşek olarak bağlanmasıyla oluşur (42).

Adipoz dokunun enerji depolama, yağda eriyen vitaminleri depolama, fiziksel koruma, termogenezis fonksiyonlarına ek olarak; günümüzde adipositlerden ve adipoz stromal hücrelerden sentezlenen protein yapılı moleküllerin (adipokinler) sayesinde otokrin, parakrin ve endokrin etkilerinin olduğu da gösterilmiştir (43).

Yağ dokusu bir endokrin organ olarak da görev yaparak, yağ hücresinden; leptin, resistin, TNF- α , adiponektin, adipsin, IL-6, PAI-1 (Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1), TGF- α (Transforming Büyüme Faktörü- α), anjiyotensinojen, ASP (Asilasyon Stimüle Edici Protein), IGF-I (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü), PG I2 (Prostaglandin I2), PG F2 α (Prostaglandin F2 α), gibi çok sayıda protein salgılandığı saptanmıştır (44,45,46,47). (Şekil 2-3)



Şekil 2-3: Adipositlerden salgılanan metabolitler (50)

Adipoz doku, asıl olarak glikoz ve lipid metabolizmasının merkez bölgesidir. Adipositler bol miktarda glikoz ve yağ asidini alarak trigliseritleri sentezlerler. Adipoz dokudaki yüksek trigliserit varlığı daha geniş adipositlerin oluşumuna neden olarak hücrel stres cevabını başlatır ve inflamatuvar sinyal yolları aktive olur. Serumda serbest yağ asitlerinin miktarının artması ve serbest yağ asitlerinin yıkım ürünleri, proinflamatuvar yolları tetikler. Sonuç olarak, sitokin sekresyonu artar ve inflamasyon oluşur (48,49). Özellikle obez bireylerde kardiyovasküler hastalıklar ve insülin direnci gibi inflamasyonun anahtar rol oynadığı klinik durumların daha fazla görülmesi, yağ dokusu ile inflamasyon arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir (48,51)

2.8. Leptin

2.8.1. Leptinin Yapısı

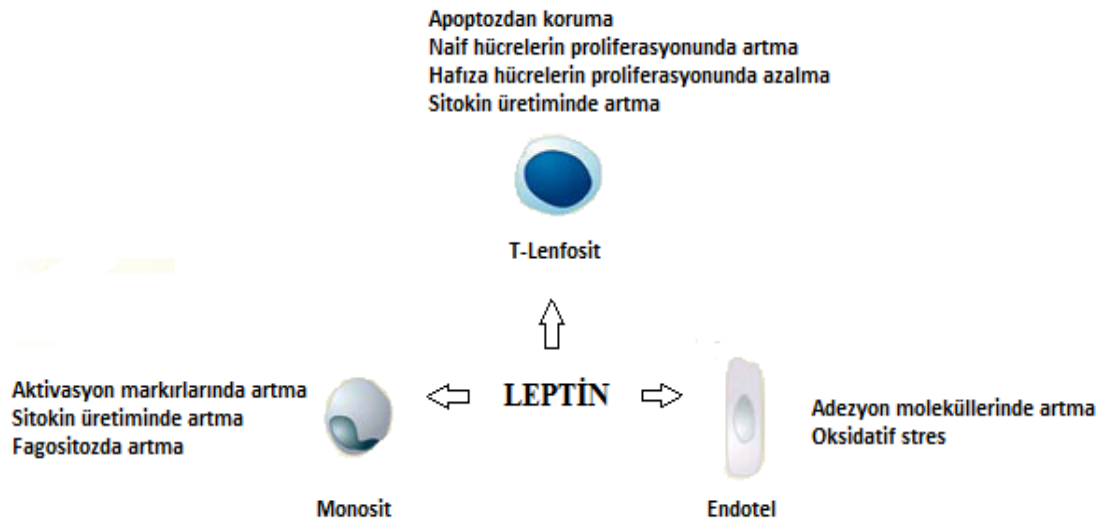
Leptin, ilk kez 1994 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından obez farelerden klonlanarak elde edilmiş olup, adiposit kökenli sinyal faktörü olarak tanımlanmıştır (52). Leptin, başlıca beyaz yağ hücrelerinde adipoz spesifik *ob* (obezite) geni tarafından sentezlenerek sekrete edilen bir hormondur (53).

Vücut ağırlığının düzenlenmesinde anahtar rol oynayan leptin, hipotalamustaki spesifik reseptörler üzerinden etki ederek iştahı azaltır ve enerji harcanmasını artırır (54). Serum leptin seviyeleri ile vücut kitle indeksi (VKİ) arasında pozitif korelasyon olduğu ve leptinin vücut yağ kitlesini yansıttığı gösterilmiştir (55).

Leptinin ilgili olduğu reaksiyonlar iştah ve besin alımı ile sınırlı değildir. Sempatik sistem aktivasyonu (56), cinsel gelişim üzerine etkisi, karaciğerde insülinin fonksiyonunu engellemesi, pankreastan insülin sekresyonunu inhibe etmesi, kemik gelişimi ve damarlarda anjiyogenezi uyarması, kemik iliğinde hematopoez üzerine olumlu etkisi ve immün sistemin düzenlenmesinde rol aldığı pek çok çalışmada gösterilmiştir (57,58).

2.8.2. Leptin ve İnflamasyon

Leptin, immün sistemin yanıtında lenfositleri ve monositleri aktive ederek etkili olmaktadır. Bakteriyel antijenlere benzer şekilde makrofajları aktive eder, makrofajların fagositik aktivitelerini artırır ve makrofajlardan proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin sekresyonunu uyarır. Leptin, T lenfositlerin proliferasyonu ve gelişmesi için gerekli olup T hücre yanıtını da düzenler (53,59,61). (Şekil 2-4)

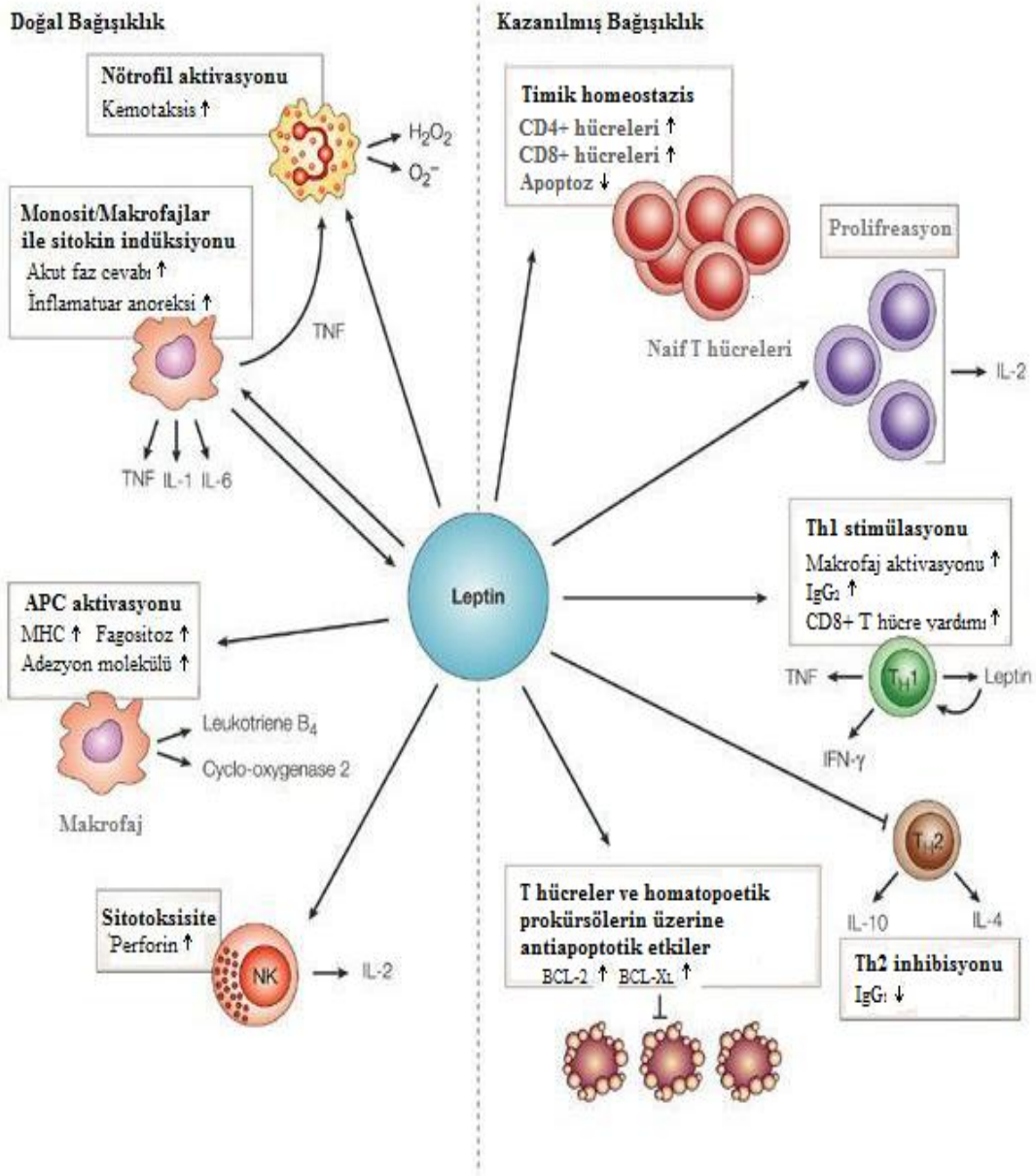


Şekil 2-4: Leptinin immün sistem ve inflamasyon üzerine etkisi (60)

Leptinin doğal ve kazanılmış immünyetede önemli rol oynadığı bilinmektedir.

Doğuştan gelen bağışıklıkta leptinin asıl etkisi; proliferasyonun aktivasyonu ve monositler/makrofajların aktivasyonu, nötrofillerin kemotaksisi, bu hücrelerden oksijen radikallerinin salınımı ve NK (Natural Killer) hücrelerinin aktivasyonudur (62). Ancak, leptinin sitokin üretimi üzerine etkisi halen tartışılmaktadır. Bazı çalışmalar gösterir ki; gelişmiş proinflamatuvarların üretimi fare ya da insan monositler/makrofajlarının leptin ile inkübasyonu TNF- α , IL-6, IL-8 sitokinlerinin salınımı etkilemektedir (63, 64, 65,66).

Kazanılmış bağışıklıkta leptin, naif T hücre proliferasyonu ve IL-2 salgılanmasını stimüle eder ve bellek T hücrelerinin proliferasyonunu etkiler. Bellek T hücrelerinde leptin, immün yanıtı IFN- γ ve TNF- α sekresyonu ile Th1 hücrelerine doğru iletir (62,66). (Şekil 2-5)



Şekil 2-5: Leptinin doğal ve kazanılmış bağışıklıktaki rolü (66)

2.9. Adiponektin

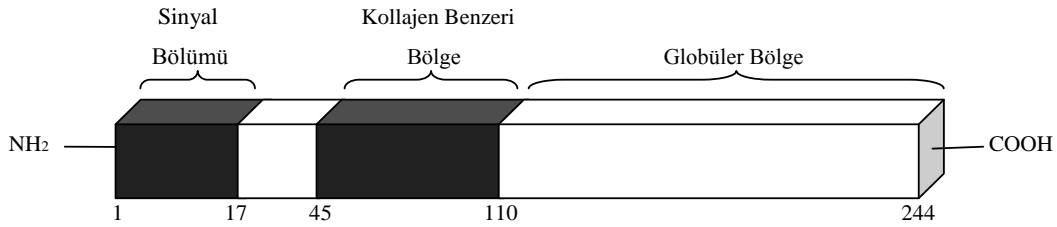
2.9.1. Adiponektinin Yapısı

Adiponektin, 1990' da dört grup tarafından farklı deneyler kullanılarak tanımlanmıştır. Saito ve ark. tarafından klonlanan ve GBP 28 (Gelatin Binding Protein 28 gene) adı verilen genin, daha önce Maeda ve arkadaşlarınca tanımlanan "APM 1 (Adipose Most Abundant Gene Transcript 1)" ile aynı gen olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden literatürde adiponektin, GBP28, ACRP30 (Adipocyte Complement Related

Protein 30), AdipoQ, APM1 geni gibi değişik isimlendirmeler yer almaktadır (67,68,69,70).

Adiponektinin tanımlanması ilk defa 1995 yılında Scherer ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (69,71). Adiponektin; 3q27 bölgesinde, 3 ekzon ve 2 introndan oluşan bir gen dir ve 244 aminoasit içermektedir (72).

Adiponektin, NH₂ terminalinde bir sinyal parçacığı bulunur. Bu parçacığı, türler arasında farklılık gösteren kısa bir bölge takip eder. Üçüncü bölge yapı olarak kollajenöz proteinlere benzer. Dördüncü parça COOH terminal kısmında C1q benzeri globüler bölgedir (73, 74). Adiponektinin moleküler yapısı Şekil 2-6' da gösterilmiştir.



Şekil 2-6: Adiponektin proteininin moleküler yapısı

Adiponektinin glikoz ve lipit metabolizması üzerine olan etkileri ile insülin direncini azalttığı düşünülmektedir. Adiponektinin glikoz ve enerji metabolizması üzerine etkisi kadar, immün sistemi de düzenleyici rolü bulunmaktadır (75).

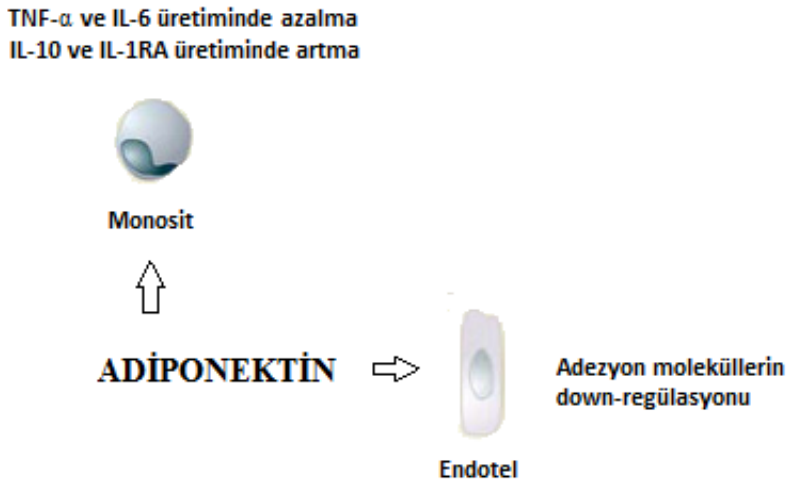
2.9.2. Adiponektin ve İnflamasyon

Adiponektinin inflamasyon ve immün cevapta baskılayıcı rol oynadığı bilinmektedir (75). Adiponektin, T lenfosit çoğalmasını azaltır (76), ayrıca prostoglandin sentezini indükleyerek B lenfosit gelişimini baskılar (77).

Farklı toplumlarda adiponektin seviyesi ile kronik inflamasyon arasındaki ilişkiyi gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır. Adiponektin, endotelial NF-κB sinyal iletimini bir cAMP bağımlı yol ile adenilat siklazı ya da protein kinaz A' yı bloke ederek inhibe ettiği ve aterogenezis ile ilişkili olarak inflamatuvar cevaba katıldığı düşünülmektedir. Tüm bu çalışmalar adiponektinin hematopoezis ve inflamatuvar cevapta önemli bir protein olduğunu göstermektedir (78,79,80).

Adiponektin, sitokinlerden TNF- α ekspresyonunu inhibe ederken, TNF- α ve IL-6 da adiponektinin üretimini baskılamaktadır (81,82,83).

Adiponektin, makrofajların fagositik kapasitesini azaltır. Ayrıca, immün sistem üzerine adaptif etki ederek T hücre aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe eder. Monositlerden, makrofajlardan ve dendritik hücrelerden IL-10 ve IL-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra) salımını indükler (84,85,86,87,88). (Şekil 2-7)



Şekil 2-7: Adiponektinin immün sistem ve inflamasyon üzerine etkisi (86)

2.10. PARP Süperailisi

2.10.1. PARP Süperailisinin Genel Yapısı

Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP), işlevsel ve son derece iyi korunmuş, 135 kDa ağırlığında bir protein olup 1014 amino asitten meydana gelmektedir. Yapısında 3 farklı bölge içermektedir. Bu bölgeler; N terminal ucunda yer alan “DNA bağlayıcı bölge”, merkezde bulunan “Otomodifikasyon bölgesi” ve C terminal ucunda yer alan “Katalitik bölge”dir (89,90).

Poli ADP-ribozilasyon mekanizması, farklı genlerle ifade edilen ve 18 üyesi bulunan geniş bir enzim ailesi ile sürdürülmektedir (91,94). İnsan PARP ailesi proteinlerinin karakterizasyonu, insan PARP katalitik bölgesi kullanılarak, protein veri tabanının (NCBI) araştırılmasına dayanmaktadır (92).

PARP ailesinin bütün üyelerinin yapı ve fonksiyonlarını anlamak için çok sayıda çalışma bulunmaktadır. PARP-2, PARP-3, PARP-4 ve diğer PARP enzimleri ile ilgili çalışmalara kıyasla en çok çalışılan protein PARP-1' dir (89).

2.10.2. PARP-1 Proteini

PARP ailesinin prototip enzimi Poli (ADP-riboz) polimeraz-1 (PARP-1)' dir. 40 yıl önce Chambon, Weill ve Mandel tarafından keşfedilmiştir (93).

