

Türk toplumunda TNF- β NcoI (A252G) gen polimorfizmi ile tip I diabetes mellitus arasındaki ilişki

[Association between TNF- β NcoI (A252G) gene polymorphism and type I diabetes mellitus in Turkish population]

Ebru Alp^{1*},
Atiye Seda Yar¹,
Hassan Mohebbatikaljahi¹,
Hüseyin Demirci²,
İlhan Yetkin²,
Emine Sevda Menevşe¹

Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, 06500, Beşevler, Ankara,¹
Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 06510, Beşevler, Ankara,²

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Dr. Ebru Alp

*Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 2800, Giresun.
E-posta: ebrualmaz@hotmail.com

Kayıt Tarihi : 15 Aralık 2011; Kabul Tarihi : 2 Nisan 2012
[Registered: 15 December 2011; Accepted: 2 April 2012]

ÖZET

Amaç: Diabetes mellitus, hiperglisemi ile seyreden sistemik bir metabolik hastalıktır. Sitokinler özel reseptör ligandlarına bağlanarak sinyal iletimi ve ikincil haberci yollarını başlatır ve hedef hücrelerin aktivitesini kontrol eder. Tümör nekroz faktör, diyabette önemli rol oynayan ve en çok çalışılan sitokin ailesinin bir üyesidir. Çalışmamızda Türk toplumunda Tümör nekroz faktör beta geninde bulunan A252G (TNF- β NcoI, rs909253) polimorfizminin Tip I diyabet üzerindeki etkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntemler: A252G polimorfizminin dağılımı, 96 Tip I diyabet hastası ile 101 sağlıklı bireyde PCR-RFLP yöntemi ile belirlendi.

Bulgular: Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, A252G polimorfizminde A aleli G aleline göre hasta ve kontrol grubunda daha sık gözlenirken, G aleli hasta grubunda kontrol grubuna göre daha fazla görüldü. Bu durum, G alelinin Türk toplumunda diyabet hastalığına yakalanma riskini 1.6 kat arttırdığını göstermektedir (P=0.032). Genotip dağılımlarına bakıldığında ise hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi (P=0.132).

Sonuçlar: Sonuç olarak Türk toplumunda G alelinin tip I diyabet hastalığına yakalanma riskini arttırdığı gözlemlense de, genotip dağılımları dikkate alındığında TNF- β A252G polimorfizminin Tip I Diyabet üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Ancak daha fazla hasta sayısı içeren veya farklı polimorfizmlerin araştırıldığı çalışmalarda Türk toplumu için daha farklı sonuçlar elde edilebilecektir. Tip I diyabetin gelişiminde rol oynayan polimorfizmlerin belirlenmesi hastalığın gelişiminin ve ilerleyişinin daha iyi anlaşılmasına olanak sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Tip I diyabet, Sitokin, TNF- β , Polimorfizm, PCR

Tarafsızlık Beyanı: Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

ABSTRACT

Objective: Diabetes mellitus is a common metabolic disorder characterized by hyperglycemia. Cytokines induce signal transduction and secondary messenger pathways after binding their specific ligands. In this way, these proteins control and also modulate activity of the target cells. Tumor necrosis factor plays an important role in diabetes and is a member of the family of cytokines. In this study, we aimed to investigate the effect of A252G (TNF- β NcoI, rs909253) polymorphism in the tumor necrosis factor beta gene on the Type I Diabetes Mellitus in the Turkish population.

Materials and Method: Distribution of A252G polymorphism was determined in 96 patients with Type I diabetes and 101 healthy individuals by PCR-RFLP.

Results: When obtained data was evaluated, the A allele of A252G polymorphism were observed more frequently than G allele in patients and controls. Moreover, G alleles were observed more frequently among patients than in controls. This high frequency of G allele found in patients demonstrates a 1.6 fold increased risk of susceptibility to type I diabetes in Turkish population (P=0.032). However, there was no significant difference between patients and controls in terms of the distribution of genotypes (P=0.132).

