

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ELAZIĞ İLİ VE ÇEVRESİNDE TİP 2 DİYABET VE
HAŞİMATO HASTALARINDA PTPN22 C1858T GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FUNDA BULUT

2011

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Emine ÜNSALDI

.....
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof.Dr. Halit ELYAS

.....
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Halit ELYAS



Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

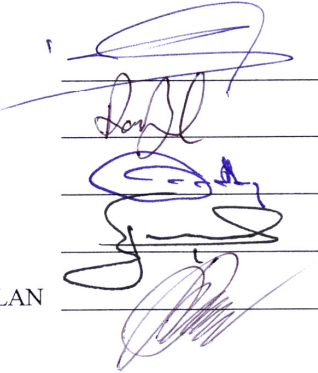
Prof.Dr. Halit ELYAS

Prof.Dr. Ramazan BAL

Doç. Dr. Hüseyin YÜCE

Doç. Dr. Engin ŞAHNA

Yrd. Doç. Dr. Ebru ÖNALAN



TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimime olan katkıları ve bu tezin hazırlanmasında benden hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, çalışmalarımı yönlendiren çok kıymetli danışman hocam sayın Prof. Dr. Halit Elyas'a, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Hüseyin Yüce'ye,

Laboratuvar ve tez çalışmalarına sabırla ve büyük bir erdemle yardımcı olan, her zaman varlıklarını yanımda hissettiğim Dr. Deniz Erol'a, Yrd. Doç. Dr. Ebru Önalın'a, Yrd. Doç. Dr. Aziz Aksoy'a, Dr. Ahmet Özdemir'e, Dr. Derya Deveci'ye,

Bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan, her zaman her konuda beni destekleyip, maddi ve manevi yanımda olan aileme,

Ve hayatıma anlam ve değer katan, fedakâr canım anneme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
3.1. Otoimmün Hastalıklar	3
3.1.1. Self Tolerans Mekanizmaları.....	3
3.2. Diabetes Mellitus (DM)	4
3.2.2. Diyabetin Tarihçesi	5
3.2.3. Diyabet Çeşitleri	6
3.2.4. Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM)	7
3.2.5. Gestasyonel Diyabet (GDM)	8
3.2.6. Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM)	8
3.2.6.1. İnsülin Direnci Defektleri	9
3.2.6.2. İnsülin Sekresyonu Defektleri.....	9
3.2.6.3. İnsülin Sekresyonunu Düzenleyen Faktörler	10
3.2.7. Klinik Özellikleri	11
3.2.8. Tip 2 Diyabet ve Genetik	122
3.2.9. Çevresel Faktörler	16
3.2.10. Diabetes Mellitus'un Prevalansı	18
3.2.11. Tip 2 Diyabet Tedavisi	19

3.3. Haşimato Tiroiditi (HT)	20
3.3.1. Etyoloji ve Patogenez.....	20
3.3.2. Haşimato Tiroiditinin Genetik Temeli	22
3.3.3. Çevresel Faktörler	24
3.3.4. Semptomlar ve Bulgu.....	25
3.3.5. Laboratuvar Bulguları	26
3.3.6. Tanı.....	26
3.3.7. Tedavi.....	27
3.3.9. Haşimato Tiroiditi ile Birlikte Görülen Hastalıklar	27
3.4. PTPN22 Geni ve PTPN22 C1858T Polimorfizmi	28
3.5. Polimorfizm Nedir?.....	31
3.6. Tıbbi Genetikte Polimorfizimlerin Kullanımı	32
3.7. Polimorfizmlerin Önemi.....	33
3.8. Amaç	33
4. GEREÇ VE YÖNTEM	35
4.1. Hastaların Seçimi.....	35
4.2. Örneklerin Alınması, Saklanması ve Analizlere Hazırlanması	35
4.3. Demirbaş Malzemeler	36
4.5. Kandan DNA İzolasyonu	37
4.6. PZR-RFLP Yöntemi	40
4.6.1. Oligonükleotidler (primerler)	40
4.6.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	41
4.6.3. PTPN22 1858 C/T PZR Programı	41
4.6.4. RsaI Restriksiyon Enzim Muamelesi	412

4.6.5. PZR ve RFLP Ürünlerinin Elektroforezi.....	42
4.6.6. Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması:	42
4.6.6.1. Etidyum Bromür Hazırlanması:	42
4.6.6.2. TBE Tamponu (5X)	43
4.6.6.3. %3'lük Agaroz Jel Hazırlanması:	43
4.6.7. PZR ve RFLP Ürünlerinin Agaroz Jele Yüklenmesi:	43
4.7. İstatistiksel Analizler.....	43
5. BULGULAR.....	45
6. TARTIŞMA.....	50
7. KAYNAKLAR	60
8. ÖZGEÇMİŞ	70

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: PTPN22 genine ait primer dizileri	40
Tablo 2: Çalışılan polimorfizmin Restriksiyon enzimi ve bant boyutları.....	42
Tablo 3: Hasta gruplarının demografik özellikleri	45
Tablo 4: Hasta ve Kontrol Gruplarının Genotip Frekansları.....	48
Tablo 5: Hasta ve Kontrol Gruplarının Allel Frekansları	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: LCK'nın PTPN22 (LYP) ve CSK tarafından regülasyonu.....	29
Şekil 2: Kesim öncesi ilk PZR ürün örnekleri	46
Şekil 3: PTPN22 genindeki rs2476601 (C1858T) polimorfizmi için PZR'ye yönelik agaroz jel elektroforez görüntüsü..	47

SİMGELER VE KISALTMALAR

DM	: Diabetes mellitus
TURDEP	: Türkiye Diyabet Epidemiyolojik Çalışma Grubu
T2DM	: Tip 2 Diabetes mellitus
T1DM	: Tip 1 Diabetes mellitus
PTPN 22	: Protein Tirozin Fosfataz, Reseptör olmayan Tip 22
CSK	: Src adlı tirozin kinazının, Src C-ucu kinaz
LCK	: Lökosit spesifik kinaz
LYP	: Lenfoid spesifik fosfataz
THR	: T hücre reseptörü
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TCR	: T hücre reseptör
DNA	: Deoksiribonukleik asit
ADA	: Amerikan Diyabet Birliği
GLP-1	: Glukagon benzeri Peptid-1
AKŞ	: Açlık kan şekeri
DSÖ	: Dünya sağlık örgütü
NIDDM	: İnsülin bağımlı olmayan diyabetes mellitus
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
HbA1C	: Hemoglobin-A1C
CDKN1C	: Siklin bağımlı kinaz inhibitör 1C

- CTLA4** : Sitotoksik T lenfosit ilişkili protein
- CDKN2A/B** : Siklin bağımlı kinaz inhibitör 2A/B
- CAPN 10** : Calpain 10-kalsiyum tarafından aktive edilen nötral proteinaz 10
- IL-6** : İnterlökin-6
- MODY** : gençlerde görülen ergin başlangıçlı diyabet
- PPAR-_2** : Peroksizom proliferatör tarafından aktive edilen reseptör- _2
- HNF-1 α** : Hepatosit Nükleer Faktör-1 Alfa
- TCF7L2** :Transkripsiyon faktör 7-benzeri 2
- PPARG** :Peroksizom proliferatör aktivasyonlu reseptör G
- KCNJ11** :Hücre İçi Potasyum Kanalı Düzenleyici, Subfamilya J, Üye 11
- TSPAN8** : Tetraspanin-8
- İİAB** :İnce İğne Aspirasyon Biopsisi

1. ÖZET

Tip 2 diabetes mellitus (T2DM) ve Haşimato tiroiditi (HT) toplumlarda yaygın olarak görülen ve farklı toplumlardan pek çok insanı etkileyen küresel hastalıklardır. Son zamanlarda HT'nin T2DM ile birlikte görüldüğünü öne süren birçok çalışma yapılmıştır. Protein Tirozin Fosfataz, Reseptör olmayan Tip 22 (PTPN22; Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22) genindeki C1858T polimorfizmi ise, HT ve T2DM hastalıklarının ikisi ile de ilişkili bulunmuştur.

Çalışmamızda Elazığ ili ve çevresinde, Endokrinoloji ve Dahiliye Anabilim Dallarına başvuran 135 T2DM'li hasta, 102 T2DM ve HT birlikte bulunan hasta, 71 HT hastasından ve 135 sağlıklı kontrolden EDTA'lı tüplere 3 cc periferik kan örnekleri alınarak DNA izolasyonu yapıldı. PTPN22 geninde C1858T polimorfizmi PZR-RFLP analizi yapılarak belirlendi.

T2DM, T2DM+HT, HT ve kontrol gruplarında CC ve CT genotiplerinin görülme oranları sırasıyla 135'de 5 (%3.8), 102'de 7 (%6.86), 71'de 5 (%7.04) ve 135'de 3 olarak tespit edildi. Grupların hiçbirinde TT genotipi bulunmadı. İstatistiki değerlendirmeler sonucunda hasta ve kontrol grubundaki bireyler arasında PTPN22 genotip ve allel frekansları açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Sonuç olarak, çalışma verilerimize göre PTPN22 geninin C1858T polimorfizmi, bizim toplumumuzda T2DM ve HT hastalıkları için yatkınlık oluşturmamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Tip 2 diyabet, haşimato tiroiditi, PTPN22, polimorfizm

2. ABSTRACT

INVESTIGATION OF PTPN22 C1858T GENE POLYMORPHISM IN TYPE 2 DIABETES AND HASHIMOTO PATIENTS IN ELAZIĞ CITY AND AROUND

Type 2 diabetes (T2DM) and Hashimoto thyroiditis (HT) are frequent in general population. These global diseases effect a lot of people from different populations. Recently, a good deal of studies suggested coexistence of HT with T2DM. Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22 (PTPN22) C1858T polymorphism has been reported to be associated with both T2DM and HT disorders.

In our study, 3 cc peripheral blood samples from 135 T2DM, 102 T2DM+Hashimoto, 71 HT cases and 135 healthy controls who were consulted to Departments of internal medicine and endocrinology were collected into EDTA anticoagulated tubes and DNA was extracted. C1858T polymorphism in PTPN22 gene was analyzed with PZR-RFLP method.

The rates of CC and CT genotypes in T2DM, T2DM + Hashimoto, Hashimoto and control groups were calculated as 5 in 135 (3.8%), 7 in 102 (6.86%), 5 in 71 (7.04%) and 3 in 135 (2.22%), respectively. TT genotype wasn't found in none of the groups. There were no statistically significant differences between the patient and control groups with regard to genotypes and allele frequencies.

In conclusion, according to our data the C1858T polymorphism of PTPN22 gene does not constitute any susceptibility for T2DM and HT diseases in our population.

Key Words: Type 2 diabetes, hashimoto thyroidit, PTPN22, polymorphism.

3. GİRİŞ

3.1. Otoimmün Hastalıklar

Otoimmünite, self toleransın (immün yanıtızsızlık) kaybolmasıyla kişinin kendi doku ve çeşitli organlarına karşı tıpkı yabancı istilacılarımış gibi saldırması ve kendi antijenlerine karşı immün yanıt geliştirmesidir (65). Bunun sonucunda gelişen hastalıklara otoimmün hastalıklar adı verilmektedir. Bu hastalıklar dünya toplumlarını %5 ile 10 arasında etkilemektedir (11). Otoimmün hastalıklar genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkan multifaktöryel hastalıklardır. Ortak etiyolojik mekanizmayı içeren çok sayıda özelliği paylaşırlar. Benzer patofizyolojilere sahip olmaları ve ailelerde birlikte bulunmaları, otoimmün hastalıkların ortak bir genetik temele sahip oluğu hipotezini ortaya koymaktadır (68). Bu nedenle otoimmün hastalığa sahip bireylerde diğer otoimmün hastalıkların da gözlenmesi sık rastlanılan bir durumdur. Otoimmünite konusundaki bilgilerimiz son yirmi yıl içinde özellikle bu hastalıklara özgü hayvan modellerinin geliştirilmesiyle ve otoimmüniteye yatkınlık sağlayan genlerin tanımlanmasıyla büyük gelişme göstermiştir (114).

3.1.1. Self Tolerans Mekanizmaları

Kişinin kanında, hücrelerinde ve bağ dokularında potansiyel olarak immünojenik olan self-antijenler (kişinin kendi antijenleri) bulunmaktadır. Bu antijenler bireyin kendi lenfositleri ile sıklıkla karşılaşırlar, ancak lenfositler normal bir bireyde bu antijenlere yanıt vermezler. Bu yanıtızsızlık, özellikle self reaktif olan lenfositlerin sürekli olarak gelişim ve olgunlaşmasının engellenmesi ile mümkün olmaktadır (63).

Self toleransın devamlılığında şu mekanizmalar sorumludur:

1-Self antijenlere karşı tolerans dinamik bir olaydır ve süreklilik gerektirir.

Kişide self veya nonsself antijenleri tanıyabilen T hücre reseptörü (TCR; T cell receptor) yani T hücre yüzey reseptörleri gelişebilir (62).

2-Bu self reaktif olan T lenfositlerin gelişiminin engellenmesi veya toleransı, çeşitli basamaklarda oluşturulur. Timusta lenfosit gelişimi sırasında self reaktif olan lenfosit klonlarının yok edilmesine “santral tolerans”, buna karşın perifere çıkan self reaktif olan lenfositlerin etkisiz hale getirilmesine ise “periferik tolerans” denir (16, 62).

Böylece otoreaktif T hücre klonlarından temizlenmiş immün sistem yabancı antijenlere karşı tepki gösterirken, kendi dokularına karşı sürekli tolerans halinde kalmaktadır. Çeşitli nedenlerden dolayı kişinin kendi dokularına karşı sürekli tolerans hali (self tolerans) bozulmakta ve otoimmün hastalıklar denilen hastalıklar oluşmaktadır. Tip 1 diyabet (T1DM) (93, 124), haşimato, graves (107), romatoid artrit, juvenil idiopatik artrit, multipl sklerozis, sistemik lupus eritematosus (SLE), adison (68) ve vitiligo (19) gibi pek çok hastalık otoimmün hastalıklar olarak bilinmektedir.

3.2. Diabetes Mellitus (DM)

Diabetes Mellitus (DM), mutlak veya fonksiyonel insülin yetersizliği sonucu ortaya çıkan, karbonhidrat metabolizması başta olmak üzere yağ ve protein metabolizmasında da bozuklukla seyreden bir endokrin ve metabolizma hastalığıdır (74). Diyabet küresel bir sağlık sorunudur. Tüm dünyada yaklaşık 250 milyon kişiyi etkilemektedir (35). Bu sayının 2030 yılında 366 milyona ulaşması beklenmektedir (58). 1987 yılından beri DM'den ölen insanların sayısı %45

artmıştır ve 2003 yılında USA’ da diyabet ölüm nedenleri arasında 6. sırada yer almaktadır (71). Ülkemizde nüfusun %7.2’si diyabet hastasıdır ve önümüzdeki yıllarda daha da artması beklenmektedir. Diyabet ve buna bağlı komplikasyonların tanı, tedavi, bakım ve rehabilitasyonu için de her yıl yaklaşık 5 milyar Euro harcandığı tahmin edilmektedir (35).

3.2.1. Tanı Kriterleri

Amerikan Diyabet Birliği (ADA; American Diabetes Association) tanısal kriterlerinde, diyabet tanısı üç şekilde konulabilir.

- 1- Diyabetin klinik bulgu ve belirtileri olan kişilerde rastlantusal plazma glukozunun ≥ 200 mg/ dL olması.
- 2- Açlık kan glukozunun ≥ 126 mg/ dL olması.
- 3- Ağızdan verilen 75 gr’lık glukoz yüklemesini takiben 2 saat sonraki plazma glukozunun ≥ 200 mg/ dL olması.

Bozulmuş açlık glukozu (IFG) ≥ 110 mg/ dL ve < 126 mg/ dL (97).

3.2.2. Diyabetin Tarihçesi

Diyabet kelimesi ilk kez M.S ikinci yüzyılda Kapadokya’lı Aretaeus tarafından kullanılmıştır. Kelime Yunanca’dan gelmekte olup, içinden sıvı akan boru anlamına gelmektedir. Aretaeus hastalığın klinik tanımlamasını, bugün hemen fark edilebilecek olan artmış idrar akımı, susuzluk ve kilo kaybı gibi özellikleri belirterek yapmıştır. İdrarın tatlı olması eski Yunan, Çin, Mısır, Hint ve Pers uygarlıkları tarafından fark edilmiştir. Eski Hintliler diyabeti teşhis etmek için hastanın idrarının çevresine karıncaların toplanmasını kullanmışlar ve bu hastalığa “tatlı idrarlı hastalık” anlamına gelen “medhumeha” ismini vermişlerdir. 5. ve 6. yüzyıllar boyunca Sushrut gibi Hindu hekimlerce idrarın tatlı olduğu

bildirilmiştir. Bu tanımlamalarda diyabetin iki formu olduğundan bile bahsedilmiştir (121).

Orta Çağda (981-1037), İbn-i Sina El-Kanun Fi't-Tıbb adlı eserinde diyabetten oldukça ayrıntılı şekilde bahsetmiş ve hastalığı aşırı iştah artışı ve cinsel işlevlerin azalması şeklinde tanımlayıp, idrarın tatlı olmasından da bahsetmiştir. İbn-i Sina'da birincil, ikincil diyabetleri ve diyabetik kangreni tanımlamıştır (78). 1858-1931 yıllarında Joseph Von Mering ve Oskar Minkowski pankreası çıkarılmış köpeklerin diyabetin tüm belirtilerini gösterdiklerini ve kısa bir süre sonrada öldüklerini belirleyerek pankreasın diyabette oynadığı rolü keşfetmişlerdir. 1847-1888 yıllarında Paul Langerhans pankreastan alınan preparatlarda küçük hücre kümeleri olduğunu tanımlayan ilk kişi oldu. Bu hücreleri sonradan (1893) Langerhans adacıkları olarak adlandıran Fransız Edouard Laguesse, bu hücrelerin pankreasın endokrin dokusu olduğunu ve glukoz düşürücü bir hormon salgıladığını öne süren ilk kişi olmuştur. 1921 yılında cerrah Sir Frederick Grant Banting ve öğrenci asistanı Charles Best, biyokimyacı James B. Collip ve fizyolog JJR Macleod'un ortak çalışmasıyla insülin bulunmuştur. 1958 de Frederick Sanger tarafından insülinin amino asit dizilimi ortaya konmuş ve 1939- 1999 yılları arasında ise İngiltere diyabet araştırma çalışması (UKPDS; United Kingdom Prospective Diabetes Study) Oxford'lu hekim Robert Turner tarafından başlatılmıştır (121).

3.2.3. Diyabet Çeşitleri

Tip 1 diabetes mellitus

- İmmün mekanizmayla oluşan
- İdiyopatik

Tip 2 Diabetes Mellitus

- İnsülin direnci ön planda
- İnsülin sekresyon defekti ön planda

Diğer spesifik tipler

- β -hücre fonksiyonunda defektler
- İnsülin etkisinde genetik defektler
- Ekzokrin pankreas hastalıkları
- Endokrinopatiler
- İlaç ya da kimyasal ajanlar
- Diğerleri : genetik sendromların seyrindeki diyabet şekilleri
- Enfeksiyonlar

Gestasyonel diyabettir (115).