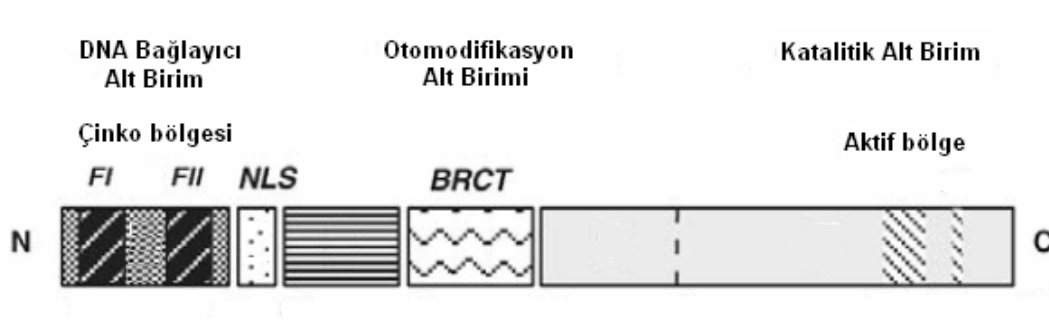
PARP-1, yüksek oranda korunmuş nükleer bir proteindir. PARP-1, 113 kDa ağırlığında bir protein olup, 1q41-q42 kromozom bölgesinde kodlanmaktadır. PARP-1, 23 eksona sahiptir (89,94). (Şekil 2-8)



Şekil 2-8: PARP-1 proteininin kromozom üzerindeki konumu

PARP-1 proteininin yapısında 3 bölge bulunmaktadır (89,95,96). Bu bölgeler;

- N terminal ucunda yer alan DNA bağlayıcı bölge: 42 kDa olup, PARP' ın, hasarlı DNA üzerinde bölgesini tanıması için gereklidir. İlk çinko parmak hem tek hem de çift iplikteki kırığa bağlanır, ikinci çinko parmak ise yalnızca tek iplik kırıklarını tanımaktadır.
- Merkezde bulunan otomodifikasyon bölgesi: 16 kDa olup, poli ADP-ribozilasyon bölgesini içermektedir ve PARP' ın DNA ile bağlantısını düzenler. Ayrıca, DNA hasar tamiri ve hücre siklusu kontrol noktası proteinlerinin birçoğunda bulunan BRCA1 (Breast cancer 1) C-terminal motifini de içermektedir.
- C terminal ucunda yer alan katalitik bölge: 55 kDa olup, NAD' ın bağlandığı bölgedir. Bu bölge, NAD⁺ bağlanma, ADP-ribozil transferi reaksiyonları için gereklidir. (Şekil 2-9)



Şekil 2-9: PARP-1 proteininin genel yapısı (89)

PARP-1, tek veya çift zincirli DNA kırıklarını bağlamak için DNA hasar sensörü ve sinyalleme molekülü olarak görev yapmaktadır (99,100). PARP-1, DNA hasarına karşı en uygun ve etkili hücresel yanıt için poli ADP-ribozilasyon olayını gerçekleştirmektedir ve yapılan çalışmalar göstermiştir ki; PARP-1, poli ADP-ribozilasyon mekanizmasının %90' ını yürütmektedir (89).

2.10.3. Poli ADP Ribozilasyon

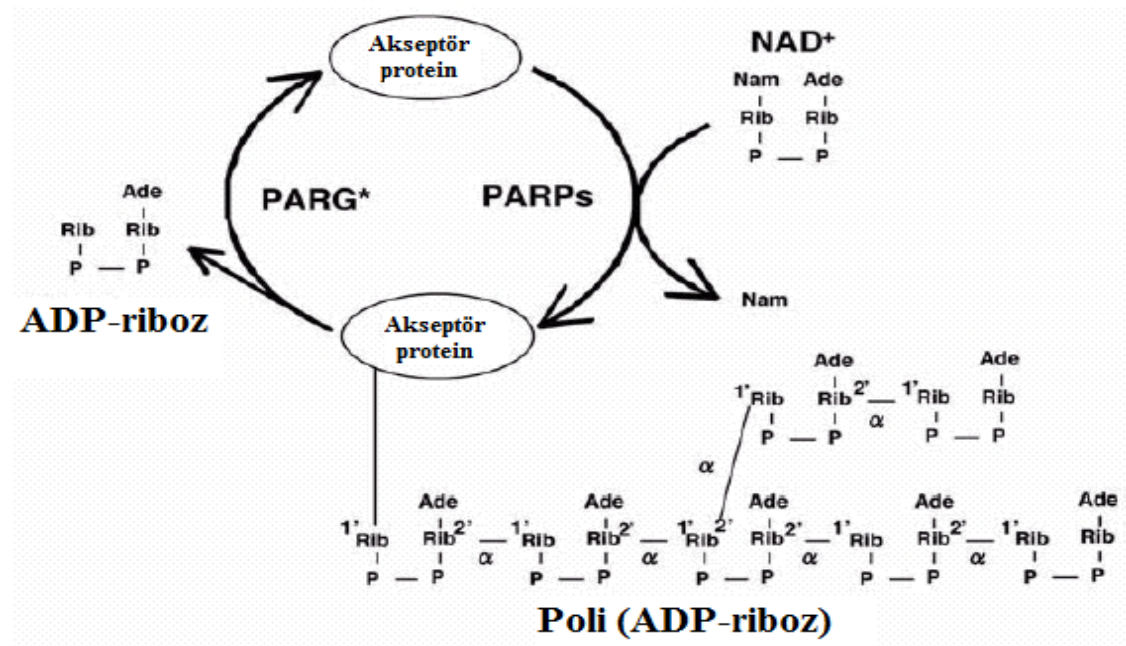
Poli ADP-ribozilasyon, PARP enzim ailesi tarafından katalizlenen ve ökaryotik hücrelerde bulunan proteinlerin en etkili post-translasyonel modifikasyondur.

Poli ADP ribozilasyonun biyolojik fonksiyonları dokuz ana başlık altında özetlenebilir:

1. DNA tamiri ve genomik stabilitenin korunması
2. Transkripsiyonun düzenlenmesi
3. Apoptozdaki rolü
4. Hücre içi aşırı NAD^+ tüketimi sonucunda nekrotik hücre ölümü ve patolojik durumlardaki rolü
5. Sentromer fonksiyonlarının düzenlenmesi
6. Telomer uzunluğunun düzenlenmesi
7. Protein degradasyonunun düzenlenmesi
8. Sentrozomal fonksiyon
9. Endozomal vezikül alışverişinin düzenlenmesidir (89,97,98).

Poli ADP-ribozilasyon, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) bağımlı bir enzim olan PARP' lar tarafından katalizlenen ve DNA zincir kırıkları ile aktive olan hızlı bir hücresel cevaptır (101).

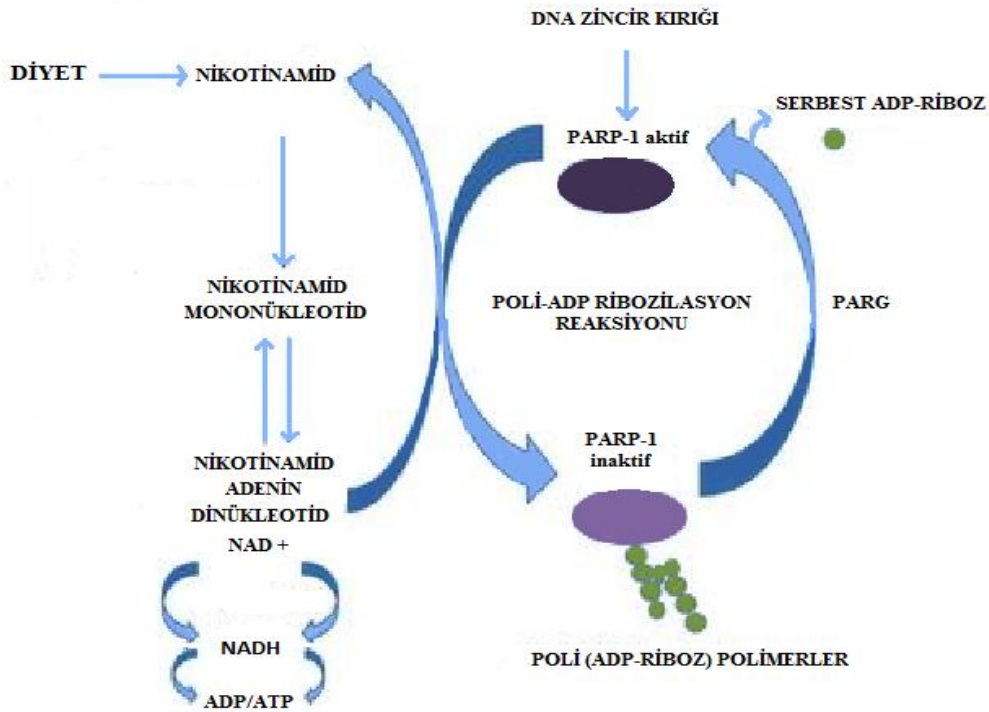
PARP enzim ailesi, reaksiyon boyunca substrat olarak kullandığı NAD^{++} ın "nikotinamid" kısmını koparıp, kalan ADP-riboz moleküllerini birleştirerek 200 üniteden daha uzun poli (ADP-riboz) (PAR) polimerlerini sentezlemektedir (102,103). (Şekil 2-10) Oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarının büyük çoğunluğunda koenzim olarak görev yaptığı bilinen NAD^+/NADH biyomolekülleri çok yönlü kullanılmakta ve çeşitli ADP-ribozil transfer reaksiyonlarında substrat olarak görev yapmaktadır (89). Reaksiyon sonunda bu polimerler poli (ADP-riboz) glikohidrolaz (PARG) enzimi tarafından degrade edilir (102,103).



Şekil 2-10: Poli ADP-riboz yapısı (89)

Poli ADP-ribozilasyon mekanizması, iyonize radyasyon, alkile ajanlar ve oksidanlar tarafından indüklenen DNA hasarına en hızlı hücresel yanıtı vermektedir (95). DNA tek ve çift zincir kırıklarının varlığında poli ADP-ribozilasyon çok nadir gerçekleşen bir olaydır, ancak DNA hasarı 100 kat artarsa bu mekanizmanın aktivitesi de artmaktadır. DNA kırıklarının poli ADP-ribozillenmesinde en etkin rolü üstlenen

PARP ailesi üyesi enzimi PARP-1'dir. PARP-1' in, DNA zincir kırıkları sonucunda aktive olması ile gen anlatımı artmaktadır. PARP' lar, NAD^{+} in nikotinamid ve riboz arasındaki glikozidik bağlarını parçalayarak, hedef proteinlerin glutamik asit, aspartik asit ve lizin rezidülerine ADP-riboz ünitelerinin kovalent olarak eklenmesini sağlamaktadır (89). Bu olay proteinlerin konformasyonu değiştirerek DNA ile olan bağlantılarını düzenler. DNA kırıklarına bağlanan PARP-1, kendisinin ve diğer DNA tamir mekanizması proteinlerinin aktivasyonunu sağlayarak DNA' yı degradasyondan korur ve DNA tamirini başlatır (89,104). (Şekil 2-11)



Şekil 2-11: PARP-1 proteininin DNA zincir kırığına etkisi

2.11. PARP-1 - İnflamasyon

İnflamatuvar immün cevap, bakteriyel lipopolisakkaritler (LPS), süperantijenler veya güçlü antioksidanlar gibi farklı uyaranlara yanıt olarak aşırı proinflamatuvar gen ekspresyonu ile karakterizedir. Bu uyaranlar, gen anlatımının yeniden programlanmasında kritik rol oynayan NF- κ B ve diğer strese duyarlı transkripsiyon faktörler aracılığı ile sinyal yolağının efektör hücre çekirdeğine kaymasına neden olur.

Son zamanlarda, PARP-1'in doğuştan gelen bağışıklıkta önemli bir rol oynadığı ileri sürülmüştür. PARP-1, inflamatuvar cevap sırasında gen anlatımının düzenlenmesi için gereklidir (105). Bu konudaki en iyi çalışmalar PARP-1 geni susturulmuş farelerde (PARP-1 -/-) yapılmıştır. Bu fareler ile yapılan çalışmalar, farelerin inflamatuvar bileşenlerde bozukluklara neden olan deneysel değişikliklere karşı kendilerini koruyabildiklerini göstermektedir (106).

Son zamanlarda, in vivo ortamda spesifik NF-κB bağımlı gen anlatımı için PARP-1' in gerekli olduğu düşünülmektedir (116). PARP-1 ve NF-κB alt birimlerinin protein-protein etkileşiminin yönetimi, koaktivatör fonksiyonu için gerekmektedir (117), bu da in vivo ortamda kappa-B bağımlı gen anlatımında PARP-1' in yeni ve önemli transkripsiyonel koaktivatör rolünü açıklamaktadır (107). PARP-1, DNA bağlanma ve transkripsiyon kompleksin oluşumunu hızlandırarak promotör bölge NF-κB aktivitesini kolaylaştırır (107,108). Enzimatik aktivite için PARP-1' in NF-κB ile etkileşiminin gerekli olup olmadığına dair farklı fikirler vardır. Bazı çalışmalara göre; enzimatik olarak işlevsiz PARP-1, NF-κB aktivasyonunu kolaylaştırır (96). Diğer çalışmalara göre ise; çeşitli hücre tiplerinde PARP-1' in enzimatik aktivitesi NF-κB odaklı gen transkripsiyonunu baskılar (109,110,111). Mekanizması ne olursa olsun, PARP-1 inhibitörlerinin antiinflamatuvar etkileri kanıtlanmıştır (112,113,114,115).

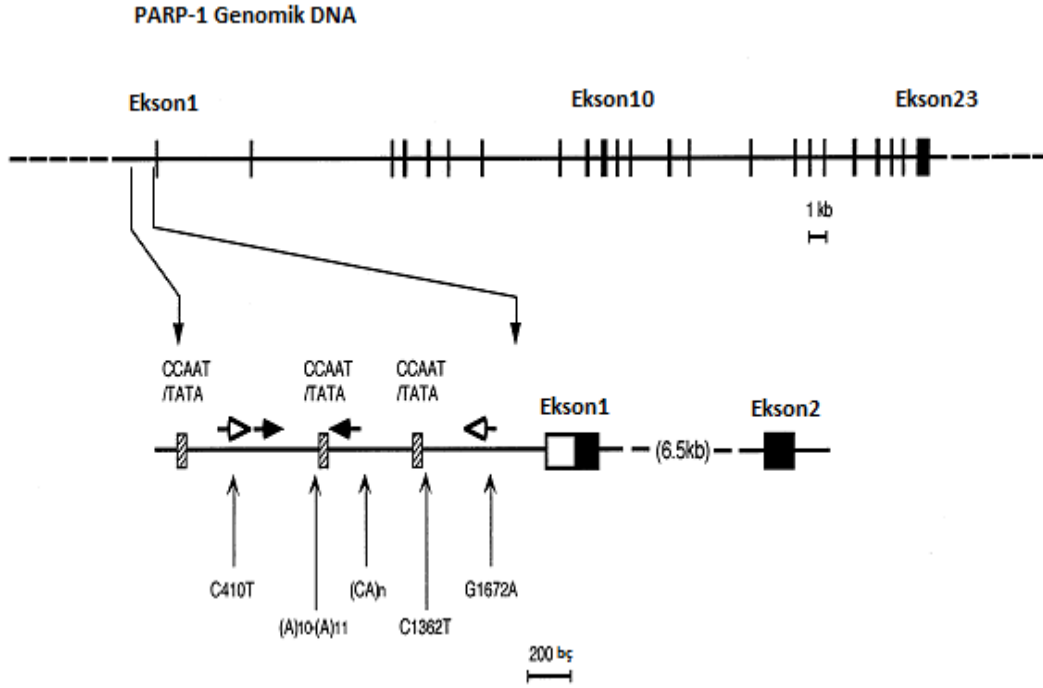
İmmün cevapta NF-κB, TNF-α, iNOS, IL-1β, IL-2, IL-6 ve IL-8 ekspresyonunu düzenler. PARP-1 ise, NF-κB bağımlı transkripsiyonu düzenleyerek, inflamasyonda önemli rol oynayan inflamatuvar mediatörlerin (TNF-α, IL-1, IL-6, IL-12 ve pek çok sitokinin) sentezinde rol oynar (118).

2.12. PARP-1 Gen Polimorfizmleri

PARP-1 gen polimorfizmleri birçok çalışma için araştırma konusu olmuştur. PARP-1 geninde çeşitli polimorfizmler saptanmıştır (119). Bunlar; 2. eksonda C414T (Asp81Asp), C333C (Leu54Phe), 7. eksonda C11023T (Ala284Ala), G1171A (Val334İle), 8. eksonda G1227A (Lys352Lys), C1300T (Pro377Ser), 17. Eksonda C2444T (Val762Ala), 21. eksonda A2990G (Lys940Lys) 'dir.

