

KKTC
YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**PEROKSİZOM PROLİFERATÖR-AKTİVE RESEPTÖR
ALFA (PPAR- α) GEN VARYASYONLARI İLE BETA-
TALASEMİ KLİNİK FENOTİPİ ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yıldız ALTUNTAŞ

MOLEKÜLER TIP
YÜKSEK LİSANS TEZİ

LEFKOŞA
2018

KKTC
YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**PEROKSİZOM PROLİFERATÖR-AKTİVE RESEPTÖR
ALFA (PPAR- α) GEN VARYASYONLARI İLE BETA-
TALASEMİ KLİNİK FENOTİPİ ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yıldız ALTUNTAŞ

MOLEKÜLER TIP
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. Mahmut Çerkez Ergören
Prof. Dr. Gamze Mocan

LEFKOŞA
2018

ONAY

Bu tez çalışması 13.11.2018 tarihinde jürimiz tarafından Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalları Moleküler Tıp Programı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı/ Eş Danışman: Prof. Dr. Gamze Mocan
Yakın Doğu Üniversitesi Dekan
Tıbbi Patoloji ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalları Başkanı

İmza:

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mahmut Çerkez Ergören
Yakın Doğu Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

İmza:

Üye: Prof. Dr. Rüveyde Bundak
Girne Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı

İmza:



Üye: Prof. Dr. Nevbahar Turgan
Yakın Doğu Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

İmza:

Üye: Prof. Dr. Canan Özoğul
Girne Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü

İmza:

Onaylayan: Prof. Dr. K. Hüsnü Can Başer
Yakın Doğu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İmza:



TEŞEKKÜR

Tezimin proje aşamasında, hazırlanmasında ve eğitim sürecimde değerli katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım çok değerli hocalarım Doç. Dr. Mahmut Çerkez Ergören, Doç. Dr. Şehime G. Temel ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Gamze MOCAN'a,

İstatistik çalışmalarımda yardımları için Doç. Dr. Mahmut Çerkez ERGÖREN'e,

Tezim için gerekli tüm malzeme ve yardımı ile bana destek olan Doç. Dr. Kerem Teralı, Uzm. Dr. Dilek Yazman ve Uzm.Dr. Begüm Sadıkoğlu'na,

Yardımlarını ve sevgilerini benden esirgemeyen sevgili aileme tüm kalbimle

Teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Moleküler Tıp Bilim Uzmanı

Yıldız ALTUNTAŞ

ÖZET

Beta talasemi (BT) en yaygın otozomal resesif hematolojik bozukluklardan biridir. Lipid profilindeki değişiklikler β -talasemi ile uyumlu olarak bildirilmiş, ancak patogenezi hala açıklanamamıştır. *PPAR- α* gen lokusunun hem kodlanan hem de kodlayıcı olmayan bölgelerinde bulunan genetik varyasyonlar dislipideminin hematolojik ve metabolik hastalıklarda etkili olduğu bilinmektedir.

Dünya'daki farklı bölgelerdeki beta-talasemi (BT) mutasyonlarının heterojenitesi ve farklı çevresel faktörlerin koruyucu hekimlik için yanıltıcı olabileceğini göz önünde bulundurulduğunda, talasemi majör (TM) ve talasemi intermadiate (TI) hastalarda lipit profillerini araştırmayı hedeflerken, talasemi ve taşıyıcıların prevalansının çok yüksek olduğu Kıbrıslı Türklerin popülasyonunda *PPAR- α* gen varyantlarına duyarlılık gösteren dislipidemiler ile olası ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

PPAR- α rs4253778 G/C, rs1800206 C/G ve rs135539 A/C gen polimorfizmlerinin BT hastalarının klinik fenotipleri (42 BT majör + 25 BT intermadiate) ve BT taşıyıcıları (50) ile olası ilişkisi, genotip-fenotip ilişkisini daha iyi anlamak için ayrıca beta-globin geni mutasyonu olmayan (100) bireylerde de araştırılmıştır. Sonuçlarımız, beta-talasemi majör ve intermediate hastalarda *PPAR- α* rs4253778 CC genotipi ve trigliserid (TG) ile güçlü ilişki olduğunu gösterdi. Ancak, bilimsel literatür, birçok popülasyonda dislipidemide *PPAR- α* rs4253778 SNP C alelinin koruyucu etkisi veya herhangi bir etkisinin olmaması için genetik epidemiyolojik kanıt sağlar.

Burada, *PPAR- α* geni rs4253778 CC genotipinin, beta talasemi major ve intermediate bireylerde TG metabolizmasını daha etkili bir şekilde etkileyebileceği gözlenmiştir. Bu, talaseminin biyokimyasal fenotipinin şiddetinin kişiden kişiye farklılık göstermesini açıklayabilir.

Genel olarak, çalışmamızın sonuçları, Kıbrıslı Türk Talasemili bireylerde, *PPAR- α* rs4253778 CC genotipinin TG seviyesinin yüksekliğinde etkili olduğunun ve genetik risk faktörü olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *PPAR- α* , rs4253778, Thallasemia, Turkish Cypriot, dislipidemi

ABSTRACT

Beta thalassemia (BT) is one of most common autosomal recessive hematologic disorder. Alterations in the lipid profile have been reported consistent with β -thalassemia, but the pathogenesis is not clear. Genetics variations within in both the coding and noncoding regions of the *PPAR-alfa* gene locus contribute to dyslipidemias and imply metabolic and hematologic risks.

Considering the heterogeneity of beta-thalassemia (BT) mutations in different regions of the World as well as different environmental factors might mislead physicians for preventive medicine, we decided to investigate the lipid profiles in patients with thalassemia major (TM) and thalassemia intermediate (TI) and examine the possible association with dyslipidemias causing susceptibility *PPAR- α* gene variants in the population of Turkish Cypriots, where the prevalence of thalassemia and carriers are very high.

The possible association of the *PPAR- α* rs4253778 G/C, rs1800206 C/G and rs135539 A/C polymorphisms with the clinical phenotype of BT patients (42 BT major + 25 BT intermediate) as well BT traits (50) and not-affected individuals (100) have been investigated for better understanding the genotype-phenotype relationship. Our results showed the strong association with the *PPAR- α* rs4253778 CC genotype and triglyceride (TG) in beta-thalassemia major and intermediate patient. However, the scientific literature provides genetic epidemiological evidence of either a protective effect or a lack of effect of the *PPARA* rs4253778 C allele in dyslipidemia in many populations.

It is tempting to speculate here that the *PPAR- α* gene rs4253778 CC genotype could possibly impair TG metabolism more effectively in beta thalassemia major and intermediate subjects. This could be explaining the variations of severity of the biochemical phenotype of thalassemia.

Overall, the results from our study establish the homozygous wild-type genotype (CC) at the *PPAR- α* rs4253778 locus as a genetic risk factor with a TG-elevating effect in a population of Turkish Cypriot Thalassemia patients.

Keywords: Thalassemia, *PPAR- α* , rs4253778, Turkish Cypriots, dyslipidemia

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
1.1. Problemin Tanımı	1
1.2. Araştırmanın Amacı	3
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Talasemi Tanımı ve Tarihi	4
2.2. Epidemiyoloji	4
2.3. Talasemi Sınıflandırılması	7
2.3.1. Alfa Talasemiler	7
2.3.2. Beta Talasemiler	8
2.3.2.1 Beta Talasemi Minör	12
2.3.2.2 Beta Talasemi Intermedia	13
2.3.2.3 Beta Talasemi Major	13

2.4. Talasemi Moleküler Patofizyolojisi	14
2.5. Peroksizom Proliferatör-Aktive Edici Reseptör Transkripsiyon Süper Ailesi	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1 Gereç	29
3.1.1 Kullanılan Markalar	29
3.1.2 Kullanılan Cihazlar	29
3.1.3 Kimyasallar	29
3.1.3.1 Enzimler	29
3.1.3.2 Moleküler Belirteçler	29
3.1.3.3. Oligonukleotidler	30
3.1.4 Çalışma Grubu	30
3.1.5 Biyokimyasal Analizler	30
3.1.6 Bilgisayar Programları	30
3.2 Yöntemler	31
3.2.1 Periferik Kandan DNA izolasyonu	31
3.2.2 DNA Konsantrasyonlarının Ölçülmesi	31
3.2.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	31
3.2.4 Restriksiyon Enzim Kesim Reaksiyonu (PCR-RFLP)	31
3.2.5 Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme İşlemi	33
3.2.6 Biyoistatistik Değerlendirme	33
4.BULGULAR	34
4.1 Çalışılan grupların klinik ve laboratuvar özellikleri tarafından değerlendirilmesi	34
4.2. PPARA (rs4253778, rs1800206, rs135539) gen varyasyonlarının Kıbrıslı Türk Talasemi hastalarında ve Sağlıklı Populasyondaki genotip ve alel frekanslarının belirlenmesi	35

4.3. Çalışılan Talasemi Major, intermediate, taşıyıcı ve kontrol gruplarında PPARA gen polimorfizmlerinin (rs4253778, rs1800206, rs135539) klinik ve laboratuvar parametreleri ile karşılaştırılması.	38
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	49
6.1. Sonuçlar	49
6.2. Öneriler	49
KAYNAKLAR	50
Ek 1. Etik Kurul Onayı	70
Ek 2. Kurum Araştırma Onayı	71

SİMGELER VE KISALTMALAR

APOA1	Apolipoprotein A1
APOA5	Apolipoprotein A5
APOC3	Apolipoprotein C3
BTM	Beta Talasemi Major
BMP	Kemik Morfojenetik Proteinleri
bp/bç	Baz çifti (base pair)
CBC	Tam Kan Sayımı
CING	Cyprus Institute of Neurology and Genetics
COX	Siklooksijenaz Enzimi
EPO	Eritropoetin
EPOR	Eritropoitein Reseptörü
GATA-1	Eritroid Transkripsiyon Faktörü
Hb	Hemoglobin
HDL-C	Yüksek-yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
HH	Herediter Hemokromatozis
HIF	Hipoksi ile indüklenebilir Faktörler
LBD	Ligand Bağlanma Domeni
LDH	Laktat Dehidrojenaz
LDL-C	Düşük-yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
LPL	Lipoprotein Lipaz
MCH	Ortalama Eritrosit Hemoglobin
MCHC	Ortalama Hemoglobin Yüzdesel Miktarı
MCV	Ortalama Eritrosit Hacmi
NTSP	Ulusal Talasemi Tarama Programı
PPAR	Peroksizom Proliferatör-Aktifleştirici Reseptör
PPAR α	Peroksizom Proliferatör Aktifleştirici Reseptör-Alfa
PPRE	Peroksizom Proliferatör Yanıt Elemanı
RBC	Eritrosit Sayısı
RDW	Eritrosit Dağılım Genişliği
RFLP	Restriksiyon Fragman Uzunluk Poliformizmi

ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RXR	Retinoid X reseptörü
TG	Trigliserid
TKS	Tam Kan Sayımı
TNF	Tumor Necrosis Factor
TI	Talasemi İntermadiate
α	Alfa
α -globin	Alfa-globin
β	Beta
β -globin	Beta globin

TABLULAR

Tablo 2.1. Türkiye’de farklı illerde beta talasemi taşıyıcılığı sıklığı.....	9
Tablo 2.2. Türkiye’de görülen β -talasemi mutasyonları ve bazı anormal hemoglobinlerin bölgelere göre dağılımları ve sıklıkları.....	10
Tablo 2.3. Kıbrıs’ta en sık görülen beta talasemi mutasyonları.....	11
Tablo 2.4. Kıbrıs Türk Toplumunda Globin Gen Defektleri.....	12
Tablo 2.5 Peroksizom Proliferatör-Aktive Reseptörler (PPAR’lar) alt türleri ve özellikleri.....	25
Tablo 3.1. PPARA (rs4253778, rs1800206, rs135539) gen polimorfizmlerinin primer ve restriksiyon enzimleri listesi.....	29
Tablo 4.1. Dört çalışma grubunun biyokimyasal parametreler ile karşılaştırılması...35	
Tablo 4.2. Çalışılan dört grupta üç PPARA polimorfizminin Genotip ve Allel dağılımı.....	37
Tablo 4.3. 1000genome ve dbSNP’e göre üç PPARA varyantının allel frekansları...38	
Tablo 4.4.a. İncelenen dört grupta rs4253778 polimorfizmin klinik parametreler ile karşılaştırılması.....	41
Tablo 4.4.b. İncelenen dört grupta rs1800206 polimorfizmin klinik parametreler ile karşılaştırılması.....	42
Tablo 4.4.c. İncelenen dört grupta rs135539 polimorfizmin klinik parametreler ile karşılaştırılması.....	43

1. GİRİŞ

1.1. Problemin Tanımı

Beta talasemi hastalığı, beta globin zincirlerinin sentezindeki bozukluk, alfa ve beta zincir dengesizliği, etkin olmayan eritropoez ve kronik aneminin sonucu gelişir. Beta-Talasemi, hemoglobinin β -globin zincirlerinin azaltılmış sentezinin bir sonucu olan mikrositoz ve hemolitik anemi ile karakterize herediter, otozomal resesif bir rahatsızlıktır (Weatherall ve Clegg, 2001; Cunningham ve ark.,2009).

Talasemi dünyada en sık görülen genetik hastalık olarak tanımlanmıştır. Talasemi, ilk kez 1925 yılında pediatriist Thomas Cooley tarafından tanımlanarak; Cooley bebeklerde derin anemi ve splenomegali denilen büyüme geriliği, dalak büyüklüğü gibi klinik tablolar gözlemlemiş ve hastalık Cooley Anemisi olarak tarif edilmiştir. Daha sonra benzer vakaların görülmesi üzerine bu herediter hemolitik anemiye Van Jaksch anemisi, splenik anemi, eritroblastozis, Akdeniz anemisi adları verilmiştir. 1936 yılında George Whipple ve Lesley Bradford inceledikleri vakaların Akdeniz civarı ülkelerden geldiklerini saptadıkları için Yunanca deniz anlamına gelen “thalassa” adını vermişlerdir. Daha sonra yapılan araştırmalarda bu hastalığın sadece Akdeniz ülkeleri toplumlarında olmadığı diğer toplumlarda bulunduğu bildirilmiştir (Cooley ve Lee, 1925; Günçağ ve ark., 2003).

Dünya populasyonunun yaklaşık %3 kadarı (150 milyon) beta globin zincirinde talasemiye sebep olan gen mutasyonları taşıyıcısıdır. Talasemi, Akdeniz havzasından ve Afrika'nın bazı bölgelerine, Orta Doğu, Hint Yarımadası, Güneydoğu Asya ve Melanezya'ya kadar uzanan geniş bir alanda yüksek oranda görülmüştür. β -talasemi için taşıyıcı frekanslar bu alanlarda % 1 ile % 20 arasında değişir ve nadiren daha yüksek olabilir. Türkiye genelinde ise beta talasemi taşıyıcılığı oranı %2 olmakla birlikte, bu sayı bazı bölgelerde %10 'a kadar çıkabilmektedir (De Sanctis ve ark., 2017; Weatherall, 2010; Weatherall ve Clegg, 1996)

Talasemi, Kıbrıs'ta büyük bir sağlık sorunuydu. Hastalık hakkındaki ilk bilgiler Dr. Alan Fawdry'nin 1944-1946 yılları arasında Kıbrıs'ta görevi sırasında yazdığı raporlarda bulunmuştur (Modell ve Berdoukas, 1984). Yüzyıllarca Kıbrıs'ta endemik olan sıtma, yüksek insidansa sahipti. Sıtma ciddi sosyo-ekonomik hasara neden olmuştu.

Birçok insan, özellikle de çocuklar bu hastalık yüzünden ölmüştür. Sıtmadan kurtulanlar, mikrositik hipokromik anemi ve genişlemiş dalaklara sahipti. Daha sonra bebekler talasemi özellikleriyle birlikte ciddi hemolitik anemi ile doğdu. Sıtma 1946-1950 yılları arasında başarılı eradikasyon programları ile tamamen kontrol altına alındı (Aziz, 1947; Kent, 1951). Sıtma sonrası talasemi, adadaki ikinci en ciddi halk sağlığı problemi gibi görünüyordu. Adada 1984 yılında, 10 yaş altı 230 çocukta talasemik bulundu (Modell ve Berdoukas, 1984).

Otozomal resesif kalıtılan beta talasemi hastalığından sorumlu olan gen, her bireyin genomunda 11 nolu kromozomun kısa kolunda yer alan 3 ekzon, 2 intron ile 5' ve 3' düzenleyici bölgelerden oluşan beta globin (*HBB*, β -globin, hemoglobin beta) genidir (Higgs ve Weatherall, 1993). 200'den fazla β -globulin gen mutasyonları tanımlanmıştır (Galanello ve ark.,2010). Beta talaseminin en sık nedeni nokta mutasyonlardır (Tadmouri ve Başak, 2001).

Talasemi major hastalarda yapılan bir çalışmada, kan serum plazmalarında bulunan total kolesterol (T-Kol), yüksek-yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-Kolesterol), düşük-yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-Kolesterol) düzeyleri düşük, trigliserid düzeyi yüksek bulunmuştur (Canatan ve ark., 2001). Canatan ve ark., (2001) talasemi major hastalardaki dislipidemiye açıklamak için ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu bildirilmiştir (Canatan ve ark., 2001).

Yapılan bir çalışmada; Talasemi İntermedia hastalarında, Talasemi major hastaları ve sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında, daha düşük Trigliserid, T-Kol, LDL-Kol, HDL-Kol düzeyleri görülmüştür. Genotipin şiddeti- β^+ tipi mutasyonlar ile β^0 tipi mutasyonlar karşılaştırıldığında-serum lipitlerindeki azalmayı etkilemiştir (Bordbar ve ark.,2012). Benzer bir şekilde Beta Talasemi Major hastası olan Ürdünlü çocuklarda lipid profili incelenmiş olup, elde edilen verilere göre T-Kol, HDL-Kol, LDL-Kol düzeyleri düşük fakat Trigliserid düzeyleri daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Kamal ve ark., 2008).

1990'lı yılların başında, hücre içi reseptör ailesinden yani nükleer reseptörlerin peroksizom proliferatör-aktive reseptör (PPAR) ailesi, lipid ve karbonhidrat metabolizmasını düzenleyen, gen transkripsiyonun düzenlenmesinden sorumlu gen

olarak tanımlanmıştır. Ayrıca enflamatuvar sürecin düzenlenmesinde de rol oynamaktadır (Marx ve ark., 2004).

PPAR'lar sınıf II nükleer reseptörler ailesine aittirler. Aktive edilmiş PPAR'lar Retinoid X (retinoid x reseptör) ile heterodimer oluşturur ve hedef genlerin promotör bölgesinde bulunan PPAR yanıt elementi (PPAR Response Elements, PPRE) ile etkinleşerek gen fonksiyonunu düzenlerler (Górniak, 2014; Wright ve ark., 2014). PPAR yapı olarak 5 kısımdan oluşmaktadır: 1. Ligant bağlayan bölge (PPAR agonistlerinin bağlandığı yer); 2. AF1 bölgesi (N ucunda bulunan, Mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz ile fosforilasyon sonucu liganttan bağımsız olarak etkinleşen bölge); 3. DNA bağlayan bölge (Hedef genlerin promotör bölgesindeki spesifik PPAR yanıt elemanlarına bağlanan bölge); 4. AF2 bölgesi (C ucunda bulunan, transkripsiyonel etkinleşme için yapısal değişikliğe uğrayan bölge) ve 5. Esnek eklem bölgesi (DNA ile bağlanma için önemli olduğu düşünülen bölge) (Glass ve Ogawa, 2006).

PPAR'ların üç alt tipi tanımlanmıştır ve sırası ile PPAR-alfa, -beta/delta, -gama) olarak isimlendirilmiştir. PPAR'lar farklı genler tarafından kodlanır ve farklı dokular tarafından eksprese edilirler (Touyz ve Schiffrin, 2006). *PPAR-α*; metabolik olarak çok aktif olan dokularda yüksek oranda eksprese edilir. Başlıca, karaciğer, adipoz doku, böbrek, kalp ve iskelet kasında yüksek miktarda eksprese edilmektedir (Chinetti ve ark.,1998; Staels ve ark., 1998; Delerive ve ark., 1999; Marx ve ark., 1999). Lipid metabolizması ve kardiyovasküler olaylar üzerine etkili, yağ asidi oksidasyonunu kontrolünde, enerji homeostazisinde, apoptoz ve enflamatuvar sürecin düzenlenmesinde önemli rolleri vardır (Desvergne ve Wahli, 1999).

1.2. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmamızda, Kıbrıs Türk beta-talasemi major ve intermediate hastalarda PPAR-alfa gen varyantlarının genel nüfusla karşılaştırılmalı genotipik dağılımlarının yanısıra ve talasemi kliniğinde rol aldığını düşündüğümüz *PPAR-α* rs4253778 G/C, rs1800206 C/G ve rs135539 A/C gen varyasyonlarının moleküler mekanizmaya olası etkisini açıklamayı hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Talasemi Tanımı ve Tarihi

Talasemi, hemoglobin (Hb) molekülünü oluşturan globin zincirlerinden bir ya da daha fazlasının sentezindeki bozukluk sonucu meydana gelen mikrositoz ve hemolitik anemi ile karakterize herediter, otozomal resesif bir rahatsızlıktır (Weatherall ve Clegg, 2001; Cunningham ve ark.,2009).

Talasemi, pediatrist Dr. Thomas Cooley tarafından 1925 yılında ilk kez tanımlanmıştır. Cooley, derin anemi ve splenomegali gelişen bebekleri Cooley Anemisi olarak tarif etmiştir. George Whipple ve Lesley Bradford 1936 yılında inceledikleri hastalara Yunanca deniz anlamına gelen ‘‘thalassa’’ adını vermişlerdir. Vakaların çoğunun Akdeniz civarı ülkelerden geldiklerini; daha sonra bu hastaların yalnız Akdeniz ülkeleri toplumlarında olmadığı, diğer toplumlarda da bulunduğu tespit edilmiştir (Cooley ve Lee, 1925; Günçağ ve ark., 2003).

