



**T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ADIPOQ GENİNİN +45T>G VE +276G>T VARYASYONLARININ
MULTİPL SKLEROZ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Alime EROĞLU

**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Şubat 2015
BOLU**



**T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ADIPOQ GENİNİN +45T>G VE +276G>T VARYASYONLARININ
MULTİPL SKLEROZ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Alime EROĞLU

**TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Selma DÜZENLİ**

Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje numarası 2013.08.02.649)

**Şubat 2015
BOLU**

Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

Bu çalışma jürimiz tarafından oy birliği ile Tıbbi Biyoloji ve Genetik
Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Selma DÜZENLİ
Tıbbi Genetik A.D., A.İ.B.Ü.

Prof. Dr. Serpil YILDIZ
Nöroloji A.D., A.İ.B.Ü.

Prof. Dr. Fahri YILMAZ
Tıbbi Patoloji A.D., A.İ.B.Ü.

Alime EROĞLU

Tarih 11/02/2015

Bu tez ile AİBÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Alime
EROĞLU'nun Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Erol AYAZ

ÖZET

ADIPOQ GENİNİN +45T>G VE +276G>T VARYASYONLARININ MULTİPL SKLEROZ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Multipl Skleroz (MS) Merkezi Sinir Sisteminin (MSS) kronik inflamatuvar, demiyelinizan nörolojik bir hastalıktır. Sıklıkla genç erişkinleri etkiler.

MS etyolojisinde genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerin yer aldığı multifaktöriyel bir hastalıktır.

MS genetiğinde üzerinde en çok durulan HLA (Human Leukocyte Antigen) sınıf I, sınıf II grubudur. MS genetiğinde vitamin D Reseptör Geni (VDR) ve IL7 (İnterlökin) ve IL2 polimorfizmleri de önemli yer tutar. Adiponektin hormonu ile MS ilişkisi henüz araştırılan güncel bir konudur.

Adiponektin adipoz doku kaynaklı bir plazma glikoproteinidir. Adipoz doku sadece yağların depo edildiği atıl bir yer değil, önemli sitokinlerin salındığı bir dokudur. Adiponektin bu sitokinlerin en önemlilerinden biridir. Glikoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinin yanında antiinflamatuvar, antiaterojenik ve antidiyabetik özellikleri de vardır.

Adiponektin geni (AdipoQ) üzerinde tanımlanmış birçok polimorfizm vardır. +45T>G (rs2241766) ve +276G>T (rs1501299) polimorfizmleri bunların en yaygın görülenlerinden ve üzerinde en çok çalışılanlarındandır. Yapılan bazı çalışmalarda polimorfizm varlığı ile serum adiponektin seviyesi arasında ters ilişki görülmüş ve polimorfizmler tip 2 diyabet, obezite, metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir.

Adiponektin ve MS ile ilgili yapılan sınırlı sayıdaki çalışmada, MS hastalarında beyin omurilik sıvısı ve kan serumunda adiponektin seviyeleri ölçülmüştür. Çalışmamızda serum adiponektin seviyesi ile ilişkili olabilecek ve en yaygın görülen AdipoQ geninin +45T>G ve +276G>T polimorfizmlerinin MS etyolojisi üzerindeki rolleri araştırıldı. Hasta ve kontrol grubu arasında her iki polimorfizm açısından istatistiksel anlam tespit edilemedi.

Anahtar kelimeler: Multipl Skleroz, Adiponektin, AdipoQ, +45T>G, +276G>T

ABSTRACT

THE STUDY ON THE EFFECTS OF +45T>G AND +276G>T VARIATIONS OF ADIPOQ GENE ON MULTIPLE SCLEROSIS

Multiple sclerosis (MS) is the chronic inflammatory and demyelinating neurological disease of the Central Nervous System (CNS). MS frequently influences young adults.

MS is a multifactorial disease including genetic, environmental and immunological factors in its etiology.

Human leukocyte antigen class I and class II groups are the two most widely studied groups of MS genetics studies. Vitamin receptor D gene and IL7 (Interleukine) and IL2 polymorphisms have significant effects in MS genetics. The relation between adiponectin and MS is a recent topic that is still being studied.

Adiponectin is a plasma glycoprotein originating from adipose-tissue. Adipose tissue is not only a storage for lipids, but also a tissue, where various cytokines are secreted from. Adiponectin is one of the most important secreted cytokines. Besides its regulatory roles in glucose and lipid metabolism, it has antiinflammatory, antiatherogenic and antidiabetic roles.

A variety of polymorphisms have been described on adiponectin gene. +45T>G (rs2241766) and +276G>T (rs1501299) polymorphisms are the most common and the most widely studied ones. Some studies revealed reverse relation between polymorphisms and serum adiponectin levels, which were attributed to the presence of type 2 diabetes, obesity, metabolic syndrome and cardiovascular diseases.

Adiponectin levels were measured in cerebrospinal fluid and blood serum samples in limited number of studies about the relation between adiponectin and MS. In our study, we examined the roles of AdipoQ gene +45T>G and +276G>T polymorphism in MS etiology, which are the most common polymorphisms and could be related with serum adiponectin levels. We could not find statistically significant associations between case and control groups for both variations.

Keywords: Multiple Sclerosis, Adiponectin, AdipoQ, +45T>G, +276G>T

TEŞEKKÜR

*Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, kıymetli tez danışman hocam Doç.Dr.Selma DÜZENLİ'ye,
Değerli hocam Prof.Dr.Serpil YILDIZ'a
Benden yardımını esirgemeyen Yrd.Doç.Dr.Şule AYDIN'a,
Tezim süresince bana destek olan güler yüzlü Tıbbi Genetik Bölümü ekibinden Ebru KURUKAN,Cansu KARA , Fatma KUL ve özellikle Ali Osman ARSLAN'a,
Benden sabır ve desteğini esirgemeyen sevgili eşim Orhan EROĞLU ve ailesine,
Minik oğlum Osman'a,
Güler yüzlü Medine Annem ve Şükran Ablam'a,
Bana ve diğer tüm kardeşlerine maddi manevi desteğini esirgemeyen kıymetli ağabeyim İdris YAZGAN'a,
Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan çok kıymetli ağabeylerim Hüseyin YAZGAN, Hasan YAZGAN ve Avni YAZGAN'a,
Sevgili ablalarım Hatice, Hacire ve Hanife'ye,
Erkek kardeşlerim Ali, Osman ve Mustafa'ya,
Beni dünyaya getiren biricik fedakar annem Fatma YAZGAN ve rahmetli babam Mehmet YAZGAN'a teşekkürlerimi sunarım.*

Alime EROĞLU

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	ix
TERMİNOLOJİ	xi
ŞEKİLLER.....	xiii
TABLolar.....	xiv
GRAFİKLER.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Multipl Skleroz.....	3
2.1.1 MS için tipik belirtiler.....	4
2.1.2 MS'te hastalık seyri	5
2.1.3 MS patofizyolojisi	7
2.1.4 Tanı	7
2.1.5 MS tanı kriterleri	8
2.1.6 Tedavi	12
2.1.7 MS genetiği	12
2.2 Adiponektin.....	14
2.2.1 Adiponektinin keşfi.....	16
2.2.2 ADIPOQ Gen ve Protein yapısı	16
2.2.3 Adiponektinin moleküler yapısı ve multimerik formu	16
2.2.4 Adiponektinin biyolojik etkileri	17
2.2.5 Adiponektinde genetik varyasyonlar ve klinik ile ilişkileri	18

2.2.6 Adiponektin ve ilişkili hastalıklar.....	22
2.2.7 Adiponektin ve MS.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1 Gereç.....	24
3.1.1 Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri.....	24
3.1.2 Hastaların dışlanma kriterleri	24
3.2 Yöntem	24
3.2.1 Tam Kandan DNA İzolasyonu	25
3.2.2 Agaroze Jel Elektroforez	26
3.2.3 PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)	27
3.2.4 RT-PCR ın Kullanım Alanları.....	28
3.2.5 İzole edilen DNA örneklerinde RT-PCR ile mutasyonların çalışılması	28
3.2.6 ADIPOQ geni +276G>T (rs1501299) ve +45T>G (rs2241766) varyantlarının RT-PCR sonuçlarının değerlendirilmesi	31
4. BULGULAR.....	32
4.1 Kontrol ve Hasta Gruplarının Sonuçları ve İstatistiksel Analizleri.....	32
4.2 ADIPOQ +45T>G (rs2241766)	32
4.3 ADIPOQ +276G>T (rs1501299)	36
5. TARTIŞMA.....	43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR.....	48
EKLER.....	55
1. Etik Kurul Onayı	
ÖZGEÇMİŞ.....	57

SİMGELER ve KISALTMALAR

AdipoQ	: Adiponektin geni
ADIPOQ	: Adiponektin geni
ADP	: Adiponektin
AMPK	: Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase
ApM1	: Adipose Most Abundant Gene Transcript1
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DMA-ADP	: Düşük Molekül Ağırlıklı Adiponektin
dNTP	: Deoksinükleotid trifosfat
EAE	: Experimental Autoimmune Encephalomyelitis
EBV	: Epstein-Barr Virüs
gADP	: Küresel Adiponektin (globular ADP)
GBP28	: Gelatin Binding Protein
HapMap	: Haplotype Map
HLA	: Human Leucocyte Antigen
IgG	: İmmun Globulin G
IL	: İnterlökin
MHC	: Major Histocompatibility Complex
MR	: Manyetik Rezonans
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MS	: Multipl Skleroz
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
MetS	: Metabolik sendrom
µL	: Mikrolitre
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
OMA-ADP	: Orta Molekül Ağırlıklı Adiponektin
OMIM	: Online Mendelian Inheritance in Man
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PPARα	: Peroxisome Proliferator-activated Receptor α
PPMS	: Primer Progresif Multipl Skleroz

rpm	: Revolutions per minute
RPMS	: Relapsing Progresif Multipl Skleroz
RRMS	: Relaps ve Remisyonlarla giden Multipl Skleroz
RT-PCR	: Real-Time PCR
SNP	: Single Nukleotide Polymorphism
SPMS	: Sekonder Progresif Multipl Skleroz
SSS	: Santral Sinir Sistemi
T2DM	: Tip2 diyabet
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör- α
VDR	: Vitamin D Reseptör
wt	: Wild Type
YMA-ADP	: Yüksek Molekül Ağırlıklı Adiponektin

TERMİNOLOJİ

Allel: Aynı loküste bulunan bir genin alternatif biçimleri.

Amino asit: Proteinlerin yapı taşı olup, bir ucunda karboksil grubu, diğer ucunda amino grubu ve karakteristik bir yan grup taşıyan organik bileşik.

DNA: Bir organizmanın yapısından ve fonksiyonlarından sorumlu genleri içeren ve genetik bilginin kuşaktan kuşağa aktarılmasını sağlayan molekül.

Domain: Bir protein içerisinde bulunan ve kendine ait bir fonksiyona sahip bölüm.

Downstream: Referans noktanın 3' ucunda veya distalinde bulunan sekanslar.

Gen: Kalıtımın temel birimi olup özel bir polipeptid zincirinin aminoasit sırasını şifreleyen DNA parçası.

Genotip: Bir bireyin ya da bir hücrenin genetik içeriğinin tamamı ya da bir kısmı.

Haplotip: Bir grup halinde birlikte kalıtılan ve birbiriyle sıkı bağlantı gösteren bir aleller grubu.

Heterozigot: Diploid organizmalarda, aynı gen loküsünde birbirinden farklı iki allelin taşındığı durum.

Homolog: Genetik bakımdan biri diğerinin tamamlayıcısı olma durumu.

Homozigot: Diploid organizmalarda, herhangi bir gen loküsünde bulunan iki allelin birbiri ile özdeş olması durumu.

Kromozom: Ökaryot organizmalarda, üzerinde genlerin sıralandığı, DNA-Protein kompleksi.

Miyelopati: Omurilikteki herhangi bir yapı veya görev bozukluğu.

Nükleotid: Nükleik asit bazları, şeker ve fosfat gruplarından oluşan bileşik.

Paraparezi: Belden aşağı her iki bacağın kısmi felci.

PCR: Laboratuvar ortamında spesifik DNA dizilerinin primer denilen sentetik oligonükleotid diziler yardımıyla çoğaltılması işlemi.

Polimorfizm: Mendel kurallarına göre kalıtılmakla birlikte bir patolojiye neden olmayan ve toplumda %1'den daha sık görülen DNA dizisindeki nükleotid değişimleri.

Promoter: Gen transkripsiyonunu başlatan RNA polimerazın bağlandığı DNA bölgesi.

SNP: DNA dizisindeki tek nükleotidde meydana gelen değişiklikler.

Translasyon: RNA bazları biçiminde yazılmış olan genetik bilginin, aminoasit sırası biçimine dönüştürülmesi işlemi. Yani mRNA molekülünden ilgili proteinin oluşturulması işlemi.



ŞEKİLLER

Sekil

Sayfa

Şekil 2-1. Adiponektin kalbi koruyucu etkilerini kardiyomiyositlerdeki bir çok sinyal yolağını aktive ederek gösterir. [54].	15
Şekil 2-2. Adiponektin'in anti-aterojenik davranışının özeti	15
Şekil 2-3. AdipoQ geninin 3q27 üzerindeki lokalizasyonu	16
Şekil 2-4. Adiponektinin moleküler yapısı ve domainleri [53]	17
Şekil 3-1. Çalışmada kullanılan Roche LightCycler®480 Real-Time PCR	25
Şekil 3-2. Tam kandan DNA izolasyonu	26
Şekil 3-3. AgaroZ Jel Elektroforez UV Işık Altında Görüntü	27

TABLÖLAR

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 2-1. Schumacher kriterleri [20][21][22].....	8
Tablo 2-2. Poser tanı kriterleri [21][22][23].	9
Tablo 2-3. Mc Donald kriterleri [21][22][23].	10
Tablo 2-4. MHC dışında MS ile ilişkili bazı genler [47].	14
Tablo 2-5. AdipoQ'da en çok görülen polimorfizmlerin özellikleri	18
Tablo 2-6. Adiponektin genetik polimorfizmleri ile metabolik hastalıklar arasındaki ilişki [72]	21
Tablo 3-1. +276G>T (rs1501299) Reaksiyon karışımının hazırlanışı.....	29
Tablo 3-2. +276G>T (rs1501299) LightCycler®480 cihazının programlanması	29
Tablo 3-3. +45T>G (rs2241766) Reaksiyon karışımının hazırlanışı	30
Tablo 3-4. +45T>G (rs2241766) LightCycler®480 cihazının programlanması.....	30
Tablo 4-1. AdipoQ geninin +45T>G polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılımı	33
Tablo 4-2. AdipoQ +45T>G polimorfizminin vaka/kontrol gruplarında cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı	34
Tablo 4-3. AdipoQ +45T>G polimorfizminin cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı	36
Tablo 4-4. AdipoQ +276G>T polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılımı.....	37
Tablo 4-5. AdipoQ +276G>T polimorfizminin vaka/kontrol gruplarında cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı.....	38
Tablo 4-6. AdipoQ +276G>T polimorfizminin cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı.....	40
Tablo 4-7. Bizim çalışmamız ve diğer bazı çalışmaların karşılaştırılması	42

GRAFİKLER

Grafik

Sayfa

Grafik 4.1. AdipoQ geninin +45T>G polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılım grafiği	33
Grafik 4.2. AdipoQ +45T>G polimorfizminin vaka/kontrol gruplarında cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı grafiği	35
Grafik 4.3. AdipoQ +45T>G polimorfizminin cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı grafiği	36
Grafik 4.4. AdipoQ +276G>T polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılımı grafiği	37
Grafik 4.5. AdipoQ +276G>T polimorfizminin vaka/kontrol gruplarında cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı grafiği	39
Grafik 4.6. AdipoQ +276G>T polimorfizminin cinsiyete göre genotip dağılımı	40

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl Skleroz (MS) (OMIM 126200) sıklıkla genç erişkinleri etkileyen, merkezi sinir sisteminin (MSS) inflamatuvar demiyelinizan bir hastalığıdır. Sebebi tam olarak bilinmese de, temelde genetik yatkınlık olan genç erişkinlerde çevresel faktörlerin de etkisi ile otoimmün mekanizmalarla gerçekleştiği düşünülmektedir. MS genellikle ataklarla seyreden ve ataklar sonrası sekel kalması veya progresif dejeneratif bir sürecin gelişmesi nedeniyle hastalarda yaşam kalitesini büyük oranda kısıtlayan ve progresif özürlülüğe yol açabilen bir hastalıktır [1].

MS hastalarında otonom sinir sisteminin etkilenmesi mesane fonksiyon bozukluğu, cinsel işlev bozuklukları, mide barsak şikayetleri, kardiyovasküler bozukluklar gibi otonomik bulgulara neden olmaktadır. Uyuşukluk, algılama bozuklukları, iğnelenme hissi sık rastlanılan duysal belirtilerdir [2].

MS ilk olarak 1972’de MHC ile ilişkilendirilmiş daha sonraları HLA-DRB1 sınıf II geninde spesifik alleller ile ilişkilendirilmiştir [3]. Yapılan ilk Genom Wide Association (GWAS) Çalışmasında IL7R (interlökin) ve IL2RA varyantları ile ilişkisi tanımlanmıştır [4]. IL geninin bir çok alt varyasyonu MS üzerine yapılan çalışmalarda geniş yer tutmaktadır [4]. MS’te D vitamininin etkili olabileceği ihtimali araştırmacıları VDR gen polimorfizm çalışmalarına yönlendirmiş ve farklı toplumlarda farklı sonuçlara ulaşılmıştır [5][6][7]. Adipositokinlerden olan adiponektinin antiinflamatuvar etkisi MS ile ilişkilendirilmiş ve MS hastalarında kan serumunda ve beyin omurilik sıvısında (BOS) adiponektin hormon seviyeleri çalışılmıştır. MS’te adiponektin çalışmaları oldukça yenidir ve bu konuda yeterli sayıda ve kapsamda kaynak bulunmamaktadır.