Conclusion: As a result, although presence of a G allele demonstrated an increased risk of susceptibility to type I diabetes, TNF- β A252G polymorphism's genotype distribution was not associated with type I diabetes in Turkish population. Polymorphisms involved in the development of Type I Diabetes Mellitus results in better understanding of the development and the progression of disease.

Keywords: Type I diabetes, Cytokine, TNF- β , Polymorphism, PCR

Conflict of Interest: There is no conflict of interest among authors.

Giriş

Diabetes Mellitus (DM) vücudun hiç insülin üretmemesi, yeterli düzeyde insülin üretememesi veya insülini tam anlamıyla kullanamamasından kaynaklanan kronik metabolik bir hastalıktır. Diyabet, Tip I ve Tip II olmak üzere ikiye ayrılır. İnsüline bağımlı Tip I diyabet, insülin salgılayan pankreatik beta hücrelerinin yıkımıyla karakterize olan organa özgü bir hastalıktır. Tip II diyabet ise, insülin üretiminin eksikliğinden ziyade, üretilen insülinin gerektiği şekilde etki gösterememesinden kaynaklanır [1-3].

Birçok gen ve gen bölgeleri bu hastalığın gelişimine katkıda bulunur. Özellikle güçlü genetik duyarlılığı olan sitokinlerin insülin bağımlı DM'da önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Sitokinler vücutta değişik hücreler tarafından sentezlenen, çok işlevli polipeptidlerdir. Hastalıkların fizyopatolojisinde etkili olan ve terapötik potansiyele sahip olan sitokinler, immün sistem hücrelerinin işlevlerini kontrol eden ve inflamatuvar cevabı destekleyerek birçok fizyolojik cevapta önemli rol oynayan kimyasal habercilerdir [3,4]. Yangı ve immün reaksiyonlarda, aktif lenfositler, makrofajlar, endotel, epitel ve konnektif dokular tarafından oluşturulan sitokinlerin salınımları geçicidir. Sitokinlerin aktivasyonu hedef hücre yüzeyinde bulunan özgül reseptörlere bağlanmasına bağlıdır ve aktive olan sitokinler hücre çoğalmasını uyarırlar [3,5]. Tümör nekroz faktör (TNF), diyabet gibi birçok patolojik süreçte önemli rol oynayan ve en çok çalışılan sitokin ailesinin bir üyesidir [6]. TNF' in iki izoformu olan TNF- α (TNF alfa, kaşektin/kaşeksin) ve TNF- β (TNF beta, lenfotoksin), aynı hücre yüzey reseptörlerine bağlanabilir ve proinflamatuvar özelliklere sahiptir. Ayrıca benzer yapısal özelliklerinden dolayı bu sitokinler birçok benzer etkiyi gösterirler [7]. TNF- α , çoğunlukla aktive edilmiş makrofajlar ve bazı T lenfositleri ile doğal öldürücü hücreler tarafından üretilirken, TNF- β T hücre lenfositleri tarafından üretilir. TNF- α ve TNF- β genleri, 6. kromozomun (6p) kısa kolunda yer almakla birlikte büyük doku uygunluk kompleksinin (MHC; major histocompatibility complex) içinde bulunmaktadır [8].

TNF- α ve TNF- β gen bölgelerindeki çeşitli polimorfizmlerin, Tip I diyabet gibi otoimmün hastalıklarla ilişkisi tanımlanmış ve karakterize edilmiştir [9-11]. A252G (TNF- β NcoI polimorfizmi) (rs909253), TNF- β geninin birinci intronunda yer alır ve insülin direncinde farklılıklara yol açabileceği bildirilmiştir [12]. Yapılan sınırlı sayıdaki çalışmalarda TNF- β NcoI polimorfizmi ile diyabet arasındaki ilişki araştırılmıştır [3,13,14]. Bu bilgiler ışığında bu çalışmanın amacı Türk populasyonunda TNF- β geninin birinci intronunda yer alan A252G polimorfizminin sıklığını belirlemek ve bu polimorfizmin Tip I diyabet ile ilişkisini araştırmaktır.