2.2. Epidemiyoloji

Talasemi ve hemoglobin bozukluklarının tropikal ve subtropikal bölgelerde sık görülmesinin nedeni heterozigotların Plasmodium falciparum’dan (malarya) korunması nedeniyle doğal seleksiyondur. Endemik bölgelerden olan göçler nedeniyle dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmuştur. Her yıl yaklaşık olarak 300.000-400.000 hemoglobin bozukluğu (hemoglobinopati) olan bebekler doğmaktadır. Bu doğumların %83’ünü orak hücre hastalığı olup; geriye kalanı ise talasemi ve diğer hemoglobinopatileri oluşturmaktadır (Williams ve Weatherall, 2012).

Talasemi, Akdeniz havzasından ve Afrika’nın bazı bölgelerine, Orta Doğu, Hint Yarımadası, Güneydoğu Asya ve Melanezya’ya kadar uzanan geniş bir alanda yüksek oranda görülmüştür. β -talasemi için taşıyıcıların frekansları bu alanlarda % 1 ile % 20 arasında değişir ve nadiren daha yüksek olabilmektedir. Sahra altı Afrika’nın bazı bölgelerinde % 10 ile 20, bazı Orta Doğu ve Hint popülasyonlarında % 40 veya daha fazla, Kuzey Papua’da ise % 80’e varan oranlardan daha fazladır (Weatherall ve Clegg, 2001). Beta talasemi prevalansı Akdeniz ülkeleri, Orta Doğu, Asya, Güneydoğu Çin,

Uzak Doğu ülkeleri ve Kuzey Afrika kıyıları ile Güney Amerika'da yüksektir. En yüksek taşıyıcı sıklığı; Kıbrıs'ta beta talasemi taşıyıcı oranı nüfusun %18 civarında olup, ikinci sırada Sardunya (%10.3) ve üçüncü sırada ise Güneydoğu Asya olduğu bildirilmiştir (Galanello ve Origa, 2010). Dünya nüfusunun yaklaşık %1.5'i beta talasemi taşıyıcısı olduğu tahmin edilmektedir (Galanello ve Origa, 2010).

1971 yılında, Türkiye'de β -talasemi taşıyıcılarının genel prevalansının %2 olduğu bildirilmiştir (Çavdar ve Arcasoy, 1971). Türkiye'de beta talasemi özellikle Akdeniz bölgesinde görülür ve en yüksek prevalans Antalya'dadır (Guler ve Karacan, 2007).

Kıbrıs'ta talasemi için yapılan ilk epidemiyolojik çalışma, 1946 yılında Fawdry tarafından gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada, β -talasemi taşıyıcılarının sıklığının %18.0 ve α -talasemi-taşıyıcıların (her iki cis α -globin geninin inaktif olduğu bireyler) % 2.0 civarında olduğu bildirilmiştir. 1998 yılında yapılan başka bir çalışmada, Kıbrıs'ın dünya çapında en yüksek β -talasemi taşıyıcılardan (%17.2) birine sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Andreani ve ark., 2013).

Yüzyıllar boyunca, sıtma Kıbrıs'ta endemikti ve hastalık insidansı çok yüksekti. Sıtma ciddi sosyo-ekonomik hasara neden oldu ve birçok insan, özellikle çocuklar, hastalık yüzünden ölmüştür. Sıtmadan kurtulanlar mikrositik hipokromik anemi ve genişlemiş dalaklara sahipti. Daha sonra bebekler talasemi özellikleriyle birlikte ciddi hemolitik anemi ile doğdu. Sıtma, başarılı eradikasyon programları ile tamamen kontrol altına alındığı bildirilmiştir (Bozkurt, 2007).

Kıbrıs'ta 1978'de temel olarak premarital β -talasemi üzerinde yoğunlaşan gönüllü bir Ulusal Talasemi Tarama Programı (NTSP) kuruldu (Andreani ve ark., 2013). Programın birincil amacı, talasemik yenidoğanları durdurmak için koruyucu önlemler almaktır. Aynı zamanda, adada yaşayan talasemi taşıyıcıları için veri tabanı oluşturuldu. Yapılan çalışmalarda veriler, son 24 yılda Kıbrıs Rum nüfusunda β -talasemi taşıyıcıların yaygınlığının istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş (%1.89) olduğunu göstermektedir (Andreani ve ark., 2013).

Yirmi yılı aşkın bir süre içinde, 1995-2015 yılları arasında toplanan moleküler verilerin analizini, Kıbrıs'taki genetik analiz için referans laboratuvarı olan CING'de (Cyprus Institute of Neurology and Genetics) bulunan Molecular Genetics Thalassemia bölümünde; Kıbrıs'taki hemoglobinopatilerin durumuna ilişkin önemli bilgiler sunulmuştur. Tahmini β -talasemi taşıyıcı oranı popülasyonun yaklaşık %12-15' kadardır, yani 80-100 bin civarında olup; α - talasemi taşıyıcı oranı %20 yani yaklaşık 130 bin olduğu tahmin edilmiştir (Kountouris ve ark.,2016).

Talasemi, Kıbrıs'ta ciddi bir sağlık sorunuydu. Talasemi ile ilgili ilk bilimsel çalışmalar, Türk Hematoloji Derneği tarafından düzenlenen bir seminerden sonra 1976'da başladı. Seminerin sonunda talasemi önleme programının, talasemi kalıtsal bir hastalık olduğu ve bu durumun önlenmesi için bu problemi kontrol etmede etkili olacağı kararlaştırıldı. Amaç, etkilenen yeni doğanları durdurmak ve mevcut talasemik hastalara iyi tedavi olanakları sağlamaktı. 1979'da talasemi için yüksek riskli aileler taranmaya başlandı. 1980 yılında evlilik öncesi tarama kanunla zorunlu hale getirildi. 1984 yılında fetal kan örnekleme teknikleri ile prenatal tanı başlandı. DNA teknikleri 1991 yılında fetal kan örneklemesinin yerini aldı. Prenatal tanı 1984 yılında başladıktan sonra, etkilenen doğum oranları, "Talasemi Önleme Programı" nın uygulanmasından önceki yılda ortalama 18-20 vakaya karşın keskin bir düşüş gösterdi. 1991 ile 2001 yılları arasında, her 2-3 yılda bir olmak üzere sadece beş talasemik bebek doğdu. Son 5 yılda hiç talasemik bebek doğmadı. Talasemik hastalar daha etkili tedavi yöntemleri nedeniyle daha iyi bir yaşam kalitesi ile daha uzun yaşarlar. Hastaların büyük çoğunluğu 25 yaşın üzerindedir (%66), normal popülasyonda yaşıyor ve çalışıyor. Bunların yüzde otuz sekizi evli ve çocuk sahibi (Bozkurt, 2007).

Kıbrıs'ta, alfa talasemi taşıyıcı oranı ve nispi alel frekansları daha önce 495 rastgele kordon kanı örneklerinin taranmasıyla belirlenmiştir (Kyriacou ve ark., 2000). $\alpha^{3.7}$ delesyonu en yaygın α -globin mutasyonu olup, tüm α -globin mutasyonlarının % 72.8'ini oluşturur, en yaygın α^0 mutasyonları ise özellikle $-\alpha^{20.5}$ ve -MED I, tüm α -globin mutasyonlarının % 7.8'ini ve popülasyonun yaklaşık % 0.8'ini oluşturur (Chui ve ark., 2003; Felekis ve ark., 2008).

Kıbrıs'ta en sık görülen β -talasemi mutasyonu IVSI-110 (G> A) olup, %74-80 sıklığındadır, bunu takiben diğer üç allel özellikle IVS II-745 (C> G), IVS I-6 (T> C), IVS I-1 (G> A), %5 ile % 19 arasında değişen frekanslardadır (Baysal, E ve ark., 1992; Bozkurt, 2007).

2.3. Talasemi Sınıflandırılması

Talasemiler, bir veya daha fazla hemoglobin zincirinin sentezindeki bozuklukların neden olduğu bir grup kalıtsal hematolojik bozukluktur. Talasemiler sentezi bozulmuş globin zincirine göre, en sık görülen tipleri olan α ve β talasemi olarak isimlendirilir (Arcasoy A ve ark., 2002).

2.3.1. Alfa Talasemiler

Alfa talasemi, sıklıkla Güney ve Güney Doğu Asya'da, daha az sıklıkla Akdeniz bölgesi ve Afrika'da görülür (Çürük ve ark., 2007). Dünyada en sık görülen alfa talasemi mutasyonu olarak $\alpha^{3.7}$ mutasyonu ($-\alpha/\alpha\alpha$) bildirilmiştir. $-\alpha^{20.5}$ çift gen delesyonu Kuzey Kıbrıs'ta %7.8 olarak bildirilmiştir (Karakaş,2014).

Alfa geni, yapısal olarak birbirinin kopyasıdır (duplikasyon). Dolayısıyla homolog kromozomların her birinde ikişer tane olmak üzere toplam 4 tane alfa globin geni vardır. Bu genler üzerinde meydana gelen mutasyonlar sonucunda dört farklı klinik tablo olduğu bildirilmiştir (Vichinsky, 2010), bunlar:

1. **Sessiz α taşıyıcısı ($-\alpha/\alpha\alpha$):** Tek bir alfa globin gen delesyonu vardır. Hastalar klinik ve hematolojik olarak normaldirler. Asemptomatik veya hafif mikrositoz ve hipokromi vardır (Karakaş, 2014). Tam kan sayımında ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve ortalama eritrosit hemoglobin (MCH) değerleri normal değerler arasındadır. Yenidoğan devresinde kordon kanında %2.5 oranında Hb Bart's tespit edilir. Yenidoğan devresi dışında bu bireylerin tespiti *in vitro* Hb zincir sentezi ve DNA çalışmaları ile tespit edilebilir (Cunningham ve ark., 2009).
2. **α talasemi taşıyıcısı ($--/\alpha\alpha$) ya da ($-\alpha/-\alpha$):** İki alfa geninde delesyon vardır. Hipokrom mikrositer eritrositler vardır. Tam kan sayımında MCV ve MCH değerleri düşüktür. Yenidoğan devresinde Hb Bart's %3-8 oranında olup 6 aydan sonra kaybolur.

Periferik kan yaymasında, hipokromi, mikrositoz, anizositoz ve polikromazi görülür (Higgs, 1992).

3. **Hemoglobin H hastalığı (HbH)(--/- α):** Üç alfa geninde delesyon vardır. Hemoglobin değerleri 7-11 g/dl arasındadır. Hemoglobin elektroforezinde %20-40 oranında hemoglobin Bart's tespit edili. Daha sonra hemoglobin Bart's yerini %5-30 oranında HbH alır. Bazı hastalarda hiç transfüzyon gereksinimi olmazken, bazılarında aralıklı hatta düzenli transfüzyon gerekebilir. Hipokromi ve mikrositoz görülür (Musallam, 2013).
4. **Alfa talasemi majör (--/--):** Dört α -globin geninin tümünün delesyona uğraması veya inaktif olması sonucu α -globinin sentezlenemediği durumda alfa talaseminin en ağır formu olan Hb Bart's hidrops fetalis gelişir. Hidrops fetalis nedeniyle bebekler genellikle intrauterin hayatta kaybedilirler. Doğumda major hemoglobin Hb Bart's olup az miktarda da HbH ve Hb Portland olabilir (Cunningham, 2009).

2.3.2. Beta Talasemiler

Beta-talasemi, hemoglobinin β -globin zincirlerinin azaltılmış sentezinin bir sonucu olan mikrositoz ve hemolitik anemi ile karakterize otozomal resesif bir rahatsızlıktır (Weatherall ve Clegg, 1981).

Beta-talasemi, Akdeniz ülkeleri, Orta Doğu, Asya, Güneydoğu Çin, Uzak Doğu'da ve ayrıca Afrika'nın kuzey kıyılarında ve Güney Amerika'da yaygın olarak görülmektedir. Dünya prevalansı en yüksek ilk üç bölge sırasıyla, Kıbrıs' (%14), Sardunya (%10.3) ve Güneydoğu Asya'dır (Galanello ve Origa, 2010; Flint, 1998). Tüm dünya nüfusunun %1.5'i (80-90 milyon kişi) beta talasemi taşıyıcılığı olduğu bildirilmiştir (Galanello ve Origa, 2010). Türkiye'de beta talasemi taşıyıcıların prevalansına ilişkin ilk bilgiler 1971 yılında olup %2.1 olarak bildirilmiştir (Çavdar ve Arcasoy, 1971).

Tablo 2.1'de Türkiye'de beta talasemi taşıyıcı sıklıkları gösterilmiştir (Canatan, 2014). Türk toplumunda otuzu aşkın mutasyon tanımlanmıştır. IVS-I-110 Türkiye'de

en sıklıkla rastlanan beta talasemi mutasyonudur (%40); bunu IVS-I-6, IVS-I-1, FSC-8, IVS-I-1, IVS-II-745, IVS-II-1, Cd39 ve FSC-5 mutasyonları takip etmektedir (Basak ve Tuzmen, 2011; Altay ve Gürgey, 1990) (Tablo 2.2).

Kıbrıs'ta tahmini β -talasemi taşıyıcı oranı nüfusun %12-15'ini oluşturmaktadır (Kountouris ve ark., 2016) (Tablo 2-3). En yaygın β -globin gen mutasyonu IVS1-110 (G> A) olup, % 74-80 oranındadır, bunu takiben üç diğer allel, özellikle IVS-I-6 (T→C) IVS-I-1 (G→A), IVS-II-745 (C→G) izlemektedir (Bozkurt G,2007) (Tablo 2.4).

il	Beta talasemi taşıyıcılığı sıklığı
Adana	%3-13
Antakya	%0.8-1.4
Antalya	%2-13.7
İzmir	%2.1-4.9
Mersin	%1.7-2.4
Van	%2.6

Tablo 2.1 Türkiye'de farklı illerde beta talasemi taşıyıcılığı sıklığı

Mutasyon	Tip	Marmara Bölgesi	Ege/Akdeniz Bölgesi	İç Anadolu	Güney-Doğu Anadolu	Kara-Deniz	Doğu Anadolu	Türkiye'deki Genel Dağılım
IVS-I-110 (G-A)	β^+	30 (34.1)	84 (42.4)	58 (52.3)	31 (26.4)	17 (31.0)	16 (27.1)	312 (39.3)
IVS-I-6 (T-C)	β^+	13 (14.8)	25 (12.6)	8 (7.2)	10 (8.5)	6 (10.9)	6 (10.2)	80 (10.1)
FSC-8 (-AA)	β^0	7 (8.0)	9 (4.6)	7 (6.3)	5 (4.3)	1 (1.8)	5 (8.4)	43 (5.5)
IVS-I-1 (G-A)	β^0	8 (9.1)	13 (6.6)	5 (4.5)	1 (0.9)	1 (1.8)	3 (5.1)	40 (5.0)
IVS-II-745 (C-G)	β^+	4 (4.6)	9 (4.6)	8 (7.2)	7 (6.0)	6 (10.9)	1 (1.7)	40 (5.0)
IVS-II-1 (G-A)	β^0	3 (3.4)	11 (5.6)	6 (5.4)	3 (2.6)	3 (5.5)	2 (3.4)	37 (4.7)
Cd 39 (C-T)	β^0	4 (4.6)	5 (2.5)	4 (3.6)	1 (0.9)	2 (3.6)	2 (3.4)	30 (3.8)
-30 (T-A)	β^+	-	5 (2.5)	2 (1.8)	8 (6.7)	5 (9.1)	5 (8.5)	25 (3.1)
FSC-5 (-CT)	β^0	3 (3.4)	3 (1.5)	2 (1.8)	4 (3.4)	1 (1.8)	-	17 (2.2)
FSC-8/9 (+G)	β^0	2 (2.3)	-	2 (1.8)	-	1 (1.8)	3 (5.1)	10 (1.3)
FSC-44 (-C)	β^0	1 (1.1)	-	2 (1.8)	3 (2.6)	-	1 (1.7)	10 (1.3)
IVS-I-5 (G-C)	β^+	-	4 (2.0)	3 (2.7)	1 (0.9)	-	1 (1.7)	9 (1.1)
-87 (C-G)	β^+	1 (1.1)	1 (0.5)	-	-	4 (7.3)	-	6 (0.8)
Poly A (TAA-TGA)	β^+	-	-	-	1 (0.9)	1 (1.8)	1 (1.7)	4 (0.5)
FSC-6 (-A)	β^0	1 (1.1)	-	-	1 (0.9)	-	-	3 (0.4)
IVS-II-848 (C-A)	β^+	1 (1.1)	-	-	1 (0.9)	-	-	3 (0.4)
IVS-I-116 (T-G)*	β^0	1 (1.1)	-	-	-	-	-	2 (0.2)
FSC-74/75 (-C)**	β^0	-	-	-	-	-	1 (1.7)	1 (0.1)
-101 (C-T)*	β^+	1 (1.1)	-	-	-	-	-	1 (0.1)
-28 (A-C)*	β^+	-	1 (0.5)	-	-	-	-	1 (0.1)
Cd 15 (G-A)*	β^0	-	-	-	-	1 (1.8)	-	1 (0.1)
Cd 27 (G-T)*	β^+	-	-	-	-	-	-	1 (0.1)
3'-UTR (-13 bp)**	β^+	-	-	1 (0.9)	-	-	-	1 (0.1)
FSC 22-24 (-7 bp)**	β^0	-	-	-	1 (0.9)	-	-	1 (0.1)
FSC 36/37 (-T)*	β^0	-	-	-	-	-	1 (1.7)	1 (0.1)
IVS-I-130 (G-A)*	β^0	-	-	-	-	-	-	1 (0.1)
-290 bp delesyon*	β^0	-	-	-	-	-	1 (1.7)	1 (0.1)

Tablo 2.2 Türkiye'de görülen β -talasemi mutasyonları ve bazı anormal hemoglobinlerin bölgelere göre dağılımları ve sıklıkları. Parantez dışındaki sayılar incelenen kromozom sayısını, parantez içindeki sayılar yüzdeleri göstermektedir. Yanında *olanlar nadir, ** olanlar ilk defa tanımlanmış yeni mutasyonlardır (Başak A.N. ve ark.,2005).

Mutasyon/Genotip	Kıbrıs çapında		Bölgeye göre (%)			
	n	Frekans(%)	Larnaca/ Mağusa	Limasol	Lefkoşa	Baf
β-globin mutasyonları						
IVS I-110 (G>A)	861	72.72	75.69	74.51	68.33	81.82
IVS I-6 (T>C)	147	12.42	12.85	10.13	14.14	9.09
IVS I-1 (G>A)	61	5.15	5.56	5.23	5.18	3.41
IVS II-745 (C>G)	41	3.46	3.47	2.29	4.18	3.41
CD 39 (CAG>TAG)	28	2.36	0.35	2.94	3.39	1.14
Hb S	20	1.69	0.35	1.96	2.39	1.14
-87 (C>G)	12	1.01	1.39	1.63	0.60	-
CAP+33 (C>G)	6	0.51	-	-	1.20	-
IVS II-1 (G>A)	4	0.34	-	0.65	0.40	-
CD 44 (-C)	2	0.17	-	0.65	-	-
-86 (C>G)	1	0.08	-	-	0.20	-
CD 5 (-CT)	1	0.08	0.35	-	-	-
β-globin genotipler						
IVS I-110 (G>A) / IVS I-110 (G>A)	312	52.70	59.03	52.29	47.41	63.64
IVS I-110 (G>A) / IVS I-6 (T>C)	112	18.92	19.44	16.99	19.92	18.18
IVS I-110 (G>A) / IVS I-1 (G>A)	47	7.94	6.25	9.15	8.37	6.82
IVS I-110 (G>A) / IVS II-745 (C>G)	27	4.56	4.17	4.58	4.38	6.82
IVS I-110 (G>A) / CD 39 (CAG>TAG)	21	3.55	-	5.88	4.38	2.27
IVS I-110 (G>A) / Hb S	13	2.20	0.69	3.27	2.39	2.27
IVS I-6 (T>C) / IVS I-6 (T>C)	12	2.03	2.08	1.31	2.79	-
IVS I-110 (G>A) / -87 (C>G)	9	1.52	2.08	3.27	0.40	-
IVS I-1 (G>A) / IVS II-745 (C>G)	6	1.01	2.08	-	1.20	-
CAP+33 (C>G) / CD 39 (CAG>TAG)	4	0.68	-	-	1.59	-
IVS I-110 (G>A) / IVS II-1 (G>A)	4	0.68	-	1.31	0.80	-
IVS I-6 (T>C) / IVS II-745 (C>G)	4	0.68	0.69	-	1.20	-
IVS I-1 (G>A) / IVS I-6 (T>C)	3	0.51	0.69	-	0.80	-
Hb S/Hb S	2	0.34	-	-	0.80	-
IVS I-110 G>A / CAP+33 (C>G)	2	0.34	-	-	0.80	-
IVS I-6 (T>C) / Hb S	2	0.34	-	0.65	0.40	-
-87 C>G / CD 39 (CAG>TAG)	1	0.17	-	-	0.40	-
CD 44 -C / IVS I-1 G>A	1	0.17	-	0.65	-	-
IVS I-1 G>A / -87 C>G	1	0.17	0.69	-	-	-
IVS I-1 G>A / CD 44 -C	1	0.17	-	0.65	-	-
IVS I-1 G>A / IVS I-1 G>A	1	0.17	0.69	-	-	-
IVS I-110 G>A / -86 C>G	1	0.17	-	-	0.40	-
IVS I-110 G>A / CD 5 -CT	1	0.17	0.69	-	-	-
IVS I-6 (T>C) / -87 C>G	1	0.17	-	-	0.40	-
IVS I-6 (T>C) / CD 39 (CAG>TAG)	1	0.17	0.69	-	-	-
IVS II-745 C>G / CD 39 (CAG>TAG)	1	0.17	-	-	0.40	-
IVS II-745 C>G / Hb S	1	0.17	-	-	0.40	-
IVS II-745 C>G / IVS II-745 C>G	1	0.17	-	-	0.40	-

Tablo 2.3 Kıbrıs'ta en sık görülen beta talasemi mutasyonları. Her bölge için frekanslar dahil, β-talasemi hastalarındaki nispi allel ve genotip frekanslarını göstermektedir. Özellikle beş mutasyon, hasta populasyonundaki tüm β-talasemi allellerinin %95'inden fazlasını oluşturmaktadır. Beklendiği gibi en yaygın β-globin gen mutasyonu %72.72 IVS I-110 (G>A) olup, bunu takiben allel IVS I-6 (T>C) ve IVS I-1 (G>A) izlemektedir (Kountouris ve ark., 2016).