Adiponektin, adipoz dokudan salgılanan protein yapılı bir adipositokindir. Adiponektin vücutta insülin duyarlılığını artırır [8]. Gıda alımı ve enerji tüketiminin düzenlenmesi rolünün yanında antiinflamatuvar, antiaterojenik ve antidiyabetik özellikleri de tanımlanmıştır [9].

Adiponektin hormon seviyesi MS’te plazmada [1] ve beyin omurilik sıvısında [10] çalışılmıştır. MS’in kronik inflamatuvar bir hastalık olması ve Adiponektin’in antiinflamatuvar özelliği bizim çalışmamızın yolunu açmıştır. Biz de AdipoQ geninin en yaygın görülen ve üzerinde en çok çalışılan +45T>G ve +276G>T varyantlarının MS’e olabilecek muhtemel etkilerinin araştırılmasını amaçladık.

Çalışmamızla birlikte ilk defa MS'li bireylerde +45T>G ve +276G>T polimorfizmlerinin muhtemel etkilerini araştırmış olup aynı zamanda +45T>G ve +276G>T polimorfizmlerinin toplumumuzdaki dağılımını belirlemeye çalıştık.

Araştırmamızın sonucunda MS'te AdipoQ geninin +45T>G ve +276G>T tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) popülasyonumuza özgü genotipik dağılımlarını belirleyerek bu sonuçların hasta ve kontrol grubu arasındaki ilişkilerini istatistiksel olarak hesapladık. İstatistik hesaplamalar ile MS'te ilgili polimorfizmlerin muhtemel etkilerini tespit etmeyi hedefledik.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Multipl Skleroz

Multipl Skleroz (OMIM 126200), genetik eğilimi olan bireylerde kendi antijenlerine karşı otoimmün cevap geliştiren, ilerleyici nöral dejenerasyon ile karakterize Merkezi Sinir Sistemi (MSS)'nin multifokal demiyelinizan bir hastalığıdır [3]. MS beyaz ırkta, kadınlarda ve sosyo-kültürel düzeyi iyi olan kişilerde daha çok görülür. Ilıman ve soğuk iklim kuşağı da MS gelişiminde etkilidir [3].

İlk tanımlamalar 1800'lü yıllara kadar uzanmaktadır. Hastalıkla ilgili ilk bildiri 1824'te Olivier [11] tarafından yapılmış, yaşayan hastada ilk tanı Friedrich Theodor Von Frerichs tarafından konulmuştur [11]. Hastalığın klasik tanımı ilk olarak Jean Martin Charcot tarafından yapılmıştır [11]. Charcot [11], Carswell [11], Cruveilhier ve ark. [11] MS'in klinik ve patolojik özelliklerini tanımlamasının üzerinden 100 yıldan daha fazla zaman geçmiş olmasına rağmen, bu hastalığın hem etiyolojisi hem de patogenezi halen kesin olarak bilinmemektedir [11][12].

Patolojik olarak MSS'de akson demiyelinizasyonu ve oligodendrosit kaybıyla seyreden inflamasyon bölgeleri vardır. Akson hasarı hastalığın erken seyrinde vardır ve hastalık ilerledikçe hastalığın baskın özelliği haline gelir. Hastalığın en önemli patolojik nedeni olarak akson hasarı öne sürülmüştür [12].

Hem genetik hem de diyet ve obeziteyi içeren çevresel faktörlerin MS riskini arttırdığı ve çoğu MS hastasında yalnızca birkaç özelliğin ortak olduğu gösterilmiştir [13]. İnflamasyon varlığı, demiyelinizasyon, akson hasarı, Epstein-Barr Virüs (EBV) hikayesi ve serebrospinal sıvıda spesifik olmayan oligoklonal IgG (immünglobulin G) bantlarının bulunması MS hastalarının %95'inde görülen özelliklerdir. Bununla birlikte MS'ten sorumlu tek hedef bir antijen, spesifik bir tanı testi ve hastalık aktivitesini gösteren güvenilir biyomarkırlar henüz tam olarak tanımlanmış değildir. MS hastalığı klinik özellikleri, genetiği, patolojisi ve tedaviye yanıtı ile ilgili olarak çok geniş ve yaygın bir heterojeniteye sahiptir [11]. "Atlas of MS" veri tabanına göre dünya çapında 2.5 milyon MS hastası bulunmaktadır [14].

2.1.1 MS için tipik belirtiler

Klinik semptomlar nörolojik semptomların bulunduğu tarafa göre değişir. İnflamasyon hücreleri kan beyin bariyerini geçerek nöronlar üzerinde miyelin kılıfa invaze olup demiyelinizasyon ve ödeme neden olurlar [3]. MS hastalığında en sık karşılaşılan belirtiler duyuşal belirtilerdir [12][15][17].

2.1.1.1 Duyusal belirtiler

MS hastaları tarafından en çok tanımlanan belirtiler uyuşukluk, algılama bozuklukları, iğnelenme ve zaman zaman yanmalar şeklinde tanımlanan rahatsızlık hissi, ağrı ve nöropatik ağrıdır [11][12][15].

2.1.1.2 Motor belirtiler

Motor belirtiler ekstremitelerde kuvvet kaybı, parezi/pleji durumu ve güçsüzlüktür. Hastalarda birinci motor nöron tipi alt ekstremitelere ait giderek artan kuvvetsizlik ve sertleşme, progresif duruş bozukluğu, paraparezi sık izlenen şikayetlerdir [15][17][21].

2.1.1.3 Görme ile ilgili belirtiler

Optik nörit, MS'te başlangıç belirtileri arasında sık görülebilen bir belirti olup, görme bulanıklığı ve ağrı şikayetleri ile başlar. Bu durum etkilenen gözde total görme kaybına dek ilerleyebilir [15][16][17].

2.1.1.4 Spinal kord belirtileri

MS tanısı alan hastaların çoğunda spinal kord tutulumuna bağılı bulgulara rastlanır. Her iki alt ekstremitede artmış tonusla birlikte spastik paraparezi, artmış tendon refleksleri ve iki taraflı plantar ekstansör cevap ve mesaneye ait fonksiyon bozuklukları sık rastlanılan bulgulardır [11][12] [15].

2.1.1.5 Hafıza kaybı

MS'te bozulmuş kognitif işlemler nadir değildir. Sıklıkla hafıza problemleri ve dikkatsizlik görülür. Hastalarda konuşma sırasında uygunsuz gülme ve yersiz ağlama gibi duygusal patlamalar görülebilir [15][17].

2.1.1.6 Depresyon

Anksiyete ve depresyon MS belirtilerine öncülük edebilir [15][17].

2.1.1.7 Seksüel disfonksiyon

MS'li kadın ve erkeklerde seksüel disfonksiyon sık görülür. Erkeklerde azalmış penil his nedeniyle ereksiyon sağlama ya da sürdürmede güçlük görülebilir. Bazılarında orgazm sorunlarına rastlanır. MS'li kadınlarda ise alt ekstremitelerde spastisite, vajinal lubrikasyon olmaması ve vajinal his azalması şeklinde seksüel disfonksiyon bulguları görülür [15][17].

2.1.1.8 Yorgunluk

Hastaların çoğunda yüksek sıcaklıkta tetiklenen ani ve şiddetli başlayan yorgunluk görülebilir. Hastalar çok basit işleri bile yapamayabilirler [15][17].

2.1.1.9 Ağrı

MS'te ağrı nadiren de olsa hastalığın rahatsız edici başka bir bulgusudur. Hastaların %80'inde ağrılı kas spazmlarına, aralıklı veya sürekli ekstremitte ağrılarına ya da omurga ağrılarına rastlanır [15][17].

2.1.1.10 Konstipasyon ve diyare

Hastaların bir kısmında otonom tutulumuna bağlı konstipasyon veya diyare görülebilir. Sifinkter bozuklukları ile beraber olabilir. Konstipasyon, MS hastalarında çok sık karşılaşılan bir durumdur. Konstipasyon nedenleri arasında pelvik duvar spastisitesi, gastro-kolik refleks azalması, su içiminin azalması, motilite azlığı, karın kaslarında güçsüzlük ve kullanılan ilaçlar sayılabilir [16][17].

2.1.2 MS'te hastalık seyri

MS santral sinir sisteminde pek çok yeri farklı ya da eşzamanlı olarak etkileyebilen bir hastalıktır. Klinik olarak iki form gözlenir: relapsing form (belirgin farklı ataklar ve aralarında klinik stabilite) ya da progresif form (yavaş bir şekilde nörolojik defisitlerde artış) [15][17].

2.1.2.1 Relaps ve Remisyonlar ile Giden MS (RRMS)

MS hastalarının %80-85'i bu tipte başlar. Akut ataklar halinde seyreder. Tam ya da tama yakın düzelmeler mevcuttur. Tipik MS olgularında ilk atak tam veya tama yakın iyileşir. Ataklar genelde saatler ve günler içerisinde oluşur. İyileşme birkaç haftadan birkaç aya kadar uzayabilir [15][17].

2.1.2.2 Primer Progresif MS (PPMS)

Atak olmaksızın sürekli progresyon izlenir. Bir yıl içinde sinsi başlangıçlı, progresif seyir olur. Tüm MS'lilerin %15'ini kapsar. Diğer MS türlerinden çok farklı bir patogeneze söz konusudur. Beyinde lezyonlar azdır. Omurilikte atrofi ve miyelopati ön plandadır, genellikle hastalığa hakim olan tablo paraparezidir [15][17].

2.1.2.3 Sekonder Progresif MS (SPMS)

Ortalama 5-6 yıllık erken dönem sonrası ikincil ilerleyici dönemdir. Atak sayısı bu dönemde azalır. Bu dönemde düzelmeler azalır, nörodejenerasyon ön plandadır [15][17].

2.1.2.4 Relapsing Progresif MS (RPMS)

MS'lerin %5'ini bu tip oluşturur. Ataklar halinde seyreder ve temelde sürekli bir progresyon söz konusudur. RPMS, MS'in en nadir görülen grubudur [15][17].

2.1.2.5 Benign MS

Hastaların %20'sinde iyi huylu gidiş söz konusudur. Bu hastalar MS nedeni ile kısıtlanmazlar. Yalnızca hafif belirtiler ile tüm hayatlarını geçirebilirler. Ortalama ilk beş yılı iyi huylu geçiren hastaların gidişlerinde sonraki yıllar için iyi gidiş beklentisi yüksek orandadır [15][17].

2.1.2.6 Spinal tutulumla giden şekli

Spinal tutulumla giden formda başlangıçtan beri spinal kord tutulumuna ait belirtiler mevcut olup daha çok ilerleyici gidiş söz konusudur [15][17].

2.1.2.7 Nöromyelitis Optika (Devic sendromu)

Akut transvers miyelit ve eşzamanlı veya kısa süre sonra takip eden optik nörit ile ortaya çıkan bir tablodur. Pek çok hastada MS'ten ayırt edilemeyecek relaps ve remisyonlarla giden bir şekli olabileceği gibi omurilik bulguları kalıcı olabilir [15][17].

2.1.2.8 Marburg şekli

MS'e ait bu ender ve malign form bilinç bozuklukları, ağır görme kaybı, disartri, disfaji, solunum yetmezliğine ait ilerleme ile ortaya çıkan; akut dissemine ensefalomyelitten ayrımı oldukça güç olan bir formdur [14][17].

2.1.3 MS patofizyolojisi

MS lezyonlarının histopatolojisinde, beyin ve spinal kordda ak maddenin T ve B lenfositlerince fokal infiltrasyonu söz konusudur. MS'te T lenfositlerin, myeline karşı reaksiyon gösterdikleri ve mikroglialar ile makrofajları aktive edip, myelin kılıfı hasarlayarak sinir iletimini bozdukları bilinmektedir. Ancak bunun primer bir reaksiyon mu olduğu, yoksa hastalığın seyri boyunca ortaya çıkan bir epifenomen mi olduğu bilinmemektedir. Otokaktif T hücrelerinin patogenezi sürdürdükleri çok muhtemel gözükse de, bunların santral sinir sistemi (SSS)'ne migrasyonlarını ve sonraki aktivasyonlarını hangi faktörün veya faktörlerin tetiklediği açık değildir [17].

2.1.4 Tanı

Bugün MS ile uğraşan tüm araştırmacılar ve klinisyenler Charcot'un klinikopatolojik tanımının hala altın standart olduğunu düşünmektedir: "MS, santral sinir sisteminin multifokal özellik gösteren, tekrarlayan ataklar veya progresif gidiş ile seyreden inflamatuvar ve demiyelinizan hastalığıdır". MS, esas olarak klinik bir tanıdır. Semptom, objektif bulgular, hastalığın klinik seyri dikkate alınır. MRG, BOS ve nörofizyolojik testler [18] yardımcı tanı yöntemleridir. MS tanısında kan biyokimyasının rolü yoktur. Kesin tanı koyduracak patogonomik bir test bulunmamaktadır [19].

2.1.5 MS tanı kriterleri

İlk resmi çalışmalar 1965 yılında Schumacher ve arkadaşları tarafından yapıldı (Tablo 2-1) [19]. Hikaye ve muayene bulgularına dayandırılan kriterlerde lezyonların zaman ve alan içinde dağılımı dikkate alınarak hastalar klinik açıdan kesin ve olası olarak sınıflandırılır. 1970-1980 yıllarında ise, geliştirilen teknoloji ile klinik semptom ve bulgu vermeyen sessiz plakların varlığı görsel, işitsel, somatosensoriyal uyarılmış potansiyellerin incelenmesi ile ortaya konulmuştur. 1970'li yıllarda bilgisayarlı tomografi ile başlayan görüntüleme yöntemleri bugün özellikle erken tanıda altın standart olan MRG ile tanının vazgeçilmezlerinden olmuştur. Hem tanı, hem de ayırıcı tanıda MRG kadar katkı sağlayan bir diğer yöntem BOS incelemesidir [17]. BOS incelemesi MS tanısı düşünülen hastalarda özellikle IgG'ye ait oligoklonal bant varlığını gösterdiği için çok önemlidir [20].

Tablo 2-1. Schumacher kriterleri [20][21][22]

Klinik olarak kesin tanıli multipl skleroz	
1	SSS'de gözlenen objektif fonksiyon kaybı bulguları; olağandışı semptomlar
2	2 ya da daha fazla bölgede hasar bulgusu
3	Beyaz cevherin çoğunda gözlenen hasar bulguları
4	(a) En az 6 ay arayla en az 24 saat süren iki ya da daha fazla atak (b) 6 ay boyunca oldukça yavaş ilerleyen klinik seyir
5	Başlangıç yaşının 10 ila 50 arasında olması
6	Nörolog tarafından bulguların başka bir hastalığa daha uygun bulunamaması

1983 yılında Poser başkanlığında toplanan komite MRG, nörofizyolojik testler ve BOS incelemesini de değerlendirerek, MS kriterlerini yeniden tanımladı (Tablo 2-2) [20]. Schumacher kriterlerinde 50 yaş sınırı, Poser kriterlerine göre 59'a yükseltildi. Ataklar hikayeye, klinik bulgular ise muayenede saptanan bulgulara dayandırılmaktadır [19][20].

Tablo 2-2. Poser tanı kriterleri [21][22][23].

Klinik olarak kesin MS tanısı	
1	İki atak ile birlikte farklı iki klinik lezyon
2	İki atak ile birlikte, biri klinik biri paraklinik farklı iki lezyon
Laboratuvar destekli MS tanısı	
1	İki atak ile birlikte klinik ya da paraklinik bir lezyon, ve BOS'ta oligoklonal bant veya IgG varlığı
2	Bir atak ile birlikte farklı iki klinik lezyon, BOS'ta oligoklonal bant veya IgG varlığı
3	Bir atak ile birlikte, klinik bir lezyon ve paraklinik farklı bir lezyon, ve BOS'ta oligoklonal bant veya IgG varlığı
Klinik olası MS	
1	İki atak ile birlikte bir klinik lezyon
2	Bir atak ile birlikte iki farklı klinik lezyon
3	Bir atak ile birlikte, klinik bir lezyon ve paraklinik farklı bir lezyon
Laboratuvar destekli olası MS	
1	İki atak ile birlikte BOS'ta oligoklonal bant veya IgG varlığı

Not : Paraklinik: BT veya MR'da gözlenen, MS olasılığı hissettiren en az iki adet oligoklonal bant varlığı.

Poser kriterlerinin MRG ile desteklenmesi sonucu ortaya konulan Mc Donald kriterleri tanıya daha özel bir yaklaşım sunmuştur [24]. 2011 yılında Chris H. Polman ve arkadaşları tarafından revize edilmiş Mc Donald Kriterleri Tablo 2-3'te verilmiştir [25].

Tablo 2-3. Mc Donald kriterleri [21][22][23].