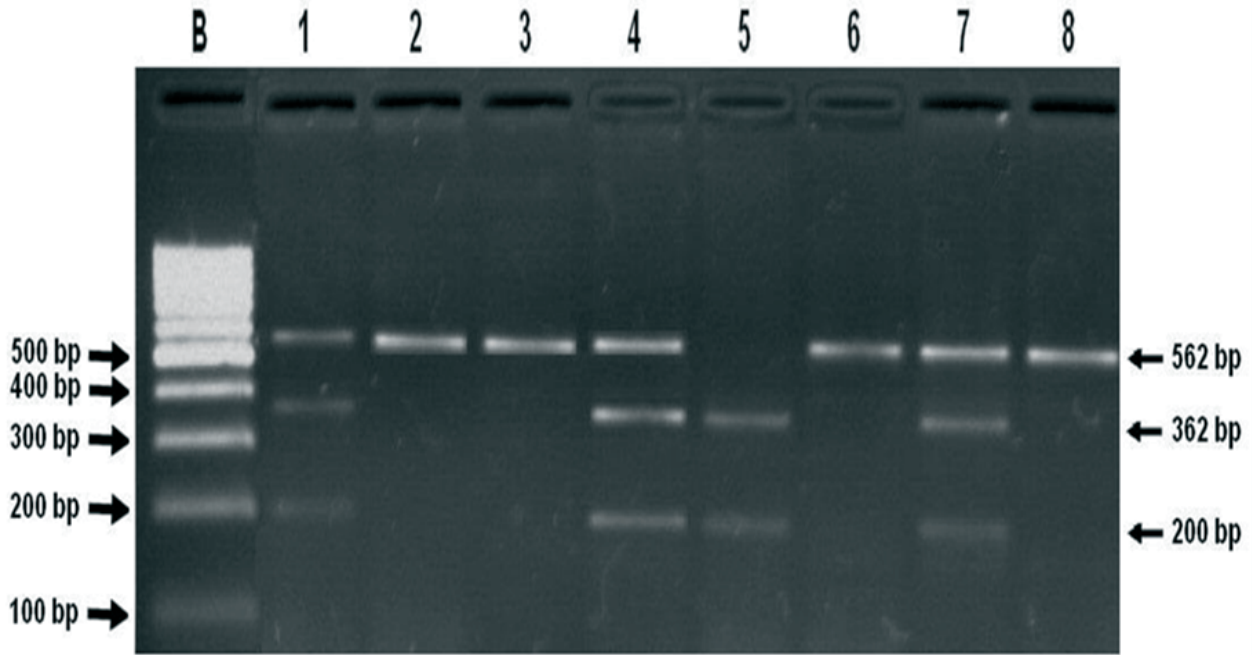
Gereç ve Yöntem

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Anabilim Dalından tanı alan 96 Tip I Diya-

bet hastası ve kontrol grubu olarak kardiyovasküler, se-rebrovasküler ve periferel damar hastalığı olmayan 101 kontrol birey çalışma kapsamına dahil edildi. Kontrol grubunu oluşturan bireylerde ve birinci derece akrabalarında diyabet, hipertansiyon, renal yetersizlik öyküsünün olmamasına dikkat edildi. Kontrol grubu bireylerinin açlık kan şekeri düzeyinin 100 mg/dL' nin altında olmasına dikkat edildi. Kontrol ve çalışma grubundaki tüm hastalar 18 yaşın üzerindediydi. Tip I DM tanısı ADA kriterlerine göre değerlendirildi [15]. Açlık kan şekeri düzeyinin 126 mg/dL' nin üstünde olan bireyler çalışmaya dahil edildi. Glisemi, venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile 'mg/dl' olarak ölçüldü. Diyabetik nefropati tanısı 3 kez toplanan 24 saatlik idrar numunelerinin en az ikisinde saptanan persistant mikroalbüminüri (30-300mg/gün) veya makroalbüminüri (>300mg/gün) varlığında koyuldu. Ayrıca başka böbrek veya üriner sistem hastalığı bulunmamaktaydı. Diyabetik retinopati tanısı ise göz dibi incelemelerinde background, preproliferatif veya proliferatif retinopati varlığında koyuldu. Çalışmamız, üniversitemiz yerel etik komitesinden onay almış ve çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrollerden gönüllü rıza formları alınmıştır.