3.2.4. Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM)

Tip 1 diabetes mellitus (T1DM) çocukluk yaş grubunda pankreasın insülin üreten beta hücrelerinin süregelen otoimmün veya otoimmün dışı nedenlerle iltihaplanması sonucu gelişen insülin yetersizliği ve hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır. Dünyada beş yaş civarındaki genel prevalans 1/1430, 16 yaşlarında ise 1/360 civarındadır. Ülkemizdeki prevalansı yaklaşık 1/2000'dir (1). Etiyolojisinde genetik ve çevresel birçok etken rol oynamaktadır. T1DM ile ilişkili PTPN22, CTLA4, HLA-DR3-DR4, IFIH1=MDA5, IL2RA=CD25, FOXP3, İnsülin VNTR genlerinin belirlenmesiyle temelinde güçlü ve poligenik bir bileşenin olduğu desteklenmiş oldu (19, 27, 37, 70, 108). Tip 1 DM gelişiminde genetik faktörlerin önemli yer tuttuğu bildirilmesine karşın,

herhangi bir mendelian kalıtsal faktörün tek başına rol oynamadığı ve gelişiminin kompleks ve multifaktöryel olduğu öne sürülmektedir. T1DM’li bir bireyin birinci derece akrabalarında diyabet gelişme riskinin 15–20 kat daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bir çalışmada, T1DM olgularının birinci derece akrabalarının %8.5’inde (141/1641) T1DM öyküsünün olduğu saptanmıştır (1). İkiz çalışmalarında genetik ve çevresel faktörlerin önemli rolünün olduğu gösterilmiştir. Tek yumurta ikizlerinde gelişme riskinin %50 olduğu bildirilmesine karşın (19), ayrı yumurta ikizlerinde bu riskin %11 olduğu belirtilmiştir (70). Poliüri, polidipsi ve kilo kaybı ile kendini gösteren T1DM, insülin, egzersiz ve beslenmenin planlanması ile tedavi edilmektedir. Birçok farklı insülin rejimi uygulanmasına karşın, immünoterapi gibi yeni tedavi yöntemleri üzerinde de çalışılmaktadır (1).

3.2.5. Gestasyonel Diyabet (GDM)

İlk kez gebelik sırasında başlayan veya ilk teşhisi hamilelik sırasında konulan glukoz intoleransı olarak tanımlanır (23). GDM için risk faktörleri obezite, ailede tip 2 diyabet veya GDM hikayesi olması, geçmiş gebeliğinde açıklanamayan geç doğum veya yeni doğanın ölümü ve yüksek riskli etnik gruba ait olmaktır. Doğumdan sonra diyabet iyileşir ama takip eden gebeliklerde tekrarlamaya meyillidir ve tip 2 diyabet oluşma riski yaşam boyu %30’dur (121).

3.2.6. Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM)

Heterojen bir hastalık olan diyabetin bu formunda, iki metabolik defekt söz konusudur. Bunlardan ilki, insülinin etkisi veya pankreastan sekresyonunun azalmasıdır (97,104). İkincisi ise, insülin etkisindeki bozukluk nedeniyle insülin

direnci gelişmiştir. insülin sekresyonu da insülin direncini gidermekte yetersiz kalmaktadır. Genellikle bu bozukluklardan birisi ön plandadır (59).

3.2.6.1. İnsülin Direnci Defektleri

İnsülin direnci, ekzojen veya endojen uygulanan insüline karşı normal biyolojik yanıtın bozulması şeklinde tanımlanır (59). Bilindiği gibi insülinin hedef dokuları karaciğer, yağ ve kas dokusudur (58). İnsülin karaciğerde glukoneogenezi ve glikojenolizi inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskılar. Aynı zamanda glukozun kas ve yağ dokusuna alınımını ve burada enerji kaynağı olarak depolanmasını sağlar. Karaciğer dokusu glukoz homeostazisinin devamı için merkezi rol oynamaktadır. İnsülin direnci gelişen ortamda, insülinin karaciğer, yağ ve kas dokusundaki bu etkilerine karşı direnç gelişir ve gerek hepatik glukoz çıkışında artış ve gerekse, kas ve yağ dokusu içine alınamayan glukoz (periferik insülin direnci) ile kanda hiperglisemi gelişir. Hiperglisemiyi kompanse etmek için beta hücrelerinden daha fazla insülin salınımı gerçekleşir. Fakat beta hücresi de fonksiyonlarını kaybetmeye başlayınca, insülin salınım eksikliği ve sonuçta diyabet gelişir (59).

Obezite insülin direncinin gelişmesinde major bir risktir (28). Ancak, obez olmayan sağlıklı kişilerin %25'inde de insülin direnci saptanmıştır (59). Bu veriler diyabet gelişiminde genetik yatkınlığın da önemli bir rol oynadığını göstermektedir (122).

3.2.6.2. İnsülin Sekresyonu Defektleri

İnsülin duyarlılığı beta (β) hücrelerinin, birincil salgılatıcısı olan glukoz ile uyarılması ile oluşan insülin cevabının şiddetinin belirlenmesinde önemli bir faktördür. Bu durumda β hücrelerinin insülin sekresyon yeteneği bozulmuş ve

adacık hücrelerinin kan glukoz konsantrasyonu deneysel olarak arttırıldıktan sonraki insülin sekresyon yeteneği de körelmiştir. Proinsülinin insüline olan normal oranında da bozulma gözlenmiş olup, insülindeki azalma proinsülinde göreceli artmaya neden olmuştur (23). Tip 2 diyabet teşhisi konan hastalarda β hücre fonksiyonunun %50'si kaybolmuştur (111).

3.2.6.3. İnsülin Sekresyonunu Düzenleyen Faktörler

İnkretin hormonlar (glukagon benzeri peptit (GLP-1)) yemekten sonra ince bağırsağın endokrin hücrelerinden salgılanan, insülinotropik küçük peptitlerdir. İlk olarak saptanan inkretin duodenumdan salgılanan gastrit inhibitör peptittir (GIP). 1973 yılında GIP'in insülin salınımını uyardığı gösterilmiştir. Bu tarihten sonra GIP, glukoz bağımlı insülinotropik polipeptid olarak adlandırılmıştır. Ancak yapılan sıçan çalışmalarında GIP'in uzaklaştırılmasının inkretin etkisini ortadan kaldırmadığı gösterilmiştir. Ayrıca inkretin etkisininin GIP sekresyonu ile değil, L hücre (intestinal mukozanın en aktif endokrin hücreleri) yoğunluğunun en fazla olduğu ileumun uzunluğu ile ilişkili olduğu saptanmıştır. 1983 yılında G. Bell ve arkadaşları hamster ve insan proglukagon genlerini klonlayarak, insan proglukagon dizisini ortaya koymuşlardır. Proglukagonun N terminal kısmı glisentin dizisinden oluşuyordu ve aynı zamanda iki glukagon dizisini de içeriyordu. Bu peptidler tip 2 diyabetin patogenezinde daha önemli role sahip olan, glukagon benzeri peptit (GLP-1 ve GLP-2) olarak adlandırıldı. GLP-1'in oldukça güçlü bir insülinotropik peptid olduğu, GLP-2'nin ise bağırsakta önemli bir büyüme faktörü olarak işlev gördüğü ortaya konmuştur (59). Daha sonra GLP-1'in GIP'ten farklı olduğu ve glukagon sekresyonunu güçlü bir şekilde inhibe ettiği fark edilmiştir (54). GLP-1, pankreatik insülin sekresyon

kapasitesini artırmakta, beta hücrelerinin apoptozisini engellemekte, gen transkripsiyonunu ve proinsülin biyosentezini uyarmaktadır. Böylece periferel insülin direncinin üstesinden gelmeye ve Tip 2 diyabetin glukozaya bağımlı insülin sekresyon karakterini azaltmaya çalışır (55). Tip 2 diyabetli hastalarda GLP-1 düzeyinin düşük olduğu ve inkretin etkisinin de azaldığı bilinmektedir (80).

3.2.7. Klinik Özellikleri

Tip 2 diabetes mellitus (T2DM), genellikle 40 yaşından sonra görülür. Ancak son 20 yıldan beri dünyada artan şekilde çocuk ve gençlerde de T2DM teşhisi konulduğuna dair bilgiler bulunmaktadır. ABD’de 2000 ve 2003 yılları arasında 10–19 yaş grubundaki Hispanik olmayan beyazların %14.9’unda, Hispaniklerin %46.1’inde, Afrikan Amerikalıların %57.8’inde, Amerikan yerlilerinin %86.2’sinde T2DM teşhisi konulduğu yazmaktadır. Bu oran daha az vaka olan Avrupada %1-2 oranında iken; Tayvan, Kuveyt ve Japonya gibi ülkelerde de okul çağındaki çocuk ve gençlerde yüksek olarak görülmektedir (104). Aile öyküsü sıktır. Uzun süreli belirtisiz periyodu olması nedeniyle çoğu zaman geç teşhis edilir. Belirtisiz periyodu takiben poliüri, polidipsi, kilo kaybı, bulanık görme, karın ağrısı, güçsüzlük, bacak krampları, bulantı ve kusma, hafıza kaybı, zihin bulanıklığı ve uyku hali, asidotik, susama gibi klasik DM semptomları (T2DM hastalarının yaklaşık %50’si) ile ortaya çıkar (115). Uzun asemptomatik periyot süresince gelişen komplikasyonlar DM’nin majör komplikasyonları nefropati, nöropati, retinopati ve kardiyovasküler hastalıklar da hastalığın başlangıcı ile beraber gözlenebilir (77).

3.2.8. Tip 2 Diyabet ve Genetik

Tip 2 diyabet multifaktöryel geçişli kompleks poligenik bir hastalıktır. T2DM'li vakaların yalnızca %5-10'ununda monogenik Mendelyan kalıtım görülür. Bunlar ise gençlerde görülen ergin başlangıçlı diyabet (MODY; Maturity onset diabetes of the young), insülin direnci sendromu, mitokondrial diyabet, ve neonatal diyabetli hastalardır (112). Hastalığın oluşumunda genetik ve çevresel faktörler etkili olmaktadır. Tip 2 diyabette güçlü bir kalıtım kalıbı vardır (112). Tek yumurta ikizlerinde konkordans (ikizlerden her birinin aynı anda hastalığa yakalanma oranı) %70 iken, çift yumurta ikizlerinde %20- 30 civarındadır. Tek bir ebeveyninde T2DM bulunan kişilerde hastalığa yakalanma riski %40 iken, hem anne hem de babasında T2DM bulunan bireylerin yaşamları boyunca hastalığa yakalanma riski %70 civarındadır. Özellikle T2DM'li baba değil de, T2DM'li anneden doğan bireylerin hastalığa yakalanma riskleri çok daha yüksek olmaktadır. Birinci dereceden akrabalarında tip 2 diyabet vakası olan kişilerde T2DM olma riski 3 kat daha fazladır (47).

Son yıllarda diyabet genetiği konusunda, T2DM'nin patogenezinde rol alan insülin direnci, β hücre fonksiyonu, insulin salınımı ve aktivitesi, glukoz metabolizması ile ilgili enzim ve proteinleri kodlayan genlerdeki hastalığa neden olabilecek şüpheli aday genlerin tanımlanması önemli bir yaklaşım olarak ön plana çıkmaktadır (36). Ayrıca obezite insülin direncine yol açtığı için ortak bazı genler hem T2DM'nin hem de obezitenin ortaya çıkmasında etkili olmaktadır (FTO ve TMEM18 gibi) (118). T2DM ile ilişkili genlerin araştırılmasında başlıca 2 yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan ilki aday gen yaklaşımı yöntemi kullanılarak T2DM'nin oluşumunda etkili olduğu düşünülen yaygın genetik

varyantların alel frekanslarının sağlıklı bireylerin alel frekansları ile karşılaştırılması sonucunda genin T2DM ile ilişkili olup, olunmadığının belirlenmesi; ikincisi ise tüm genomu kapsayan ilişkilendirme çalışmalarıdır (GWAS; genome wide association studies) (101). Tüm genom taramalarında varsayıma dayanılmaz. Bu yaklaşım ortak bir fenotipi paylaşan aile bireylerinin aynı geni içeren kromozomal bölgeleri paylaşma esasına dayanır ve böylelikle genler genomik pozisyonlarına göre lokalize edilir (102). GWAS, yüksek sayıda örnekle çalışma imkanı sunar ve bu ölçekle etkisi küçük olan genleri de tanımlayabilir (118).

Son yirmi yıldan beri yapılan GWA ve linkaj analizleri yardımıyla günümüze kadar çok sayıda genomik bölge, genler ve bu genlerdeki mutasyon ya da polimorfizmler T2DM ile ilişkilendirilmiştir (112). T2DM genetiği ile ilgili geniş ölçekli ve yüksek çözünürlüğe sahip GWA çalışmalarının üç aşaması vardır. Bu üç aşamadan beşi Beyaz Avrupa'da, biri Doğu Asya'da olmak üzere altı GWA taraması şeklinde özetlenebilir (118).

1. Aşama: ilk aşamanın keşifleri Fransada 661 Tip 2 Diyabet ve 614 kontrol vakasında yapılan küçük bir GWA çalışması ile başladı (73). Bu çalışmada 3 yeni lokus keşfedildi. Bunlar insülin üreten beta hücrelerinden eksprese edilen SLC30A8 geni üzerindeki R325W polimorfizmi ve beta hücre gelişimi ve fonksiyonuyla ilişkili HHEX/IDE ve EXT2-ALX4 genleriydi (118).

2. Aşama: Welcome Trust Case Control Consortium (WTCCC), Diabetes Genetics Initiative (DGI) and Finland United States Investigation of NIDDM genetics (FUSION) gen tarama sonuçlarında CDKAL1, CDKN2A/B, IGF2BP2, FTO ve daha önceden de rapor edilmiş olan PPARG, KCNJ11 ile TCF7L2 genleri

ile diyabet arasında ilişki bulunmuştur (43, 109). Bu genler 500 vakadan oluşan Avrupalı birey ve Finlandiya, İsrail, Almanya ve İngiltereden 497 kontrol ile yapılan çalışmada T2DM ile ilişkili bulunmuştur. Ancak, farklı yeni genler bulunamamıştır (73). Başka bir GWA çalışması ise; İzlanda'da 1399 T2DM'li vaka ve 5275 kontrolden oluşan bireylerde yapılmıştır (73). Çalışmada T2DM'nin yeni bir lokusu olan CDKAL1 geninin intronik varyantı rs7756992 bulunmuştur. İnsülin cevabının bu polimorfizm için homozigotlarda, heterozigotlar ve yabancı tip alleleri taşıyanlarla karşılaştırıldığında yaklaşık %20 daha düşük olduğu göstermiştir. Aynı çalışmada bu varyantın insülin salınımını azaltarak T2DM riskini artırdığı öne sürülmüştür (118).

3. Aşama: Üçüncü aşama ise Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC), Diabetes Genetics Initiative (DGI) and Finland United States Investigation of NIDDM genetics (FUSION) gruplarının 4549 vaka ve 5579 kontrode yaptıkları çalışmalardan oluşmaktadır. Çalışmanın ilk aşamasında 69 varyantın T2DM ile ilişkisi $P < 10^{-4}$ önem derecesine ulaşmıştır. Sonraki aşamada bu 69 varyantın 6'sı, T2DM ile ilişki açısından $P < 10^{-8}$ değerine ulaşmıştır. Bu 6 varyant, NOTCH2, CAMK1D, ADAMTS9, JAZF1, TSPAN8/LGR5, THADA gen bölgelerinde veya bu genlerin yanında yer almaktadır (118).

GWA çalışmalarının üç aşamasının devamı olarak Çin Han popülasyonundan akraba olmayan 3210 T2DM'li birey ile yapılan bir çalışmada daha önceden GWA çalışmalarıyla belirlenmiş olan 17 ortak varyant ile T2DM arasında ilişki bulunmuştur. CDKAL1, CDKN2A/2B, IGF2BP2 ile SLC30A8 lokuslarındaki varyantların ise, T2DM oluşma riski açısından bağımsız yada ek bir katkıda buldukları ortaya konulmuştur. Çin Han popülasyonunda, CDKAL1

ve CDKN2A/2B varyantlarının risk allellerinin T2DM oluşturma riski Avrupa popülasyonundan daha yüksek bulunmuştur. Bununla beraber bu varyantların allel frekansları Avrupalılar ile karşılaştırıldığında Çinlilerde daha yüksek oranda gözlemlenmiştir (122).

Fransa ve Danimarka başta olmak üzere çeşitli beyaz toplumlarda, Asya toplumlarında, Afrikan Amerikan ve Arizona yakınlarında yaşayan Pima yerlilerinde yapılan bir çalışmada ise, CDKAL1, SLC30A8, IGF2BP2, CDKN2A/B, FTO, HHEX, EXT2 ve LOC387761 genleri ile T2DM arasında güçlü bir ilişkili bulunmasına rağmen; Pima yerlilerinde bu genler ile T2DM arasında ilişki bulunmadığı belirlenmiştir. Hatta yapılan birçok çalışma sonucunda beyaz ırk ve Asya toplumunda T2DM ile güçlü ilişkisi olduğu bulunan ve yüksek oranda taşıyıcı sıklığı bulunan CDKAL1 genindeki rs7754840 C aleli, SLC30A8 genindeki C alleli, HHEX genindeki C alleli, CDKN2B genindeki T aleli taşıyıcı sıklığı ise hem Afrikan Amerikalılarda hem de Pima yerlilerinde çok az bulunmakta olup, T2DM ve obezite ile ilişkileri bulunmamıştır (87).

Avrupa'da açlık glukozu, açlık insülini, azalmış beta hücre fonksiyonu ve insülin direnci hakkında bilgi edinmek için 46.186 non-diabetik ve 76.558 kişiyi kapsayan 21 GWA çalışmasının meta analizi yapılmıştır. Bu meta analiz sonucunda ADCY5, MADD, ADRA2A, CRY2, FADS1, GLIS3, SLC2A2, PROX1, FAM148B lokuslarının açlık glukozu ile IGF1 yakınlarında tespit edilen bir lokusun ise, açlık insülini ve insülin direnci ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (40). Belirlenen aynı lokuslardan DGKB/TMEM195, ADCY5, FADS1, ADRA2A, SLC2A2, GCK, GCKR, G6PC2, IGF1 lokusları sinyal iletimiyle, GLIS3, MADD, PROX1 lokusları hücre büyüme ve farklılaşması ile, SLC2A2,

GCK, GCKR, G6PC2 lokusları glukoz iletimi ve duyarlılığı ile, MTNR1B, CRY2 lokusları ise, günlük ritim düzenlenmesi ile ilişkili olarak da bulunmuştur (40).