Hemoglobinopati Tipi	%	β -Thal Typea	%
β -Thal	16.4	IVS-I-110 (G→A)	74.1
α -Thal [α^0 -thal; α^+ -thal; Hb H (β_4) disease]	10.0 ^b	IVS-I-6 (T→C)	7.8
Hb Lepore-Washington-Boston	0.1	IVS-I-1 (G→A)	7.3
Hb S [β_6 (A3) Glu→Val, GAG→GTG]	0.3	IVS-II-745 (C→G)	6.5
		Codon 39 (C→T)	0.9
		Codon 8 (-AA)	0.0
		Bilinmeyen	3.4

Tablo 2.4 Kıbrıs Türk Toplumunda Globin Gen Defektleri (Bozkurt G, 2007)

2.3.2.1 Beta Talasemi Minör

Tek bir defekt β -globin genine sahip taşıyıcılardır. Beta talasemi taşıyıcıların hemoglobin elektroforezinde HbA₂'nin düzeyi %3,4'ten %7'ye yükselmektedir (Galanello, 2010).

Beta talasemi taşıyıcı hastalarında hafif anemi vardır. Tam kan sayımında, ortalama eritrosit hacmi (MCV)<80 fl, ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) <27 pg, eritrosit dağılım genişliği (RDW) normaldir. Periferik kan yaymalarında hipokromi, mikrositoz, bazofilik noktalanma ‘target’ hücreleri görülebilir. Beta talasemi taşıyıcıları demir eksikliği anemisi ile karıştırılabilir. Beta talasemi taşıyıcılarında mikrositoz daha derindir. Beta talasemi taşıyıcılarında hafif eritositoz (RBC-eritrosit sayısı yüksek) varken, demir eksikliği anemisinde yapım eksikliği nedeniyle RBC değerleri düşüktür. Talasemi taşıyıcılarında RDW normal olup, demir eksikliğinde artmıştır. Talasemi taşıyıcılarında da RDW değeri yüksek olabileceğinden ayrı bir özellik değildir(Cappellini ve ark., 2008).

2.3.2.2 Beta Talasemi Intermedia

Heterojen genetik mutasyonlara sahip olan ve bazı beta zincir üretimine izin veren klinik fenotipi (örneğin; β^+/β^0 , β^+/β^+) şeklinde olan bir anemi tipidir. Hem beta hem de alfa mutasyonlarının birlikte var olduğu bazı nadir durumlar da vardır (Jha ve ark.,2014).

Genellikle transfüzyon gereksinimi olmayan ya da zaman zaman transfüzyon gereksinimi olan hastalarda orta düzeyde bir anemi görülür. Klinik spektrumun şiddetli ucunda, hastalar 2 ile 6 yaşları arasında bulunurlar ve düzenli kan transfüzyonu olmadan ayakta kalabilmelerine rağmen, büyüme ve gelişme geriliği görülür. Spektrumun diğer tarafında, sadece hafif anemi ile erişkin yaşama kadar tamamen asemptomatik olan hastalar vardır (Galanello ve Origa, 2010).

Talasemi intermedia daha ileri yaşlarda (>2), klinik bulguları Beta Talasemi Majore benzesede; Beta Talasemi Major (BTM) kadar ağır değildir. Tam kan sayımında, Hb seviyesi 7 ile 10 g/dl arasında, MCV 50 ve 80 fl arasında ve MCH 16 ile 24 pg arasındadır. Hemoglobin elektroforezinde; HbA düşük (%10-20), HbF %70-80 arasında olup, normal bireylere göre yüksektir (Jha ve ark.,2014; Cappellini, 2008). Periferik yaymada; eritrositlerde ağır hipokromi, mikrositoz, anizositoz, poikilositoz, target hücreleri, polikromazi, basofilik noktalanma ve normoblastlar görülür (Karimi ve ark., 2014).

2.3.2.3 Beta Talasemi Major

Her iki beta globin geninin defektif olduğu beta talasemilerin en şiddetli formudur. Hastalar daha şiddetli beta zincir mutasyonları için homozigot veya bileşik heterozigot olduğunda ortaya çıkan şiddetli klinik fenotip (örn. ağır β^+/β^+ mutasyonları, β^+/β^0 , β^0/β^0) taşırlar (Weatherall ve Clegg,2001; Jha ve ark.,2014).

Talasemi major'un klinik görünümü 6 ile 24 ay arasında ortaya çıkar. Etkilenen bebekler gelişemez ve giderek solukaşır. Beslenme sorunları, ishal, irritabilite, tekrarlayan ateş nöbetleri ile dalak ve karaciğer büyümesinin neden olduğu karın şişliği gelişir. Hastaların çoğu yaşamlarının ilk yıllarında transfüzyona ihtiyaç duyarlar.

Transfüzyon olmazsa; ağır anemi, sarılık, gelişme geriliği, hepatosplenomegali, kemik deformiteleri (frontal bölgede çıkıklık, burun kökü basıklığı, maksilla ve üst dişlerde öne doğru çıkıklık denilen talasemik yüz gelişimi), kortikal kemiklerde incelleme ve patolojik kırıklıklar görülmektedir (Galanello ve Origa, 2010; Weatherall ve Clegg, 2001; Cunningham ve ark., 2009).

Talasemi majörlü hastalarda, artmış kırmızı kan hücreleri ve düşük ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) ile ilişkili ciddi bir mikrositik ve hipokromik anemi vardır. Periferik yayma, mikrositoz ve hipokrom, anizositoz, poikilositoz (gözyaşı damlası ve uzun hücreler) ve çekirdekli kırmızı kan hücrelerine (yani eritroblastlara) ek olarak gösterir. Eritroblastların sayısı aneminin derecesi ile ilişkilidir ve belirgin olarak Splenektomi sonrası artmıştır. Hb modeli (selüloz asetat elektroforezi veya yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile beta-talaseminin tipine göre değişir. β^0 -talasemi homozigotlarında HbA yoktur ve HbF toplam Hb'nin% 92-95'ini oluşturur. β^+ talasemi homozigotlarında ve β^+ / β^0 genetik bileşiklerinde HbA seviyeleri %10 ile %30 arasında ve HbF %70 ile 90 arasındadır. β -talasemi homozigotlarında HbA2 değişkendir ve β -talasemi minöründe artmıştır (Cao ve Galanello, 2010; Jha ve ark.,2014).

2.4. Talasemi Moleküler Patofizyolojisi

Hemoglobin (Hb) eritrositlerin içindeki temel protein olup, tüm vücuda oksijeni taşıyan moleküldür. Tetramer yapıda olan hemoglobin molekülü, hem bağlanmış dört globin zincirinden oluşur (α_2/β_2) (Cappellini ve ark.,2008). Alfa (α) ve beta (β) zincirlerinin genetik kontrolü iki ayrı gen kümesi tarafından yapılır. Alfa gen kümesi 16. kromozomun kısa kolunda lokalizedir, beta gen kümesi ise 11. kromozomun kısa kolunda lokalizedir (Zheng ve ark., 2013).

Beta-globin zincirlerinin yokluğu veya azalması, kemik iliğindeki eritroid öncüleri içinde biriken alfa globin zincirlerinin nispeten artmasına neden olmakta, bu da erken ölümlere ve dolayısıyla etkisiz bir eritropoeze yol açmaktadır. Beta globin zincirinin üretimini azaltan mutasyon 11. kromozomunda yer alır. Çözünmez globin zincirlerinin periferik eritrosit zarına zarar verebildiği durumlarda talasemiye neden olan ortamda hemolitik anemi oluşur (Chalevelakis ve ark., 1975).

Alfa inklüzyon ve bozunma ürünleri reaktif oksijen türleri (ROS) için lokaldır (Muncie ve Campbell, 2009). Eritrositler alfa tetramerlerin birikmesine ve yüzeylerinde bulunan IgG ile kompleman opsonize edilmiş band 3 protein akımına maruz kalıp periferik dolaşıma geçtiğinde, makrofajlar tarafından fagosite edilir ve dalaktan uzaklaştırılır. Bu hastalarda etkisiz eritropoez anemiye neden olur ve ayrıca dalakta periferik eritrositlerin yok edilmesiyle anemi artar. Diğer yandan anemi, hipoksi ve hipoksi rahatsızlığının aktif hipoksi ile indüklenebilir faktöre (HIF) yol açmasına neden olur (Ghaffari S, 2008). İki üniteden oluşan HIF (α ve β), normal oksijen basıncında birbirlerinden ayrılır ve inaktif olurlar, ancak hipoksi durumunda bir araya gelip ve HIF'i aktif hale getirirler. Aktif HIF daha sonra EPO'yu (Eritropoetin) artırır. Eritropoietin normoblastik hiperplaziye neden olur ve hematopoezi 25 ile 30 kat artırır. Bu kemiklerin deformasyonunu artırır. Uzun süreli ve şiddetli anemi ile birlikte hepatosplenomegali ve ekstra medüller hemopoezise neden olan eritroid öncüleri artırır (Fang ve ark., 2007).

Eritropoez, hematopietik kök hücrelerin olgun hücrelerini üretmenin bir yoludur. Bu süreç, eritroid progenitör genlerin spesifik ekspresyonunu etkileyen hücrelerin farklılaşma ve proliferasyonunun birkaç aşamasını içerir. Eritropoez süreci, mikro-çevre kemik iliğinin ve eritroid öncüllerinin hayatta kalmasını, çoğalmasını veya farklılaşmasını ve gen transkripsiyonunu düzenleyen nükleer faktörlerin çoğalmasını artıran büyüme faktörlerinin birleşik etkileriyle oluşur. Eritrosit üretimi, GATA-1 geninin, EPOR, Glycophorin A (GPA) ve globin zincirleri gibi eritroid genlerinin spesifik yukarı regülasyonuna neden olan eritropoezde majör gen olduğu transkripsiyon faktörlerinin karmaşık bir ağı tarafından yönlendirilir. Eritrositlerin yapımını sağlamak için eritroid hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması pozitif veya negatiftir (Gregory ve ark., 1999).

2.5 Talasemi hastalarının klinik değerlendirilmesi

Talasemi majörlü etkilenen bebeklerde gelişme geriliği ve renkleri giderek solgunlaşmaktadır. Beslenme sorunları, ishal, sinirlilik, tekrarlayan ateş nöbetleri ve splenomegalinin neden olduğu karın genişlemesi görülebilir. 95–105 g L'lik minimum

Hb konsantrasyonunu koruyan düzenli bir transfüzyon programı başlatılırsa, o zaman büyüme ve gelişim 10-11 yaşlarına kadar normaldir. 10-11 yaşından sonra, etkilenen bireyler şelasyon tedavisine uyumlarına bağlı olarak, posttransfüzyonel aşırı demir yüküne bağlı ciddi komplikasyonlar riski taşırlar. Demir yükünün komplikasyonları büyüme geriliği, cinsel olgunlaşma geriliği ve ayrıca HFE ilişkili kalıtsal hemokromatozis (HH) olan erişkinlerde görülen komplikasyonları içerir: kalbin (dilate miyokardiyopati ve perikardit), karaciğerin (kronik hepatit, fibrozis ve siroz) ve endokrin bezlerinin (diabetes mellitus ve paratiroid, tiroid, hipofiz ve daha az sıklıkla adrenal bezlerin yetersizliği ile sonuçlanır). Diğer komplikasyonlar hipersplenizm (genellikle geç ve düzensiz transfüzyonlarla ilişkili), venöz tromboz (özellikle splenektomi sonrası ortaya çıkar), osteoporoz (multifaktöryeldir, kemik iliği genişlemesi, hipogonadizm, diabetes mellitus, hipotiroidizm, hipoparatiroidizm, düşük insülin benzeri-büyüme faktörü 1, kardiyak disfonksiyon ve spesifik hastaları, kendine özgü genetik predispozan faktörlerin varlığı nedeniyle görülebilir) ve akciğer hipertansiyonu (kronik hemoliziye sekonder) (Voskaridou ve ark., 2006; Voskaridou ve Terpos, 2004; Origa ve ark., 2005).

İyi transfüze edilmiş ve uygun şelasyonla tedavi edilen bireylerin sağ kalımı 30 yaşın ötesine uzanmaktadır. Gerçekte, beta-talasemi majörlü bireylerde kardiyak komplikasyonların %71'ine neden olduğu bildirilmiştir (Borgna-Pignatti ve ark., 2004).

Tedavi edilmeyen veya kötü transfüze edilen bireylerin en belirgin özellikleri büyüme geriliği, solukluk, sarılık, cildin kahverengi pigmentasyonu, zayıf kas sistemi, hepatosplenomegali, bacak ülserleri, ekstramedüller hematopoezden kitlelerin gelişimi ve kemik iliğinin genişlemesinden kaynaklanan iskelet değişiklikleridir. Bu iskelet değişiklikleri bacakların uzun kemiklerinin deformitelerini ve tipik kraniyofasiyal değişikliklerini (Maksiller hipertrofi ve hiperplazi, dental deformite, frontal ve zigomatik kemiklerde hipertrofi) içermektedir (Wheatherall ve Clegg, 2001).

Talasemi intermedisi olan hastalar belirgin heterojen bir klinik tablo göstermektedir. Prensipte olarak sarılık, kolelitiazis, karaciğer ve dalak büyümesi, orta-siddetli iskelet değişiklikleri, bacak ülserleri, hiperplastik eritroid iliği ekstramedüller kitlesi, osteopenia ve osteoporoz gelişme eğilimi ve lipit nedeniyle hiper pıhtılaşabilir durumdan kaynaklanan trombotik komplikasyonlar anormal kırmızı kan hücrelerinin

membran bileşimi (özellikle splenektomi yapılan hastalarda) gözlenir (Wheatherall ve Clegg, 2001; Eldor ve Rachmilewitz, 2002). Tanım olarak, transfüzyonlar gerekli değildir veya sadece zaman zaman gereklidir.

Son zamanlarda beta talasemide demir hiperabsorpsiyon mekanizması en azından kısmen aydınlatılmıştır. Demir emilimi esasen hepatositlerin salgıladığı, bağırsakta demir alımını ve retikuloendotelial sistemden demir salınımını engelleyen küçük bir peptid olan hepcidin tarafından kontrol edilir (Ganz T, 2003).

Hepcidin transkripsiyonu, çekirdeğe transloke olan ve hepsidin transkripsiyonunu uyaran SMAD protein (hücre çekirdeği içine sinyal taşıyan ve özel olarak DNA'ya bağlanma kabiliyeti ile transkripsiyonel kompleks oluşturan orijinal bir protein ailesidir) kompleksini aktive eden kemik morfojenetik proteinleri (BMP) ile kontrol edilir (Wang ve ark., 2005).

Hepcidin ekspresyonu, aşırı demir yüklenmesi ve inflamasyon ile artarken, anemi ve hipoksi ile inhibe edilir. Yakın zamandaki çalışmalar, transfüzyon yapılmamış talasemi hastalarından alınan serumun yüksek seviyede büyüme farklılaşma faktörü 15 olduğunu göstermiştir. Yapımı eritroid bölmesinin genişlemesi ile ilgili olan transforme edici büyüme faktörü süper ailesine benzer BMP'lerin bir üyesidir. Büyüme farklılaşma faktörü 15, BMP'nin etkisine karşı, hepsidin ekspresyonunu inhibe eder, böylece bağırsak demir hiperabsorpsiyonuna ve makrofajlardan artan demir salımına yol açar (Tanno ve ark., 2007). Sonuç olarak, ferritinin salgısı azalır ve serum seviyesi nispeten azalır. Aksine, talasemi majöründe, alyuvar transfüzyonları eritropoetik diski azaltır ve aşırı demir yükünü arttırır, bu da nispeten yüksek hepsidin seviyesine neden olur. Bu, makrofajlardan diyetsel demir emilimini ve demir salımını azaltır (Origa ve ark., 2007; Gardenghi ve ark., 2007; Weizer-Stern ve ark., 2006).

Talasemide Laboratuvar

Hematolojik hastalıklarının tanısında tam kan sayımı (TKS/CBC) ve periferik kan yayma incelemesi özellikle anemili hastalarının tanısında kullanılan testlerdir. TKS değerlendirmesinde Hb miktarından sonra en önemli parametre eritrositlerin büyüklükleri hakkında bilgi veren ortalama eritrosit hacmi (MCV)'dir. Ayrıca ortalama

eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama hemoglobin yüzdesel miktarı (MCHC), eritrosit sayısı (RBC) ve eritrosit dağılım genişliğinin (RDW)(anizositozun göstergesi) de ayrı ayrı değerlendirilmesi gerekmektedir (Albayrak D ve Albayrak C, 2009). Bu parametreler özellikle talasemi ve mikrositer hipokrom anemiler ayırıcı tanısında oldukça önemlidir (Ford J, 2013). Demir eksikliği anemisinde MVC, MCH, MCHC ve RBC azalırken, RDW’de artış görülmektedir. Talasemi taşıyıcılarında Hb seviyeleri normal veya normalden 1-2 g/dl kadar düşüktür. Genellikle RBC sayısında artış, MCH düşük, MCV düşük ve RDW değer normal değerler arasındadır.

Ayrıca tanıda periferik yayma ile morfolojinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Talasemide periferik yaymada eritrositlerde hipokromi ve mikrositoz, hedef hücresi ve bazofilik noktalanma da görülebilir (Albayrak D ve Albayrak C, 2009).

Anemili hastada klinik testlerden; demir, demir bağlama kapasitesi, transferrin, transferrin saturasyon indeksi, laktat dehidrogenaz (LDH), bilirubinler, haptoglobulin, soluble transferrin, ferritin, vitamin B12 ve folik asit düzeylerinin bakılması tanıda kullanılan rutin laboratuvar testleridir. Serum demir ve demir bağlama değerleri hipokrom mikrositer anemiye neden olan hastalık grupları içerisinde ayırıcı tanıda oldukça yol göstericidir. Demir eksikliği anemisinde, demir düşük ve demir bağlama kapasitesi yüksek seyrederken, talasemi hastasında hastalığın tipine ve derecesine bağlı olarak demir normal veya yüksek, demir bağlama normal veya düşük olarak izlenebilir. Ayrıca ferritin düzeyi ile birlikte bakılması tanısal desteği arttırır. Serum ferritin düzeyi demir yükünü özellikle karaciğerdeki demir miktarını yansıttığı için klinik öneme sahiptir. Demir eksikliği anemisinde ferritin düzeyi düşük bulunurken, talasemi hastalarında hastalığın erken dönemleri ve geç dönemlerinde (transfüzyonlara bağlı demir yükünün varlığında) serum düzeylerinde farklılıklar izlenebilir. B-talasemili hastalarda ferritin değerleri transfüzyon miktarı ile ilişkilidir (Martin ve Thompson, 2013).

Demir eksikliği anemisinin tanısında, soluble transferrin reseptörü (sTfR) inflamasyondan etkilenmeyen, ferritin ile birlikte bakılan ve ferritin indeksinin hesaplanmasına yardımcı olan bir testtir (Urrechaga ve ark., 2013; Tripatara ve ark., 2012; Skikne BS, 2008).

Demir metabolizmasında etkin olan laboratuvar parametrelerden bir diğeri de hepsidin'dir. Karaciğerde sentezlenen bu peptid hormon plazmadaki demir konsantrasyonunun düzenlenmesinde ve farklı dokulara taşınmasında önemli rol alır (Nemeth E, 2010; Hendy ve ark., 2010)

Talasemi majorlu hastalarda demir yüküne bağlı gelişen hemosiderozis (hemosiderin pigmentinin birikimi) sonucu hepatik fibrozis, hipoparatiroidi (geç dönemde) ve kardiak yetmezlik gelişir. Karaciğer fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak 25-hidroksi vitamin D (25(OH)D) düzeylerinde azalma görülür (Soliman ve ark., 2013).

2.5. Peroksizom Proliferatör-Aktive Edici Reseptör (PPAR) Transkripsiyon Süper Ailesi

Peroksizomlar, H₂O₂ bazlı solunum, yağ asitlerinin β-oksidasyonu ve kolesterol metabolizması gibi çeşitli metabolik fonksiyonları yerine getiren birçok bitki ve hayvan hücresinde bulunan hücre içi organellerdir. Peroksizom Proliferatör oluşan Reseptörler (PPAR'lar) proteinleri filogenetik olarak ilişkili protein olarak adlandırılan nükleer hormon elemanının üst familyasına aittir (Michalic ve Wahil, 2006). 1990 yılında kemirgenlerde PPAR tespit edildi ve bunlar 48 üye içeren bir nükleer hormon reseptörü süper ailesinden oluşmaktadırlar. Ancak, bu ajanlar insanlarda proliferasyon ile ilişkili değildir. Yapısal olarak, PPAR'lar steroid veya tiroid hormon reseptörüne benzerdir (Oliveira ve ark., 2007). Isseman ve Green, 1990 yılında yeni bir steroid hormon süper ailesi olarak tanımlamış ve peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör (peroksizom proliferatör-aktive edici reseptör; PPAR) olarak isimlendirmişlerdir. PPAR'lar çoğunlukla α, β/δ ve γ olmak üzere üç alt tür olarak tanımlanmıştır (Isseman ve Green, 1990).

PPAR'lar, nükleer reseptörlerin süper familyasına ait transkripsiyon faktörleridir. Bu ailenin diğer üyeleri arasında retinoid asit, östrojen, tiroid, D vitamini ve glukokortikoid reseptörleri ve ksenobiyotik metabolizmasında rol oynayan diğer bazı proteinler bulunmaktadır (Evans ve ark., 2004). Aktive edilmiş PPAR'lar, retinoid X reseptörü (RXR) ile heterodimerleri oluşturur ve PPAR hedef genlerinin promoter bölgesi üzerinde spesifik DNA sekanslarına (peroksizom proliferatör yanıt elemanı;

PPRE) bağlanarak gen ekspresyonunu baskılamak ya da gen fonksiyonunu düzenlerler (Kota ve ark., 2005).