Bu polimorfizmlerinden en çok çalışılmış olanı 17. Ekson 762. kodondaki C2444T tek nükleotidlik değişimdir. Enzimin aktivitesini etkilemesi sebebiyle birçok

inflatuar/otoimmün hastalıkta incelenmiş ve anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (120). Genin promotör bölgesinde ise belli polimorfizmler dikkate alınmıştır. Bunlar; C410T, C1362T ve G1672A noktalarındaki tek nükleotidlik polimorfizmlerdir (122). (Şekil 2-12)



Şekil 2-12: PARP-1 geni promotör bölgesi ve tespit edilen polimorfizmler (121)

Bazı inflamatuvar/otoimmün hastalıklarda PARP-1 promotör bölge polimorfizmleri araştırılmış ve elde edilen sonuçlara göre, bu polimorfizmler ile bazı hastalıklara yatkınlığın bağlantılı olduğu gösterilmiştir (122). (Tablo 2-1)

Tablo 2-1: PARP-1 geni promotör bölge polimorfizmleri ve inflamatuvar hastalıklar

Hastalık	Hasta ve Kontrol Sayısı	Polimorfizm	Sonuç
Parkinson	146 Hasta 161 Kontrol	C410T G1672A	C/T genotipi hastalıkta risk faktörünü azaltır ve T alleli koruyucu rol oynar. (123)
Romatoid Artrit	213 İspanyol Hasta 242 Kontrol	C410T C1362T G1672A	C410T polimorfizminde C/T, C1362T polimorfizminde C/C genotipleri hastalığa yatkınlığı artırır. (122)
Alzheimer	263 İspanyol Hasta 293 Kontrol	C410T G1672A IL-1A C889T	C410T ve G1672A haplotiplerinin IL1A C898T polimorfizminde T alleli ile ilişkisi Alzheimer hastalığı riskini arttırmaktadır. (124)
Serebral İnfarksiyon	213 Japon Hasta 374 Kontrol	C410T C1362T C1672A	C410T, C1362T, G1672A polimorfizmlerinde hasta-kontrol arasında anlamlı fark yoktur. (121)

PARP-1 geni promotör bölge C410T ve G1672A polimorfizmlerinin genotiplerinin popülasyonlara göre görülme sıklıkları farklıdır. C410T ve G1672A polimorfizmleri için popülasyonlara göre genotiplerin ve allellerin görülme sıklıkları Tablo 2-2 ve Tablo 2-3' de verilmiştir (125,126).

Tablo 2-2: C410T genotiplerinin ve allellerinin popülasyonlarda görülme sıklığı

ss#	Örneklerin Tespiti	Popülasyon	Genotip Detayları				Alleller	
			C	C/C	C/T	T/T	C	T
ss11353717 ENSEMBL_Watson	Avrupa					1.000	1.000	
	ENSEMBL_Venter	Avrupa				1.000	1.000	
ss165301117 YRI	Afrika		1.000			1.000		
ss165860395 CEU	Kafkas			1.000		0.500	0.500	
ss167543579 PGP	Güney Kalahari			1.000		0.500	0.500	

Tablo 2-3: G1672A genotiplerinin ve allellerinin popülasyonlarda görülme sıklığı

ss#	Örneklerin Tespiti	Popülasyon	Genotip Detayları			Alleller	
			G G	G A	A A	G	A
ss11372291 ENSEMBL_Watson	Avrupa		1.000			1.000	
ss119229595 YRI	Afrika			1.000			1.000
ss165301090 YRI	Yoruba (Ibadan-Nijerya)			1.000		0.500	0.500
ss165860385 CEU	Kafkas			1.000		0.500	0.500

2.13. PARP-1 Gen Anlatım Düzeyleri

PARP-1 gen anlatımının nihai mekanizması henüz bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda, PARP-1' in kanser gelişimini engelleyici görev yaptığı ve PARP-1 gen anlatım düzeylerinin kanserli dokularda normal dokulara göre arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar, inflamasyon ve kanserde transkripsiyon faktörü NF- κ B' nin PARP-1 ile bağlantılı olduğunu ve PARP-1' in, NF- κ B' nin transkripsiyonel aktivasyonu için gerekli olduğunu göstermektedir (128,129).

PARP-1 geninde multitranskripsiyon bölgeleri olan CCAAT/TATA kutuları 3 set olarak promotör bölgede lokalize olması, promotör bölge polimorfizmlerinin (C410T, C1362T, G1672A) gen anlatımının düzenlenmesini etkileyebileceğini düşündürmektedir (127). Buna ilaveten, bu bölge Ying Yang 1 (YY1) transkripsiyon faktörüne bağlanma bölgesi sağladığı için, bu polimorfizmlerin YY1'e yakın konumlanmasından dolayı transkripsiyonu etkileyebileceği öne sürülmüştür (121,122).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Polikliniği tarafından HT tanısı konulan 141 Hashimoto tiroiditi hastası ve 150 sağlıklı birey dahil edildi. Hasta ve kontrollerin tamamı kadın olup, yaş ortalamaları $41,1 \pm 11,7$ idi.

Çalışmaya katılan gönüllü bireylerden 09/2009 ile 12/2010 tarihleri arasında örnekler toplandı. Çalışmanın deneysel aşaması İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Çalışmaya dahil edilen hastalara, araştırmanın amacı ve esasları belirtildikten sonra eşlik eden hastalıkları ve özgeçmişleri sorgulandı. Çalışmanın sonuçlarını etkileyecek ilaç kullanan olgular araştırma dışı bırakıldı. Hasta ve kontrollerde hasta seçiminde, bireyde otoimmün hastalık (KOA, RA vs) olması, sigara ve alkol kullanımı, gebelik durumlarına dikkat edildi ve bu nitelikleri taşıyan bireyler çalışmaya dahil edilmedi. Kontrol grubu hasta seçiminde dikkat edilen diğer bir husus ise; TSH, AntiTg ve AntiTPO değerleri oldu. Kişiler, TSH=0,5-4,5µIU/ml, AntiTPO:35-40IU/ml, AntiTg:35-40IU/ml değerleri arasında olanlardan seçildi.

Hastalar ve kontrol gruplarından K3-EDTA'lı tüp ile alınan kan örneklerinden izole edilen DNA'lardan PARP-1 gen polimorfizmlerinin genotiplemesi yapıldı ve PARP-1 geni mRNA düzeylerine bakıldı. Ayrıca aynı bireylerden K3-EDTA'sız tüp ile alınan kan örnekleri kullanılarak serum leptin ve adiponektin seviyeleri belirlendi. Araştırma, İstanbul 1 no'lu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı.

3.1. DNA İzolasyonu

Kontrol ve hasta grubunun çalışılacak tüm örnekleri için, 12 saatlik açlık sonrasında vakumlu K3-EDTA'lı tüpe 5 ml ve EDTA'sız kuru tüpe 5 ml kan alındı.

EDTA'sız kuru tüp 2000 RPM'de 10 dk santrifüj edildi ve serumu ayrıldı. Serum örnekleri leptin ve adiponektin seviyelerinin ölçümü için -80°C 'de saklandı. K3-EDTA'lı tüplere alınan kanlardan yüksek tuz konsantrasyonu kullanılarak DNA izolasyonu yöntemi ile DNA'lar izole edildi ve -20°C 'de saklandı.

Yüksek Tuz Konsantrasyonu ile DNA izolasyonu yöntemi :

1. K3-EDTA' lı tüpteki kanlar 1,5 ml alınarak falkonlara konuldu.
2. 1,5 ml kan 4,5 ml 1x RBL buffer ile karıştırıldı ve 4⁰C' de 15-20 dk bekletildi.
3. Kanlarda yeterli renk değişimi gözlenince 2000 RPM' de 10 dk santrifüj edildi.
4. Üst faz pipet yardımıyla atıldı. 1,5 ml kan için 3 ml 1x RBL solüsyonu eklendi.
5. 2000 RPM' de 10 dk santrifüj edildi.
6. Üst faz pipet yardımıyla atıldı. Pellete sırasıyla; 1,5 ml WBL solüsyonu, 20 mg/ml Proteinaz K' dan 9,5 µl ve 75 µl %10 SDS eklendi.
7. Falkon içindeki örnekler vortekslendi. 56⁰C' de gece boyu inkübe edildi.
8. Ertesi gün su banyosundan alınan örneklere 9,5 M amonyum asetattan 600 µl eklendi.
9. Örnekler vortekslendi, ardından 30 dk 20⁰C' de bekletildi.
10. Örnekler 5000 RPM' de 30-45 dk santrifüj edildi.
11. Üst faz ayrı bir falkona alındı. Üstte kalan sıvı miktarının 3 katı kadar %100' lük alkol eklendi.
12. 1,5 ml' lik tüp içine 1 ml %70' lik alkol konuldu. Pipetle alınan DNA bu tüpe konuldu. Maksimum spin ile 2-3 dk santrifüj edildi. 56⁰C' de alkolün uçması beklendi.
13. Alkol uçtuktan sonra üzerine 200 µl steril distile su konuldu. DNA tamamen çözüldükten sonra ölçüm yapıldı.

3.1.1. DNA Saflığının ve Miktarının Ölçümü

İzole edilen DNA' ların konsantrasyonu ve saflığı Nanodrop cihazında ölçülerek belirlendi. Total DNA konsantrasyonu 260 nm' deki optik dansitesinden (OD) değerinden, DNA saflığı ise 260nm/280nm' deki OD oranından tespit edildi.

260nm/280nm' deki OD oranı = $1,8 \pm 0,2$ µg/ml olan DNA' lar çalışmada kullanıldı.

3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan in vitro bir yöntemdir.

PZR, DNA replikasyonunun özelliklerini kullanmaya dayanan bir tekniktir. Bu teknikte, kalıp DNA molekülü yüksek sıcaklık derecelerinde denatüre edildikten sonra çift iplikli bir DNA molekülünde hedef dizilere özgü iki oligonükleotid primer tek iplikli DNA molekülleri üzerinde kendilerine tamamlayıcı olan bölgelerde melezenir.

Primerler hedef dizilere düşük sıcaklıklarda bağlanırlar. Uygun tampon ve dört değişik deoksiribonükleotid varlığında DNA polimeraz enzimi primerin 3' hidroksil ucundan uzamasını sağlar. Böylece kalıp DNA ipliğine tamamlayıcı olan yeni DNA molekülü sentezlenmiş olur.

PZR; *denatürasyon, primerlerin bağlanması (annealing) ve uzama* olarak adlandırılan ve birbirini takip eden döngünün ard arda tekrarlanmasıyla oluşur.

PZR döngüsü ile DNA fragmentleri logaritmik olarak artar. Bu logaritmik artışın nedeni, bir döngü sonucu sentezlenen ürünün sonraki döngüde diğer primerler için kalıp görevi yapmasıdır. Her PZR döngüsü, DNA molekülü üzerinde istenilen bölgenin iki katına çıkması ile sonuçlanır. Her döngünün %100 verimle gerçekleştiği varsayılırsa n sayıda döngü sonucunda 2^n sayıda ürün meydana gelir.

PZR' nin temel bileşenleri; DNA molekülü, DNA Taq polimeraz enzimi, ileri (forward) ve geri (reverse) primerler, dNTP karışımı, tampon ve $MgCl_2$ ' dir.

3.2.1. Primer Stok Çözeltisi

Çalışma için *Fermentas* firmasına sentezlettirilerek liyofilize halde temin edilen primerler, steril ve DNaz, RNaz içermeyen ultra saf su ile çözündürüldükten sonra farklı konsantrasyonlarda stoklar şeklinde hazırlanıp $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de muhafaza edildi.

PZR' de kullanılan primerler, PZR karışımı ve PZR programı aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir. (Tablo 3-1, Tablo 3-2, Tablo 3-3)

Tablo 3-1: PZR' de kullanılan primerler

Polimorfizm	Primer adı	Primer Dizisi	PCR ürün boyu(bç)	RFLP fragment
C410T	Primer F Primer R	5-TCCAGTGGCACTATCAT-3 5-GTTGTGAGACATAGGCCGAAT-3	298	<i>HpyF3I</i> (<i>Dde</i>) 145,127,109
G1672A	Primer F Primer R	5-GCGAGACCCTGTCCCTAA-3 5-CAGTCTCAAAAATAAAAGGGGGA-3	187	<i>Bsh1236I</i> (<i>Bst UI</i>) 187, 152, 35

Tablo 3-2: PZR karışımı

Stok	Son Konsantrasyon
Mg ₂ Cl (25mM)	2,5 mM
PZR Tampon 10x	2x
dNTP'ler (2 mM)	2,5 µl
Primer F – Primer R (100pmol)	2,5 pmol/µl
Taq Polimeraz 5U/µl	0,2 U/reaksiyon
DNA	100 ng
Total hacim, bidistile su kullanılarak 25 µl' ye tamamlandı.	

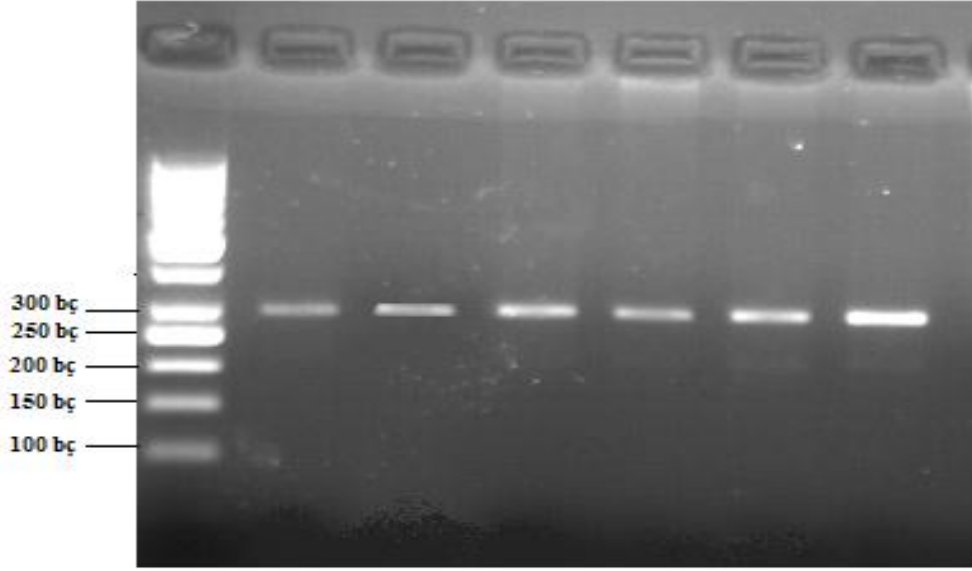
Tablo 3-3: PZR programı

Denatürasyon	Bağlanma	Uzama
95 °C 2 dk	95 °C 30 sn	72 °C 5 dk
	60 °C 30 sn	
	72 °C 1 dk	
30 Döngü		

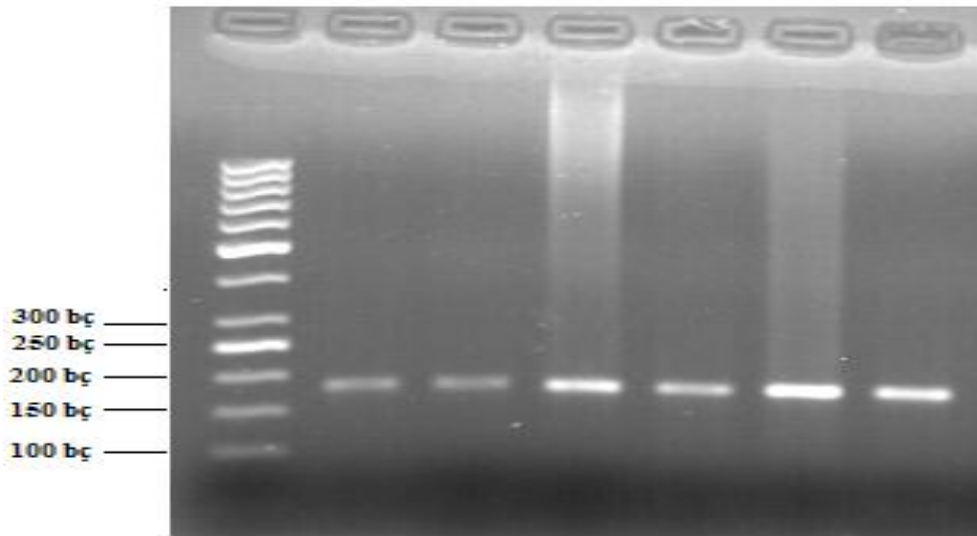
3.2.2. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde İncelenmesi

Çalışmamızda PZR ürünlerinin baz çifti (bç) cinsinden büyüklükleri baz alınarak agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanıldı. PZR ürünlerinin analizleri %2 konsantrasyona sahip agaroz jeller ile yapıldı. 30 ml hacme sahip jel kasedi kullanıldı. Bu kaset için %2' lik konsantrasyona sahip jelde 0,6 gr Agaroz, 30 ml 0,5x TBE tamponu kullanıldı. Beher içerisindeki tampon ve agaroz karışımı ısıtıcıda kaynatılarak şeffaf hale gelmesi sağlandı. Şeffaf hale gelene kadar kaynayan karışıma etidyum bromür (EtBr) eklendi. EtBr' ün iyice karışması sağlanarak, karışım jel tabağına döküldü ve jel donuncaya kadar bekletildi. Jel polimerize olduktan sonra jel kasedi, jel tabağından ayrılıp taraklar çıkarıldı. Hazır haldeki jel, elektroforez tankına yerleştirilerek üzerine 0,5x TBE tamponu eklendi. İlk kuyucuğa PZR ürünlerinin büyüklüklerini belirleme amacı ile moleküler ağırlık belirteci (markır) yüklendi. 5 µl' lik PZR ürünleri 1 µl Brom fenol mavisi yükleme tamponu ile karıştırılarak kuyucuklara yüklendi. 120 V ~30 dk yürütülen örnekler, ultraviyole (UV) ışık altında, ilk kuyucuktaki markır baz alınarak incelendi. PZR ürünleri, RFLP yöntemi uygulanıncaya kadar 4 °C' de saklandı.

PARP-1 geni C410T polimorfizminin 298bç' lik PZR ürünü ve G1672A polimorfizminin 187bç' lik PZR ürünü %2' lik agaroz jelde, bromofenol mavisi ile yüklenerek, 0,5x TBE' de 120 V ~30 dk süreyle yürütülerek UV ışık altında görüntülendi. (Şekil 3-1, Şekil 3-2)



Şekil 3-1: C410T polimorfizmine ait PZR agaroz jel görüntüsü



Şekil 3-2: G1672A polimorfizmine ait PZR agaroz jel görüntüsü

3.2.3. PZR ürünlerinin Restriksiyon Enzimleri ile Kesimi

Çalışmamızda RFLP yöntemi ile genotipleme, Tip II Restriksiyon endonükleazlardan olan Hpy3I (Dde) ve Bsh1236I enzimleri kullanılarak gerçekleştirildi.

PARP-1 geni C410T polimorfizmi için restriksiyon enzimi ile kesim koşulları şu şekildedir:

- 18,6 µl distile H₂O
- 2 µl 10x Buffer Tango
- 0,4 µl Hpy3I (Dde)
- 10 µl PZR ürünü

Toplam hacim 31 µl' dir. Enzim kesimi için 37 °C' de bir gece inkübe edildi.

PARP-1 geni G1672A polimorfizmi için restriksiyon enzimi ile kesim koşulları şu şekildedir:

- 18,6 µl distile H₂O
- 2 µl 10x Buffer Tango
- 0,4 µl Bsh1236I (BstUI)
- 10 µl PZR ürünü

Toplam hacim 31 µl' dir. Enzim kesimi için 37 °C' de bir gece inkübe edildi.

Elde edilen kesim ürünleri, %3' lük agaroz jelde yürütülerek genotiplemeleri yapıldı.

3.2.4. PARP-1 Geninin Restriksiyon Enzimleriyle Oluşan Kesim Ürünleri

PARP-1 geninin C410T promotör bölgesinde 298bç uzunluğundaki PZR ürününün Hpy3I enzimiyle kesimi sonucu;

145, 109 bç - **CC**

145, 127, 109 bç - **CT**

127, 109 bç - **TT** olarak genotiplendi.

PARP-1 geninin G1672A promotör bölgesinde 187bç uzunluğundaki PZR ürününün Bsh1236I enzimiyle kesimi sonucu;

152, 35 bç – **GG**

187, 152, 35 bç – **GA**

187 bç - **AA** olarak genotiplendi.

RFLP ürünlerinin uzunlukları göz önünde bulundurularak agaroz jel elektroforezi kullanıldı. Çalışmada RFLP ürünlerinin analizi için %3' lük agaroz jel kullanıldı. Jel 90 V ~1 saat süreyle yürütüldü. Kesim sonuçları UV ışık altında incelenerek genotiplendi.

3.3. PARP-1 Gen Anlatım Düzeyleri

Hashimoto tiroiditi grubuna dahil edilen kişilerden K3-EDTA'lı tübe periferik kanları alındı. K3-EDTA'lı olarak alınan kandan RNA izolasyonu ile RNA eldesi ve sonrasında cDNA sentezi yapılarak Gerçek Zamanlı PZR ile PARP-1 geni mRNA düzeyleri saptandı.

3.3.1. Beyaz Hücrelerin Ayrıştırılması

Gey's tamponu:

- 155 mM NH₄Cl
- 10 mM KHCO₃

Steril distile su ile 1 lt' ye tamamlandı. Oda sıcaklığında saklandı.

Hasta ve kontrollere ait 5 ml periferik kandan, Gey's tamponu kullanılarak beyaz kan hücreleri ayrıştırıldı. Beyaz kan hücreleri (5×10^6 hücre), RNA izolasyonu kitine ait 10 ml RTL solüsyon ile 100µl β-merkaptoetanol karıştırılarak hazırlanan solüsyon D (Sol D) içinde homojenize edilerek -80°C derin dondurucuda çalışma gerçekleştirilene kadar saklandı.

3.3.2. Total RNA İzolasyonu

Derin dondurucuda saklanan ve sol D içinde bulunan örneklerden QiaAmp RNA Blood Mini Kit (50) kullanılarak RNA izolasyonu yapıldı. Çalışma buz üzerinde gerçekleştirildi.

1. Sol D içindeki hücreler eşit hacimde %70' lik etil alkol ile karıştırılarak homojenize edildi ve QIAamp spin kolona aktarıldı.
2. 14.000 RPM' de 15 sn çevrilerek, karışım filtreden geçirildi. RNA'nın filtreye bağlanması sağlanarak alttaki tüp atıldı.
3. QIAamp spin kolon yeni bir 2 ml toplama tüpüne aktarıldı. 700 µl RW1 solüsyon ilave edildi ve 14.000 RPM' de 15 sn santrifüj edilerek alttaki tüp atıldı.
4. QIAamp spin kolon yeni bir 2 ml toplama tüpüne aktarıldı. Filtrenin üzerine 500 µl RPE solüsyon eklendi. 14.000 RPM' de 15 sn santrifüj edilerek alttaki tüp boşaltıldı.
5. QIAamp spin kolonun kapağı dikkatle açılıp, 500 µl RPE solüsyon eklendi ve maksimum hızda 14000 RPM' de 3 dk santrifüj edildi.
6. QIAamp spin kolon yeni bir 2 ml toplama tüpüne aktarıldı. Maksimum hızda 1 dk santrifüj edildi.
7. QIAamp spin kolon 1,5 ml toplama tüpüne aktarıldı ve QIAamp membranının üzerine doğrudan 30-50 µl DNaz ve RNaz olmayan steril su ile pipetlenerek RNA çözüldü.
8. Filtre temiz tüpe alındı. 14.000 RPM' de 2 dk çevrilerek RNA'nın çökmesi sağlandı. Elde edilen RNA' lar -80°C' de saklandı.

3.2.3. Total RNA Konsantrasyonunun Ölçümü

İzole edilen RNA' ların konsantrasyonu ve saflığı Nanodrop cihazında ölçülerek belirlendi. RNA' ların konsantrasyonu 260 nm' deki OD, RNA saflığı ise 260 nm/280 nm' deki OD oranından tespit edildi.

260 nm/280 nm' deki OD oranı $2,00 \pm 0,2$ $\mu\text{g/ml}$ olan RNA' lar çalışmada kullanıldı.

3.2.4. cDNA Eldesi

cDNA eldesi için her örnekten total 1 μg RNA kullanıldı ve reaksiyon için aşağıdaki karışım hazırlandı. (Tablo 3-4, Tablo 3-5) Bu karışım 65°C ' de 10 dk bekletildi. Reaksiyon karışımı hazırlanana kadar RNA-primer karışımı buzda bekletildi.

Tablo 3-4: cDNA sentezi PZR içeriği

Stok	Son Konsantrasyon
RNA	10 μl
Random Primer (10 μM)	1 μl
Total	11 μl

Tablo 3-5: Reaksiyon karışımının içeriği

Stok	Son Konsantrasyon
5x RT Buffer	4 μl
dNTP (10 mM)	2 μl
DTT (0,1 M)	1 μl
RNase inhibitör (20 u/ μl)	1 μl
Reverse transkriptaz (200 u/ μl)	1 μl
Total	11 μl

11 µl RNA-primer karışımı üzerine 9 µl reaksiyon karışımı eklendi. 25°C’ de 10 dk, 42°C’ de 1 saat ve 70°C’ de 10 dk aşamaları ile sentezlenen cDNA’ lar gen anlatım analizi için kullanıldı.

3.2.5. Gerçek Zamanlı (Real Time) Kantitatif PZR

Gerçek zamanlı PZR, floresan işaretleyiciler kullanılarak, gerçek zamanlı olarak incelenmek istenen örneğin içerdiği nükleik asitin (DNA/RNA) belirlenmesi ve miktarının gösterilebilmesi tekniğidir.

Floresan sinyali, PZR ürün miktarıyla doğru orantılı olarak artmaktadır. Floresan yoğunluğu “Ct (cycle threshold)” olarak tanımlanır ve bu değer kullanılarak gen anlatım düzeyi hesaplamaları yapılır.

Gen anlatım çalışmalarında normalizasyon için referans (housekeeping) gen/genler kullanılır. Referans genlerden stabil anlatım göstermeleri beklenir. Her deneyde kullanılabilecek bu özelliklere sahip birçok gen bulunmaktadır. Bu çalışmada *SİKLOFİLİN* geni referans gen olarak kullanıldı.

Çalışmamız PZR Light Cycler 480 (Roche Diagnostics) cihazı ve *PARP1* geni için #22 ve *SİKLOFİLİN* geni için #48 numaralı UPL problemleri kullanıldı. Gerçek zamanlı PZR içeriği Tablo 3-6’da, PZR sıcaklık koşulları Tablo 3-7’ de ve kullanılan primerler Tablo 3-8’de verilmiştir. Uygun koşullarda gerçek zamanlı PZR yapıldı.

Tablo 3-6: Gerçek zamanlı PZR içeriği

Stok	Son Konsantrasyon
PZR reaksiyon karışımı (2x)	5 µl
Primer F (5 pmol)	1 µl
Primer R (5 pmol)	1 µl
Prob (10µM)	0,2 µl
dH ₂ O	1,8 µl
cDNA	2 µl
Total	10 µl

Tablo 3-7: Gerçek zamanlı PZR sıcaklık koşulları

	Sıcaklık	Zaman	
Ön Denatürasyon	95 °C	10 dk	1 döngü
Denatürasyon	95 °C	10 sn	} 45 döngü
Primer Bağlanması	60 °C	20 sn	
Zincir Uzaması	72 °C	1 sn	
Son Uzama	40 °C	10 sn	

Tablo 3-8: Gerçek zamanlı PZR’de kullanılan primerler

Primerler	Primer Dizileri
PARP-1 F	5’-TCTTTGATGTGGAAAGTATGAAGAA-3’
PARP-1 R	5’-GGCATCTTCTGAAGGTCGAT-3’
SİKLOFİLİN F	5’-CCTAAAGCTACGGGTCCTG-3’
SİKLOFİLİN R	5’-CACTTTGCCAAACACCACAT-3’

Karşılaştırmalı $\Delta\Delta Ct$ yöntemi, gen anlatımı düzeyini relatif (göreceli) olarak hesaplamada kullanılan matematiksel bir yöntem olup $[\delta][\delta]Ct = [\delta]Ct$, referans gen - $[\delta]Ct$, hedef gen şeklinde ifade edilir.

PARP-1 geni mRNA düzeyi, referans gene ait Ct değerleri ile normalize edilerek relatif mRNA miktar tayini yapıldı.

3.4. ELISA Yöntemi

Çalışmada, insan leptin kiti ve adiponektin kitinde sandviç ELISA yöntemi kullanıldı. İnsan leptin ve adiponektinine özgü antikorla kaplı AssayMax Human Leptin ELISA kiti ve AssayMax Human Adiponektin kiti kullanılmıştır.

3.4.1. ELISA Yöntemi ile Adiponektin Tayini

AssayMax Human Adiponektin ELISA Kit insan ve murine adiponektinin plazma, serum ve hücre kültür süpernatantlarında tespiti için tasarlanmıştır. Bu tayin bir kantitatif sandviç enzim immünassay tekniği kullanır ve adiponektin ölçülür. Adiponektine spesifik bir poliklonal antikor bir mikroplate'e kaplanmıştır. Standartlar ve numunelerdeki adiponektin, adiponektin için spesifik olan immobilize antikor ve biyotinlenmiş poliklonal antikor tarafından sandviçlenir, bu da bir streptavidin-peroksidaz konjugatı tarafından tanımlanır. Tüm bağlanmamış materyal daha sonra yıkılarak uzaklaştırılır ve bir peroksidaz enzim substratı eklenir. Renk gelişimi durdurulur ve rengin yoğunluğu ölçülür.

3.4.1.1. Kullanılan Reaktifler

1. Adiponektin mikroplate: (8 kuyucuklu 12 strip) İnsan adiponektinine karşı poliklonal antikorla kaplı bir 96 kuyucuklu polistren mikroplate.
2. Yapışkan bant: Her bir kit bireysel çalışmaların formatına uygun kesilebilir basınca duyarlı yapışkan bant içerir.
3. Adiponektin standardı: Tamponlanmış protein bazlı rekombinant insan adiponektin (50 ng, liyofilize).
4. Biyotinlenmiş adiponektin antikor (50x): Adiponektine karşı 50 kat biyotinlenmiş poliklonal antikor (70 µl).
5. Streptavidin-peroksidaz konjugat (SP konjugat): 100 kat konsantre (90 µl).
6. MIX dilüent konsantre (10x): Tamponlanmış protein bazlı 10 kat konsantre (30 ml).
7. Yıkama solüsyonu konsantre (20x): 20 kat konsantre tamponlanmış sürfaktan (2x30 ml).
8. Kromojen substrat: Kullanıma hazır stabilize peroksidaz kromojen substrat tetrametilbenzidin (8ml).
9. Durdurma solüsyonu: 0,5N HCl (12 ml) kromojen substrat reaksiyonunu durdurmak için.

3.4.1.2. Reaktif Hazırlama

Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi ve kullanılacağı zaman dilüe edildi.

Adiponektin standardı: İçinde 50 ng/ml adiponektin içeren standart solüsyonunu oluşturmak için MIX dilüentin 1 ml' si ile 50 ng/ml insan adiponektin standardı çözüldü. Dilüsyonları hazırlamadan 10 dk beklenildi. 25 - 12,5 - 6,25 - 3,13 - 1,56 ve 0,78 ng/ml' lik dilüsyonları oluşturmak için MIX dilüent ile dilüe edildi. MIX dilüent ise sıfır standardı (0 ng/ml) oluşturdu.

Standart Nokta Dilüsyon Adiponektin (ng/ml)

P1 1 kısım Standart (50ng/ml) 50,00

P2 1 kısım P1 + 1 kısım MIX Dilüent 25,00

P3 1 kısım P2 + 1 kısım MIX Dilüent 12,50

P4 1 kısım P3 + 1 kısım MIX Dilüent 6,25

P5 1 kısım P4 + 1 kısım MIX Dilüent 3,13

P6 1 kısım P5 + 1 kısım MIX Dilüent 1,56

P7 1 kısım P6 + 1 kısım MIX Dilüent 0,78

P8 MIX Dilüent 0,00

- Biotinlenmiş adiponektin antikorları (50x): Biotinlenmiş antikor şişesi hafifçe alt üst edildi ve 1:50 oranında MIX dilüent ile dilüe edildi.
- MIX dilüent konsantre (10x): Konsantre MIX dilüent distile su ile 1:10 oranında dilüe edildi.
- Yıkama solüsyon konsantre (20x): Konsantre yıkama solüsyonu distile su ile 1:20 oranında dilüe edildi.
- SP konjugat (100x): Sp konjugat hafifçe alt üst edildi ve 1:100 oranında MIX dilüent ile dilüe edildi.

3.4.1.3. Ölçüm Yöntemi

1. Tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Ölçümler oda sıcaklığında yapıldı.
2. Uygun kuyucuklara 50 µl standard veya numune eklendi, kuyucuklar kaplandı ve 1 saat inkübe edildi.
3. 200 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Plate ters çevrildi ve sıvı kısmı dökmek için kağıt bir havluya 4-5 kez vuruldu.
4. Her bir kuyucuğa 50 µl biyotinleşmiş adiponektin antikoru eklendi ve 1 saat inkübe edildi.
5. 200 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
6. Her bir kuyucuğa 50 µl streptavidin-peroksidaz konjugat eklendi ve 30 dk inkübe edildi. Bu aşamada mikroplate okuyucu açıldı ve program ayarlandı.
7. 200 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
8. Her bir kuyucuğa 50 µl kromojen substrat eklendi ve 8 dk inkübe edildi.
9. Her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve renk maviden sarıya dönüştü.
10. 450 nm dalga boyunda bir mikroplate okuyucu üzerinde absorbanslar okundu.

3.4.1.4. Data Analizi

Standart eğrisinden numune konsantrasyonları dilüsyon faktörü 500 ile çarpılarak hesaplandı.

3.4.1.5. Presizyon, Sensitivite ve Spesivite

Minimum saptanabilir adiponektin miktarı 0,5 ng/ml' dir. İntra-assay ve inter-assay CV % 4,1 ve %7,2' dir.

3.4.2. ELISA Yöntemi ile Leptin Tayini

AssayMax Human Leptin ELISA Kit insan ve murine Leptin' in plazma, serum ve hücre kültür süpernatantlarında tespiti için tasarlanmıştır. Bu tayin bir kantitatif sandviç enzim immunassay tekniği kullanır ve adiponektin ölçülür. Leptine spesifik bir poliklonal antikor bir mikroplate' e kaplanmıştır. Standartlar ve numunelerdeki leptin, leptin için spesifik olan immobilize antikor ve biyotinleşmiş poliklonal antikor tarafından sandviçlenir, bu da bir streptavidin-peroksidaz konjugatı tarafından

tanımlanır. Tüm bağlanmamış materyal daha sonra yıkanarak ve uzaklaştırılır ve bir peroksidaz enzim substratı eklenir. Renk gelişimi durdurulur ve rengin yoğunluğu ölçülür.

3.4.2.1. Kullanılan Reaktifler

1. Leptin mikropate: (8 kuyucuklu 12 strip) İnsan leptinine karşı poliklonal antikorla kaplı bir 96 kuyucuklu polistren mikropate.
2. Yapışkan bant: Herbir kit bireysel çalışmaların formatına uygun kesilebilir basınca duyarlı yapışkan bant içerir.
3. Leptin standardı: Tamponlanmış protein bazlı rekombinant insan leptin (50ng, liyofilize).
4. Biyotinlenmiş leptin antikor (150x): Leptine karşı 50 kat biyotinlenmiş poliklonal antikor (70 µl).
5. Streptavidin-peroksidaz konjugat (SP konjugat): 100 kat konsantre (90 µl).
6. MIX dilüent konsantre (10x): Tamponlanmış protein bazlı 10 kat konsantre (30 ml).
7. Yıkama solüsyonu konsantre (20x): 20 kat konsantre tamponlanmış sürfaktan (2x30 ml).
8. Kromojen substrat: Kullanıma hazır stabilize peroksidaz kromojen substrat tetrametilbenzidin (8ml).
9. Durdurma solüsyonu: 0,5N HCl (12 ml) kromojen substrat reaksiyonunu durdurmak için.

3.4.2.2. Reaktif Hazırlama

Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi ve kullanılacağı zaman dilüe edildi.

Leptin standardı: İçinde 32 ng/ml leptin içeren standart solüsyonunu oluşturmak için MIX Dilüentin 2 ml' si ile 32 ng/ml insan leptin standardı çözüldü. Dilüsyonları hazırlamadan 10 dk beklenildi. 8 - 2 - 0,5 - 0,125 ve 0 ng/ml' lik dilüsyonları oluşturmak için MIX Dilüent ile dilüe edildi. MIX Dilüent ise sıfır standardı (0 ng/ml) oluşturdu.

Standard Nokta Dilüsyon Leptin (ng/ml)

P1 1 kısım Standard (32ng/ml) 32,00

P2 1 kısım P1 + 1 kısım MIX Dilüent 8,00

P3 1 kısım P2 + 1 kısım MIX Dilüent 2,00

P4 1 kısım P3 + 1 kısım MIX Dilüent 0,50

P5 1 kısım P4 + 1 kısım MIX Dilüent 0,125

P6 MIX Dilüent 0,00

- Biotinlenmiş leptin antikorları (50x): Biotinlenmiş antikor şişesi hafifçe alt üst edildi ve 1:50 oranında MIX dilüent ile dilüe edildi.
- MIX dilüent konsantre (10x): Konsantre MIX dilüent distile su ile 1:10 oranında dilüe edildi.
- Yıkama solüsyonu konsantre (20x): Konsantre yıkama solüsyonu distile su ile 1:20 oranında dilüe edildi.
- SP konjugat (100x): Sp Konjugat hafifçe alt üst edildi ve 1:100 oranında MIX dilüent ile dilüe edildi.

3.4.2.3. Ölçüm Prosedürü

1. Tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Ölçümler oda sıcaklığında yapıldı.
2. Uygun kuyucuklara 50 µl standard veya numune eklendi, kuyucuklar kaplandı ve 2 saat inkübe edildi.
3. 200 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Plate ters çevrildi ve sıvı kısmı dökmek için kağıt bir havluya 4-5 kez vuruldu.
4. Her bir kuyucuğa 50 µl biyotinlenmiş leptin antikoru eklendi ve 2 saat inkübe edildi.
5. 200 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
6. Her bir kuyucuğa 50 µl streptavidin-peroksidaz konjugat eklendi ve 30 dk inkübe edildi. Bu aşamada mikroplate okuyucu açıldı ve program ayarlandı.

7. 200 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
8. Her bir kuyucuğa 50 µl kromojen substrat eklendi ve 20 dk inkübe edildi.
9. Her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve renk maviden sarıya dönüştü.
10. 450 nm dalga boyunda bir mikropate okuyucu üzerinde absorbanslar okundu.

3.4.2.4. Data Analizi

Standart eğrisinden numune konsantrasyonları dilüsyon faktörü 4 ile çarpılarak hesaplandı.

3.4.2.5. Presizyon, Sensitivite ve Spesivite

Minimum saptanabilir leptin miktarı 120 ng/ml' dir. İntra-assay ve inter-assay CV % 4,1 ve %7,3 'dir.

3.5. İstatiksel Analizler

İstatistiklerin hazırlanmasında SPSS for Windows 12,0 paket istatistik programı ve GraphPad Prism 5 programı kullanılmıştır. Parametreler arası ilişkiler Spearman korelasyon analizi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodlardan; Ortalama, Standart Sapma, frekans ve yüzde değerleri ile tanımlanmıştır.

Gruplar arası frekans ve yüzdelerin kıyaslanmasında Ki-kare ve Fisher testi kullanılmıştır. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Student t testi, normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında ise Mann Whitney testi kullanılmıştır.

Sonuçlar %95' lik güven aralığında (%95 CI), anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamız 141 Hashimoto tiroiditi hastası ile benzer yaş ve cinsiyette 150 sağlıklı kontrolde gerçekleştirildi. Hastaların TSH=19,28±28,46IU/ml AntiTPO=806,67±847,3IU/ml AntiTg=282,716±607,4IU/ml değerleri bu şekilde bulundu.

4.1. PARP-1 Geni G1672A Polimorfizmi

Hashimoto hasta ve kontrol gruplarının PARP-1 geni G1672A promotör bölge polimorfizmi genotipleri Hardy-Weinberg eşitliğinde olup, gösterdikleri genotip dağılımı ve allel sıklığı χ^2 testi ile değerlendirildi. (Tablo 4-1, Tablo 4-2)

Tablo 4-1: G1672A polimorfizmi genotip dağılımları

Genotip	Hasta (n %)	Kontrol (n %)	OR	% 95 CI	p
G/G	75 (%53,2)	60 (%40)			Ref.
G/A	62 (%44)	81 (%54)	0,61	0,38-0,98	0,04*
A/A	4 (%2,8)	9 (%6)	0,36	0,1-1,21	0,09

* P<0,05

Tablo 4-2: G1672A polimorfizmi allel frekansları dağılımı

Allel	Hasta (n %)	Kontrol (n %)	OR	% 95 CI	P
G	212 (%75)	201 (%67)			Ref.
A	70 (%25)	99 (%33)	0,67	0,47-0,96	0,03*

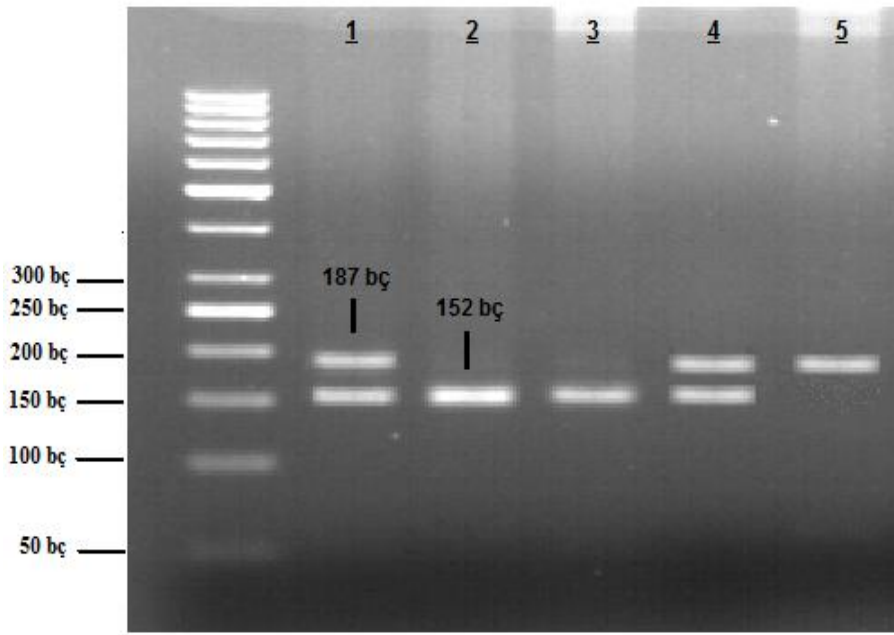
* P<0,05

Tablo 4-1 ve Tablo 4-2' de görüldüğü üzere Hashimoto hasta ve kontrol grupları PARP-1 geni G1672A polimorfizminde genotip dağılımı açısından; G/A genotipine ve A alleline sahip bireylerde Hashimoto hastalığı görülme riski daha düşüktür.

4.2. PARP-1 Geni G1672A Polimorfizmi Genotiplerinin RFLP Analizi

Bsh1236I enzimi ile kesilen PARP-1 geni G1672A polimorfizmi PZR ürünleri %2' lik agaroz jelde yürütülerek polimorfizm tespiti yapıldı.

187bç' lik PZR ürününün Bsh1236I restriksiyon enzim kesimi ile genotiplemesi yapıldı. (Şekil 4-1)



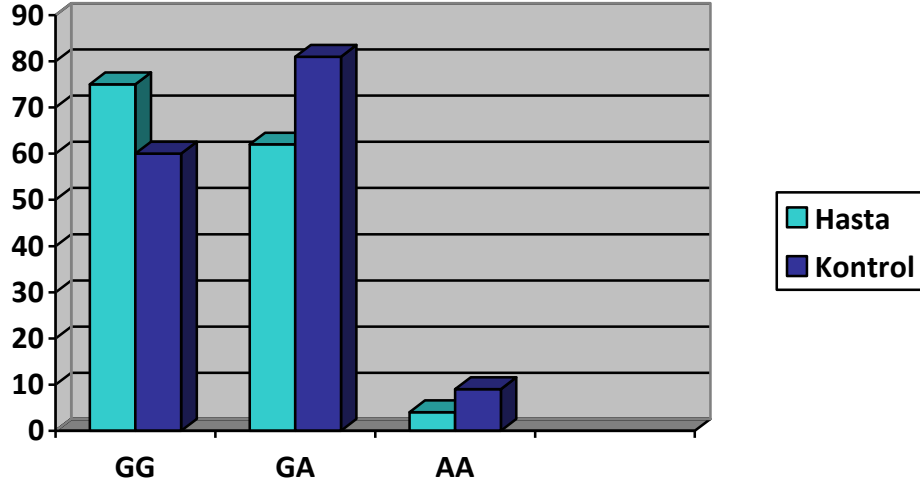
Şekil 4-1: G1672A genotiplerinin RFLP agaroz jel görüntüsü

1. ve 4. kuyucuk: **GA** genotipi

2. ve 3. kuyucuk: **GG** genotipi

5. kuyucuk: **AA** genotipi

Hasta ve kontrol gruplarının G1672A polimorfizmi genotip dağılımı Graph Pad Prism programı ile çizildi. (Şekil 4-2)



Şekil 4-2: Hasta ve kontrol gruplarında G1672A polimorfizmi genotip dağılımı

4.3. PARP-1 Geni C410T Polimorfizmi

Hashimoto hasta ve kontrol gruplarının PARP-1 geni C410T promotör bölge polimorfizmi genotipleri Hardy-Weinberg eşitliğinde olup, gösterdikleri genotip dağılımı ve allel sıklığı χ^2 testi ile değerlendirildi. (Tablo 4-3, Tablo 4-4)

Tablo 4-3: C410T polimorfizmi genotip dağılımları

Genotip	Hasta (n %)	Kontrol (n %)	OR	% 95 CI	p
C/C	62 (%44)	60 (%40)			Ref.
C/T	62 (%44)	65 (%43,3)	0,092	0,56-1,52	0,75
T/T	17 (%12)	25 (%16,7)	0,66	0,32-1,34	0,66

Tablo 4-4: C410T polimorfizmi allel frekansları dağılımı

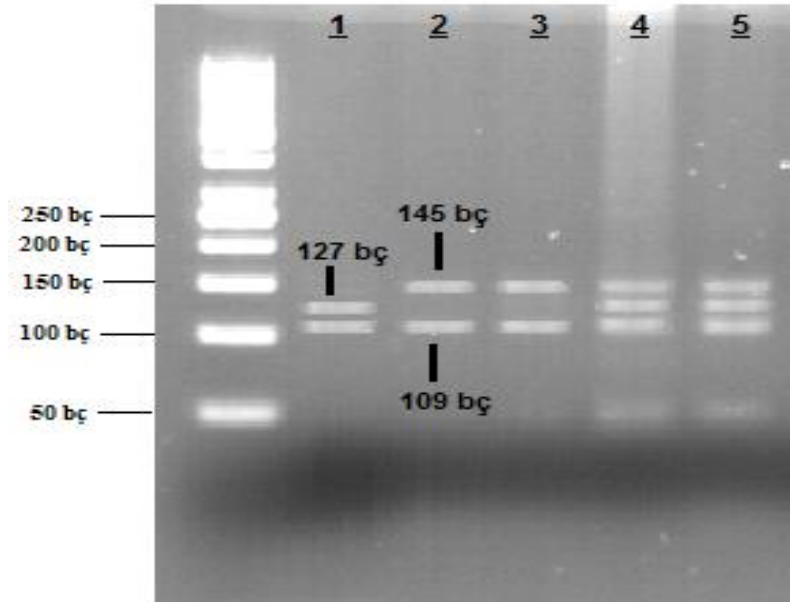
Allel	Hasta (n %)	Kontrol (n %)	OR	% 95 CI	p
C	186 (%66)	185 (%62)			Ref.
T	96 (%34)	115 (%38)	0,83	0,59-1,17	0,28

Tablo 4-3 ve Tablo 4-4' de görüldüğü üzere Hashimoto hastaları ve kontrol grupları C410T polimorfizminde genotipler ve allel sıklıkları dağılımı bakımından karşılaştırıldığında her iki grupta da istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır.

4.4. PARP-1 Geni C410T Polimorfizmi Genotiplerinin RFLP Analizi

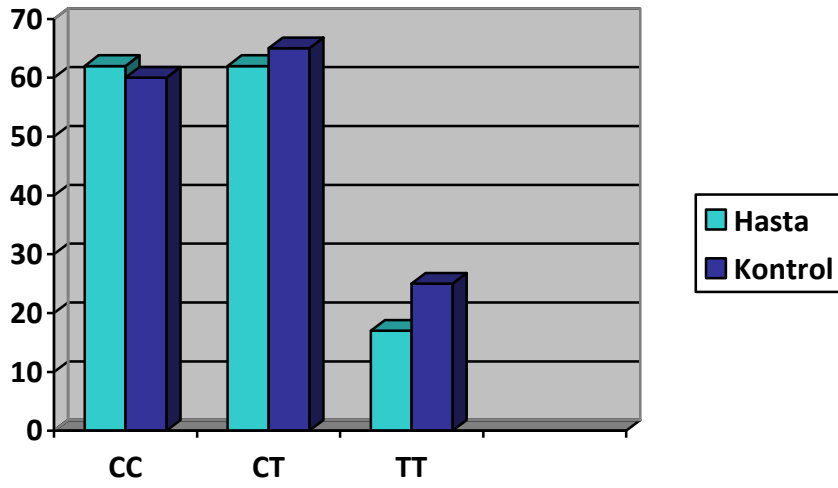
Hpy3I enzimi ile kesilen PARP-1 geni C410T polimorfizmi PZR ürünleri %3' lük agaroz jelde yürütülerek polimorfizm tespiti yapıldı.

PZR ürününün Hpy3I (Dde) restriksiyon enzimi kesimi ile genotiplemesi yapıldı. (Şekil 4-3)

**Şekil 4-3: C410T RFLP agaroz jel görüntüsü**

1. kuyucuk: **TT** genotipi
2. ve 3. kuyucuk: **CC** genotipi
4. ve 5. kuyucuk: **CT** genotipi

Hasta ve kontrol gruplarının C410T polimorfizmi genotip dağılımı Graph Pad Prism programı ile çizildi. (Şekil 4-4)



Şekil 4-4: Hasta ve kontrol gruplarında C410T polimorfizmi genotip dağılımı

4.5. PARP-1 Geni C410T ve G1672A Polimorfizmleri Genotiplerinin Birlikte Görülme Sıklığının İstatistik Sonuçları

Hashimoto hasta ve kontrol gruplarının PARP-1 geni C410T ve G1672A polimorfizmleri genotiplerinin birlikte görülme sıklıkları χ^2 testi ile değerlendirildi. (Tablo 4-5)

Tablo 4-5: Hasta ve kontrol gruplarında C410T ve G1672A genotiplerinin birlikte görülme sıklıkları

	Hasta	Kontrol	OR	% 95 CI	P
CCGG	42	27			Ref.
CCGA	14	15	0,60	0,25-1,44	0,25
CCAA	1	3	0,21	0,02-2,17	0,3*
CTGG	23	29	0,51	0,25-1,06	0,07
CTGA	38	20	1,22	0,59-2,52	0,59
CTAA	2	2	0,64	0,09-4,84	1,00*
TTGG	7	4	1,13	0,30-4,21	1,00*
TTGA	9	10	0,58	0,21-1,61	0,29
TTAA	1	1	0,64	0,04-10,72	1,00*

(Minimum beklenen değer <5 ise Fisher exact test uygulanmıştır.)

Tablo 4-5’ de görüldüğü gibi Hashimoto hasta ve kontrol grupları PARP-1 geni C410T ve G1672A polimorfizmlerinin birlikte görülme sıklıklarında istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır.

4.6. Haplotip Analizi

Haplotip analizi ile, PARP-1 geni C410T ve G1672A polimorfizmlerinin birlikte kalıtılma oranı ve buna bağlı olarak da allellerin birbirleri üzerine etkileri incelenmektedir.

Haplotip terimlerinden;

r^2 : İki SNP arasındaki bağlantı katsayısının karesidir. $r^2 < 1$ ise rekombinasyon olmuş ve birlikte kalıtılma düşmüştür.

LOD: Göreceli risk oranları logaritması. LOD arttkça, r^2 artar.

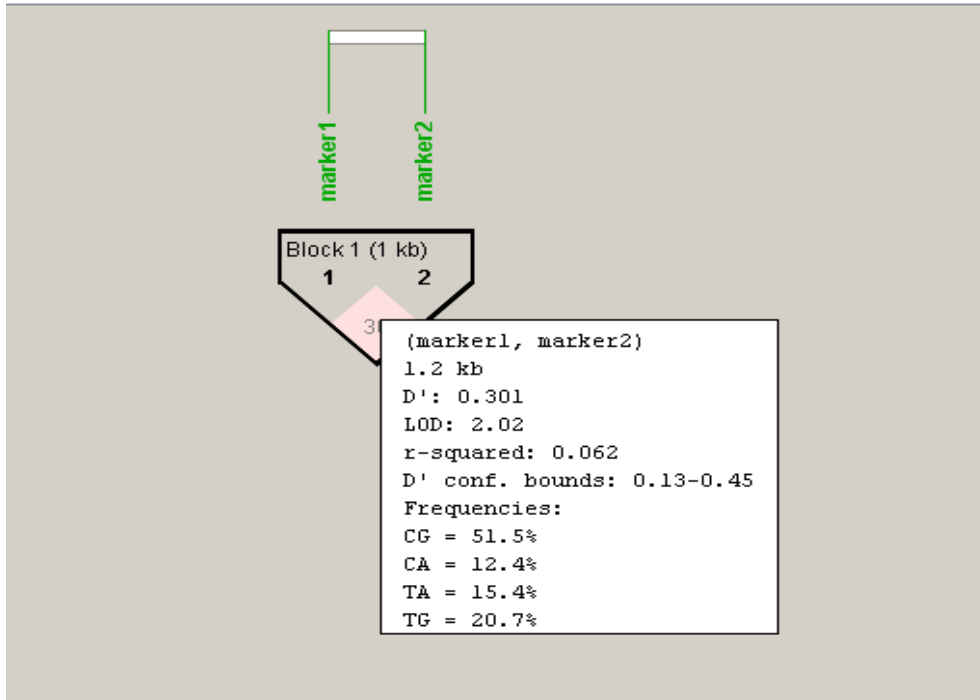
Hasta ve kontrollerin haplotiplerinin birlikte görülme sıklığı haploview programı ile değerlendirildi.

Tablo 4-6 : Hasta ve kontrol gruplarında C410T ve G1672A haplotiplerinin birlikte görülme sıklığı

Haplotipler	Hasta (%)	Kontrol (%)	p
CG	%56	%41	0,009*
TG	%19	%24	0,32
TA	%15	%17	0,52
CA	%1	%18	0,045*

* p<0,05

Tablo 4-6' da görüldüğü üzere hastalarda CG haplotipinin görülme sıklığı kontrol grubuna göre daha yüksektir. Kontrollerde ise, CA genotipinin görülme sıklığı hasta grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.

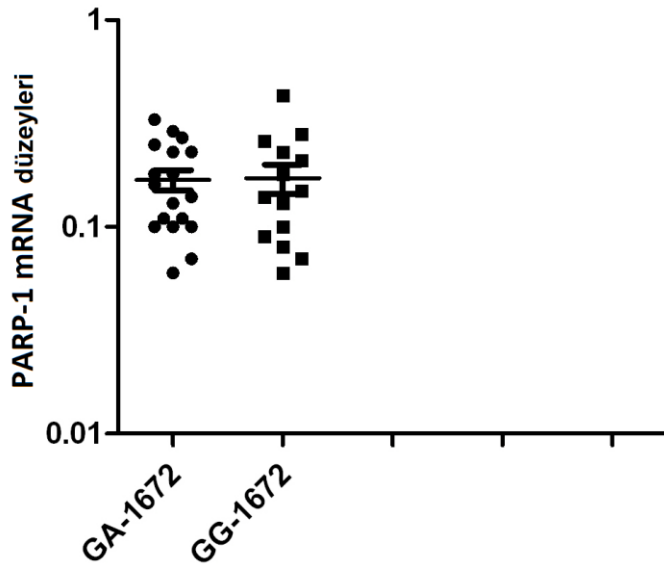


Şekil 4-5: Hasta ve kontrol grupları C410T ve G1672A haplotiplerinin birlikte kalıtılma sıklığı

Şekil 4-5' de görüldüğü üzere C410T ve G1672A haplotiplerinin birlikte kalıtılma sıklığı düşüktür. ($r=0,062$)

4.7. PARP-1 Geni mRNA Düzeyleri ile G1672A Genotiplerinin Karşılaştırılması

Hashimoto hastalarında G1672A polimorfizmi genotiplerine göre PARP-1 geni mRNA düzeylerinin dağılım grafiği Graph Pad Prism programı ile çizildi. (Şekil 4-6)



Şekil 4-6: G1672A genotiplerine göre mRNA düzeyleri

Hashimoto hastalarında G1672A polimorfizmi genotiplerine göre PARP-1 geni mRNA düzeylerinin karşılaştırılması student t testi ile değerlendirildi.

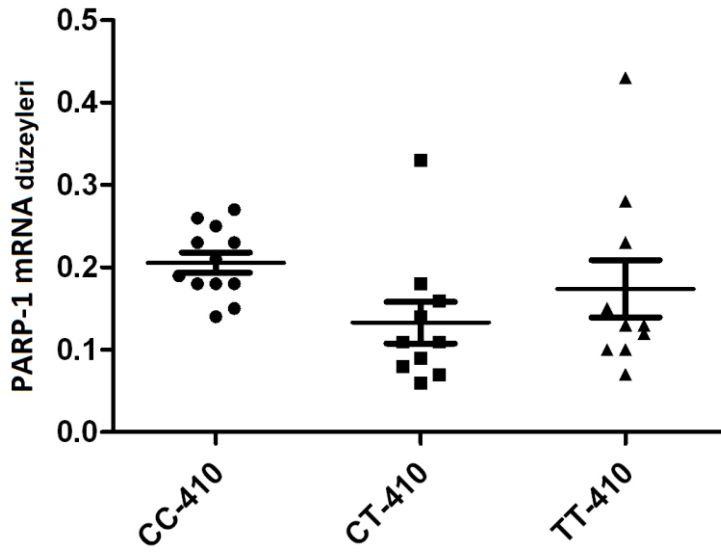
Tablo 4-6: G1672A genotiplerine göre mRNA düzeyleri

Genotip	Hasta	% 95 CI	p
GG	0,21±0,16		Ref.
GA	0,17±0,06	0,14-0,13	0,51
AA	0		

Tablo 4-6' da görüldüğü üzere PARP-1 geni G1672A polimorfizmi genotipleri ile mRNA düzeyleri kıyaslandığında aralarında istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiştir.

4.8. PARP-1 Geni mRNA Düzeyleri ile C410T Genotiplerinin Karşılaştırılması

Hashimoto hastalarında C410T polimorfizmi genotiplerine göre PARP-1 geni mRNA düzeylerinin dağılım grafiği Graph Pad Prism programı ile çizildi. (Şekil 4-7)



Şekil 4-7: C410T genotiplerine göre mRNA düzeyleri

Hashimoto hastalarında C410T polimorfizmi genotiplerine göre PARP-1 geni mRNA düzeylerinin karşılaştırılması student t testi ile değerlendirildi.

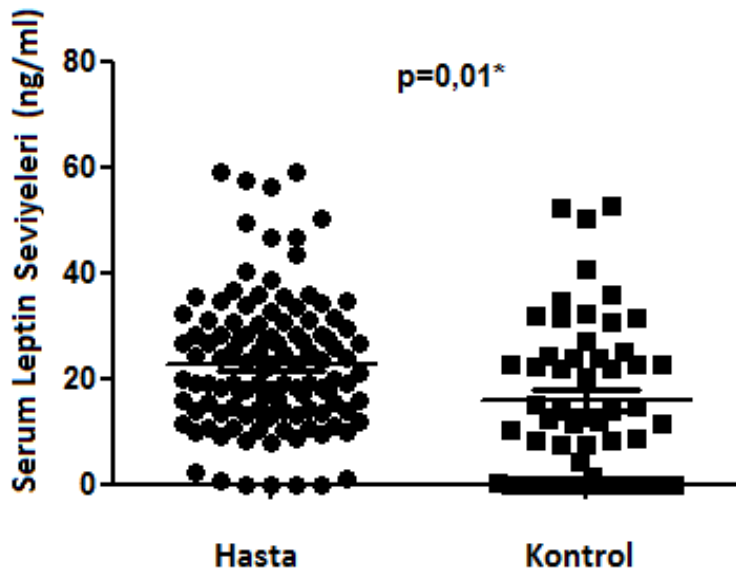
Tablo 4-7: C410T genotiplerine göre mRNA düzeyleri

Genotip	Hasta	% 95 CI	p
CC	0,25±0,12		Ref.
CT	0,13±0,07	0,12-0,18	0,1
TT	0,17±0,1	0,15-0,30	0,32

Tablo 4-7’ de görüldüğü üzere PARP-1 geni C410T polimorfizmi genotipleri ile mRNA düzeyleri kıyaslandığında aralarında istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiştir.

4.9. Hasta ve Kontrollerde Leptin Seviyelerinin Karşılaştırılması

Hashimoto hasta ve kontrol grupları leptin seviyelerinin karşılaştırması Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiştir. Leptin seviyeleri grafiği Graph Pad Prism programı ile çizildi. (Şekil 4-8)



Şekil 4-8: Hasta ve kontrol gruplarında leptin seviyeleri

* $P < 0,05$

Şekil 4-8’ de hasta grubu leptin seviyesi ortalama değeri $22,63 \pm 12,69$ ng/ml, kontrol grubu leptin seviyesi ortalama değeri ise $15,78 \pm 7,62$ ng/ml’ dir. ($p=0,01$)

Hasta grubu G1672A polimorfizmi genotiplerine göre leptin seviyeleri Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

Tablo 4-8: G1672A genotiplerine göre leptin seviyeleri

Genotip	Hasta	% 95 CI	p
GG	20,39±13,83		Ref.
GA	20,35±14,73	4,61-4,58	0,74
AA	19,60±7,89	8,21-9,65	0,84

Tablo 4-8' de görüldüğü üzere Hashimoto hasta ve kontrol grupları arasında PARP-1 geni G1672A polimorfizmi genotipleri ile leptin seviyeleri arasında anlamlı bir fark yoktur.

Hasta grubu C410T polimorfizmi genotiplerine göre leptin seviyeleri Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

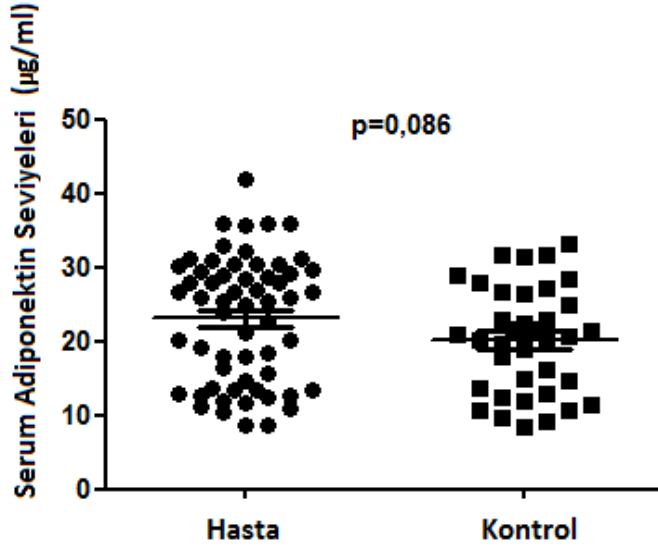
Tablo 4-9: C410T genotiplerine göre leptin seviyeleri

Genotip	Hasta	% 95 CI	p
CC	19,92±14,10		Ref.
CT	20,64±12,96	5,62-4,16	0,75
TT	20,09±17,85	8,06-7,24	0,77

Tablo 4-9' da görüldüğü üzere Hashimoto hasta ve kontrol grupları arasında C410T polimorfizmi genotipleri ile leptin seviyeleri arasında anlamlı bir fark yoktur.

4.10. Hasta ve Kontrol Gruplarında Adiponektin Seviyelerinin Karşılaştırılması

Hasta ve kontrol grupları adiponektin seviyelerinin karşılaştırması Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiştir. Adiponektin seviyeleri grafiği Graph Pad Prism programı ile çizildi. (Şekil 4-9)



Şekil 4-9: Hasta ve kontrol gruplarında adiponektin seviyeleri

Şekil 4-9’ da hasta grubu adiponektin seviyesi ortalama değeri 22,76±8,61 µg/ml, kontrol grubu adiponektin seviyesi ortalama değeri ise 19,78±7,25 µg/ml’ dir (p=0,086)

Hasta grubu G1672A polimorfizmi genotiplerine göre serum adiponektin seviyeleri Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

Tablo 4-10: G1672A genotiplerine göre adiponektin seviyeleri

Genotip	Hasta	% 95 CI	p
GG	22,68±8,55		Ref.
GA	21,50±8,43	2,61-4,85	0,56
AA	20,50±5,73	4,06-8,6	0,35

Tablo 4-10' da gördüğü üzere Hashimoto hasta ve kontrol grupları arasında PARP-1 geni G1672A polimorfizmi genotipleri ile leptin seviyeleri arasında anlamlı bir fark yoktur.

Hasta grubu C410T polimorfizmi genotiplerine göre adiponektin seviyeleri Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

Tablo 4-11: C410T genotiplerine göre adiponektin seviyeleri

Genotip	Hasta	% 95 CI	p
CC	22,52±8,40		Ref.
CT	21,22±8,04	2,45-5,24	0,58
TT	19,50±9,25	2,90-8,71	0,37

Tablo 4-11' de görüldüğü üzere Hashimoto hasta ve kontrol grupları arasında PARP-1 geni C410T polimorfizmi genotipleri ile adiponektin seviyeleri arasında anlamlı bir fark yoktur.

5. TARTIŞMA

Hashimoto tiroiditi, kronik olarak seyreden inflamatuvar bir otoimmün hastalıktır (130). Otoimmün hastalıklar, organizmanın kendi hücre ve dokularına karşı uzun süreli immün cevap ve inflamasyon oluşmasından kaynaklanmaktadır.

Son senelerde, yapılan çalışmalarda immün cevap ile adipoz doku arasında bir ilişki olduğu ve beyaz yağ dokusu tarafından sentezlenen adipokinlerin inflamasyonu kontrol altında tuttuğu gösterilmiştir (60,131). Adipokinler, immünoregulator işlevlere sahiptir ve inflamatuvar hastalıklarda konsantrasyonları inflamasyona bağlı olarak değişmektedir. Tip1 Diyabet, RA gibi otoimmün hastalıklarla yapılan çalışmalarda adipokinlerin periferik dolaşımdaki konsantrasyonları yüksek olduğu tespit edilmiştir. Özellikle leptin ve adiponektinin çok sayıda otoimmün hastalığın (RA, Lupus Eritromatosus, Tip1 Diyabet gibi) patogenezinde rol oynadığı bilinmesine rağmen HT patogenezini ile adipokinler arasındaki bağlantı hakkında çok kısıtlı bilgi bulunmaktadır (132).

R. Günaydin ve arkadaşlarının 50 RA' li hasta ve 34 kontrolde yapılan çalışmasında serum leptin seviyeleri ile hastalık şiddeti arasındaki ilişki incelenmiştir. Hasta ve kontroller arasında yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKI) arasında anlamlı bir fark bulunmazken serum leptin seviyelerinin RA' de daha yüksek olduğu bulunmuştur. VKİ ile leptinin doğru orantılı olduğu gözlenmiş ve hem hasta hem de kontrol grubunda kadınlarda erkeklere göre serum leptin seviyesinin yüksek olduğu görülmüştür (133).

K. Adrych ve arkadaşlarının diğer bir otoimmün hastalık olan 44 erkek kronik pankreatitis hastası ve 16 sağlıklı erkekte yaptığı çalışmada leptin seviyelerine bakılmış, hasta leptin seviyeleri kontrollere göre düşük bulunmuştur (134).

K. Karmiris ve arkadaşlarının çalışmasında 100 inflamatuvar barsak hastası (IBH) (45 Ülseratif Kolit ve 54 Kron hastası) ve 60 sağlıklı kontrolde leptin ile birlikte adiponektin seviyesine bakılmıştır. Kontrole göre hastalarda serum adiponektin seviyesi artarken, leptin seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir (135).

J. B. De Sanctis ve arkadaşlarının SLE hastalarında ve sağlıklı kontrollerde yaptıkları bir diğer çalışmada; serum leptin seviyesi hastalarda düşük, adiponektin seviyesi yüksek bulunmuştur (136).

Yukarıda verilen örneklerle birlikte pek çok otoimmün hastalıkta leptin ve adiponektin seviyeleri incelenmiş olmasına rağmen, Hashimoto tiroiditi hastalarıyla ilişkili fazla bilgi bulunmamaktadır.

L. Siemińska ve arkadaşlarının 98 HT' li postmenopozal ötiroid kadın ve 105 sağlıklı postmenopozal ötiroid kadında serum leptin ve adiponektin seviyeleri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmada hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında leptin ve adiponektin seviyeleri açısından anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (137).

141 Hashimoto hastası ve 150 sağlıklı kontrol ile gerçekleştirilen çalışmamızda adiponektin seviyelerinde bir fark tespit edilmemesi L. Siemińska ve arkadaşlarının bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Bu çalışmadan farklı olarak çalışmamızda Hashimoto hastalarının leptin seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir.

Çalışmamızda leptin seviyesinin hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunması, leptinin lenfositler üzerine etki ederek HT' de lenfosit aracılı inflamasyondaki rolünü ortaya koymaktadır. Diğer taraftan, leptin ile zıt yönlü çalışan adiponektin (131), T hücre aktivasyonu ve B hücre gelişimini baskılayarak immün cevap üzerinde negatif etki yapmaktadır. Serum leptin ve adiponektin seviyelerinin inflamatuvar/otoimmün hastalıklarda farklı sonuçlar gösteriyor olması, bireylerde hastalığın patogenezi ile arasındaki bağlantının farklı ve bağımsız olduğunu düşündürmektedir.

D. Huang ve arkadaşları tavşanların kardiyak fibroblastları ile yaptığı çalışmada, PARP-1'in adiponektinin ve adiponektin reseptörünün (AdipoR1) transkripsiyonunu inaktive ederek etkisini gösterdiği sonucuna varmıştır (138). Bizde bu bulgulardan yola çıkarak çalışmamızın ikinci kısmında, PARP-1 geni promotör bölge polimorfizmleri ile adiponektin seviyeleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı planladık.