Klinik (Atak)	Muayene bulgusu	MS tanısı için gerekli ek veri
≥ 2	≥ 2	Ek veriye gerek yok
≥ 2	1	MR’da değişik yerleşimli lezyonlar veya BOS (+) ve ≥ 2 MS ile uyumlu MR lezyonu veya yeni farklı alan ile uyumlu atağı beklemek
1	≥ 2	MR’da değişik zamanlı lezyonlar veya yeni atağı beklemek
1	1	MR’da değişik yerleşimli lezyonlar veya ≥ 2 MS ile uyumlu MR lezyonu ve BOS (+) ile birlikte MR da zamanda yayılımı göstermek veya yeni atağı beklemek
Başlangıçtan itibaren progressif seyir		Yeni atağı beklemek BOS (+) ve MR’da değişik yerleşimli lezyonlar (MR kanıtı: ≥ 9 beyin lezyonu; Veya ≥ 2 spinal kord lezyonu; Veya 4-8 beyin ve 1 spinal kord lezyonu; Veya (+) VEP ve MR’da 4-8 beyin lezyonu; Veya (+) VEP ve MR’da < 4 beyin + 1 spinal lezyon Ve MR’da değişik zamanlı lezyonların gözlenmesi veya bir yıl süre ile klinik ilerlemenin sürmesi

Zamanda ve mekanda yayılımı saptamak için MR kriterleri

	Mekanda yayılım	Zamanda yayılım
McDonald 2001	Aşağıda tariflenen dört kriterin üçünün pozitif olması 1 gadalinyum tutan lezyon veya 9 T2 hiperintens lezyon ≥ 1 juxtakortikal lezyon ≥ 3 periventriküler lezyon ≥ 1 infratentoriyal lezyon Not: 1 spinal lezyon, beyin lezyonlarından birinin yerine geçer (spinal lezyon: $> 3\text{mm}$, < 2 vertebra segment; enine kısmi spinal tutulum)	İlk klinik ataktan en az 3 ay sonra yapılan MR'da atakla ilişkisiz yerleşimli Gd (+) lezyon; Bu MR'da Gd (+) lezyon yoksa, en az 3 ay sonra yinelenen yeni MR'da Gd (+) lezyon/yeni T2 lezyon; MR ilk atağı izleyen 3 ay içerisinde yapılmışsa, ikincisi en az 3 ay sonra yapılmak üzere yukarıdaki MR kriterlerine uyum
McDonald 2005	Aşağıda tariflenen dört kriterin üçünün pozitif olması 1 Gadolinium pozitif (Gd (+)) lezyon veya 9 T2 hiperintens lezyon ≥ 1 juxtakortikal lezyon ≥ 3 periventriküler lezyon ≥ 1 infratentoriyal lezyon ya da spinal kord lezyonu Not: Spinal lezyon infratentoriyel lezyon olarak kabul edilir. Tüm spinal lezyonlar toplam lezyon sayısı içerisinde sayılır	İlk klinik ataktan 3 ay sonra yapılan MR'da atakla ilişkisiz yerleşimli yeni Gd (+) lezyon; Ya da ilk MR'dan bir ay sonra yinelenen MR'da yeni T2 lezyon
Yeni kriterler	Aşağıda tariflenen alanların ≥ 2 sinde ≥ 1 lezyon: periventriküleri juxtakortikal, posterior fossa, spinal cord	İlk MR'dan sonra yapılan (süre kısıtlaması yok) takip MR'larında yeni T2 lezyon saptanması

Tanıda görüntüleme olarak beyin ve spinal kordun MRG incelemesi; diğer tanıların dışlanması, lezyonların yerleşimini ve niteliğini göstermesi açısından kolaylık sağlamış ve yaygın olarak günlük kullanıma girmiştir [13].

A.İ.B.Ü Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji A.D'da bizim hastalarımıza revize edilmiş McDonald Kriterleri göz önünde bulundurularak tanı konulmuştur.

2.1.6 Tedavi

MS'in semptomatik tedavisi, immün modülasyon ve immün baskılama stratejilerine dayalı olarak, 1980'in sonlarından bu yana uygulanmaktadır.

Multipl Skleroz hastalığının bilinen tam iyileştirici ve önleyici bir tedavisi yoktur. Uygulanan tedaviler atak sıklığını azaltmaya, ataklardan kaynaklanan  z rl l ğ  ve ilerleyici kötüleşmeyi engellemeye yöneliktir [26][27].

2.1.7 MS genetiğ 

MS demiyelinizasyon ve akson kaybı ile sonuçlanan nörolojik kompleks bir hastalıktır. Genetik,  evresel (daha çok viral) ve immünolojik faktörleri içeren multifaktöriyel özellik gösterir. Enfeksiyonlar, D vitamini ve sosyal alışkanlıklar MS ile en çok ilişkilendirilen çevresel faktörlerdir [28][29].

Kutuplara yaklaştıkça MS prevelansının artması, düşük D vitamininin MS gelişiminde etkili olabileceğ  ihtimalini ortaya çıkarmıştır [30]. D vitamini reseptör geni üzerinde yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda ilişki bulunamazken [31], bazılarında D Vitaminin hastalığı karşı koruyucu olduğu sonuçlarına ulaşılmıştır [32]. Bazı çalışmalarda ise VDR-HLA (Gen- evre) etkileşiminden bahsedilmiştir [33]. MS'te çevresel faktörlerden üzerinde durulan önemli konulardan biri de EBV hikayesidir. Bu virüs Herpesvirüs ailesinden olup çift zincirli DNA virüsüdür. MS ile olan ilişkisinden ilk olarak 1979'da bahsedilmiştir [34]. Bir çok çalışmada EBV hikayesi MS ile anlamlı olarak ilişkilendirilmiştir [35][36].

Kısmen veya tamamen genetik faktörlerin rol oynadığı hastalıklar tek gen hastalıkları, kromozom hastalıkları ve multifaktöriyel-poligenik hastalıklar olarak ayrılabilir. Tek gen hastalıkları, bir tek genin mutasyonu sonucu ortaya çıkan dominant ya da resesif kalıtım gösteren nadir hastalıklardır. Bunlara  rnek olarak orak hücreli anemi, musküler distrofi, vs. verilebilir.

Kromozom hastalıklarında kromozom sayısında veya yapısında değişiklik olmuştur. 21. kromozomun fazlalığından kaynaklanan Down sendromu kromozom hastalıklarının tipik örneğidir. Multifaktöriyel-poligenik hastalıklar çevresel etkiler ve çeşitli genlerin interaksiyonu sonucu gelişen hastalıklardır. MS hastalığı da multifaktöriyel-poligenik hastalık grubuna dahildir.

MS popülasyonunda genetik taramalar belli bir yatkınlık loküsü ortaya çıkarmada başarısız olmuştur. Bu da MS'in poligenik bir hastalık olup, her bir genin kısmi etkisi altında oluştuğunu göstermiştir [37].

Hermann Eichhorst MS'in ailesel yatkınlık tanımını 19. yy'ın sonlarında yapmışken neredeyse bir asır sonra popülasyon temelli çalışmalar MS hastalığında yakın akrabaların da yüksek risk altında olduğunu telaffuz etmeye başlamıştır [38]. MS'te genetik etki Eichhorst'un ardından ilk olarak 1970'lerde tanımlanmıştır. Davenport Kuzey Avrupalıların, Asya ve Afrikalılara göre daha yüksek MS frekansına sahip olduklarını göstermiştir [38].

Genetik epidemiyolojik çalışmalar genetik yatkınlığın MS'te etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca ailesel agregasyon çalışmaları da MS'in ortaya çıkmasında MS'li yakını olan kişilerin, özellikle de birinci dereceden akraba ise, daha yüksek risk taşıdıklarını göstermişlerdir [39]. Tek yumurta ikizlerinin 100 kat daha fazla MS geliştirme riski taşıdıkları belirtilmiştir [40]. Kadınlarda erkeklere göre daha çok görülmesine rağmen X kromozomunda MS ile ilişkili gen bulunamamıştır [41].

İlk olarak HLA (Human Leukocyte Antigen)-DR2 bölgesi ile güçlü ilişki bulunmuştur [42][43]. Daha sonra HLA DRB1*15:01 alleli ile MS'in klinik süreci ilişkilendirilmiştir [38][42][44]. HLA ile ilgili yapılan son çalışmalarda HLA bölgesinde üç farklı loküste beş allel tanımlanmıştır. Bunlar; HLA-DRB1*1501-*0301- *0801, HLA-A*0201 ve HLA-DPB1*0301'dir [45]. Avrupalılarda HLA sınıf II DRB1*1501-DQB1*06:02 bugüne kadar en etkili risk faktörü olarak gösterilmiştir [30]. MHC (Major Histocompatibility Complex) dışında MS ile ilişkili genlerden bazıları Tablo 2-4'te verilmiştir. VDR gen polimorfizmleri MS'te genetik etkiyi belirleme adına yapılan en önemli çalışmalardandır. VDR gen polimorfizmleri bir çok toplumda çalışılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir [46]. VDR-HLA (Gen-Çevre) etkileşimi de üzerinde durulan çalışmalardır [33]. Proinflamatuvar sitokinlerden olan IL1, IL4, IL6, TNF α ve anti-inflamatuvar sitokinlerden olan IL10 ve IL4 ile hastalığın ilerleyişi arasında korelasyon bulunmuştur [47]. 2013'te yapılan son Genom-Wide Association (GWAS) Çalışmasında MS'le ilişkili 48 yeni gen bulunmuş ve yapılan önceki çalışmalarla birlikte MS'te risk oluşturabilecek alelik polimorfizm sayısı 110 olarak yayınlanmıştır [48].

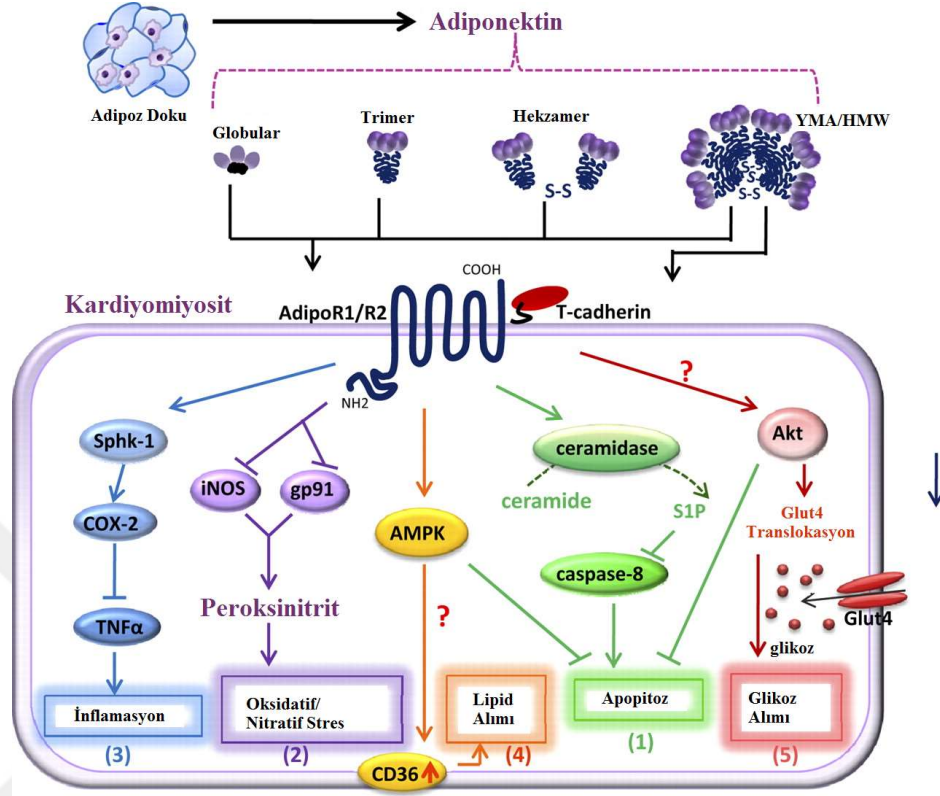
Tablo 2-4. MHC dışında MS ile ilişkili bazı genler [47].

Gen ID	Gen	Yerleşim
3559	IL2RA	10p15
3575	IL7R	5p13
7124	TNFA	6p21
3554	IL1RA	2q12
348	APOE	19q13
965	CD58	1p13
934	CD24	6q21

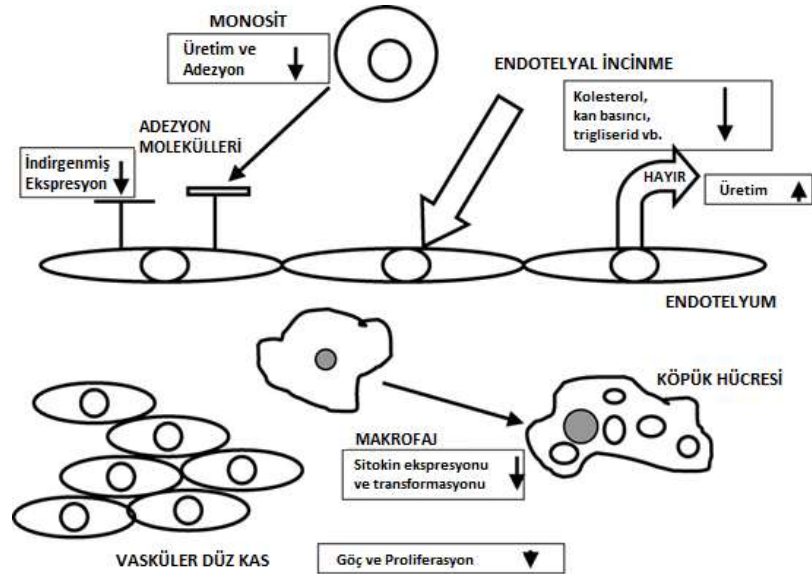
2.2 Adiponektin

Adiponektin adipoz doku kaynaklı bir plazma glikoproteinidir [49]. Son yıllardaki çalışmalar gösteriyor ki, adipoz doku yalnızca yağların depo edildiği atıl bir yer değil aynı zamanda enerji metabolizmasının kontrolü için inflamasyon, endokrin ve metabolik sinyallerin birleşmesinde rol oynayan önemli metabolik bir dokudur [50]. Bu doku adipositokin olarak bilinen bir çok biyoaktif madde salgılar. Bu güne kadar 50'den fazla adipositokin belirlenmiştir [51]. Bunlardan en önemlileri Leptin, Tümör Nekrozis Faktör (TNF- α), Plazminojen Aktivator İnhibitor Tip 1 (PAI-1), Adipsin, Rezistin ve Adiponektindir [50][52].

Adiponektin (ADP), plazma proteinin %0,01'ini oluşturan, yakın zamanda keşfedilmiş bir proteindir. Bilinen adipositokinlerin içerisinde adiponektin, dolaşımda en yüksek konsantrasyonda olanıdır. Adiponektin yapısal olarak kompleman 1q ailesine aittir ve sitokinlerin TNF- α ailesinin de yapısal homologudur [52][53]. Adiponektin beyaz adipoz dokudan yüksek oranda sentezlenen kollajen benzeri proteindir, adiposit farklılaşması sırasında indüklenir ve serumda oldukça yüksek konsantrasyonda bulunur [50]. Gıda alımı ve enerji tüketiminin düzenlenmesi rolünün yanında antiinflamatuvar (Şekil 2-1), antiaterojenik (Şekil 2-2) ve antidiyabetik özellikleri de tanımlanmıştır [8]. Adiponektin obezite ile de ilişkilendirilmiştir [9].



Şekil 2-1. Adiponektin kalbi koruyucu etkilerini kardiyomiyositlerdeki bir çok sinyal yolağını aktive ederek gösterir. 1) Anti-apoptotik etkisi, 2) Oksidatif-Nitratif stres aktivitesi, 3) Anti-inflamatuar etkisi, 4) Lipid alımı, 5) Glikoz alımı [54].



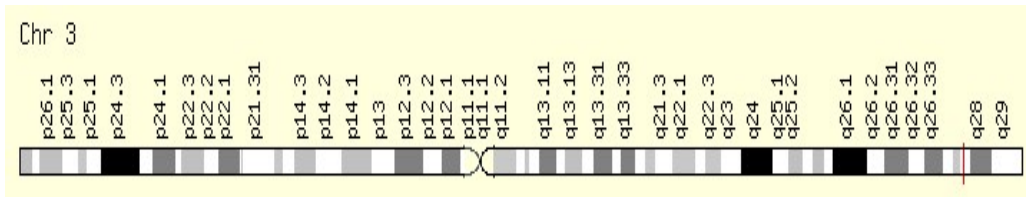
Şekil 2-2. Adiponektin'in anti-aterojenik davranışının özeti

2.2.1 Adiponektinin keşfi

Adiponektin 1995-1996'da ilk kez tanımlandıktan sonra üzerinde en yoğun çalışılan adipositokin olmuştur. Dört araştırmacı grup tarafından birbirinden bağımsız olarak keşfedilmiştir. Maeda ve arkadaşları [55] apM1'in cDNA'sını Büyük Ölçekli Rastgele Sekanslama (large-scale random sequencing) yöntemini kullanarak insan adipoz dokusundan izole ettiler. Eş zamanlı olarak Scherer ve grubu özellikle adipositlerde üretilen ve adiposit farklılaşması sırasında 100 kat artmış mRNA'yı, 30 kDa (ACRP30) adiposit kompleman ilişkili, 30 kDa'luk salgılayıcı proteini gösteren ilk grup oldu [9]. Paralel olarak, apM1 tarafından kodlanan bir ürün olan 28 kDa'luk jelatin bağlayıcı protein (GBP28), insan plazmasından izole edildi [9]. Diğer yandan dördüncü grup olan Hu ve arkadaşları, fare hücre hattından yeni adipoz cDNA izole ettiler ve onu AdipoQ olarak adlandırdılar [9].

2.2.2 ADIPOQ Gen ve Protein yapısı

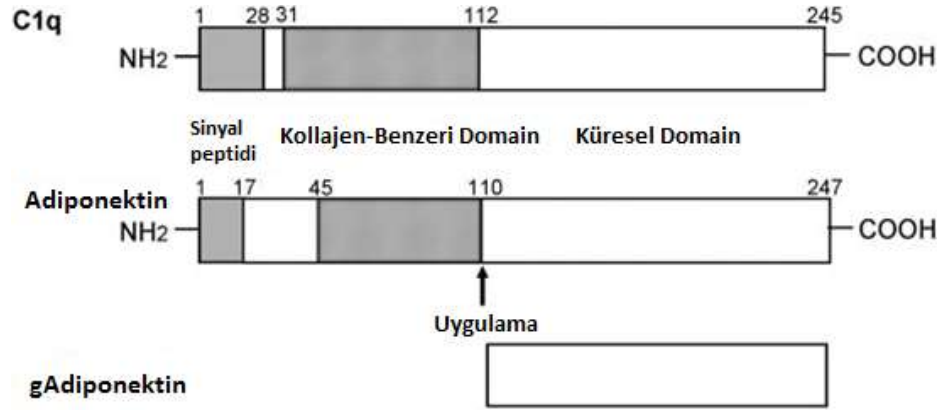
AdipoQ geni 3q27 üzerinde lokalizedir (Şekil 2-3), 3 ekzon 2 intron içerir, 15.8 kb uzunluğunda, moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 26 kDa olan 244 aminoasitlik protein kodlar. AdipoQ geninin bugüne kadar üç izoformu tanımlanmıştır. AdipoQ geninin promotor bölgesi up-stream dizileri içerir, intron 1 de 5'-untranslated bölge (5'UTR) ve önemli dizi motifleri bulunur [9][56][57].