Peroksizom proliferatör aktive reseptörler, adipositler, hepatositler, kaslar ve endotelial hücreler dahil olmak üzere birçok dokularda eksprese edilir; Bununla birlikte, afinite, PPAR izoformuna ve sonuçta farklı klinik sonuçlara yol açan farklı dağılım ve ekspresyon profillerine bağlıdır. Lipid ve glikoz homeostazında önemli rol oynadıkları için, buna lipit ve insülin sensörleri denir (Grygiel-Górniak, 2014). Etkileri belirli doku tipleriyle sınırlıdır ve bu nedenle hedef hücreler üzerinde karakteristik bir etki gösterir (Grygiel-Górniak, 2014).

PPAR yapısal olarak beş bölümden oluşmaktadır (Şekil 2.1) (Glass ve Ogawa, 2006).

1. Ligant bağlayan bölge (PPAR agonistlerinin bağlandığı yer)
2. AF1 bölgesi (N ucunda bulunan, Mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz ile fosforilasyon sonucu liganttan bağımsız olarak etkinleşen bölge)
3. DNA bağlayan bölge (Hedef genlerin promotör bölgesindeki spesifik PPAR yanıt elemanlarına bağlanan bölge)
4. AF2 bölgesi (C ucunda bulunan, transkripsiyonel etkinleşme için yapısal değişikliğe uğrayan bölge)
5. Esnek eklem bölgesi (DNA ile bağlanma için önemli olduğu düşünülen bölge)



Şekil 2.1 PPAR transkripsiyon faktörlerinin genel yapısı. AF, aktivasyon fonksiyonu, DNA, deoksiribonükleik asit (Şenol ve Tunçtan, 2015).

2.5.1. PPAR yapısı ve işlevi

PPAR'ların üç boyutlu yapısı, N-terminalinde bir DNA bağlanma alanı ve C-terminalinde bir ligand bağlanma domaininden (LBD) oluşur. Agonistler ile etkileştikten sonra, PPAR'lar çekirdeğe transloke edilir ve başka bir nükleer reseptör olan retinoid X reseptörü (RXR) ile heterodimerize edilir. RXR, bir dizi başka reseptör (örn., D vitamini veya tiroid hormonları) ile bir heterodimeri oluşturur. PPAR'larla bağlanan hedef genlerin spesifik DNA bölgeleri, peroksizom proliferatör hormon yanıt elementleri (PPRE'lar) olarak adlandırılmaktadır (Berger ve Moller, 2002). PPRE'ler, yağ asidi bağlayıcı protein (aP2) gibi PPAR duyarlı genlerin promotörlerinde bulunurlar (Willson ve ark., 2000). Çoğu durumda, bu süreç çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde yer alan çeşitli genlerin transkripsiyonunu aktive eder. PPAR'lerin işlevi, varlığı reseptör fonksiyonunu uyarabilen veya inhibe eden bir dizi koaktivatör ve koruyucular tarafından modifiye edilmiştir (Viswakarma ve ark., 2010).

PPAR- α esas olarak yağ asidi metabolizmasını etkiler ve aktivasyonu lipid seviyelerini düşürürken, PPAR- γ çoğunlukla adipogenez, enerji dengesi ve lipid biyosentezinin düzenlenmesinde rol oynar. PPAR- β/δ , çoğunlukla iskelet ve kalp kaslarında yağ asidi oksidasyonuna katılır, fakat aynı zamanda kan glikoz ve kolesterol seviyelerini de düzenler. Birçok doğal ve sentetik ligand bu reseptörlerin ifadesini etkiler. Sentetik ligandlar dislipideminin (örneğin, fibratlar – PPAR- α aktivatörleri) veya diabetes mellitusta (örneğin, thiazolidinediones – PPAR- γ agonistleri) tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Grygiel-Górniak, 2014).

2.5.1.1. Peroksizom Proliferatör Aktifleştirici Reseptör-Alfa

PPAR- α ekspresyonu, hepatositler, enterositler, vaskular ve monosit/makrofajlar, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, lenfositler, mikroglia ve astroliya gibi nöronal olmayan hücreler gibi bağışıklık ve bağışıklık hücresi tiplerinde yüksektir (Moreno ve ark.,2004; Heneka ve Landreth, 2007).

Karaciğerde, periferik dokular için enerji sağlayan FA oksidasyonunda, yüksek mitokondriyal ve karaciğer, kalp kası, böbrek, iskelet kası, retina ve kahverengi adipoz dokuları gibi peroksizomal FAs β -oksidasyon oranlarında önemli bir rol oynar.

Oksidan/ antioksidan yolunda potansiyel rol oynar (Lefebvre ve ark., 2006; Rigamonti ve ark., 2008).

PPAR- α ligandları hem sentetik hem de endojen FA'lar olabilir ve FA-türevli bileşikler PPAR- α için doğal ligandlardır (Willson ve ark.,2000).

Son birkaç on yıldır, PPAR- α 'nın fizyolojisi, farmakolojisi ve fonksiyonel genomikleri üzerine bir dizi çalışma yapılmıştır.

In vivo ve *in vitro* çalışmalar, PPAR- α 'nın lipid ve lipoprotein metabolizmasında merkezi bir rol oynadığını ve böylece metabolik sendromla ilişkili dislipidemi azalttığını göstermektedir (Berger ve ark.,2005; Jay ve Ren,2007; Barter ve Rye, 2008).

Açlık durumunda, PPAR-a, adipoz türevli FA'lar ile aktive edilir, böylelikle karaciğer ve periferik kan mononükleer hücrelerinde FA oksidasyonu yoluyla keton cisimlerinin oluşumunu artırır (Bouwens ve ark., 2007).

2.5.1.2. Peroksizom Proliferatör Aktifleştirici Reseptör- Beta/ Delta

PPAR- δ/β iskelet kası, adipositler, makrofajlar, akciğerler, beyin ve ciltte eksprese edilir. FA (yağ asitleri oksidasyonu) metabolizmasını düzenler ve makrofaj kaynaklı inflamasyonu bastırır (Barish ve ark., 2006).

PPAR- β/δ (PPAR- δ , PPAR- β , hNUC1 veya FAAR olarak da adlandırılır), lipit ve kolesterol metabolizmasında önemli bir rol oynar. Yağ asidi oksidasyonunda rol oynar, lipid profillerini iyileştirir ve şişmanlığı azaltır, bu da obezitenin gelişmesini engeller (Wang ve ark., 2003; Berger ve ark., 1999). Diabetes mellitusta hiperglisemik durum sırasında kardiyak kasta azalmış PPAR- β/δ ekspresyonu gözlenmiştir (Ngala ve ark., 2011; Burkart ve ark., 2007).

Tersine, bu reseptörün kalp hücrelerinde aşırı ekspresyonu, yüksek yağlı bir diyetin varlığında lipit birikimini azaltır ve glikoz metabolizmasını artırır. Sonuç olarak, kalp iskemi-reperfüzyon hasarına karşı korunmakta olup, bu reseptörün aktivasyonunun diyabetik kardiyomyopatiye yararlı olabileceğini düşündürmektedir (Yu ve ark., 2008).

PPAR- δ 'nın inflamatuvar mediatörlerin ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azalttığı ve aterosklerozün hafifletilmesinde potansiyel rolünü ortaya koyduğu bildirilmiştir (Graham ve ark., 2005). PPAR- δ ligandlarının, inflamatuvar sitokin üreten bir transkripsiyon faktörü olan NF κ B (nükleer faktör κ B) üzerindeki inhibitör aktivitesi nedeniyle kardiyak hipertrofiyi inhibe etme potansiyeline sahip olduklarını gösteren az sayıda çalışma vardır (Balakumar ve ark., 2007).

2.5.1.3. Peroksizom Proliferatör Aktifleştirici Reseptör-Gama

PPAR- γ beyaz ve kahverengi yağ dokusu, kalın bağırsak ve dalakta ifade edilir. Bununla birlikte, ifadesi adipositlerde en yüksektir ve adipogenesis, enerji dengesi ve lipit biyosentezinin düzenlenmesinde anahtar bir rol oynar (Kliwer ve ark., 1997; Sheu ve ark., 2005; Lehrke ve Lazar, 2005; Medina-Gomez ve ark., 2007).

PPAR- γ , adiposit farklılaşması, lipit metabolizması ve glukoz homeostazında yer alan çok sayıda hedef genin ifadelerinin düzenlenmesine katılmaktadır. PPAR- γ , glikoz ve lipit metabolizmasında rol oynayan proteinleri kodlayan bir dizi genin ekspresyonunu artırır. Ayrıca PPAR- γ agonisti, adipositlerdeki TNF- α 'nın (tumor necrosis factor; TNF) etkisine karşı, insülin direncini artırır (Tyagi ve ark., 2016).

PPAR- γ , makro-besin metabolizmasındaki rolü nedeniyle önemli bilimsel ve klinik ilgi çekmiştir. Tip 2 diabetes mellitus tedavisinde kullanılan sentetik insülin sensitizatörlerini- tiazolidinedionların - bir hedefidir (Feige ve ark., 2006). Bu reseptör adipozde merkezi bir rol oynadığı ve esas olarak lipit metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynadığı adipoz dokuda bol miktarda ifade edilir (Feige ve ark., 2006).

PPAR- γ geni ayrı promotörler ve 50 ekzona sahip olduğundan, üç mRNA ile sonuçlanır: PPAR- γ 1, PPAR- γ 2 ve PPAR- γ 3. Tüm PPAR- γ izoformları, adiposit farklılaşması ve glikoz metabolizmasında önemli bir rol oynamasına rağmen ifadeleri farklıdır. PPAR- γ 1 izoformu neredeyse tüm hücrelerde eksprese edilirken, PPAR- γ 2 esas olarak adipoz doku ile sınırlıdır. Bununla birlikte, PPAR- γ 2 daha güçlü bir transkripsiyon aktivatörüdür (Feige ve ark., 2006). PPAR- γ 1 ve PPAR- γ 2'nin her iki formu, adipoz dokunun gelişimi ve insülin duyarlılığının kontrolü için gereklidir.

Bununla birlikte, PPAR- γ 2, besin alımı ve obeziteye yanıt olarak düzenlenmiş izoformdur.

PPAR- γ , sadece yağ dokusunda değil, aynı zamanda endotel hücrelerde ve vasküler düz kas hücrelerinde de bulunan kuvvetli modülatördür. Endotel hücrelerinde inflamasyon ve ateroskleroz ile ilgili hedefleri düzenler. Lipid metabolizmasını kontrol etmesine rağmen, PPAR- γ ayrıca kanser gelişiminin düzenlenmesine de katılır (Janani ve Ranjitha Kumari, 2015).

2.5.2 PPAR gen varyasyonları ve hastalıklar arasındaki ilişki

Peroksizom proliferatör aktive reseptörler (PPARs), üç alt tipten oluşan nükleer hormon reseptörü süperfamilyasının ligand ile aktive edilen transkripsiyon faktörleridir: PPAR- α , PPAR- γ ve PPAR- β/δ . PPAR- α 'nın aktivasyonu, trigliserit düzeyini azaltır ve enerji homeostazının düzenlenmesinde rol oynar. PPAR- γ aktivasyonu insülin duyarlılığına neden olur ve glukoz metabolizmasını artırır, oysa PPAR- β/δ aktivasyonu yağ asitleri metabolizmasını artırır. Bu nedenle, PPAR nükleer reseptörler ailesi, enerji homeostazı ve metabolik fonksiyonunda önemli bir düzenleyici rol oynar (Tyagi ve ark., 2016).

Alt tür	Eksprese edildiği dokular	Ligantlar	Fonksiyon	İlişkili hastalıklar ve patojenezler
PPAR- α	Karaciğer, kalp, kas, damar endoteli ve damar düz kas hücresi, monosit/makrofajlar	Yağ asitleri Fibratlar	Yağ asidi oksidasyonu, Antienflamatuvar	Dislipidemi Diyabet Ateroskleroz Enflamasyon
PPAR- β/δ	Kas, adipoz	Yağ asitleri Proteinler	Organojenez (prenatal dönem) PPAR α işlevine sinerjistik etki-lipit metabolizmasının düzenlenmesi	Dislipidemi- obezite İnfertilite Ateroskleroz
PPAR- γ	Adipoz, kas, kalp, damar endoteli ve damar düz kas hücresi, monosit/ makrofajlar	PUFA'lar 15d-PGJ ₂ TZD'ler	Adipojenez	İnsülin direnci- obezite Metabolik sendrom Kanser Enflamasyon Hipertansiyon ve retinal hastalıklar

Tablo 2.5 Peroksizom Proliferatör-Aktive Reseptörler (PPAR'lar) alt türleri ve özellikleri (Aydoğan ve ark., 2013; Kiec-Wilk ve ark., 2005; Kota ve ark., 2005)

15d-PGJ₂, 15-deoksi-delta-12, 14-prostaglandin J₂ (15-deoxy-delta-12,14-prostaglandin J₂) PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör (peroxisome proliferatoractivated receptor); PUFA, çoklu doymamış yağ asidi (polyunsaturated fatty acid); TZD, tiyazolidindion (thiazolidinedione) Şenol ve Tunçtan, 2015).

Obezite:

Fibratlar gibi PPAR- α ligandları, plazma trigliserit seviyelerini düşürme ve HDL kolesterol seviyelerini yükseltme yeteneklerinden dolayı dislipideminin tedavisi için kullanılmıştır. PPAR- α aktivatörlerinin hem hepatik FA oksidasyonunu artırarak hem de adipoz hücre hipertrofisi ve hiperplazisinden sorumlu dolaşımdaki trigliserit düzeylerini azaltarak kemirgenlerdeki obeziteyi düzenlediği gösterilmiştir (Planavila ve ark., 2005).

Enflamasyon:

Enflamatuar durumlar, esas olarak, makrofajların ve monositlerin, yaralanma bölgesinde TNF-a, IL-6 ve IL-1 β gibi proinflamatuar mediyatörlerin salımını arttırarak COX (Siklooksijenaz) ürünlerinin üretimini teşvik eden aktivasyonudur.

PPAR- α ve fenofibrat, ağrıyı ve enflamasyonu azaltır ve ayrıca birkaç pro-enflamatuar ve pro-anjiyojenik enzimin (örn., INOS, kimaz ve metalloproteinaz MMP-9) ve araçların (örneğin, NO ve TNF-a) salınmasını da engeller (D'Agostino ve ark., 2007; DeFilippis ve ark., 2009).

Yakın zamanda PPAR- γ , enflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe etme ve immün hücrelerin anti-enflamatuar fenotiplere karşı farklılaşmasını yönetme kabiliyeti sayesinde bağışıklık yanıtında temel olarak önemli bir rol oynadığı kabul edilmiştir. PPAR- γ 'nin bir özelliği, endojen metabolitleri, diyet bileşiklerini ve sentetik ilaçları kapsayan ligandlarının yapısal çeşitliliğidir. Enflamatuar ve alerjik hastalığın yüksek ve artan insidansı, yeni klinik çalışmalardan cesaret verici sonuçlar ile birleştiğinde, gıdalarda bulunan doğal PPAR- γ agonistlerinin anti-enflamatuar moleküller olarak hareket ederek insan sağlığına yararlı olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle PPAR- γ , sadece doğal bir ilaç bileşeni tarafından aktif hale getirildiğinden, ilaç endüstrisinin bir hedefi değil, aynı zamanda gıda endüstrisine de büyük bir ilgi potansiyeli taşımaktadır (Majdalawieh ve Ro, 2010).

PPAR, adipoz doku, karaciğer ve iskelet kaslarında çeşitli bağımsız ve DNA'ya bağımlı moleküller ve enzimatik yollarda yer alır. Bu yollar hastalık durumunda etkilenir ve metabolik enerji dengesizliğine neden olur. Bu nedenle, PPAR'ın müdahalesi dislipidemi, diyabet, obezite, enflamasyon, nörodejeneratif bozukluk ve kanser gibi hastalıklar için terapötik hedefler sağlayabilir (Tyagi ve ark., 2016).

Finli erkek grubun oluşturduğu bir çalışmada, koroner arter baypas greft ile düşük plazma yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (HDL-C) ile PPAR- α rs1800206 G allelinin ilişkili olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Aynı çalışmada, koroner aterosklerozun ilerlemesi ile birlikte, PPAR- α rs4253778 C alleli taşıyan bireylerde hastalığın artması ile ilişkilidir (Flavell ve ark., 2002). Dahası, ateroprotektif rs1800206 G alleli, rs4253778 C alelinin proatherosklerotik etkisini büyük ölçüde azalttığı gösterilmiştir.

Diğer taraftan, Çin Han kökenli 820 bireyde dislipidemi ve rs4253778 G/C polimorfizmi arasındaki ilişki bulunmamıştır (Gu ve ark., 2014).

Mazotti ve diğ. (Mazzotti ve ark., 2011), bununla birlikte, Brezilya popülasyonunda rs4253778 G/C polimorfizminin dislipidemi ile birlikteliği arasında bir çelişki olduğunu ortaya koymuştur. Bu çelişki paterni, São Paulo şehrindeki rs4253778 C alelinin yüksek HDL-C düzeyleri ve düşük trigliserit (TG) ve plazma düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (LDL-C) seviyeleri ile ilişkili olduğu şeklindedir (Chen ve ark., 2010). Aynı alel Cuiaba Şehri bireylerde dislipidemi ile ilişkilidir (Mazzotti ve ark., 2011).

Koroner arter hastası (KAH) beyaz Polonyalı hastalarda, aynı etnik kökündeki sağlıklı kan bağışçılarında kıyasla, proatherosklerotik ile *PPAR-α* rs4253778 C aleli taşıyan erkek bireylerde hastalık ile ilişkilidir (Zak ve ark., 2005).

PPAR-α rs135539 A → C varyantının, Jiangsu Eyaleti'ndeki bir Çin popülasyonunda düşük (<40 mg dl⁻¹) plazma HDL-C düzeyleri ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir (Liu ve ark., 2012). Çin'den daha önce sözü edilen çalışmada, aynı varyantın *PPAR-α* rs1800206 C/G polimorfizminin yanı sıra çeşitli *PPAR-γ* polimorfizmleri ile etkileştiği bulunmuştur. Her iki SNP tarafından lipit profilinin değiştirilmesi için *PPAR-α* rs1800206 C/G polimorfizminin patolojik önemi gösterilmiştir ve hipertrigliseridemi içinde *PPAR-α* rs1800206 C / G polimorfizminin (tek başına ya da test edilen diğer *PPAR-α* / *PPARD* / *PPARG* polimorfizmleri ile etkileşimde) nedensel rolünün belirlendiği haplotip ilişkilendirme testleri belirlenmiştir (Gu ve ark., 2013). Ek olarak, *PPAR-α* rs1800206 lokusundaki (CG + GG) küçük allel varyantlarına sahip iki genotipin, bir Çin Han popülasyonunda yükselmiş LDL-C seviyeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Fan ve ark., 2015).

Kuzey Kıbrıs'ın gelişmekte olan nüfusu, yüksek oranda sedanter yaşam tarzı ve sağlıksız beslenme alışkanlıklarının benimsenmesi ve/ veya toplumun kısıtlı genetik havuzuna bağlı olarak ortaya çıkabilen hiperkolesterolemi/ dislipidemi ve kardiyovasküler hastalıkların prevalansının daha yüksek olduğunu göstermektedir (Fahrioğlu ve Ergören, 2018).

PPAR- α polimorfik lokuslarının (rs4253778, rs1800206, rs135539) koroner arter hastalığı riski üzerine, Kıbrıslı Türk kadınlarının popülasyonundaki potentia pleiotropik etkilerini ve bu etkilerin aynı popülasyonda plazma lipid konsantrasyonları ile gerçekleşip gerçekleşmediği araştırılan çalışmada, *PPAR- α* rs4253778 C alelinin (genotip CC) homozigot varlığının artmış trigliserit ile ilişkili olduğu Koroner arter hastalığı olan hastalarda gösterilmiştir (Teralı ve Ergören, 2018).

Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde yaşayan beta-talasemi major ve beta-talasemi intermediate tanısı konmuş hastalarda serum lipid ve karbonhidrat metabolizmasını düzenleyen ve gen transkripsiyonun düzenlenmesinden sorumlu gen olan *PPAR- α* gen varyasyonlarının hasta ve sağlıklı grupta genotip ve gen frekanslarını hesaplamak, ayrıca bu varyasyonların klinik fenotiple arasındaki ilişkiyi sağlıklı (beta-talasemi olmayan) ve beta-talasemi taşıyıcısı bireylerle karşılaştırmayı hedefledik. Literatürdeki önceki çalışmalarda, Talasemi major hastalarda kolesterol, HDL-Kolestrol, LDL-kolesterol düzeylerinin düşük, trigliserid düzeyi yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Bilgimiz dahilinde, talasemi major hastalardaki meydana gelen dislipideminin moleküler mekanizmasını henüz açıklanamamıştır. Bu nedenle çalışmamızda lipid metabolizmasını düzenmesinde rol alan genlerden *PPAR- α* gen varyasyonları ve talasemi arasındaki ilişkiye bakılacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 GEREÇ

3.1.1 Kullanılan Markalar

Thermo Scientific, Invitrogen, Qiagen, Ependorff, BIO-RAD, Sigma-Aldrich, Biometra

3.1.2 Kullanılan Cihazlar:

Hassas Terazı, Otomatik Pipetler, Buzdolabı ve Derin Dondurucu (+40C, -200C), Santrifuj, Jel Görüntüleme Sistemi, PZR makinesi, mikrodalga fırın, PZR kabini ve laminar flow.

3.1.3 Kimyasallar:

3.1.3.1 Enzimler:

HinfI endonükleaz (Thermo Scientific) ve *TaqI* endonükleaz (Thermo Scientific)

3.1.3.2 Moleküler Belirteçler:

Thermo Scientific GeneRuler 100bp (SM0241, Thermo Scientific) 100 - 1000bp DNA Ladder, DNA'yı boyutlandırma ve agaroz jelde PZR ürünlerinin büyüklüklerinin doğruluklarını karşılaştırmak için kullanılmıştır.

3.1.3.3 Oligonucleotidler

SNP	Primerler	Restriksiyon enzimleri
rs4253778	F 5' - ACAATCACTCCTTAAATATGGTGG - 3' R 5' - AAGTAGGGACAGACAGGACCAGTA 3'	<i>TaqI</i>
rs1800206	Ex5.F 5' - GACTCAAGCTGGTGTATGACAAGT-3' Ex5.R 5' - CGTTGTGTGACATCCCGACAGAAT-3'	<i>HinfI</i>
rs135539	F 5' - CCAGGGGGAGGAAAGAGTGAA - 3' R 5' - GCCACAACCTAAGCAGGCAGTG - 3'	<i>HinfI</i>

Tablo 3.1. PPAR- α (rs4253778, rs1800206, rs135539) gen polimorfizmlerinin primer ve restriksiyon enzimleri listesi

3.1.3.4 Standart Solüsyonlar:

10 X TBE, Ethidium Bromid (Sigma Aldrich), PZR Master Mix (Thermo Scientific)

3.1.4 Çalışma Grubu

Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti Dr. Burhan Nalbantoğlu Devlet Hastanesi, Talasemi Merkezi'ne kayıtlı ve Talesemi tanısı almış 42 beta-talasemi majör, 25 beta-talasemi intermediate hastaları ile klinisyen tarafından taşıyıcı tanısı konmuş ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde evlenmiş 50 beta-talasemi minör (taşıyıcı) Kıbrıs Türkü ve 100 beta-talasemi mutasyonları yönünden sağlıklı ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde evlenmiş bireylerden oluşacak toplam dört gruptan oluşturulmuştur. Talasemi 1985 yılından beridir Kuzey Kıbrıs'da önlenmektedir, dolayısı ile talasemi majör ve intermediate hastaları 1985 yılından önce doğmuş Kuzey Kıbrıslı bireylerden oluşmaktadır. Yaşayan tüm hastalardan DNA analizleri için kan örneği alınmıştır. Kontrol ve talasemi taşıyıcıları ise yine en az üç nesil (1974 öncesi) Kıbrıs'da yaşayan bireylerden oluşacaktır.

3.1.5 Biyokimyasal Parametreler:

Dr. Burhan Nalbantoğlu Devlet Hastanesi Talasemi Merkezi'nde rutin kontrolleri olan hastaların serum lipid değerleri ve glukoz gibi biyokimyasal ve fizyolojik parametrelerine onam formları imzalandıktan sonra alındı ve gen varyasyonları ile aralarındaki ilişkilendirme çalışmaları yapıldı.

3.1.6 Bilgisayar Programları

MacOS High Sierra Versiyon 10.13.10, Graphpad

3.2 YÖNTEMLER

3.2.1 Periferik Kandan DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için her bireyten 2.5 ml'lik EDTA'lı tüplere kan alınmıştır. Her bireyin genomik DNA'sı, üreticinin talimatlarına göre PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, ABD) kullanılarak tam kandan ekstrakte edildi.

3.2.2 DNA Konsantrasyonlarının Ölçülmesi:

DNA izolasyonu sonrası, DNA konsantrasyonlarının ölçülmesi NanoDrop ND100 spektrofotometre (QIAGEN, Almanya) cihazında 260 nm ölçümle gerçekleştirilmiştir.

3.2.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR):

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle 200 µl'lik tüpler içerisinde gerçekleştirilen 25 µl'lik toplam reaksiyon hacmine sahip DNA amplifikasyonu Eppendorf PZR makinesi kullanılarak çalışıldı (Hamburg, Almanya). Olası kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak için tüm reaktifler, plastik eşya, PZR'da kullanılacak tüm pipetler ve tüm reaksiyonlar kategori II'ye uygun Laminar kabinler içinde tutulmuştur. PZR Reaksiyon karışımı 10 ng Genomik DNA, 2 µg Forward ve Reverse primerler (Tablo 3.1) ve 2X PCR Master Mix'ten (Thermo Scientific, K0171) oluşmaktadır.

3.2.4 Restriksiyon Enzim Kesim Reaksiyonu (PCR-RFLP):

DNA izolasyon işlemi sonrası izole edilen genomik DNA'lar, *PPAR-α* rs4253778 G/C, rs1800206 C/G ve rs135539 A/C gen polimorfizmlerinin genotiplenmeleri için, polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) tekniği ile gerçekleştirilmiştir.

rs1800206 C/G Polimorfizm Bölgesi için Kesim işlemi:

PZR programı ilk basamak 94⁰ C 'de 2 dk. denatürasyon, ikinci basamak 35 döngüyü içeren 94⁰C'de 30 sn., 61⁰C'de 30 sn. ve 72⁰C'de 30 sn ve son basamak ise 72⁰C 'de 10 dk. olarak kurulmuştur. PZR reaksiyonu için 10 µg genomik DNA, Water 17.5 µl FD Green Buf. 2 µl ve *HinfI* polimeraz (0.5/µl) kullanılmıştır. PZR sonrası çoğaltılan 210 bç'lik bölge Etidyum Bromür içeren %2'lik agaroz jelde bakılmıştır. Sonrasında *PPARA* geni üzerinde rs1800206 polimorfizminin genotiplerinin belirlenmesi için Fast Digest *HinfI* kesim enzimi kullanılmıştır. Enzim kesimi reaksiyonu sonucunda 10 µl %2'lik jele yüklenerek, 117 bç'lik bir ürün üretmek üzere genotiplenmiştir. *HinfI* polimeraz enzim ile kesildiğinde, C alel varlığında 93 ve 24 bç'lik ürünler vermiştir.

rs135539 A/C Polimorfizm Bölgesi için Kesim işlemi:

PZR programı ilk basamak 94⁰ C 'de 2 dk. denatürasyon, ikinci basamak 35 döngüyü içeren 94⁰C'de 30 sn., 61⁰C'de 30 sn. ve 72⁰C'de 30 sn ve son basamak ise 72⁰C 'de 10 dk. olarak kurulmuştur. PZR reaksiyonu için 10 µg genomik DNA, Water 17.5 µl FD Green Buf. 2 µl ve *HinfI* polimeraz (0.5/µl) kullanılmıştır. PZR sonrası çoğaltılan 210 bç'lik bölge Etidyum Bromür içeren %2'lik agaroz jelde bakılmıştır. Sonrasında *PPARA* geni üzerinde rs135539 polimorfizminin genotiplerinin belirlenmesi için Fast Digest *HinfI* kesim enzimi kullanılmıştır Enzim kesimi reaksiyonu sonucunda 10 µl %2'lik jele yüklenerek, 210 bç'lik bir ürün üretmek üzere genotiplenmiştir. *HinfI* polimeraz enzim ile kesildiğinde, C alel varlığında 148 ve 62 bç'lik ürünler vermiştir.

rs4253778 G/C Polimorfizm Bölgesi için Kesim işlemi:

PZR programı ilk basamak 94⁰ C 'de 2 dk. denatürasyon, ikinci basamak 35 döngüyü içeren 94⁰C'de 30 sn., 61⁰C'de 30 sn. ve 72⁰C'de 30 sn ve son basamak ise 72⁰C 'de 10 dk. olarak kurulmuştur. PZR reaksiyonu için 10 µg genomik DNA, Water 17.5 µl FD Green Buf. 2 µl ve *TaqI* polimeraz (0.5/µl) kullanılmıştır. PZR sonrası çoğaltılan 266 bç'lik bölge Etidyum Bromür içeren %2'lik agaroz jelde bakılmıştır. Sonrasında *PPARA* geni üzerinde rs4253778 polimorfizminin genotiplerinin belirlenmesi için Fast Digest *TaqI* kesim enzimi kullanılmıştır Enzim kesimi reaksiyonu

sonucunda, 10 µl %2'lik jele yüklenerek, 266 bç'lik bir ürün üretmek üzere genotiplenmiştir. *TaqI* polimeraz enzim ile kesildiğinde, 216 ve 50 bç'lik ürünler vermiştir.

3.2.5 Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme İşlemi:

Hazırlanan 0.5 µg/ml Etidiyum Bromür içeren %2-4'lük agaroz (Invitrogen, 15510-027) jel TBE içeren elektroforez tankına yerleştirilmiştir (BIO-RAD). Yerleştirme sırasında yükleme yapılacak olan kuyuların negatif kutuba yakın şekilde olmasına dikkat edilmiştir. 10 µl enzim kesimi ürünü 2 µl yükleme tamponu (loading dye, Thermo Scientific, R0611) ile karıştırılarak kuyulara yüklenmiştir. Jelin en başındaki kuyuya ise 100 bç-1000 bç arasında bantlar içeren 1 µl DNA Ladder yüklenmiştir. Daha sonra jele yüklenen örnekler 80-90 volt elektrik akımı ile 45 dk yürütülmüştür. İşlem sonunda jel UV ışını altında görüntülenmiş ve ürünlerin tespit işlemi gerçekleştirilmiştir (UVStar, Biomedra). Son olarak ise jel görüntüleri bilgisayara aktarılarak kaydedilmiştir.

3.2.6 Biyoistatistik Değerlendirme

Ticari yazılım programı (GraphPad Software, Inc. California, ABD) istatistiksel analiz için kullanılmıştır. Tanımlayıcı verilerde standart sapma (SD) ve ortalama değerler gösterildi. Genotipler ile farklı plazma biyokimyasal parametrelerindeki varyasyonu incelemek için ANOVA (tek yönlü varyans analizi, F-testi) ve çalışılan parametrelerde genotipler arasındaki farklılıkları değerlendirmek için two-tailed p değeri kullanıldı. Her bir biyokimyasal parametre için her bir varyantın eşit olmayan üç farklı genotip olasılığının etkisini ölçmek için ANOVA standart ağırlıklı ortalama analizi kullanıldı. Allel ve genotip frekanslarını karşılaştırarak çalışılan popülasyonda meydana gelebilecek polimorfizm frekanslarındaki olası anlamlı farklılıkların belirlenmesi için ki-kare (χ^2) testi kullanıldı. Allelik frekanslar, polimorfizmlerin genotipik dağılımı ile tahmin edilmiş ve χ^2 analizi ile Hardy-Weinberg dengesi (HWE) için test edilmiştir. P değerleri <0.05 olduğunda istatistiksel anlamlılık varsayıldı.

4.BULGULAR

4.1. Çalışılan grupların klinik ve laboratuvar özellikleri tarafından değerlendirilmesi

Çalışmamız Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti Dr. Burhan Nalbantoğlu Devlet Hastanesi, Talasemi Merkezi'ne kayıtlı ve Talesemi tanısı almış 42 beta-talasemi majör, 25 beta-talasemi intermediate hastaları ile klinisyen tarafından taşıyıcı tanısı konmuş ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde evlenmiş 50 beta-talasemi minör (taşıyıcı) Kıbrıs Türkü ve 100 beta-talasemi mutasyonları yönünden sağlıklı ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde evlenmiş bireylerden oluşan toplam dört grup üzerinde yapılmıştır.

Çalışılan dört grubun biyokimyasal parametrelerinden glukoz değeri; TI hastalarda (96.1 ± 23.6), TT hastalarda (96.9 ± 21.9), kontrol grubu hastalarda (97.9 ± 31.1) normal değerler arasında bulundu. TM hastalarda ise glukoz değeri yüksek (123.4 ± 62.7) bulundu. İstatiksel olarak anlamlı fark saptandı. ($p = 0.008$).

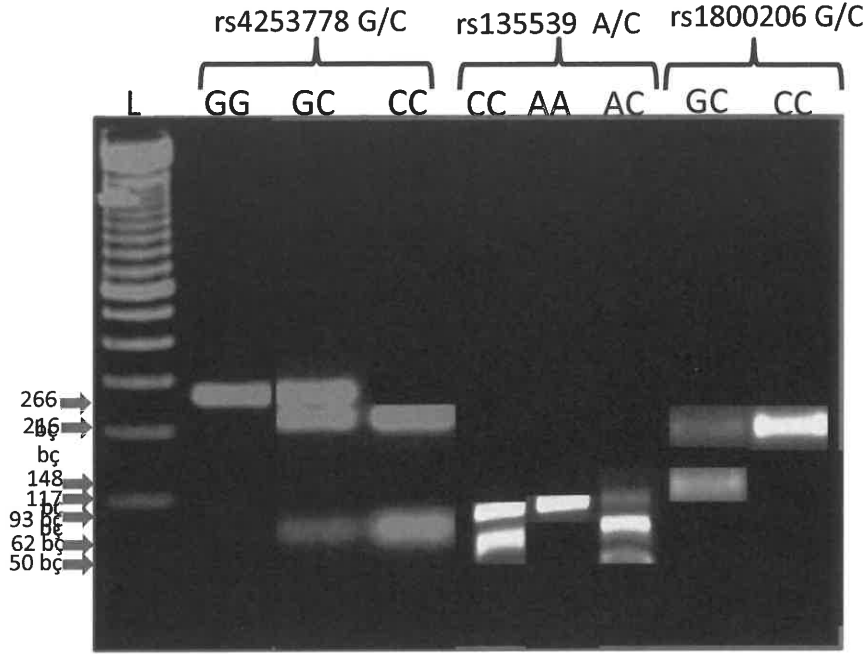
Total Kolesterol (TC); TM hastalarında (154.1 ± 36.7), TI (143.2 ± 39.2), TT (158.3 ± 25.9) ve kontrol grubu hastalarda (158.2 ± 22.4) normal değerler arasında bulundu. Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-C); TM hastalarda (31.4 ± 9.4), TI (27.7 ± 7.0), TT (31.2 ± 4.4) ve kontrol grubu hastalarda (32.1 ± 7.8) normal değerler arasında bulundu. Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-C); TM hastalarında (84.7 ± 33.1), TI (79.8 ± 32.2), TT (83.8 ± 29.3) ve kontrol grubu hastalarda (91.9 ± 45.3) normal değerler arasında bulundu. İstatiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p > 0.05$). Trigiserit değeri; TT hastalarda (124.5 ± 34.2) ve kontrol grubu hastalarda (105.2 ± 40.9) normal değerler arasında bulundu. TM hastalarda (182.9 ± 132.8) ve TI hastalarda (161.1 ± 70.9) yüksek bulundu. İstatiksel olarak anlamlı fark saptandı. ($p < 0.0001$) (Tablo 4.1).

Parameters	TM	TI	TT	Control	<i>p value</i>
	n= 42	n= 25	n= 50	n= 85	
Glucose (mg/dl)	123.4 ± 62.7	96.1 ± 23.6	96.9 ± 21.9	97.9 ± 31.1	0.008 (%95CI:97.9-111.6)
Cholestrol (mg/dl)	154.1 ± 36.7	143.2 ± 39.2	158.3 ± 25.9	158.2 ± 22.4	0.396 (95%CI: 146.0-159.1)
HDL-C (mg/dl)	31.4 ± 9.4	27.7 ± 7.0	31.2 ± 4.4	32.1 ± 7.8	0.542 (95%CI: 30.4-35.9)
LDL-C (mg/dl)	84.7 ± 33.1	79.8 ± 32.2	83.8 ± 29.3	91.9 ± 45.3	0.242 (95%CI: 82.4-96.5)
Triglyceride (mg/dl)	182.9 ± 132.8	161.1 ± 70.9	124.5 ± 34.2	105.2 ± 40.9	<.0001 (95%CI:124.6-155.5)

Tablo 4. 1. Dört çalışma grubunun biyokimyasal parametreler ile karşılaştırılması (One-Way ANOVA, bağımsız örneklerin tek yönlü değişken ile karşılaştırılması testi kullanılmıştır).

4.2. PPARA (rs4253778, rs1800206, rs135539) gen varyasyonlarının Kıbrıslı Türk Talasemi hastalarında ve Sağlıklı Populasyondaki genotip ve alel frekanslarının belirlenmesi

Genotiplme PCR-RFLP yöntemi ile TM (n=42), TI (n=25), TT (n=50) ve Kontrol (n=85) gruplar arasında yapılmıştır. rs4353778 polimorfizm bölgesi, 266 bç'lik bir ürün üretmek üzere genotiplenmiştir. *TaqI* restriksiyon enzim ile kesildiğinde 216 ve 50 bç'lik ürünler vermiştir (Şekil 4.3). rs1800206 polimorfizminin genotiplenmesi için elde edilen 117 bç'lik gen bölgesi *HinfI* restriksiyon enzimi ile kesildiği zaman 93 ve 34 bç'lik ürünler elde edilmiştir. Ürünlerin gözlenmesi için %4'lük agaroz jel kullanılmıştır. Son SNP rs135539 polimorfizminin genotiplenmesi için 210 bç'lik ürün C alel varlığında 148 ve 62 bç'lik ürünler elde edilmiştir (Şekil 4.1)



Şekil 4.1 PPAR-alfa rs135539 G/C, rs1800206 G/C, rs4253778 G/C gen polimorfizmlerinin PCR-RFLP genotipleme yöntemi kullanılarak agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi. Kırmızı oklar PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesilme sonrası fragment büyüklüklerini göstermektedir (L: Ladder, bç: baz çifti).

PPAR-alfa gen rs4253778 varyantı için genotip dağılım sonuçlarına göre minor allel frekansı (MAF) C alleli için 0.31 olarak belirlendi (Tablo 4.2). Elde edilen allel frekansı uluslararası veri tabanlarından 1000genome ve dbSNP'e göre; Global MAF 0.27, Avrupa popülasyonu için (EUR) MAF 0.19, ve İtalyan Tuskan popülasyonu için ise de (EUR TSI) 0.28 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3).

PPAR-alfa rs1800206 gen varyasyonu genotipik dağılımına bakıldığında ise minör allel olan G alleli için frekans değeri 0.04 olarak belirlendi (Tablo 4.2). Uluslararası veri tabanlarıyla karşılaştırıldığında ise bu değer Global, EUR ve EUR TSI için sırası ile 0.02, 0.06 ve 0.05 olarak gözlenmiştir. (Tablo 4.3).

SNP rs135539 için genotipik dağılım sonuçlarına göre C allele göre MAF değeri 0.26 olarak saptanmıştır (Tablo 4.2). Bu değer uluslararası veri tabanlarında C alleli için

Global MAF 0.46, EUR MAF 0.40 ve son olarak EUR TSI MAF 0.33 olarak gözlenmiştir (Tablo 4.3).

PPAR-alfa rs4253778 G/C, rs1800206 C/G ve rs135539A/C gen varyantları için genotiplerinin dağılımları Hardy-Weinberg dengesine göre test edilmiş ve uygun bulunmuştur ve istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ($p < 0.05$) (Tablo 4.2).

	Genotype/Allele	TM	TI	TT	Control	OR	95% CI	p
		na (%)	nb (%)	nc (%)	nd (%)			
rs4253778	GG	25	13	30	60			
	GC	19	10	18	38			
	CC	6	2	2	2			
	G	0.69	0.72	0.78	0.79			
	C	0.31	0.28	0.22	0.21			
HWE p		0.431	1.000	0.729	0.146			
HWE X2		0.62	0.000	0.12	2.11	1.365	0.741-2.513	0.317
rs1800206	CC	39	23	45	89			
	CG	3	2	5	11			
	GG	0	0	0	0			
	C	0.96	0.96	0.95	0.94			
	G	0.04	0.04	0.05	0.06			
HWE p		0.806	0.841	0.708	0.559			
HWE X2		0.06	0.04	0.14	0.34	1.513	0.410-5.572	0.533
rs135539	AA	25	15	25	53			
	AC	12	9	22	39			
	CC	5	1	3	8			
	A	0.74	0.78	0.72	0.72			
	C	0.26	0.22	0.28	0.28			
HWE p		0.090	0.806	0.516	0.823			
HWE X2		2.86	0.06	0.42	0.05	1.131	0.601-2.130	0.701
n a=42, nb=,25, nc=50, nd=100								

Tablo 4.2. Çalışılan dört grupta üç PPAR-alfa (rs4253778 G/C, rs1800206 C/G, rs135539A/C) polimorfizminin genotip ve allel dağılımları Hardy-Weinberg dengesine göre hesaplanmıştır (TM: Thalassemia Major; TI; Thalassemia Intermediate; TT: Thalassemia Trait; OR: Odd Ratio; CI: Coinfidence İnterval; HWE: Hardy-Weinberg Equilibrium; X2: Chi-Square)

PPARA					
rs4253778 C>G		rs1800206 C>G		rs135539 A>C	
Functional Consequence:	intron variant	Functional Consequence:	missence, non-coding transcript variant	Functional Consequence:	intron variant
Ancestral Allele:	C	Ancestral Allele:	C	Ancestral Allele:	A
Global MAF:	27.0 % C	Global MAF:	2.0% G	Global MAF:	46.0% A
EUR MAF	19.0 % C	EUR MAF	6.0% G	EUR MAF	40.0% A
EUR TSI MAF	28.0 % C	EUR TSI MAF	5.0% G	EUR TSI MAF	33.0% C

(MAF: Minor Allele Frequency; EUR: European; TSI: Toscani in Italy)

Tablo 4.3. 1000genome ve dbSNP'e göre üç *PPARA* varyantının allel frekansları

Genotipe göre ve *PPARA* rs4253778 G>C polimorfizminin allel dağılımları, GG genotipleri TM (n=26), TI (n=13), TT (n=30) ve kontrol grubunda (n=50) bulundu. G allel dağılımları, TM (%79), TI (%72), TT (%78) ve kontrol grubunda (%69) bulundu (Tablo 4.2).

PPARA rs1800206 C> G polimorfizminin allel dağılımları, CC genotipleri TM (n=39), TI (n=23), TT (n=45) ve kontrol grubunda (n=89) bulundu. GG genotipi çalışma popülasyonunda gözlenmedi. C allel dağılımları, TM (%96), TI (%96), TT (%95) ve kontrol grubunda (%94) bulundu (Tablo 4.2).

PPARA rs135539 A> C polimorfizminin allel dağılımları, AA genotipleri TM (n=25), TI (n=15), TT (n=25) ve kontrol grubunda (n=53) bulundu. A allel dağılımları, TM (%74), TI (%78), TT (%72) ve kontrol grubunda (%72) bulundu (Tablo 4.2).

4.3. Çalışılan Talasemi Major, intermediate, taşıyıcı ve kontrol gruplarında *PPARA* gen polimorfizmlerinin (rs4253778 C/G, rs1800206 G/C, rs135539 A/C) klinik ve laboratuvar parametreleri ile karşılaştırılması.

İstatistiksel hesaplamalar sonucunda Glukoz değerleri açısından TM hastalarda *PPARA* rs4253778 C>G polimorfizmine bakıldığında; GG ve GC genotipine sahip bireylerde (130.0 ± 74.9 , 114.3 ± 36.7) yüksek, CC genotipine sahip bireylerde (101.5 ± 7.7) sınırdaki bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.673$) (Tablo 4.4a). Rs1800206 CC genotipine sahip bireylerde glukoz seviyesi yüksek (125.2 ± 64.7), CG genotipine sahip bireylerde (99.7 ± 5.6) normal değerlerde bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.501$) (Tablo 4.4b). Rs135539 gen polimorfiziminde AA, AC, CC genotiplerine sahip bireylerde yüksek glukoz seviyesi gözlenirken (121.3 ± 66.7 , 132.0 ± 19.3 , 113.2 ± 29.7) istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.827$) (Tablo 4.4c). Genel olarak her üç polimorfizm karşılaştırıldığında glukoz değeri TM hastalarda CC genotipine sahip bireylerde yüksek olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.4a, 4.4b, 4.4c). İstatistiksel hesaplamalar sonucunda total-kolesterol (TK), HDL-C, LDL-C değerleri açısından TM hastalarda *PPARA* gen polimorfizmleri (rs4253778 C>G, rs1800206 C>G, rs135539 A>C) normal değerler arasında bulunurken istatistiksel olarak anlamlı bir değer gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.4a, 4.4b, 4.4c). Serum Trigliserid değerleri açısından TM hastalarda *PPARA* rs4253778 C>G polimorfizmine baktığımız zaman, CC genotipine sahip bireylerde anlamlı bir fark bulundu ($p=0.017$) (Tablo 4.4a).

Glukoz değerleri açısından TI hastalarda *PPARA* rs4253778 C>G polimorfizmi GC ve CC genotiplerine sahip bireylerde (86.6 ± 10.8 , 90.5 ± 7.7) normal değerler arasında, GG genotipine sahip bireylerde ise (104.0 ± 30.7) sınır seviyesinde bulundu (Tablo 4.4a). Rs1800206 C>G polimorfizminde, CC genotipine sahip bireylerde (94.6 ± 21.6) normal değerler arasında, CG genotipine sahip bireylerde ise (112.5 ± 50.2) sınırdaki bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.316$) (Tablo 4.4b). Rs135539 A>C polimorfizminde, AA ve CC genotipine sahip bireylerde (92.8 ± 24.3 , 76.5 ± 0.7) normal değerler arasında, AC genotipine sahip bireylerde (103.7 ± 22.4) sınırdaki bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.284$) (Tablo 4.4c). İstatistiksel hesaplamalar sonucunda TK, HDL-C, LDL-C değerleri açısından TI hastalarda *PPARA* gen polimorfizmleri (rs4253778 C>G, rs1800206 C>G, rs135539

A>C) normal değerler arasında bulundu. İstatiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 4.4a, 4.4b, 4.4c). İstatistiksel hesaplamalar sonucunda Trigliserid değerleri açısından TI hastalarda *PPARA* rs4253778 C>G polimorfizmine baktığımız zaman, CC genotipine sahip bireylerde istatistiksel bir önem saptandı ($p=0.045$) (Tablo 4.4a).

Talasemi Taşıyıcısı (TT) ve kontrol gruplarında ise *PPARA* gen polimorfizmleri (rs1800206 C>G, rs1800206 C>G, rs135539 A>C) ile serum glukoz, total kolestrol, HDL-C, LDL-C ve Trigliserid değerleri açısından değerlendirildiğinde normal olarak bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo 4.4a, 4.4b, 4.4c).

Clinical Parameters	rs4253778 C>G			ANOVA <i>p</i> value
TM	GG	GC	CC	
Glucose (mg/dL)	130.0 ± 74.9	114.3 ± 36.7	101.5 ± 7.7	0.673 (95%CI: 100.4-142.3)
Cholesterol (mg/dL)	156.0 ± 39.7	143.6 ± 22.6	180.0 ± 73.5	0.339 (95%CI: 141.9-164.0)
HDL-C (mg/dL)	32.6 ± 10.1	30.5 ± 7.6	21.5 ± 9.1	0.256 (95%CI: 28.5-34.2)
LDL-C (mg/dL)	89.0 ± 34.7	84.2 ± 22.8	72.2 ± 19.8	0.713 (95%CI: 77.4-95.7)
Triglyceride (mg/dL)	179.0 ± 102.2	154.7 ± 70.6	431.5 ± 512.6	0.017 (95%CI: 142.7-223.0)
Clinical Parameters				ANOVA <i>p</i> value
TI	GG	GC	CC	
Glucose (mg/dL)	104.0 ± 30.7	86.6 ± 10.8	90.5 ± 7.7	0.233 (95%CI: 86.0-105.1)
Cholesterol (mg/dL)	154.6 ± 40.0	127.5 ± 36.1	124.0 ± 226	0.207 (95%CI: 126.0- 156.5)
HDL-C (mg/dL)	28.0 ± 8.6	28.0 ± 6.0	24.5 ± 0.7	0.812 (95%CI: 24.9-30.4)
LDL-C (mg/dL)	91.9 ± 1.2	69.5 ± 8.5	58.2 ± 4.6	0.167 (95%CI: 52.6-106.9)
Triglyceride (mg/dL)	165.0 ± 70.1	146.9 ± 60.8	206.5 ± 149.1	0.045 (95%CI: 133.3-188.8)
Clinical Parameters				ANOVA <i>p</i> value
TT	GG	GC	CC	
Glucose (mg/dL)	90.4 ± 7.0	95.4 ± 14.1	105.0 ± 7.0	0.149 (95%CI: 88.9-106.6)
Cholesterol (mg/dL)	205.7 ± 54.2	199.0 ± 45.1	179.5 ± 10.6	0.780 (95%CI: 178.2-222.3)
HDL-C (mg/dL)	31.6 ± 5.8	29.7± 3.5	32.5 ± 2.3	0.796 (95%CI: 29.0-33.5)
LDL-C (mg/dL)	90.4 ± 18.4	78.5 ± 5.3	82.5 ± 3.5	0.321 (95%CI: 77.1-91.0)
Triglyceride (mg/dL)	105.5 ± 37.8	133.2 ± 20.1	135 ± 0 7.0	0.228 (95%CI: 101.2-136.2)
Clinical Parameters				ANOVA <i>p</i> value
Control	GG	GC	CC	
Glucose (mg/dL)	99.5 ± 36.6	94.6 ± 12.4	94.5 ± 20.5	0.861 (95%CI: 89.8-105.9)
Cholesterol (mg/dL)	193.9 ± 45.5	182.9 ± 52.2	195.0 ± 49.4	0.749 (95%CI: 178.8-203.4)
HDL-C (mg/dL)	36.0± 9.1	31.0± 4.7	29.3± 2.32	0.190 (95%CI: 28.4-36.5)
LDL-C (mg/dL)	94.8 ± 29.8	92.4 ± 17.5	88.6 ± 31.7	0.861 (95%CI: 86.2-100.5)
Triglyceride (mg/dL)	102.6 ± 37.2	111.1 ± 50.1	129.0 ± 57.9	0.597 (95%CI: 94.3-117.4)

Tablo 4.4.a. İncelenen dört grupta rs4253778 polimorfizmin klinik parametreler ile karşılaştırılması.

Clinical Parameters	rs1800206 C>G			ANOVA <i>p</i> value
TM	CC	CG	GG	
Glucose (mg/dL)	125.2 ± 64.7	99.7 ± 5.6		0.501 (95%CI: 98.7-142.3)
Cholesterol (mg/dL)	154.9 ± 37.0	128.4 ± 15.0		0.227 (95%CI: 127.9-164.0)
HDL-C (mg/dL)	31.8 ± 9.6	25.0 ± 4.3		0.229 (95%CI: 24.8-34.2)
LDL-C (mg/dL)	87.9 ± 30.8	69.4 ± 14.7		0.311 (95%CI: 68.4-95.7)
Triglyceride (mg/dL)	183.9 ± 21.9	169.7 ± 33.8		0.863 (95%CI: 142.7-223.0)
Clinical Parameters	rs1800206 C>G			ANOVA <i>p</i> value
TI	CC	CG	GG	
Glucose (mg/dL)	94.6 ± 21.6	112.5 ± 50.2		0.316 (95%CI: 86.8-105.3)
Cholesterol (mg/dL)	140.3 ± 39.1	153.0 ± 48.0		0.667 (95%CI: 125.8-156.8)
HDL-C (mg/dL)	28.4 ± 6.7	19.5 ± 7.7		0.085 (95%CI: 24.9-30.4)
LDL-C (mg/dL)	81.0 ± 32.3	51.3 ± 0.42		0.215 (95%CI: 66.0-91.1)
Triglyceride (mg/dL)	151.1 ± 60.3	188.0 ± 11.7		0.170 (95%CI: 133.3-188.9)
Clinical Parameters	rs1800206 C>G			ANOVA <i>p</i> value
TT	CC	CG	GG	
Glucose (mg/dL)	98.9 ± 21.9	94.0 ± 6.6		0.779 (95%CI: 88.8-103.7)
Cholesterol (mg/dL)	168.2 ± 72.7	169.4 ± 53.9		1.000 (95%CI: 145.0-191.7)
HDL-C (mg/dL)	36.5 ± 10.4	30.4 ± 3.8		0.217 (95%CI: 29.3-39.0)
LDL-C (mg/dL)	87.7 ± 25.9	79.6 ± 94.8		0.522 (95%CI: 75.2-95.7)
Triglyceride (mg/dL)	131.3 ± 46.6	119.5 ± 38.9		0.608 (95%CI: 111.4-146.5)
Clinical Parameters	rs1800206 C>G			ANOVA <i>p</i> value
Control	CC	CG	GG	
Glucose (mg/dL)	99.1 ± 42.4	105.5 ± 5.3		0.843 (95%CI: 84.3-114.6)
Cholesterol (mg/dL)	153.9 ± 66.1	225.0 ± 42.3		0.084 (95%CI: 136.4-227.1)
HDL-C (mg/dL)	35.6 ± 9.4	29.4 ± 6.8		0.294 (95%CI: 29.3-39.0)
LDL-C (mg/dL)	93.7 ± 20.9	87.8 ± 64.8		0.697 (95%CI: 75.2-95.7)
Triglyceride (mg/dL)	106.7 ± 35.6	136.5 ± 40.6		0.142 (95%CI: 96.9-145.0)

Tablo 4.4.b. İncelenen dört grupta rs1800206 polimorfizmin klinik parametreler ile karşılaştırılması.

Clinical Parameters	rs135539 A>C			ANOVA <i>p</i> value
TM	AA	AC	CC	
Glucose (mg/dL)	121.3 ± 66.7	132.0 ± 19.3	113.2 ± 29.7	0.827 (95%CI: 104.4-142.3)
Cholesterol (mg/dL)	158.3 ± 37.8	149.0 ± 10.4	136.2 ± 10.4	0.426 (95%CI: 135.1-163.9)
HDL-C (mg/dL)	31.5 ± 8.0	33.1 ± 12.3	26.6 ± 8.9	0.439 (95%CI: 25.5-34.2)
LDL-C (mg/dL)	89.1 ± 28.8	85.0 ± 39.4	78.4 ± 2.1	0.764 (95%CI: 77.4-95.7)
Triglyceride (mg/dL)	186.5 ± 148.9	174.7 ± 118.2	184.8 ± 95.7	0.970 (95%CI: 142.7-223.0)
Clinical Parameters	rs135539 T>G			ANOVA <i>p</i> value
TI	AA	AC	CC	
Glucose (mg/dL)	92.8 ± 24.3	103.7 ± 22.4	76.5 ± 0.7	0.284 (95%CI: 86.2-104.4)
Cholesterol (mg/dL)	130.1 ± 28.0	155.0 ± 49.5	186.5 ± 0.7	0.07 (95%CI: 127.6-158.3)
HDL-C (mg/dL)	26.2 ± 6.9	30.6 ± 7.1	25.0 ± 0.0	0.317 (95%CI: 24.9-30.5)
LDL-C (mg/dL)	68.7 ± 19.9	98.2 ± 40.9	100.0 ± 0.0	0.07 (95%CI: 68.5-93.8)
Triglyceride (mg/dL)	178.4 ± 82.8	129.2 ± 36.2	188.0 ± 0.0	0.249 (95%CI: 133.3-188.8)
Clinical Parameters	rs135539 T>G			ANOVA <i>p</i> value
TT	AA	AC	CC	
Glucose (mg/dL)	86.2 ± 26.6	91.0 ± 8.5	106.0 ± 28.0	0.256 (95%CI: 82.9- 107.2)
Cholesterol (mg/dL)	186.6 ± 16.5	165.7 ± 7.7	157.0 ± 8.8	0.425 (95%CI: 156.2-192.3)
HDL-C (mg/dL)	33.0 ± 10.7	33.4 ± 8.9	28.7 ± 3.0	0.735 (95%CI: 27.4-35.9)
LDL-C (mg/dL)	86.8 ± 11.7	75.2 ± 13.3	85.6 ± 20.1	0.586 (95%CI: 73.3-97.0)
Triglyceride (mg/dL)	161.2 ± 196.9	113.1 ± 35.3	90.6 ± 24.7	0.536(95%CI: 80.3-176.6)
Clinical Parameters	rs135539 T>G			ANOVA <i>p</i> value
Control	AA	AC	CC	
Glucose (mg/dL)	91.2 ± 120	106.1 ± 42.9	90.2 ± 18.5	0.195 (95%CI: 89.8-107.9)
Cholesterol (mg/dL)	194.3 ± 54.8	190.2 ± 41.1	176.0 ± 17.2	0.764 (95%CI: 175.7-203.4)
HDL-C (mg/dL)	35.7 ± 10.7	34. ± 4 9.9	29.6 ± 3.0	0.436 (95%CI: 28.4-36.7)
LDL-C (mg/dL)	94.3 ± 14.7	86.2 ± 16.3	92.6 ± 20.1	0.729 (95%CI: 75.3-99.2)
Triglyceride (mg/dL)	111.3 ± 45.7	98.5 ± 33.7	106.0 ± 53.2	0.574 (95%CI: 94.3-116.0)

Tablo 4.4.c. İncelenen dört grupta rs135539 polimorfizmin klinik parametreler ile karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada Kıbrıslı Türk beta-talasemi major ve intermediate hastalarda *PPAR-alfa* gen varyantlarının genel nüfusla karşılaştırılmalı genotipik dağılımlarının ve talasemi kliniğinde rol aldığını düşündüğümüz *PPAR-alfa* gen polimorfizmlerin (rs4253778 C/G, rs1800206 G/C, rs135539 A/C) moleküler mekanizmaya etkisini araştırmayı hedefledik. Çalışma ayrıca Kıbrıs Türk beta-talasemi major ve intermediate hastalarda *PPAR-alpha* gen varyantlarının genotipik dağılımını inceleyen ilk çalışmadır. Literatürdeki önceki çalışmalarda, Talasemi major hastalarda kolesterol, HDL-Kolestrol, LDL-kolesterol düzeylerinin düşük, trigliserid düzeyi yüksek bulunduğu bildirilmiştir (Canatanve ark., 2001). Bilgimiz dahilinde, talasemi major hastalardaki meydana gelen dislipideminin moleküler mekanizmasını henüz açıklanamamıştır. Bu nedenle çalışmamızda lipid metabolizmasını düzenmesinde rol alan genlerden *PPAR- α* (rs4253778, rs1800206, rs135539) gen varyasyonları ve talasemi arasındaki ilişkiye bakılmıştır.

Peroksizom proliferatör aktive reseptörler (*PPAR*'lar), nükleer hormon reseptörlerinin süper familyasına ait olan ve hiperlipidemi, diyabet ve obezite gibi bazı hastalıkların gelişimine potansiyel olarak bağlı olan metabolik süreçlere katılan çeşitli genlerin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörleridir. *PPAR-α*, lipitlerin, karbonhidratların ve amino asitlerin metabolizmasını düzenleyen ve çoklu doymamış yağ asitleri ve dislipidemileri tedavi etmek için kullanılan ilaçlar gibi ligandlar tarafından aktive edilen bir transkripsiyon faktörüdür (Contreras ve ark.,2013).

PPAR-α esas olarak yoğun yağ asidi katabolizması olan dokularda eksprese edilir ve aktivasyonu *LPL*, *APOC3*, *APOA1* ve *APOA5* dahil olmak üzere lipit ve lipoprotein metabolizmasını düzenleyen birçok genin transkripsiyonunu regüle eder (Shah ve ark., 2010; Fruchart, 2009). Bulgularımız, *PPAR-α* rs4253778 C aleli (genotip CC) 'nin homozigot varlığının, artmış TG düzeyleri ile ilişkili olduğunu ortaya çıkardı. Verilerimiz başkaları tarafından elde edilen bulgular ile kısmen uyumludur. Örneğin, Yong ve ark.'ları (2008) *PPAR-α* rs4253778'in de lipit serum seviyelerinde varyasyon ile ilişkili olduğunu daha önce gösterdiler. Aynı zamanda, rs4253778'in C alelinin artmış toplam ve LDL-C, ateroskleroz progresyonu ve artmış ölümcül miyokart

enfarktüsü riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Yong ve ark., 2008; Flavell ve ark., 2002; Zak ve ark., 2005).

PPAR- α rs1800206 gen polimorfizminin ise Kafkas, Hint ve Afrikalı-Amerikalı popülasyonları gibi birçok popülasyonda TG, total kolesterol, LDL-C, HDL-C ve APOA1 plazma konsantrasyonlarındaki değişikliklerle ilişkili olduğu çeşitli yayınlarda gösterilmiştir (Shah ve ark., 2010, Fruchart, 2009, Flavell ve ark., 2000, Shin ve ark., 2008). Ancak Mazzotti ve arkadaşları (2011), Brezilya'da iki farklı şehirde yaptıkları araştırmada (São Paulo Şehri ve Cuiaba Şehri) her iki polimorfizm ile ilgili olarak sonuçlarda farklılıklar bulunduğunu tespit etmişlerdir (Mazzotti ve ark., 2011, Chen ve ark., 2011). Örneğin, rs4253778'in C alleli, São Paulo popülasyonunda daha yüksek HDL-C ve daha düşük TG ve VLDL seviyeleri ile ilişkilirken, aynı alel Cuiaba popülasyonunda dislipidemi ile ilişkilendirildi. Araştırmacılar incelenen iki örnekte tartışmalarını farklı nüfus tabakalaşmasıyla açıkladılar (Mazzotti ve ark., 2011). Farklı tabakalaşma nüfusları oluşturan katılımcıların Avrupa ve Afrika'dan gelen atalarından farklı oranlarını ortaya koydu. Dahası, yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıkları bu popülasyonlar arasında önemli ölçüde farklıdır. Bu nedenle, çalışmaları ve diğer çalışmalar arasındaki rs4253778 polimorfizmleri ile ilgili sonucundaki farklılıkların aynı nedenlerden kaynaklandığını düşünülmüştür. Bununla birlikte, Vohl (Vohl ve ark., 2000) ve Sapone (Sapone ve ark., 2000) *PPAR- α* rs1800206 gen varyantının reseptör aktivitesi üzerinde fonksiyonel sonuçlara sahip olduğunu bulmuştur.

Talasemi, hemoglobin globin alt birimlerinin yetersiz üretimi, etkisiz hematopoez ve artmış hemoliz ile karakterize otozomal resesif kalıtılan bir kan hastalığıdır (Weatherall ve Clegg, 2001, Lanzkowsky ve Atlas, 2005). Lipid profilindeki değişiklikler, β -talasemide tutarlı bir şekilde bildirilmiştir, ancak patogenezi tam olarak net değildir (Calandra ve ark., 2004, Livrea ve ark., 1998). Mart 2013-Ağustos 2013 tarihleri arası Pakistan'ın Lahore kentindeki bir Çocuk Hastanesinde yapılan çalışmada, kontrol hastaları ile karşılaştırıldıkları zaman beta talasemi major hastaların yüksek trigliserid, düşük total kolesterol, düşük LDL kolesterol ve düşük HDL kolesterol değerlerine sahip oldukları gözlemlendi. Sonuçların, lipit profili değişmiş beta talasemi majörlü hastalarda önceki bulgularla uyumlu olduğu bildirilmiştir (Zannos-Mariolea ve ark., 1978, Meral ve ark., 2000).

1991 yılında Goldfarb ve arkadaşları, arttırılmış eritropoezin, karaciğer hasarı ve makrofajlar ve retikuloendotelyal sistemin histiyositleri (doku fagositleri, makrofajlar) tarafından düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) alımının artmasının beta talasemilerde düşük plazma kolesterolünün ana belirleyicileri olduğunu ileri sürmüşlerdir (Hartman ve ark.,2002, Giardini ve ark., 1978, Mann ve ark., 1991).

Çalışmamızda total kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerindeki düşüş bu sonuçlarla uyumludur. Triglicerid düzeyi beta talasemi majör hastalarda yapılan bazı çalışmalarda anlamlılık göstermezken (Goldfarb ve ark., 1991; Maioli ve ark.,1984; Cherchi ve ark.,1983); bazı çalışmalarda yüksek olduğu saptanmıştır (Maioli ve ark.,1997; Papanastasiou ve ark.,1996; Pogana ve Pogana,2002; Flavio, 2005).

Beta talasemi majör hastalarda gözlenen serum lipid değişikliklerinin açıklanması açısından çalışmalarda farklı sonuçlar elde edildi. Karaciğer hasarı (Maioli ve ark. 1984), hepatik ve ekstrahepatik lipaz enzim aktivitesinin düşüklüğü (Cherchi ve ark.,1983), modifiye HDL ve LDL'lerin (Trigliceridden zengin, ester kolesterolden fakir) aktive monositler ve makrofajlarca hızlı bir şekilde temizlenmesi sorumlu tutulmaktadır. Aşırı demir yüklenmesi (yüksek ferritin değerleri), karaciğer hasarı (AST ve ALT arasındaki oranın bozulması) ve hormonal bozukluklar gibi beta talasemili çocuklarda bu kan lipid değişimleri için birçok faktör vardır (Goldfarb ve ark.,1991; Maioli ve ark., 1984; Cherchi ve ark., 1983; Papanastasiou ve ark., 1996). Ancak elde edilen sonuçlar konuya yeterince açıklık getirmemektedir.

Bazı çalışmalar, düşük kan kolesterol değerlerinin, beta-talasemili hastalarda eritropoezin artması ve retikuloendotelyal sistemde (RES) var olan makrofajlar ve histiyositler tarafından LDL alımının artması sonucu ortaya çıkabileceği öne sürülmüştür (Maioli ve ark.,1997, Maioli ve ark., 1989). Bir çalışma da toplam fosfolipidlerin ve işlevlerinin total kolesterolün azalmasıyla da azaldığını göstermiştir. Aynı çalışmada serum lipit çoklu doymamış yağ asitleri düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir. Bu değişiklikler aşırı demir yüklenmesi ve karaciğer hasarının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Giardini ve ark.,2004). Beta talasemili hastalarda yapılan çalışmaya göre serum total kolesterol düzeyi düşük bulunmuştur. Ancak, elde edilen sonuçların konuyu netleştirmek için yeterli olmadığı bildirilmiştir.

Antalya Talasemi Merkezinde yapılan çalışmada Talasemi majörlü (TM) hastalarda serum lipid değerlerinin farklı olduğu gösterilmiştir. Talasemi majör hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre kolesterol, HDL-Kol, LDL-Kolesterol düzeyleri anlamlı olarak düşük ($p<0.001$), Trigliserid düzeyi ise yüksek bulunmuştur. ($p<0.001$) (Canatan ve ark. 2009).

Ocak 2013-Aralık 2014 arasında yapılan bir hastanedeki çalışmada beta talasemi çocuklarında lipit profili değerlendirilerek, bir grup sağlıklı çocukla karşılaştırıldı. Çalışmada, beta talasemi majör hastanın serum HDL-C, LDL-C ve TC düzeylerinin kontrollere kıyasla düşük olduğu görülmüştür. Buna ek olarak bu trigliserit seviyeleri de oldukça yüksek oluşu saptandı (Al-Quobaili ve ark.,2004, Mansi ve ark.,2008, Patne ve ark.,2012, Arıca ve ark.,2012, Khubchandani ve ark.,2014, KhaleedJumaa ve ark.,2013). Bu değişiklik muhtemelen anemi ve aşırı demir yükünde azalmış hepatik biyosentezden kaynaklanırken, azalmış ekstra hepatik lipolitik aktivite dolaşımdaki TG'deki artışı açıklayabilir (Al-Quobaili ve ark., 2004).

Ürdünlü çocuklarda kandaki kan lipitlerinin beta talasemi major ile dağılımı araştırıldığı zaman düşük kolesterol düzeyi, HDL kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri saptanırken, trigliserid değerleri yüksek olarak bulunmuştur (Mansi ve Aburjai, 2008).

İtalya'daki hastalarda beta talasemi majörü üzerine yapılan diğer bir çalışmada, bu hastaların önemli ölçüde daha düşük total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol ve yüksek trigliserit konsantrasyonu gösterdikleri bulunmuştur (Papanastasiou ve ark.,1996). Bu nedenle, aşırı demir yükü (yüksek ferritin seviyesi), karaciğer hasarı (AST ve ALT arasındaki oranın bozulması) ve hormonal bozukluklar gibi birçok faktörün, beta-talaseminin ana formu olan hastalarda lipit profilini etkilediği görülmektedir.

Lipaz aktiviteleri (hem hepatik hem de ekstrahepatik) talasemik hastalarda anlamlı olarak daha düşük olduğu Christina ve arkadaşları (2004) tarafından belirtilirken, bu enzimatik aktivitelerin azalmış düzeylerinin, talasemik hastalarda gözlenen HDL-C'nin azalmasının belirlenmesinde rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir. Verilerimiz beta-talasemi hastalarında daha yüksek TG elde edilenlerle

uyumludur. Ayrıca, beta-talasemi major ve intermadiate hastada PPAR- α rs4253778 CC genotip ve TG ile kuvvetli ilişki olduğunu gösterdik. Ancak, bilimsel literatür, birçok popülasyonda dislipidemide PPARA rs4253778 C alelinin koruyucu etkisi veya etkisinin olmaması için genetik epidemiyolojik kanıt sağlamaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Sonuç olarak, PPAR- α gen rs4253778 CC genotipinin, beta talasemi majör ve intermadiate hastalarda TG metabolizmasını daha etkili bir şekilde etkilediği tespit edilmiştir. Bu, bazı hastalardaki talasemi biyokimyasal fenotipinin şiddetindeki varyasyonlarını ve farklı klinik seyrini (kalp hastalıkları gibi) açıklayabilir.

6.2. Öneriler

Çalışmamızda, talasemik hastalarda lipid profilin yüksek trigliserit düzeyi, düşük kolesterol düzeyi ve düşük HDL-kolesterol düzeyleri ile değiştiği görülmüştür. Bu lipid anormalliklerine bağlı olarak, talasemi hastalarında muhtemel koroner kalp hastalığı riskine sahip düşünüldüğü zaman, bu değişiklikleri klinik olarak öngörmek mümkün olmadığından, beta talasemi majörlü hastalarda düzenli olarak kan lipit seviyesi ölçümleri yapılmasının yanı sıra kliniğinin daha da iyi anlaşılması için dislipidemi mekanizmasında rol oynayan *PPAR- α* geni gibi genlerin genetik profilendirilmesi yapılmalıdır. Bu hastaların kliniğinde beklenen yüksek trigliserid seviyesininin düzeltilmesinde uygulanan fibratlar, gemfibrozil, bezafibrat, klofibrat ve fenofibrat içeren amfipatik karboksilik asitler, *PPAR α* transkripsiyon fonksiyonuna bağlanan ve aktive eden sentetik *PPAR- α* ligandlarıdır ve aynı zamanda hedef genlerinin ekspresyonunun modülasyonuna yol açar. Fibratlar, TG'yi azaltmada ve diyabetli kişilerde kardiyovasküler hastalık riskini azaltan HDL kolesterol seviyelerini yükseltmede etkilidir. Dolayısı ile PPAR-alfa gen varyasyonlarının bu kişilerde saptanması uygulanacak doğru kişiye yönelik tedavi için çok önemlidir.

KAYNAKLAR

A. Nazlı BAŞAK. (2005). Talasemi moleküler genetiği B AN- Türk Hematoloji Derneği Temel Moleküler Hematoloji.

Albayrak D, Albayrak C. (2009). Anemik hastada iyi öngörü Türk Pediatri Arşivi; 6: 1-5.

Alejandra V. Contreras Nimbe Torres Armando R. Tovar. (2013). PPAR- α as a Key Nutritional and Environmental Sensor for Metabolic Adaptation Advances in Nutrition, Volume 4, Issue 4, Pages 439–452, <https://doi.org/10.3945/an.113.003798>

Al-Quobaili, Faizeh A., and Imad E. Abou Asali. (2004). "Serum levels of lipids and lipoproteins in Syrian patients with betathalassemia major." Saudi medical journal 25, no. 7: 871-875.

Altay C, Gürgey A. (1990). Beta-thalassemia intermedia in Turkey. Ann N Y Acad Sci [Internet]. [cited 2018 Jan 14];612:81–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2291577>

Andreani R. Kyri, Eleni Kalogerou, Dena Loizidou, Christina Ioannou, Christina Makariou, Loukas Kythreotis, Marios Phylactides, Petros Kountouris, Michael Angastiniotis, Bernadette Modell, and Marina Kleanthous. (2013). The Changing Epidemiology Of B-Thalassemia In The Greekcypriot Population Hemoglobin; 37(5): 435–443 Copyright © Informa Healthcare USA, Inc. ISSN: 0363-0269 print/1532-432X online DOI: 10.3109/03630269.2013.801851

Antonio Cao, and Renzo Galanello. (2010). -Beta-thalassemia Genetics in medicine, nature.com DOI: 10.1097/GIM.0b013e3181cd68ed

Arcasoy A, Canatan D, Kose M UM. (2002). Dunyada ve Turkiye’de Talasemi ve Hemoglobinopati ve Talasemi.Onlem-Tanı-Tedavi. Antalya: Siyah Grafik Matbaacılık. 13-17 p.

Arıca, Vefik, Seçil Arıca, CahitÖzer, and Murat Çevik. (2012). "Serum Lipid Values in Children with Beta Thalassemia Major." *PediatTherapeut* 2, no. 130: 2161-0665.

Aydoğan HY, Kurt O, Kurnaz O, Teker BA, Kucukhuseyin O. (2013). Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) isoforms in coronary heart disease *Turk J Biochem.*; 38: 372-384.

Aziz M. (1947). History of prevention of malaria in Cyprus. *Cyprus Med*; 1(2):13–17.

Balakumar P, Rose M, Ganti SS, Krishan P, Singh M. (2007). "PPAR dual agonists: are they opening Pandora's Box?" *Pharmacol Res.*:56:91-8.

Barish GD, Narkar VA, Evans RM. (2006). PPAR delta: A dagger in the heart of the metabolic syndrome. *J Clin Invest*; 116:590-7.

Barter PJ, Rye KA. (2008). Is there a role for fibrates in the management of dyslipidemia in the metabolic syndrome? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 28:39-46.

Basak AN, Tuzmen S. (2011). Genetic Predisposition to β -Thalassemia and Sickle Cell Anemia in Turkey: A Molecular Diagnostic Approach. In: *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ) p. 291–307. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21204041>

Baysal E, Indrak K, Bozkurt G, Berkalp A, Aritkan E, Old J, Ioannou P, Angastiniotis M, Droushiotou A, Yüregir GT. (1992). The beta thalassaemia mutations in the population of Cyprus. *Br J Haematol.*; 81: 607-609 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1992.tb03000.x> PMID:1390250

Baysal, E. et al. (1992). The β -thalassaemia mutations in the population of Cyprus. *Br. J. Haematol.* 81, 607–609 (1992).

Berger J. Et al. (1999). Novel peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma and PPARdelta ligands produce distinct biological effects. *J Biol Chem.* 274 (10): 6718-6725. 10.1074/jbc.274.10.6718.

Berger J, Moller DE. (2002). The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med*; 53:409-35.

Berger JP, Akiyama TE, Meinke PT. (2005). PPARs: Therapeutic targets for metabolic disease. *Trends Pharmacol Sci*; 26:244-51.

Bogna Grygiel-Górniak. (2014). Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications – a review *Nutrition Journal*, 13:17 <http://www.nutritionj.com/content/13/1/17>

Bordbar M, et al. (2012). Genotype-phenotype correlation related to lipid profile in beta-thalassemia major and intermedia in southern Iran. *J Clin Lipidol.* Mar-Apr.

Borgna-Pignatti C, Rugolotto S, De Stefano P, et al. (2004). Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. *Haematologica*; 89: 1187–1193

Bouwens M, Afman LA, Müller M. (2007). Fasting induces changes in peripheral blood mononuclear cell gene expression profiles related to increases in fatty acid beta-oxidation: Functional role of peroxisome proliferator activated receptor alpha in human peripheral blood mononuclear cells. *Am J Clin Nutr*; 86:1515-23.

Braissant O, Foufelle F, Scotto C, Dauca M, Wahli W. (1996). Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, - β , and -gamma in the adult rat. *Endocrinology*; 137: 354-366.

Burkart EM, Sambandam N, Han X, Gross RW, Courtois M, Gierasch CM, Shoghi K, Welch MJ, Kelly DP. (2007). Nuclear receptors PPAR beta/delta and PPAR alpha direct

distinct metabolic regulatory programs in the mouse heart. *J Clin Invest*, 117 (12): 3930-3939.

C. Janani, B.D. Ranjitha Kumari (2015). PPAR gamma gene – A review *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 9, 46–5

Calandra S, Bertolini S, Pes GM, et al. (2004). Beta-thalassemia is a modifying factor of the clinical expression of familial hypercholesterolemia, *Semin Vasc Med.*, 4:271–278.

Canatan D. (2014). Türkiye'de Hemoglobinopatilerin Epidemiyolojisi. *Hematolog*; 4-1: 11-21.

Canatan, D, Aslan, İ , Oğuz, N , Balta, N , Coşan, R , Karadoğan, C . (2009). Talasemi Majorlu Hastalarda Serum Lipid Değerleri. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 8 (4), Retrieved from <http://dergipark.gov.tr/sdutfd/issue/20966/225433>

Cappellini, Cohen A, Eleftheriou A et al. (2008). In: *Guidelines for the Clinical Management of Thalassaemia*, 2nd Revised edn. Nicosia (CY).

Chalevelakis G, Clegg J, Weatherall D. (1975). Imbalanced globin chain synthesis in heterozygous beta-thalassemic bone marrow. *Proceedings of the National Academy of Sciences.*;72(10):3853-7

Chan Y, Li CK, Chik KW, et al. (2005). Liver volume in thalassemia major: relationship with body weight, serum ferritin, and liver function. *Pediatr Radiol* 35: 165-8.

Chen ES, Mazzotti DR, Furuya TK, Cendoroglo MS, Ramos LR, Araujo LQ, Burbano RR, Smith Mde A. (2011). Association of PPARalpha gene polymorphisms and lipid serum levels in a Brazilian elderly population. *Exp Mol Pathol*, 88(1):197–201.

Chen ES, Mazzotti DR, Furuya TK, Cendoroglo MS, Ramos LR, Araujo LQ, et al. (2010). Association of PPAR α gene polymorphisms and lipid serum levels in a Brazilian elderly population. *Exp Mol Pathol*; 88: 197-201.

Cherchi GM, Boggi MA, Coinu R. (1983). Post-heparin lipase activity in beta-thalassemia major: preliminary data. *Boll Soc Ital Biol Sper* 59: 1739-1743.

Chinetti G, Griglio S, Antonucci M, Torra IP, Delerive P, Majd Z, Fruchart JC, Chapman J, Najib J, Staels B. (1998). Activation of proliferator-activated receptors α and γ induces apoptosis of human monocytederived macrophages. *J Biol Chem.*; 273: 25573-25580.

Christina C, Demosthenes B, Christos P. (2004). Distribution of serum lipids and lipoproteins in patients with beta thalassemia major; an epidemiological study in young adults from Greece. *Lipids in Health and Disease* 3: 328-334.

Chui, D. H. K., Fucharoen, S. & Chan, V. (2003). Hemoglobin H disease: not necessarily a benign disorder. *Blood* 101, 791–800.

Cooley TB, Lee OP. (1925). Series of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone changes. *Trans Amer Pediatr Soc.*; 37: 29.

Cunningham MJ, Sankaran VG, Nathan DG OS. Cunningham M, et al. (2009). The Thalassemias. In: Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 7th ed. Philadelphia: WB Saunders; p. 1015–106.

Çavdar, A., and A. Arcasoy. (1971). The incidence of β -thalassaemia and abnormal hemoglobin in Turkey. *Acta Haemat.* 45:312–318.

Çürük MA, Genç A, Huseynova P, Zeren F, Aksoy K. (2007). Çukurova'da Alfa Talasemi Genotipleri ve HB H Hastalığı. *Türkiye Klin Pediatr Bilim Derg.* 3(10):17–23. Available from: <http://www.turkiyeklinikleri.com/article/tr-cukurovada-alfatalasemi-genotipleri-ve-hb-h-hastaligi-50332.html>

D. R. Higgs and D. J. (1993) Wetherall The Haemoglobinopathies Volume 6, Issue 1, Pages 1-331.

D'Agostino G, LaRana G, Russo R, Sasso O, Iacono A, Esposito E, et al. (2007). Acute intracerebroventricular administration of palmitoylethanolamide, an endogenous peroxisome proliferator-activated receptor-alpha agonist, modulates carrageenan-induced paw edema in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* ;322:1137–43]

De Sanctis V., Kattamis C., Canatan D., Soliman A. T., Elsedfy H., Karimi M., Daar S., Wali Y., Yassin M., Soliman N., Sobti P., Al Jaouni S., El Kholy M., Fiscina B., Angastiniotis M. (2017). β -thalassemia distribution in the old world: an ancient disease seen from a historical standpoint. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 9(1): e2017018,

DeFilippis D, D'Amico A, Cinelli MP, Esposito G, DiMarzo V, Iuvone T. (2009). Adelmidrol, a palmitoylethanolamide analog, reduces chronic inflammation in a carrageenin-granuloma model in rats. *J Cell Mol Med.* ;13:1086–95

Delerive P, Martin-Nizard F, Chinetti G, Trottein F, Fruchart JC, Najib J, Duriez P, Staels B. (1999). Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit thrombin-induced endothelin-1 production in human vascular endothelial cells by inhibiting the activator protein-1 signaling pathway. *Circ Res.*; 85: 394-402.

Desvergne B, Wahli W. (1999). Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev*; 20:649- 688.

Duran Canatan ,İbrahim Aslan, Nurgül Oğuz, Nihal Balta, Rüya Çoşan, C.Karadoğan. (2001). Talasemi Majorlu Hastalarda Serum Lipid Değerleri, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi :8-(4)/4-5

Eldor A, Rachmilewitz EA.(2002). The hypercoagulable state in thalassemia. *Blood* ; 99: 36–43.

Ergören MÇ, Teralı K. (2018). Assessment of the Association Between Three Perplexing PPARA Gene Polymorphisms and the Risk of Coronary Artery Disease in a Population of Turkish Cypriot Women. *Cyprus J Med Sci*; 3: 75-80.

Evans RM, Barish GD, Wang YX. (2004). PPARs and the complex journey to obesity. *Nat Med*;10:355-61.

Fahrioğlu U, Ergören MÇ. (2018). The association between APOA5 gene polymorphisms and plasma lipids in the Turkish Cypriot population: A Possible biomarker for preventing cardiovascular diseases. *Biochem Genet*; 56: 176-87.

Fan W, Shen C, Wu M, Zhou ZY, Guo ZR. (2015). Association and interaction of PPAR α , δ , and γ gene polymorphisms with low-density lipoprotein-cholesterol in a Chinese Han population. *Genet Test Mol Biomarkers*; 19: 379-86.

Fang J, Menon M, Kapelle W, Bogacheva O, Bogachev O, Houde E, et al. (2007). EPO modulation of cell-cycle regulatory genes, and cell division, in primary bone marrow erythroblasts. *Blood*;110(7):2361-70.

Feige JN, Gelman L, Michalik L, Desvergne B, Wahli W. (2006). From molecular action to physiological outputs: peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. *Prog Lipid Res* ;45(2):120–59

Felekis, X. et al. (2008). Hb Agrinio [α 29(B10)Le \rightarrow uPro (α 2)] in combination with β -(MED I). Results in a severe form of Hb H disease. *Hemoglobin* 32, 237–246 .

Flavell DM, Jamshidi Y, Hawe E, Pineda Torra I, Taskinen MR, Frick MH, et al. (2002). Peroxisome proliferator-activated receptor α gene variants influence progression of coronary atherosclerosis and risk of coronary artery disease. *Circulation*; 105: 1440-5.

Flavell DM, Pineda Torra I, Jamshidi Y, Evans D, Diamond JR, Elkeles RS, Bujac SR, Miller G, Talmud PJ, Staels B, Humphries SE. (2000). Variation in the PPAR alpha gene is associated with altered function in vitro and plasma lipid concentrations in Type II diabetic subjects. *Diabetologia*, 43(5):673–680.

Flavio A. (2005). Alterations of the lipid profile in anemia, *Bras Hematol Hemoter*, 27: 386-394.

Flint J, Harding RM, Boyce AJ, Clegg JB. (1998). The population genetics of the hemoglobinopathies. *Bailliere's Clinical Hematology*, 11:1-50

Ford J. (2013). Redbloodcellmorphology. *Int J Lab Hamatol*; 35(3): 351-7.

Fruchart JC. (2009). Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPARalpha): at the crossroads of obesity, diabetes and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 205(1):1–8.

G.O. Tadmouri, Ş. Tüzmen, H. Özçelik, A. Özer, S.M. Baig, E.B. Senga, and A.N. Başak. (1998). Molecular and Population Genetic Analyses of b-Thalassemia in Turkey *American Journal of Hematology* 57:215–220).

Galanello R, Origa R. (2010). Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Diseases*;5:11.

Ganz T. (2003). Hpcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*; 102: 783–788.

Gardenghi S, Marongiu MF, Ramos P, et al. (2007). Ineffective erythropoiesis in beta-thalassemia is characterized by increased iron absorption mediated by down-regulation of hepcidin and up-regulation of ferroportin. *Blood*; 109: 5027–5035.

Ghaffari S. (2008). Oxidative stress in the regulation of normal and neoplastic hematopoiesis. *Antioxidants & redox signaling*;10(11):1923-40.

Giardini O, Murgia F, Martino F, Mannarino O, Corrado G, et al. (2004). Serum lipid pattern in beta-thalassemia. *Acta Haematol* 60: 100-107.

Giardini O, Murgia F, Martino F, Mannarino O, Corrado G, Maggioni G. (1978). Serum lipid pattern in β -thalassemia. *Acta Haematol*, 60: 100-107.

Glass CK, Ogawa S. (2006). Combinatorial roles of nuclear receptors in inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol.*; 6: 44-55.

Goldfarb AW, Rachmilewitz EA, Eisenberg S. (1991). Abnormal low and high density lipoproteins in homozygous beta thalassemia. *Br J Haematol* 79: 481-486.

Graham TL, Mookherjee C, Suckling KE, Palmer CN, Patel L. (2005). The PPAR delta agonist GW0742X reduces atherosclerosis in LDLR (-/-) mice. *Atherosclerosis*; 181:29-37.

Gregory T, Yu C, Ma A, Orkin SH, Blobel GA, Weiss MJ. (1999). GATA-1 and erythropoietin cooperate to promote erythroid cell survival by regulating bcl-xL expression. *Blood.*;94(1):87-96

Grygiel-Górniak B. (2014). Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications-a review. *Nutr J.*; 13: 17.

Gu SJ, Guo ZR, Zhou ZY, Hu XS, Wu M. (2014). PPAR α and PPAR γ polymorphisms as risk factors for dyslipidemia in a Chinese Han population. *Lipids Health Dis*; 13: 23.

Gu SJ, Liu MM, Guo ZR, Wu M, Chen Q, Zhou ZY, et al. (2013). Gene-gene interactions among PPAR α / δ / γ polymorphisms for hypertriglyceridemia in Chinese Han population. *Gene*; 515: 272-6.

Guler E, Karacan M. (2007). Prevalence of beta-thalassemia and sickle cell anemia trait in premarital screening in Konya urban area, Turkey. *J Pediatr Hematol Oncol.*;29(11):783–5.

Gülsen Bozkurt. (2007). Results From The North Cyprus Thalassemia Prevention Program, *Hemoglobin*, 31:2, 257-264, DOI: 10.1080/03630260701297204

Günçağ D, Pekçelen Y, Atamer T. (2003). Talasemi. In Günçağ D (Editör) *Klinik Hematoloji*, İstanbul; Nobel Matbaacılık: s. 137-147

Hartman C, Tamary H, Tamir A, Shabad E, Levine C, Koren A et al. (2002). Hypercholesterolemia in children and adolescents with β -thalassemia intermedia. *J Pediatr*, 4: 543-547.

Hendy OM, Allam M, Allam A, Attia MH, El Taher S, Eldin MM, et al. (2010). Hcpidin levels and iron status in β -thalassemia major patients with hepatitis C virusinfection. *Egypt J Immunol*; 17: 33-44.

Heneka MT, Landreth GE. (2007). PPARs in the brain. *Biochim Biophys ACTA*; 1771:1031-45.

Higgs DR. (1992). Alpha thalassemia: an overview, in: *Current Views on Thalassemia*. Publishers HA, editor. Switzerland; 31-40 p.

Issemann I, Green S. (1990). Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature.*; 347: 645-650.

Jay MA, Ren J. (2007). Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Curr Diabetes Rev*; 3:33-9.

Jha R, Jha S. (2014). Beta-thalassemia- A review. *Journal of Pathology of Nepal Vol. 4*, 663-671

Kamal M. Mansı, Talal A. Aburjai. (2008). Lipid Profile in Jordanian Children with β -thalassemia Major Sayı / Number: 2 Cilt / Volume: 18 Yıl.

Karakaş, Z. (2014). Türk Hematoloji Derneği.: 4■1

Karimi M, Cohan N, De Sanctis V, Mallat NS, Taher A. (2014). Guidelines for Diagnosis and Management of Beta-Thalassemia Intermedia. *Pediatr Hematol Oncol* 31(7):583–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25247665>

Kent G. (1951). Total victory over malaria. *Reader's Digest* February; 77–79.

KhaleedJumaa K., Abeer A.A., MaysemM. Alwash, Nahi Y. Yaseen, Ahmed M.Hamza. (2013). “Biomarkers and trace elements in beta thalassemia major.” *Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics*.

Khubchandani, Asha, Viral Solanki, Vijaysinh Parmar, Meghana Solanki, Jaimin Patel, and SagarGangwani. (2014). "Estimation of Serum lipid profiles in patients with Beta-thalassemia major”.

Kiec-Wilk B, Dembinska-Kiec A, Olszanecka A, Bodzioch M, KaweckaJaszcz K. (2005). The selected pathophysiological aspects of PPARs activation. *J Physiol Pharmacol.*; 56: 149-162.

Kliwer SA, Sundseth SS, Jones SA, Brown PJ, Wisely GB, Koble CS, et al. (1997). Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma. *Proc Natl Acad Sci U S A*;94(9):4318–23.

Kota BP, Huang TH-W, Roufogalis BD. (2005). An overview on biological mechanisms of PPARs. *Pharmacological Research*; 51:85-94.

Kountouris P. et al. (2016). The molecular spectrum and distribution of haemoglobinopathies in Cyprus: a 20-year retrospective study. *Sci Rep*. May 20; 6:26371. doi: 10.1038/srep26371 <https://doi.org/10.1038/srep26371>

Kyriacou, K. et al. (2000). Hb Bart's levels in cord blood and alpha-thalassemia mutations in Cyprus. *Hemoglobin* 24, 171–180.

Lacquemant C, Lepretre F, Pineda Torra I, Manraj M, Charpentier G, Ruiz J, Staels B, Froguel P. (2000). Mutation screening of the PPARalpha gene in type 2 diabetes associated with coronary heart disease. *Diab Metab*, 26(5):393–401.

Lanzkowsky P, Atlas M. (2005). Hemolytic Anemia; Thalassemias. *Manual of Pediatric Hematology and Oncology* 4th ed, New York 181-191.

Lefebvre P, Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. (2006). Sorting out the roles of PPAR alpha in energy metabolism and vascular homeostasis. *J Clin Invest*; 116:571-80.

Lehrke M, Lazar M. (2005). The many faces of PPAR γ . *Cell*; 123:993–9.

Liu MM, Gu SJ, Guo ZR, Wu M, Chen Q, Zhou ZY, et al. (2012). Association and interaction of peroxisome proliferator-activated receptor α with low high-density lipoprotein hyperlipidemia and with peroxisome proliferator-activated receptor γ . *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 33: 1218-23.

Livrea MA, Tesoriere L, Maggio A, et al, (1998). Oxidative modification of low density lipoprotein and atherogenetic risk in betathalassemia, *Blood*, 92:3936–3942.

Maioli M, Cuccuru GB, Pronzetti P. (1984). Plasma lipids and lipoproteins pattern in beta-thalassemia major. *ActaHaematol* 71: 106-110.

Maioli M, Pettinato S, Cherchi GM, Giraudi D, Pacifico A, et al. (1989). Plasma lipids in beta-thalassemia minor. *Atherosclerosis* 75: 245-248.

Maioli M, Vigna GB, Tonolo G, Brizzi P, Ciccarese M, et al. (1997). Plasma lipoprotein composition, apolipoprotein (a) concentration and isoforms in beta-thalassemia. *Atherosclerosis* 131: 127-133.

Majdalawieh A, Ro HS. (2010). PPAR γ 1 and LXR α face a new regulator of macrophage cholesterol homeostasis and inflammatory responsiveness, AEBP1. *Nucl Recept Signal.* ;8:e004.

Mann CJ, Yen FT, Grant AM, Bihain BE. (1991). Mechanism of plasma cholesterol ester transfer in hyper triglyceridemia, *J Clin Invest*, 88: 2059-2066.

Mansi, Kamal M., and Talal A. Aburjai. (2008). "Lipid Profile in Jordanian Children with β -thalassemia Major." *International Journal of Hematology and Oncology* 18: 93-98.

Martin A, Thompson AA. (2013). Thalassemias. *Pediatr Clin North Am.*; 60:1383-91.

Marx N, Duez H, Fruchart JC, Staels B. (2004). Peroxisome proliferatoractivated receptors and atherogenesis: regulators of gene expression in vascular cells. *Circ Res*; 94:1168-78.

Marx N, Sukhova GK, Collins T, Libby P, Plutzky J. (1999). PPAR α activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation.*; 99: 3125- 3131.

Mazzotti DR, Singulane CC, Ota VK, Rodrigues TP, Furuya TK, de Souza FJ, et al. (2011). PPAR α polymorphisms as risk factors for dyslipidemia in a Brazilian population. *Mol Genet Metab*; 102: 189-93.

Medina-Gomez G, Gray S, Vidal-Puig A. (2007). Adipogenesis and lipotoxicity: role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) and PPAR gamma coactivator-1 (PGC1). *Public Health Nutr*; 10:1132–7.

Meral A, Tuncel P, Surmen-Gur EG et al. (2000). Lipid peroxidation and antioxidant status in beta thalassaemia, *Pediatr Hematol Oncol.*, 17:687–693.

Michalic L, Wahil W. (2006). Involvement of PPAR nuclear receptors in tissue injury and wound repair. *Clin Investig J*; 116:598-606.

Modell B, Berdoukas V. (1984). Thalassaemia in Cyprus. In: Modell B, Ed. *The Clinical Approaches to Thalassaemia*. London: Grune & Stratton.; 263–277

Mohammadreza Bordbar, MD, Sezaneh Haghpanah, MD, Abdolreza Afrasiabi, PhD, Javad Dehbozorgian, PhD, Mehran Karimi, MD. (2012). Genotype–phenotype correlation related to lipid profile in beta-thalassemia major and intermedia in southern Iran *Journal of Clinical Lipidology* 6, 108–113

Moreno S, Farioli-Vecchioli S, Cerù MP. (2004). Immuno localization of peroxisome proliferator-activated receptors and retinoid X receptors in the adult rat CNS. *Neuroscience*; 123:131-45.

Muncie Jr HL, Campbell J. (2009). Alpha and beta thalassemia. *American family physician.*;80(4):339-44.

Musallam KM, Rivella S, Vichinsky E et al. (2013). Non-transfusion-dependent thalassemiias. *Haematologica*; 98: 833-44.

Nemeth E. (2010). Hepcidine in β thalassemia. *Ann N Y AcadSci*; 1202: 31-5.

Ngala RA, Stocker CJ, Roy AG, Hislop D, Wargent E, Bell R, Hassall DG, Harling JD, Billin AN, Willson TM, Arch JR, Cawthorne MA. (2011). A new, highly selective

marine peroxisome proliferator-activated receptor delta agonist increases responsiveness to thermogenic stimuli and glucose uptake in skeletal muscle in obese mice. *Diab Obes Metab.*, 13 (5): 455-464. 10.1111/j.1463-1326.2011.01371.x.

Oliveira AC, Bertollo CM, Rocha LT, Nascimento EB, Costa, KA, Coelho MM. (2007). Antinociceptive and antiedematogenic activities of fenofibrate, an agonist of PPAR alpha, and pioglitazone, an agonist of PPAR gamma. *Eur J Pharmacol*; 561:194-201.

Oliver WR Jr, Shenk JL, Snaith MR, Russell CS, Plunket KD, et al. (2001). A selective peroxisome proliferator-activated receptor delta agonist promotes reverse cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci USA*; 98:5306-11.

Origa R, Fiumana E, Gamberini MR, et al. (2005). Osteoporosis in beta-thalassemia: clinical and genetic aspects. *Ann N Y Acad Sci* ;1054: 451–456.

Origa R, Galanello R, Ganz T, et al. (2007). Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassemia. *Haematologica*; 92: 583–588.

Papanastasiou A, Siorokou T, Haliotis FA. (1996). Beta-Thalassemia and factors affecting the metabolism of lipids and lipoproteins. *Haematologia (Budap)* 27: 143-153.

Patne, A. B., P. J. Hisalkar, and S. B. Gaikwad. (2012). "Lipid Abnormalities in Patients of Beta Thalassaemia Major." *IJPBS*, vol (2), issue 2, April-June; 106-112.

Planavila A, Laguna JC, Vázquez-Carrera M. (2005). Nuclear factor kappa B activation leads to down-regulation of fatty acid oxidation during Cardiac hypertrophy. *J Biol Chem*; 280:17464–71.

Pogana D, Pogana J. (2002). *Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests*, 2nd ed, Mosby, Inc.

Rigamonti E, Chinetti-Gbaguidi G, Staels B. (2008). Regulation of macrophage functions by PPAR-alpha, PPAR-gamma, and LXRs in mice and men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 28:1050-9.

Sandeep Tyagi, Paras Gupta, Arminder Singh Saini, Chaitnya Kaushal, Saurabh Sharma. (2016). The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases [Downloaded free from <http://www.japtr.org> on Wednesday, September 28, IP: 37.236.186.77]

Sapone A, Peters JM, Sakai S, Tomita S, Papiha SS, Dai R, Friedman FK, Gonzalez FJ. (2000). The human peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene: identification and functional characterization of two natural allelic variants. *Pharmacogenetics*, 10(4):321–333.

Shah A, Rader DJ, Millar JS. (2010). The effect of PPAR-alpha agonism on apolipoprotein metabolism in humans. *Atherosclerosis*, 210(1):35–40.

Sheu SH, Kaya T, Waxman DJ, Vajda S. (2005). Exploring the binding site structure of the PPAR gamma ligand-binding domain by computational solvent mapping. *Biochemistry (Mosc)* ;44(4):1193–209.

Shin MJ, Kanaya AM, Krauss RM. (2008). Polymorphisms in the peroxisome proliferator activated receptor α gene are associated with levels of apolipoprotein CIII and triglyceride in African-Americans but not Caucasians. *Atherosclerosis*, 198(2):313–319

Skikne BS. (2008). Serum Transferin Receptor. *Am J Hematol*; 83: 872–5.

Soliman A, De Sanctis V, Yassin M. (2013). Vitamin D status in thalassemia Major: An Update. *Med J Hematol Infect Dis*; 5; e2013057

Staels B, Koenig W, Habib A, Merval R, Lebret M, Torra IP, Delerive P, Fadel A, Chinetti G, Fruchart JC, Najib J, Maclouf J, Tedgui A. (1998). Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPAR α but not by PPAR γ activators. *Nature*; 393: 790-793.

Tadmouri GO, Başak AN. (2001). β -thalassemia in Turkey: A review of the clinical epidemiological molecular and evolutionary aspects. *Hemoglobin*;25(2):227-39.

Tanno T, Bhanu NV, Oneal PA, et al. (2007). High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat Med*; 13: 1096–1101.

Higgs DR, Weatherall DJ. (1993). Bailliere's Clinical Haematology. Thein SL. β -thalassemia. In London. Volume 6, Issue 1, March, Pages 151-175

Touyz RM, Schiffrin EL. (2006). Peroxisome proliferator-activated receptors in vascular biology-molecular mechanisms and clinical implications. *Vascular Pharmacology*; 45:19-28.

Tripatara A. Srichana N. LamoolP. Amnuaykan S. Hongart P. Jetsrisuparb A. (2012). Relationship between Plasma Ferritin Level and Siderocyte Number in Splenectomized β -Thalassemia/HbE Patients. *Anemia*; 2012: 890471.

Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. (2013). Biomarkers of hypochromia: the contemporary assessment of iron status and erythropoiesis. *Biomed Res Int*; 2013:603786. doi: 10.1155/2013/603786.

Vichinsky E. (2010). Complexity of alpha thalassemia: growing health problem with new approaches to screening, diagnosis, and therapy. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. Aug [cited 2018 Jan 14];1202(1):180–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20712791>

Viswakarma N, Jia Y, Bai L, Vluggens A, Borensztajn J, Xu J, Reddy JK. (2010). Coactivators in PPAR-regulated gene expression. *PPAR Res*, 2050126

Vohl MC, Lepage P, Gaudet D, Brewer CG, Bétard C, Perron P, Houde G, Cellier C, Faith JM, Després JP, Morgan K, Hudson TJ. (2000). Molecular scanning of the human PPAR α gene: association of the rs1800206 mutation with hyperapobetalipoproteinemia. *J Lipid Res*, 41(6):945–952.

Voskaridou E, Anagnostopoulos A, Konstantopoulos K, et al. (2006). Zoledronic acid for the treatment of osteoporosis in patients with beta-thalassemia: results from a single-center, randomized, placebo-controlled trial. *Haematologica*; 91: 1193–1202.

Voskaridou E, Terpos E. (2004). New insights into the pathophysiology and management of osteoporosis in patients with beta thalassaemia. *Br J Haematol*; 127: 127–139

Wang RH, Li C, Xu X, et al. (2005). A role of SMAD4 in iron metabolism through the positive regulation of hepcidin expression. *Cell Metab*; 2: 399–409.

Wang YX, Lee CH, Tiep S, Yu RT, Ham J, Kang H, Evans RM. (2003). Peroxisome-proliferator-activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity. *Cell*, 113 (2): 159-170. 10.1016/S0092-8674(03)00269-1.

Wang YX, Zhang CL, Yu RT, Cho HK, Nelson MC, et al. (2004). Regulation of Muscle Fiber Type and Running Endurance by PPAR δ . *PLoS Biol*; 2(10): e294

Weatherall DJ, Clegg JB. (2001). Editors; Historical perspectives: The Thalassemia syndromes 4th ed, Oxford: Blackwell Scientific, UK 1-55.

Weatherall DJ, Clegg JB. (2001). Inherited haemoglobin disorders: An increasing global health problem. Vol. 79, *Bulletin of the World Health Organization*. p. 704–12.

Weatherall DJ, Clegg JB. (1996). Thalassemia-a global public health problem. *Nat Med.*; 2: 847-849.

Weatherall DJ, Clegg JB. (2001). *The thalassemia syndromes*, 4th ed. Oxford: Blackwell Scientific.

Weatherall DJ, Clegg JB. (1981). "The Thalassemia Syndromes." Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Weatherall DJ. (2010). The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden. *Blood.*; 115: 4331-4336.

Weizer-Stern O, Adamsky K, Amariglio N, et al. (2006). Downregulation of hepcidin and haemojuvelin expression in the hepatocyte cell-line HepG2 induced by thalassaemic sera. *Br J Haematol* ; 135: 129–138.

Weatherall DJ, Clegg JB. (2001). *The thalassemia syndromes*. 4th ed. Oxford, England: Blackwell Science Ltd.

Williams TN, Weatherall DJ. (2012). World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. Sep 1 [cited 2018 Jan 13];2(9):a011692. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22951448>

Willson TM, Brown PJ, Sternbach DD, Henke BR. (2000). The PPARs from orphan receptors to drug discovery. *J Med Chem*;43:527-50.

Wright MB, Bortolini M, Tadayyon M, Bopst M. (2014). Mini review: challenges and opportunities in development of PPAR agonists. *Mol Endocrinol.*; 28: 1756-1768.

Yong EL, Li J, Liu MH. (2008). Single gene contributions: genetic variants of peroxisome proliferator-activated receptor (isoforms alpha, beta/delta and gamma) and

mechanisms of dyslipidemias. *Curr Opin Lipidol*, 19(2):106–12. doi: 10.1097/MOL.0b013e3282f64542.

Yu BC, Chang CK, Ou HY, Cheng KC, Cheng JT. (2008). Decrease of peroxisome proliferator-activated receptor delta expression in cardiomyopathy of streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovasc Res.*, 80 (1): 78-87. 10.1093/cvr/cvn172.

Żak I, Balcerzyk A, Sarecka B, Niemiec P, Ciemniowski Z, Dylağ S. (2005). Contemporaneous carrier-state of two or three "proatherosclerotic" variants of APOE, ICAM1, PPARA and PAI-1 genes differentiate CAD patients from healthy individuals. *Clin Chim Acta*; 362: 110-8.

Zannos-Mariolea L, Papagregoriou-Theodoridou M, Costantzas N, et al. (1978). Relationship between tocopherols and serum lipid levels in children with beta-thalassemia major. *Am J Clin Nutr*,31: 259–263.

Zheng G, Schaefer M, Karplus M. (2013). Hemoglobin Bohr effects: atomic origin of the histidine residue contributions. *Biochemistry.*;52:8539-55.

EK 1

EK:668-2c



YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME ETİK KURULU

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 31.05.2018
Toplantı No : 2018/58
Proje No : 586

Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Mahmut Çerkez Ergören'in sorumlu araştırmacısı olduğu, YDU/2018/58-586 proje numaralı ve "Peroxisom Prolifator-Aktive Reseptör Alfa (PPAR-Alpha) Gen Varyasyonları İle Beta-Talasemi Klinik Fenotipi Arasındaki İlişkinin Araştırılması" başlıklı proje önerisi kurulumuzca değerlendirilmiş olup, etik olarak uygun bulunmuştur.

- | | | |
|-------------------------------------|----------|--|
| 1. Prof. Dr. Rüştü Onur | (BAŞKAN) | |
| 2. Prof. Dr. Nerin Bahçeciler Önder | (ÜYE) | |
| 3. Prof. Dr. Tamer Yılmaz | (ÜYE) | |
| 4. Prof. Dr. Şahan Saygı | (ÜYE) | |
| 5. Prof. Dr. Şanda Çalı | (ÜYE) | |
| 6. Prof. Dr. Nedim Çakır | (ÜYE) | |
| 7. Prof. Dr. Kaan Erler | (ÜYE) | |
| 8. Doç. Dr. Ümran Dal Yılmaz | (ÜYE) | |
| 9. Doç. Dr. Nilüfer Galip Çelik | (ÜYE) | |
| 10. Yrd. Doç. Dr. Emil Mammadov | (ÜYE) | |

EK 2



K.K.T.C SAĞLIK BAKANLIĞI
DR BURHAN NALBANTOĞLU
DEVLET HASTANESİ



Sayı:YTK.1.01
(EK008/18)

Tarih: 03 Eylül 2018

Sn. Yrd Doç Dr Mahmut Çerkez, €

Etik Kurulumuzun 2 Ağustos 2018 tarihinde yapmış olduğu toplantıda, "PPAR-alfa Gen Varyasyonları ile Beta-talasemi Klinik Fenotipi Arasındaki İlişkinin Araştırılması" isimli projeniz/araştırmanız tarafımızdan değerlendirilmiş olup Etik Kurulumuz tarafından uygun görülmüştür.

Bilgilerinize saygılarımızla sunulur, başarılar dileriz.

Etik Kurul YK adına
Doç Dr Dürriye Deniz Oygur
Doç.Dr.Dürriye Deniz Oygur
İç Hastalıkları ve Nöroloji Uzmanı
Dip. Tescil No: 95092-135
21432149

İLETİŞİM
Tel: +90 392 22 85441
Fax: + 90 392 22 31899
Email: lbndtanitim@gmail.com