96 Diyabet hastası ve 101 kontrole ait genomik DNA EDTA'lı tüplere alınan periferik kandan Heliosis DNA ekstraksiyon kiti (Metis Biyoteknoloji, Ankara) kullanılarak izole edildi. TNF- β NcoI (A252G) (rs909253) polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi kullanılarak belirlendi. A252G polimorfizmini içeren 562 bç uzunluğundaki bölge Forward-5'CGTGCTTCGTGCTTTGGACT 3', Reverse-5' TAGGGCTCAAGGTTTGGCTG 3' primerleri kullanılarak çoğaltıldı. Primerler, Primer Premier Software kullanılarak METIS Biyoteknoloji'de (Ankara, Türkiye) dizayn edildi. Primer sentezleri TIB-MOLBIOL'de (Almanya) yapıldı ve uygun PCR koşulları belirlendi. Bölge PCR ile çoğaltılırken PCR reaksiyonu; 50ng DNA, 100 μ m dNTP, 50 pmol/ μ l primerlerden her biri, 2.5 mM MgCl₂ ve 1U/ μ l Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas) kullanıldı ve reaksiyon tam otomatik bir thermal cycler (Eppendorf, Germany) ile gerçekleştirildi. PCR reaksiyonu; 94°C'de 5 dakika ilk denaturasyon ardından 30 döngü 94°C'de 1 dakika denaturasyon, 60°C'de 1 dakika primer bağlanma (annealing) ve 72°C'de 1 dakika sentez (extension) ve sonrasında 72°C'de 5 dakika son sentez (final extension) olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR ürünlerinin analizi agaroz jel elektroforez yöntemi ile gerçekleştirildi. TNF- β geninde bulunan A252G polimorfizmi PCR sonrasında RFLP yöntemiyle genotiplendirildi. Polimorfizmin genotiplendirilmesi için 562 bç uzunluğundaki PCR ürünü NcoI restriksiyon enzimi ile kesilerek %2'lük agaroz jelde yürütüldü ve UV altında değerlendirildi. Enzim kesimi sonucunda GG genotipi 362 bç ve 200 bç uzunluğunda bant verirken AA genotipi 562 bç uzunluğunda bant verdi (Şekil 1).

TNF Beta NcoI (A252G) polimorfizminin kontrol ve hasta gruplarındaki genotip dağılımının Hardy-



Şekil 1. TNF-β NcoI polimorfizminin RFLP sonrası %2' lik agaroz jel fotoğrafı. B-100 bç DNA moleküler ağırlık belirteci; 1, 4, 7. kuyular- AG genotipi; 2, 3, 6. kuyular - AA genotipi; 5. kuyu- GG genotipi; 8.kuyu-kesilmemiş PCR ürünü.

Weinberg eşitliğine uygunluğu Ki-Kare (χ^2) testi ile belirlendi. TNF Beta NcoI (A252G) polimorfizmine ait elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde "SPSS 15.0 for windows" paket programı kullanıldı. Kategorik karşılaştırmalar için Ki-Kare (χ^2) veya Fisher'in exact testi kullanıldı. Referans kategorilerine göre hasta ve kontrol grupları arasında hem genotip hem de alel bazında Olasılıklar Oranı (OO) ve %95 güven aralıkları (GA) hesaplandı. Klinik parametreler ile genotiplerin karşılaştırılmasında ise one-way ANOVA testi kullanıldı. $P < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Sonuçlar

Hasta ve kontrol grubuna ait klinik ve laboratuvar bulguları Tablo 1'de gösterilmiştir. Hasta grubunun yaş ortalaması 39.30 ± 16.62 iken kontrol grubunun yaş ortalaması 37.10 ± 11.25 'dir. Cinsiyet dağılımına baktığımızda hasta grubunda 54 kadın 42 erkek bulunurken kontrol grubunda 48 kadın 53 erkek bulunmaktadır. Diyabet başlangıç yaşı ortalama 18.22 ± 8.62 'dir. Hastaların 37'sinde ailede diyabet öyküsü 6'sında ise makrovasküler hastalık olduğu gözlemlendi. Mikrovasküler hastalıklardan 15 hastada diyabetik nöropati, 10 hastada diyabetik retinopati ve 18 hastada diyabetik nefropati gözlemlenmiştir. 16 hastada %7'den küçük veya eşit HbA1C oranı gözlenirken 80 hastada %7'den büyük HbA1C oranı gözlemlendi.

Tip I diyabetli hastalarda TNF-β A252G polimorfizmine ait alel ve genotip sıklıkları Tablo 2' de gösterilmiştir.

Bu polimorfizmde diyabetik hastalarda AA, GA ve GG genotiplerinin görülme sıklıkları sırasıyla %44.8, %39.6 ve %15.6 iken kontrol grubundaki görülme sıklıkları sırasıyla %57.8, % 33.3 ve %8.8'dir. Hasta ve kontrol grubunda genotip dağılımlarına bakıldığında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($P=0.132$). Tablo 2'de gösterildiği gibi TNF-β A252G polimorfizminde A aleli G aleline göre hasta ve kontrol grubunda daha sık gözlemlendi. G aleli kontrol grubunda %25.5 oranında gözlenirken hasta grubunda %35.4 oranında gözlemlendi. Bu sonuca göre G alelinin hasta grubunda daha fazla görülmesi G alelinin Türk toplumunda diyabet hastalığına yakalanma riskini 1.6 kat arttırdığını göstermektedir ($P=0.032$).

Bu çalışmada, 96 tip I DM hastası ve 101 sağlıklı bireye ait verilerin, Hardy-Weinberg eşitliğine uygun olduğu belirlendi (kontrol grubu için $P=0.216$, hasta grubu için: $P=0.186$). $P < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Bu sonuçlara göre TNF-β NcoI polimorfizminde GG, GA ve AA genotiplerinin görülme sıklığında, diyabetli hastalar ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir farklılık gözlenmezken ($P=0.132$) alel dağılımlarına bakıldığında hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlemlendi ($P=0.032$). Ayrıca hastalarda yaş, cinsiyet, diyabet başlangıç yaşı, diyabetik aile öyküsü, mikrovasküler hastalık ve HbA1C düzeyi ile genotipler karşılaştırıldı. Homozigot normal genotip (AA) ile riskli aleli içeren genotipler (AG/GG) karşılaştırıldığında bu özellikler açısından anlamlı bir fark gözlenmedi ($P > 0.05$) (Tablo 3).

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubuna ait klinik ve laboratuvar bulguları

Klinik ve Laboratuvar Bulgular	Hasta (n=96)	Kontrol (n=101)
Yaş (Ortalama± SSD)	39.30±16.62	37.10±11.25
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	54/42	48/53
Diyabet Başlangıç Yaşı (Ortalama± SSD)	18.22±8.62	-
Diyabet Aile Öyküsü	37	-
Makrovasküler Hastalık (KAH, PDH, SVH)	6	-
Mikrovasküler Hastalık		
Diyabetik Nöropati	15	
Diyabetik Retinopati	10	-
Diyabetik Nefropati	18	
HbA1C		
≤ %7	16	
> %7	80	-

SSD: Standart sapma değeri

KAH: Koroner arter hastalığı

PDH: Periferik Damar Hastalığı

SVH: Serebrovasküler hastalık

HbA1C: Glycosylated (glycated) hemoglobin

Tablo 2. Tip I diyabetli hastalar ve kontrol grubu arasında TNF-β NcoI (A252G) (rs909253) polimorfizmine ait genotip ve allel sıklıkları

Genotipler	Kontroller (n=101)	Hastalar (n=96)	P	OO (% 95 GA)	P
Genotipler			0.132		
AA	59 (%57.8)	43 (%44.8)		1	
AG	34 (%33.3)	38 (%39.6)		1.53 (0.84-2.81)	0.167
GG	9 (%8.8)	15 (%15.6)		2.29 (0.92-5.71)	0.072
Alleller			0.032		
A	152 (%74.5)	124 (%64.6)		1	
G	52 (%25.5)	68 (%35.4)		1.60 (1.04-2.47)	0.032

OO: Olasılık Oranı

GA: Güvenlik Aralığı

Tablo 3. Diyabetik hastalarda klinik parametrelerin genotiplerle karşılaştırılması

Genotip	AA (n=43)	AG/GG (n=53)	P
Yaş (Ortalama± SSD)	40.27±13.13	38.54±12.53	0.512
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	24/19	28/25	0.770
Diyabet Başlangıç Yaşı (Ortalama± SSD)	17.53±3.86	18.81±3.59	0.098
Diyabet Aile Öyküsü	18	19	0.547
Mikrovasküler Hastalık	16	27	0.178
HbA1C			
≤ %7	5	11	0.233
> %7	38	42	

SSD: Standart sapma değeri

HbA1C: Glycosylated (glycated) hemoglobin

Tartışma

Diyabetik hastalarda TNF- β polimorfizmiyle yapılan çalışma sayısı sınırlıdır. TNF- β lenfotoksin- alfa veya LTA olarak da bilinen TNF-b proteini kodlar. TNF- β 'nin ilk intronunda 252. pozisyonda A252G polimorfizmi tanımlanmıştır [16]. Beyaz Avrupalılarda TNFB*1 (alel G) en az görülen aleldir ve sağlıklı insanlarda yüksek TNF- α ve TNF- β üretimi ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca TNFB*1 alleleline sahip insülin bağımlı diyabet hastalarında (IDDM) TNFB*2 (alel A) alleleline sahip hastalara göre oldukça düşük düzeyde TNF- β salınımı gözlenmiştir [9,13,17]. Jang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada TNF- β 252GG genotipi hiperinsülinemi, dislipidemi, küçük LDL partikülü ve düşük adiponektin gibi metabolik sendrom özellikleri ile ilişkili bulunmuştur [18]. Ayrıca Kankova ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada sağlıklı non-obez beyaz Avrupalılarda glikoz ve lipid homeostazının düzenlenmesinde TNF- β A252G polimorfizminin muhtemel etkisinden söz edilmektedir [19].

TNF- α ve TNF- β genlerindeki polimorfizmlerin kardiyovasküler [20] ve serebrovasküler [21] hastalıklarla olduğu kadar diyabetik nefropati [22] ve retinopati [23] gibi diyabetik komplikasyonlar ile de ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Kankova ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada insülin bağımsız diyabette (NIDDM) TNF- β 2 alelinin proliferatif diyabetik retinopati (PDR) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [14]. Ancak, Yoshika ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada TNF- β NcoI polimorfizmi ile tip II diyabet hastalarında gelişen diyabetik retinopati arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır [24]. Literatürde LTA polimorfizmleri (A252G ve C804A) ile tip II diyabet arasındaki ilişkiyi araştıran bazı çalışmalar bulunmaktadır [25,26]. Japon toplumunda yapılan bir çalışmada miyokardiyal enfarktüs (MI) geçiren hastalarda tip II diyabete yakınlıkta 252GG genotipinin önemli rol oynadığı bildirilmiştir [26]. Ancak İngiltere'de Newton ve arkadaşları [12] tarafından yapılan bir başka çalışmada insülin bağımsız diabetes mellitus ile TNF- β NcoI (A252G) polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Montazeri ve arkadaşlarının gestasyonel diyabet hastalarında yaptığı bir başka çalışmada bu hastalığın gelişimiyle TNF- β NcoI (A252G) polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır [27]. Bu çalışmaların dışında Tip I diyabet ile ilgili yapılan bazı çalışmalar bulunmaktadır. Nishimura ve arkadaşlarının [3] Japon toplumunda yaptığı bir çalışmada A252G polimorfizmi ile tip I diyabet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmiştir. Bouqbis ve arkadaşlarının Fas toplumunda yaptıkları bir başka çalışmada ise TNF- α -307*2-TNF- β +252*2 haplotipinin tip I diyabete (T1DM) karşı önemli ölçüde koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (OR=0.031) [28]. Bizim çalışmamızda allel dağılımlarına bakıldığında G aleli hasta grubunda kontrol grubuna oranla daha fazla gözlemlendi. Bu sonuç bize G alelinin Türk toplumunda Tip I diyabet hastalığına yakalanma riskini 1.6 kat art-

tırdığını göstermektedir (P=0.032). Ancak genotip dağılımlarına bakıldığında GG, GA ve AA genotiplerinin görülme sıklığında, tip I diyabetli hastalar ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Ayrıca klinik parametreler ile genotipler karşılaştırıldığında, homozigot normal genotip (AA) ile riskli aleli içeren genotipler (AG/GG) arasında klinik parametreler açısından anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Bilgilerimiz dahilinde Türk toplumunda bu polimorfizm ile tip I diyabet arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca bu alanda literatürdeki çalışma sayısı da oldukça sınırlıdır. Araştırmamız az sayıda hastadan oluşan bir ön çalışma olmakla birlikte genotip dağılımlarına bakıldığında TNF- β A252G polimorfizminin tip I diyabet gelişiminde önemli bir risk oluşturmadığını gözlemledik. Ancak allel dağılımları dikkate alındığında elde ettiğimiz bulgular bize G alelinin bu hastalığın gelişiminde risk olabileceğini düşündürdü. Sonuç olarak daha geniş hasta ve kontrol gruplarıyla yapılacak olan çalışmalar daha sağlıklı sonuçlar elde etmemize yardımcı olacaktır.

Tarafsızlık Beyanı: Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

- [1] Robertson RP, Harmon JS. Diabetes, glucose toxicity, and oxidative stress: A case of double jeopardy for the pancreatic islet beta cell. *Free Radic Biol Med* 2006; 41(2):177-84.
- [2] Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15(7):539-53.
- [3] Nishimura M, Obayashi H, Mizuta I. TNF, TNF receptor type 1, and allograft inflammatory factor-1 gene polymorphisms in Japanese patients with type 1 diabetes. *Hum Immunol* 2003; 64:302-309.
- [4] Tret'iak EB, Syroedova ON, Neuhaus O, Andreeva AV, Antsiferov MB, *et al.* Cytokines and their role in pathogenesis of diabetic retinopathy. *Vestn Oftalmol* 2010; 126(6):53-7.
- [5] Fernandez-Real JM, Gutierrez C, Ricant W, Casamitjana R. The TNF-beta gene Nco I polymorphism is not associated with hypertriglyceridemia or insulin resistance in lean and obese subjects. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236:829-832.
- [6] Badenhoop K, Schwarz G, Schleusener H, Weetman AP. Tumor Necrosis Factor Beta Gene Polymorphisms in Graves' Disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74:287-291.
- [7] Porter AG. Human tumor necrosis factor-alpha and -beta: differences in their structure, expression and biological properties. *FEMS Microbiol. Immunol* 1990; 2(4):193-99.
- [8] Khani-Hanjani A, Hoar D, Horsman D, Keown P. Identification of four novel dinucleotide repeat polymorphisms in the TNF-a and TNF-b genes. *Hum Immunol* 2000; 61:511-512.
- [10] Messer G, Spengler U, Jung MC, Honold G, Blömer K, *et al.* Polymorphic structure of the tumour necrosis factor (TNF) locus: an NcoI polymorphism in the first intron of the human TNF-b gene correlates with a variant amino acid in position 26 and a related level of TNF-b production. *J Exp Med* 1991; 173:209.
- [11] Ilonen J, Merivuori H, Reijonen H, Knip M, Akerblom HK, *et al.* Tumour necrosis factor-b gene RFLP alleles in Finnish IDDM haplotypes. *Scand J Immunol* 1992; 36:779.

- [12] Udalova IA, Nedospasov SA, Webb GC, Chaplin DC, Turetskaya RL. Highly informative typing of the human TNF locus using six adjacent polymorphic markers. *Genomics* 1993; 16:180.
- [13] Newton DJ, Bowen-Jones D, Crosby I, Barnes RMR, Flanagan BF. TNFB gene polymorphism in insulin-dependent diabetes mellitus: association with HLA-DR alleles. *Eur J Immunogenet* 1998; 25:39-41.
- [14] Whichelow CE, Hitman GA, Raafat I, Bottazzo GF, Sachs JA. The effect of TNF-B gene polymorphism on TNF-alpha and -beta secretion levels in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and healthy controls. *Eur J Immunogenet* 1996; 23(6):425-35.
- [15] Kankova K, Muzik J, Karaskova J, Beranek M, Hajek D, et al. Duration of non-Insulin-dependent diabetes mellitus and the TNF-beta NcoI genotype as predictive factors in proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmologica* 2001; 215(4):294-8.
- [16] Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 1:5-20.
- [17] Eiken HG, Odland E, Boman H, Skjerkvale L, Engerbretsen LF, et al. Application of natural and amplification-created restriction sites for the diagnosis of PKU mutations. *Nucl Acids Res* 1991; 19:1427-30.
- [18] Pociot F, Briant L, Jongeneel CV, et al. Association of tumor necrosis factor (TNF) and class II major histocompatibility complex alleles with the secretion of TNF-a and TNF-b by human mononuclear cells: a possible link to insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Immunol* 1993; 23:224-31.
- [19] Jang Y, Kim HJ, Koh SJ, Hyun YJ, Chae JS, et al. Lymphotoxin-alpha gene 252A>G and metabolic syndrome features in Korean men with coronary artery disease. *Clin Chim Acta* 2007; 384(1-2):124-8.
- [20] Kanková K, Márová I, Jansen EH, Vasků A, Jurajda M, et al. Polymorphism NcoI in tumor necrosis factor B is associated with fasting glycemia and lipid parameters in healthy non-obese caucasian subjects. *Diabetes Metab* 2002; 28(3):231-7.
- [21] Bernard V, Pillois X, Dubus I, Benchimol D, Labouyrie JP, et al. The -308 G/A tumor necrosis factor-alpha gene dimorphism: a risk factor for unstable angina. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41:511-516.
- [22] Um JY, An NH, Kim HM. TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms in cerebral infarction. *J Mol Neurosci* 2003; 21:167-171.
- [23] Manchanda PK, Kumar A, Kaul A, Mittal RD. Correlation between a gene polymorphism of tumor necrosis factor-alpha (G/A) and end-stage renal disease: a pilot study from north India. *Clin Chim Acta* 2006; 370:152-157.
- [24] Kumaramanickavel G, Sripriya S, Vellanki RN, Upadyay NK, Badrinath SS, et al. Tumor necrosis factor allelic polymorphism with diabetic retinopathy in India. *Diabetes Res Clin Pract* 2001; 54:89-94.
- [25] Yoshioka K, Yoshida T, Takakura Y, Umekawa T, Kogure A, et al. Relationship between polymorphisms 804C/A and 252A/G of lymphotoxin-alpha gene and -308G/A of tumor necrosis factor alpha gene and diabetic retinopathy in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2006; 55(10):1406-10.
- [26] Hamid YH, Urhammer SA, Glumer C, Borch-Johnsen K, Jørgensen T, et al. The common T60N polymorphism of the lymphotoxin- α gene is associated with type 2 diabetes and other phenotypes of the metabolic syndrome. *Diabetologia* 2005; 48:445-51.
- [27] Yamada A, Ichihara S, Murase Y, Kato T, Izawa H, et al. Lack of association of polymorphisms of the lymphotoxin α gene with myocardial infarction in Japanese. *J Mol Med* 2004; 82:477-83.
- [28] Montazeri S, Nalliah S, Radhakrishnan AK. Association between polymorphisms in human tumor necrosis factor-alpha (-308) and -beta (252) genes and development of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 88(2):139-45.
- [29] Bouqbis L, Akhayat O, Garchon HJ, Calafell F, Izaabel H. TNFA-TNFB haplotypes modify susceptibility to type I diabetes mellitus independently of HLA class II in a Moroccan population. *Tissue Antigens* 2003; 61(1):72-9.