Şekil 2-3. AdipoQ geninin 3q27 üzerindeki lokalizasyonu

2.2.3 Adiponektinin moleküler yapısı ve multimerik formu

Adiponektin yapısal olarak kompleman 1q (C1q) ailesine üyedir [53]. Adiponektin plazmada full-length (tam-boy) ya da globüler adiponektin (gADP) şeklinde bulunabilir. Plazmadaki ADP'nin neredeyse tamamı full-length formdadır [53]. Adiponektin kanda polimer olarak dolaşır, ki bunlar trimer, hekzamer ve yüksek moleküler ağırlıklı (HMV) izoformlardır (Şekil 2-4) [51][58].



Şekil 2-4. Adiponektinin moleküler yapısı ve domainleri [53]

2.2.4 Adiponektinin biyolojik etkileri

İnsanlarda plazmada adiponektinin ortalama seviyesi 3 ile 30 $\mu\text{g/ml}$ arasında değişir [51], yaş ile birlikte artar ve erkeklere göre kadınlarda daha yüksektir [8]. Düşük adiponektin seviyesi ($<4\mu\text{g/ml}$) obeziteye bağlı metabolik ve kardiyovasküler hastalıklar insülin direnci, tip 2 diyabet, hipertansiyon ve koroner arter hastalıkları [59][60] ile ilişkilendirilmiştir. Adiponektin metabolik düzenlenme ve enerji dengesi üzerinde önemli etkiler gösterir [51]. Adiponektinin beyin omurilik sıvısı (BOS) konsantrasyonları serumdakinin %1-4'ü olarak tespit edilmiştir [61]. Obez kişilerde bu hormon salgısının azaldığı görülmektedir [8].

Adiponektinin farklı izoformları farklı yolları aktive eder ve farklı işlevlere sahiptir. Waki ve arkadaşları YMA-ADP (yüksek moleküler ağırlıklı adiponektin)'in hepatositlerde protein kinazı aktive ettiğini bildirmişlerdir [58]. Başka araştırmacılar ise DMA-ADP (düşük moleküler ağırlıklı adiponektin)'in kas dokularında protein kinaz yollarını ve YMA ve OMA-ADP (ortamoleküler ağırlıklı adiponektin)'in Nükleer Faktör yollarını aktive ettiğini söylemektedirler [62].

Adiponektin biyolojik aktivitesini iki adiponektin reseptörü (adipoRs)'ne bağlanarak gösterir, bunlar adipoR1 ve adipoR2 dir. AdipoR1 -globüler adiponektin (gAd) için yüksek bağımlı bir reseptördür- iskelet kasında en çok eksprese olandır. AdipoR2 - hem globüler hemde full-length adiponektin için orta bağımlı bir reseptör- ağırlıklı olarak karaciğerde eksprese olur [51][9]. AdipoR1 birçok yerde eksprese olur ve liganda yüksek afinitesi vardır, bunun yanında AdipoR2 orta derecede afinite

gösterir [63]. T-cadherin de aynı zamanda adiponektinin heksamerik ve YMA formları için reseptör olarak belirlenmiştir; kardiyovasküler sistemde, sinir sisteminde ve kaslarda eksprese olur. Adiponektin ve bu reseptörler arasındaki etkileşim iki downstream molekülünü harekete geçirir, AMPK (adenosine monophosphate-activated protein kinase) ve PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor α), böylece hücre metabolizmasında yağ asidi oksidasyonu, glikoz alımı ve kullanımı gibi bir çok durumu etkiler [51][53][63].

AdipoR1 ve AdipoR2'nin açlık sonrası ya da hipoinsülinemik hale getirilen farede, karaciğer ve iskelet kasında arttığı görülmüştür. Yemek sonrası veya insülin tedavisi sonrasında tokluk düzeyine dönmüştür. Yani, insülin AdipoR1/R2 düzeylerini negatif olarak düzenler. Ayrıca obezitede AdipoR1/R2 düzeylerini düşürür ve bu da adiponektin hiposensitivitesine ve insülin direncine neden olur [53].

2.2.5 Adiponektinde genetik varyasyonlar ve klinik ile ilişkileri

HapMap (Haplotype Map) veri tabanına göre AdipoQ'da haritalanmış 100'den fazla SNP (Single Nukleotide Polymorphism) vardır. NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanına göre kodlanan bölgelerde 29 tane SNP lokalizedir ve bunların 20'si missens mutasyondur [8]. Bunlardan en yaygın olanları Tablo 2-5'te verilmiştir.

Tablo 2-5. AdipoQ'da en çok görülen polimorfizmlerin özellikleri

SNP Adı	SNP No	Lokalizasyon	Tip	Baz Değişimi	Enzim
-11391	rs17300539	Promoter	Kodlanmayan	G->A	HpaII
-3971	rs822396	Intron 1	Kodlanmayan	A->G	MseI
+45	rs2241766	Exon 2	Sessiz	T->G	Sma
+276	rs1501299	Intron 2	Kodlanmayan	G->T	BsmI
+349	rs2241767	Intron 2	Kodlanmayan	A->G	Bsu36I
G90S	rs62625753	Exon 3	Missens	G->A	AvaII
Y111H	rs17366743	Exon 3	Missens	T->C	BstZ17I
R112C	rs121917815	Exon 3	Missens	C->T	BsrBI
H241P	rs141205818	Exon 3	Missens	A->C	NlaIII

İnsülin duyarlılığı ve glukoz homeostazisinin düzenlenmesinde adiponektin güçlü bir rol oynar. Bu nedenle MetS (Metabolik Sendrom)'da özellikle tip 2 diyabet

ve kardiyovasküler sistem hastalıklarında, parametrelerin bozulması ile plazmada düşük adiponektin seviyesi ilişkilendirilmiştir. Ayrıca adiponektin knock-out ve transgenik fare modelleri de MetS ve tip 2 diyabet de çeşitli komponentlerde adiponektinin fonksiyonel rolünü desteklemektedir [8][53]. Sonuç olarak insan çalışmaları AdipoQ genindeki polimorfizmlerin insülin direnci, obezite ve tip 2 DM'yi etkilediğini [53][60] açık bir şekilde göstermiştir. Bununla birlikte AdipoQ genindeki varyasyonlar plazma adiponektin seviyesinde önemli ölçüde değişiklikler ile sonuçlanmıştır. Buradan AdipoQ genindeki değişimlerin insan sağlığını etkileyeceği sonucu çıkarılabilir [8][53][45].

2.2.5.1 ADIPOQ'nun +45T>G ve +276G>T varyantları

Tek nükleotid polimorfizmleri genomik DNA'nın popülasyondaki normal bireyler arasında farklılık gösterdiği baz değişiklikleridir. SNP'ler hastalık yapmaz, çevresel şartlar ölçüsünde hastalığa yatkınlık oluşturmurlar [64].

AdipoQ +45T>G ve +276G>T polimorfizmleri en yaygın görülen ve üzerinde çok çalışılan polimorfizmlerdendir [8]. +45T>G polimorfizmi genin ekzon bölgesinde lokalizedir. Ekzon bölgeleri DNA'nın kodlanan bölgeleridir ve bu bölgelerde meydana gelen polimorfizmler protein kodlanmasında bozukluklar meydana getirebilirler. +45T>G polimorfizmi birçok popülasyonda tip 2 diyabet [65] ve insülin direnci [66] ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte fonksiyonel etkileri tam olarak bilinmemektedir. AdipoQ'nun +45T>G polimorfizmi Fransa ve Kanada'da yapılan çalışmalarda düşük serum adiponektin seviyesi ile ilişkilendirilmiştir [8].

AdipoQ'nun +276G>T polimorfizmi genin intron bölgesinde lokalizedir. DNA üzerindeki ekzon-intron dizilimi intronların çıkarılması ile değişir. Translasyon sırasında intron bölgeleri kesilip atılır. Ekzonlar proteinlere kalıp oluşturur. Bu temel bilgiden hareketle intron bölgelerindeki polimorfizmlerin etkili olmayacağı düşünülse de yapılan çalışmalar bunun aksini kanıtlamıştır. DNA üzerindeki kodlanmayan bölgelerde meydana gelen polimorfizmler de bozukluklara yol açmaktadır. +276G>T polimorfizmi farklı bölgelerde farklı şekillerde ilişkilendirilmiştir. Düşük serum adiponektin seviyesi (Fransa, Yunanistan, İspanya), insülin duyarlılığı markerleri (Japonya, Yunanistan, İsveç, İspanya, İtalya (doğu

kıyıları)), obezite (İsveç) ve T2DM (Japonya) bunlardandır [8][67][68][69][70]. +276G>T adiponektin sirkülasyonunda farklı cevaplarla ilişkilendirilmiştir [71]. AdipoQ genindeki yaygın görülen polimorfizmler ve hastalıklar arasındaki ilişki Tablo 2-6'da verilmiştir.



Tablo 2-6. Adiponektin genetik polimorfizmleri ile metabolik hastalıklar arasındaki ilişki [72]

SNP	Klinik ilişki	Etnik Grup
rs16861194 -11426 A/G	Adiponektin seviyesi Tip 2 diyabet	Fransız kafkas, İsveçli, Avrupalı kafkas
rs17300539 -11391 A/G	Adiponektin seviyesi Tip 2 diyabet Obezite İnsülin direnci İnsülin duyarlılığı Diyabetik nefropati	Fransız kafkas İngiliz kafkas kadın İtalyan, Alman Güney Afrikalı siyahlar İspanyol, Polonyalı
rs266729 -11377 C/G	Adiponektin seviyesi Tip 2 diyabet Obezite İnsülin direnci İnsülin duyarlılığı Diyabetik nefropati	Fransız kafkas İsveçli, Danimarkalı Alman, İtalyan Güney Afrikalı siyahlar, Çinli, İspanyol Polonyalı
rs2241766 G/T G45G	Adiponektin seviyesi Açlık glikoz seviyesi Tip 2 diyabet Obezite İnsülin direnci İnsülin duyarlılığı Diyabetik retinopati Diyabetik nefropati Aterosikleroz Kardiyovasküler hastalıklar	Japon, Çinli Koreli, İtalyan Quebec aile çalışması Uygur, İsveç, Finland Afrikan Amerikan İspanyol, Alman Avrupalı Kafkas Polonyalı
rs1501299 +276 A/C	Adiponektin seviyesi Tip 2 diyabet Obezite İnsülin direnci İnsülin duyarlılığı Diyabetik nefropati Polikistik over sendromu Kardiyovasküler hastalıklar	Avrupalı Kafkas Japon, İtalyan, Alman Çinli, Koreli Quebec aile çalışması İsveçli, Finlandiyalı Afrikan Amerikan Uygurlar, Çinli, İspanyol, Polonyalı
rs17366743 C/T H111Y	Adiponektin seviyesi Beden kitle indeksi Tip 2 diyabet	Alman, Polonyalı Finlandiyalı Framingham Amerikan

2.2.6 Adiponektin ve ilişkili hastalıklar

2.2.6.1 İnsülin direnci

Adiponektinin insülin duyarlılığına etkisi ilk olarak 2001 yılında birbirinden bağımsız üç grup tarafından tanımlanmıştır. Adiponektinin insülin duyarlılığında direkt etkisini *in vivo* olarak kanıtlamak için hem leptin hem de adiponektin knock-out insülin dirençli lipoatrofik fare modeli çalışılmıştır. Lipoatrofik diyabetik farede adiponektinin fizyolojik dozu yerine koyularak insülin direnci anlamlı oranda iyileştirilmiştir. Adiponektin ve leptin kombine kullanılarak insülin direnci ortadan kaldırılmış, fakat hem adiponektin hem de leptin yalnız kullanıldığında insülin direnci kısmen düzeltilmiştir [53]. Bu veri de bize adiponektinin insülin duyarlılığı üzerine direkt etkisini açık bir şekilde göstermektedir.

2.2.6.2 Metabolik Sendrom/Obezite

Son yıllarda yaşam şartlarının değişmesi, hareketsizlik ve aşırı yağlı gıdalarla beslenme sonucu obezitenin görülme sıklığı dramatik boyutlara ulaşmıştır. Bu duruma genellikle Tip 2 Diyabet, koroner arter hastalığı ve hipertansiyon eşlik etmektedir. Bu hastalıkların birlikte gelişmesi durumuna Metabolik Sendrom (MetS) adı verilmektedir [73][74]. Adiponektin glikoz, serbest yağ asidi ve trigliserit seviyesini düşürebilme yeteneği ile MetS'in patogeneğinde majör role sahiptir [63].

2.2.6.3 Tip 2 Diyabet

Tip 2 diyabet pankreas β hücrelerinde insülinin salgılanmasında bozukluk olması veya salınan insüline karşı dokularda direnç gelişmesi ile ortaya çıkan bozukluktur. İnsülin direnci tip 2 diyabetin esas özelliğidir. Adiponektin insülin direnci üzerinde modülatör bir proteindir [75] ve tip 2 diyabet gelişimini önlemede etkilidir [76].

2.2.7 Adiponektin ve MS

Adiponektin adipositokinlerden olup, antiinflamatuvar, antiaterojenik ve antidiyabetik özelliktedir. İnflamasyon ve makrofaj aktivitesini baskılama özelliğine sahiptir.

MS Merkezi Sinir Sistemi'nin (MSS) kronik inflamatuvar, demiyelinizan nörolojik bir hastalıdır.

MS ve Adiponektin ile ilişkili çalışmalar oldukça yeni ve az sayıdadır. Adiponektin knock-out farelerde yapılan çalışmalarda farelerin MS'e benzer Deneysel Otoimmün Ensefalomyelit (EAE), MS için kullanılan en yaygın hayvan modeli, geliştirdikleri gözlenmiştir. EAE inflamasyon, demiyelinizasyon ve akson hasarı ile karakterizedir. EAE'de Adiponektin tedavisi bozukluğun düzeltilmesinde başarılı sonuç vermiştir [13].

Adiponektinin ve MS ilişkisi plazmada çalışılmış ve adiponektin seviyesi MS'li bireylerde sağlıklı bireylere göre daha düşük görülmüştür [1] .

İkizlerde beyin-omurilik sıvısında adiponektin seviyesi bakıldığında ise MS'li hastalar ve sağlıklı ikiz eşleri arasında farklılık görülmemiştir [10].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

Bu çalışmaya dahil edilen bireyler için Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi yerel etik kurul onayı alındı. Her hasta için hasta rızasına yönelik onam formu alındı. Bu bireyler, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı tarafından takip edilen ve MS tanısı almış, yaşları 18-55 arası olan ve tedavileri bu yönde olan hastalar arasından seçildi. Çalışmanın kontrol grubu, MS tanısı almamış HT ve DM rahatsızlıkları olmayan, yaşları 18-55 arası olan gönüllü sağlıklı kişiler arasından seçildi. Çalışmamıza 79 MS tanılı hasta ve 84 sağlıklı birey dahil edildi.

3.1.1 Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri

- Hastanın klinik olarak kesin MS tanısı almış olması
- Hastanın başka sistemik hastalığının olmaması
- Hastaların gönüllü olması/bilgilendirilmiş onam formu imzalamış olması

3.1.2 Hastaların dışlanma kriterleri

- Hastanın kesin MS tanısı almamış olması
- Hastanın başka sistemik hastalığının olması
- Hastanın gönüllü olmaması-bilgilendirilmiş onam formunu imzalamaması

3.2 Yöntem

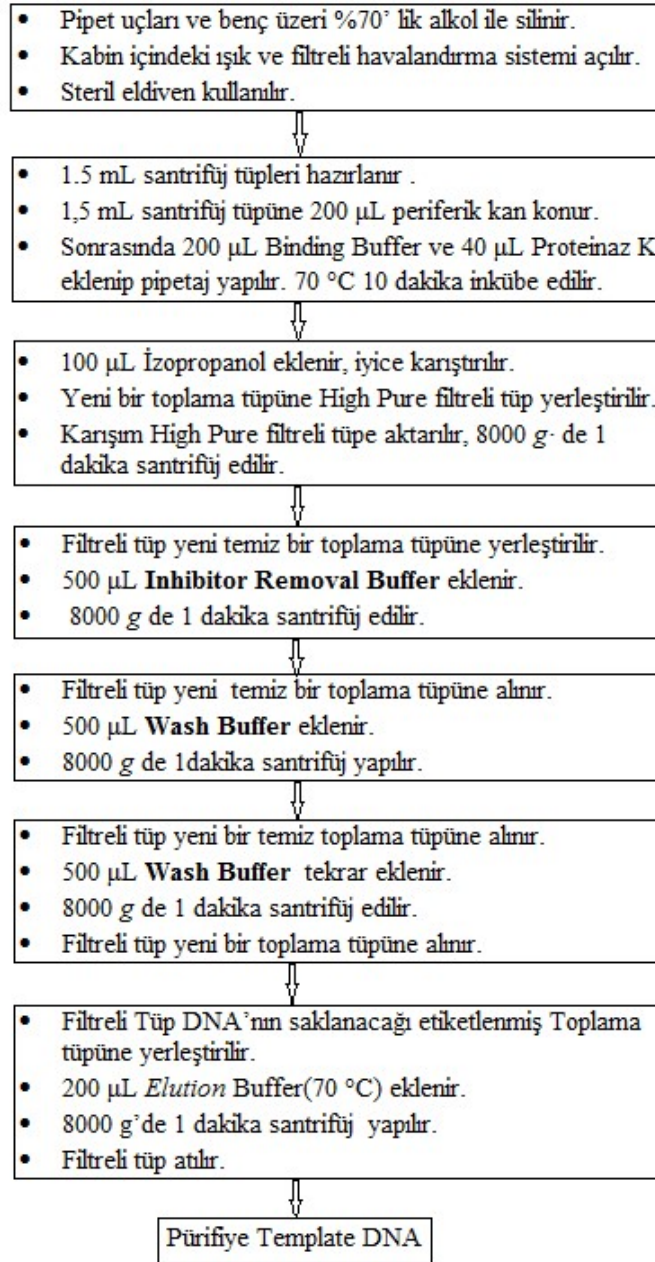
Araştırmaya dahil edilen kişilerin periferik venöz kanları alındı ve EDTA (etilendiamintetraasetik asit)'lı tüpler içinde +4°C derecede muhafaza edildi. Araştırmaya dahil edilen bireylerden EDTA'lı tüplere alınan 2 ml kandan ayrıştırılan lökositlerden, uygun izolasyon kiti (High Pure PCR Template preparation Kit (100)) kullanılarak, genomik DNA'ları Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Moleküler Genetik laboratuvarında izole edildi. İzole edilen DNA'ların %2'lik agaroz jel elektroforezde kontrolleri yapıldı. İzole edilen DNA'lar her bir polimorfizm açısından test edildi. Bu genotiplleme işlemi RT-PCR (LightCycler®480) yöntemi ile yapıldı (Şekil 3-1).



Şekil 3-1. Çalışmada kullanılan Roche LightCycler®480 Real-Time PCR

3.2.1 Tam Kandan DNA İzolasyonu

Çalışma AİBÜ Tıp Fak. Tıbbi Genetik A.D., Moleküler Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonu aşamaları Şekil 3-2'de verilmiştir.

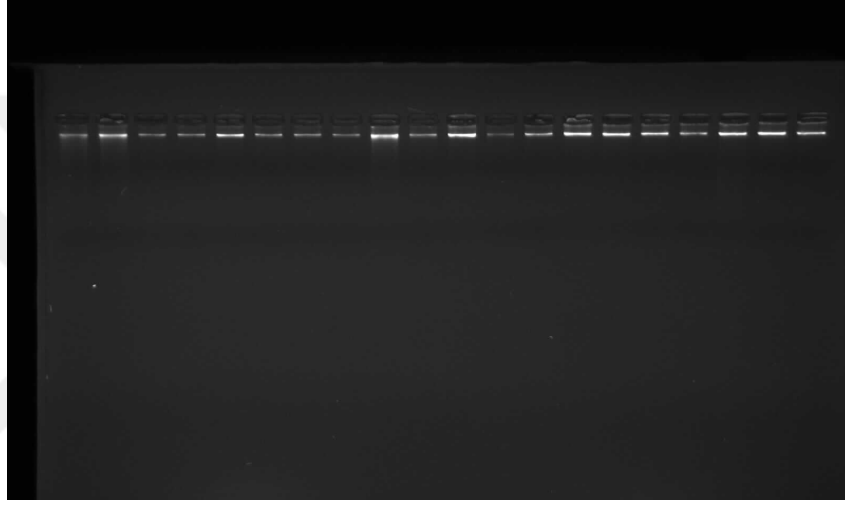


Şekil 3-2. Tam kandan DNA izolasyonu

3.2.2 Agaroz Jel Elektrophorez

İzole edilen DNA'lar kontrol edilmek üzere %2'lik hazırlanmış Agaroz Jel Elektrophorezde yürütüldü. Agaroz Jel için 2 gr agaroz (PegGOLD Universal Agarose) tartıldı, %10'luk tampon solüsyon hazırlandı: 10x'lik TBE 100 ml ve 900 ml distile su. 100 ml tampon solüsyon ve 2 gr agaroz karıştırılıp mikrodalga fırında

homojen çözelti hazırlandı. İçerisine 10µl EtBr (Etidyum bromid) eklenip karışım elektroforez tankına boşaltıldı ve taraklar yerleştirildi. Jel hazır hale gelince jeli bozmadan taraklar dikkatlice çıkarılıp elektroforez tankına jelin tamamını kapatacak kadar tampon solüsyon ilave edildi. DNA'lar boya (6x loading dye NM0410 lot:4003) ile karıştırılıp kuyucuklara yüklendi. 98 V'ta 40 dk koşturulup UV ışık altında görüntülendi. Görüntülenemeyen DNA'lar yeniden izole edildi.



Şekil 3-3. Agaroz Jel Elektroforez UV Işık Altında Görüntü

3.2.3 PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR, PZR), genetik bilginin nükleik asit sekansının çoğaltılmasıyla elde edilmesi tekniğidir. PCR tekniği, temelde üç aşamadan oluşmaktadır.

Birinci aşama: DNA Zincirinin Açılması (Denaturation)

Kalıp DNA (template DNA) 92-95 °C'de 1-2 dakika tutularak çift sarmal yapıdaki DNA iplikleri birbirlerinden ayrılmaktadır.

İkinci aşama: Primerlerin Açılan DNA Zincirlerine Yapışması (Annealing)

Reaksiyon sıcaklığının 37-65 °C' ye düşürülerek oligonükleotid primerlerinin açılan DNA zincirlerinde kendi baz dizilerine karşılık gelen bölgeye yapışması işlemidir.

Üçüncü aşama: Primer Uzaması (Primer Extension)

DNA zincirleri üzerine yapışan primerlerin DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polimeraz) vasıtasıyla baz eklenerek uzatılmasıdır. Taq DNA polimeraz 72 °C sıcaklıkta daha iyi çalıştığı için genel olarak tüm çoğaltma işlemleri bu sıcaklıkta yapılmaktadır. PCR sonucunda elde edilen ürün, çoğaltılması hedeflenen DNA parçası ile iki primerin DNA+primer toplamının uzunluğu kadardır. Bu üç basamaktan oluşan işlem, bir PCR devrini temsil eder. Bu işlem ile ortalama 35 kez tekrar edilerek başlangıçtaki hedef DNA dizisinden milyonlarca yeni DNA parçası elde edilir [77].

3.2.4 RT-PCR in Kullanım Alanları

Genomik Mutasyon ve Polimorfizmler

Gelişen RT-PCR teknolojisiyle otomatize edilmiş allel ayrıştırma tahliliyle genler içerisindeki mutasyonlar belirlenebilmektedir [78].

Tek Nükleotid Polimorfizmleri

Tek nükleotid polimorfizmi tek bir bazın başka bir bazın yerini alması durumudur. SNP'lerin belirlenmesi pek çok durum için hayatidir; insan çalışmaları ve organ nakli için gerekli dokuların belirlenmesi [78], hayvan çalışmaları ve mikrobiyal sınıflandırmalar [79][80] ve benzeri birçok durum için kullanılmaktadır [81][82][83].

Ayrıca RT-PCR tekniği onkolojik çalışmalar, doğum öncesi (prenatal) tanı çalışmaları, genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO) ve patojenlerin tespiti alanlarında önemli yer tutmaktadır [84].

3.2.5 İzole edilen DNA örneklerinde RT-PCR ile mutasyonların çalışılması

PCR'da Gerekli Olan Bileşenler

1. Kalıp DNA (Amplifiye edilecek olan hedef DNA dizisini içerir)
2. Primerler (Amplifiye edilecek olan hedef DNA dizisinin komplementeri olacak şekilde seçilmiş kısa primerler)
3. Taq DNA polimeraz enzimi (Zincirin uzama reaksiyonunu gerçekleştirir. Termostabil karakterdedir)

4. $MgCl_2$ (Enzimin çalışması için kofaktör olarak görev yapan Mg iyonunu sağlar)
5. dNTP karışımı (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)
6. Deiyonize ve steril su

3.2.5.1 +276G>T (rs1501299) Polimorfizmi için RT-PCR protokolü

Tablo 3-1. +276G>T (rs1501299) Reaksiyon karışımının hazırlanışı

Reaksiyon karışımının hazırlanışı (20 µl reaksiyon miksi)	
H ₂ O	14.4 – 10.4 µl
Reaksiyon karışımı	1.0 µl
FastStart DNA Master ⁽¹⁾	2.0 µl
MgCl ₂ (25mM)	1.6 µl
DNA	1.0 – 5.0 µl (~50 ng)
En son MgCl₂ kons.	3.0 mM

Her bir örnek için 15 µl reaksiyon miksi ve 5 µl DNA kullanılmıştır. Böylece her bir örnek için toplam reaksiyon hacmi 20 µl'dir (Tablo 3-1). Her iki polimorfizm için aynı şekilde hazırlanmıştır (Tablo 3-1)(Tablo 3-3).

+276G>T polimorfizmi için RT-PCR cihazının programlanmasındaki parametreler Tablo 3-2'de verilmiştir.

Tablo 3-2. +276G>T (rs1501299) LightCycler®480 cihazının programlanması

	Denaturasyon	Döngü			Erime			Soğuma
Analiz Modu	Yok	kantifikasyon			Erime Eğrisi			Yok
Döngü	1	45			1			1
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1
Target (C)	95	95	60	72	95	40	75	40
Hold (ss:dd:snsn)	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:30	00:02:00	00:00:00	00:00:30

3.2.5.2 +45T>G (rs2241766) Polimorfizmi için RT-PCR protokolü

Tablo 3-3. +45T>G (rs2241766) Reaksiyon karışımının hazırlanışı

Reaksiyon karışımının hazırlanışı (20 µl reaksiyon miksi)	
H ₂ O	10.4 µl
Reaksiyon karışımı	1.0 µl
FastStart DNA Master ⁽¹⁾	2.0 µl
MgCl ₂ (25mM)	1.6 µl
DNA	5.0 µl (~50 ng)
En son MgCl₂ kons.	3.0 mM

+45T>G polimorfizmi için RT-PCR cihazının programlanmasındaki parametreler Tablo 3-4'te verilmiştir.

Tablo 3-4. +45T>G (rs2241766) LightCycler®480 cihazının programlanması

	Denaturasyon	Döngü			Eritme			Soğutma
Analiz Modu	None	Kantifikasyon			Erime Eğrisi			None
Döngü	1	45			1			1
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1
Hedef (C)	95	95	60	72	95	40	75	40
Hold (ss:dd:snsn)	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:30	00:02:00	00:00:00	00:00:30

Hazırlamış olduğumuz reaksiyon karışımı;

Vaka grubu için 15µl x 79 (birey) = 1185µl (toplam karışım miktarı)

Kontrol grubu için; 15 µl x 84 (birey) = 1260 µl (toplam karışım)

Karışım 96 kuyucuklu pleyte (15 µl) dağıtıldı. Son olarak, pleytteki karışıma nonspesifik reaksiyonları önlemek amacı ile DNA eklendi ve hafifçe pipetajlandı. Her bir kuyucuğa her bir hastaya ait 5'er µl DNA örneği eklendi. Pleytin üzeri şeffaf renkte plastik film tabaka ile örtüldükten sonra yavaşça santrifüj edildi. LightCycler®480 cihazına hasta ve kontrol isimleri kaydedilerek yüklendi. Sonuçlar analiz edildi ve analiz sonuçlarına göre genotipleme yapıldı. Aynı protokol her iki SNP için uygulandı.

3.2.6 ADIPOQ geni +276G>T (rs1501299) ve +45T>G (rs2241766) varyantlarının RT-PCR sonuçlarının değerlendirilmesi

Sonuçlar erime eğrilerinde oluşan pik değerlerine göre homozigot yabanıl (wild type (WT)), heterozigot mutant ve homozigot mutant genotiplere ayrıldı. Heterozigot genotipler iki farklı erime eğisinde iki ayrı pik vermişken, homozigot mutant ve homozigot yabanıl genotipler erime eğrilerinde tek pike sahiptir.

AdipoQ +276G>T (rs1501299) polimorfizmi için; G allelinin erime eğrisi (Tm) değeri 50,49 °C, T mutant allelinin erime eğrisi 58,34°C de pik vermiştir. GG genotipi homozigot yabanıl, GT genotipi heterozigot mutant ve TT genotipi homozigot mutant genotiplerdir.

AdipoQ +45T>G (rs2241766) polimorfizmi için; T allelinin erime eğri değeri 66,74 °C, G mutant allelinin erime değeri 59,73°C de pik vermiştir. TT genotipi homozigot yabanıl, TG genotipi heterozigot mutant ve GG genotipi homozigot mutant genotiplerdir.

3.2.6.1 İstatistiksel Analiz

Genotip yüzdeleri ve allel frekansları hesaplandıktan sonra elde edilen veriler Epi Info™ 3.5.3 istatistik programı yardımıyla hesaplandı. $p \leq 0,05$ olan sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Kontrol ve Hasta Gruplarının Sonuçları ve İstatistiksel Analizleri

Çalışmamıza dahil edilen hastalar Abant İzzet Baysal Üniversitesi (AİBÜ) Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı'na başvuran Multipl Skleroz tanısı almış bireylerden oluşmaktadır. Kontrol grubumuz ise MS tanısı almamış olan AİBÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD'na başvuran uygun yaş grubundan MS olmayan ve başka hastalığı olmayan kişilerden seçilmiştir. Her iki grup için de onam formları imzalanmıştır.

Kontrol ve vaka grubuna ait bireylerden EDTA'lı tüplere alınan periferik kan örneklerinden genomik DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra rs2241766 (+45T>G) ve rs1501299 (+276G>T) SNP'leri RT-PCR (Roche LightCycler®480) ile çalışıldı. Vaka grubunda 51 kadın 28 erkek hasta için PCR sonuçları rs2241766 (+45T>G) SNP protokolüne göre analiz edildi. Kontrol grubunda 68 kadın 16 erkek hasta çalışıldı, 1 hasta sonucu çıkmadığı için çalışma dışı bırakıldı ve 83 hastanın analizi rs2241766 (+45T>G) protokolüne göre yapıldı.

rs1501299 (+276G>T) SNP'i için yine MS'li 51 kadın 28 erkek birey çalışıldı ve analizleri yapıldı. Kontrol grubunda sağlıklı 68 kadın 16 erkek birey çalışıldı ve analizleri yapıldı. Bir kontrol DNA'sı çalışma sonucu vermediğinden dolayı çalışma dışı bırakıldı.

4.2 ADIPOQ +45T>G (rs2241766)

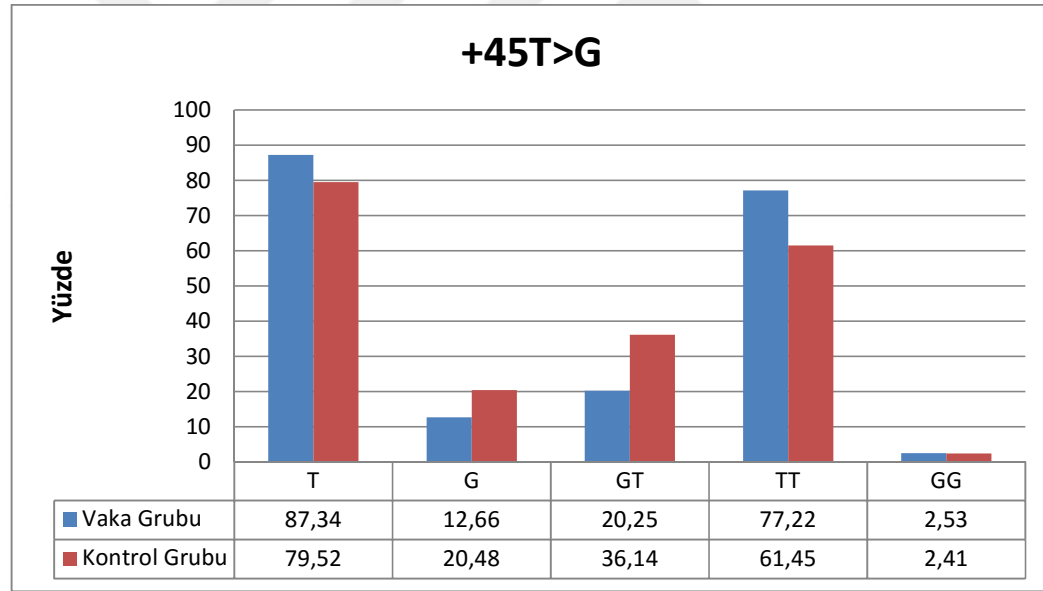
AdipoQ geninin +45T>G polimorfizminin MS hastaları ve kontrol grubu için allel frekansı ve genotip dağılımı verileri Tablo 4-1'de, bu verilerin grafiği ise Grafik 4.1'de verilmiştir. 79 hasta birey, 84 sağlıklı birey çalışılmıştır.

Tablo 4-1'de görüldüğü gibi G allel frekansı vaka grubunda %12,66 kontrol grubunda %20,48'dir. T allel frekansı ise vaka grubunda %87,34 kontrol grubunda ise %79,52 olarak belirlenmiştir. Vaka ve kontrol grubu arasında allel sıklığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.058$). Bunun yanında, vakaların 16'sı heterozigot mutant (GT), 61'i homozigot wild tip (TT) ve 2'si homozigot mutant (GG) genotiptedir. Sağlıklı bireylerin 30'u heterozigot mutant (GT), 51'i homozigot wild tip (TT) ve 2'si homozigot mutant (GG) genotiptedir. Bu durumda vakaların

%20,25'i mutant heterozigot, %77,22'si homozigot wild tip ve %2,53'ü homozigot mutant genotiptedir. Sağlıklı bireylerin ise %36,14'ü heterozigot mutant, %61,45'i homozigot wild tip ve %2,41'i homozigot mutant genotiptedir.

Tablo 4-1. AdipoQ geninin +45T>G polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılımı

+45T>G	Vaka grubu (n=79)	Kontrol grubu (n=83)	
T	138 (%87,34)	132 (%79,52)	P = 0,058
G	20 (%12,66)	34 (%20,48)	
GT	16 (%20,25)	30 (36,14)	
TT	61 (%77,22)	51 (%61,45)	
GG	2 (%2,53)	2 (%2,41)	



Grafik 4.1. AdipoQ geninin +45T>G polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılım grafiği

Vaka ve kontrol grupları için cinsiyet de göz önüne alındığında, dağılım değerleri Tablo 4-2'de; bu değerlere ait grafikler ise Grafik 4.2'de verilmiştir. Kadınların vaka grubunda G mutant allelinin görülme sıklığı %15,69 iken, kontrol grubunda %19,85'dir. T allelinin vaka grubunda görülme sıklığı %84,31 iken, kontrol grubunda %80,15'tir.

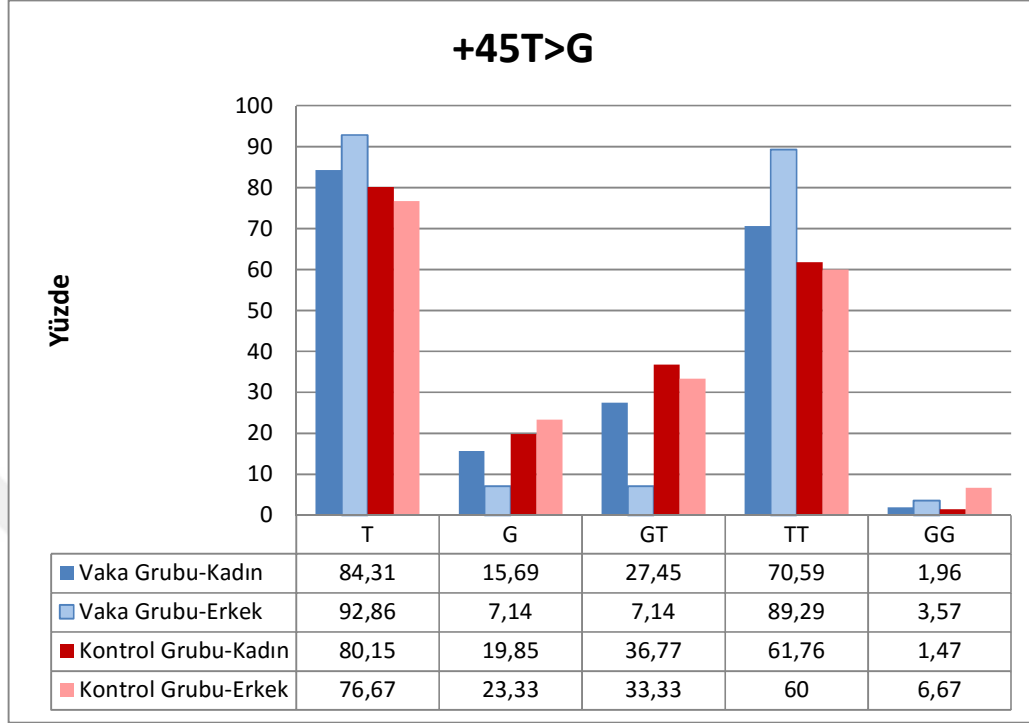
Erkeklerin vaka grubunda G mutant allelinin görülme sıklığı %7,14 iken, kontrol grubunda bu değer %23,33'dür. Vaka grubunda T allelinin görülme sıklığı %92,86 iken, kontrol grubunda %76,67'dir.

Kadınların vaka grubunda %27,45'i, kontrol grubunda %36,77'si heterozigot mutant genotiptedir. Vaka grubunda %70,59'u, kontrol grubunda %61,76'sı homozigot wild tip genotipe sahiptir. Vaka grubunda %1,96'sı, kontrol grubunda %1,47'si homozigot mutant genotipe sahiptir.

Erkeklerin; vaka grubunda %7,14'ü, kontrol grubunda %33,33'ü heterozigot mutant genotipe sahiptir. Vaka grubunda %89,29'u, kontrol grubunda %60'ı homozigot wild tip genotiptedir. Vaka grubunda %3,57'si, kontrol grubunda %6,67'si homozigot mutant genotiptedir.

Tablo 4-2. AdipoQ +45T>G polimorfizminin vaka/kontrol gruplarında cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı

+45T>G	Vaka grubu		Kontrol grubu	
	Kadın (n=51)	Erkek (n=28)	Kadın (n=68)	Erkek (n=15)
T	86 (%84,31)	52 (%92,86)	109 (%80,15)	23 (%76,67)
G	16 (%15,69)	4 (%7,14)	27 (%19,85)	7 (%23,33)
GT	14 (%27,45)	2 (%7,14)	25 (%36,77)	5 (%33,33)
TT	36 (%70,59)	25 (%89,29)	42 (%61,76)	9 (%60)
GG	1(%1,96)	1 (%3,57)	1 (%1,47)	1 (%6,67)

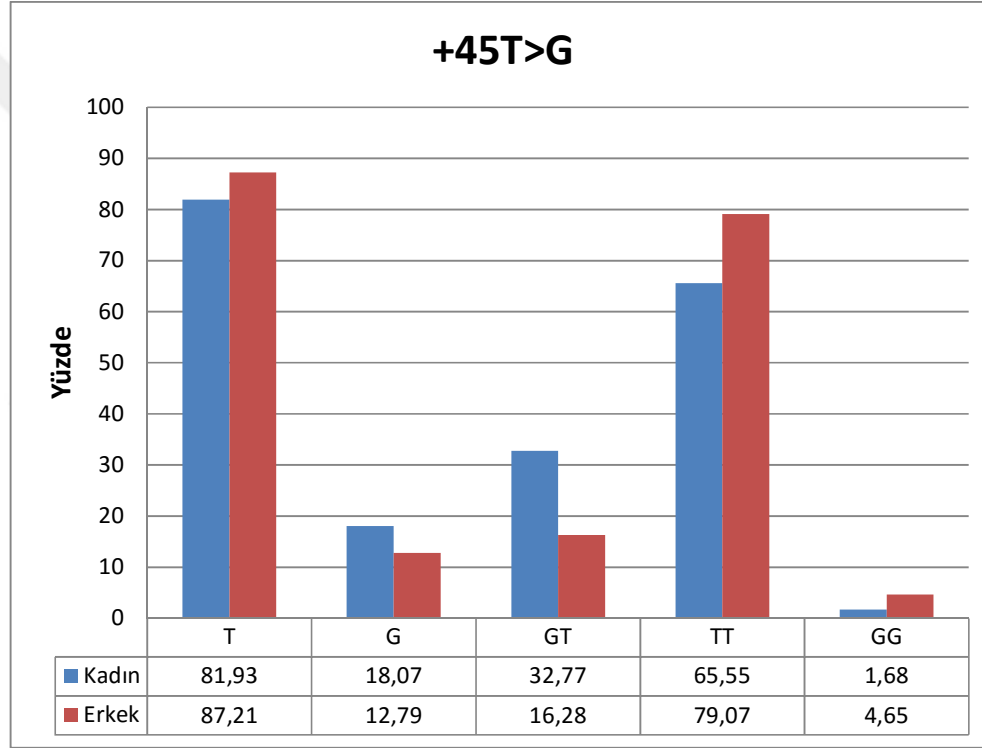


Grafik 4.2. AdipoQ +45T>G polimorfizminin vaka/kontrol gruplarında cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı grafiği

Çalışmamıza dahil edilen vaka ve kontrol grubundaki toplam kadın ve toplam erkek bireylerde +45T>G polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılımı Tablo 4-3'te, dağılımın grafiği Grafik 4.3'te verilmiştir. Tabloya göre kadınlarda G mutant allelinin görülme sıklığı %18,07, T allelinin görülme sıklığı %81,93'tür. Erkeklerde G mutant allelinin görülme sıklığı %12,79, T allelinin görülme sıklığı ise %87,21'dir. Bununla birlikte, kadınların %32,77'si heterozigot mutant, %65,55'i homozigot wild tip, %1,68'i homozigot mutant genotiptedir. Erkeklerin %16,28'i heterozigot mutant, %79,07'si homozigot wild tip, %4,65'i homozigot mutant genotiptedir.

Tablo 4-3. AdipoQ +45T>G polimorfizminin cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı

+45T>G	Kadın (n=119)	Erkek (n=43)
T	195 (%81,93)	75 (%87,21)
G	43 (%18,07)	11 (%12,79)
GT	39 (%32,77)	7 (%16,28)
TT	78 (%65,55)	34 (%79,07)
GG	2 (%1,68)	2 (%4,65)



Grafik 4.3. AdipoQ +45T>G polimorfizminin cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı grafiği

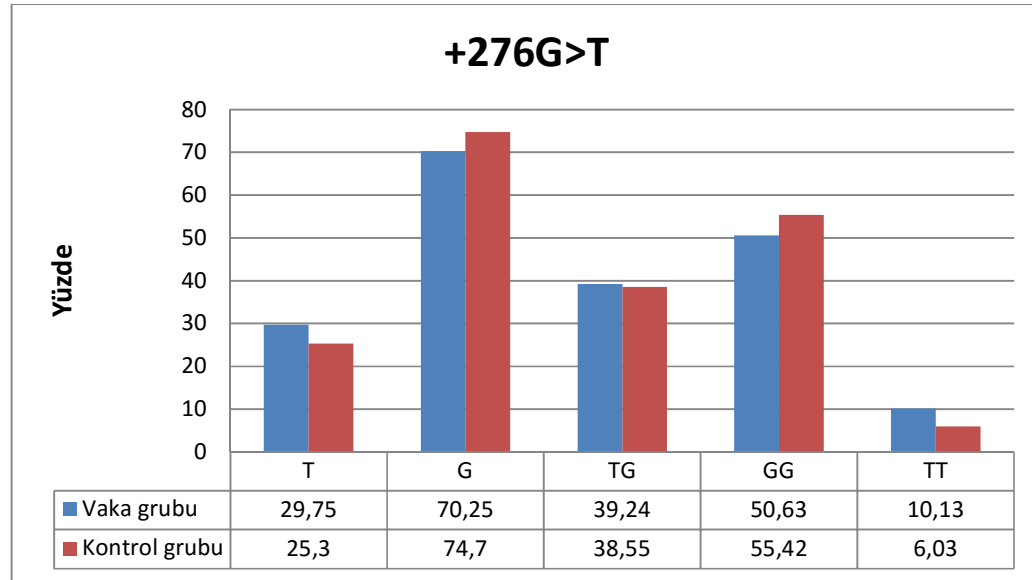
4.3 ADIPOQ +276G>T (rs1501299)

AdipoQ geninin +276G>T polimorfizminin MS hastaları ve kontrol grubu için allel frekansı ve genotip dağılımı Tablo 4-4'te, dağılım grafiği Grafik 4.4'te verilmiştir. 79 hasta birey, 84 sağlıklı birey çalışılmıştır. Sağlıklı bireylerden 1 tanesi RT-PCR sonucu çıkmadığı için dışlanmıştır. Tabloda görüldüğü gibi G allel frekansı vaka grubunda %70,25, kontrol grubunda %74,70'tir. T mutant allel frekansı ise vaka grubunda %29,75, kontrol grubunda ise %25,30 olarak belirlenmiştir. Vaka ve

kontrol grubu arasında allel sıklığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.37$). Buna ek olarak, hastaların 8'i homozigot mutant (TT), 31'i heterozigot mutant (TG) ve 40'ı homozigot wild tip (GG) genotiptedir. Sağlıklı bireylerin 5'i homozigot mutant (TT), 32'si heterozigot mutant (TG) ve 46'sı homozigot wild tip (GG) genotiptedir. Bu durumda hastaların %10,13'ü mutant homozigot, %39,24'ü heterozigot mutant ve %50,63'ü homozigot wild tip genotiptedir. Sağlıklı bireylerin ise %6,03'ü homozigot mutant, %38,55'i heterozigot mutant ve %55,42'si homozigot wild tip genotiptedir.

Tablo 4-4. AdipoQ +276G>T polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılımı

+276G>T	Vaka grubu (n=79)	Kontrol grubu (n=83)	
T	47 (%29,75)	42 (%25,30)	P = 0,37
G	111 (%70,25)	124 (%74,70)	
TG	31 (%39,24)	32 (%38,55)	
GG	40 (%50,63)	46 (%55,42)	
TT	8 (%10,13)	5 (%6,03)	



Grafik 4.4. AdipoQ +276G>T polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılımı grafiği

Vaka ve kontrol grupları için cinsiyet de göz önüne alındığında, dağılım değerleri Tablo 4-5'te; bu değerlere ait grafikler ise Grafik 4.5'te verilmiştir.

Kadınların vaka grubunda G allelinin görülme sıklığı %68,63 iken, kontrol grubunda %77,61'dir. T mutant allelinin vaka grubunda görülme sıklığı %31,37 iken, kontrol grubunda %22,39'dur.

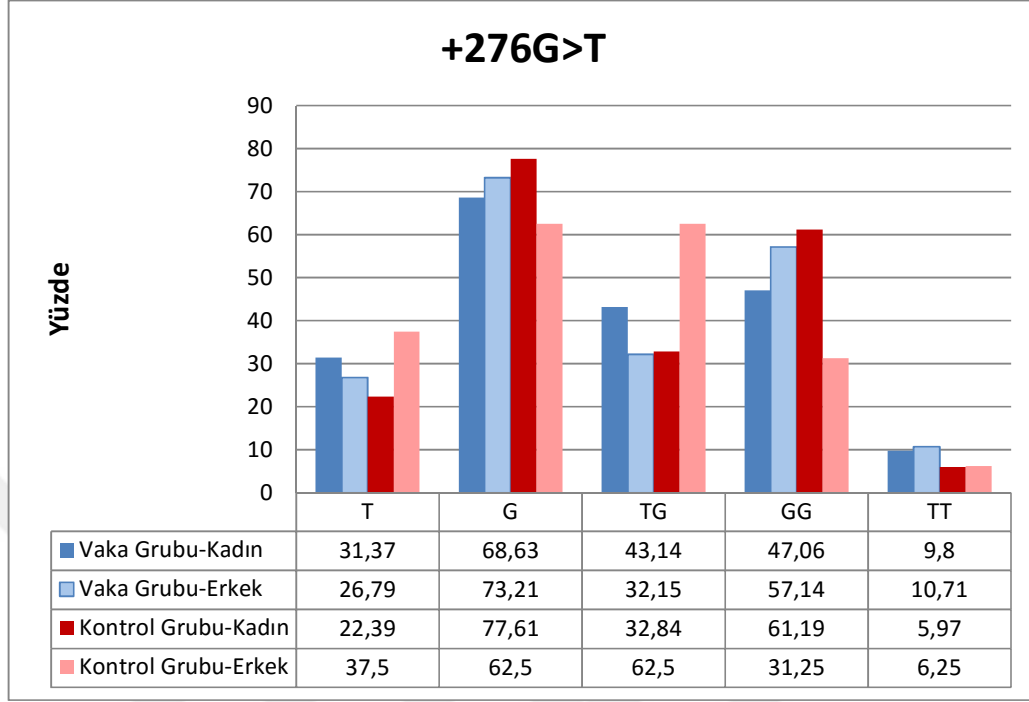
Erkeklerin vaka grubunda G allelinin görülme sıklığı %73,21 iken, kontrol grubunda bu değer %62,5'tir. Vaka grubunda T mutant allelinin görülme sıklığı %26,79 iken, kontrol grubunda %37,5'tir.

Kadınların vaka grubunda %43,14'ü, kontrol grubunda %31,82'si heterozigot mutant genotiptedir. Vaka grubunda %47,06'sı, kontrol grubunda %62,12'si homozigot wild tip genotipe sahiptir. Vaka grubunda %9,80'sı, kontrol grubunda %6,06'sı homozigot mutant genotipe sahiptir.

Erkeklerin; vaka grubunda %32,15'i, kontrol grubunda %64,71'i heterozigot mutant genotipe sahiptir. Vaka grubunda %57,14'ü, kontrol grubunda %29,41'i homozigot wild tip genotiptedir. Vaka grubunda %10,71'i, kontrol grubunda %5,88'i homozigot mutant genotiptedir.

Tablo 4-5. AdipoQ +276G>T polimorfizminin vaka/kontrol gruplarında cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı

+276G>T	Vaka grubu		Kontrol grubu	
	Kadın (n=51)	Erkek (n=28)	Kadın (n=67)	Erkek (n=16)
T	32 (%31,37)	15 (%26,79)	30 (%22,39)	12 (%37,5)
G	70 (%68,63)	41 (%73,21)	104 (%77,61)	20 (%62,5)
TG	22 (%43,14)	9 (%32,15)	22 (%32,84)	10 (%62,5)
GG	24 (%47,06)	16 (%57,14)	41 (%61,19)	5 (%31,25)
TT	5 (%9,80)	3 (%10,71)	4 (%5,97)	1 (%6,25)

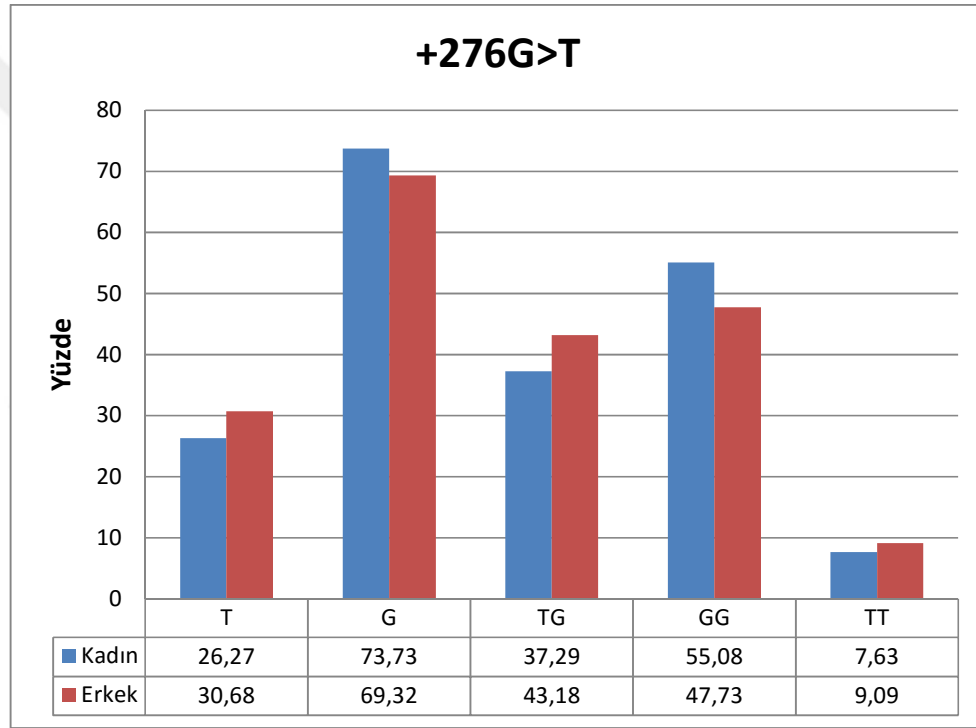


Grafik 4.5. AdipoQ +276G>T polimorfizminin vaka/kontrol gruplarında cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı grafiği

Çalışmamıza dahil edilen vaka ve kontrol grubundaki toplam kadın ve toplam erkek bireylerde +276G>T polimorfizminin allel frekansı ve genotip dağılımı Tablo 4-6'da, dağılımın grafiği Grafik 4.6'da verilmiştir. Tabloya göre kadınlarda G allelinin görülme sıklığı %73,73, T mutant allelinin görülme sıklığı %26,27'dir. Erkeklerde G allelinin görülme sıklığı %69,32, T mutant allelinin görülme sıklığı ise %30,68'dir. Ayrıca, kadınların %37,29'u heterozigot mutant, %55,08'i homozigot wild tip, %7,63'ü homozigot mutant genotiptedir. Erkeklerin %43,18'i heterozigot mutant, %47,73'ü homozigot wild tip, %9,09'u homozigot mutant genotiptedir.

Tablo 4-6. AdipoQ +276G>T polimorfizminin cinsiyete göre allel frekansı ve genotip dağılımı

+276G>T	Kadın (n=118)	Erkek (n=44)
T	62 (%26,27)	27 (%30,68)
G	174 (%73,73)	61 (%69,32)
TG	44 (%37,29)	19 (%43,18)
GG	65 (%55,08)	21 (%47,73)
TT	9 (%7,63)	4 (%9,09)



Grafik 4.6. AdipoQ +276G>T polimorfizminin cinsiyete göre genotip dağılımı

Elde ettiğimiz sonuçlar ile farklı toplumlarda yapılmış olan çalışmaları karşılaştırdık. Bizim toplumumuz ile farklı toplumları polimorfizmler yönünden karşılaştırma imkanı bulduk (Tablo 4-7).

Tablo 4-7'deki verilere göre +45T>G polimorfizmi için G mutant allel frekansı %29,5 değeri ile en yüksek oranda sağlıklı Korelilerde ve %5,6 değeri ile en düşük oranda sağlıklı Finlandiyalı erkeklerde görülmüştür. +276G>T polimorfizmi için T mutant allel frekansı %45 değeri ile en yüksek oranda sağlıklı Çinli kadınlarda ve %21,9 değeri ile en düşük oranda sağlıklı Korelilerde görülmüştür. Arıkoğlu ve

arkadaşlarının Konya y6resinde yaptığı çalışmada +45T>G polimorfizmi için G mutant allel frekansı %17,7 iken bizim çalışmamızda %20,5 g6r6lm6řt6r. +276G>T polimorfizmi için T mutant allel frekansı Arıkoğlu ve arkadaşlarının çalışmasında %31,6, bizim çalışmamızda %25,3 sonucunu vermiştir. Arıkoğlu ve ark. ve bizim çalışmamıza baktığımızda mutant allel frekansları arasında 6nemli oranda fark g6r6lm6řt6r. Buradan yola çıkararak her iki polimorfizm için mutant allel frekanslarının T6rk toplumunda farklı y6relerde farklı oranlarda g6r6lebileceğini s6yleyebiliriz. Aynı zamanda farklı toplumlar arasında mutant allel frekansları açısından benzerlikler olabileceğini de s6yleyebiliriz. 6rneğin Tayvan ve Japonya’da yapılan çalışmalarda +276G>T polimorfizmi için T mutant allel frekansının aynı oranda g6r6lmesi.

Tablo 4-7. Bizim çalışmamız ve diğer bazı çalışmaların karşılaştırılması

	Birey Sayısı	Genotip Frekansı						Allel Frekansı			
		+45T>G			+276G>T			+45T>G		+276G>T	
		TT	GT	GG	GG	GT	TT	T	G	G	T
Mackawy ve ark. [85] sağlıklı Suudi kadınlarda	46	35 (%76)	8 (%17,4)	3 (%6,5)	-	-	-	78 (%84,78)	14 (%15,21)	-	-
Hara K ve ark. [70] sağlıklı japonlar	480	251 (%52,3)	183 (%38,1)	46 (%9,6)	236 (%49,2)	203 (%42,3)	41 (%8,5)	685 (%71,4)	275 (%28,6)	675 (%70,3)	285 (29,7)
Mousavinasab ve ark. [86] sağlıklı finlandiyalı erkeklerde	244	218 (%89,3)	25 (%10,2)	1 (%0,5)	134 (%55)	91 (%37,2)	19 (%7,8)	461 (%94,4)	27 (%5,6)	359 (%73,5)	129 (%26,5)
Park ve ark. [87] sağlıklı Korelilerde	71	40 (%56,3)	20 (%28,1)	11 (%15,6)	43 (%60,5)	25 (%35,2)	3 (%4,3)	100 (%70,5)	42 (%29,5)	111 (%78,1)	31 (%21,9)
Leu ve ark. [88] sağlıklı Tayvan'lı kişilerde	446	233 (%52,2)	181 (%40,6)	32 (%7,2)	228 (%51,1)	178 (%39,9)	40 (%8,9)	647 (%72,5)	245 (%27,5)	634 (%71)	258 (%29)
Zhang ve ark. [89] sağlıklı Çin'li kadınlarda	120	74 (%61,7)	42 (%35,0)	4 (%3,3)	41 (%34,2)	50 (%41,6)	29 (%24,2)	190 (%79,2)	50 (%20,8)	132 (%55)	108 (%45)
Arkoğlu ve ark. [90] Konya yöresinden sağlıklı kişilerde	119	83 (%69,8)	30 (%25,2)	6 (%5)	51 (%42,8)	61 (%51,3)	7 (%5,9)	196 (%82,3)	42 (%17,7)	163 (%68,4)	75 (%31,6)
Bizim çalışmamız	83	51 (%61,4)	30 (%36,1)	2 (%2,5)	46 (%55,4)	32 (%38,5)	5 (%6,1)	132 (%79,5)	34 (%20,5)	124 (%74,7)	42 (%25,3)

5. TARTIŞMA

Multipl Skleroz (MS) (OMIM 126200) son yıllarda dünya çapında 2,5 milyon insanı etkilemiş olan Merkezi Sinir Sisteminin (MSS) kronik inflamatuvar, demiyelinizan nörolojik bir hastalığıdır [3]. Hastaların yaklaşık olarak %15-20'sinde aile hikayesi mevcuttur, fakat geniş çalışılmış pedigrilerde dahi en çok iki veya üç etkilenmiş bireye rastlanır [91][92].

Çalışmamızda, AİBÜ Tıp Fakültesi, Nöroloji ve Tıbbi Genetik AD'larına başvuran ve MS tanısı alan hastalarda AdipoQ genindeki +45T>G ve +276G>T polimorfizmlerinin hastalık üzerindeki muhtemel etkisini araştırdık.

Muşabak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada MS hastalarında serum adiponektin seviyelerinin sağlıklı kontrollerine göre düşük bulunması [1], ayrıca bazı çalışmaların da adiponektinin inflamasyon ve makrofaj aktivitesini baskıladığını göstermesi [93][94], bize adiponektinin MS'in patogeneğinde rolü olabileceğini düşündürdü. Bunun üzerine çalışmamızda, 79 MS hastasında ve 83 sağlıklı bireyde AdipoQ +276G>T ve +45T>G polimorfizmlerini inceledik.

Çalışmamız MS hastalarında +45G>/+276T polimorfizmlerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. O sebeple çalışmamızla karşılaştırabileceğimiz sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Hietarju ve arkadaşları, yaptıkları ikiz çalışmasında MS'li ikizlerin beyin-omurilik sıvısı örneklerinde adiponektin konsantrasyonunun anlamlı oranda artmış olarak tespit etmiştir [10]. Bu çalışmaya paralel olarak Muşabak ve arkadaşları 57 MS'li hasta ve 34 sağlıklı kontrol ile yaptığı çalışmada serum adiponektin, TNF α , IL-12p70 ve IL-13 seviyelerine bakmıştır [1]. Çalışmalarında MS'li hastaların adiponektin seviyelerinin sağlıklı kontrollere göre daha düşük olduğunu belirtmiştir. Ek olarak MS'li kadınların sağlıklı kadınlara göre daha düşük serum adiponektin seviyesine sahip olduklarını göstermişlerdir [1]. Bu sonuçlardan yola çıkarak düşük adiponektin seviyesinin MS'in patogeneğinde rol oynayabileceğini düşündük. Dolayısı ile dikkatimizi adiponektin proteinini kodlayan gen üzerine yönelttik. Adiponektin gen fonksiyonunu değiştirebileceği düşünülen iki polimorfizmi çalışmaya karar verdik. Bu polimorfizmler +276G>T ve +45T>G idi. Çalışmamızda +45G mutant allel frekansı kontrollere göre vakalarda daha düşük bulunmuştur (Tablo 4-1). Bu sonuca dayanarak +45G mutasyonunun MS'te koruyucu bir mutasyon olduğu düşünülebilir. Cinsiyet göz önüne alındığında, +45G mutant allel

frekansı erkeklere oranla kadınlarda daha yüksektir (Tablo 4-3). Hasta ve sağlıklı kadınlar karşılaştırıldığında önemli bir fark görülmez iken (Tablo 4-2), hasta ve sağlıklı erkekler karşılaştırıldığında, mutant allel frekansı sağlıklı erkeklerde daha yüksek görülmektedir (Tablo 4-3). Elde ettiğimiz sonuç +45G mutasyonunun MS'te koruyucu olabileceği ihtimalini desteklemektedir.

+276T mutant allel frekansı, kontrollere göre vakalarda daha yüksek görülmüştür (Tablo 4-4). Cinsiyet göz önüne alındığında, kadınların erkeklere oranla T-mutant allel frekansları daha düşük görülmüştür (Tablo 4-6). Hasta sayısının az olması ve adiponektin seviyelerinin bakılamamış olması sonuçlarımızın yorumunu sınırlayan imkansızlıklardır.

Piccio ve arkadaşları, adiponektin knock-out farelerde MS'in en yaygın hayvan modeli olan deneysel otoimmün ensefalomyelit çalışarak hastalığın prognozunu incelemişlerdir. Adiponektin knock-out farelerin wild type kontrollere göre daha kötü deneysel ensefalomyelit sergiledikleri ve histolojik analizlerinde spinal kordda daha kötü inflamasyon ve demiyelinizasyon gösterdikleri sonucuna varmışlardır [75]. Burada adiponektinin MSS'de koruyucu etkisi olabileceği görülmüştür. Genomda meydana gelen mutasyonlar sistemler için olumsuz etki gösterebileceği gibi koruyucu etki de gösterebilmektedirler. +45G mutant allel frekansının kontrollere göre daha düşük bulunması koruyuculuk durumunu, +276T mutant allel frekansının kontrollere göre vakalarda daha yüksek görülmesi (Tablo 4-4) ise olumsuz etki durumunu desteklemektedir.

Park ve arkadaşları da 986 obez bireyde yaptıkları kesitsel çalışmada +45T>G ve +276G>T polimorfizmleri varlığında serum adiponektin seviyesinde artış görmüş [87], benzer olarak Zhang ve arkadaşları polikistik over sendromlu Çinli kadınlarda SNP +276G>T'de GG ve GT genotipli hastaların TT genotipli hastalara göre daha düşük serum adiponektin seviyesine sahip olduklarını göstermiştir [89].

Nikolajevic-Starcevic ve arkadaşları, tip 2 diyabetli hastalarda +45G>T ve +276T>G varyasyonları ile plazma adiponektin seviyeleri arasındaki ilişkiye bakmıştır. Yapılan çalışmada plazma adiponektin seviyesi ile +45G>T, +276T>G polimorfizmleri ilişkilendirilememiştir [95]. Bu bulgulara benzer olarak Leu ve arkadaşları da metabolik sendrom ve esansiyel hipertansiyonlu bireylerde yaptıkları çalışmada AdipoQ'nun +45G>T ve +276T>G varyantları ile plazma adiponektin

seviyesi arasında anlamlı ilişki elde edememişlerdir [88]. Mousavinasab ve arkadaşlarının 252 sağlıklı genç Finlandiyalı erkek ile yaptıkları çalışmada da benzer olarak plazma adiponektin seviyesi ile +45T>G varyasyonunu ilişkilendirememiş, yalnız +276'da TT taşıyıcılarının, GT ve GG genotipli bireylere göre daha yüksek adiponektin konsantrasyonuna sahip oldukları gözlenmiş [86], ayrıca GT heterozigot mutant allelini taşıyan bireylerin adiponektin seviyesi GG homozigot mutant bireylere göre daha yüksek adiponektin seviyesine sahiptir. Gherman ve arkadaşları da aterosklerotik periferik arter hastaları ve sağlıklı kontroller ile yaptıkları çalışmada +45G ve +276T genotip farklılıklarına rastlamamıştır [96].

Bizim çalışmamızda +276T'de TT homozigot mutant genotipi kontrollere göre MS vakalarında yüksek çıkmıştır. GT heterozigot mutant genotipinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da vakalarda daha yüksek görülmüş olması (Tablo 4-4) +276G allelinin koruyucu olabileceğini düşündürmektedir. Çalışma sonuçlarımızda +45GG/+276TT mutant homozigot haplotip görülmemiştir. Her iki homozigot mutant allelin birlikte görülmemiş olması +45G'nin MS'te koruyucu olabileceği, +276T'nin de olumsuz etki gösterebileceği olasılıklarını desteklemektedir.

Çalışmamızdaki sağlıklı kişilerle farklı toplumlardaki sağlıklı kişileri +45T>G ve +276G>T polimorfizmleri yönünden karşılaştırdık. Karşılaştırma yaptığımız gruplardan biri de Arıkoğlu ve arkadaşlarının Konya yöresinde yaptıkları bir çalışmadır. Bu çalışma ile sonuçlarımızı karşılaştırdığımızda bizim çalışmamızda +45G mutant allel frekansı yüksek, +276T mutant allel frekansı ise düşük görülmüştür (Tablo 4-7). Türk toplumunda her iki polimorfizm açısından farklı yörelerde farklı sonuçlar elde edilmiştir. Toplumumuzda her iki polimorfizm açısından yapılabilecek geniş çaptaki çalışmalar yöresel benzerlik ve farklarımızı daha net ortaya koyacaktır.

Çalışmamız Türk toplumunda ve diğer toplumlarda MS'li hastalarda +45T>G ve +276G>T polimorfizmleri açısından yapılmış ilk çalışmadır. Ayrıca Türk toplumunda AdipoQ polimorfizmlerinin test edildiği ilk çalışmalardandır. Çalışma bütçemizin sınırlı olmasından dolayı araştırmaya katılan gönüllülerin kanlarında adiponektin seviyesine bakılamamıştır. Adiponektin seviyesinin de birlikte çalışılmış olması sonuçların yorumlanmasına katkıda bulunacaktır. Ayrıca hasta ve kontrol

sayılarının arttırılarak farklı etnik gruplarda da yapılacak çalışmalar sonuçların yorumlanması açısından daha etkili olacaktır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. AdipoQ +45T>G ve +276G>T polimorfizmlerinin genotip dağılımı ve allel sıklığı açısından 79 hasta ve 83 kontrol ile yaptığımız çalışma sonucunda +45G mutant allelinin MS'te koruyucu etkisinin olabileceği ve +276T mutant allelinin ise MS'te olumsuz etki gösterebileceği düşünülmüştür. Örnek sayımızın az olması ve adiponektin serum seviyelerinin ölçülememiş olması, daha net sonuçlar elde etmemize engel olmuştur.
2. Çalışmamız Türk toplumunda ve diğer toplumlarda MS ile ilgili +45T>G ve +276G>T polimorfizmleri açısından yapılmış ilk çalışmadır. Çalışmamızın kontrol grubu sonuçları ile farklı toplumlarla ve türk toplumundan farklı yörelerde yapılan çalışma sonuçları ile karşılaştırma imkanı elde edilmiştir (Tablo 4-7).
3. Çalışmaya dahil edilen vaka grubu Bolu halkı ile sınırlı olup, bu popülasyon oldukça homojen bir Türkmen kökene sahiptir. Polimorfizm sıklığı toplumdan topluma değişiklik gösterdiği için farklı etnik gruplarda da çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.
4. MS'te +45T>G allel frekansının $p=0,058$ olup $p<0.005$ 'e yakın olmasından dolayı bu alanda hasta sayısı yüksek çalışmalara ihtiyaç vardır.
5. Çalışmamızda proje bütçemiz nedeniyle adiponektin serum seviyeleri değerlendirilememiştir. Daha fazla sayıda hastada değerlendirilecek olan allel frekansları ve serum adiponektin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verecektir.

KAYNAKLAR

- [1] **Musabak U, Demirkaya S, Genç G, İlikçi RS, Odabaşı Z.** *Serum adiponectin, TNF- α , IL-12p70, and IL-13 levels in multiple sclerosis and the effects of different therapy regimens.* Neuroimmunomodulation, 2011; 18(1): 57-66.
- [2] **Tutkan H.** *Multipl Sklerozda Otonom İşlev Bozuklukları., Uzmanlık tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniği, İstanbul, 2006: 45s.*
- [3] **Nylander A, Hafler DA.** *Multiple Sclerosis.* The journal of Clinical Investigation, 2012; 122(4): 1180-1188.
- [4] **Hoffjan S, Akkad DA.** *The genetics of multiple sclerosis: an update 2010.* Molecular and cellular probes, 2010; 24(5): 237-243.
- [5] **Hayes CE.** *Vitamin D: a natural inhibitor of multiple sklerosis.* Proceeding of the Nutrition Society, 2000; 59(4): 531-535.
- [6] **Sioka C, et al.** *Vitamin D receptor gene polymorphisms in multiple sclerosis patients in northwest Greece.* J Negat Results Biomed, 2011; 10:3.
- [7] **Simon KC, Munger KL, Yang X, Ascherio A.** *Polymorphisms in vitamin D metabolism related genes and risk of multiple sclerosis.* Multiple Sclerosis, 2010; 16(2): 133-138.
- [8] **Gable DR, Hurel SJ, Humphries SE.** *Adiponectin and its gene variants as risk factors for insulin resistance, the metabolic syndrome and cardiovascular disease.* Atherosclerosis, 2006; 188: 231-244.
- [9] **Breitfeld J, Stumvoll M, Kovacs P.** *Genetics of Adiponectin.* Biochimie, 2012; 94(10): 2157-2163.
- [10] **Hietaharju A, Kuusisto H, Nieminen R, Vuolteenaho K, Elovaara I, Moilanen E.** *Elevated cerebrospinal fluid adiponectin and adipon levels in patients with multiple sclerosis: a Finnish co-twin study.* European Journal of Neurology, 2010; 17(2): 332-334.
- [11] **Disanto G, et al.** *heterogeneity in multiple sclerosis: scratching the surface of a complex disease.* Autoimmune diseases, 2010; 2011.
- [12] **O’Gorman C, Lucas R, Taylor B.** *Environmental risk factors for multiple sclerosis: A review with a focus on molecular mechanisms.* International journal of molecular sciences, 2012; 13(9): 11718-11752.
- [13] **Piccico L, et al.** *Lack of adiponectin leads to increased lymphocyte activation and increased disease severity in a mouse model of multiple sclerosis.* European journal of immunology, 2013; 43(8): 2089-2100.
- [14] Şubat 2015, MS international federation, www.msif.org/about-us/advocacy/atlas/, (10.02.2015).
- [15] **Ropper AH, Brown RH.** *Adams and Victor’s Principles of Neurology.* Çeviri editörü Murat Emre. Sekizinci baskı, İstanbul: Güneş Kitapevi, 2006; 771-779.

- [16] **Wiesel PH, Norton C, Glickman S, Kamm MA.** *Pathophysiology and management of bowel dysfunction in multiple sclerosis.* European journal of Gastroenterology and Hepatology, 2001; 13(4): 441-448.
- [17] **Karabudak R.** *Temel ve Klinik Nöroimmünoloji.* Ada Basın Yayın Tic. Ltd. Balıkesir.
- [18] **Keller A, et al.** *Comprehensive analysis of microRNA profiles in multiple sclerosis including next-generation sequencing.* Multiple Sclerosis Journal, 2014; 20(3): 295-303.
- [19] **Yüceyar AN, Kocaman AS.** *Multipl Skleroz Tanı Kriterleri.* Türkiye Klinikleri Dergisi, 2009; 2(2): 22-28.
- [20] **Poser CM, et al.** *New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols.* Annals of Neurology, 1983; 13(3): 227-231.
- [21] **Milo R, Miller A.** *Revised diagnostic criteria of multiple sclerosis.* Autoimmunity Reviews, 2014; <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2014.01.012>
- [22] **Gafson A, Giovannoni G, Hawkes CH.** *The diagnostic criteria for multiple sclerosis: From Charcot to McDonald.* Multiple Sclerosis and Related Disorders, 2011; 2012(1): 9-14.
- [23] **Poser CM, Brinar VV.** *Diagnostic criteria for multiple sclerosis: an historical review.* Clinical Neurology and Neurosurgery, 2004; 106(3): 147-158.
- [24] **McDonald WI, et al.** *Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis.* Annals of Neurology, 2001; 50(1): 121-127.
- [25] **Polman CH, et al.** *Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria".* Annals of Neurology, 2005; 58(6): 840-846.
- [26] **Zimmermann C, et al.** *Interferon beta-1b for treatment of secondary chronic progressive multiple sclerosis.* Nervenarzt, 1999; 70(8): 759-763.
- [27] **Durelli L, Clerico M.** *The importance of maintaining effective therapy in multiple sclerosis.* Journal of Neurology, 2005; 252(3): 38-43.
- [28] **Farias AS, Pradella F, Schmitt A, Santos LMB, Souza M.** *Ten years of proteomics in multiple sclerosis.* Proteomics, 2014; 14(4-5): 467-480.
- [29] **Smolders J.** *Vitamin D and multiple sclerosis: correlation, causality and controversy.* Autoimmun diseases, 2010;2011.
- [30] **Field J, et al.** *A polymorphism in the HLA-DPB1 gene is associated with susceptibility to Multiple Sclerosis.* Plos One, 2010; 5(10): e13454.
- [31] **Martin EG, et al.** *Vitamin D3 receptor (VDR) gene rs2228570 (FokI) and rs731236 (TaqI) variants are not associated with the risk for multiple sclerosis: Results of a new study and a meta-analysis.* PloS One, 2013; 8(6): e65487.
- [32] **Agliardi C, et al.** *Vitamin D receptor (VDR) gene SNPs influence VDR expression and modulate protection from multiple sclerosis in HLA-DRB1*15-positive individuals.* Brain Behav. Immun, 2011; 25(7): 1460-1467.

- [33] **Sadovnick AD.** *Genetic background of multiple sclerosis.* Autoimmunity Reviews, 2012; 11(3): 163-166.
- [34] **Pender MP, Burrows SR.** *Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: potential opportunities for immunotherapy.* Clinical & Translational Immunology, 2014; 3(10): 11 page.
- [35] **Ramagopalan SV, Sadovnick AD.** *Epidemiology of Multiple Sclerosis.* Neurol Clin, 2011; 29(29): 207-217.
- [36] **Ascherio A.** *Environmental factors in multiple sclerosis.* Expert Rev. Neurother, 2013; 13(12): 3-9.
- [37] **Kim JK, Mastronardi FG, Wood DD, Lubman DM, Zand R, Moscarello MA.** *Multiple Sclerosis, An Important role for post-translational modifications of myelin basic protein in pathogenesis.* Molecular and Cellular Proteomics, 2003; 2(7): 453-462.
- [38] **Ramagopalan SV, Dyment DA.** *What is Genetics of Multiple Sclerosis?.* Autoimmune Disease, 2011; 2011: 1-3.
- [39] **Sawcer S, Franklin RJM, Ban M.** *Multiple sclerosis genetics.* Lancet Neurology, 2014; 14: 1-10.
- [40] **Sadovnick AD.** *Differential effects of genetic susceptibility in males and females patients with multiple sclerosis.* Clinical immunology, 2013; 149(2): 170-175.
- [41] **Dyment DA, Ebers GC, Sadovnick AD.** *Genetics of multiple sclerosis.* Lancet Neurology, 2004; 3(2): 104-110.
- [42] **Chao MJ, et al.** *Parent of origin effects at the major histocompatibility complex in multiple sclerosis.* Human molecular genetics, 2010; 19(18): 3679-3689.
- [43] **Zivadinov R, et al.** *HLA-DRB1*1501, -DQB1*0301, -DQB1*0302, -DQB1*0602, and -DQB1*0603 alleles are associated with more severe disease outcome on MRI in patients with multiple sclerosis.* International review of neurobiology, 2007; 79: 521-535.
- [44] **Handel AE, Ramagopalan SV.** *Vitamin D and Multiple Sclerosis: an interaction between gene and environment.* Multiple Sclerosis, 2012; 18(1): 2-4.
- [45] **Ramagopalan SV, Anderson C, Sadovnick AD, Ebers GC.** *Genomewide Study of Multiple Sclerosis.* The new England Journal of Medicine, 2007; 357(21): 2199-2200.
- [46] **Martin EG, et al.** *Vitamin D3 receptor gene (VDR) Gene rs 2228570 (FokI) and rs731236 (TaqI) variants are not associated with the risk for multiple sclerosis: results of a new study and a meta-analysis.* Plos One, 2013; 8(6): 11 page.
- [47] **Hewagama A, Richardson B.** *The genetics and epigenetics of autoimmune disease.* J. Autoimmun. 2009; 33(1):3-11.
- [48] **International Multiple Sclerosis Genetic Consortium.** *Analysis of immune-related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple sclerosis.* Nature Genetics, 2013; 45(11): 1353-1360.

- [49] **Yang WS, et al.** *Adiponectin SNP276 is associated with obesity, the metabolic syndrome, and diabetes in the elderly.* The American journal of clinical nutrition, 2007; 86(2): 509-513.
- [50] **Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR.** *Adiponectin: More than Just Another Fat Cell Hormone.* Diabetes Care, 2003; 26(8): 2442-2450.
- [51] **Li L, Wu LL.** *Adiponektin and interleukin-6 in inflammation-associated disease.* Vitam Horm, 2012; 90: 375-395.
- [52] **Tsao TS, Lodish HF, Fruebis J.** *ACRP30, a new hormone controlling fat and glucose metabolism.* Europin Journal of Pharmacology, 2001; 440(2002): 213-221.
- [53] **Kadowaki T, Yamauchi T.** *Adiponectin and adiponectin receptors.* The Endocrine Society, 2005; 26(3): 439-451.
- [54] **Xu A, Vanhoutte P. M.** *Adiponectin and adipocyte fatty acid binding protein in the pathogenesis cardiovascular disease.* American Journal of Phisiology, 2012; 302(6): 1231-40.
- [55] **Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K.** *cDNA Cloning and Expression of a Novel Adipose Specific Collagen-like factor, apM1 (Adipose Most Abundant Gene Transcript 1).* Biochemical and Biophysical Research Communication, 1996; 221: 286-289.
- [56] **Takahashi M, et al.** *Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin.* International Journal of obesity and related Metabolic Disorders, 2000; 24(7): 861-868.
- [57] **Nedvikova J, Smitka K, Kopsky V, Hainer V.** *Adiponectin and Adipocyte-Derived Protein.* Physiological Research, 2004; 54(2): 133-140.
- [58] **Waki H, et al.** *Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin.* The Journal of Biological chemistry, 2003; 278(41): 40352-40363.
- [59] **Saleh S, El-Maraghy N, Reda E, Barakat W.** *Modulation diabetes and dyslipidemia in diabetic insulin-resistant rats by mangiferin: role of adiponectin and TNF- α .* An Acad Bras Cienc, 2014; 86(4): 1935-48.
- [60] **Lee JM, et al.** *Valsartan increases adiponectin levels without changing HOMA-IR in patients with type 2 diabetes and hypertension.* J Int Med Res, 2010; 38(1): 234-241.
- [61] **Qi Y, et al.** *Adiponectin acts in the brain to decrease body weight.* Nature medicine, 2004; 10(5): 524-529.
- [62] **Tsao TS, et al.** *Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways.* 2003; 278(50): 50810-50817.
- [63] **Shehzad A, Iqbal W, Shehzad O, Lee YS.** *Adiponectin: Regulation of its production and its role in human diseases.* Hormones, 2012; 11(1): 8-20.
- [64] **Başaran N.** *Tıbbi Genetik Ders Kitabı.* Güneş ve Nobel Tıp Kitapevi 1999.

- [65] **Spranger J, et al.** *Adiponectin does not cross the blood-brain barrier but modifies cytokine expression of brain endothelial cells.* Diabetes, 2006; 55(1): 141-147.
- [66] **Ornelas G, et al.** *Association of ADIPOQ+ 45T> G polymorphism with body fat mass and blood levels of soluble adiponectin and inflammation markers in a Mexican-Mestizo population.* Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy, 2012; 5 (2011): 369-378.
- [67] **Gonzalez-Sanchez JL, et al.** *An SNP in the adiponectin gene is associated with decreased serum adiponectin levels and risk for impaired glucose tolerance.* Obes Res, 2005; 13(5): 807-812.
- [68] **Vassuer F, et al.** *Single-Nukleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians.* Hum Mol Genet, 2002; 11(21): 2607-2614.
- [69] **Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Sjostrom L, Bouchard C.** *Mutations in adiponectin gene in lean and obese subjects from the Swedish obese subjects cohort.* Metabolism, 2003;52(7):881-884.
- [70] **Hara K. et al.** *Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population.* Diabetes, 2002; 51(2):536-540.
- [71] **Shin MJ, et al.** *The association of SNP276G>T at adiponectin gene with circulating adiponectin and insulin resistance in response to mild weight loss.* International journal of obesity, 2006; 30(12): 1702-1708.
- [72] **Gu HF.** *Biomarkers of Adiponectin:Plasma Protein Variation and Genomic DNA Polymorphisms.* Biomarker Insights, 2009; 4: 123-133.
- [73] **Karmelic I, et al.** *Adiponectin level and gene variability are obesity and metabolic syndrome markers in a young population.* Archives of medical research, 2012; 43(2): 145-153.
- [74] **Hekimoğlu A.** *Metabolik sendromda adiponektin.* Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2007; 4(2): 61-68.
- [75] **Wang Y, Xu A, Knight C, Xu LY, Cooper GJS.** *Hydroxylation and glycosylation of the four conserved lysine residues in the collagenous domain of adiponectin. Potential role in the modulation of its insulin-sensitizing activity.* The Journal of Biological chemistry, 2002; 277: 19521-19529.
- [76] **Caselli C.** *Role of Adiponectin system in insulin resistance.* Molecular genetics and metabolism journal, 2014; 7192(14): 292-293.
- [77] **Erlich HA, Gelfand D, Sninsky JJ.** *Recent advances in the polymerase chain reaction.* Science, 1991; 252(5013): 1643-1651.
- [78] **Shi Y, et al.** *Influence of CYP3A4, CYP3A5 and MDR-1 polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetics and early renal dysfunction in liver transplant recipient.* Gene, 2013; 512(2): 226-231.
- [79] **Abdolmohammadi A, Zamani P.** *SNP exploring in the middle and terminal regions of the IGF-1 gene and association with production and reproduction traits in Holstein cattle.* Gene, 2014; 540(1): 92-95.c

- [80] Moorhead SM, Dykes GA, Curson RT. *An SNP-based PCR assay to differentiate between Listeria monocytogenes lineages derived from phylogenetic analysis of the sigB gene*. Journal of Microbiological Methods, 2003; 55(2): 425-432.
- [81] Bichenkova EV, Lang Z, Yu X, Rogert G, Douglas KT. *DNA-mounted self- assembly: New approaches for genomic analysis and SNP detection*. Biochimica et Biophysica Acta, 2011; 1809(1): 1-23.
- [82] Papp AC, Pinsonneault JK, Cooke G, Sadee W. *Single nucleotide polymorphism genotyping using allele-specific PCR and fluorescence melting curves*. Biotechniques, 2003; 34(5): 1068-1072.
- [83] Baris I, Etlik O, Koksall V, Ocak Z, Baris ST. *SYBR green dye-based probe-free SNP genotyping: Introduction of T-Plex real-time PCR assay*. Analytical Biochemistry, 2013; 441(2): 225-231.
- [84] Günel T, Aydın K. *Real time PCR ve uygulama alanları*. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 2009; 2(2): 43-45.
- [85] Mackawy AMH. *Association of the +45T>G adiponectin gene polymorphism with insulin resistance in non-diabetic Saudi women*. Gene, 2013; 530(1):158-163.
- [86] Mousavinasab F, et al. *Common polymorphisms (single-nucleotide polymorphisms SNP+45 and SNP+276) of the adiponectin gene regulate serum adiponectin concentrations and blood pressure in young Finnish men*. Molecular Genetics and Metabolism, 2006; 87(2): 147-151.
- [87] Park JW, Park J, Jee SH. *ADIPOQ gene variants associated with susceptibility to obesity and low serum adiponektin levels in healthy Koreans*. Epidemiology and Health, 2011; 33: 1-7.
- [88] Leu H-B, et al. *Adiponectin gene polymorphism is selectively associated with the concomitant presens of metabolic syndrome and essential hypertension*. PloS ONE, 2011; 6(5): e19999.
- [89] Zhang N, et al. *Association of +45G15G(T/G) and +276(G/T) polymorphisms in the ADIPOQ gene with polycystic ovary syndrome among Han Chinese women*. European Journal of Endocrinology, 2008; 158(2): 255-260.
- [90] Arikoglu H. et al. *The adiponectin variants contribute to the genetic background of type 2 diabetes in Turkish population*. Gene, 2014; 534(1):10-16.
- [91] Hafler DA. *Multiple Sclerosis*. The journal of clinical investigation, 2004; 113(6): 788-794.
- [92] Ramagopalan SV, Sadovnick AD. *Epidemiology of Multiple Sclerosis*. Neurologic Clinics, 2011; 29(2): 207-217.
- [93] Fantuzzi G. *Adiponectin and inflammation: consensus and controversy*. J. Allergy Clin. Immunology, 2008; 121(2): 326-330.
- [94] Tilg H, Moschen AR. *Adipocytokine: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity*. Nature Reviews Immunology, 2006; 6(10): 772-783.
- [95] Nikolajevic-Starcevic J, Pleskovic A, Santl Letonja M, Jenko Praznikar C, Petrovic D. *Polymorphisms +45G>T and +276T>G of the adiponectin gene does not affect plasma*

adiponectin level and carotid intima-media thickness in patients with diabetes mellitus type 2. International Angiology, 2014; 33(5): 434-440.

- [96] **Gherman C. D, Pamfil D and Bolbaoca S. D.** *Association of atherosclerotic peripheral arterial disease with adiponectin genes SNP+45 and SNP+276: a case-control study.* Biomed Res. Int., 2013; 501203: 9 pages.



EKLER

1. Etik Kurul Onayı



EK-1: Etik Kurul Onayı



T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı :B.30.2.ABÜ.0.20.05.04-050.01.04- ²⁷⁶
Konu: Kararlar.

21.06.2012

Sayın; Yrd. Doç. Dr. Selma DÜZENLİ
A.İ.B.Ü.Tıp Fakültesi
Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 21 Haziran 2012 Perşembe günü yaptığı toplantısında değerlendirilen, **2012/127 no.lu'** Yrd. Doç. Dr. Selma DÜZENLİ'nin Sorumlu Araştırmacı olduğu Doç. Dr. Serpil YILDIZ, Alime YAZGAN'ın Yardımcı Araştırmacı olduğu "Adiponektin hormonunu kodlayan ADIPOQ geninin +45G>T ve +276G>T varyasyonlarının multiple skleroz etiyolojisindeki rollerinin araştırılması" başlıklı çalışmanızın, etik olarak uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mehmet YAZICI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Alime EROĞLU 10.07.1987 tarihinde Samsun'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Samsun'da tamamladı. 2009 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu Hemşirelik Bölümünden mezun oldu. 2010 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı. Ocak 2010'dan bu yana Sağlık Bakanlığı'na bağlı olarak İstanbul'da hemşire olarak görev yapmaktadır. Evli ve bir çocuk annesidir.