Bütün bu çalışmalara ek olarak Finlandiya ve İsveç gibi populasyonlarda yapılan çeşitli çalışmalarda PTPN22 (PTPN22; Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22) C1858T polimorfizmi T2DM ile ilişkili olarak bulunmuştur (10, 27). Etnik olarak homojen bir Kafkas toplumu olan Estonya populasyonunda T2DM'li hastalarda yapılan bir çalışmada ise, CT genotipinin hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek oranda olduğu gözlemlenmiştir (37).

3.2.9. Çevresel Faktörler

Çevresel faktörler arasında etnik köken, cinsiyet, yaş, kentsel yaşam, fiziksel aktivite, düşük doğum ağırlığı, beslenme şekli, coğrafik farklılık ve obezite yer almaktadır (58).

Örneğin, etnik kökenin diğer faktörlere ek olarak T2DM gelişim prevalansını arttırabileceğini gösteren çalışmalar vardır. Beyaz ırk ve başta Hintliler olmak üzere Asyalılar arasında T2DM gelişiminde önemli farklılıklar bulunmaktadır. Aynı beden kitle indeksine (BMI; Body mass index) sahip bireylerle yapılan çalışmalarda Asyalıların vücutlarındaki yağ oranı ve abdominal obezite oranı bunun sonucunda ise insülin direnci ve T2DM oluşma riski beyaz ırka göre çok daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, Asya kıtasında diyabet gelişimi dünyanın diğer bölgeleri ile karşılaştırıldığında, bu bölgede hastalığın daha kısa sürede, daha genç yaş grubunda ve daha düşük BMI indeksine sahip bireylerde gelişmesi ile farklılık gösterdiği belirlenmiştir (123). Singapur'da yapılan bir çalışmada T2DM gelişime riskinin Asyalı Hintlilerde, Çin ve Malezyalı bireylerden daha fazla olduğu rapor edilmiştir (103). Amerika'ya göç etmiş Los

Angeles ve Hawaii’de yaşıyan, batılı beslenme tarzına sahip Japonlar yerli Japonlara göre daha yüksek T2DM oranına sahiptir. Bu çalışma, coğrafik farklılığın ve beslenme tarzının T2DM üzerindeki etkisini açık bir şekilde göstermektedir (79). Cinsiyetin T2DM gelişimi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada T2DM sıklığının, Meksika popülasyonunda erkeklerde daha yüksek olduğu bulunmuştur (69). Diyabetin farklı coğrafyalarda kırsal ve kentsel yerleşimle ilişkisine bakıldığında, Brezilya ve Avustralyada yapılmış olan çalışmalarda kentsel yerleşimin kırsal yerleşime göre prevalansı arttırdığı gözlenmiştir. Ancak bazen bunun tersi durumlarda söz konusu olabilmektedir (126). Düzenli fiziksel aktivitenin insülin duyarlılığı ve glukoz toleransını artırıcı etkisi olduğu, T2DM gelişimini ise azalttığı gösterilmiştir (66). Obezite de T2DM için büyük bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir (30). Diyabet hastası olan 3299 olgu üzerinde yapılan bir çalışmada, diyabetik kadınların %57.7’si obez ve %30.2’si ise kilolu bulunmuştur (2). Kilolu ve obez kadınlar insülin duyarlılığına sahip olma açısından zayıf ve orta kilolu kadınlar ile karşılaştırıldığında yüksek oranda artmış risk altındadırlar (26).

Yüksek Vücut kitle indeksi (VKİ), birçok etnik grupta T2DM gelişim riskini direkt olarak arttırmaktadır (4).

Amerika’da yaşıyan Afrika kökenli popülasyonda yapılan bir çalışmada, obezitenin özellikle çocuk ve gençlerde olmak üzere bireylerde insülin direncine yol açarak T2DM ‘ye yatkınlığa yol açtığı gösterilmiştir (82). Bir çalışmada ise olarak FTO, TMEM18, GNPDA2, NEGR1, ETV5–DGKG ve BCDIN3D–FAIM2 genlerinin hem T2DM hem de obezite patogeneğinde rol oynadıkları belirlenmiştir (118).

3.2.10. Diyabetes Mellitus'un Prelevansı

Günümüzde diyabet küresel olarak 285 milyondan fazla insanı etkilemektedir (25). DM'li bireylerin %90'ı T2DM'ye sahiptir (25, 75). Dünya da son 20 yılda Tip 2 diyabet hızlı bir şekilde artmış ve görülme sıklığı %6 oranına yaklaşmıştır. Bu oranın popülasyondaki yaş ortalamalarının ve obezitenin artması ile paralel olarak artacağı ve 2025 yılında dünyada 300 milyon kişinin (109), 2030 yılında ise 366 milyon kişinin T2DM'li olacağı tahmin edilmektedir (57).

2010 ve 2030 yılları arasında gelişmekte olan ülkelerde diyabetli hasta sayısında %69, gelişmiş ülkelerde ise %20 oranında artış olacağı tahmin edilmektedir (128).

Dünyada en yüksek diyabet oranlarında %40 ile Orta Asya ilk sırada, %28.2 ile Kuzey Amerika 2. sırada, %17.9 ile Afrika 3. sırada yer almaktadır (109). Yeni raporlar Hindistan, Çin ve Amerika Birleşik Devletleri'nde (USA; United State of America) önceki raporların aksine daha yüksek diyabet prevelansının olduğunu göstermektedir. 2030 yılında Hindistan'da 87 milyon, Çin'de 62.6 milyon ve USA'da 36 milyon diyabetli hasta beklenmektedir (128). Etnik ve coğrafik farklılıklarda göz önüne alındığında ülkemizde diyabet sıklığını belirlemeye yönelik ilk çalışmalar 1940'lı yıllarda başlatılmış olmasına rağmen, yakın zamana kadar diyabet epidemiyolojisi alanında toplum genelini yansıtacak şekilde planlanmış ve uluslararası standartlarda gerçekleştirilmiş araştırma bulunmamaktaydı. Satman ve arkadaşları tarafından 2001 yılında yayınlanan TURDEP (Türkiye Diyabet Epidemiyolojik Çalışma Grubu) çalışmasında toplumumuzda diyabet yaygınlık oranı %7.2, IGT oranı ise %6.7 olarak bulunmuştur. Yaklaşık 2.6 milyon diyabetli hasta bulunmaktadır. Bunların 0.8 milyonu hastalıklarından habersizdir. Diyabet kadınlarda erkeklerden daha yaygın

görülmüştür. Glukoz intoleransı, şehirlerde kırsallardan daha yüksektir. Diyabet prevalansı Türkiye’de Malta, Tunus ve İspanya’dan daha yüksek; Mısır, Umman, Bahreyn ve Sudan’ dan daha düşük; Orta Asyadaki Türk populasyonları ile benzer bulunmuştur. Ancak Kuzey Kıbrıs’taki Türklerde ve Almanya’da yaşayan 2. ve 3. nesil Türklerde diyabet prevalansı daha yüksek olarak belirlenmiştir (95). Yapılan bir çalışmada Türkiye’de 2030 yılındaki diyabet oranının %9.6 ve diyabetli birey sayısının ise 6.323.000 olacağı ifade edilmektedir (128).

3.2.11. Tip 2 Diyabet Tedavisi

Son yıllarda çıkan yeni oral antidiyabetikler ve insülinlerle tip 2 diyabet tedavisinde seçenekler çoğalmaktadır. Amerikan Diyabet Derneği’nin yeni ölçütlerine göre açlık kan şekeri <100mg/dl, yemekten sonra 2.saatte <140mg/dl olarak belirlenmiştir. T2DM’nin oral tedavisinde kullanılan ilaçlar sülfonilüreler, sülfonilüre olmayan insülin sekretagoglar, biguanidler, alfa-glukozidaz inhibitörleri ve tiazolidinedionlardır. İnsülin tedavisi gerektiren durumlar ise ağır hipoglisemi, oral ilaçların maksimum dozlarını alırken bozuk glikoz kontrolü, araya giren hastalıklar (miyokard infarktüsü, enfeksiyon) veya operasyon, gebelik, böbrek hastalıkları, karaciğer hastalıkları, oral antidiyabetiklere intolerans veya alerjidir. Bu durumlarda karışık insülinler (NPH, human analog), çabuk etkili insülin analogları (lispro insülin, aspart insülin) ve bazal insülin analogları (insülin glargin) kullanılabilir (113).

3.3. Hashimoto Tiroiditi (HT)

Haşimato tiroiditi (HT), en yaygın otoimmün tiroid hastalığıdır. Lenfositlerin tiroide ait antijenlere karşı duyarlı olması ve bu antijenlere karşı gelişen otoantikorlar varlığı ile karakterizedir. Hastalık en fazla kadınlarda görülmektedir (13, 41). Kronik olarak ilerleyen otoimmün tiroidit ve kronik lenfositik tiroidit Haşimato tiroidit olarak bilinmektedir. Hastalık özellikle orta yaştaki kadınları etkilemektedir. Kadınlarda erkeklerden yaklaşık 7 kat daha fazla görülmektedir (18). Otoimmün tiroid, ilk kez 1912 yılında Hakaru Hashimoto tarafından dört kadın hastada “Struma Lymphamotosa” olarak adlandırılmıştır. Bu hastalarda tiroid bezinin plazma hücreleri ve lenfositlerce infiltre olduğu, parankimde fibrozis, atrofi ve eozinofilik dejenerasyonun geliştiği görülmüştür. Haşimato tiroiditi hastalığın başlangıcında tiroid bezinde sahip olduğu bu karakteristik histopatolojik anomalileriyle, tiroid kanseri anomalilerinden farklı olarak tanımlanmaktadır (9).

3.3.1. Etyoloji ve Patogenez

Haşimato tiroiditi ve Graves hastalığını içine alan otoimmün tiroid hastalıkları (AITD; Autoimmune thyroid disease), genel populasyonun %5'i kadarını etkilemektedir (107). Ancak, HT'de hipotiroidi görülürken, Graves hastalığında hipertiroidi görülmektedir (56, 106).

Otoimmün tiroid hastalıkların patogenezi pek çok genetik ve çevresel anomalinin, hastalığın tamamen gelişmesinden önce bir noktada birleşmelerini gerektiren çok basamaklı bir süreç içermektedir. HT başlangıcında, MHC sınıf 2 pozitif antijen sunum hücreleri (APC; antigen presenting cell), özellikle dentritik (birincil immün yanıtta antijen sunucu hücreler) ve makrofajların farklı alt

grupları tiroid bezinde birikirler. APC, T hücrelerine tiroide ait otoantijenlerin sunumunu yapar. Bu durum T hücrelerinin aktivasyonuna ve daha sonrasında klonal çoğalmaya neden olur. Böylece hastalığın başlangıcını klonal çoğalma ve lenf nodüllerinde otoreaktif T ve B lenfositlerin gelişimi takip eder (29).

Haşimato hastalığında, folikül hücreleri ve kolloid adacıklarından zengin tiroid dokusunun yerini histopatolojik değerlendirmede, yaygın olarak küçük lenfositler, plazma hücreleri ve germinal merkezler içeren mononükleer inflamatuvar infiltrat almıştır, foliküller atrofiyedir ve interstisyel bağ dokusu artmıştır. Artmış fibröz bağ dokusu, bezi kolloid ve interstisyel sıvı açısından fakir hale getirmektedir (99).

Bilindiği üzere Haşimato tiroiditi lenfositlerin, tiroide ait otoantijenlere karşı duyarlı olması ve bu antijenlere karşı gelişen otoantikörlerin varlığı ile karakterizedir. Tiroid dokusunun otoantijenleri; tiroperoksidaz (TPO: tiroid folikül hücrelerinin stoplazmasında ve yüzeyinde yer alan, T3 ve T4 tiroid hormonlarının üretilmesini katalizleyen membrana bağlı bir enzimdir (52). tiroid uyarıcı hormon (TSH; thyroid stimulating hormone) reseptörü ve tiroglobulindir (Tg). Bunlara ek olarak NIS, T3, T4 ve tiroid folikül hücrelerinin apikal bir proteini olan Pendrin gibi diğer tiroid spesifik veya restriksiyon otoantijenleri de otoimmün tiroid hastalığı bulunanlarda immün sistemin potansiyel hedefleri halindedirler. Ancak şimdiye kadar AITD da pendrine ait otoantikör olduğuna dair çalışmalar rapor edilmemiştir (50). Haşimato tiroiditinde tiroperoksidaz, tiroglobulin, TSH reseptör otoantijenlerine karşı gelişen başlıca üç tiroid otoantikörü ise; tiroglobulin antikörü, TPO antikörü ve TSH-R bloke edici antikördür (98). Haşimato tiroiditinin erken evrelerinde tiroglobulin antikörünün

belirgin olarak ve TPO antikorunun ise, hafifçe artmış olduğu saptanır. Daha sonra tiroglobulin antikoruna azalarak kaybolurken TPO antikoruna yıllarca pozitif kalır (32). Haşimato tiroiditinin patolojisinde, normal tiroid yapısını tamamen yıkan yoğun lenfosit infiltrasyonu vardır (106). Lenfoid foliküller ve germinal merkezler oluşabilir. Bezin hasarı serum T3 ve FT4 seviyelerinde düşüğe, TSH seviyesinde yükselmeye yol açar. Başlangıçta, TSH bezin boyutunda artışa veya guatra yol açarak yeterli hormon salgılanmasını sağlar. Fakat sıklıkla bez zamanla yetersiz kalır ve guatrlı veya guatrsız hipotiroidizm gelişir (32). Haşimato tiroiditin patogenezinde rol oynayan diğer bir moleküler mekanizma ise; apoptozistir. T helper (yardımcı) lenfositler farklı seviyelerde immün ve hedef hücrelerin her ikisini de etkileyen sitokinler üretirler. Öncelikle TH1 ve TH2 lenfositler, sitokinlerin pro-apoptotik ve anti apoptotik proteinleri indüklemesi yoluyla tiroisitlerin (tiroide ait hücreler) varlığını sürdürmelerini düzenlemektedirler. TH1 aracılı mekanizma, reseptör ölümü ve sitokinleri düzenleyici apoptotik yollarla Haşimato tiroiditinde tiroisitlerin ölümüne neden olur (29).

3.3.2.Haşimato Tiroiditinin Genetik Temeli

Bir otoimmün tiroid hastalığı olan Haşimato tiroiditi genetik, immünolojik ve çevresel faktörler sonucu ortaya çıkan kompleks bir hastalıktır (56, 106, 107). Çok sayıda epidemiyolojik aile ve ikiz çalışmalarında AITD'nin (otoimmün tiroid hastalıkları) gelişiminde güçlü bir genetik etkiye dikkat çekilmektedir. Monozigotik ikizlerde (MZ) hastalık konkordansı dizigotik ikizlerden (DZ) daha yüksek oranda bulunmakta olup, monozigot ikizlerde AITD konkordansı %50 olarak rapor edilmiştir (24). Danimarkada ikiz bireylerle yapılan bir çalışmada tiroid antikorları için konkordans oranları (ikizlerden her birinin aynı anda

hastalığa yakalanma oranı) MZ'lerde %80, DZ'lerde ise %40 olarak bulunmuştur (20). UK'da yapılan bir çalışmada tiroglobulin antikoru için konkordans MZ'lerde %59, DZ'lerde ise, %23 olarak bulunmuştur. TPO antikoru için ise; bu oran MZ'lerde %47, DZ'lerde %29 olarak bulunmuştur (84).

AITD'nin etiyolojisine katkıda bulunan genleri belirlemek için aday gen yaklaşımı ve tüm genom tarama teknikleri kullanılmaktadır (107). Bu çalışmalar sonucunda AITD ile ilişkili pek çok gen ve lokus belirlenmiştir. Bu lokus ve genlerden bazıları sadece Graves, bazıları sadece Haşimato bir kısmı da her iki hastalıkla da ilişkili olarak bulunmuştur. Çalışmalar sonucu belirlenen pek çok lokus ve genin birbiriyle etkileşim halinde oldukları belirtilmiştir. Genler arasındaki etkileşim hastalık fenotip ve şiddetini etkilemektedir (106). Haşimato ile ilişkili bulunan genler; HLA, CD40, sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen-4 (CTLA-4), PTPN22 gibi immün sistem ve immün cevapla ilgili genler ve tiroid spesifik (TSH reseptör ve tiroglobulin) genlerdir (38, 44, 56, 106, 107). Haşimato tiroiditinde atrofik varyantın HLA-DR3 genleri ile geçtiği, guatrlı formun ise; HLA-DR5 genleri ile uyumluluk gösterdiği düşünülmektedir (48). Öncelikli olarak immün cevapla bağlantılı olan birçok protein ve HLA glukoproteinini kodlayan, 6p21 kromozomu üzerinde yer alan HLA lokusundaki birçok gen bölgesi HT ve AITD ile ilişkili bulunmuştur (29, 56, 106). HLA sınıf 2 genleri, AITD için test edilmiş ilk genlerdir (107). Asya toplumlarında HLA sınıf I (A2, B16, B35, B46, B51, B54, C3) ve HLA sınıf II (DR2, DR9, DR53, DQ4) genlerin HT ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Beyaz ırkta ise, HT DR3, DR4, DR5, DQA1 0301, DQB10201 ve DQB10301 gibi HLA sınıf II genleri ile ilişkili bulunmuştur. Ancak HLA-DP ve HLA sınıf I (HLA-A, HLA-B ve HLA-C) genleri ile ilişki

bulunamamıştır (29). Yine beyaz ırkta transgenik farelerle yapılan çalışmalarda da HLA-DR ve DQw7 lokusları ve Haşimato arasında güçlü bir bağlantı olduğu rapor edilmiştir (70).

X kromozomu anomalilerinin kadınlarda AITD oranını artırabileceği çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu verinin büyük çoğunluğu Turner sendromlu hastalarla yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Turner sendromu ile tiroid otoantikörlerin üretilmesi ve otoimmün tiroidit arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur. Erken çocukluk döneminde Turner sendromlu hastaların %50 kadarında tiroid otoantikörleri, %20'sinde ise klinik tablo görülmektedir. Çalışmalarda izokromozom X'e sahip olan Turner sendromlu hastaların %83'ünde AITD ile karyotip arasında bağlantı gösterilmiştir. Bu sonuçlar Xq üzerindeki bir genin AITD gelişiminde rol oynayabileceğini göstermektedir (106). CTLA4 geninin de AITD'nin bütün çeşitleri ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. CTLA4, T hücreleri ile antijen sunum hücreleri arasındaki etkileşimde önemli bir uyarıcı molekül olarak yer almaktadır (106). T hücre aktivasyonunun önemli bir baskılayıcısıdır (56). Beyaz ırkı içeren çeşitli populasyonlarda ve Japonlarda HT ile CTLA4 geni arasında güçlü bir ilişkinin olduğu kaydedilmiştir (106).

CTLA4 gibi T hücre aktivasyonunun güçlü bir baskılayıcısı olan PTPN22 geninin 620. kodonunda meydana gelen arjinin triptofan değişiminin (C1858T) HT ve diğer otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu birçok çalışma ile ortaya konmuştur (85, 108, 130).

3.3.3. Çevresel Faktörler

Haşimato tiroiditi, çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkan multifaktöryel bir otoimmün hastalıktır (105). Monozigot ikizlerle yapılan

çalışmalarda, HT görülme sıklığının %50 olması, etiyolojide genetik faktörlerin yanında çevresel faktörlerin de önemine işaret etmektedir. Çevresel faktörler, öncelikle HT' ye genetik yatkınlığı olan bireylerde hastalığı tetiklemektedir (24).

Yapılan bir çalışmada hormon dengesini ve tiroid fonksiyonlarını değiştiren 90 sentetik kimyasal rapor edilmiştir. Bu kimyasallar herbisitlerden insektisitlere, dezenfektanlardan, pillere, petrolden elde edilen ürünlere kadar geniş bir yelpaze içermektedir (22). Haşimato ve diğer AITD'de etkili başlıca çevresel faktörler: aşırı iyot alımı, bakteriyel ve viral infeksiyonlar, yaş, cinsiyet, sitokin ve çeşitli ilaçlar, gebelik (83), selenyum eksikliği, sigara dumanı gibi politanlar, kronik hepatit C gibi enfeksiyon hastalıkları (39), stres (14), polihalojenat bifenil (PBB), poliaromatik hidrokarbonlar (PAH), poliklorinat bifenil gibi endüstriyel alanlarda kullanılan kimyasallardır. Ayrıca ratlarda yapılan çalışmalarda petrol ürünlerinin yanması ile açığa çıkan dumanların anti TG ve anti mikrozomal tiroid antikorları artışı ile ilişkili hipotiroidizme yol açtıkları bulunmuştur (24).

Epidemiyolojik çalışmalarla ve hayvan çalışmaları ile diyet ile alınan iyotun etyolojideki rolü iyi tanımlanmıştır ve tiroidit oluşumunu tetikleyen en önemli çevresel faktör olarak bildirilmiştir (24, 89). İyot ile yüksek oranda doymuş tiroglobülin molekülü, daha düşük iyot içeren tiroglobülin molekülüne göre daha immunojenidir. Yani antijenite özelliği daha yüksektir. Bu yüksek antijenite otoimmün sürecin ilk basamağının oluşumunda rol almaktadır (88).

3.3.4. Semptomlar ve Bulgu

Ağrılı tiroid büyümesi, bitkinlik, tükenmişlik, kuvvet kaybı, kilo alımı, kuru cilt, kabızlık, soğuk intoleransı, depresyon, büyüme geriliği, çocuklarda

pubertede gecikme, saçlarda kalınlaşma ve dökülme, ses kısıklığı, hafıza ve mental zayıflık, konsantrasyon güçlüğü gibi bulguları bulunmaktadır (76).

3.3.5. Laboratuvar Bulguları

Başlangıç dönemlerinde serum T3 ve T4 tiroid hormon değerleri normal saptanırken, TSH baskılanmış olabilir. Bunun nedeni yıkıma uğrayan tiroid dokusundan kan dolaşımına geçen tiroid hormonlarıdır. Bu dönemde radyoaktif iyot alınımları (RAIU) artmıştır. Hastalık ilerledikçe azalan hormon yapımını karşılamak için TSH yükselir. RAIU ve serum T4 düşer. Normal serum T3 ve T4 düzeyi ile birlikte TSH'nın artmış olmasına subklinik hipotiroidizm denir. Bunu izleyen dönemlerde serum T3 ve T4 düşük, TSH'nın yüksek olduğu aşikar hipotiroidi görülebilir (67).

3.3.6. Tanı

Günümüzde genellikle antitiroid antikor pozitifliği ve/veya guatr ve/veya tiroid fonksiyon bozukluğu olması durumunda tanı konulmaktadır. Tiroid otoantikorlarının negatif olması durumunda tanısal amaçlı, İnce iğne aspirasyon biopsisi (İİAB) yapılabilir. Tiroid ultrasonografisinde (US) tiroid parankiminin hipoekojen ve heterojen saptanması HT tanısını destekler (34, 120). Günümüzde otoimmün tiroid patolojilerinde rutin olarak kullanılan görüntüleme yöntemleri US ve radyonüklid incelemelerdir. Ayrıca son yıllarda difüzyon ağırlıklı ekoplanar manyetik rezonans (MR) görüntüleme ile tiroid bezi patolojileri değerlendirilebilmekte ve konvansiyonel MR sekanslarının kombinasyonu ile ayrıntılı morfolojik değerlendirme mümkün olabilmektedir (99).

3.3.7. Tedavi

Haşimato tiroiditinin tedavi endikasyonları guatr veya aşikar hipotiroidizmdir. Tek başına pozitif tiroid antikor pozitifliği olan bir hastada tedavi ihtiyacı yoktur. Cerrahi, Haşimato tiroiditinde nadiren gereklidir fakat eğer guatr gerilemez, baskı semptomları devam ederse nadiren yapılır. Yeterli doz T4 tedavisi TSH seviyesini normale getirmek ve guatrın gerilemesini sağlamak için verilir (32).

3.3.8. Prevelansı

Haşimato tiroiditi, genel populasyonun %10'u kadarını etkilemektedir (76). Amerika Birleşik Devletleri'nde en sık hipotiroidizm ve guatr nedenidir. Amerika'da yapılan bir çalışmada subklinik ve klinik hipotiroidizm yaygınlığı %4.6 ve %0.3 olarak bulunmuştur (53). Başka bir çalışmada ise spontan hipotiroidizm, kadınlarda %1.5, erkeklerde ise, %0.1'den daha az bulunmuştur. Bu yaygınlık oranları Japonya ve Finlandiya'da da benzer oranlardadır. Hastaların önemli bir kısmı asemptomik kronik otoimmün tiroidite sahiptir ve kadınların %8'inde (bunların da %10'u 55 yaş ve üzeri), erkeklerin ise, %3'ünde subklinik hipotiroidizm vardır (29).

3.3.9. Haşimato Tiroiditi ile Birlikte Görülen Hastalıklar

Otoimmün hastalığa sahip bireylerde diğer otoimmün hastalıkların da gözlenmesi sık rastlanılan bir durumdur (41, 108). HT'de pek çok otoimmün ve otoimmün olmayan hastalıkla birlikte bulunabilmektedir. Haşimato ile birlikte bulunan başlıca hastalıklar: Tip 1 diyabet (72), pernisiyöz anemi, romatoid artrit, vitiligo, myastenia gravis (110), addison hastalığı, poliglandüler sendrom 2 (41), çölyak (100), ve T2DM dir (96, 119, 125). Yayınlanmış olan bir vaka sunumunda

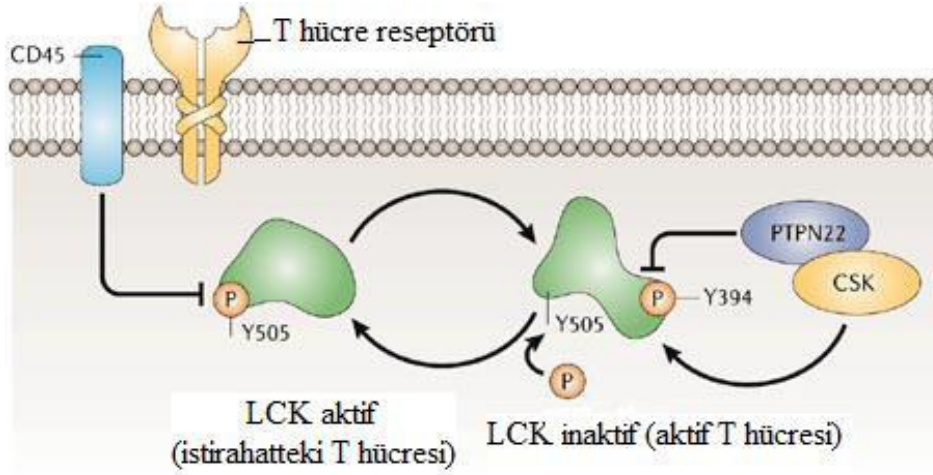
ise, Down sendromlu bir hastada Tip 1 diyabet, çölyak ve Haşimato hastalıklarının bir arada bulunduğu belirtilmiştir (64).

Pek çok çalışmada özellikle vitiligo hastalığı, HT ve diğer AITD hastalıkları ile güçlü bir şekilde ilişkili bulunmuştur (8). AITD ve vitiligo otoimmün hastalıklarının birlikteliği çok sık rastlanan bir durumdur (7). Bir çalışmada Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF; Familial Mediterranean Fever) ile HT'nin birlikte görüldüğü ortaya konmuştur. FMF ve HT'nin benzer patofizyolojiye sahip oldukları ve FMF'de de HT'de olduğu gibi sitokin ekspresyonunun otoimmün cevabı artırdığı gözlemlenmiştir. FMF ve HT'nin ortak sitokinler tarafından aktive edilebileceği öne sürülmektedir. Başka bir çalışmada da Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF α ; tumor necrosis factor alfa) ve interferon gama (IFN γ ; Interferon gamma) gibi inflamatuvar markırlar iki hastalıkta da ilişkili bulunmuştur (48).

3.4. PTPN22 Geni ve PTPN22 C1858T Polimorfizmi

Kromozom 1p13.1–13.3 üzerinde haritalanmış olan PTPN22 geni protein tirozin fosfataz ailesinin non reseptör sınıf 4 altfamilyasının bir üyesidir (117). 110 KD büyüklüğündeki PTPN22 geni, T hücre aktivasyonunun güçlü bir baskılayıcısıdır. PTPN22, hem olgun hemde olgun olmayan T ve B lenfositlerde eksprese edilen protein tirozin fosfataz ailesine ait olan lenfoid tirozin fosfataz proteinini (LYP) kodlamaktadır. LYP, bir intraselüler protein tirozin fosfatazdır. Protein, C terminal ucundan Src tirozin kinaza (CSK) bağlanmaktadır (108). Bu bağlanma hücre aktivasyonunu ve proliferasyonunu düzenleyen protein tirozin fosforilasyonu olaylarını engelleyerek antijenlere karşı cevabı sınırlandırmaktadır (108). T hücre reseptör (THR) sinyallerinin inhibe edilebilmesi için CSK ve LYP'nin bağlanması gerekmektedir (68). Bu kombinasyon (bağlanma sonucu)

THR aracılı T hücre aktivasyonunu sağlayan bir diğer protein tirozin kinaz olan lökosit spesifik kinazın (LCK) aktivasyonunu azaltır (56). LYP'nin katalitik kısmı 4 adet SH3 bağlanma yeri içerir. Bu bağlanma yerlerinin birincisinin CSK'nın SH3 parçasına bağlandığı gösterilmiştir. CSK, LCK'nın 505. pozisyonundaki tirozini fosforile ederek LCK aktivitesini inhibe eder. CSK ve LYP'nin kombine çalışmaları LCK inhibisyonuna yol açar (46).



Şekil 1: LCK'nın PTPN22 (LYP) ve CSK tarafından regülasyonu (3).

Yapılan çalışmalarda Lyp'nin Lck'ya (tirozin kinaz) ek olarak THR sinyalinde rol oynayan birçok moleküle bağlandığı ve defosforile ettiğine dair kanıtlar da gösterilmiştir (örneğin zap70, CD3ε, THRζ zinciri) (46).

PTPN22 C1858T polimorfizmi 1p13.3'ün 14. eksonunda meydana gelmektedir (130). PTPN22 geninin 620. kodonundaki bu polimorfizm LYP'de fonksiyonel bir değişime neden olmaktadır. Bu fonksiyonel değişim sonucunda Csk ve LYP nin bağlanma affinitesi değişmektedir. İnvitro çalışmalar PTPN22 1858T allelinin C1858 allele göre daha az etkili olarak Csk'ya bağlandığını göstermiştir (60). 620. pozisyonundaki arjinin yerine triptofan yerleşmiş olup

(C1858T) bu değişim LYP ve CSK arasındaki etkileşimi bozarak ikisinin kompleks oluşturmasını ve T hücre aktivasyonunun baskılanmasını engeller. Bunun sonucunda ise T allelinden ekprese edilen T hücrelerinin çok duyarlı oldukları ve sonuçta bu alleli taşıyan bireylerin ilgili otoimmün hastalıklara yatkın olabildikleri rapor edilmiştir (68). Çalışmalar hastalıkla ilişkili olan triptofan (1858T) varyantının, proteini T hücrelerinin bir kazanç fonksiyon değişikliği olarak daha güçlü bir baskılayıcısı haline getirdiğini öne sürmektedir. Bu şaşırtıcıdır çünkü; ilgili allelin T hücre aktivasyonunu artırması beklenirken (CTLA4'te olduğu gibi) tam tersi bir durum ortaya çıkmaktadır (108). Bu paradoksun muhtemel açıklaması ise daha düşük T hücre reseptör sinyalinin kendi kendine reaktif olan T hücrelerinin Timin delesyonundan kaçmasına ve böylece periferde kalmasını sağlaması olabilir (56).

PTPN22 C1858T polimorfizmi kurucu etki veya belirli etnik gruplarda bu varyantın bulunmamasından dolayı coğrafik bölgelere göre etnik farklılık göstermektedir (56, 130). Triptofan varyantı Afrikan Amerikalılarda ve başta Japonlarda olmak üzere çok nadir bulunmaktadır. Bu nedenle Japon popülasyonunda bu varyantın otoimmün hastalıklara katkısı yoktur (107). Bu varyant daha çok beyaz ırkta otoimmün hastalıklarla önemli derecede ilişkili bulunmuştur (45). Amerika, İtalya, İngiltere, İspanya, Ukrayna, Almanya ve Estonya popülasyonlarında yapılan çalışmalarda çeşitli otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu varyant kuzey Avrupa'da güney Avrupa'dan daha sık bulunmaktadır (107). 1858T allelinin İtalya ve Sardunya popülasyonlarındaki bulunma oranı %2-3, batı Avrupada %7-8, İskandinav popülasyonunda yaklaşık %10, Fin toplumunda %15, Avrupa–Amerikan popülasyonunda ise %8-9

civarında bulunmaktadır. Bu gen varyantı beyaz ırkta yüksek oranda bulunurken, Asya ve Afrika toplumlarında neredeyse hiç bulunmamaktadır (46). Yapılan bir çalışmada Japon, Koreli ve Çinlilerde bu genin T alleli bulunmamıştır ve dolayısıyla bu toplumlarda otoimmün hastalıklarda etkili değildir (46, 61).

2004 yılının başlarında bulunan bu SNP (620. kodonda arjinin -triptofan değişimi C1858T) yapılan çalışmalarda tip 1 diyabet (T1DM), romatoid artrit, sistemik lupus eritromatosus (17, 93), haşimato, graves, (108, 130), juvenil idiopatik artrit, vitiligo (19, 68) gibi otoimmün hastalıklar ve T2DM ile ilişkili bulunmuştur (10, 27).

3.5. Polimorfizm Nedir?

Polimorfizm, bir toplumda sadece tekrarlayan mutasyonlarla sürdürülemez orarlarda var olan, nadir sıklıktaki, devamlılık göstermeyen iki veya daha fazla genetik özelliğin bir arada olması olarak tanımlanabilmektedir. Gen polimorfizmi, aynı genin DNA dizisindeki değişikliklerdir. Eğer toplumun %2 veya daha fazlası nadir bir alleli taşıyorsa, bu durum polimorfiktir (5). Polimorfik durumun oluşması için gereken allel frekansı farklı yayınlarda %1 olarak ta gösterilmektedir (21). Bu orandan daha az sıklıkla rastlanan alleller ise “mutasyon” olarak adlandırılır. Polimorfizmler tıpkı mutasyonlar gibi, bazı DNA bölgelerinde eksilme bir veya daha fazla bazın diziye katılması (insersiyon), diziden baz eksilmesi (delesyon) veya bir bazın diğeri ile yer değiştirmesi (substitüsyon) sonucu meydana gelebilir (51).

Polimorfizmler 2 ana grup olarak incelenmektedir:

1. Tek nükleotid polimorfizmi: TNP (SNP; Single Nucleotide

Polymorphism)

2. Kısa DNA dizilerinin tekrarı (VNTR; Variable number tandem repeat).

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP), tek bir nükleotidin değişmesi ile meydana gelen ve insan genomunda en çok görülen polimorfizmlerdir. SNP'ler genomda yaklaşık her 1000 bazda bir tane olacak sıklıkla bulunur (81). İnsan DNA dizisindeki değişikliklerin %90 kadarı tek baz değişimleridir (31) ve bu değişimleri içeren allellerin frekansı toplumda %1'i geçtiğinde tek baz polimorfizmi adını almaktadır. SNP'ler ekzonlarda olabileceği gibi intronlarda ve 5' ve 3' ifade edilmeyen bölgelerde de (UTR; 5' and 3' Untranslated Regions) olmaktadır. Bu bölgelerdeki SNP'ler RNA splicing ve stabilitesini etkilemektedir. SNP veritabanlarında 4 milyonun üzerinde SNP bildirilmiştir. Bu SNP'ler kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, mental bozukluklar ve otoimmün hastalıklar gibi bazı yaygın majör rahatsızlıklarda risk tayini için genetik belirteçler olarak kullanılabilir (21).

3.6. Tıbbi Genetikte Polimorfizmlerin Kullanımı

Polimorfizmler, tüm insan genetik araştırmalarında anahtar niteliğindeki elementlerdir. Polimorfizmler genin farklı kalıtsal formlarını veya genomun farklı bölgelerini ayırt edebilmek için kullanılmaktadır. Genetik belirleyiciler Tıbbi Genetikte kullanım için pratiklik sunar. Bağlantı analiz yolu ile kromozomların belirli bölgelerindeki genlerinin haritalanması, genetik hastalıkta doğum öncesi tanı, genetik hastalıklarda heterozigot taşıyıcıların belirlenmesi, koroner kalp hastalığı, kanser ve diyabet gibi yaygın yetkisin hastalıklara yatkın kişilerin

yüksek ve düşük risklerin değerlendirilmesi adli tıpta ve babalık testinde kullanım ve organ transplantasyonu için doku tiplenmesi tıbbi genetik kapsamı içindedir (81). Ayrıca bu polimorfik durumlar tedavi edici ilaç seçimi ve ilaca cevapta kişiler arasındaki farklılıkları açıklamak ve kişiye özgü tedavi seçenekleri geliştirmek için de kullanılmaktadır. Bu polimorfizmlerin mutasyona olan nispi stabiliteyi onların bağlantı eşitsizliği durumlarında kullanılmalarına olanak sağlamaktadır (42).

3.7. Polimorfizmlerin Önemi

Bir polimorfizmin etkisi o polimorfizmin yerleşimine bağlıdır. Genin kodlanan bölgesinde, yani eksonunda meydana gelen farklılıklar protein dizisini etkileyebileceğinden proteinin yapısı ve fonksiyonu değişebilir. Ayrıca proteini kodlayan bölgelerin dışında, genin sonundaki düzenleyici bölgede veya intronik dizilerde de nükleotid değişiklikleri gözlenebilir. Genin promotor bölgesinde transkripsiyon faktörlerinin bağlanması için uygun DNA motifleri vardır. Bu bölgede meydana gelen polimorfizmler transkripsiyon faktörlerinin bağlanmalarını veya bağlanma etkinliklerini değiştirebilir. Böylece genin transkripsiyon aktivitesi artabilir veya azalabilir. mRNA kopyasının kalıcılığı ve dayanıklılığını ise 3'UTR bölgesi etkiler. Bu bölgedeki polimorfizmler, mRNA kalıcılığını düzenleyen proteinlerin mRNA'ya bağlanmasını etkileyebilir ve sentez edilen protein miktarının değişmesine neden olabilir (51).

3.8. Amaç

Çalışmamızda Elazığ ili ve çevresinde yaygın olarak görülen Tip 2 diyabet ve Haşimato hastalıkları PTPN22 C1858T gen polimorfizmi açısından incelenecektir. Haşimato ve Tip 1 diyabetin birlikteliği uzun zamandan beri

bilinmektedir. Ancak, son zamanlarda yapılan pek çok çalışmada HT'nin T2DM ile birlikte görüldüğü vurgulanmaktadır (96, 119, 125). Yapılmış çalışmalara benzer şekilde T2DM ve Haşimato hastalıkları Elazığ ili ve çevresinde de önemli derecede birlikte görülmektedir. Kromozom 1p13.1–13.3 üzerinde haritalanmış olan PTPN22 geni T hücre aktivasyonunun güçlü bir baskılayıcısıdır (108, 117). İnceleyeceğimiz PTPN22 C1858T gen polimorfizmi çeşitli çalışmalarda T2DM ve HT'yi de içine alan pek çok otoimmün ve otoimmün olmayan hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (10, 27, 108). Bu geni seçmemizin sebebi; T2DM, HT ve pek çok otoimmün hastalıkla ilişkili olduğunun tespit edilmiş olmasıdır. Daha önce yapılan çalışmalarda T2DM ve HT hastalarında PTPN22 C1858T gen polimorfizmi ayrı ayrı ele alınıp, incelenmiştir. Biz yapacağımız çalışmada önceki çalışmalardan farklı olarak tip 2 diyabet ve haşimato hastalıklarının ikisini de beraber bulunduran hastalarda bu gen polimorfizmini araştırmayı hedeflemekteyiz. Araştırmanın sonunda elde edilecek genotip ve allel frekanslarının Tip 2 diyabet ve Haşimato hasta grubu, tip 2 diyabet hasta grubu, haşimato hasta grubu ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması amaçlanmıştır. Böylece gruplar arasında allel ve genotip frekanslarındaki farklılıklar incelenecek, bu gen polimorfizminin incelenen hastalıklar üzerinde etkili olup olmadığı araştırılacaktır. Çalışmamız popülasyonumuzda tip 2 diyabet ve haşimato hastalıklarında PTPN22 C1858T geninin allel ve genotip frekanslarının saptanması ve bu hastalıklara karşı yatkınlıkların belirlenmesi açısından önem taşımaktadır. Çalışmamızın gelecekte Tip 2 diyabet ve Haşimato birlikte olan hastalarla yapılacak çalışmalar için bir temel oluşturacağını ve yol gösterici olacağını ümit etmekteyiz.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Hastaların Seçimi

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulunca onaylanan çalışmada, mart 2010 ile nisan 2011 tarihleri arasında Elazığ Özel Hayat Hastanesi Dahiliye polikliniğinde ve Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesi Endokrinoloji polikliniğinde Tip 2 diyabet, Haşimato ve Tip 2 diyabet+Haşimato tanısıyla takip ve tedavileri yapılan hastalardan; kendilerinin, birinci derece yakınlarının, hastane otoriteleri ve hekimlerinin rızası ile kan örnekleri alındı. Kontrol grubunu ise, Tip 2 diyabet ve Haşimato hastalıkları başta olmak üzere herhangi bir organik ve kronik hastalığı olmayan, gönüllü sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Hasta ve kontrol grubunun benzer coğrafi bölgelerden olmasına dikkat edildi. Çalışmamız 135 T2DM'lu hasta, 102 T2DM ve HT birlikte bulunan hasta, 71 haşimato hastasından ve 135 sağlıklı kontrol grubundan oluşmaktadır.

4.2. Örneklerin Alınması, Saklanması ve Analizlere Hazırlanması

Kanlar hastaların antekübital veninden daha önceden hazırlanmış 0.3 ml'lik EDTA içeren EDTA'lı tüplere 2 veya 3 cc olarak alındı. Kanlar, kan alınma işlemleri bittikten sonra DNA saflaştırması yapılmaya kadar -20 C° de bekletildi. Kanlar birkaç defa alt-üst edilerek homojen hale getirilip 24'erli gruplar oluşturularak çalışıldı.

4.3. Demirbaş Malzemeler

- 1- PZR cihazı (Biometra USA)
- 2- Mikrosantrifüj (Ole Dich Instrumentmakers APS, type 157.MP, Germany ve Eppendorf microcentrifuge type 5415C, Germany)
- 3- Elektronik hassas terazi (Shimadzu Corporation Libror AEG-320, Japan)
- 4- Elektroforez aparatı 1200V-500mA E815 (Belgium)
- 5- Electrophoresis box (Consort N.V. Parklaan 36 B-2300 Turnhout, Belgium),
- 6- UV lambası ve ilgili okuma, kaydetme, fotoğraflama ünitesi (TCP-20-M, Vilber Lourmat, Cedex, France)
- 7- Hız ayarlı vorteks (Labinco L46, The Netherlands)
- 8- Etüv (Weiss Gallenkamp, UK)
- 9- Otoklav (Nüve, Germany)
- 10- Mikrodalga fırın (Arçelik)
- 11- Laminar air flow
- 12- Su banyosu (Kötterman laborotechnic type 3643, Germany)
- 13- Otomatik Pipetler (Eppendorf Research, Germany)
- 14- Derin Dondurucu (Liebherr, Germany)
- 15- Buzdolabı (Arçelik)

4.4. Sarf Malzemeleri

- 1- Kandan DNA izolasyon kiti (PROMEGA, MADISON, WI).
- 2- RsaI Restriksiyon enzimi (FERMENTAS)
- 3- Eppendorf Tüpler (0.2, 0.5, 1.5, 2'lik)
- 4- Primerler (ELLA BIOTECH)

- 5- Amonyum asetat
- 6- Amonyum klorür
- 7- Sodyum dodesil sülfat (SDS)
- 8- Potasyum hidrojen karbonat
- 9- Etanol (%70'lik)
- 10- İzopropil alkol
- 11- Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)
- 12- Borik asit
- 13- Agaroz
- 14- Ethidium bromide
- 15- Deoksinükleotid trifosfat (dNTP) mix (INTRON)
- 16- Taq DNA polimeraz (INTRON),
- 17- 6X Yükleme Tamponu (SIGMA)
- 18- 100 bp DNA ve 50 bp DNA step marker'leri (FERMENTAS).
- 19- TRIS baz
- 20- MgCl₂ (FERMENTAS)
- 21- Distile Su
- 22- Tüplük
- 23- Cam malzemeler

4.5. Kandan DNA izolasyonu

DNA saflaştırılması Promega firmasından alınan ticari "Wizard Genomic DNA Purification Kit"i ile gerçekleştirildi (Kat. No.: A1125, Madison, WI, USA).

Bu kit 300 µL kandan DNA izolasyonu için dizayn edilmiştir. Çalışma esnasında

kitin genel kurallarına uymak koşuluyla bazı modifikasyonlar yapıldı. Gerçekleştirilen deney aşamaları aşağıda sıralandığı gibidir:

- 1.5 ml'lik tüplere 900 μL "cell lysis" (hücre parçalama) solüsyonu konuldu.
- Alt-üst edilmiş kandan 300 μL alınarak hücre parçalama solüsyonunun üzerine ilave edildi, 5-6 defa alt-üst edildi, 10 dak. oda ısısında bekletildi.
- 15.000 x g de 20 saniye oda ısısında santrifüjlendi.
- Alttaki beyaz kısma zarar vermeden mümkün olduğu ölçüde fazla süpernatant uzaklaştırıldı ve atıldı. Altta hücrelerin üzerinde yaklaşık olarak 10-20 μL sıvı bırakıldı.
- Hücre parçalama solüsyonundan 300 μL alınarak çok hafifçe vortekslenmiş hücre çöküntüsünün üzerine eklendi ve 5-6 kez alt-üst edildi. 2-4. basamaklar tekrar edildi. Beyaz hücrelerin arasında hala bazı kırmızı hücreler görülüyorsa bu durumda tekrar hücre parçalama solüsyonu eklenerek yukarıdaki deneyler tekrarlandı.
- Beyaz hücreler şiddetle vortekslenerek iyice karışması sağlandı (10-15 saniye).
- Vortekslenmiş hücrelerin üzerine 350 μL "Nuclei lysis" (çekirdek parçalama) solüsyonu eklendi. Beyaz hücrelerin parçalanması için solüsyon 5-6 kez pastör pipeti ile pipetlendi ve bırakıldı. Solüsyon visköz bir yapı kazandı. Karıştırıldıktan sonra hala hücre kümeleri görünüyorsa 37°C'de inkübe edildi.
- Oda ısısına getirilmiş Nükleer lizatın üzerine 120 μL "protein precipitation" (protein çöktürme) solüsyonu eklendi. 10-20 saniye şiddetle

vortekslendikten sonra küçük, değişik kahverengi tonlarında protein kümeleri görüldü. Numuneler tam oda ısısına gelmeden protein çöktürme solusyonu eklendiğinde yeterli bir protein çöküntüsü elde edilemeyeceğinden hareketle iyi bir çöktürme için bu ayrıntıya dikkat edildi.

- Oda sıcaklığında 15.000 x g'de 3 dakika santifüjlendi. Eppendorf tüpün dibinde koyu kahverengi bir protein çöküntüsü görüldü.
- Süpernatın 300 µL izopropanol içeren 1.5 ml'lik santifüj tüpüne transfer edildi.
- Sürekli alt-üst edilerek ve ters çevrilerek karıştırıldı. Beyaz iplik görünümündeki DNA, görülebilen bir kitle oluncaya kadar bu çevirme işlemine devam edildi. Bazı numunelerde görülebilen kümeler oluşurken diğerk bazılarında çok küçük miktarda iplikçik görüldü.
- 1 dakika oda sıcaklığında 15.000 x g'de santrifüjlendi. DNA, örnekteki lökosit miktarının az veya fazla olmasına göre miktarı değişebilen beyaz bir çöküntü olarak görüldü.
- Süpernatın dökülerek dipte kalan DNA'nın üzerine 300 µL oda sıcaklığındaki %70'lik etanol eklendi. Alt-üst yapılarak DNA pelleti ve tüpün kenarları yıkandı. Yukarıdaki santrifüjleme işlemi tekrarlandı.
- Etanol dikkatlice aspire edildi. Bu aşamada DNA çok gevşektir. Yanlışlıkla pipetlenebileceğinden dikkatli olmak gerekir. Tüpler temiz kurutma kağıtlarının üzerine ağızları alta gelecek şekilde yerleştirildi, böylece fazla etanol alınmış oldu. Sonra 5-10 dakika normal havada kurumaya bırakıldı.

- Kurumuş tüpe 100 µL DNA rehidratasyon solusyonu eklendi. DNA'yı rehidre etmek için 65°C'de 1 saat inkübe edildi. Tüp ara ara çalkalandı.
- DNA 0.5 mL'lik eppendorf tüplere aktarılarak 2-8°C'de saklandı.

Bu işlemler bittikten sonra eppendorf tüplerde bulunan DNA'nın tahmini miktarını hesaplamak için şu işlem gerçekleştirildi: UV/visible spektrometre 260 ve 280 nm'de çift dalga boyu aralığında okuma yapacak şekilde ayarlandı. DNA örneğinden 4 µL alınarak mikro küvette bulunan 746 µL saf suyun üzerine konuldu ve alt-üst yapıldı. Okuma gerçekleştirildi. Daha sonra $\text{ng}/\mu\text{L DNA} = A_{260} \times \text{dilasyon faktörü} \times 50$ formülünden hareketle örneklerdeki DNA'nın yaklaşık miktarı hesaplandı.

4.6. PZR-RFLP Yöntemi

4.6.1. Oligonükleotidler (primerler)

Çalışmada kullanılacak olan Primer (Oligonükleotid) Ella Biotech firmasına (Ella Biotech, Martinsried, Almanya) sentezletirildi. PZR deneylerinde kullanılacak olan oligonükleotidler, insan DNA'sı üzerindeki ilgili gen bölgesinin amplifikasyonunu gerçekleştirmek için kullanıldı. Satın alınan primerin nükleotid sekansı ve orijini aşağıda belirtilmiştir:

Tablo 1: PTPN22 genine ait primer dizileri

PTPN22 Sense primer: 5'- ACT GAT AAT GTT GCT TCA ACG G-3'

PTPN22 Antisense primer: 5'- TCA CCA GCT TCC TCA ACC AC -3'

4.6.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Hasta ve kontrollerden elde edilen DNA örnekleri PZR ile çoğaltıldı. PZR koşulları Zhang ve arkadaşlarınca tariflenen protokole göre belirlendi (129). PZR optimizasyonundan sonra protokol laboratuvar şartlarımıza göre yeniden oluşturuldu.

PZR İçeriği:

10X PZR Buffer	3µl
MgCl (25mM)	3µl
dNTP (2.5mM)	3µl
Primer R (20pmol)	1µl
Primer F (20pmol)	1µl
DNA	5µl
Taq DNA Polimeraz	0,2µl

Toplam volüm 30 µl ye distile su ile tamamlandı

4.6.3. PTPN22 1858 C/T PZR Programı

95 °C 5dk. Denatürasyon periyodu

95 °C 30sn
64 °C 30sn
72 °C 40sn

36 siklus

72 °C 7dk. Ekstensiyon periyodu

PZR işlemi gerçekleştirildikten sonra %3'lük agaroz jelde PZR ürünleri koşuruldu. 218 bç ürün elde edildi. Elde edilen ürünler daha sonra RsaI (Fermentas) restriksiyon enzimi ile kesildi.

4.6.4. RsaI Restriksiyon Enzim Muamelesi

10X Reaksiyon Buffer 2.5µl

PZR Örneği 15 µl

Enzim (RsaI RE) 1 µl

Toplam volüm 25 µl ye distile su ile tamamlandıktan sonra 37°C’de 1 gece inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra ürünler %3'lük agaroz jelde koşturularak hastaların ve kontrollerin polimorfizm sonuçları verildi (129).

Tablo 2: Çalışılan polimorfizmin Restriksiyon enzimi ve bant boyutları

Çalışılan Gen	Kullanılan Restriksiyon Enzimi	PZR Ürünü	Normal genotip	Heterozigot Genotip Ürünleri	Homozigot Polimorfik Genotip
PTPN22-1858(C/T)	RsaI	218 bç	176bç 42bç	218bç 176bç 42bç	218 bç

4.6.5. PZR ve RFLP Ürünlerinin Elektroforezi

PZR ve enzim kesim ürünlerinin amplifikasyonlarının ya da kesimlerinin doğru gerçekleşip gerçekleşmediğinin kontrol edilebilmesi için agaroz jelde koşturuldu.

4.6.6. Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması

4.6.6.1. Etidyum Bromür Hazırlanması:

0.2 gr etidyum bromür tartılarak distile su ile 20 ml’ye tamamlanır.

4.6.6.2. TBE Tamponu (5X):

54 gr Tris

27.5 gr Borik Asit

20 mL 0.5 M EDTA tartularak (pH 8) 1 L distile ve deiyonize suda çözüldü.

4.6.6.3. %3'lük Agaroz Jel Hazırlanması:

3 gr agaroz tartılır, TBE ile 100 ml'ye tamamlanır. Mikrodalga fırında kaynatılarak eritilir. Soğutulur, jel kalıbına dökmeden içine 7 µl etidyum bromür eklenir, karıştırılır ve kalıba dökülür. Kuyucukların oluşması için tarak konur ve donmaya bırakılır.

4.6.7. PZR ve RFLP Ürünlerinin Agaroz Jele Yüklenmesi:

PZR ve RFLP ürünlerinin yüklenecek miktarlarının %10'u kadar içerisine 6X yükleme tamponu eklenir ve kuyucuklara mikropipetle yükleme yapılır. DNA'lar jele yüklenirken, beklenen bantların boyutlarının belirlenebilmesi amacıyla aynı jelin ilk ve son kuyucuğuna Fermantas firmasından alınan 100 bp'lik 7 µl DNA boyut marker'ı de yüklendi. Jel, oda sıcaklığında 60 V ve 25 mA sabit akımda yürütüldü. 1 saatlik yürütmeden sonra jeller UV ısk altında değerlendirilerek fotoğraflandı.

4.7. İstatistiksel Analizler

Bütün istatistiksel testler "SPSS® for Windows computing program, Version 12" (SPSS Inc. Chicago IL USA) ile gerçekleştirildi. Parametreler arası ilişkiler Pearson korelasyon analizi kullanılarak değerlendirildi. Genetik dağılımın Hardy-Weinberg dengesine uyumu Ki Kare (X^2) testi ile analiz edildi. Hastalar ve kontroller arasındaki genotipik dağılımların farklılıkları Ki-kare veya Fisher's

exact test ile değerlendirildi. Kontrol ve hastalar arasındaki allelik dağılım farklılıkları Fisher's exact test ile değerlendirildi. Hastaların demografik özelliklerindeki farklılıklar (yaş, cinsiyet) her iki PTPN22 genotipi göz önüne alınarak tek yönlü varyans analizi (one-way analysis of variance (ANOVA) ile belirlendi. P değerinin <0.05 olması istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

5. BULGULAR

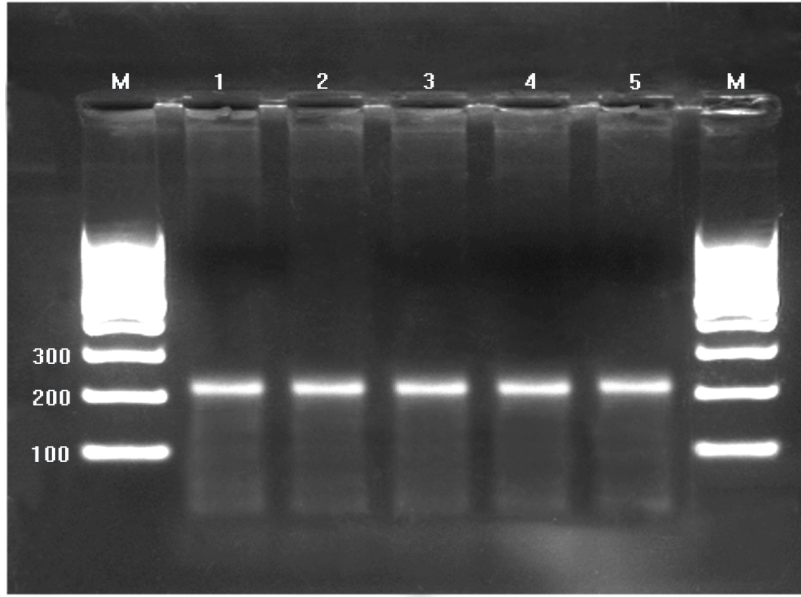
Bu çalışmada 135 T2DM'li, 102 T2DM ve HT birlikte bulunan ve 71 HT olmak üzere toplam 308 hasta ve 135 sağlıklı kontrolden kan örnekleri alınarak DNA izolasyonu yapıldı. Hasta grubunun demografik özellikleri tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3: Hasta gruplarının demografik özellikleri

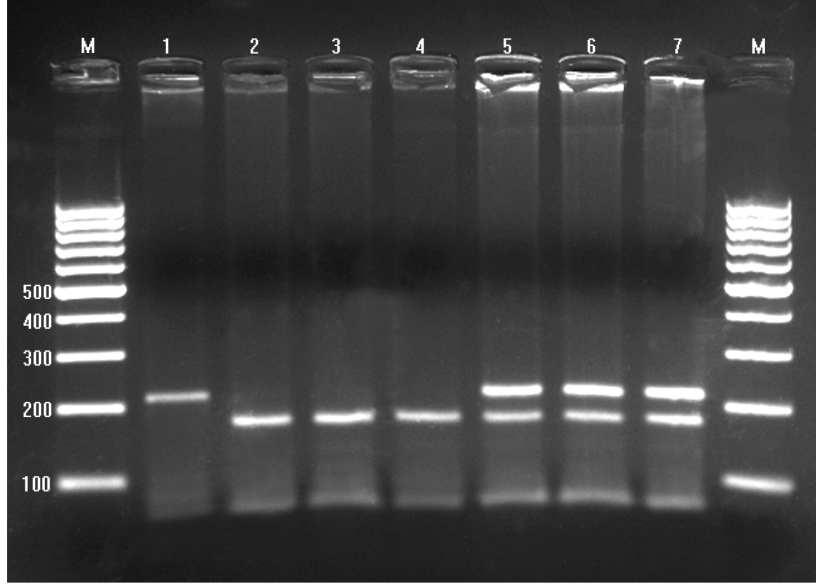
	T2DM	HT	T2DM+HT
N	135	71	102
Yaş	55.1 ±12.46	45 ±13.5	56.4 ± 9.52
Cinsiyet (kadın/erkek)	83K/52E	68K/3E	100K/2E
Boy	167.4 ± 11	163.8 ±6.6	161.9 ±6.49
Kilo	80.25 ±10.7	71.5 ±14.9	81 ± 12.12
BMI (Boy/kilonun karesi)	28.38 ±4.7	26.71 ± 5.7	31.12 ±4.94
HA1C	8.65 ±2.18		8.07 ±1.59
Hastalık Süresi	7.55 ±6.18	3.42 ±3.1	DM süresi: 7.2 ±5.8 HT süresi : 3.6± 4.4
Açlık Kan Şekeri (Akş)	181.6 ±71.33		156 ±52.19
Tokluk kan şekeri (TKŞ)	252.14 ±92.50		252 ± 70.14
Başlangıç yaşı	47.9 ±12.38	41 ±13.9	T2DM:49 ±9.8 HT:52 ±9.9
TSH		6.47 ±13.6	2.79 ± 5.06
FT3			3.36 ± 1.08

70 kadın ve 65 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunda ise, yaş ortalaması 38.62 standart sapma: 13.97 olarak tespit edilmiştir.

İzolasyon sonrası PTPN22 primerleriyle PZR kuruldu. DNA'sı elde edilen hasta ve kontrol grupları PZR ile çoğaltıldıktan sonra ürünler %3'lük agoroz jelde koşturularak değerlendirildi. Hasta ve kontrol örneklerinde PTPN22 C1858T 218 bp'de ilk PZR ürünleri oluşturuldu (Şekil 2). PZR ile amplifiye edilen gen ürünleri RsaI restriksiyon endonükleaz ile muamele edildi ve ilgili polimorfizimin belirlenmesi için %3'lük agoroz jelde koşturularak yabanıl tip (CC) ve heterozigot (CT) olguları tespit edildi (Şekil 3).



Şekil 2: Kesim öncesi ilk PZR ürün örnekleri. M: 100bp'lik DNA Boyut Markırı.



Şekil 3: PTPN22 genindeki rs2476601 (C1858T) polimorfizmi için PZR'ye yönelik agaroz jel elektroforez görüntüsü. Sütun1: Kesim öncesi ilk PZR ürünü, Sütun 2, 3, 4, : 218 bç+42 bç (CC: yabani tip örnekler), Sütun 5, 6, 7, : 218 bç+176bç+42 bç (CT: heterozigot örnekler), M: 100bç'lik DNA Boyut Markırı.

Hasta ve kontrol grubu ile yaptığımız çalışma sonucunda 135 T2DM'li hastanın 130'unda (%96.2) CC genotipi ve 5'inde CT genotipi (%3.8); 71 Haşimato'lu hastanın 66'sında CC genotipi (%92.95) ve 5'inde CT genotipi (%7.04); 102 T2DM ve Haşimato birlikte bulunan hastanın 95'inde CC genotipi (%93.13) ve 7'sinde CT genotipi (%6.86) tespit edildi. Kontrol grubunda ise, CC ve CT allel sıklıkları 135 sağlıklı bireyde sırasıyla; 132 CC genotipi (%97.77), 3 CT genotipi (%2.22) olarak belirlenmiştir. Grupların hiçbirinde TT genotipi tespit edilmemiştir. T2DM, T2DM+ HT, HT ve kontrol gruplarında C allel frekansları sırasıyla; 265 (%98.14), 197 (%96.56), 137 (%96.47) ve 267 (%98.88) olarak; T allel frekansı ise sırasıyla; 5 (%1.86), 7 (%3.44), 5 (%3.53) ve 3 (%1.12) olarak tespit edilmiştir. (Tablo 4 ve 5).

Tablo 4: Hasta ve Kontrol Gruplarının Genotip Frekansları

Gruplar	n	CC	CT	P	95% GA	H-W es
T2DM	135	130 (%96.2)	5 (%3.8)	0.722	(0.396-7.227)	0.05
HT	71	66 (%92.95)	5 (%7.04)	0.127	(0.772-14.375)	0.09
T2DM+ HT	102	95 (%93.13)	7 (%6.86)	0.318	(0.141-1.816)	0.13
Kontrol	135	132 (%97.77)	3 (%2.22)			0.02

Genotip dağılımları hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($P>0,05$). Kontrol ve hastaların genotipik dağılımları Hardy Weinberg dengesi içindedir.

Tablo 5: Hasta ve Kontrol Gruplarının Allel Frekansları

Gruplar	N	C	T	P	95% GA
T2DM	270	265 (%98.14)	5 (%1.86)	0.72	(0.397-7.097)
HT	142	137 (%96.47)	5 (%3.53)	0.13	(0.764-13.793)
T2DM+HT	204	197 (%96.56)	7 (%3.44)	0.323	(0.807-12.383)
Kontrol	270	267 (%98.88)	3 (%1.12)		

Hasta ve kontrol grupları arasında allel frekansları açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($P>0,05$)

İstatistiki değerlendirmeler sonucunda hasta ve kontrol grubundaki bireyler arasında PTPN22 genotip ve allel frekansları açısından anlamlı bir farklılık saptanamamıştır Khi kare testi uygulandı ($p>0.05$ bulundu.). Tüm hasta gruplarının genotipleri ile demografik özellikler (yaş, boy, cinsiyet, kilo, BMI, HA1C, açlık ve tokluk kan şekerleri, TSH, FT3, başlangıç yaşı, hastalık süresi)

istatistiksel olarak karşılaştırıldığında CC VE CT genotipleri arasında herhangi bir ilişki tespit edilmedi. Ancak, T2DM ve HT birlikte bulunan hasta grubunda genotiple, BMI ve serbest T3 (FT3; free T3) ortalama değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (BMI P: 0.044 ve FT3 P: 0.021). Bu grupta CC genotipinde 31.4 ve CT genotipinde ise, 27.5 ortalama BMI değerleri tespit edilmiştir. Ortalama FT3 değerleri ise CC genotipinde 3.285, CT genotipinde de 4.176 olarak belirlenmiştir.

6. TARTIŞMA

2004 yılında PTPN22'nin otoimmün hastalıklar üzerinde etkili olduğu keşfedildiğinden beri pek çok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda PTPN22 polimorfizmleri ve bazı hastalıklar arasında ilişkilerin olduğu bulunmuştur. İnfeksiyon, otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarda PTPN22 geninin rolü olduğu gösterilmiştir (37). PTPN22 geni T hücre aktivasyonunun güçlü bir baskılayıcısıdır ve yapılan birçok çalışmada PTPN22 C1858T gen polimorfizmi ile tip 1 diyabet, tip 2 diyabet, hashimoto tiroiditi ve birçok otoimmün hastalık arasında ilişki bulunmuştur (27, 37, 108).

Tip 2 diyabetin patogenezinde otoimmünite ve inflamasyonun iki önemli mekanizma olduğu bilinmektedir (37, 104). T2DM'nin patogenezinde adacık hücre oto antikorları negatif olarak bilinse de; obezite, ketoasidoz veya ketoasidozsuz, minimal veya ciddi hiperglisemi, ailesinde diyabet hikâyesi bulunma, deri kabalaşması gibi T2DM'nin klinik özellikleri temel alınarak T2DM teşhisi konulmuş gençlerin %10 ile %75'i arasında beta hücre otoantikorlarının pozitif bulunduğu rapor edilmiştir. Bu hastalarda otoantikorlar test edildiğinde; ICA (Adacık Antikoru) %5 ile %8, GADA (Glutamik asit dekarboksilaz antikoru) %8 ile %30, IA-2 (Adacık Antijeni) %8 ile %42 ve insülin antikorları (IAA) ise %5 ile %35 arasında pozitif bulunmuştur. Bir çalışmada ise; klinik olarak T2DM teşhisi konulan gençlerin %11'inde bu dört antikorun hepsi pozitif bulunmuştur. Özellikle genç T2DM hastalarında, bazı otoantikorlar pozitif olduğundan bu hastalığın patogenezinde otoimmün mekanizmaların önemli roller oynadıkları işaret edilmektedir (104).

Kronik düşük dereceli inflamasyonu bulunan T2DM'li hastalarda doğal bağıklık sisteminin genel aktivasyonu ile T2DM'nin ilişkili olduğunu ortaya koyan çok sayıda kanıtlar bulunmaktadır. T2DM proinflamatuvar durumları ile karakterizedir (94). T2DM'de ve obezitede gözlenen insülin direnci, düşük dereceli bir inflamasyon durumu ile yakından ilişkilidir. İnsan adipoz dokusunda, T2DM'li ve obez hayvan modellerinde çok sayıda inflamasyonda rol alan molekülün (proinflamatuvar sitokinler gibi) gen ekspresyonunun arttığı bulunmuştur. Bu inflamatuvar aracılı moleküller IRS-1 geninde serin fosforilasyonu, insülinin hedef dokularında JNK ve NF Kappa B sinyallerinin aktivasyonu ve SOCS3 indüklenmesi gibi pek çok mekanizma ile insülin sinyallerini inhibe ederler. Bu inflamatuvar aracılı moleküllerin bir çoğu immün sistemin önemli hücrelerinden olan aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilirler (116). Dikkat çekici bir şekilde inflamasyon özellikle orta yaş grubu diyabetik hastalarda belirgin olarak görülmektedir. Kültüre alınmış fare adipositleri ile yapılmış in vitro çalışmalarda TNF- α 'nın insülin direnci ile ilgili pek çok metabolik mekanizmayı (IKK-B ve SOCS3 gibi) aktive ettiği gösterilmiştir. Ayrıca TNF- α ; insülin reseptör, IRS1, GLUT4, Adiponektin ve PPAR-gama genlerinin ekspresyonunu değiştirerek insülin duyarlılığını etkilemektedir. Benzer şekilde diğer inflamatuvar sitokinlerde insülin sinyali ile ilişkilidir, örneğin IL-1, ERK'i aktive ederek IRS1 serin fosforilasyonunu tetikler ve IL-6, IRS aracılı insülin sinyalini SOCS proteinleri yolu ile karaciğer ve kaslarda bloke etmekte olup, IL-6 konsantrasyonunun artmasının insülin duyarlılığını artırdığı gösterilmiştir. Bir inflamatuvar aracı molekül olan MCP-1'in insülin direnci üzerine direkt etkisi tanımlanmış olsa da, MCP-1 ve IL-8 gibi

kemokinlerin makrofajları yağ dokusu içine çekerek insülin duyarlılığına neden olmaları kemokinlerin insülin duyarlılığına nasıl neden olduklarına dair muhtemel ana mekanizmadır. Ayrıca makrofajların inflamasyon kısır döngüsünün sürdürülmesinde ve insülin direncinde merkezi rol oynadıkları öne sürülmektedir (127).

Tüm bu çalışmalarda belirtildiği gibi T2DM’de otoimmüitenin ve otoimmüitenin bir parçası olan inflamasyonun etkili olmasından dolayı, bu çalışmada PTPN22 gen polimorfizmini çalışmayı planladık.

Pek çok çalışmada PTPN22 C1858T gen polimorfizmi ile T1DM, T2DM, HT ve birçok otoimmün hastalık arasında ilişki bulunmuştur (37, 108, 27).

135 T2DM, 102 T2DM ve HT birlikte bulunan hasta, 71 haşimato hastası ve 135 kontrol ile yaptığımız bu çalışmada ise, popülasyonumuzda T1858 alleli T2DM grubunda %1.86, HT grubunda %3.53, T2DM ve HT grubunda %3.44, kontrol grubunda %1.12 olarak tespit edilmiştir. En yüksek T1858 allel frekansı HT ve T2DM ve HT gruplarında bulunmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırılarak yapılan istatistiksel analizler sonucunda ise, hasta grupları ile PTPN22 C1858T polimorfizmi arasında ilişki bulunmamıştır.

PTPN22 geni, hem olgun hemde olgun olmayan T ve B lenfositlerden eksprese edilen lenfoid tirozin fosfataz proteinini (LYP) kodlamaktadır. LYP bir intraselüler protein tirozin fosfatazdır. LYP, C terminal ucundan Src tirozin kinaza (CSK) bağlanmaktadır. Böylece hücre aktivasyonunu ve proliferasyonunu düzenleyen protein tirozin fosforilasyonu olaylarına engel olarak antijenlere karşı cevabı sınırlandırmaktadır. PTPN22 C1858T polimorfizminde 620. kodonda arjinin aminoasiti, triptofan aminoasitine dönüşmektedir. Hastalıklarla beraberlik

gösteren triptofan varyantı, proteinde bir fonksiyon kazancına yol açmakta ve bu protein T hücre aktivasyonunu daha güçlü bir şekilde baskılamaktadır (108).

PTPN22 C1858T polimorfizminin ile ilişkili olduğu çalışmalarla gösterilmiş olan diyabet hastalığı küresel bir sağlık sorunudur. Tüm dünyada yaklaşık 250 milyon kişiyi etkilemektedir (35). Bu sayının 2030 yılında 366 milyona ulaşması beklenmektedir (58). Ülkemizde ise, nüfusun %7.2'si diyabet hastasıdır (35). Tiroid hastalıkları diyabetli hastalarda diyabeti olmayan kişilere göre 2-3 kat daha fazla görülmektedir. Haşimato ve Tip 1 diyabetin birlikteliği uzun zamandan beri bilinmektedir. Ancak son zamanlarda yapılmış olan çalışmalarda HT' nin T2DM ile birlikte görüldüğü vurgulanmaktadır (96, 119, 125). Birlikte görülen Haşimato ve Tip 2 diyabet hastalıkları, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkan multifaktöryel hastalıklardır. Çok sayıda epidemiyolojik aile ve ikiz çalışmalarında bu hastalıkların gelişiminde güçlü bir genetik bileşenin varlığına dikkat çekilmektedir (24, 56, 86, 106).

GWAS ve linkaj analizleri yardımıyla çok sayıda genomik bölgeler, genler ve bu genlerdeki mutasyon ya da polimorfizmler tip 2 diyabet ve haşimato ile ilişkilendirilmiştir. Haşimato ile ilişkili bulunan başlıca genler; HLA, CD40, sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen-4 (CTLA-4), PTPN22 gibi immün sistem ve immün cevapla ilgili genler ve tiroid spesifik (TSH reseptör ve tiroglobulin) genleridir (44, 56, 90, 106, 107). T2DM patogeneğinde ise; insülin direnci, β hücre fonksiyonu, insülin salınımı ve aktivitesi, glukoz metabolizması ile ilgili enzim ve proteinleri kodlayan genlerdeki hastalığa neden olabilecek şüpheli aday genlerin tanımlanması önemli bir yaklaşım olarak son yıllarda ön plana çıkmaktadır (36). T2DM ile ilişkili bulunan başlıca genler ise: PPARG, KCNJ11,

TCF7L2, CDKAL1, CDKN2A/B, IGF2BP2, FTO (86), NOTCH2, CAMK1D, ADAMTS9, JAZF1, TSPAN8/LGR5, THADA (118), SLC30A8, HHEX, EXT2 ve LOC387761 (87) ve PTPN22 genleridir (10, 27).

Biz hasta gruplarımızı her iki hastalıkta da etkili olduğu öne sürülen ve iki hastalığında patogenezinde rol oynadığı rapor edilmiş olan PTPN22 C1858T gen polimorfizmi açısından inceledik.

T2DM'li hastalarda PTPN22 C1858T gen polimorfizmi ilk olarak Douroudis ve arkadaşları tarafından çalışılmıştır. Bu çalışmada, Estonya orjinli 170 T1DM, 244 T2DM ve 230 bireyden oluşan kontrol grubunda, PTPN22 C1858T gen polimorfizmi araştırılmıştır. Bu vaka kontrol çalışması sonucunda 244 T2DM'li hastanın 164'ünde (%67.2) CC genotipi, 77'sinde (%31.6) CT genotipi, 3'ünde (%1.2) ise TT genotipi belirlenmiştir. 170 T1DM hastasının 99'unda (%58.2) CC, 57 kişide (%33.5) CT genotipi, 6 kişide (%8.3) TT genotipi görülmüştür. İstatiksel analizler sonucunda $P= 0.005$ olarak bulunmuştur. Sonuç olarak PTPN22 C1858T gen polimorfizminin hem T1DM, hem de T2DM hastalıkları ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (37).

Cervin ve arkadaşlarının İsveç ve Finlandiya'dan 1676 T2DM'li, 361 LADA'lı, 718 T1DM'li hasta ve 1704 sağlıklı bireyle yapmış oldukları çalışmada PTPN22 CT/TT genotipleri T2DM'li bireylerde %23.1, LADA hastalarında %29.2, T1DM'li hastalarda %32, kontrol grubunda ise %17.1 olarak bulunmuştur. Kontrol grubu ile hasta grupları istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında PTPN22 C1858T polimorfimi açısından anlamlı fark bulunmuştur (27).

Andersen ve arkadaşlarının Finlandiyalı T2DM'li, LADA'lı, T1DM'li hasta ve sağlıklı bireyler ile yaptıkları çalışmada PTPN22 (rs2476601) allel

frekansını T1DM grubunda $P = 0.01$, LADA ve T2DM grubunda ise, $P < 0.05$ olarak bulmuşlardır. Çalışmanın sonucunda PTPN22 (rs2476601) allel frekansı T1DM’de daha yüksek olmakla beraber, T2DM’de de anlamlı bulunmuştur (10).

Dultz ve arkadaşları Alman hastalarla yaptıkları bir çalışmada otoimmün tiroid hastalıkları (haşimato ve graves) ve tip 1 diyabeti birlikte bulunduran hastaları PTPN22 C1858T gen polimorfizmi açısından değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda kontrol grubu, tip1 DM ve AITD ile karşılaştırıldığında T allel frekansının AITD ve tip1 DM’nin birlikte bulunduğu hastalarda daha yaygın olduğunu, haşimato + tip 1 diyabetli hastalarda ise T allel yaygınlığının en fazla olduğu belirtilmiştir. Ancak Haşimato hastaları ile PTPN22 C1858T polimorfizmi arasında çok zayıf bir ilişki bulunmuştur (38). Criswell ve arkadaşları Amerika’da beyaz kökenli 265 ailede, 746 etkilenmiş bireyde, otoimmün hastalıklarda PTPN22 C1858T gen polimorfizmi ilişkisini araştırmışlardır. Bu hasta grupları arasında en yüksek T allel frekansı %18.9 oranı ile 61 T1DM’li hastada, ikinci en yüksek frekans ise, %14.2 (27 kişi) ile 194 haşimato hastasında bulunmuştur. Çalışmada C1858T gen polimorfizmi ile haşimato tiroiditi arasında bağlantının olduğu belirtilmiştir (33). Kahles ve arkadaşları 220 tip 1,94 haşimato ve 121 addison hastalığını taşıyan Alman hastada PTPN22 C1858T gen polimorfizmini araştırmışlardır. 94 haşimato hastasının 67’sinde CC genotipini, 25’sinde CT, 2’sinde TT genotipini rapor etmişlerdir. Ancak kontrol grubu ile karşılaştırılarak yapılan istatistiksel analizler sonucunda Haşimato ve Addison hastaları ile bu gen polimorfizmi arasında bağlantı bulunmazken, T1DM ile bağlantı olduğu belirtilmiştir (60).

Populasyonumuzda yaptığımız çalışmada, T1858 allel frekansı Finlandiya, Estonya, Almanya ve İsveç gibi Avrupa toplumlarında T2DM, HT ve diğer bazı otoimmün hastalıklarla PTPN22 C1858T polimorfizmi arasında ilişki bulunan tüm bu çalışmalara oranla daha düşük oranda bulunmuştur. Ayrıca bu toplumlarda yapılmış olan çalışmalarda TT genotipi saptanmış olmasına karşın çalışmamızda ilgili genotip saptanmamıştır. Çalışmamızda PTPN22 C1858T polimorfizmi ile çalıştığımız hastalıklar arasında ilişki bulunamaması ve alel ve genotip frekanslarının beyaz ırkta yapılmış olan çalışmalardan daha düşük bulunması PTPN22 genindeki C1858T polimorfizm sıklığının etnik gruplarda farklılıklar göstermesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Birçok genetik çalışma farklı populasyonlarda ve bununla beraber farklı coğrafyalarda T1858 allel frekanslarını ortaya koymuştur. Bu bulgular polimorfizmin Kuzey Avrupa orjinini veya dünyanın bu bölgesinde seçilim avantajının olduğunu göstermektedir (117). Bu gen ile beyaz ırk arasında güçlü bir ilişki vardır. Etnik farklılığın muhtemel sebebi ise belirli etnik gruplarda belirli varyantların olmamasından dolayı veya kurucu etkiden dolayıdır. Yani PTPN22 C1858T varyantının kurucusunun beyaz ırktan olabileceği öne sürülmüştür (56).

Bu vaka-kontrol çalışmamızda, Türk popülasyonundaki tip 2 diyabet ve haşimato birlikte bulunan hastalarda, tip2 diyabet hastalarında ve haşimato hastalarında PTPN22 1858C/T gen polimorfizmi (rs2476601) araştırılmış ve bu polimorfizmin frekans dağılımı hasta ve sağlıklı bireylerde farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte, bu genin homozigot polimorfik genotipi (TT) hasta ve kontrol grubunda rastlanmamıştır. Bu genin homozigot polimorfik genotipi (TT), Türk populasyonunda ilk defa 70 Akalazy hastası ve 100 sağlıklı bireyde yapılan bir

çalışmada, kadın hastalarda gösterilmiştir. Bu çalışmada CC, CT ve TT genotipleri sırası ile akalazyta hastalarında %92.9 (65 kişi), %4.3 (3 kişi), %2.8 (2 kişi); kontrol grubunda %94 (94 kişi), %6 (6 kişi) ve 0 olarak bulunmuştur. T allel sıklığı ve C allel sıklığı açısından karşılaştırma yapıldığında hasta ve kontrol grubu arasında fark saptanmamıştır ($p=0,39$). Ancak, homozigot polimorfik genotip (TT) sadece hasta grubunda (2 tane kadın hasta) tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise saptanmamıştır (49).

Türk popülasyonunda Şahin ve arkadaşları 134 Behçet hastası ve 177 kontrol ile yaptıkları çalışmada, CT polimorfik genotipini 9 kontrol bireyinde (%5.1) bulmuşlardır. Ancak aynı çalışmada hasta grubunda bu polimorfik allele rastlanmamıştır. Buna göre PTPN22 C1858T gen polimorfizminin Türkiye’de otoimmünitenin patogeneğinde sınırlı bir rolünün olduğunu öne sürülmüştür (91). Bizde çalışmamızda benzer şekilde bu polimorfizmin popülasyonumuzda oldukça düşük oranlarda (% 2.22) bulunduğunu gösterdik.

Şahin ve arkadaşları 167 romatoid artritli hasta ve 177 sağlıklı bireyle yaptıkları çalışmada, 11 hastada ve 9 sağlıklı bireyde CT genotipine rastlamışlardır. Ancak, İstatiksel analizler sonucunda hastalıkla PTPN22 C1858T gen polimorfizmi arasında ilişki bulunmamıştır ($P=0.55$) (92).

Aksoy ve arkadaşları, romatizmal kalp hastalığı ile yaptıkları çalışmada 121 hastanın 114’ünde CC (GG), 7’sinde CT (AG); 160 sağlıklı bireyin 153’ünde CC (GG), 7 tanesinde CT (AG) genotipini bulmuşlardır. 137 SLE hastası ve 160 sağlıklı bireyde de benzer frekanslar bulunmuştur. Sonuç olarak Türk popülasyonunda PTPN22 C1858T gen polimorfizmi ve araştırılan bu iki hastalık arasında ilişki olmadığı kanaatine varmışlardır (6). Ancak Ateş ve arkadaşlarının Türk popülasyonunda 323 romatoid artritli hasta ve 426 sağlıklı

kişiyile yaptığı çalışmada hasta ve kontrol gruplarında TT genotipi bulunmazken, CT genotipi hasta grubunda %8.4 (27 kişi), kontrolde %5.4 (23 kişi) olarak belirlenmiş ve istatistiksel analizler sonucunda RA hastalığı ile PTPN22 C1858T gen polimorfizmi arasında ilişki bulunduğunu savunmuşlardır (12).

Şahin, Ateş ve Aksoy gibi araştırmacıların Türk popülasyonunda farklı hastalıklarda PTPN22 gen polimorfizmi ile yaptıkları bu çalışmalardaki kontrol gruplarının polimorfik genotip (CT) frekansları ile çalışmamızdaki kontrol grubunun polimorfik genotip frekansı karşılaştırıldığında, çalışmamızda 135 kontrolden 3 bireyde (%2.22)'de CT alleli saptanmış olup, polimorfik genotip frekansının daha düşük olduğu görülmektedir. Bizim popülasyonumuzda ve ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda PTPN22 C1858T polimorfizmi için C1858T genotip frekansı %8.4 ile 1.86 arasında bulunurken, Avrupa toplumlarında T1858 allel frekansı Finlandiya'da %15.5, İsveç'te%12, UK'da %8 ve güneye doğru gittikçe azalarak İspanya'da %6 civarında ve İtalya'da ise %2 olarak bulunmuştur. T1858 alleli Afrikan Amerikalılarda, Afrika popülasyonunda ve Asya toplumunda neredeyse yoktur (107, 130). Çin, Japon, Kore ve Afrika popülasyonlarında yapılan çalışmalarda T alleli bulunamamıştır (46, 56). Bu bulgular göz önüne alındığında toplumumuzun bu polimorfizm açısından Asya ile Avrupa toplumları arasında bir geçiş gösterdiği görülmektedir. Türk popülasyonunda bu gen polimorfizminin frekansının düşük olması nedeniyle daha fazla sayıdaki hasta ve kontrol ile yapılacak çalışmalar bu konuya açıklık getirecektir.

6.1. Öneriler

Son zamanlarda insan genomundaki doğal genetik varyasyonlar ve bunların klinik ve fonksiyonel önemleriyle ilgili pek çok çalışma yapılmaktadır. Bu ilerlemeler bize bazı multifaktoriyel hastalıkların oluşumunda ve ilerlemede rol oynayan genetik faktörlerin anlaşılmasında yol gösterici olacaktır. İnsan genomunda polimorfizmlerin çoğu fonksiyonel olarak nötraldir. Yani, genin oluşturduğu protein yapısını ya da fonksiyonunu etkilemezler. Bununla birlikte bazı polimorfizmler gen yapısındaki kodlayıcı alanları ya da düzenleyici bazı dizileri etkileyerek gen transkripsiyonu, mRNA stabilitesi, RNA uç birleştirme, protein yapısı ve fonksiyonunu etkileyebilmektedirler. Böyle değişiklikler hastalık yatkınlığını ve ciddiyetini artırma ya da azaltma, tedaviye cevap ve ilacın yan etkilerine karşı hassasiyet gibi farklı klinik etkiler ortaya çıkarabilirler (15).

Polimorfizmlerin değerlendirilmesinde kullanılan restriksiyon enzim uzunluk polimorfizm yöntemi gerçek zamanlı PZR gibi yöntemlerin gelişmesine rağmen halen spesifik, hızlı ve diğer yöntemlerle kıyaslandığında daha ekonomik bir şekilde polimorfizm ve mutasyonların tespitini sağlamaktadır. Çalışmamızda seçilen polimorfizmin değerlendirilmesinde RFLP yöntemi kullanılmış ve tüm değerlendirilen polimorfizmler başarıyla genotiplendirilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları ışığında sağlıklı kontrole karşılaştırıldığında T2DM ve HT hastalıkları ile PTPN22 C1858T polimorfizmi arasında istatiki açıdan anlamlı fark bulunamamıştır. Çalışmada elde edilen verilerin doğrulanabilmesi için aynı polimorfizmlerin farklı toplumlarda T2DM ve HT hastalarında çalışılarak verilerimizin daha fazla araştırılmayla desteklenmesi gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1- Abacı A, Böber E, Büyükgebiz A. (2007). Tip 1 Diyabet. *Güncel Pediatr* 5: 1-10.
- 2- Abdella NA, Khogali MM, Salman AD, Ghuneimi SA, Bajaj JS. (1995). Pattern of non-insulin dependent diabetes mellitus in Kuwait. *Diabetes Res Clin Pract* 29: 129-136.
- 3- Acuto O, Di Bartolo V, Michel F. (2008). Tailoring T-cell receptor signals by proximal negative feedback mechanisms. *Nat Rev Immunol* 8: 699-712.
- 4- Adeghate E, Schattner P, Dunn E. (2006). An update on the etiology and Epidemiology of Diabetes Mellitus. *Ann N Y Acad Sci* 1084: 1-29.
- 5- Akın H. (2003). Tıbbi genetik terimleri sözlüğü. *Sendrom III* 1(1): 17.
- 6- Aksoy R, Duman T, Keskin O, Düzgün N. (2011). No association of PTPN22 R620 W gene polymorphism with rheumatic heart disease and systemic lupus erythematosus. *Mol Biol Rep* 8.
- 7- Amerio P, Di Rollo D, Carbone A, Auriemma M, Marra ME, De Remigis P, et al. (2010). Polyglandular autoimmune diseases in a dermatological clinical setting: vitiligo-associated autoimmune diseases. *Eur J Dermatol* 20(3): 354-8.
- 8- Amerio P, Tracanna M, De Remigis P, Betterle C, Vianale L, Marra ME, et al. (2006). Vitiligo associated with other autoimmune diseases: polyglandular autoimmune syndrome types 3B+C and 4. *Clin Exp Dermatol* 31(5): 746-9.
- 9- Amino N, Tada H, Hidaka Y, Hashimoto K. (2002). Hashimoto's disease and Dr. Hakaru Hashimoto. *Endocr J* 49(4): 393-7.
- 10- Andersen MK, Lundgren V, Turunen JA, Forsblom C, Isomaa B, Groop PH, et al. (2010). Latent autoimmune diabetes in adults differs genetically from classical type 1 diabetes diagnosed after the age of 35 years. *Diabetes Care* 33(9): 2062-4.
- 11- Anderson MS. (2008). Update in endocrine autoimmunity. *J Clin Endocrinol Metab* 93(10): 3663-70.
- 12- Ates A, Karaaslan Y, Karatayli E, Ertuğrul E, Aksaray S, Türkyılmaz A, et al. (2011). Association of the PTPN22 gene polymorphism with autoantibody positivity in Turkish rheumatoid arthritis patients. *Tissue Antigens* 21: 1399-0039.
- 13- Babademez MA, Tuncay KS, Zaim M, Acar B, Karaşen RM. (2010). Hashimoto thyroiditis and thyroid gland anomalies. *J Craniofac Surg* 21(6): 1807-9.
- 14- Bagnasco M, Bossert I, Pesce G. (2006). Stress and autoimmune thyroid diseases *Neuroimmunomodulation* 6;13(5-6): 309-17.
- 15- Balasubramanian SP, Cox A, Brown NJ, Reed MW. (2004). Candidate gene polymorphisms in solid cancers. *Eur J Surg Oncol* 30(6): 593-601.

- 16- Ballotti S, Chiarelli F, de Martino M. (2006). Autoimmunity: Basic Mechanisms and Implications in Endocrine Diseases. *Horm Res* 66(3): 142-52.
- 17- Begovich AB, Carlton VE, Honigberg LA, Schrodi SJ, Chokkalingam AP, Alexander HC, et al. (2004). A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* 75: 330–7.
- 18- Bindra A, Braunstein GD. (2006). Thyroiditis. *Am Fam Physician* 15: 73(10):1769-76.
- 19- Bottini N, Vang T, Cucca F, Mustelin T. (2006). Role of PTPN22 in type 1 diabetes and other autoimmune diseases. *Semin Immunol* 18(4): 207-13.
- 20- Brix TH, Kyvik KO, Hegedus L. (2000). A population-based study of chronic autoimmune hypothyroidism in Danish twins. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 536–539.
- 21- Brookes AJ. (1999). The essence of SNPs. *Gene* 234(2): 177-86.
- 22- Brucker-Davis F. (1998). Effects of environmental synthetic chemicals on thyroid function. *Thyroid* 8: 827–856.
- 23- Burant CF. (2008). Çömlekçi A (Türkçe Editörü). Çevirmen : Öner İ. *Tip 2 Diyabetin Medikal Tedavisi*. American Diabetes Assaciation. Sigma Publishing. Sayfa 11-23.
- 24- Burek CL, Talor MV. (2009). Environmental triggers of autoimmune thyroiditis. *J Autoimmun* 33(3-4): 183-9.
- 25- Cantrell RA, Alatorre CI, Davis EJ, Zarotsky V, Le Nestour E, Carter GC, et al. (2010). A review of treatment response in type 2 diabetes: assessing the role of patient heterogeneity. *Diabetes Obes Metab* 12(10): 845-57.
- 26- Catalano PM. (2010). Obesity, insulin resistance, and pregnancy outcome. *Reproduction* 140(3): 365-71.
- 27- Cervin C, Lyssenko V, Bakhtadze E, Lindholm E, Nilsson P, Tuomi T, et al. (2008). Genetic similarities between latent autoimmune diabetes in adults, type 1 diabetes and type 2 diabetes. *Diabetes* 57(5): 1433-7.
- 28- Chen X, Hess S. (2008). Adipose proteome analysis: focus on mediators of insulin resistance. *Expert Rev Proteomics* 5(6): 827-39.
- 29- Chistiakov DA. (2005). Immunogenetics of Hashimoto's thyroiditis. *J Autoimmune Dis* 11;2(1): 1.
- 30- Choi K, Kim YB. (2010). Molecular mechanism of insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Korean J Intern Med* 25(2): 119-29.

- 31- Collins FS, Brooks LD, Chakravarti A. A DNA polymorphism discovery resource for research on human genetic variation. *Genome Res* 1998;8(12): 1229-31.
- 32- Cooper D.S, Greenspan F. S, Ladenson P. (2009). Greenspan's temel ve klinik endokrinoloji. Arslan M. (Çeviri editörü). Güneş tıp kitabevleri. (sekizinci baskı). Sayfa 264-266.
- 33- Criswell LA, Pfeiffer KA, Lum RF, Gonzales B, Novitzke J, Kern M, et al. (2005). Analysis of families in the multiple autoimmune disease genetics consortium (MADGC) collection: the PTPN22 620 W allele associates with multiple autoimmune phenotypes. *Am J Hum Genet* 76(4): 561-71.
- 34- De Vries L, Bulvik S, Phillip M. (2009). Chronic autoimmune thyroiditis in children and adolescents: at presentation and during long-term follow-up. *Arch Dis Child* 94: 33-37.
- 35- Dizbay M. (2010). Diyabetik Ayak İnfeksiyonları. *Ankem Derg.* 24(Ek 2):144-149
- 36- Doria A, Patti ME, Kahn CR. (2008). The emerging genetic architecture of type 2 diabetes. *Cell Metab* 8(3): 186-200.
- 37- Douroudis K, Prans E, Haller K, Nemvalts V, Rajasalu T, Tillmann V, et al. (2008). Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22 gene variants at position 1858 are associated with type 1 and type 2 diabetes in Estonian population. *Tissue Antigens* 72(5): 425-30.
- 38- Dultz G, Matheis N, Dittmar M, Röhrig B, Bender K, Kahaly GJ. (2009). The protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22 C1858T polymorphism is a joint susceptibility locus for immunthyroiditis and autoimmune diabetes. *Thyroid* 19(2): 143.
- 39- Duntas LH. (2008). Environmental factors and autoimmune thyroiditis. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 4(8): 454-60.
- 40- Dupuis J, Langenberg C, Prokopenko I, Saxena R, Soranzo N, Jackson AU, Wheeler E. et al. (2010). New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. *Nat Genet* 42(2): 105-16.
- 41- Fink H, Hintze G. (2010). Autoimmune thyroiditis (Hashimoto's thyroiditis): current diagnostics and therapy. *Med Klin (Munich)* 105(7): 485-93.
- 42- Forsberg L, de Faire U, Marklun SL, Andersson PM, Stegmayr B, Morgenstern R. (2000). Phenotype determination of a common Pro-Leu polymorphism in human glutathione peroxidase 1. *Blood cells mol dis* 26(5): 423-426.

- 43- Gaulton KJ, Willer CJ, Li Y, Scott LJ, Conneely KN, Jackson AU, et al. (2008). Comprehensive association study of type 2 diabetes and related quantitative traits with 222 candidate genes. *Diabetes* 57(11): 3136-44.
- 44- Golden B, Levin L, Ban Y, Concepcion E, Greenberg DA, Tomer Y. (2005). Genetic analysis of families with autoimmune diabetes and thyroiditis: evidence for common and unique genes. *J Clin Endocrinol Metab* 90(8): 4904-11.
- 45- Gomez LM, Anaya JM, Gonzalez CI, Pineda-Tamayo R, Otero W, Arango A, Martín J. (2005). PTPN22 C1858T polymorphism in Colombian patients with autoimmune diseases. *Genes Immun* 6(7): 628-31.
- 46- Gregersen PK, Lee HS, Batliwalla F, Begovich AB. (2006). PTPN22: Setting thresholds for autoimmunity. *Semin Immunol* 18: 214-23.
- 47- Groop L, Lyssenko V. (2009). Genetic basis of β -cell dysfunction in man. *Diabetes Obes Metab* 4: 149-58.
- 48- Gulcan E, Gulcan A, Koplay M, Alcelik A, Korkmaz U. (2009). Co-existence of Hashimoto's thyroiditis with familial Mediterranean fever: is there a pathophysiological association between the two diseases? *Clin Exp Immunol* 156(2): 373-6.
- 49- Gündüz F. (2008). Akalazya hastalarında PTPN22 gen polimorfizminin araştırılması. Yan Dal Uzmanlık tezi. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Bilim Dalı, İstanbul.
- 50- Hadj-Kacem H, Rebuffat S, Mnif-Feki M, Belguith-Maalej S, Ayadi H, Peraldi-Roux S. (2009). Autoimmune thyroid diseases: genetic susceptibility of thyroid-specific genes and thyroid autoantigens contributions. *Int J Immunogenet* 36: 85–96.
- 51- Hajeer AH, Hutchinson (2000). IV. TNF-alpha Gene Polymorphism: Clinical and Biological Implications. *Microsc Res Tech* 50(3): 216-28.
- 52- Hayward SL, Suzuki K, Elliott JF. (2007). A radioligand binding assay to measure anti-thyroperoxidase autoantibodies in mice. *J Immunol Methods* 30;323(2): 114-22.
- 53- Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, et al. (2002). Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United states population (1988 to 1994): National health and Nutrition Examination Durvey (NHALES III). *J Clin Endocrind Metab* 87: 489-499.
- 54- Holst JJ, Vilsbøll T, Deacon CF. (2009). The incretin system and its role in type 2 diabetes mellitus. *Mol Cell Endocrinol* 15;297(1-2): 127-36.

- 55- Holz GG, Chepurny OG . (2005). Diabetes Outfoxed by GLP-1?. x-linked spinal and bulbar muscular atrophy without proximal atrophy. *Sci STKE* 25;2005(268).
- 56- Jacobson EM, Tomer Y. (2007). The CD40, CTLA-4, Thyroglobulin, TSH Receptor, and PTPN22 gene quintet and its contribution to thyroid autoimmunity: back to the future. *J Autoimmun* 28(2-3): 85-98.
- 57- Jansson SP, Andersson DK, Svärdsudd K. (2007). Prevalence and incidence rate of diabetes mellitus in a Swedish community during 30 years of follow-up. *Diabetologia* 50(4): 703-10.
- 58- Jin W, Patti ME. (2009). Genetic determinants and molecular pathways in the pathogenesis of Type 2 diabetes. *Clin Sci (Lond)* 116(2): 99-111.
- 59- Kabalak T, Çetinkalp Ş. (2009). Diabetes Mellitus 2009 multidisipliner yaklaşımla tanı, tedavi ve izlenim. İmamoğlu Ş. (Editör). Deomed medikal yayıncılık. Sayfa 20-60.
- 60- Kahles H, Ramos-Lopez E, Lange B, Zwermann O, Reincke M, Badenhoop K. (2005). Sex-specific association of PTPN22 1858T with type 1 diabetes but not with Hashimoto's thyroiditis or Addison's disease in the German population. *Eur J Endocrinol* 153(6): 895-9.
- 61- Kawasaki E, Awata T, Ikegami H, Kobayashi T, Maruyama T, Nakanishi K, et al. (2006). Systematic Search for Single Nucleotide Polymorphisms in a Lymphoid Tyrosine Phosphatase Gene (PTPN22): Association Between a Promoter Polymorphism and Type 1 Diabetes in Asian Populations. *Am J Med Genet A* 15;140(6): 586-93.
- 62- Kılıçturgay K. (1997). İmmünoloji. Güneş & Nobel Tıp Kitabevleri. Sayfa 195
- 63- Kınıklı G, Turgay M. (1997). Otoimmünite. Klinik immünoloji AÜTF. Sayfa 76-77.
- 64- Kinik ST, Ozçay F, Varan B. (2006). Type I diabetes mellitus, Hashimoto's thyroiditis and celiac disease in an adolescent with Down syndrome. *Pediatr Int* 48: 433-435.
- 65- Kivity S, Agmon-Levin N, Blank M, Shoenfeld Y. (2009). Infections and autoimmunity – friends or foes? *Trends Immunol* 30(8): 409-14.
- 66- Kriska AM, Pereira MA, Hanson RL, de Courten MP, Zimmet PZ, Alberti KG, et al. (2001). Association of physical activity and serum insulin concentrations in two populations at high risk for type 2 diabetes but differing by BMI. *Diabetes Care* 24: 1175–1180.

- 67- Larsen PR, Davies TF. (2003). The thyroid gland. Williams Textbook of Endocrinology 10th edition. WB Saunder's Company. P 436.
- 68- Lee YH, Rho YH, Choi SJ, Ji JD, Song GG, Nath SK, et al. (2007). The PTPN22 C1858T functional polymorphism and autoimmune diseases—a meta-analysis. *Rheumatology (Oxford)* 46(1): 49-56.
- 69- Lerman IG, Villa AR, Martinez CL, Cervantes Turrubiatez L, Aguilar Salinas CA, Wong B, et al. (1998). The prevalence of diabetes and associated coronary risk factors in urban and rural older Mexicans. *J Am Geriatric* 46: 1387-1395.
- 70- Levin L, Tomer Y. (2003). The etiology of autoimmune diabetes and thyroiditis: evidence for common genetic susceptibility. *Autoimmun Rev* 2(6): 377-86.
- 71- Livaudais JC, Thompson B, Islas I, Ibarra G, Godina R, Coronado GD. (2010). Type 2 diabetes among rural Hispanics in Washington State: perspectives from community stakeholders. *Health Promot Pract* 11(4): 589-99.
- 72- McCanlies E, O'Leary LA, Foley TP, Kramer MK, Burke JP, Libman A, et al. (1998). Hashimoto's Thyroiditis and Insulin-Dependent Diabetes Mellitus: Differences among Individuals with and without Abnormal Thyroid Function. *J Clin Endocrinol Metab* 83(5): 1548-51.
- 73- McCarthy M, Zeggini E. (2009). Genome-wide association studies in type 2 diabetes. *Curr Diab Rep* 9(2): 164-71.
- 74- Memişoğulları R. (2005). Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*: 3;30-39
- 75- Michael Stumvoll, Barry J Goldstein, Timon W van Haeften. (2005). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet* 365: 1333–46.
- 76- Michels AW, Eisenbarth GS. (2010). Immunologic endocrine disorders. *J Allergy Clin Immunol* 125(2): 226-37.
- 77- Movva S, Alluri RV, Komandur S, Vattam K, Eppa K, Mukkavali KK, et al. (2007). Relationship of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism with nephropathy associated with Type 2 diabetes mellitus in Asian Indians. *J Diabetes Complications* 21(4): 237-41.
- 78- Nabipour I. (2003). Clinical Endocrinology in the Islamic Civilization in Iran. *Int J Endocrinol Metab* 1: 43-45
- 79- Nakanishi S, Okubo M, Yoneda M, Jitsuiki K, Yamane K, Kohno N. (2004). A comparison between Japanese-Americans living in Hawaii and Los Angeles and native Japanese: the impact of lifestyle westernization on diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother* 58(10): 571-7.

- 80- Nauck MA, Vardarli I, Deacon CF, Holst JJ, Meier JJ. (2011). Secretion of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in type 2 diabetes: what is up, what is down?. *Diabetologia* 54(1): 10-8.
- 81- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Boerkoel III CF. (2005). Thompson and Thompson Tibbi genetik. Günes Kitabevi (6.baskı). Sayfa 313-330.
- 82- Nwobu CO, Johnson CC. (2007). Targeting obesity to reduce the risk for type 2 diabetes and other co-morbidities in African American youth: a review of the literature and recommendations for prevention. *Diab Vasc Dis Res* 4(4): 311-9.
- 83- Paknys G, Kondrotas AJ, Kevelaitis E. (2009). Risk factors and pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. *Medicina (Kaunas)* 45(7): 574-83.
- 84- Phillips DI, Osmond C, Baird J, Huckle A, Rees-Smith B. (2002). Is birthweight associated with thyroid autoimmunity? A study in twins. *Thyroid* 12: 377-380.
- 85- Pradhan V, Borse V, Ghosh KJ. (2010). PTPN22 gene polymorphisms in autoimmune diseases with special reference to systemic lupus erythematosus disease susceptibility. *Postgrad Med* 56(3): 239-42.
- 86- Ridderstråle M, Groop L. (2009). Genetic dissection of type 2 diabetes. *Mol Cell Endocrinol* 15;297(1-2): 10-7.
- 87- Rong R, Hanson RL, Ortiz D, Wiedrich C, Kobes S, Knowler WC, Bogardus C, Baier LJ. (2009). Association analysis of variation in/near FTO, CDKAL1, SLC30A8, HHEX, EXT2, IGF2BP2, LOC387761, and CDKN2B with type 2 diabetes and related quantitative traits in Pima Indians. *Diabetes* 58(2): 478-88.
- 88- Rose N.R, Bonita R, Burek C.L. (2002). Iodine: an enviromental trigger of thyroiditis. *Autoimmun Rev* 97-103.
- 89- Ruwhof C, Draxhage HA. (2001). Iodine and thyroid autoimmune disease in animal models. *Thyroid* 11: 427-36.
- 90- Sahin M, Gursoy A, Erdogan MF. (2009). Cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4 polymorphism in Turkish patients with Hashimoto thyroiditis. *Int J Immunogenet* 36(2): 103-6.
- 91- Sahin N, Bicakcigil M, Atagunduz P, Direskeneli H, Saruhan-Direskeneli G. (2007). PTPN22 gene polymorphism in Behçet's disease. *Tissue Antigens* 70(5): 432-4.
- 92- Sahin N, Gunduz F, Inanc N, Direskeneli H, Saruhan-Direskeneli G. (2009). No association of PTPN22 gene polymorphism with rheumatoid arthritis in Turkey. *Rheumatol Int* 30:81-83.

- 93-** Santiago JL, Martínez A, de la Calle H, Fernández-Arquero M, Figueredo MA, de la Concha EG, Urcelay E. (2007). Susceptibility to type 1 diabetes conferred by the PTPN22 C1858T polymorphism in the Spanish population. *BMC Med Genet* 13;8: 54.
- 94-** Sathyapalan T, Atkin SL. (2011). Is there a role for immune and anti-inflammatory therapy in type 2 diabetes?. *Minerva Endocrinol* 36(2): 147-56.
- 95-** Satman I, Yilmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S et al. (2002). Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care* 25 (9) 1551–1556.
- 96-** Schroner Z, Lazurova I, Petrovicova J. (2008). Autoimmune thyroid diseases in patients with diabetes mellitus. *Bratisl Lek Listy* 109(3): 125-9.
- 97-** Shaw JE, Zimmet PZ, Alberti KG. (2006). Point: impaired fasting glucose: The case for the new American Diabetes Association criterion. *Diabetes Care* 29(5): 1170-2.
- 98-** Sinclair D. (2008). Analytical aspects of thyroid antibodies estimation. *Autoimmunity* 41(1): 46-54.
- 99-** Sönmez NHC, Öztekin PS, Koşar P, Koşar U. (2009). Tiroid Bezinin Otoimmün Hastalıklarında Difüzyon Ağırlıklı Ekoplanar Manyetik Rezonans Görüntüleme. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 62(3).
- 100-** Spadaccino AC, Basso D, Chiarelli S, Albergoni MP, D'Odorico A, Plebani M, et al. (2008). Celiac disease in North Italian patients with autoimmune thyroid diseases. *Autoimmunity* 41:116-21.
- 101-** Staiger H, Machicao F, Fritsche A, Häring HU. (2009). Pathomechanisms of Type 2 Diabetes Genes. *Endocr Rev* 30(6): 557-85.
- 102-** Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. (2005). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet* 365: 1333-1346.
- 103-** Takeuchi M, Okamoto K, Takagi T, Ishii H. (2008). Ethnic difference in inter-East Asian subjects with normal glucose tolerance and impaired glucose regulation: a systematic review and meta-analysis focusing on fasting serum insulin. *Diabetes Res Clin Pract* 82(3): 383-90.
- 104-** Tfayli H, Arslanian S. (2009). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus in youth: the evolving chameleon. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 53(2): 165-74.
- 105-** Tomer Y. (2002). Genetic dissection of familial autoimmune thyroid diseases using whole genome screening. *Autoimmun Rev* 198–204.

- 106- Tomer Y, Davies TF. (2003). Searching for the Autoimmune Thyroid Disease Susceptibility Genes: From Gene Mapping to Gene Function. *Endocr Rev* 24(5): 694-717.
- 107- Tomer Y, Huber A. (2009). The etiology of autoimmune thyroid disease: a story of genes and environment. *J Autoimmun* 32(3-4): 231-9.
- 108- Tomer Y, Menconi F. (2009). Type 1 diabetes and autoimmune thyroiditis: the genetic connection. *Thyroid* 19(2): 99-102.
- 109- Tong Y, Lin Y, Zhang Y, Yang J, Zhang Y, Liu H, et al. (2009). Association between TCF7L2 gene polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus: a large Human Genome Epidemiology (HuGE) review and meta-analysis. *BMC Med Genet* 19;10: 15.
- 110- Trbojević B, Djurica S. (2005). Diagnosis of autoimmune thyroid disease. *Srp Arh Celok Lek* 133 Suppl 1: 25-33.
- 111- Triplitt C, Cersosimo E, DeFronzo RA. (2010). Pioglitazone and alogliptin combination therapy in type 2 diabetes: a pathophysiologically sound treatment. *Vasc Health Risk Manag* 7;6: 671-90.
- 112- Tsai FJ, Yang CF, Chen CC, Chuang LM, Lu CH, Chang CT, et al. (2010). A genome-wide association study identifies susceptibility variants for type 2 diabetes in Han Chinese. *PLoS Genet* 19;6(2): e1000847.
- 113- Turfaner N. (2007). Tip 2 Diyabet Tedavisinde Son Gelişmeler. *Türk Aile Hek Derg* 11(1): 43-47.
- 114- Türkçapar N, Kınıklı G. (2003). Otoimmünite Mekanizmaları. *Türkiye Klinikleri İmmünoloji-Romatoloji Dergisi* 3: 1
- 115- Tüzün M. (2004). Diabetes Mellitus. "Endokrinoloji El Kitabı" Kabalak T, Candeğer Y, Tüzün M. (Editörler). İzmir Güven Kitabevi. İzmir. Sayfa 610-928.
- 116- Usui I, Tobe K. (2011). The role of inflammation in the development of insulin resistance in type 2 diabetes. *Nippon Rinsho* 69(3): 555-62.
- 117- Vang T, Miletic AV, Bottini N, Mustelin T. (2007). Protein tyrosine phosphatase PTPN22 in human autoimmunity. *Autoimmunity* 40(6): 453-61.
- 118- Vimalaswaran KS, Loos RJ. (2010). Progress in the genetics of common obesity and type 2 diabetes. *Expert Rev Mol Med* 26;12:e7.
- 119- Vondra K, Vrbikova J, Dvorakova K. (2005). Thyroid gland diseases in adult patients with diabetes mellitus. *Minerva Endocrinol* 30(4):217-36.

- 120-** Wang SY, Tung YC, Tsai WY, Lee JS, Hsiao PH. (2006). Long-term outcome of hormonal status in Taiwanese children with Hashimoto's thyroiditis. *Eur J Pediatr* 165(7): 481-483.
- 121-** Williams G, Pickup J.C. (2004). *Diabetes El Kitabı*. Karşıdağ K. (Türkçe editörü). Çevirmenler: Toktaş T, Altunöz M.E. Blackwell Publishing. (3. Baskı). Syf : 6-15-242.
- 122-** Wu Y, Li H, Loos RJ, Yu Z, Ye X, Chen L, et al. (2008). Common Variants in CDKAL1, CDKN2A/B, IGF2BP2, SLC30A8, and HHEX/IDE Genes Are Associated With Type 2 Diabetes and Impaired Fasting Glucose in a Chinese Han Population. *Diabetes* 57(10): 2834-42.
- 123-** Wulan SN, Westertep KR, Plasqui G. (2010). Ethnic differences in body composition and the associated metabolic profile: a comparative study between Asians and Caucasians. *Maturitas* 65(4): 315-9.
- 124-** Yamada S, Motohashi Y, Yanagawa T, Maruyama T, Kasuga A, Hirose H, et al. (2001). NeuroD/beta2 gene G-A polymorphism may affect onset pattern of type 1 diabetes in Japanese. *Diabetes Care* 24(8): 1438-41.
- 125-** Yasmin T, Ghafoor F, Malik T, S RN, Khan AU. (2006). Pattern of thyroid autoimmunity in type 1 and type 2 diabetics. *J Coll Physicians Surg Pak* 16(12): 751-4.
- 126-** Yu CH, Zinman B. (2007). Type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in aboriginal populations: a global perspective. *Diabetes Res Clin Pract* 78(2): 159-70.
- 127-** Zeyda M, Stulnig TM. (2009). Obesity, inflammation, and insulin resistance--a mini-review. *Gerontology* 55(4): 379-86.
- 128-** Zhang P, Zhang X, Brown J, Vistisen D, Sicree R, Shaw J, Nichols G. (2010). Global healthcare expenditure on diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 87(3): 293-301.
- 129-** Zhang ZH, Chen F, Zhang XL, Jin Y, Bai J, Fu SB. (2008). PTPN22 allele polymorphisms in 15 Chinese populations. *Int J Immunogenet* 35(6): 433-7.
- 130-** Zoledziwska M, Perra C, Orrù V, Moi L, Frongia P, Congia M, et al. (2008). Further evidence of a primary, causal association of the PTPN22 620W variant with type 1 diabetes. *Diabetes* 57(1): 229-34.

8. ÖZGEÇMİŞ

01.05.1987 tarihinde Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Elazığ'da tamamladım. 2005 yılında Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandım. 2009 yılında aynı fakülteden mezun oldum. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında yüksek lisansa başladım.