PARP-1 geni, adiponektin ile ilişkisinin yanı sıra Hashimoto tiroiditi patogenezinde rol oynayan aday genlerden birisidir. HT patogenezinde genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı bilinmektedir. Günümüzde hala hastalıklığın

etyolojisinde hangi genetik faktörlerin rolü olduğu tam olarak açıklanabilmiş değildir. Son senelerde yapılan çalışmalar PARP-1 geninin knockout olduğu ve PARP-1 enziminin inhibe edildiği durumlarda, inflamasyonla ilişkili hastalıklarda hastalığın oluşmasını veya ilerlemesini engellediğini göstermiştir. PARP-1 inhibitörlerinin koruyucu etkisinin, inflamatuvar cevabın inhibisyonuna bağlı olduğu ileri sürülmüştür (139,140).

PARP-1 enzimi interlökin genlerini transkripsiyonel düzeyde düzenlemek suretiyle inflamatuvar cevapta rol oynadığı gösterilmiştir (117,140). Ancak, PARP-1 enziminin inflamatuvar süreçteki rolü hala tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir.

PARP-1 geni promotör bölgesinde çoğunlukla C410T, C1362T ve G1672A polimorfizmleri çalışılmış ve bazı inflamatuvar/otoimmün hastalıklarla arasındaki ilişkiler araştırılmış ve sonuç olarak, bu polimorfizmlerin hastalık riskine katkıda bulunabileceğini ortaya koyulmuştur (122).

Çalışmamızda, PARP-1 geninin promotör bölgesinde bulunan C410T ve G1672A polimorfizmlerine bakılmıştır. C410T polimorfizmi açısından hasta ve kontrol gruplarının genotipleri arasında herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir. PARP-1 geninin promotör bölgesinde bulunan G1672A polimorfizminde G/A genotipini sahip bireyler ve A alleleline sahip bireylerde Hashimoto hastalığının görülme riski daha düşük bulunmuştur.

PARP-1 geni C410T ve G1672A polimorfizmleri ile HT arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışma bulunmamasına rağmen, bu polimorfizmlerin diğer bazı inflamatuvar hastalıklarla olan ilişkisini inceleyen birkaç çalışma bulunmaktadır.

J. Infant ve arkadaşlarının 146 Parkinson hastası ve 161 sağlıklı kontrol ile yaptığı çalışmada PARP-1 geni promotör bölge C410T ve G1672A polimorfizmlerinin hastalık üzerine etkilerine bakılmıştır. G1672A polimorfizminde hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmezken, C410T polimorfizminde heterozigot C/T genotipin hastalıkta risk faktörünü azalttığı ve T allelinin hastalıkta koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir (123).

M. Pascual ve arkadaşları 213 İspanyol Romatoid Artritli hasta ve 242 sağlıklı bireyde PARP-1 geni promotör bölge polimorfizmleri (C410T, C1362T, G1672A) ile RA arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Sonuçlara göre; PARP-1 geni polimorfizmlerinin

inflamasyon/otoimmün hastalıklarda etkisinin olabileceği gösterilmiş ve C410T polimorfizminde C/T genotipi ile C1362T polimorfizminde C/C genotipi RA' e yatkınlığı arttırdığı bulunmuştur (122).

J. Infante ve arkadaşlarının 263 İspanyol Alzheimer hastası ile 293 sağlıklı kontrolde gerçekleştirdiği çalışmada, PARP-1 geni C410T, G1672A polimorfizmleri ile IL-1A geni C889T polimorfizmi incelenmiştir. Sonuca göre, C410T ve G1672A haplotiplerinin IL-1A geni C889T polimorfizminde T alleli ile ilişkisi Alzheimer hastalığı riskini arttırmaktadır (124).

N. Kato ve arkadaşlarının Japon popülasyonunda 213 Serebral İnfarksiyon hastası ve 374 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışmada, PARP-1 geni C410T, C1362T ve G1672A polimorfizmleri bakılmıştır. Her üç genotipte de hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (121).

Polimorfizmlerdeki allel frekansları ve genotip dağılımları etnik kökene göre farklılık gösterebilmektedir. C410T polimorfizmi için; Avrupa popülasyonunda T/T genotipi, Afrika popülasyonunda ise C/C genotipi daha fazla görülmektedir. G1671A polimorfizmi için; Avrupa popülasyonunda A/A genotipi, Yoruban (Ibadan,Nijerya) popülasyonunda ise G/G genotipi daha fazla görülmektedir. Farklı etnik gruplarda görülen genotip ve allel frekansları arasındaki farklar, bu polimorfizmlerin popülasyonlara göre farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır (125,126).

PARP-1 geni C410T ve G1672A polimorfizmleri haplotiplerinin birlikte görülme sıklığı incelendiğinde; hasta grubunda CG haplotipinin kontrol grubuna göre daha fazla görüldüğü, kontrol grubunda ise CA haplotipinin hasta grubuna göre daha fazla görüldüğü tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuçlar, genotip ve allel frekanslarının sıklığında G/G genotipinin ve G allelinin hastalıkta risk faktörü olduğu sonucunu destekler niteliktedir.

PARP-1 geni C410T ve G1672A polimorfizmleri haplotiplerinin birlikte kalıtılma sıklığı düşük bulunmuştur. Kromozomda birbirine yakın DNA parçaları beraber kalıtılma eğilimi gösterirler. PARP-1 geninde promotör bölgede yer alan 410. ve 1672. nükleotidler kromozom üzerinde birbirine yakın konumlanmış olsa da beraber kalıtılma sıklıkları düşük olduğu için bu polimorfizmlerin birbirlerini etkileme olasılıkları düşüktür.

Çalışmamızda ayrıca HT grubunda PARP-1 geni C410T ve G1672A promotör bölge polimorfizmleri ile bireylere ait PARP-1 geni mRNA düzeyleri karşılaştırması yapılmıştır. Polimorfizmler genotiplerine göre gruplara ayrılıp, gruplar arası mRNA düzeyleri kıyaslanmıştır.. Her iki polimorfizm için mRNA düzeyleri açısından istatistiksel anlamda bir fark bulunamamıştır. Gen üzerindeki C410T ve G1672A polimorfik değişimlerin mRNA düzeyleri ile bağlantısının olmadığı görülmüştür. PARP-1 geninde promotör bölge polimorfizmleri ile mRNA düzeylerinin birlikte çalışıldığı bir literatür bulunmadığından çalışmamızla karşılaştırmak mümkün olmamıştır

Çalışmamızın bu kısmında, hasta bireylerin PARP-1 geni C410T ve G1672A polimorfizmi genotipleri ile serum adiponektin seviyelerinin yanısıra leptin seviyeleri arasındaki ilişki de değerlendirilmiştir. Serum leptin ve adiponektin seviyelerinde genotipler açısından her iki polimorfizm için de anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar da, PARP-1 geni polimorfizmlerinin inflamatuvar cevapta serum leptin ve adiponektin seviyelerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığını göstermektedir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre;

- PARP-1 geni C410T polimorfizmi hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark göstermemiştir.
- PARP-1 geni G1672A polimorfizminde G/G genotipinin ve G allelinin hastalıkta risk faktörü olduğu bulunmuştur.
- Leptin seviyesi Hashimoto tiroiditi vakalarında sağlıklı kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur.
- Adiponektin seviyeleri hasta ve kontrol grupları arasında farklılık göstermemiştir.
- PARP-1 geni mRNA düzeyleri, PARP-1 geni C410T ve G1672A polimorfizmleri genotipleri açısından anlamlılık göstermemiştir.

KAYNAKLAR

1. (2005) Thyroiditis. *American Thyroiditis Association*.
2. Colin M. Dayan, M.D.,Ph.D. ve Gilbert Daniels, M.D. (2006). Chronic Autoimmune Thyroiditis, **335** (2).
3. Garip Bekfilaviođlu. (2009, p.4). Ötiroid Hashimoto tiroiditli hastalarda makroprolaktin sıklığının değeriendirilmesi.
4. Prof. Dr. Taylan Kabalak. (2009). Tiroid ve Otoimmünite. *Tiroid El Kitabı*, 353-360.
5. Hashimoto H. (1912). Zur Kenntniss der lymphomatosen veränderung der schilddrüse (struma lymphomatosa). *Arch Klin Chir*, **97**, 219.
6. Dayan CM, Daniels GH. (1996). Chronic autoimmune thyroiditis. *N Engl J Med*, **335**, 99-107.
7. Hiroshi E. Takami Æ Rika Miyabe Æ Kaori Kameyama. (2008). Hashimoto's Thyroiditis, *World J Surg*, 32:688–692
8. Neşe Birinci. (2009, p.7). Hashimoto tiroiditli çocuk hastaların demografik, klinik ve prognostik özellikleri. Uzmanlık Tezi.
9. Kotani T, Aratake Y, Ohtaki S. (1997). Apoptosis in Hashimoto's thyroiditis [in Japanese]. *Rinsho Byori Jpn J Clin Pathol*, **45**, 1038–1047.
10. Fountoulakis S, Philippou G, Tsatsoulis A. (2007). The Role of iodine in the evolution of thyroid disease in Greece: From endemic goiter to thyroid autoimmunity. *Hormones (Athens)*, **6**, 25-35.
11. Bastemir M, Emral R, Erdogan G, Gullu S. (2006). High prevalence of thyroid dysfunction and autoimmune thyroiditis in adolescents after elimination of iodine deficiency in the Eastern Black Sea Region of Turkey. *Thyroid*, **16**, 1265-1271.
12. Wang CC, Goalstone ML, Draznin B. (2004). Molecular mechanism of insulin resistance that impact cardiovascular biology. *Diabetes*, **53**, 2735-40.
13. Tunbridge WM, Vanderpump MP. (2000). Population screening for autoimmune thyroid disease. *Endocrinol Metab Clin North Am*, **29**, 239- 253

14. Dallas JS, Foley TP. (2003). Thyromegaly. *Pediatric Endocrinology* (4th edition) Ed, Lifshitz F. Marcel Dekker, New York, 393-406
15. Manji N, Carr-Smith JD, Boelaert K, Allahabadia A, Armitage M, Chatterjee VK ve ark. (2006). Influences of age, gender, smoking, and family history on autoimmune thyroid disease phenotype. *J Clin Endocrinol Metab.*, **91**,4873-4880.
16. Marković S, Kostić G, Igrutinović Z, Vuletić B. (2008). Hashimoto's thyroiditis in children and adolescents. *Srp Arh Celok Lek.*, **136**,262-266.
17. Chiovata L. Martino E. (2001, p.189). Thyroiditis. *Endocrinology and Metabolism*.
18. Barbessino G. et al. (2000). The genetics of Hashimoto disease. *Endocrinol and Metab. Clinic of North America*, **29**(2),357.
19. Chistiakov DA. (2005). Immunogenetics of Hashimoto's thyroiditis. *J Autoimmune Dis*, **2**,1.
20. Rose N.R, Saboori A.M. Rasooly L, Buek C.L. (1997). The role of iodine in autoimmune thyroiditis. *Crit Rev Immunol*, **17**, 511-517
21. Rose N.R, Bonita R, Burek C.L. (2002). Iodine: an enviromental trigger of thyroiditis. *Autoimmun Rev.*, **1**,97-103
22. Tomer Y. (2002). Genetics dissection of familial autoimmune thyroid diseases using whole genome screening. *Autoimmun Rev.*,**1**,198-204
23. Mine H, Kawai H, Yokoi K, Akaike M, Saito S. (1997). High frequencies of human tlymphotropic virus type I (HTLV-I) infection and presence of HTLV-II proviral DNA in blood donors with antithyroid antibodies. *J Mol Med.*, **74**, 471-477
24. Kakizaki S, Takagi M, Murakami M, Takayama H, Mori M. (1999). HLA antigens in patients with interferon – alpha- induced autoimmune thyroid disorders in chronic hepatitis. *C. J Hepatol*, **30**, 794-800
25. Imaizumi M, Pritsker A, Kita M, Ahmad L, Unger P, Davies t. (2001). Pregnancy and murine thyroiditis: thyroglobulin immunization leads to fetal loss in specific allogeneic pregnancies. *Endocrinology*, **142**, 823-829
26. Tomer Y. (2002). Genetics dissection of familial autoimmune thyroid diseases using whole genome screening. *Autoimmun Rev.*,**1**, 198-204

27. Boukis MA, Koutras DA, Souvatzoglou A. (1983). Thyroid hormone and immunologic studies in endemic goitre. *J Clin Endocrinol Metab.*, **57**, 859- 62
28. Harach HR, Eslacante DA, Onativia A. (1985). Thyroid carcinoma and thyroiditis in an endemic goitre region before and after iodine prophylaxis. *Acta Endocrinol*, **108**, 55- 6048
29. Allen EM, Apel MC, Braverman LE. (1987). The effect of iodide ingestion on the development of spontaneous lymphocytic thyroiditis in the BB/W rat. *Endocrinology*, **281**, 70-76
30. Rasooly L, Burek CL, Rose NR. (1996). Iodine- induced autoimmune thyroiditis in NODH- 2h4 mice. *Clin Immunol Immunopathol*, **81**,287- 92
31. Ruwhof C, Draxhage HA. (2001). Iodine and thyroid autoimmune disease in animal models. *Thyroid*, **11**, 427-36
32. Gonca Keskindemirci. (2010, p.16-18). Otoimmün tiroiditi olan çocukların klinik, laboratuar ve epidemiyolojik olarak değerlendirilmesi ve selenyum destek tedavisinin hastalığın seyrine etkisi. Uzmanlık Tezi.
33. LaFranchi S. (2004). Disorders of the thyroid gland/thyroiditis. *Nelson Textbook of Pediatrics* (17th edition) Eds, Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. W.B.Saunders Company, 1870-1890.
34. Cotran RS, Kumar V, Collins T. (1999). *Robbins Pathologic Basis of Disease*. Collins T, editors. Acute and chronic inflammation. (6th ed.) Philadelphia, W.B.Saunders Company, 50-74.
35. Ece Harman. (2010, p.6). Tiroid nodülü olan Graves hastalığı, Hashimoto tiroiditi, Toksik multinodüler guatrılı olgularda TNF- α , 8-OHdG, HIF-1 α parametrelerin incelenmesi. Yan Dal Uzmanlık Tezi.
36. Alla Skapenko, Jan Leipe, Peter E Lipsky ve Hendrik Schulze-Koops. (2005). The role of the T cell in autoimmune disease. *Arthritis Research & Therapy*, **7**,2.
37. A. Jaeger & V. K. Kuchroo. (2010). Effector and Regulatory T-cell Subsets in Autoimmunity and Tissue Inflammation. *Scandinavian Journal of Immunology*, **72**, 173–184

38. Murphy KM, Reiner SL. (2002). The lineage decisions of helper T cells. *Nat Rev Immunol*, **2**,933–44.
39. Ho IC, Glimcher LH. (2002) Transcription: tantalizing times for T cells. *Cell*, **109**,109-20.
40. Jones DEJ, Diamont AG. (1995). The Basis Autoimmunity: an overview. Baillieres Clin. Endocrinol and Metab., **9(1)**,1.
41. Weetman AP. (2006, p.1976). Autoimmune Thyroid Disease. Leslie DeGroot, J. Larry Jameson, *Endocrinology*,.
42. Sevgi Altaş, M. Ferit Gürsu, Funda G. Bulmuş. (2011). Adipoz dokudan salınan yeni adipokinler. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi*, **6(17)**.
43. Gimble, J.M. (2003). Adipose tissue-derived therapeutics. *Expert Opin Biol Ther*, **3**, 705-713.
44. Berköz, M., Yalın, S. (2008). Yağ Dokusunun immünolojik ve inflamatuvar fonksiyonları. *Mersin Üniv Sağlık Bilim Dergisi*, **1**, 1-9.
45. Sönmez, B. (2008). Plazma Adiponektin Düzeyi ve Diğer İnsülin Rezistansı Parametreleri ile Mide Kanseri Arasındaki İlişki. Uzmanlık Tezi.
46. Combs TP, Berg AH, Obici S, Scherer PE, Bossetti L. (2001). Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J Clin Invest*, **108**, 1875-1881
47. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. (2001). Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab*, **86**, 1930-1935
48. Wang B, Jenkins JR, Trayhurn P. (2005). Expression and secretion of inflammationrelated adipokines by human adipocytes differentiated in culture: integrated response to TNF-alpha. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, **288**, E731–E740.
49. Susan E. Wozniak Æ Laura L. Gee Æ Mitchell S. Wachtel Æ Eldo E. Frezza. (2009) Adipose Tissue: The New Endocrine Organ? A Review Article. *Dig Dis Sci*, **54**,1847–1856

50. Nedvidkova J, Smitka K, Kopsky V, et al. (2005). Adiponectin, an adipocyte-derived protein. *Physiol Res.*, **54**,133-40
51. Herbert Tilg, Alexander R. Moschen. (2006). Adipocytokines:Mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature Reviews Immunology* **6**, 772-783
52. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, **372**,425-432.
53. Aşkın Hekimoğlu. (2006). Leptin ve fizyopatolojik olaylardaki yeri. *Dicle Tıp Dergisi*, **33(4)**, 259-267
54. Matarese, G. et al. (2002). Balancing susceptibility to infection and autoimmunity: a role for leptin? *Trends Immunol.* **23**, 182–187.
55. ConsidineRV, SinhaMK, HeimanML, ve ark. (1996). Serumimmunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *NEngl J Med.*, **334**,292-295.
56. Aktan F. (2004) iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sci*, **75**, 639-653
57. Kuby, J. (1992). *Immunology*. W.H. Freeman and Company, 245.
58. Marletta, M. (1994). Nitric oxide synthase: aspects concerning structure and catalysis. *Cell*, **78**, 927-930
59. Yegen B. (2003). İnfeksiyon ve inflamasyonda leptin. *Genel Tıp Dergisi*, 13(2,Ek).
60. Giamila Fantuzzi, PhD. (2005). Adipose tissue, adipokines and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 11,911-9.
61. Patricia Fern´andez-Riejos, Souad Najib, Jose Santos-Alvarez, ConsueloMart´ın-Romero, Antonio P´erez-P´erez, Carmen Gonz´alez-Yanes, and V´ıctor S´anchez-Margalet. (2010). Role of Leptin in the Activation of Immune Cells. *Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation*, p8.
62. La Cava A, Matarese G. (2004). The weight of leptin in immunity. *Nat Rev Immunol*, **4**, 371-379.
63. Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, et al. (1998). Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J*, **12**, 57-65.

64. Santos-Alvarez J, Goberna R, Sanchez-Margalet V. (1999). Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes. *Cell Immunol*, **194**, 6-11.
65. Zarkesh-Esfahani H, Pockley G, Metcalfe RA, et al. (2001). High-dose leptin activates human leukocytes via receptor expression on monocytes. *J Immunol*, **167**, 4593-4599.
66. Procaccini Claudio. (2007, p.9). Leptin and Autoimmunity: role of leptin in the modulation of immune response during Experimental Autoimmune Encephalomyelitis.
67. Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y. (1996). cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor APM1 (Adipose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun.*, **221**:286-289
68. Saito K, Tobe T, Minoshima S, Asakawa S, Sumi'ya J, Yoda M, Nakano Y, Shimizu N, Tomita M. (1999). Organization of the gene for gelatin-binding protein (GBP28). *Gene*, **229**, 67-73
69. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. (1996). AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem*, **271**, 10697-10703
70. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Reed DE, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE, Lodish HF. (2001). Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, **98**, 2005-2010
71. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. (1995). A novel serum Protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem*, **270** (45),26746-9.
72. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. (1996). CDNA cloning and expression of novel adipose specific collagen like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript1). *Biochem Biophys Res Commun*, **221**,286-89.

73. Kershaw EE, Flier JS. (2004). Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*, **89**, 2548-54.
74. Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. (2003). Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes Care*, **26**, 2442-50.
75. Matsushita K, Tamakoshi K, Yatsuya H et al. (2007). Further inflammatory information on metabolic syndrome by adiponectin evaluation. *Internat J Cardiol*. 1-6.
76. Okamoto Y, Folco EJ, Minami M, Wara AK, Feinberg MW, Sukhova GK, Colvin RA, Kihara S, Funahashi T, Luster AD, Libby P. (2007). Adiponectin inhibits the production of CXC receptor chemokine ligands in macrophages and reduces T-lymphocyte recruitment in atherogenesis. *Circ Res*.
77. Tilg H, Moschen AR. (2006). Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol*, **6**, 772-83.
78. Yokota T, Meka C S R, Medina K L, Igarashi H, Comp P C, Takahashi M, Nishida M, Oritani K, Miyagawa J, Funahashi T, Tomiyama Y, Matsuzawa Y, Kincade P. W. (2002). Paracrine regulation of fat cell formation in bone marrow cultures via adiponectin and prostaglandins. *J. Clin. Invest*, **109**, 1303-1310
79. Yokota T, Oritani K, Takahashi I, Ishikawa J, Matsuyama A, Ouchi N, Kibara S, Funahashi T, Tenner A J, Tomiyama Y, Matsuzawa Y. (2000). Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood*, **96**, 1723-1732
80. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. (2000). Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappa-B signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation*, **102**, 1296-1301
81. N. Maeda, M. Takahashi, T. Funahashi et al. (2001). PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes*, **50(9)**, 2094–2099.

82. M. Fasshauer, S. Kralisch, M. Klier et al. (2003). Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **301(4)**,1045–1050.
83. Ouchi N, Walsh K. (2007). Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Clin Chim Acta*. **380**,24-30
84. G. Fantuzzi. (2005). Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **115(59)**,911–920.
85. F. Lago, C. Dieguez, J. G´omez-Reino, and O. Gualillo. (2007). Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. *Nature Clinical Practice Rheumatology*, **3(12)**,716–724.
86. G. Fantuzzi. (2008). Adiponectin and inflammation: consensus and controversy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **121(2)**,326–330.
87. Yokoto T, Meka CS, Kouro T, Medina KL; Igarsahi H, Takahashi M, Oritani K, Funahashi T, Tomiyama Y, Matsuzawa Y, Kincade PW. (2003). Adiponectin, a fat cell product, influences the earliest lymphocyte precursors in bone marrow cultures by activation of the cyclooxygenase-prostaglandin pathway in stromal cells. *Immunol*, **171**,5091-5099.
88. Neumeier M, Weigert J, Schäffler A, Wehrwein G, Müller-Ladner U, Schölmerich J, Wrede C, Buechler CJ. (2006). Different effects of adiponectin isoforms in human monocytic cells. *Leukoc Biol*, **79**, 803-8.
89. Burkle A. (2005). Poly(ADP-ribose). The most elaborate metabolite of NAD⁺. *Febs J*, **272(18)**,4576-89.
90. J. Yelamos, F. J. Olive. (2002). Role of poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) in the inflammatory response. *Immunologia*, **21(4)**,219-227.
91. Diefenbach J, Burkle A. (2005). Introduction to poly(ADP-ribose) metabolism. *Cell Mol Life Sci*, **62(7-8)**,721-30.
92. NCBI P. GenBank XP_037275 residues 796-1014. In; 2009.
93. Chambon P, Weill JD, Mandel P. (1963). Nicotinamide mononucleotide activation of new DNA-dependent polyadenylic acid synthesizing nuclear enzyme. *Biochem Biophys Res Commun*, 11:39-43.

94. Jean-Christophe Ame', Catherine Spenlehauer ve Gilbert de Murcia. (2004). The PARP superfamily. *BioEssays*, **26**,882–893
95. Mi Young Kim, Tong Zhang ve W. Lee Kraus. (2005). Poly(ADP-ribosyl)ation by PARP-1: 'PAR-laying' NAD⁺ into a nuclear signal. *Genes Dev*, **19**,1951-1967
96. Kraus, W.L. and Lis, J.T. 2003. PARP goes transcription. *Cell*, **113**,677–683.
97. Nguewa PA, Fuertes MA, Valladares B, Alonso C, Perez JM. (2005). Poly(ADPribose) polymerases: homology, structural domains and functions. Novel
98. Hassa PO, Hottiger MO. (2008). The diverse biological roles of mammalian PARPS, a small but powerful family of poly-ADP-ribose polymerases. *Front Biosci*, **13**,3046–3082
99. Vira'g L, Szabo C. (2002). The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev*, **54**,375–429
100. Jagtap P, Szabo C. (2005). Poly(ADP-ribose) polymerase and the therapeutic effects of its inhibitors. *Nat Rev Drug Discov*, **4**,421–440
101. Menissier de Murcia J, Ricoul M, Tartier L, et al. (2003). Functional interaction between PARP-1 and PARP-2 in chromosome stability and embryonic development in mouse. *Embo J*, **22(99)**,2255-63.
102. Masutani M. Nakagama H. Sugimura TS. (2005). Poly(ADP-ribosyl)ation in relation to cancer and autoimmune disease. CMLS. *Cell Mol Life Sci*, **62**,769-783
103. Vodenichorov MD.sallmann FR. Satoh MS. et al. (2000). Base excision repair is efficient in cells lacking poly(ADP-ribose)polymerase1. *Nucleic Acids Research*, **28(20)**,3887-3896
104. Laszlo Virag, Csaba Szabo. (2002). The Therapeutic Potential of Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibitors. *Pharmacol Rev*, **54**,375–429
105. J. Yelamos, F. J. Oliver. (2002). Role of poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) in the inflammatory response. *Inmunoglia*, **21(4)**,219-227
106. Shall S, de Murcia G. (2000). Poly (ADP-ribose) polymerase-1: what have we learned from the deficient mouse model? *Mutat Res.*, **460**, 1-15.



107. Hassa PO, Covic M, Hasan S, Imhof R, Hottiger MO. (2001). The enzymatic and DNA binding activity of PARP-1 are not required for NF- κ B coactivator function. *J Biol Chem*, **276**,45588-97.
108. Jagtap P, Szabo C. (2005). Poly(ADP-ribose) polymerase and the therapeutic effects of its inhibitors. *Nat Rev Drug Discov.*, **4**,421–40
109. Chiarugi A, Moskowitz MA. (2003). Poly(ADP-ribose) polymerase- 1 activity promotes NF-kappaB-driven transcription and microglial activation: implication for neurodegenerative disorders. *J Neurochem* **85**,306–17
110. Kauppinen TM, Higashi Y, Suh SW, Escartin C, Nagasawa K, Swanson RA. (2008). Zinc triggers microglial activation. *J Neurosci*, **28**,5827–35
111. Nakajima H, Nagaso H, Kakui N, Ishikawa M, Hiranuma T, Hoshiko S (2004) Critical role of the automodification of poly(ADP-ribose) polymerase-1 in nuclear factor-kappaB-dependent gene expression in primary cultured mouse glial cells. *J Biol Chem*, **279**,42774–86
112. Moroni F. (2008). Poly(ADP-ribose)polymerase 1 (PARP-1) and postischemic brain damage. *Curr Opin Pharmacol*, **8**,96–103.
113. Haddad M, Rhinn H, Bloquel C, Coqueran B, Szabo C, Plotkine M, Scherman D, Margail I. (2006). Antiinflammatory effects of PJ34, a poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor, in transient focal cerebral ischemia in mice. *Br J Pharmacol*, **149**,23–30.
114. Hamby AM, Suh SW, Kauppinen TM, Swanson RA (2007) Use of a poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor to suppress inflammation and neuronal death after cerebral Ischemia-reperfusion. *Stroke*, **38**,632–6.
115. Kauppinen TM, Swanson RA. (2005). Poly(ADP-ribose) polymerase-1 promotes microglial activation, proliferation, and matrix metalloproteinase-9-mediated neuron death. *J Immunol*, **174**,2288–96.
116. Karin M, Ben-Neriah Y. (2000). Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF- κ B activity. *Annu Rev Immunol*, **18**,621-63.

117. Oliver FJ, de la Rubia G, Rolli V, Ruiz-Ruiz MC, de Murcia G, Menissier de Murcia J. (1999). Importance of poly (ADP-ribose) polymerase and its cleavage in apoptosis. Lesson from an uncleavable mutant. *J Biol Chem*, **273**, 33533-9.
118. Tiina M Kauppinen, Sang Won Suh, Ari E Berman, Aaron M Hamby and Raymond A Swanson. (2009). Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase suppresses inflammation and promotes recovery after ischemic injury. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, **29**, 820–829.
119. <http://snp500cancer.nci.nih.gov>
120. Xiao-Gan Wang, Zhao-Qi Wang, Wei-Min Tong, Yan Shen. (2007). PARP1 Val762Ala polymorphism reduces enzymatic activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **354(1)**, 122-126
121. Norihiro Kato, Hiroyuki Morita, Takao Sugiyama, Hiroki Kurihara, Shin-ichi Tsubaki, Toru Nabika, Kazuyuki Kitamura, Yukio Yamori, Yoshio Yazaki. (2000). Evaluation of the poly(ADP-ribose) polymerase gene in human stroke. *Atherosclerosis*, **148**, 345–352
122. M. Pascual, M. A. L'opez-Nevot, R. C'aliz, M. A. Ferrer, A. Balsa, D. Pascual Salcedo, and J. Mart'ın. (2003). A Poly(ADP-Ribose) Polymerase Haplotype Spanning the Promoter Region Confers Susceptibility to Rheumatoid Arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, **48(3)**, 638-641.
123. Jon Infante, Pascual Sánchez-Juan, Ignacio Mateo, Eloy Rodríguez-Rodríguez, Coro Sánchez-Quintana, Javier Llorca et al. (2007). Poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) genetic variants are protective against Parkinson's disease. **256(1-2)**, 68-70.
124. Hsin-Ping Liu, Wei-Yong Lin, Bor-Tsang Wu, Shu-Hsiang Liu, Wen-Fu Wang, Chon-Haw Tsai. (2010). Evaluation of the poly(ADP-ribose) polymerase-1 gene variants in Alzheimer's disease. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **24(3)**, 182–186.
125. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp rs:2793378>
126. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp rs:7527192>

127. Oei SL, Shi Y. (2001). Transcription factor Yin Yang 1 stimulates poly(ADP-ribose)ylation and DNA repair. *Biochem Biophys Res Commun*, **284**,450-454.
128. T Zaremba¹, P Ketzer, M Cole¹, S Coulthard, ER Plummer ve NJ Curtin. (2009). Poly(ADP-ribose) polymerase-1 polymorphisms, expression and activity in selected human tumour cell lines. *British Journal of Cancer*, **101**,256-262.
129. Hassa PO, Hottiger MO (1999) A role of poly (ADP-ribose) polymerase in NF-kappaB transcriptional activation. *Biol Chem*, **380**,953-959.
130. Barbesino G, C. L. (2000). The Genetics of Hashimoto's disease. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 357-374.
131. Stéphanie Lucas, Claudie Verwaerde, Isabelle Wolowczuk. (2009). Is the Adipose Tissue the Key Road to Inflammation? *Immunology and Immunogenetics Insight*,**1**,3-14
132. Stofkova A. (2009). Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. *Endocr Regul*, **43(4)**,157-68.
133. Rezzan Gunaydin, MD, Taciser Kaya, MD, Aysenur Atay, MD, Nese Olmez, Aysel Hur, MD, and Mehmet Koseoglu. (2006). Serum Leptin Levels in Rheumatoid Arthritis and Relationship with Disease Activity. *Southern Medical Associatio*.
134. Adrych Krystian, Smoczynski Marian, Goyke Elzbieta, Stelmanska Ewa, Swierczynski Julian. (2007). Decreased Serum Leptin Concentration in Patients With Chronic Pancreatitis. *Pancreas*, **34(4)**,417-422.
135. Konstantinos Karmiris, Ioannis E. Koutroubakis, Costas Xidakis, Maria Polychronaki, Theodora Voudouri ve Elias A. Kouroumalis. (2006). Circulating Levels of Leptin, Adiponectin, Resistin, and Ghrelin in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*, **12**,100-105.
136. Juan B. De Sanctis, Mercedes Zabaleta,Nicolás E. Bianco, Jenny V. Garmendia ve Liliana Rivas. (2009). Serum adipokine levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*, **42(4)**,272-274
137. Lucyna Siemińska, Celina Wojciechowska, Beata Kos-Kudła, Bogdan Marek, Dariusz Kajdaniuk, Mariusz Nowak ve arkadaşları. (2010). Serum concentrations

- of leptin, adiponectin, and interleukin-6 in postmenopausal women with Hashimoto's thyroiditis. *Endokrynologia Polska/Polish Journal of Endocrinology*, **61(1)**.
138. Dan Huang†, Chongzhe Yang†, Yan Wang, Yuhua Liao, and Kai Huang. (2009). PARP-1 suppresses adiponectin expression through poly(ADP-ribosyl)ation of PPAR γ in cardiac fibroblasts. *Cardiovascular Research*, **81**, 98–107.
139. Liaudet L, Soriano FG, Szabo E, Virag L, Mabley JG, Salzman AL, Szabo C. (2000). Protection against hemorrhagic shock in mice genetically deficient in poly(ADP-ribose)polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA*, **97**,10203–10208.
140. Szabó C, Dawson VL. (1998). Role of poly(ADP-ribose) synthetase in inflammation and ischaemia-reperfusion. *Trends Pharmacol Sci*, **19**,287-298.
141. Peralta-Leal A et al. (2009). PARP inhibitors: New partners in the therapy of cancer and inflammatory diseases. *Free Radical Biology & Medicine*, **47**,13–26.
142. Tomer Y, Davies TF. (2003). Searching for the autoimmune thyroid disease susceptibility genes: from gene mapping to gene function. *Endocr Rev*, **24**,694-717.
143. Silman AJ, Ollier WE, Bubel MA. (1989). Autoimmune thyroid disease and thyroid autoantibodies in rheumatoid arthritis patients and their families. *Br J Rheumatol*, **28**,18-21.

ETİK KURUL KARARI


**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI**


Sayı : 20699
 Konu :

İstanbul/...../.....
12 Temmuz 2010

Temel Tıp Bilimleri Bölümü
Başkanlığına

İLGİ: 21.06.2010 tarihli, 505 sayılı yazınıza:

Bölümünüze bağlı Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr. Gönül KANIGÜR'ün danışmanlığında Yüksek Lisans Öğr. Funda KARAKURT'un yürüteceği "Haşimato Hastalarında Adiponektin Gen Ekspresyon Düzeyleri Üzerine PARG-1 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" başlıklı (Rutin tetkik ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle yapılan çalışma) Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri 06 Temmuz 2010 tarihinde toplanan Fakültemiz Etik Değerlendirme Komisyonunda müzakere edilmiş olup, etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini saygılarımla rica ederim.

Eki:
1 dosya

Prof.Dr.Fatih ALTINDAŞ
Dekan Yardımcısı ve Etik
Değerlendirme Komisyon Başkanı

G.Soydaner
Temmuz 2010 S.SİPAHIOĞLU
Hidayet Eren
Hedo

Not: Yanıtlarda yazmanızın gün sayısının belirtilmesi rica olunur. Tel(0212)4143000

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Funda	Soyadı	Karakurt
Doğ.Yeri	Adana	Doğ.Tar.	05.04.1985
Uyruğu	TC	TC Kim No	19195050684
Email	funda_karakurt@hotmail.com	Tel	0530 543 00 15

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakltesi	2012
Lisans	İstanbul Üniversitesi	2008
Lise	Bursa Atatürk Lisesi	2003

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Ürün Uzmanı	Basel Kimyevi Mad İlaç San Tic A.Ş	2011-
2.	Tıbbi Satış Mümessili	Basel Kimyevi Mad İlaç San Tic A.Ş	2011-2011
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	iyi	iyi	iyi		60

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	78		
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi