

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Sibel Güldiken

**SAĞLIKLI OLGULARDA TİROİD HORMONLARININ
ETKİLERİ İLE İLİŞKİLİ POLİMORFİZMLERİN
ENERJİ METABOLİZMASINDAKİ ROLÜ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Ayhan TOSUNOĞLU

EDİRNE-2012

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmam sırasında yardımını ve desteğini, esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Sibel Güldiken'e, eğitim sürecime bilgi ve tecrübeleriyle katkıda bulunan İç Hastalıkları AD'de görevli tüm hocalarıma, beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, tez çalışmama olan desteklerinden dolayı Biyofizik AD öğretim üyesi Doç. Dr. Tammam Sipahi'ye, Endokrinoloji servisinde çalışan tüm hemşire arkadaşlara ve çalışanlara, bu günlere gelmemde büyük emek sahibi olan aileme, uzmanlık eğitimim ve tez hazırlama dönemimdeki tüm sıkıntı ve mutlulukları benimle paylaşan değerli eşim Duygu Tosunoğlu'na teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
TİROİD BEZİ.....	3
TİROİD HORMONLARI	5
TİROİD HORMONLARININ ETKİLERİ	9
BAZAL METABOLİZMA HIZI VE BAZAL METABOLİZMA HIZINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER	12
TİROİD HORMON YOLAĞINDAKİ GEN POLİMORFİZMLERİ	18
GEREÇ VE YÖNTEMLER	30
BULGULAR.....	45
TARTIŞMA	54
SONUÇLAR.....	62
ÖZET	64
SUMMARY	65
KAYNAKLAR.....	66
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

A	: Adenin
AKŞ	: Açlık kan şekeri
BMH	: Bazal Metabolizma Hızı
C	: Sitozin
CO₂	: Karbondioksit
D1	: Deiyodinaz 1
D2	: Deiyodinaz 2
D3	: Deiyodinaz 3
DIO2	: Deiyodinaz 2
D2 Thr92Ala	: Deiodinase 2 threonin 92 alanine (Deiyonidaz 2 treonin 92 alanin)
DIT	: Di iyodo tironin
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
dNTP	: Deoxyribonucleotide triphosphate (Deoksiribonükleotid trifosfat)
G	: Guanin
HDL	: High density lipoprotein (Yüksek dansiteli lipoprotein)
HOMA-IR	: Homeostasis model assessment of insulin resistance
IGF-1	: Insulin like growth factor-1 (İnsülin benzeri büyüme faktörü-1)
LDL	: Low density lipoprotein (Düşük dansiteli lipoprotein)
MIT	: Mono iyodo tironin
mRNA	: Messenger Ribo Nucleic Acid (Mesajcı ribonükleik asit)
O₂	: Oksijen
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
rT₃	: Revers triiyodotironin

sT3 : Serbest triiyodotironin

sT4 : Serbest tiroksin

T : Timin

TBG : Tiroksin Bağlayan Globulin

TBPA : Tiroksin Bağlayan Prealbumin

Tg : Tioglobulin

TG : Trigliserid

TNP : Tek Nukleotid Polimorfizmi

TR : Tiroid reseptörü

TSH : Tiroid sitümlan horman

TSHR Asp727Glu:Thyroid stimulating hormone receptor aspartic acid 727 glutamic acid
(Tiroid sitümlan hormon reseptör aspartik asit 727 glutamik asit)

TSHR Pro52Thr: Thyroid stimulating hormone receptor proline 52 threonine (Tiroid
sitümlan hormon reseptör prolin 52 treonin)

VKİ : Vücut kitle indeksi

YVK : Yağsız vücut kitlesi

GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroid hormonu büyüme, gelişme, enerji metabolizmasının düzenlenmesi ve neredeyse tüm dokulardaki fizyolojik fonksiyonlar için gereklidir. Tiroid hormon üretimi klasik olarak hipotalamo-hipofizer-tiroid aks tarafından kontrol edilirken; doku düzeyindeki tiroid hormonlarının biyolojik aktivitesi, iyodotironin deiyodinaz ve tiroid hormon taşıyıcıları tarafından kontrol edilir (1).

Polimorfizm; toplumda %1'den daha yüksek sıklıkta bulunan genetik çeşitlilik tipi ya da gen seçenekleri olarak tanımlanır (2). Tiroid hormon metabolizmasında yer alan gen veya genler ile ilgili polimorfizmlerin, tiroid hormon düzeyleri ve biyoaktivitesi üzerine fark edilmeyen etkileri olabilir (3). Subklinik hipotiroidik ve subklinik hipertiroidik olgular üzerinde yapılmış çalışmalar göstermiştir ki, tiroid hormon düzeylerindeki küçük değişiklikler bile tiroid hormonları ile ilgili klinik bulgulara (ateroskleroz, kemik mineral dansitesi, obezite ve kalp atım hızı gibi) önemli değişikliklere neden olabilir (4-6). Tiroid hormon aktivitesini değiştiren, tiroid hormon yolağı ile ilgili birçok polimorfizm bulunmuştur. Bu polimorfizmlerden bazıları sağlıklı olgularda tiroid hormon düzeyleri ile ilişkili iken; bazıları ise tiroid hormonları tarafından etkilenen klinik bulgular ile ilişkilidir (1).

Normal hücrel fonksiyonların gerçekleşmesini sağlayan minimum enerji tüketimine bazal metabolizma hızı (BMH) denir (7). Tiroid hormonları hemen hemen bütün vücut dokularının metabolik aktivitesini arttırarak BMH'ı normalin %60-100'ü oranında arttırır (8). Tiroid hormonları yağ ve kas dokusundaki mitokondrilerde yer alan birleşmemiş (uncoupling) protein sentezini düzenler. Bunun sonucunda adenosin trifosfat (ATP) tüketimini arttırarak bazal metabolizma hızını arttırır. Ayrıca tiroid hormonları metabolizma hızının düzenlenmesinde rol alan alfa adrenerjik reseptörlerinin sayısını ve katekolaminlere olan

duyarlılığını da arttırmaktadır. Bu yüzden enerji dengesinin sürdürülebilmesi için tiroid hormonları oldukça önemlidir (9,10).

Bu çalışmada amacımız, tiroid hormon yolağında önemli rol oynayan tiroid stimulan hormon (TSH) ve deiyodinaz enzimleri ile ilgili polimorfizmlerin, sağlıklı olgularda bazal metabolizma hızını etkileyip etkilemediğinin tespit edilmesi ve BMH'ı etkileyebilecek diğer klinik ve laboratuvar bulguları ile olan ilişkisini incelemektir.

GENEL BİLGİLER

TİROİD BEZİ

Tiroid Bezinin Embriolojisi

Omurgalılarda tiroid bezi çift embriyojenik kaynağa sahiptir (11). Embriyolojik hayatın 16.-17. gününde, “foregut” döşemesinde bir çıkıntı şeklinde kendini gösterir. Bu medial (primer) divertikül, birinci çift farengeal poşların arasından çıkan endodermal bir ceptir. Tiroid üç primordial taslaktan gelişir; medial taslak farengeal döşemeden, çift olan lateral taslaklar dördüncü farengeal poşun kaudal kısmından gelişmektedir. Medial divertikül tiroglossal kanalla farenkse bağlıdır. Kanal 6. haftada solid bir sap halini alıp dağılır. Dilin 1/3 arka kısmı ve orta kısmının birleştiği yerde foremen caecum denilen küçük bir çukur olarak kalır. Tiroglossal kanal dokusu kalabilir veya dil kökü ile tiroid arasında herhangi bir yerde tiroid dokusuna dönüşebilir. Açık kaldığı takdirde tiroglossal kanal kisti, fistülü veya ektopik tiroid dokusu gelişebilir. Tiroglossal kanalın distal uçtaki hücreler ise tiroid dokusuna dönüşüp piramidal lobu oluşturur. Endodermal cep, kaudal göç sırasında 4. farengeal poşdan gelen brankial cisimciklerle birleşir. Medial tiroid kütlesi aşağıya ve yana doğru gelişerek iki lob halini alır. Tiroglossal kanalın atrofiye uğramasıyla serbest kalır, gelişmekte olan kalbin aşağıya doğru çekmesiyle yaklaşık gestasyonun 7. haftasında boyundaki son yerini alır. Lateral taslakların 4. farengeal poşla bağlantıları kaybolur ve gelişmekte olan medial loblarla sarılır. 8-9 haftalık embriyoda tiroidin son şeklini aldığı görülür. İnsandaki bu lateral taslaklar kalsitonin sekresyonundan sorumlu tutulan parafoliküler C hücrelerinin kaynağıdır.

Gestasyonun 11.-12. haftalarında follikül formasyonu görülür ve iyot konsantrasyonu ile hormon sentezi başlar (12-16).

Tiroid Bezinin Anatomi ve Histolojisi

Tiroid bezi, insan vücudundaki endokrin organların en büyüğüdür. Birbirine istmus ile bağlı olan iki lobtan oluşur. Tiroid kartilajının alt yarısı, krikoid kartilaj ve üst 5. veya 6. trakeal halka üzerinde uzanır. Normal gland yenidoğanda yaklaşık 2 gr ağırlığında olup, puberte döneminde 14 gr ve erişkinde 20-30'gr dır (17). Bağ doku, tiroidi tümüyle çevreleyen dış ve iç iki kapsül oluşturur. Bu iki kapsül arasındaki boşlukta damarlar, sinirler ve paratiroid glandlar yer alır (18). Erişkinde tiroidin sağ ve sol loblarının kalınlık ve genişlikleri en büyük çaplarında 2-2,5 cm, uzunlukları yaklaşık 4 cm kadardır. İstmusun ise; kalınlığı 0,5 cm, genişliği 2 cm, yüksekliği 2 cm'dir (19).

Tiroid glandının zengin bir kanlanması vardır. Başlıca iki arterden kanlanır; A. tiroidea superior ve A. tiroidea inferior. A. tiroidea superior, A.karotis eksterna'dan, A. tiroidea inferior, A. subklavia'nın yan dalı olan truncus tirocervicalis'ten kaynaklanır. Bazen arcus aorta'dan veya truncus brachiocephalicus'tan A.tiroidea ima çıkar. Trakeadan ve özefagustan da perforan dallar gelebilir. A. tiroidea superior ile A. tiroidea inferior arasında anastomozlar vardır. Normal kan akım hızı dakikada 4-6 ml/gr iken Graves hastalığına bağlı toksik diffüz guatrda 1L/dk hızına kadar çıkabilir ve duyulabilir hale gelebilir, hatta titreşim şeklinde palpe edilebilir (20). A.tiroidea superior tiroid bezinin üst yarısını ve isthmusun üst kısmını besler. A. tiroidea inferior ise tiroid bezinin alt yarısını ve isthmusun alt yarısını besler. Parotis bezleri A. tiroidea inferior'dan bazen de süperior ve inferior tiroid arterlerinin anastomozundan beslenirler. V. tiroidea superior ve V. tiroidea lateralis V. jugularis interna'ya, V. tiroidea inferior direkt sol V. brachiocephalica'ya açılır (11,21,22).

Tiroid glandının lenfatikleri, drene ettikleri bölgeye göre süperior ve inferior gruplara ayrılırlar. Bu lenf damarları medial ve lateral olarak ikiye ayrılır. Superior medial lenf damarları her iki tiroid üst kutuplarının iç ve isthmusun üst bölümlerini drene eder. İnferior medial lenf damarları her iki tiroid alt kutuplarının iç ve isthmusun alt bölümlerini, inferior lateral lenf damarları ise alt kutupların lateral bölümlerini drene ederler (21).

Tiroid gland otonom sinir sistemine ait sempatik ve parasempatik sinir lifleriyle innerve olur. Sempatik sinir lifleri servikal sempatik ganglionlardan çıkarak kan damarlarının etrafından pleksus halinde tiroid glandına girer. Parasempatik sinir lifleri N.vagus'un yan dalları olan N.laringeus superior ve N.laringeus inferior'dan ayrılan sinir dallarıyla gelir (21).

Işık mikroskobu ile bakıldığında, tiroid bezinin değişik büyüklükteki folliküllerden oluştuğu görülür. Folliküllerin içinde hematoxilen-eozin ile boyamada pembe görünen ve kolloid adı verilen protein yapısında bir madde vardır. Folliküllerin çapı ortalama 200 µm'dir.

Folikül duvarı tek sıra tiroid follikül epitel hücresinden oluşur. Epitel hücrelerinin boyu tiroidin stimülasyonuna göre değişir; inaktif iken kübik, aktif iken kolumnar sekle girerler. Follikül hücreleri tiroglobulin (Tg) sentezler. Tg, follikül hücresi yüzeyindeki mikrovillüsler aracılığı ile follikül boşluğuna verilir. Tiroid bezinde follikül hücrelerinden başka bir hücre grubu daha vardır; bunlara parafoliküler hücreler ya da C hücreleri denilir. Bu hücreler kalsitonin salgılayarak vücut kalsiyum dengesinin korunmasına yardımcı olurlar (18).

TİROİD HORMONLARI

İyot Metabolizması

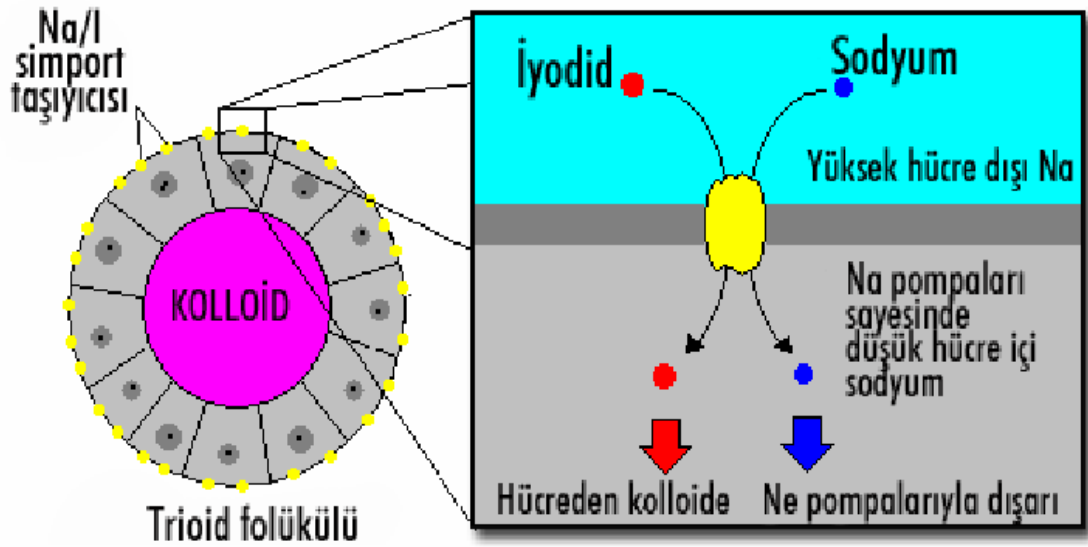
İyot, tiroid hormonlarının yapısal bir bileşenidir. Tiroid hormonlarının normal miktarlarda üretimi yeterli miktarda ekzojen iyot gerektirir. Tiroksinin (T_4) molekül ağırlığının %64'ünü ve triiyodotironinin (T_3) %58'ini iyot oluşturmaktadır (23,24). Günlük iyot alımı bölgeler hatta kişiler arasında farklılık gösterebilir. Tiroid bezinin normal fonksiyonlarını sürdürebilmesi için günde en az 60 µg iyot alımına ihtiyaç vardır (13). Vücuttaki iyot havuzunun büyük bir kısmını tiroid içerir ve bu yaklaşık olarak 5000-10000 µg arasındadır (23). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), diyetle günlük erişkin için 150 µg, gebeler ve emzirenler için 250 µg, çocuklar için 90-120 µg iyot alımını önerir (25). İyodun çoğu böbreklerden atıldığı için, idrar iyot atılımı diyetle alımın mükemmel bir göstergesidir.

Tiroid Hormonlarının Sentez ve Sekresyonu

Tiroid hormonları eter bağı ile bağlanmış iki tirozin grubundan oluşmuş iyo dine tironinlerdir. T_4 ve T_3 'ün tiroid bezince sentezi altı ana basamaktan oluşmaktadır (14):

- 1- İyodun bazal membrandan folikül hücresi içine aktif transportu
- 2- İyodun oksidasyonu ve Tg'deki tirozil uçların bağlanması
- 3- İyodotirozin moleküllerinin [monoiyodotironin (MIT) ve diiyodotironin (DIT)] Tg içinde T_3 ve T_4 iyodotironinleri meydana getirmek üzere çiftler olarak bağlanması
- 4- Tg proteolizisi, serbest iyodotironinler ve iyodotirozinlerin dolaşıma salınması
- 5- Tiroid hücre içinde iyodotirozinlerin deiyodinasyonu
- 6- Tiroid içinde T_4 'ün T_3 'e 5'-deiyodinasyonu

Tiroid hormonlarının sentez ve sekresyonunun ilk aşamasında, tiroid hücreleri iyodu plazmadan aktif transportla alırlar. Bu olayda tiroid hücre membranında bulunan Na/I 'simporter' denilen bir protein görev yapar (Şekil 1) (26).

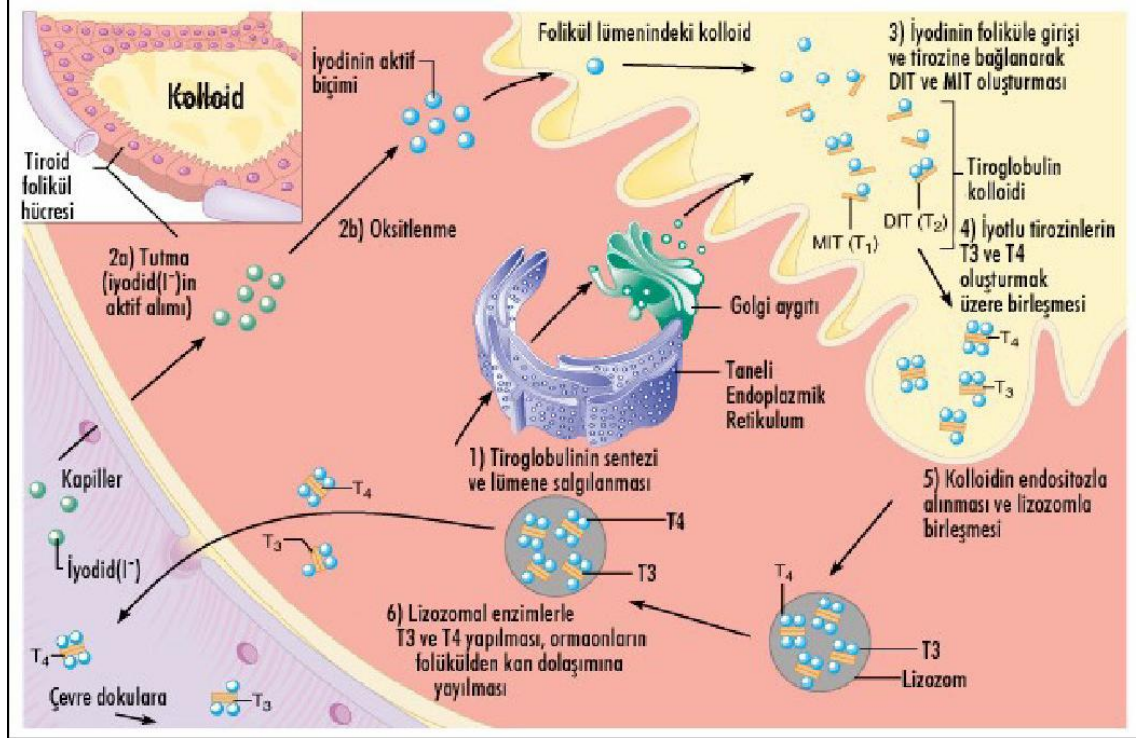


Na: Sodyum, I: İyot.

Şekil 1. Sodyum/iyot simport taşıyıcısı (26)

Tiroid bezine giren iyot, tiroid peroksidaz enzimi ile oksidasyona uğrar ve folliküler lümene salınır. Okside iyot, follikül hüresince sentezlenip folliküler lümene salınan, glukoprotein yapısında bir molekül olan Tg'in üzerindeki tirozil rezidülerine bağlanır. Tg'deki tirozil grupları iyodinize edildikten sonra oluşan ve aktif olmayan MIT ve DIT molekülleri, Tg molekülü üzerinde, yine tiroid peroksidaz enzimi tarafından eşlenerek aktif hormonlar olan T_3 ve T_4 sentezlenir (18).

Hormonların salgılanmasından önce folliküler lümende depolanmış olan Tg endositoz yolu ile hücre içine alınır. Sonra lizozom ile birleştikten sonra proteazlar ile Tg hidrolize uğrar. Açığa çıkan T_3 ve T_4 dolaşıma salınır. Dolaşımdaki T_4 'ün tamamı, T_3 'ün %20'si bu şekilde sentezlenir. T_3 büyük oranda dolaşımda, karaciğer ve böbrek gibi dokularda deiyodinaz enzimleri ile T_4 'ten sentezlenir. Tiroid hormonlarının sentezi sırasında oluşan MIT ve DIT'taki iyot, intratiroidal deiyodinazlar tarafından ayrılır ve daha sonra tekrar hormon sentezinde kullanılır (Şekil 2) (18,27).



MIT: Monoiyodotironin, DIT: Diyyodotironin, I: İyot, T₃: Triiyodotironin, T₄: Tiroksin.

Şekil 2. Tiroid hormon sentezi (27)

Tiroid Hormonlarının Metabolizması

Tiroid bezi tarafından salgılanan metabolik olarak aktif hormonların yaklaşık %93'ü T₄ ve %7'si T₃'tür. Bununla birlikte tiroksinin önemli bölümü kanda ve periferik dokularda T₃'e çevrilir. Triiyodotironin tiroksinden yaklaşık dört kat daha güçlüdür fakat kanda bulunan miktarı daha azdır ve kanda tiroksinden daha kısa süre kalmaktadır (8).

Günlük T₄ üretimi 80-100µgr olup, yarılanma ömrü 6,7 gündür. Her gün salgılanan T₄'ün %80'i deiyodinasyon ile metabolize olur. Metabolize olan T₄'ün %40'ı periferik dokularda T₃'e, %40'ı reverse T₃ (rT₃)'e dönüşür. Geriye kalan %20'i de sülfat ve glukuronidle konjuge olarak vücuttan uzaklaştırılır. Biyolojik olarak en aktif form olan T₃'ün %80'i T₄'ün tiroid dışı dokularda deiyodinasyonu ile meydana gelirken, %20'i tiroidten kaynaklanmaktadır. T₃ günlük 30-40µgr üretilir, yarılanma ömrü T₄'e göre daha kısadır (28).

Deiyodinizasyondan sorumlu üç tip 5'-deiyodinaz enzimi vardır. Tip I 5'-deiyodinaz enzimi karaciğer, böbrek, tiroid bezi ile iskelet ve kalp kasında bulunur. Temel fonksiyonu plazmaya T₃ sağlamaktır. Hipotiroidizmde aktivitesi azalırken, hipertroidizmde yükselir. Tip II 5'-deiyodinaz enzimi özellikle beyin ve hipofizde bulunur ve merkezi sinir sistemi ile adenohipofizde hücre içi T₃ düzeyini sabit tutar. Dolaşımdaki T₄'e duyarlıdır. Tip III 5'-

deiyodinaz enzimi ise plasenta ve merkezi sinir sisteminde glial hücrelerde bulunur ve T_4 'ü inaktif rT_3 'e, T_3 'ü de inaktif olan 3,3'-diiodotironine çevirir. Düzeyi hipertiroidizmde artar ve hipotiroidizmde azalır, böylece fetüs ve beyni T_4 değişikliklerine karşı korur (14,29).

Triiodotironin ve tiroksin kanda büyük oranda plazma proteinlerine bağlı olarak bulunur. T_4 'ün yalnızca %0,04'ü, T_3 'ün %0,4'ü serbest halde bulunmaktadır. Üç ana tiroid hormonu transport proteini vardır. Bunlar; tiroksin bağlayan globulin (TBG), transtiretin (tiroksin bağlayan prealbumin; TBPA) ve albumin. Dolaşan tiroid hormonunun yaklaşık %70'i TBG'ye bağlıdır. T_4 'ün %10'u TBPA'ya bağlanırken T_3 'ün TBPA'ya bağlanma oranı daha düşüktür. T_4 ve T_3 'ün TBPA'dan ayrılması hızlı olduğu için TBPA hazır kullanılabilir bir T_4 kaynağıdır. Albumin T_4 ve T_3 'e TBG ve TBPA'ya göre daha düşük afinite ile bağlanmasına rağmen plazmada yüksek oranda bulunması nedeniyle dolaşan T_4 ve T_3 'ün %15'ini taşımaktadır. Tiroid hormonlarının albuminden hızla ayrılabilmesi albumini dokular için başlıca hormon kaynağı yapmaktadır (14,29).

Tiroid Hormonlarının Regülasyonu

Tiroid bezinin büyümesi ve fonksiyonu hipotalamik-hipofiz-tiroid aksı ve tiroid içi otheregölasyon ile iyot tarafından kontrol edilir. Hipotalamusun supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerdeki nöronlar tarafından sentezlenen tirotropin salıcı hormon (TRH) hipofizer portal sistem aracılığı ile anterior pitüiter beze taşınır. TRH anterior pitüiterde tirotropik hücrelerdeki reseptörlere bağlanır ve TSH sentez ve salınımını artırır (14,29,30).

Sentezlenen TSH tiroid hücresinde bazolateral membranda bulunan ve G protein reseptör ailesinin üyesi olan TSH reseptörüne bağlanarak siklik adenozin monofosfatı (cAMP) ve fosfoinositol yollarını aktive ederek etki gösterir. TSH'nın bağlanması bireysel tiroisitlerin büyümesini, iyodun taşınması ve organifikasyonunu, tiroglobulinin hidrolizi ve tiroid hormonlarının sekresyonu uyarır (14,29,30).

Tiroid hormonları başlıca TRH reseptör sayısını azaltarak hipofizer TSH üretimini baskılar. Ayrıca hipotalamustan TRH üretimi üzerine de baskılayıcı etki gösterirler. T_4 'ün baskılayıcı etkisi T_3 'den daha fazladır (14,31). TSH salgılanmasında fizyolojik rolleri az olmakla birlikte diğer hormonların da etkisi vardır. Örneğin dopamin, farmakolojik dozlarda glukokortikoidler ve somatostatin TRH'nın TSH cevabını bozarlar (31).

Tiroid fonksiyonlarının düzenlenmesinde tiroid içi mekanizmalar (otheregölasyon) da rol oynamaktadır. Otheregölasyon; tiroid bezinin TSH'dan bağımsız olarak iyodun kullanılabilirliğindeki değişikliklere uyum sağlayacak şekilde fonksiyonunu değiştirebilme

kapasitesidir. Böylece insanlar, günde 50 µgr'dan birkaç miligrama kadar değişen miktarlarda iyot alımlarında dahi normal tiroid hormon sentezini sürdürebilirler. Düşük iyot alımına cevap olarak T₄ yerine T₃ sentezlenerek hormonal metabolik etkinlik artırılır. İyot fazlalığı durumunda belli bir seviyeye kadar hormon yapımı artar, fakat sonrasında iyot kullanımı, cAMP oluşumu, peroksit üretimi, hormon sentez ve sekresyonu gibi birçok tiroid fonksiyonu baskılanır. Yüksek doz iyodüre bağlı olarak gelişen bu etkiler Wolff-Chaikoff etkisi olarak tanımlanır (14,29).

TİROİD HORMONLARININ ETKİLERİ

Tiroid Hormon Reseptörleri ve Etki Mekanizmaları

Tiroid hormonları iki genel mekanizma ile etki gösterirler: 1) T₃'ün nükleer reseptörleriyle etkileşimleri ile gen aktivitesini düzenleme şeklindeki genomik faaliyetleri 2) T₃ ve T₄'ün belirli enzimlerle, glukoz taşıyıcıları ve mitokondriyal proteinlerle doğrudan etkileşimleri (14).

İnsanda iki tiroid hormon reseptör (TR) geni bulunmaktadır: kromozom 17'de lokalize TR α ve kromozom 3'de lokalize TR β . Her bir gen farklı özellik göstererek bağlanan en az iki ürün oluşturur; TR α_1 , TR α_2 ve TR β_1 , TR β_2 . TR α_2 'nin biyolojik olarak inaktif olduğu düşünülmektedir. Bu reseptörlerin konsantrasyonları farklı dokularda değişiklik gösterir. TR α özellikle beyin, böbrek, kalp, gonadlar ve kasta sentez edilirken, TR β karaciğerde ve baskılama mekanizmasının çalışmasını sağlayacak şekilde hipofiz bezinde sentez edilirler. Kalp kasında her iki reseptör de bulunmaktadır (14).

Tiroid Hormonlarının Fizyolojik Etkileri

Protein sentezi üzerine etkileri: Tiroid hormonları bazı proteinlerin sentezini artırırken bazılarının sentezini azaltır. Tiroid hormonlarının protein sentezi üzerine etkileri, nöral ve somatik büyümenin, farklılaşmanın düzenlenmesinde önem taşır. Transferrin, anjiotensinojen, myelin proteini, kompleman, lipoproteinler, glukokinaz gibi bazı proteinlerin sentezini artırırken, α -fetoprotein, α_2 -makroglobulin öncüsü, TSH α -subüniti, TSH β -subüniti, TRH, T₃ nükleer reseptör β_2 'yi içeren bazı proteinlerin sentezini de azaltıcı etkiye sahiptirler (32).

Karbonhidrat metabolizması üzerine etkileri: Tiroid hormonları karbonhidrat metabolizmasını hemen hemen her yönüyle uyarır. Bunlar glikozun hücreler tarafından

tutulmasında artma, glikolizde artma, glikoneojenezde artma, sindirim sisteminden emilim hızında artma, hatta karbonhidrat metabolizmasında ikincil etkiler oluşturan insülin salgılanmasında artmadır (8).

Lipid metabolizması üzerine etkileri: Tiroid hormonları lipojenez ve lipolizi uyarır. Yağ asidlerinin oksidasyonunu arttırarak termojenezde kullanılan ATP üretimini sağlar. Karaciğerde malik asit, yağ asid sentaz gibi lipojenezde rol alan enzimlerin yapımını arttırır. Yağlı dokuda ve karaciğerde lipolizde yer alan lipazın katekolaminlere duyarlılığını arttırmaktadır (33).

Kardiyovasküler sistem üzerine etkileri: Dokularda metabolizmanın artışı oksijenin normalden daha hızlı kullanımına ve metabolik son ürünlerin normalden daha fazla miktarda serbestlenmesine yol açar. Bu etkiler çoğu vücut dolusunda vasodilatasyona ve böylece kan akımında artışa neden olur (8). Sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} ATPaz transkripsiyonunu uyararak, miyokardiyal diyastolik gevşeme hızını arttırır. Miyozin ağır zincirinin izoformları olan α izoformlarının sentez arttırarak, sistolik fonksiyonu arttırır. Miyokardda beta-adrenerjik reseptörlerin ekspresyonunu arttırır. T_3 ayrıca, sinoatriyal nodun hem depolarizasyon hem de repolarizasyon hızlarını arttırarak, kalp hızını arttırır. Sonuç olarak, tiroid hormonları kalp üzerinde pozitif inotropik ve kronotropik etkilidir (14).

Sempatik sinir sistemi üzerine olan etkileri: Beta adrenerjik reseptör sayısını artırırlar ve katekolaminlerin postreseptör etkilerini şiddetlendirirler. Hipertiroidide katekolaminlere duyarlılık belirgin şekilde artar (18).

Pulmoner sistem üzerine etkileri: Tiroid hormonları solunum merkezinde hipoksi ve hiperkapniye normal cevabın sürdürülmesini sağlarlar (14). Solunumun derinliğini ve hızını arttıran bütün mekanizmaları uyarır (8).

Hematopoetik sistem üzerine etkileri: Hipertroidide artmış olan oksijen ihtiyacını karşılamak üzere eritropoietin üretimi ve eritropoez artar, ancak hemodilüsyon ve eritrosit döngüsünde artış nedeniyle kan hacminde artış olmaz. Tiroid hormonları eritrositlerin 2-3 difosfogliserat miktarını artırarak dokulara oksijen (O_2) verilmesini kolaylaştırır (14).

Gastrointestinal sistem üzerine etkileri: Tiroid hormonları iştah ve besin alımını artırır. Ayrıca hem sindirim sıvılarının salgılanma hem de mide-barsak motilitesini uyarır (8).

Kemik metabolizması üzerine etkileri: Tiroid hormonları kemik yıkımını ve az miktarda da yapımını artırarak kemik döngüsünü hızlandırır. Bu etkiler ile uzun süreli hipertiroidilerde osteopeni, hafif hiperkalsemi ve hiperkalsiüri oluşur, idrarda hidroksiprolin ve piridinolin artar.

Nöromusküler etkiler: Tiroid hormonları yapısal proteinlerin sentezini artırırlarsa da, hipertiroidide protein döngüsü artar ve kas dokusunda kayıp olur. Kas kasılması ve gevşemesi hipertiroidide hızlanır, hipotiroidide yavaşlar. Tiroid hormonları sinir sisteminin normal gelişimi ve fonksiyonu için gereklidir. Fetal dönemde tiroid hormon yetersizliği mental retardasyona yol açar. Erişkinlerde hipertiroidi hiperaktiviteye, hipotiroidi hareketlerde yavaşlamaya yol açar.

Tiroid hormonunun kas ve merkezi sinir sistemi üzerindeki aşırı yorucu etkisi nedeniyle hipertiroidili kişiler sürekli bir yorgunluk hissederler. Ancak tiroid hormonlarının sinapslardaki uyarıcı etkileri nedeniyle uyumakta güçlük çekerler.

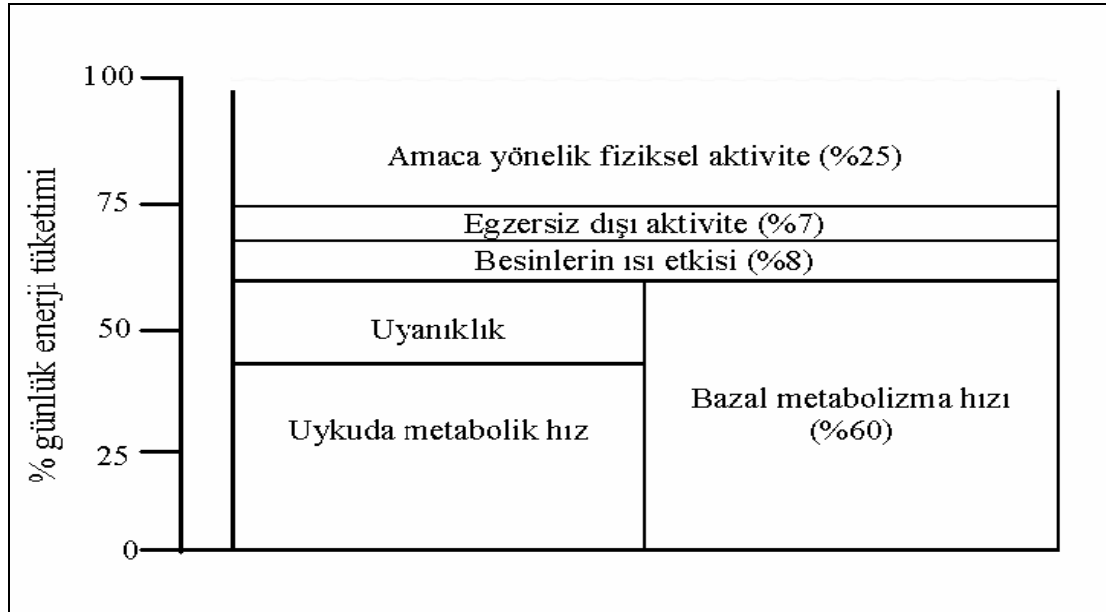
Cinsel işlev üzerine etkisi: Normal cinsel işlev için tiroid hormonlarının normal düzeylerde olması gerekmektedir. Erkeklerde tiroid hormon eksikliği libido kaybına yol açarken; çok fazla düzeylerde olması iktidarsızlığa yol açar.

Kadınlarda tiroid hormon eksikliği sıklıkla menoraji ve polimenoreye yol açarken; bazı kadınlarda düzensiz adet görmeye hatta bazen amenoreye neden olabilir (8).

Endokrin sistem üzerine etkileri: Tiroid hormonları, bazı hormonların üretimini, cevabını, ve metabolik klirensini değiştirir. Hipotiroid çocuklarda, büyüme hormonu salıverilmesinin bozulması, boyuna büyümeyi yavaşlatır. Hipogonadizm, gonadotropin-salgılatıcı hormon (GnRH) ve gonadotropin sekresyonunu bozarak, gecikmiş puberteye neden olabilir. Diğer taraftan, primer hipotiroidizm çok yüksek TSH düzeylerinin gonadotropin reseptörleri üzerine bir etkisi olarak, erken puberteye de neden olabilir. Erişkinde, hipotiroidizm kadınlarda hiperprolaktinemiye neden olabilir. Hipotiroid hastalarda hipotalamik-pituiter-adrenal aksın strese cevabı küntleşmiştir (14).

BAZAL METABOLİZMA HIZI VE BAZAL METABOLİZMA HIZINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Metabolizma hızı, canlı organizmanın önemli bir özelliğidir ve herhangi bir zamanda biyolojik sistemlerde meydana gelen enerji tüketiminin toplam miktarıdır (7). Günlük enerji tüketimini; vücudun bazal metabolik işlevleri (bazal metabolizma hızı), çeşitli fiziksel aktiviteler, besinlerin sindirimi, emilimi, işlenmesi, vücut sıcaklığının devamının sağlanması oluşturur (Şekil 3) (34).



Şekil 3. Günlük enerji tüketiminin bileşenleri (34)

Normal hücre fonksiyonlarının gerçekleşmesini sağlayan minimum enerji tüketimine bazal metabolizma hızı denir (7). Bu miktar hareketsiz yaşayan kişilerde günlük enerji tüketiminin %50-70'ini oluşturur. BMH ölçülürken; 12 saatten beri herhangi bir besin alınmamalı, rahat bir gece uykusundan sonra ölçülmeli, ölçümden en az bir saat öncesinden itibaren ağır egzersiz yapılmamalı, heyecana yol açacak her türlü psikik ve fiziksel etkenden uzak tutulmalı, hava sıcaklığı 20-26 derece arasında olmalıdır (34). Pratikte BMH yerine istirahat metabolizma hızı (İMH) ölçülür. İMH de benzer şekilde istirahat halinde, 8-12 saatlik açlık sonrası ölçülür fakat uyanır-uyanmaz hemen ölçülmesine gerek yoktur. İMH ve BMH arasında %10'dan fazla fark yoktur (35). BMH, ortalama 70 kilogram ağırlığındaki bir erişkinde saatte 65-70 kalori civarındadır (34).

Bazal metabolizma hızını belirleyen biyolojik işlevler şöyle kategorize edilir (36-38):

1. İyonik döngüler, özellikle uyarılabilir dokularda;

2. Metabolik döngüler, özellikle karaciğer, kas ve yağ dokusunda,
3. Kas fonksiyonları özellikle kalp hızı, solunumsal hareketler ve vazomotor tonus,
4. Ekzokrin bez ve intestinal yoldaki bezlerin bazal sekresyonları.

Bazal metabolizma hızının önemli bir kısmını beyin, kalp, böbrek ve diğer organların aktiviteleri oluşturmakta olup, insanlar arasındaki farklılığın esas sebebi iskelet kası miktarı ve vücut büyüklüğüne bağlıdır. İstirahat koşullarında bile iskelet kası BMH'nın %20-30'undan sorumludur. Bu nedenle bazal değerleri, vücut büyüklüğüne göre düzeltilir. Böylece sonuçlar; saat ve m² cinsinden yüzey alanı başına kalori şeklinde ifade edilir (34).

Bazal Metabolizma Hızının Hesaplanması

Bazal metabolizma hızının direkt yöntemle hesaplanması: İnsan vücudunun ısı üretimi, yiyeceklerin enerji miktarını ölçen “bomb calorimetry” ölçüm tekniğine benzer şekilde doğrudan olarak kalorimetre ile ölçülebilir. Kalorimetre hava geçirmez, ısı izolasyonlu bir odadan oluşmaktadır. Kişi tarafından üretilen ve yayılan ısı, odacığın tavanına yakın bir yerde helezonik durumda bulunan tüplerde sabit hızda akan su tarafından tutulur. Odacığa giren ve çıkan suyun ısı farkı, kişinin ısı üretimini gösterir.

Solunumla çıkan karbondioksit (CO₂) kimyasal emicilerle tutulup, nemlendirilmiş havanın devamlı şekilde dolaşımı sağlanır. Kalorimetre içindeki O₂'yi normal düzeyde tutmak için, cihaza girişinden önce havaya O₂ eklenmektedir. Direkt kalorimetre tekniği çok hassas ve teorik olarak önemli olduğu halde pratik değildir (39).

Bazal metabolizma hızının indirekt yöntemle hesaplanması: Vücuttaki tüm enerji metabolizması sonuçta O₂ kullanımına bağlıdır. Kişinin normal şartlar altında O₂ tüketimini ölçerek indirekt enerji metabolizmasını ölçmek mümkündür ve daha pratiktir. Enerji tüketimi indirekt olarak kapalı devre ve açık devre olmak üzere farklı yöntemlerle ölçülebilir (39).

1-Kapalı devre spirometre metodu: Hastanelerde ve laboratuvarlarda istirahat enerji tüketimi ölçümünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kişi daha önce O₂ doldurulmuş kaptan veya spirometreden nefes alır ve verir. Spirometre içindeki hava tekrar tekrar solunduğu için kapalı devre olarak bilinir. Solunan hava içerisindeki CO₂ nefes alma devresine yerleştirilmiş olan potasyum hidroksit tarafından tutulur. Spirometreye bağlı bir sistem yardımıyla sistemdeki hacim değişikliği (O₂ kullanımı) kaydedilmektedir (39).

2-Açık devre metodu: Kişi kapalı devre metot da olduğu gibi solunum için O₂ kabı kullanılmaz. Onun yerine solunum için %20.93 oksijen, %0.03 karbondioksit ve %79.4 nitrojen bulunan atmosfer havasını solur. Nitrojen yüzdesi fizyolojik olarak pasif olan çok küçük gazları da ihtiva eder. Enerji kullanımı sırasında O₂ kullanılarak, CO₂ üretilir. Yani vücuttan çıkan havada O₂ miktarı az, CO₂ miktarı yüksektir. Böylece vücuda alınan havanın analiz edilmesi sonucunda elde edilen fark vücutta üretilen enerji değerini verir. Açık devre metodu O₂ kullanımının ölçülmesi ve dolaylı olarak enerji metabolizmasının belirlenmesi için kullanılır. Açık devre metodu iki genel yöntemden meydana gelir (39).

1. Hafif ağırlıkta, taşınabilir spirometre.

2. Douglas torbası veya balon metodudur.

İstirahat metabolizma hızı laboratuvar koşullarında en yaygın douglas torbası veya balon metodu kullanılarak ölçülür (Gold Standart Test) (39).

3-İndirekt bazal metabolizma hızı ölçüm yönteminde kullanılan çeşitli formüller:

1.Haris-Benedict yönteminde bazal metabolizma hızının hesaplanması:

Harris-Benedict Erkek BMH = 66.473 + 13.752 x kilo + 5.003 x boy - 6.755 x yaş

Harris-Benedict Kadın BMH = 655.096 + 9.563 x kilo + 1.85 x boy - 4.68 x yaş

2. Yağsız vücut kitlesini (YVK) esas alınarak bazal metabolizma hızının hesaplanması: İlk olarak yağsız vücut kitlesinin bulunması gerekir. Bunun için en çok kullanılan yöntem skinfold cihazı ile deri kıvrım kalınlığı ölçümüdür. Bazı formülleri kullanarak da YVK'yi yaklaşık olarak bulmak olasıdır. Cunningham formülü bunlardan birisidir (39).

Formüldeki kısaltmalar; A: Vücut ağırlığı (kg), Y: Yaş (yıl)

YVK (Erkek) = (79.5 - 0.24 x A - 0.15 x Y) x A/73.2

YVK (Kadın) = (69.8 - 0.26 x A - 0.12 x Y) x A/73.2

YVK'yi bulduktan sonra bazal metabolizma hızı aşağıdaki formül kullanılarak bulunabilir (39).

BMH = 500 + 22 x YVK

3.Yüzey alanı normogramı kullanılarak BMH hesaplanması: Normogram üzerinde boy ve ağırlık noktaları arasına cetvel konularak vücut yüzey alanı direk olarak normogramın orta ölçeğinden okunabilir. Vücut yüzey alanı (VYA) m² olarak bulunduktan sonra aşağıdaki formülden hesaplanabilir (39).

BMH=VYAxCx24

VYA: Vücut yüzey alanı (m²)

C: Kalori (m²/saat)

BMH: Bazal metabolizma hızı (24 saat içinde toplam ısı üretimi, Kal)

4.Dünya Sağlık Organizasyonunun 18-30 yaş arası yetişkinlerde bazal metabolizmanın hesaplanmasında önerdiği formül (39).

BMH_{Erkek} (Kal./24 saat) = 17.5xkg+651

BMH_{Kadın} (Kal./24 saat) = 14.7xkg+496

Bu dört metod birbirine yakın sonuç vermelidir. Bunlar aynı sonuca varmada kullanılan farklı hesaplamalardır. Eğer herhangi iki formülasyonla yapılan hesaplamalar arası fark 50 kaloriden fazla ise yapılan işlemler tekrar gözden geçirilmelidir (39).

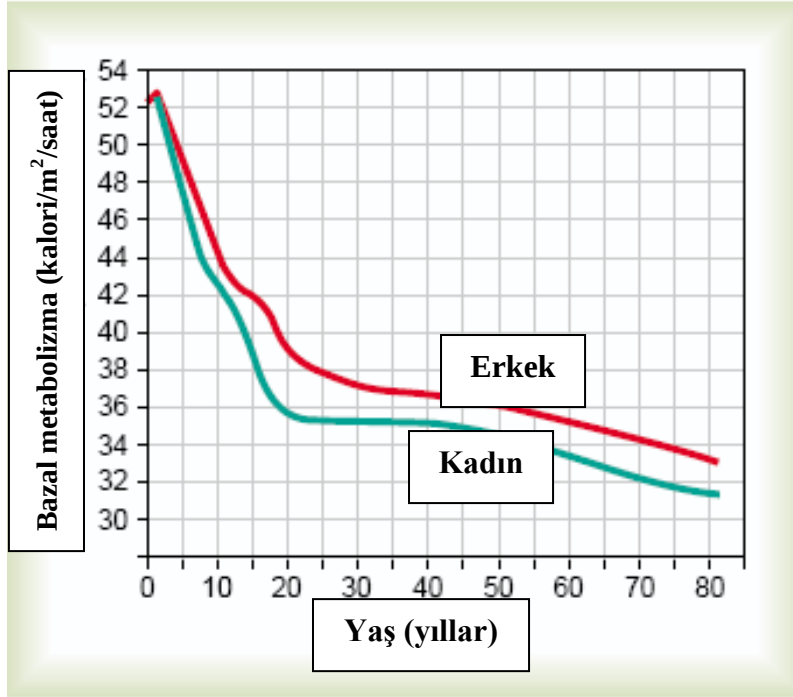
Bazal Metabolizma Hızını Etkileyen Faktörler

Bazal metabolizma hızını etkileyen faktörler Tablo 1’de özetlenmiştir.

Tablo 1. Bazal metabolizma hızını etkileyen faktörler

-
- Egzersiz
 - Uyku
 - Gıda alımı ve açlık
 - Çevre ısısı
 - Boy, ağırlık, vücut yüzey alanı
 - Yaş-Büyüme hormonu
 - Cinsiyet-Androjenler
 - Duygusal durum
 - Vücut ısısı-Ateş
 - Gebelik, emzirme
 - Tiroid hormonları
 - Adrenalin, noradrenalin
-

Yaş: Yaşa arttıkça metabolizma hızı düşer. Bunun nedeni kas kütlelerinin azalması onun yerine metabolizma hızı daha yavaş olan yağ dokusunun almasıdır. Yaşlanma ile birlikte BMH üzerinde her on yılda %1-2’ lik azalma meydana gelmektedir (Şekil 4) (34,40,41).



Şekil 4. Erkek ve kadınlarda çeşitli yaşlardaki bazal metabolizma hızları (34)

Cins: Kadınlar daha yüksek yağ oranına ve daha düşük BMH'na sahiptirler. Özellikle menopoz sonrasında artan yağ miktarı, BMH'nın düşmesine neden olmaktadır. Kadınlar erkeklere göre %5 ile %10 arasında daha düşük bir BMH'na sahiptirler (40,41).

Erkek cinsiyet hormonu bazal metabolizma hızını yaklaşık yüzde 10-15 arttırır. Etkisinin büyük kısmı kas kütesini arttıran anabolizan etkisine bağlıdır (34).

Yağsız vücut ağırlığı: İskelet kası miktarı arttıkça BMH artar.

Vücut yüzey alanı: Yüzey alanı arttıkça BMH artar.

Büyüme hormonu: Büyüme hormonu hücrel metabolizmayı doğrudan uyararak BMH'ı yaklaşık %15-20 oranında arttırır (34).

Ateş: Vücut sıcaklığındaki her 10°C artış BMH'ı ortalama %120 kadar arttırır (34).

Uyku: Uykuda metabolizma hızı normalin %10-15 altına iner .Bu azalma başlıca iki faktöre bağlanmaktadır:

- Uyku sırasında iskelet kaslarında tonusun azalması

- Merkezi sinir sistemi aktivitesinin azalması (34).

Malnütrisyon: Uzun süreli malnütrisyon metabolizmayı %20-30 kadar azaltabilir. Bu azalmanın hücrelerdeki besin fakirliğine bağlı olduğu sanılmaktadır (34).

Egzersiz: Egzersiz total enerji miktarını iki farklı yol ile etkilemektedir. Birincisi düzenli aktiviteler günlük enerji tüketimini artırmaktadır. İkincisi egzersiz yağsız vücut ağırlığının artışına dolayısıyla BMH'nın yükselmesine neden olur (40).

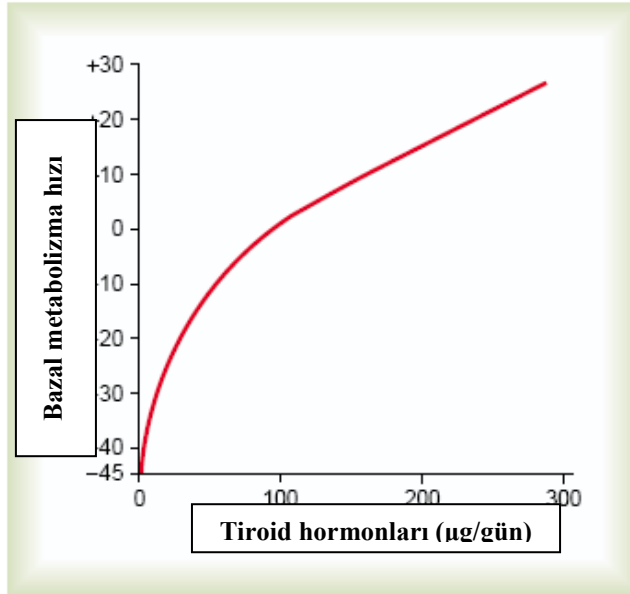
Yapılan araştırmalarda fiziksel aktivitelerini artıran kişiler aynı zamanda BMH'larını da arttırdığı gösterilmiştir. Düşük BMH'ya sahip kişilerin obez olma riskleri diğerlerine göre fazladır. Sedanter yaşam süren kişiler düşük yağsız vücut ağırlığına, dolayısıyla düşük BMH'na sahip olurlar (41). Yapılan çalışmalarda aerobik egzersizlerin BMH'yı %8 artırdığı gösterilmiştir (42).

Besinlerin termojenik etkisi: Yemekten sonra sindirim, emilim ve besinlerin vücutta depolanması ile ilgili çeşitli kimyasal reaksiyonların etkisi ile metabolizma hızı artar. Bu olay enerji gerektirdiğinden ve ısı açığa çıktığından besinlerin termojenik etkisi adını alır. Karbonhidrat ve yağ içeren bir yemekten sonra metabolizma hızı %4 artar. Protein içeren yiyecekten sonra ise metabolizma %30 kadar artar (34).

Sempatik sinir sisteminin etkisi: Sempatik sinir sistemi uyarımı sonucu açığa çıkan epinefrin ve norepinefrin metabolik aktiviteyi ve ısı oluşumunu artırır (34).

Tiroid hormonlarının bazal metabolizma üzerine etkileri: Tiroksin (T_3), membranlardan iyon transportu, glukoz ve lipid metabolizmasındaki çeşitli yolları, mitokondri fonksiyonları gibi hücre içi enerji tüketim süreçlerini aktive ederek oksijen tüketimini artırır. Tiroid hormonlarına cevap olarak artan enzimlerden biri de Na-K ATPaz'dır. Bu enzim, bazı dokularda sodyum ve potasyumun hücre zarından taşınmasını artırır. Bu olay enerji kullandığından ve vücutta ısı üretimini arttırdığından, tiroid hormonunun vücudun metabolik hızını arttırma mekanizmalarında birisinin de bu olabileceği düşünülmektedir. Gerçekten de, tiroid hormonu ile hücrelerin birçoğu sodyum iyonuna karşı geçirgen hale gelir, bu da sodyum pompasını daha fazla aktive ederek ısı oluşumunu daha da artırır. Bu nedenle T_3 termojenik hormon olarak bilinir (8).

Sonuç olarak tiroid hormonları hemen hemen bütün vücut dokularının metabolik aktivitesini arttırarak bazal metabolizma hızını normalin %60-100'ü oranında arttırır. Bu durumda besinlerin enerji için kullanım hızı da büyük oranda artar. Protein sentez hızındaki artışla eş zamanlı olarak protein katabolizma hızında da artış olur. Şekil 5'te tiroid hormonun günlük alımı ile bazal metabolizma hızı arasındaki yaklaşık ilişkiyi göstermektedir (8).



Şekil 5. Tiroid hormonunun günlük salgılanma hızı ile bazal metabolizma arasındaki ilişki (8)

TİROİD HORMON YOLAĞINDAKİ GEN POLİMORFİZMLERİ

İnsan genom projesinin 2001 yılında tamamlanmasıyla iki insan genomu karşılaştırıldığında genomları arasında %99.9 benzerlik olduğu kanıtlanmıştır. Geriye kalan %0.1'lik fark ise tek nukleotid polimorfizmi (TNP) olarak bilinen, bireysel genotip ve fenotipik değişikliklerin sorumlusu olan kısmı oluşturur (43,44). Toplumda %1'den daha yüksek sıklıkta bulunan genetik çeşitlilik tipi ya da gen seçenekleri polimorfizm olarak tanımlanır (2).

İnsan genomunda en çok bulunan genetik çeşitlilik tipi, tek nükleotid polimorfizmleridir (44). TNP belirli bir baz pozisyonunda meydana gelen tek nükleotid değişiklikleridir. İnsan genomunda her bin nükleotidde bir TNP bulunmaktadır (43). Eğer deoksiribonükleik asit (DNA) sekansındaki bir farklılık normalin dışında kalıyor, genellikle dışardan bir ajan etkisi altında oluşuyor ve hastalığa neden oluyor ise “mutasyon” olarak adlandırılır (2). Mutasyon ile polimorfizm arasındaki sınır %1'dir. Popülasyon da en az

rastlanan alel %1 veya daha yüksek sıklıkta bulunursa polimorfizm olarak tanımlanabilir. Popülasyon da bulunma sıklığı %1'in altında ise bu alel mutasyon olarak kabul edilir (2). Polimorfizmlere mutasyonlardan daha sık rastlanır. Mutasyonlarla karşılaştırıldığı zaman, TNP'lerin, fonksiyonel bakımdan anlamsız olduğu düşünülürken daha sonraki bulgular, TNP'lerin dikkate değer bir kısmının proteinlerin iç özelliklerini ve fonksiyonlarını çeşitli derecelerde etkilediğini göstermiştir (45-47). TNP'lerin yaklaşık 30.000'i klinik olarak görülebilir bir fenotipik etkiye sahiptir. Bunların önemli bir kısmının artmış/azalmış transkripsiyon, transkripsiyon sonrası değişim ve translasyon sonrası aktivite veya proteinin dördüncül yapısında değişikliklerle ilişkili olduğu anlaşılmıştır (48-50) (Şekil 6).



TNP: Tek nükleotid polimorfizmi, **mRNA:** Messenger ribonükleik asit.

Şekil 6. Tek nükleotid polimorfizmleri (50)

Tek nükleotid polimorfizmleri, bireyler arasındaki kan basıncı, ilaç metabolizması, kan pıhtılaşması ve kardiyovasküler fonksiyon bozuklukları gibi birçok fizyolojik fonksiyon çeşitliliğinden sorumludur (51-53).

Alel her bir genin mutasyonlar sonucunda oluşan alternatif formlardır. Genotipi aynı alel oluşturduğunda birey için homozigot, aleller farklı olduğunda ise heterozigot terimi kullanılır (54).

Tiroid hormonu büyüme, gelişme, enerji metabolizmasının düzenlenmesi ve neredeyse tüm dokulardaki fizyolojik fonksiyonlar için gereklidir. Tiroid hormon üretimi klasik olarak hipotalamo-hipofizer-tiroid aks tarafından kontrol edilirken; tiroid hormonlarının biyolojik aktivitesi, doku düzeyinde iyodotironin deiyodinaz ve tiroid hormon taşıyıcıları tarafından kontrol edilir (1).

Sağlıklı olgularda, serum tiroid parametreleri kişiler arasında önemli derecede farklılıklar gösterse de; kişilerin iç yapılarında çok dar bir aralıkta değişkenlik gösterir (55). Bu bize tiroid hormon biyoaktivitesinin ayarlanmasında genetik çeşitliliğin, buna ek olarak iyod veya yiyecek alımı gibi çevresel faktörlerin önemli olduğunu göstermektedir. Bu da her

bir kişi için farklı tiroid fonksiyon ayar noktasına neden olur. Bu fikir son zamanlarda yayınlanan ikiz çalışması ile kanıtlanmıştır (56). Bu çalışmada; serum TSH, serbest T₄ (sT₄) ve serbest T₃ (sT₃) düzeyleri arasındaki değışkenlikte kalıtımın %65 oranında sorumlu olduğunu gösterdi. Meksikan-Amerikan populasyonunda, serum tiroid parametrelerindeki tüm kalıtımın kişiler arasındaki gözlenen bütün değışkenler arasında %26-64 arasında dağıldığı tespit edilmiştir (57).

Subklinik hipotiroidik ya da hipertiroidik hastalardaki bulgular, tiroid hormon düzeylerindeki çok küçük değışikliklerin, ateroskleroz, kemik mineral dansite ve kalp hızı gibi tiroid hormonları ile ilişkili klinik sonuçlarda önemli değışikliklere neden olabileceğini göstermiştir (4-6). Son birkaç yılda yapılan çalışmalarda, tiroid hormon biyoaktivitesinde değışikliğe yol açan tiroid hormon yolağındaki gen polimorfizmleri tanımlanmıştır. Bu polimorfizmlerden bazıları sağlıklı olgularda, serum TSH ve/veya tiroid hormon düzeyleri ile bazıları ise tiroid hormonları ile alakalı klinik sonuçlarla ilişkilidir.

Tiroid Sitümulan Hormon Reseptör Polimorfizmleri

Tiroid sitümulan hormon reseptör geni, kromozom 14q31 üzerinde lokalizedir. TSH reseptöründe; toksik adenom veya toksik multinodüler guatr ile sonuçlanan çok sayıda fonksiyonel kazanç sağlayan yapısal mutasyonlar tanımlanmıştır (58). Ayrıca sperm ve yumurta hücrelerindeki TSH reseptörlerinde, fonksiyon kazancına neden olan mutasyonların, konjenital hipertiroidiye neden olabileceği gösterilmiştir. Tam tersi fonksiyon kaybına neden olan TSH reseptör mutasyonları da TSH direnci ve konjenital hipotiroidizm ile ilişkilidir (59). Bununla beraber, aminoasid değışimi ile sonuçlanan üç adet TSH reseptör polimorfizmi bulunmuştur (60-62). Bunlardan iki tanesi reseptörün ekstrasellüler alanında lokalize (Asp36His ve Pro52Thr) bir tanesi ise intrasellüler alanda lokalizedir (Asp 727 Glu) (Şekil 7) (60-62). Buna ek olarak TSH reseptöründe birçok intronik mikrosatellit belirleyici ve intronik tek nükleotid polimorfizmleri tanımlanmıştır (12-16).



TSHr: Tiroid sitümulan hormon reseptörü, **Asp:** Aspartik asit, **His:** Histidin, **Pro:** Prolin, **Thr:** Thteronine, **Glu:** Glutamik asit.

Şekil 7. Tiroid sitümulan hormon reseptör polimorfizmleri (1)

Tiroid stimulan hormon reseptör aspartik asit 727 glutamik asit (TSHr Asp727Glu) polimorfizmi, 727. kodon içinde 2281. pozisyonda sitozin (C/) / guanin (G) yer değişimi sonucu oluşur. Bu yer değişimi sonucunda reseptörün intraselüler kısmında yer alan karboksi terminal kuyruğunda aspartik asidin yerine glutamik asidin geçmesine neden olur (63). TSHr-Glu727 aleli sağlıklı kan vericilerinde düşük plazma TSH düzeyleri ile ilişkili olmasına rağmen; sT₄ üzerine etkisi yoktur (3). Bu variant reseptörün normal reseptöre oranla TSH'ya karşı daha duyarlı olmasından kaynaklanabilir. Gabriel ve ark. (62)'nin yaptığı invitro bir çalışmada, TSHr-Glu 727 varyantında, TSH'ya karşı reseptörün artmış cAMP yanıtı olduğunu gösterilmiştir. Fakat daha sonraki çalışmalarda özellikle Nogueira ve ark. (64)'nin yaptığı çalışmalarda ise bu gösterilememiştir. Farklı bir açıklamaya göre; Asp727Glu polimorfizminin, gen içinde herhangi bir yerdeki diğer bir polimorfizm ile bağlantılı olabileceği ileri sürülmüştür (65). Ayrıca Gabriel ve ark. (62) TSHr-Glu727 varyantının nonotoimmün toksik hipertiroidizm (toksik multinodüler guatr) ile ilişkili olduğunu düşünürken; Muhlberg ve ark. (66) Avrupalı Kafkas ırkında yaptığı çalışmada, TSH reseptör geninin 727. kodonunda yer alan polimorfizm ile nonotoimmün toksik hipertiroidi arasında bağ olmadığını göstermişlerdir.

Peeters ve ark. (67) yaptığı bir diğer çalışmada ise, diyabetik olmayan yaşlı erkeklerde TSHr Asp727Glu polimorfizminin kısmi insülin direnci ile ilgili olduğunu saptamışlardır.

Tiroid stimulan hormon reseptörünün 52. kodonun 254. pozisyonunda sitozin/adenin (A) yer değişimi sonucu, tiroid sitümulan hormon reseptör prolin 72 treonin (TSHr Pro52Thr) polimorfizmi oluşur. Bunun sonucunda reseptörün ekstraselüler kısmında; 52. pozisyonda prolin yerine treonin geçmesine neden olur. Ayrıca TSH reseptörünün 36. kodonunun 206. pozisyonunda G/C yer değişimi sonucunda, tiroid sitümulan hormon reseptör aspartik asit 36 histidin (TSHr Asp36His) polimorfizmi oluşur. Reseptörün ekstraselüler kısmında 36. pozisyonda aspartik asidin yerine histidin geçmesine neden olur (Şekil 7) (3,63).

Tiroid stimulan hormon uyarısına TSHr Pro52Thr varyant cevabı ile ilgili birbirine zıt veriler mevcuttur (63,68,69). Bu da bize bu polimorfizmin anlaşılması zor etkilerini göstermiştir. TSHr Pro52Thr ve Asp36His polimorfizmlerinin, sağlıklı kan vericilerinde, serum TSH ve iyodotironin düzeyleri ile ilişkili değildir. Buda , fonksiyon kaybına neden olan tek nükleotid polimorfizmi sıklığının alel de az olmasına bağlanabilir. Peeters ve ark. (3) yaptığı çalışmada, TSHr-52Thr varyantının alel sıklığını %6; TSHr -36 His varyantının alel sıklığını ise %1'in altında bulmuşlardır. Günümüz literatüründe TSH reseptör fonksiyonunda azalma ile sonuçlanan polimorfizler hakkında bilgi bulunmamaktadır (1).

Tiroid stimulan hormon reseptör polimorfizmlerinin, serum tiroid hormon düzeyleri üzerine etkilerinin yanı sıra, otoimmün tiroid hastalıklarının gelişimi üzerine de etkileri olabileceği ileri sürülmektedir. TSH reseptör geni, Graves Hastalığının haritasının çıkarıldığı lokusun bulunduğu, kromozom 14q31 üzerinde bulunur (70). Graves Hastalığı-1 (GD-1) lokusu özellikle Graves Hastalığı ile ilişkili olsa da; Hashimoto tiroiditi veya otoimmün tiroid hastalıkları ile ilişkili değildir. Birçok vaka-kontrol çalışmasından çıkan sonuca göre, daha önce bahsedilen TSH reseptör polimorfizmlerinden bir veya birkaçı ile otoimmün tiroid hastalıkları arasında pozitif bir ilişki mevcuttur. Ban ve ark. (71) tarafından, 2002'den bu yana yapılan 14 çalışma tekrar değerlendirildiğinde; TSH reseptör polimorfizmi ve Graves Hastalığı arasında pozitif bir ilişki olduğu tespit edilmiştir.

Tiroid stimulan hormon reseptör prolin 52 treonin veya aspartik asit 36 histidin varyantları ile ilgili yapılan çalışmalarda bir tanesi hariç Graves Hastalığı ile ilişki saptanmamıştır. Amerikan Kafkas ırkı kadınlarında yapılan bir çalışmada ise, TSHr-Pro52Thr varyantı ile Graves Hastalığı arasında ilişki saptanmıştır (72). Aynı otörler daha sonra, homozigot Thr52 alele sahip ve normal tiroid fonksiyonları olan iki adet olgu tanımlamışlardır. Bu bulgulara dayanarak varyant reseptörlerin TSH'ya normal yanıt verebileceği ileri sürülmüştür (68). Son çalışma ile bu polimorfizmin açıklanamayan etkilerinin istisna olarak kabul edilemeyeceği anlaşılmıştır. Graves hastalarında yapılan multi-etnik kohort çalışmada ise, TSHr Asp36His varyantı saptanmazken, TSHr Pro52Thr ve TSHr Asp727Glu ile Graves Hastalığı arasında ilişki de saptanmamıştır (73). Günümüzde bu reseptörün, ekstraselüler kısmında yer alan iki varyantının, tiroidi uyaran antikor bağlanmasını değiştirdiğine dair bulgu halen bulunmamaktadır. Ayrıca şu an kadar varyant TSH reseptörüne bağlanmayı veya cAMP yanıtını değiştiren, tirostimülün olarak adlandırılan farklı bir TSH reseptör ligandı ile ilgili bilgi de tespit edilmemiştir (74).

Otoimmün tiroid hastalığı olan Japon hastalarda yapılmış son çalışmalarda, TSH reseptörünün intron 7 bölgesindeki, çok sayıdaki tek nükleotid polimorfizminin, Graves Hastalığı ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir (75). Bu bilgiler, TSH reseptöründeki genetik varyasyonlar ile Graves Hastalığı gelişimi arasında zayıf da olsa bir ilişki olduğunu göstermektedir.

Tiroid stimulan hormon reseptörleri sadece tiroid dokusunda bulunmaz. Tiroid dokusu dışında, yağ dokusunda, beyinde, göz dokusunda, lenfositlerde ve kemik dokuda da bulunur. Bu dokularda TSH'nın TSH reseptörü üzerine olan etkileri araştırılmaktadır. Sıçan yağ dokusu kültürlerinde, TSH'nın çoğalmayı uyardığı ve farklılaşmayı önlediği gösterilmiştir.

Ayrıca TSH reseptör genleri bozulmuş farelerde, serum tiroid hormon düzeylerinden bağımsız olarak yaygın osteoporoz izlenmiştir (76). TSH reseptöründeki genetik varyasyon sadece otoimmün tiroid hastalıklarının gelişimi için önemli değildir. Aynı zamanda osteoporoz gibi birçok klinik sonuç ile ilgili olabilir. Bunu da tiroid hormon düzeylerini etkileyerek ya da direkt kemikler üzerine etki ederek gerçekleştirir.

İyodotironin Deiyodinaz Polimorfizmleri

Serum ve lokal doku düzeyinde ötiroidik durumun devamının sağlanmasında üç deiyonidaz enzimi [deiyonidaz tip1 (D1), deiyodinaz 2 (D2) ve deiyodinaz 3 (D3)] önemli rol oynar (77). Bu enzimlerin aktivitesi, farklı dokularda, farklı hastalık durumlarında ve büyümenin değişik evrelerinde farklı tiroid hormon düzeylerinin sürdürülmesini sağlamaktır. Bunu da, aktif hormon T_3 ve inaktif prohormon olan T_4 arasındaki dengeyi değiştirerek sağlar (77).

Şu ana kadar herhangi bir iyodotironin deiyonidazı inaktive eden mutasyon gösterilememiştir. Bu da demek oluyor ki; bu mutasyonlar, hayatla bağdaşmayabilir, küçük veya önemsenmeyen sonuçlar oluşturabilir veya bilinmeyen, açıklanamayan bir fenotipe sahip olabilir. Son birkaç yılda deiyonidazlar ile ilgili çeşitli polimorfizmler tanımlanmıştır. Bu üç farklı deiyonidazın fizyolojik rollerinin bilirse bunlarla ilgili polimorfizmlerin ne sonuçlar doğuracağını tahmin edebiliriz (Tablo 2). D1 böbrek, karaciğer ve tiroid dokusunda bulunur. Aktif hormon olan T_3 'ün T_4 'den üretimini arttırıp, rT_3 'ün metabolizmasını arttırır. D2 beyin, hipofiz, kahverengi yağ dokusu, tiroid, iskelet kası, aort düz kası ve osteoblastlarda bulunur. D2 messenger ribonükleik asiti (mRNA) ayrıca kalp dokusunda da gösterilmiştir. Bu dokularda D2 örneğin beyin dokusunda, lokal olarak T_3 üretimini arttırır, iskelet kasında D2, T_3 üretimine katkıda bulunur. D3 ise beyin, cilt, plasenta, gebe uterusu ve çeşitli fetal dokularda bulunur. Ayrıca kritik hastalıklarda üretimi artar. D3, T_3 ve T_4 'ü inaktive eden en önemli enzimdir ve aşırı tiroid hormonuna karşı dokuları koruyarak tiroid hormon homeostazisine yardımcı olur (1).

Tablo 2. Deiyonidazlar, bulundukları dokular ve görevleri

	D1 T_4 $\swarrow \searrow$ $T_3 \quad rT_3$ $\swarrow \searrow$ T_2	D2 T_4 $\swarrow \searrow$ $T_3 \quad rT_3$ $\swarrow$ T_2	D3 T_4 $\searrow$ $T_3 \quad rT_3$ $\searrow$ T_2
Görevi	Plazma T_3 üretimi, rT_3 inaktivasyonu	Lokal ve plazma T_3 üretimi	T_3 ve T_4 İnaktivasyonu rT_3 üretimi
Doku	KC, böbrek, tiroid	Beyin, hipofiz, KYD, tiroid, İskelet kası, kalp, aort düz kası, osteoblastlar	Beyin, cilt, plasenta, fetal dokular, kritik hastalıklar KC ve iskelet kası
Substrat Tercihi	$rT_3 \gg T_4 = T_3$	$T_4 > rT_3$	$T_3 > T_4$

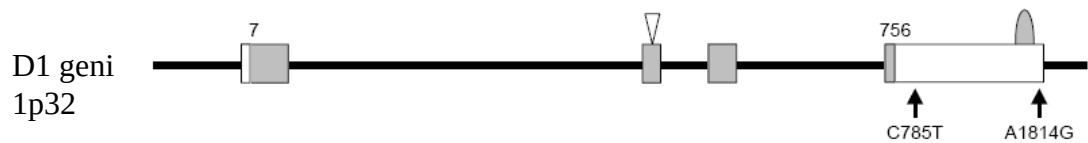
T₄: Tiroksin, **T₃:** Triiyodotironin, **D1:** Deiyodinaz 1, **D2:** Deiyodinaz 2, **D3:** Deiyodinaz 3, **rT₃:** Revers T₃, **KC:** Karaciğer, **KYD:** kahverengi yağ dokusu.

Triiyodotironin/revers triiyodotironin (T_3/rT_3) oranı, periferik tiroid hormon metabolizmasının duyarlı bir göstergesidir. D1 ve D2 aktivitesi ile pozitif, D3 aktivitesi ile negatif ilişkilidir. Bu oran ayrıca tiroidal T_4 ve serum tiroid hormon bağlayan protein miktarına bağlıdır (1).

Deiyodinaz enzimleri, katalitik merkezlerinde UGA kodonu ile şifrelenen selenosistein (SeC) içerir (78-80). Deiyonidaza SeC'in bağlanması için mRNA'nın 3'UTR (untranslated regio) bölgesinde SeC bağlanma dizilimine (SECIS) ve aktive edici faktörlere ihtiyaç vardır (81). Bu bölgede oluşan SNP deiyodinaz enzimlerinin üretimini ve fonksiyonlarını etkiler (3).

Deiyodinaz 1 ile ilgili polimorfizmler

Sağlıklı olgularda serum T_3/rT_3 oranını etkileyen, D1 ile ilgili 2 polimorfizm bulunmuştur (3). (D1-C785T ve D1-A1814G). D1 cDNA diziliminin 785. pozisyonunda sitozin/timin (C/T) yer değiştirmesi sonucu D1-C785T polimorfizmi oluşur. Ayrıca D1 geninin SECIS elementine yakın kısmında, 1814. pozisyonda, adenin/guanin (A/G) yer değiştirmesi sonucu yeni bir polimorfizm saptanmıştır. (D1-A1814G) (Şekil 8) (1,3).



D1: Deiyodinaz 1, **C:** sitozin, **T:** Timin, **A:** Adenin, **G:** Guanin

Şekil 8. Deiyodinaz 1 geni ile ilgili polimorfizmler (1)

Deiyodinaz 1 -785T aleli yüksek rT_3 düzeyi ve düşük T_3/rT_3 oranı ile ilişkilidir. D1'in fizyolojik görevi gözönüne alınacak olursa, D1-785T varyantının D1 aktivitesini azalttığı tahmin edilebilir. D1-1814G aleli yüksek T_3/rT_3 düzeyi ile ilişkili olup, D1-1814G varyantı artmış D1 aktivitesi ile sonuçlanabilir. Bu her iki polimorfizm de mRNA'nın 3' UTR'de bulunur. mRNA stabilitesinde değişiklik yaratarak farklı yorumlanmasına neden olur. Bu yorumlanma, proteinin katalitik bölgesindeki selenosistein parçalarını bağlayan selenosistein ekleme dizisini değiştirerek mRNA bağlanma yerini değiştirmek, şifre dizileri veya genin düzenleyici bölgesindeki polimorfizmler ile bağlantı kurmak olabilir. 70 yaş üstü yaşlı 350 erkekte yapılan çalışmada serum rT_3 düzeyleri ile D1-785T varyantının ilişkisi olmadığı gözlemlenmiştir; bu yaşlı popülasyonda, düşük serum T_3 düzeyleri ile D1-785T varyantı arasındaki ilişki, bu polimorfizmi taşıyanlarda D1 aktivitesinin azaldığı hipotezini destekler (82). Sağlıklı kan vericileri ile yaşlı erkekler arasındaki bu farklılığın nedeni yaş farkı ile açıklanabilir. Genç olgularda, D1 aracılığıyla T_3 üretimindeki azalış, iskelet kasındaki D2'nin T_3 üretimi nedeniyle maskelenmiş olabilir. Yaş ilerledikçe iskelet kası miktarı ve gücü azaldığı için iskelet kasında D2 üretimi de azalır. Ayrıca yaşla beraber rT_3 düzeyi artar ve T_4 , rT_3 miktarı arttıkça D2 proteinin bozulması hızlanır. D1 aktivitesinin yaşla beraber azaldığı gösterilmiş olsa da, D2'nin T_3 üretimi üzerine olan göreceli etkisi, yaşlı olgularda daha az önemli olabilir. Bu da yaş ilerledikçe T_3 üretimine D1'in daha fazla etkili olduğunu gösterir (1).

Haplotip analizleri göstermiştir ki, D1-C785T ve D1-1814G polimorfizmleri farklı haplotip aleller üzerinde gözlemlenebilir. D1-785T içeren haplotip aleller, yalnızca serum iyodotironin düzeyi değişiklikleri ile ilişkili değil ayrıca artmış serbest insülin benzeri büyüme faktörü 1'in (IGF-1) düzeyleri ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu haplotip aleli ile artmış kas gücü, kas kitlesi gibi IGF-1 ile ilişkili sonuçlar arasında ilişki olduğu kanıtlanmıştır (82). IGF-1'in D1 üretimi üzerine uyarıcı etkisi olduğu gibi, D1-T haplotip aleli taşıyıcılarının daha yüksek IGF-1 düzeylerine sahip olması D1 aktivitesini normalize etmek için bir uyum olabilir (82).

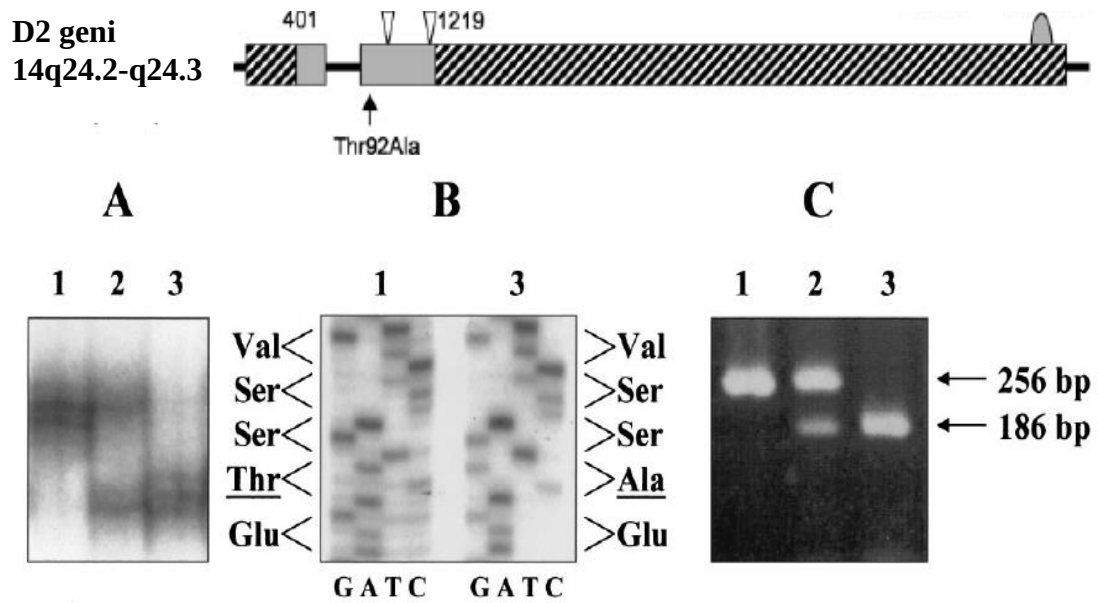
Deiyodinaz 2 ile ilgili polimorfizmler

Tip 2 deiyonidaz enzimi, intraselüler T_4 'ün aktif form olan T_3 'e dönüşümünü katalize eder. Böylece serum düzeylerinden bağımsız olarak dokuya özel T_3 etkisinin kontrolüne izin verir (83). Rodentlerde D2 özellikle kahverengi yağ dokusunda bulunur. D2 geni bozulmuş farelerde, soğukun neden olduğu kahverengi yağ doku adaptif termogenezinin bozulduğu

fakat aşırı sempatik aktiviteye bağlı mekanik termogenezin devam ettiği gözlenmiştir (84). Dahası β adrenerjik reseptörlerin stimülasyonu, D2 sentezini artırır. Bu bulgular göstermiştir ki, kahverengi yağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde, D2 tarafından katalizlenen T4'den T3'e dönüşümü sağlayarak β adrenerjik sistem ve tiroid hormonları beraber rol oynar (85).

İnsanlarda D2 iskelet kasında bulunur. İskelet kasında, tiroid hormonlarının primer glukoz taşıyıcısı olan glukoz taşıyıcısı tip 4 (GLUT4) 'ü artırarak bazal ve insülinin uyardığı glukoz alımını arttırdığı bilinmektedir. Bu da, tiroid hormonlarının insanda glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rolü olduğunu göstermektedir (86).

Tip 2 deiyonidaz enzim geni, kromozom 14q24.3 de lokalizedir ve tüm gen, üç ekzon tarafından kodlanır (87). D2, lokal T₃ üretiminde önemlidir. Fakat iskelet kasındaki D2, serum T3 üretimine de katkıda bulunur (83). Deiyodinazlar içinde ilk tanımlanan polimorfizm deiyodinaz 2 treonin 92 alanin (D2-Thr92Ala) dir (88). D2 geni diziliminde 674. nükleotidde A/G yer değişimi olmakta ve bunun sonucunda oluşan proteinin (enzimin) 92. pozisyonunda treonin yerini alanin almaktadır (Şekil 9) (3).



A: Polimeraz zincir reaksiyonu, **B:** Dideoksi DNA zincir analizi, **C:** Polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi. 1-Homozigot A/A genotipi, 2-Heterozigot A/G genotipi, 3-Homozigot G/G genotipi
A: Adenin, **C:** Sitozin, **G:** Guanin, **T:** Timin, **Val:** Valin, **Ser:** Serin, **Ala:** Alanin, **Thr:** Treonin, **Glu:** Glutamik asit, **bp:** Baz çifti

Şekil 9. Deiyonidaz 2 treonin 92 alanin polimorfizmi (3)

Canani ve ark. (89)'nın yaptığı çalışmada, D2 Thr92Ala polimorfizmi taşıyıcılarında, iskelet kası ve tiroiddeki D2 enzim hızının 3-10 kat azaldığını göstermişlerdir. Bu polimorfizm serum iyodotironin düzeyleri ile ilişkisiz gibi görünse de, üç farklı popülasyonda bu polimorfizmin insülin direnci ile ilişkili olduğu bulunmuştur (88,89). Bunun arkasındaki mekanizma halen açık olmamakla beraber, D2'nin kahverengi yağ dokusu ve/veya iskelet kasında üretimi ile ilişkili olabilir (83). T₃, iskelet/yağ dokusuna özgü insülin duyarlı glukoz taşıyıcı GLUT4'ün transkripsiyonunu uyarır (90). Buna ek olarak tiroid hormonları, katekolamin uyardığı lipolizi artırır (91). Yağ dokusu ve iskelet kası gibi insüline duyarlı dokularda, azalmış D2 aktivitesi, lokal T₃ oluşumunu azaltır bu da; D2-Thr92Ala polimorfizmi ile insülin direnci arasındaki ilişkiyi açıklayabilir. Dahası, safra asidi uygulanan farelerde D2'yi uyarmak yolu ile enerji tüketiminin arttığı ve böylece obezite ve insülin direncinin önlendiği gösterilmiştir (92). Ayrıca D2 polimorfizminin, diyabetik olmayan olgularda, glukoz kullanımını %20 azalttığı, homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) indekslerini arttırdığı ve Tip 2 diyabetik olgularda daha yüksek insülin direnci ile ilişkili olduğu bulunmuştur (88,89).

Bütün bu görüşlere zıt olarak, son zamanlarda Mentuccia ve ark. (93)'nin diyabetik olmayan Amish olgularında yaptığı çalışmada, D2 Thr92Ala polimorfizmi ile insülin direnci ve Tip 2 diyabet arasında ilişki olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca Graup ve ark. da (94) D2-Thr92Ala varyantının, Tip 2 diyabet, obezite ve insülin direnci açısından artmış bir risk faktörü olmadığını göstermişlerdir.

Tip 2 deiyodinaz enzimi, insan aort ve koroner arter düz kas hücrelerinde de bulunur (95). Bundan yola çıkarak Gumieniak ve ark. (96) 2007 yılında yaptıkları çalışmada, D2-Thr92Ala polimorfizminin, vasküler tonus ve kan basıncı ile ilişkisi olup olmadığını araştırmışlar. Ala92 alelinin hipertansiyon gelişimini arttırdığını göstermişlerdir. 2008 yılında ise van der Deure ve ark. (97)'nin 55-90 yaş arası yaşlı popülasyonda yaptığı Rotterdam çalışması ve Rotterdam Scan çalışmalarında, D2 Thr92Ala ve TSHr Asp727Glu polimorfizmlerinin kan basıncı ile ilişkili olmadığını tespit etmişler, hipertansiyon gelişimi için risk faktörü olmadıklarını ileri sürmüşlerdir.

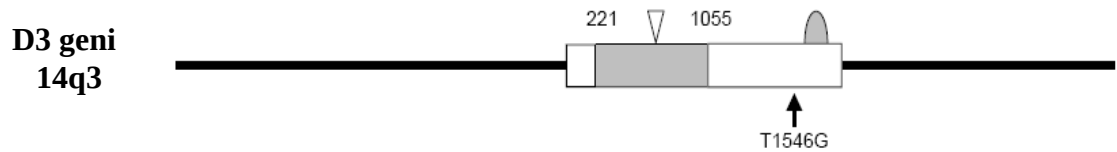
İyodotironin deiyodinaz enzimlerinin iskelet sistemi üzerine fonksiyonel etkilerinin açık olmamasına rağmen, yapılmış son çalışmalarda D1 ve D2 eksikliği olan farelerde gelişimin normal olduğu rapor edilmiş. Bu da D2'nin iskelet gelişiminde kritik role sahip olmayabileceğini gösteriyor (98). Bu fikir D2 aktivitesinin osteoblast olgunlaşmasını sınırlandırdığının gösterilmesi ile desteklendi. Heemstra ve ark. (99), D2 Thr92Ala

polimorfizminin, kemik dokuda serum tiroid hormon düzeylerinden bağımsız olarak kemik yapım ve yıkımını arttırdığını, femur boynunun kemik yoğunluğunun azalması ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Ayrıca Guo ve ark. (100), bir vaka-kontrol çalışması ile Çin'deki iyot eksikliği olan bölgelerde yaşayanlarda, mental retardasyon ile deiyonidaz 2 (DIO2) geni arasındaki ilişkiyi çalışmışlardır. Bu bölgelerde mental retardasyon ile ilişkili, iki adet intronik polimorfizm (fakat D2 Thr92Ala değil) bulmuşlar. D2'deki genetik varyasyonun, iyot eksikliği olan bölgelerde, büyük olasılıkla beyindeki lokal T_3 oluşumunu etkileyerek mental retardasyon gelişimi için risk faktörü olduğu sonucuna varmışlardır. Applhof ve ark. (101) ise çalışmaları ile, DIO2'deki genetik varyasyonun, levotiroksin tedavisi alan hipotiroid hastalarda nörokognitif fonksiyonları ve iyilik halini belirlemede önemli olup olmadığı sorularına cevap getirmişlerdir. Ayrıca, D2 polimorfizmlerinin, T_4/T_3 kombine tedavisinin T_4 tedavisine üstünlüğü ile ilişkisi olup olmadığını da araştırmışlardır. Bu çalışmalar sonucunda, tiroid hormon uygulanan hipotiroid hastalarda, iyilik halinde, nörokognitif fonksiyonlarda veya T_4/T_3 kombinasyon tedavisinin farklı olmadığı saptanmıştır.

Deiyodinaz 3 ile ilgili polimorfizmler

Şu ana kadar D3 ile ilgili, 3'UTR bölgesinde yer alan bir polimorfizm belirlenmiştir (D3-T1546G). Bu polimorfizm, D3 geninin DNA diziliminde 1546. pozisyonunda T/G yer değişimi sonucu oluşur (3) (Şekil 10).



D3: Deiyodinaz 3, T: Timin, G: Guanin.

Şekil 10. Deiyodinaz 3 polimorfizmi (1)

Bu polimorfizm sağlıklı olgularda tiroid hormon düzeylerini değiştirmez. D3 kritik hastalıklarda, fetusun gelişiminde ve fetusun aşırı tiroid hormonunun etkisine karşı korunmasında önemli rol oynar. Bu polimorfizmin olası etkileri gelişim üzerine olduğundan patofizyolojik durumlar ile ilgili araştırmalar gelecekteki çalışmalara bağlıdır. D3 geni ile ilgili çalışmalardaki en büyük engel bu genin paternal alellerden ayrıcalıklı olarak sentez

edilen baskılı bir gen olmasıdır. Bu nedenle DIO3 genindeki polimorfizmlerin tiroid hormon metabolizmasındaki etkileri, varyant alelin parental orjinine bağlıdır (1).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Değerlendirme Komisyonu'nun 09.03.2011 tarih ve 06/18 no'lu kararınca onaylanmıştır (Ek 1). Çalışmaya katılan tüm olgular, çalışma öncesi bilgilendirilerek, bilgilendirilmiş onamları alınmıştır (Ek 2).

OLGU GRUBUNUN SEÇİMİ

Çalışmamıza, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Polikliniği'ne tiroid hastalığı ön tanısı ile başvuran, yapılan tetkiklerde tiroid fonksiyonları normal olan ve yapılan tiroid ultrasonografilerinde (USG) nodülü saptanmayan, 25-60 yaş arası, 57 kadın ve 46 erkek olmak üzere toplam 103 gönüllü dahil edilmiştir.

Çalışma grubuna katılan 57 kadının yaş ortalaması 34,5; 46 erkeğin yaş ortalaması 36,6 idi. Çalışmaya dahil edilme kriterleri; 1) Daha önce bilinen tiroid hastalığı olmaması (Hashimoto's Tiroiditi, Basedow Graves, toksik multinodüler guatr, toksik adenom...), 2) Tiroidektomi uygulaması olmaması, 3) Tiroid hormon düzeyini etkileyecek ilaç tedavisi olmaması (L-tiroksin, propiltiourasil, metimazol, lityum...) 4) Bilinen diyabet, malignite, tiroid, renal, karaciğer, hematolojik hastalığının olmaması

Çalışmaya dahil edilen tüm olguların demografik özellikleri kayıtlandıktan sonra fizik muayeneleri yapıldı. Boy, kilo, bel ve kalça ölçümleri yapılan olguların vücut kitle indeksleri (VKİ) ($VKİ = \text{Vücut Ağırlığı (kg)} / \text{Boy (m)}^2$) hesaplandı. Bel çevresi için, kot kavsinin lateralinden, iliak kristaya uzanan dikey çizginin ortasından geçen çap, ekspiriumda iken ölçüldü. Kalça çevresi ise kalçanın en geniş olan yerinden geçen bir çember çizilerek ölçüldü.

Olguların vücut ağırlıkları ve BMH'ları biyoelektrik empedans yöntemi (Tanita TBF 300, TANITA Corp, Tokyo, Japan) ile ölçüldü.

Tüm olguların 12 saat açlıktan sonra, sabah saat 08:00-10:00 arasında DNA elde etmek için etilen diamin tetra asetik asitli (EDTA) tüp içerisine 2-4 ml periferik venöz kan ve serumdan biyokimyasal parametrelerin değerlendirilebilmesi için rutin tüpüne 3-4 ml periferik venöz kan alındı. Venöz kanların 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatant serum kısımları ependorf tüplerine konularak -85°C'de saklandı. Çalışmaya dahil edilen tüm olguların kan örnekleri toplandıktan sonra aynı anda TÜTF Merkez Laboratuvarı Biyokimya Laboratuvarı'nda glukoz, kolesterol, trigliserid, yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (HDL-K), düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-K) düzeyleri "Advia 1800 Clinical Chemistry System, Siemens, USA" otoanalizöründe spektrofotometri yöntemi ile çalışıldı. Serum insülin düzeyi ile sT3, sT4 ve TSH düzeyleri TÜTF Merkez Laboratuvarı'na bağlı Hormon Laboratuvarı'nda "Beckman-Coulter Inc., USA, UnicelDx I 800 Immunoassay System" cihazı ile kemiluminesans yöntemi ile çalışıldı. İnsülin direnci değerlendirilirken HOMA-IR indeksi kullanıldı. HOMA-IR değeri {[glukoz (mg/dl)/18] X insulin (U/mL)}/22.5 formülünden hesaplandı.

Tüm olguların EDTA'lı kan örnekleri TÜTF Biyofizik Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda toplanarak Roche izolasyon kiti kullanılarak DNA izolasyonları yapıldı. DNA izolasyonundan sonra, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile elde edilen DNA ürünleri %2'lik agaroz jellere yüklenip etidyum bromür (EtBr) ile boyanarak elektroforezde yürütüldü. Daha sonra PZR ürünleri ilgili polimorfizm bölgelerine özgü restriksiyon enzimleri kullanılarak restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile kesime bırakıldı. Kesim sonucu ürünler agaroz jelde EtBr ile boyanarak elektroforezde yürütüldükten sonra ultraviyole (UV) ışık altında polimorfizmler saptandı.

Testlerin uygulanması sırasında kullanılan cihazlar:

- Agaroz elektroforez tankı (MINICELL PRIMO EC 320)
- Derin dondurucu (AEG)
- Dijital fotoğraf makinesi (Kodak Easy Share 2330)
- Güç kaynağı (EC-105)
- Manyetik karıştırıcı (Nüve)
- Otoklav (Heraeus)
- Otomatik mikro pipetler (ISOLAB)
- pH metre (Hanna)

- Santrifüj (Allegra X-22R)
- Terazî (Sartorius)
- Thermal Cyclor (Boeco TS-100)
- Vorteks (VELP Scientifica)

Testlerin uygulanması sırasında kullanılan kimyasal malzemeler:

- Agaroz (Sigma)
- Borik Asit (Sigma)
- High Pure PCR Template Preparation Kit (DNA İzolasyon Kiti) (Roche)
- DNA (deokasiribonükleik asit) Marker seti, 50bç-100bç (Fermentas)
- dNTP (deoksiribo Nükleozid Tri Fosfat; dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Fermentas)
- Etanol %100 (Riedel)
- Etidyum Bromit (Sigma)
- Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA) (Sigma)
- Magnezyum klorür (Fermentas)
- BclI (ER0721) restriksiyon enzimi (Fermentas)
- RsaI (FD1124) restriksiyon enzimi (Fermentas)
- PstI (Tth111I) (FD1334) restriksiyon enzimi (Fermentas)
- Proteinaz K (Roche)
- Taq DNA polimeraz seti (Fermentas)
- Trisma (Base) (Bio Basic)

Testlerde kullanılan primerler:

- **D1 deiyonidaz gen polimorfizmi için:**
D1 C/T-F: 5'-GAACCTTGATGTGAAGGCTGGA-3'
D1 C/T-R: 5'-TAACCTCAGCTGGGAGTTGTTT-3'
- **D2 deiyonidaz gen polimorfizmi için:**
D2 A/G F: 5'-GATAGTAAAGAATAACAGCCTTGGCT-3'
D2 A/G R: 5'-CAGCTATCTTCTCCTGGATACCA-3'
- **TSH reseptör gen polimorfizmi için:**
TSHR C/A-F: 5'-GCGATTTCGGAGGATGGAGAAATAGC-3'
TSHR C/A-R: 5'-CCGGGTACTCACAGAGTCTGCGACCTG-3'

Elektroforez çözeltileri ve tamponları:

10x tris borat elektroforez (TBE) çözeltisi (1 litre) pH: 7.4:

60.5 gr Tris

3.72 gr Na₂EDTA.2H₂O

30.85 gr borik asit

Toplam hacim distile su ile 1 000 ml'ye tamamlandı

0,5x TBE Tamponu:

50 ml 10X TBE tamponu

Toplam hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı

Agoroz jel %2 lik:

30 ml lik elektroforez tankı için 0,6 gram agoroz 30 ml 0.5X TBE içinde mikrodalga fırında kaynatılarak eritildi. 2µl (10mg/ml konsantrasyonda) EtBr konularak hazırlandı.

Agoroz jel %2,5 lik:

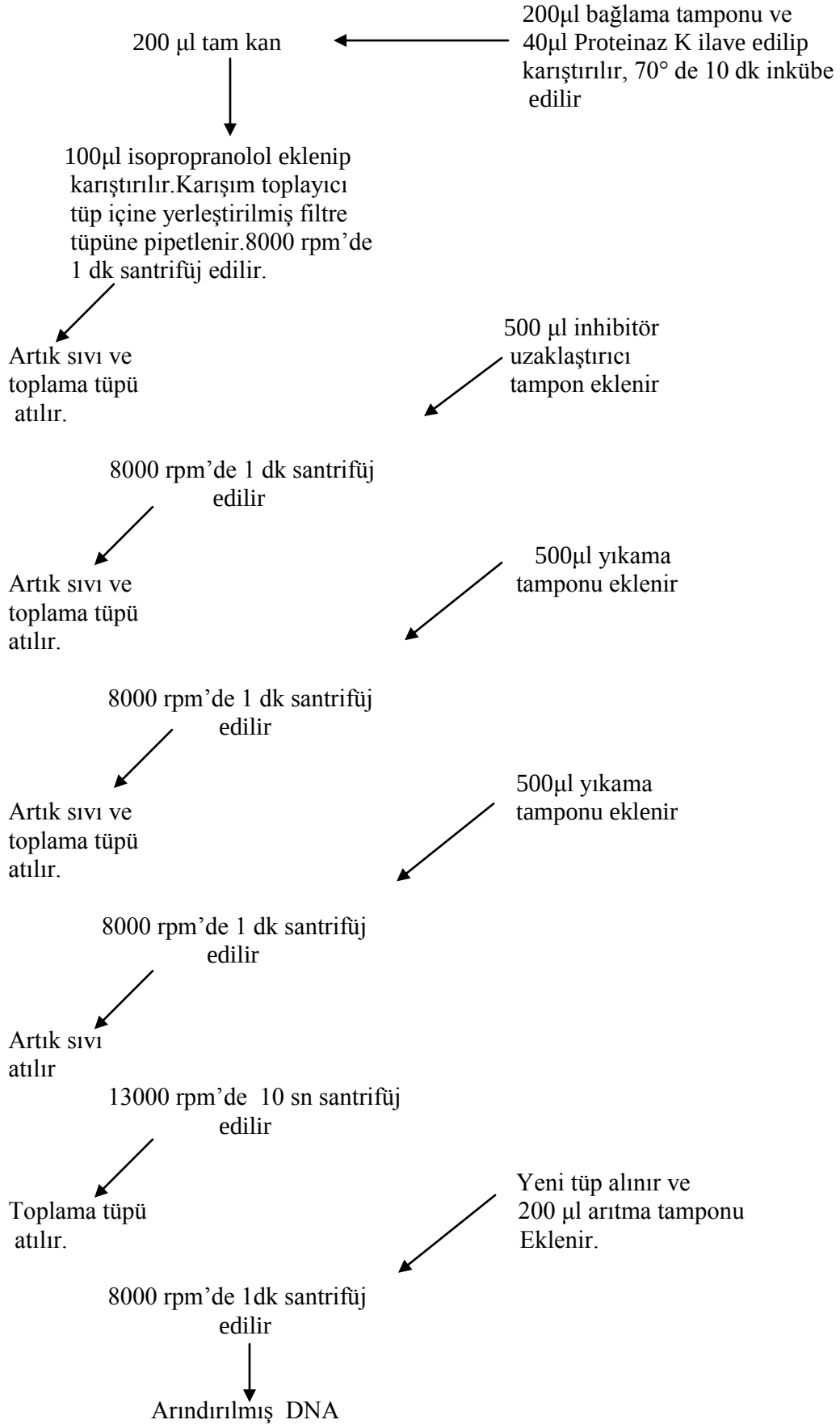
30 ml lik elektroforez tankı için 0,75 gram agoroz 30 ml 0.5X TBE içinde mikrodalga fırında kaynatılarak eritildi. 2µl (10mg/ml konsantrasyonda) EtBr konularak hazırlandı.

YÖNTEM

Tiroid sitümülan hormon reseptörü, deiyonidaz 1 ve deiyonidaz 2 geni tek nükleotid polimorfizmleri polimeraz zincir reaksiyonu - restriksiyon parça uzunluğu polimorfizm (*“Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism”*) (PZR-RFLP) metodu ile incelenmiştir. Bu metod ilgilenilen gen bölgesinin genomik DNA kalıp olarak kullanılarak çoğaltılması ve sonrasında restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesilmesi prensibine dayanmaktadır. Her bölge için, PZR reaksiyonunda gerekli olan primer çiftleri www.ncbi.nlm.nih.gov sitesinden, araştırdığımız polimorfizmler ilgili hedef bölgeler bulunarak belirlenmiştir.

Deoksiribonükleik Asit İzolasyonu

Olgulardan EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden Roche DNA kiti ile DNA'lar izole edildi. DNA izolasyonu Şekil 10'da özetlenmiştir.



DNA: Deoksiribonükleik asit, **rpm:** Revolutions per minute.

Şekil 10. Roche kiti ile DNA izolasyonu

Deoksiribonükleik Asit Miktar Tayini

Örneklerin miktarını ve saflığını tayin etmek için 2 µl DNA örneği üzerine 98 µl distile su konularak, optik dansiteleri (OD) spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boylarında ölçüldü. 260 ve 280 nm’lerdeki ölçüm değerlerinin birbirine oranı (OD_{260}/OD_{280}) nükleik asidin saflığı hakkında bilgi verir. Saf DNA örneklerinin OD_{260}/OD_{280} oranının 1.8’e yakın olması gerekmektedir.

DNA miktarları aşağıdaki formül kullanılarak belirlendi:

$DNA (\mu g/ml) = 260 \text{ nm'deki optik yoğunluğu (OD)} \times \text{Seyreltme faktörü (Dilution factor)} \times \text{Katsayı (DNA için 50)}$

Örnekteki nükleik asit konsantrasyonu 260 nm dalga boyundaki okuma ile hesaplandı. Ölçülen örnekte yaklaşık 50 µg/ml çift zincirli DNA olduğunu göstergesi olarak optik dansitenin 1 olması hedeflendi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction) Tekniği

Polimeraz Zincir Reaksiyonu; spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan bir in vitro yöntemdir. İlk kez 1985 yılında Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki tarafından uygulanmıştır (102-103). Hücrelerdeki DNA, replikasyon ile çoğaltılarak her hücre bölünmesi ile DNA miktarı iki katına çıkartılır. DNA çift sarmalının birbirinden ayrılan ipliklerinden, onunla aynı olan iki yavru DNA molekülü meydana gelir. DNA miktarı jenerasyonlar süresince üssel olarak artmaktadır. Bugün polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılmak istenen herhangi bir DNA dizisinin uygun koşullarda çoğaltılması mümkün olmuştur. PZR yöntemi ile istenilen genlerin yada DNA dizilerinin replikasyonları hızlı bir şekilde gerçekleştirilir (104).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu’nun Temel Bileşenleri

- Kalıp olarak kullanılan DNA molekülü,
- DNA polimeraz enzimi
- Primerler
- dNTP karışımı
- Tampon ve $MgCl_2$

Polimeraz Zincir Reaksiyonu'nun Evreleri

Polimeraz zincir reaksiyonunda üç temel basamak vardır ve çoğaltılmış ürün miktarı, teorik olarak üç adımın tekrarlanma sayısına bağlıdır (Şekil 11) (102,103).

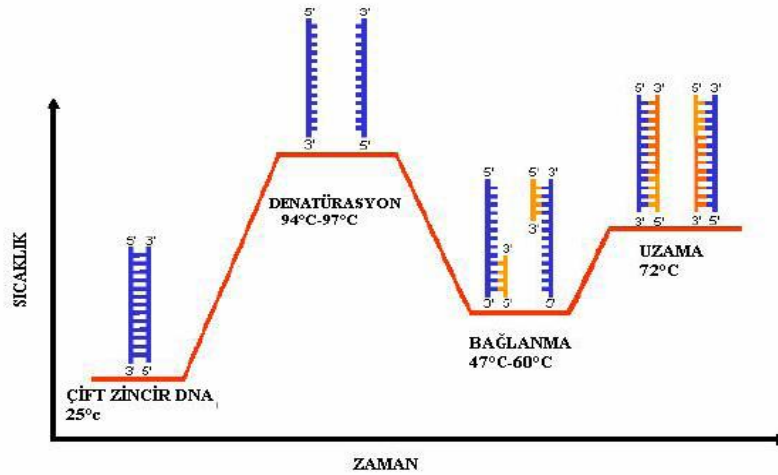
1. Denatürasyon evresi: Bu evrede çoğaltılması istenen çift sarmal DNA; sarmalları bir arada tutan hidrojen bağlarını ayırmak üzere denatüre edilerek tek sarmal haline getirilir. DNA sarmallarının birbirinden ayrılması için uygulanabilecek fiziksel ve kimyasal yöntemler olmasına rağmen 95-100°C'ye kadar ısıtmak en basit ve en etkin yöntem olarak uygulanmaktadır (102,103).

2. Primerlerin bağlanması (Annealing): Bu evrede primer adı verilen ve çoğaltılması istenen DNA'ya spesifik olan oligonükleotid, ilk evrede elde edilen DNA tek sarmalı üzerinde kendisine komplementer olan nükleotid dizisi ile hibride olur. Primerler, orijinal (hedef) DNA sarmalının amplifikasyonunu başlatmak amacıyla kullanılırlar. Bu nedenle primer (öncü) olarak adlandırılmışlardır. PZR uygulamalarında kullanılan primerler, minimum 17-19 nükleotidden oluşan oligomerlerdir. Genelde uygulamalarda 0.1–0.5 mikro molar arası primer konsantrasyonları, optimal değerler olarak kabul edilir. Her bir primer, orijinal DNA sarmalının 3' veya 5' sarmalından birinin tamamlayıcısı ve çoğaltacak olan DNA bölgesine özgüdür (102,103).

Primerlerin bağlanması aşamasında deney ortamının ısısı 40-60 °C düşürülür. Primer eşleşmesi ve bağlanması için gereken ısı ve süre, amplifikasyon primerlerinin konsantrasyonuna ve uzunluğuna bağlıdır (102,103).

3. Primerlerin uzatılması ve amplifikasyonu: Primerlerin bağlanması tamamlandıktan sonra primer hibridleştiği tek ipliğin karşılığını sentezler. Bu sentez için termostabil özelliği olan Taq polimeraz enzimi kullanılır. Bu enzim, DNA sentezi için daha yüksek optimum ısıya sahiptir. DNA kalıbının yapısına bağlı olmak üzere Taq polimeraz enzimi, enzim molekülü başına, saniyede 150 nükleotide yaklaşan spesifik aktive ile 75-80 °C arasında optimum ısıya sahiptir. Nükleotidleri orijinal DNA sarmalına komplementer olacak biçimde primere ekler ve uzatır. Oluşan yeni DNA sarmalları bir sonraki döngüde primerler için kalıp görevi yaparlar. Primerlerin uzatılması aşamasında 70-75 °C'lerde ısı uygulanır. 72 °C'de nükleotid eşleşme hızı; tampon, ph, tuz konsantrasyonu ve DNA kalıbının yapısına bağlı olarak saniyede 35-100 nükleotid olarak gerçekleşir (102,103).

Polimeraz zincir reaksiyonu uygulamalarında üç evre bir döngü olarak kabul edilir, bir döngü 3-5 dakika sürer ve 20-40 kez tekrarlanır. Bir döngü sonunda sentezlenen ürün, öncekinin iki katı kadardır. Döngü sayısı n olarak kabul edilirse $2n$, çoğaltılmış DNA materyalinin miktarını verir. Yaklaşık olarak 2-3 saat süren 20 döngü sonunda bir milyondan fazla amplifikasyon ürünü verir (102,103).



DNA: Deoksiribonükleik asit

Şekil 11. Polimeraz zincir reaksiyonu döngüsü (102)

Tiroid situmulan hormon reseptörü, deiyodinaz 1 ve deiyodinaz 2 geni, izolasyon sonucu elde edilen DNA örneklerinden ilgili genlere özgü primerler kullanılarak PZR yöntemi ile çoğaltıldı. Çalışmamız kapsamındaki TSHr, D1 ve D2 gen polimorfizmleri, primer dizileri ve PZR ürünlerinin uzunlukları Tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 3. Araştırdığımız polimorfizmler ile ilişkili hedef bölgelerin, polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmasında kullanılan primer dizileri ve polimeraz zincir reaksiyon ürünü uzunlukları

POLİMORFİZM	PRİMER DİZİLERİ	PZR ÜRÜNÜNÜN UZUNLUĞU
TSHr Pro52Thr (C/A)	F: 5'-GCGATTTCGGAGGATGGAGAAATAGC-3' R: 5'CCGGGTACTCACAGAGTCTGCGACCTG-3'	225 bç
D1 (C/T)	F: 5'-GAACTTGATGTGAAGGCTGGA-3' R: 5'-TAACCTCAGCTGGGAGTTGTTT-3'	566bç
D2 Thr92Ala (A/G)	F: 5'-GATAGTAAAGAATAACAGCCTTGGCT-3' R: 5'-CAGCTATCTTCTCCTGGATACCA-3'	412 bç

F: İleri (forward) primer dizisi, R: Geri (reverse) primer dizisi, **TSHr Pro52Thr**: Tiroid situmulan hormon reseptörü prolin 52 treonin polimorfizmi, **D1 (C/T)**: Deiyodinaz 1geni polimorfizmi, **D2 Thr92Ala**: Deiyodinaz 2 treonin 92 alanin polimorfizmi, **PZR**: Polimeraz zincir reaksiyonu, **bç**: Baz çifti.

Polimeraz Zincir Reaksiyon Karışımının Hazırlanması

Tiroid sitümulan hormon reseptörü prolin 52 tirionin polimorfizmi için: Bir hasta için kullanılan miktarlar aşağıdaki Tablo 4'te sunulmaktadır.

Tablo 4. Tiroid situmulan hormon reseptörü prolin 52 treonin polimorfizmi için polimeraz zincir reaksiyonu bileşenleri

PZR Bileşeni	25 µl karışımdaki miktar
1x PZR Tamponu (NH ₄) ₂ SO ₄ içeren	2,5 µL
MgCl ₂ (1,5 mM)	1,5 µL
Primer F	0,5 µL
Primer R	0,5 µL
dNTP (0,2 mM)	0,5 µL
Taq polimeraz (1,25 U)	0,25 µL
Genomik DNA	2 µL
Distile su	17,25 µL
Toplam hacim	25 µL

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu, **(NH₄)₂SO₄:** Amonyum sülfat, **MgCl₂:** Magnezyum klorür, **Primer F:** İleri primer dizisi, **Primer R:** Geri primer dizisi, **dNTP:** deoksiribo nükleozid trifosfat, **DNA:** Deoksiribonükleik asit.

Deiyodinaz 1 polimorfizmi için:

Bir hasta için kullanılan miktarlar aşağıdaki Tablo 5'te sunulmaktadır.

Tablo 5. Deiyodinaz 1 polimorfizmi için polimeraz zincir reaksiyonu bileşenleri

PZR Bileşeni	25 µl karışımdaki miktar
1x PZR Tamponu (NH ₄) ₂ SO ₄ içeren	2,5 µL
MgCl ₂ (1,5 mM)	1,5 µL
Primer F	0,5 µL
Primer R	0,5 µL
dNTP (0,2 mM)	0,5 µL
Taq polimeraz (1,25 U)	0,25 µL
Genomik DNA	2 µL
Distile su	17,25 µL
Toplam hacim	25 µL

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu, **(NH₄)₂SO₄:** Amonyum sülfat, **MgCl₂:** Magnezyum klorür, **Primer F:** İleri primer dizisi, **Primer R:** Geri primer dizisi, **dNTP:** deoksiribo nükleozid trifosfat, **DNA:** Deoksiribonükleik asit.

Deiyodinaz 2 treonin 92 alanin polimorfizmi için:

Bir hasta için kullanılan miktarlar aşağıdaki Tablo 6'da sunulmaktadır.

Tablo 6. Deiyodinaz 2 treonin 92 alanin polimorfizmi için polimeraz zincir reaksiyon bileşenleri

PZR Bileşeni	25 µl karışımdaki miktar
1x PZR Tamponu (NH ₄) ₂ SO ₄ içeren	2,5 µL
MgCl ₂ (1,5 mM)	1,5 µL
Primer F	0,5 µL
Primer R	0,5 µL
dNTP (0,2 mM)	0,5 µL
Taq polimeraz (1,25 U)	0,25 µL
Genomik DNA	2 µL
Distile su	17,25 µL
Toplam hacim	25 µL

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu, **(NH₄)₂SO₄:** Amonyum sülfat, **MgCl₂:** Magnezyum klorür, **Primer F:** İleri primer dizisi, **Primer R:** Geri primer dizisi, **dNTP:** deoksiribo nükleozid trifosfat, **DNA:** Deoksiribonükleik asit.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu Şartları

Tiroid situmulan hormon reseptörü, deiyodinaz 1 ve deiyodinaz 2 gen polimorfizmleri için optimize edilmiş PZR şartları Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Polimeraz zincir reaksiyonu şartları

	Başlangıç Denaturasyonu	Tepkime Döngüsü (35 Döngü)			Son Sentez Aşaması
		Denatürasyon Aşaması	Hibridizasyon Aşaması	Sentez (uzama) Aşaması	
TSHr Pro52Thr	96° C’de 5 dk	94° C’de 1dk	58°C’de 1dk	72° C’de 1dk	72° C’de 7dk
D1 (C/T)	96° C’de 5 dk	94° C’de 1dk	55° C’de 1dk	72° C’de 1dk	72° C’de 7dk
D2 Thr92Ala	96° C’de 5 dk	94° C’de 1dk	58°C’de 1dk	72° C’de 1dk	72° C’de 7dk

TSHr Pro52Thr: Tiroid situmulan hormon reseptörü prolin 52 treonin polimorfizmi, **D1 (C/T):** Deiyodinaz 1 geni polimorfizmi, **D2 Thr92Ala:** Deiyodinaz 2 treonin 92 alanin polimorfizmi.

Reaksiyon sonrası oluşan PZR ürünleri EtBr ile boyanmış %2’lik agaroz jelde yürütüldü. Yürütme sonrası jel üzerindeki bandlar UV ışık altında incelendi.

Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi

Restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi, PZR'a dayalı olarak yapılmaktadır. Genomik DNA’daki dizi değişiklikleri belirli kesim bölgeleri yaratır veya varolan kesim bölgelerini ortadan kaldırır. DNA molekülündeki özel çift iplikli dizileri tanıyan spesifik

restriksiyon enzimleri, DNA'yı tanıma bölgesinden veya tanıma bölgesine yakın yerden keser. Daha sonra enzimatik olarak kesilmiş DNA agaroz jel üzerinde yürütülerek allelik varyantlar görüntülenmekte ve genetik farklılık tespit edilebilmektedir (105).

Hedef bölgelerin PZR reaksiyonu ile çoğaltılması sonrasında, TSHr Pro52Thr (C/A), D1(C/T), D2 Thr92Ala (A/G) Polimorfizmlerine ait baz değişimlerinin belirlenmesi için enzim kesim reaksiyonları uygulanmıştır. Bu aşamada, PZR ürünlerinin, bu baz değişikliklerini tanıyan restriksiyon enzimleri ile kesimi gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda yer alan polimorfizmlerin belirlenmesinde kullanılan restriksiyon enzimleri, kesim bölgeleri ve kesim ürünleri Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Araştırdığımız polimorfizmlere ait restriksiyon enzimleri, kesim bölgeleri ve kesim ürünleri

Polimorfizm	Beklenen Baz Değişimi	Restriksiyon Enzimi	Tanıma Bölgesi	Enzim kesim Ürünlerinin Uzunlukları
TSHr Pro52Thr (C/A)	C/A	PsyI (Tth111I)	5'-GACN↓NNGTC-3'	CC:225 bç CA:225, 199, 26 bç
D1 (C/T)	C/T	BclI	5'-T↓GATCA-3'	CC:566 bç CT:566, 434, 132 bç TT: 434, 132 bç
D2 Thr92Ala (A/G)	A/G	RsaI	5'-GT↓AC-3'	AA:412 bç AG:412,363,49 bç GG:363,49 bç

TSHr Pro52Thr: Tiroid situmulan hormon reseptörü prolin 52 treonin polimorfizmi, **D1 (C/T):** Deiyodinaz 1geni polimorfizmi, **D2 Thr92Ala:** Deiyodinaz 2 treonin 92 alanin polimorfizmi, **C:** Sitozin, **T:** Timin, **A:** Adenin, **G:** Guanin, **N:** Nükleotid, **bç:** Baz çifti.

Tiroid Situmulan Hormon Reseptörü Prolin 52 Treonin Polimorfizmi için PsyI (Tth111I) ile Enzim Kesimi

Polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan 225 bç.'lik hedef bölgesi, PsyI (Tth111I) restriksiyon enzimi için tek kesim bölgesi içermektedir. Enzim kesim bölgesi aşağıda verilmektedir:

5'-GACN↓NNGTC-3'

5'-

gcgatttcggaggatggagaaatagccccgagtcctgggaaatgaggccggcgacttgctgcagctggtgctgctgcacct

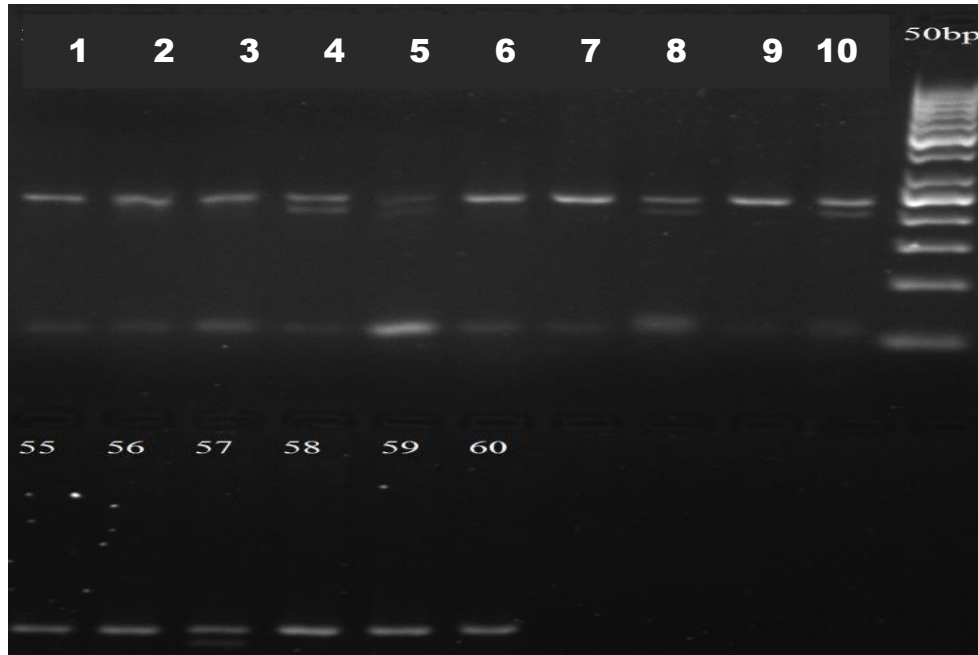
gcccagggacctgggcggaatggggtgttcgtctccaccctgcgagtgccatcaggaggaggacttcagagtcacctgcaaggatat
tcaacgcacccccagcttaccgccc↓ag(ta→gt)cgcagactctgtgagtaccgg-3'

Polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan hedef bölgenin, PsyI (Tth111I) restriksiyon enzimi ile kesilebilmesi için 3'- 5' yönündeki ters primerin iki eşleşmeyen bazı (TA→GT) değiştirildi.

Enzim kesimi için hazırlanan reaksiyon karışımı:

PsyI (Tth111I) enzimi	0,5 µL
1x "Fast Digest Green Buffer" Tamponu	0,5 µL
PZR ürünü	5 µL
Distile su	4 µL
Toplam miktar	10µL

Karışım 37°C'de 30 dk süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda ürünler 2 µl EtBr ile hazırlanan % 2,5'luk agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında oluşan bantlar gözlemlendi (Şekil 11).



1,2,3 6,7,9 No' lu olgular yabani (wild) tip (C/C), 4,5,8,10 No' lu olgular heterozigot (C/A) olarak değerlendirilmiştir.

Şekil 11. Tiroid situmulan hormon reseptörü prolin 52 treonin polimorfizmi için PsyI (Tth111I) ile enzim kesimi

Deiyodinaz 1 Polimorfizmi için Bcl I ile Enzim Kesimi

Polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan 566 bç.'lik hedef bölgesi, BclI restriksiyon enzimi için tek kesim bölgesi içermektedir. Enzim kesim bölgesi aşağıda verilmektedir:

5'-T↓GATCA-3'

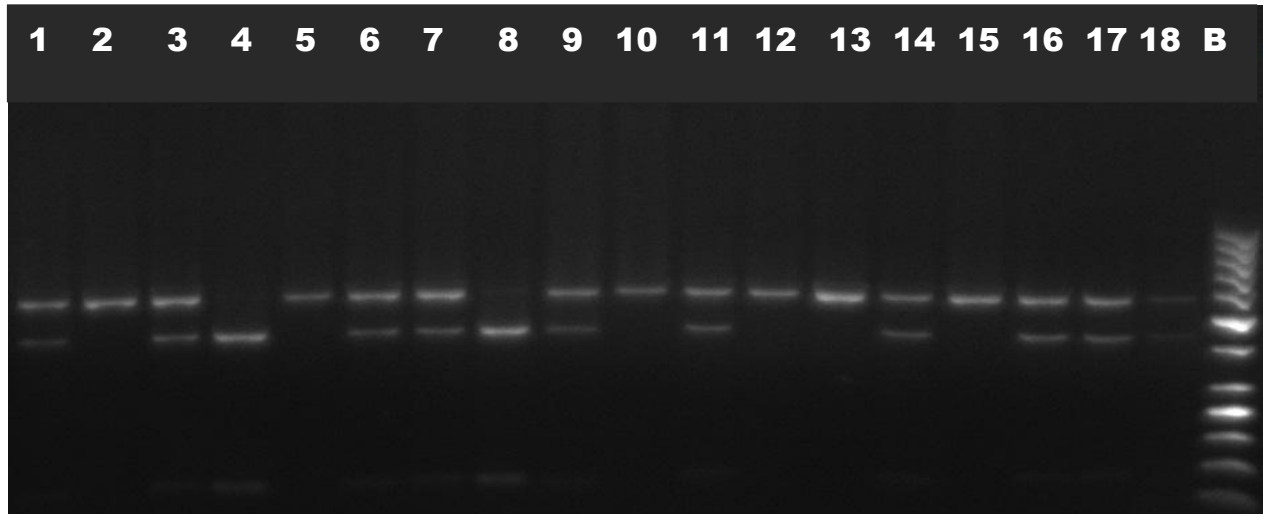
5'-

gaacttgatgtgaaggctggaagattaggccagctctgaaggctctgattatggaagaaaagcttattgtacagaacccttctcttttga
aagactatgtcactttatgtcctctagtttttctacttctctgtccaaccttctgttaactgctgatgccactgtacacactttctcaaccacctc
acgggtgcatctgccattgaattagccatgctgatggctctacacagacatcatttgaccacctcttgcaactaacctccagacctacatg
ttccttacaactggaaatccttacaagttgggaatgcctgattcgtttctcttgagggttaaactggcccttggaactacaaccagagg
aagttcgtgctgttctggaaaagctccacagttaatctggacagatacctcaattctaggt↓ga^ccaacgggagggcttctcaaggctta
gctctccctgagaccagctggctttacccttgacctgtgtccctagctgaatcactagctcagattttctgatctaagc^{aaacaactccc}
agctgaggaat-3'

Enzim kesimi için hazırlanan reaksiyon karışımı:

BclI enzimi	0,5 µL
1x Buffer G Tamponu	0,5 µL
PZR ürünü	5 µL
Distile su	4 µL
Toplam miktar	10µL

Karışım 55°C'de 4 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda ürünler 2 µl EtBr ile hazırlanan % 2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında oluşan bantlar gözlemlendi (Şekil 12).



B: Belirteç DNA. 2, 5, 10, 12, 13, 15 No'lu olgular yabani (wild) tip (C/C), 1, 3, 6, 7, 9, 11, 14, 16, 17, 18 No'lu olgular heterozigot (C/T), 4, 8 No'lu olgular ise homozigot (T/T) genotipi olarak değerlendirilmiştir.

Şekil 12. Deiyodinaz 1 polimorfizmi için Bcl I ile enzim kesimi

Deiyodinaz 2 Treonin 92Alanin Polimorfizmi için Rsa I ile Enzim Kesimi

Polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan 412 bç.'lik hedef bölgesi, Rsa I restriksiyon enzimi için tek kesim bölgesi içermektedir. Enzim kesim bölgesi aşağıda verilmektedir:

5'-GT↓AC-3'

5'-

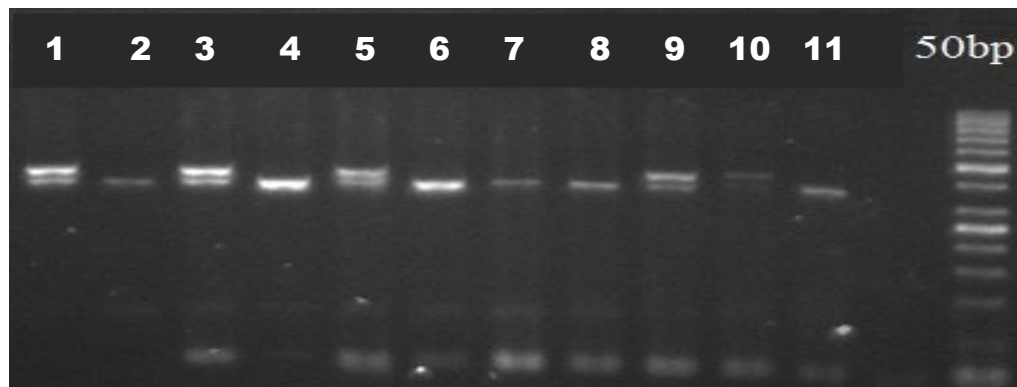
gataagaaagaataacagccttggcttaattttaaaaagagttaactccagtccttcagtgatgaaaataattatcttcagtgactatacag
aatgaaaaagactttattgtcttttgggccattctttacattacctgccatcatgcctctttactcaaatacaataaatgtttacaaatgctctga
aggaaataccacactctattagagccaattgtaactatttaattgaattcaagtggcaatgtgttaattgtgatattctcaccttcttcttct
tctttttttttttttaccgtcaggtgaaattgggtgaggatgcccccaattccagtggtgcatgtctccaagt↓acagaaggaggtgaca
acagtggaatggta(→t)ccaggagaagatagctg-3'

Polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan hedef bölgenin, RsaI restriksiyon enzimi ile kesilebilmesi ve iki kesim bölgesi oluşmaması için 3'- 5' yönündeki ters primerin bir bazı (C→T) değiştirildi.

Enzim kesimi için hazırlanan reaksiyon karışımı:

RsaI enzimi	0,5 µL
1x Fast Digest Green Buffer Tamponu	0,5 µL
PZR ürünü	5 µL
Distile su	4 µL
Toplam miktar	10µL

Karışım 37°C'de 30 dk süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda ürünler 2 µl EtBr ile hazırlanan % 2,5'luk agaroz jelde yürütülerek UV altında oluşan bantlar gözlemlendi (Şekil 13).



1, 3, 5, 9, 10, 15 No'lu olgular heterozigot (A/G), 2, 4, 6, 7, 8, 11 No'lu olgular ise homozigot (G/G) genotipi olarak değerlendirilmiştir

Şekil 13. Deiyodinaz 2 treonin 92 alanin polimorfizmi için Rsa I ile enzim kesimi

İSTATİKSEL ANALİZLER

Tüm sonuçlar SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 20.0 programında yazılarak istatistiksel analizleri yapıldı. Çalışmaya alınan olguların demografik, klinik ve laboratuvar özelliklerinin normal dağılıma uygunluğunu saptamak amacıyla tek örnek Kolmogorov-Simirov testi yapıldı. Bulguların karşılaştırılmasında Student-t, Mann-Whitney U, One Way ANOVA ve Kruskal-Wallis testleri uygulandı. Çalışmada incelenen polimorfizmlerin dağılımı Ki-kare analizi ile değerlendirildi. BMH'ı etkileyen bağımsız değişkenler logistik regresyon analizi ile incelendi. $P<0,05$ değeri istatistiksel anlamlı sınır olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamıza katılan 46'sı erkek, 57'si kadın olan toplam 103 vakanın, yaş ortalaması 35,4 olup; yaşları 25-56 arasında değişmekteydi. Çalışmaya katılan olguların, bel çevresi ortalama 88,2 cm (aralık 58-117) olup; bel kalça oranları ortalama 0,91 idi. Olguların VKİ ortalaması 25,8 kg/m² ve yağ oranları ise ortalama %23,3 idi. Olguların açlık kan şekerlerine bakıldığında 50-122 mg/dl arasında değiştiği ve ortalamasının 88,3 mg/dl olduğu belirlendi. sT₃, sT₄ ve TSH değerlerinin ortalamaları ise sırasıyla 3,80 pg/ml, 0,98 ng/dl ve 1,64 UI/ml belirlendi. Ayrıca olguların BMH ortalaması 1570,7 kcal ve HOMA-IR değerleri ortalaması ise 1,51 olarak bulundu. Çalışmaya katılan tüm olguların demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri Tablo 9'da sunulmaktadır.

Çalışmaya alınan olguların cinsiyetlerine göre klinik ve laboratuvar özellikleri incelendi. Çalışmaya alınan 46 erkek hastanın yaş ortalaması 36,6 olup yaşları 26-56 arasında değişmekteydi. Olguların bel çevresi ortalama 94,3 cm ve bel kalça oranları ortalama 0,93 idi. Erkek olguların VKİ ortalaması 26,7 kg/m² olarak bulundu. Yağ oranlarına bakıldığında ortalama %19,7 idi. Açlık kan şekerleri 74-110 mg/dl arasında değişip ortalama 91,6 mg/dl idi. sT₃, sT₄, TSH değerlerinin ortalamaları sırası ile 3,81 pg/ml, 1,0 ng/dl ve 1,41 UI/ml idi. Olguların bazal metabolizma hızları ortalama 1781,4 kcal olup; HOMA-IR ortalama 1,67 idi.

Çalışmaya alınan 57 kadın hastanın yaş ortalaması 34,5 olup yaşları 25-54 arasında değişmekteydi. Olguların bel çevresi ortalama 83,2 cm ve bel kalça oranları ortalama 0,89 idi. Kadın olguların VKİ ortalama 25,1 kg/m² olarak bulundu. Ortalama yağ oranları ise ortalama %26,3'tü. Açlık kan şekerleri 50-122 mg/dl arasında değişip ortalama 85,6 mg/dl idi. sT₃, sT₄, TSH değerlerinin ortalamaları sırası ile 3,8 pg/ml, 0,97 ng/dl ve 1,82 UI/ml idi. Olguların

bazal metabolizma hızları ortalama 1400,7 kcal olup; HOMA-IR ortalama 1,37 olarak hesaplandı.

Tablo 9. Çalışmaya alınan olguların demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri

Olgu Sayısı: 103 (K/E:57/46)	Ortalama	Minimum –Maksimum Değerler	Referans Değerler
Yaş	35,4	25-56	
Bel çevresi (cm)	88,2	58-117	
Bel/Kalça	0,91	0,69-1,20	
VKİ (kg/m²)	25,8	15,2-39	
Yağ oranı (%)	23,3	2,0-45,8	
AKŞ (mg/dl)	88,3	50-122	74-106
Total kolesterol (mg/dl)	177,1	75-285	0-200
LDL-kolesterol (mg/dl)	125,4	38,4-204	0-160
HDL-kolesterol (mg/dl)	49,8	20-81,5	40-60
TG (mg/dl)	118,1	41-572	0-250
sT₃ (pg/ml)	3,80	2,29-5,52	2,3-5,1
sT₄ (ng/dl)	0,98	0,69-1,24	0,89-1,76
TSH (IU/ml)	1,64	0,14-5,24	0,4-4
İnsülin (IU/ml)	1,51	0,3-7,2	1,9-23
BMH (kcal)	1570,7	1170-2281	
HOMA-IR	1,51	0,3-7,2	

VKİ: Vücut kütle indeksi, **AKŞ:** Açlık kan şekeri, **LDL-kolesterol:** Low dansity lipoprotein-cholesterol, **HDL-kolesterol:** High dansity lipoprotein cholesterol, **TG:** Trigliserid, **sT₃:** Serbest T₃, **sT₄:** Serbest T₄, **TSH:** Tiroid situmulan hormon, **BMH:** Bazal metabolizma hızı, **HOMA-IR:** Homeostasis model assessment of insulin resistance, **K:** Kadın, **E:** Erkek.

Yaptığımız çalışmada, VKİ açısından incelendiğinde erkeklerin kadınlara göre daha yüksek değeri olduğu (p<0,001), buna rağmen erkeklerde ortalama yağ oranlarının kadınlara oranla anlamlı derecede az olduğu (p<0,001) tespit edildi. Erkeklerin ortalama açlık kan şekeri değerinin kadınlardan anlamlı derecede daha yüksek olduğunu gözlemlendi (p<0,01).

Serum lipid profili değerlendirildiğinde, erkeklerde LDL-kolesterol (p<0,01) ve trigliserid (p<0,01) düzeylerinin kadınlara oranla daha yüksek olduğu; HDL-kolesterol (p<0,001) miktarının ise kadınlarda daha yüksek olduğu gözlemlendi.

Erkek olguların TSH değerleri ortalaması 1,41 UI/ml, kadınların ise 1,82 UI/ml idi. Aralarında anlamlı derecede fark bulundu ($p<0,05$).

Her iki cinsin bazal metabolizma hızları değerlendirildiğinde; erkeklerin bazal metabolizma hızı 1781,4 kcal, kadınları bazal metabolizması hızı ise 1400,7 kcal idi. Aralarında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttu ($p<0,001$).

Çalışmaya alınan olguların cinsiyetlerine göre demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri Tablo 10’da sunulmaktadır.

Tablo 10. Çalışmaya alınan olguların cinsiyetlerine göre klinik ve laboratuvar özellikleri

	Erkek Olgular		Kadın Olgular		p
	Ortalama	Min-Maks	Ortalama	Min-maks	
Yaş	36,6	26-56	34,5	25-54	*
Bel çevresi (cm)	94,3	71-117	83,2	47-58	*
Bel/Kalça	0,93	0,79-1,15	0,89	0,69-1,20	*
VKİ (kg/m ²)	26,7	18,8-39	25,1	15,2-37,9	<0,001
Yağ oranı (%)	19,7	3,3-31,6	26,3	2,0-45,8	<0,001
AKŞ (mg/dl)	91,6	74-110	85,6	50-122	<0,01
Total kolesterol (mg/dl)	181,6	75-285	173,5	88-249	*
LDL-kolesterol (mg/dl)	135	52-204	117,7	38,4-189,5	<0,01
HDL-kolesterol (mg/dl)	42,8	20-68,2	55,4	32,1-81,5	<0,001
TG (mg/dl)	150,1	46-572	92,3	41-243	<0,01
sT ₃ (pg/ml)	3,81	2,29-5,47	3,8	2,31-5,52	*
sT ₄ (ng/dl)	1	0,70-1,24	0,97	0,69-1,24	*
TSH (IU/ml)	1,41	0,14-3,20	1,82	0,25-5,24	<0,05
İnsülin (IU/ml)	1,67	0,5-7,2	1,37	0,3-6,5	*
BMH (kcal)	1781,4	1414-2281	1400,7	1170-1663	<0,001
HOMA-IR	1,67	0,5-7,2	1,37	0,3-6,5	*

VKİ: Vücut kütle indeksi, AKŞ: Açlık kan şekeri, LDL-kolesterol: Low density lipoprotein-cholesterol, HDL-kolesterol: High density lipoprotein cholesterol, TG: Trigliserid, sT₃: Serbest T₃, sT₄: Serbest T₄, TSH: Tiroid situmulan hormon, BMH: Bazal metabolizma hızı, HOMA-IR: Homeostasis model assessment of insulin resistance, *: $p>0,05$.

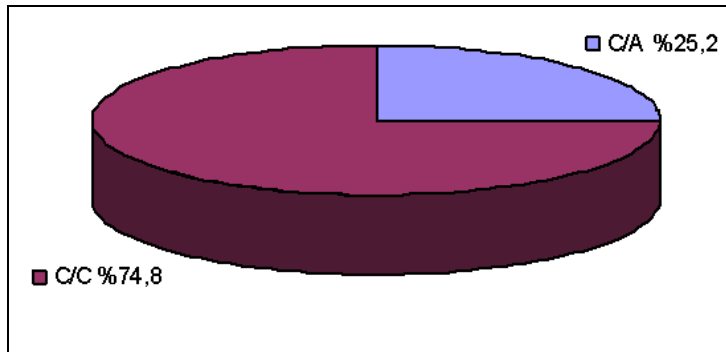
Çalışmamızda incelenen polimorfizmlerin dağılımları Tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11. Çalışmaya alınan tüm olguların tiroid situmulan hormon reseptörü prolin 52 treonin polimorfizmi, deiyodinaz 1 polimorfizmi, deiyodinaz 2 treonin 92 alanin polimorfizmlerinin dağılımları

Polimorfizm		Olgu Sayısı (n:)	Alel frekansı (%)
TSHr Pro52Thr	C/A	26	C: %87,3
	C/C	77	A: %12,6
Toplam		103	%100
D1	C/C	50	C: % 68
	C/T	40	T: % 32
	T/T	13	
Toplam		103	%100
D2 Thr92Ala	A/A	43	A: % 64
	A/G	46	G: % 36
	G/G	14	
Toplam		103	%100

TSHr Pro52Thr: Tiroid situmulan hormon reseptörü prolin 52 treonin polimorfizmi, **D1:** Deiyodinaz 1geni polimorfizmi, **D2 Thr92Ala:** Deiyodinaz 2 treonin 92 alanin polimorfizmi, **A:** Adenin, **G:** Guanin, **C:** Sitozin, **T:** Timin

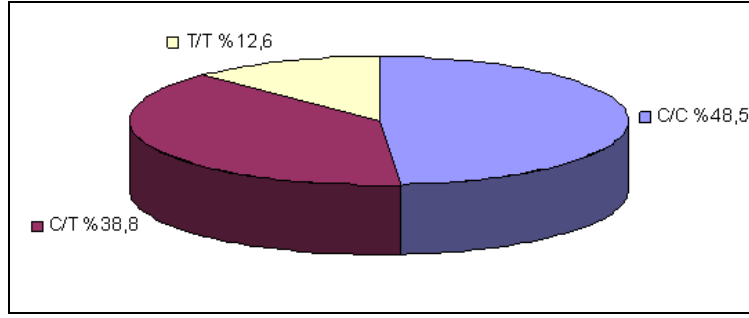
Tiroid situmulan hormon reseptörü prolin 52 tirionin (C/A) polimorfizmi açısından çalışmaya katılan olguların 26'sında C/A polimorfizmi saptanmış olup; tüm olguların %25,2'sini oluşturmaktadır (Şekil 14).



C: Sitozin, A: Adenin

Şekil 14. Tiroid situmulan hormon reseptörü prolin 52 treonin polimorfizminin dağılımı

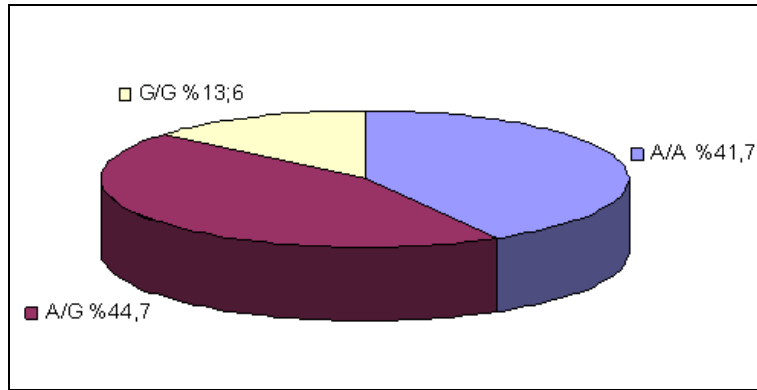
Yaptığımız çalışmada, 50 olguda C/C genotipi (%48,5) tespit edilmiş olup, 40 olguda heterozigot olarak C/T genotipi (%38,8) saptanmıştır. Ayrıca 13 olguda homozigot olarak T/T genotipi saptanmış olup olguların %12,6'sını oluşturmaktadır (Şekil 15).



C: Sitozin, T: Timin.

Şekil 15. Deiyodinaz 1 polimorfizminin dağılımı

Çalışmamızda, 43 olguda A/A genotipi (%41,7) tespit edilmiş olup, 46 olguda heterozigot olarak A/G genotipi (%44,7) saptanmıştır. Ayrıca 14 olguda homozigot olarak G/G genotipi saptanmış olup olguların %13,6'sını oluşturmaktadır (Şekil 16).



A: Adenin, G: Guanin.

Şekil 16. Deiyodinaz 2 treonin 92 alanin (A/G) polimorfizminin dağılımı

Çalışmaya katılan olgularda tespit edilen polimorfizmlerin olguların klinik ve laboratuvar değerleri üzerine etkili olup olmadığını araştırdık. TSHR Pro52Thr polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde; C/A genotipine sahip polimorfik olgular ile C/C genotipine sahip normal olgular arasında cinsiyet ve yaş açısından fark olmadığı saptandı. Kadınlarda C/A genotipi oranı %26, C/C genotipi oranı %74 olarak, erkeklerde ise C/A oranı %24, C/C genotipi oranı %76 olarak hesaplanmıştır. Cinsiyet ile genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Tiroid fonksiyonları açısından değerlendirildiğinde, C/A genotipik olgular ile C/C genotipine sahip olguların değerlerinin benzer olduğu aralarında anlamlı farklılık olmadığı gözlemlendi.

Olguların ortalama yağ oranları ve VKİ değerleri karşılaştırıldığında, yağ oranlarının C/A genotipik olgularda $22,2\pm 23,7$; C/C genotipik olgularda $23,7\pm 9,1$ ile benzer olduğu, aralarında anlamlı farklılık olmadığı saptandı. Ortalama VKİ değerleri de her iki grupta benzerdi. ($25,3\pm 4,7$ kg/m²; $25,9\pm 4,1$ kg/m²) Ayrıca C/A genotipik olgular ile C/C genotipik olgular arasında bel çevresi ve bel- kalça oranları arasında da anlamlı farklılık gözlenmedi.

Olguların ortalama bazal metabolizma hızları ve insülin dirençleri açısından değerlendirildiğinde; C/A genotipik olgularda BMH $1537\pm 251,6$ kcal, HOMA-IR $1,48\pm 1,19$; C/C olgularda BMH 1581 ± 260 kcal, HOMA-IR $1,52\pm 0,95$ olarak saptandı. Aralarında anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 12).

Tablo 12. Olguların tiroid situmulan hormon reseptörü prolin 52 treonin polimorfizm sonuçlarına göre klinik ve laboratuvar özellikleri

TSHr Pro52Thr		C/A	C/C	P
Olgu Sayısı:103		26	77	*
Cinsiyet	Erkek n:46	11	35	*
	%	%24	%76	
	Kadın n:57	15	42	*
	%	%26	%74	
Yaş		$34,2\pm 7,3$	$35,9\pm 8,2$	*
Bel çevresi (cm)		$87,5\pm 13,2$	$88,45\pm 12,4$	*
Bel /Kalça		$0,91\pm 0,12$	$0,9\pm 0,11$	*
Yağ oranı (%)		$22,2\pm 23,7$	$23,7\pm 9,1$	*
VKİ (kg/m ²)		$25,3\pm 4,7$	$25,9\pm 4,1$	*
sT ₃ (pg/ml)		$3,7\pm 0,7$	$3,8\pm 0,7$	*
sT ₄ (ng/dl)		$0,98\pm 0,13$	$0,98\pm 0,11$	*
TSH (IU/ml)		$1,39\pm 0,96$	$1,72\pm 0,98$	*
HOMA-IR		$1,48\pm 1,19$	$1,52\pm 0,95$	*
BMH (kcal)		$1537\pm 251,6$	$1581\pm 260,2$	*

VKİ: Vücut kütle indeksi, **sT₃:** Serbest T₃, **sT₄:** Serbest T₄, **TSH:** Tiroid situmulan hormon, **BMH:** Bazal metabolizma hızı, **HOMA-IR:** Homeostasis model assessment of insulin resistance, **C:** Sitozin, **A:** Adenin *: p>0,05.

Deiyodinaz 1 (C/T) polimorfizmine sahip olgular, normal genotipik olgular (C/C) ve homozigot (T/T) olgular ile karşılaştırıldığında cins ve yaş dağılımları benzer olarak saptandı. Kadınlarda C/T genotipi oranı %40,3, C/C genotipi oranı %47,3 ve T/T genotipi oranı %12,4 olarak, erkeklerde ise C/T oranı %37, C/C genotipi oranı %50 ve T/T genotipi oranı %13 olarak hesaplanmıştır. Cinsiyet ile genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Olgular tiroid fonksiyonları açısından değerlendirildiklerinde C/T genotipik olgular ile diğer olgular arasında anlamlı farklılık olmadığı gözlemlendi. Grupların ortalama tiroid fonksiyon testleri arasında fark tespit edilmedi.

Olguların VKİ ve yağ oranları değerlendirildiğinde; C/T genotipik olgularda VKİ $26\pm4,3$ kg/m², yağ oranı % 24,2 $\pm$ 8,3; C/C genotipik olgularda VKİ $25,5\pm4,1$ kg/m², yağ oranı %22,2 $\pm$ 9,6; T/T genotipik olgularda ise VKİ $26,2\pm4,9$ kg/m², yağ oranı %25 $\pm$ 9,6 idi. Aralarında anlamlı farklılık yoktu. Ayrıca olguların bel çevresi ve bel-kalça oranları da benzerdi.

Olgular, bazal metabolizma hızları ve insülin dirençleri açısından değerlendirildiğinde C/T genotipik olgularda BMH 1572 ± 274 kcal, HOMA-IR $1,51\pm0,64$; C/C olgularda BMH 1578 ± 268 kcal, HOMA-IR $1,47\pm1,07$; T/T genotipik olgularda BMH 1536 ± 148 kcal, HOMA-IR $1,68\pm1,63$ olarak saptandı. Aralarında anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 13).

Tablo 13. Olguların deiyodinaz 1 polimorfizm sonuçlarına göre klinik ve laboratuvar özellikleri

D1 polimorfizmi		C/C	C/T	T/T	P
Olgu Sayısı 103		50	40	13	*
Cinsiyet	Erkek n:46	23	17	6	*
	%	% 50	% 37	% 13	
	Kadın n:57	27	23	7	*
	%	% 47,3	% 40,3	% 12,4	
Yaş		35,2 $\pm$ 7,9	34,7 $\pm$ 6,8	38,8 $\pm$ 10,7	*
Bel çevresi (cm)		89,5 $\pm$ 12,5	86,2 $\pm$ 12,8	89 $\pm$ 11,9	*
Bel/ Kalça		0,92 $\pm$ 0,12	0,87 $\pm$ 0,10	0,95 $\pm$ 0,13	*
Yağ oranı (%)		22,2 $\pm$ 9,6	24,2 $\pm$ 8,3	25 $\pm$ 9,6	*
VKİ (kg/m ²)		25,5 $\pm$ 4,1	26 $\pm$ 4,3	26,2 $\pm$ 4,9	*
sT ₃ (pg/ml)		3,76 $\pm$ 0,75	3,87 $\pm$ 0,79	3,75 $\pm$ 0,42	*
sT ₄ (ng/dl)		0,98 $\pm$ 0,12	0,98 $\pm$ 0,12	0,98 $\pm$ 0,10	*
TSH (IU/ml)		1,65 $\pm$ 1,02	1,51 $\pm$ 0,85	2,0 $\pm$ 1,1	*
BMH (kcal)		1578,3 $\pm$ 268	1572 $\pm$ 274	1536 $\pm$ 148	*
HOMA-IR		1,47 $\pm$ 1,07	1,51 $\pm$ 0,64	1,68 $\pm$ 1,63	*

VKİ: Vücut kütle indeksi, **sT₃:** Serbest T₃, **sT₄:** Serbest T₄, **TSH:** Tiroid sitümülan hormon, **BMH:** Bazal metabolizma hızı, **HOMA-IR:** Homeostasis model assessment of insulin resistance, **C:** Sitozin, **T:** Timin, *: p>0,05.

Deiyodinaz 2 treonin 92 alanin (A/G) polimorfizmine sahip olgular, normal genotipik olgular (A/A) ve homozigot (G/G) olgular ile karşılaştırıldığında cins ve yaş dağılımları benzerdi. Kadınlarda A/G genotipi oranı %46, A/A genotipi oranı %42 ve G/G genotipi oranı

%12 olarak, erkeklerde ise A/G oranı %43,4, A/A genotipi oranı %41,3 ve G/G genotipi oranı %15,3 olarak hesaplanmıştır. Cinsiyet ile genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Olgular tiroid fonksiyonları açısından değerlendirildiklerinde, A/G genotipik olgular ile diğer olgular arasında anlamlı farklılık olmadığı gözlemlendi.

Olguların VKİ ve yağ oranları değerlendirildiğinde; A/G genotipik olgularda VKİ $25,5 \pm 4,2$ kg/m², yağ oranı %22,7 $\pm$ 9,3; A/A genotipik olgularda VKİ $25,7 \pm 4,3$ kg/m², yağ oranı %22,8 $\pm$ 8,9; G/G genotipik olgularda ise VKİ $26,7 \pm 4,7$ kg/m², yağ oranı %27,1 $\pm$ 8,3 idi. Aralarında anlamlı farklılık yoktu. Ayrıca olguların bel çevresi ve bel-kalça oranları da benzer özellikte idi (Tablo 14).

Tablo 14. Olguların deiyodinaz 2 treonin 92 alanin polimorfizm sonuçlarına göre klinik ve laboratuvar özellikleri

D2 Thr92Ala		A/A	A/G	G/G	P
Olgu Sayısı:103		43	46	14	*
Cinsiyet	Erkek n:46	19	20	7	*
	%	% 41,3	% 43,4	% 15,3	
	Kadın n:57	24	26	7	*
	%	% 42	% 46	% 12	
Yaş		34,5 $\pm$ 7,2	36,4 $\pm$ 9,1	35,2 $\pm$ 6	*
Bel çevresi (cm)		86,6 $\pm$ 13,0	88,5 $\pm$ 12,3	92,1 $\pm$ 11,9	*
Bel/ Kalça		0,88 $\pm$ 0,1	0,93 $\pm$ 0,13	0,90 $\pm$ 0,08	*
Yağ oranı (%)		22,8 $\pm$ 8,9	22,7 $\pm$ 9,3	27,1 $\pm$ 8,3	*
VKİ (kg/m ²)		25,7 $\pm$ 4,3	25,5 $\pm$ 4,2	26,7 $\pm$ 4,7	*
sT ₃ (pg/ml)		3,8 $\pm$ 0,7	3,7 $\pm$ 0,78	3,8 $\pm$ 0,65	*
sT ₄ (ng/dl)		1,0 $\pm$ 0,11	0,96 $\pm$ 0,11	0,99 $\pm$ 0,13	*
TSH (IU/ml)		1,7 $\pm$ 0,9	1,61 $\pm$ 1,09	1,5 $\pm$ 0,87	*
BMH (kcal)		1551 $\pm$ 264	1566 $\pm$ 248	1644 $\pm$ 271	*
HOMA-IR		1,59 $\pm$ 1,34	1,37 $\pm$ 0,66	1,7 $\pm$ 0,74	*

VKİ: Vücut kütle indeksi, sT₃: Serbest T₃, sT₄: Serbest T₄, TSH: Tiroid situmulan hormon, BMH: Bazal metabolizma hızı, HOMA-IR: Homeostasis model assessment of insulin resistance, *: p>0,05, A: Adenin, G: Guanin.

Bazal metabolizma hızına etki edebilecek klinik ve laboratuvar bulguları logistik regresyon analizi ile incelendi. Serum TSH, VKİ, yağ oranları, bel çevresi, HOMA-IR, yaşın bazal metabolizma üzerine etkili olduğunu saptadık. Bazal metabolizma hızı ile TSH, yaş ve ortalama yağ oranları arasında negatif bir ilişki; bel çevresi, HOMA-IR ve VKİ arasında pozitif bir ilişki tespit ettik (Tablo 15).

Tablo 15. Bazal metabolizma hızını etkileyen faktörler

	Beta	p	% 95 güven aralığı
Bel Çevresi	0,46	<0,001	5,7-13,2
Yaş	(-)030	<0,001	(-)13,6-(-)6,1
HOMA-IR	0,17	<0,01	12,9-73,6
Yağ Oranı	(-)0,43	<0,001	(-)16,8-(-)7,8
VKİ	0,58	<0,001	20,7-49,1
TSH	(-)0,15	<0,05	(-)70,2-(-)9,8

VKİ: Vücut kütle indeksi, **TSH:** Tiroid stimulan hormon, **HOMA-IR:** Homeostasis model assessment of insulin resistance.

TARTIŞMA

Tiroid hormonları, insanda metabolik ve gelişim süreçlerinde önemli bir rol oynar. Beyin ve iskelet sisteminin gelişimi ve olgunlaşması, ısı üretimi, oksijen tüketimi, çeşitli hormonların sekresyon ve metabolizmasının düzenlenmesi ve kalp kasılması üzerine olan etkileri tiroid hormonlarının etkilerine verilebilecek örneklerdir. Dokulardaki tiroid hormonlarının biyoaktivitesi, iyodotironin deiyodinazlar (D1, D2, D3) tarafından düzenlenmektedir. Tiroid hormon metabolizması ile ilgili genlerdeki polimorfizmler tiroid hormon düzeylerini ve biyoaktivitelerini etkileyebilir (3). Bu çalışmada, sağlıklı olgularda tiroid hormon metabolizması ile ilişkili genlerden, özellikle TSH ve deiyodinaz enzim genlerindeki polimorfizmlerin bazal metabolizma üzerine etkilerini araştırdık.

Tiroid situmulan hormon reseptör geni ile ilgili aminoasit değişimi ile sonuçlanan üç adet polimorfizm saptanmıştır (60-62). Bunlardan iki tanesi reseptörün hücre dışı alanında lokalize (Asp36His ve Pro52Thr) (60,61) bir tanesi ise hücre içi alanda yer almaktadır (Asp 727 Glu) (62). TSHr Pro52Thr polimorfizmi, TSH reseptör geninin 52. kodonunda 253. pozisyonundaki sitozin bazının adenin ile yer değiştirmesi sonucu, reseptörün hücre dışı kısmında prolin aminoasidinin yerine treonin geçmesine neden olur (3,63). Bahn ve ark. (106) 1994 yılında 22 Graves hastasında yaptığı çalışmada, 2 olguda TSHr Pro52Thr polimorfizmine rastlanmış ve sıklığı %9 olarak bildirilmiştir. Bohr ve ark. (107) 1993 yılında Graves'li olgularda yaptığı çalışmada %8 oranında TSHr Pro52Thr polimorfizmine rastlamıştır. Yine Sunthornthepvarakul ve ark. (60) 60 normal tiroid fonksiyonuna sahip, antikorları negatif sağlıklı olguda yaptıkları çalışmada ise, Thr52 polimorfizm sıklığını %12 olarak saptamışlardır. Yine aynı otör A253;Thr52 alel sıklığını %5,8 olarak bulmuştur. 2003 yılında Peeters ve ark. (3) sağlıklı olgularda tiroid hormon yolağındaki gen polimorfizmlerini

araştırmışlar ve 155 olgunun %9'unda TSHr Pro52Thr polimorfizmi olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, A253;Thr52 alel sıklığını %5,8 olarak belirlemişlerdir. Bizim çalışmamıza katılan 103 olgunun 26'sında TSHr Pro52Thr (C/A) polimorfizmi saptandı. TSHr Pro52Thr (C/A) polimorfizmi, tüm olguların %25,2'sini oluşturmaktaydı. Alel frekansına baktığımızda, A253;Thr 52 alel sıklığı %12,6 olarak belirlendi. Diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında sonuçlarımızın daha yüksek olduğu görülmektedir. Bunun da nedeni olarak çalışılan grupların etnik köken farklılığı olarak düşünüldü.

Tiroid situmulan hormon uyarısına TSHr Pro52Thr varyantının yanıtı ile ilgili zıt çalışmalar vardır (63,68,69). 1993 yılında Bohr ve ark. (107) 50 Graves hastası ile yaptığı çalışmada, 4 tanesinde heterozigot olarak bu polimorfizmi tespit etmişlerdir. Hastalığın Graves ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüştür. Yine yapılan çalışmalarda, Kafkas ırkından olan 100 otoimmün tiroid hastalığına sahip kadın ile 69 kontrol grubu olgu karşılaştırılmış, TSHr Pro52Thr polimorfizmi ile otoimmün tiroid hastalıkları arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. TSHr Pro52Thr polimorfizmine sahip grupta, Graves Hastalığı'nın tiroid dışı bulgularının (Graves oftalmopatisi, pretibial dermatopati ve akropati) daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu ilişkinin nedeni olarak ise; TSHr pro52Thr polimorfizminin, reseptörün üç boyutlu yapısında değişikliğe neden olması ve bunun sonucunda reseptörün TSH'ya olan yanıtının değişmesi, ayrıca üç boyutlu yapısındaki değişiklik nedeniyle daha immünojenik olması, T hücre-reseptör ilişkisini değiştirmesi olarak ileri sürülmüştür (72,106). Buna karşıt olarak aynı yıllarda Loos ve ark. (69) Çin hamster over hücrelerinde yaptıkları çalışmada, TSHr Pro52Thr polimorfizminin reseptörün membrandaki lokalizasyonunu ve sentezini etkilemediği göstermişlerdi. Bu çalışmada varyant reseptör ile normal reseptör sayılarının ve TSH'ya olan affinitelerinin benzer olduğu fakat varyant reseptör üreten hücrelerde, TSH ile oluşan cAMP üretiminin daha fazla olduğu bulunmuştur. Bunun da TSH reseptör hiperaktivitesine ve hipertiroideye neden olabileceği ileri sürülmüştür.

Cuddihy ve ark. (68) daha sonraki yıllarda yaptıkları çalışmada, homozigot TSHr Pro52Thr polimorfizmine sahip 2 olguda tiroid fonksiyonlarının normal olduğu saptanmıştır. TSHr Pro52Thr polimorfizmi açısından 307 olgu taranmış, bunlardan 29 olguda heterozigot ve 3 olguda ise homozigot olarak bu polimorfizme rastlanmıştır. 3 olgudan 2'sinde klinik bilgiler tam olarak elde edilmiş ve bu olgularda daha önce tiroid hastalığı olmadığı saptanmıştır. Yapılan çalışma sonunda homozigot TSHr Pro52Thr polimorfizmine sahip 2 olgunun klinik olarak ötiroid oldukları, tiroid fonksiyonlarının normal olduğu, antimikrozomal ve antitiroglobulin antikorlarının negatif olduğu bulunmuştur. Bu da bize

TSHr Pro52Thr polimorfizminin reseptör yapısını değiştirse bile TSH'ya normal yanıt verebileceğini göstermiştir. Ayrıca homozigot olan olgularda heterozigot olanlara göre otoimmün tiroid hastalıklarının daha fazla olacağı düşünülse de; bu iki olguda otoimmün tiroid hastalığının olmaması, homozigot polimorfik reseptörün tiroid glandına karşı immün yanıt oluşmasında tek başına yeterli olmadığını göstermiştir.

Sunthornthepvarakul ve ark. (60) 60 olguda (53'ü Kafkas ırkı, 3'ü Aborjin, 2' si Amerikan siyahi ve 2 Japon ırkı) TSHr Pro52Thr polimorfizmini araştırmış. 7 olguda bu polimorfizme heterozigot olarak rastlamış. Heterozigot polimorfizme sahip olgularda sT₄ ve TSH düzeylerinin normal sınırlarda olduğunu, polimorfizme sahip olmayan olgular ile polimorfizme sahip olgular arasında tiroid fonksiyonları açısından anlamlı fark olmadığını saptamışlardır. Peeters ve ark. (67) 2007 yılında 70 yaş ve üzeri, diyabeti ve tiroid hastalığı olmayan 303 olguda yaptıkları çalışmada, TSH reseptör polimorfizmlerinin insülin direnci ve tiroid hormonları düzeyleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Üç yüz üç olgunun 29'unda heterozigot olarak TSHr Pro52Thr polimorfizmini tespit etmişler, A253 Thr52 alel sıklığını %5,1 olarak saptanmışlardır. Çalışma sonunda serum TSH, sT₃ ve sT₄ düzeylerinin TSHr Thr52 aleli taşıyıcıları ile taşıyıcı olmayanlar arasında farklı olmadığı saptanmıştır. Ayrıca TSHr Pro52Thr polimorfizmi ile kan glukoz, insülin, glikolize hemoglobin (Hb A1c), HOMA-IR arasında ilişki saptanmamıştır. Biz de yaptığımız çalışmada 103 sağlıklı olgunun 26'sında heterozigot olarak TSHr Pro52Thr polimorfizmine rastladık. Çalışmamızın sonunda TSHr Thr52 aleli taşıyan olgular ile taşımayan olgular arasında serum TSH, sT₃ ve sT₄ düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu. TSHr Pro52Thr polimorfizmi ile VKİ, yağ oranı, HOMA-IR arasında anlamlı ilişkiye rastlamadık. TSHr Thr52 aleli taşıyan olgular ile taşımayan olguların bazal metabolizma hızları benzerdi. Aralarında anlamlı fark yoktu. Bu sonuçlara dayanarak TSHr Pro52Thr polimorfizminin sağlıklı olgularda antropometrik bulgular ve tiroid hormon düzeylerini etkilemediğini düşünmekteyiz.

Serumda ve doku düzeyinde ötiroidik durumun sürdürülmesinde deiyodinaz enzimleri önemli bir rol oynar (83). Gelişimin farklı aşamalarında, hastalıkların farklı düzeylerinde, farklı dokularda, farklı tiroid hormon aktivitesinin devamı için bu enzimler önemlidir. Bunu da inaktif prohormon olan T₄'den aktif form olan T₃'e dönüşümü ile sağlarlar (77). D1 enzimi, karaciğer, böbrek ve tiroide bulunur, T₄'den aktif hormon olan T₃ üretiminde ve rT₃'ün klirensinde kilit rol oynar (1). Şu ana kadar D1 geni ile ilgili 2 adet polimorfizm tanımlanmıştır (D1-C785T and D1-A1814G). Biz çalışmamızda D1-C785T polimorfizmini çalıştık. Peeters ve ark. (3) 155 sağlıklı olgu üzerinde yaptıkları çalışmada, D1-C785T

polimorfizminin D1 aktivitesini azalttığı, rT_3 miktarını artırıp, T_3/rT_3 oranını azalttığı gösterilmiş. Aynı çalışmada, bu polimorfizmin plazma T_3 konsantrasyonu üzerine etkili olmadığı saptanmıştır. Bunun da nedeni olarak, T_3 metabolizmasında 3 farklı yolağın olması (glukuronidasyon, sülfatlaşma ve D1 tarafından deiyodinasyon) ve plazma T_3 oluşumunda farklı yolların (Tiroidden T_3 sekresyonu, D1 ile T_4 'den T_3 oluşumu ve D2 ile T_4 'den T_3 oluşumu) var olması olarak ileri sürülmüştür. Diğer yandan rT_3 metabolizması ise daha az komplikedir. T_4 'den deiyodinaz enzimi ile oluşur ve D1 ile vücuttan uzaklaştırılır.

Peeters ve ark. (82)'nin bir başka çalışmasında, 156 sağlıklı ve 70 yaş üstü, 350 yaşlı erkekte D1 deiyodinaz enziminin IGF-1 üzerine etkileri araştırılmıştır. D1-C785T polimorfizmine sahip sağlıklı olgularda rT_3 düzeylerinin arttığı, T_3/rT_3 oranının azaldığı gösterilmiştir. D1-C785T polimorfizmine sahip olgularda D1 aktivitesinin azaldığı da tespit edilmiştir. Ayrıca sağlıklı olgularda D1-C785T polimorfizmi ile serum serbest IGF-1 arasında pozitif ilişki saptanmıştır. 350 sağlıklı yaşlı erkekte yaptıkları çalışmada ise, D1-C785T polimorfizminin düşük T_3 düzeyleri ile ilişkili olduğu ve genç olguların tersine rT_3 düzeyleri ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir. Sağlıklı genç olgular ile yaşlı olgular arasındaki bu farkın yaşa bağlı olabileceği, genç olgularda T_3 üretimindeki azalma, iskelet kasındaki D2'nin T_3 üretimi ile maskelenmiş olabileceği ileri sürülmüştür. Bu çalışmada, yaşlı sağlıklı erkeklerde, serum serbest IGF-1'in, D1 785T alelini taşıyanlarda daha yüksek olduğunu gösterilmiştir. D1 sentezi üzerine IGF-1'in uyarıcı etkisi olmasından dolayı, D1 785T aleli taşıyanlarda, IGF-1'in yüksek olması, D1 aktivitesini normalleştirmek amaçlı bir adaptasyon olarak değerlendirilmiştir. Yine bu olguların daha yüksek yağsız vücut kitlesine sahip olduklarını gösterilmiş bunun da yüksek IGF-1 düzeyi ile bağlantılı olabileceği ileri sürülmüştür. Vücut kitle indeksleri ve yağ oranları D1-C785T polimorfizmi taşıyan ve taşımayan grupta ise benzer olarak bulunmuştur. Çalışmamızda, rT_3 düzeyi ölçmediğimiz için D1 ile rT_3 arasındaki ilişkiyi araştıramadık. Fakat yaptığımız çalışmada D1 polimorfizmi ile serum T_3 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptamadık. D1-C785T polimorfizmine sahip olgularla normal olgular arasında VKİ ve yağ oranları arasında da fark yoktu. Ayrıca bu iki grubun bazal metabolizma hızlarının benzer olduğu, aralarında anlamlı fark olmadığını saptadık. Bu nedenle sağlıklı olgularda, D1-C785T polimorfizminde hem tiroid hormon düzeyleri hem de klinik bulgularda farklılığa neden olmadığını düşünmekteyiz.

Deiyodinaz 2 enzimi, beyin, hipofiz bezi, kahverengi yağ dokusu, tiroid, iskelet kası, aort düz kası, osteoblastlar ve kalp kasında bulunur (1). Deiyodinaz 2 enzimi hücre içinde T_4 'den aktif form olan T_3 'e dönüşümü katalize eder. Böylece serum düzeylerinden bağımsız

olarak dokuya özel T_3 aktivasyonunu düzenler (94). Tip 2 deiyodinaz aktivitesi, metabolik stres, soğuğa maruziyet, adrenerjik sitümulasyon, intraselüler cAMP artışına bağlı olarak düzenlenir. D2 aktivitesinin enerji tüketimindeki rolü, safra asidi uygulanan sıçanlarda D2 uyarımına bağlı olarak enerji tüketiminin arttığı gösterilerek ortaya konmuştur (92).

Çalışmamızda D2 Thr92Ala polimorfizmini araştırdık. Yaptığımız çalışmada, 103 olgudan 46'sında (%44,7) heterozigot olarak bu polimorfizme rastladık. D2 92Ala alel sıklığını ise %36 olarak belirledik. D2 Thr92Ala varyantı bazı etnik gruplarda sık görülmekte olup Pima ve Meksikalı Amerikalılarda, sırasıyla %75 ve %42'dir (88). Peeters ve ark (3) 2003 yılında yaptıkları çalışmada alel frekansını %38,8 olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlar D2 polimorfizminin toplumlar arasında farklılıklar göstermesine rağmen sık karşılaşılan bir polimorfizm olduğunu göstermektedir. Yine aynı çalışmada D2 Thr92Ala polimorfizminin serum sT_3 , sT_4 ve TSH düzeyleri ile ilişkili olmadığını saptanmıştır. Bu çalışma ile uyumlu olarak biz de yaptığımız çalışmada, D2 Thr92Ala polimorfizmine sahip olgular ile sahip olmayan olgular arasında serum sT_3 , sT_4 ve TSH düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu.

Bu polimorfizmin, insülin direnci ile olan ilişkisi 3 farklı popülasyonda yapılan çalışmada gösterilmiş (88,89). D2 Thr92Ala polimorfizminin insülin direnci patolojisindeki rolü glukoz harcanma değerlerini %20 azaltması ve HOMA-IR indeksinin Ala92 alelini taşıyan olgularda daha yüksek bulunması olarak açıklanmıştır (88,89). Mentuccia ve ark. (88) yaptıkları çalışmada, Thr92Ala varyantına sahip olgularda glukoz harcanma değerlerinin anlamlı oranda azaldığı ve bu olgularda açlık insülin düzeylerinin artma eğiliminde olduğunu göstermişlerdir. Aynı grup bu polimorfizme sahip olanların D2 aktivitesinin azalmasına bağlı olarak hücre içi T_3 miktarının azalmasına; T_3 miktarının azalmasının da insülin sensitif dokularda örneğin iskelet kası ve yağ dokuda glukoz taşıyıcı (GLUT4) miktarının azalmasına neden olduğunu bulmuşlar. Bunun da insülin direncine neden olduğunu açıklamışlardır. Aynı çalışmada, D2Thr92Ala polimorfizminin kilo ve VKİ ile ilişkili olmadığını saptamışlardır. Mentuccia ve ark. (93) 2005 yılında yaşlı Amish popülasyonunda yaptıkları çalışmada, D2 Thr92Ala polimorfizminin insülin direnci ve Tip 2 diyabetes mellitus ile ilişkili olmadığını gösterdiler. Yine aynı yıllarda Grarup ve ark. (94) 7342 olgu üzerinde yaptıkları çalışmada, D2Thr92Ala polimorfizminin VKİ, bel çevresi, HOMA-IR ve tip 2 DM ile ilişkili olmadığını saptamışlardır. Bu çalışma ile uyumlu olarak biz de yaptığımız çalışmada, D2 Thr92Ala polimorfizminin VKİ, bel çevresi, HOMA-IR ile ilişki olmadığını saptadık. Ayrıca D2 Thr92Ala polimorfizmine sahip olgularla sahip olmayan olgular arasında BMH ve yağ oranları arasında da fark yoktu.

Bazal metabolizma hızı yirmi dört saat süresince herhangi bir fiziksel aktivite yapmadan, istirahat pozisyonunda vücudumuzun harcayabileceği kalori miktarını belirtir. BMH vücut fonksiyonlarını devam ettirmek üzere, kardiy-respiratuvar sistem ve vücut ısını düzenleyen sistemlerin harcadığı minimal enerjiyi ifade eder (39). BMH toplam enerji harcamasının %60-75'i arasındadır. Bu oran kişilerin aktivite seviyelerine göre değişkenlik gösterebilir. Ayrıca vücut kompozisyonu dinlenik metabolizma hızını etkilemektedir. Aynı vücut kilosuna sahip iki kişiden kas oranı fazla olan kişinin yağ oranı fazla olan kişiye oranla BMH değeri yüksektir. Çünkü kasların metabolik değeri yağlardan fazladır (8,41). Biz de çalışmamızda bazal metabolizma hızı üzerine etkili faktörleri değerlendirdik. Yaptığımız çalışmada, yaş, cinsiyet, HOMA-IR, VKİ, bel çevresi ve TSH ile BMH arasında anlamlı ilişkilere rastladık.

Yaşın bazal metabolizma hızı üzerine etkisi ile ilgili olarak birbiri ile çelişen çalışmalar mevcuttur. Bazı çalışmalarda (108) yaşlanma ile beraber enerji tüketiminin azaldığını, bazı çalışmalar ise (109-112) etkilenmediğini göstermişlerdir. Yaşlanma ile birlikte yağsız vücut kitlesindeki azalmaya bağlı olarak her BMH üzerinde her on yılda %1-2 lik azalma meydana gelmektedir. Ayrıca yaş ile birlikte insanlar daha az aktif hale gelirler. Buna bağlı olarak kas kitlesi azalır (40,41). Klausen ve ark. (113) yaptıkları çalışmada, vücut kompozisyonları ve aktiviteleri benzer 20-30 yaş arası 98 kişi ile 50-65 yaş arası 39 kişiyi karşılaştırmışlar. Yaşla enerji tüketiminin azaldığını saptamışlardır. Bizim yaptığımız çalışmada, bahsedilen çalışmaya benzer şekilde bazal metabolizma hızı ile yaş arasında negatif bir ilişki olduğunu gördük.

Yaş faktöründe olduğu gibi cins faktöründe de çelişkili açıklamalar mevcuttur. Kadınlar daha yüksek yağ oranına ve daha düşük yağsız vücut kitlesine sahiptirler. Bu nedenle kadınlarda BMH düzeyi erkeklere göre %5 ile %10 arasında daha düşüktür (40, 41). Ferraro ve ark. (114) benzer vücut kompozisyonu, yaş ve aktiviteye sahip 235 beyaz olgu üzerinde yaptığı çalışmada, 24 saatlik enerji tüketiminin kadınlarda daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Klausen ve ark. (113) ise yaptıkları çalışmada, cinsiyetin enerji tüketimi üzerine etkisi saptanmamıştır. Yine 2005 yılında Johnstone ve ark. (115) 150 olgu üzerinde yaptıkları çalışmada, cinsiyetin bazal metabolizma hızı üzerine etkisi olmadığını göstermişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ise, kadınların erkeklere oranla bazal metabolizma hızlarının daha düşük olduğunu tespit ettik. Bunun nedeni olarak kadınlarda yağ oranlarının erkek olgulara göre daha yüksek olması ve VKİ'lerinin erkeklere oranla daha düşük olması olduğunu düşünmekteyiz.

Bazal metabolizma hızını belirleyen en önemli faktör yağsız vücut kitesidir (116-118). Bazı çalışmalar yağ kitesinin de bu etkiye katkıda bulunduğunu gösterirken bazı çalışmalar ise etkisinin olmadığını göstermiştir (119-122). Obez insanlarda total vücut ağırlığı bazal metabolizma hızını doğru olarak yansıtmayabilir. Çünkü obez olgularda ağırlığın önemli bir kısmını metabolik olarak inaktif olan yağ dokusu oluşturur. Kesitsel çalışmalarda da eskiden beri obez olduğu bilinen olgularda, BMH'nın %3-5 oranında daha düşük saptanmıştır (123). Johnstone ve ark. (115) 150 kişi ile yaptıkları çalışmada, bazal metabolizma üzerine etkili değişkenler araştırılmış ve bu değişkenler içinde de en büyük payı %63'lük oranla yağsız vücut kitesi almıştır. Yağ oranı ise çalışmada, düşük bir oranda (%6,7) da olsa etkili bulunmuştur. Biz de yaptığımız çalışmada, VKİ ve yağ oranının bazal metabolizma üzerine etkili olduğunu bulduk.

Tiroid hormonu BMH'ı düzenleyen en önemli hormondur. Bazal metabolizma hızını normalin %60-100'ü oranında artırır. Hipotiroidik ve hipertiroidik durumlarda BMH büyük değişkenlik gösterir. Fakat ötiroid olgularda, tiroid hormonlarındaki değişikliklerin etkisi halen açık değildir. Bazı çalışmalar (120,124) serum T₃ değerleri ile BMH arasında anlamlı ilişki olduğunu gösterirken, bazı çalışmalar (125,126) ise aralarında ilişki saptamamıştır. Al Adsani ve ark. (127) 1997'de yaptıkları çalışmada, kronik tiroid hormon replasman tedavisi alan hastalarda, TSH değerlerinin normal laboratuvar değerlerinde olmasına rağmen, tiroid hormon düzeylerindeki değişiklikler ile bazal metabolizma hızı arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir. Özellikle 0,1-10 mU/l arasındaki TSH değerlerinin BMH değerinde %17'lik azalmaya yol açtığı saptanmış ve bu değişimlerin klinik bulgulara yansması için uzun zamana ihtiyaç olduğu bildirilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada da serum TSH düzeyleri ile bazal metabolizma hızı arasında negatif yönlü bir ilişki saptanmıştır. Bu da normal aralıkta olmasına rağmen TSH değerlerinin artışının BMH azalmasına neden olarak uzun vadede sorunlara yol açabileceğini göstermektedir.

Ruige ve ark. (128) 457 olgu ile yaptıkları çalışmada, bazal metabolizma hızı ile HOMA indeksi arasında ilişki saptamışlardır. Bizim yaptığımız çalışmada da, bazal metabolizma ve HOMA indeksi arasında anlamlı ilişki mevcuttu. Bu konu hakkında yapılan çalışma sayısı yeterli olmamakla birlikte, insülin direnci ve obezite arasında ilişki olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla insülin direnci ve obezitesi olan kişilerde BMH'nın artması beklenebilir.

Sonuç olarak yapmış olduğumuz çalışmada tiroid hormon yolaklarındaki polimorfizmlerin bazal metabolizma hızını etkilemediğini tespit ettik. Buna karşın BMH

üzerine çeşitli antropometrik ölçümlerin etkili olduğunu saptadık. Özellikle yağ oranı düşük olan kişilerde bazal metabolizma hızının daha yüksek olması uygulanan egzersiz metodları ile yağ oranının azaltılmasının BMH'nın artırılmasında önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca bazal metabolizma hızının değerlendirildiği kişilerde TSH değerlerinin normal aralıkta olmasına rağmen üst sınıra yakın olmasının da olumsuz etkilerinin olabileceğinin dikkate alınmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yapılan çalışmamızda, sağlıklı 103 olguda, tiroid hormon yolağındaki polimorfizmlerin bazal metabolizması üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuştur:

1. TSHR Pro52Thr polimorfizminin serum tiroid hormon düzeyleri üzerine etkisi açısından değerlendirildiğinde aralarında anlamlı bir ilişki olmadığını bulduk. Ayrıca bu polimorfizme sahip olgular ile sahip olmayan olgular arasında serum VKİ, BMH, HOMA indeksleri ve yağ oranları arasında da farklılık yoktu.
2. Deiyodinaz 1 polimorfizminin serum tiroid hormon düzeyleri üzerine olan etkisi değerlendirildiğinde, bu polimorfizme sahip olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı fark yoktu. D1 C785T polimorfizminin VKİ, BMH, HOMA indeksi üzerine etkisi olmadığı gösterildi.
3. Deiyodinaz 2 gene polimorfizminin de yine benzer şekilde, serum tiroid hormon düzeyleri, BMH, VKİ ve HOMA-IR üzerine etkisi olmadığı gösterildi.
4. Yaptığımız çalışmada her iki cins arasında bazal metabolizma hızları, VKİ, yağ oranları, AKŞ, lipid profilleri, serum TSH düzeyleri arasında anlamlı derecede fark vardı.
5. Her iki cinsin bazal metabolizma hızları değerlendirildiğinde; erkeklerin bazal metabolizma hızı 1781,4 kcal, kadınları bazal metabolizması hızı ise 1400,7 kcal idi. Aralarında istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttu. Bu da erkeklerin VKİ' lerinin daha fazla olmasına ve ortalama yağ oranlarının kadınlara oranla daha düşük olmasına bağlandı.

6. Erkeklerin ortalama açlık kan şekeri değeri kadınlar anlamlı derecede daha yüksek olduğunu gözlemlendi. Serum lipid profili değerlendirildiğinde, erkeklerde LDL-kolesterol ve trigliserid düzeylerinin kadınlara oranla daha yüksek olduğu; HDL kolesterol miktarının ise kadınlarda daha yüksek olduğu gözlemlendi.
7. Vücut kitle indeksleri açısından bakıldığında erkeklerin vücut kitle indekslerinin daha yüksek olmasına rağmen erkeklerde ortalama yağ oranlarının daha düşük olduğu tespit edildi.
8. Bazal metabolizma üzerine etkili faktörleri incelediğimizde; serum TSH, VKİ, yağ oranları, bel çevresi, HOMA-IR ve yaşın bazal metabolizma üzerine etkili olduğu saptandı.
9. Çalışmamızda serum TSH ile BMH arasında negatif bir ilişki mevcuttu. Bu da bize, ötiroid olgularda tiroid yolağındaki polimorfizmlerden bağımsız olarak, TSH'nın normal değerleri arasındaki farklılıkların bile bazal metabolizma hızını etkilediğini gösterdi.

ÖZET

Çalışmamızda, tiroid hormon yolağında önemli rol oynayan tiroid sitümulan hormone ve deiyodinaz enzimleri ile ilgili polimorfizmlerin, sağlıklı olgularda bazal metabolizma hızını etkileyip etkilemediğini inceledik.

Çalışmamıza, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Polikliniği'ne tiroid hastalığı ön tanısı ile başvuran, yapılan tetkiklerde tiroid fonksiyonları normal olan ve yapılan tiroid ultrasonografilerinde nodülü saptanmayan, 25-60 yaş arası, 57 kadın ve 46 erkek olmak üzere toplam 103 gönüllü dahil edilmiştir. İlgili polimorfizmlerin saptanması için polimeraz zincir reaksiyonu- restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi metodu kullanılmıştır.

Çalışmamız sonucunda, tiroid sitümulan hormon prolin 52 treonin polimorfizmi sıklığı %25,2, deiyodinaz 1 polimorfizm sıklığı %38,8, deiyodinaz 2 treonin 92 alanin sıklığı ise %44,7 olarak saptandı. Araştırdığımız polimorfizmlerin insülin direnci, serum tiroid hormon düzeyleri, vücut kitle indeksleri, bazal metabolizma hızı üzerine etkilerinin olmadığı tespit edildi. Ayrıca bazal metabolizma hızı ile vücut kitle indeksi, ortalama yağ oranı, bel çevresi, insülin direnci, yaş ve serum tiroid sitümulan hormon arasında anlamlı ilişki olduğu saptandı. Tiroid sitümulan hormonun normal değerleri arasındaki farklılıkların bile bazal metabolizma hızını etkilediği gösterildi.

Anahtar Kelimeler: Polimorfizm, bazal metabolizma hızı, tiroid hormonu

THE ROLE OF POLYMORPHISMS RELATED WITH THYROID HORMONES ON ENERGY METABOLISM IN HEALTHY POPULATION

SUMMARY

In our study, we investigated if thyroid stimulating hormone (TSH) and deiodinase associated polymorphisms that have important roles in the thyroid hormone pathway effect basal metabolic rate of healthy individuals.

In our study 57 female and 46 male of total 103 volunteers who were 25 to 60 years old and who consulted to Trakya University Internal Medicine clinic with pre-diagnosis of thyroidal disease and on examination who had normal thyroid functions, who had no thyroidal nodules on thyroidal USG were included. Polymerase chain reaction - restriction fragment length method was used to detect associated polymorphisms.

As a result of our study thyroid stimulating hormone proline 52 threonine polymorphism frequency were determined as 25,2% deiodinase 1 polymorphism frequency 38,8%, deiodinase 2 threonine 92 alanine frequency 44,7% respectively. It was detected that the polymorphisms which we investigated had no effects on insulin resistance, serum thyroid hormone levels, body mass index and basal metabolic rate. Also it was detected that there was significant association between basal metabolic mass index, mean fat rate, waist circumference, insulin resistance, age and serum thyroid stimulating hormone. It was shown that even the differences between normal levels of thyroid stimulating hormone effect basal metabolic rate.

Key words: Polymorphism, basal metabolic rate, thyroid hormone.

KAYNAKLAR

1. Peeters RP, van der Deure WM, Visser TJ. Genetic variation in thyroid hormone pathway genes; polymorphisms in the TSH receptor and the iodothyronine deiodinases. *Eur J Endocrinol* 2006;155:655–662.
2. Heinrichs S, Look AT. Identification of structural aberrations in cancer by SNP array analysis. *Genome Biol* 2007;8(7):219.
3. Peeters RP, van Toor H, Klootwijk W, de Rijke YB, Kuiper GG, Uitterlinden AG et al. Polymorphisms in thyroid hormone pathway genes are associated with plasma TSH and iodothyronine levels in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2880–8.
4. Toft AD. Clinical practice. Subclinical hyperthyroidism. *N Engl J Med* 2001;345:512–6.
5. Cooper DS. Clinical practice. Subclinical hypothyroidism. *N Engl J Med* 2001;345:260–5.
6. Knudsen N, Laurberg P, Rasmussen LB, Bulow I, Perrild H, Ovesen L et al. Small differences in thyroid function may be important for body mass index and the occurrence of obesity in the population. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4019–24.
7. Galgani J, Ravussin E. *Int J Obes* 2008;32(Suppl 7):109–19.
8. Guyton AC, Hall John E. Tiroidin metabolik hormonları. (Çeviri: Balkancı D) Çavuşoğlu H, Yeğen Çağlayan B. (Editörler). *Tıbbi fizyoloji*'de. 11. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2007. s. 931-43.
9. Reitman ML, He Y, Gong DW. Thyroid hormone and other regulators of uncoupling proteins. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23 (Suppl. 6):56–9.

10. Rubio A, Raasmaja A, Silva JE. Thyroid hormone and norepinephrine signaling in brown adipose tissue. II. Differential effects of thyroid hormone on beta 3-adrenergic receptors in brown and white adipose tissue. *Endocrinology* 1995;136:3277–84.
11. Braverman LE, Utiger RD. Development and anatomy of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. In: Santisteban P (Ed.). *Werner and Ingbar's the thyroid a fundamental and clinical text*. 9th ed. Boston: Lippincott Williams and Wilkinson; 2005. p.8-25.
12. Oyar O. Boyun Ultrasonografisi. İzmir: E. Ü. Basımevi, 2000:64-75.
13. Larsen PR, Davies TF, Salvatore D, Hay Ian D. The Thyroid gland. In: Polonsky K, Melmed S, Larsen P, Kronenberg H (Eds.). *Williams textbook of endocrinology*. 12th Ed. Philadelphia: WB.Sounders Co; 2011. p.327-478.
14. Cooper DS, Greenspan FS, Ladenson PW. Tiroid bezi (çeviri: Gürsoy A, Anıl C) Arslan M (Editör). *Greenspan's temel ve klinik endokrinoloji'de*. 8.Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2009. s.209-79.
15. Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. Thyroid gland. In: Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI (Eds.). *Histology a text and atlas*. 13th Ed. Baltimore: Williams and Wilkinson; 1995. p.603-5.
16. Woeber KA. Iodine and thyroid disease. *Med Clin North Am* 1991;75(1):169-77.
17. Gelfand RA. Thyroid. In: Putman CE, Ravin CE (Eds.). *Textbook of diagnostic imaging*. 2nd Ed. Philadelphia: WB Saunders; 1994. p.1457-68.
18. Sayınalp S. Tiroid hastalıklarına giriş. İliçin G, Biberoglu K, Süleyman G, Ünal S (Editörler) *İç hastalıkları 2. ciltte 3. baskı*. Ankara: Güneş Kitabevi; 2012. s.1967-73.
19. Erdogan G. Klinik endokrinoloji. Ankara: Antıp A.Ş. Yayınları, 2003:67-81.
20. Erdoğan M. Faik, Gürsoy A. A'dan Z'ye klinik tiroidoloji. İstanbul: Ömür Matbaacılık A.Ş, 2012:1-13.
21. Kuran O. Normal anatomi. İstanbul: Fonmül matbaası, 1980:364-78.
22. Platzer W. Color atlas and textbook of human anatomy. Volume 1. New York: Georg Thieme, 1986:235-378.
23. Lester Reed H. Thyroid physiology: Synthesis and release, iodine metabolism, binding and transport. In: Becker KL (Ed.). *Principles and practice of endocrinology and metabolism*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins Co; 2001. p.314-21.
24. Burman KD, Wartofsky L. Iodine effects on the thyroid gland. *Biochemical and clinical aspects*. *Rev Endocr Metab Disord* 2000;1:19-25.
25. World Health Organization / International Council for the Control of the Iodine Deficiency Disorders / United Nations Childrens Fund (WHO/ICCIDD/UNICEF) *Assesment of iodine deficiency and monitoring their elimination*, 2nd edition. Geneva: WHO; 2007.

26. Bowen R. The sodium-iodide symporter. Pathophysiology of the endocrine system [serial online]. 2003.
<http://www.Vivo.colostate.edu/hbooks/pathophys/endocrine/index.htm>. Eriřim tarihi: 12/05/2012
27. Harnden T. Synthesis of thyroid hormone. Human anatomy and physiology II biology 2122 Summer 2012. [serial online].
<http://www.highlands.edu/acedemics/division/scipel/biology/faculty/harnden/2122/notes/endo.htm>. Eriřim tarihi: 12/05/2012
28. Leonard JL, Koehrle J. Intracellular pathways of iodothyronine metabolism. In: Braverman LE, Utiger RD (Eds.). The thyroid: a fundamental and clinical text. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkinson Co; 2000. p.136-73.
29. Koloęlu S, Erdoğan G. Tiroid genel grş ve bilgiler. Erdoğan G. Koloęlu (Editör) Endokrinoloji temel ve klinik'te. 2. Baskı. Ankara: MN medikal and Nobel Tıp Kitap Sarayı; 2005. s.155-72.
30. Ladenson P, Kim M. Thyroid. In: Goldman L, Ausiello D (Eds.). Cecil textbook of medicine. 23rd. Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2008. p.1698-713.
31. Singer A. Tiroid işlevlerinin değerlendirilmesi (ev: Aral Y.) Aral Y (Editör.) Endokrinoloji ve metabolizma el kitabı'nda. nc baskı. Ankara: Gneř Kitabevi; 2006. s.373-83.
32. Jameson JL. Mechanism of thyroid hormone action. In: De Groot LJ, Jameson JL (Eds.). Endocrinology. 4th ed. Philadelphia: WB. Saunders Co; 2001. p.1327-44.
33. Utiger RD. The thyroid: physiology, thyrotoxicosis, hypothyroidism, and the painful Thyroid. In: Felig P, Frohman LA (Eds.). Endocrinology and metabolism. 4th ed. New York: Mc GrawHill Co; 2001. p.261-330.
34. Guyton AC, Hall John E. Enerji vericiler ve metabolizma hızı. (eviri: şermet A). avuřoęlu H, Yeğen aęlayan B. (Editörler). Tıbbi fizyoloji'de. 11. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2007. S.881-9.
35. Shulman RJ, Phillips S. Parenteral nutrition in infants and children. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003;36:587–60.
36. Hulbert A. Thyroid hormones and their effects: a new perspective. J Biol Rev Camb Philos Soc 2000;75(4):519–631.
37. Rolfe DF, Brown GC . Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals. Physiol Rev 1997;77(3):731–58.
38. Schutz Y. Macronutrients and energy balance in obesity. Metabolism 1995;44 (9 Suppl 3):7–11.
39. Tamer K. Sporda fiziksel-fizyolojik lmler ve deęerlendirilmesi. Ankara: Trkerler Kitapevi, 1995:81-89.

40. Gilliat-Wimberly M, Manore MM, Woolf K, Swan PD, Carroll SS. Effects of habitual physical activity on the resting metabolic rates and body compositions of women aged 35 to 50 Years. *J Am Diet Assoc* 2001;101:1181-8.
41. Rippe JM, Hess S. The role of physical activity in the prevention and management of obesity. *J Am Diet Assoc* 1998;98(Suppl 1):31-8.
42. Donnelly JE, Smith B, Jacobsen DJ, Kirk E, Dubose K, Hyder M et al. The role of exercise for weight loss and maintenance. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004;18(6):1009-29.
43. Kwok, PY, Chen, X. Detection of single nucleotide polymorphisms. *Curr Issues Mol Biol* 2003;5(2):43-60.
44. Ekmekçi A, Konaç E, Önen Hİ. Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Medical Journal* 2008;21(3):282-295.
45. Collins FS, Guyer MS, Charkravarti A. Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation. *Science* 1997;278:1580-1.
46. Chakravarti A. It's raining SNPs, hallelujah? *Nature Genetics* 1998;19(3):216-7.
47. Mehrian-Shai R, Reichardt JK. A ranaissance of "biochemical genetics"? SNPs, haplotypes, function and complex diseases. *Mol Genet Metab* 2004;83:47-50.
48. Li WH, Gu Z, Wang H, Nekrutenko A. Evolutionary analyses of the human genome. *Nature* 2001;409:847-9.
49. Shastri BS. SNP alleles in human disease and evolution. *J Hum Genet* 2002;47:561-6.
50. Ollier WER. Cytokine genesanddisease susceptibility. *Cytokine* 2004;28:174-8.
51. Herrington DM. Role of estrogen receptor- α in pharmacogenetics of estrogen action. *Curr Opin Lipidol* 2003;14:145-50.
52. McGillavry MR, Prins M. Oral contraceptives and inherited thrombophilia: a gene-environment interaction with a risk of venous thrombosis? *Semin Thromb Hemost* 2003;29:219-26.
53. Tempfer CB, Schneeberger C, Huber JC. Applications of polymorphisms and pharmacogenomics in obstetrics and gynecology. *Pharmacogenomics* 2004; 5:57-65.
54. Klug WS, Cummings MR (Çeviri: Öner C). *Genetik kavramlar*. Ankara: Palme Yayıncılık 2002.
55. Andersen S, Pedersen KM, Bruun NH, Laurberg P. Narrow individual variations in serum T(4) and T(3) in normal subjects: a clue to the understanding of subclinical thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1068–72.
56. Hansen PS, Brix TH, Sorensen TI, Kyvik KO, Hegedus L. Major genetic influence on the regulation of the pituitary–thyroid axis: a study of healthy Danish twins. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:1181–7.

57. Samollow PB, Perez G, Kammerer CM, Finegold D, Zwartjes PW, Havill LM et al. Genetic and environmental influences on thyroid hormone variation in Mexican Americans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3276–84.
58. Krohn K, Paschke R. Somatic mutations in thyroid nodular disease. *Mol Genet Metab* 2002; 75:202–8.
59. Sunthornthepvarakul T, Gottschalk ME, Hayashi Y, Refetoff S. Brief report: resistance to thyrotropin caused by mutations in the thyrotropin-receptor gene. *N Engl J Med* 1995;332:155–60.
60. Sunthornthepvarakul T, Hayashi Y, Refetoff S. Polymorphism of a variant human thyrotropin receptor (hTSHR) gene. *Thyroid* 1994;4:147–9.
61. Gustavsson B, Eklof C, Westermarck K, Westermarck B, Heldin NE. Functional analysis of a variant of the thyrotropin receptor gene in a family with Graves' disease. *Mol Cell Endocrinol* 1995;111:167–73.
62. Gabriel EM, Bergert ER, Grant CS, Van Heerden JA, Thompson GB, Morris JC. Germline polymorphism of codon 727 of human thyroid-stimulating hormone receptor is associated with toxic multinodular goiter. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3328–35.
63. Tonacchera M, Pinchera A. Thyrotropin receptor polymorphisms and thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2637–9.
64. Nogueira CR, Kopp P, Arseven OK, Santos CL, Jameson JL, Medeiros-Neto G. Thyrotropin receptor mutations in hyperfunctioning thyroid adenomas from Brazil. *Thyroid* 1999;9:1063–8.
65. Dechairo BM, Zabaneh D, Collins J, Brand O, Dawson GJ, Green AP et al. Association of the TSHR gene with Graves' disease: the first disease specific locus. *Eur J Hum Genet* 2005;13:1223–30.
66. Muhlberg T, Herrmann K, Joba W, Kirchberger M, Heberling HJ, Heufelder AE. Lack of association of nonautoimmune hyperfunctioning thyroid disorders and a germline polymorphism of codon 727 of the human thyrotropin receptor in a European Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2640–3.
67. Peeters RP, van der Deure W, van den Beld A, van Tor H, Lamberts SW. The Asp727Glu polymorphism in the TSH receptor is associated with insulin resistance in healthy elderly men. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;66:808–15.
68. Cuddihy RM, Bryant WP, Bahn RS. Normal function in vivo of a homozygotic polymorphism in the human thyrotropin receptor. *Thyroid* 1995;5:255–7.
69. Loos U, Hagner S, Bohr UR, Bogatkewitsch GS, Jakobs KH, Van Koppen CJ. Enhanced cAMP accumulation by the human thyrotropin receptor variant with the Pro52Thr substitution in the extracellular domain. *Eur J Biochem* 199;232:62–5.

70. Tomer Y, Barbesino G, Keddache M, Greenberg DA, Davies TF. Mapping of a major susceptibility locus for Graves' disease (GD-1) to chromosome 14q31. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1645–8.
71. Ban Y, Greenberg DA, Concepcion ES, Tomer Y. A germline single nucleotide polymorphism at the intracellular domain of the human thyrotropin receptor does not have a major effect on the development of Graves' disease. *Thyroid* 2002;12:1079–83.
72. Cuddihy RM, Dutton CM, Bahn RS. A polymorphism in the extracellular domain of the thyrotropin receptor is highly associated with autoimmune thyroid disease in females. *Thyroid* 1995;5:89–95.
73. Ho SC, Goh SS, Khoo DH. Association of Graves' disease with intragenic polymorphism of the thyrotropin receptor gene in a cohort of Singapore patients of multi-ethnic origins. *Thyroid* 2003;13:523–8.
74. Nakabayashi K, Matsumi H, Bhalla A, Bae J, Mosselman S, Hsu SY et al. Thyrostimulin, a heterodimer of two new human glycoprotein hormone subunits, activates the thyroid-stimulating hormone receptor. *J Clin Invest* 2002;109:1445–52.
75. Hiratani H, Bowden DW, Ikegami S, Shirasawa S, Shimizu A, Iwatani Y et al. Multiple SNPs in intron 7 of thyrotropin receptor are associated with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2898–903.
76. Abe E, Mariani RC, Yu W, Wu XB, Ando T, Li Y et al. TSH is a negative regulator of skeletal remodeling. *Cell* 2003;115:151–62.
77. Panicker V, Cluett C, Shields B, Murray A, Kirstie S. A common variation in deiodinase 1 gene DIO1 is associated with the relative levels of free thyroxine and triiodothyronine. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(8):3075–81.
78. Berry MJ, Banu L, Larsen PR. Type I iodothyronine deiodinase is a selenocysteine-containing enzyme. *Nature* 1991;349:438–40.
79. Curcio C, Baqui MM, Salvatore D, Rihn BH, Mohr S, Harney JW et al. The human type 2 iodothyronine deiodinase is a selenoprotein highly expressed in a mesothelioma cell line. *J Biol Chem* 2001; 276:30183–7.
80. Croteau W, Whittemore SL, Schneider MJ, St Germain DL. Cloning and expression of a cDNA for a mammalian type III iodothyronine deiodinase. *J Biol Chem* 1995;270:16569–75.
81. Martin III GW, Berry MJ. SECIS elements. In: Hatfield DL (Ed.). *Selenium: its molecular biology and role in human health*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 200. p.145–53.
82. Peeters RP, Van Den Beld AW, Van Toor H, Uitterlinden AG, Janssen JAMJL, Lamberts SWF et al. A polymorphism in type I deiodinase (D1) is associated with circulating free IGF-I levels and body composition in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:256–63.

83. Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR. Biochemistry, cellular and molecular biology and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocr Rev* 2002;23:38–89.
84. de Jesus LA, Carvalho SD, Ribeiro MO, Schneider M, Kim SW, Harney JW et al. The type 2 iodothyronine deiodinase is essential for adaptive thermogenesis in brown adipose tissue. *J Clin Invest* 2001;108:1379–85.
85. Bartha T, Kim SW, Salvatore D, Gereben B, Tu HM, Harney JW et al. Characterization of the 5'-flanking and 5'-untranslated regions of the cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-responsive human type 2 iodothyronine deiodinase gene. *Endocrinology* 2000;141(1):229–37.
86. Zurlo F, Larson K, Bogardus C, Ravussin E. Skeletal muscle metabolism is a major determinant of resting energy expenditure. *J Clin Invest* 1990;86:1423–7.
87. Celi FS, Canettieri G, Mentuccia D, Proietti-Pannunzi L, Fumarola A, Sibilla R et al. Structural organization and chromosomal localization of the human type II deiodinase gene. *Eur J Endocrinol* 2000;143:267–71.
88. Mentuccia D, Proietti-Pannunzi L, Tanner K, Bacci V, Pollin TI, Poehlman ET et al. Association between a novel variant of the human type 2 deiodinase gene Thr92Ala and insulin resistance: evidence of interaction with the Trp64Arg variant of the beta-3-adrenergic receptor. *Diabetes* 2002;51:880–3.
89. Canani LH, Capp C, Dora JM, Meyer EL, Wagner MS, Harney JW et al. The type 2 deiodinase A/G (Thr92Ala) polymorphism is associated with decreased enzyme velocity and increased insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:3472–8.
90. Casla A, Rovira A, Wells JA, Dohm GL. Increased glucose transporter (GLUT4) protein expression in hyperthyroidism. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;171:182–8.
91. Viguerie N, Millet L, Avizou S, Vidal H, Larrouy D, Langin D. Regulation of human adipocyte gene expression by thyroid hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:630–4.
92. Watanabe M, Houten SM, Matakai C, Christoffolete MA, Kim BW, Sato H et al. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature* 2006;439:484–9.
93. Mentuccia D, Thomas MJ, Coppotelli G, Reinhart LJ, Mitchell BD, Shuldiner AR et al. The Thr92Ala deiodinase type 2 (DIO2) variant is not associated with type 2 diabetes or indices of insulin resistance in the old order of Amish. *Thyroid* 2005;15:1223–7.
94. Grarup N, Andersen M, Andreasen C, Albrechtsen A, Johnsen K, Jorgensen T. Studies of the common DIO2 Thr92Ala polymorphism and metabolic phenotypes in 7342 Danish white subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(1):363–6.

95. Mizuma H, Murakami M, Mori M. Thyroid hormone activation in human vascular smooth muscle cells: expression of type II iodothyronine deiodinase. *Circ Res* 2001;88:313–8.
96. Gumieniak O, Perlstein T, Williams J, Hopkins P, Brown N. Ala92 type 2 deiodinase allele increases risk for the development of hypertension. *Hypertension* 2007;49:461–6.
97. van der Deure W, Peeters R, Uitterlinden A. Impact of thyroid function and polymorphisms in the type 2 deiodinase on blood pressure: the Rotterdam Study and the Rotterdam Scan Study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009;71(1):137–44.
98. Christoffolete MA, Arrojo e Drigo, Gazoni F, Tente SM, Goncalves V, Amorim BS et al. Mice with impaired extrathyroidal thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine conversion maintain normal serum 3,5,3'-triiodothyronine concentrations. *Endocrinology* 2007;148(3):954–60.
99. Heemstra K, Hoftijzer H, van der Deure W, Peeters R. The type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism is associated with increased bone turnover and decreased femoral neck bone mineral density. *J Bone Miner Res* 2010;25:1385–91.
100. Guo TW, Zhang FC, Yang MS, Gao XC, Bian L, Duan SW et al. Positive association of the DIO2 (deiodinase type 2) gene with mental retardation in the iodine-deficient areas of China. *J Med Genet* 2004;41:585–90.
101. Appelhof BC, Peeters RP, Wiersinga WM, Visser TJ, Wekking EM, Huyser J et al. Polymorphisms in type 2 deiodinase are not associated with wellbeing, neurocognitive functioning and preference for combined T4/T3 therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:6296–9.
102. Şule Arı. DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması. Temizkan G, ARDA N (Editörler). *Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler*. İstanbul Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2003. s.101-20.
103. Akar N. Klinik moleküler patolojiye giriş. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Yayınlar Serisi 1. Baskı. Ankara; 2000:95-135.
104. Arı S. DNA'nın PCR ile çoğaltılması. Temizkan G, Arda N (Editörler). *Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler'de*. 3. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2008. s.101-17.
105. Nussbaum RL, Mc Innes RR, Willard HF, Boerkoel CF. İnsanlarda genetik varyasyon: mutasyon ve polimorfizm (çeviri: Emre S). Komisyon (Editörler). Thompson and Thompson. *Tıbbi genetik'te*. Ankara: Güneş Kitabevi; 2005;6:81-7.
106. Bahn SR, Dutton CM, Heufelder AE, Sarkar G. A genomic point mutation in the extracellular domain of the thyrotropin receptor in patients with Graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:256-60.

- 107.Bohr UR, Behr M, Loos U. A heritable point mutation in an extracellular domain of the TSH receptor involved in the interaction with Graves' immunoglobulins. *Biochim Biophys* 1993;1216:504-8.
- 108.Visser M, Deurenberg P, van Staveren WA, Hustvas JG. Resting metabolic rate and diet induced thermogenesis in young and elderly subjects: relationship body composition, fat distribution, physical activity level. *Am J Clin Nutr* 1995;61:772-8.
- 109.Bloesch D, Schutz Y, Breitenstein E, JuquierE, Felber JP. Thermogenic response to an oral glucose load in man: comparison between young and elderly subjects. *J Am Coll Nutr* 1988;7:471-83.
- 110.Pannemans DL, Bouten CV, Westerterp KR. 24 h energy expenditure during a standardized activity protocol in young and elderly men. *Eur J Clin Nutr* 1995;49:49-56.
- 111.Poehlman ET, Goran MI, Gardner AW, Ades PA, Arciero PJ, Katzman-Rooks SM et al. Determinants of decline in resting metabolic rate in aging females. *Am J Physiol* 1993;264:450-5.
- 112.Tzankoff SP, Norris AH. Effect of muscle mass decrease on age-related BMR changes. *J Appl Physiol* 1977;43:1001-6.
- 113.Klausen B, Toubro S, Astrup A. Age and sex effects on energy expenditure. *Am J Clin Nutr* 1997;65:895-907.
- 114.Ferraro R, Lillioja S, Fontvieille AM, Rising R, Bogardus C, Ravussin E. Lower sedentary metabolic rate in women compared with men. *J Clin Invest* 1992;90:780-4.
- 115.Johnstone AM, Murison SD, Duncan JS, Rance KA, Speakman JR. Factors influencing variation in basal metabolic rate include fat-free mass, fat mass, age, and circulating thyroxine but not sex, circulating leptin, or triiodothyronine. *Am J Clin Nutr* 2005;82:941– 8.
- 116.Weinsier RL, Schutz Y, Bracco D. Reexamination of the relationship of resting metabolic rate to fat-free mass and to the metabolically active components of fat-free mass in humans. *Am J Clin Nutr* 1992;55:790–4.
- 117.Cunningham JJ. Body composition as a determinant of energy expenditure:a synthetic review and a proposed general prediction equation. *Am J Clin Nutr* 1991;54:963–9.
- 118.Fukagawa NK, Bandini LG, Young JB. Effect of age on body composition and resting metabolic rate. *Am J Physiol* 1990;259:233–8.
- 119.Nelson KM, Weinsier RL, Long CL, Schutz Y. Prediction of restingenergy expenditure from fat-free mass and fat mass. *Am J Clin Nutr* 1992;56:848–56.
- 120.Svendsen OL, Hassager C, Christiansen C. Impact of regional and total body composition and hormones on resting energy expenditure in overweight postmenopausal women. *Metabolism* 1993;42:1588–91.

121. Bogardus C, Lillioja S, Ravussin E, Abbott W, Zawadzki JK, Young A et al. Familial dependence of the resting metabolic rate. *N Engl J Med* 1986;315:96–100.
122. Segal KR, Gutin B, Albu J, Pi-Sunyer FX. Thermal effects of food and exercise in lean and obese men of similar lean body mass. *Am J Physiol* 1987;252:110–7.
123. Astrup A, Gotzsche PC, van de Werken K, Ranneries C, Toubro S, Raben A et al. Meta-analysis of resting metabolic rate in formerly obese subjects. *Am J Clin Nutr* 1999;69:1117–22.
124. Astrup A, Buemann B, Christensen NJ, Madsen J, Gluud C, Bennett P et al. The contribution of body composition, substrates, and hormones to the variability in energy expenditure and substrate utilization in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:279–86.
125. Bernstein RS, Thornton JC, Yang MU, Wang J, Redmond AM, Pierson RN Jr et al. Prediction of the resting metabolic rate in obese patients. *Am J Clin Nutr* 1983;37:595–602.
126. Welle S, Jozefowicz R, Statt M. Failure of dehydroepiandrosterone to influence energy and protein metabolism in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:1259–64.
127. Al Adsani H, Hoffer LJ, Silva JE. Resting energy expenditure is sensitive to small dose changes in patients on chronic thyroid hormone replacement. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1118–1125.
128. Ruige JB, Ballaux DP, Funahashi T, Mertens I, Matsuzawa Y, Van Gaal L. Resting metabolic rate is an important predictor of serum adiponectin concentrations: potential implications for obesity-related disorders. *Am J Clin Nutr* 2005;82:21–5.

EKLER

Ek 1

T.C. TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA DEĞERLENDİRME KOMİSYONU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TUBADK 2011/66				
	PROTOKOL ADI	Sağlıklı Olgularda Tiroid Hormonlarının Etkileri ile İlişkili Polimorfizmlerin Enerji Metabolizmasındaki Rolü				
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVAN / ADI	Doç. Dr. Sibel GÜLDİKEN				
	ARAŞTIRMA MERKEZİ					
	DESTEKLEYİCİ					
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	☒ Tek Merkez ☐ Ulusal		☐ Çok Merkez ☐ Uluslararası		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 06/ 18 Tarih: 09.03.2011					
	Üniversitemiz Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında Görevli Doç. Dr. Sibel GÜLDİKEN'in sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Dr. Ayhan TOSUNOĞLU'nun tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.					
DEĞERLENDİRME KOMİSYONU BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI		Helsinki Bildirgesi, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜBADK Yönergesi				
ÜYELER						
Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Hakan KARADAĞ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Hasan ÜMİT Başkan Yardımcısı	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Doç. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Üye	Çocuk Sağ. ve Hast.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	☐ E ☐ H	☐ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Biyoloji	T.Ü.T.F. Tıbbi Biyoloji A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Üye	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	☐ E ☐ H	☐ E ☐ H	
Doç. Dr. Tunç KUTOĞLU Üye	Anatomi	T.Ü.T.F. Anatomi A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Erhan TABAKOĞLU Üye	Göğüs Hastalıkları	T.Ü.T.F. Göğüs Hastalıkları A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Figen KULOĞLU Üye	Enfeksiyon Hastalıkları	T.Ü.T.F. Enfeksiyon Hastalıkları A.D.	K	☐ E ☐ H	☐ E ☐ H	
Doç. Dr. Ömer Nuri PAMUK Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Yener YÖRÜK Üye	Göğüs Cerrahisi	T.Ü.T.F. Göğüs Cerrahisi A.D.	E	☐ E ☐ H	☐ E ☐ H	
Doç. Dr. Recep YAĞIZ Üye	Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları	T.Ü.T.F. K.B.B. Hast. A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Ümit Nusret BAŞARAN Üye	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Avukat Gülden ATILLA ÖZTÜRK Üye		T.Ü. Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Müdürlüğü	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Murat DİKMENGİL
Dekan

Ek 2

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU¹

Bu form, yürütülmesi Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'nun tarih ve sayılı kararı ile onaylanan bilimsel bir araştırma konusunda sizi bilgilendirmek ve gönüllü katılımınızı sağlamak amacıyla düzenlenmiştir.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılmaya gönüllü olduğunuzda, sağlığınızın ve gönüllü olarak haklarınızın korunması ile gizliliğin sağlanması araştırmacıların ödevidir.

Araştırma, yalnızca uygun bilimsel eğitim ve niteliklere sahip araştırmacılar tarafından yürütülecektir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri araştırmacılar ya da destekleyici (AÇIK AD) tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

Açık olmayan bir bölüm varsa, daha ayrıntılı bilgiye ihtiyaç duyuyorsanız ya da araştırma başladıktan sonra sorularınız olursa istediğiniz zaman bize başvurabilirsiniz.

Katılacağınız araştırma ile ilgili bilgiler aşağıdadır:

- 1. Araştırmanın bilimsel adı:** SAĞLIKLI OLGULARDA TİROİD HORMONLARININ ETKİLERİ İLE İLİŞKİLİ POLİMORFİZMLERİN ENERJİ METABOLİZMASINDAKİ ROLÜ
- 2. Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Tiroid hormonları ile ilişkili genetik değişikliklerin enerji metabolizması üzerine etkileri
- 3. Sorumlu Araştırmacının adı, unvanı ve görev yeri:** Araştırma Görevlisi Dr. Ayhan Tosunoğlu / İç Hastalıkları Anabilim Dalı
- 4. Araştırmanın konusu ve niteliği (ilaç, klinik, laboratuvar, epidemiyolojik - tez çalışması vb....):** Uzmanlık Tezi
- 5. Araştırmanın amacı:** Tiroid hormonları ; dokuların fizyolojik fonksiyonları, enerji metabolizmasının düzenlenmesi, büyüme ve gelişme için gereklidir. Tiroid hormonlarının düzenlenmesi beyin tarafından düzenlenirken; tiroid hormonlarının aktivitesi kandaki çeşitli enzimlerce ayarlanır. İnsanlarda serum tiroid parametreleri önemli değişkenlikler gösterir. Bu da tiroid hormon biyoaktivitesinin düzenlenmesinde genetik faktörlerin ve buna ek olarak beslenme, iyot alımı gibi çevresel faktörlerin önemlidir..

Herhangi bir şikayeti olmadığı halde tiroid hormonları düşük veya yüksek olan kişilerde tiroid hormon düzeylerinde küçük değişiklikler bile tiroid hormon ilişkili damar sertliği ,kemik erimesi ,obesite ve kalp atım sayısı gibi klinik sonuçlarda önemli değişikliklere neden olur.Son birkaç yıldır tiroid hormon biyoaktivitesini değiştiren tiroid hormon yollarındaki gen değişiklikleri tanımlanmıştır.Bu çalışmada amacımız bu genetik değişikliklerin sağlıklı

¹ Formun her sayfasının altı, gönüllü (gerekirse vasisi-yasal temsilcisi ve tanık) tarafından imzalanacaktır.

kişilerde serum tiroid hormon düzeyleri ile klinik sonuçlar arasında ilişki olup olmadığının araştırılmasıdır.

- 6. Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:**Süresi 1 yıl
- 7. Araştırmaya katılan gönüllü sayısı:**100 sağlıklı gönüllü
- 8. Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** Sağlıklı gönüllülerde tiroid hormon düzeylerini etkileyen genetik değişikliklerin enerji metabolizması üzerine etkilerinin incelenmesi
- 9. Araştırmada uygulanacak yöntemler:** Olgulardan kan alınıp tiroid hormonları ile ilişkili gen değişiklikleri bakılarak; olguların boy, kilo ,bel, kalça ölçüleri ve TANİTA (vücut yağ, kas kitlesi ölçümleri) ölçümleri kullanılacaktır.
- 10. Uygulama sırasında karşılaşılabileceğiniz riskler, rahatsızlıklar ve olası yan etkiler:**Kan alımı sırasında o bölgede morarma, ağrı olabilir. Bunun dışında uygulama esnasında herhangi bir risk yoktur.
- 11. Gönüllü için araştırmadan beklenen yarar:**Tiroid hormon düzeylerini etkileyen genetik değişikliklerin bazal enerji metabolizması üzerine etkisini belirlemek
- 12. Araştırma yöntemine alternatif olan tedavi ve girişimler:** Yoktur
- 13. Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ile araştırmaya katılan bir gönüllü olarak diğer hakları konusunda bilgi almak için bağlantı kurulacak kişinin adı-soyadı, ünvanı, görev yeri ve telefon numarası:**Dr. Ayhan Tosunoğlu,İç Hastalıkları Anabilimdalı ; 05427448864
- 14. Araştırma bütçesi kimin tarafından karşılanıyor? Araştırmacılar tarafından karşılanmaktadır.**
- 15. (Varsa) Sigortalamaya ilişkin bilgiler:** Sigortalama söz konusu değildir.
- 16. Kimlik bilgilerinin ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak?**
Elde edilen veriler araştırmacı tarafından kayıt altında tutulacaktır.

Araştırmamıza katıldığınız için teşekkür ederiz.

GÖNÜLLÜNÜN ÇALIŞMAYA KATILMA OLURU

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediyimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmalim nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Gönüllü Bilgilendirme Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bu formun tamamının imzalı bir kopyası bana verildi.

Gönüllünün; (bu bölüm gönüllünün kendi el yazısı ile doldurulacaktır)

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (bu bölüm veli/vasinin kendi el yazısı ile doldurulacaktır)

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

Tarih:

Gerekli durumlar için; (bu bölüm görüşme tanığının kendi el yazısı ile doldurulacaktır)

Görüşme Tanığının Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının (bu bölüm araştırmacının kendi el yazısı ile doldurulacaktır)

Adı- Soyadı, Ünvanı:

İmzası:

Tarih: